

DETECCIÓN DE ROTAVIRUS BOVINO DEL GRUPO A. ANÁLISIS FILOGENÉTICO DEL GEN QUE CODIFICA PARA LA PROTEÍNA VP7 DE SU CÁPSIDE EXTERNA

DETECTION OF BOVINE ROTAVIRUSES OF GROUP A IN COLOMBIA: PHYLOGENETIC ANALYSIS OF THE OUTER CAPSID PROTEIN VP7

M.F. Gutiérrez¹, J. Baoming²

¹*Laboratorio de Virología, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana. Carrera 7 # 43-82. Bogotá, Colombia*

²*Respiratory & Enteric Viruses Branch, Division of Viral & Rickettsial Diseases
National Center for Infectious Diseases. Atlanta, Georgia USA.*

mfgutier@javeriana.edu.co

Resumen

Con el objeto de investigar el porcentaje de positividad del rotavirus del grupo A (RV) en un grupo de muestras obtenidas a partir de ganado bovino y examinar la relación evolutiva del gen que codifica para la proteína VP7 entre una cepa bovina aislada en la Sabana de Bogotá y cepas de RV humanas y animales, se recolectaron 74 muestras de materia fecal diarreicas de terneros recién nacidos hasta de un mes de vida en varias fincas de la región. La prueba utilizada para el diagnóstico viral fue la prueba de ELISA encontrándose un porcentaje de positividad del 7%. Del total de las muestras positivas se seleccionó una, la cepa UJ, la cual fue amplificada por RT-PCR, secuenciada y alineada con el programa CLUSTAL W, junto con 13 secuencias más de RV de distintas especies animales y distintos serotipos de RV humanos: 2 de ganado bovino, 3 de ganado porcino, 6 de cepas de RV humano y una de RV de ave, perro y conejo. El análisis filogenético se realizó utilizando el programa MEGA 3.01. Los árboles filogenéticos se elaboraron con el método Neighbour joining y se encontró que la cepa UJ se agrupa cercanamente con una cepa bovina procedente de Eslovenia (SI-B8) mostrando una similitud de 84% y con una cepa inglesa bovina (PP-1), con una similitud del 70% a nivel de su secuencia de aminoácidos.

Porcentajes de similitud en aminoácidos entre 48-73% fueron observados con RV de otros humanos y otros animales incluyendo porcinos, la cepa canina, la cepa de conejo y una cepa de virus de aves que sirvió además para enraizar el árbol. Hasta donde llega nuestro conocimiento, este es el primer reporte donde se determina y se caracteriza una cepa de RV bovino en Colombia. Este tipo de hallazgos complementan el conocimiento en cuanto a la gastroenteritis vacuna y permite aportar datos con los que más adelante se pueden generar estrategias para la prevención y el control de esta infección.

Palabras clave. rotavirus bovino, gen de VP7

Abstract

Rotaviruses of group A are the major cause of diarrhea in young calves. To investigate the percentage of group A rotaviruses in newborn calves and examine their evolutionary relationship with those from other animals and humans, we collected 74 fecal specimens from calves of 0-1 month of age with acute diarrhea in towns of Colombia. Using an enzyme-linked immunosorbent assay was found that 7% of specimens were positive for rotaviruses of group A. A representative strain (UJ) was chosen to determine its nucleotide

and to deduce amino acid sequences of VP7 gene. Nucleotide sequence of UJ VP7 gene was aligned with corresponding sequences from 15 other strains, including 2 from cattle, 4 from swine, 6 from humans, and 1 each from chickens, dogs, and rabbits, by using Clustal W. Phylogenetic analysis was performed with the MEGA analytical package. UJ strain clusters with a group A rotavirus strain (SI-B8) recently isolated from a calf in Slovenia in the neighbor-joining tree. UJ VP7 gene shares 84% and 70% amino acid sequence identity with the corresponding gene of the recently isolated bovine strains SI-B8 in Slovenia and PP-1 in the United Kingdom. Identities in amino acid sequence between 48-73% were found with rotavirus of group A strains from humans and other animals, including swine, dogs, and rabbits. To our knowledge, this is the first study to detect and characterize a bovine group A rotavirus in Colombia. Findings may increase our understanding of burden of viral gastroenteritis in calves and allow us to develop strategies to prevent and control this important livestock disease.

