

## ASPECTOS VIROLOGICOS Y CLINICOEPIDEMIOLOGICOS DE LA INFECCION POR ROTAVIRUS. PRIMERA PARTE

INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL "PEDRO KOURI"  
DEPARTAMENTO DE VIROLOGIA

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

### RESUMEN

En el presente trabajo, que constituye la primera parte de un artículo de revisión sobre rotavirus, se tratan aspectos relacionados con los antecedentes de dichos virus. Además se presenta una información actualizada sobre la morfología, el genoma y los polipéptidos de la estructura viral. Son también aspectos de estudio los diferentes serotipos de los rotavirus, así como sus propiedades antigénicas; la estabilidad e inactivación del virus; su ciclo de multiplicación y la propagación en cultivos celulares.

### ANTECEDENTES

El primer reporte de gastroenteritis por rotavirus fue realizado por Light, y Hodes,<sup>1,2</sup> quienes aislaron un agente filtrable en las heces fecales de niños con gastroenteritis y demostraron que el mismo producía diarreas en terneros, denominándolo agente de Baltimore. Estas muestras se mantuvieron liofilizadas desde 1943 y en 1977 al ser analizadas por microscopía electrónica (ME) revelaron una morfología típica de rotavirus, aunque no se pudo establecer si el virus era de origen humano o de ternero, pues después de tan largo período de almacenamiento no fue infeccioso. Posteriormente, otros virus con características de reovirus han sido aislados, incluyendo el virus causante de la diarrea epizootica de las<sup>3</sup> ratas lactantes, virus SA 11 de mono<sup>4</sup> y rotavirus bovino entre otros.<sup>5</sup>

---

\* Especialista de I Grado en Microbiología.

Un virus similar al descrito por Mebus, et al.<sup>5</sup> que causaba diarreas en los niños, fue reportado por primera vez en 1973 en Australia por Bishop, et al.<sup>6</sup> cuando examinaban biopsias duodenales de niños con gastroenteritis por ME. Estos autores encontraron partículas similares a orbivirus en las células epiteliales de la mucosa intestinal. Simultáneamente en Inglaterra, Flewett, et al.<sup>7</sup> detectaron el virus en extractos fecales utilizando la técnica de tinción negativa en ME.

Estos virus en su origen recibieron diferentes nombres como: rotavirus, orbivirus, duovirus, agente similar a los reovirus o virus de la gastroenteritis infantil.

El nombre reovirus proviene del término inglés respiratory enteric orphan virus que quiere decir virus huérfano intestinal o respiratorio (huérfano porque no parecía estar relacionado con una enfermedad).

El género rotavirus fue establecido por el Comité Internacional de Taxonomía de virus en el IV Congreso Internacional de Virología de 1978,<sup>8</sup> perteneciendo a la familia reoviridae junto con los reovirus 1, 2 y 3, los orbivirus y 3 géneros de las plantas (tabla 1).

**TABLA 1. Familia reoviridae**

Género	Virus	No. de genes	Hospedero	Poder patógeno
Orthoreovirus	Reovirus (Mamíferos)	10	Hombre Mamíferos	Ninguno
	Reovirus (Aviarios)	10	Aves	
Orbivirus	Varios subgrupos	10	Mamíferos Insectos	Encefalitis
	Virus de la Fiebre del colorado	12	Hombre Garrapata	
Rotavirus	Humano (4 serotipos)	11	Hombre Mamíferos	Diarreas
	Animal			
Cypovirus		10	Insectos	
Phitoreovirus	Varios virus	12	Plantas	Ninguno
Filivirus		10	Plantas	

Rodger y Holmes<sup>9</sup> sugirieron un modelo para la nomenclatura de los rotavirus basado en el utilizado para los virus influenza, en el que se incluía la siguiente información: especie animal del cual fue aislado el virus; origen geográfico (país, ciudad); de identificación de cepas; año de aislamiento; serotipo y electroforetipo específico.

Se encontró que estos agentes son la causa principal de enteritis agudas en niños en el mundo<sup>10-12</sup> (tabla 2).

Debido a la importancia de estos virus como patógenos tanto para los humanos como para los animales, se está haciendo un esfuerzo por desarrollar métodos efectivos para la prevención y el tratamiento de la infección. Es por ello que se han estimulado los estudios de biología molecular, así como los relacionados con los mecanismos de replicación del virus, su comportamiento clínico y epidemiológico y el origen de la infección e inmunidad.

Virus muy semejantes a rotavirus en tamaño, morfología, número de segmentos del genoma se han reportado en el humano<sup>13</sup> y en el cerdo.<sup>14,15</sup> El origen y significado de estos virus no está claro, pero podrían constituir eventualmente un subgrupo separado dentro del género rotavirus. Ellos se reconocen por ME, pues por las pruebas inmunológicas existentes para rotavirus no se les puede detectar. Un ejemplo de lo anteriormente expuesto es el pararotavirus, agente aislado entre 350 cepas de rotavirus humano el cual es diferente electroforéticamente.<sup>14</sup>

## MORFOLOGIA DEL VIRUS

Utilizando la técnica de tinción negativa puede observarse, al microscopio electrónico, que la partícula intacta de rotavirus tiene forma de rueda, saliendo en forma radiada de las capsómeras, limitadas del medio externo por una membrana proteica.<sup>16</sup> Similar a otros géneros de la misma familia, este virus tiene una doble cápside y un contorno bien definido, pues el resto de la familia tiene una cápside externa amorfa (figura 1). Cuando la cápside externa es eliminada naturalmente o con la disminución de calcio del medio, los rotavirus toman una apariencia rugosa.

