

DIARREA POR ROTAVIRUS

IMPACTO EN UN HOSPITAL DE NIÑOS DE BUENOS AIRES

FERNANDA S. GONZALEZ¹, MARIA E. SORDO², GREGORIO ROWENSZTEIN², LILIANA SABBAG²,
ADRIANA ROUSSOS², ELEONORA DE PETRE², MONICA GARELLO², ANA MEDEI², KARIN BOK³,
SAUL GRINSTEIN¹, JORGE A. GOMEZ³

¹ Laboratorio de Virología y ² Consultorio Externo de Clínica, Hospital de Niños Dr. Ricardo Gutiérrez;

³ Laboratorio de Gastroenteritis Virales, Departamento de Virus, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas, ANLIS Dr. Carlos G. Malbrán, Buenos Aires

Resumen Ante la disponibilidad de una vacuna contra rotavirus, se desarrolló el presente estudio destinado a conocer el impacto de este virus en un hospital pediátrico del país. Se estudiaron entre septiembre 1997 y agosto 1998, 648 niños < 3 años con diarrea acuosa aguda asistidos en el Consultorio Externo de Clínica - Sector Diarreas u hospitalizados en las Salas de Internación Clínica N° 4, 5 y 6 del Hospital Ricardo Gutiérrez de la Ciudad de Buenos Aires. Se encontró rotavirus asociado al 36% de las diarreas ambulatorias y al 45% de las hospitalizadas. En el año de estudio, estimamos que el Hospital asistió a 1674 diarreas por rotavirus en forma ambulatoria, 14 de las cuales requirieron hospitalización. El estudio describe un pico de diarreas por rotavirus entre marzo y junio, mientras que las diarreas no causadas por rotavirus presentaron un pico entre enero y marzo (muy probablemente de origen bacteriano). Rotavirus presentó una mayor frecuencia entre 6 a 23 meses de edad; de las 233 diarreas por rotavirus identificadas, sólo el 10% ocurrieron en mayores de 2 años y el 13% durante los primeros 6 meses de vida. Esta situación es de relevancia dado que la vacuna de rotavirus se aplica en 3 dosis orales a los 2, 4 y 6 meses de edad, y podría haber prevenido la mayoría de los casos observados.

Abstract *Rotavirus diarrhea. Disease burden in a pediatric hospital of Buenos Aires.* Anticipating the use of the rotavirus vaccine, we performed this study in order to estimate the rotavirus disease burden in a pediatric hospital. We studied 648 children < 3 years of age between September/97 and August/98, assisted at the Outpatient Diarrhea Unit, or hospitalized due to acute diarrhea in our Hospital. We found rotavirus associated to 36% of the diarrhea cases studied in the Outpatient Clinics, and in 45% of the hospitalized children. We estimate the assistance of 1674 rotavirus diarrheas per year in the Outpatient Clinics, but only 14 of them required hospitalization. The study describes a peak of rotavirus diarrheas between March and June, and another peak of rotavirus-negative diarrheas between January and March (probably due to bacterial diarrheas). Rotavirus disease presented a higher frequency between 6 to 23 months of age; only 10% of the 233 rotavirus cases occurred in children older than 24 months and 13% in infants less than 6 months of age. The situation described is significant because the recently licensed rotavirus vaccine is being used in 3 doses at 2, 4 and 6 months and could have prevented most of the rotavirus cases observed during this study.

