

Frecuencia y tipificación de rotavirus en heces de cabritos del Estado Lara - Venezuela

Rotavirus frequency and typification in goats kids feces in Lara State, Venezuela

Bastidas Z., López J.A., Ramón E., García M., Saldivia J., Perdomo C.

Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado". Decanato de Ciencias Veterinarias

Telefono: 0251-2592813; Teléfono: 0416-6563110

E-mail: zbastidas@ucla.edu.ve

RESUMEN

Los Rotavirus son el principal agente etiológico asociado a gastroenteritis en niños y animales jóvenes a nivel mundial, causando diarrea aguda en cabritos de 1-8 semanas de edad en España, Francia, Sudáfrica, Trinidad y Tobago e Italia. En Venezuela la prevalencia de rotavirus en cerdos y bovinos está entre 20-30%. En el estado Lara la diarrea aguda es la principal afección observada en caprinos, lo que motiva a evaluar el impacto de los rotavirus en la etiología de la diarrea en cabritos. La investigación describe resultados preliminares del estudio de rotavirus en heces de cabritos diarreicos y no diarreicos en 8 apriscos ubicados en los caseríos "El Cercado y Paso Real" del Estado Lara. La detección se realizó mediante ELISA doble sándwich basado en la proteína de la cápside viral interna VP6 y la tipificación por análisis del patrón de migración electroforético en geles de poliacrilamida (PAGE). Los datos fueron analizados mediante estadística no paramétrica (χ^2 ; $P < 0,01$), utilizando el programa estadístico Minitab 15.0. De 126 muestras colectadas, 18 resultaron positivas a rotavirus, mostrando un electroferotipo característico para los rotavirus grupo A. La frecuencia de detección de rotavirus fue de 14,27%, siendo 9,5% en diarreicos y 4,77% en no diarreicos; estas diferencias fueron estadísticamente significativas ($\chi^2 = 16,784$; $P < 0,01$), lo que permite concluir que los rotavirus grupo A deben ser considerados un agente etiológico importante al estudiar diarrea neonatal en cabritos. Estos resultados dan inicio a futuros estudios de prevalencia que permitirán establecer criterios de manejo y prevención de las diarreas en cabritos.

Palabras Clave: Rotavirus, Detección, Tipificación, Cabritos.

ABSTRACT

Rotavirus is the main etiologic agent associated with gastroenteritis in young children and animals worldwide, causing acute diarrhea in goat's kids aged 1-8 weeks in Spain, France, South Africa, Trinidad and Tobago and Italy. In Venezuela the prevalence of rotavirus in pigs and cattle is between 20-30%. In Lara state acute diarrhea is the main condition observed in goats, what motivates to assess impact of rotavirus on diarrhea etiology in goat's kids. The research describes preliminary results of the study of rotavirus in goats kids feces diarrheal or not diarrheal in 8 sheepholds located on villages "El Cercado and Paso Real" Lara State. Detection was performed by double sandwich ELISA based on protein of viral internal capsid VP6 and the typification by analysis of electrophoretic migration pattern in polyacrylamide gels (PAGE). Data were analyzed using nonparametric statistics (χ^2 , $P < 0.01$), using the statistical software Minitab 15.0. Of 126 samples collected, 18 were positive for rotavirus, showing a characteristic electropherotype for rotavirus group A. The rotavirus detection rate was 14.27%, being 9.5% in diarrheals and 4.77% in not diarrheals, these differences were statistically significant ($\chi^2 = 16.784$, $P < 0.01$), leading to conclusion that rotavirus group A should be considered an important etiologic agent in studying neonatal diarrhea in goats kids. These results give beginning to future prevalence studies that will establish criteria for management and prevention of diarrhea in goat's kids.

Key words: Rotavirus, Detection, Typification, Goats kids, Diarrhea.

