

# Diversidad genética del rotavirus: su implicación en la prevención y control de la diarrea

\*Delfina Urbina Ospino

## Resumen

Los rotavirus son una causa importante de diarrea infantil. Se estima que 800.000 muertes cada año en niños menores de cinco años son causadas por rotavirus, principalmente en países en desarrollo. Por su diversidad antigénica y genética, los rotavirus se clasifican en grupos, subgrupos, serotipos y genotipos. Distintos serotipos y genotipos de rotavirus se han encontrado en humanos y animales. Trabajos realizados y en progreso, contribuyen en el entendimiento de la patogénesis y también del papel de anticuerpos y células T en la protección contra la infección por rotavirus. La implementación de programas de

vigilancia de rotavirus en Latinoamérica ha contribuido al desarrollo de estrategias para la prevención y el control de la enfermedad. Estudios epidemiológicos en Colombia demuestran que rotavirus es el enteropatógeno más importante en la diarrea infantil. En estudios recientes realizados en la costa norte colombiana, se encontró que rotavirus grupo A fue causante de 36.6 % de casos de diarrea en niños menores de tres años. También se detectó la presencia de tres genotipos G de importancia epidemiológica, infección mixta con dos o más genotipos y cepas poco comunes.

**Palabras claves:** diarrea-rotavirus- genotipos. ☉

*Infectio 2005; 8(4): 293-300*

## Introducción

Se ha estimado que anualmente se producen 3.3 millones de casos fatales de diarrea aguda en menores de cinco años, la mayoría de esas muertes ocurren en países en vía de desarrollo (1, 2). El rotavirus (RV) es la causa de aproximadamente una tercera parte de las hospitalizaciones asociadas a la diarrea y de unas 800.000 muertes cada año en menores de cinco años (3).

**Propiedades biológicas y estructurales.** RV fue descubierto en 1973 por la Dra. Ruth Bishop, pertenece a la familia Reoviridae, es desnudo, de simetría icosaédrica, con una triple cápside que contiene el genoma de RNA de doble cadena. El virión

completo de un diámetro de 70 nm, se asemeja a una rueda, de ahí el nombre de rotavirus (del latín rota). Tres tipos de canales que atraviesan la cápside, transportan al interior metabolitos para la transcripción del RNA y al exterior los RNA transcriptos durante la replicación. (4). El RV es estable en rangos de pH de 3.0 a 9.0 y temperaturas de -20 a -70° por años, sobrevive a temperatura de ambiente tropical por períodos prolongados, en superficies porosas (algodón, papel) y no porosas (aluminio, látex) (4,5). La infectividad del virus se pierde por remoción de la cápside externa con agentes quelantes (EDTA) y calcio. Los desinfectantes químicos tales como fenol, clorina, propionolactona, lo inactivan (4,6).

**Recibido para evaluación: 3/10/2004 - Aceptado para publicación: 23/12/2004**

Correspondencia dirigida a: \*Delfina Urbina Ospino QF MSCI

Grupo de Microbiología Universidad de Cartagena. Investigadora Asociada I.V.E.I. Calle 28 # 21-128 Apto. 104

Cartagena, Colombia, Sur América

E-mail: [durbina@enred.com](mailto:durbina@enred.com)

Las proteínas VP1, VP2, VP3 (cápside interna), VP6 (cápside intermedia), VP4 y VP7 (cápside externa) y las proteínas no estructurales (NSP1, NSP2, NSP3, NSP4, NSP5 y NSP6) son codificadas por los 11 segmentos del genoma (4,7). Por las características antigénicas de VP6 los rotavirus se clasifican dos subgrupos (I y II) y siete grupos de A a G. Las proteínas VP7 y VP4 son de actividad neutralizante y definen la clasificación binaria de rotavirus grupo A (RVA) (4,7).

**Características genéticas del RV.** Los 11 segmentos de RNA de doble cadena del genoma, distribuidos en cuatro regiones variables (I, II, III, y IV) tienen patrones electroforéticos característicos según la cepa viral. La evolución del genoma de RV en la naturaleza puede ocurrir por mecanismos tales como delección, mutación y rearrreglos. El RVA es de mayor importancia epidemiológica a nivel global, tiene un patrón electroforético característico de 4-2-3-2 y presenta dos patrones clásicos de migración (Electroferotipos) largo y corto. Existen variantes poco comunes (4,8,9).

Con base en la diversidad antigénica de las proteínas VP7 y VP4 se ha clasificado a RVA en tipos G (Glicoproteína) y P (sensible a proteasa). Se han identificado al menos 14 serotipos G (asociados a VP7) de los cuales 10 han sido en humanos. De 21 genotipos P (asociados a VP4) ocho genotipos se han encontrado en humanos (2, 4,7). Los genotipos G1 a G4, [P8] y [P6]) son los mas representativos a nivel mundial (10, 11,12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21). Otros poco comunes tales como G5, G8, G9, G10 se han detectado en América, África y Asia (22,23,24,25, 26, 27,28,29, 30,31,32 ). P[24] se describió en humanos recientemente en India (33).