Key words: rotavirus diarrhea, viral vaccines

Los rotavirus son el principal agente productor de diarreas de la infancia en países desarrollados^{1, 2}. Se ha estimado que provocan a nivel mundial más de 870 000 muertes por año y que todo niño tiene al menos un episodio de diarrea por rotavirus en los primeros años de vida³. Sólo la primoinfección produce un cuadro clínico de importancia; posteriores reinfecciones determinan un cuadro clínico menor o asintomático^{4, 5, 6, 7}. Esta es una de las evidencias más importantes sobre

la potencial capacidad protectora de la inmunidad natural contra este virus. Se lo considera un virus "igualitario" ya que afecta en forma similar a poblaciones de alto como de bajo nivel socioeconómico, lo que sugiere que la solución al problema no está en la mejora de las condiciones higiénico sanitarias⁸. En cambio, se cree que una vacuna segura y efectiva que provea inmunidad específica temprana a los individuos en riesgo puede ser una medida de control adecuada para esta enfermedad^{9, 10}. De todas formas, dado que los casos más graves se observan mayormente en poblaciones de escasos recursos, o con dificultades de acceso a los sistemas de salud, ésta sería la población más beneficiada por dicha vacuna.

Recibido: 3-VI-1999

Aceptado: 16-VI-1999

Dirección postal: Dr. Jorge A. Gómez, Vélez Sarsfield 563, 1281 Buenos Aires, Argentina
Fax: (54-11)4302-5064

E-mail: jgomez@cvtci.com.ar

Por este motivo, investigadores del Instituto Nacional de la Salud de los EE.UU (National Institutes of Health, NIH) desarrollaron una vacuna contra rotavirus. Para ello se basaron en la idea original de Edward Jenner utilizando virus heterólogo (de distinto huésped), y en la propiedad que tienen los rotavirus de producir cepas reasociadas en forma natural^{11,12}. De esta forma se obtuvieron 3 cepas reasociadas con la estructura básica del rotavirus de mono RRV (no patógeno para el hombre), presentando los serotipos G1, G2 y G4 humanos. Estas 3 cepas reasociadas más el virus RRV original (de serotipo G3, similar al humano) componen la vacuna aprobada por la "Food and Drug Administration" (FDA) de los EE.UU en agosto de 1998¹³. En los últimos 10 años se han desarrollado diversos ensayos clínicos que demuestran que la vacuna es segura y efectiva^{14, 15, 16, 17, 18}.

Ante la inminente aprobación de esta vacuna se analizó la información existente sobre la epidemiología de los rotavirus en nuestro país y se organizó un Programa de Vigilancia Epidemiológica con el apoyo de la Dirección de Epidemiología del Ministerio de Salud y Acción Social. De esta manera se logró una estimación inicial del impacto de la enfermedad en el país¹⁹ y una detallada caracterización epidemiológica de los casos más severos que requieren internación hospitalaria²⁰. Se identificó a este virus como el principal agente etiológico de casos graves de diarrea infantil aguda en diversas áreas del país²⁰, estimándose unas 21 000 internaciones anuales¹⁹.

Sin embargo, la gran mayoría de las diarreas por rotavirus son de tratamiento ambulatorio²¹ ya que los pacientes atendidos a tiempo se recuperan rápidamente, por ser esta una infección autolimitada. Para lograr una adecuada caracterización de la epidemiología y el impacto que produce la enfermedad en pacientes ambulatorios e internados, se desarrolló el presente estudio en un hospital pediátrico de referencia.

Los resultados obtenidos en este estudio ayudarán a las autoridades del Ministerio de Salud en la toma de decisión con respecto a la utilización de esta vacuna. Para ello se debería realizar una evaluación activa según nuestra propia realidad epidemiológica y en base a información concreta. Se presentan los resultados obtenidos luego del primer año de iniciado el estudio.

Materiales y métodos

Población

Se estudiaron niños menores de 3 años que presentaban diarrea acuosa aguda (de menos de 5 días de evolución) atendidos en el Consultorio Externo de Clínica - Sector Diarreas, u hospitalizados en las Salas de Internación Clínica Nº 4, 5 y 6 del Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez de la Ciudad de Buenos Aires. Estas 3 salas tienen un total de 61 camas, lo que representa un 53% del total de camas de internación clínica del hospital. Los pacientes se agruparon por edad del

siguiente modo: 0-5 meses, 6-11 meses, 12-23 meses y 24-35 meses. Se llevaron estadísticas mensuales del número de niños que cumplían con los requisitos del protocolo, inclusive aquellos a los que por diversos motivos no se les pudo tomar una muestra de heces para el diagnóstico virológico.