Key words: bovine rotaviruses, VP7 gene.

INTRODUCCIÓN

La diarrea infantil es una de las principales patologías infecciosas que afectan a infantes e individuos jóvenes de varias especies animales, entre los que están el ganado bovino. En ellos, el rotavirus (RV) no necesariamente causa la muerte pero puede generar un retraso en el crecimiento con sustanciales pérdidas económicas y altos costos en tratamiento, lo cual genera un llamado de atención por parte de los veterinarios y dueños de granjas (Maes *et al.*, 2003). A nivel epidemiológico, este virus se ha visto asociado con aproximadamente un 50% de la diarrea bovina (Ciarlet *et al.*, 1997; Maes *et al.*, 2003).

El RV ha sido considerado como el principal agente etiológico de la diarrea. Este virus pertenece a la familia Reoviridae, su material genético es RNA de cadena doble, el cual está organizado en 11 segmentos, casi todos ellos monocistrónicos, los cuales se observan fácilmente en geles de poliacrilamida. Seis de esos segmentos codifican para proteínas estructurales, tres de las cuales son detectables por métodos clásicos de laboratorio, que son las proteínas VP6, VP7 y VP4. La proteína VP6 da a los RV la especificidad de grupo, de tal manera que existen hasta la fecha 7 grupos nombrados de la A a la G y de ellos el RV del

grupo A es el más frecuente. (Lu *et al.*, 1995; Maes *et al.*, 2003; Fernandes Alfieri *et al.*, 2004; Parreño *et al.*, 2004; Fodha *et al.*, 2005).

La técnica más utilizada para el diagnóstico de este virus en materia fecal, es la prueba de ELISA que utiliza anticuerpos contra la proteína VP6 del RV del grupo A, sin embargo, también existen pruebas de ELISA para la proteína VP7 que utiliza anticuerpos monoclonales para determinar las variantes serológicas de la proteína conocida como proteína G. Dentro de esta proteína, existen al menos 14 variantes conocidas como G1 a G14. Mientras que en el humano predominan los RV G1 a G4, en el ganado vacuno predominan los serotipos G6 y G10. La prevalencia del serotipo G8, ha sido variable (Ciarlet *et al.*, 1997; Fernandes Alfieri *et al.*, 2004; Okada y Matsumoto, 2002; Adah *et al.*, 2003; Fodha *et al.*, 2005).

Estudios filogenéticos de segmentos genéticos o de genes completos son una importante herramienta de la filogenia molecular para la construcción de relaciones evolutivas, comprender el origen, las vías de propagación del virus, asociaciones entre tipos virales y tipos de infección, estudios de diversidad viral y localización geográfica de cepas (Ciarlet *et al.*, 1997;

McCormack and Clewley, 2002). Una vez obtenidas las secuencias y realizados los alineamientos, se puede lograr determinar variantes serotípicas basadas en porcentajes de homología de las cepas estudiadas con cepas establecidas con serotipos definidos. Es por esto que la tipificación de VP7 puede lograrse también analizando las secuencias de nt en lugar de utilizar anticuerpos monoclonales y pruebas de ELISA.

En este reporte se presenta el primer estudio de prevalencia de RV bovino de grupo A en poblaciones ganaderas colombianas, se analiza el gen 8 de la cepa de RV bovina de una cepa llamada UJ y se realiza un análisis filogenético tendiente a buscar homologías, relaciones evolutivas con otras cepas de RV del mundo, diversidad viral y posibilidad de localización geográfica de la cepa.

MATERIALES Y MÉTODOS

Durante los primeros cinco meses del año 2004, se recolectaron 74 muestras de materia fecal de terneros menores de un mes de nacidos en fincas localizadas cerca a la Sabana de Bogotá (Mosquera, Facativá). El tipo de muestras escogido para la búsqueda del virus fueron materias fecales diarreicas, desde líquidas hasta levemente pastosas de terneros menores de 40 días de nacidos. Las muestras se recolectaron en bolsas plásticas, se llevaron al Laboratorio de Virología de la Universidad Javeriana y se guardaron a 0°C hasta el momento que se realizó la prueba para determinar la presencia viral. El RV bovino del grupo A se determinó mediante un estuche comercial de ELISA (Pathfinder, Kallestad Diagnostics Chaska, Minn.) que trabaja con un anticuerpo policlonal de captura contra la cepa SA-11 de RV de mono y el mismo anticuerpo marcado con enzima como método de detección viral (Maes *et al.*, 2003). De las

muestras positivas, una de ellas fue seleccionada y enviada al CDC en Atlanta, Georgia donde se realizó la RT-PCR y secuenciación de nucleótidos.

