



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Análisis *in silico* del genoma del virus de la peste porcina africana

TESIS

Que para obtener el título de

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Presenta

DAVID JAMES KOTLARENKO

Asesores

MVZ MC Rolando Beltrán Figueroa
MVZ MCV Gerardo Ramírez Hernández

Ciudad Universitaria, Ciudad de México 2024



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIA

To my beloved cat, Murka, your comforting presence and purrs during stressful times have provided me with solace and joy. You are the only one who was right there with me every step of the way throughout the rollercoaster of life in Mexico. Thank you for being my furry companion throughout this adventure and for being my main source of motivation. I promise to be there for you the way you were always there for me 🐾❤️.

To my dearest sister Sonia, your endless words of encouragement, late-night calls, and advice have made this journey more memorable and more tolerable. Your belief in my abilities has pushed me to excel beyond my limits. Thank you for always being my constant source of inspiration.

To my loving parents, Mama and Papa, whose unwavering support and encouragement have been the foundation of my journey through veterinary school. Your sacrifices and confidence in me have made this achievement possible. Thank you for always being my pillars of strength.

To my wonderful girlfriend, Elise, your unwavering love, understanding, and patience have been my guiding light through the challenges of my final challenges in veterinary school. Your support has been a source of motivation and comfort, and I am eternally grateful to have you by my side. Thank you for being my source of endless encouragement.

This achievement is as much yours as it is mine.

With heartfelt gratitude,
Your little (grown up) David

AGRADECIMIENTOS

Mis Ratas, from late-night study sessions to occasions of laughter, hang outs and camaraderie, your friendship has made the challenges more bearable and the successes more joyful. Together, we've tackled the toughest of assignments and celebrated each other's victories (as we will continue to do so). Thank you for being my second family and for always believing in me.

Rolando, your mentorship has been invaluable to me. Your wisdom, guidance, and dedication to my growth as a future veterinarian has taught me to always trust and believe in myself. Your belief in my abilities has instilled in me a confidence that I will carry with me into my career. Thank you for your unwavering support and for being a beacon of knowledge and encouragement.

As I sit down to reflect on my journey through veterinary school, I realize how fortunate I am to have had such an incredible support system. Your impact on this journey cannot be overstated. You have all helped shape me into the veterinarian and person I am today, and for that, I am forever grateful. As I embark on this new chapter of my life, I carry with me the lessons, memories, and friendships forged during these years.

With deepest appreciation,
Su gringo favorito

ÍNDICE

DEDICATORIA.....	2
AGRADECIMIENTOS.....	3
ÍNDICE.....	4
ABREVIATURAS.....	8
RESUMEN.....	10
ABSTRACT.....	11
INTRODUCCIÓN.....	12
Historia y Distribución.....	12
Descripción del Virus de Peste Porcina Africana.....	14
Estructura y Propiedades Virales del VPPA.....	17
Resistencia del VPPA en el Medio Ambiente y Productos y Subproductos Porcinos...	18
Gen B646L o Proteína p72.....	19
Diversidad de Genotipos Virales.....	21
Epidemiología y Transmisión.....	23
Agente.....	23
Reservorio.....	24
Huéspedes Susceptibles.....	24
Puerta de Entrada.....	25
Modo de Transmisión.....	25
Puerta de Salida.....	30
Patogenia y Replicación.....	30
Presentaciones Clínicas y Lesiones Patológicas del VPPA.....	32
Híperaguda.....	37
Aguda.....	38
Subaguda.....	39
Crónica.....	40
Diagnóstico del VPPA.....	41
Inmunidad, Prevención y Control.....	45
Usos y Aplicaciones de la Bioinformática e Importancia del Análisis <i>in silico</i>	47
Filogenia del VPPA.....	48
Diagnóstico del VPPA por medio de PCR Punto Final y PCR Tiempo Real.....	51
Importancia Económica de los Brotes de PPA.....	53
Impacto Económico de la PPA.....	55
Impacto Económico de los Brotes en China.....	57
Impacto Económico de los Brotes en Vietnam.....	60
Impacto Económico de los Brotes en Europa.....	61

Impacto Económico de los Brotes en África	62
Impacto Económico de los Brotes en India	62
Impacto Económico de los Brotes en América	62
Impacto Económico del Sector Laboral en el Continente Americano	63
JUSTIFICACIÓN	64
HIPÓTESIS.....	64
OBJETIVO.....	65
Objetivo General	65
Objetivos Específicos	65
MATERIALES Y METODOS.....	66
Análisis <i>in silico</i> de los Primers de PCR Punto Final para Identificar el VPPA.....	66
Identificación y Búsqueda de Secuencias en Nucleótidos y Aminoácidos de la Proteína p72.....	66
Análisis <i>in silico</i> en Aminoácidos de la Proteína p72.....	67
Construcción del Árbol Filogenético.....	68
RESULTADOS.....	70
Análisis <i>in silico</i> de los Primers para PCR Convencional Sugeridos por la OMSA	70
Alineación de Identificación de Sitios Conservados en Secuencias de Nucleótidos de p72 de acuerdo con los Primers para cPCR	70
Análisis <i>in silico</i> de Sitios Variables de Aminoácidos de la Proteína p72	73
Filogenia de la Proteína p72	73
DISCUSIÓN.....	76
CONCLUSIONES.....	82
BIBLIOGRAFÍA.....	83
ANEXO	93
Lista de Cuadros.....	93
Cuadro 1. Principales brotes de VPPA reportados en Eurasia de enero 2007 a febrero 2020	93
Cuadro 2. Tiempo de sobrevivencia del VPPA en diferentes productos de origen porcino	94
Cuadro 3. Características epidemiológicas de diferentes especies de suidos salvajes al respecto a la transmisión de PPA	94
Cuadro 4. Principales lesiones observadas en las diferentes formas de PPA	95
Cuadro 5. Diagnóstico diferencial de la peste porcina africana con base en lesiones macroscópicas	96
Cuadro 6. Métodos analíticos disponibles y su propósito	97
Cuadro 7. Protocolos de diagnóstico molecular del VPPA	97
Cuadro 8. Impacto directo e indirecto en las fuentes de empleo del sector porcino en América	98
Cuadro 9. Set de primers diseñados por Agüero en 2003.....	98
Cuadro 10. Descripción general de las secuencias en nucleótidos y aminoácidos del análisis <i>in silico</i>	99
Cuadro 11. SNPs identificados en los sitios de hibridación del primer sentido	102

Cuadro 12. SNPs identificados en los sitios de hibridación del primer antisentido.....	107
Cuadro 13. Identificación de polimorfismos de las secuencias en aminoácidos de la proteína p72 del VPPA.....	113
Cuadro 14. Descripción de los símbolos y abreviaturas de los aminoácidos	123
Lista de Figuras	124
Figura 1. Imágenes de garrapata blanda del genero Ornithodoros.....	124
Figura 2. Phacochoerus africanus (Common Warthog)	124
Figura 3. Cronología de la propagación transcontinental del VPPA y los brotes en cerdos domésticos y detección en jabalíes durante 2018	125
Figura 4. Situación reciente de la peste porcina africana en Europa, Asia y África.....	126
Figura 5. Estructura del virus de la peste porcina africana.....	126
Figura 6. Control de calidad de partículas purificadas de VPPA	127
Figura 7. Representación esquemática del genoma del virus de la peste porcina africana Georgia 2007/1	128
Figura 8. Atlas de VPPA.....	129
Figura 9. Trímero de la p72	129
Figura 10. Arquitectura del virión del VPPA.....	130
Figura 11. Distribución geográfica del genotipo I y II en África	130
Figura 12. Distribución continental de los brotes de peste porcina africana de 2016 a 2020 notificados a la OMSA.....	131
Figura 13. Cadena Epidemiológica del VPPA	132
Figura 14. Esquema de los ciclos de transmisión de VPPA.....	132
Figura 15. Lesiones patológicas macroscópicas en un lechón de jabalí europeo	133
Figura 16. Ganglios linfáticos mandibulares de un cerdo doméstico destetado mestizo.....	133
Figura 17. Signos clínicos y patológicos típicos de la peste porcina africana	134
Figura 18. Lesiones macroscópicas de PPA aguda y subaguda.....	135
Figura 19. Lesiones viscerales macroscópicas de PPA aguda y subaguda	136
Figura 20. Cambios patológicos de la PPA subaguda y aguda	137
Figura 21. PPA Subaguda	138
Figura 22. Composición de un árbol filogenético	138
Figura 23. Etapas de PCR.....	139
Figura 24. Cronología de los brotes de peste porcina africana en la región de Asia y el Pacífico después del primer brote en China	139
Figura 25. Densidad estimada de explotaciones porcinas en Vietnam y comunidades afectadas por la peste porcina africana en Vietnam.....	139
Figura 26. Evolución de la cantidad de carne de cerdo producida, el inventario nacional de cerdos y la cantidad de carne de cerdo exportada antes de los brotes de los brotes de PPA observadas en Europa	140
Figura 27. Identificación de sistemas de producción porcina con bajo nivel de bioseguridad	140
Figura 28. Página del OligoAnalyzer proporcionado por Integrated DNA Technologies (IDT)	141
Figura 29. Página del Basic Local Alignment Search Tool (BLAST®).....	141
Figura 30. Página de análisis BLAST® de nucleótidos.....	142
Figura 31. Resultados del análisis BLAST®	143
Figura 32. Página del National Center for Biotechnology Information (NCBI).....	144
Figura 33. Ejemplo de descarga de una secuencia de interés	144
Figura 34. Programa BioEdit® Sequence Alignment Editor	145
Figura 35. Base de datos generada en BioEdit® del genoma en nucleótidos de la proteína p72... ..	145
Figura 36. Software Jalview® para la alineación de secuencias del genoma de la p72.....	145
Figura 37. Alineación de las secuencias en el software Jalview®.....	146
Figura 38. ORFfinder proporcionada por el NCBI	146
Figura 39. Modeltest realizado en el software MEGA®	146
Figura 40. Software MEGA®.....	147

Figura 41. Resultados del OligoAnalyzer de la pagina IDT para el primer sentido.....	147
Figura 42. Resultados del OligoAnalyzer de la pagina IDT para el primer antisentido	148
Figura 43. Alineación del primer sentido con las diferentes secuencias obtenidas del NCBI de los principales brotes en el mundo	149
Figura 44. Alineación del primer antisentido con las diferentes secuencias obtenidas del NCBI de los principales brotes en el mundo	150
Figura 45. Región de amplificación de los primers en programa Jalview®.....	151
Figura 46. Polimorfismos de la proteína p72 del VPPA en secuencias de aminoácidos en Jalview®	152
Figura 47. Árbol filogenético de la proteína p72.....	156

ABREVIATURAS

Abreviaturas	Significado
Å	Angstroms
aa	Aminoácidos
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ASF	African Swine Fever
ASFV	African Swine Fever Virus
β	Beta
BLAST®	Basic Local Alignment Search Tool
cPCR	PCR Convencional, PCR Punto Final
CSF	Fiebre porcina clásica (Classic swine fever)
DIF	Inmunofluorescencia directa
DNA	Desoxyribonucleic acid
dpi	Días después de la infección (días post infección)
EDTA	Etilendiaminotetraacético
ELISA	Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (Enzyme-linked immunosorbent assay, por sus siglas en inglés)
ER	Retículo endoplásmico
FAO	Food and Agriculture Organization
HAD	Prueba de hemoadsorción
HAD ₅₀	Dosis de 50% de hemoadsorción
HP-PRRS	Síndrome reproductivo y respiratorio porcino de alta patogenicidad
IDT	Integrated DNA Technologies
IFA	Anticuerpos fluorescentes indirectos
IFN	Interferón tipo 1
JTT+G	Jones Taylor Thornton más distribución Gamma
kDa	Kilodaltons
MAFFT	Multiple Alignment using Fast Fourier Transform
MEGA®	Molecular Evolutionary Genetics Analysis
MGF	Familias multigénicas (Multigene Families)
mL	Mililitro
Mt	Toneladas métricas
NCBI	National Center for Biotechnology Information
Nct	Nucleótidos
NGS	Secuenciación de próxima generación
nm	Nanómetro
OMSA (anteriormente, OIE)	Organización Mundial para la Sanidad Animal
ORF	Marcos de lectura abiertos (Open Reading Frames)
OTU	Unidades taxonómicas operativas
pb	Pares de bases
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa (por sus siglas en inglés, polymerase chain reaction)
PDNS	Síndrome de nefropatía y dermatitis porcina
pH	Puentes de hidrogeno
PPA	Peste porcina africana
qPCR	PCR Tiempo Real
SNP	Polimorfismo de un solo nucleótido (Single Nucleotide Polymorphism)
TNF	Factor de necrosis tumoral
UE	Unión Europea

USDA	Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (United States Department of Agriculture)
VPPA	Virus de la peste porcina africana
VF	Fabrica viral (viral factory)
WOAH	World Organization for Animal Health
°C	Centígrados
μl	Microlitros

RESUMEN

Autor. Kotlarenko David James. Análisis *in silico* del genoma del virus de la peste porcina africana. Bajo la supervisión de MVZ MC Rolando Beltrán Figueroa. MVZ MCV Gerardo Ramírez Hernández.

La peste porcina africana (PPA) es causada por el virus de la peste porcina africana (VPPA), que pertenece a la familia viral Asfarviridae es el único miembro del género Asfivirus. El VPPA es un virus grande de ADN de doble cadena envuelto y el único arbovirus de este tipo conocido que se transmite por garrapatas blandas del género *Ornithodoros*. La PPA es una enfermedad altamente contagiosa y letal con una tasa de mortalidad cercano a 100% que afecta a cerdos domésticos y también cerdos salvajes. La pandemia actual de la PPA es un problema importante en el mundo por su impacto socioeconómico en la industria porcina, los brotes en Asia y Europa han ocasionado un desabasto de la carne de cerdo. Por esta razón es sumamente importante encontrar las formas adecuadas para el diagnóstico oportuno y disminuir su diseminación, así como también prevenir la entrada de esta enfermedad a países libres del VPPA a través de una vigilancia activa. Una de las proteínas más importante dentro de la estructura del VPPA, es la proteína p72 que codifica el gen B646L, su característica principal es que se utiliza para la identificación de los diferentes genotipos del VPPA. La OMSA sugiere un set de primers para realizar un diagnóstico oportuno diseñados específicamente para identificar regiones blanco de la p72. Con el uso reciente del análisis *in silico* y su aplicación en la clínica y medicina de cerdos podemos investigar la epidemiología molecular del virus de la peste porcina africana de una manera rápida, segura y eficiente sin comprometer al sector porcino, evitando la entrada del virus a un país libre de la enfermedad. Recientemente se han identificado 26 diferentes genotipos y diferentes recombinantes. Por esta razón es urgente analizar los genomas del VPPA principalmente la proteína p72 para realizar un análisis *in silico* de la propuesta del set de cebadores indicados por la OMSA para el diagnóstico por PCR convencional. Por tal motivo el objetivo de este trabajo es el análisis *in silico* de la proteína p72 del genoma del VPPA con secuencias de los principales brotes en el mundo. Se identificaron y descargaron las principales secuencias completas en nucleótidos y aminoácidos de la proteína p72 en formato FASTA (.fas) a través del NCBI. Para la edición y generación de la base de datos se utilizó BioEdit®, el alineamiento de las secuencias fue por medio de Jalview® para identificar SNPs y finalmente para elaborar el árbol filogenético de máxima verosimilitud se realizó por medio de MEGA®. Los resultados del análisis *in silico* de la hibridación de los primers sugeridos por Agüero en 2003 demuestran la necesidad de una rápida actualización para evitar falsos negativos mediante el diagnóstico por PCR convencional. Mediante el análisis filogenético se identificó los principales genotipos de VPPA, así como sus principales recombinantes que confirman la rápida evolución y diversidad genética de la proteína p72.

ABSTRACT

African swine fever (ASF), caused by the African swine fever virus (ASFV) that belongs to the viral family Asfarviridae, is the only member of the genus Asfivirus. ASFV is a large, enveloped double-chain DNA virus and the only arbovirus of its kind known to be transmitted by soft-bodied ticks of the genus *Ornithodoros*. ASF is a highly contagious and lethal disease which has a mortality rate of close to 100% that affects domestic pigs and wild swine. The current ASF pandemic is an important global problem due to its socioeconomic impact in the porcine industry, as demonstrated by recent outbreaks in Asia and Europe causing a rapid decline in pork production. For this reason, it is of great importance to find adequate forms of early detection, slow the spread of the virus, and prevent the entrance of this disease into countries free of ASFV through active vigilance. One of the most important proteins within the structure of ASFV is the p72 protein. The p72 protein is codified by the B646L gene and is used in the identification of different genotypes of ASFV. The WOAHP published a set of primers, provided by Agüero in 2003, to establish early detection and diagnosis specifically designed to identify target regions of p72. Recently, the use of *in silico* analysis and its application in swine medicine allows us to investigate the molecular epidemiology of the African swine fever virus in a fast, safe, and efficient manner without compromising the pork industry avoiding a public health risk to countries free of ASF. There have been 26 different genotypes and various viral recombinants identified, therefore it is urgent to analyze ASFV genomes, specifically the p72 protein, using *in silico* analysis of the primer set proposed by the WOAHP for conventional PCR diagnosis. Consequently, the objective of this investigation was the *in silico* analysis of the p72 genome using sequences from the most significant global outbreaks. Complete genome sequences of the p72 protein were identified in both nucleotide and amino acid forms and downloaded from the NCBI GenBank using FASTA (.fas) formatting. The BioEdit® program was used to make a database and edit the sequences, the alignment of the sequences was carried out in the Jalview® program to identify single nucleotide polymorphisms (SNPs), and the MEGA® software was used for the composition of the phylogenetic tree of maximum verisimilitude. The results of the hybridization of the primer set, obtained through *in silico* analysis, demonstrate the urgent need for updated primers to prevent false negatives on conventional PCR diagnoses. Through phylogenetic analysis, the most common genotypes and important recombinants of ASFV were identified, which confirms the rapid evolution and genetic diversity of the p72 protein.

INTRODUCCIÓN

Historia y Distribución

La peste porcina africana (PPA) se observó por primera vez a principios del siglo XX en el este de África. Cuando se introdujeron razas de cerdos domésticos europeos en Kenia, los animales desarrollaron una forma de enfermedad hemorrágica con alta morbilidad y mortalidad (Salguero *et al.* 2020). Desde su identificación en Kenia en 1921, el virus de la peste porcina africana ha permanecido endémico en África (Gaudreault *et al.* 2020).

El virus de la peste porcina africana (VPPA) fue reportado en 1921, sin embargo, fue diagnosticado por primera vez en 1910 en donde existían dos casos clínicos sugerentes a esta enfermedad, anteriormente se habían identificado brotes desde septiembre de 1909 (Montgomery, 1921).

El ciclo selvático se presenta principalmente en África ocasionado por las garrapatas blandas *Ornithodoros* (Figura 1) y los jabalíes africanos (*Phacochoerus africanus*) (Figura 2) que no desarrollan la enfermedad clínica con la infección por el VPPA (Gaudreault *et al.* 2020). La PPA se limitó a los países africanos hasta 1957, cuando llegó a Portugal a través de desechos contaminados que contenían productos porcinos infectados que se usaban para alimentar a los cerdos locales. Este brote se controló rápidamente, pero la PPA volvió a entrar en Portugal en 1960 y se extendió rápidamente a la península ibérica y produjo brotes esporádicos en varios países europeos, incluidos Bélgica, los Países Bajos, Italia, Malta y Francia, propagándose posteriormente al continente americano, con brotes esporádicos en Brasil, República Dominicana, Haití y Cuba. La PPA fue erradicada de todos estos países fuera de África en la década de 1990 mediante drásticos programas de control y erradicación, excepto la isla italiana de Cerdeña, donde la enfermedad persiste desde 1978 (Salguero *et al.* 2020). La enfermedad continuó persistiendo y diseminándose dentro de África y entró en la República de Georgia en 2007 a través del puerto de Poti, probablemente a través de alimentos contaminados utilizados para alimentar a los cerdos domésticos (Salguero *et al.* 2020). Posteriormente, el virus se propagó a la región transcaucásica y llegó a la Federación Rusa. Desde Rusia,

el virus avanzó más e invadió la Unión Europea (UE) en 2014 (Cuadro 1) (Blome *et al.* 2020).

En agosto de 2018, la enfermedad también llegó al mayor productor de cerdos del mundo, China, y de ahí se propagó a varios países asiáticos (Cuadro 1) (Blome *et al.* 2020). Entre el primer brote de PPA informado en China a principios de agosto de 2018, en Shenyang, provincia de Liaoning, y el comienzo de la pandemia de COVID-19 en enero de 2020, se reportó un total de 157 brotes en China con ~1.2 millones de cerdos sacrificados. Como resultado, el precio de la carne de cerdo aumentó un 48% en un período de solo 12 meses entre octubre de 2018 y octubre de 2019. Antes del comienzo de la epidemia de PPA, China tenía más de la mitad de la población porcina del mundo, y el brote representó una gran amenaza para la salud animal, la producción porcina y la calidad de vida de las personas en China y los países vecinos (Yang *et al.* 2021).

La diseminación transcontinental se indica cronológicamente en la figura 3 mediante flechas de colores y números.

Durante los meses posteriores a la incursión de PPA en China, el virus se propagó rápidamente a al menos otros 12 países de Asia y el Pacífico Sur, incluidos Mongolia, Vietnam, Corea del Sur y Timor-Leste (Niederwerder *et al.* 2021).

Desde principios de febrero de 2019, se notificó oficialmente un brote de PPA en Vietnam y, hasta la fecha, la enfermedad se notificó en 63/63 provincias de Vietnam. Se han sacrificado más de 3.7 millones de cerdos en granjas infectadas, lo que sugiere el riesgo de propagación de este virus (Tran *et al.* 2020). Simultáneamente a la propagación del VPPA en Asia, se siguió informando sobre la diseminación del virus en varios países europeos, incluidos Rumania, Bulgaria, Bélgica y Serbia. Además, Alemania, el mayor productor porcino de la Unión Europea (UE), identificó su caso índice en una hembra adulta de jabalí el 10 de septiembre de 2020 (Niederwerder *et al.* 2021).

En la epidemia euroasiática entre 2007 y septiembre de 2019 donde dentro de las naciones europeas, se informaron brotes continuos, marcados en amarillo de la figura

4A, en Cerdeña, Bélgica, Bulgaria, Hungría, Letonia, Moldavia, Polonia, Rumania, Eslovaquia, Serbia, Federación Rusa y Ucrania. Se notificaron brotes resueltos en Bielorrusia, República Checa, Estonia y Lituania, representado en la figura 4A de color azul.

La epidemia transcaucásica y de Asia durante el periodo de septiembre del 2007 a 2019 se notifican brotes continuos, representados en color amarillo en la figura 4B en donde los países infectados fueron: República Popular China, la República Popular Democrática de Corea, la República Democrática Popular Lao, Myanmar, Filipinas, la Federación de Rusia, la República de Corea y Vietnam.

Los brotes resueltos incluyen Armenia, Azerbaiyán, Camboya, la República de Georgia y Mongolia, identificados en color azul de la figura 4B.

Los países africanos que han notificado a la OMSA sobre la presencia de PPA desde 2018 hasta septiembre de 2019 incluyen Benín, Burkina Faso, Burundi, Cabo Verde, República Centroafricana, República Democrática del Congo, Gambia, Ghana, Guinea-Bissau, Madagascar, Malawi, Mozambique, Namibia, Nigeria, Ruanda, Senegal, Sierra Leona, Sudáfrica, Tanzania, Togo, Uganda, Zambia y Zimbabue identificados de color amarillo en la figura 4C (Gaudreault *et al.* 2020). Los últimos países afectados fueron Papúa Nueva Guinea, Australia, e India en 2020 (Blome *et al.* 2020).

En los últimos 13 años, la PPA ha adquirido una difusión e importancia sin precedentes, especialmente la situación epidémica en Asia ha revelado debilidades en los sectores veterinario y agrícola, pero también varios vínculos directos e indirectos entre la industria porcina y el reciclaje y uso de subproductos. No solo se ve afectado el suministro de heparina y la disponibilidad de gelatina para alimentos y confitería, sino también la utilización de grasas y pieles. Además, el uso de subproductos porcinos como fuente de proteína para cerdos funciona como una forma de diseminación para las epidemias de la enfermedad (Blome *et al.* 2020).