**Infección y patogénesis.** Los rotavirus se replican en el citoplasma y la identidad de los receptores para todos los rotavirus no se conoce. Después de uno ó dos días del período de incubación el virus infecta las células maduras de las vellosidades, se produce lisis celular, atrofia de las vellosidades intestinales, infiltrado mononuclear y se disminuye la capacidad de absorción por la acción sobre las disacaridasas.

La hiperplasia en células de la cripta estimula la actividad secretora incrementando la excreción de agua y electrolitos; en consecuencia se disminuye la absorción y se aumenta la salida de

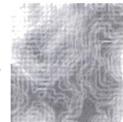
agua (4, 34, 35). Entre los mecanismos de patogenicidad mas recientes se mencionan la activación del sistema nervioso entérico y la citotoxicidad de la proteína NSP4 (36).

**Inmunidad y protección.** En la infección por rotavirus la inmunidad mediada por anticuerpos y por las células cumplen su función (37). En modelos murinos se han estudiado los mecanismos por los cuales la inmunización con rotavirus vivos u otros inmunógenos alcanzan protección; esos resultados indican que se deben a factores multifactoriales. Diversos estudios se han adelantado para dilucidar la contribución de los diferentes componentes del sistema inmune en la protección contra la infección por rotavirus, encontrando que células T (CD8, CD4) y células B jugaron un papel importante (38).

RV induce respuesta de anticuerpos específicos Ig M, Ig G e IgA, que son detectables una a cuatro semanas post infección. Por los diversos estudios realizados se señala que la respuesta homotípica neutralizante para las proteínas VP7 y VP4 es característica de la primera infección, mientras que los anticuerpos heterotípicos son importantes para las reinfecciones. Se describe que la correlación entre IgA fecal y protección; sin embargo, su presencia en el intestino es menos de un año. Los estudios realizados sugieren que la inmunidad mediada por células, es más importante en la resolución de la enfermedad que en la protección (37, 39, 40, 41).

Trabajos recientes en un grupo de niños y adultos (sintomáticos y asintomáticos) en Bogotá Colombia, indican que la frecuencia de Linfocitos T específicos fue muy baja comparada con la respuesta a otros patógenos (42, 43). La magnitud de respuesta homotípica y heterotípica a proteínas no estructurales y de la cápside intermedia, es objeto de estudio (44).

**Vigilancia de la infección por rotavirus.** En la reunión regional sobre la implementación de la vigilancia epidemiológica de Rotavirus realizada en Perú en 2003, los principales temas de análisis incluyeron el intercambio de experiencias, el desarrollo de nuevas vacunas, las estrategias para apoyar la evaluación de la seguridad y eficacia de nuevas vacunas en la región, los proyectos para determinar la carga de la enfermedad y las recomendaciones sobre el uso de técnicas de neutralización y secuenciación en el caso de nuevas



cepas no detectables por anticuerpos monoclonales o RT-PCR (45).

Se agrega en dicho informe que: "El desarrollo de vacunas contra la diarrea severa se basa, en parte, en el concepto de la protección homotípica y heterotípica que se genera contra un serotipo G común (vacunas monovalentes) o contra múltiples serotipos (vacunas polivalentes). Por esta razón es prioridad la caracterización de los serotipos G y P más comunes para considerar su inclusión en vacunas. De igual forma, después de la introducción de la vacuna, se necesita realizar seguimiento de las cepas circulantes para determinar si las vacunas son efectivas contra todos los serotipos y si existe entrecruzamiento de las cepas vacunales con rotavirus salvajes humanos" (45).

Como es conocido, la vacuna tetravalente oral licenciada en 1998 fue sacada del mercado en Estados Unidos por estar asociada con invaginación (39,46). Actualmente están en experimentación nuevas vacunas en Latinoamérica. La Organización Panamericana de la Salud (OPS) indica que hasta la fecha los estudios realizados con la vacuna pentavalente antirotavírica (G1, G2; G3, G4, P[1]) RotaTeq (Merck), muestra eficacia aproximada de 100% para enfermedad severa y de un 70% para cualquier gastroenteritis por rotavirus; el ensayo de eficacia e inocuidad está en progreso. Ensayos de la vacuna GSK (Glaxo, Smith Kline) en fase III están proyectados en países latinoamericanos incluyendo Colombia, para conocer la seguridad y eficacia de la vacuna (45).

