

PREVALENCIA DE FIEBRE AFTOSA MEDIANTE LA TÉCNICA EITB EN LOS MUNICIPIOS MACHIKES Y ROSARIO DE PERIJÁ DEL ESTADO ZULIA, VENEZUELA

Prevalence of Foot-and-Mouth Disease by the EITB Technique in the Machiques and Rosario de Perijá Municipalities, Zulia State, Venezuela

Alberto Medina Landaeta¹, Sergio Rivera¹, Arelis García¹, Egar Sánchez¹, José Avila², Yssa Hernández², Yrama Sangronis² y Magally Novel³

¹Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad del Zulia. Maracaibo, estado Zulia, Venezuela. E-mail: albermedina@hotmail.com.

²Servicio Autónomo de Sanidad Agropecuaria del estado Zulia. ³Instituto de Investigaciones Veterinarias. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias.

RESUMEN

La presente investigación seroepidemiológica se realizó en los municipios Rosario y Machiques de Perijá del estado Zulia, Venezuela, durante el año 2001; para determinar presencia de la actividad viral de fiebre aftosa. El tamaño de la muestra fue estimado con una confianza del 90% y un error del 4%. El método de muestreo empleado fue el estratificado proporcional, y la selección de las unidades de estudio se realizó en forma aleatoria. Se empleó la técnica de ELISA I-3ABC como screening y las muestras que resultaron positivas se sometieron a la técnica de Ensayo Inmunoenzimático de Electrotransferencia (EITB) utilizada ésta como prueba confirmatoria. Esta última permitió determinar una prevalencia del 22,04% y del 13,69% para Rosario y Machiques de Perijá respectivamente. El porcentaje de fundos positivos fue del 25% para Rosario y del 21,50% para Machiques. La distribución porcentual de los fundos que resultaron positivos a la prueba EITB, permitió cuantificar que la mayor positividad correspondió a los sectores 11 y 15 (21,96% y 19,52% respectivamente) en el municipio Rosario. Así mismo, la mayor distribución porcentual en el municipio Machiques, correspondió en un 60% a la parroquia Libertad, el 35% a Bartolomé y el 5% restante a la parroquia San José. Diferencias significativas no fueron encontradas entre la edad, sexo, tipo de explotación y la presencia de la infección.

Palabras clave: Fiebre aftosa, prevalencia, ensayo inmunoenzimático de electrotransferencia (EITB), ELISA indirecto.

ABSTRACT

The present seroepidemiological research was made in the Rosario de Perija and Machiques municipalities of Zulia state, Venezuela during 2001, in order to determine presence of the foot-and-mouth disease infection. The sample size was estimated using a 90% confidence level and 4% of error. The sampling method was proportional. The selection of study units was made by systematic way in function to the existent bovine population. The ELISA 3ABC technique was used through screening and the positive samples were tested by the enzyme-linked immunoelectrotransfer blot assay (EITB) used as confirmative test. It was determined by the EITB test, a prevalence of 22.04% and 13.69% for Rosario de Perija and Machiques municipalities, respectively. The positive percent by farms was of 25% for Rosario de Perija and 21.5% for Machiques. The percentage characterization of the positive farms to the EITB test allowed to detect a higher positivity at the 11 and 15 sectors (21.9% and 19.5% respectively) in the Rosario de Perija municipality. Likewise, the higher percentage distribution in the Machiques municipality corresponded to 60% at the Libertad parrish, 3% in Bartolome and the remainder 5% at the San José parrish. Significant differences were not found related to age, sex, type of exploitation and the presence of the infection.

Key words: Foot-and-mouth disease, prevalence, enzyme-linked immunoelectrotransfer blot assay (EITB), indirect ELISA.

