

## EPIDEMIOLOGÍA SEROLÓGICA Y MOLÉCULAR DE LOS SUBTIPOS H1N1 Y H3N2 DE INFLUENZA PORCINA EN CERDOS DE SONORA.

\*López-Robles, M.G.<sup>1</sup>, Montalvo-Corral, M.<sup>1</sup>, Ramírez-Mendoza, H.<sup>2</sup>, Rivera-Benítez, F.<sup>2</sup>, Espinoza-Villalva, K.<sup>1</sup>, Hernández-López, J.<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratorio de Inmunología. CIAD, A.C. Hermosillo, Sonora, México.

<sup>2</sup>Departamento de Microbiología. FMVZ, UNAM, México, D.F.

### INTRODUCCIÓN

La influenza porcina (SI) es una enfermedad respiratoria de los cerdos, causada por el virus de influenza porcina (SIV). El virus pertenece a la familia *Orthomyxoviridae* y presenta un genoma de RNA segmentado de polaridad negativa, está conformado por 8 genes que codifican para 11 proteínas. La hemaglutinina (H) y la neuraminidasa (N) son glicoproteínas de superficie que le confieren al virus las capacidades de selección, reconocimiento y propagación (1). Posee una alta variabilidad genética y antigénica debido a procesos frecuentes de mutación (2). El SIV se encuentra distribuido ampliamente en el mundo. Los brotes de la enfermedad en las granjas se caracterizan por ser de alta morbilidad y de mortalidad menor al 5% (3). Sin embargo el SIV es un agente primario que puede permitir la entrada a otros patógenos al organismo. En el cerdo se sabe que circulan los subtipos H1N1, H3N2 y H1N2.

### MATERIALES Y MÉTODOS

En la temporada invernal de 2008-2009, se tomaron muestras de sueros e hisopados nasales de 150 cerdos en etapa de destete, con signos de enfermedad respiratoria en 15 granjas del estado de Sonora. Se realizó la detección de anticuerpos anti-influenza porcina H1N1 y H3N2 por ELISA (IDEXX). Los hisopados se recolectaron individualmente en crioviales con medio Hanks (SIGMA), suplementado con antibióticos y glicerol 10%. Se realizó la extracción de RNA y posteriormente se cuantificó por espectrofotometría. Para determinar las muestras positivas a Influenzavirus A, se amplificó un fragmento del gen de Matriz (M), por medio de RT-PCR en tiempo real One step, utilizando iniciadores específicos descritos previamente (4). Las muestras positivas se analizaron por RT-PCR convencional utilizando iniciadores para los subtipos H1 (5) y H3 (diseñados en este estudio). Los fragmentos amplificados fueron purificados y secuenciados. Posteriormente se realizaron los alineamientos y se construyó un árbol de análisis filogenético para comparar los SIV que circulan en Sonora con aislados Norteamericanos y con los reportados en el reciente brote de influenza A/H1N1 (2009) en humanos.

### RESULTADOS

En la detección de anticuerpos anti-influenza porcina se encontró que 71 sueros (47.33%) resultaron positivos a H1N1, y 93 (62%) a H3N2. De estos el 38% (57 cerdos) se encontraron como positivos para ambos subtipos. En

todas las granjas hubo al menos una muestra positiva para alguno de los 2 subtipos. En cuanto a la detección del gen M, 24 de las muestras resultaron positivas (16%). De éstas, solo en 6 se pudo amplificar el gen H1 y en otras 2 el gen H3. Hasta el momento se han secuenciado y analizado 4 muestras; tres del subtipo H1 y una del H3. En el análisis genético se observó que los virus circulantes en Sonora son filogenéticamente más cercanos a los de Estados Unidos. En la comparación con los virus de la reciente epidemia en humanos con el virus A/H1N1, se observó que no están relacionados filogenéticamente.

### DISCUSIÓN

Los resultados indican que actualmente en los cerdos de Sonora hay mayor prevalencia de anticuerpos para el subtipo H3N2 que para el H1N1. Lo anterior difiere con lo descrito por Carreón y col (2005), y Pacheco y col (2005), ya que ellos encontraron una mayor frecuencia de anticuerpos anti-H1N1. Esta discrepancia podría deberse a que estos estudios se comunicaron hace 4 años y es probable que la situación epidemiológica del SIV en Sonora haya cambiado. Otro factor que también podría estar influyendo es que ellos usaron la técnica de IHA para la detección de anticuerpos. De las 24 muestras positivas al virus de influenza A, solo se pudo determinar el subtipo de 8 muestras, probablemente porque la cantidad de partículas virales en la muestra fue insuficiente para la detección por RT-PCR convencional. Por tal motivo se está trabajando en los cultivos virales a partir de dichas muestras en células MDCK y en embriones de pollo. Con el análisis filogenético se pudo comprobar que las hemaglutininas (HA) de los virus H1 y H3 identificados son de linaje porcino americano y que los virus H1 que circulan en las granjas de Sonora, al menos al nivel de la HA, son diferentes a los que ocasionaron la reciente epidemia del virus A/H1N1 en humanos.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Thacker y Janke, 2008. The Journal of infectious diseases 197 Suppl 1, S19-24.
2. Luoh y col, 1992. Journal of virology 66, 1066-1073.
3. Jung y col, 2002. Veterinary pathology 39, 10-16.
4. Spackman y col, 2002. Journal of clinical microbiology 40, 3256-3260.
5. Choi y col, 2002. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation 14, 62-65.
6. Carreón y col, 2005. Memorias del XL AMVEC.

7. Pacheco y col, 2005. Memorias del XL AMVEC.