Descripción del Virus de Peste Porcina Africana

El virus de la peste porcina africana (VPPA) es el agente causal de la peste porcina africana (PPA). El VPPA pertenece a la familia viral Asfarviridae y es el único miembro

del género *Asfivirus* (Maclachlan N., Dubovi E. *et al.* 2017). Es una enfermedad infecciosa de los cerdos domésticos y salvajes de todas las razas y edades (OMSA, 2021). El VPPA es el único arbovirus conocido y se transmite por garrapatas blandas del género *Ornithodoros* (Maclachlan N., Dubovi E. *et al.* 2017).

El VPPA tiene una estructura multicapa con una morfología global icosaédrica con un diámetro de aproximadamente 200 nm conformada por el núcleo de nucleoproteína, de 70 a 100 nm de diámetro, dentro de una cubierta de núcleo de proteína que está rodeada por una capa lipídica interna (Figura 5). La cápside icosaédrica se ensambla sobre esta envoltura interna. Estas partículas maduras intracelulares tienen un diámetro de 170 a 190 nm y adquieren una membrana adicional a medida que brotan de la membrana plasmática durante la gemación de la célula infectada para formar el virus envuelto extracelular que tiene un diámetro de 175 a 215 nm. Tanto la forma intracelular madura como la extracelular del virus son infecciosas. La cápside muestra simetría icosaédrica (Alejo *et al.* 2018 y Dixon *et al.* 2021).

La capa central contiene el núcleo con el genoma de ADN viral. La proteína de unión al virus p12 se localiza en la envoltura de los viriones purificados. La estructura de la cápside está formada por 2000 capsómeros ensamblados como prismas hexagonales. El principal componente estructural de la cápside viral es la proteína p72, seguida de pE120R, que participa en el transporte de las partículas maduras del VPPA desde la fábrica viral (VF) hasta la membrana plasmática para salir de la célula por gemación. La envoltura interna se deriva del retículo endoplásmico (ER). Las proteínas de la cubierta central, como la proteína 150, se derivan de los polipéptidos virales p220 y p62 previamente procesados. (Muñoz-Moreno *et al.* 2015).

El genoma del virus ADN de doble cadena envuelto que varía en longitud entre 170-193 kpb (Dixon *et al.* 2021), presenta entre 151 a 167 marcos de lectura abierto (ORF) que están estrechamente espaciados y se leen en ambas cadenas de ADN (Alejo *et al.* 2018) codifican aproximadamente 150–170 genes (Wang *et al.* 2020). El genoma del VPPA codifica muchas proteínas que participan en el ensamblaje del virus, la replicación y

reparación del ADN, así como a la expresión génica (Alejo *et al.* 2018), además codifica enzimas y factores necesarios para la replicación y la transcripción en el citoplasma (Dixon *et al.* 2021).

El VPPA está compuesto por más de 50 proteínas estructurales y puede producir más de 150 proteínas en las células infectadas, muchas de las cuales son altamente inmunogénicas. La principal célula diana del VPPA es el monocito tanto en cerdos domésticos como salvajes (Salguero *et al.* 2020).

La PPA es una enfermedad hemorrágica viral altamente contagiosa con una letalidad excepcionalmente alta con una tasa de mortalidad de hasta el 100% en cerdos domésticos y jabalíes euroasiáticos, mientras que es asintomática en los huéspedes reservorios naturales. A pesar de su limitado rango de huéspedes y su potencial zoonótico ausente, su impacto socioeconómico es muy alto. Por esta razón, la enfermedad es de notificación obligatoria a la Organización Mundial de Sanidad Animal (OMSA). La enfermedad afecta a cerdos domésticos, huéspedes reservorios en la vida silvestre, es decir, jabalíes y otros cerdos asilvestrados, es transmitida por fómites inanimados (por ejemplo, cadáveres, hábitats contaminados, herramientas, otros vectores mecánicos) y vectores artrópodos competentes (garrapatas blandas). Las medidas de control se basan en altas medidas de bioseguridad (Blome *et al.* 2020).

La PPA ocasiona pérdidas económicas importantes que son inevitables en ausencia de una vacuna eficaz y los métodos disponibles para el control de la enfermedad son la cuarentena del área afectada y el sacrificio de los animales infectados (Galindo *et al.* 2017).

Las cepas de los virus se distinguen por su virulencia hacia los cerdos, lo cual varía desde altamente letal hasta una infección subclínica (los cuales se clasifican como virulencia alta, virulencia moderada y virulencia baja). Las cepas también pueden diferenciarse por sus secuencias genéticas y genotipificar por varios genes codificados,

como la proteína p72, sin embargo, la diversidad genómica del virus no se ha sido caracterizado por completo (Maclachlan N., Dubovi E. *et al.* 2017).

Los VPPA se han dividido en 24 genotipos diferentes clasificados por su gen B646L, que codifica la proteína p72 de la cápside (Gallardo *et al.* 2019).

Estructura y Propiedades Virales del VPPA

Los primeros estudios que utilizaron electroforesis en gel tanto unidimensional como bidimensional de partículas extracelulares altamente purificadas detectaron entre 34 y 54 polipéptidos con un tamaño de 10 a 150 kDa (Figura 6) (Alejo *et al.* 2018).

El genoma de VPPA consta de alrededor de 150 a 167 marcos de lectura abierto (ORF) (Figura 7). En algunas regiones del genoma, varios ORF consecutivos están en la misma cadena de ADN. Algunos de estos genes forman parte de familias multigénicas (MGF) que han evolucionado en el genoma del virus mediante un proceso de duplicación de genes y, en algunos ejemplos, transposición al otro extremo del genoma.

El número de ORF se basa en la definición de que el tamaño mínimo para una proteína codificada es de 60 aminoácidos y los ORF no se superponen. Por lo tanto, algunos ORF más pequeños pueden codificar proteínas funcionales, pero es posible que se hayan perdido en las anotaciones de secuencia actuales del genoma del VPPA. La información del mapa de transcripción del genoma de VPPA puede ayudar en la identificación de cualquier ORF (Figura 7) (Dixon *et al.* 2021).

La estructura y composición del VPPA (Figura 8) proporciona la distribución de 40 proteínas virales en los cinco dominios estructurales del virus. Se ha identificado la localización subviral de 40 proteínas virales entre los cinco dominios estructurales de la partícula de VPPA. La cubierta central está compuesta esencialmente por los productos maduros derivados del procesamiento proteolítico de las poliproteínas p220 (ORF CP2475L) y p62 (CP530R), que representan alrededor de un tercio de la masa total del virión, y la proteasa viral. La proteína de la cápside icosaédrica consiste en el componente mayoritario de la cápside, p72, y la proteína menor de la cápside, p49;

ambos involucrados en el ensamblaje de este dominio, así como la proteína pE120R, que media el transporte intracelular del virus. La envoltura interna contiene las proteínas necesarias para transformar y formar una membrana derivada del retículo endoplásmico en una membrana viral. Además, la membrana interna actúa como una estructura para soportar las múltiples interacciones necesarias para ensamblar la cápside externa y la cubierta del núcleo interno. Finalmente, esta membrana contiene la maquinaria de fusión necesaria para la liberación del núcleo citoplásmico que sigue a la entrada del virus. A diferencia de muchos otros virus envueltos, el proceso de gemación del VPPA no está asociado con el ensamblaje de una partícula infecciosa madura. De hecho, las partículas maduras intracelulares producidas en las fábricas de virus son infecciosas. Esto podría explicar, al menos en parte, la menor presencia de proteínas virales en la envoltura exterior. A pesar de esto, será muy relevante identificar en el futuro estudios específicamente dirigidos a los componentes de la membrana viral externa. Lo más probable es que estos estén involucrados en la salida del virus y la unión de los viriones extracelulares a la célula huésped, por lo que desempeñan un papel crucial en la diseminación y patogénesis del virus (Alejo *et al.* 2018).

Resistencia del VPPA en el Medio Ambiente y Productos y Subproductos Porcinos

El VPPA es estable en el medio ambiente debido a la resistencia a los extremos de pH y temperatura en relación con otros virus porcinos, sobrevive durante meses en productos porcinos contaminados y tiene el potencial de volverse endémico en los cerdos asilvestrados (Niederwerder *et al.* 2021).

El VPPA es estable en condiciones ambientales extremas, lo que permite que se propague y transmita fácilmente. Los modos de transmisión distintos al contacto directo con cerdos infectados, tejidos, canales o mordeduras de garrapatas blandas infectadas incluyen la importación de productos de cerdo infectados y la contaminación de fómites como alimentos, equipos, vehículos y ropa. El VPPA puede seguir siendo viable en una variedad de ingredientes de alimentos para animales en una variedad de condiciones ambientales, incluidas las características de las rutas de transporte transatlántico, y se ha demostrado experimentalmente la transmisión eficaz de enfermedades a través de

líquidos y alimentos para animales de origen vegetal contaminados con VPPA. El movimiento de productos porcinos contaminados y la alimentación con desperdicios de cerdos domésticos han sido factores epidemiológicos importantes en los brotes de VPPA en el Cáucaso y la Federación de Rusia, así como en la aparición de la enfermedad en China (Gaudreault *et al.* 2020).

Los tiempos de viabilidad del virus de la peste porcina africana en diferentes productos y ambientes se encuentran enlistados en el cuadro 2.

Gen B646L o Proteína p72

En 1990, López-Otín *et al.* secuenciaron y analizaron la longitud completa del gen que codifica la proteína p72, estableciéndolo como base de diagnóstico para el estudio del VPPA. En 1992, Steiger *et al.*, utilizó por primera vez la PCR para establecer una tecnología de diagnóstico rápido para identificar el VPPA. En 1996, Yu *et al.* compararon las secuencias de ácidos nucleicos y proteínas del gen de cuatro cepas aisladas de diferentes regiones y encontraron que la secuencia del gen era muy consistente entre las cepas teniendo 97.8% a 100% de homología (Qu *et al.* 2022).

La cubierta proteica más externa del virión presenta una cápside con estructura de forma icosaédrica ensamblada principalmente por la proteína p72 que codificada para el gen viral denominado B646L (Liu *et al.* 2019 y Muñoz, Tabarés *et al.* 2022). Además, la proteína p72 de la cápside principal es el componente estructural más dominante del virión y constituye aproximadamente entre el 31% al 33% de la masa total del virión, siendo uno de los principales antígenos detectados en cerdos infectados (Prabhakarareddy *et al.* 2021).

La estructura de p72 muestra que tres moléculas forman un pico trímero estable de ~85 Å de altura y ~85 Å de diámetro (Figura 9). El p72 purificado fue tratado a 96°C durante 10 min y posteriormente analizado. El análisis de la proteína tratada mostró que una gran parte de las puntas del trímero aún están intactas y estables, lo que indica la alta

estabilidad térmica de p72. Esa estabilidad sugiere el uso potencial de p72 como vacuna de subunidad (Liu *et al.* 2019).

La estructura de la cápside del VPPA es de hasta 4.1 angstroms (Å), está formada por 17,280 proteínas, incluida la proteína de la cápside mayor p72 y cuatro proteínas menores M1249L, p17, p49 y H240R (Figura 10) (Wang *et al.* 2019).

La comparación de secuencias del gen B646L de otras cepas de VPPA demostró que las proteínas p72 están altamente conservadas (97.8% –100% de identidad de secuencia de aminoácidos) entre las cepas de VPPA aisladas de diferentes partes del mundo. Este resultado es consistente con la fuerte identidad entre las secuencias codificantes de genes de las cepas BAV71 y E70, ya que solo se encontró una transición de adenina a guanina en el codón 409 entre ambas cepas virales. Esta mutación produce una sustitución de aspargina por ácido aspártico en la posición 409 del polipéptido p72. Esta fuerte conservación del gen codificante p72 se ha utilizado para definir los diferentes 24 genotipos virales de VPPA (Muñoz, Tabarés *et al.* 2022) (ver figura 35).

La fuerte conservación de la secuencia de la proteína p72 proporciona la base molecular de su estabilidad antigénica y se ha considerado un antígeno importante para el diagnóstico serológico debido a su alta inmunogenicidad. La proteína p72 es la proteína estructural principal y la que se expresa más abundantemente durante la infección (Muñoz, Tabarés *et al.* 2022). El uso de p72 purificado aumentó la fiabilidad del ELISA cuando se utilizó como antígeno, el análisis de la proteína p72 es importante para el control y erradicación de la PPA en España y otros países como Bélgica (Muñoz, Tabarés *et al.* 2022).

Los estudios realizados en el gen B646L determinan que el gen participa en la virulencia del huésped, por esta razón es importante estudiar su análisis evolutivo (Prabhakarareddy *et al.* 2021).

El gen B646L evolucionó muy rápidamente entre 2003 y 2020, lo que revela que el gen afecta el sistema inmunológico del VPPA. El estudio evolutivo del VPPA con la proteína p72 de los genes B646L indicó que desempeñan un papel vital en el proceso evolutivo (Prabhakarareddy *et al.* 2021).

Recientemente, se encontró una variación genética mediante el análisis epidemiológico molecular en p72 de 9.4% en diferentes secuencias de cepas de VPPA, de esta manera determinaron el genotipo y la variabilidad de las cepas de campo en los brotes del PPA (Qu *et al.* 2022).

Diversidad de Genotipos Virales

El genotipificado es la tecnología que detecta pequeñas diferencias genéticas que pueden conducir a cambios importantes en el fenotipo, incluidas tanto las diferencias físicas que los hacen únicos como los cambios patológicos subyacentes a la enfermedad. La genotipificación tiene una amplia gama de usos en la investigación científica básica, la medicina y la agricultura.

El genotipificado determina las diferencias en el complemento genético comparando una secuencia de ADN con la de otra muestra o una secuencia de referencia. Identifica pequeñas variaciones en la secuencia genética dentro de las poblaciones, como los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP). Los SNP son cambios de un solo par de bases en el ADN que ocurren en lugares específicos del genoma (Thermofisher).

Estudios publicados utilizaron la caracterización molecular de p72 para genotipificar aislados estrechamente relacionados e investigar la epidemiología molecular del virus (Alkhamis *et al.* 2018). El genotipificado del VPPA durante los brotes es importante para revelar o descubrir el origen del virus y diferenciar rápidamente entre cepas estrechamente relacionadas. La tipificación genética actual de los aislados del VPPA se basa en la secuenciación de nucleótidos del gen de la proteína de la cápside p72 (B646L) o la amplificación de polimorfismos de longitud completa de varias regiones genómicas (Mologolovkin *et al.* 2015).

Se han identificado 24 genotipos distinguibles mediante análisis de secuencia de nucleótidos de la región variable del gen B646L que codifica la proteína principal de la cápside p72 (Prabhakarareddy *et al.* 2021). Según el estudio hecho por Chao Ye y Tongqing An en 2019, descubrieron dos nuevos genotipos del VPPA denominados genotipo XXV y genotipo XXVI. Dentro de las 945 secuencias parciales de la p72 que se utilizaron para su análisis de genotipificación, detectaron todos los 24 genotipos e identificaron que ocho de los aislados pertenecían de China confirmando el genotipo II. Tres aislados de la isla de Cerdeña salieron diferentes que las otras 934 secuencias analizadas. El genotipo XXV contenía el único aislado 26/Ss/04 (no. de acceso FR668409) de Cerdeña, Italia; el genotipo XXVI consistió en dos aislados 13/Nu/04 (no. de acceso FR668404) y 48/Ss/08 (No. de acceso FR668418), que también se derivaron de Cerdeña, Italia. La alineación de secuencias múltiples de genes p72 parciales mostró que existían muchas mutaciones específicas en las secuencias de p72 correspondientes entre estos nuevos genotipos. Específicamente, se encontró hasta 37 mutaciones únicas en el gen p72 de 399 pb en aislados de genotipo XXVI. Dentro de la comunidad científica que investiga la variabilidad del VPPA, han publicado recientemente la identificación de 24 genotipos sin considerar el descubrimiento de los genotipos XXV y XXVI.

Actualmente los 24 genotipos del VPPA identificados mediante la secuenciación del gen p72, únicamente los genotipos I y el II, se han detectado fuera de África. Entre estos genotipos publicados, el genotipo II es actualmente el de mayor importancia mundial, debidos que es el genotipo principal de la pandemia porcina que se extiende desde Europa del Este hasta China y el Sudeste Asiático. (Njau *et al.* 2021)

Las figuras 11 y 12 demuestran la distribución geográfica de los diferentes genotipos del VPPA dentro del continente de África.

Recientemente los países donde se han identificados los últimos brotes son Papúa Nueva Guinea, India, Alemania, República Dominicana y Haití (Qu *et al.* 2022).

En América, el VPPA surgió a finales de los años 1970 en Brasil, Cuba y la isla del Caribe, con una erradicación total a principios de los años 1980. Sin embargo, el VPPA resurgió en el continente americano durante el año 2021. El Departamento de Agricultura de los

Estados Unidos (USDA) confirmó la presencia del VPPA en la República Dominicana el 28 de julio de 2021, mientras que el Departamento de Agricultura de República Dominicana diagnosticó diferentes brotes en al menos 22 de las 31 provincias del país en 2021. Según informó la OMSA, el genotipo II fue detectado en todas las muestras positivas (Ruiz-Sáenz *et al.* 2022).

El 20 de septiembre de 2021, el director Veterinario de Haití informó un nuevo caso de PPA a la OMSA, convirtiéndose en el segundo país con muestras positivas de PPA en las Américas. La muestra se recolectó en una granja de traspatio en una provincia fronteriza con la República Dominicana y fue analizada por los laboratorios del USDA a través de un programa de colaboración para realizar el diagnóstico. El informe presentado ante la OMSA indica que el brote en Haití comenzó a fines de agosto y mató a varios cerdos y para fines de octubre de 2021, se identificaron un total de siete brotes de PPA que afectaron a múltiples provincias en todo el país (Ruiz-Sáenz *et al.* 2022).

Epidemiología y Transmisión

Desde el punto de vista de la epidemiología, la PPA es compleja, con patrones de infección en África y Europa. La PPA tiene lugar por ciclos de transmisión en los que intervienen cerdos domésticos, jabalíes, suidos africanos salvajes y garrapatas blandas del género *Ornithodoros spp.* En regiones donde están presentes las garrapatas blandas *Ornithodoros*, la detección del VPPA en estos reservorios de la infección contribuye a un mejor entendimiento de la epidemiología de la enfermedad. Esto es muy importante para establecer programas de control y de erradicación eficaces (OMSA *et al.* 2021).

Un esquema del ciclo epidemiológico del VPPA se encuentra en la figura 13.

Agente

El VPPA está caracterizado como el único virus que tiene una transmisión vectorial por artrópodos (arbovirus) con un genoma de ADN de doble cadena (Niederwerder *et al.* 2021).

Reservorio

Las garrapatas *Ornithodoros moubata* están involucradas en el ciclo de transmisión selvática del virus en África y *O. erraticus* en Europa (Galindo *et al.* 2017). El VPPA se circula entre los cerdos y las garrapatas en el ciclo selvático natural de transmisión en África (Malogolovkin *et al.* 2019).

Hasta la fecha, se ha demostrado que ocho taxones de *Ornithodoros* son vectores competentes del VPPA, incluidos *O. maroccanus*, *O. puertoricensis*, *O. coriaceus*, *O. moubata porcinus*, *O. erraticus*, *O. moubata complex*, *O. turicata* y *O. savignyi*. Aunque publicaciones recientes de las garrapatas *O. erraticus* son competentes para replicar el genotipo II del VPPA, no logran transmitir las cepas del VPPA euroasiático a cerdos sin tratamiento previo en condiciones experimentales, lo que sugiere que otros determinantes más allá de la replicación viral también influyen en la competencia del vector del VPPA. Sin embargo, se ha demostrado también una infección exitosa de cerdos domésticos mediante la ingestión de garrapatas *O. erraticus* que se alimentaban de cerdos infectados con el VPPA, lo que sugiere que *O. erraticus* puede actuar como reservorio y sugiere nuevas rutas de transmisión (Ruiz-Sáenz *et al.* 2022).

En América, múltiples especies de *Ornithodoros* podrían considerarse vectores potenciales del VPPA. Al menos tres especies de *Ornithodoros* que se encuentran en Estados Unidos se consideran vectores competentes de alto riesgo (*O. coriaceus*, *O. turicata* y *O. puertoricensis*). Pero aún se desconoce si otras garrapatas blandas en América también pueden transmitir el VPPA. Es necesario aclarar el papel fundamental de ciertas especies de *Ornithodoros* en las Américas y el Caribe, ya que *O. puertoricensis* podría ser un vector eficaz para el VPPA (Ruiz-Sáenz *et al.* 2022).

Huéspedes Susceptibles

En África, la enfermedad es endémica y circula a través de un ciclo de infección que afecta a cerdos domésticos (*Sus scrofa domesticus*), jabalíes (*Phacochoerus larvatus*), facóqueros (*Phacochoerus aethiopicus*) y garrapatas blandas de la especie *Ornithodoros*. En áreas del Cáucaso, Europa del Este y los países bálticos, la

enfermedad circula entre los cerdos domésticos y los jabalíes europeos (*Sus scrofa*), causando síntomas clínicos y mortalidad similares en ambas poblaciones (Guinat *et al.* 2016).

Puerta de Entrada

Una vez que el virus se ha introducido en los cerdos domésticos, ya sea por la picadura de garrapatas infectadas o a través de la carne infectada, los animales infectados constituyen la fuente más importante de virus para los cerdos susceptibles dentro de la producción, pasando de un ciclo selvático convertido a un ciclo doméstico. Los títulos altos de virus están presentes en las excreciones nasofaríngeas durante el inicio de los signos clínicos, y el virus también está presente en otras excreciones, como las heces y la orina durante la enfermedad aguda. La enfermedad se propaga rápidamente por contacto directo y dentro de los edificios por aerosol. La propagación mecánica por personas, vehículos y fómites es posible debido a la estabilidad del virus en la sangre, las heces y los tejidos porcinos (Maclachlan N., Dubovi E. *et al.* 2017).

La propagación internacional del VPPA se ha relacionado con la alimentación con restos de carne cruda de cerdos infectados. Cuando el virus apareció en Portugal en 1957 y en Brasil en 1978, se notificó por primera vez en las áreas de los aeropuertos internacionales, entre cerdos alimentados con desechos del aeropuerto. Es muy probable que el virus que se propagó al Caribe y las islas del Mediterráneo en 1978 se debió a la alimentación de cerdos con desechos de alimentos infectados de los barcos. El análisis genético ha revelado que la fuente del virus responsable del brote en Georgia en 2007 fue casi con certeza la alimentación de los cerdos locales con desechos de alimentos infectados de los barcos en los puertos del Mar Negro, que habían viajado allí desde el sudeste de África (Maclachlan N., Dubovi E. *et al.* 2017).

Modo de Transmisión

El VPPA es altamente patógeno y provoca hemorragias generalizadas y tasas de mortalidad cercanas al 100 % en los cerdos infectados.

Las vías de transmisión del VPPA son diversas e incluyen vías de contacto directo e indirecto. Los cerdos domésticos se infectan directamente por otros cerdos domésticos o salvajes infectados y mordeduras de garrapatas blandas infecciosas. Indirectamente, hay transmisión con fómites infecciosos y el consumo de desperdicios o alimentos contaminados (Niederwerder *et al.* 2021). Los movimientos comerciales de animales infecciosos y productos porcinos contaminados, y la eliminación inadecuada de cadáveres contaminados también representan rutas importantes para la propagación de enfermedades (Guinat *et al.* 2017).

Ocurren dos patrones distintos de transmisión: un ciclo selvático en jabalíes y garrapatas en África, y ciclos enzoóticos o domésticos entre cerdos domésticos (Figura 14) (Maclachlan N., Dubovi E. *et al.* 2017).

Ciclo Selvático

En su nicho ecológico original en el sur y el este de África, el VPPA se mantiene en un ciclo selvático que implica una infección asintomática en cerdos salvajes (jabalíes) de la especie *Phacochoerus africanus* y garrapatas argásidas (garrapatas blandas, del género *Ornithodoros*), que se replican en las madrigueras utilizadas por estos animales. Las garrapatas son vectores biológicos del virus (Figura 14B). La mayoría de las poblaciones de garrapatas en el sur y el este de África están infectadas, con tasas de infección de hasta el 25% (Maclachlan N., Dubovi E. *et al.* 2017).

