



CLASIFICACION MOLECULAR DE CEPAS DEL VIRUS DE LA FIEBRE PORCINA CLASICA EN MEXICO

Socci EG^{1*}; Carrera SE¹; Macías GM²; Diosdado VF¹; Arriaga, C.¹, Estrada S.E.¹; Morilla GA¹

¹CENID-Microbiología, INIFAP-SAGAR. km. 15.5 carretera México-Toluca, C.P. 05110, México D.F. Tel: (5) 5700616., Fax: (5) 5704073.

²Centro Nacional de Diagnóstico en Salud Animal. Santa Ana Tecamac km. 37.5 carretera México-Pachuca.

INTRODUCCION

La fiebre porcina clásica es una enfermedad altamente contagiosa que afecta a cerdos de todas las edades y que causa grandes pérdidas económicas a la porcicultura nacional. El virus causante de la enfermedad pertenece a la familia Flaviviridae y al género Pestivirus el cuál también incluye al virus causante de la diarrea viral bovina (DVB) y ambos guardan una relación antigénica y estructural muy estrecha. En el laboratorio de biología molecular del CENID-Microbiología del INIFAP se logró establecer la técnica de RT-PCR que permite diferenciarlos (Carrera *et al.*, 2000a y 2000b).

En otros países, la RT-PCR ha sido ampliamente utilizada para la amplificación de diferentes fragmentos del genoma del virus de la FPC y seguida de secuenciación de ácidos nucleicos ha permitido la tipificación genética de un gran número de cepas y es considerado un método de mayor precisión que los métodos antigénicos. Las regiones del genoma viral que han sido secuenciadas en estos estudios son principalmente tres: la del gen que codifica para la glicoproteína E2, la del que codifica para la polimerasa y la región no codificante del extremo 5' (Lowings *et al.*, 1994, 1999; Fritzscheier *et al.*, 1999; Stadjek *et al.*, 1997; Hofmann and Bossy, 1998; Vilcek and Paton., 1998; Bartak and Greiser-Wilke., 2000; Greiser-Wilke *et al.*, 2000). La clasificación actual de las cepas de virus de la FPC los engloba en tres grupos con tres o cuatro subgrupos: 1.1, 1.2, 1.3; 2.1,2.2,2.3; 3.1, 3.2, 3.3, 3.4. El grupo 1 está representado por las cepas Brescia y Alfort/187 e incluye antiguas cepas vacunales y cepas de laboratorio aisladas hasta los 80's en Europa y Estados Unidos, y nuevos aislados de Asia, América del Sur y Rusia; el grupo 2 incluye casi todos los nuevos virus aislados después de 1985 en el este y oeste de Europa y algunos aislados de Asia; hasta ahora, los virus del grupo 3 parecen estar restringidos a Asia. Por otra parte, los estudios basados en esta tecnología también han sido muy útiles para demostrar: 1) la diseminación del virus de FPC; 2) la transmisión entre cerdos domésticos y silvestres; 3) la transmisión a través de fronteras nacionales; 4) brotes de diferente virulencia asociados con virus estrechamente relacionados; 5) persistencia local de variantes particulares; 6) Diferenciación entre virus vacunales y de campo (Paton *et al.*, 2000).



En este estudio se presenta información acerca de los resultados preliminares de la clasificación de las cepas vacunales y algunas de campo que se encuentran en nuestro país.

METODOLOGIA

Se utilizaron tres cepas vacunales (PAV-250, PAV-1 y Minnesota, amablemente proporcionada por Laboratorios Boehringer Ingelheim Vetmedica) y tres cepas aisladas de brotes de campo. Para la extracción de ARN total de las muestras se utilizó el reactivo Trizol® siguiendo el protocolo descrito por el fabricante. La obtención del ADN complementario y la amplificación por PCR se llevó a cabo en un solo tubo con la utilización de los oligonucleótidos: 5'- ATA TAT GCT CAA GGG CGA GT-3' Y 5'-ACA GCA GTA GTA TCC ATT TCT TTA-3', que amplifican un fragmento de 308 pb correspondiente al gen que codifica para la glicoproteína E2. Los productos de 308 pb, se reamplificaron, purificaron y secuenciaron. Las secuencias obtenidas fueron analizadas mediante el programa *DNAman*.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se logró la amplificación, reamplificación y purificación del producto de 308 pb a partir de las seis cepas trabajadas.

