

RESPUESTA INMUNITARIA HUMORAL EN LECHONES CONTRA ROTAVIRUS

Humoral immune response against rotavirus in piglets

Mayra Hidalgo*
Max Ciarlet**
Juan Ernesto Ludert**
Ferdinando Liprandi**

* Instituto de Investigaciones Veterinarias
FONAIAP. Maracay, Estado Aragua, Venezuela

** Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas
Laboratorio Biología de Virus.

RESUMEN

Se estudió la respuesta inmunitaria humoral contra rotavirus en 3 sueros de lechones gnotobióticos y 89 cerdos de granjas de diferentes edades, empleando la técnica de neutralización por reducción de focos fluorescentes (NRFF).

En los lechones gnotobióticos, infectados con los rotavirus porcinos OSU (P7G5) o Gottfried (P6G4) se demostró que la respuesta es serotipo específica contra la cepa inmunizante y que está dirigida contra los 2 antígenos de neutralización VP4 y VP7.

En lechones de granja, durante las dos primeras semanas de vida, la respuesta inmune es heterotípica contra cepas porcinas y no porcinas. En animales de 3 a 8 semanas la prevalencia de anticuerpos para los rotavirus porcinos es menor y se produce como consecuencia de infección activa.

Palabras claves: Rotavirus, inmunidad humoral, lechones.

ABSTRACT

The humoral immune response against rotavirus in three gnotobiotic piglet sera and in 89 pig sera from different ages collected from different farms were studied by focus fluorescent neutralization assay (FFNA). The gnotobiotic piglets, infected with porcine rotavirus strain OSU (P9,G5) or Gottfried (P2B,G4), showed that humoral response is serotype-specific

to the immunizing strain, besides being directed to both neutralization antigens, VP4 and VP7. On the other hand, the humoral response in piglets from any given farm was heterotypic (to porcine and no porcine strains) during the first 2 weeks of life. In animals, ranging from 3-8 weeks, prevalence of antibodies was lower to all porcine strains and was due to active infection.

Keywords: Rotavirus, humoral immunity, piglets.

INTRODUCCIÓN

Los rotavirus son la principal causa viral de diarreas en niños y animales jóvenes [11]. En cerdos son los responsables del 20-30% de los casos de diarreas en lechones entre 3 y 6 semanas de edad [9, 16, 19]. La morbilidad para esta enfermedad es del 80%, afectando casi la totalidad de los lechones al cabo de pocos días [20]. La mortalidad es generalmente del 20% y ocurre después de 3 a 7 días de diarrea [3, 16, 21]. Los antígenos de rotavirus que estimulan la producción de anticuerpos neutralizantes (AcN) en el hospedador son las 2 proteínas de cápside externa VP7 y VP4. En base a ensayos de neutralización cruzada las variantes antigénicas de VP7 se han clasificado en serotipos llamados G (ST G), ya que VP7 es una glicoproteína. Se han identificado 14 serotipos G, de los cuales han sido aislados de cerdos (G1, G3, G4, G5 y G11) [10].

Basados en la reactividad de VP4 los serotipos se designan con P (por ser la VP4 sensible a proteasas), hasta ahora se han identificado 12 serotipos P, de los cuales 3 están asociados a cepas de rotavirus que infectan porcinos: P2B, P9 y P13 [18].

Debido a la complejidad de la estructura antigénica de los rotavirus y siendo estos la principal causa viral de diarreas en individuos jóvenes, se hace necesario conocer en detalle todos los aspectos de la infección por estos agentes. La información obtenida es de importancia para el desarrollo de vacunas efectivas que ayuden a reducir la morbilidad y mortalidad ocasionada por ellos.