Después de alimentarse de cerdos virémicos, el virus se replica en el intestino de la garrapata y posteriormente infecta su sistema reproductivo, lo que conduce a la transmisión transovárica y venérea del virus (Figura 14C). El virus también se transmite entre las etapas de desarrollo de la garrapata (transmisión transestadial) y se excreta en la saliva, el líquido coxal y el excremento de Malpighian de la garrapata. Las garrapatas infectadas pueden vivir varios años, pueden sobrevivir durante largos períodos de tiempo sin ingerir sangre y son capaces de transmitir el virus a los cerdos en cada alimentación de sangre (Maclachlan N., Dubovi E. *et al.* 2017 y Gaudreault *et al.* 2020).

Los estudios serológicos indican que muchas poblaciones de jabalíes en el sur y el este de África están infectadas. Después de la infección primaria, los jabalíes jóvenes desarrollan una viremia suficiente para infectar al menos a algunas de las garrapatas que se alimentan de ellos, significando que los jabalíes africanos se infectan con el VPPA de la garrapata tanto como la garrapata se infecta de los jabalíes. Los jabalíes más viejos están persistentemente infectados, pero rara vez son virémicos. Por lo tanto, es probable que el virus se mantenga en un ciclo que involucre garrapatas y jabalíes jóvenes (Maclachlan N., Dubovi E. *et al.* 2017).

En Europa, Asia y África, el VPPA se transmite fácilmente entre cerdos domésticos a través del contacto directo y productos porcinos y fómites contaminados. En Europa y Asia, la transmisión bidireccional entre cerdos y verracos puede ocurrir en la interfaz entre el ganado y la vida silvestre, especialmente donde existe una bioseguridad deficiente en la granja. La transmisión entre jabalíes es capaz de mantener y propagar el virus en grandes áreas geográficas. El VPPA puede transmitirse entre garrapatas blandas del género *Ornithodoros* especie *erraticus* y cerdos domésticos, las garrapatas blandas pueden servir como reservorios persistentes del virus, como se ha visto en la Península Ibérica. Hay poca evidencia que respalde la transmisión entre garrapatas blandas y jabalíes euroasiáticos y cerdos domésticos en epidemias europeas y asiáticas contemporáneas (Figura 14A) (Gaudreault *et al.* 2020).

El ciclo selvático en África involucra la transmisión de virus entre jabalíes juveniles (*Phacochoerus africanus*) y garrapatas blandas (*Ornithodoros moubata*). Las garrapatas infectadas transmiten VPPA a los jabalíes juveniles cuando se alimentan de sangre, y las garrapatas no infectadas se infectan después de alimentarse de jabalíes juveniles virémicos, mientras que los jabalíes adultos generalmente no mantienen altos niveles de viremia y son huéspedes sin salida ("dead-end hosts, en inglés).

El ciclo selvático se ha documentado principalmente para países del sur y este de África. Los jabalíes jóvenes que habitan en madrigueras están infectados por garrapatas blandas portadoras del virus, y la transmisión a garrapatas no infectadas ocurre cuando las garrapatas se alimentan de sangre de jabalíes jóvenes virémicos (Figura 14B) (Gaudreault *et al.* 2020).

En África, el VPPA se mantiene principalmente en un ciclo selvático entre las garrapatas blandas *Ornithodoros* y los facóqueros (*Phacochoerus africanus*); los jabalíes se vuelven virémicos, pero no desarrollan la enfermedad clínica después de la infección (Figura 14C) (Gaudreault *et al.* 2020).

Se requieren títulos de sangre de jabalí al menos 10^3 HAD₅₀/mL para infectar a las garrapatas, lo que generalmente solo se logra en jabalíes jóvenes en comparación con los adultos que rara vez tienen títulos de VPPA por encima de 10^2 HAD₅₀/mL. Otros suidos salvajes en África, como los jabalíes (*Potamochoerus larvatus*), también pueden infectarse y transmitir el VPPA, pero generalmente se considera que desempeñan un papel menor en comparación con los jabalíes en el ciclo selvático, ya que sus comportamientos son menos propicios para las interacciones con las garrapatas blandas; solo se ha informado una incidencia de infección en un cerdo gigante del bosque (*Hylochoerus meinertzhageni*) (Gaudreault *et al.* 2020).

Ciclo Garrapata-Cerdo Doméstico

Las garrapatas blandas *Ornithodoros*, *O. moubata* en África y *O. erraticus* en Europa, son capaces de transmitir el VPPA a los cerdos domésticos (*Sus scrofa domesticus*) y pueden infectarse después de alimentarse de animales virémicos. En África y Madagascar, se ha aislado de garrapatas *O. moubata* en pocilgas y granjas de cerdos donde se han presentado brotes de peste porcina africana, incluidos sitios donde hay poco o ningún contacto entre cerdos salvajes y domésticos, lo que sugiere un papel importante de las garrapatas blandas en el mantenimiento de la enfermedad en estas áreas. También se observó un patrón similar en la Península Ibérica, donde las garrapatas *O. erraticus* se asociaron con la persistencia del VPPA (Gaudreault *et al.* 2020).

Ciclo Doméstico

Los brotes primarios de PPA en cerdos domésticos en África probablemente se deban a que los cerdos se infectaron con garrapatas que habían sido transportadas por jabalíes vivos o sus cadáveres, o porque los cerdos se infectaron a través del consumo de tejidos

de cerdos domésticos o jabalíes con infección aguda. La introducción del virus en un país previamente no infectado puede provocar la transmisión entre cerdos, así como la infección de garrapatas autóctonas. Se ha demostrado que varias especies de garrapatas blandas *Ornithodoros*, que se encuentran en asociación con cerdos domésticos y silvestres en el hemisferio occidental, son capaces de transmitir biológicamente el virus, aunque no hay evidencia de que se hayan infectado durante las epizootias en el Caribe y el Sur de América (Maclachlan N., Dubovi E. *et al.* 2017).

El VPPA puede transmitirse por contacto directo entre animales infectados y por la ingestión de carne de cerdo infectada u otros materiales contaminados. Los fómites como la ropa, los camiones de transporte o los suministros de alimentos pueden actuar como fuente de infección. Los vectores de garrapatas blandas de *Ornithodoros spp.* juegan un papel importante en la transmisión en el hábitat de los jabalíes. También pueden desempeñar un papel en la transmisión en granjas porcinas en las regiones donde están presentes. Se ha demostrado la transmisión de animales persistentemente infectados a animales no infectados. Sin embargo, falta evidencia de un papel del estado de portador a largo plazo en la transmisión de PPA en el campo (Dixon *et al.* 2020).

Ciclo Cerdo Doméstico-Jabalí

Los cerdos domésticos transmiten fácilmente el VPPA a otros cerdos susceptibles, y los brotes de cepas virulentas muestran altos niveles de morbilidad y mortalidad. El contacto directo con cerdos infectados propaga la enfermedad de manera efectiva a otros cerdos salvajes y domésticos; sin embargo, se han observado niveles variables de eficiencia de transmisión para cepas de virulencia alta, moderada y baja, probablemente debido a las diferencias en los niveles de viremia y eliminación del virus. La sangre, los fluidos corporales, las heces y los cadáveres de cerdos infectados sirven como rutas indirectas de infección. Los animales que se recuperan de la infección con cepas de virulencia baja o moderada pueden convertirse en portadores subclínicos potencialmente capaces de propagar el virus a otros cerdos. El movimiento ilegal de cerdos infectados por productores o productos porcinos ha jugado un papel importante en los brotes de PPA en África, Europa y Asia (Gaudreault *et al.* 2020).

Los jabalíes euroasiáticos son muy susceptibles a los aislados virulentos del genotipo II del VPPA que circula en Europa, y el contacto entre los jabalíes infectados y los cerdos domésticos ha sido un factor importante que contribuye a su propagación en Europa del Este, el Cáucaso y la Federación Rusa, donde las pequeñas granjas porcinas de traspatio con poca bioseguridad son comunes. El VPPA se ha detectado en jabalíes en toda Europa central y oriental, y tan al oeste como Bélgica. La existencia de una población de cerdos salvajes geográficamente distribuidos en la que el VPPA puede circular plantea un desafío significativo para los esfuerzos de control y erradicación de la enfermedad (Gaudreault *et al.* 2020).

Puerta de Salida

La transmisión del VPPA se perdura debido al contacto con las excreciones oronasales, heces, orina, tejidos de la carne de cerdo y sangre, de los cuales las garrapatas se alimentan.

Los cerdos salvajes (como jabalíes) y las garrapatas blandas del género *Ornithodoros* se consideran huéspedes naturales del VPPA en África. Hasta la fecha, más de 10,000 brotes de PPA han causado la muerte o el sacrificio de más de 2 millones de animales en todo el mundo, entre los cuales Asia tenía la mayor pérdida de animales (más de 1.7 millones) de acuerdo con la OMSA en 2019 (Wang *et al.* 2020).

Sin embargo, las diferentes especies de jabalíes tienen diferentes características epidemiológicas, las cuales están descritas en el cuadro 3.

Es importante aclarar que la PPA no es una enfermedad zoonótica y no afecta a la salud pública (OMSA *et al.* 2021).

Patogenia y Replicación

El ciclo infeccioso de VPPA comienza con la adsorción viral y la entrada en la célula huésped. Las células diana naturales del VPPA son macrófagos, monocitos de tejidos

linfáticos y megacariocitos y leucocitos polimorfonucleares presentes en la sangre y en la médula ósea (Muñoz-Moreno *et al.* 2015).

Se pudo demostrar en lechones recién nacidos que la viremia primaria ocurre aproximadamente 8 horas pos-infección. La viremia secundaria se detecta de 15 a 24 h post infección y después de 30 horas, el virus se encuentra en casi todos los órganos. Durante la viremia, los aislamientos de VPPA hemoadsorbentes se encuentran asociados con eritrocitos, pero también con linfocitos y neutrófilos. La infección se correlaciona con una amplia gama de síndromes clínicos, desde una enfermedad casi inaparente hasta una fiebre hemorrágica similar a una enfermedad con alta mortalidad (Blome *et al.* 2013).

El VPPA ingresa a los macrófagos y monocitos a través de la endocitosis mediada por receptores. Sin embargo, aún se desconocen los receptores del virus. La infección exitosa de macrófagos porcinos por el VPPA está relacionada con la expresión del receptor eliminador de CD163. Además, los anticuerpos contra CD163 pueden inhibir la unión viral a macrófagos. Otras proteínas del VPPA como p30 son importantes para la replicación viral, mientras que otras como p12 y p54 se han identificado asociadas con la unión viral (Muñoz-Moreno *et al.* 2015).

En la actualidad se acepta que la destrucción masiva de macrófagos juega un papel importante en la patogénesis, especialmente en la hemostasia alterada debido a la liberación de sustancias activas que incluyen citocinas, factores del complemento y metabolitos del ácido araquidónico. Los cerdos infectados con VPPA generalmente sufren de linfopenia severa que podría atribuirse a la apoptosis de los linfocitos. La producción de citocinas proinflamatorias por macrófagos infectados está fuertemente implicada en la inducción de apoptosis en poblaciones de linfocitos. Las formas crónicas de PPA también podrían tener un componente autoinmune, y las lesiones podrían resultar en el depósito de inmunocomplejos en tejidos tales como riñones, pulmones y piel con su posterior unión al complemento (Blome *et al.* 2013).

También se han investigado otros mecanismos que incluyen la fagocitosis y la entrada no mediada por receptores por macropinocitosis. La macropinocitosis es la captación no

selectiva de moléculas dependiente de actina y es utilizada por varios virus de ADN grandes, incluidos los poxvirus y los herpesvirus. Aparentemente, el VPPA también utiliza la macropinocitosis, demostrada mediante el uso de inhibidores químicos, viriones marcados purificados y microscopía electrónica fluorescente y de transmisión para monitorear eventos tempranos de infección en macrófagos porcinos (Gaudreault *et al.* 2020).

La infección por el VPPA en cerdos domésticos produce leucopenia, linfopenia, trombocitopenia y apoptosis tanto de linfocitos como de células fagocíticas mononucleares. La capacidad del virus inducir eficazmente la citopatología en los macrófagos es un factor crítico en la virulencia viral. En los macrófagos infectados, el virus inhibe eficazmente la expresión de citocinas proinflamatorias como el factor de necrosis tumoral (TNF), el interferón tipo 1 (IFN) y la interleucina-8, pero induce la expresión del factor de crecimiento transformante β . Sin embargo, también se ha informado un aumento de la expresión de TNF después de la infección por el virus de la PPA *in vitro* e *in vivo* (Maclachlan N., Dubovi E. *et al.* 2017).

Presentaciones Clínicas y Lesiones Patológicas del VPPA

Tanto en los cerdos domésticos como en los jabalíes, los signos clínicos de la PPA varían considerablemente, desde muertes hiperagudas hasta cursos inaparentes, y se correlacionan con una amplia gama de observaciones patomorfológicas. Los informes sobre cerdos domésticos naturalmente resistentes en África siguen discutiéndose controvertidamente y no parecen tener una correlación genotípica ya que la descendencia de cerdos menos susceptibles no hereda esta ventaja. Tras la infección con una cepa virulenta, se desarrollan signos clínicos después de un período de incubación de 2 a 7 (rara vez hasta 14) días. Pueden incluir fiebre alta, piel enrojecida, depresión severa, anorexia, conjuntivitis, vómitos, diarrea acuosa a sanguinolenta, frecuencia respiratoria y del pulso acelerada, aborto en cerdas preñadas, cianosis y falta de coordinación. Las formas letales agudas pueden acompañarse de lesiones hemorrágicas (petequias, epistaxis). Las características son trombocitopenia, hemorragias petequiales y permeabilidad vascular aparentemente aumentada con extravasación de componentes sanguíneos. En cursos de enfermedad menos agudos,

se observan con frecuencia signos respiratorios (tos, estornudos y disnea) y lesiones gastrointestinales (principalmente diarrea acuosa pero también estreñimiento). Dependiendo de la virulencia de la cepa, la mortalidad oscila entre el 3 y el 100% (Blome *et al.* 2013).

La cepa del VPPA que actualmente afecta a los países transcaucásicos, Rusia y Ucrania, es altamente virulenta y conduce al cuadro clínico mencionado anteriormente con fiebre alta, enrojecimiento de la piel y cianosis, especialmente al agitarse, depresión severa hasta somnolencia, anorexia, catarro leve, conjuntivitis, vómitos, diarrea acuosa, frecuencia respiratoria y del pulso acelerada, y ataxia o falta de coordinación antes de la muerte. En estos estudios se pudo demostrar que el curso clínico en cerdos domésticos era independiente de la vía de infección (oronasal, intramuscular o infección por contacto directo con compañeros de corral infectados). En todas las infecciones experimentales, la mortalidad fue del 100% en menos de 10 días. Se observó un cuadro similar con la infección oral o intramuscular del jabalí europeo, aunque no se pudo evaluar el color de la piel ni la perfusión. En el jabalí predominaron los signos clínicos de la depresión severa, la anorexia, la diarrea y la dificultad respiratoria. Además, en algunos casos se observaron síntomas del sistema nervioso central, como ataxia y convulsiones, así como epistaxis, antes de la muerte (Blome *et al.* 2013).

Al igual que los principales signos clínicos, los hallazgos patológicos varían considerablemente según el curso de la enfermedad. Las lesiones observadas con frecuencia en los cerdos domésticos incluyen ganglios linfáticos gastrohepáticos y renales agrandados y hemorrágicos, esplenomegalia con focos necróticos, petequias en los riñones, equimosis en las serosas, hemorragias alveolares y edema de los pulmones. Las infecciones secundarias pueden complicar el cuadro clínico y patomorfológico. Lo mismo se observa en jabalíes europeos de todas las edades tras una infección muy virulenta en condiciones experimentales, y también en otros jabalíes. Los datos de campo mostraron que todos los cursos de la enfermedad, incluidos los casi inaparentes, son posibles. Hallazgos patológicos característicos en jabalíes europeos se representan en las figuras 15 y 16 (Blome *et al.* 2013).

En los casos agudos en cerdos domésticos, las lesiones macroscópicas son más prominentes en los sistemas linfoide y vascular. Las hemorragias ocurren ampliamente y los ganglios linfáticos viscerales pueden parecerse a coágulos de sangre. Hay petequias marcadas de todas las superficies serosas, ganglios linfáticos, epicardio y endocardio, corteza renal y vejiga, y edema y congestión del colon y los pulmones. El bazo suele ser grande y friable, y hay hemorragias petequiales en la corteza del riñón. La enfermedad crónica se caracteriza por úlceras cutáneas, neumonía, pericarditis, pleuritis y artritis (Figura 17) (Maclachlan N., Dubovi E. *et al.* 2017).

La PPA puede tener diferentes presentaciones clínicas y lesiones patológicas, dependiendo de la virulencia del virus identificado o aislado, la dosis y vía de infección, así como las características del huésped. La presentación clínica de la PPA en una granja a pequeña escala con una dosis baja de infección por el virus no provocará una alta mortalidad ni signos clínicos característicos, excepto fiebre y muertes con algunos ganglios hemorrágicos. Habitualmente, a los pocos días, debido al aumento de la circulación viral, se observan infecciones más explosivas con mayor mortalidad y signos clínicos y lesiones característicos. Por lo tanto, todo animal muerto que presente fiebre en un área de alto riesgo debe ser examinado para PPA (Sánchez-Vizcaíno *et al.* 2015).

Las cepas del VPPA generalmente se clasifican como altamente virulentas, moderadamente virulentas y poco virulentas. Las cepas altamente virulentas suelen ser responsables de dos formas hiperaguda y aguda. En la presentación hiperaguda los cerdos mueren rápidamente en 1 a 4 días después de la infección (dpi), mientras que en la presentación aguda los animales mueren entre los 3 a 8 dpi de presentarse la enfermedad.

Las cepas moderadamente virulentas están implicadas en las formas aguda y subaguda. En la presentación aguda la mortalidad se presenta entre los 11 y 15 dpi. En la presentación subaguda los cerdos mueren después de 20 dpi.

En términos clínicos, la PPA aguda se desarrolla en un período de 7 días, en comparación con los 10 a 20 días de la forma subaguda de la enfermedad. La PPA

crónica se ha asociado con la infección por aislados de virulencia moderada a baja, que solo se describieron en España, Portugal y República Dominicana cuando la infección por PPA en estas áreas era endémica. Las principales lesiones observadas en las diferentes formas de PPA se resumen en el cuadro 4. (Sánchez-Vizcaíno *et al.* 2015)

Existe otra descripción de las presentaciones clínicas propuestas por Salguero *et al.* 2020, en donde la presentación clínica y las lesiones patológicas macroscópicas de la PPA en cerdos domésticos pueden variar según la virulencia del virus aislado, la vía y la dosis de infección y las características del huésped. Los cursos clínicos observados en la PPA en cerdos domésticos pueden describirse como hiperagudos, agudos, subagudos o crónicos.

Los jabalíes y los cerdos salvajes también son susceptibles a esta enfermedad, especialmente los euroasiáticos, presentan signos clínicos y tasas de mortalidad similares a las observadas en cerdos domésticos. Al contrario de los cerdos salvajes de África, tales como el jabalí africano facóquero (*Phacochoerus aethiopicus*), el potamoquero (*Potamochoerus porcus*) y el cerdo gigante de bosque (*Hylochoerus meinertzhageni*), estos cerdos son resistentes a la enfermedad y muestran pocos o ningún signo clínico (OMSA *et al.* 2021).

Las formas aguda y sobreaguda de la PPA en cerdos susceptibles se caracterizan por una enfermedad hemorrágica grave con alta mortalidad. Después del período de incubación se desarrolla la enfermedad con la presencia de fiebre entre 40.5-42°C, que persiste durante unos 4 días. A partir de los 12 días posteriores al inicio de la fiebre, hay inapetencia, incoordinación y postración. Los cerdos pueden morir en esta etapa sin otros signos clínicos. En algunos cerdos hay disnea, vómitos, secreción nasal y conjuntival, enrojecimiento o cianosis de las orejas, en el hocico y el cuerpo, presentan sangrado por la nariz y el ano. Las cerdas gestantes pueden tener abortos. La mortalidad suele ser del 100%, y los cerdos domésticos mueren dentro de los 13 días posteriores al inicio de la fiebre. Los facóqueros adultos infectados no desarrollan enfermedad clínica (Maclachlan N., Dubovi E. *et al.* 2017). Los VPPA producen una serie de síndromes que oscilan entre la enfermedad sobreaguda, aguda y crónica, así como infecciones subclínicas. Los cerdos son la única especie de animales domésticos que resulta infectada de forma

natural por el VPPA. Estas especies de cerdos salvajes actúan como reservorios del VPPA en África. El período de incubación en la naturaleza es, por lo general de 4-19 días (OMSA *et al.* 2021).

Las cepas más virulentas producen una enfermedad hemorrágica sobreaguda o aguda caracterizada por fiebre elevada, pérdida de apetito, hemorragias cutáneas y de los órganos internos, y muerte a los 4-10 días, algunas veces incluso antes de que se observen los primeros signos clínicos. Las tasas de mortalidad pueden alcanzar el 100%. Las cepas menos virulentas producen signos clínicos leves – fiebre ligera, reducción del apetito y decaimiento – que pueden confundirse fácilmente con muchos otros trastornos de los cerdos y no llevar a la sospecha de PPA. Se ha comprobado que las cepas con virulencia moderada inducen formas variables de la enfermedad, que oscilan entre agudas y subagudas hasta crónica. Las cepas de baja virulencia y no hemoabsorbentes ocasionalmente producen principalmente una infección subclínica no hemorrágica y seroconversión, pero algunos animales pueden desarrollar lesiones delimitadas en los pulmones o en la piel en áreas con salientes óseos y otras zonas susceptibles a los traumatismos. Los animales que se han recuperado de infecciones agudas, subagudas o crónicas pueden potencialmente llegar a quedar infectados de forma persistente y actuar como portadores del virus (OMSA *et al.* 2021).

En los cerdos domésticos y los jabalíes europeos, el virus de la peste porcina africana provoca una fiebre hemorrágica aguda que provoca la muerte de la mayoría de los animales infectados. El cuadro clínico agudo consiste en fiebre, pérdida de apetito, inactividad y apatía. Estos síntomas se correlacionan con leucopenia temprana, linfopenia y cambios en el número de monocitos. La gravedad y la distribución de las lesiones pueden cambiar según la virulencia del virus e incluir algunas cepas moderadamente virulentas que provocan síntomas subagudos o asintomáticos con niveles más bajos de mortalidad (40 a 60%). Por el contrario, la enfermedad crónica, que rara vez se presenta en brotes, se caracteriza por inflamación de las articulaciones y síntomas respiratorios (Muñoz-Moreno *et al.* 2015).

La infección por PPA puede producir una variedad de presentaciones clínicas que van desde enfermedad crónica, subclínica o de bajo nivel hasta fiebre hemorrágica y muerte

hiperaguda, según la cepa viral y la susceptibilidad del huésped. Los estudios de aislados del genotipo II euroasiático altamente virulentos han producido tasas de mortalidad del 100% en cerdos domésticos y jabalíes, y la enfermedad progresa rápidamente desde síntomas clínicos inespecíficos fiebre, depresión, anorexia y diarrea o incluso ocasionar la muerte. Por el contrario, los aislados de genotipo I no patógenos OUR T88/3 y OUR T88/4 obtenidos de garrapatas *O. erraticus* en una granja en Portugal no producen enfermedad clínica después de la infección experimental de cerdos. La cepa NH/P68 del genotipo I del VPPA, aislada de un cerdo con infección crónica, es otro ejemplo de una cepa no letal del virus que se produce de forma natural. Sin embargo, las cepas atenuadas de PPA, incluidas OUR T88/3 y NH/P68, pueden causar una infección crónica en algunos cerdos y se han asociado con lesiones crónicas que afectan la piel y las articulaciones. Previamente se han descrito poblaciones porcinas que muestran una mayor resistencia a la PPA; sin embargo, la descendencia de estos cerdos criados en instalaciones de cuarentena no mostró diferencias en las tasas de supervivencia en comparación con los animales susceptibles no seleccionados después del desafío, lo que sugiere que la resistencia no es directamente hereditaria. Por lo tanto, los resultados clínicos de la infección por PPA están influenciados por una variedad de factores del huésped, del virus y epidemiológicos (Gaudreault *et al.* 2020).

