

## Rotavirus del grupo A circulantes en el Gran Buenos Aires durante los períodos pre- y post-vacunales

### Vaccines against rotavirus and impact of their introduction in Argentina

#### AUTORES:

Alejandro A. Castello<sup>1,2,3</sup>,  
Marcelo H. Argüelles<sup>1</sup>,  
Marcelo G. Mandile<sup>1,4</sup>,  
Rosa Viviana Díaz<sup>1,2,3</sup>,  
Estefanía Peri Ibañez<sup>1,4</sup>,  
Dalila Silvestre<sup>1,4</sup>,  
Julieta Tomas Fariña<sup>1,4</sup>,  
Facundo Temprana<sup>1,4</sup>,  
Graciela Glikmann<sup>1</sup>

1 Laboratorio de Inmunología y Virología (LIV), Universidad Nacional de Quilmes, 2 Centro de Medicina Traslacional, Hospital El Cruce, 3 Instituto de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional Arturo Jauretche, 4 CONICET

#### RESUMÉN

Hacia 2022, más de 100 países habían introducido una de las cuatro vacunas autorizadas para uso mundial contra rotavirus, sin embargo, según modelos matemáticos se estima que es poco probable que la reducción en mortalidad con vacunas orales supere el 40%. Esto se debe a que la mayoría de las muertes asociadas a RVA ocurren en países de ingresos bajos y medianos, donde la efectividad de estas vacunas es menor. Este problema de desempeño en medios de bajo nivel socio-económico, se verifica también en menor efectividad sobre morbilidad y duración de la protección. En este trabajo se discuten los posibles factores involucrados en este bajo rendimiento relacionados al patógeno, el huésped y factores ambientales. En Argentina, la vacuna monovalente Rotarix® (GSK) ha sido incorporada en el Calendario Nacional en 2015, sin embargo, aún no existen

estudios completos de efectividad. Las observaciones iniciales de nuestro grupo registran una disminución en el número de casos de gastroenteritis aguda requiriendo hospitalización en el Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez (HNRG) a partir del 2015. Para los casos con diagnóstico específico de RVA la diferencia fue cada vez más significativa para los años 2016, 2017 y 2018 ( $p < 0,05$ ). Comparando las medias anuales en los períodos pre y post vacunales se hallan valores de 104,7 para los años 2008-2014 y de 40,2 para los años 2015-2018 ( $p < 0,05$ ) lo que implica una disminución del 61,6%. También se hallaron diferencias a la baja en el número medio de internaciones por GEA por todas las causas del 19,6%.

**Palabras claves:** rotavirus, vacuna, diarreas, efectividad vacunal, evolución viral, vulnerabilidad social

#### Abstract:

By 2022, more than 100 countries had introduced one of the four vaccines authorized for global use against rotavirus; however, according to mathematical models, it is estimated that the reduction in mortality with oral vaccines is unlikely to exceed 40%. This is because the majority of RVA-associated deaths occur in low- and middle-income countries, where the effectiveness of these vaccines is lower. This performance problem in low socioeconomic environments is also verified in lower effectiveness on morbidity and duration of protection. In this work, the possible factors involved in this low performance related to the pathogen, the host and environmental factors are discussed. In Argentina, the monovalent Rotarix® (GSK) vaccine has been incorporated into the National Schedule in

2015, however, there are still no complete effectiveness studies. The initial observations of our group record a decrease in the number of cases of acute gastroenteritis requiring hospitalization at the Ricardo Gutiérrez Children's Hospital (HNRG) starting in 2015. For cases with a specific diagnosis of RVA, the difference was increasingly significant for the years 2016, 2017 and 2018 ( $p < 0.05$ ). Comparing the annual averages in the pre- and post-vaccine periods, values of 104.7 are found for the years 2008-2014 and 40.2 for the years 2015-2018 ( $p < 0.05$ ), which implies a decrease of 61.6%. Downward differences were also found in the average number of hospitalizations for AGE due to all causes of 19.6%.

**Key Words:** rotavirus, vaccine, diarrhea, vaccine effectiveness, viral evolution, social vulnerability

El rotavirus del grupo A (RVA) continúa siendo el agente etiológico simple más importante de la gastroenteritis aguda en niños pequeños en todo el mundo. Cada año provoca más de 110 millones de episodios de diarrea, 25 millones de visitas médicas, 2 millones de hospitalizaciones y 215.000 muertes (1). A pesar de que la proporción de infecciones por rotavirus detectadas en niños es muy similar en países desarrollados y en desarrollo la mortalidad es mucho mayor en las regiones más pobres, sobre todo en África y Asia, pero también en muchas regiones de Sudamérica (2). Los rotavirus son actualmente clasificados en especies dentro del género Rotavirus incluido dentro de la familia Sedo-

reoviridae del orden de los Reovirales ([https://ictv.global/taxonomy/taxondetails?taxnode\\_id=202204905&taxon\\_name=Rotavirus%20A](https://ictv.global/taxonomy/taxondetails?taxnode_id=202204905&taxon_name=Rotavirus%20A)). Hay nueve especies del género, denominadas Rotavirus A, B, C, D, F, G, H, I y J (3). Si bien las especies A, B, C y H infectan humanos, el Rotavirus A (RVA) causa más del 90% de las infecciones severas por rotavirus en niños pequeños (4). El RVA es, por lo tanto, la especie responsable del más significativo impacto sanitario y desde principios de los '80s es blanco de desarrollo de vacunas.