De manera breve, desde Colombia se envió el ARN viral obtenido después del tratamiento de la materia fecal con Trizol (Invitrogen, Carlsbad, California, EE.UU.), siguiendo las instrucciones del fabricante. Una vez en Atlanta, se utilizaron dos grupos de cebadores, los primeros que delimitan el segmento, están localizados en los nucleótidos 1 al 20 en el extremo 5' del gen y es conocido como Beg9 (GGCTTTAAAAGAGAGAATTTCCGTCTGG) y en el extremo 3' en los nucleótidos 1044 a 1062, el End9 (GGTCACATCATACAATTCTAATC TAAG). Estos dos cebadores son específicos para el segmento 8 del genoma viral. La PCR anidada se realizó con tres cebadores más descritos por el Dr. Baoming Jiang: 241(GTTGATCCCAA TTGTA), 242 (ATAACAGCT(G)GATCCAACG) y 243 (AGCTAATTCTGACATATC). (Las secuencias de los cebadores fueron obtenidas por comunicación personal con el Dr. Jiang).

Los productos de PCR se corrieron por electroforesis en un gel de agarosa al 2% y teñidos con bromuro de etidio. La secuenciación se realizó por el método Dideoxy terminator cycle sequencing kit usando el ABI 377 (Applied Biosystems, Foster City, California).

La secuencia obtenida se trabajó simultáneamente con secuencias obtenidas de otras cepas virales en el GenBank. Dicho alineamiento se llevó a cabo con el programa CLUSTAL W, las distancias fueron calculadas con el método de Kimura 2 parámetros y los árboles filogenéticos se elaboraron con el método de inferencia Neighbour joining. Todo esto se realizó

con ayuda del programa MEGA 3.01. La significancia estadística del árbol construido fue estimada aplicando un *bootstrap* de 750 réplicas.

Las secuencias de cepas virales que entraron en el estudio fueron inicialmente 14 secuencias tanto humanas como animales y distintos serotipos de RV humanos: 2 de ganado bovino, 3 de ganado porcino, 6 de cepas de RV humano y una de RV de ave, perro y conejo.

Simultáneamente, la secuencia fue alienada con 8 cepas más, siete de ellas de RV del serotipo G6 y una G8, con la cual se esperaba enraizar el árbol. Todas los RV bovinos incluidos en el estudio pertenecían a distintas regiones del mundo. El análisis filogenético se realizó con los mismos parámetros con los que se realizó el primer árbol.

RESULTADOS

De 74 muestras de materia fecal de terneros menores de 1 mes, 5 de ellas fueron positivas para RV con el estuche comercial. Esto

significa el 7% de porcentaje de positividad en esta población.

Al realizar el estudio filogenético el análisis de las secuencia de nucleótidos y la deducción de sus aminoácidos sugieren que la cepa UJ pertenece al serotipo G6 con una homología en aminoácidos del 84% y 70% respectivamente con sus homólogos, las cepas SI-B8 (eslovaca) y PP-1 (inglesa) (tabla 1 y tabla 2). Con respecto a la homología en nucleótidos, los resultados fueron de 56,6 y 24,4% respectivamente. Al dibujar el árbol se encuentra que el gen de VP7 de la cepa UJ se agrupa con un sólido valor (*bootstrap* de 100%) con la cepa eslovaca pero lejana a la cepa PP-1 que es de origen inglés. Esta cepa inglesa muestra una fuerte asociación con RV porcino (figura 1).

Identidades en secuencia de nucleótidos entre 48 y 73% fueron encontradas entre las secuencias de los VP7 de los otros RV del grupo A de humanos y animales incluyendo cerdo, perro y conejo (tabla 1).