Híperaguda

Las cepas altamente virulentas son típicamente responsables de este curso clínico, caracterizado por un curso clínico muy rápido, con fiebre alta hasta 42°C, anorexia, letargia (Salguero *et al.* 2020), hiperpnea, hiperemia cutánea (Sánchez-Vizcaíno *et al.* 2015) y a veces, muerte súbita sin signos de enfermedad. Esto se observa a menudo cuando el virus ingresa a una granja susceptible, causando la muerte de algunos animales antes de la explosión de casos clínicos. Algunos animales pueden mostrar dificultad respiratoria debido a la fiebre alta, pero generalmente no se encuentran lesiones graves en el examen *post mortem* (Salguero *et al.* 2020).

Los animales generalmente mueren repentinamente 1 a 4 días después del inicio de los signos clínicos y no se evidencian lesiones en los órganos (Sánchez-Vizcaíno *et al.* 2015).

Aguda

Esta forma clínica es causada por aislamientos de alta o moderadamente virulentos, y es el curso típico que se observa en granjas de pequeña escala después de que se notifican los primeros casos fatales. El curso clínico se caracteriza por fiebre alta, con temperaturas de 40 a 42°C, letargia, anorexia e inactividad (Figura 18A). Los animales afectados tienden a agruparse. Muchos animales afectados muestran una cianosis centrípeta, que se encuentra fácilmente en las orejas (Figura 18B), hocico (Figura 18C), extremidades (Figura 18D), abdomen, cola y área perianal. Generalmente se observa dificultad respiratoria, con edema pulmonar severo en animales afectados por aislamientos altamente patógenos. Las lesiones cutáneas son frecuentes, con presencia de hemorragias petequiales o equimosis (Figura 18E). Otros signos clínicos pueden incluir secreciones nasales, a veces teñidas de sangre (epistaxis), vómitos y diarrea, que también pueden teñirse de sangre (melena), provocando manchas de color negro en la zona perianal del animal (Figura 18F). Pueden ocurrir abortos en cerdas gestantes y las tasas de mortalidad pueden alcanzar hasta el 100% en las granjas afectadas dentro de los 7 días posteriores al inicio de la enfermedad (Salguero *et al.* 2020). Los animales afectados mueren en estado de shock, generalmente 1 semana después de que comienza la fiebre y generalmente se observa espuma alrededor de la boca y la nariz (Sánchez-Vizcaíno *et al.* 2015).

En el examen *post mortem*, la lesión más característica de la PPA aguda es la esplenomegalia hemorrágica, con un bazo muy agrandado, de color oscuro y friable al corte, ocupando un gran espacio dentro de la cavidad abdominal (Figura 19A y 19B). La segunda lesión más importante descrita en la PPA aguda es una linfadenitis hemorrágica multifocal. Los ganglios linfáticos pueden tener hemorragias multifocales o extensas que pueden producir una apariencia marmórea (Figura 19D). Los ganglios linfáticos más afectados son el gastrohepático (Figura 19E), renal (Figura 19F), y otros ganglios

abdominales como el ileocecal (Figura 19G) y el mesentérico (Figura 19H). También se pueden observar hemorragias con menor frecuencia en otros ganglios linfáticos, como el submandibular, retrofaríngeo o inguinal.

A veces se observan hemorragias petequiales en la superficie renal (Figura 20A). También se pueden observar otras lesiones, en su mayoría hemorragias en la mucosa o serosa de otros órganos, como el intestino grueso (Figura 20E) y delgado (Figura 20F), el epicardio en el corazón (Figura 20G), o la vejiga urinaria (Figura 20H) (Salguero *et al.* 2020).

Subaguda

Esta forma clínica se suele observar en animales infectados por aislados moderadamente virulentos, con signos clínicos similares a los observados en la PPA aguda, aunque normalmente menos marcados. Los cerdos afectados muestran fiebre moderada a alta y la tasa de mortalidad oscila entre el 30 y el 70%, y los cerdos mueren entre los 7 y los 20 días después de la infección (Salguero *et al.* 2020).

Los cambios vasculares, en su mayoría hemorragias y edema, en la forma subaguda de la enfermedad pueden ser más intensos que en la forma aguda (Salguero *et al.* 2020).

La muerte de los animales afectados puede ocurrir en dos etapas diferentes: durante una trombocitopenia y leucopenia inicial, o durante una fase de "recuperación", observada en animales jóvenes, causando eritrodiapédesis inducida por vasodilatación (Salguero *et al.* 2020).

En la necropsia los animales presentan hidropericardio (Figura 18G), ascitis (Figura 18H) y edema multifocal, muy característico en la pared de la vesícula biliar o en la grasa perirrenal (Figura 20B). Algunos animales pueden mostrar esplenomegalia hemorrágica como se describe para la forma aguda de la enfermedad, pero muchos animales mostrarán esplenomegalia parcial, con parches de bazo afectados y otras áreas no afectadas (Figura 19C). También se puede observar una linfadenitis hemorrágica multifocal con múltiples ganglios linfáticos en todas las áreas del cuerpo mostrando las hemorragias y la apariencia de "mármol", hemorragias petequiales en el riñón, neumonía

multifocal con parches de consolidación y color oscuro en el pulmón (Figura 20C y 20D). Esta lesión también puede atribuirse a infecciones secundarias debido al estado de inmunosupresión inducido por el VPPA (Salguero *et al.* 2020).

Se observan hemorragias relacionadas con el desarrollo de trombocitopenia intensa, aunque transitoria, en etapas tempranas y medias de la enfermedad. El aborto suele ser el primer signo clínico de estas formas. Los supervivientes suelen recuperarse en 3 o 4 semanas. Los cerdos recuperados aún pueden excretar el virus hasta 6 semanas después de la infección (Sánchez-Vizcaíno *et al.* 2015).

Los cerdos que padecen la forma subaguda de PPA presentan fiebre de moderada a alta, ascitis, hidropericardio y edema característico de la pared de la vesícula biliar y del conducto biliar (Figura 21A), así como en el área circundante de los riñones (edema perirrenal). (Figura 21B). El bazo suele presentar una esplenomegalia hiperémica parcial inicial (Figura 21C) que se revierte progresivamente dejando algún daño focal, que finalmente desaparece, o infarto focal con diferentes estadios de organización. Los ganglios linfáticos, principalmente los ganglios gastrohepáticos (Figura 21D) y renales (Figura 21E), así como los ganglios submandibulares, retrofaríngeos, mediastínicos, mesentéricos e inguinales, son hemorrágicos, edematosos y friables, por lo que suelen tener un aspecto oscuro con hematomas rojos. Las hemorragias renales (Figura 21F) son más intensas (petequias y equimosis) y más extensas (corteza, médula y pelvis) que en las formas agudas, pero no se relacionan con las lesiones endoteliales descritas en la PPA aguda (Sánchez-Vizcaíno *et al.* 2015).

Crónica

Esta forma clínica se caracteriza por necrosis multifocal en la piel y artritis, dificultad respiratoria y aborto. No se observan cambios vasculares en la forma crónica de PPA, y muchas lesiones observadas están asociadas con infecciones bacterianas secundarias, que inducen poliserositis fibrinosa, neumonía necrótica o crónica, necrosis de la piel, lengua y amígdalas (Salguero *et al.* 2020).

A diferencia de otras formas de PPA, las formas crónicas se caracterizan por la ausencia de lesiones vasculares y por la presencia de lesiones en las que intervienen bacterias, como pleuritis y/o pericarditis fibrinosa, adherencias pleurales, neumonía necrótica, artritis/periartrosis fibrinosa y piel necrótica, así como áreas necróticas en las amígdalas y la lengua. Esta forma de la infección no está actualmente en circulación (Sánchez-Vizcaíno *et al.* 2015).

Diagnóstico del VPPA

Como se discutió anteriormente, durante las primeras etapas de la PPA, particularmente cuando se ven afectados pocos animales, el diagnóstico no es sencillo. La presencia de lesiones inespecíficas y un pequeño porcentaje de muertes pueden confundirse fácilmente con otras enfermedades hemorrágicas porcinas. Por lo tanto, los diagnósticos diferenciales basados en las lesiones macroscópicas incluyen las siguientes enfermedades rojas de los cerdos: peste porcina clásica (CSF) también llamada “cólera porcino”, síndrome reproductivo y respiratorio porcino de alta patogenicidad (HP-PRRS), erisipela porcina (*Erysipelothrix rhusiopathiae*), salmonelosis septicémica (*Salmonella choleraesuis*) y síndrome de nefropatía y dermatitis porcina (PDNS). Las características específicas de estos diagnósticos diferenciales y las descripciones de cada enfermedad, enfatizando las similitudes y diferencias con la PPA se resumen en el cuadro 5 (Sánchez-Vizcaíno *et al.* 2015).

Considerando las similitudes con otras enfermedades porcinas y la posible aparición de signos clínicos inespecíficos, el diagnóstico de laboratorio de la PPA es fundamental para realizar un diagnóstico correcto (Sánchez-Vizcaíno *et al.* 2015).

Los signos clínicos de la PPA son similares a los de varias enfermedades, incluidas las septicemias bacterianas como la erisipela y la salmonelosis aguda, pero el principal problema de diagnóstico es distinguirla de la fiebre porcina clásica (cólera porcino). Cualquier enfermedad febril en cerdos asociada con hemorragia diseminada (diátesis hemorrágica) y alta mortalidad debe hacer sospechar de PPA. El diagnóstico de infecciones crónicas es problemático ya que los signos clínicos y las lesiones en los cerdos afectados son muy variables (Maclachlan N., Dubovi E. *et al.* 2017).

Debido a las características agudas de la PPA, la vigilancia pasiva es el método más efectivo y eficiente para una detección temprana en áreas libres. Las muestras de sangre y órganos blanco tomadas de animales enfermos o muertos deben analizarse para confirmar la infección por el VPPA. Por lo tanto, las pruebas virológicas son vitales para la rápida implementación de las medidas de control. Estos abarcan la detección del genoma viral por PCR, la detección de antígenos virales por ELISA o una prueba de inmunofluorescencia directa (DIF) y la detección de virus mediante el aislamiento del virus (Gallardo *et al.* 2019).

Si se sospecha PPA, se requiere la recolección de muestras de suero y sangre además de los principales órganos diana, incluidos el bazo, los ganglios linfáticos, los riñones, los pulmones y la médula ósea. Las muestras de fluidos orales también se pueden usar para detectar anticuerpos contra la PPA (Sánchez-Vizcaíno *et al.* 2015).

La confirmación de laboratorio es esencial y se deben recolectar muestras de sangre, bazo, riñón, ganglios linfáticos viscerales y amígdalas para el aislamiento del virus o la prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR). El aislamiento del virus se lleva a cabo en cultivos de leucocitos de sangre periférica o de médula ósea porcina, en los que se puede demostrar hemoadsorción y un efecto citopático evidente a los pocos días de la inoculación. Después del aislamiento inicial, el virus se puede adaptar para crecer en varias líneas celulares, como las células Vero. La detección de antígenos se logra mediante inmunofluorescencia de frotis de tejido o secciones congeladas, mediante inmunodifusión utilizando suspensiones de tejido como fuente de antígeno y mediante ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA). Los anticuerpos contra el VPPA pueden detectarse mediante ELISA indirecto, aunque es importante señalar que es probable que los cerdos con infección aguda o sobreaguda mueran antes de desarrollar anticuerpos (Maclachlan N., Dubovi E. *et al.* 2017).

En particular, durante la fase clínica de la infección, el virus y el ADN viral pueden detectarse mediante el aislamiento del virus y la PCR en tiempo real en todas las secreciones y excreciones de los cerdos infectados, pero la carga viral varía considerablemente. Se pueden detectar grandes cantidades de virus o ADN viral en las

muestras de sangre, pero al mismo tiempo, todas las muestras de hisopos (rectales, faríngeas, nasales y prepuciales/vaginales) muestran cargas virales considerablemente más bajas. En detalle, se pueden detectar hasta 3×10^6 copias por μl de ADN en 200 μl de sangre, mientras que solo se pueden encontrar de 4 a 8×10^3 copias por μl en hisopos rectales y de 2 a 6×10^2 copias por μl de sangre en hisopos orofaríngeos (Blome *et al.* 2013).

En países libres de PPA donde se sospecha su presencia, el diagnóstico de laboratorio debe dirigirse al aislamiento del virus realizando una inoculación de cultivos de leucocitos o médula ósea de cerdo, la detección del ADN genómico mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) o la detección del antígeno en hisopos o cortes de tejidos congelados por la prueba de la inmunofluorescencia directa (DIF). Actualmente, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es la técnica más sensible y permite detectar ADN del VPPA desde estadios muy tempranos de la infección en tejidos y en muestras de sangre y suero tomadas con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA). La PCR es especialmente útil si las muestras enviadas no son adecuadas para el aislamiento del virus y la detección de antígeno debido a que han sufrido putrefacción. Los cerdos que se han recuperado de infecciones agudas, subagudas o crónicas generalmente exhiben una viremia durante varias semanas, haciendo de la PCR una herramienta muy útil para la detección de ADN del VPPA en cerdos infectados con cepas de virulencia baja o moderada. Se recomienda el aislamiento del virus mediante la inoculación de cultivos de leucocitos o de médula ósea de cerdos y la identificación por pruebas de hemoadsorción (HAD) como pruebas confirmativas cuando la PPA da positivo en otros métodos, sobre todo cuando se trata de brotes primarios o de un caso de PPA (OMSA *et al.* 2021).

Por lo tanto, un diagnóstico rápido y confiable juega un papel vital en las medidas de control para reducir la propagación del VPPA. Según la OMSA, las técnicas de laboratorio para el diagnóstico se dividieron en dos grupos (Cuadro 6). El primer grupo consiste en las pruebas virológicas, incluido el aislamiento del virus combinado con la prueba de hemoadsorción (HAD) y la detección del genoma viral, es decir, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) convencional, PCR en tiempo real, ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) y el segundo grupo consiste en pruebas serológicas como ELISA, prueba de inmunotransferencia y anticuerpos fluorescentes

indirectos (IFA). El diagnóstico más específico del VPPA es la prueba HAD. Se recomienda que el aislamiento del virus combinado con la prueba HAD sea una herramienta poderosa para verificar los resultados positivos de la PCR convencional, la PCR en tiempo real, ELISA y la prueba de inmunofluorescencia (IFAT) (Tran *et al.* 2020).

El aislamiento del virus en macrófagos y la HAD es el “estándar de oro” para el diagnóstico de la PPA y se requiere para la primera detección de la enfermedad en territorios o regiones libres de enfermedad. Sin embargo, al ser un proceso laborioso y lento, normalmente se utiliza solo en laboratorios de referencia. Las PCR son actualmente las pruebas más utilizadas gracias a la fiabilidad de la tecnología, incluso con tejidos mal conservados. Existen pruebas de PCR convencional y en tiempo real, ambas sugeridas para realizar el diagnóstico por la OMSA. Otra prueba de detección de virus es la inmunofluorescencia directa (DIF), que está diseñada para detectar antígenos de PPA en frotis o secciones de tejido infectado. Para ello, se utilizan anticuerpos contra el VPPA conjugados con fluoresceína para visualizar la presencia de antígenos. La serología se ha empleado ampliamente en los programas de erradicación y control de la PPA. En consecuencia, la serología es apropiada para detectar posibles animales portadores en situaciones endémicas. El ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) es la prueba serológica más utilizada, ya que puede emplearse ampliamente con fines de detección. Varias pruebas ELISA están disponibles. Actualmente, la OMSA utiliza un antígeno de PPA soluble interno validado y un ELISA comercial. También se utilizan otros ELISA basados en antígenos recombinantes. Las pruebas de inmunotransferencia e inmunoperoxidasa se emplean con fines de confirmación o para complementar la detección de anticuerpos contra la PPA (Sánchez-Vizcaíno *et al.* 2015).

La propagación de la PPA solo se puede prevenir mediante la detección temprana y la aplicación del estricto cumplimiento de los métodos clásicos de control de enfermedades, incluida la vigilancia, la investigación epidemiológica, el rastreo de cerdos, el sacrificio sanitario en explotaciones infectadas, estrictas medidas de cuarentena y bioseguridad y el control del movimiento de animales. La vigilancia, para ser exitosa, debe contar con un adecuado soporte de laboratorio para un diagnóstico rápido, que, sumado a los datos

epidemiológicos, permitirá la detección temprana de la enfermedad y por ende reducir o prevenir la propagación del virus. Se encuentra disponible un amplio espectro de pruebas diagnósticas precisas y la mayoría de ellas se han empleado con éxito en programas de vigilancia, control y erradicación. Sin embargo, como en cualquier otra enfermedad, no existe una sola prueba que sea 100% confiable (sensible y específica). Por esta razón, el diagnóstico final debe basarse en la interpretación de los resultados derivados del uso de una serie de pruebas validadas, en combinación con la información proveniente de la epidemiología de la enfermedad, el escenario y los signos clínicos. Esto requiere un conocimiento actualizado sobre las cepas circulantes, la enfermedad, sus mecanismos de propagación y presentación de la enfermedad en granjas y campo (Gallardo *et al.* 2019).

Inmunidad, Prevención y Control

La vigilancia pasiva del jabalí y la vigilancia sindrómica de la mortalidad porcina se consideraron las estrategias de vigilancia más eficaces para controlar la propagación del VPPA. El sacrificio de todos los cerdos infectados y las prohibiciones de movimiento para los hatos vecinos se consideraron las estrategias de intervención más eficaces. La vigilancia activa y la eliminación de cadáveres en las poblaciones de jabalíes se calificaron como las estrategias de vigilancia e intervención más efectivas, pero también se consideraron las menos prácticas (Guinat *et al.* 2017).

Se han descrito varias rutas de entrada y evaluaciones de riesgo para diferentes países de la UE. Las principales medidas de control son monitorear la entrada de cerdos y productos porcinos y prohibir el uso de desechos de alimentos para alimentar a los cerdos. Los desechos de alimentos de las áreas infectadas deben incinerarse y nunca usarse para alimentar a los cerdos. El contacto entre jabalíes y cerdos domésticos también es un riesgo importante para los países libres de PPA ubicados cerca de áreas infectadas. También es importante separar la producción doméstica de cerdos en libertad de las áreas que contienen jabalíes, así como aumentar la bioseguridad cercando las granjas porcinas para controlar esta ruta de transmisión. Una publicación sobre la

evaluación del riesgo de introducción de la PPA en la UE por jabalíes ha descrito la importancia de esta ruta de transmisión.

El uso de análisis de riesgos para estimar el riesgo de introducción de la PPA debería de usarse para aumentar la concientización y la vigilancia en los lugares con rutas críticas. Otra medida de control importante es el acceso a un buen programa de detección temprana que incluya la sensibilización de veterinarios y ganaderos proporcionándoles información actualizada sobre los riesgos. Los conceptos básicos de la PPA, especialmente en lo que respecta a las rutas de transmisión, cómo evitar la introducción y los signos clínicos y las lesiones, deben abordarse en folletos, carteles y otras campañas de información.

Este tipo de campañas de información ayudan a contrarrestar uno de los problemas más importantes en el control de las enfermedades animales: la detección tardía en el campo. El conocimiento de la presentación clínica y de las lesiones patológicas compatibles con la PPA es fundamental para un control eficaz. Sin embargo, como se mencionó anteriormente, la presentación de la enfermedad en el campo no siempre presenta las características clínicas y lesiones típicas. En consecuencia, todo animal en un área de alto riesgo que presente fiebre alta y esté muerto debe ser analizado para detectar PPA para hacer una detección temprana y evitar la propagación de la infección explosiva. De lo contrario, la enfermedad puede propagarse (como ya ha ocurrido con otras enfermedades animales como la fiebre porcina clásica o la fiebre aftosa en la UE) durante semanas o incluso meses antes de que las muestras sospechosas llegaran al laboratorio. Las medidas de control de la PPA se basan en la detección rápida sobre el terreno y la confirmación del diagnóstico, el sacrificio de animales en explotaciones infectadas y la prohibición de movimientos de cerdos y productos derivados del cerdo en las zonas afectadas. Otros factores, como la implicación del jabalí y/o las garrapatas en la aparición de la enfermedad, deben analizarse como posibles focos de infección y aplicarse las medidas necesarias para su control cuando sea necesario (Sánchez-Vizcaíno *et al.* 2015).

La implementación de las medidas de control depende de los recursos del servicio veterinario y del cumplimiento de estas medidas. Un punto crítico para el cumplimiento

de las medidas es un esquema de compensación oportuno y adecuado. Como se puede ver en África y Asia, la falta de compensación conduce a la venta de cerdos enfermos a mataderos y mercados, lo que genera grandes escenarios de brotes (Dixon *et al.* 2020 y Blome *et al.* 2020)

Usos y Aplicaciones de la Bioinformática e Importancia del Análisis *in silico*

La bioinformática está reconocida como la ciencia del siglo XXI y tiene un enorme potencial para decodificar sistemas biológicos complejos mediante el análisis e integración de datos multiómicos. Utiliza tecnología de la información para permitir que se analicen, vinculen y manipulen varios tipos de datos biológicos para comprender nuevos conocimientos biológicos (Pathak *et al.* 2022).

La bioinformática es un método de manipulación y gestión de datos para la biología molecular, la bioquímica, el sector de la salud, la biología ambiental y la agricultura, que aborda el almacenamiento de conjuntos de datos, la extracción y el procesamiento de datos, las anotaciones estructurales y funcionales de genes y proteínas, el modelado de sistemas y los medicamentos. Se utiliza para predecir la estructura y función de una proteína recién examinada y secuencias de proteínas para crear un grupo de secuencias familiares similares y construir árboles filogenéticos para el estudio de las relaciones evolutivas (Pathak *et al.* 2022).

La bioinformática, en relación con la genética y la genómica, es una subdisciplina científica que implica el uso de ciencias informáticas para recopilar, almacenar y analizar y diseminar datos e información biológica, como secuencias de ADN y aminoácidos o anotaciones sobre esas secuencias. Los científicos y el personal clínico usan bases de datos que organizan y catalogan esa información biológica para aumentar el entendimiento de la salud y enfermedades (Adams, 2023).

Se pueden utilizar técnicas bioinformáticas, como simulación, acoplamiento, interacción proteína-proteína y análisis de datos de secuenciación de próxima generación (NGS), para investigar o modificar la secuencia para un mejor ajuste de genes esenciales para

una función particular y para estudiar la función de estos genes o proteínas a nivel del sistema (Pathak *et al.* 2022).

Para comprender el código de vida que es el ADN, la bioinformática ha desarrollado y contribuido al crecimiento de proyectos de investigación asociados con la secuenciación de ADN de alto rendimiento y otros campos de la biología. Su objetivo final es visualizar la riqueza del conocimiento biológico oculto en secuencias, estructuras, literatura y otros datos de la biología (Pathak *et al.* 2022).

La biología "*in silico*" se ocupa de la bioinformática. Generalmente, podemos decir que realizar cualquier trabajo utilizando una computadora para biología se conoce como biología *in silico*, por ejemplo, la recuperación de secuencias biológicas de bases de datos. El término "*in silico*" es una palabra moderna que generalmente se utiliza para referirse a la experimentación realizada por un ordenador y está relacionada con los términos biológicos más comúnmente conocidos *in vivo* e *in vitro* (Ekins *et al.* 2007).

El análisis de secuencia es una de las principales aplicaciones de la bioinformática *in silico* con el desarrollo del programa Basic Local Alignment Search Tool (BLAST®) en 1990. El área del análisis de secuencias es muy amplia; dentro del análisis BLAST® se puede analizar la secuencia de nucleótidos o proteínas de cualquier organismo para varios propósitos u objetivos de investigación, analizar secuencias únicas o múltiples para descubrir similitudes e identidades entre ellas mediante varias herramientas de alineación de secuencias, como BLAST® y FASTA Clustal. También se utiliza en la anotación de secuencias recién descubiertas, en la búsqueda de regiones conservadas y otras regiones reguladoras entre ellas (Pathak *et al.* 2022).