INTRODUCCIÓN

Los rotavirus son considerados el principal agente etiológico de gastroenteritis severa en niños y animales jóvenes en todo el mundo [1, 2]. El virión de rotavirus es sumamente estable en el ambiente y la transmisión del virus ocurre por la vía fecal-oral [3, 4]. Se estima que anualmente las infecciones por rotavirus ocasionan cerca de medio millón de muertes, 2 millones de hospitalizaciones y 25 millones de visitas médicas, por lo que se considera un problema de salud pública a escala mundial [5]. Asimismo, se han asociado con diarreas neonatales en una gran variedad de especies animales [6, 7] detectándose en heces de monos, caballos, aves, vacas, bisontes, antílopes, ovejas y cabras, cerdos, gatos, perros, conejos, conejillo de india, ratones y pollos [8, 9, 10]. Son considerados de importancia mundial en bovinos, equinos, porcinos y aves, causando pérdidas económicas importantes determinadas por mortalidad, disminución de las tasas de ganancia de peso y conversión alimentaria [7, 11, 12, 13]; mientras que en caninos y felinos han presentado poca atención debido a que la infección cursa con signos subclínicos, aunque hay evidencia de casos de diarrea severa en neonatos, siendo algunos de estos letales [10, 14]. En cabritos, los rotavirus han causado diarrea aguda entre 1-8 semanas de edad, según reportes en España [15, 16], Francia [17], Sudáfrica [18], Trinidad y Tobago [19] e Italia [20, 21].

En Venezuela se estima que la infección por rotavirus en niños causa cerca de 300 muertes cada año, siendo el 80% de ellas en niños menores de un año [22, 23, 24]; mientras que los estudios en animales, han sido realizados sobre rotavirus porcinos, bovinos y caninos. En la ganadería porcina y bovina venezolana, se ha descrito una prevalencia de infección por rotavirus entre 20-30% en animales entre 2-6 semanas de edad con cuadro de diarrea [25, 26, 27, 28, 29], con un aumento de la incidencia en los meses de escasa precipitación y humedad relativa [25]. Basándose en observaciones de que el 100% de los animales adultos muestran evidencias serológicas de infecciones por este agente [25], se asume que la infección por rotavirus es común en dicha población, siendo una de las principales causas de pérdidas económicas por mortalidad y morbilidad. Estudios realizados en la región centroccidental han demostrado la circulación de rotavirus en bovinos y caninos de la zona [27, 29, 30, 31, 32], pero es hasta ahora que se reporta un estudio en caprinos por este agente patógeno, aunque el síndrome diarreico ha sido una de las afecciones más frecuentemente observadas en este tipo de explotaciones [33]. En general, la información epidemiológica que se tiene sobre el impacto de la infección por rotavirus en la región es

escasa, tanto en humanos como en animales. En consecuencia y considerando que en los estados Lara y Falcón se explota el 75% de la producción caprina nacional [34], estos datos motivaron a evaluar el impacto de los rotavirus como agente etiológico de la diarrea en esta especie; por lo tanto se estimó mediante ELISA la frecuencia de rotavirus en caprinos de 1-8 semanas de edad, como punto de partida para estudios de prevalencia que ayuden a establecer criterios de manejo y prevención de las diarreas en cabritos.

METODOLOGÍA

Población y muestra: Se tomaron 129 muestras de heces, distribuidas entre 8 apriscos ubicados en los caseríos "Paso Real y El Cercado", municipios Jiménez e Iribarren, del Estado Lara. Los criterios de recolección fueron: a) Edad, cabritos de hasta 8 semanas de vida, ya que el virus afecta animales jóvenes; b) Se recolectaron heces diarreicas y no diarreicas debido a que, aunque el rotavirus causa gastroenteritis severas, muchas infecciones naturales son subclínicas.

Se tomaron aproximadamente 5 g de heces por animal. Las muestras se trasladaron refrigeradas al laboratorio y allí fueron conservadas a -20°C hasta su procesamiento.

Detección de rotavirus: Se prepararon clarificados fecales al 10%, utilizando Buffers Fosfato Salino (PBS). Se llevó a cabo un ensayo inmunoenzimático (ELISA) tipo sándwich cualitativo, basado en la detección del antígeno común de grupo VP6 [35], utilizando el kit comercial RIDASCREEN® Rotavirus (Biopharm), siguiendo las instrucciones del fabricante. La lectura de los platos de ELISA se realizó en un Lector de ELISA (Spectra 44100® y Tecan Sunrise®).

Tipificación electroforética en gel de poliacrilamida (PAGE): Al clarificado fecal de todas las muestras positivas al ELISA se les realizó extracción de ARN viral por método Fenol-Cloroformo (Trizol LS®), siguiendo las instrucciones del fabricante. Se agitó cada muestra hasta homogeneizar y se recuperó el sobrenadante con las partículas virales por centrifugación a 10.000 x g durante 5 minutos.