El segundo árbol filogenético se elaboró con el objeto de comparar la VP7 de la

Tabla 1
Porcentaje de homología de la secuencia de nucleótidos de la cepa UJ con respecto a las 13 cepas incluidas en el estudio

Nombre	Número genbank	origen	Autor	Serotipo	Origen	% homologia
SI-B8	DQ132895	Bovino	Steyer,A.,	G6	Slovenia	84.2
CMP039	AY707788	Porcine	Maneekarn,N.	G3	Thailand	71.2
K9	CRU97199	Canino	Kobayashi, N.		Japan	70.2
A PP-1	AF427124	Bovine	El-Attar,L.,	G3	UK	70
JP35-7	AB176683	Porcino	Teodoroff,T.A.,	G9	Japan	69.8
92H006	AB091364	Humano	Watanabe,M.	G2	Japan	68.4
BA201	AY695811	Humano	Santos,N.,	G9	USA	67.7
Wa	ROHVP7A	Humano	Mason,B.B.,	G1	USA	67.5
308/01	AF528201	Conejo	Martella,V	G3	Italia	67.3
B4106	AY740736	Humano	Matthijnsens,J.,	G3	Belgium	66.7
R291	AY855064	Humano	Volotao,E.M.,	G8	USA	66.7
K12	AB186120	Humano	Nakagomi,T	G12	Japan	66.4
Ch-1	AB080738	Ave	Mori,Y.,		Japan	47.8

Tabla 2. Alineamiento de la secuencia UJ con las cepas de Eslovenia y cepa inglesa