Filogenia del VPPA

Se ha demostrado que muchos árboles filogenéticos son modelos de la relación evolutiva entre especies. Los árboles filogenéticos se originaron con Charles Darwin, quien dibujo el primer árbol filogenético en 1837 en su libro *El Origen de las Especies* que fue

publicado en 1859, que sirvió como modelo para estudios posteriores durante más de un siglo (Pace *et al.* 2012).

La filogenética es un estudio disciplinario de las relaciones evolutivas entre organismos utilizando secuencias moleculares. Los métodos de análisis utilizados en filogenética molecular se desarrollaron originalmente para revelar vías evolutivas; sin embargo, hoy en día la filogenética molecular se utiliza en varios campos, como la biología sistemática y la biodiversidad, la epidemiología molecular, la identificación de funciones genéticas y la identificación de microbios en estudios de microbiomas (Ajawatanawong, 2016).

El conocimiento de la filogenia puede explicar el patrón de relaciones evolutivas, revelar el patrón histórico de especiación, divergencia y permite clasificar la vida según el esquema evolutivo. Además, es importante debido a sus amplias aplicaciones en toda la biología, como en estudios de enfermedades humanas: para investigaciones epidemiológicas, para identificar y caracterizar patógenos recién descubiertos y para identificar y rastrear reservorios naturales de enfermedades zoonóticas (Som, 2014).

Un árbol filogenético o filogenia es un diagrama en forma de árbol que se utiliza para visualizar las relaciones evolutivas entre un conjunto de unidades taxonómicas operativas (por sus siglas en inglés, OTU). La OTU generalmente representa una especie, pero también puede representar organismos individuales en una población, un gen o secuencia de proteínas o un taxón en cualquier rango taxonómico (por ejemplo, familia, orden, clase, filo). El árbol está compuesto de nodos y ramas. Los nodos en las puntas del árbol se denominan "nodos externos". Se utilizan para representar las OTU. Otro tipo de nodo, llamado "nodo interno", representa un ancestro común reciente (ACR). Entre estos hay líneas, llamadas "ramas", que se utilizan para conectar nodos más nuevos y más antiguos y mostrar las relaciones evolutivas entre los taxones. Una rama que une dos nodos internos es una "rama interna", que muestra una relación antigua. Por el contrario, la rama que une un nodo interno con un nodo externo para mostrar una relación moderna se llama "rama externa" (Ajawatanawong, 2016).

La rama más profunda del árbol representa la "raíz" o el "ancestro común más reciente" (ACMR) de todos los taxones del árbol. Generalmente, el software filogenético sólo

puede reconstruir un "árbol sin raíces" o un árbol que muestre quién está estrechamente relacionado con quién. Para darle más significado al árbol en un contexto evolutivo, el "árbol enraizado" se reconstruye identificando el origen de todos los taxones. La mejor manera de enraizar un árbol filogenético es agregando un "grupo externo" al conjunto de datos. Teóricamente, la raíz del árbol se encuentra entre el grupo externo y los taxones restantes. Entonces, el mejor grupo externo es un organismo o grupo de organismos que recientemente divergieron del resto de los organismos del árbol. Si se desconoce un grupo externo o si no se dispone de un grupo externo ideal (por ejemplo, si no hay datos o un espécimen estrechamente relacionado disponible), el punto medio de la rama más larga del árbol se puede utilizar como raíz del árbol (Ajawatanawong, 2016).

El patrón de ramificación que divide los dos nuevos nodos se denomina "bifurcación" o "dicotomía". Esto se relaciona con el concepto de especiación, en el que los organismos se separan de un ancestro en dos nuevas especies. El árbol que contiene sólo nodos que se bifurcan es un "árbol completamente resuelto". Si un nodo más profundo se ramifica en más de dos nodos nuevos (tres o más), se dice que este patrón de ramificación es "multifurcado" o una "politomía" (Ajawatanawong, 2016). Ver figura 22 para una representación esquemática básica de un árbol filogenético.

El análisis filogenético de secuencias moleculares es también una de las principales herramientas interpretativas para comprender la organización y evolución de genes y genomas (Som, 2014). Por lo tanto, el análisis filogenético del VPPA es importante para clasificar nuevos virus y revelar un pasado en la evolución (Prabhakarareddy *et al.* 2021).

Mediante el análisis filogenético basado en la secuencia parcial de 440 pb de longitud del gen B646L de aproximadamente 1500 pb de longitud han identificado 24 genotipos del VPPA. Se descubrió que los diferentes 24 genotipos del VPPA eran endémicos en África.

En la década de 1950, el genotipo I del VPPA se identificó en Portugal y se extendió a otros países de Europa hasta que fue erradicado a mediados de la década de 1990, con la excepción de Cerdeña, Italia. Debido a esta expansión, la enfermedad se estableció en Cerdeña, Italia. En 2007, el genotipo II del VPPA se introdujo en Georgia y se extendió

por la mayor parte de Europa. En 2018, se informó del genotipo II del VPPA en China y otros países asiáticos (Bao *et al.* 2022).

Diagnóstico del VPPA por medio de PCR Punto Final y PCR Tiempo Real

La PCR fue inventada por el científico Kary Mullis en 1983, lo que le valió el Premio Nobel y el Premio de Ciencias de Japón por esta invención, y se patentó en 1985 (Kadri, 2020). La técnica se basa en la bioquímica básica para amplificar una pequeña pieza o piezas de ADN. El ADN puede duplicarse enzimáticamente a millones de copias fuera de los sistemas vivos en una escala logarítmica o incremental con cebadores y, en poco tiempo, el objetivo es amplificar una parte específica del ADN que generalmente contiene información diagnóstica o terapéutica útil (Khalil, 2021).

La amplificación del ADN se lleva a cabo después de la mezcla de reacción para PCR que está compuesta por el molde de ADN a replicar y la mezcla principal, que también está compuesta por los cebadores (pequeños nucleótidos de ADN de cuatro bases nitrogenadas y la presencia de la enzima ADN polimerasa térmicamente estable) y cloruro de magnesio, así como agua libre de nucleasas en un tubo Eppendorf (Khalil, 2021).

La PCR clásica incluye tres etapas que forman la base de la reacción en cadena:

Etapa de desnaturalización: esta etapa comienza elevando la temperatura de la mezcla de 94°C-96°C para separar las dos hebras de ADN entre sí, en las que la doble cadena se transforma en una sola cadena, y ocurre en un lapso de tiempo que oscila entre 1-9 minutos, ya que las dos cadenas quedan físicamente separadas entre sí debido a la rotura de los enlaces de hidrógeno que las unen a altas temperaturas. Vale la pena señalar que las causas más comunes de fracaso de la PCR es la separación incompleta de la molécula de ADN, por lo que se utiliza esta alta temperatura para asegurar la separación completa (Khalil, 2021).

La siguiente etapa es la alineación de primers: esta etapa comienza cuando la mezcla de reacción se enfría y se asocia con cebadores que rodean la región a amplificar con una plantilla de ADN. Estos cebadores carecen de nucleótidos monocatenarios

fabricados en el laboratorio y son complementarios del ADN. Los cebadores suelen constar de 12 a 20 nucleótidos de longitud y son precursores especiales o únicos de una secuencia específica del ADN; o pueden ser generales o universales para conservar la región del ADN. Esta etapa ocurre a una temperatura inferior o igual a la temperatura de fusión (55-68°C); los dos cebadores simples hacia adelante y hacia atrás se combinan con la plantilla de ADN en dos direcciones, el cebador directo se hibrida de la cadena 3' a 5' (antisentido ó reverse) mientras que de la cadena 5' a 3' (sentido ó forward), y construye los enlaces de hidrógeno entre ellos, toma aproximadamente de 10 a 60 segundos, y la temperatura adoptada en este paso depende de las bases constituyentes del iniciador así como de su longitud y del porcentaje del contenido de bases guanina y citosina (G y C) (Khalil, 2021).

La última etapa se llama fase de extensión: esta es la última etapa del proceso de PCR y ocurre a una temperatura de 80-72°C. Esta temperatura es óptima para la activación de la enzima ADN polimerasa mediante la construcción de una nueva cadena de ADN, esta etapa comienza con la ayuda de la enzima polimerasa agregando bases nitrogenadas en la dirección 5' → 3'. Además, se puede aplicar una reacción de PCR en ADN y ARN, para que el ARN realice un paso inicial que es crear el ADN complementario (ADNc) mediante la enzima de transcripción inversa llamada transcriptasa inversa (por sus siglas en inglés, RT), que se somete después del ADNc, esta técnica se conoce como etapas de amplificación previa RT-PCR (Figura 23) (Khalil, 2021).

Ante la sospecha de PPA se deben enviar al laboratorio las siguientes muestras: sangre con anticoagulante (EDTA para PCR, heparina o EDTA para aislamiento de virus), suero y tejidos, principalmente bazo, ganglios linfáticos, médula ósea, pulmón, amígdala y riñón. Estos deben mantenerse lo más frío posible, sin congelarse, durante el transporte. Una vez que las muestras llegan al laboratorio, deben almacenarse a -70°C si se va a retrasar el procesamiento. La OMSA a través de su Manual Terrestre, recomienda realizar un diagnóstico molecular con técnicas de PCR, utilizando cebadores de una región altamente conservada del genoma, para detectar e identificar una amplia gama de aislados pertenecientes a todos los genotipos de virus conocidos, incluidos virus no

hemoadsorbentes y aislados de baja virulencia. Las técnicas de PCR en uso han demostrado ser particularmente útiles para identificar ADN viral en tejidos porcinos que no son adecuados para el aislamiento del virus o la detección de antígenos cuando han sufrido putrefacción, o cuando hay buenas razones para creer que el virus pudo haber sido inactivado antes de que las muestras se recibieran en el laboratorio. Debido a su alta sensibilidad y especificidad, junto con la posibilidad de optimizar su rendimiento, la PCR es un método recomendado para la detección y confirmación de casos sospechosos.

Se pueden procesar diferentes muestras para el análisis de PCR, como sobrenadantes de cultivos celulares, sangre con EDTA, suero y homogeneizados de tejidos. Los hisopos de sangre pueden ser útiles para tomar muestras de jabalíes (Manual Terrestre de la OMSA, 2021).

La OMSA, en el Manual Terrestre del 2021, recomienda realizar un diagnóstico molecular del VPPA con diferentes protocolos, uno de PCR convencional y dos de PCR en tiempo real descritos en el cuadro 7.

La detección rápida y confiable del VPPA desempeña un papel importante en el control de emergencia y las medidas preventivas. La FAO y OMSA han recomendado algunos métodos para detectar el VPPA en muestras clínicas, incluida la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real. Sin embargo, las discrepancias en las regiones de unión del cebador y la sonda pueden provocar un resultado falso negativo (Tran *et al.* 2020).

Importancia Económica de los Brotes de PPA

Los alimentos de origen animal se consideran fuentes completas y de alta calidad de las principales proteínas dietéticas. Se espera que la demanda mundial de alimentos aumente debido al crecimiento demográfico y al cambio en los patrones de consumo. El suministro de alimentos disponibles a precios accesibles es importante para la sostenibilidad de la seguridad alimentaria mundial. El sector agrícola desempeña un papel importante en la seguridad alimentaria al proporcionar suficientes alimentos para

la sociedad. El crecimiento de la productividad agrícola es necesario tanto para el uso interno como para la exportación. Sin embargo, las fluctuaciones del volumen de producción en los principales países exportadores e importadores pueden afectar directamente el equilibrio alimentario mundial. Normalmente, en muchas regiones los productos agrícolas se destinan principalmente al consumo interno. Sin embargo, diversos países proporcionan una gran escala de producción agrícola para respaldar las exportaciones. Varios factores afectan el éxito de los sistemas de producción ganadera, incluida la gestión sostenible de los recursos, la evolución de la tecnología agrícola, la gestión financiera y el control de las enfermedades animales (Woonwong *et al.* 2020).

El impacto social y económico adverso después de un brote de PPA es muy importante en el comercio porcino, los subproductos porcinos y la seguridad alimentaria en los países afectados, especialmente donde los cerdos sirven como una fuente importante de proteínas para consumo humano (Yang *et al.* 2021). La PPA es una de las enfermedades porcinas con mayor mortalidad. Muchas cepas del VPPA provocan la muerte de casi el 100% de los cerdos infectados. Además del impacto en la salud animal y los medios de subsistencia de las personas, la enfermedad puede tener un impacto importante en el comercio mundial de cerdos y productos porcinos y es una amenaza para la seguridad alimentaria mundial (Guinat *et al.* 2016).

La PPA ha producido un alto costo económico a la industria porcina y es la enfermedad porcina más importante en la actualidad, en gran parte debido a la difícil prevención y control ya que no se disponía de vacunas y se deben utilizar otras estrategias para controlar la enfermedad desde diferentes territorios (Gallardo *et al.* 2019 y Salguero *et al.* 2020).

La PPA es un importante problema de salud porcina, y el virus causante se está acercando a las regiones de Europa occidental donde la densidad de cerdos es alta. Prevenir su propagación requiere estrategias de mitigación que sean efectivas y prácticas (Guinat *et al.* 2017).

Durante el periodo de 2018 al 2019 se sacrificaron más de 30 millones de cerdos debido a que no existían vacunas o tratamientos disponibles, una vez confirmada la enfermedad el sacrificio de cerdos fue la forma más eficaz de contener los brotes. Las pandemias de PPA han causado pérdidas económicas estimadas en 2 mil millones de dólares para la producción porcina en todo el mundo. El VPPA es estable en el medio ambiente (Cuadro 2) y se transmite rápida y eficientemente entre los cerdos (Wang, 2019).

Impacto Económico de la PPA

Después de los brotes de PPA, la seguridad alimentaria mundial se vió amenazada por una creciente demanda de productos agrícolas y la eficacia de la productividad fue diferente según cada región. Esta escasez actual en la disponibilidad de carne de cerdo ha impactado los precios de la carne y ha cambiado el comportamiento del consumo de carne hacia otras fuentes alternativas de proteínas. Rabobank demostró que la producción mundial de proteína animal fue lenta en 2019, este comportamiento pudo deberse a la disminución dramática en la producción de carne de cerdo en China, mientras que la producción de otras carnes estaba aumentando. La Unión Europea se ha convertido en el principal continente en cuanto a productos porcinos exportados, pasando de 3.05 millones de toneladas en 2018 a 3.9 millones de toneladas en 2019 después del brote de PPA en Asia (USDA, 2020). Estados Unidos, Canadá y Brasil son los principales exportadores de carne de cerdo. Al tener el mayor número de cerdos en el país, China todavía es conocida como un importador neto de carne de cerdo, además de carne de bovino que se importa principalmente de América del Sur, por consiguiente, la tendencia de aumentar las importaciones de carne de pollo de Brasil y la Unión Europea principalmente. El impacto del aumento de los precios en los ingredientes de las dietas en los costos de producción ganadera afectaría a los productores de ganado porque entre el 60% y el 70% del costo de producción porcina lo representan los costos de alimentación. Por lo tanto, el costo de alimentación tiene un efecto dramático en las granjas de pequeña escala en comparación con las de gran escala, por la capacidad de organizar las operaciones de suministro de alimento en los almacenes, el costo de la mano de obra y los medicamentos se ven favorecidas las grandes producciones. Muchas granjas tradicionales de pequeña escala y de traspatio tendrán a desaparecer

gradualmente. Sin embargo, la crisis de la PPA podría llevar a que los inversionistas potenciales se convirtieran en actores importantes en la futura industria porcina. Los hatos porcinos o países libres de PPA obtendrían mayores beneficios con la exportación de carne de cerdo. Por lo tanto, es importante la transformación de la industria porcina de granjas de traspatio y pequeña escala ya que compiten contra las granjas de mediana y gran escala que cuentan con mejores y estandarizados sistemas de producción y normas de bioseguridad por lo que tendrán mayor oportunidad de persistir en el futuro. En la actualidad, la tendencia de la producción porcina ha cambiado hacia sistemas de producción de mediana y gran escala en muchos países. Sin embargo, la sociedad interesada en la industria porcina en una región aún no puede controlar la movilización de cerdos de manera interna o entre países debido a la alta demanda de repoblación y exigencias de comercio informal. La alta interconectividad de la producción mundial de carne de cerdo y la globalización, así como el intenso tráfico de personas podrían aumentar el riesgo de introducción de enfermedades en otros países (Woonwong *et al.* 2020).

El VPPA ahora está confirmado en al menos 60 países de todo el mundo (en los que reside aproximadamente el 80% de la población porcina). Además, los brotes globales de PPA han aumentado un 25% desde 2018 (Gaudreault *et al.* 2020), cambiando la dinámica global de la industria porcina (Ruiz-Sáenz *et al.* 2022).

Es importante explorar las posibles consecuencias de una epidemia importante en China y considerar los diferentes escenarios a medida que se propague. Las repercusiones podrían afectar no sólo al consumo de carne de cerdo y los ingresos de los productores de carne de cerdo, sino también a los mercados de alimentación, la demanda de alternativas o sustitutos de la carne de cerdo y las dietas de los consumidores en zonas directa e indirectamente afectadas por la enfermedad (Mason-D'Croz *et al.* 2020).

Se exploraron cinco escenarios en los que la producción porcina en China se mantiene constante o se reduce en un 20, 40, 60 u 80%. Estos escenarios abarcaban el posible rango de gravedad de la epidemia. En febrero de 2020, parece que los dos últimos

escenarios coinciden mejor con el brote en desarrollo, pero se presentan los resultados de toda la gama de escenarios porque brindan información sobre los efectos de posibles epidemias futuras menos graves. (Mason-D'Croz *et al.* 2020)

China en el 2018 produjo alrededor de 55 millones de toneladas métricas (Mt) de carne de cerdo por año, de más de 700 millones de cerdos sacrificados. Las simulaciones suponen una reducción de la población porcina que conduce a una disminución en la producción de carne de cerdo en China de entre 10 y 40 Mt en los cuatro escenarios que representan epidemias de PPA cada vez más graves. Esto representa recortes del 9% al 34% en la producción global (120 Mt en 2018) en comparación con un escenario de referencia sin una epidemia de PPA. Esta disminución en la producción conduciría a aumentos en los precios mundiales de la carne de cerdo del 17% al 85%. Para S60 y S80, los precios de la carne de cerdo aumentarían por encima de los precios de la carne de res, una importante inversión de las tendencias pasadas de los precios de los dos productos observados por última vez en 1996, cuando la encefalopatía espongiforme bovina se relacionó con la enfermedad de Creutzfeldt-Jacob y provocó una fuerte caída en la demanda de carne de res (Mason-D'Croz *et al.* 2020).

Impacto Económico de los Brotes en China

Mientras que aumente la demanda de productos animales, la carne de cerdo seguirá siendo una de las principales fuentes de proteínas en Asia, y la producción porcina seguirá siendo uno de los principales animales de granja en el subsector ganadero. Aunque se han desarrollado sistemas de producción para mejorar los rendimientos de la producción, los brotes de enfermedades animales siguen siendo el mayor desafío para la producción porcina y la seguridad alimentaria. En la última década, las principales enfermedades virales porcinas, como la diarrea epidémica porcina y el síndrome respiratorio y reproductivo porcino altamente patógeno, han causado un impacto directo en la producción porcina lo que ha provocado pérdidas económicas, especialmente en las granjas de baja bioseguridad, granjas de mediana a pequeña escala y de traspatio.

En agosto de 2018 la PPA causó un gran impacto en la producción porcina en China, y posteriormente en otros países vecinos, provocando la peor crisis económica para la industria porcina y la seguridad alimentaria en las regiones.

En las últimas décadas, se ha reconocido un crecimiento masivo de la producción porcina en la región de Asia y el Pacífico, mientras que el número de cerdos en los Estados Unidos y la Unión Europea está aumentando lentamente o se mantiene estable. Las principales zonas de producción porcina se encuentran en Asia (principalmente en China, que posee más del 50% de la población mundial de cerdos), la Unión Europea, Estados Unidos, Brasil y Rusia. China ha sido conocida como el país con mayor producción y consumo de carne de cerdo del mundo. Por tanto, la producción porcina China es para consumo interno.

En 2016, el consumo de carne de cerdo en China pasó de 54 a 98 millones de toneladas, lo que requirió alrededor de 1.62 millones de toneladas de carne de cerdo importada para satisfacer la demanda interna. Sin embargo, Rabobank estimó que las importaciones de carne de cerdo en China aumentaron a 2 millones de toneladas en el primer semestre de 2019 porque la producción de carne de cerdo China había caído hasta un 55% debido al brote de PPA.

La PPA es una de las enfermedades virales económicamente importantes en la industria porcina (Woonwong *et al.* 2020).

El gobierno chino informó del brote de PPA en agosto de 2018. Desde el primer brote de PPA, más de 1 millón de cerdos han sido sacrificados dentro de un año en toda China debido a brotes de enfermedades en un intento de detener su propagación (Yun, 2020). Los datos mostraron que el brote provocó un mayor número de animales sacrificados, lo que afectó directamente a los pequeños propietarios a quedar fuera del negocio porcino. La pérdida de producción porcina no se produjo sólo en las granjas infectadas sino también en la pérdida de productores cuyas granjas se encontraban dentro de las zonas afectadas. Rabobank estimó que la producción de carne de cerdo de China disminuyó un 25% en 2019 y otro 10% a 15% en 2020. Una predicción final de hasta 700 millones de cerdos perdidos representaría la mitad de los cerdos del mundo antes del brote de PPA. Además, casi el 70% de todos los brotes se encontraron en hatos pequeños con

menos de 50 animales. Esto se debe a una menor conciencia de los pequeños poricultores sobre la implementación de una adecuada bioseguridad. Curiosamente, la PPA se propagó por todo el país de China en 3 meses. Los factores relevantes en la propagación de la PPA en todo el país incluyeron: (a) falta de control del movimiento de cerdos vivos, (b) capacidad insuficiente para el diagnóstico y la detección rápida del VPPA, (c) cuarentena animal inadecuada y (d) mala aplicación de las prohibiciones de transporte y movilización de los cerdos durante el brote de PPA. Así como también los espacios limitados para la eliminación de los cerdos y los cadáveres infectados obligaron a los agricultores de muchas zonas a no gestionar adecuadamente los cadáveres infectados, lo que tuvo como resultado la eliminación de los animales muertos en las carreteras, los ríos o el bosque. Además, esta situación llevó a los poricultores a vender sus cerdos directamente a los rastros para obtener dinero rápido. Por lo tanto, se vendieron al mercado toneladas de cerdos infectados con el VPPA, lo que provocó que productos porcinos contaminados ingresaran a las cadenas de suministro y se extendieran por China y los países vecinos (Woonwong *et al.* 2020).

Los precios de la carne de cerdo en China aumentaron un 46.7% en agosto de 2019 (Yun, 2020). Además, Rabobank estimó que los precios de la carne de cerdo podrían subir aún más (Woonwong *et al.* 2020).

Fuera de las regiones históricamente endémicas, la PPA causó efectos devastadores en la producción porcina en China y triplicó el precio de los cerdos de engorda vivos de aproximadamente 13 yuanes/kg a 38 yuanes/kg, un aumento de casi 300% (Casal *et al.* 2022).

En consecuencia, la disminución de las existencias internas y la pérdida masiva de producción porcina en China han tenido un impacto importante en la seguridad alimentaria mundial (Woonwong *et al.* 2020).

Ver figura 24 para un esquema cronológica de los brotes de PPA desde su aparición hasta mayo 2020.

Impacto Económico de los Brotes en Vietnam

En febrero de 2019, el Departamento de Producción Ganadera del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural de Vietnam confirmó por primera vez un brote de PPA en una provincia del norte de Vietnam. Poco después se informó oficialmente que el virus de la PPA aislado pertenecía al genotipo II, con un 100% de similitud con la cepa China (Woonwong *et al.* 2020).

En Vietnam, el 20% de los cerdos murieron o fueron sacrificados en los primeros cinco meses después de su aparición, causando un impacto económico, solo en 2019, de entre \$880 y \$4,400 millones de dólares (Casal *et al.* 2022).

