

Caracterización antigénica y molecular de Rotavirus en diferentes especies animales

Viviana Parreño, Verónica Costantini y Fernando Fernandez
Intituto de Virología - INTA- Castelar

Resumen

Rotavirus (RV) es la principal causa de diarrea neonatal en humanos y en diferentes especies animales en todo el mundo. En nuestro país se ha reportado como agente causal de diarrea en especies de interés económico como bovinos, equinos y porcinos. La variación antigénica y genética de las proteínas de la cápside externa VP7 y VP4 permiten caracterizar a los RV grupo A en G y P-tipos respectivamente.

El presente trabajo resume los resultados obtenidos por el Instituto de Virología de INTA con respecto a la prevalencia de las diarreas por RV en diferentes especies animales de interés económico en nuestro país y la posterior caracterización antigénica y molecular de las cepas circulantes a campo.

Rotavirus fue detectado en el 40% (452/1129) de los terneros y en el 33.5% (82/245) de los potrillos con diarrea estudiados, indicando su importancia como agente productor de infecciones gastrointestinales en ambas especies. Por su parte, un seguimiento realizado en 4 establecimientos de producción porcina arrojó una baja prevalencia (3.3%) de RV grupo A en esta especie asociándose principalmente a infecciones asintomáticas de lechones en la etapa de maternidad.

Los resultados de caracterización antigénica, utilizando anticuerpos monoclonales (Acm) mostraron que, en bovinos, G6 es el G-tipo prevalente (32.6%), seguido de G10 (15.4%) y G1(6%), mientras que en equinos G3 (85.9%) fue el G-tipo principalmente detectado.

Dado el elevado porcentaje de cepas de RV no tipificables por ELISA monoclonal (61% bovinas, 33% equinas y 100% porcinas) y la falta de información respecto a los P-tipos de las cepas de RV circulantes en especies animales de la Argentina, se incorporaron técnicas moleculares (RT-PCR /RFLP; RT-PCR-Multiplex) que permiten una caracterización más completa de este importante agente viral. Resultados preliminares, obtenidos del análisis molecular de un número reducido de muestras bovinas, confirman a G6 como el serotipo principal en esta especie. Además, se describió por primera vez en nuestro medio la circulación de los P-tipos P1, P5 y P11 en el ganado bovino, resultando G6P[5] y G6P[1] las combinaciones prevalentes a campo. Con respecto a los equinos, el análisis molecular confirmó a G3 como el G-tipo prevalente, existiendo evidencias que indicarían la circulación de otras cepas en esta especie animal. Por su parte, se ha realizado el primer aislamiento y caracterización de RV Grupo A G8 asociado a diarrea en guanacos de la Patagonia Argentina.

Introducción

Los Rotavirus (RV) son la principal causa de diarrea neonatal en humanos y en diferentes especies animales en todo el mundo. En nuestro país los RV se han asociado a diarreas en niños y en especies de interés económico como bovinos, equinos y cerdos. Los RV se clasifican según la variación antigénica de la proteína de cápside interna VP6 en 7 grupos (A-G), siendo el grupo A el más comúnmente detectado.

Los RV grupo A, a su vez, se clasifican en serotipos mediante un sistema binario basado en la variación genética y antigénica de las dos proteínas de la cápside externa, VP7 (G-tipos) y VP4 (P-tipos), ambas involucradas en la neutralización viral. Hasta el momento se conocen 14 G-tipos y 20 P-tipos. En bovinos se han informado los G-tipos: 1, 2, 3, 6, 8, 10 y 11, y P-tipos: 1, 5 y 11, siendo las cepas UK (G6P5) y B223 (G10P11) los tipos predominantes a nivel mundial. G1 ha sido caracterizado en terneros solamente en nuestro país. En equinos las cepas detectadas corresponden a los G-P tipos H1(G5P7), L338 (G13P17), H2 (G3P12) y CH3 (G14P12) siendo sólo las dos últimas epidemiológicamente importantes. En porcinos circulan los G-tipos 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 11 y los P-tipos 6 y 7. En humanos, existen 4 G-tipos principales, G1-4 que circulan en todo el mundo, asociados a los P-tipos 4, 6 y 8, presentando un elevado número de combinaciones, seguidos por G9 y G8. También se observan aislamientos particulares, como es el caso del G5P8 en Brasil y G10P11 en India, que presentan combinaciones G-P tipos relacionados con cepas de origen animal.

Con respecto a la circulación de Rotavirus RV en camélidos sudamericanos (llamas, alpacas, guanacos y vicuñas), especies animales que han cobrado importancia económica en la región en los últimos años, si bien se cuenta con informes de serología positiva de RV en alpacas del Perú y llamas de la Argentina, no existen datos en la bibliografía con respecto al aislamiento del RV que afecta a estos animales.

En la Argentina, en el área veterinaria, si bien se reconoce a los RV como el principal agente etiológico de las diarreas neonatales en terneros y existen informes de los G-tipos de las cepas circulantes en bovinos y porcinos, se desconocen los P-tipos de las mismas. Asimismo, no hay datos publicados sobre la incidencia de este virus en otras especies tales como los equinos deportivos o camélidos sudamericanos de explotación lanar.