La cápside externa tiene 5 nm de espesor y está perforada por numerosos agujeros de 3 nm de diámetro que presentan una organización de pentámero y hexámero.<sup>17</sup> La partícula completa de rotavirus mide de 67 a 68 nm y cuando pierde la cápside externa 55 nm. El centro tiene una estructura icosaédrica que mide 38 nm.<sup>18</sup> La densidad en cloruro de calcio en las partículas con cápside doble es de 1.36 g/mL y en las de cápside única de 1.38 g/mL.<sup>19,20</sup> El coeficiente de sedimentación viral es de 520 a 530 s.

Por poseer una estructura icosaédrica, pueden agruparse en cuanto al número de triangulaciones (T), teniendo el rotavirus T=3 y por lo tanto 32 capsómeras de acuerdo con la fórmula  $M=10T+2$ , donde M es el número de capsómeras.<sup>18,21</sup> Estos virus carecen de envoltura lipídica.

Durante la multiplicación del virus aparecen unidades estructurales en forma de partículas libres de 10 nm de diámetro que resultan de la fragmen-

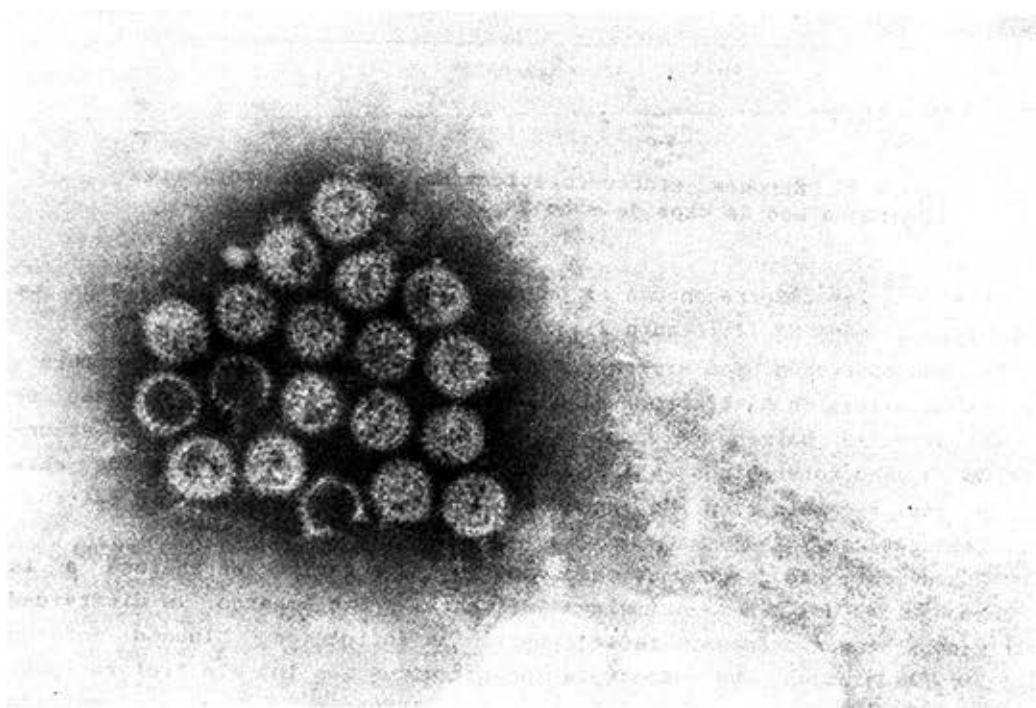
**TABLA 2. Porcentajes de agentes causales, demostrados en niños con diarreas en algunas publicaciones recientes**

País	No. de casos	Rota.	Adeno.	Campy.	Yersina	Salmonella	Shigella	ECEP	ECEI	VC	Parásitos	Desc.
Finlandia	283	49	11	2,5	0,7	1,4	0	3,9	1,4	-	1,4	35
Inglaterra	447	34	17	5,1	0	4,3	2	6,9	-	-	0	25
EE.UU.	143	42	11	-	-	2,8	7	7	0	-	-	29
Australia	378	52	7	-	-	11	1	2	-	-	-	25
Etiopia	175	49	-	13	-	0	2	19	9	-	3	30
Costa Rica	345	45	-	8	-	7,3	8,1	-	13	-	4,9	37
Méjico	340	17	1 <sup>a</sup>	-	-	12	14	-	7	-	3	40
Bangladesh	2 614	46	-	-	-	<1	5	-	28	2	-	30
Cuba	515	26	-	-	-	1,2	1,4	8,4	-	-	22	41

Leyenda: Rota: rotavirus. Adeno: adenovirus. Campy: campylobacter. ECEP: E. coli enteropatógena. ECEI: E. coli enteroinvasiva. VC: vibrio cholerae. 0: buscando no encontrado. -: no buscado.

Fuente: Cabrera, L.N., Villa Clara, 1987. WHO, Ginebra, 1982.

tación del rotavirus.<sup>22</sup> También se presentan formas tubulares que tienen longitud variable,<sup>23</sup> generalmente de 54 a 100 nm y que se han encontrado en cultivo de células. El significado de estas formas tubulares se desconoce, aunque se ha sugerido que son estructuras aberrantes, producidas durante el ensamblaje de la cápside. Otros tipos de partículas de rotavirus han sido descritas (incluyendo partículas envueltas), en estudios de morfogénesis realizados en cultivos celulares.



Fuente: Laurencó, M.H. et al.: *Ann. Virol.* 132 E, 1981.