La característica destacada del virus de la PPA es la persistencia y viabilidad a largo plazo en fómites, alimentos y piensos contaminados, lo que constituye una base extremadamente favorable como enfermedad transmitida por el hombre. Inmediatamente después de infectar las piaras de cerdos vietnamitas, la propagación se produjo con bastante rapidez. Después de unos meses, la epidemia alcanzó su punto máximo y se propagó a más de 8,200 comunidades en 63 provincias y ciudades en nueve meses (Figura 25). Después de un año, la pérdida oficialmente reportada debido a la epidemia de PPA fue de ~6 millones de cabezas (lo que representa el 21.5% del hato total), lo que equivale a una pérdida total de peso de carne de cerdo de 342,091 toneladas (lo que representa el 9% de la producción total de carne de cerdo en el país). En Vietnam, la producción de carne de cerdo representa el 71.5% de la industria ganadera (en 2018) y es la principal fuente de carne para la dieta de los consumidores locales. Por lo tanto, el papel de la producción porcina es muy importante para el pueblo vietnamita y las actividades socioeconómicas asociadas con las políticas agrícolas, la seguridad alimentaria, la alimentación animal, la veterinaria, el empleo, la ciencia y la educación, el transporte y otras actividades relacionadas. En comparación con el año anterior al brote de PPA, el volumen total de producción de carne de cerdo y de piara vietnamita disminuyó entre un 11.5% y 13.8%, respectivamente. La reducción acumulada en la piara total de cerdos debido a la PPA impulsó inmediatamente el rápido crecimiento de la producción de aves de corral (16.5%), rumiantes (más del 5%) y otros animales de

granja (más del 3%), así como un rápido aumento de las importaciones de carne de cerdo en 2019 (63%) (Woonwong *et al.* 2020).

Impacto Económico de los Brotes en Europa

Al considerar los cambios de 2013 a 2015, es decir, desde el año anterior a que comenzara la principal epidemia de PPA en Europa del Este hasta el segundo año de la epidemia en cada país donde se había observado PPA en 2014, el inventario nacional de cerdos disminuyó en los cuatro países donde se introdujo la PPA: Estonia -15.1%, Letonia -9.1%, Lituania -8.9%, Polonia -3.7%. Estos cambios fueron mayores y más negativos que en la mayoría de los demás países incluidos en los datos del mismo período. En estos otros países, el cambio de 2013 a 2015 osciló entre 4.0% en Hungría y -0,6% en Eslovaquia, mientras que en Rumania fue un caso atípico en este grupo de países con un cambio de -4.9%. Los cambios observados en el inventario de cerdos entre 2017 y 2019, cuando se introdujo la PPA en la República Checa, Rumania, Bélgica, Bulgaria, Hungría y Eslovaquia, variaron según el país (Niemi 2020).

De 2013 a 2015, se observó un claro aumento en la cantidad de carne porcina producida en tres de los cuatro países donde se introdujo la PPA en 2014: Estonia 14.9%, Letonia 11.9%, Polonia 13.2%. También tres países donde no se había producido la PPA mostraron un aumento en los volúmenes de producción durante el mismo período: Bulgaria 16.6%, Hungría 21.6% y Rumania 7.1%. Los países restantes (Bélgica, República Checa, Italia, Lituania) tuvieron una disminución en la cantidad de producción. Sin embargo, en un análisis descriptivo no quedó claro cuál fue la contribución de la PPA a estos cambios. La cantidad de carne de porcino exportada varió de un año a otro y de un país a otro. De 2013 a 2015, Estonia -17.9%, Letonia -41.3%, Lituania -19.9% y Polonia -6.5% enfrentaron una disminución en la cantidad de carne de cerdo exportada. En estos países se introdujo la PPA en 2014. Sin embargo, otros cuatro países también se enfrentaron a una disminución que oscila entre -0.1 y -34% en las exportaciones de carne de cerdo durante el mismo período. De aquellos países donde se introdujo la PPA en 2017 o 2018, las cantidades exportadas en el año posterior a la introducción de la PPA en el país fueron inferiores a las cantidades exportadas en el año anterior a la

introducción de la PPA (Bélgica -1.6%, República Checa -24.0%, Hungría -0.3% y Rumania -79,7%). En otros países, los cambios en las exportaciones durante el mismo período estuvieron en el rango de -18.9 a +37.1% (Figura 26) (Niemi, 2020).

Impacto Económico de los Brotes en África

En África, el costo económico de la peste porcina africana se estimó en \$1,513,340 dólares en Benín entre 2014 y 2018. El costo de los brotes en Nigeria en 2001 fue de \$941,492 por la elevada mortalidad del 91% en 306 granjas porcinas. En Tanzania los 219 brotes representaron una pérdida económica de \$41,065 dólares (Casal *et al.* 2022).

Impacto Económico de los Brotes en India

En India, el costo directo por la pérdida de animales desde abril de 2020 hasta junio de 2021 se estimó en \$3,732 millones de dólares (Casal *et al.* 2022).

Impacto Económico de los Brotes en América

Dada la situación global actual y la detección del virus en República Dominicana y Haití, la industria porcina reconoce un alto riesgo de introducción del virus a la parte continental de las Américas. De ahí que se estén estableciendo múltiples esfuerzos de preparación en cada país para evitar la introducción y difusión de la enfermedad. Se fomenta la importación responsable de suministros potencialmente contaminados con el virus de PPA y un tiempo de inactividad adecuado para los suministros difíciles de limpiar y desinfectar. Las prácticas estrictas de bioseguridad y el cumplimiento en todos los niveles de producción y gestión porcina deberían ser obligatorios si los productores quieren mantener la enfermedad fuera de su sistema. Dado que la PPA no representa un riesgo para la salud pública, las personas pueden comer regularmente carne de cerdo o productos derivados del cerdo. Sin embargo, no se debe transportar carne de cerdo ni productos porcinos desde un país con PPA a otro país. Además, no se debe permitir la entrada de carne de cerdo o productos porcinos a las instalaciones de producción porcina, dado el riesgo de introducción a través de carne de cerdo contaminada (Ruiz-Sáenz *et al.* 2022).

Los cerdos no deben ser alimentados con restos de comida de restaurantes o de cualquier cocina. Las áreas limpias y sucias deben estar claramente definidas en las plantas de alimentos, las granjas porcinas y las instalaciones de lavado de camiones (Li y Tian, 2020). Deben existir protocolos de bioseguridad para evitar la contaminación de los piensos o insumos para su fabricación. Todos los suministros deben limpiarse y desinfectarse antes de cruzar al área limpia de las instalaciones porcinas. Además, cada instalación de producción porcina debe tener un plan de respuesta que incluya la gestión y eliminación de la mortalidad en caso de un brote de PPA (Ruiz-Sáenz *et al.* 2022).

La FAO en 2022, publicó un mapa de América con su distribución de producciones de cerdos con un nivel de bioseguridad bajo donde se puede visualizar la cantidad de este tipo de producciones en México y en diferentes países en Latinoamérica (Figura 27).

Impacto Económico del Sector Laboral en el Continente Americano

Los Estados Unidos de América, Brasil, México, Canadá y Chile tienen las industrias porcinas más grandes de América, que generan cientos de miles de empleos directos. Además, millones de empleos indirectos se atribuyen a la industria porcina (Cuadro 8). Un brote en el continente tendría un fuerte impacto en la producción de carne de cerdo, por lo tanto, se tendría un efecto negativo en el empleo. Una prohibición del comercio de carne de cerdo procedente de los Estados Unidos de América generaría entre 6,201 y 6,380 pérdidas de empleos en el primer año del brote. En caso de que la enfermedad se volviera endémica, se podrían perder más de 142,000 puestos de trabajo en 10 años. Las mujeres y los jóvenes suelen ser grupos vulnerables que carecen de redes de seguridad, por lo que serían necesarios esfuerzos orientados a apoyar a estos grupos (FAO 2022).

En el caso muy particular en México ante un brote de PPA se perderían 350,000 empleos directos y alrededor de 1,700,000 de empleos totales (Cuadro 8).

JUSTIFICACIÓN

Actualmente los brotes de PPA en África, Asia y Europa ponen en riesgo la seguridad alimentaria de carne de cerdo debido al sacrificio de esta especie como una medida de control para la diseminación de la enfermedad. En América, particularmente en República Dominicana durante el brote del 2021, demostró la vulnerabilidad de la bioseguridad y el diagnóstico. Demostrado también que esta enfermedad tiene un fuerte impacto socioeconómico en los países que han sido afectados. Al ser una enfermedad de reporte obligatorio es importante evaluar las pruebas de diagnóstico molecular aprobadas y recomendadas por la OMSA para realizar un diagnóstico de la enfermedad oportuno para evitar y controlar la diseminación de la enfermedad. Con el uso reciente del análisis *in silico* y su aplicación en la clínica y medicina de cerdos podemos investigar la epidemiología molecular del VPPA de una manera rápida y segura. El análisis *in silico* permitirá obtener información científica para apoyar la toma de decisiones y fortalecer el diagnóstico molecular debido a la reciente identificación de diferentes genotipos del VPPA y su recombinación genética.

HIPÓTESIS

El análisis *in silico* del VPPA evaluará las principales secuencias reportadas de la proteína p72 de los principales brotes, para identificar los principales genotipos y su variabilidad.

OBJETIVO

Objetivo General

Estudiar la diversidad genética del virus de la peste porcina africana mediante el análisis *in silico* de la secuencia del gen que codifica para la proteína p72.

Objetivos Específicos

- ◆ Identificar las principales cepas reportadas de los brotes más importantes del virus de peste porcina africana.
- ◆ Obtener secuencias completas de nucleótidos y aminoácidos de la proteína p72 a través del NCBI.
- ◆ Analizar *in silico* los primers de PCR punto final recomendadas para el diagnóstico en brotes de PPA.
- ◆ Mediante la alineación por medio de MAFFT identificar la conservación o variabilidad de las secuencias en aminoácidos.
- ◆ Estudiar la diversidad genética del gen B646L del VPPA mediante el análisis filogenético y relacionarlo con la clasificación viral establecida.

MATERIALES Y METODOS

Análisis *in silico* de los Primers de PCR Punto Final para Identificar el VPPA

Una de las propuestas por la Organización Mundial de Sanidad Animal (OMSA) para realizar el diagnóstico del VPPA es la identificación de la proteína p72 mediante PCR convencional o punto final (cPCR) propuesta por Agüero en 2003 en donde propone el siguiente set de “primers” (oligonucleótidos o cebadores) descrito en cuadro 9.

Una vez capturados los primers descritos por la OMSA, se analizaron mediante el sitio web Integrated DNA Technologies (IDT) con herramienta OligoAnalyzer (Figura 28) (<https://www.idtdna.com/pages/tools/oligoanalyzer>) para evaluar las correctas características de diseño como: tamaño o longitud, porcentaje de guaninas y citocinas, temperatura de alineamiento, auto-complementariedad y estructuras secundarias.

Los primers fueron analizados mediante el Basic Local Alignment Search Tool (BLAST®) (Figura 29) (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) proporcionado por el NCBI para determinar la identidad y especificidad dentro de la base de datos.

Los primers fueron introducidos en el análisis BLAST® de la página del NCBI para ver si se alinean completamente y se verificó que los primers si reconocieran el VPPA, demostrado en figuras 30 y 31.

Identificación y Búsqueda de Secuencias en Nucleótidos y Aminoácidos de la Proteína p72

La proteína p72, con una longitud de 1941 pb de nucleótidos o 646 aminoácidos, pertenece al gen identificado como B646L, es la proteína de importancia de este trabajo.

Se obtuvieron las principales secuencias reportadas en la literatura en el National Center for Biotechnology Information (NCBI) (Figura 32) de la proteína p72 que pertenece al gen identificado como B646L. Se buscaron secuencias de nucleótidos que tienen una longitud de 1941 pb de los principales brotes en el mundo.

Las secuencias fueron descargadas en formato FASTA (Figura 33) para generar una base de datos en el programa BioEdit Sequence Alignment Editor® (Figura 34).

Para poder clasificar las secuencias de nuestra proteína específica en BioEdit®, se realizó una nomenclatura general identificando: nombre del virus (ASFV) y proteína de interés (p72), número de acceso al Genbank de la secuencia de nucleótidos, el país de origen, año de identificación y huésped del que se aisló. A continuación, se describe un ejemplo de la nomenclatura utilizada para los nucleótidos: ASFVp72 FR682468 Georgia 2007 Domestic Pig.

Se obtuvo una colección de 90 secuencias descargadas del NCBI en formato FASTA y se elaboró un archivo con el programa BioEdit Sequence Alignment Editor® versión 7.7.1 (Hall, 2021), posteriormente se adicionaron los dos primers descritos por la OMSA en el mismo archivo para obtener un total de 92 secuencias. (Figura 35)

Una vez realizado la base de datos completa en BioEdit®, se pasó el archivo al programa Jalview® versión 2.11.2.7 (Figura 36) (Waterhouse *et al.* 2009) en donde se alinearon todas las secuencias de nuestro estudio de la proteína p72 del VPPA (Figura 37) utilizando el algoritmo Clustal W versión 2.0 (Larkin *et al.* 2007) y posteriormente se agregaron los primers para identificar la región y la posición en donde se alinean con las secuencias y se verificó si cumplían con el requisito del tamaño del amplicon descrito por Agüero en 2003 que fue adoptada por la OMSA.

Análisis *in silico* en Aminoácidos de la Proteína p72

Se obtuvieron las principales secuencias de aminoácidos identificadas en la literatura y reportadas en el NCBI de la proteína p72. Se buscaron secuencias de aminoácidos que tenían una longitud de 646 aminoácidos de los principales brotes en el mundo. Las secuencias fueron descargadas en formato FASTA (.fas) para generar una base de datos en el programa BioEdit Sequence Alignment Editor®.

Para poder clasificar las secuencias de nuestro interés, se realizó una nomenclatura general identificando: nombre del virus (ASFV) y proteína de interés (p72), número de acceso al Genbank de la proteína específica, el país de origen, año de identificación y huésped del que se mostró. A continuación, se describe un ejemplo de la nomenclatura utilizada para los aminoácidos: ASFVp72 CAD2068444 Georgia 2007 Domestic Pig.

Las secuencias de genomas completos encontradas en el GenBank fueron recortadas conservando solo la región de la p72/B646L.

Por ejemplo, la secuencia denominada Kenya_1950 con número de acceso AY261360 es un genoma completo, pero aun así fue incluida en este trabajo por la importancia de Kenia para esta enfermedad y siendo el aislado más antiguo de este país y el lugar de origen del VPPA. Para encontrar la región correcta de la proteína p72, la secuencia fue descargada y alineada con las demás secuencias. Cuando el gen de nuestro interés fue identificado (las 1941 pb) fue borrado el resto de la secuencia. Para la traducción de nucleótidos a aminoácidos para la secuencia de Kenya_1950 (AY261360) se utilizó el sitio llamado Open Reading Frame Finder (ORFfinder) (Figura 38) proporcionado por el NCBI.

Todas las secuencias obtenidas se encuentran descritas en el cuadro 10, donde se clasifican de acuerdo con los nombres de aislados, los números de acceso de nucleótidos y aminoácidos, país de origen, año de identificación, genotipo, virulencia y huésped en cual fue reportado.

Construcción del Árbol Filogenético

Una vez generadas las bases de datos se generaron dos archivos: una de las secuencias en nucleótidos y otro de secuencias en aminoácidos en BioEdit®, posteriormente las secuencias fueron alineadas mediante el programa Jalview® utilizando el algoritmo CLUSTAL para los nucleótidos y para los aminoácidos se utilizó el Multiple Alignment using Fast Fourier Transform (MAFFT) (Kato *et al.* 2019).

Para el análisis filogenético en aminoácidos se realizó primero un análisis Modeltest (Figura 39) para identificar el mejor modelo evolutivo para realizar un árbol de máxima verosimilitud, con 1000 repeticiones de Bootstrap (Felsenstein *et al.* 1985), con el software Molecular Evolutionary Genetics Analysis® (MEGA) versión 11.0.13 (Figura 40) (Tamura *et al.* 2021). Para elaborar el árbol filogenético se utilizaron los resultados obtenidos a través del Modeltest en donde el mejor modelo fue Jones Taylor Thornton más distribución Gamma (JTT+G).

RESULTADOS

Análisis *in silico* de los Primers para PCR Convencional Sugeridos por la OMSA

El primer sentido (forward) tiene una longitud de 20 pb, el contenido de guanina–citosina (GC) de 55%, temperatura de alineamiento de 57°C, peso molecular de 6111 g/mol, y coeficiente de extinción 196600 L/(mol•cm) (Figura 41).

El primer antisentido (reverse) tiene longitud de 19 pb, un contenido GC de 57.9%, y temperatura de 56.8°C (Figura 42).

De acuerdo con los resultados obtenidos por OligoAnalyzer de IDT, los primers cumplen con los principales requerimientos para un correcto desempeño de hibridación en la PCR convencional.

Alineación de Identificación de Sitios Conservados en Secuencias de Nucleótidos de p72 de acuerdo con los Primers para cPCR

En el análisis para el primer sentido de la OMSA, 50 secuencias presentan al menos una variación en su longitud total. La distribución de las 50 secuencias mencionadas, tres de Georgia (FR682468, MH910495, MH910496), una de Estonia (LS478113), dos de Bélgica (LR536725, MK543947), diez de China (MK128995, MK333180, MK333181, MN393476, MH766894, OR180113, OR126359, OM161110, OP612151, OP856591), dos de Sudáfrica (AY578700, AY578703), una de Alemania (LR899193), dos de Rusia (KJ195685, MW306192), una de Moldavia (LR722599), una de la Republica Checa (LR722600), cuatro de Tanzania (LR813622, ON409981, ON409982, ON409983), una de Lituania (MK628478), una de Hungría (MN715134), una de Timor-Leste (MW396979), tres de India (OM481276, OR290061, OP796668), dos de Italia (ON108571, OP605386), cinco de Corea Sur (ON075797, OR180305, OR159218, MW049116, OR162436), dos de Vietnam (ON402789, OR227304), una de Mongolia (OP467597), una de Filipinas (MW791753), una de Hong Kong (OK358852), una de Singapur (OR135685) y cuatro de Polonia (MT847620, MT847622, MT847621, MT847623). Todas estas secuencias tienen la misma variación – los polimorfismos encontrados de un cambio de una guanina (G)

por adenina (A) en la misma posición de 1885, excepto Pr5 de Sudáfrica (AY578703) que tiene la variación igual, pero en la posición 1888.

La mayoría de estas secuencias pertenecen al genotipo II, identificado como el genotipo más representativo del VPPA que causa la enfermedad altamente letal.

42 secuencias analizadas pertenecen al genotipo II, sin embargo, existe una recombinante de genotipos I/II, identificada como China (OR180113). Las 11 secuencias que ese genotipo no están descritas y están agrupadas en el clado de genotipo II en nuestro árbol filogenético. Dos secuencias de Sudáfrica (AY578700 y AY578707) tienen genotipos diferentes. Para AY578700 los genotipos pueden ser I/VII, XII o I, dependiendo de la publicación, y para la secuencia AY578707, podría ser genotipo III o una recombinación III/I. Una secuencia de Tanzania (ON409981) pertenece al genotipo XV y la secuencia AY578706 de Namibia es reportada como genotipo IV.

8 de las 58 secuencias tienen 9 variaciones comparando con el primer forward los cuales son de las regiones Vietnam (MK554698), China (MN207061), Armenia (MW296945), Zaire (MW296952), Estonia (MW296946), Nigeria (MZ054172), Filipinas (ON963982) y Ghana (MW296947). Estas secuencias tienen 11 de los 20 sitios de longitud del primer forward. Los cambios son de guanina a adenina en posición 1883, de guanina a citocina en posición 1884, de citocina a guanina en posición 1887, de timina a citocina en posición 1892, de citocina a adenina en posición 1894, de citocina a timina en posición 1895, de timina a citocina en posición 1898, de adenina a timina en posición 1899 y finalmente en la posición 1902 de timina a guanina. Las variaciones y sus posiciones se encuentran en el cuadro 11 y figura 43.

En resumen, de las 90 secuencias analizadas, 58 no podrían ser identificadas en la región blanco por el primer forward actualmente propuestos por la OMSA del VPPA.

El análisis para el primer reverse de la OMSA, identificamos que ocho de las 90 secuencias en este estudio no podrían hibridarse en la región blanco. Estas 8 secuencias no identificadas son de diferentes regiones geográficas como Vietnam (MK554698), China (MN207061), Armenia (MW296945), Zaire (MW296952), Estonia (MW296946),

Nigeria (MZ054172), Filipinas (ON963982) y Ghana (MW296947). Las secuencias de Vietnam, China y Filipinas son del genotipo II. Aunque el genotipo para la mayoría de estas secuencias no está disponible su secuencia genómica en el NCBI, es importante señalar que en nuestro análisis filogenético inferimos que Armenia, Estonia, Nigeria y Filipinas pertenecen al genotipo II también, mientras las secuencias de Zaire y Ghana se encuentran dentro del clúster del genotipo I.

Las 8 secuencias que no serán identificadas por el primer reverse tampoco serán identificadas por el primer forward lo cual significa que estas secuencias nunca serán diagnosticadas en un PCR convencional con los primers actualmente descritas en el manual de la OMSA. Las variaciones y sus posiciones se encuentran en el cuadro 12 y figura 44.

Los primers sentido y antisentido son adecuados para identificar solamente 32 secuencias de las 90 analizadas en este estudio. Todas las secuencias de Kenia (AY261360, KM111295, KM111294, AY578697, AY578698), Portugal (KM262844, KM262845, AM712240), España (NC_001659, KP055815, FN557520), Uganda (MH025916, MH025917, MH025918, MH025919, MH025920, EF121429), Cerdeña (KX354450, MW723482, OP312970), Benín (AM712239), Namibia (AY578706), Congo (MZ202520), República Dominicana (ON185726), Haití (AY578695) y Brasil (MN886938) podrán ser diagnosticadas con los primers proporcionados por la OMSA. Además, una secuencia de Italia (KM102979), una de Sudáfrica (AY578707), una de Mongolia (OQ504955), una de Tanzania (ON409980) y 2 de China (MZ945537, OQ504954) serán reconocibles utilizando los primers de la OMSA.

La figura 45 demuestra el amplicon de los primers propuestas por la OMSA en comparación con todas las secuencias del estudio.

Análisis *in silico* de Sitios Variables de Aminoácidos de la Proteína p72

36 de las 90 secuencias analizadas tienen variaciones en comparación a las demás secuencias que están circulando o en un tiempo han circulado por el mundo. Las variaciones y sus posiciones pueden encontrarse en el cuadro 13.

A continuación, el cuadro 14 se describe las traducciones de los principales aminoácidos (aa) que aparecen en el cuadro de variaciones (Cuadro 13).

Las secuencias de aminoácidos y la comparación entre ellas utilizando el programa de Jalview® se puede apreciar en la figura 46.

Filogenia de la Proteína p72

La historia evolutiva se infirió utilizando el método de Máxima Verosimilitud y el modelo basado en matrices denominado Jones Taylor Thornton (JTT) (Jones *et al.* 1992). Se muestra el árbol con la probabilidad logarítmica más alta (-2194.92). El árbol inicial para la búsqueda heurística se obtuvo aplicando el método de Neighbor-Joining a una matriz de distancias por pares (pairwise) estimadas utilizando el modelo JTT. Se utilizó una distribución Gamma discreta para modelar las diferencias de tasas evolutivas entre sitios (5 categorías (+G, parámetro = 0.1000)). Este análisis involucró 90 secuencias de aminoácidos. Hubo un total de 646 posiciones en el conjunto de datos final. Los análisis evolutivos se realizaron en MEGA®11 (Tamura *et al.* 2021).

El árbol filogenético presenta tres clados principales. El clado más prominente es el que tiene valor de bootstrap 62 donde se agrupan 56 secuencias de las 90 que fueron incluidas en el trabajo, 40 secuencias pertenecen al genotipo II respecto a la información proporcionado por el NCBI u otros trabajos científicos. Aunque no se puede verificar los genotipos exactos de 11 de estas secuencias por falta de información o no han sido reportados aún su genotipo, sin embargo, se puede inferir que son similares filogenéticamente para encontrarse en este clado filogenético.