Las proteínas de la capa externa (VP7 y VP4) son los blancos principales de la respuesta de anticuerpos neutrali-

zantes por lo que la clasificación serológica se basa en su diversidad antigénica y forman la base de un sistema de clasificación dual en serotipos. La glicoproteína VP7, define los serotipos G y la proteína VP4, una proteína escindida por proteasa, los serotipos P (5). En humanos y animales (mamíferos y aves) se han descrito hasta el momento 42 genotipos G y 58 genotipos P, de esta diversidad global de los RVA trece genotipos G (G1-6, 8-12, 20, 29) y catorce P (P[1, 3-6, 8-11, 14, 19, 25, 28, 41] fueron, al menos una vez detectados en humanos, sin embargo, de éstos, sólo cinco tipos G (1-4 y 9]) y dos tipos P ([4 y 8]) representaban alrededor del 88% de las cepas tipificadas en humanos antes de la era vacunal (6), sumándose los tipos G12, G8 y P[6] como importantes emergentes en años más recientes (7-14). La alta diversidad de tipos, las variaciones en secuencia que fueron halladas con el tiempo y la aparición de genotipos emergentes en humanos han requerido que, regularmente, los métodos de genotipado vayan siendo actualizados (15-18).

### Estudios desde el LIV en la era pre-vacunal

Nuestro trabajo desde el LIV se ha basado inicialmente en el monitoreo de serotipos circulantes para producir información necesaria ante la inminente llegada de nuevas vacunas hacia fines de la década de los '90s. En ese contexto era importante verificar que las formulaciones previstas de esas vacunas (basadas en datos de tipado generados casi exclusivamente en los países centrales) fueran relevantes a la epidemiología local. Este trabajo inicia con colecciones de muestras de diarreas de niños internados en el Hospital de Niños Sor María Ludovica de La Plata y el Hospital Dr. Oller de San Francisco Solano, partido de Quilmes desde el año 1996. En el año 2000, nuestro grupo fue el primero del país en publicar resultados de tipificación realizados por multiplex RT-PCR a lo cual siguieron varios estudios de vigilancia y caracterización de cepas de RVA y RVC en los años previos a la introducción de la vacuna en Sudamérica (7, 8, 19-26). Posteriormente, se han añadido otros tres estudios que corresponden a los años posteriores al 2006, año de inicio de la vacunación en Brasil y otros países sudamericanos (9-11). Estos estudios y otros más recientes aún no publicados (27) ponen de manifiesto sesgos atribuibles a la vacunación ya antes del inicio de la incorporación de la misma en Argentina, sobre todo por la probable influencia de la epidemiología brasileña, país que inicia su vacunación masiva en 2006 (11) y otros países que inician en esos años. En la figura 1 se refleja a modo de ejemplo la fluctuación de serotipos G descripta en el AMBA y La Plata que hemos descripto en los trabajos mencionados. En un primer período, de 1996 a 2007, se refleja el patrón natural de circulación de genotipos, hay un reemplazo de cepas dominantes por temporada o cada pocas temporadas (7-9, 19) con predominio inicial de cepas tipo Wa G1 y G4, el aumento a partir del 2004 de cepas G9, reflejo local de emergentes globales y el aumento y caída de cepas tipo DS1, G2P[4], fenómeno que ocurre cada 3 a 6 años normalmente. Entre 2008 y 2013 se verifica la emergencia de cepas G12P[8] a nivel global y una dominancia y persistencia atípica de cepas tipo DS1, genotipos G2P[4] (11). Este fenómeno se inicia en 2009, previo a la introducción de nuestra vacunación pero luego de que todos los países de Sudamérica salvo Chile, Uruguay y Argentina hubieran estado dos o tres años vacunando con la vacuna monovalente Rotarix (tipo Wa, G1P[8]). Esta persistencia sumado al hecho de que por estudios de secuencia

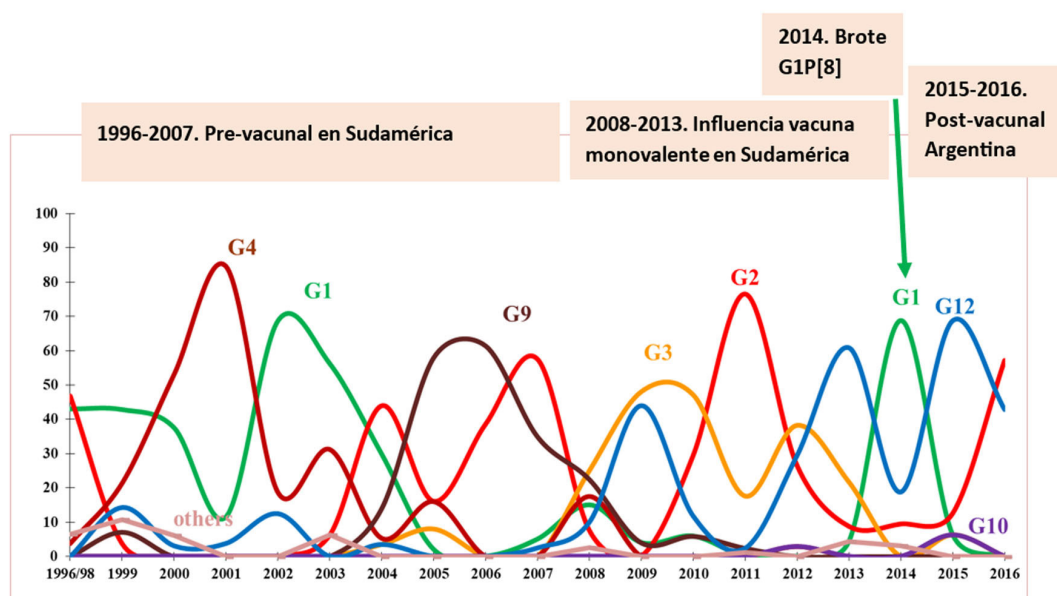
encontramos que nuestras cepas estaban estrechamente relacionadas a las circulantes en Brasil, fueron unas de las primeras evidencias publicadas sobre los posibles sesgos epidemiológicos inducidos por presiones selectivas originadas en la vacunación masiva (11).