#bovinouj	GGC TTT AAA AGA GAG AAT TTC CGT CTG GCT AGC GGT TAG CTC CIT TTA ATG TAT GGT AIT GAA TAT ACC ACA
ATT CTG	
#DQ132895RTVSlovenia	--- ---
... A	
#AF427124	--- ---
G... T.A	
#bovinouj	ATC TTC TFS GTA TGS ATC ACA CTG ATA AAT TAT ATT TTG AAA TCG ATA AC A AGA ATA ATG GAC TAC ATA ATT
TAT AGA	
#DQ132895RTVSloveniaCT ... A... ..G.T .T. T. T.CAGG.G
... A	
#AF427124	..C. .T ... A... .A.G.T .T. T.A.T.GC.G.A.C.TA.T. .TT.C ...
..C ...	
#bovinouj	TTT CTA TTT GTC GTA GTT CTC ATG GCC ATT GTC AGG -AG CGC GCA GAA CTA TGG AGT GAA TTT ACC CAT TAC
AGG ATC	
#DQ132895RTVSlovenia	... T.GT .G ACC.A... .. .A.T. .A... ..T.CA. A... .C... G... A... A...
... ..	
#AF427124T.C.C.A.T.A... .. .AT .T.AT. .CC.A.T.T.T.T.A.T... .A... A... T... ..A... .C... T... A... ..
T... ..	
#bovinouj	GAT GGA TAC TGC GTA CGC AAA CTC TAC GCA AAA TGA ACC AIT TIT GAC ATC GAC TCT TTG IT T ATA CTA CCC
AAT CGA	
#DQ132895RTVSlovenia	A... ..C... ..A... .T.T.G... ..T... ..A... .GG.C... ..A... ..A... .CC... ..T... T...
... C ...	
#AF427124	A... ..G... .C... A... .TA... ..G... A... .G... A... .GT.G... .CC... A... ..A... .T... A... .C... G... T... T...
..C.T...	
#bovinouj	AGC ATC AAA CGA AAT AGC AGA CAC AGA GTG GAA AAA CAC ATT ATC TCA ACT AIT TCT AAC AAA AGG ATG GCC
GAC AGG	
#DQ132895RTVSlovenia	G... G... G... ..G... T... ..T... G... A... ..G... T... T... ..T... G... ..G... ..
... T...	
#AF427124	... TG. G.C.AC... ..AA.T... .A.TTC.A... ..G... T... .C... T... ..G... ..T... T... G... ..
A... ..	
#bovinouj	ATC AGT GTA IIT TAA AGA GTA CCC AGA TAT AGC AGC ATT TTC AGT TGA TCC ACA AIT GTA CTG TGA ITA TAA
TAT AGT	
#DQ132895RTVSloveniaA... C... ..A... T... ..C... ..A... ..
... ..	
#AF427124	... T... T... ..T... TA... ..T... CT... ..A... ..
... ..	
#bovinouj	TTT AAT GAA ATA TGA TTC AAC ACT AGA ATT GGA TAT GTC AGA ATT AGC TGA TCT TAT TTT GAA TGA ATG GTT
GTG CAA	
#DQ132895RTVSlovenia	.C... ..C... ..GT... G... ..C... ..
A... ..	
#AF427124	A... G... ..C... CG... T... .T... GC... G... A... C... ..A... .T... A... .AC... T... ..G... ..
A... T...	
#bovinouj	TCC AAT GGA CAT AAC GTT ATA TTA CTA CCA ACA AAC CGA CGA AGC AAA TAA ATG GAT ATC AAT GGG TTC ATC
TTG TAC	
#DQ132895RTVSloveniaT... ..A... T... ..G... ..
A... ..	
#AF427124	... C... ..T... T... G... ..T... T... ..GA... G... C... G... ..G... ..
... C...	
#bovinouj	AGT AAA AGT ATG TCC GTT AAA CAC ACA GAC GCT TGS AAT CGS GTG CTC AAC AAC TAA CCC GGA TAC TTT TGA
AAC AGT	
#DQ132895RTVSlovenia	... T... ..A... ..T... ..A... ..G... T... A... T... ..G... ..A... C... ..
... ..	
#AF427124	TA... ..C... A... ..T... ..A... AT... A... ..T... ..T.T.G... T... .G... .A... .A... C... G... ..
.GA ...	
#bovinouj	TGC GAC AGC AGA AAA ACT AGT AAT TAC TGA CGT CGT AGA CGG TGT AAA TCA TAA ATT GGA TGT AAC GAC TAC
GAC GTG	
#DQ132895RTVSloveniaA... ..G... ..A... T... ..T... ..G... ..AA... ..A... AGA
... A...	
#AF427124	... A... ..T... ..GT... ..G... C... ..T... A... C... ..C... .AG... ..A... A.A
T... T...	
#bovinouj	TAC AAT ACG CAA CTG TAA AAA ACT GGG CCC AAG AGA AAA CGT TGC AGT AAT TCA AGT AGG TGG CGC GAA TAT
ATT AGA	
#DQ132895RTVSloveniaT... ..T... ..G... G... ..G... ..T... ..A... ..IT... A... ..
... G...	
#AF427124TA... A... ..C... ..GT... A... A... ..G... ..A... ..T... A... ..T... ..TI... AG... ..
.C... T...	
#bovinouj	CAT AAC AGC TGA TCC AAC GAC TGC ACC ACA GAC AGA AAG AAT GAT GCS AGT AAA CTG GAA AAA ATG GTG GCA
CGT TTT	
#DQ132895RTVSlovenia	T... ..A... ..G... ..T... ..
A... ..	
#AF427124G... A... A... T... ..A... ..G... G... ..G... T... ..
A... A...	
#bovinouj	TTA TAC AGT AGT TGA TTA TGT GAA TCA AAT AAT CCA AGC AAT GTC CAG AAG GTC TAG ATC ACT AAA TTC AGC
TGC ATT	
#DQ132895RTVSloveniaA... ..C... ..G... .G... ..A... ..A... ..G... ..
.. == ==	
#AF427124	... C... .A... ..C... ..CG... G... G... G... ..A... A... A... G... ..G... ..C... ..
... ..	
#bovinouj	TTA CTA TAG AGT GTA GGT ACA TGC TAG AAT AGA ATT GTT TGA TGT GAC CA
#DQ132895RTVSlovenia
#AF427124	... T... C... ..A... ..

- no hay base
 . Bases iguales

cepa UJ con otras cepas de RV serotipo G6 y así buscar variabilidad en los segmentos génicos de RV del mismo serotipo (figura 2).

Con respecto a las cepas de RV serotipo G6 se encuentra una mayor identidad con la cepa de procedencias rusa y estadounidense con porcentajes de homología de aminoácidos del 96,7% y 97,2% respectivamente y de nucleótidos de 97% para las dos cepas. Los porcentajes de homología más distantes se observaron con cepas de Eslovenia, Argentina y China con porcentajes de homología de aminoácidos de 73, 76 y 76%, respectivamente con respecto a la misma cepa. El árbol filogenético hace una clara representación donde se agrupa la cepa colombiana, rusa y estadounidense, las cuales quedan aparte de las europeas y suramericanas.