Dado el impacto sanitario de la rotavirus tanto en humanos como en animales, la incorporación de técnicas más sensibles en la detección y caracterización de las cepas circulantes a campo resulta una herramienta muy útil para avanzar en el conocimiento de la epidemiología molecular, detectar cepas emergentes, establecer su potencial como zoonosis, así como también optimizar los programas de prevención y control basados en el uso masivo de vacunas (formulación de inmunógenos utilizando cepas actuantes a campo).

Objetivos

- Establecer la prevalencia de RV grupo A como agente causal de diarreas neonatales en especies animales de importancia económica en la República Argentina.

- Caracterizar las cepas de RV circulantes a campo en bovinos, equinos, porcinos y camélidos de la Argentina.
- Determinar la relación epidemiológica de la infección por RV grupo A en diferentes especies animales y en humanos.

Resultados

Rotavirus bovino:

Diagnóstico y Caracterización antigénica de cepas circulantes a campo:

En este estudio, se analizaron 1129 muestras de materia fecal de terneros con diarrea remitidas al Instituto de Virología, INTA Castelar durante el período comprendido entre 1994 y 1999. Las muestras correspondieron a establecimientos ganaderos ubicados en las provincias de Buenos Aires, Córdoba, San Luis, Santa Fe y Entre Ríos. Del total de muestras recibidas se contaba con información respecto del tipo de explotación ganadera en 348 materias fecales, de las cuales 259 provenían de 74 establecimientos de cría y 89 muestras correspondían a 39 establecimientos de tambo afectados por brotes de diarrea. Rotavirus bovino (RVB) grupo A fue detectado por ELISA policlonal, en el 40.0% (452/1129) de las muestras analizadas y por PAGE en el 24.7% (279/1129) de las mismas (Tabla 1).

Las muestras positivas fueron inicialmente caracterizadas antigénicamente en G-tipos mediante un ELISA de captura con un panel de 5 Ac monoclonales (Acm) específicos para los G-tipos G1, G2, G3, G6 y G10 y un monoclonal (C60) dirigido a un determinante antigénico no neutralizante compartido por todos los G-tipos.

Del total de muestras bovinas positivas a RV grupo A por ELISA policlonal analizadas, el 70.5% (319/452) presentaron la proteína VP7 intacta, resultando el 32.6% de estas (104/319) G6, el 15.4% (49/319) G10, el 6% (19/319) G1 y el 46.1% (147/319) resultaron no tipificadas. La distribución en el tiempo hasta el momento, indica que G6 es el G-tipo predominante en cada uno de los años analizados, seguido de G10. El serotipo G1 fue detectado todos los años, excepto en 1995 y 1996 (Tabla1).

Al analizar la prevalencia de RV, según el tipo de explotación ganadera, se observó su circulación en el 87.3% (69/79) de los establecimientos de cría y en el 74%(29/39) de los tambos estudiados. Al comparar la distribución de G-tipos circulantes, si bien se detectan los serotipos G1, G6 y G10 en ambos tipos de explotación, la detección de G6 fue significativamente mayor en establecimientos de cría, mientras que G10 fue el serotipo más frecuentemente detectado en los establecimientos lecheros (fig. 1).

Tabla 1. Diagnóstico y caracterización de RV bovino en materia fecal de terneros con diarrea (1994-1999)

Año	Cantidad de muestras	Muestras positivas RV grupo A ^a	ELISA SEROTIPIFICACION				
			C60 ^b (%)	G1 ^c (%)	G6 ^c (%)	G10 ^c (%)	N/D ^d (%)
1994	101	56 (55.4)	42 (75)	2 (4.8)	18 (42.8)	1 (2.4)	21 (50)
1995	32	15 (47)	10 (66.7)	--	2 (20)	1 (10)	7 (70)
1996	64	46 (72)	37 (80.4)	--	21 (56.8)	9 (24.3)	7 (18.9)
1997	173	80 (46)	69 (86.3)	9 (13)	28 (40.6)	9 (13)	23 (33.4)
1998	350	103 (29.4)	78 (75.7)	5 (6.4)	9 (11.6)	11 (14.1)	53 (67.9)
1999	409	152 (37.1)	83 (54.6)	3 (3.6)	26 (31.3)	18 (21.7)	36 (43.4)
Total	1129	452	319/452	19/319	104/319	49/319	147/319
		40%	70.5 %	6%	32.6%	15.4 %	46.1 %

a Todas las muestras positivas por ELISA fueron analizadas para su caracterización antigénica

Caracterización molecular de G-tipos (VP7) y P-tipos (VP4) de cepas bovinas:

Dado el elevado porcentaje de muestras no caracterizadas por ELISA, y la necesidad de conocer el P-tipo de las cepas de RV circulantes en bovinos de nuestro país, se realizó un estudio preliminar en colaboración con la Dra Linda Saif (FAHRP-OSU-USA), en el cual se analizó el 10% de las cepas de RV bovino detectadas a campo durante el periodo 1994-1999 por RT-PCR-RFLP. El estudio incluyó 68 muestras de RV Grupo A detectadas en terneros con diarrea correspondientes a 34 establecimientos de cría y 5 tambos ubicados en la provincia de Buenos Aires. El G y P-tipo de las cepas de RVB fue determinado

por amplificación del segmento 7 (en su totalidad, 1062 pb) y el segmento 4 (amplificación parcial, región VP8: 1096 pb) por RT-PCR seguida del estudio del polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP) obtenidos por digestión del producto amplificado con cuatro enzimas, EcoRV, BamHI, NlaIV y HpaII, según la técnica descrita por Chang y col en 1996. El G/P-tipo de las cepas se determinó por comparación de los patrones de RFLP obtenidos con los de cepas de referencia (Wa G1, IND G6P[5], Lincoln G6P[1], B223 G10P[11]) (Fig. 2a y 2a).

Con respecto a VP7, las cepas de RVB de campo pudieron clasificarse en 5 patrones. Las cepas con patrón G1 y G6(I), presentaron perfiles de digestión con las tres

enzimas, iguales a las cepas de referencia Wa (G1) y IND (G6), respectivamente (figura 2b). Cepas con patrón G6(II) presentaron el mismo perfil de restricción que la cepa IND (G6) para BamHI y NlaIV, pero no para EcoRV. Además, se describieron cepas que presentaron 2 patrones con perfiles distintos a las cepas de referencia con al menos dos enzimas de restricción y fueron denominadas No tipificables GNt(I) y GNt(II) (Fig. 2c). G6(I) y G6(II) fueron los G-tipos más frecuentemente detectados, no solo en el período 1994-1999, sino también en cada año representando el 73.8 % de las muestras. G1 fue detectado en 1996, 1997 y 1999. Cepas con G-tipos No tipificables [GNt(I) y GNt(II)] fueron detectadas en los tres últimos años, ambos patrones se asociaron a cepas caracterizadas como G10 por ELISA (Tabla 1).

Realizada la digestión del segmento 4, las cepas de RVB pudieron clasificarse en 8 patrones. Se encontraron cepas con perfiles iguales a las cepas de referencia NCDV-Lincoln

(P[1]), IND (P[5]) y B223 (P[11]), respectivamente (Fig. 3 a y b). Las cepas con patrón (P[5(II)]) presentaron el mismo perfil de restricción que la cepa IND (P[5]) para EcoRV y HpaII, pero no para NlaIV (Fig. 3b). Las cepas con patrones (P[11(II)]) y (P[11(III)]) mostraron perfiles similares a la cepa B223 (P[11]) para EcoRV y HpaII o EcoRV y NlaIV respectivamente. Para VP4, también se describieron cepas con 2 patrones No tipificables (P[Nt(I)]) y P[Nt(II)] (Fig. 3b y c). P[1] y P[5] fueron detectados en similares porcentajes entre 1994 y 1999; sin embargo P[1] fue más frecuentemente detectado que P[5] en 1997 y 1998. La presencia de P[11] fue poco frecuente, siendo detectado solo en 1998 y 1999. La detección de infecciones mixtas o perfiles no tipificables fue baja (Tabla 2).

Varias combinaciones de G y P-tipo fueron detectadas a campo (fig.4), resultando P[5]G6 la combinación más frecuente en 1994, 1995, 1996 y 1999, mientras que en 1997 y 1998, la combinación más frecuentemente detectada fue P[1]G6.

Tabla 2. Rotavirus bovino: Combinaciones G/P-tipo circulantes en Argentina

Año	Muestras	VP7				VP4				
		RT-PCR	G6 (I+II)	G1 (I+II)	Nt (I+II)	RT-PCR	P[1]	P[5] (I+II)	P[11] (I+II+III)	Nt (I+II)
1994	14	10	9	--	1	9	--	8	--	1
1995	1	1	1	--	--	0	--	--	--	--
1996	3	3	2	1	--	2	--	2	--	--
1997	14	13	8	3	2	7	5	1	--	1
1998	19	15	12	1	2	13	9	3	1	--
1999	17	12	7	2	3	12	4	5	3	--
Total	68	54/68	39/54	7/54	8/54	43/68	18/43	15/43	4/43	2/43
		79.4%	72%	13%	15%	63.2%	42%	35 %	9.3 %	4.6 %

Si bien la técnica de RFLP corroboraba la presencia de cepas G1 en bovinos de nuestro país, un porcentaje de muestras caracterizadas por ELISA como G1 se definieron como G6 por esta técnica. Esta observación, sumada a la inquietud de estudiar la relación entre las cepas G1 circulantes en bovinos y las cepas del mismo serotipo presentes en humanos se realizó un estudio colaborativo de caracterización de cepas G1 bovinas por RT-PCR-Multiplex con el Instituto Malbrán.