En los años siguientes continúan co-circulando cepas G2, G3 y G12 principalmente, y es notable el hecho de que desde el descenso en el año 2005, las cepas G1, consideradas las más comunes en humanos estuvieron virtualmente ausentes hasta el año 2013 inclusive. Probablemente este largo período sin exposición a este serotipo tanto de las poblaciones infantiles como de sus madres sea el motivo por el cual en 2014 se produjo un brote muy importante de diarreas por RVA del tipo G1P[8] cepas que se asociaron ese año al 68,8% de las diarreas. Las presentaciones clínicas fueron muy severas y se produjeron incluso cinco decesos de lactantes. A través de la secuenciación de varios genes pudimos establecer que esas cepas se originaron en una introducción extracontinental (10) con cepas rusas y asiáticas como las más cercanamente relacionadas. Dado que los datos de HNRG estaban disponibles para todos los años entre 2008 y 2014, decidimos explorar las particularidades de este último año cuando reaparecieron las cepas G1P[8]. Se pudieron apreciar diferencias significativas en el número de pacientes hospitalizados y sus edades entre el año 2014 y el período 2008-2013. Durante la temporada fría del 2014 (mayo-agosto), un total de 130 pacientes fueron hospitalizados en HNRG debido a diarrea asociada a RVA, un número significativamente mayor ( $p < .0001$ , prueba z) que la media del período 2008-2013 (61,8, DE 28,3) como se puede apreciar gráficamente en la figura 2. Además, la edad media de los pacientes durante 2014 fue de 12,4 meses (mediana: 9,4, DE: 9,8), significativamente mayor ( $p < 0,01$ , prueba t de Student) que la media de 9,9 meses (mediana: 8,0 meses, DE: 7,9 meses) para el período 2008-2013. Con respecto a los cinco casos fatales, estos ocurrieron durante junio de 2014 en un Hospital de Niños ubicado en el partido de Malvinas Argentinas formando parte de un brote de casos graves con diez bebés de ocho a trece meses de edad hospitalizados durante ese mes. Las presentaciones clínicas se describieron como deshidratación, abundante diarrea, vómitos y fiebre alrededor de 38°C con rápida evolución hacia acidosis metabólica. Incluso cuando en el momento de este brote las enfermedades respiratorias estaban alcanzando su punto máximo, la mayoría de los niños afectados no manifestaron síntomas respiratorios al ingreso al hospital. El Ministerio también informó que los diez niños eran de distintos distritos bonaerenses aledaños a CABA en el Sur, Oeste y Norte (Ezeiza, Moreno, Polvorines, José C. Paz y Malvinas Argentinas). Si bien, nosotros no accedimos a este grupo de muestras fecales en particular, las mismas fueron analizadas por el Laboratorio de referencia del Ministerio que confirmó rotavirus (comunicado por la Sociedad Argentina de Infectología, <https://www.sadi.org.ar/publicaciones/item/217>) pertenecientes al tipo G1P[8] (Dr. Eduardo López, comunicación personal). En base a nuestra experiencia caracterizando cepas de amplias regiones y a la simultaneidad y similitud de los casos, asumimos que una misma cepa G1P[8] es la causante de los casos fatales y los casos severos cuyas muestras obtuvimos de nuestros centros colaboradores (HNRG, Hospital Eurnekian de Ezeiza y Hospital Evita de Lanús O.).

El análisis filogenético del gen de la VP7 (serotipo G) de este emergente del 2014 mostró que todas las secuencias pertenecen al linaje II, un linaje que nunca había sido reportado previamente en Argentina. En los árboles filogenéticos, estas secuencias agrupan y están estrechamente relacionadas (99% de identidad de nucleótidos) a un grupo de cepas tailandesas, vietnamitas y rusas que circularon entre 2012 y 2014. Cuando se examinan las secuencias de aminoácidos deducidas de estas secuencias de VP7 se detecta un cambio notable con respecto a las caracterizadas previamente. El aminoácido N o S que se halla en la posición 147 en todas las cepas circulando anteriormente se reemplaza por una D, intercambiando un aminoácido polar no cargado por uno cargado dentro de la región antigénica B. Este cambio sólo está presente en las cepas argentinas y las que circulan en Vietnam, Rusia y Tailandia durante 2012 y 2013. Si bien esto muy probablemente no esté relacionado a la patogenicidad, puede tener que ver con parte de la evasión a respuestas inmunes humorales pre-existentes en la población contra el serotipo G1. En el mismo trabajo se secuenciaron también los genes de las proteínas VP4, VP6 y NSP4, hallándose que todos estos genes estaban también estrechamente relacionados con las mismas cepas rusas, vietnamitas y tailandesas y lejanamente relacionadas a cepas argentinas o de la región sudamericana, todo lo cual sugiere una introducción extracontinental durante 2013 o 2014 en nuestro país (10). Con respecto a la otra proteína de superficie, la proteína de espícula VP4 de estas cepas, si bien pertenece a un genotipo P[8] que circula habitualmente asociado a varios tipos G, su secuencia agrupó separadamente de las secuencias de cepas anteriormente circulantes en la Argentina y en la región sudamericana.

En resumen, de los hallazgos descriptos en este trabajo y de la atípicamente alta incidencia de diarreas severas causa-

das por una cepa en particular, se podría inferir que se trata de una cepa más virulenta lo cual es poco probable ya que no hay reportes sobre esto provenientes de los otros países donde circuló en años anteriores. Tampoco hay evidencias de cambios significativos en la secuencia de la enterotoxina NSP4 que podría inducir a pensar en mayor patogenicidad. En cambio, considerando la mayor edad promedio de los pacientes, y la mayor incidencia con respecto a años anteriores se trataría de una cepa “exitosa” en términos evolutivos. Hipotéticamente, esto se debería a un déficit de las respuestas inmunes humorales, celulares y de mucosa de la población en general, efecto debido a la virtual ausencia de circulación del serotipo G1 durante 9 años y, posiblemente, el sugerente cambio aminoacídico en una zona antigénica de la proteína VP7. La inmunidad deficiente hacia un genotipo menos prevalente es un factor que ya se ha sugerido anteriormente para justificar la mayor frecuencia del genotipo G2 en brotes de gastroenteritis en niños en edad escolar y adultos (28, 29). De forma interesante, el análisis de los rangos etarios de los niños afectados muestra que gran cantidad de los casos estaban en el rango de 16 a 24 meses de edad. En esta etapa de la vida, la probabilidad de un primer contacto previo con RVA es muy alta, lo que sugiere también una baja protección heterotípica inducida por infecciones previas. Los análisis filogenéticos y de identidad nucleotídica con cepas rusas y asiáticas, sumado a la ausencia de relación con cepas circulantes en Brasil u otro país de la región indican una introducción al continente a través de Argentina en 2013 o 2014. En base a una caracterización similar de cepas G12P[9] que circularon en Buenos Aires entre los años 1999 y 2003, las cuales resultaron totalmente idénticas a cepas coreanas y japonesas (7, 8), consideramos que lo más probable sea que la introducción de la cepa G1P[8] haya sido desde algún país asiático.