INTRODUCCIÓN

La Fiebre aftosa es una enfermedad que conlleva a grandes pérdidas económicas al sector productivo nacional al

reducir la producción de leche y carne [8]. Por esta razón, la estrategia del Plan Hemisférico de Erradicación de la fiebre aftosa basada en la regionalización por ecosistemas y flujo de comercio, tiene entre sus objetivos la preservación y la ampliación de las áreas libres de la enfermedad. Para lograr esto, los países que conforman el Cono Sur, el Área Andina y Amazónica están obligados a demostrar la ausencia de actividad viral en sus respectivos países, y poder así obtener el reconocimiento internacional de la condición libre de fiebre aftosa, con lo cual puedan acceder al comercio internacional de los productos alimenticios de origen animal. Sin embargo, un factor que ha limitado la detección confiable de esa actividad viral a nivel de campo, es el hecho de que las pruebas serológicas tradicionales no identifican de manera concluyente anticuerpos indicativos de replicación viral en animales persistentemente infectados. Es por ello que la prueba EITB constituye, por su alta sensibilidad, especificidad e inocuidad, un apoyo a la evaluación epidemiológica, ya que elimina la condición de falsos positivos detectados por los métodos tradicionales y que son producto de la vacunación sistemática [1]. Por otra parte, la recuperación del virus de la fiebre aftosa a partir de bovinos portadores, representa una condición importante para el estudio epidemiológico de la enfermedad en una región, ya que aporta información que es necesaria para estudiar y analizar la dinámica de la actividad viral a nivel poblacional. Es por ello que el screening con ELISA Indirecto 3ABC y la posterior confirmación diagnóstica de los sueros positivos o sospechosos por EITB, representan las técnicas más adecuadas y seguras para encuestas sero-epidemiológicas de gran escala. A este nivel, conviene destacar que la técnica ELISA I 3ABC es considerada como una prueba económica, simple, fácil y rápida en la realización de los ensayos para detectar anticuerpos específicos de infecciones residuales [2, 3]. Mientras que el ensayo EITB es empleada como una prueba confirmatoria y usada para selección de animales destinados a la importación y/o exportación. De ahí, la necesidad de incorporarla como un indicador de riesgo, especialmente en aquellas regiones en que la movilización de animales sea una de sus características ^[1]. En este sentido, queda en evidencia la necesidad de realizar estudios orientados a demostrar la presencia de la infección y/o de la actividad del virus de la fiebre aftosa en la población bovina en el estado Zulia, y con lo cual se aportará la información necesaria para organizar y ejecutar medidas de prevención y control epidemiológicamente justificadas y orientadas a la eliminación de la enfermedad.

Por lo antes expuesto en el presente trabajo se estableció como objetivo general: Determinar presencia de actividad viral de fiebre aftosa en la población bovina de los municipios Rosario y Machiques de Perijá del estado Zulia, Venezuela, a través de la determinación de la presencia de anticuerpos producto de la infección por el virus de la fiebre aftosa. Determinación de la prevalencia de la enfermedad en las áreas estudiadas y su relación con la edad, sexo y tipo de explotación.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación geográfica

El presente trabajo fue realizado en los municipios Rosario y Machiques de Perijá del estado Zulia durante el año 2001.

Ambos municipios están ubicados en la parte occidental del Lago de Maracaibo. Su principal actividad comercial es la ganadera y conjuntamente se ha estimado un total de 885 fundos con bovinos, con una densidad poblacional de 622.929 animales; de éstos, el 63% corresponde al municipio Machiques y el 37% a Rosario [7, 12].

Así mismo y considerando que la actividad pecuaria es la base de la economía municipal, se han realizado esfuerzos y grandes inversiones para mejorar la calidad de los rebaños, hoy día ambos municipios han logrado desarrollar un tipo de ganado de doble propósito que cuenta con el reconocimiento nacional [7].

Se indica así mismo, que si bien, para la presente investigación se trató de dar la misma oportunidad a cada una de las parroquias que conforman dichos municipios, considerando que la mayor densidad poblacional bovina y por ende, el mayor número de fundos se encuentran en la parroquia Rosario del municipio del mismo nombre, y en las parroquias Libertad, Frai Bartolomé de las Casas y San José del municipio Machiques, se decidió la participación de éstas en el presente estudio.