De un total de 21 muestras caracterizadas como G1 por ELISA, sólo se detectó G1 en una muestra y en una infección mixta (G1 + G6), mientras que 12 de las cepas resultaron G6 y una cepa G6s (subtype). Cinco muestras no fueron reconocidas por los primer utilizados, de las cuales 1 fue definida como G6 por secuencia.

Asimismo, se detectó por esta técnica la primer cepa de RV G8 circulante en bovinos de nuestro país.

Rotavirus Equino

Diagnóstico y caracterización por ELISA y RT-PCR-RFLP

En equinos se analizaron 245 muestras de materia fecal correspondientes a brotes de diarrea detectados en establecimientos de cría de equinos pura sangre de carrera (SPC) ubicados en la provincia de Buenos Aires durante el período correspondiente a los años 1992-1999. El 33.5% (82/245) de las muestras resultaron positivas por ELISA y el 31.8% (78/245) por PAGE.

En equinos, de 82 cepas detectadas desde 1992 a 1999, el 85.9% (55/64) de las muestras tipificables resultó G3, que ha sido descrito como el G-tipo más frecuentemente detectado en esta especie en otras partes del mundo. El 14.1% (9/64) no pudo ser tipificado. Es importante destacar que las cepas no caracterizadas correspondieron a un brote puntual que afectó a dos haras vecinos ubicados en San Antonio de Areco, (Prov. de Bs. As.) durante la temporada 1998 (Tabla 3).

Tabla 3: Caracterización antigénica de cepas de RV equino detectadas en Argentina

Año	N° de Muestras	ELISA Policlonal Rotavirus grupo A	ELISA SEROTIPIFICACION		
			C60	G3	ND
1992	19	13	10	10	--
1993	25	5	5	5	--
1994	60	18	9	9	--
1995	36	15	13	13	--
1996	22	14	10	10	--
1997	16	2	2	2	--
1998	29	9	9	--	9
1999	38	6	6	6	--
Total	245	82/245 33.5 %	64/82 78.1 %	55/64 85.6 %	9/64 14.1%

Aplicando la misma técnica de RT-PCR y RFLP para VP7, utilizando HinfI como enzima de restricción, hasta el momento se analizó el 14.1% (n=12) del total de muestras positivas, seleccionadas teniendo en cuenta el número total de muestras de cada año y el establecimiento de origen. El 58.3% (7/12) fue amplificado por RT-PCR para VP7, obteniéndose 2 patrones de RFLP. El 85.7% (6/7) presentó un perfil idéntico a las cepa de referencia H2 G3 (fig 5). Las 9 muestras correspondientes a brote de 1998 no fueron amplificadas por los primers utilizados.

Rotavirus porcino

En esta especie se comenzó en 1999 un estudio para determinar la prevalencia de rotavirus en 4 establecimientos de producción porcina de ciclo completo con sistemas de explotación intensiva y extensiva.

Se analizaron un total de 906 muestras de materia fecal de lechones con y sin diarrea. RV Grupo A fue detectado en baja prevalencia (3,3%), siendo su circulación levemente mayor en los establecimientos intensivos con respecto a los extensivos, aunque las diferencias no fueron significativas. Asimismo, RV fue detectado en proporciones similares tanto en MF diarreicas (2.5%) como no diarreicas (3.5%) (Tabla xx)

Tabla 4. Detección de RV grupo A por ELISA en MF de lechones provenientes de establecimientos de producción intensiva y extensiva

Sistemas de Explotación	Cantidad de muestras	Detección de RV grupo A (% RV +/- totales)		Totales
		MF Diarreica	MF no diarreica	
Intensivo				
(n=2)	587	2.9 % ^A (5/167)	4.3 % ^A (18/420)	3.9 % ^A (23/587)
Extensivo				
(n=2)	319	0 % ^A (0/26)	2.4 % ^A (7/293)	2.1 % ^A (7/319)
Totales (n=4)	906	2.5 % (5/193)	3.5 % (25/713)	3.3 % (30/906)

* Porcentajes con el mismo superíndice no difieren significativamente (Fisher exact test, p<0.05)

Al analizar la circulación viral en cada establecimiento, la mayor prevalencia de RV Grupo A se observó en uno de los establecimientos intensivos (6.7%), la menor en el otro sistema intensivo (0.7%), mientras que los sistemas extensivos presentaron prevalencias intermedias y similares entre sí del orden del 2%.

Sólo en el primer establecimiento intensivo mencionado pudo detectarse la presencia del virus a lo largo de todo el año, principalmente durante los meses de febrero y julio. En la mayoría de los casos el virus se presentó en forma asintomática afectando a lechones de la etapa de maternidad, pudiéndose asociar la presencia de RV con episodios de diarrea únicamente en 5 lechones de cría durante el periodo invernal. La baja prevalencia de diarreas por RV grupo A se asoció a altos niveles de Ac tanto en las cerdas madres como en sus lechones.

Dada la elevada variabilidad observada en RV porcino, para la caracterización de las cepas detectadas en este estudio, se diseñará y estandarizará un ensayo de RT-PCR-Multiplex específico para esta especie.