**Figura 1.** Fluctuación de los genotipos G correspondientes a las cepas circulantes en AMBA y La Plata entre 1996 y 2016. En base a estudios publicados y no publicados (ver detalle en texto) realizados en el Laboratorio de Inmunología y Virología de la UNQ. Se destacan los períodos relevantes a etapas sin influencia vacunal (1996-2007); epidemiología local influenciada por la vacunación masiva en Sudamérica con la vacuna monovalente (2008-2013); brote con alta incidencia de casos severos (2014) y la etapa post-vacunal en Argentina (2015-2016).

Estudios desde el LIV en la era post-vacunal. Existe evidencia de que la vacuna anti-RVA tiene un desempeño menos satisfactorios en medios socio-económicos desfavorecidos (30, 31), por lo que nuestros estudios se han direccionado recientemente a producir estudios de efectividad general y comparativa entre grupos poblacionales y ambientes epidemiológicos distintos de nuestra región. Por otro lado, hemos continuado el monitoreo y caracterización de cepas de RVA en nuestra región iniciado en el año 1996 pero prestando especial atención a los posibles sesgos relacionados con una evolución viral condicionada por la vacunación ya que existe evidencia de cambios en los genotipos de los rotavirus circulantes luego de la introducción masiva de las distintas vacunas. Existen reportes tempranos de aumento de cepas G2P[4] en países que habían implementado la vacuna monovalente, y un aumento de G3P[8] cuando se administra la vacuna pentavalente (11, 32-34). Nuestro grupo ha aportado evidencia sobre esto mostrando la influencia sobre la circulación de cepas en nuestro país ejercida por la vacunación masiva en países limítrofes antes de la incorporación de la vacunación aquí (11). Luego de más de quince años de las primeras introducciones de estas vacunas se ha llegado a cierto consenso sobre estos efectos (14, 35, 36) aceptándose que la vacunación masiva afecta la frecuencia de los genotipos circulantes y posiblemente, las secuencias aminoacídicas de las proteínas de cubierta (37, 38). Este efecto puede, eventualmente, conducir a la aparición de cepas de escape con el consiguiente re-incremento de la carga de enfermedad a pesar de la vacunación (36, 39).

En enero de 2015 se introdujo la vacunación contra RVA en Argentina como parte del calendario nacional de inmunizaciones utilizando la vacuna Rotarix (cepa atenuada monovalente G1P[8]). A partir de entonces nuestro grupo inició la preparación de un proyecto de investigación para determinar la efectividad vacunal (EV) en general y en poblaciones de distintos estratos socio-económicos sometidas a muy distintas condiciones higiénico-sanitarias. El mismo proyecto está orientado también a caracterizar cepas circulantes en el contexto de la vacunación masiva, la cual presumiblemente condicionaría en parte su evolución. Este trabajo es sostenido parcialmente por el Programa de Virología Molecular Básica y Aplicada (ViMBA) de la UNQ y, hacia fines del 2019 fue seleccionado por la Fundación Bunge y Born para recibir el "Subsidio para Investigación de Enfermedades Infecciosas en Contextos Sociales Vulnerables de la Fundación Bunge y Born 2019". Este proyecto tiene al HEC como institución beneficiaria y el CEMET se constituye como la base operacional de un grupo de unos catorce centros de salud públicos y privados (ver figura 1). El estudio es denominado "Estudio de efectividad de la vacuna monovalente contra el Rotavirus en poblaciones de distintos medios socio-económicos de Buenos Aires" (nombre corto EvRo) e inicia a principios de 2020 pero, lamentablemente se vio demorado debido a la pandemia del Covid-19. Esta emergencia sanitaria no solo afectó a los integrantes del grupo de trabajo que debieron redirigir sus tareas al diagnóstico sino, que, debido a la falta de transmisión de muchos virus endémicos, las hospitalizaciones por diarreas, ya mermadas por el efecto de la vacuna (ver arriba), solo se volvieron a registrar incipientemente después de mediados del 2022. El proyecto involucra el reclutamiento de pacientes de GEA severa internados en dos tipos de establecimientos sanitarios, hospitales públicos y clínicas privadas,

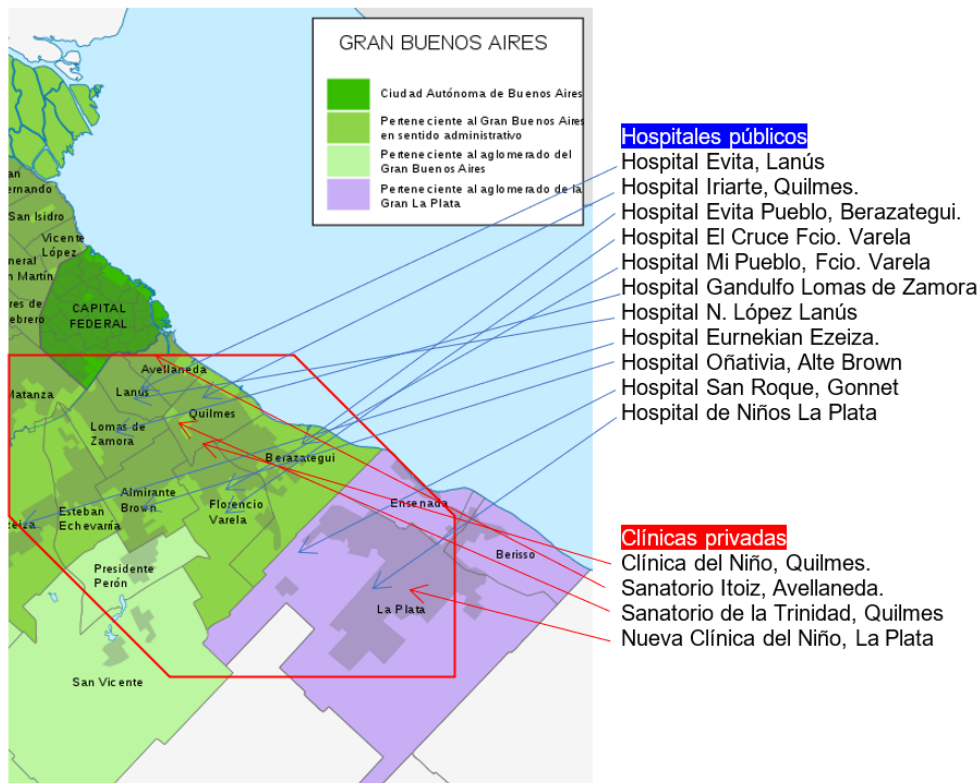
lográndose interesar a profesionales médicos a cargo de servicios y salas de pediatría del GBA y Gran La Plata (ver Fig. 2).