Estudios previos han demostrado que la respuesta inmunitaria desarrollada por lechones gnotobióticos, como consecuencia de una primoinfección, es serotipo-específica. Los anticuerpos producidos neutralizan únicamente a rotavirus pertenecientes al serotipo infectante y no a cepas de serotipos diferentes [17]. El sistema inmune del hospedador reconoce ambas proteínas VP4 y VP7, porque se induce una respuesta de AcN similar para las dos. Se ha observado que estos anticuerpos serotipo-específicos confieren resistencia a los lechones contra la infección o enfermedad por rotavirus de la cepa homóloga [17].

Los objetivos de este trabajo fueron determinar el tipo de respuesta inmune humoral en lechones gnotobióticos, primoinfectados experimentalmente, e investigar la especificidad y frecuencia de AcN contra rotavirus en sueros de lechones de granja, para conocer la respuesta inmune en condiciones de infección natural.

MATERIALES Y MÉTODOS

En el desarrollo de este trabajo se utilizaron 3 muestras de suero sanguíneo de lechones gnotobióticos (gentilmente cedidos por el Dr. Y. Hoshino. Laboratory of Infectious Diseases, National Institute of Allergy and Infectious Diseases, Bethesda, Maryland), que habían sido infectados experimentalmente por vía oral a los 15 días de edad con una dosis de rotavirus OSU (P9,G5) para los lechones N°1 y N°2 y una dosis de rotavirus Gottfried (P2B,G4) para el lechón N°3. Se recolectaron 89 muestras de sueros de cerdos con edades comprendidas entre 1 y 8 semanas, procedentes de 6 granjas ubicadas en los Edos. Aragua, Carabobo y Distrito Federal, en las cuales no había historia previa de aplicación de ningún tipo de vacuna contra este agente viral. El criterio para el muestreo fue obtener un mínimo de 10 muestras de animales por cada semana de edad, distribuidas equitativamente en cada una de las granjas.

La presencia de AcN en las muestras de suero se determinó contra cepas representativas de diferentes serotipos por VP4 (P) y VP7 (G): porcinas, 138 (P9,G3), Gottfried (P2B,G4), OSU (P9,G5); humanas, Wa (P1A,G1), DS-1 (P1B,G2); simia RRV (P5,G3) y bovina NCDV (P6,G6).

El protocolo utilizado fue el siguiente [13]: Se sembraron platos de 96 pozos con la línea celular derivada de riñón de mono Rhesus MA-104 y se inocularon con 100 unidades formadoras de focos infecciosos por 0,1ml (uff/0,1ml) de la cepa

de rotavirus indicada, previamente el virus había sido incubado por 2 horas a 37°C con diluciones de suero desde 1:50 hasta 1:3200. Las células se incubaron con esta mezcla por 16 a 24 horas a 37°C y se fijaron con metanol. Luego se incubaron con suero hiperinmune de conejo producido contra rotavirus OSU. Finalmente se trataron con inmunoglobulina anti-conejo preparada en oveja conjugada con isotiocianato de fluoresceína (Sigma). El título neutralizante del suero se expresó como el recíproco de la dilución más alta en la cual hubo $\geq 66\%$ de reducción en el número de focos infecciosos, con relación a los controles de virus. Un suero que neutraliza un determinado serotipo de rotavirus a la dilución 1/100 se considera positivo.

Para revelar la presencia de anticuerpos (Ac) que pudieran no haber sido detectados por la técnica de neutralización por reducción de focos fluorescentes (NRFF), se empleó una técnica de ELISA siguiendo el siguiente protocolo: Se sensibilizaron platos de cloruro de polivinilo flexibles de 96 pozos con suero hiperinmune contra rotavirus OSU producido en conejo, diluido en Buffer carbonato-bicarbonato (0.05M, pH 9,5). Se incubaron durante una hora a 37°C. Después de lavar con Buffer fosfato salino conteniendo 0,05% de Tween 20 (PBS-T), se agregó virus OSU obtenido de cultivo de células diluido en PBS con 1% de albúmina sérica bovina (PBS-BSA 1%), incubando 1 hora a 37°C. Luego de lavar se colocaron diluciones dobles de los sueros, desde 1/50 hasta 1/3200 en PBS-BSA 1%, utilizándolos como Ac de detección y se incubaron durante 2 horas a 37°C. Después de lavar, se añadió como conjugado inmunoglobulina anti IgG de cerdo producida en oveja conjugada con peroxidasa (Sigma) y se incubó durante una hora a 37°C. La reacción se reveló con O-phenylendiamide (Sigma), dejando desarrollar el color durante 15 minutos en la oscuridad y se detuvo con ácido sulfúrico 1M. La densidad óptica se leyó en un lector de ELISA Titertek Multiskan plus MSII a 492nm.