De igual manera, se debe destacar la interrelación que existe entre ambos municipios y de manera independiente cada uno de ellos con los municipios limítrofes y otras entidades federales, como consecuencia de la actividad comercial que los caracteriza. Tales argumentos pueden ser demostrados a través de las guías de movilización.

Población de estudio

Estuvo conformada por los 622.929 bovinos mestizos existentes en los municipios Rosario y Machiques de Perijá, distribuidos en las parroquias y sectores agrícolas que los constituyen, dedicados en su mayoría a la producción de leche y carne [12].

Tamaño de la muestra

Para tal efecto se trabajó con una confianza del 90% y un error del 4%, asumiendo además, una probabilidad del 50% de presencia y ausencia de la infección respectivamente [6]. Bajo estas consideraciones, la muestra se estimó en 500 animales.

En poblaciones complejas como la del presente trabajo, heterogénea y dispersa geográficamente, el muestreo estratificado requiere mucho tiempo, dinero y logística. Es conocido que el muestreo estratificado es el de mayor precisión pero el más costoso y exigente en recursos, por esta razón, en muchos estudios se sacrifica esta precisión y se utilizan otros ti-

pos de muestreos; sin embargo, el objetivo sigue siendo el mismo, buscando que la muestra represente las características principales de la población de la manera más cercana posible.

Es por ello que en el presente trabajo, la muestra fue distribuida de manera proporcional según la población bovina existente en cada municipio, de esta manera, se requirieron 186 animales del municipio Rosario y 314 de Machiques de Perijá. Posteriormente la selección de los animales se realizó de manera aleatoria (TABLA I).

Aunque la base fundamental del muestreo fue la aleatorización dentro de los municipios y no una estratificación, los autores consideraron que siendo cada municipio una unidad heterogénea bien mezclada, una aleatorización realizada de manera adecuada es capaz de generar una muestra, la cual siendo relativamente pequeña permite hacer inferencias en una población relativamente grande, con menor precisión como se mencionó anteriormente, pero con información muy valiosa.

Métodos

La muestra estimada de 500 bovinos estuvo conformada por animales de todas las edades y con el objeto de analizar la prevalencia en función a la edad, dichos animales fueron agrupados en dos categorías: menores y mayores de dos años. Así mismo, se decidió realizar la toma de la muestra para el diagnóstico serológico, 120 días después de la última vacunación antiaftosa.

A cada animal se le extrajeron aproximadamente 7 ml. de sangre por punción de la vena yugular con tubo al vacío, debidamente identificados con el número del animal, edad, sexo, nombre del fundo y propietario. Posterior a la retracción del coágulo se centrifugaron a 2000 g durante 10 minutos para separar los sueros, los cuales se conservaron a -20°C hasta ser procesados en el laboratorio de Enfermedades Vesiculares, Instituto de Investigaciones Veterinarias (IIV) del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA) adscrito al Ministerio de Ciencia y Tecnología.

Las técnicas seroepidemiológicas de diagnóstico empleadas fueron en primera instancia el Ensayo Inmunoenzimático indirecto ELISA 3ABC, como método de Screening para deter-

minación de animales reactores positivos; y posteriormente se realizó la confirmación de éstos mediante la prueba de Ensayo Inmunoenzimático de Electrotransferencia (EITB) recomendadas por la OPS/OMS y el Centro Panamericano de Fiebre Aftosa y cuyos fundamentos son descritos detalladamente por Bergmann y col. [2].