Figura 1. Aspecto típico del rotavirus en microscopia electrónica. Magnificación.

## GENOMA DE LOS ROTAVIRUS

Los rotavirus tienen un ARN (ácido ribonucleico) de doble cadena con 11 segmentos, los que pueden ser separados por electroforesis en gel de poliacrilamida (PAGE). Los pesos moleculares de cada segmento varían desde  $0.2 \times 10^6$  a  $2.2 \times 10^6$  dalton, con un peso molecular total de  $11 \times 10^6$  a  $14 \times 10^6$  dalton. Los orbivirus y los reovirus sólo tienen 10 segmentos en su ARN.<sup>21</sup> Basado en las técnicas de PAGE y ME, Kalica et al.<sup>24</sup> dividieron a los 11 segmentos de ARN en grupos de I-IV: bandas 1, 2, 3 y 4 en el grupo I, bandas 5 y 6 en el grupo II, bandas 7, 8 y 9 en el grupo III y bandas 10 y 11 en el grupo IV. En cada grupo a su vez existen patrones con letras (a, b, c, ... etcétera). Para facilitar el estudio de cepas de rotavirus, Lauren-

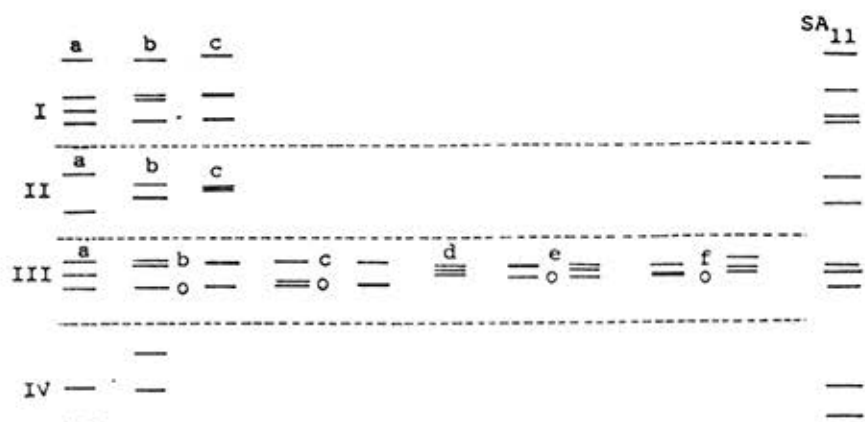


Figura 2. Patrones electroforéticos de cepas de rotavirus comparados con la cepa de mono SA 11.

co et al.,<sup>25</sup> las compararon con el patrón electroforético de la cepa de rotavirus de mono SA 11 (figura 2).

Se han observado gran diversidad de genomas de rotavirus en el hombre y en los animales. En Australia<sup>26</sup> en 6 años de estudio en una ciudad se encontraron 19 patrones electroforéticos diferentes y en Francia<sup>25</sup> encontraron 29 electroferotipos en 1 año. La aparición de nuevas cepas de este virus por recombinación de genes explica esta variación de los patrones electroforéticos.

La gran variedad de genomas observado en los rotavirus es análoga a la heterogeneidad del genoma del virus influenza.<sup>27</sup> Sin embargo, la diversidad del mismo no necesariamente refleja variación antigénica. Algunos autores han correlacionado los serotipos de rotavirus con los electroforetipos, pero debido a que son agentes difíciles de cultivar no se han profundizado en estos estudios.<sup>28</sup>

Los segmentos 10 y 11 del ARN sólo pueden presentar dos patrones electroforéticos: largo y corto de acuerdo con la distancia de migración.

## POLYPEPTIDOS DE LA ESTRUCTURA VIRAL

Los primeros estudios de la estructura polipeptídica fueron realizados por Rodger et al. en 1975.<sup>29</sup>

Se han analizado los polipéptidos a partir de muestras de heces fecales y de cultivo de células infectados y existían discrepancias entre los autores en cuanto al número de polipéptidos y a sus pesos moleculares, lo cual es posible debido a:

1. Diversidad en la resolución de los sistemas PAGE usados.
2. No utilización de patrones para determinar el peso molecular.
3. Alteración de los patrones de polipéptidos por la presencia de enzimas proteolíticas en las preparaciones de virus obtenidas a partir de heces fecales o de cultivo de tejidos. La cepa SA 11 ha sido la más estudiada.

y se ha determinado que posee 9 polipéptidos, cada uno de los cuales se ha relacionado con un segmento de ARN que los produce, así como con su localización en la cápside. Estos pueden variar si el virus se expone a la acción de las enzimas proteolíticas antes del cultivo<sup>30</sup> (tabla 3).

**TABLA 3. Polipéptidos detectados en las partículas del rotavirus de mono SA-11**

Partículas de doble cápside cultivadas en ausencia de tripsina	Partículas de doble cápside cultivadas en presencia de tripsina	Polipéptidos (PM x 10 <sup>3</sup> )
VP-1	VP-1	125
VP-2	VP-2	94
VP-3	VP-3	88
	VP-4	84
	VP-5	60
VP-6	VP-6	41
VP-7	VP-7	38
	VP-8	28
VP-9	VP-9	27

Entre las proteínas de la cápside externa se incluyen:

1. La proteína VP3 sensible a la tripsina que se ha identificado como la hemaglutinina viral.<sup>31</sup> Es responsable de la infectividad, la formación de placas y en ocasiones de la capacidad de multiplicación en cultivo de células. Su degradación produce los polipéptidos VP5 y VP8 responsables directamente del aumento de la infectividad.<sup>32</sup> Es codificada por el cuarto segmento del ARN.<sup>33</sup>
2. La proteína glucosilada VP7, es el antígeno neutralizante tipo específico y probablemente es importante en desencadenar la respuesta protectora de anticuerpos.<sup>33</sup> Es codificada por el segmento 8 ó 9 del ARN dependiendo de la cepa. No se sabe si la heterogeneidad de este polipéptido afecte el antígeno viral o la virulencia. Se ha encontrado que la falta de glucosilación de la VP7 no afecta la morfología del virus, el crecimiento, la hemaglutinación, la estabilidad a los cambios de pH o a las elevadas temperaturas.<sup>34</sup>
3. La proteína VP9 no ha sido encontrada por todos los autores<sup>35</sup> y no se conoce su función.