**Epidemiología y riesgo de infección.** La infección por RV se presenta en forma asintomática y severa, los brotes de infección nosocomial ocurren en salas de pediatría (7). En las heces se vierten hasta 100 billones de partículas virales por mL de heces (aún en casos asintomáticos) y sólo se necesitan 10 Mil a 10 Millones de partículas virales para causar enfermedad. Se estima que el riesgo de tener infección por rotavirus es 1:1, de tener que buscar consulta 1:5, de ser hospitalizado 1:65 y de morir 1: 293 (45). En países con estaciones la infección es más frecuente en el invierno, en zonas tropicales la estacionalidad es menos marcada. En Cartagena (Colombia) la mayor incidencia de rotavirus ocurre en los primeros meses del año.

La vía de transmisión más reconocida es la ruta oro-fecal; se sospecha de la vía respiratoria y el aire. El contagio más frecuente es de persona a persona, pero puede ocurrir por contacto con objetos

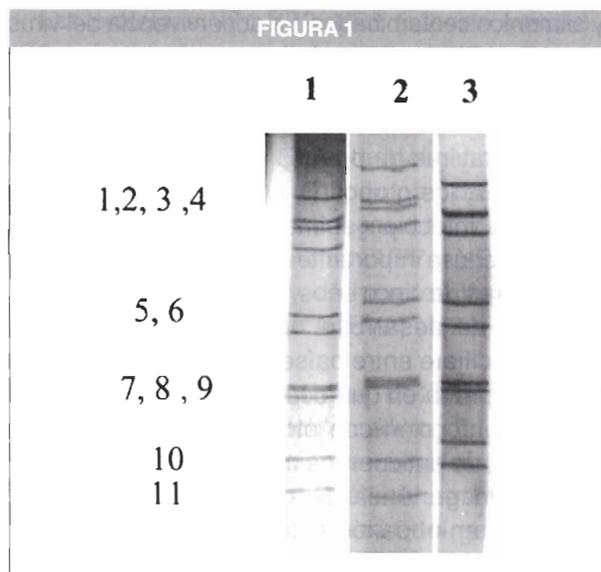
y alimentos contaminados. La supervivencia del virus en el ambiente por períodos prolongados, es un aspecto por tener en cuenta en la prevención y control de la infección.

Los rotavirus grupo A, B y C infectan humanos y animales; los grupos D a G se han asociado a brotes de infección animales. El rotavirus grupo (RVA) es causa importante de gastroenteritis severa en menores de cinco años, en países desarrollados y en vía de desarrollo. La epidemiología de la infección difiere entre países teniendo en cuenta la edad temprana en que ocurre la primera infección, la alta coinfección con otros enteropatógenos, la presencia de anticuerpos maternos transferidos, la diversidad genética de cepas circulantes y la diferencia en el patrón estacional.

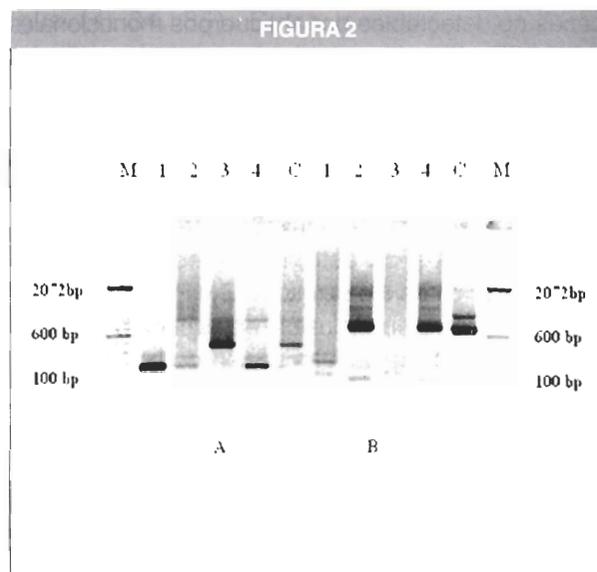
**Infección por Rotavirus en Colombia.** Informes de la década del 80 y principios de los años 90 señalan que en Cartagena, Medellín y Bogotá el rotavirus grupo A (RVA) fue responsable de 20 a 50% de los casos de diarrea infantil. (47,48,49,50,51,52,53). Entre 1998 y 2000, RVA fue el agente responsable de 36.6% de casos de diarrea en menores de tres años en la costa norte colombiana (54). Otro estudio reciente muestra también que RVA fue el enteropatógeno prevalente en niños con diarrea aguda menores de cinco años, en varias regiones del país (55). El Instituto Nacional de Salud informa que entre los factores de riesgo para hospitalización por diarrea en Colombia en el período de 2000 y 2001, el rotavirus se asoció con riesgo de deshidratación (OR:3,45 ; IC1:71-7,00) (45).

