

PERSPECTIVA DE UN METODO RAPIDO DE DIAGNOSTICO SEROLOGICO PARA LA FIEBRE PORCINA CLASICA. IV. TIPIFICACION DE CEPAS DE CAMPO, VACUNALES Y DE REFERENCIA CON ANTICUERPOS MONOCLONALES.

MENDOZA, E.S., CORREA, G.P., HERNANDEZ-BAUMGARTEN, E., TERPSTRA, C., BLOEMRAAD, M. Y CIPRIAN, C.A.

COORDINACION GENERAL DE ESTUDIOS DE POSGRADO, FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN, UNAM. CENID-MICROBIOLOGIA VETERINARIA, INIFAP-SARH Y LABORATORIO DE VIROLOGIA DEL CENTRAAL DIERGENEESKUNDIG INSTITUUT, CDI-DLO LELYSTAD, HOLANDA.

AREA: SANIDAD ANIMAL

PADEP: FCU-9121; DFCU9210 y 100 304 Y CATEDRA: AFECCIONES BACTERIANAS Y VIRALES DEL CERDO.

a) **INTRODUCCION:** Al virus de la Fiebre Porcina Clásica se le han encontrado tres proteínas estructurales en la envoltura viral, dos de ellas son glicoproteínas y se denominan: E1 ó gp 55 (55,000 d) y E2 ó gp 46 (46,000 d) y la tercera que no es glicosilada denominada C ó p 36 (36,000 d). Las investigaciones realizadas con anticuerpos monoclonales (AcM) hacia las glicoproteínas E1 y E2 han mostrado que existen trece determinantes antigénicos conocidos con números arábigos (1, 2, 3 etc) y que se han integrado en cuatro grupos: A, B, C y D. En los grupos B y C se encuentran los anticuerpos monoclonales hacia los sitios neutralizantes; en el grupo A, subgrupo A2 se encuentra los anticuerpos monoclonales hacia el sitio conservado, mientras que el subgrupo A1 se encuentran los anticuerpos monoclonales hacia ambos sitios; los anticuerpos monoclonales del grupo D, no muestran ninguna actividad. Se ha encontrado sinergismo entre los determinantes antigénicos del grupo A y B y entre el grupo A y C, no se ha encontrado entre los grupos A y D; B y D y C y D.

b) **OBJETIVOS:** Utilizar anticuerpos monoclonales dirigidos a la glicoproteína de la envoltura viral, y encontrar diferencias entre las cepas de campo, vacunales y de referencias de varias partes del mundo.

c) **MATERIAL Y MÉTODOS:** En el Laboratorio de Virología del CDI-DLO en Lelystad, Holanda, se trabajaron varias cepas del virus de la FPC de diversos países, identificadas como A=alta virulencia; M=mediana virulencia y B=baja virulencia, y fueron los siguientes: ALEMANIA: cepa Behring (A); E.U.A.: cepa Bai (A), cepa Cornell (A), cepa AMES, cepa 331 (M) y cepa PAV-250 (B); FRANCIA: cepa ALFORT (A), cepa ALFORT 2.3.1 (M) y cepa ALFORT 2.3.2 (M); JAPON: cepa New Lederle (A) y cepa ALD (A); HOLANDA: cepa Brescia 2.1.1 (A), cepa Baker A 1.2.1 (A), cepa Henken (B), cepa Cedipest (B) y las cepas de campo Jongen y Wild Boar; MÉXICO: cepa China (B), cepa Minnesota (B), cepa PAV-1 S (B), cepa Minnesota-P (B), cepa PAV-250-P (B) y las cepas de campo: 4-P, 5-P, 11-S y 13-S y finalmente las cepas de POLONIA que fueron de campo: Spruit 2 y Jongerbreur. Los anticuerpos monoclonales utilizados fueron del 2 al 13. Los virus fueron cultivados en las líneas celulares PK-15 y SK-6 que previamente fueron sembradas en placas de microtitulación y se incubaron a 37 C en 5% de CO₂ durante 3 días. Posteriormente las células/virus se fijaron a 80 C durante 1 hora y se les

adicionaron los monoclonales (desde el 2 hasta el 13) y se incubaron a 37 C durante 1 hora, las placas se lavaron, y se les realizó la prueba de inmunoperoxidasa y se realizaron las lecturas.