RESULTADOS

Anticuerpos neutralizantes en sueros de lechones gnotobióticos

Se trató de establecer en qué medida la respuesta inmune humoral a una infección por rotavirus es serotipo-específica en lechones gnotobióticos. En la TABLA I puede observarse que los lechones N°1 y N°2 tienen títulos de AcN elevados contra el serotipo (ST) con el que fueron inmunizados, además presentan niveles de Ac considerables contra el virus rearrreglado DS-1xOSU, cuya VP7 se origina de la cepa DS-1 (ST G2) y la VP4 proviene de la cepa OSU (ST P9). Estos sueros no responden a DS-1 (PB1,G2), por lo que la respuesta inmunitaria observada contra el virus rearrreglado es exclusivamente contra la VP4 P9. No tienen AcN contra Gottfried, y ambos tienen títulos de AcN de 100 contra 253 (P9,G11) y SB-1A (P9,G4)

El lechón gnotobiótico N°3, que fue infectado con Gottfried (P2B,G4), sólo respondió con títulos de Ac elevados a la cepa inmunizante y a la cepa SB-1A, que comparte con Gottfried la misma VP7 G4. No tiene Ac contra OSU, que comparte con SB-1A la VP4 P9. En este caso los anticuerpos se produjeron exclusivamente contra la VP7 G5.

En el caso de lechones gnotobióticos la respuesta inmunitaria producida como consecuencia de infección experimental es homotípica, dirigida solamente contra la cepa infectante.

Frecuencia de anticuerpos neutralizantes contra rotavirus en sueros de cerdos de 1 a 8 semanas de edad

Se midieron los niveles de AcN contra cepas de rotavirus representativas de diferentes serotipos G y P que infectan cerdos y otras especies animales, en sueros provenientes de lechones de diferentes edades. En la TABLA II se muestran los

valores obtenidos frente a cada cepa. Se tomó como positivo un título neutralizante de 100 y si consideramos la respuesta contra las cepas porcinas, encontramos que en la 1° semana de edad el 100% de los lechones presentan AcN contra las cepas 138, Gottfried y OSU y 83% contra 253. En la segunda semana de edad sólo se observa 100% de respuesta contra 138 y OSU, siendo el porcentaje de animales que responden mucho menor para Gottfried y para 253. La respuesta inmunitaria en estos 2 grupos etarios puede explicarse por la presencia de Ac maternos en el suero de los lechones.

Al analizar los datos de frecuencia para la tercera semana, el 100% de los animales encuestados tienen AcN contra Gottfried, 80% contra 138, 70% contra OSU y 40% contra 253. En los grupos de 4 semanas en adelante, la reducción en el porcentaje de animales con Ac contra las cepas porcinas es mucho más dramática. Es de hacer notar que la frecuencia contra OSU continúa siendo elevada.

TABLA I

ANTICUERPOS NEUTRALIZANTES* CONTRA ROTAVIRUS EN SUEROS OBTENIDOS DE TRES LECHONES GNTOBIÓTICOS POST-INMUNIZACIÓN

N°	Gott (P2B,G4)	SB-1A (P9,G4)	OSU (P9,G5)	DS-1XOSU (P9,G2)	DS-1 (P1B,G2)	253 (P9,G11)
1 OSU ¹	<50	100	1600	400	<50	100
2 OSU	<50	<50	1600	400	<50	100
3 Gott	>3200	>3200	<50	<50	<50	<50

*Los títulos están expresados como el recíproco de la mayor dilución de suero que reduce en $\geq 66\%$ el N° de focos infecciosos en el ensayo de NRFF. 1. Cepa de rotavirus inmunizante.