El estudio comenzó en septiembre de 1997 y se realizó por el término de 2 años. Se presenta la información del primer año hasta agosto de 1998.

Estadísticas de atención ambulatoria total y atención ambulatoria por diarrea

Se analizó la información mensual del número total de atenciones ambulatorias realizadas en los Servicios de Consultorio Externo de Clínica, Servicio de Niño Sano y el Servicio de Guardia. Esta información fue obtenida de la División de Estadísticas del Hospital. Además, de la División de Promoción y Protección de la Salud - Área Epidemiología del Hospital, se obtuvo información mensual del número de pacientes ambulatorios asistidos por diarrea en los servicios anteriormente mencionados.

El número de diarreas asistidas en el Servicio de Niño Sano se obtuvo discriminado por edad en grupos etarios de 0-11 meses, 12-23 meses, 24-59 meses y ≥ 60 meses. El número de diarreas asistidas en el Servicio de Guardia se obtuvo discriminado por edad en grupos etarios de 0-11 meses, 12-23 meses, 24-35 meses, 36-59 meses y ≥ 60 meses. Por último, del Consultorio Externo de Clínica sólo se obtuvo el número total de pacientes asistidos mensualmente por enfermedad diarreica.

Atención ambulatoria por diarrea en niños menores de 3 años

La determinación del número total de diarreas en < 3 años asistidos en los 3 servicios de atención ambulatoria se realizó de diferentes formas. En el Servicio de Guardia, el número de diarreas en < 3 años se obtuvo de los registros hospitalarios anteriormente mencionados. En el Servicio de Niño Sano el número de diarreas en < 3 años se calculó sumando los casos registrados de 0-23 meses, más el número de casos estimado entre 24-35 meses. Esta estimación se realizó a partir del número de casos registrados de 24-59 meses divididos por 3. Así se llegó a la conclusión que el número de diarreas en < 3 años fue del 60% del total de las diarreas en los Servicios de Guardia y de Niño Sano. Por ello, para calcular el número de diarreas en < 3 años en el Consultorio Externo de Clínica se utilizó ese mismo porcentaje (60%), el cual arrojó un estimado de 2478 casos asistidos en este Consultorio.

Toma de muestra

Se tomó una muestra de heces de cada paciente que ingresó en el estudio y que cumplía las condiciones anteriormente mencionadas para la búsqueda de rotavirus. La misma fue recolectada en frascos plásticos (Polistor Nº 305) sin conservantes. Cuando esto no fue posible, se cortó un trozo de tela del pañal sucio y se conservó en buffer TNC (Tris ClH 10 mM, pH 7,5, ClNa 100 mM, Cl₂ Ca.2H₂O 2 mM). Además, se completó una ficha con los datos personales del paciente. Ambas fueron enviadas al Laboratorio de Virología del Hospital, donde la muestra se conservó a 4°C hasta su estudio.

Diagnóstico de rotavirus

El diagnóstico de rotavirus se efectuó mediante la técnica de Enzimo Inmunoensayo (ELISA), utilizando equipos comerciales marca Pathfinder, Kallestad. En el caso de heces sólidas y líquidas se preparó una dilución al 10% de las mismas en

el buffer provisto por el equipo para tal fin. Cuando se utilizó el trozo de pañal sucio conservado en buffer TNC, se empleó directamente una alícuota del eluido para efectuar el ensayo. El resto del procedimiento fue realizado siguiendo las indicaciones del fabricante.

Se llevaron estadísticas mensuales del número de niños con resultado positivo, negativo e indeterminado discriminadas por grupo etario. Los grupos utilizados fueron 0-5 meses, 6-11 meses, 12-23 meses y 24-35 meses.