El estudio había comprometido inicialmente a 11 hospitales públicos y cuatro centros privados lo cual aseguraba un buen nivel de enrolamiento ya que, según los cálculos realizados por colaboradores expertos del CDC (Atlanta, USA) el número total de casos debía ser de unos 850 para llegar al poder adecuado para determinar EV. Actualmente el proyecto está en un proceso de reactivación ya que los casos solo comenzaron a aumentar recientemente y muchos de los profesionales médicos inicialmente interesados han cambiado sus funciones entre otros problemas.

#### Los objetivos planteados del EvRo son:

1. Establecer el nivel general de efectividad de la vacunación en el primero y segundo año post-vacunación.
2. Verificar si existe una tendencia diferencial en efectividad asociada a distintos niveles socio-económicos (NS).
3. Verificar si existe una tendencia diferencial en efectividad asociada a la recepción de una o dos dosis de la vacuna anti-RVA.
4. Establecer una colección de muestras de materia fecal de casos severos de gastroenteritis.
5. Realizar el genotipado y caracterización molecular de cepas de RVA en la era post-vacunal que serán evaluados en forma comparativa con datos históricos propios registrados desde 1996.
6. Observar la importancia de otros virus (RVC, Norovirus, Astrovirus, Adenovirus) en las GEA severas.

El protocolo involucra la firma inicial de un consentimiento informado, el llenado de un formulario que detalla todos los datos clínicos del caso, detalles del desarrollo del niño y patologías previas, status vacunal, datos y características de vivienda, convivientes y otros datos que ayudan a configurar el perfil socio-económico y sanitario. De cada paciente enrolado se colecta una muestra de materia fecal al inicio que se guarda congelada a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su procesamiento en UNQ o el Hospital El Cruce sometiéndola a detección de RVA y otros agentes virales de GEA. En los casos de RVA positivo, la muestra es adicionalmente caracterizada por genotipado y una selección de las mismas por secuenciación al menos de los genes de cubierta codificantes de VP7 y VP4.



**Figura 2.** Distribución en el Gran Buenos Aires y Gran La Plata de los centros de salud involucrados en el estudio EvRo (Estudio de efectividad de la vacuna monovalente contra el Rotavirus en poblaciones de distintos medios socio-económicos de Buenos Aires).

Este trabajo en vías de reactivación sería el primer estudio amplio de efectividad diseñado para establecer la EV general y en poblaciones de bajos recursos lo cual permitiría, además, visualizar un tipo de mapa de poblaciones vulnerables en nuestra región. No menos importante es el estudio molecular de cepas para permitirnos identificar sesgos evolutivos a nivel de genotipos y de secuencia de genes individuales. Finalmente, también será posible establecer la importancia de otros patógenos virales causantes de GE en el nuevo escenario post-vacunal. Creemos que este cúmulo de nueva información tendrá diversos impactos ya que se obtendrá por primera vez una medida directa de la EV en Argentina aportando simultáneamente información sobre poblaciones vulnerables a defectos en la protección. Esto habilitaría la planificación de eventuales intervenciones como cambios en la programación, dosis adicionales, aumento en el título de la vacuna, administración de inmunomoduladores, administración de anti o pro-bióticos (ver arriba). Desde el punto de vista de la epidemiología molecular se generará información científica relevante sobre la evolución de los RVA en la era post-vacunal y la posible emergencia de variantes de RVA y/o nuevos virus que ocupen el nicho de las GEA severas.

Resultados preliminares de EV. Entre 2015 y 2018 pudimos observar una disminución significativa de los casos severos, aumento de las edades de los afectados y un corrimiento de la estacionalidad en la casuística del HNRG. Todos estos efectos son atribuibles a efectos directos e indirectos de la vacunación masiva. El protocolo EvRo inició a principios de 2019 y, como se mencionó debió interrumpirse a principios de 2020 por la pandemia. Los datos de los pocos pacientes enrolados en ese año (antes de que el proyecto fuera finan-

ciado por FBB) muestran una efectividad vacunal del 61%. Por supuesto que este dato no debe ser tomado en cuenta ya que el N (51) está muy por debajo de los 850 necesarios para dotar de una certeza adecuada a las conclusiones. Sin embargo, dado que los datos provienen mayormente de hospitales, es posible que el resultado final no esté tan alejado.