TABLA II

FRECUENCIA DE ANTICUERPOS NEUTRALIZANTES CONTRA VARIOS SEROTIPOS DE ROTAVIRUS EN 89 SUEROS DE LECHONES DE DIFERENTES EDADES

Edad	n	Porcentaje de sueros que neutralizan la cepa de rotavirus indicada (ST)*							
		Rotavirus Porcinos				Rotavirus No Porcinos			
		138 P7,G3	GOTT P6,G4	OSU P7,G5	253 P7,G11	WA P8,G1	DS-1 P4,G2	RRV P3,G3	NCDV P1,G6
1 sem	12	100	100	100	83	83	75	67	83
2 sem	11	100	45	100	66	73	91	0	64
3 sem	10	80	100	70	40	22	40	20	10
4 sem	14	43	50	71	7	0	14	7	7
5 sem	10	50	50	70	60	30	0	0	20
6 sem	10	40	20	100	70	0	40	20	10
7 sem	10	20	50	90	80	40	0	0	30
8 sem	12	41	17	100	75	17	8	17	8

* Un suero se consideró neutralizante si a la dilución 1/100 reduce $\geq 66\%$ de los focos infecciosos en el ensayo de NRFF.

Con relación a los títulos neutralizantes frente a las cepas no porcinas, en las primeras 2 semanas de edad, la mayoría de los animales muestran AcN contra ellas, sin llegar en ningún caso al 100%. Esta reactividad cruzada tan marcada es probablemente un reflejo de la inmunidad materna. Es de notar que contra la cepa simia RRV, la respuesta es marcadamente más baja. En animales de 3 y 8 semanas de edad hay presencia de Ac contra las 4 cepas no porcinas, aunque en un porcentaje menor que para las cepas porcinas. En los grupos de 4 a 7 semanas se observan respuestas individuales para cada una de las cepas heterólogas.

Es importante destacar que la cepa porcina 138 y la simia RRV pertenecen al ST G3 en base a pruebas de seroneutralización de 2 vías y a comparación de la secuencia de aa de la VP7 (Ciarlet, 1992). Sin embargo la frecuencia para 138 es mucho mayor que para RRV en todos los grupos.

Distribución de respuesta seroneutralizante en grupos de cerdos de 1 a 8 semanas de edad frente a cepas de rotavirus porcino y no porcino

Se comparó la reacción neutralizante de los sueros de los lechones en las diferentes semanas de edad, en relación a las cepas porcinas y no porcinas.

Con respecto a la inmunoespecificidad contra las cepas porcinas, en la 1° semana, 10 neutralizan 4 cepas porcinas y 2 neutralizan 3 cepas porcinas. En la 2° semana, el comportamiento es bastante similar al de 1 semana. En ninguno de estos 2 grupos se encontraron lechones con AcN contra una sola cepa porcina, TABLA III.

En relación a las cepas no porcinas se observa que la mayoría de los animales de 1 y 2 semanas tienen AcN contra

ellas. En los 66 animales entre 3 y 8 semanas, es muy bajo el número de sueros que neutralizan adicionalmente las cepas no porcinas, TABLA IV.

Se debe destacar que existen 4 animales que no tiene AcN contra ninguno de lo ST porcinos o no porcinos. Se decidió realizar un ELISA doble sandwich para determinar si los sueros contenían Ac, aunque no neutralizantes, contra rotavirus. Se utilizaron como controles positivos 2 sueros de lechones con títulos neutralizantes contra OSU de 1:1600 y 1:3200, respectivamente.