d) **RESULTADOS:** ALEMANIA: cepa Behring: negativo a los monoclonales 5, 6, 8 y 12, (lo que significa que el resto de AcM están detectando los determinantes antigénicos: 2, 3, 4, 7, 9, 10, 11 y 13, y que carecen de los epítopes 5, 6, 8 y 12); E.U.A.: cepa Bai: 5, 6 y 8, cepa Cornell: 5 y 13, cepa Ames: 5 y 8, cepa 331: 5, 6 y 13 y cepa PAV-250: 6 y 13; FRANCIA: cepa Alfort: 5, 6, 8 y 12, cepa Alfort 2.3.1: 5, 6, 8, 12 y cepa ALFORT 2.3.2: 5, 6, 8, 12? y 13?; JAPON: cepa New Lederle: 5, 5(W), 6 y 8 y cepa ALD: 5, 6 y 8; HOLANDA: cepa Brescia 2.1.1: con todos, cepa Baker A 1.2.1: con todos, cepa Henken: 5, 6, 12 y 13?, cepa Cedipest: 5, 6 y 12? y las cepas de campo Jongen: 5, 6, 12 y 13 y Wild Boar: 5, 6, 12 y 13?; MÉXICO: cepa China: 5, 6, 13, cepa Minnesota: 5, 6, 8, 8(W) y 13, cepa PAV-1 S: 5, 6, 8, 13 (W) cepa Minnesota-P: 5, 6, 8 y 13 (W), cepa PAV-250-P: 6 y las cepas de campo: 4-P: 5, 6 y 8; 5-P: 5 y 6; 11-S: 5, 6 y 12 y 13-S: 5, 6 y 12 y finalmente las cepas de POLONIA que fueron de campo: Spruit 2: 5 y 12 y Jongerbreur: 5 y 12.

e) **DISCUSION:** Los anticuerpos monoclonales (AcM) del grupo A se encuentran los 2, 3, 4, 7 que reconocen los sitios neutralizantes y conservados de la glicoproteína E1 y se subclasifican en A1, en este trabajo se reconocieron estos sitios en todas las 31 cepas estudiadas; con respecto a los AcM 9, 10 y 11 que reconocen solo sitios conservados de la glicoproteína E1 y que se subclasifican en A2, también fueron reconocidos por las cepas estudiadas. El análisis del determinante antigénico revelado con el monoclonal 12 presente en el grupo A (A3) no se encontró en las cepas de Alemania, Francia, Holanda y Polonia (cepas europeas) y tampoco en dos cepas de campo mexicanas, el AcM 12 también da positivo con los AcM 2 y a veces con los AcM 3, 4 y 7 y no con los AcM 9, 10 y 11 lo que se muestra solo el sitio neutralizante en el grupo A, no importando si la cepa es de alta, mediana, baja virulencia o es de campo. Con respecto al AcM 6 que pertenece al grupo B no se encontró en todas las cepas (excepto en las polacas), también no importando su virulencia, en el caso de la cepa vacunal PAV-250 no se encontró reacción a este AcM, sitio que es neutralizante. Los AcM del grupo C como son el 1, 5 y 8, muestran que son anticuerpos que reconocen sitios neutralizantes de la glicoproteína; el AcM 5 no reaccionó en las cepas tanto europeas, japonesas como americanas, incluyendo a las mexicanas y también no importando su virulencia, solo una cepa si reconoció ese determinante antigénico y fue la PAV-250; con respecto al otro sitio del grupo C que fue el 8, no lo tuvieron las cepas de Alemania, Francia, Japón y algunas de EUA y México y fueron cepas de alta, mediana y baja patogenicidad; las cepas de Polonia y Holanda y algunas de EUA de baja virulencia y de campo si presentaron dicho determinante antigénico. De tal manera que este monoclonal 8 aunado con el monoclonal 3 y un policlonal hiperinmune a virus completo, permite reconocer cepas de FPC de campo diferenciándolas de las cepas vacunales y del virus de la Diarrea Viral Bovina.

f) BIBLIOGRAFIA.:

1. Terpstra, C; Bloemradd, M. and Gielkens, A.L. 1984. The neutralizing peroxidasa-linded assay for detection of monoclonal antibodies.in Epitopes on structural proteins of Hog Cholerae (Swine Fever) virus. Thesis. p. 41-50.
2. G. Wensvoort, C. Terpstra, E.P de Kluyver, C. Kragten, J.C. Warnaar. (1989). Characterizationj of pestivirus strains with monoclonal against Hog Cholera Virus,.in Epitopes on structural proteins of Hog Cholerae (Swine Fever) virus. Thesis. p. 41-50.
3. Wensvoort, G. Terpstra, C., boonstra, J., Bloemraad, M. and Van Zaane, D. (1986). Producction of monoclonal antibodies against swine fever virus and their use in laboratory diagnosis. Veterinary Microbiology 17, 129-140.
4. Mendoza, E.S., Correa, G.P., Hernández-Baumgarten, E.. y Ciprián, C.A. (1992). Perspectiva de un Método de Diagnóstico Serológico rápido para Fiebre Porcina Clásica. I. XXI Congreso Nacional AMVEC 1992, Acapulco, Gro., México.