Las proteínas de la cápside interna son:

1. La proteína VP6 que comprende el 80 % de la masa proteica tiene una sola cápside y representa el antígeno de subgrupo.<sup>36</sup> La presencia de 2 determinantes antigénicos en la misma ha sido confirmada con el uso de anticuerpos monoclonales;<sup>37</sup> un determinante es común a todas las cepas del



rotavirus y el otro le da la característica específica de subgrupo. Este antígeno es codificado por el cuarto segmento del ARN.

2. La proteína VP2 es otro polipéptido que tiene alto peso molecular. Cuando sobre él actúan de forma prolongada las proteasas puede ocurrir también la separación y formación de dos polipéptidos.
3. La VP1 es la proteína menor de la cápside.

Los polipéptidos responsables de la unión del virus a los receptores de la célula, de la virulencia y de la actividad enzimática permanecen aún desconocidos.<sup>38</sup>

Se han encontrado polipéptidos no estructurales en los rotavirus y se designan por las letras NS seguidos por su peso molecular, ejemplos NS53, NS35, etcétera. Ellos se caracterizan por su ausencia de las preparaciones de virus purificadas y por que no precipitan con el suero hiperinmune específico.<sup>39</sup>

Los rotavirus tienen 2 glicoproteínas, una estructural formando parte del VP7 y otra no estructural. La presencia de glicoproteínas en virus no envueltos es rara. Algunos autores<sup>40</sup> sugieren que pueden tener una función en la morfogénesis viral.

Se ha demostrado que las partículas de doble cápside son las infecciosas y las responsables de la hemaglutinación.<sup>41</sup>

## SEROTIPOS Y PROPIEDADES ANTIGENICAS DE LOS ROTAVIRUS

Los rotavirus tienen al menos 4 grupos antigénicos:<sup>38,42</sup>

1. Antígenos de grupo: es el asociado con la partícula viral de 1.38 g/mL detectable por fijación de complemento (FC'), ELISA y microscopia electrónica inmunitaria (MEI), entre otros.
2. Antígeno de subgrupo: es una parte del antígeno de grupo se estudia más específicamente por FC'. Con la utilización de anticuerpos monoclonales es detectado por ELISA y radioinmunoensayo (RIA).
3. Un antígeno formado por un polipéptido glicosilado de la cápside externa de la partícula completa de 1.36 g/mL, detectable por pruebas de neutralización.
4. Antígeno hemaglutinante asociado con una hemaglutinina (VP3) probablemente refleja reactividad tipo específico.

El análisis de cepas de rotavirus por inhibición de la hemaglutinación (IH) y prueba de neutralización confirma que las mismas detectan diferentes antígenos.<sup>43,44</sup>

Para la determinación de los serotipos se han utilizado las pruebas de neutralización con el suero de los pacientes infectados. La neutralización por reducción en placas se aplica para los rotavirus que son cultivables (bovino, mono, humano, etcétera)<sup>45</sup> y para los que no lo son la neutralización de unidades formadoras de focos fluorescentes.<sup>46</sup>



Se ha demostrado que hay al menos 4 serotipos humanos,<sup>47</sup> cada uno de los cuales tiene diversas cepas.<sup>48</sup> Existe un posible quinto serotipo<sup>49</sup> integrado por 4 cepas aisladas en Japón que no han sido incluidas hasta el momento en los serotipos anteriores.

En cuanto a la clasificación en subgrupos en el humano existen 2 y en los animales 1, el subgrupo 1 humano tiene un patrón de migración corto de los segmentos 11 y 12 y el 2 un patrón de migración largo. El serotipo 2 humano se correlaciona con el patrón corto de la electroforesis presentando el resto de los serotipos el patrón largo.<sup>28</sup>

## ESTABILIDAD E INACTIVACION DEL VIRUS

La estabilidad ha sido evaluada monitoreando la infectividad del virus.<sup>50</sup> La cepa SA si es estable a pH bajos, (de 3 a 5) al éter, cloroformo, congelación y descongelación, sonicación; y es lábil a pH por encima de 10 y al tratamiento con agentes quelantes, en bajas concentraciones como el EDTA y el EGTA, y también con altas concentraciones de  $\text{CaCl}_2$  y calor a  $50^\circ\text{C}$  en  $\text{MgCl}_2$ , pero se estabiliza el virus en calor con  $\text{MgSO}_4$ .<sup>21,50</sup>

Un estudio con rotavirus humanos demostró que el virus es estable en presencia de bajas concentraciones de  $\text{CaCl}_2$ . El calcio ha sido implicado en el mantenimiento de la integridad del virus. Se ha demostrado que las glucoproteínas de la cápside externa son eliminadas con los agentes quelantes.<sup>51</sup> La infectividad del virus aumenta por el tratamiento con las enzimas proteolíticas como la tripsina, la pancreatina y la elastasa.

