

## SECUENCIACIÓN DE CEPAS DEL VIRUS DE LA DIARREA VIRAL BOVINA QUE CIRCULAN EN LA PROVINCIA DE SANTA FE

Favaro, Paula<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Cátedra de Microbiología, FCV-UNL

Director/a: Pecora, Andrea  
Codirector/a: Calvino, Luis

Área: Ciencias Biológicas

Palabras claves: Secuenciación, Virus de la Diarrea Viral Bovina, Genotipos

### INTRODUCCIÓN

El virus de la Diarrea Viral Bovina (VDVB) pertenece a la Familia *Flaviviridae*, clasificado dentro del Género *Pestivirus*, junto al virus de la Peste Porcina Clásica y al de la Enfermedad de las Fronteras. Actualmente se conocen 3 genotipos del VDVB: VDVB 1, VDVB 2 y virus HoBi-Like (también llamados *Pestivirus A*, *Pestivirus B* y *Pestivirus H*, respectivamente). Dentro del genotipo 1, se han descrito 21 sub-genotipos (denominados de la “a” a la “u”) y dentro del genotipo 2, existen cuatro subgenotipos (denominados desde la “a” a la “d”) (Yeşilbağ et al., 2017). En Argentina se han detectado previamente cepas pertenecientes al genotipo 1a, 1b y 2 y HoBi-Like (Jones et al., 2001), pero no se conocen cuáles son los genotipos que circulan actualmente en nuestra provincia.

### OBJETIVOS

Secuenciar cepas provenientes de casos clínicos hallados en la provincia de Santa Fe y determinar a qué genotipo pertenecen mediante la realización de estudios filogenéticos.

Título del proyecto: Monitoreo y Saneamiento del Virus de la Diarrea Viral Bovina en rodeos lecheros de la provincia de Santa Fe

Instrumento: CAI+D

Año convocatoria: 2020

Organismo financiador: UNL

Director/a: Occhi, Humberto

## METODOLOGÍA

Para este estudio se evaluaron las secuencias obtenidas de 7 cepas del VDVB obtenidas a partir de casos clínicos encontrados en las localidades de Arteaga (1), Carcarañá (3), Esperanza (1), Sarmiento (1) y Portugaleta (1). Para la caracterización filogenética, las muestras obtenidas se sometieron a una RT-PCR de punto final, estandarizada previamente por el laboratorio de biología molecular del Instituto de Virología del CICVyA INTA Castelar. Se cortaron y purificaron las bandas de agarosa con un kit comercial (GE) y luego se secuenció la región 5' no codificante (5'UTR) de los VDVB encontrados (Unidad de Genómica del CICVyA). Para el análisis filogenético, en un primer paso se alinearon y analizaron las secuencias con el programa Bioedit donde se construyó una matriz que integró secuencias de cepas de referencia, de aislamientos argentinos y de otras regiones obtenidas de bancos de genes (Genbank). Una vez obtenida la matriz, se realizaron alineamientos múltiples utilizando el programa Clustal X Versión 1.8.3 (Thompson et al., 1994) y consecuentemente se realizó la matriz de distancia bajo el método Kimura 2 parámetros. Los dendrogramas se realizaron con el método *Neighbor Joining* (Nei and Saitou, 1987) utilizando el programa Mega, versión X y se calcularon los *bootstrap* con 1000 repeticiones.