Nuestros trabajos (47,52,54-56) han tenido como objetivo conocer el comportamiento de la diarrea por RVA en niños de nuestra región y contribuir en el conocimiento de la diversidad genética de las cepas circulantes. Esta es la primera descripción que se hace en Colombia de los genotipos G y P de RVA asociados a diarrea severa en 253 niños menores de tres años de la costa norte de Colombia (56).

En las figuras 1 y 2 se muestran respectivamente, los patrones de migración electroforética (electroferotipos) y productos amplificados de genotipos G y P detectados en muestras fecales de los niños estudiados. Todas las cepas detectadas tenían el patrón electroforético característico 4-2-3-2 de RVA, en su mayoría electroferotipos largos, como se ha informado globalmente (8, 13, 53, 21). La variabilidad de la rata de migración de los primeros



Análisis electroforético (SDS-PAGE) del RNA ds extraído de tres muestras obtenidas de niños con diarrea en la costa norte de Colombia. Carriles 1 y 2: cepas con electroferotipos largos; carril 3: cepa con electroerotipo corto.



Genotipos G y P de rotavirus detectados por RT-PCR en muestras fecales de niños colombianos en la Costa Norte. Carriles M (derecha e izquierda) marcadores de peso molecular. Carril CA: control positivo para genotipo VP4, carriles 1A, 2A y 4A: genotipos P[6]. Carril 3A: genotipo P[4]. Carril CB: control positivo para genotipo VP7, carriles 2B y 4B genotipo G1.

cuatro segmentos del RNA observada en algunas cepas, sugiere la presencia de al menos ocho patrones electroforéticos encontrados.

El hallazgo de tres genotipos G epidemiológicamente importantes, G1(57.9%), G3 (21.1%) y G2(5.3%) en menor proporción, contrasta con el hallazgo en proporción importante de G9 (15.8%). El G9 considerado emergente, se ha detectado con mas frecuencia en Brasil, Argentina, India y Ghana (22, 26, 28, 30), que en países desarrollados (14, 21). Entre los genotipos asociados a VP4, P[8] predominante globalmente (12, 13,14, 15, 16 ) se detectó en menor proporción (14.5%) que P[4] (49.1%) y P[6] (36.4%).

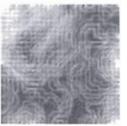
La distribución de genotipos en las ciudades representada en la figura 3, muestra la circulación limitada de algunas cepas. En la figura 4 se muestra que cepas no comunes tales como G3[P4] y G9[P6], fueron ligeramente mas frecuentes que G1[P8], la cual es reconocida como epidemiológicamente importante a nivel mundial (11, 12 14, 17).

Si bien la asociación entre subgrupos y electroferotipos de rotavirus está definida, la correlación absoluta entre genotipos específicos y patrones electroforéticos característicos no se ha demostrado todavía. Todas las cepas G1 [P8] detectadas fueron patrón largo similar a lo informado en otros estudios (15, 19, 28). Sin embargo las cepas

G9 P [6] y G1 P [4] compartían patrones largos y cortos, en concordancia con resultados de otros estudios (28, 30). Al parecer la relación de cepas con edad o severidad de la enfermedad no es clara, nosotros detectamos P[4] en niños sintomáticos mayores de tres meses de edad, al igual que otros informes (22, 32). En otros estudios P[4] se ha asociado con infecciones asintomáticas y en neonatos (57,58).

El índice de infección mixta (21.1%) encontrado, es comparable con lo hallado en Brasil (24) e India (15, 30). Nos llama la atención la diversidad y la circunscripción de cepas en zonas cercanas que difieren en sus condiciones geográficas y demográficas. Es el caso de Sincelejo donde no se encontraron electroferotipos cortos, tampoco genotipos G2 y G9. Estudios similares en Australia sugieren que la diversidad de cepas circulantes puede estar relacionada con la densidad poblacional y ubicación geográfica (10).

Dada la naturaleza segmentada del genoma rotavírico, se producen rearreglos con relativa alta frecuencia, generando un grupo particular de cepas que pueden circular libremente con resultados impredecibles. Esto representa un desafío por las coinfecciones y la diseminación de nuevas cepas debido el amplio rango de huéspedes de rotavirus.



Sin embargo puede tener ventajas por su aplicabilidad en la producción de las vacunas rearmadas.

Puesto que el mecanismo por el cual se alcanza protección contra rotavirus con la infección natural ó con vacunas candidatas es pobremente entendida, se hace énfasis en que los resultados de ensayos de vacunas deben confirmarse en sitios donde circulan diferentes serotipos para establecer su aplicabilidad (38, 39, 45, 56). Por su parte, la OPS en su informe prioriza acciones de diagnóstico, seguimiento y estrategias para determinar la eficacia de las vacunas que se evalúan (45). Sin duda alguna, el monitoreo de los cambios genéticos de las cepas circulantes permite conocer las variantes genéticas de importancia epidemiológica y con base en esa información, tomar las decisiones acertadas para el control de la diarrea.