DISCUSIÓN

El RV bovino es la principal causa de diarrea en terneros entre una y tres semanas de nacidos. Los reportes epidemiológicos muestran prevalencias de 10,3% (Barman *et al.*, 2004), 12% (Ciarlet *et al.*, 1997), 30% en Tunisia (Fodha *et al.*, 2005) y 46% en Estados Unidos (Maes *et al.*, 2003). Los resultados obtenidos en las muestras probadas en este estudio, revelan un porcentaje de positividad del 7%, lo cual es bajo para lo esperado. Esto puede ser atribuido a que estas muestras no fueron recolectadas de terneros que fueran visitados por los veterinarios por presentar la diarrea, sino simplemente en terneros que presentaban una leve diarrea que no generaba alarma en los servicios de salud.

Las cepas G6 y G10 son los serotipos más frecuentes que infectan bovinos, es por esto que seleccionar por azar una cepa con serotipo G6, era bastante probable y parecería ser un prototipo frecuente dentro de

lo esperado (Adah *et al.*, 2003; Fernandes Alfieri *et al.*, 2004).

El estuche comercial utilizado para la detección viral es ampliamente usado en clínica humana para determinar RV del grupo A en muestras diarreicas de niños en muchos hospitales en el mundo. Este estuche ha sido diseñado para detectar RV humano basado en determinantes antigénicos de la proteína VP6, que es la que clasifica a los RV en sus correspondientes grupos. Teniendo en cuenta que los determinantes antigénicos de los RV del grupo A son compartidos entre cepas humanas y animales, este método de diagnóstico puede ser utilizado para este ensayo en muestras animales (Maes *et al.*, 2003).

El análisis filogenético aplicado en este trabajo aportó herramientas para llegar a varias conclusiones: inicialmente fue utilizado para determinar el serotipo viral, el cual se determina regularmente con una PCR anidada utilizando cebadores que amplifican secuencias de distintos tamaños dependientes del serotipo. En este caso, ante la ausencia de esta técnica y con la ayuda de los alineamientos, se logró determinar similitudes filogenéticas de la cepa UJ con el serotipo G6 (Parreño *et al.*, 2004).

Además, el análisis filogenético llevó a evidenciar que el RV bovino identificado, no está relacionado con ninguna región geográfica específica. Esto se puede afirmar por la poca similitud de la cepa UJ con cepas suramericanas y la relación con cepas rusa o estadounidense. En caso de que existiera relación de las cepas con la localización geográfica, la similitud de la UJ se haría evidente al formar *clusters* con cepas de regiones cercanas o al menos con regiones relacionadas entre ellas y no tan distantes como lo son Estados Unidos y Rusia (Parreño *et al.*, 2004).

Una tercera evidencia que se obtiene con la herramienta filogenética es la ausencia de recombinaciones de la cepa UJ con respecto a las cepas bovinas. La corta distancia filogenética con cepas clásicas tipo SI-B8 y la amplia distancia con la PP-1, que ya había sido descrita como cepa recombinada, muestra que la UJ es altamente conservada dentro del grupo de cepas de RV bovino y afirma la posibilidad de ser un prototipo clásico dentro de la especie.

Al tratar de explicar la distancia encontrada entre la cepa UJ y la PP-1, encontramos un reporte publicado en el 2001 donde los autores presentan a esta última cepa, como causante de diarrea en experimentos con cerdos. En este reporte se muestra como la cepa se replica en terneros sin producir síntomas clínicos, lo cual la reubicaría como una cepa más cercana a RV porcino que a RV bovino. Estos mismos autores demostraron cómo las proteínas NSP-1, NSP-4 y VP7 muestran heterogeneidad al comparar los RV, dependiendo de la especie animal de origen. El RV PP-1, está provisto de proteínas VP4 y NSP-4 de RV bovino y NSP-1 y VP7 de RV porcino, lo cual indica procesos de recombinación entre cepas de diferentes animales con una consecuente reactividad cruzada entre las especies involucradas (El-Attar *et al.*, 2001).