Se confirmó la pureza de las poblaciones virales en las muestras positivas al ELISA y se tipificó el patrón electroforético de las mismas mediante PAGE. Las bandas de ARN se separaron usando un gel de acrilamida al 10% y la corrida se realizó a 300 voltios y 60 miliamperios por 6 horas. El gel se tiñó con AgNO₃ al 0,18% (Merck®) por 1 hora, se reveló con NaOH 0,75 M y formaldehído 0,76% v/v y se fijó con ácido acético (Merck®) al 5 % [36].

En las electroforesis fue utilizada la cepa bovina RF como patrón de comparación conocido de rotavirus grupo A, cedida por J. Cohen (Institut National de la

Rechercheé Agronomique, Francia) al Laboratorio Biología de Virus del IVIC y posteriormente cedida al Laboratorio de Virología del DCV-UCLA.

Análisis Estadístico: Se realizó estadística descriptiva para calcular las tasas de detección de virus. Para el estudio de las diferencias en la frecuencia de rotavirus entre animales diarreicos y no diarreicos se aplicó la prueba no paramétrica de Chi cuadrado (χ^2). Los datos fueron procesados mediante el programa estadístico Minitab 15.0 y se consideró una significancia de $P < 0,01$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Detección de rotavirus en heces caprinas: Se procesaron mediante ELISA (RIDASCREEN ROTA®) un total de 126 muestras de heces caprinas, representando las diarreicas 26,98% y las no diarreicas 73,02% del total. La positividad a rotavirus se encontró en 12 muestras diarreicas y en 6 no diarreicas, obteniendo así una frecuencia de rotavirus caprinos de 9,5% en animales diarreicos y de 4,77% en no diarreicos, para una frecuencia general de 14,27% (Tablas I y II). Del total, 108 muestras resultaron negativas a rotavirus para un 85,73%; de las cuales 86 (68,25%) eran no diarreicas y 22 (17,48%) diarreicas.

La frecuencia para rotavirus en las muestras diarreicas (9,5%) prácticamente duplica a la encontrada en las no diarreicas (4,77%), estas diferencias fueron estadísticamente significativas ($\chi^2=16,784$; $P < 0,01$) con un nivel de confianza de 99%. Estos resultados demuestran la circulación de rotavirus en caprinos de Venezuela y hace considerarlos como importantes agentes causales de diarreas neonatales;

sin dejar de suponer que otros patógenos pueden actuar, como se demuestra por las 22 muestras diarreicas negativas a rotavirus (17,48%). La frecuencia general de rotavirus (14,27%) fue menor al 28,6% reportado en Trinidad [19] y 15,6% en Chile [37] pero mayor al 2,2% encontrado en México [38] y al 8,1% en España [16].

Las enfermedades de los cabritos revisten una importancia preponderante en las explotaciones pecuarias por el enorme daño económico que ellas representan. Durante sus primeros días de vida, los recién nacidos están propensos a sufrir cuadros de diarrea [39, 40], asociados en la mayoría de los casos a gastroenteritis por rotavirus, una de las principales causas de pérdidas económicas por mortalidad y morbilidad [16]. En la especie caprina los antecedentes sobre agentes etiológicos de diarrea neonatal son escasos. Lincicome, en 1982, asocia el parasitismo por helmintos y coccidias con este síndrome [41]. Según Nagy y col. (1984), la principal causa de diarrea en cabritos es *Cryptosporidium* [42]. Otros agentes descritos en relación a diarrea neonatal son: rotavirus [42,43,44,45]; herpesvirus [46]; coronavirus [42, 44]; adenovirus [42]; *Escherichia coli* [42, 44] y *Cryptosporidium* [45]. et al.