En conclusión: nuestros resultados revelan una discreta detección de algunos genotipos globalmente importantes, presencia de cepas poco comunes, consideradas emergentes y una significativa proporción de infección mixta, semejándose al cuadro epidemiológico de otros países en desarrollo de América, Asia y África. Esta primera descripción que se hace de los genotipos de rotavirus asociados a la diarrea infantil en Colombia, es una contribución en el desarrollo de estrategias para el control de la diarrea y sirven de referencia en los ensayos de vacunas candidatas en nuestro país. ☼

developing countries. Based on its genetic and antigenic diversity the rotaviruses are classified on groups, subgroups, serotypes and genotypes. Distinct serotypes and genotypes of rotavirus have been detected in humans and animals. Current studies elsewhere, contributes of understanding of the pathogenesis and the role of antibodies and T cells in protection against rotavirus infection. Epidemiological surveillance of rotavirus in Latin America has been implemented in order to develop strategies for the prevention and control of diarrhea. In Colombia epidemiological studies have demonstrated that rotavirus is the enteropathogen more common causing infantile diarrhea. Recently we detected the presence of rotavirus A in 36.5% of children less than 3 years old with diarrhea, in the Colombian northern coast. In addition, three of the most common G genotypes, as well mixed infections (with two or more genotypes) and uncommon strains were detected. **Key words:** Rotavirus- Diarrhea- Genotypes.

**Abstract**

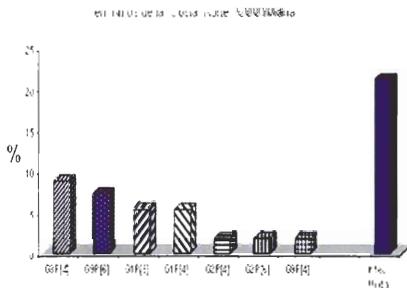
Rotaviruses are an important cause of diarrhea in infants and young children. It is estimated that rotavirus is responsible of 800.000 deaths per year in children under 5 years of age, mostly, in

**Referencias**

1. **Bern C, Martínez J, De Zoysa I, Glass RI.** The magnitude of the global problem of diarrhoeal disease: a ten-year update. *Bull World Health Organ* 1992; 70:705-714.
2. **Hoshino Y, Kapikian Z.** Rotavirus serotypes classification and importance in epidemiology, immunity and vaccine development. *J Health Popul Nutr* 2000; 18: 5-14.
3. **Parashar UD, Bresee JS, Gentsch JR.** Glass RI Rotavirus *Emerg. Infect. Dis.* 1998; <http://www.cdc.gov/ncidod/eid/vol4no4/parashar.htm> Accesado: junio 2004.

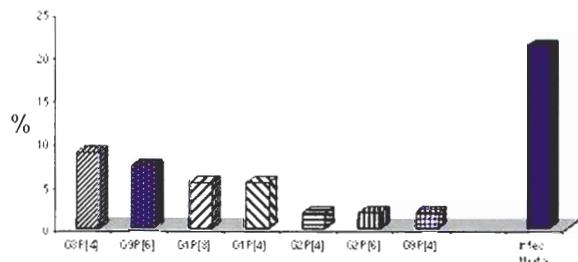
**FIGURA 3**

**Genotipos G y P de RVA detectados en las ciudades**

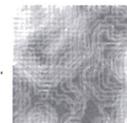


**FIGURA 4**

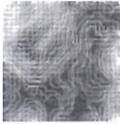
**Combinaciones G-P e infección mixta de Rotavirus Grupo A en niños de la costa norte colombiana**



