

## GENOTIPIFICACIÓN DE CIRCOVIRUS PORCINO TIPO 2 A PARTIR DE MUESTRAS DE CERDOS CON CUADROS DE ENFERMEDADES ASOCIADAS A CIRCOVIRUS

Pereda\*, A<sup>1,3</sup>; Piñeyro, P<sup>2,3</sup>; Bratanich, A<sup>4</sup>; Quiroga, M<sup>2</sup>; Bucafusco, D<sup>4</sup>; Craig, M<sup>1</sup>; Cappuccio, J<sup>2</sup>; Machuca, M<sup>2</sup>; Rimondi, A<sup>1</sup>; Sanguinetti, R<sup>5</sup>; Perfumo, C<sup>2</sup>.<sup>1</sup>Instituto de Virología - CICVA – INTA Castelar; <sup>2</sup>Cátedra de Patología Especial, Facultad de Cs. Veterinarias, UNLP; <sup>3</sup>CONICET; <sup>4</sup>Área de Virología, Facultad de Cs. Veterinarias, UBA. <sup>5</sup>SENASA. apereda@cna.inta.gov.ar

### INTRODUCCIÓN

El circovirus porcino tipo 2 (PCV-2) es un patógeno emergente de distribución mundial y el cerdo su hospedador natural. Se lo asocia a cuadros clínicos enmarcados como PCV-AD (enfermedades asociadas a circovirus porcino). Se reconocen, en función al número y secuencia de nucleótidos, 2 genotipos, denominados **PCV-2 grupo 1 (PCV-2b)** y **PCV-2-grupo 2 (PCV-2a)**. El primero se divide en 3 subgrupos (A-C) y el segundo en 5 (A-F) (1,2). En América del Norte la alta incidencia de PCV-AD registrada en 2005, coincidió con la identificación por vez primera de **PCV-2b**. En Europa, en granjas PCV-AD + sólo se identificó **PCV-2b**, mientras que en granjas con infección de PCV-2 subclínica sólo se identificó **PCV-2a** (2). En Brasil se identificaron PCV-2a y b, siendo el **b** asociado a PCV-AD (4).

Los objetivos del estudio fueron comparar las secuencias genómicas obtenidas de muestras PCV-2 positivas de granjas con cuadros de PCV-AD.

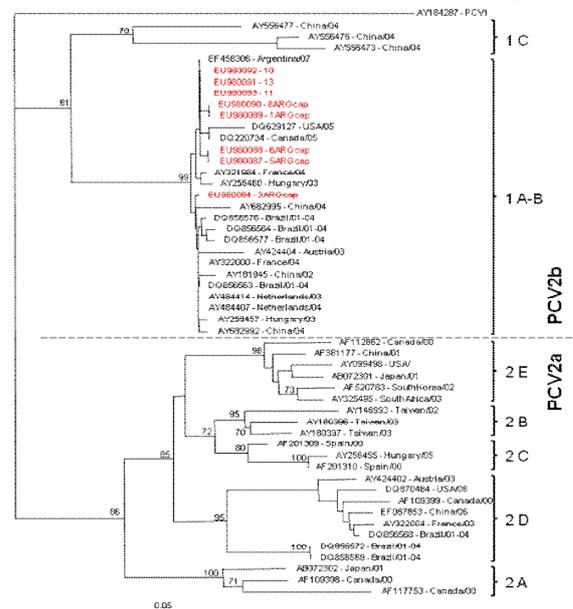
### MATERIALES Y MÉTODOS

Se estudiaron 89 muestras de linfonodos correspondientes a casos de PCV-AD confirmados por IHQ procesados en la FCV-UNLP entre 2003 y 2005. Se agruparon en 14 submuestras (por año y granja). La extracción de ADN se realizó mediante QIAamp DNA mini kit (Qiagen, Valencia, USA). El ADN específico de PCV-2 fue amplificado por PCR. De las muestras positivas, se amplificó el ORF2 entre las secuencias 998 al 1757 (GenBank # AF112862) con modificaciones parciales. Se secuenciaron los fragmentos amplificados (BigDye terminator kit y ABI 3730 (Applied Biosystems™, CA, USA). La información de las secuencias fueron obtenidas del GenBank (# EU980087-EU980094) y se incorporaron en alineamiento múltiple (CLUSTAL X Version 1.8.3 program). Se calculó el porcentaje de identidad, se elaboró el árbol filogenético y se visualizó por el programa (TREEVIEW program 1.6.6).

### RESULTADOS

De las 14 submuestras, 13 fueron positivas por PCR a PCV-2 (92,8%). El estudio comparado de las secuencias de nucleótidos obtenidos con cepas de referencia reveló una alta conservación y homología a nivel nucleótido y de aminoácido (98,8%). Todas presentaron el motivo 1486 TcA/aac/CCC/CG que corresponde al genotipo **PCV2b** y específicamente al subgrupo **1A-B** (fig 1).

Fig. 1. Árbol filogenético elaborado en función a las secuencias de nucleótidos del ORF2.



### DISCUSIÓN

La secuencia y el análisis filogenético obtenido de muestras PCV-AD positivas demostraron una alta conservación molecular agrupándose todas como **PCV-2b** subgrupo **A-B** (1), así denominado debido a la ausencia de valores suficientes de bootstrap. Otros autores han observado gran variabilidad, sugiriéndose que cuando mayor es la variación del ORF2 menor es su patogenicidad (5). Estas diferencias podrían deberse a que en el estudio sólo incluyó muestras de PCV-AD positivas. A partir del 2003, el **PCV-2b** fue reportado en todo el mundo, lo que indicaría un origen más reciente que el **PCV-2a** y por lo tanto de mayor patogenicidad (5). Al presente en la Argentina en casos PCV-AD sólo se ha caracterizado **PCV-2b**.

### BIBLIOGRAFÍA

- 1.-Olvera, A. y col. Virology 357:175-185, 2007.
- 2.-Grau-Roma, L. y col. Vet.Microbiol.128:23-25, 2008
- 3.-Gillespie, J. Y col. J.Vet.Intern.Med.23:1151-63, 2009.
- 4.-Ciacci-Zanella, JR y col. Res. Vet. Sci. 87:157-160, 2009.
- 5.- Chae, JS; Choi, K.S. Res. Vet. Sci. 88 :333-338, 2010.

Trabajo realizado con subsidios PICT 2005-33987 y UNLP V184