Las muestras diarreicas positivas a rotavirus de la presente investigación provenían de cabritos entre 1 y 4 semanas de edad (66%); mientras que las muestras no diarreicas positivas correspondieron a cabritos entre 5 y 8 semanas de edad (34%), lo cual confirma lo reportado por otros autores en relación a que los rotavirus tienden a ser más patogénicos a menor edad de los animales [16, 42, 43, 44]. En 1977, Snodgrass y Herring encontraron por primera vez en Inglaterra a los rotavirus asociados a un brote de diarrea que afectó

	Diarreicos	No Diarreicos	Total Muestras
Positivas	12	6	18
Negativas	22	86	108
Total Muestras	34	92	126

Tabla I. Detección por ELISA de rotavirus en heces de cabritos diarreicos y no diarreicos.

Frecuencia (%)	Diarreicos	No Diarreicos	Total
Positivas	9,5	4,77	14,27
Negativas	17,48	68,25	85,73
Total	26,98	73,02	100

Tabla II. Frecuencia de rotavirus en heces de cabritos diarreicos y no diarreicos.

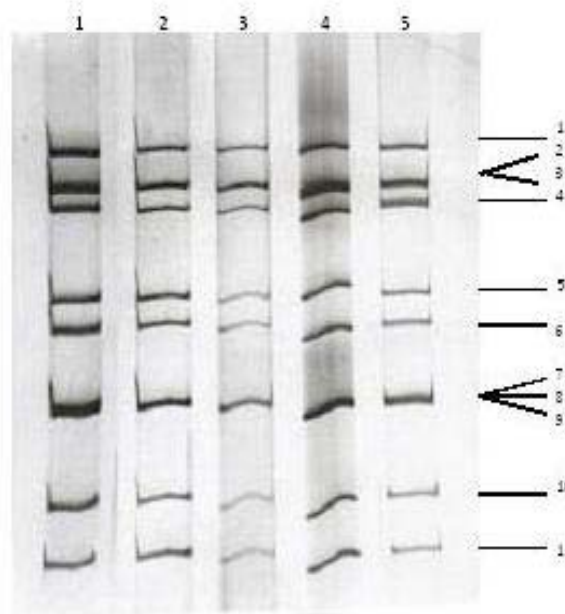
a cabritos y corderos de 4 a 6 meses de edad; dónde se observaron rotavirus mediante microscopía electrónica en dos de las muestras procesadas, hallazgo que fue confirmado por inmunofluorescencia indirecta en células inoculadas (línea celular LLC MK y cultivo primario de riñón de ternero [47]. Posteriormente en Hungría, se detectaron rotavirus por microscopía electrónica en cabritos menores de 4 meses con diarrea y sin diarrea; aunque también fueron encontrados otros agentes como *Cryptosporidium*, coronavirus, *E. coli* y coccidias [42, 44]. En Francia, en 1984, Yvore y col., constataron la presencia de rotavirus mediante ELISA en cabritos pertenecientes a 22 apriscos, sin establecer una relación aparente con la existencia de diarrea [45]. Evidencias serológicas de la infección por rotavirus en caprinos han sido reportadas en forma muy general por Woode y col. en 1976 [48] y Mc Nulty en 1978 [49]. En un estudio serológico realizado en 12 especies animales en diferentes localidades de Japón, utilizando la cepa Lincoln de rotavirus bovino (NCDV) como antígeno para la prueba de fijación del complemento, se determinó que más del 70% de las especies estudiadas resultaron positivas; los títulos de anticuerpos más altos se encontraron en ovinos, conejos y terneros [50].

Nagy y col. (1984) detectaron anticuerpos neutralizantes en 55 sueros pertenecientes a 81 cabritos (16 en 37 cabritos menores de 4 meses; 18 en 22 cabritos de 7 a 8 meses, y 21 de 22 adultos) [42]. En los estudios realizados para rotavirus en rebaños caprinos de España la diarrea aguda se observó en cabritos entre 1-4 días de edad [16]; mientras que en Trinidad se encontró una asociación entre infección y diarrea de 39,9%, en cabritos de 1-8 semanas de edad [19]. En Chile, en un estudio realizado en pequeños rumiantes del Zoológico Nacional de Santiago no se encontraron antígenos de rotavirus en heces de 9 cabras enanas adultas (*Capra hircus*) de un grupo de 27 animales, analizadas mediante ELISA [37]; igualmente se reporta el hallazgo de *Cryptosporidium* en 12 bovinos, 17 porcinos y 2 caprinos [51]. Todos los estudios hasta ahora reportados coinciden en que existe asociación entre la positividad a rotavirus y la diarrea aguda en los cabritos de corta edad o recién nacidos.