## RESULTADOS Y CONCLUSIONES

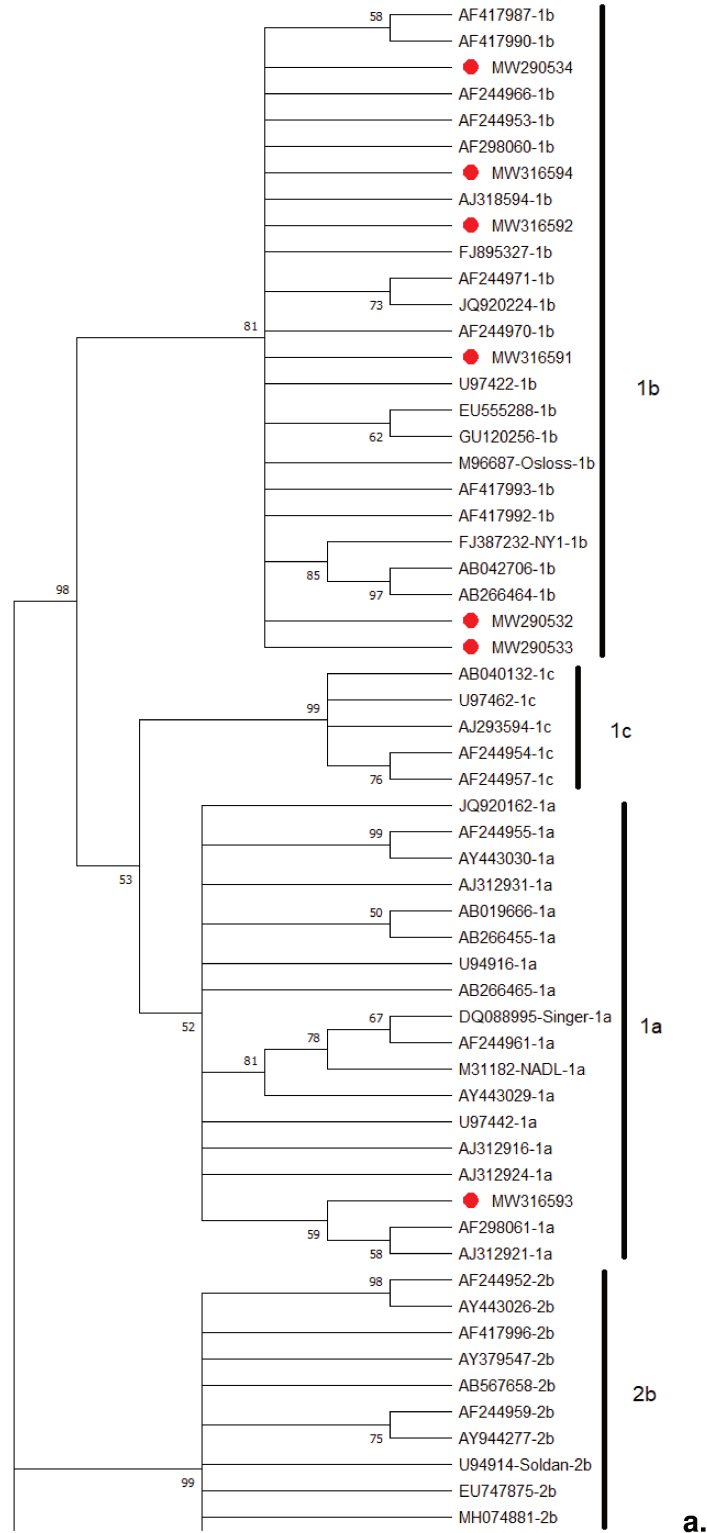
El árbol filogenético obtenido a partir de las cepas secuenciadas se muestra en la Figura 1. Las secuencias nucleotídicas obtenidas en este estudio se compartieron en la base de datos de *GenBank*. Los números de acceso, procedencia, fecha de toma de muestra y signos encontrados figuran en la tabla 1. Como puede observarse en el árbol filogenético, 6 de las 7 cepas secuenciadas pertenecen al genotipo 1b y la restante pertenece al genotipo 1a. Estos resultados son semejantes a los observados en estudios previos en la región pampeana, donde la mayoría de las cepas aisladas fueron del genotipo 1b (Pecora et al., 2014).