La alineación de las secuencias de nucleótidos de la cepa vacunal PAV-250 con las tres cepas de campo mostraron una homología de entre 98 y 99% por lo que no se pudieron distinguir entre sí. Este resultado concuerda con el obtenido con la cepa PAV-250 por Paton *et al.* (2000). Se van a analizar otras regiones del genoma viral de las cepas trabajadas para construir los árboles filogenéticos correspondientes y determinar a que subgrupo pertenecen. Por otra parte es muy importante analizar un mayor número de cepas de campo para establecer si se trata de una o varias cepas del virus de la FPC las que se encuentran circulando en México y dar un seguimiento epidemiológico a los diferentes brotes.

REFERENCIAS

- Bartak P, Greiser-Wilke I.2000. Genetic typing of CSF virus isolates from the territory of the Czech Republic. *Vet. Microbiol.* 77, 59-70.
- Carrera SE., Socci EG., Diosdado VF., Arriaga DC., Morilla GA. Establecimiento de la técnica de RT-PCR para el diagnóstico de la fiebre porcina clásica. Memorias XXXV Congreso de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos (AMVEC), Acapulco Gro. 2000.



- Carrera SE., Socci EG., Diosdado VF., Arriaga DC., Morilla GA. Establecimiento de la técnica de RT-PCR para el diagnóstico de la fiebre porcina clásica. XXXVI Reunión Nacional de Investigación Pecuaria. Hermosillo Son. 2000.
- Fritzemeier J, Greiser-Wilke I, Depner K, Moenning V. 1999. The epidemiology of CSF in Germany between 1993 and 1997. Report on annual meeting of the national swine fever laboratories, Vienna, Austria 16-17 June 1997, Document V1/7888/97, Commission of the European Communities pp. 33-35.
- Greiser-Wilke I, Fitzemeier J, Koenen F, Vanderhallen H, Rutili D, De Mia GM, Romero L, Rosell R, Sánchez-Vizcaino JM, San Gabriel A. 2000. Molecular epidemiology of a large classical swine fever epidemic in the European Union in 1997-1998. *Vet. Microbiol.* 77, 17-27.
- Hofmann MA, Bossy S. 1998. Classical swine fever in 1993 in Switzerland: molecular-epidemiologic characterization of the virus isolated. *Schweiz. Arch. Tierheilkd.* 140, 365-370.
- Lowings JP, Paton DJ, Sands JJ, De Mia GM, Rutili D. 1994. Classical swine fever: Genetic detection and análisis of differences between isolates. *J. Gen. Virol.* 75, 3461-3468.
- Lowings JP, Iyata G, , De Mia GM, Rutili D, Paton DJ. 1999. Classical swine fever in Sardinia: epidemiology of recent outbreak. *Epidemiol. Infect.* 122, 553-559.
- Paton DJ, McGoldrick A, Greiser-Wilke I, Parchariyanon S, Song JY, Liou PP, Stadejek T, Lowings JP, Björklund H and Belak S. 2000. Genetic typing of classical swine fever virus. *Vet. Microbiol.* 73: 137-157.
- Stadejek T, Vilcek S, Lowings JP, Ballagi-Pordany A, Paton DJ and Belak S. 1997. Genetic heterogeneity of classical swine fever in central Europe. *Virus Res.* 52: 195-204.

* Este trabajo es parte de la tesis de maestría del primer autor.
Estudio Financiado por la Fundación Guanajuato Produce A.C.