Las curvas de titulación por ELISA (valores de absorbancia contra dilución recíproca) se muestran en la FIG. 1. Estas curvas se graficaron hasta la mayor dilución de suero, en la que la densidad óptica (D.O.) tenía valores de 0.200 ó menores. Así se seleccionó como punto de corte el valor de 0.200. Una muestra de suero con un valor de ELISA ≤ 0.200 en la dilución 1/50, se consideró negativo.

Puede observarse que 3 de los 4 animales muestran D.O. superiores a las de los sueros positivos utilizados como controles y que estas D.O. van descendiendo en forma similar a la de los controles. Únicamente el suero N° 4 presentó una D.O. muy inferior, considerándose negativo.

DISCUSIÓN

El entendimiento de la respuesta inmunitaria homotípica y heterotípica contra rotavirus es esencial para el establecimiento de estrategias de profilaxis efectivas.

El propósito de este estudio fue examinar la respuesta inmunitaria humoral contra rotavirus en lechones gnotobióticos

TABLA III

DISTRIBUCIÓN POR EDAD DE LA RESPUESTA SERONEUTRALIZANTE* EN LOS LECHONES FRENTE A 4 CEPAS DE ROTAVIRUS PORCINO

Edad	n ¹	N° DE CEPAS PORCINAS				
		NINGUNA	1 cepa	2 cepas	3 cepas	4 cepas
1 sem	12				2	10
2 sem	11			2	6	3
3 sem	10		2	1	3	4
4 sem	14	3	3	4	3	1
5 sem	10		4	1	3	2
6 sem	10		2	4	3	1
7 sem	10		2	3	4	1
8 sem	12	1	2	4	2	3

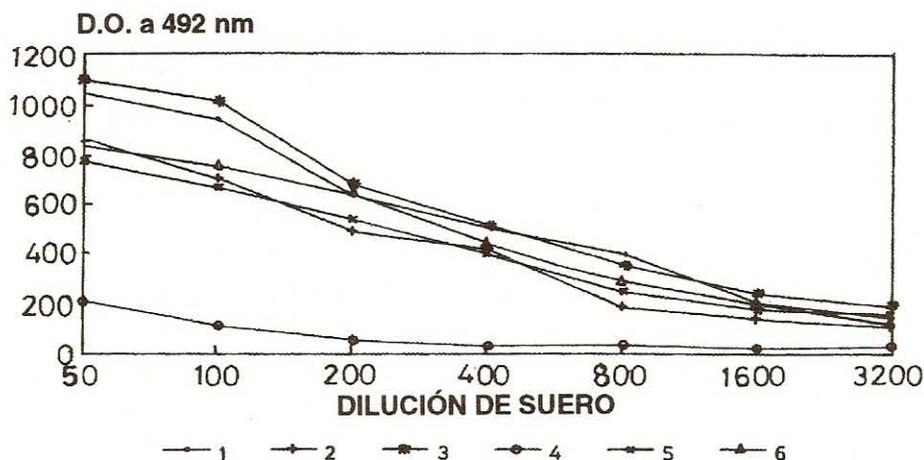
* Un suero se considera neutralizante si a la dilución 1/100 reduce $\geq 66\%$ de los focos infecciosos en el ensayo de NRFF. 1. N° de lechones totales por edad.

TABLA IV

DISTRIBUCIÓN POR EDAD DE LA RESPUESTA SERONEUTRALIZANTE* EN LECHONES FRENTE A 4 CEPAS DE ROTAVIRUS NO PORCINO

Edad	n ¹	Cepas No Porcinas				NCDV
		WA	DS-1	RRV		
1 sem	12	10	9	8	10	
2 sem	11	8	10	10		
3 sem	10	2	4	2	1	
4 sem	14		2	1		
5 sem	10	3			2	
6 sem	10		4	2	1	
7 sem	10	4			3	
8 em	12	1		1	1	

* Un suero se considera neutralizante si a la dilución 1/100 reduce $\geq 66\%$ de los focos infecciosos en el ensayo de NRFF. 1. N° de lechones totales por edad.