Instrumento

Para la recolección de la información en campo se utilizó una Encuesta Epidemiológica diseñada de acuerdo a los objetivos del estudio, a través de la cual se tomaron los datos sobre la finca, distribución de los animales por grupo etéreo, datos de tipo sanitario y los referentes a la vacunación sistemática contra enfermedades vesiculares, en consecuencia, las variables que se consideraron en este estudio fueron la edad, sexo y tipo de explotación (leche, carne, mixto). En dicho formato las preguntas fueron de tipo abiertas y cerradas. La validación de la encuesta se realizó a través del sistema de juicio de expertos, y para garantizar la confiabilidad del instrumento se realizó una prueba piloto a nivel de campo, previa capacitación del personal responsable de su aplicación.

Los resultados obtenidos en el laboratorio para ELISA 3ABC y EITB, fueron registrados en los protocolos y mapas empleados en el laboratorio de enfermedades vesiculares del IIV-INIA.

Análisis estadístico de los datos

Los resultados de laboratorio fueron analizados y expresados haciendo uso del cálculo de proporciones [6]. Así mismo, mediante el programa Statistik Versión 1,0 para Windows 95, se determinó el Chi Cuadrado para demostrar significancia estadística entre las variables estudiadas, y para comparar las prevalencias encontradas en ambos municipios. También se utilizó la prueba Z para comparar la positividad por fondos entre las Parroquias que conforman el municipio Machiques de Perijá.

RESULTADOS

La estimación de la prevalencia de fiebre aftosa en los animales que conformaron el estudio, se ubicó en un 22,04% (41/186 animales) para el municipio Rosario y en un 13,69% (43/314 animales) para el municipio Machiques de Perijá, encontrándose diferencia significativa entre ambas prevalencias ($P=0,02$). Ubicándose la prevalencia en los fundos estudiados en un 25% (41/164 fundos) para el municipio Rosario y en un 21,50% (43/200 fundos) para el municipio Machiques de Perijá.

En el municipio Rosario el análisis correspondiente a la distribución porcentual de los fundos que resultaron positivos a la prueba EITB, se observa en la TABLA II; destacándose que la mayor positividad corresponde a los sectores 11 y 15 con un 19,52% y un 21,96% respectivamente, evidenciándose en el resto de ellos una distribución más homogénea.

TABLA I

POBLACIÓN BOVINA EXISTENTE Y MUESTREADA. MUNICIPIOS ROSARIO Y MACHQUES DE PERIJÁ. ESTADO ZULIA. AÑO 2001

Municipio	Fundos		Población Bovina		
	N	n	N	Distribución Porcentual	n
Rosario	255	164	232.207	37,28	186
Machiques	630	200	390.722	62,72	314
Total	885	364	622.929	100,00	500

TABLA II
FIEBRE AFTOSA: DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL DE LOS
FUNDOS POSITIVOS SEGÚN SECTOR. MUNICIPIO
ROSARIO DE PERIJÁ. ESTADO ZULIA.
VENEZUELA. AÑO 2001

Parroquia	Sector	Fundos Positivos	Distribución Porcentual
Rosario	01	2	4,87
	02	4	9,76
	03	1	2,44
	04	4	9,76
	06	2	4,87
	07	1	2,44
	10	3	7,32
	11	8	19,52
	12	2	4,87
	13	2	4,87
	14	3	7,32
	15	9	21,96
Total		41	100,00

En la TABLA III se presenta la distribución porcentual de los fondos que resultaron positivos a la técnica EITB, en las diferentes Parroquias estudiadas en el municipio Machiques de Perijá. En esta TABLA se puede apreciar que el 60% correspondió a la parroquia Libertad, el 35% a Bartolomé y el 5% restante a la parroquia San José, determinándose que existen diferencias significativas entre la positividad de los fondos que conforman dichas parroquias.

La distribución porcentual de los fondos en la parroquia San José reflejó una positividad del 50% para los sectores 2 y 3. Por otra parte, las parroquias Libertad y Bartolomé reflejan el mayor índice de positividad. Este resultado se aprecia en la TABLA IV. En este sentido, los sectores correspondientes al 5 y 15 de la parroquia Libertad refieren la mayor positividad con cifras de un 23,08% y un 34,61% respectivamente, estos dos sectores conjuntamente con el 8 (11,53%) participaron con el 69% de la positividad general, siendo mucho menor para el resto de los estudiados.