También, se participó de un control de calidad externo del diagnóstico de rotavirus, correspondiente al Programa de Vigilancia de Rotavirus, del cual el Laboratorio de Virología del Hospital forma parte²⁰.

Resultados

Frecuencia de la diarrea por rotavirus

Del total de pacientes asistidos por diarreas en el Servicio de Consultorio Externo de Clínica (n: 4130), 691 entraron en protocolo. De ellos, se obtuvo una muestra de heces para diagnóstico de rotavirus en 648 (94%) pacientes, observándose 13 (2%) resultados indeterminados, 233 (36%) positivos y 402 (62%) negativos (ver Tabla 1).

De todas las diarreas asociadas a rotavirus (233 casos), el 52% (121 casos) ocurrió durante el primer año de vida, el 38% (88 casos) durante el segundo año y el 10% (24 casos) durante el tercer año. De las 121 diarreas asociadas a rotavirus durante el primer año de vida, 30 casos (13% del total de rotavirus positivos) se observaron durante el primer semestre y 91 casos (39% del total de rotavirus positivos) durante el segundo semestre (ver Figura 1).

El porcentaje de diarreas asociada a rotavirus en la muestra estudiada varió según la edad. En el grupo etario de 0-5 meses fue de 36%, en el de 6-11 meses fue de 41%, en el de 12-23 meses fue de 35% y en el de 24-35 meses fue de 25%. Las diferencias observadas en la frecuencia de identificación de rotavirus hasta los 23 meses de edad no son estadísticamente significativas (ver Tabla 1). En cambio, la frecuencia de rotavirus observada

en niños de 24-35 meses (25%) fue significativamente menor a la observada en niños de 0-11 meses (Chi cuadrado, p: 0.0118), e incluso a la observada en niños de 0-23 meses (Chi cuadrado, p: 0.015).

Además, se observaron 42 internaciones por diarrea, pero sólo 17 entraron en el protocolo de estudio. De éstas se obtuvo una muestra de heces para diagnóstico virológico en 11 casos (65%); uno de ellos fue indeterminado y 5 (45%) fueron positivos. Cuatro de las 5 diarreas por rotavirus ocurrieron durante el primer año de vida (ver Tabla 1).

Estacionalidad de la diarrea y la diarrea asociada a rotavirus

La Figura 2 muestra la estacionalidad de la enfermedad diarreica. El primer semestre del año presentó un promedio mensual de 72 diarreas/mes (Intervalo de Confianza, IC 95%: 48-101), significativamente mayor que el segundo semestre del año donde se observó un promedio de 35 diarreas/mes (IC 95%: 27-40); test t de 2 colas para comparación de medias, p: 0.0005.

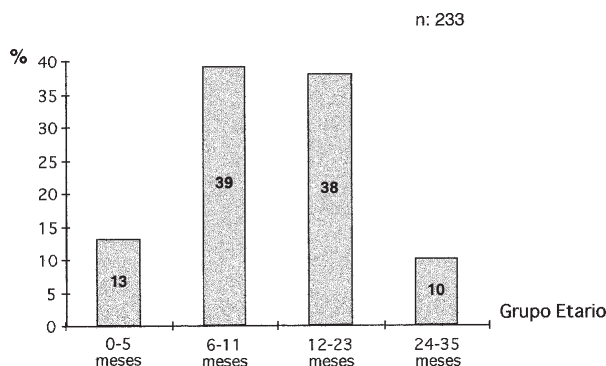


Fig. 1.— Diarrea por rotavirus: impacto en el Hospital de Niños de Buenos Aires

TABLA 1.— Frecuencia de la diarrea asociada a rotavirus (RV) por grupo etario y tipo de atención