Rotavirus en camélidos sudamericanos

Dado que la información referente a los patógenos virales que afectan a estas especies autóctonas es muy escasa en la Argentina, a fines de 1998 se comenzó un trabajo colaborativo con la FCV-UBA, para investigar la circulación de virus diarréicos, en particular RV. Inicialmente, se prestó asistencia diagnóstica en brotes de diarrea con altos índices de morbi-mortalidad en 2 establecimientos de cría de guanacos en las provincias de Río Negro y Chubut, realizán-

dose posteriormente muestreos serológicos en vicuñas y llamas de las provincias de Salta, Catamarca y Buenos Aires.

Los estudios serológicos indican la presencia de anticuerpos (Ac) anti-RV en el 77% (30/39) de los guanacos, 98% (193/196) de las llamas y el 90% (64/71) de las vicuñas. Sólo en el caso de los guanacos se pudieron estudiar animales jóvenes entre 2 días y 6 meses de vida (chulengos), en los que la seroprevalencia fue del 88%. Estudios virológicos demostraron excreción viral en 4 chulengos, 2 de ellos con cuadro agudo de diarrea, y 2 animales asintomáticos. El diagnóstico de RV, en el caso de las muestras diarréicas, fue confirmado por inmunoelectro-microscopía, PAGE y aislamiento viral en células MA 104. Las cepas de RV aisladas, una en Río Negro y la otra en Chubut, presentaron patrones electroforéticos particulares, con distribución de bandas característica de RV Grupo A (4/2/3/2). El análisis molecular por RT-PCR-Multiplex indicó que las cepas aisladas en ambas provincias fueron del serotipo G8 (fig 5).

Este trabajo confirma la circulación de RV en llamas, aporta los primeros datos de su presencia en vicuñas e incluye el primer informe de aislamiento y caracterización de RV asociado a diarrea en guanacos de la región.

Conclusiones

La detección de RV grupo A en el 40% de las muestras bovinas, el 33.5% de las muestras equinas, y su asociación a brotes de diarrea en guanacos confirman la alta incidencia de este virus como agente causal de diarreas neonatales en estas especies.

Contrariamente, la baja frecuencia de detección en muestras porcinas indicarían que en esta especie RV grupo A no tendría la misma importancia.

En bovinos, el análisis antigénico indicó que G6 es el G-tipo más frecuentemente detectado, seguido de G10 y G1.

La prevalencia de diarrea por RV fue similar en establecimientos de cría y tambo, sin embargo la distribución de G-tipos actuantes fue distinta en cada sistema productivo, resultando G6 el serotipo predominante en rodeos de cría y G10 en tambos.

Los resultados obtenidos hasta el momento utilizando técnicas moleculares han confirmado la amplia circulación de G6 en el ganado bovino de la Argentina, indicando la presencia de una alta variabilidad de cepas dentro de este serotipo.

La técnica de RT-PCR-RFLP permitió definir los primeros datos de los P-tipos de las cepas circulantes en bovinos de la Argentina, indicando la circulación de P1, P5 y P11, resultando las combinaciones P[5]G6 y P[1]G6 las más frecuentemente detectadas.

Si bien aún no puede descartarse la presencia de RVB G1 en nuestro medio, es importante destacar que el análisis por RT-PCR-Multiplex indica que su circulación es significativamente menor con respecto a los datos obtenidos por ELISA. Son necesarios estudios complementarios para determinar la real importancia de este serotipo en bovinos de la Argentina, en que se realiza el primer informe de RV G8 en bovinos.

En equinos, los estudios antigénicos y genéticos demostraron que G3 es el G-tipo predominante, sin embargo la detección de otras cepas, aun no totalmente caracterizadas indicarían la circulación en los últimos años de RV diferentes en esta especie.

Este trabajo confirma la circulación de RV grupo A en llamas de la región y representa el primer informe sobre la circulación de RV en vicuñas y guanacos.

Se informa aquí el primer aislamiento y caracterización de RV asociado a diarrea en guanacos en la Argentina, resultando G8 la cepa actuante en esta especie.

Agradecimientos:

Los resultados expuestos forman parte de la Tesis doctoral de la Bioquímica Verónica Costantini (becaria CIC), la Tesis de maestría de la médica veterinaria Graciela Vidales (Universidad de Luján) y de investigaciones a cargo de las Dras. Viviana Parreño y María Barrandeguy dentro del marco de los convenios de vinculación tecnológica INTA-HARAS e INTA-ISJ Bagó, bajo la dirección del Dr. F. Fernández.

El grupo de vacunas experimentales del Instituto de Virología de INTA quiere agradecer muy especialmente a los grupos colaboradores y fuentes de financiación que hacen posible la realización de este proyecto:

Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria:

Proyecto «Caracterización antigénica y molecular de rotavirus en diferentes especies animales»

Dr. Linda Saif, Dr. KO Chang - ORDC - FAHRP - The OSU-USA.

