

AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE LOS VIRUS DE INFLUENZA PORCINA EN MÉXICO
Quezada-Monroy F, Echeveste-García de Alba R, Cortes-Fernández R, Lozano-Dubernard B, Sarfati-Mizrahi D,
Soto-Priante E, Lara-Puente J.*

Laboratorio Avi-Mex, S. A. de C. V., Investigación y Desarrollo Línea Porcina, México, D. F. México. lara@avimex.com.mx

Introducción.

La influenza porcina (IP) es una enfermedad altamente contagiosa, capaz de ocasionar una morbilidad del 100% y en contraste, una mortalidad menor al 1%. Las manifestaciones clínicas que presentan los cerdos infectados son: fiebre, tos, descarga nasal y disnea. Su importancia radica en el desencadenamiento de procesos bacterianos severos. El primer reporte mundial de la infección de esta enfermedad en cerdos se realizó en 1918 en los Estados Unidos (EU) y su aislamiento se logró hasta 1930, siendo denominado como virus clásico de IP subtipo H1N1 (cH1N1), el cual permaneció antigénicamente estable hasta los años 70's. A mediados de los años setenta se detectó el subtipo H3N2. En 1999 en EU se aísla el subtipo el H1N2 y para el 2006 se reporta la presencia del subtipo H3N1. En México, hasta el año de 2012 solo se tenían detectados oficialmente los subtipos de virus de IP (VIP) H1N1 y H3N2. El objetivo de este trabajo fue aislar los subtipos de VIP porcina que circulan actualmente en México e identificarlos y corroborar la presencia de nuevos subtipos.

Materiales y Métodos.

Se trabajaron un total de 150 pulmones procedentes de diferentes estados de la República Mexicana correspondientes a los años 2009 a 2012. Para el aislamiento se tomaron muestras de los lóbulos apicales, medios y cardiaco; se maceraron y centrifugaron a 3000 rpm. El sobrenadante se filtro de manera estéril y cada muestra se inoculó en 10 embriones SPF de 10 días de edad. Después del periodo de incubación, el fluido amnio-alantoideo (FAA) de cada uno de los embriones se confrontó con eritrocitos de ave al 2% (v/v). Cuando el fenómeno de hemoaglutinación se presentó las muestras se consideraron positivas a hemoaglutinación y se confirmó su identidad con la prueba de RT-PCR multiplex para IP (H1N1 y H3N2).

Resultados.

Del total de 150 muestras analizadas, 27 de ellas (18%) fueron positivas a la prueba de hemoaglutinación. En 12 aislamientos no pudo confirmarse el subtipo de la hemoaglutinina (HA), quedando como HxN2. Para confirmar si estos aislamientos eran antigénicamente diferentes los virus H1N1 y H3N2, se realizó la prueba de inhibición de la hemoaglutinación (HI) con sueros obtenidos en granjas, y se utilizaron cepas de VIP de referencia para cada subtipo. Los resultados obtenidos nos confirmaron que el virus HxN2 es antigénicamente diferente a los ya conocidos, debido a que los sueros analizados alcanzaron un título promedio de $2^{10.3}$ en HI (1:1861) en comparación con el H1N1 $2^{7.36}$ (1:165) y H3N2 $2^{6.76}$ (1:109) (Datos no mostrados). Los resultados de las 27 muestras positivas que fueron trabajadas por medio del RT-PCR multiplex para identificación del subtipo se pueden observar en el Cuadro 1. El subtipo aislado más frecuente fue el VIP subtipo HxN2 (44.44%), luego el subtipo H1N1 (40.74%) y finalmente el subtipo H3N2 (14.81%).

Discusión.

Los resultados de la prueba de RT-PCR multiplex a partir del FAA positivo, Imagen 1, indican que al menos tres subtipos del VIP están co-circulando en México. Por un lado los subtipos H3N2 y H1N1, y por otro lado un VIP del cual solo se pudo identificar la neuroaminidasa N2, indicando con esto que el VIP HxN2 puede ser de diferente subtipo de HA de los virus que oficialmente circulan en México (H1 y H3). Aunado a lo anterior, los altos niveles de títulos detectados y la diferencia de más de 2 logaritmos base 2 en sus títulos de anticuerpos para el virus denominado como HxN2 nos indica que es un virus antigénicamente diferente a los utilizados en la prueba.

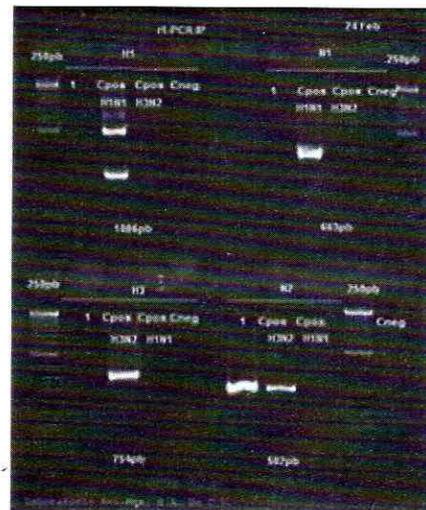
Conclusiones.

Se aislaron tres diferentes subtipos de VIP en México, de los cuales 2 pudieron ser identificados plenamente. Es necesario realizar estudios epidemiológicos más a profundidad para determinar el impacto de cada uno de estos subtipos en nuestra piara nacional. Las pruebas de secuenciación e identidad final del virus HxN2 de IP se presentarán posteriormente.

Cuadro 1. Resultados porcentuales de la prueba de RT-PCR-multiplex H1N1 y H3N2 aislados entre 2009 y 2012.

Subtipo	Muestras
H1N1	11 (40.74%)
H3N2	4 (14.81 %)
HxN2	12 (44.44%)

Imagen 1. Resultado de RT-PCR multiplex en una muestra de VIP subtipo HxN2.



Bibliografía.

- J. Vet. Diag. Invest. 16:264-270, 2004
- Journal of Virology. May 2006 p. 5092-5096
- Diagnóstico de virus influenza en mamíferos y aves. PANAFTOSA-OPS/OMS. 2010
- Emerging Infectious Diseases. Vol. 12, No. 5, May 2006