4. **Estes MK** Rotaviruses and their replication. In: **Fields BN, Knipe DM, Howley PM et al.** (eds) *Fields' Virology* 4th ed. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia 2001. pp 1747-1758.
5. **Fisher TK, Steinsland H, Valentiner-Brand P.** Rotavirus particles can survive storage in ambient tropical temperatures for more than 2 months. *J.Clin. Microbiol.* 2002; 40: 4763-4764.
6. **Caballero S, Abad FX, Loisy F, Le Guyader FS, Cohen J, Pinto RM.** Bosch A Rotavirus- like particles as surrogates in environmental persistence and inactivation studies. *Appl Envir microbial* 2004; 70: 3904-3909.
7. **Kapikian AZ, Hoshino Y, Chanock RM** (2001) Rotaviruses. In: **Fields BN, Knipe DM, Howley PM et al.** (eds) *Fields' Virology* 4th ed. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, PA, pp 1787-1802.
8. **Guerrero CA, Moreno LP, Peñaranda J, Acosta O.** Caracterización electroferotípica de rotavirus aislados con gastroenteritis en la ciudad de Bogotá. *Rev Fac Med. UN Col* 1994; 42: 203-208.
9. **Nakagomi T, Horie J, Koshimura Y, Greenberg HB, and Nakagomi O.** Isolationa of a Human rotavirus strain with a super-short RNA Pattern a new P2 subtype *J Cín Microbiology* 1999; 37: 1213-1216.
10. **Masendycz PJ, Unicomb LE, Kirkwood CD.** Bishop RF Rotavirus serotypes causing severe acute diarrhea in young children in six australian cities, 1989 to 1992. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 2315-2317.
11. **Bishop RF, Masendycz PJ, Bugg HC, Carlin JB, Barnes GL.** Epidemiological patterns of rotaviruses causing severe gastroenteritis in young children through Australia from 1993 to 1996 *J Clin Microbiol.* 2001; 39: 1085-1091.
12. **Steele AD, van Niekerk MC, Mphahlele MJ.** Geographic distribution of human rotavirus VP4 genotypes and VP7 serotypes in five South African regions. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 1516-1519.
13. **Argüelles MH, Villegas GA, Castello A, Abrami A, Ghiringhelli PD, Semorile L.** Glikmann G VP7 and VP4 genotyping of human group A rotavirus in Buenos Aires, Argentina 2000; *J Clin Microbiol* 38: 252-259.
14. **Bon F, Fromantin C, Aho S, Pothier P, Kohli E.**The Azay group G and P genotyping of rotavirus strains circulating in France over a three-year period: detection of G9 and P[6] strains at low frequencies 2000 *J Clin Microbiol* 38: 1681-1683.
15. **Das S, Sen A, Uma G, Varghese V, Chaudhuri S, Bhattacharya SK, Krishnan T, Dutta P, Dutta D, Battacharya MK, Mitra U, Kobayashi N.** Naik TH Genomic diversity of group A rotavirus trains infecting humans in Eastern India *J Clin Microbiol* 2002; 40: 146-149.
16. **Fang ZY, Yang H, Jin Q, Jing Z, Sun LWS, Tang JY, Ma L, Du ZQ, He AH, Xie JP, Lu YY, Ji ZZ, Zu BQ, Wu HY, Lin SE, Xie HP, Griffin DD, Ivanoff B, Glass RI.** Gentsch JR Diversity of rotavirus strains among children with acute diarrhea in China: 1998-2000 surveillance study *J Clin Microbiol* 2002; 40: 1875-1878.
17. **Fruhwirt M, Brosi S, Ellemunter H, Moll-Schüler I, Rohwedder A, Mutz I.** Distribution of rotavirus VP4 genotypes and VP7 serotypes among nonhospitalized and hospitalized patients with gastroenteritis and patients with nosocomially acquired gastroenteritis in Austria *J Clin Microbiol.* 2000; 38: 1804-1806.
18. **Gentsch JR, Woods PA, Ramachandran M, Das BK, Leite JP, Alfieri A, Kumar R, Bhan MK, Glass R.I** Review of G and P typing results from a global collection of strains: implications for vaccine development. *J Infect Dis* 1996; 174 (Suppl 1): S30-S36.
19. **O'Halloran F, Lynch M, Cryann B, O'Shea H, Fanning S.** Molecular characterization of rotavirus in Ireland: detection of novel strains circulating in the population *J Clin Microbiol* 2000; 38: 3370-3374.
20. **Padilla-Noriega L, Mendez-Toss M, Menchaca G, Contreras JF, Romero-Guido P, Puerto FI.** Antigenic and genomic diversity of human rotavirus VP4 in two consecutive epidemic seasons in México. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 1688-1692.
21. **Ramachandran M, Gentsch JR, Parashar UD, Jin S, Woods PA, Holmes JL, Kirkwood CD, Bishop RF, Greenberg HB, Urasawa S, Gerna G, Coulson BS, Taniguchi K, Bresse JS.** Glass RI and The National Rotavirus Strain Surveillance System Collaborating Laboratories Detection and characterization of novel rotavirus strains in the United States. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 3223-3229.
22. **Araújo IT, Ferreira MS, Fialho AA, Assis RM, Cruz CM, Rocha M.** Leite JP Rotavirus genotypes P[4]G9, P[6]G9, and P[8]G9 in hospitalized children with acute gastroenteritis in Rio de Janeiro, Brazil. *J Clin Microbiol.* 2001; 39: 1999-2001.
23. **Gouvea V, de Castro L., C Timenesky M do, Greenberg H, Santos N.** Rotavirus serotype G5 associatted with diarrhea in Brazilian children. *J Clin Microbiol.* 1994; 32: 1408-1409.
24. **Santos N, Lima RC, Pereira CFA, Gouvea V.** Detection of rotavirus types G8 and G10 among Brazilian children with diarrhea. *J Clin Microbiol.* 1998; 36: 2727-2729.
25. **Santos N, Volotão EM, Soares CC, Albuquerque MCM, da Silva FM, de Carvalho TRB, Pereira CFA, Chizhikov V, Hoshino Y.** Rotavirus strains bearing genotype G9 or P[9] recovered from Brazilian children with diarrhea from 1997 to 1999 *J Clin Microbiol.* 2001; 39: 1157-1160.
26. **Bok K, Palacios G, Sijvarger K, Matson DO, Gómez JA.** Emergence of G9 [P6] human rotaviruses in Argentina: phylogenetic relationship among G9 strains *J Clin Microbiol.* 2001; 39: 4020-4025.