| Grupo etario | Diarreas por RV/Diarreas estudiadas (%) | | | | Total | % |
|--------------|---|-----------|-------------|-----------|----------------|-----------|
| | Atención ambulatoria | | Internados | | | |
| | Casos | % | Casos | % | | |
| 0-5 meses | 30/84 | 36 | 0/3 | 0 | 30/87 | 34 |
| 6-11 meses | 91/220 | 41 | 4/5 | 80 | 95/225 | 42 |
| 12-23 meses | 88/248 | 35 | 1/2 | 50 | 89/250 | 36 |
| 24-35 meses | 24/96 | 25 | 0/1 | 0 | 24/97 | 25 |
| Total | 233/648 | 36 | 5/11 | 45 | 238/659 | 36 |

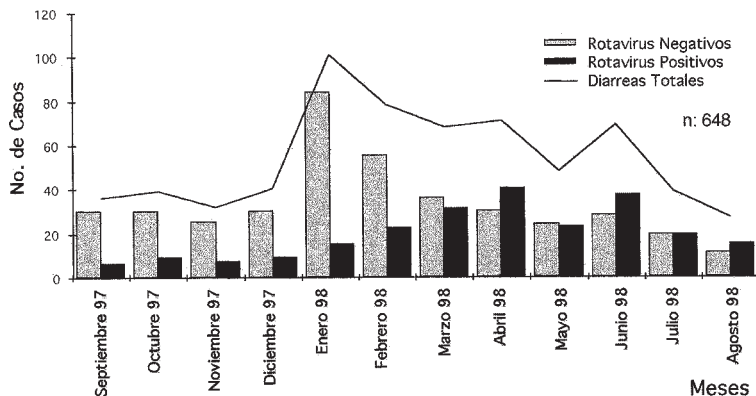


Fig. 2.- Estacionalidad de la diarrea.

La diarrea asociada a rotavirus también presentó un marcado patrón estacional (ver Figura 2). Analizando la información por cuatrimestre, se observó que el promedio mensual de diarreas por rotavirus en el período de marzo-junio (33 casos/mes; IC 95%: 23-40) fue significativamente mayor al observado en el cuatrimestre de julio-octubre con 12 casos/mes (IC 95%: 6-19; test t para comparación de medias, p: 0.005), o al observado en el cuatrimestre de noviembre-febrero con 13 casos/mes (IC 95%: 7-22; test t para comparación de medias, p: 0.0083).

Finalmente, los casos de diarrea negativos para rotavirus presentaron un pico agudo en los meses de verano con un valor máximo de 84 casos en el mes de enero (ver Figura 2). Analizando la información por trimestres vemos que entre enero-marzo se presentó un mayor número de casos (promedio mensual de 60 casos; IC 95%: 37-86). En cambio en el trimestre de abril-junio se observó un promedio de 29 casos (IC 95%: 25-32), en el trimestre de julio-septiembre se observó un promedio de 21 casos (IC 95%: 12-30) y en el trimestre de octubre-diciembre se observó un promedio de 29 casos (IC 95%: 25-31).

Impacto de la diarrea por rotavirus

Del total de 4130 casos de diarreas asistidas en el Consultorio Externo de Clínica, 691 entraron en protocolo. En 648 (94%) de ellas se obtuvo una muestra para el diagnóstico de rotavirus. La Figura 3 muestra que las diarreas estudiadas presentaron un patrón de estacionalidad muy similar al observado en los casos totales de diarrea del Consultorio Externo de Clínica.