La morfología no parece alterarse con el calor y es estable al tratamiento con enzimas proteolíticas. El tratamiento con EGTA altera la morfología y además 2 compuestos el tiocianato de sodio y  $\text{CaCl}_2$  eliminan la cápside interna del virion.<sup>52</sup>

Estudios comparativos con desinfectantes comunes sobre la infectividad de la cepa SA 11 concluyen que el etanol al 95 % y sus compuestos son efectivos como desinfectantes de la piel.<sup>53</sup> así como la formalina y el lisol cuando se aplican por más de 2 horas. El rotavirus SA 11 purificado, es inactivado rápidamente con el cloro. El mecanismo de agregación del virus o la absorción a fase sólida puede ser importante en la supervivencia del rotavirus en las áreas de tratamiento de agua o en agua corriente clorada.<sup>54</sup>

## CICLO DE MULTIPLICACION

Es a partir de 1981 que los rotavirus humanos se han podido cultivar en la mayoría de los laboratorios. Actualmente, para estudiar la replicación del rotavirus, se toma como modelo el virus bovino y el de mono (figura 3). No se conoce si todas las cepas, incluyendo las humanas, tienen el mismo patrón de replicación.

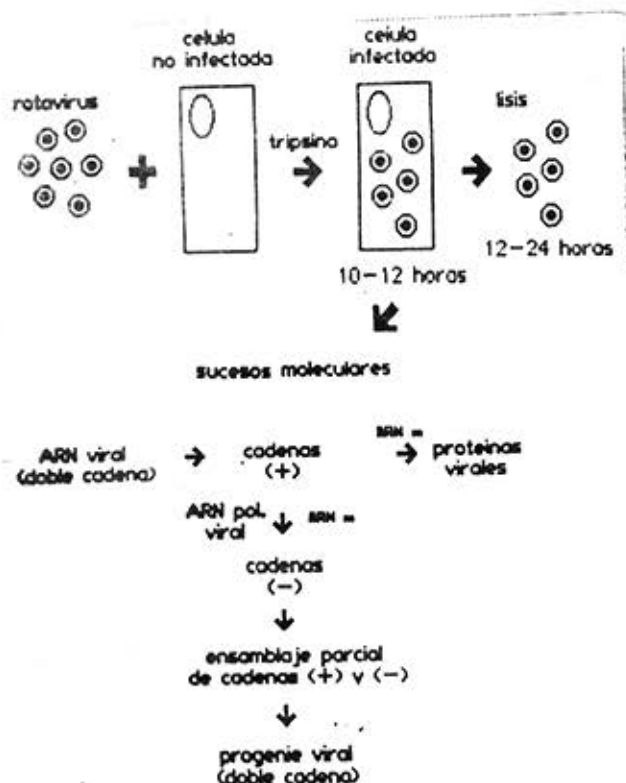


Figura 3. Multiplicación de rotavirus. Sucesos celulares y moleculares.

Estos virus tienen un rápido período de replicación (12 horas). La fase de eclipse viral es de 2 a 3 horas con un máximo de producción del virus en 12 horas a 37 °C. Las enzimas proteolíticas aumentan la infectividad viral y pueden alterar las curvas de crecimiento del virus. Si las células son tratadas previamente con tripsina se activan y el virus tiene una gran multiplicación (10 a 20 unidades formadoras de placa-célula) y el ciclo de replicación es completo en 10 a 12 horas a 37 °C). La síntesis de proteínas virales es máxima a las 3 a 5 horas posinfección pues por la técnica de anticuerpos fluorescente, los antígenos virales son detectados de 4 a 6 horas posinfección.<sup>55</sup>

La multiplicación ocurre en el citoplasma de la célula y los antígenos se detectan frecuentemente como discretos gránulos perinucleares. A medida que avanza la infección los antígenos se encuentran presente en todo el citoplasma. El virus penetra por endocitosis y es secuestrado por los lisosomas donde pierde la cápside formando partículas subvirales de 50 nm.<sup>56</sup>

Después de la fase de eclipse las partículas están constituidas por un nucleóide denso (de 25 a 35 nm) rodeado de una capa de material menos denso, que son las inclusiones citoplasmáticas granulares (viroplasmias) donde son sintetizadas las proteínas virales y probablemente el ARN.

La replicación del ARN es del tipo IV. Cada uno de los fragmentos del ARN de todos los rotavirus se replica independientemente. A partir de las

cadenas positivas nacientes y mediante la enzima transcriptasa se forman las cadenas negativas. Estas cadenas negativas se aparejan con las positivas mensajeras y forman un nuevo virion, de ahí que esta replicación a diferencia de la del ADN es simétrica y conservadora; solamente las cadenas negativas del ARN del virion sirven de modelo inicial y el ARN progenitor no acaba en la descendencia.<sup>57</sup>

Estos sucesos ocurren en áreas del ribosoma de la célula, de allí pasan al retículo endoplasmático rugoso y forman vesículas hinchadas que se envuelven en este proceso. En las cisternas del retículo endoplasmático se forman grandes vacuolas llenas de partículas virales de varios tamaños.

En estudios realizados por Petrie, et al.<sup>58</sup> por ME inmunoquímica, usando antisuero polivalente contra las partículas de una sola cápside y de 2, se demostró que las proteínas de la cápside interna del virion son sintetizadas cuando se encuentran en el viroplasma, mientras que la cápside externa es sintetizada en el retículo endoplasmático rugoso en el proceso de gemación a través de la cisterna de dicho organelo. Las partículas del virus salen de la célula por un proceso de exocitosis o por ruptura de la membrana plasmática. Simultáneamente con la replicación del virus, ocurren cambios en el núcleo y en las mitocondrias de la célula debido a las acumulaciones de partículas virales, inhibiéndose la síntesis de macromoléculas<sup>59</sup> de las células del hospedero y con ellas las funciones de la misma.