1,2,3,4 negativos por NRFF
5 y 6 positivos por NRFF

FIGURA 1. CURVAS DE TITULACIÓN DE ANTICUERPOS POR ELISA EN SUEROS NEGATIVOS DE LECHONES POR NRFF.

primoinfectados y la especificidad de anticuerpos neutralizantes inducidos por infección natural en sueros de lechones de granjas.

Los experimentos de neutralización en sueros de lechones gnotobióticos indican, por el reducido número de muestras, que la respuesta inmunitaria primaria es serotipo específica, está dirigida contra la cepa inmunizante y los anticuerpos se producen predominantemente contra la VP7, aunque hay una significativa respuesta contra la VP4 homóloga, que puede observarse en la respuesta encontrada contra las cepas DS-1xOSU y 253, en los lechones infectados con la cepa OSU, con la que comparten la VP4 P9.

Para el caso del lechón gnotobiótico N°3, infectado con Gottfried, no se disponía de otra cepa viral con la VP4 P2B, similar a la de la cepa infectante y con una VP7 diferente, con la cual se hubiera podido determinar la producción de anticuerpos contra este serotipo de VP4. Sin embargo, la respuesta en este caso también es exclusiva contra la VP7 G4.

Hoshino y cols., [17] han demostrado en cobayos que la proteína VP4 es un inmunógeno tan potente como VP7, en estimular la producción de anticuerpos neutralizantes, después de hiperinmunización parenteral. También indican que en lechones gnotobióticos infectados por vía oral, la VP4 es tan efi-

ciente como la VP7 en estimular la producción de anticuerpos después de una infección natural.

Al analizar los resultados para los lechones de granja, encontramos que los animales de 1 y 2 semanas tienen anticuerpos, en su mayoría, contra las cuatro cepas porcinas y también contra las cepas heterólogas o no porcinas. Esta situación puede explicarse por la presencia de anticuerpos maternos en el intestino de los lechones y que los protegen contra las infecciones rotavirales [12].

Los animales de 3 a 8 semanas de edad mostraron un nivel de anticuerpos más bajo y para un menor número de cepas porcinas, lo que sugiere que los anticuerpos detectados en el suero son producidos en respuesta a infección activa por rotavirus, ya que a partir de los 15 días de edad desaparecen los anticuerpos colostrales, debido al catabolismo de las inmunoglobulinas maternas [15]. En cuanto a la especificidad para las cepas porcinas, 18% de los lechones tienen anticuerpos contra una sola cepa, lo que es sugestivo de infección por un solo serotipo. El 82% de los lechones neutralizan entre 2 y 4 serotipos porcinos, lo que sugiere que a medida que el lechón va creciendo, la respuesta inmunitaria primaria, serotipo-específica, puede hacerse más amplia por infecciones sucesivas por rotavirus de otro serotipo, como se ha indicado para humanos y bovinos [4, 5, 6]. Esta situación se facilita porque en cerdos existe una alta probabilidad de infecciones secuenciales, debido a las condiciones de manejo y al ambiente tan contaminado en que ellos se encuentran.

El mayor nivel de anticuerpos se encontró para la cepa OSU (P9,G5). Posiblemente este serotipo sea predominante en las granjas encuestadas y estimule la producción de anticuerpos de reactividad cruzada contra otros serotipos. Asimismo, hay que tener en cuenta que la VP4 de las cepas OSU, 138 y 253 pertenecen al mismo serotipo P9 [9], contribuyendo a la respuesta heteróloga observada.