Con la herramienta filogenética usada en este trabajo no logramos determinar la dinámica evolutiva de la cepa UJ, pues para esto sería necesario secuenciar uno o varios genes más del mismo virus y buscar diferentes comportamientos de cada uno de los genes estudiados. A nivel del RV, los otros genes con los que se llevan a cabo estos estudios son los que codifican para VP4, NSP4 y NSP5 principalmente.

Estudios de detección de virus en una población son la base para comprender el impacto epidemiológico del agente sobre la

población afectada y generar estrategias para su eliminación y control. Para darle mayor impacto y veracidad al 7% de porcentaje de positividad reportado en esta población de terneros, deben continuarse estudios epidemiológicos que amplíen el rango de muestreo y aumenten el número de resultados de los cuales se pueda obtener un dato que pueda ser atribuido a toda la población de terneros de la región.

Estudios filogenéticos son herramientas clave para determinar origen, relación con el huésped, capacidad zoonótica y desplazamiento del agente patógeno, de tal manera que estudios epidemiológicos deben estar asociados a estudios filogenéticos para lograr un conocimiento más sólido del problema de salud que afecta a individuos de cualquier especie en cualquier parte del mundo.

LITERATURA CITADA

- ADAH, M., NAGASHIMA, S., WAKUDA, M. and TANIGUCHI, K. Close relationship between G8-serotype bovine and human rotavirus isolated in Nigeria. *Journal of Clinical Microbiology*, 2003, 41, 3945-50.
- BARMAN, P., GHOSH, S., DAS, S., VARGHESE, V., CHAUDHURI, S., SARKAR, S., KRISHNAN, T., BHATTACHARYA, S., CHAKRABARTI, A., KOBAYASHI, N. and NAIK, T. Sequencing and sequence analysis of VP7 and NSP5 genes reveal emergence of a new genotype of bovine group B rotavirus in India. *Journal of Clinical Microbiology*, 2004, 42, 2816-18.
- CIARLET, M., PIÑA, C., GARCÍA, O. y LIPRANDI, F. Identification of bovine rotavirus in Venezuela: antigenic and molecular characterization of a bovine rotavirus strain. *Res. Virol*, 1997, 148, 289-97.

- EL-ATTAR, L., DHALI WAL, W., HOWARD, C. y BRIDGER, J. Rotavirus cross specific pathogenicity: Molecular characterization of a Bovine rotavirus pathogenic for pigs. *Virology*, 2001, 291, 172-82.
- FERNANDES ALFIERI, A., ALCINDO ALFIERI, A., BACELLAR BARREIROS, M., GAGLIARDI LEITE, J. y RICHTZENHAIN, L. G and P genotype of group A rotavirus strains circulating in calves in Brazil, 1996-1999. *Veterinary microbiology*, 2004, 167-73.
- FODHA, I., BOUMAIZA, A., CHOUIKHA, A., DEWAR, J., ARMAH, G., DGEYER, A., TRABELSI, A. y STEELE, D. Detection of group A rotavirus strains circulating in calves in Tunisia. *J. Vet. Med*, 2005, 52, 49-50.
- LU, W., DUHAMEL, G., HOSHINO, Y., BENFIELD, D., NELSON, E. y HESSE, R. Characterization of the bovine group A rotavirus strain neonatal calf diarrhea virus-cody (NCDV-Cody). *Journal of Clinical Microbiology*, 1995, 33, 990-4.
- MAES, R., GROOMS, D., WISE, A., HAN, C., CIESICKI, V., HANSON, L., VICKERS, M., KANITZ, C. y HOLLAND, R. Evaluation of a human group rotavirus assay for on-site detection of bovine rotavirus. *Journal of Clinical Microbiology*, 2003, 41, 290-4.
- MCCORMACK, G. y CLEWLEY, J. The application of molecular phylogenetics to the analysis of viral genome diversity and evolution. *Rev. Med. Virol*, 2002, 12.
- OKADA, N. y MATSUMOTO, Y. Bovine rotavirus G and P types and sequence analysis of the VP7 gene of two G8 bovine rotavirus from Japan. *Veterinary microbiology*, 2002, 84, 297-305.
- PARREÑO, V., BOK, K., FERNÁNDEZ, F. y GÓMEZ, J. (2004) Molecular characterization of the first isolation of rotavirus in guanacos (*Lama guanicoe*). *Arch Viro*, 149, 2465-71.

Recibido: 16-11-2006

Aprobado: 30-08-2007