## PROPAGACION EN CULTIVOS CELULARES

El rotavirus de mono SA 11 fue propagado en cultivo de tejidos en 1960.<sup>4</sup> En ese momento no se asociaba el virus como causante de enfermedad. Posteriormente se cultivaron diferentes virus provenientes de animales. El reconocimiento de que las enzimas proteolíticas incrementaban la replicación del virus, contribuyó a la detección, aislamiento y propagación del virus en cultivo de tejidos.<sup>60</sup> Se ha reportado el cultivo de varias cepas de rotavirus humano.<sup>61,62</sup> usando tripsina en el medio previo a la inoculación del virus en las células y manteniéndolas en cultivos rotatorios durante todo el curso de la infección. La primera de estas cepas humanas, la Wa,<sup>63</sup> fue aislada en cultivos primarios de células de riñón de mono verde.

En estudios del SA 11<sup>35,63</sup> se demostró que el mayor polipéptido de la cápside externa, el VP3, es fragmentado por la tripsina (no por la quimiotripsina) en sus productos de degradación VP5 y VP8 que aumentan la infectividad. También ocurre la degradación del polipéptido VP2, pero no se sabe la función de estos productos, ni tampoco si es un mecanismo común para todas las cepas virales. Estas observaciones sobre tratamiento con tripsina han sugerido que ella actúa en el virus y no sobre la célula, aumentando probablemente la capacidad de replicación del virus una vez que penetra en la célula.<sup>64,65</sup>

En 1981 Hoshino et al.<sup>66</sup> basados en las características de los rotavirus en los cultivos celulares los dividieron en 2 grupos:

- Los que crecen muy pobremente sin el tratamiento de enzimas proteolíticas (humano, porcino, de pollo, etcétera).
- Los que se pueden multiplicar en cultivos celulares sin la ayuda de enzimas proteolíticas (mono, bovino, canino, etcétera).

Aunque existe una variedad de células primarias y células de línea epiteliales en las que crece el rotavirus, como son: las células embrionarias de riñón humano y bovino, células de línea LLCMK<sub>2</sub> (riñón de mono), IBR-S<sub>2</sub> (riñón de cerdo), CV<sub>1</sub> (riñón de mono reshus fetal), son las MA 104 de riñón de mono reshus fetal en las que casi todas las cepas humanas se replican directamente a partir de la muestra o por adaptación después que han sido multiplicadas en otras células de líneas.

Hay una diversidad de efecto citopático producido por cada cepa viral en dependencia del tipo de célula en la cual ha sido inoculada. Vrasawa et al.<sup>62</sup> describieron en las células MA 104 inoculadas con SA 11 un efecto que consistió en desprendimiento celular visible en 3 a 4 días de permanecer el virus en contacto con las células; en las células CV<sub>1</sub> el efecto consistió en un aumento de la granulosidad de las células infectadas.<sup>1</sup>

Para desarrollar las técnicas de formación de placa, varias cepas humanas se han adaptado a crecer en cultivos estacionarios. En los casos en que esto no ha sido posible, se ha desarrollado la técnica de neutralización de focos fluorescentes para cuantificar la infectividad viral.<sup>67,68</sup> Esta técnica se ha utilizado para comparar serotipos de rotavirus humanos, cuando el virus se replica pobremente y no produce efecto citopático o cuando ocurren infecciones abortivas.

En la interacción virus-hospedero ha sido reportado el establecimiento de infección persistente, pero el mecanismo celular y la influencia de esta interacción no ha sido definida.<sup>69</sup> Partículas defectivas se han formado como resultado de la infección de células de riñón embrionario humano con rotavirus humano, lo que ocasiona una pobre replicación (menor del 1 %) de las células infectadas que sintetizaban principalmente partículas sin la cápside externa.<sup>21</sup>

## SUMMARY

This paper, the first part of a review article on rotavirus, deals with aspects related to the history of such virus. In addition, an up-date information on the morphology, genome and polypeptides of the viral structure, is presented. Different serotypes of rotavirus, as well as their antigenic properties, stability and inactivation, multiplication cycle and propagation in cell cultures are also aspects of study.

## RESUME

Dans ce travail, qui constitue la première partie d'un article de revue sur les rotavirus, on envisage des aspects concernant les antécédents de ces