Para realizar una estimación del impacto de la diarrea por rotavirus en el Hospital, se utilizaron los registros de atenciones totales y atenciones por diarrea obtenidos según se explica en Materiales y métodos. La Tabla 2

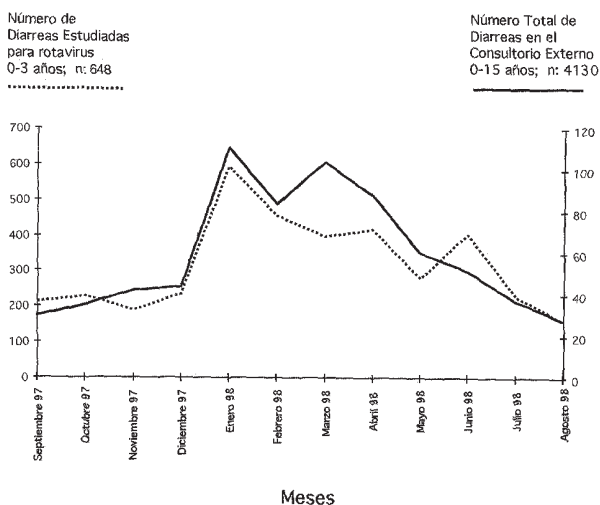


Fig. 3.- Estacionalidad de la diarrea en el Consultorio Externo de Clínica.

muestra que el 4.5% de los pacientes asistidos en los servicios de atención ambulatoria del hospital fue por diarrea y el 60% de los casos de diarrea ocurrió en niños menores de 3 años de edad. Conociendo que rotavirus fue identificado en el 36% de las diarreas estudiadas, y que éstas presentaron un patrón estacional similar al observado en el total de las diarreas, se utilizó ese mismo porcentaje para estimar el impacto de la diarrea por rotavirus en los servicios de atención ambulatoria. De esta forma se calculó que los servicios de atención ambulatoria del Hospital asistieron a 1674 niños con diarrea por rotavirus en el año, lo que corresponde al 1% de todas las atenciones ambulatorias realizadas.

Además, las 3 salas de internación estudiadas involucran sólo el 53% de las camas de clínica disponibles en el Hospital. Si se hubiesen estudiado el total de las camas de internación clínica estimamos la existencia

TABLA 2.— *Estimación del impacto de la infección por rotavirus en los Servicios de Atención Ambulatoria del Hospital de Niños de Buenos Aires*

| | Atenciones totales | Diarreas totales %* | Diarreas en niños < 3 años %** | diarrea por rotavirus %*** |
|-----------------------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|
| Consultorio externo de clínica | 91095 | 4130 4.5 | 2478 60.0 | 892 1.0 |
| Guardia | 64627 | 2962 4.6 | 1787 60.3 | 643 1.0 |
| Niño Sano | 21648 | 648 3.0 | 387 59.7 | 139 0.6 |
| Total | 170686 | 7740 4.5 | 4652 60.1 | 1674 1.0 |

* Porcentaje de atenciones asociadas a diarrea

** Porcentaje de niños con diarrea menores de 3 años

*** Porcentaje de atenciones asociadas a diarrea por rotavirus

de 32 casos de diarrea que hubiesen entrado en protocolo y 14 (45% de positivos) de ellas estarían asociadas a rotavirus. De los 1.674 niños menores de 3 años que se estimó padecieron diarrea por rotavirus, sólo el 0.8% (14 casos estimados) requirió internación.

Discusión

El presente estudio intenta demostrar el impacto que tiene la diarrea por rotavirus en los servicios de atención ambulatoria de un hospital pediátrico de referencia de la Ciudad de Buenos Aires. Ante la actual disponibilidad de una vacuna contra este virus, autoridades nacionales e internacionales necesitan información sobre la epidemiología del mismo, para poder analizar el tipo de recomendación que se le dará a esta vacuna. La carencia de diagnóstico virológico que presenta la mayoría de nuestros hospitales contribuye a subestimar la frecuencia de la enfermedad. Más aún, este desconocimiento podría conspirar contra una adecuada decisión con respecto al uso de esta vacuna. La información presentada ayudaría a revertir esta tendencia mostrando la frecuencia de la enfermedad.