Resultados preliminares de genotipado y caracterización de cepas. Como se detalló anteriormente, en el período prevacunal se registró una prevalencia y persistencia atípica de cepas G2P[4] acompañadas por la emergente global G12P[8] y otras cepas minoritariamente. Luego de nueve años de virtual ausencia emerge una cepa G1P[8] de origen extracontinental con muchos casos severos asociados en 2014. Llamativamente, al investigar las cepas de los dos años siguientes, 2015 y 2016, se halla una situación similar al período anterior al 2014. Entre los genotipos G detectados se observa que el dominante fue G12 con una frecuencia de 42,5% demostrando que en nuestra casuística este tipo ha pasado a formar parte de los tipos humanos más prevalentes ya que fue detectado ininterrumpidamente durante el período 2008-2014. El genotipo codominante fue G2, con una frecuencia de 34,5%. Los tipos que evidenciaron frecuencias menores fueron G1, G3 y G10 con una frecuencia de 3,4% cada uno. En cuanto a los genotipos P, el dominante fue P[4] con una frecuencia de 56,5% y una codominancia del tipo P[8] de 43,5%, porcentajes esperables, ya que las combinaciones más comunes fueron G2 con P[4] y G12 con P[8]. Un total de 15 % fueron no tipificables (G o P) y un 27,2 % mostraron infecciones mixtas (más de un tipo G y/o P) (27). Luego del 2016 las muestras provistas por el HNRG se vuelven mucho más escasas por la baja

incidencia de casos. Los cuales se vuelven virtualmente ausentes en 2020, 2021 y parte de 2022 período durante el cual tenemos un gran “gap” informativo sobre la evolución y genotipificación de RVA probablemente circulando en mínimos niveles.

Durante los años 2022 y 2023 pudo observarse un nuevo incremento de GEA causadas por RVA y, llamativamente, parte de ellas en niños en edad escolar y adolescentes. Hemos iniciado la caracterización de esas cepas de 2022 y 2023, algunas de las cuales corresponden al genotipo G3 de una variante denominada “equina”. Como se ha mencionado en la introducción La mayoría de los genomas humanos RVA están asignados a tres constelaciones genómicas o genogrupos: las tipo Wa o genogrupo 1 con proteínas de superficie de genotipos típicamente G1, 3, 4, 9 o 12, P[8] y con un “esqueleto” típicamente de genotipos 1 (I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E1-H1), las tipo DS-1, con proteínas de superficie de genotipos G2, P[4] y un “esqueleto” de genotipos 2(I2-R2-C2-M2-A2-N2-T2-E2-H2) y el menos común tipo

AU-1 o con proteínas de superficie clásicas G3, P[9] y un “esqueleto” de genotipos 3 (I3-R3-C3-M3-A3-N3-T3-E3-H3). Las cepas reasociantes inter-genogrupos si bien, halladas frecuentemente cuando co-circulan dos genogrupos en la misma estación, son consideradas, menos estables evolutivamente (40). Sin embargo desde 2013 se han reportado en forma creciente cepas humanas de rotavirus con proteínas de superficie G1P[8] y G3P[8] con “esqueleto” tipo DS-1 (41-46). En particular, las cepas G3P[8] tipo DS-1 con la variante equina de G3 se han reportado como dominantes tanto en Asia como en países de Europa, América y Oceanía en años recientes (46-49). En el caso de las cepas G3 equinas circulando en 2022 y 2023 recientemente identificadas por nuestro grupo en AMBA hemos logrado caracterizarlas como G3P[8]. Adicionalmente, hemos logrado obtener una secuencia parcial del gen VP7 de estas cepas y verificamos que porta una mutación no descrita hasta el momento ubicada en uno de los epítopes relacionados con neutralización. Nos hallamos actualmente abocados a la caracterización más completa de estas interesantes cepas.

## BIBLIOGRAFÍA:

1. Tate JE, Burton AH, Boschi-Pinto C, Parashar UD. 2016. Global, Regional, and National Estimates of Rotavirus Mortality in Children <5 Years of Age, 2000-2013. *Clin Infect Dis* 62 Suppl 2:S96-S105.
2. Tate JE, Burton AH, Boschi-Pinto C, Steele AD, Duque J, Parashar UD. 2012. 2008 estimate of worldwide rotavirus-associated mortality in children younger than 5 years before the introduction of universal rotavirus vaccination programmes: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 12:136-41.
3. Banyai K, Kemenesi G, Budinski I, Foldes F, Zana B, Marton S, Varga-Kugler R, Oldal M, Kurucz K, Jakab F. 2017. Candidate new rotavirus species in Schreiber's bats, Serbia. *Infect Genet Evol* 48:19-26.
4. Estes MK, Greenberg H. 2013. Rotavirus, p 1347-1401. In Knipe DM, Howley PM (ed), *Fields Virology*, vol II. LIPPINCOTT WILLIAMS & WILKINS, a WOLTERS KLUWER business, Philadelphia, USA.
5. Estes MK KA. 2007. Rotaviruses. In David M. Knipe PMH (ed), *Fields Virology*, vol 2. Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA.
6. Banyai K, Laszlo B, Duque J, Steele AD, Nelson EA, Gentsch JR, Parashar UD. 2012. Systematic review of regional and temporal trends in global rotavirus strain diversity in the pre rotavirus vaccine era: insights for understanding the impact of rotavirus vaccination programs. *Vaccine* 30 Suppl 1:A122-30.
7. Castello AA, Arguelles MH, Rota RP, Olthoff A, Jiang B, Glass RI, Gentsch JR, Glikmann G. 2006. Molecular epidemiology of group A rotavirus diarrhea among children in Buenos Aires, Argentina, from 1999 to 2003 and emergence of the infrequent genotype G12. *J Clin Microbiol* 44:2046-50.
8. Castello AA, Nakagomi T, Nakagomi O, Jiang B, Kang JO, Glass RI, Glikmann G, Gentsch JR. 2009. Characterization of genotype P[9]G12 rotavirus strains from Argentina: high similarity with Japanese and Korean G12 strains. *J Med Virol* 81:371-81.
9. Esteban LE, Rota RP, Gentsch JR, Jiang B, Esona M, Glass RI, Glikmann G, Castello AA. 2010. Molecular epidemiology of group A rotavirus in Buenos Aires, Argentina 2004-2007: reemergence of G2P[4] and emergence of G9P[8] strains. *J Med Virol* 82:1083-93.
10. Mandile MG, Arguelles MH, Temprana CF, Peri Ibanez ES, Silvestre D, Musto A, Rodriguez Perez A, Mistchenko A, Glikmann G, Castello AA. 2020. Pre-vaccine rotavirus surveillance in Buenos Aires, Argentina. Characterization of an emergent G1P[8] strain associated to fatal cases in 2014. *Infect Genet Evol* 80:104192.
11. Mandile MG, Esteban LE, Arguelles MH, Mistchenko A, Glikmann G, Castello AA. 2014. Surveillance of group A Rotavirus in Buenos Aires 2008-2011, long lasting circulation of G2P[4] strains possibly linked to massive monovalent vaccination in the region. *J Clin Virol* 60:282-9.
12. Kim JS, Jeong HW, Park SH, Kim JA, Jin YH, Kim HS, Jung S, Lee JI, Lee JH. 2023. Genotypic shift in rotavirus associated with neonatal outbreaks in Seoul, Korea. *J Clin Virol* 164:105497.
13. Seheri LM, Magagula NB, Peenze I, Rakau K, Ndadza A, Mwenda JM, Weldegebriel G, Steele AD, Mphahlele MJ. 2018. Rotavirus strain diversity in Eastern and Southern African countries before and after vaccine introduction. *Vaccine* 36:7222-7230.
14. Sadiq A, Khan J. 2024. Rotavirus in developing countries: molecular diversity, epidemiological insights, and strategies for effective vaccination. *Frontiers in Microbiology* 14.