virus. On présente, en plus, une information actualisée sur la morphologie, le génome et les polypeptides de la structure virale. On étudie également les différents sérotypes des rotavirus, ainsi que leurs propriétés antigéniques, la stabilité et l'inactivation du virus, son cycle de multiplication et la propagation en cultures cellulaires.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. LIGHT, J. S.; H. L. HODES: Studies of epidemic diarrhea of the newborn: Isolation of a filtrable agent causing diarrhea in calves. *Am J Public Health* 33:1451-1454, 1943.
2. LIGHT, J. S.; H. L. HODES: Isolation from cases of infantile diarrhea of a filtrable agent causing diarrhea in calves. *J Exp Med* 90:113-135, 1949.
3. BANFIELD, W. G. ET AL.: Further observations on the virus of epizootic diarrhea of infants mice: an electron microscopy study. *Virology* 36:411-421, 1968.
4. MALBERNE, H. H. ET AL.: The cytopathic effect of rhesus monkey viruses. *S Afr Med J* 37:407-411, 1967.
5. MEBUS, C. A. ET AL.: Calf diarrhea (scours); reproduced with a virus from a field outbreak. *Bull Neb Agric Exp Station* 233:1-16, 1969.
6. BISHOP, R. F. ET AL.: Virus particles in the epithelial cells of duodenal mucosa, from children of acute non-bacterial gastroenteritis. *Lancet* 2:1281-1283, 1973.
7. FLEWETT, T. H. ET AL.: Virus particles in gastroenteritis. *Lancet* 2:1497, 1973.
8. MATTHEWS, 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.
9. RODGER, S. M.; I. H. HOLMES: Comparison of the genome of simian, bovine of human rotaviruses by gel electrophoresis and detection of genomic variation among bovine isolates. *J Virol* 30: 839-846, 1979.
10. WHO: Report of the second meeting of the scientific working group of viral diarrheas. Microbiology, Epidemiology Immunology and vaccine development. Genova 1982.
11. BISHOP, R. F. ET AL.: Detection of new virus by electron microscopy of faecal extracts from children with acute gastroenteritis. *Lancet* 1:149-151, 1974.
12. CABRERA, L. N.: Aplicación de la electroforesis en gel de poliacrilamida para diagnóstico de rotavirus en niños con EDA. Estudio Clínico-Epidemiológico durante un año. Trabajo para optar por el título de Especialista en Microbiología. Centro Provincial de Higiene y Epidemiología. Santa Clara. Villa Clara, Cuba, 1987.
13. BOHL, E. H. ET AL.: Porcine pararotavirus: detection, differentiation from rotavirus and pathogenesis in gnotobiotic pigs. *J Clin Microbiol* 15:312-319, 1982.
14. NICOLAS, J. C. ET AL.: Isolation of a human pararotavirus. *Virology* 124:181-184, 1983.
15. RODGER, S. M. ET AL.: Detection of a rotavirus-like agent associated with diarrhea in infant. *J Clin Microbiol* 16:724-726, 1982.
16. FLEWETT, T. H. ET AL.: Relation between viruses from acute gastroenteritis of children and newborn calves. *Lancet* 2: 61-63, 1974.
17. ROSETO, A. ET AL.: Structure of rotaviruses as studied by the freeze-drying technique. *Virology* 98:472-475, 1979.
18. PALMER, E. L. ET AL.: Morphology and stability of infantile gastroenteritis virus: comparison with reovirus and bluetongue virus. *J Gen Virol* 37: 404-414, 1977.



19. KAPIKIAN, A. Z.; R. H. YOLKEN: Diagnostic procedures for viral, rickettsial and chlamydial infections. 5th ed. Am Public Health Association Washington, 1979. pp. 927-982.
20. NEWMAN, J. F. E. ET AL.: Characterization of a rotavirus. *Nature* 258: 631-633, 1975.
21. JAWETS, E. ET AL.: Manual de Microbiología Médica. 9na ed. México, Ed. El Manual Moderno, S.A., 1981. pp. 488-491.
22. ESPARZA, G.; F. GIL: A study of ultrastructure of human rotavirus. *Virology* 91: 141-150, 1978.
23. KIMURA, T.; T. MURAKAMI: Tubular structures associated with acute non-bacterial gastroenteritis in young children. *Infect Immunol* 17: 157-160, 1977.
24. KALICA, A. R. ET AL.: Differentiation of human and calf reoviruslike agents associated with diarrhea using polyacrylamide gel electrophoresis of RNA. *Virology* 74: 86-92, 1976.
25. LOURENCO, M. H. ET AL.: Study of human rotavirus genome by electrophoresis: attempt of classification among strains isolated in France. *Ann Virol* 132: 161-173, 1981.
26. RODGER, S. M. ET AL.: Molecular epidemiology of human rotaviruses in Melbourne, Australia, from 1973-1979, as determined by electrophoresis of genome ribonucleic acid. *J Clin Microbiol* 13:272-278, 1981.
27. PALESE, P.: The genes of influenza virus. *Cell* 10: 1-10, 1977.
28. KALICA, A. R. ET AL.: Distinctive ribonucleic acid patterns of human rotavirus subgroups 1 and 2. *Infect Immunol* 33: 958-961, 1981.
29. RODGER, S. M. ET AL.: Biochemical and biophysical characteristics of diarrhea viruses of human and calf origin. *J Virol* 16: 1229-1235, 1975.
30. ESTES, M. K. ET AL.: Rotaviruses. A Review. *Current Topics of Microbiology*, pp. 123-184, 1983.
31. KALICA, A. R. ET AL.: Identification of the rotaviral genes that codes for haemagglutination and protease enhanced plaque formation. *Virology* 125:194-205, 1983.
32. OFFIT, P. A. ET AL.: The cultivation of human rotavirus, strain 'Wa' to high titer in cell culture and characterization of the viral structural polypeptides. *J Virol Met* 7:29-40, 1983.
33. BASTARDO, J. W. ET AL.: Preparation and characterization of antisera to electrophoretically purified SA 11 virus polypeptides. *Infect Immunol* 34:641-647, 1981.
34. ESTES, M. K. ET AL.: Heterogeneity in the structural glycoprotein (VP<sub>7</sub>) of simian rotavirus SA 11. *Virology* 122:8-14, 1982.
35. ESPEJO, R. T. ET AL.: Structural polypeptides of simian rotavirus SA 11 and the effect of trypsin. *J Virol* 37:156-160, 1981.
36. BRIDGER, J. C.: Location of type-specific antigens in calf rotaviruses. *J Clin Microbiol* 8: 625-628, 1978.
37. THOULESS, M. E. ET AL.: Serotyping and subgrouping of rotavirus strains by the ELISA test. *Arch Virol* 73:219-230, 1982.
38. ESTES, M. K. ET AL.: Antigenic structure of rotaviruses. *Immunochemistry of virus*. Van Regenmortel M.H.V.; A.R. Neurath (Eds.). Elsevier Science Publishers B.V. 1985, pp. 309-405.
39. ERICSON, B. L. ET AL.: Identification, synthesis and modifications of simian rotavirus SA 11 polypeptides in infected cells. *J Virol* 42:825-839, 1982.
40. ALTENBURG, B. C. ET AL.: Ultrastructural study of rotavirus replication in cultured cells. *J Gen Virol* 46: 75-85, 1980.
41. INABA, Y. ET AL.: Haemagglutination with Nebraska calf diarrhea virus. *Microbiol Immunol* 21: 531-534, 1977.
42. BEARDS, G. M.; H. H. FLEWETT: Serological characterization of human rotavirus propagated in cell culture. *Arch Virol* 80: 231-237, 1984.
43. HOSHINO, Y. ET AL.: Serological comparison of canine rotavirus with various simian and human rotavirus by plaque reduction neutralization and haemagglutination inhibition tests. *Infect Immunol* 41:169-173, 1983.