International Collaboration Project "Molecular characterization of animal Rotaviruses"

Dr. Alejandro Schudel, Dra Sonia Cheetham, Dra Lucrecia Craig - FCV-UBA

FONCY -PICT 08/04687

Dr. J. Gómez y Dra. Karin Bok -INEI-ANLIS C. Malbrán.
Laboratorio Azul.

Fig. 1
Distribución de G - tipos de BRV según el tipo de explotación ganadera

Establecimientos de cría (n=79)

Establecimientos de tambo (n=39)

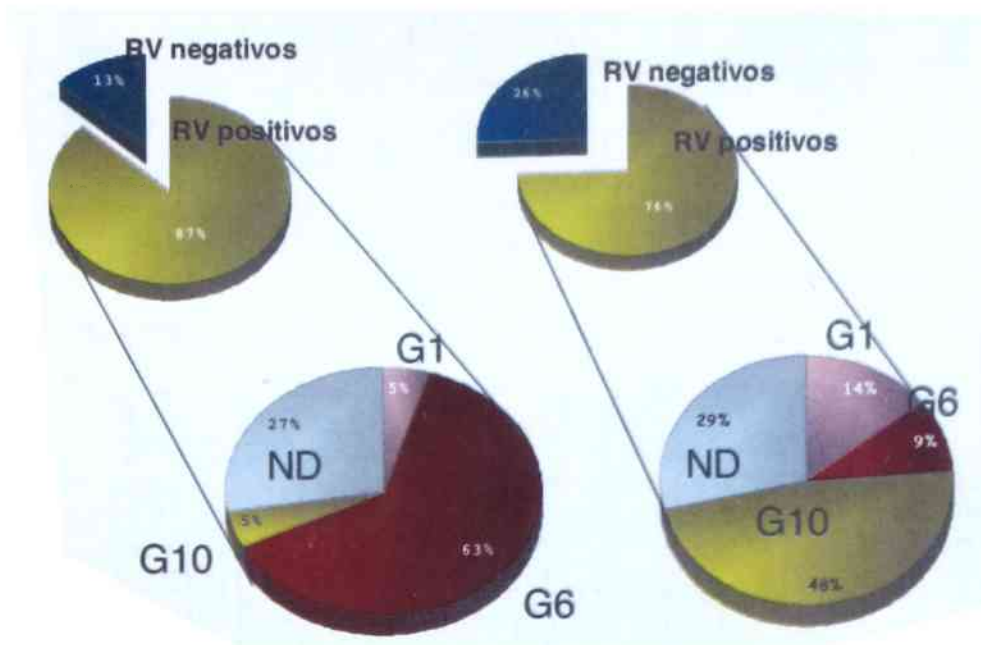
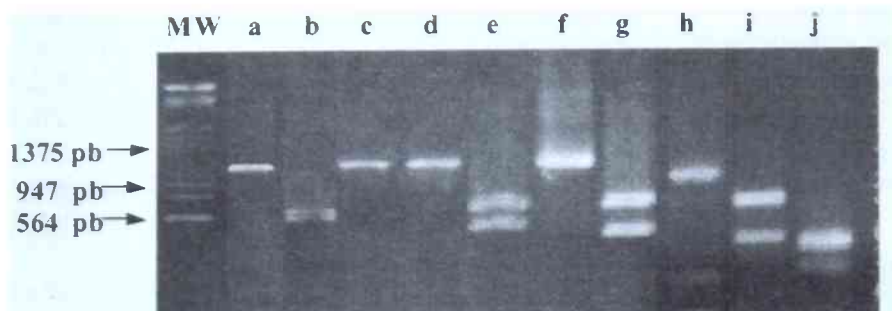


Fig. 2
RV Bovino: Patrones de RFLP del producto de amplificación específica del gen completo de la glicoproteína VP7

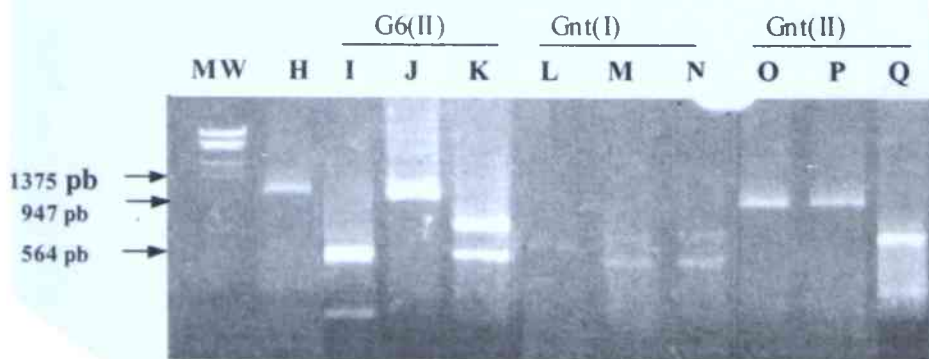


a: VP7
 b,c,d: Wa (G1), *EcoRV*, *BamHI* y *NlaIV*
 e,f,g: IND (G6), *EcoRV*, *BamHI* y *NlaIV*
 h,i,j: B223 (G10), *EcoRV*, *BamHI* y *NlaIV*