Hallazgos similares se observaron en los sectores 2, 3 y 5 de la parroquia Bartolomé, donde el sector 2 participó con el 33,32% de la positividad y los dos restantes con un 26,67% cada uno.

La posible asociación entre la edad, sexo y tipo de explotación con la presencia de la infección fue analizada estadísticamente, no encontrándose en este estudio diferencias significativas entre las variables estudiadas ($P = 0,08$; $P = 0,33$; $P = 0,84$).

DISCUSIÓN

La prevalencia de fiebre aftosa mediante la técnica EITB del 22,04% para el municipio Rosario y del 13,69% para el municipio Machiques de Perijá, fue superior a la reportada por

Moronta en la parroquia El Carmelo, municipio La Cañada de Urdaneta, estado Zulia en el año 1998, la cual se determinó en un 4% [13], lo que permite inferir la presencia de actividad viral en las zonas estudiadas.

Por otra parte, la prevalencia encontrada en esta investigación es mayor a la referida por Bergmann y col. en un estudio realizado en diferentes áreas de Uruguay que fueron afectadas durante el último brote en el período 1989-1990, reportando un valor del 4,4% [3], por lo que la baja prevalencia en este país, pudiera ser atribuida a la presencia de anticuerpos residuales de infecciones pasadas y detectados solo en animales adultos. Sin embargo, se debe considerar en estos re-

TABLA III
FIEBRE AFTOSA: DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL
DE LOS FUNDOS POSITIVOS SEGÚN PARROQUIA.
MUNICIPIO MACHIKES DE PERIJÁ. ESTADO ZULIA.
VENEZUELA. AÑO 2001

Parroquia	Fundos Positivos	Distribución Porcentual
San José ^a	2	5
Libertad ^b	26	60
Bartolomé ^c	15	35
Total	43	100

$P_{ab} = 0,0000$, $P_{ac} = 0,0000$, $P_{bc} = 0,0007$.

TABLA IV
FIEBRE AFTOSA: DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL
DE LOS FUNDOS POSITIVOS SEGÚN SECTOR.
MUNICIPIO MACHIKES DE PERIJÁ. ESTADO ZULIA.
VENEZUELA. AÑO 2001

Parroquia	Sector	Fundos Positivos	Distribución Porcentual
San José	02	1	50,00
	03	1	50,00
Total		2	100,00
Libertad	01	1	3,85
	03	2	7,69
	04	1	3,85
	05	6	23,08
	06	1	3,85
	08	3	11,53
	13	1	3,85
	14	2	7,69
	15	9	34,61
Total		26	100,00
Bartolomé	01	1	6,67
	02	5	33,32
	03	4	26,67
	05	4	26,67
	08	1	6,67
Total		15	100,00

sultados que se trata de áreas geográficas diferentes y sistemas de producción y manejo por ende diferentes.

Los registros oficiales sobre las vacunaciones en los municipios Rosario y Machiques de Perijá del estado Zulia, refieren coberturas promedio por animal del 92,7%, del 93,8% y 98% para los años comprendidos de 1999 al 2001 [12]. Esto podría explicar la no ocurrencia de brotes de la enfermedad durante este período, a pesar de la alta prevalencia encontrada. Por tanto, cualquier falla en la actividad de la vacunación misma, podría traer como consecuencia la aparición de focos de la enfermedad en las zonas estudiadas.

La positividad en los fondos muestreados fue similar en ambos Municipios, siendo mayor que la encontrada por Moronta, quién reportó índices de infección del 11% [13].