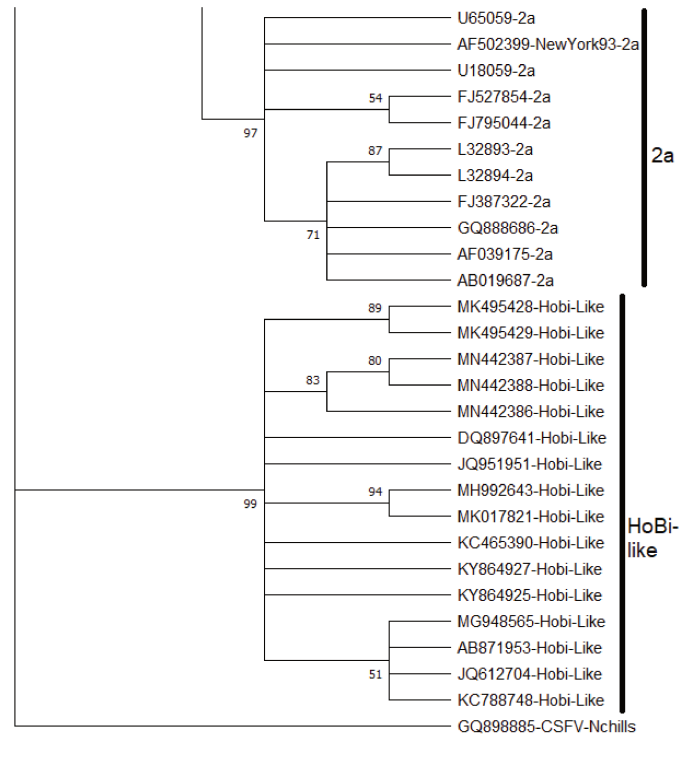
**Tabla 1.** Nombre, año de toma de muestra, procedencia, signos, genotipo y número de acceso al GenBank para las 7 cepas secuenciadas.

Nombre	Año	Procedencia	Signos	Genotipo	Nro. Genbank
18/2019	2019	Arteaga (Dpto. Caseros)	Neumonía	<b>1b</b>	MW316591
84/2015	2015	Carcarañá (Dpto. San Lorenzo)	Neumonía	<b>1b</b>	MW316592
85/2015	2015	Carcarañá (Dpto. San Lorenzo)	Neumonía	<b>1a</b>	MW316593
89/2015	2015	Carcarañá (Dpto. San Lorenzo)	Neumonía	<b>1b</b>	MW316594
IC	2020	Esperanza (Dpto. Las Colonias)	Muerte perinatal	<b>1b</b>	MW290532
N.T-2020	2020	Sarmiento (Dpto. Las Colonias)	Natimorto	<b>1b</b>	MW290533
S.2-2020	2020	Portugaleta (Dpto. San Cristóbal)	Enfermedad de las mucosas	<b>1b</b>	MW290534

# Eji

Encuentro de Jóvenes Investigadores





**Figura 1. a y b (continuación).** Árbol filogenético. Los puntos rojos indican las cepas analizadas en este trabajo

Conocer las cepas virales que circulan a campo en las distintas regiones es de especial importancia a la hora de formular vacunas que sean eficaces contra las cepas que se encuentran actualmente en circulación.

## BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

- Jones, L.R., Zandomeni, R., Weber, E.L.,** 2001. Genetic typing of bovine viral diarrhea virus isolates from Argentina. *Vet. Microbiol.* 81, 367–75. [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(01\)00367-4](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(01)00367-4)
- Nei, M., Saitou, N.,** 1987. The neighbor-joining method: a new method for reco... [*Mol Biol Evol.* 1987] - PubMed result. *Mol Biol Evol.*
- Pecora, A., Malacari, D.A., Ridpath, J.F., Perez Aguirreburualde, M.S., Combessies, G., Odeón, A.C., Romera, S.A., Golemba, M.D., Wigdorovitz, A.,** 2014. First finding of genetic and antigenic diversity in 1b-BVDV isolates from Argentina. *Res. Vet. Sci.* 96, 204–212. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2013.11.004>
- Thompson, J.D., Higgins, D.G., Gibson, T.J.,** 1994. CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.* <https://doi.org/10.1093/nar/22.22.4673>
- Yeşilbağ, K., Alpay, G., Becher, P.,** 2017. Variability and Global Distribution of Subgenotypes of Bovine Viral Diarrhea Virus. *Viruses* 9, 1–19. <https://doi.org/10.3390/V9060128>