Patrón de migración electroforética (PAGE) de aislados caprinos.

Se analizó el ARN extraído de los clarificados de heces caprinas positivas a rotavirus por ELISA, con el fin de tipificar el electroferotipo y la pureza de los aislados. Las corridas electroforéticas del ARN rotaviral mostraron un patrón de migración largo descrito como característico para los rotavirus grupo A, con los segmentos genómicos migrados en cuatro conjuntos según su peso molecular; a saber, conjunto I

Figura 1. Electroforesis del genoma ARN de aislados de rotavirus caprinos venezolanos. Las muestras fueron sometidas a una electroforesis en gel de poliacrilamida al 10% y los segmentos genómicos fueron visualizados por tinción con nitrato de plata. Se muestra el patrón de migración del ARN de doble cadena extraído de clarificados fecales, comparado con el de la cepa bovina RF. Canales 1 al 3 y canal 5, aislados caprinos; canal 4, RF. Los números laterales muestran el punto de migración de los segmentos genómicos individuales (1, 4, 5, 6, 10 y 11) y los agrupados (2-3; 7-9) que coinciden con el patrón largo descrito para rotavirus grupo A.



(segmentos del 1 al 4), conjunto II (segmentos 5 y 6), conjunto III (segmentos 7, 8 y 9) y conjunto IV (segmentos 10 y 11), similar al patrón de la cepa bovina RF utilizada como patrón conocido de comparación (Figura 1).

La VP6 es la proteína rotaviral con especificidad de grupo y a la fecha existen 7 grupos nombrados de la A a la G. De ellos son los rotavirus del grupo A los más frecuentes y principales agentes causales de gastroenteritis severa en niños y animales en todo el mundo. Éstos se han encontrado circulando en gran variedad de especies animales, incluyendo caprinos [52, 53, 54]; mientras los rotavirus grupo B y C se han detectado en cabritos diarreicos menores de 5 días [16].

En caprinos la diarrea aguda se ha asociado en un 8-28% con la infección por rotavirus grupo A como principal agente causal, similar a lo reportado para otras especies animales [15, 16, 17, 18, 19, 20, 21], coincidiendo los hallazgos del presente trabajo a lo

reportados por los mencionados autores.

Las enfermedades infecciosas del ganado son una gran amenaza para la salud animal y el bienestar mundial y su control efectivo es crucial para la salud agronómica, para salvaguardar y garantizar el suministro de proteínas para consumo humano y para aliviar la pobreza rural en los países en desarrollo; por tanto es de suma importancia continuar los estudios que permitan esclarecer el impacto de las enfermedades epidémicas en los medios de vida campesinos. Innumerables esfuerzos se han hecho por parte de los laboratorios, pero la diarrea por rotavirus continúa siendo una seria y costosa enfermedad en animales, tomando mayor importancia en neonatos debilitados [55]. A pesar de que está bien justificada la necesidad de una vacuna contra rotavirus, aún no se dispone de ninguna. La producción caprina es uno de los rubros más importantes para la alimentación de pequeños y medianos productores en el mundo [56], representando para el estado Lara un importante sustento para las familias. A la fecha no se habían publicado estudios previos, siendo este el primer reporte en Venezuela de rotavirus en caprinos.

CONCLUSIÓN

Los rotavirus son un importante agente causal de diarrea aguda en animales jóvenes, incluyendo a la especie caprina. Se encontró una frecuencia para rotavirus en cabritos diarreicos significativamente mayor a la encontrada en las no diarreicos. Estos resultados demuestran la circulación de rotavirus grupo A en caprinos de Venezuela y hace considerarlos como importantes agentes causales de diarreas neonatales en cabritos. Estos resultados dan inicio a futuros estudios de prevalencia que permitirán establecer criterios de manejo y prevención de las diarreas en cabritos.

BIBLIOGRAFÍA

[1] Bern C, Unicomb L, Gentsch JR, Banul N, Yunus M, Sack RB, et al. Rotavirus diarrhea in Bangladeshi children: correlation of disease severity w serotypes. *J Clin Microbiol* 1992; 30(12):3234-3238.