Aunque las positivities más altas del 19,52% y del 21,96% se encontraron en los sectores 11 y 15 del municipio Rosario, éstas difieren marcadamente del resto de los sectores. No se encontraron argumentos que permitan explicar este comportamiento, el cual entre otros factores, pudiera estar influenciado por el mayor número de fondos y la mayor densidad de bovinos por fondos. Comportamiento similar se encontró en los sectores que conforman las parroquias Libertad y Bartolomé del municipio Machiques de Perijá. En este caso la movilización de ganado bovino en ambos municipios, específicamente entre fondos del mismo sector y hacia los estados vecinos, pudiera estar involucrado.

El análisis de la edad permitió determinar que no hubo diferencia significativa entre ella y la presencia de la infección, lo que indica que ésta afecta por igual a animales menores y mayores de 2 años, confirmándose así la actividad viral en las zonas estudiadas. Esto difiere de Moronta, quién refiere una positividad del 10,5% en animales mayores de 2 años y un 1,8% en menores de 2 años [13]. Bergmann y col. en Uruguay, citan una positividad del 4,4% exclusivamente en animales mayores de 2 años [3]. Se presume que la baja positividad en este grupo de edad pudiera estar dada por la condición de área libre, en relación a la alta positividad viral encontrada en las áreas de estudio por su condición de no libre.

Aunque no hubo asociación entre el tipo de explotación y la presencia de la enfermedad, Málaga atribuye una mayor infección por fiebre aftosa en los rebaños de carne y mixto que en los de leche, tanto en rebaños pequeños, medianos y grandes, posiblemente debido a un mayor ingreso de animales susceptibles y/o portadores en los primeros tipos de explotación por ser rebaños abiertos [10, 11]. Mientras que Moronta refiere una positividad del 89,9% en el rebaño lechero y 11,1% para rebaños de carne y leche (mixto) [13].

CONCLUSIONES

- La prevalencia de fiebre aftosa por animal en ambos municipios fue alta, indicando actividad viral a pesar de re-

portarse coberturas de vacunación significativamente elevadas.

- La proporción de fondos positivos a la infección en ambos municipios fue también elevada.
- Los sectores con mayor positividad en el municipio Rosario de Perijá correspondieron al 11 y 15.
- Los sectores con mayor positividad en el municipio Machiques de Perijá correspondieron al 5 y 15 de la parroquia Libertad y 2, 3 y 5 de la parroquia Bartolomé.
- No se determinó diferencia significativa entre la edad, sexo y tipo de explotación con la presencia de la infección.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda supervisar la actividad de la vacunación antiaftosa en virtud de que a pesar de reportarse elevadas coberturas de vacunación, ambos municipios reflejan una prevalencia alta a la infección.
- Se sugiere sincerar las actividades del sistema de vigilancia, mediante la caracterización de las ocurrencias en función al tipo de explotación, densidad poblacional de los rebaños y flujo y/o rutas de movilización de los animales, que contribuya a la identificación de las áreas con criterios de riesgo.

AGRADECIMIENTO

Los autores desean agradecer al Fondo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (FONACIT) por el financiamiento de esta investigación a través del proyecto N° S1-2002000337, así como al Instituto de Investigaciones Veterinarias del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas y al Centro Panamericano de Fiebre Aftosa por el apoyo brindado en el procesamiento de las muestras.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] BERGMANN, I.; MALIRAT, E.; NEITZERT, E.; BECK, E.; PANIZZUTTI, N.; SANCHEZ, C.; FALCZUK, A. Improvement of a serodiagnostic strategy for foot-and-mouth disease virus surveillance in cattle under systemic vaccination: a combined system of an indirect ELISA-3ABC with an enzyme-linked immunoelectrotransfer blot assay. *Arh. of Virol.* 145: 473-489. 2000.
- [2] BERGMANN, I. Fiebre Aftosa. Instrumentos Seroepidemiológicos para evaluar actividad viral. **Manual I-ELISA 3ABC, EITB-Ensayo Inmunoenzimático de Electrotransferencia.** OPS/OMS. Centro Panamericano de Fiebre Aftosa. (16): 1-63. 2000.