Una de las 24 secuencias es un virus recombinante de los genotipos I y II (WKE35961) de acuerdo con Zhao *et al.* 2023, otra secuencia posiblemente pertenece al genotipo IV (AAT84455) de acuerdo con Bao *et al.* 2019 y la secuencia AAT84456 podría ser genotipo III o una recombinación III/I, de acuerdo con varias publicaciones (ver cuadro 10).

El segundo clado del árbol con valor de bootstrap 73 contiene dos grupos. El primero con valor de bootstrap 56 contiene 20 secuencias de las cuales 15 han sido verificados por NCBI u otros trabajos que pertenecen al genotipo I. Dos de estas secuencias son virus recombinantes de genotipos I y II (WFS78194 y WFS78366) de acuerdo con Zhao *et al.* 2023. El segundo grupo está compuesto por una sola secuencia (AAT84449) cuyo genotipo no está identificado por el NCBI, pero de acuerdo con Bao *et al.* 2019 y Gilliaux *et al.* 2019, puede ser genotipo VII/I que probablemente puede ser una recombinación de los dos genotipos, lo cual sustenta el posicionamiento de esta secuencia junto a las de genotipo I, pero no exactamente igual ya que Forth *et al.* 2020 la clasifica como genotipo XII. Sin embargo, Hakizimana *et al.* 2023 clasifica la secuencia AAT84449 como genotipo I (Cuadro 10).

El tercer clado con valor de bootstrap 86 es muy diverso y se divide en 3 grupos y 2 subgrupos. El primer grupo es una sola secuencia (WEG42281) lo cual pertenece al genotipo XV de acuerdo con Forth *et al.* 2020. El siguiente grupo con valor de bootstrap 90 también contiene una sola secuencia (ABL67020), pero se desconoce su genotipo. El último grupo con valor de bootstrap 86 está compuesta por dos subgrupos. El subgrupo con valor de bootstrap 61 contiene 8 secuencias, de las cuales 7 son del genotipo IX genotipificado por Masembe *et al.* 2018 y confirmado por Forth *et al.* 2020. Una de estas 8 secuencias ha sido verificada como genotipo X por varias publicaciones y posiblemente fue incluida en este grupo por la similitud de su genoma con los demás. El otro grupo con valor de bootstrap 63 está formado por tres secuencias, pero solo una denominada Kenya_1950 (AY261360) tiene información publicada acerca de su genotipo. En diversas publicaciones, algunos autores como Wang *et al.* 2020, Forth *et al.* 2020, Bao *et al.* 2019, Hakizimana *et al.* 2023 y Bishop *et al.* 2015, la secuencia citada anteriormente aparece

como genotipo X, mientras en la publicación de Gilliaux *et al.* 2019 aparece como una recombinante de genotipos XX/I no está reportada como un genotipo XX o genotipo I por tal motivo puede ser una recombinación de ambos genotipos sabiendo que existen virus recombinantes en la naturaleza viral.

Se puede apreciar el árbol filogenético en la figura 47.

DISCUSIÓN

La PCR convencional y PCR en tiempo real son las pruebas más utilizadas y también recomendadas por la OMSA para el diagnóstico virológico y molecular de la PPA. Ambas PCR son útiles y en general más aplicables, especialmente en laboratorios menos equipados, y son herramientas valiosas para el diagnóstico rutinario y monitoreo de la enfermedad (Tran *et al.* 2020). En general hoy en día, los trabajos publicados ya no usan PCR convencional y solamente tratan de verificar la validez de PCR tiempo real. Sin embargo, en México por el costo y la prueba de PCR convencional es altamente demandada por lo que en este trabajo se decidió utilizar los primers de esta técnica sugeridos por la OMSA. Aunque PCR tiempo real es más rápido y eficiente, no todos los porcicultores tienen la capacidad financiera para procurar el equipamiento de un laboratorio de biología molecular o pagar para mandar pruebas para su muestreo.

Con los resultados obtenidos analizamos que los primers encontrados por Agüero en 2003 y proporcionados a la comunidad científica por la OMSA en el Manual Terrestre hasta su última revisión en 2021 presentan una alta variabilidad en las regiones blanco para identificar diferentes genotipos de VPPA que actualmente están circulando por el mundo. El posicionamiento de los primers puede no hibridar debido a que se encuentran en sitios variables del genoma de p72.

En 2016, Luo *et al.* publicó que el set de primers no hibridan correctamente en las regiones blanco para diagnosticar la PPA por tal motivo su conclusión fue un nuevo diseño de primers actualizados. Durante el tiempo de su estudio las secuencias del genotipo II que circulaban en el Este de Europa y Rusia no fueron incluidas en el trabajo de investigación. Finalmente, actualizó un nuevo set de primers con una mayor sensibilidad, que los proporcionados por la OMSA, focalizándose primeramente en identificar regiones altamente conservadas dentro del gen de la p72 a través un análisis BLAST® en el NCBI. Finalmente sugiere un sinergismo de su innovador diseño de primers para cPCR y los primers de qPCR sugeridos por la OMSA para generar un diagnóstico más confiable.

Tran *et al.* durante el 2020 identifica también que los primers de PCR punto final proporcionados por la OMSA son de baja sensibilidad debido a un apareamiento imperfecto en las regiones blanco de los genotipos del VPPA por lo tanto sugiere el reemplazo del PCR convencional a PCR de tiempo real y concluye que la qPCR presenta una mayor estabilidad que PCR punto final, sin embargo, no propone la actualización del set de primers de cPCR como lo sugiere Luo *et al.*

En 2016, fue comprobado que los primers de PCR tiempo real seguían útiles y seguros, después de 10 años de su diseño. Los estudios de Wang *et al.* 2020 y Tran *et al.* 2020 llegaron a la conclusión de realizar también una actualización de los sets de primers para qPCR. Por lo anteriormente expuesto, es de suma importancia actualizar los primers convencionales que actualmente están descritos y sugeridos en el manual de la OMSA, los cuales muy probablemente serían aplicados por laboratorios de autoridades en sanidad animal en una emergencia sanitaria para el diagnóstico de la enfermedad. Con el tiempo y expansión de esta enfermedad, la evolución y mutaciones causan una multitud de posibles variaciones del virus, haciéndolo difícil de confirmar el diagnóstico correcto, favoreciendo a falsos negativos en brotes.

Para el diseño de primers para pruebas de diagnóstico molecular, es importante seleccionar regiones en el genoma viral que están altamente conservados, lo cual asegura la detección de todos los genotipos del VPPA, además de realizar análisis *in silico* para simular un desafío en los cambios evolutivos ante la inminente recombinación de genotipos del VPPA.

Ramírez-Medina *y cols.* en el año 2022 inocularon cerdos domésticos con el VPPA en los Estados Unidos de América con el aislado descubierto en la República Dominicana en 2021. Aunque la experimentación se llevó a cabo en un laboratorio protegido de nivel 3, tuvieron la posibilidad de poner en riesgo la bioseguridad de todo el país y potencialmente todo el norte de América, incluyendo a México. Por esta razón, el análisis *in silico* y el uso de la bioinformática es uno de los principales objetivos de este trabajo para disminuir los riesgos de introducción de la enfermedad. Se comprobó que no es

necesario tener aislados de virus *en vivo* para genotipificar o verificar la conservación y variabilidad del virus, tampoco es necesario muestrear y estar en contacto con animales infectados con el virus. Solamente utilizando la información ya proporcionada por el NCBI se puede trabajar con genomas completos o parciales de proteínas específicas en programas completamente gratuitos. Es necesario para realizar este tipo de análisis *in silico*, el estricto conocimiento de la amplia gama de programas de bioinformática disponibles para aplicarlos o adaptarlos al tipo de organismo o agente, así como también a las preguntas o necesidades de la investigación veterinaria dependiendo de las necesidades en proyectos de investigación y financiamiento para su desarrollo y elaboración.

En los trabajos de Malogolovkin *et al.* 2012, Bishop *et al.* 2015, Fiori *et al.* 2021 Cho *et al.* 2023 y Hakizimana *et al.* 2023, solamente incluyeron genomas de lugares específicos como Rusia, Kenia, Cerdeña, Corea Sur y Tanzania, respectivamente. Malogolovkin *et al.* 2012 solamente comparó secuencias de brotes que surgieron entre 2007 y 2011, mientras en nuestro estudio incluimos secuencias aisladas desde el año 1949 hasta 2023. Además, en esta tesis se incluyeron 35 países de diferentes regiones geográficas para obtener la mayor cobertura de la variabilidad del VPPA investigando la p72.

En 2015 solo había 12 genomas completos disponibles en el NCBI (Bishop *et al.* 2015), posteriormente en mayo del 2020 se encontraban 70 genomas completos disponibles al público (Forth *et al.* 2020) lo que favorece el análisis de información. En este estudio analizamos 90 secuencias específicas de p72, un porcentaje reservado de la información que actualmente se encuentra disponible en el NCBI. El trabajo específico y con objetivos claramente definidos es más conveniente y recomendado para estudiar secuencias de proteínas de interés para minimizar tiempos y resolver de una manera más accesible y conveniente preguntas en la bioinformática veterinaria. Aunque otros trabajos tienen como objetivo analizar genomas completos del VPPA, Hakizimana *et al.* 2023 sugiere que para determinar el genotipo de los aislados identificados en las muestras clínicas es imprescindible el análisis dirigido específicamente a la proteína p72 por ser la proteína más importante del VPPA como lo confirman diferentes publicaciones. Gracias al análisis

de la p72, la comunidad científica ha logrado genotipificar 26 diferentes genotipos que han surgido alrededor del mundo, así como sus recombinantes.

En 2015, Bishop *et al.* identificaron nuevas secuencias que circulaban en Kenia en 2005 y 2006. Su principal objetivo fue compararlas con la secuencia clásica denominada Kenya_1950 (AY261360), debido a la importancia de esta secuencia. Los tres genomas analizados en la publicación de Bishop también fueron analizados en esta tesis. Bishop *et al.* utilizaron métodos similares a los de esta tesis como el uso de MAFFT para alinear las secuencias y MEGA® para la construcción de un árbol filogenético llegando a una conclusión similar donde las secuencias más recientes de Kenia son similares a la secuencia antigua de Kenya_1950, pero no se agrupan. Además, se confirma que las tres secuencias de Kenia son muy diferentes en comparación con la secuencia Georgia 2007/1 y se encuentran en clados diferentes por su variabilidad genotípica.

Ge *et al.* 2018 incluyeron secuencias que son demasiado cortas como secuencias de nucleótidos midiendo 404 pb en lugar de la longitud completa de 1941 pb. Por esta razón, el criterio para escoger cuales secuencias serían incluidas en este estudio fue muy estricta en el sentido de que no se aceptarían secuencias de nucleótidos que miden menos de 1941 pb o secuencias de aminoácidos que miden menos de 646 aa.

Recientemente en este año del 2023, Zhao *et al.* descubrieron tres virus recombinantes de genotipos I y II. De acuerdo con el gen B646L son clasificados como genotipo I, pero 56% de su genoma deriva del genotipo II. Estudios con animales inoculados con este tipo de virus indica que son muy altamente letales y transmisibles. Estos virus recombinantes ocurrieron naturalmente y representan un desafío extremo para la industria porcina global lo que hace evidente el surgimiento de diferentes variantes genómicas del VPPA. Hipotéticamente reportan 2 secuencias que tienen más afinidad al genotipo I (WFS78194 y WFS78366) y otra secuencia que tiene más porcentaje similar al genotipo II (WKE35961).

Forth *et al.* 2020 armonizó sus flujos de trabajo, los protocolos de investigación, secuenciación y bioinformática para optimizar recursos técnicos y financieros, utilizando 70 secuencias de genomas completos para el desarrollo de vacunas. En nuestro trabajo construimos un árbol filogenético como Forth y *co/s.* pero solamente utilizando secuencias en aminoácidos de la proteína p72, para optimizar tiempo de análisis, así como recursos disponibles.

En el árbol filogenético de Hakizimana *et al.* 2023, la similitud más grande que tiene con el árbol de este estudio es la separación de Kenya_1950 y Ken05/Tk1. Aunque las dos secuencias se clasifican como genotipo X, no se encuentran en el mismo subgrupo o grupo que origina del mismo clado donde también ramifica el genotipo IX. Todo esto posiblemente confirma la clasificación de estas secuencias en nuestros resultados del árbol filogenético. En el clado donde la mayoría son del genotipo I, se encuentra una secuencia ubicada en una rama diferente a los demás (AAT84449) que puede ser una recombinante I/VII de acuerdo con Bao *et al.* 2019 y Gilliaux *et al.* 2019 pero Forth *et al.* 2020 lo clasificó como genotipo XII.

Una discrepancia que se encuentra de las secuencias con genotipos ya establecidos es la agrupación de la secuencia AJL34095 de Kenia de 2005 aislado de una garrapata lo cual pertenece al genotipo X con todas las secuencias del genotipo IX. Además, en otros árboles publicados como en Forth *et al.* 2020, Ken05/Tk1 (AJL34095) y Kenya_1950 (AY261360) se agrupan siendo del genotipo X, pero en nuestros resultados están en el mismo grupo, pero diferentes subgrupos. Una justificación de esta diferencia podría ser el error en genotipificación de Kenya_1950 (AY261360) porque fue publicado como genotipo XX/I por Gilliaux *et al.* 2019.

Como se explicó anteriormente, este trabajo y varias publicaciones están de acuerdo de la necesidad de actualizar constantemente los primers y que sean verificados por una organización internacional para homologar el diagnóstico molecular. Científicos, investigadores, veterinarios y estudiantes usan la OMSA como fuente confiable y segura, por lo tanto publicar primers no actualizados con el uso del análisis *in silico* adaptados

en regiones altamente conservados corre el riesgo de introducción del virus a un país libre de la enfermedad puede diseminar rápidamente una epidemia severa ocasionando una emergencia sanitaria en la industria porcina repercutiendo en la producción de carne de cerdo afectando el sector pecuario con un impacto socioeconómico devastador.

Se confirmó que el análisis *in silico* identificó los principales genotipos del VPPA a través del análisis bioinformático de la proteína p72, así como su variabilidad y recombinación genotípica además del estudiar las secuencias que probablemente serían identificadas por los primers de Agüero 2003 sugeridos en el Manual por la OMSA.

Actualmente hay que considerar los softwares de bioinformática que ofertan en el mercado algunas empresas para el estudio de secuencias de genomas completos, sin embargo, una de las principales limitantes son los recursos invertidos para realizar este tipo de análisis. El diagnóstico oportuno de manera precisa y exacta es de suma importancia para diagnosticar tempranamente cerdos enfermos y disminuir la diseminación de la PPA.

CONCLUSIONES

- Se logró analizar la proteína p72 del VPPA mediante el análisis *in silico*. Identificando las principales secuencias de brotes importantes a través de la base de datos de GenBank del NCBI.
- A través del análisis *in silico* se identificaron sitios variables y conservados, así como la recombinación entre genotipos donde se identificaron principalmente la evolución genética de tres clados.
- Los resultados del alineamiento de las regiones blanco por los primers recomendados por la OMSA para PCR punto convencional, sugieren una pronta actualización en el diseño para evitar falsos negativos ante los recientes brotes de PPA.
- Mediante la construcción del árbol filogenético se identificó los principales genotipos y sus recombinantes lo cual confirma su evolución y diversidad genética, así como su clasificación en genotipo con relación a la proteína p72.

BIBLIOGRAFÍA

- ◆ Adams, D. *Bioinformatics*. Genome.gov. Citado el 15 de septiembre de 2023, de <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Bioinformatics>
- ◆ Ajawatanawong P. Molecular Phylogenetics: Concepts for a Newcomer. En: *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*. Cham: Springer International Publishing; 2016. p. 185–96.
- ◆ Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ. 1990. “Basic Local Alignment Search Tool” [Internet]. Nih.gov. [citado el 4 de octubre de 2023]. Disponible en: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>
- ◆ Agüero M, Fernández J, Romero L, Sánchez Mascaraque C, Arias M, Sánchez-Vizcaíno JM. Highly sensitive PCR assay for routine diagnosis of African swine fever virus in clinical samples. *J Clin Microbiol* [Internet]. 2003;41(9):4431–4. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1128/jcm.41.9.4431-4434.2003>
- ◆ Alejo A, Matamoros T, Guerra M, Andrés G. A proteomic atlas of the African swine fever virus particle. *J Virol* [Internet]. 2018;92(23). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1128/jvi.01293-18>
- ◆ Alkhamis MA, Gallardo C, Jurado C, Soler A, Arias M, Sánchez-Vizcaíno JM. Phylodynamics and evolutionary epidemiology of African swine fever p72-CVR genes in Eurasia and Africa. *PLoS One* [Internet]. 2018;13(2):e0192565. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0192565>
- ◆ Bao J, Wang Q, Lin P, Liu C, Li L, Wu X, et al. Genome comparison of African swine fever virus China/2018/Anhui XCGQ strain and related European p72 Genotype II strains. *Transbound Emerg Dis* [Internet]. 2019;66(3):1167–76. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1111/tbed.13124>
- ◆ Bao J, Zhang Y, Shi C, Wang Q, Wang S, Wu X, et al. Genome-wide diversity analysis of African swine fever virus based on a curated dataset. *Animals (Basel)* [Internet]. 2022;12(18):2446. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/ani12182446>
- ◆ Bishop RP, Fleischauer C, de Villiers EP, Okoth EA, Arias M, Gallardo C, et al. Comparative analysis of the complete genome sequences of Kenyan African swine fever virus isolates within p72 genotypes IX and X. *Virus Genes* [Internet]. 2015;50(2):303–9. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s11262-014-1156-7>
- ◆ Blome S, Franzke K, Beer M. African swine fever – A review of current knowledge. *Virus Res* [Internet]. 2020;287(198099):198099. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.virusres.2020.198099>

- ◆ Blome S, Gabriel C, Beer M. Pathogenesis of African swine fever in domestic pigs and European wild boar. *Virus Res* [Internet]. 2013;173(1):122–30. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.virusres.2012.10.026>
- ◆ Casal J, Tago D, Pineda P, Tabakovski B, Santos I, Benigno C, et al. Evaluation of the economic impact of classical and African swine fever epidemics using OutCosT, a new spreadsheet-based tool. *Transbound Emerg Dis* [Internet]. 2022;69(5). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1111/tbed.14590>
- ◆ Cho K-H, Yoo D-S, Hong S-K, Kim D-Y, Jang M-K, Kang H-E, et al. Genetic profile of African swine fever viruses circulating at pig farms in South Korea during the outbreaks between 2022 and April 2023. *Viruses* [Internet]. 2023;15(7):1552. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/v15071552>
- ◆ Dixon LK, Nash R, Hawes PC, Netherton CL. African swine fever virus (asfarviridae). En: *Encyclopedia of Virology*. Elsevier; 2021. p. 22–33.
- ◆ Dixon LK, Stahl K, Jori F, Vial L, Pfeiffer DU. African swine fever epidemiology and control. *Annu Rev Anim Biosci* [Internet]. 2020;8(1):221–46. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-animal-021419-083741>
- ◆ Dixon LK, Sun H, Roberts H. African swine fever. *Antiviral Res* [Internet]. 2019;165:34–41. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.antiviral.2019.02.018>
- ◆ Ekins S, Mestres J, Testa B. *In silico* pharmacology for drug discovery: methods for virtual ligand screening and profiling. *Br J Pharmacol* [Internet]. 2007;152(1):9–20. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/sj.bjp.0707305>
- ◆ Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution* [Internet]. 1985;39(4):783. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.2307/2408678>
- ◆ Fernández-Pinero J, Gallardo C, Elizalde M, Robles A, Gómez C, Bishop R, et al. Molecular diagnosis of African swine fever by a new real-time PCR using universal probe library: UPL PCR for African swine fever virus. *Transbound Emerg Dis* [Internet]. 2013;60(1):48–58. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1865-1682.2012.01317.x>
- ◆ Fiori MS, Sanna D, Scarpa F, Floris M, Di Nardo A, Ferretti L, et al. A deeper insight into evolutionary patterns and phylogenetic history of ASFV epidemics in Sardinia (Italy) through extensive genomic sequencing. *Viruses* [Internet]. 2021;13(10):1994. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/v13101994>
- ◆ Food and Agriculture Organization (FAO). Qualitative risk assessment for African swine fever virus introduction; 2022.

- ◆ Forth JH, Forth LF, Blome S, Höper D, Beer M. African swine fever whole-genome sequencing—Quantity wanted but quality needed. *PLoS Pathog* [Internet]. 2020;16(8):e1008779. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1008779>
- ◆ Galindo I, Alonso C. African swine fever virus: A review. *Viruses* [Internet]. 2017;9(5):103. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/v9050103>
- ◆ Gallardo C, Fernández-Pinero J, Arias M. African swine fever (ASF) diagnosis, an essential tool in the epidemiological investigation. *Virus Res* [Internet]. 2019;271(197676):197676. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.virusres.2019.197676>
- ◆ Gaudreault NN, Madden DW, Wilson WC, Trujillo JD, Richt JA. African swine fever virus: An emerging DNA arbovirus. *Front Vet Sci* [Internet]. 2020;7. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3389/fvets.2020.00215>
- ◆ Ge S, Li J, Fan X, Liu F, Li L, Wang Q, et al. Molecular characterization of African swine fever virus, China, 2018. *Emerg Infect Dis* [Internet]. 2018;24(11):2131–3. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3201/eid2411.181274>
- ◆ Gilliaux G, Garigliany M, Licoppe A, Paternostre J, Lesenfants C, Linden A, et al. Newly emerged African swine fever virus strain Belgium/Etalle/wb/2018: Complete genomic sequence and comparative analysis with reference p72 genotype II strains. *Transbound Emerg Dis* [Internet]. 2019;66(6):2566–91. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1111/tbed.13302>
- ◆ Go YY, Ho JHP, Tam KWS, Kamali M, Zhang Y, Lau CCY, et al. Investigation of the first African swine fever outbreak in a domestic pig farm in Hong Kong. *Transbound Emerg Dis* [Internet]. 2023; 2023:1–15. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1155/2023/1720474>
- ◆ Guinat C, Gogin A, Blome S, Keil G, Pollin R, Pfeiffer DU, et al. Transmission routes of African swine fever virus to domestic pigs: current knowledge and future research directions. *Vet Rec* [Internet]. 2016;178(11):262–7. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1136/vr.103593>
- ◆ Guinat C, Vergne T, Jurado-Diaz C, Sánchez-Vizcaíno JM, Dixon L, Pfeiffer DU. Effectiveness and practicality of control strategies for African swine fever: what do we really know? *Vet Rec* [Internet]. 2017;180(4):97–97. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1136/vr.103992>

- ◆ Hakizimana JN, Yona C, Makange MR, Kasisi EA, Netherton CL, Nauwynck H, et al. Complete genome analysis of African swine fever virus genotypes II, IX and XV from domestic pigs in Tanzania. *Sci Rep* [Internet]. 2023;13(1). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-023-32625-1>

- ◆ Hall T. BioEdit Sequence Alignment Editor for Windows 95/98/NT/XP/Vista/78/10 [Internet]. Github.io. [citado el 26 de septiembre de 2023]. Disponible en: <https://thalljscience.github.io/>

- ◆ Integrated DNA Technologies (IDT). How to use the IDT OligoAnalyzer™ Tool [Internet]. 2020. Disponible en: <https://www.idtdna.com/pages/tools/oligoanalyzer?returnurl=%2Fcalc%2Falyzer>

- ◆ Jones DT, Taylor WR, Thornton JM. The rapid generation of mutation data matrices from protein sequences. *Comput Appl Biosci* [Internet]. 1992;8(3):275–82. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1093/bioinformatics/8.3.275>

- ◆ Kadri K. Polymerase chain reaction (PCR): Principle and applications. En: *Synthetic Biology - New Interdisciplinary Science*. IntechOpen; 2020.

- ◆ Katoh K, Rozewicki J, Yamada KD. MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. *Brief Bioinform* [Internet]. 2019;20(4):1160–6. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1093/bib/bbx108>

- ◆ Khalil MI. Different Types of PCR A review paper. *Global Scientific Journal*. febrero de 2021;9(2):758–68.