El estudio demuestra el impacto real que presenta la diarrea por rotavirus en un hospital pediátrico. En un año de estudio, se encontró rotavirus asociado al 36% de las diarreas acuosas ambulatorias y al 45% de las diarreas acuosas hospitalizadas. Se estimó la existencia de 1 674 niños menores de 3 años con diarrea por rotavirus asistidos en forma ambulatoria y 14 niños menores de 3 años hospitalizados por diarrea asociadas a rotavirus. Sin embargo, el Hospital de Niños Dr. Ricardo Gutiérrez de la Ciudad de Buenos Aires presenta algunas características que lo hacen particular. Sin duda el correcto manejo del paciente en los servicios de atención ambulatoria se traduce en un reducido número de internaciones por diarrea; pero también la población que asiste a este hospital presenta características distintivas. Si bien se trata de familias de bajo nivel socioeconómico, la mayoría de

las madres realizan prolongados viajes desde zonas del Gran Buenos Aires, lo que habla de personas particularmente informadas, responsables, y con algo de dinero para afrontar la enfermedad de su niño. Estos hechos asociados a la baja frecuencia de desnutridos que reciben los servicios de atención ambulatoria del hospital, ayudan a que se observe un menor número de diarreas severas. La situación presentada es diferente a la existente en otros hospitales pediátricos del país, donde la internación por diarrea es más frecuente.

El estudio describe el comportamiento estacional de la diarrea por rotavirus y de las diarreas no causadas por rotavirus. Rotavirus presentó un pico entre los meses de marzo a junio, mientras que la diarrea no causada por rotavirus presentó un pico entre los meses de enero a marzo. Como consecuencia, la diarrea en su conjunto presentó un patrón estacional con una mayor frecuencia durante el primer semestre del año. Rotavirus afectó mayormente a niños entre 6 y 23 meses de edad. Sólo el 10% de las diarreas por rotavirus ocurrió en mayores de 2 años y el 13% en los menores de 6 meses de vida. Esta situación es de relevancia dado que la vacuna de rotavirus recomendada para su uso masivo en los Estados Unidos desde agosto de 1998, se aplica en 3 dosis orales entre los 2 y 6 meses de vida.

La utilización de esta vacuna podría prevenir muchos de los casos observados. Sin embargo, su implementación requeriría de un aumento del presupuesto de salud destinado a incorporarla en el programa de inmunizaciones. Esta decisión es compleja y requiere la disponibilidad de mayor información sobre el impacto de rotavirus en otras áreas del país. El programa de vigilancia epidemiológica de rotavirus iniciado en 1996 por el Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas, ANLIS Dr. Carlos G. Malbrán será un aporte de relevancia²⁰. Finalmente, el análisis de la enfermedad a nivel país y la realización de un estudio de costo-beneficio parecen ser el próximo paso, sin el cual es difícil la toma de decisiones en forma lógica y racional.

Agradecimientos: Los autores agradecen a la enfermera Margarita Abranovich por su colaboración en la toma de muestras, a los profesionales de la División de Promoción y Protección de la Salud - Area Epidemiología y de la División de Estadísticas del Hospital de Niños Dr. Ricardo Gutiérrez por su colaboración en la provisión de las estadísticas de los servicios ambulatorios del Hospital. Este estudio forma parte de un proyecto mayor denominado Vigilancia Epidemiológica de Rotavirus en Latinoamérica dirigido por el Dr. Miguel O'Ryan de la Universidad de Chile y fue realizado con un subsidio de John Wyeth Laboratorios S.A. a J.A.G. La participación de F.S.G. fue financiada con el subsidio de John Wyeth Laboratorios S.A. a J.A.G.