27. **Adah MI, Wade A, Taniguchi K.** Molecular epidemiology of rotaviruses in Nigeria: detection of unusual strains with G2 P[6] and G8 P[1] specificities *J Clin Microbiol.* 2001; 39: 3969-3975.
28. **Armah GE, Steele AD, Binka FN, Esona MD, Asmash RH, Anto F, Brown D, Green J, Cutts F, Hall A.** Changing patterns of rotavirus genotypes in Ghana: emergence of human rotavirus G9 as major cause of diarrhea in children. *J. Clin Microbiol.* 2003; 41: 2317-2322.
29. **Pongsuwanna Y, Guntapong R, Chiwakul M, Tacharoenmuanang R, Onvimala N, Wakuda M, Kobayashi N, Tanaguchi K.** Detection of a human rotavirus with G12 and P[9] specificity in Thailand. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 1390-1394.
30. **Jain V, Das BK, Bhan MK, Glass RI, Gentsch JR and The Indian Strain Surveillance Collaborating Laboratories.** Great diversity of group A rotavirus strains and high prevalence of mixed rotavirus infection in India. *J Clin Microbiol.* 2001; 39: 3524-3529.
31. **Ramachandran M, Das BK, Vij A, Kumar R, Bhambal SS, Kesari N, Rawat H, Bhal L, Thakur S, Woods PA, Glass RI, Bhan MK, Gentsch JR.** Unusual diversity of human rotavirus G and P genotypes in India. *J Clin Microbiol* 1996; 34: 436-439.
32. **Cunliffe NA, Gondwe JS, Graham MS, Thindwa BDM, Dove W, Broadhead RL, Molyneux ME, Hart CA.** Rotavirus strain diversity in Blantyre, Malawi, from 1997 to 1999. *J Clin Microbiol.* 2001; 39: 836-843.
33. **Rahman M, Taznim A, Matthijssens, Poddar G, De Vos S, Sack D and M. Van Ranst** Characterization of a novel P[24] G11 Human group of rotavirus. [www.hsc.usf.edu/nocms/medicine/medmicro/virology/Abstract%20index.pdf](http://www.hsc.usf.edu/nocms/medicine/medmicro/virology/Abstract%20index.pdf) . Accesado en Octubre 2004.
34. **Wanad LA, Rosen BI, Yuan L., Saif LJ.** Pathogenesis of an attenuated and a virulent strain of a group A human rotavirus in neonatal gnotobiotic pigs. *J. Gen. Virol* 1996; 77: 1431-1441.
35. **Estes MK, Morris AP.** A viral enterotoxin: A new mechanism of virus-induced pathogenesis. *Adv. Exp. Med. Biol.* 1999; 473: 73-82 .
36. **Lundren O, Peregrin AT Persson K , Kordasti S, Uhnoo I , Svenson L.** Role of the enteric nervous system in the fluid and electrolyte secretion of rotavirus diarrhea. *Science* 2000; 287: 491-495.
37. **Pérez-Scahel I, González RB, Salinas B, Villarreal M., Tomat M, Yarzabal JP.** Rotavirus: Control y Vacunas. ( <http://caico.ucv.ve>) Accesado en Junio 2004.
38. **Ward RL.** Possible mechanisms of protection elicited by candidate rotavirus vaccine as determined with the adult mouse model *Viral Immunology* 2003; 16: 17-24.
39. **Cunliffe NA, Breese JS and CA Hart.** Rotavirus vaccines: Development, Current Issues and Future Prospects. *J Infect.* 2002; 45: 1-9 .
40. **Rojas AM, Boher Y, Guntiñas MJ , Pérez-Schael I.** Homotypic immune response to primary infection with rotavirus serotype G. *J. Med. Virol* 1995; 47: 404-409.
41. **Green KY, Taniguchi K, Mackow ER , Kapikian AZ.** Homotypic and heterotypic epitope-specific responses in adult and infant rotavirus vaccines :Implications for vaccine development. *J Infect Dis* 1990; 161: 667-679.
42. **Ángel J, Franco MA.** Respuesta inmune adaptativa al Rotavirus latreia *Suplemento* 2004; 17: 34 S.
43. **I. Cajiao, Charpilienne A, Pothier P , Kholi E, Greenberg HB, Franco MA, Ángel J.** Frequencies of virus specific CD4+ and CD8+ T lymphocytes secreting interferon gamma after natural rotavirus infection in children and adults *J. Virology* 2002 ; 76: 4741-4749.
44. **Yuan L., Ishida S., Honna S, Patton J.T. Hodgins DC, Kapikian AZ, Hoshino Y.** Homotypic and Heterotypic antibody responses to rotavirus nonstructural protein4 and viral protein (VP) 4, VP6 and VP7 in infants who received selected live oral rotavirus vaccines. *J. Infect. Dis* 2004; 10: 1833-1845.
45. **OPS Reunión Regional sobre la implementación de la vigilancia epidemiológica de Rotavirus.** Informe final. PAHO/FCH/IM/2003-00005 ORIGINAL ([www.paho.org/Spanish/AD/FCH/IM/RotavirusRegMtg\\_Sep2003.pdf](http://www.paho.org/Spanish/AD/FCH/IM/RotavirusRegMtg_Sep2003.pdf)) Accesado en Noviembre 2004.
46. **CDC.** Rotavirus vaccine for the prevention of rotavirus gastroenteritis among children: Recommendations of the Advisory Committee On Immunization Practices (ACP). *NMWR* 1999; 48(RR-2): 1-20.
47. **Urbina D, Cortés A.** Determinación de Rotavirus en niños con enfermedad diarreica aguda. *Ciencia Tecnol Educ.* 1984; 6: 27-38.
48. **Trujillo H, Jaramillo C, Restrepo M, Mejía GI, Zapata CT, Ramírez R, Betancourt R.** Rotaviruses and other enteropathogens in the etiology of acute diarrhea in Medellín, Colombia. *Bol Oficina Sanit Panam* 1985; 98: 251-60.
49. **Arango AE, Aguirre C, Aristizábal L, Hanssen H.** Frecuencia de rotavirus en niños menores de cinco años con diarrea aguda: Primer Informe; estudio en un grupo de niños de la ciudad de Medellín. *Salud Uninorte* 1985; 2: 129-138.
50. **Leal F.** Agentes Epidemiológicos de la Diarrea Aguda en Bogotá. *Pediatría*, 1985; 21: 8-32.
51. **Mora J, Juliao O, Suescun J, Guzmán M.** Estudio longitudinal sobre la epidemiología y la etiología de la enfermedad diarreica aguda en los niños de una comunidad urbana de Bogotá, Colombia *Escuela Colombina de Medicina* 1988; 1: 93-120.
52. **Urbina D, Young G, Torres I.** Diarrea por Rotavirus. *Ciencias Médicas Universidad Cartagena* 2000; 1: 6-12.