- [3] BERGMANN, I.; MALIRAT, V.; DIAZ, L.; DILANDRO, R. Identification of Foot and Mouth disease virus – free regions by use of standardized Enzyme linked immunoelectrotransfer blot assay (EITB). **Am. J Vet Res** 57 (7): 972-974. 1996.
- [4] BERGMANN, I.; AUGÉ DE MELLO, P.; NEITZERT, E.; GÓMES, I. Diagnosis of persistent aphthovirus infection and its differentiation from vaccination response in cattle by use enzyme – linked immunoelectrotransfer blot analysis with bioengineered nonstructural viral antigens. **Am. J Vet Res** 54 (6): 825-831. 1993.
- [5] BOFFELLI, M.; ROJAS, V. **Evaluación de los ecosistemas existentes en el estado Zulia con énfasis en enfermedades vesiculares: Fiebre aftosa y Estomatitis.** Universidad del Zulia. Facultad de Ciencias Veterinarias. División de Posgrado. 1-39 pp. 1999.
- [6] CAMEL, F. **Estadística Médica y Planificación de la Salud.** Universidad de los Andes. Consejo de Publicaciones. Venezuela. 127 pp. 2001.
- [7] FUEMNAYOR, W. **Atlas del estado Zulia. Síntesis Socio Histórico y Cultural.** Universidad del Zulia. Facultad de Humanidades y Educación. Departamento de Geografía. Mapoteca Agustín Codazzi. 4ª edición. Zulia-Venezuela. 96-113 pp. 1998.
- [8] GOMES, SÖNDAHL, MARTINS, CASAS, R.; ALONSO, A. Aplicación de la técnica inmunoenzimática (ELISA) para el diagnóstico de los virus de la fiebre aftosa y estomatitis vesicular en comparación con la prueba de fijación del complemento. Organización Panamericana de la Salud. **Boletín del Centro Panamericano de Fiebre Aftosa.** N° 55: 15-19. 1989.
- [9] HERNÁNDEZ, S.; FERNÁNDEZ, C.; BAPTISTA, P. **Metodología de la Investigación.** Segunda Edición. MacGraw Hill Interamericana. México. 60-62, 184-187, 207-220 pp. 2000.
- [10] MÁLAGA, H. **Epidemiología Veterinaria.** Ediluz. 22, 226 pp. 1990.
- [11] MÁLAGA, H.; HERRERA, M. **Epidemiología de la Fiebre Aftosa.** IV Jornadas Veterinarias. (Trabajo presentado en el Curso de Fiebre Aftosa). Barquisimeto, 13-16 de Mayo. 5-15 pp. 1986.
- [12] MINISTERIO DE LA PRODUCCIÓN Y EL COMERCIO. Servicio Autónomo de Sanidad Agropecuaria. Departamento de Sanidad Animal. Programa de Erradicación de Fiebre Aftosa. **Evaluación del segundo ciclo de vacunación.** Estado Zulia. 65 pp. 2000.
- [13] MORONTA, F. **Bovinos portadores de la fracción molecular del virus asociado a la infección por fiebre aftosa en el sector N° 3, parroquia El Carmelo, municipio La Cañada de Urdaneta del estado Zulia.** Universidad del Zulia, Facultad de Ciencias Veterinarias, División de Estudios para Graduados. (Trabajo de Grado). 1-20 pp 1998.
- [14] SÁNCHEZ, C.; ÁLVAREZ, E.; URBINA, M.; ROMERO, J.; GIRALDO, G.; ÁLVAREZ, J.; CARDONA, U. Prevalencia de bovinos reaccionantes al antígeno VIAA en la altillanura del departamento de Meta, Colombia. Organización Panamericana de la Salud. **Boletín del Centro Panamericano de Fiebre Aftosa.** N° 54: 35-41. 1988.