44. THOULESS, M. E. ET AL.: Serological relationships between rotavirus from different species as studied by complement fixation and neutralization. *Arch Virol* 53:287-294, 1977.
45. ESTES, M. K.; D. Y. GRAHAM: Identification of rotaviruses of different origins by the plaque reduction test. *Am J Vet Res* 41: 151-152, 1980.
46. MC NULTY, M. S. ET AL.: Isolation of rotaviruses from turkeys and chickens demonstration of distinct serotypes and RNA electropherotypes. *Avian Pathol* 9:363-376, 1980.
47. FLEWETT, T. H. ET AL.: The rotaviruses. Brief review. *Arch Virol* 57:1-23, 1978.
48. FIELDS, B. N. ET AL.: Virology. Fields B. N. et al. (Eds.). Raven Press, 1985, pp. 863-906.
49. SATO, K. ET AL.: Antigenic relationships between rotaviruses from different species as studied by neutralization and immunofluorescence. *Arch Virol* 73: 45-50, 1982.
50. ESTES, M. K. ET AL.: Rotavirus stability and inactivation. *J Gen Virol* 43:403-409, 1979.
51. COHEN, J. ET AL.: Activation of rotavirus RNA polymerase by calcium chelation. *Arch Virol* 60:177-180, 1979.
52. BICAN, P. C. ET AL.: Purification and characterization of bovine rotavirus core. *J Virol* 43: 113-117, 1982.
53. TAN, J. A.; R. SCHNAGL: Inactivation of a rotavirus by disinfectants. *Med J Aust* 1:19-23, 1981.
54. SMITH, E. M.; C. P. GERBA: Development of a method for detection of human rotavirus in water and sewage. *Appl Environ Microbiol* 43:1440-1450, 1982.
55. ESTES, M. K. ET AL.: Simian rotavirus SA 11 replication in cell culture. *J Virol* 31:810-815, 1979.
56. PETRIE, B. L. ET AL.: Identification of rotavirus particles types. *Intervirology* 16:20-28, 1981.
57. DAVIS, D. B. ET AL.: Tratado de Microbiología, 3ra ed. Barcelona, Ed. Salvat, 1984.
58. PETRIE, B. L. ET AL.: Localization of rotavirus antigens infected cell by ultrastructural immunocytochemistry. *J Gen Virol* 63:457-467, 1982.
59. CARPIO, M. M. ET AL.: Bovine rotavirus cell interactions effect of virus infection on cellular integrity and macromolecular synthesis. *Virology*, 114:86-97, 1981.
60. BABIUK, L. A. ET AL.: Rotavirus isolation and cultivation in the presence of trypsin. *J Clin Microbiol* 6:610-617, 1977.
61. SATO, K. ET AL.: Isolation of human rotavirus in cell culture. *Arch Virol* 69:155-160, 1981.
62. USARAWA, T. ET AL.: Sequential passages of human rotavirus in MA-104 cells. *Microbiol Immunol* 25:1025-1035, 1981.
63. WYATT, R. G. ET AL.: Human rotavirus type 2: cultivation in vitro. *Science* 207:189-191, 1980.
64. CLARK, S. M. ET AL.: Trypsin enhancement of rotavirus infectivity: mechanisms of enhancement. *J Virol* 39:816-822, 1981.
65. GRAHAM, D. Y.; M. K. ESTES: Proteolytic enhancement of rotavirus infectivity: biologic mechanisms. *Virology* 101:816-822, 1980.
66. HOSHINO, Y. ET AL.: Isolation of characterization of feline rotavirus. *J Gen Virol* 54:313-323, 1981.
67. BRYDEN, A. S. ET AL.: Diagnosis of rotavirus infection by cell culture. *J Med Virol* 10:121-125, 1977.
68. CLARK, S. M. ET AL.: Production of high titer bovine rotavirus with trypsin. *J Clin Microbiol* 9:413-417, 1979.
69. WYATT, R. G. ET AL.: In vitro cultivation in human fetal intestinal organ culture of a reovirus-like agent associated with nonbacterial gastroenteritis in infant and children. *J Infect Dis* 130:523-528, 1974.

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. Siboney, municipio Playa, Ciudad de La Habana, Cuba.