[2] Kapikian AZ, Chanock CM. Rotavirus. En: Fields BN, Knipe DN, Melnick JL, Chanock CM, Roizman B, Shope RE, editors. *Virology*, vol. 2. Raven Press, New York; 1996. pp 1657-1708.

[3] Hoshino Y, Kapikian AZ. Rotavirus serotypes: classification and importance in epidemiology, immunity, and vaccine development. *J Health Popul Nutr* 2000; 18:5-14.

[4] Fischer TK, Steinsland H, Valentiner-Branth P. Rotavirus particles can survive storage in ambient

tropical temperatures for more than 2 months. *J Clin Microbiol* 2002; 40:4763-4764.

[5] Parashar UD, Hummelan EG, Bresee JS, Miller MA, Glass RI. Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. *Emerg Infect Dis* 2003; 9(5):565-572.

[6] Saif LJ, Rosen BI, Parwani, AV. Animal Rotaviruses. En: Kapikian, A, editores. *Viral infections of gastrointestinal tract*. Marcel Dekker, New York, USA; 1994. pp. 229-314.

[7] Bridger, JC. Rotaviruses: the present situation in farm animals. *Vet Ann* 1980; 20:172-179.

[8] Hoshino Y, Wyatt R, Scott W, Appel M. Isolation and Characterization of a Canine Rotavirus. *Arch Virol* 1982; 72(1-2):113-125.

[9] Gaul S, Simpson T, Woode G, Fulton R. Antigenic Relationships Among Some Animal Rotaviruses: Virus Neutralization In Vitro and Cross-Protection in piglets. *J Clin Microbiol* 1982; 16(3):495-503.

[10] Del Amo A, Aprea A, Petruccioli M. Detection of Viral Particles in Feces of Young Dogs And Their Relationship With Clinical Signs. *Revista de Microbiologia* 1999; 30:237-241.

[11] Flewett, T. H. And Woode, G. N.. The rotavirus. *Archives of Virology* 57, 1-23 (1978)

[12] Bern, C, Glas, RI. Impact of diarrheal diseases worldwide. En: Kapikian AZ, editores. *Viral infections of the gastrointestinal tract*. Marcel Dekker, New York, 1994. pp 1-26.

[13] López S, Arias C 2003. Los Rotavirus. En *microbios*: <http://www.micrbiologia.org.mx>. Consultado el 10/08/2011.

[14] Pollock R, Carmichael L. Enteritis viral canina. En: Greene C, editores. *Enfermedades Infecciosas. Perros y gatos*. Ed. Intermedica, Mexico; 2000. pp.280-300.

[15] Muñoz M, Alvarez M, Lanza I, Carmenes P. An outbreak of diarrhoea associated with atypical rotaviruses in goat kids. *Res Vet Sci* 1995; 59(2):180-182.

[16] Muñoz M, Alvarez M, Lanza I, Carmenes P. Role of enteric pathogens in the aetiology of neonatal diarrhoea in lambs and goat kids in Spain. *Epidemiol Infect* 1996;117(1):203-211.

[17] Gueguen C, Maga A, McCrae MA, Bataillon G. Laboratoire vétérinaire départemental, Rennes, France. Caprine and bovine B rotaviruses in western France: group identification by Northern hybridization. *Vet Res* 1996; 27(2):171-6.

[18] Da Costa VM, De Beer MC, Els HJ, Goosen GH, Theron J, Steele AD. Department of Infectious Diseases and Public Health, Faculty of Veterinary Science,

Medical University of Southern Africa, Medunsa. Rotavirus in Saanen goats. *J S Afr Vet Assoc* 1994; 65(3):132-133.

[19] Kaminjolo JS y Adesiyun AA. Rotavirus infection in calves, piglets, lambs and goat kids in Trinidad. *Br Vet J* 1994;150(3):293-299.

[20] Legrotttaglie R, Volpe A, Rizzi V, Agrimi P. Isolation and identification of rotaviruses as aetiological agents of neonatal diarrhoea in kids. Electrophoretical characterization by PAGE. *New Microbiol* 1993; 16(3):227-235.

[21] Pratelli A, Martella V, Tempesta M, Buonavoglia C. Characterization by polymerase chain reaction of ruminant rotaviruses isolated in Italy. *New Microbiol* 1999; 22(2):105-109.

[22] Perez-Schael I. The impact of rotavirus disease in Venezuela. *J Infect Dis* 1996; 174Suppl 1:S19-21.