15. Iturriza-Gomara M, Green J, Brown DW, Desselberger U, Gray JJ. 2000. Diversity within the VP4 gene of rotavirus P[8] strains: implications for reverse transcription-PCR genotyping. *J Clin Microbiol* 38:898-901.
16. Simmonds MK, Armah G, Asmah R, Banerjee I, Damanka S, Esona M, Gentsch JR, Gray JJ, Kirkwood C, Page N, Iturriza-Gomara M. 2008. New oligonucleotide primers for P-typing of rotavirus strains: Strategies for typing previously untypeable strains. *J Clin Virol* 42:368-73.
17. Esona MD, Gautam R, Tam KI, Williams A, Mijatovic-Rustempasic S, Bowen MD. 2015. Multiplexed one-step RT-PCR VP7 and VP4 genotyping assays for rotaviruses using updated primers. *J Virol Methods* 223:96-104.
18. Fujii Y, Doan YH, Wahyuni RM, Lusida MI, Utsumi T, Shoji I, Katayama K. 2019. Improvement of Rotavirus Genotyping Method by Using the Semi-Nested Multiplex-PCR With New Primer Set. *Front Microbiol* 10:647.
19. Arguelles MH, Villegas GA, Castello A, Abrami A, Ghiringhelli PD, Semorile L, Glikmann G. 2000. VP7 and VP4 genotyping of human group A rotavirus in Buenos Aires, Argentina. *J Clin Microbiol* 38:252-9.
20. Castello AA, Arguelles MH, Villegas GA, Lopez N, Ghiringhelli DP, Semorile L, Glikmann G. 2000. Characterization of human group C rotavirus in Argentina. *J Med Virol* 62:199-207.
21. Castello AA, Arguelles MH, Villegas GA, Olthoff A, Glikmann G. 2002. Incidence and prevalence of human group C rotavirus infections in Argentina. *J Med Virol* 67:106-12.
22. Castello AA, Arvay ML, Glass RI, Gentsch J. 2004. Rotavirus strain surveillance in Latin America: a review of the last nine years. *Pediatr Infect Dis J* 23:5168-72.
23. Barril PA, Martinez LC, Giordano MO, Castello AA, Rota RP, Isa MB, Masachessi G, Ferreyra LJ, Glikmann G, Nates SV. 2006. Detection of group a human rotavirus G9 genotype circulating in Cordoba, Argentina, as early as 1980. *J Med Virol* 78:1113-8.
24. Naranjo A, Cedeno C, Teran E, Castello A. 2008. Prevalence of VP4 and VP7 genotypes of human rotavirus in Ecuadorian children with acute diarrhea. *J Med Virol* 80:1106-11.
25. Castello AA, Arguelles MH, Rota RP, Humphrey CD, Olthoff A, Gentsch JR, Glass RI, Glikmann G, Jiang B. 2009. Detection and characterization of group C rotavirus in Buenos Aires, Argentina, 1997-2003. *J Med Virol* 81:1109-16.
26. Barril PA, Giordano MO, Isa MB, Masachessi G, Ferreyra LJ, Castello AA, Glikmann G, Nates SV. 2010. Correlation between rotavirus A genotypes detected in hospitalized children and sewage samples in 2006, Cordoba, Argentina. *J Med Virol* 82:1277-81.
27. Díaz V, Peri Ibañez E, Castello A. 2019. Determinación de genotipos de rotavirus del grupo A y análisis epidemiológico de las gastroenteritis agudas en poblaciones pediátricas del Gran Buenos Aires en la era post-vacunal. Trabajo Final Bioquímica. Universidad Nacional Arturo Jauretche.
28. Griffin DD, Fletcher M, Levy ME, Ching-Lee M, Nogami R, Edwards L, Peters H, Montague L, Gentsch JR, Glass RI. 2002. Outbreaks of adult gastroenteritis traced to a single genotype of rotavirus. *J Infect Dis* 185:1502-5.
29. Mikami T, Nakagomi T, Tsutsui R, Ishikawa K, Onodera Y, Arisawa K, Nakagomi O. 2004. An outbreak of gastroenteritis during school trip caused by serotype G2 group A rotavirus. *J Med Virol* 73:460-4.
30. Gosselin V, Genereux M, Gagneur A, Petit G. 2016. Effectiveness of rotavirus vaccine in preventing severe gastroenteritis in young children according to socioeconomic status. *Hum Vaccin Immunother* 12:2572-2579.
31. Clarke E, Desselberger U. 2015. Correlates of protection against human rotavirus disease and the factors influencing protection in low-income settings. *Mucosal Immunol* 8:1-17.
32. Kirkwood CD, Boniface K, Barnes GL, Bishop RF. 2011. Distribution of rotavirus genotypes after introduction of rotavirus vaccines, Rotarix(R) and RotaTeq(R), into the National Immunization Program of Australia. *Pediatr Infect Dis J* 30:548-53.
33. Hull JJ, Teel EN, Kerin TK, Freeman MM, Esona MD, Gentsch JR, Cortese MM, Parashar UD, Glass RI, Bowen MD. 2011. United States rotavirus strain surveillance from 2005 to 2008: genotype prevalence before and after vaccine introduction. *Pediatr Infect Dis J* 30:542-7.
34. Gurgel RQ, Cuevas LE, Vieira SC, Barros VC, Fontes PB, Salustino EF, Nakagomi O, Nakagomi T, Dove W, Cunliffe N, Hart CA. 2007. Predominance of rotavirus P[4] G2 in a vaccinated population, Brazil. *Emerg Infect Dis* 13:1571-3.
35. Roczo-Farkas S, Kirkwood CD, Cowley D, Barnes GL, Bishop RF, Bogdanovic-Sakran N, Boniface K, Donato CM, Bines JE. 2018. The Impact of Rotavirus Vaccines on Genotype Diversity: A Comprehensive Analysis of 2 Decades of Australian Surveillance Data. *J Infect Dis* 218:546-554.
36. Santos VS, Marques DP, Martins-Filho PR, Cuevas LE, Gurgel RQ. 2016. Effectiveness of rotavirus vaccines against rotavirus infection and hospitalization in Latin America: systematic review and meta-analysis. *Infect Dis Poverty* 5:83.
37. Pitzer VE, Bilcke J, Heylen E, Crawford FW, Callens M, De Smet F, Van Ranst M, Zeller M, Matthijnssens J. 2015. Did Large-Scale Vaccination Drive Changes in the Circulating Rotavirus Population in Belgium? *Sci Rep* 5:18585.
38. Zeller M, Donato C, Trovao NS, Cowley D, Heylen E, Donker NC, McAllen JK, Akopov A, Kirkness EF, Lemey P, Van Ranst M, Matthijnssens J, Kirkwood CD. 2015. Genome-Wide Evolutionary Analyses of G1P[8] Strains Isola-