B) Cepas de rotavirus circulantes en la Argentina



A: VP7-
 B, C, D: Patrón G1. *EcoRV*, *BamHI* y *NlaIV*
 E, F, G: Patrón G6(I). *EcoRV*, *BamHI* y *NlaIV*,



H: VP7 -
 I, J, K: Patrón G6(II). *EcoRV*, *BamHI* y *NlaIV*
 L,M,N: GNt(I). *EcoRV*, *BamHI* y *NlaIV*
 O,P,Q: GNt(II). *EcoRV*, *BamHI* y *NlaIV*

Fig. 3
RV Bovino (P-tipos): Patrones de RFLP para el producto de amplificación parcial del gen de la proteína VP4

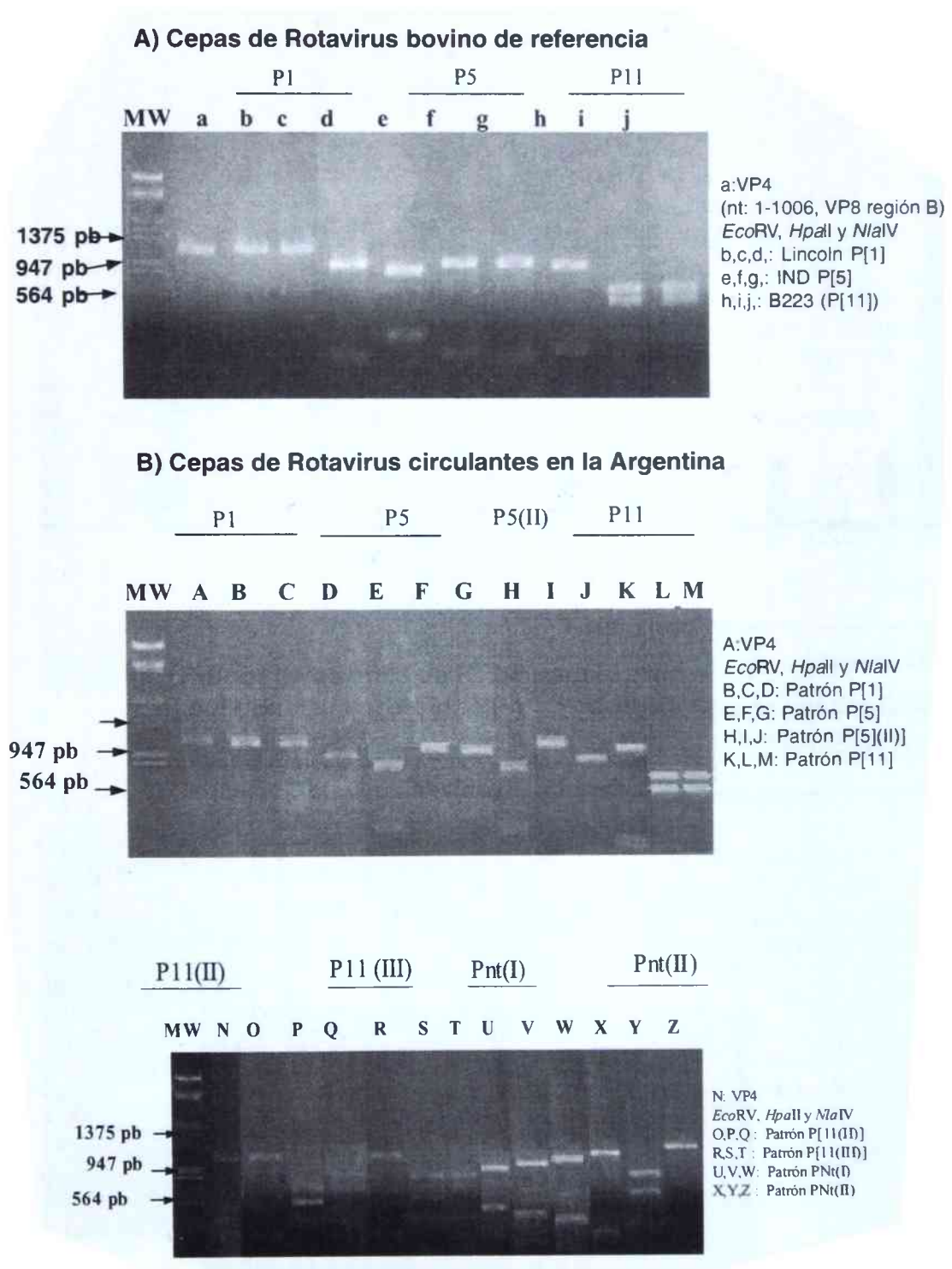


Fig. 4
Combinaciones G/P tipo encontradas en cepas de RV circulantes en bovinos por RFLP