[23] O'Ryan M, Perez-Schael I, Mamani N, Pena A, Salinas B, Gonzalez G, et al. Rotavirus-associated medical visits and hospitalizations in South America: a prospective study at three large sentinel hospitals. *Pediatr Infect Dis J*. 2001; 20(7):685-693.

[24] Salinas B, González G, González R, Escalona M, Materán M, Pérez-Schael I. Epidemiologic and clinical characteristics of rotavirus disease during five years of surveillance in Venezuela. *Pediatr Infect Dis J* 2004; 10 Suppl:S161-167.

[25] Utrera V, Mazzali De Ilja R, Gorziglia M, Esparza J. Epidemiological aspects of porcine rotavirus infection in Venezuela. *Res Vet Sci* 1984; 36(3):310-315.

[26] Liprandi F, Garcia D, Botero L, Gorziglia M, Cavazza ME, Perz-Schael I, et al. Characterization of rotaviruses isolated from pigs with diarrhoea in Venezuela. *Vet Microbiol* 1987; 13(1):25-45.

[27] Hurtado de, O. Hidalgo, C. Liprandi, F. y Hurtado, W. Aspectos epidemiológicos de la infección por rotavirus en becerros con síndrome diarreico. XL Convención Anual de AsoVAC. Noviembre de 1990. Cumaná-Venezuela.

[28] Nava Z. Prevalencia de distintos serotipos G y P entre los rotavirus porcinos en granjas venezolanas. Tesis de Magister Scientiarum en Microbiología, UCV-Vzla. 1995.

[29] López JA, Mendoza M, Bastidas Z, Ludert JE. Resultados preliminares de la caracterización molecular de rotavirus detectados en becerros de fincas del Municipio Bolívar del Estado Yaracuy. Memorias de las IX Jornadas de Investigación del Decanato de Ciencias Veterinarias UCLA. 06 de Noviembre del 2009; Barquisimeto, Venezuela.

[30] Ciarlet M, Piña CI, García O, Liprandi F. Identification of bovine rotaviruses in Venezuela: antigenic

and molecular characterization of a bovine rotavirus strain. *Res Virol*. 1997 Jul-Aug;148(4):289-97.

[31] Hurtado de, O; García, M; Zambrano, A; García, D; Alvarez, Z; Chavier, H. Infección por rotavirus y coronavirus en caninos con diarrea. Memorias de las II Jornadas de Investigación del Hospital Veterinario "Dr. Humberto Ramírez Daza". Gaceta de Ciencias Veterinarias Año 3, Nro. 2, Pp. 47-70, 1997.

[32] Santelíz S, Castañeda G, García M, Chavier H, Bastidas Z, Orellana N, Saldivia J, Herrera D. Determinación de Rotavirus en cachorros caninos del Hospital Veterinario "Dr. Humberto R. Daza" durante período Enero-Marzo 2006. Memorias de las VIII Jornadas de Investigación del Decanato de Ciencias Veterinarias; I Jornadas de Cirugía en Pequeños Animales. 02 de Noviembre del 2007; Barquisimeto, Venezuela.

[33] Bastidas Z, Aguirre Q, García M, López JA, Saldivia J, Orellana N, et al. Resultados preliminares del Proyecto de Extensión CV-025-2001 "Capacitación al productor en la prevención, diagnóstico y control de las enfermedades de mayor prevalencia en las explotaciones caprinas del estado Lara". 2001.

[34] VII Censo Agrícola Nacional, Mayo 2007 / Abril 2008. Ministerio del poder popular para la Agricultura y Tierras. Disponible en <http://www.mat.gob.ve/>. Consultado el 10/12/2011.

[35] Matsui SM, Mackow ER, Greenberg HB. Molecular determinant of rotavirus neutralization and protection. *Adv Virus Res* 1989; 36:181-214.

[36] Liprandi F, Gerder M, Bastidas Z, López JA, Pujol F, Ludert JE, et al. A novel type of VP4 carried by a porcine rotavirus strain. *Virology* 2003; 315(2):373-380.

[37] Berríos P, Nuñez F, Celedon MO, Fiegehen P, Santibañez M. Detección de Rotavirus en caprinos de la Comuna de San José de Maipo, Chile. *Avances en Ciencias Veterinarias*, 3(2):98-102 Congreso Argentino de Virología. 1988, Octubre; Córdoba, Argentina.