Bibliografía

1. Glass RI, Lew JF, Gangarosa RE. Estimates of the morbidity and mortality from diarrheal diseases in American children. *J Pediatr* 1991; 118: 27-33.
2. Ho MS, Glass RI, Pinsky PF. Rotavirus as a cause of diarrheal morbidity and mortality in the United States. *J Infect Dis* 1988; 158: 1112-6.
3. de Zoysa I, Feachem RG. Interventions for the control of diarrhoeal diseases among young children: rotavirus and cholera immunization. *Bull WHO* 1985; 63: 569-83.
4. Bernstein DI, Sander DS, Smith VE, Schiff GM, Ward RL. Protection from rotavirus reinfection: 2-year prospective study. *J Infect Dis* 1991; 164: 277-83.
5. Bhan MK, Lew JF, Sazawal S, Das BK, Gentsch JR, Glass RI. Protection conferred by neonatal rotavirus infection against subsequent rotavirus diarrhea. *J Infect Dis* 1993; 168: 282-7.
6. Velazquez FR, Matson DO, Calva JJ, et al. Rotavirus infections in infants as protection against subsequent infections. *N Engl J Med* 1996; 335: 1022-8.
7. Ward RL, Bernstein DI. Protection against rotavirus disease after natural rotavirus infection. US Rotavirus Vaccine Efficacy Group. *J Infect Dis* 1994; 169: 900-4.
8. Glass RI, Lang DR, Ivanoff BN, Compans RW. Introduction: Rotavirus-from basic research to a vaccine. *J Infect Dis* 1996; 174: S1-S2.
9. Glass RI, Gentsch JR, Ivanoff B. New lessons for rotavirus vaccines. *Science* 1996; 272: 46-8.
10. Unicomb LE, Kilgore PE, Faruque SG, et al. Anticipating rotavirus vaccines: hospital-based surveillance for rotavirus diarrhea and estimates of disease burden in Bangladesh. *Pediatr Infect Dis J* 1997; 16: 947-51.
11. Bishop RF. Development of candidate rotavirus vaccines. *Vaccine* 1993; 11: 247-54.
12. Glass RI, Gentsch J, Smith JC. Rotavirus vaccines: success by reassortment? *Science* 1994; 265: 1389-91.
13. OMS Vaccine Research and Development-Rotavirus vaccines for developing countries. *Weekly Epidemiological Record* 1997; 72: 33-40.
14. Glass RI, Bresee JS, Parashar U, Miller M, Gentsch JR. Rotavirus vaccines at the threshold [news]. *Nat Med* 1997; 3: 1324-5.
15. Joensuu J, Koskeniemi E, Pang XL, Vesikari T. Randomised placebo-controlled trial of rhesus-human reassortant rotavirus vaccine for prevention of severe rotavirus gastroenteritis. *Lancet* 1997; 350: 1205-9.
16. Perez-Schael I, Guntinas MJ, Pérez M, et al. Efficacy of the rhesus rotavirus-based quadrivalent vaccine in infants and young children in Venezuela [see comments]. *N Engl J Med* 1997; 337: 1181-7.
17. Rennels MB, Glass RI, Dennehy PH, et al. Safety and efficacy of high-dose rhesus-human reassortant rotavirus vaccines-report of the National Multicenter Trial. United States Rotavirus Vaccine Efficacy Group. *Pediatrics* 1996; 97: 7-13.
18. Santosham M, Moulton LH, Reid R, et al. Efficacy and safety of high-dose rhesus-human reassortant rotavirus vaccine in native American populations. *J Pediatr* 1997; 131: 632-8.
19. Gomez JA, Nates S, De Castagnaro NR, Espul C, Borsa A, Glass RI. Anticipating rotavirus vaccines: review of epidemiologic studies of rotavirus diarrhea in Argentina. *Rev Panam Salud Publica* 1998; 3: 69-78.
20. Bok K, Castagnaro NC, Diaz NE, et al. Red de laboratorios de rotavirus: resultados del primer año de vigilancia. *Rev Argen Microbiol* 1999; 31: 1-12.
21. Grinstein S, Gomez JA, Bercovich JA, Biscotti EL. Epidemiology of rotavirus infection and gastroenteritis in prospectively monitored Argentine families with young children. *Am J Epidemiol* 1989; 130: 300-8.