- 
53. **Gutiérrez MF, Serrano P, Vanegas CA, Macías A, Riaños M.** Efecto de las variaciones Climáticas en Gastroenteritis causadas por Rotavirus y Adenovirus en niños menores de cuatro años en Santafé de Bogotá entre Junio de 1996 y Junio de 1998. *Médicas UIS* 2000; 14: 24-29.
54. **Urbina D, Arzuza O, Young G, Parra E, Castro R, Puello M.** Rotavirus type A and other enteric pathogens in stool samples from children with acute diarrhea on the Colombian northern coast. *Int Microbiol.* 2003; 6: 27-32.
55. **Gutiérrez MF, Urbina D, Matiz A, Puello M, Mercado M, Parra M, Ajami N, Serrano P, y Trespalcios AA.** Comportamiento de la diarrea causada por virus y bacterias en regiones cercanas a la zona ecuatorial ( Colombia Médica In press).
56. **Urbina D, Rodríguez JG, Arzuza O, Parra E, Young G, Castro R, Del Portillo P.** G and P genotypes of rotavirus circulating among children with diarrhea in the Colombian northern coast *Int Microbiol.* 2004; 7: 113-120.
57. **Das KB , Gentsch JR, Cicirello HG, Woods PA, Gupta A, Ramachandran M, Kumar R, Bhan MK, Glass RI** Characterization of rotavirus strains from newborns in new Delhi, India. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 1820-1822.
58. **Linhares AC, Mascarenhas JDP, Gusmão RHP, Gabbay YB, Filho AMI, Leite JPG** Neonatal rotavirus infections in Belem, northern Brazil: nosocomial transmission of a P[6] G2 strain *J Med Virol* 2002; 67: 418-426.