ted Before and After Rotavirus Vaccine Introduction. *Genome Biol Evol* 7:2473-83.

39. Arnold MM. 2018. Rotavirus vaccines: why continued investment in research is necessary. *Curr Clin Microbiol Rep* 5:73-81.

40. McDonald SM, Matthijssens J, McAllen JK, Hine E, Overton L, Wang S, Lemey P, Zeller M, Van Ranst M, Spiro DJ, Patton JT. 2009. Evolutionary dynamics of human rotaviruses: balancing reassortment with preferred genome constellations. *PLoS Pathog* 5:e1000634.

41. Fujii Y, Nakagomi T, Nishimura N, Noguchi A, Miura S, Ito H, Doan YH, Takahashi T, Ozaki T, Katayama K, Nakagomi O. 2014. Spread and predominance in Japan of novel G1P[8] double-reassortant rotavirus strains possessing a DS-1-like genotype constellation typical of G2P[4] strains. *Infect Genet Evol* 28:426-33.

42. Nakagomi T, Nguyen MQ, Gauchan P, Agbemabiese CA, Kaneko M, Do LP, Vu TD, Nakagomi O. 2017. Evolution of DS-1-like G1P[8] double-gene reassortant rotavirus A strains causing gastroenteritis in children in Vietnam in 2012/2013. *Arch Virol* 162:739-748.

43. Komoto S, Tacharoenmuang R, Guntapong R, Ide T, Tsuji T, Yoshikawa T, Tharmaphornpilas P, Sangkitporn S, Taniguchi K. 2016. Reassortment of Human and Animal Rotavirus Gene Segments in Emerging DS-1-Like G1P[8] Rotavirus Strains. *PLoS One* 11:e0148416.

44. Tacharoenmuang R, Komoto S, Guntapong R, Ide T, Sinchai P, Upachai S, Yoshikawa T, Tharmaphornpilas P, Sangkitporn S, Taniguchi K. 2016. Full Genome Characterization of Novel DS-1-Like G8P[8] Rotavirus Strains

that Have Emerged in Thailand: Reassortment of Bovine and Human Rotavirus Gene Segments in Emerging DS-1-Like Intergenogroup Reassortant Strains. *PLoS One* 11:e0165826.

45. Luchs A, da Costa AC, Cilli A, Komninakis SCV, Carmona RCC, Boen L, Morillo SG, Sabino EC, Timenetsky M. 2019. Spread of the emerging equine-like G3P[8] DS-1-like genetic backbone rotavirus strain in Brazil and identification of potential genetic variants. *J Gen Virol* 100:7-25.

46. Martinez-Gutierrez M, Hernandez-Mira E, Rendón-Marín S, Ruiz-Saenz J. 2021. Wa-1 Equine-Like G3P[8] Rotavirus from a Child with Diarrhea in Colombia. *Viruses* 13.

47. Bonura F, Banyai K, Mangiaracina L, Bonura C, Martella V, Giammanco GM, De Grazia S. 2021. Emergence in 2017-2019 of novel reassortant equine-like G3 rotavirus strains in Palermo, Sicily. *Transbound Emerg Dis* doi:10.1111/tbed.14054.

48. Gutierrez MB, de Figueiredo MR, Fialho AM, Cantelli CP, Miagostovich MP, Fumian TM. 2021. Nosocomial acute gastroenteritis outbreak caused by an equine-like G3P[8] DS-1-like rotavirus and GII.4 Sydney[P16] norovirus at a pediatric hospital in Rio de Janeiro, Brazil, 2019. *Hum Vaccin Immunother* 17:4654-4660.

49. Bonura F, Banyai K, Mangiaracina L, Bonura C, Martella V, Giammanco GM, De Grazia S. 2022. Emergence in 2017-2019 of novel reassortant equine-like G3 rotavirus strains in Palermo, Sicily. *Transbound Emerg Dis* 69:813-835.