Con relación a las cepas no porcinas, la mayoría de los lechones de 1 y 2 semanas poseen anticuerpos neutralizantes de reacción heterotípica, que puede explicarse por la presencia de inmunidad lactogénica. En los animales mayores de 3 semanas se observan respuestas individuales contra ellas. La infección de lechones con una cepa de rotavirus humana, simia o bovina, es una explicación poco probable para los resultados obtenidos. No se descarta la posibilidad de que existan cepas porcinas de los serotipos G1, G2 y G6, que todavía no se hayan reportado [1, 2, 4, 14].

La mayor frecuencia encontrada para la cepa 138 (P9,G3) sobre la cepa simia RRV (P5,G3) en todos los grupos, puede explicarse sugiriendo que la combinación de una VP4 P5 con VP7 G3 modifica la presentación de la VP7, haciendo que el reconocimiento de esta proteína por los Ac sea menor para la cepa RRV. [7, 8].

Se encontraron 4 lechones que no presentaron anticuerpos neutralizantes para rotavirus. Sin embargo, por ELISA se

demonstró que 3 de ellos tenían anticuerpos contra rotavirus, tal vez estos animales fueron infectados por una cepa de serotipo distinto a los representados en el panel de cepas probadas. El suero negativo pertenece a un animal de 3 semanas, que probablemente no había sufrido primoinfección al momento de tomar la muestra.

Tomando en consideración que, los esfuerzos para combatir la rotaviriosis porcina están dirigidos a mejorar la protección de los lechones a través del incremento de la inmunidad lactogénica y la inmunidad activa, estos resultados son determinantes de que el aspecto coyuntural está en la diversidad de serotipos que deben estar representados en las cepas vacunales.

Sería necesario que, al formular una vacuna contra rotavirus porcino, se incluyan los serotipos más inmunogénicos y los que estimulen una reacción heterotípica más amplia entre diferentes cepas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Beards, G.; Xu, L.; Ballard, A.; Desselberger, U. and McCrae, M. A serotype 10 human rotavirus. *J. Clin. Microbiol.* 30:1432.1992.
- [2] Bellinzoni, R.; Mattion, N.; Matson, N.; Blackwall, J.; La Torre, J.; Scodeller, E.; Urasawa, S.; Taniguchi, K. and Estes, M. Porcine rotavirus antigenically related to human rotavirus serotypes 1 and 2. *J. Clin. Microbiol.* 28:633. 1990.
- [3] Bohl, E. Rotaviral diarrhea in pigs: brief review. *JAVMA.* 174:613. 1979
- [4] Brüssow, H.; Eichhorn, W.; Rohwedder, A.; Snodgrass, D. and Sidoti, J. Cattle develop neutralizing antibodies to rotavirus serotypes which could not be isolated from faeces of symptomatic calves. *J. Gen. Virol.* 72:1559. 1991.
- [5] Brüssow, H., Walther, I.; Fryder, V.; Sidoti, J. and Bruttin, A. Cross-neutralizing antibodies induced by single serotype vaccination of cows with rotavirus. *J. Gen. Virol.* 69:1647. 1988.
- [6] Brüssow, H.; Werchau, H.; Liedtke, W.; Lerner, L.; Mietens, C.; Sidoti, J. and Sotek, J. Prevalence of antibodies to rotavirus in different age-group of infants in Bochum West Germany. *J. Infect. Dis.* 157:1014. 1988.
- [7] Chen, D.; Burns, J.; Estes, M. and Ramig, R. Phenotypes of rotavirus reassortants depend upon recipient genetic background. *Pro. Nac. Acad. Sci.* 86:3743. 1989.
- [8] Chen, D.; Estes, M. and Ramig, R. Specific interactions between rotavirus outer capsid proteins VP4 and VP7