[38] Ayanegui A, Tortora Perez J, Alba HA, Valdivia G.. Diagnosis of rotavirus in goat by polyacrylamide gels electrophoresis (page) of viral RNA. Memorias de la Reunión Nacional de Investigación Pecuaria. 1997, 3-8 Nov; Veracruz, México.

[39] Zurita A, Livio SS, Zurich PZ. Diarrea del ternero recién nacido. *Monografías de Medicina Veterinaria* diciembre 1987; 9(2): 1 - 50.

[40] Babiuk LA, Sabara M, Hudson GR. Rotavirus and coronavirus infections in animals. *Prog Vet Microbiol Immun* 1985; 1:80-120.

[41] Lincicome DR. Goat diseases: Prevalence in the United State and Canada as reflected in autopsy reports por 1977-1979. *Proceedings of the 3º Interna-*

tional Conference on goat production and diseases. 1982, Ene 10-15; Tucson, Arizona.

[42] Nagy B, Bozso M, Palfi V, Nagy G, Sahiby MA. Studies on cryptosporidial infection of goat kid. Proceedings of. Colloque International, Niort, France. 1984, 9-11 october; Paris, France.

[43] Scott AC, Luddington J, Lucas M, Gilbert FR. Rotavirus in goats. Vet Rec 1978; 103(7): 145.

[44] Nagy B, Nagy G, Palfi V, Bozso M. Occurrence of cryptosporidia, rotaviruses, coronaviruses-like particles and K 99+ Escherichia coli in goat kids and lambs. Proceedings of 3^o International Symposium of the World Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians. 1983, June 13-15; Ames, USA.

[45] Yvore P, Esnault A, Naciri M, Leclerc C, Bond JL, Contrepois M, et al. Enquete épidémiologique sur les diarrhées néonatales des chevreaux dans les élevages de Touraine. Proceeding of Colloque International, Niort, France. 1984, 9-11 octubre; Paris, France.

[46] Berríos P, Mc Kercher DG, Knight H. Pathogenicity of a caprine herpesvirus. Am J Vet Res 1975; 36:1736-1769.

[47] Snodgrass DR, Herring JA, Linklater KA, Dyson DA. A survey of rotaviruses in sheep in Scotland. Vet Rec 1977; 100(16):341.

[48] Woode GN, Bridger JC, Jones JM, Flewett TH, Davies HA, Davis HA, et al. Morphological and antigenic relationships between viruses (rotaviruses) from acute gastroenteritis of children, calves, piglets, mice, and foals. Infect Immun 1976; 14(3):804-810.

[49] McNulty MS. Rotaviruses. J Gen Virol 1978; 40(1):1-18.

[50] Takahashi E, Inaba Y, Sato K, Kurogi A, Akashi H, Satoda K, et al. Antibody to rotavirus in various animal species. Natl Inst Anim Hlth Q (Tokio) 1978; 19(1-2):72-73.

[51] Gorman T, Alcaíno H, Weitz JC. Hallazgo de Cryptosporidium en animales de Chile. Parasitología al día 1986; 10:31-32.

[52] Estes MK.. Rotavirus and their replication. En: Fields BN, Knipe DM, Howley PM, editores. Virology. 3 ed. Lipincott-Raven, Philadelphia; 1996. pp. 1625-1655.

[53] Maes R; Grooms D, Wise A, Han C, Ciesicki V, Hanson L, et al. Evaluation of a human group rotavirus assay for on-site detection of bovine rotavirus. J Clin Microbiol 2003; 41(1):290-294.

[54] Fernandes A, Alcindo A, Alfieri A, Bacellar BM, Leite G, Richtzenhain JY. G and P genotype of group A rotavirus strains circulating in calves in Brazil, 1996-1999. Vet microbiol 2004; 99(3-4):167-173.

[55] López JA. Caracterización Antigénica y Funcional de la proteína VP8* de Rotavirus. Tesis de

Philosophus Scientarum en Biología mención Microbiología, IVIC; 2001.

[56] FAO (1998) Production Yearbook. FAO Publ., Rome, Italy, vol. 52. pág. 235.