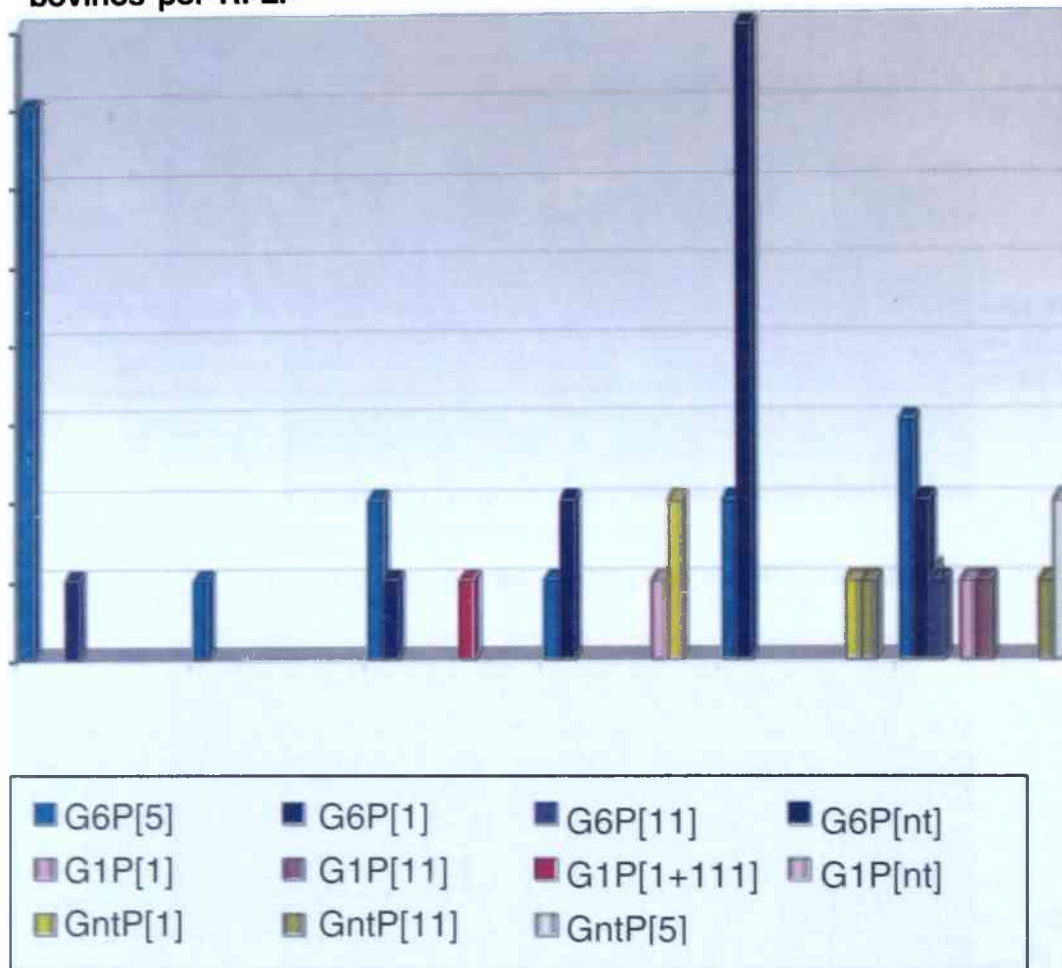


Fig. 5. RFLP VP7 RV Equino

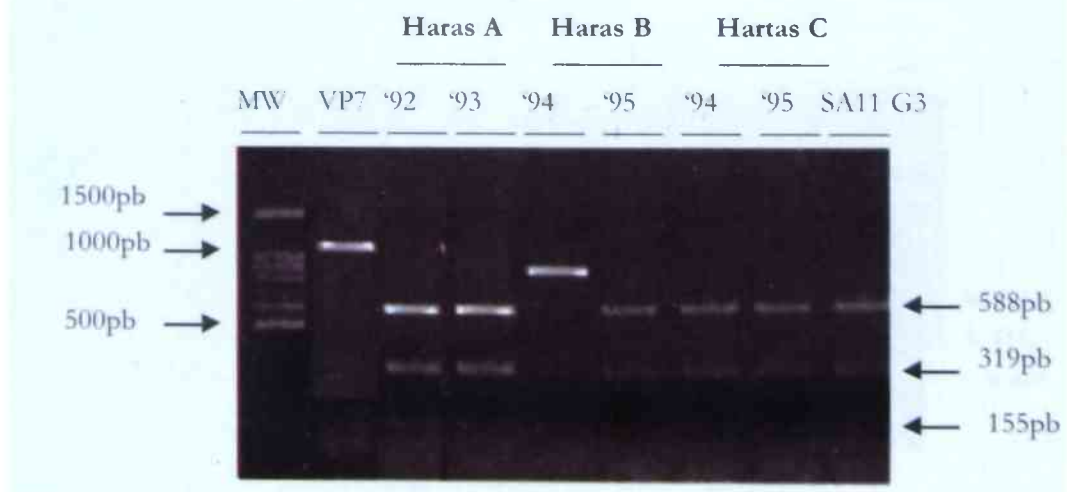


Fig. 6
Caracterización molecular de cepas de Rotavirus aisladas en guanacos de la Patagonia Argentina