- determine expression of cross-reactive neutralizing VP4-specific epitope. *J. Virol.* 66:432. 1992.
- [9] Ciarlet, M.; Hidalgo, M.; Gorziglia, M. and Liprandi, F. Characterization of neutralization epitopes on VP7 of serotype G11 porcine rotavirus. *J. Gen. Virol.* 75:1867. 1994.
- [10] Ciarlet, M. and Liprandi, F. Serological and genomic characterization of two porcine rotavirus with serotype G1 specificity. *J. Clin. Microbiol.* 32:269. 1994.
- [11] Flewett, T. and Woode, G. The rotavirus: Brief review. *Arch. Virol.* 57:1. 1978.
- [12] Fu, Z. and Hampton, D. Transfer of maternal antibody against group A rotavirus from sows to piglets and serological responses following natural infection. *Res. Vet. Sci.* 48:365. 1990.
- [13] Gerna, G.; Battaglia, M.; Milenesi, G.; Passarini, N.; Percivalle, E. and Cattaneo, E. Serotyping of cell culture adapted subgroup 2 human rotavirus strains by neutralization. *Infect. Immun.* 43:722. 1984.
- [14] Gerna, G.; Sarasini, A.; Parea, M.; Arista, S.; Miranda, P.; Brüssow, H.; Hoshino, Y. and Flores, J. Isolation and characterization of two distinct human rotavirus strains with G6 specificity. *J. Clin. Microbiol.* 30:9. 1992.
- [15] Hess, R. and Bachmann, P.; Distribution of antibodies to rotavirus in serum and lacteal secretions of naturally infected swine and their suckling pigs. *Am J. Vet. Res.* 42:1149. 1981.
- [16] Hidalgo, M. Estudio de la variación antigénica de rotavirus porcinos (Tesis de Grado M.Sc.). IVIC:1-128. 1990.
- [17] Hoshino, Y.; Saif, L.; Sereno, M.; Chanok, R. and Kapikian, A. Infection immunity of piglets to either VP3 o VP7 outer capsid protein confer resistance to challenge with a virulent rotavirus bearing the corresponding antigen. *J. Virol.* 62:744. 1988.
- [18] Liprandi, F.; García, D.; Botero, L.; Gorziglia, M.; Cavazza, M.; Pérez-Schael, I. and Esparza, J. Characterization of rotaviruses isolated from pigs with diarrhoea in Venezuela. *Vet. Microbiol.* 13:35. 1987.
- [19] Taniguchi, K.; Urasawa, T. and Urasawa, S. Species specificities and interspecies relatedness in VP4 genotypes demonstrated by VP4 sequence analysis of equine, feline, and canine rotavirus strains. *Virology.* 200:390. 1994.
- [20] Utrera, V.; Mazzali de Ilja, R.; Gorziglia, M. and Esparza, J. Epidemiological aspects of porcine rotavirus infection in Venezuela. *Res. Vet. Sci.* 36:310. 1984.
- [21] Woode, G.; Bridger, J.; Hall, G.; Jones, J. and Jackson, G. The isolation of a reovirus-like agent (rotavirus) from acute gastroenteritis of piglets. *J. Med. Microbiol.* 9:203. 1976.

**Eventos Científicos Nacionales
1996**

Mayo		
14-17	<i>VI Congreso Nacional de Avicultura</i>	Hotel del Lago Intercontinental Maracaibo - Venezuela
23-25	<i>I Jornadas de Enfermedades Zoonóticas</i>	Barquisimeto - Venezuela
Junio		
26-28	<i>I Jornadas de Investigación del Area de Ciencias del Agro y del Mar</i>	Universidad Francisco de Miranda Coro - Venezuela
Sept.		
25-27	<i>VII Congreso Venezolano de Microscopía Electrónica</i>	Universidad de Carabobo Valencia - Venezuela
29 - 4 Oct.	<i>III Congreso de Ciencias Veterinarias</i>	Hotel Pipo Internacional Maracay - Venezuela
Noviembre		
5-9	<i>XII Congreso Latinoamericano y VI Congreso Venezolano de Microbiología "Dr. José G. Hernández"</i>	Hotel Caracas Hilton Caracas - Venezuela