- ◆ Kim G, Park J-E, Kim S-J, Kim Y, Kim W, Kim Y-K, et al. Complete genome analysis of the African swine fever virus isolated from a wild boar responsible for the first viral outbreak in Korea, 2019. *Front Vet Sci* [Internet]. 2023;9. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3389/fvets.2022.1080397>

- ◆ King DP, Reid SM, Hutchings GH, Grierson SS, Wilkinson PJ, Dixon LK, et al. Development of a TaqMan® PCR assay with internal amplification control for the detection of African swine fever virus. *J Virol Methods* [Internet]. 2003;107(1):53–61. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.1016/s0166-0934\(02\)00189-1](http://dx.doi.org/10.1016/s0166-0934(02)00189-1)

- ◆ Larkin MA, Blackshields G, Brown NP, Chenna R, McGettigan PA, McWilliam H, et al. Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics* [Internet]. 2007;23(21):2947–8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1093/bioinformatics/btm404>

- ◆ Le VP, Ahn M-J, Kim J-S, Jung M-C, Yoon S-W, Trinh TBN, et al. A whole-genome analysis of the African swine fever virus that circulated during the first outbreak in Vietnam in 2019 and subsequently in 2022. *Viruses* [Internet]. 2023;15(9):1945. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/v15091945>
- ◆ Li X, Xiao K, Zhang Z, Yang J, Wang R, Shen X, et al. The recombination hot spots and genetic diversity of the genomes of African swine fever viruses. *J Infect* [Internet]. 2020;80(1):121–42. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinf.2019.08.007>
- ◆ Liu Q, Ma B, Qian N, Zhang F, Tan X, Lei J, et al. Structure of the African swine fever virus major capsid protein p72. *Cell Res* [Internet]. 2019;29(11):953–5. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/s41422-019-0232-x>
- ◆ López-Otín C, Freije JMP, Parra F, Mendez E, Viñuela E. Mapping and sequence of the gene coding for protein p72, the major capsid protein of african swine fever virus. *Virology* [Internet]. 1990;175(2):477–84. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.1016/0042-6822\(90\)90432-q](http://dx.doi.org/10.1016/0042-6822(90)90432-q)
- ◆ Luo Y, Atim SA, Shao L, Ayebazibwe C, Sun Y, Liu Y, et al. Development of an updated PCR assay for detection of African swine fever virus. *Arch Virol* [Internet]. 2016;162(1):191–9. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s00705-016-3069-3>
- ◆ Lv C, Yang J, Zhao L, Wu C, Kang C, Zhang Q, et al. Infection characteristics and transcriptomics of African swine fever virus in Bama minipigs. *Microbiol Spectr* [Internet]. 2022;10(6). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1128/spectrum.03834-22>
- ◆ Maclachlan N, Dubovi E. Asfarviridae and Iridoviridae. En: *Fenner's Veterinary Virology*. Elsevier; 2017. p. 175–88.
- ◆ Malogolovkin A, Burmakina G, Titov I, Sereda A, Gogin A, Baryshnikova E, et al. Comparative analysis of African swine fever virus genotypes and serogroups. *Emerg Infect Dis* [Internet]. 2015;21(2):312–5. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3201/eid2102.140649>
- ◆ Malogolovkin A, Kolbasov D. Genetic and antigenic diversity of African swine fever virus. *Virus Res* [Internet]. 2019;271(197673):197673. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.virusres.2019.197673>
- ◆ Malogolovkin A, Yelsukova A, Gallardo C, Tsybanov S, Kolbasov D. Molecular characterization of African swine fever virus isolates originating from outbreaks in the Russian Federation between 2007 and 2011. *Vet Microbiol* [Internet]. 2012;158(3–4):415–9. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.03.002>

- ◆ Masembe C, Sreenu VB, Da Silva Filipe A, Wilkie GS, Ogweng P, Mayega FJ, et al. Genome sequences of five African swine fever virus genotype IX isolates from domestic pigs in Uganda. *Microbiol Resour Announc* [Internet]. 2018;7(13). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1128/MRA.01018-18>
- ◆ Mason-D’Croz D, Bogard JR, Herrero M, Robinson S, Sulser TB, Wiebe K, et al. Modelling the global economic consequences of a major African swine fever outbreak in China. *Nat Food* [Internet]. 2020;1(4):221–8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/s43016-020-0057-2>
- ◆ Mazloum A, van Schalkwyk A, Shotin A, Igolkin A, Shevchenko I, Gruzdev KN, et al. Comparative analysis of full genome sequences of African swine fever virus isolates taken from wild boars in Russia in 2019. *Pathogens* [Internet]. 2021;10(5):521. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/pathogens10050521>
- ◆ McDowell CD, Bold D, Trujillo JD, Meekins DA, Keating C, Cool K, et al. Experimental infection of domestic pigs with African swine fever virus isolated in 2019 in Mongolia. *Viruses* [Internet]. 2022; 14(12):2698. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/v14122698>
- ◆ Montecillo AD, Baybay Z, Cabug RC, Cariaso W, Jose JP, Mantaring S, et al. Coding-complete genome sequence of an African swine fever virus from an outbreak in 2021 among domestic pigs in Pangasinan, Philippines. *Microbiol Resour Announc* [Internet]. 2022; 11(12). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1128/mra.00719-22>
- ◆ Montgomery RE. On A form of swine fever occurring in British east Africa (Kenya colony). *J Comp Pathol Ther* [Internet]. 1921; 34:159–91. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.1016/s0368-1742\(21\)80031-4](http://dx.doi.org/10.1016/s0368-1742(21)80031-4)
- ◆ Muñoz AL, Tabarés E. Characteristics of the major structural proteins of African swine fever virus: Role as antigens in the induction of neutralizing antibodies. A review. *Virology* [Internet]. 2022; 571:46–51. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.virol.2022.04.001>
- ◆ Muñoz-Moreno R, Galindo I, Cuesta-Geijo MÁ, Barrado-Gil L, Alonso C. Host cell targets for African swine fever virus. *Virus Res* [Internet]. 2015;209:118–27. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.virusres.2015.05.026>
- ◆ National Center for Biotechnology Information (NCBI) [Internet]. Nih.gov. [citado el 10 de octubre de 2023]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide>
- ◆ Niederwerder M. Risk and mitigation of African swine fever virus in feed. *Animals (Basel)* [Internet]. 2021;11(3):792. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/ani11030792>

- ◆ Niemi JK. Impacts of African swine fever on pigmeat markets in Europe. *Front Vet Sci* [Internet]. 2020;7. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3389/fvets.2020.00634>
- ◆ Njau EP, Domelevo Entfellner J-B, Machuka EM, Bochere EN, Cleaveland S, Shirima GM, et al. The first genotype II African swine fever virus isolated in Africa provides insight into the current Eurasian pandemic. *Sci Rep* [Internet]. 2021;11(1). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-021-92593-2>
- ◆ Njau EP, Machuka EM, Cleaveland S, Shirima GM, Kusiluka LJ, Okoth EA, et al. African swine fever virus (ASFV): Biology, genomics and genotypes circulating in sub-Saharan Africa. *Viruses* [Internet]. 2021;13(11):2285. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/v13112285>
- ◆ Open Reading Frame Finder – NCBI (ORFfinder) [Internet]. Nih.gov. [citado el 10 de octubre de 2023]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/>
- ◆ Organización Mundial de la Sanidad Animal (OMSA). [citado el 22 de septiembre de 2023]. Disponible en: <https://www.woah.org/app/uploads/2021/03/oie-african-swine-fever-technical-disease-card.pdf>
- ◆ Organización Mundial de la Sanidad Animal (OMSA). Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals 2021 – 6 edición [Internet]. Woah.org. [citado el 18 de septiembre de 2023]. Disponible en: https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/A_summry.htm
- ◆ Pace NR, Sapp J, Goldenfeld N. Phylogeny and beyond: Scientific, historical, and conceptual significance of the first tree of life. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2012;109(4):1011–8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1109716109>
- ◆ Pathak RK, Singh DB, Singh R. Introduction to basics of bioinformatics. En: *Bioinformatics*. Elsevier; 2022. p. 1-15.
- ◆ Prabhakarareddy Anapalli V, Santosh Kumar SR, Kuralayanapalya Puttahonnappa S, Sharanagouda S. P, Uma Bharathi I, Rajangam S, et al. Regulated Emergence of the African swine fever virus: B646L (p72) Gene Based Bayesian Coalescent Analysis. *Int J Pharma Bio Sci* [Internet]. 2021;11(4). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.22376/ijpbs/lpr.2021.11.4.11-8>
- ◆ Qu H, Ge S, Zhang Y, Wu X, Wang Z. A systematic review of genotypes and serogroups of African swine fever virus. *Virus Genes* [Internet]. 2022;58(2):77–87. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s11262-021-01879-0>

- ◆ Rabobank. [citado el 15 de septiembre de 2023]. Disponible en: https://www.pluimveeweb.nl/site/assets/files/0/02/26/213/191113_rabobank_global_animal_protein_outlook_2020.pdf
- ◆ Ramirez-Medina E, O'Donnell V, Silva E, Espinoza N, Velazquez-Salinas L, Moran K, et al. Experimental infection of domestic pigs with an African swine fever virus field strain isolated in 2021 from the Dominican Republic. *Viruses* [Internet]. 2022;14(5):1090. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/v14051090>
- ◆ Ruiz-Saenz J, Diaz A, Bonilla-Aldana DK, Rodríguez-Morales AJ, Martínez-Gutierrez M, Aguilar PV. African swine fever virus: A re-emerging threat to the swine industry and food security in the Americas. *Front Microbiol* [Internet]. 2022;13. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2022.1011891>
- ◆ Salguero FJ. Comparative pathology and pathogenesis of African swine fever infection in swine. *Front Vet Sci* [Internet]. 2020;7. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3389/fvets.2020.00282>
- ◆ Sánchez-Vizcaíno JM, Mur L, Gomez-Villamandos JC, Carrasco L. An update on the epidemiology and pathology of African swine fever. *J Comp Pathol* [Internet]. 2015;152(1):9–21. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcpa.2014.09.003>
- ◆ Som A. Causes, consequences and solutions of phylogenetic incongruence. *Brief Bioinform* [Internet]. 2014;16(3):536–48. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1093/bib/bbu015>
- ◆ Steiger Y, Ackermann M, Mettraux C, Kihm U. Rapid and biologically safe diagnosis of African swine fever virus infection by using polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* [Internet]. 1992;30(1):1–8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1128/jcm.30.1.1-8.1992>
- ◆ Sun E, Huang L, Zhang X, Zhang J, Shen D, Zhang Z, et al. Genotype I African swine fever viruses emerged in domestic pigs in China and caused chronic infection. *Emerg Microbes Infect* [Internet]. 2021;10(1):2183–93. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1080/22221751.2021.1999779>
- ◆ Tamura K, Stecher G, Kumar S. MEGA11: Molecular evolutionary genetics analysis version 11. *Mol Biol Evol* [Internet]. 2021;38(7):3022–7. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1093/molbev/msab120>
- ◆ Thermofisher. Real-time PCR basics - US. [citado el 15 de septiembre de 2023]; Disponible en: <https://www.thermofisher.com/us/en/home/life-science/pcr/real-time-pcr/real-time-pcr-learning-center/real-time-pcr-basics.html>

- ◆ Tian X, von Cramon-Taubadel S. Economic consequences of African swine fever. *Nat Food* [Internet]. 2020;1(4):196–7. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/s43016-020-0061-6>
- ◆ Tran HTT, Dang AK, Ly DV, Vu HT, Van Hoang T, Nguyen CT, et al. An improvement of real-time polymerase chain reaction system based on probe modification is required for accurate detection of African swine fever virus in clinical samples in Vietnam. *Asian-australas J Anim Sci* [Internet]. 2020;33(10):1683–90. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.5713/ajas.19.0525>
- ◆ Wang L, Luo Y, Zhao Y, Gao GF, Bi Y, Qiu H-J. Comparative genomic analysis reveals an ‘open’ pan-genome of African swine fever virus. *Transbound Emerg Dis* [Internet]. 2020;67(4):1553–62. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1111/tbed.13489>
- ◆ Wang N, Zhao D, Wang J, Zhang Y, Wang M, Gao Y, et al. Architecture of African swine fever virus and implications for viral assembly. *Science* [Internet]. 2019;366(6465):640–4. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1126/science.aaz1439>
- ◆ Wang Y, Xu L, Noll L, Stoy C, Porter E, Fu J, et al. Development of a real-time PCR assay for detection of African swine fever virus with an endogenous internal control. *Transbound Emerg Dis* [Internet]. 2020;67(6):2446–54. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1111/tbed.13582>
- ◆ Wang Z, Jia L, Li J, Liu H, Liu D. Pan-genomic analysis of African swine fever virus. *Viral Sin* [Internet]. 2020;35(5):662–5. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s12250-019-00173-6>
- ◆ Waterhouse AM, Procter JB, Martin DMA, Clamp M, Barton GJ. Jalview Version 2—a multiple sequence alignment editor and analysis workbench. *Bioinformatics* [Internet]. 2009;25(9):1189–91. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1093/bioinformatics/btp033>
- ◆ Woonwong Y, Do Tien D, Thanawongnuwech R. The future of the pig industry after the introduction of African swine fever into Asia. *Anim Front* [Internet]. 2020;10(4):30–7. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1093/af/vfaa037>
- ◆ Yang J, Tang K, Cao Z, Pfeiffer DU, Zhao K, Zhang Q, et al. Demand-driven spreading patterns of African swine fever in China. *Chaos* [Internet]. 2021;31(6). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1063/5.0053601>
- ◆ Ye C, Wu X, Chen T, Huang Q, Fang R, An T. The updated analysis of African swine fever virus genomes: Two novel genotypes are identified. *J Infect* [Internet]. 2019;80(2):232–54. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinf.2019.10.013>

- ◆ Yu M, Morrissy CJ, Westbury HA. Strong sequence conservation of African swine fever virus p72 protein provides the molecular basis for its antigenic stability. *Arch Virol* [Internet]. 1996;141(9):1795–802. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/bf01718302>
- ◆ Yun C-H. — Editorial — Unforeseen enemy: African swine fever. *Asian-australas J Anim Sci* [Internet]. 2020;33(1):1–3. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.5713/ajas.2020.0001ed>
- ◆ Zhao D, Sun E, Huang L, Ding L, Zhu Y, Zhang J, et al. Highly lethal genotype I and II recombinant African swine fever viruses detected in pigs. *Nat Commun* [Internet]. 2023;14(1). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-023-38868-w>

ANEXO

Lista de Cuadros

Cuadro 1. Principales brotes de VPPA reportados en Eurasia de enero 2007 a febrero 2020 (Gaudreault *et al.* 2020).

País	Año/fecha reportada	Estatus	Estimación de la pérdida de animales	Especie
Georgia	2007-2008	Resuelto	87,412	Cerdo
Armenia	2007-2008, 2010-2011	Resuelto	2,483	Cerdo
Azerbaiyán	2008	Resuelto	4,832	Cerdo
Federación Rusa	2007-2019	Continuo	79,632	Cerdo, jabalí
Ucrania	2012, 2014-2019	Continuo	20,166	Cerdo, jabalí
Belarus	2013	Resuelto	20,627	Cerdo
Letonia	2014-2019	Resuelto	23,735	Cerdo
Latvia	2014-2019	Continuo	294	Cerdo, jabalí
Estonia	2014-2019	Resuelto	26	Jabalí
Polonia	2014-2019	Continuo	37,396	Cerdo, jabalí
República Checa	2017, 2018	Resuelto	202	Jabalí
Romania	2017-2019	Continuo	90,698	Cerdo, jabalí
Hungría	2018-2019	Continuo	1,536	Jabalí
Bulgaria	2018-2019	Continuo	137,973	Cerdo, jabalí
Moldava	2016-2019	Continuo	348	Cerdo, jabalí
Bélgica	2018-2019	Continuo	540	Jabalí
Eslovaquia	2019	Continuo	70	Cerdo, jabalí
Serbia	2019	Continuo	290	Cerdo
China/32 provincias	3 de agosto 2018	Continuo	1,193,000	Cerdo, jabalí
Mongolia/6 provincias	15 de enero 2019	Resuelto	3,115	Cerdo
Vietnam/19 provincias	19 de febrero 2019	Continuo	5,960,000	Cerdo
Cambodia/5 provincias	2 de abril 2019	Resuelto	3,673	Cerdo
República Popular Democrática de Corea	23 de mayo 2019	Continuo	124	Cerdo, jabalí
República Democrática Popular de Lao	20 de junio 2019	Continuo	40,130	Cerdo
Filipinas	25 de julio 2019	Continuo	70,000	Cerdo
Myanmar	1 de agosto 2019	Continuo	128	Cerdo
República de Corea	17 de septiembre 2019	Continuo	10,000	Cerdo, jabalí
Timor-Leste	9 de septiembre 2019	Continuo	1,600	Cerdo
Indonesia	Septiembre 2019	Continuo	42,000	Cerdo

Cuadro 2. Tiempo de sobrevivencia del VPPA en diferentes productos de origen porcino (FAO, 2022).

Sobrevivencia de productos porcinos y en el ambiente	
Producto/Ambiente	Tiempo de Sobrevivencia del VPPA
Carne con o sin hueso y carne molida	105 días
Carne curada con sal (salchicha, tocino)	182 días
Carne de cerdo cocido (min. 30 minutos a 70°C)	0 días
Carne embutidos (salami, prosciutto)	300 días
Carne ahumada sin hueso	30 días
Carne congelada	1000 días
Carne refrigerada	110 días
Vísceras	105 días
Piel/grasa (también secas)	300 días
Sangre a 4°C	18 meses
Heces de temperatura ambiental	11 días
Sangre putrefacta	15 semanas
Corrales de cerdos contaminadas	1 mes
Tierra	3 semanas
Agua	Al menos 60 días a 4°C
Cadáver (órganos, medula ósea de jabalí)	3 meses a 4°C
Cadáver (piel)	6 meses a 4°C

Cuadro 3. Características epidemiológicas de diferentes especies de suidos salvajes al respecto a la transmisión de PPA (Dixon *et al.* 2020).

Características Epidemiológicas	Wild boar (<i>Sus scrofa</i>)	Bushpig (<i>Potamochoerus larvatus</i>)	Red river hog (<i>Potamochoerus porcus</i>)	Warthog (<i>Potamochoerus africanus</i>)	Giant forest hog (<i>Hylochoerus meinertzhageni</i>)
Distribución geográfica	Europa y Asia	África (este y sur), Madagascar	África (centro)	Sabanas africanas	África (este y centro)
Detectado en poblaciones naturales	Sí	Sí	No	Sí	Sí
Resistencia natural	No	Sí	Sospechado	Sí	Sí
Mortalidad natural si infectado	Sí	No	No reportado	No	No
Mantenimiento viral en poblaciones naturales	Sí	Desconocido	Desconocido	Solamente en la presencia con garrapatas argásidas	Desconocido
Transmisión horizontal	Sí	Desconocido	Desconocido	No	Desconocido

Cuadro 4. Principales lesiones observadas en las diferentes formas de PPA (Sánchez-Vizcaíno *et al.* 2015).

	PPA Hiperaguda	PPA aguda	PPA subaguda	PPA crónica
Fiebre	Alto	Alto	Moderado	Irregular o ausente
Trombocitopenia	Ausente	Ausente o poco (tardado)	Transitoria	Ausente
Piel	Eritema	Eritema	Eritema	Áreas necróticas
Linfonodos	-	Gastrohepatico y renal con aspecto mármol	La mayoría de linfonodos parecen coágulos de sangre	Hinchados
Bazo	-	Esplenomegalia hiperemico	Esplenomegalia hiperemico parcial o infarto focal	Agrandados con color normal
Riñón	-	Hemorragias petequiales (principalmente en la corteza)	Hemorragias petequiales en la corteza, médula y pelvis; edema perirenal	-
Pulmón	-	Edema alveolar severa	-	Pleuritis y neumonía
Vesícula biliar	-	Hemorragias petequiales	Edema vesicular	-
Corazón	-	Hemorragias en epicardio y endocardio	Hemorragias en epicardio y endocardio; hidropericardio	Pericarditis fibrinosa
Tonsilas	-	-	-	Focos necróticos
Alteración reproductiva	-	-	Aborto	Aborto

Cuadro 5. Diagnóstico diferencial de la peste porcina africana con base en lesiones macroscópicas (Sánchez-Vizcaíno *et al.* 2015).

	PPA aguda	PPA subaguda	CSF	HP-PRRS	Erisipela	Salmonella	DNS
Piel	Eritema	Eritema	Eritema	Cianosis	Lesiones en forma de diamante	Cianosis	Maculas y pápulas
Linfonodos	Aspecto mármol	Hemorrágicos	Aspecto mármol	Hinchados o aspecto mármol	Aspecto mármol	Hinchados	Aspecto mármol
Bazo	Esplenomegalia hiperemica	Esplenomegalia hiperemico parcial o infarto focal	Infartos múltiples en el margen	Infartos dispersos o puntos blancos en la superficie	Esplenomegalia hiperemica	Esplenomegalia	-
Riñón	Hemorragias petequiales	Hemorragias petequiales; edema perirenal	Hemorragias petequiales	Hemorragias petequiales	Hemorragias petequiales	Hemorragias petequiales	Glomerulonefritis
Vesícula biliar	Hemorragias petequiales	Edema vesicular	Hemorragias petequiales	-	-	-	-
Tonsilas	-	-	Áreas necróticas	Hinchados o con hemorragias	-	-	-
Intestino	Hemorragias petequiales	Hemorragias petequiales	Úlceras de botón	-	-	Enterocolitis necrótica	-
Trombocitopenia	Ausente o poco (tardado)	Transitorio	Intenso (temprano)	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
Otras lesiones	-	-	Signos nerviosos Malformación congénita	Atrofia tímica	Artritis y endocarditis vegetativa (forma crónica)	Signos nerviosos; congestión de la mucosa gástrica; focos necróticos en el hígado y bronconeumonía	-

Cuadro 6. Métodos analíticos disponibles y su propósito (OMSA, 2021).

Método	Propósito					
	Demostrar ausencia de infección en la población	Demostrar ausencia de infección en animales concretos	Contribuir a las políticas de erradicación	Confirmar casos clínicos sospechosos	Determinar la prevalencia de la infección – vigilancia en el rebaño/ manada	Determinar el estado inmunitario en animales concretos o en poblaciones tras la vacunación
Identificación del agente						
Aislamiento del virus/prueba HAD ¹	n/a	n/a	++	+++	++	n/a
FAT	n/a	n/a	++	++	+	n/a
ELISA para la detección de antígeno	+	++	+	+	+	n/a
PCR convencional	++	++	++	++	++	n/a
PCR en tiempo real	+++	+++	+++	+++	+++	n/a

1. Dado que ciertas cepas actuales del virus de la PPA no son hemoadsorbentes, los resultados negativos en la HAD deben confirmarse mediante otras pruebas, como la PCR.

Clave: +++ = método recomendado; ++ = método idóneo; + = puede utilizarse en algunas situaciones; – = no adecuado para este propósito. HAD = hemoadsorción; FAT= inmunofluorescencia; ELISA = enzimoimmunoanálisis; PCR = reacción en cadena de la polimerasa (OMSA, 2021).

Cuadro 7. Protocolos de diagnóstico molecular del VPPA (OMSA Manual Terrestre, 2021).

Protocolo	Primers	
	Sentido (Forward)	Antisentido (Reverse)
Amplificación PCR Convencional (Agüero <i>et al.</i> 2003)	5'-AGT- TAT-GGG-AAA-CCC-GAC-CC-3'	5'-CCC-TGA- ATC-GGA-GCA-TCC-T-3'
PCR en Tiempo Real 1 (King <i>et al.</i> 2003)	5'-CTG-CTC- ATG-GTA-TCA-ATC-TTA-TCG-A-3'	5'-GAT-ACC- ACA-AGA-TC(AG)-GCC-GT-3'
PCR en Tiempo Real 2 (Fernández-Pinero <i>et al.</i> 2013)	5'- CCC-AGG-RGA-TAA-AAT-GAC-TG-3'	5'- CAC-TRG-TTC-CCT-CCA-CCG-ATA-3'

Cuadro 8. Impacto directo e indirecto en las fuentes de empleo del sector porcino en América (FAO, 2022).

País	Empleo directo	Empleo total
Estados Unidos de América (2016) ^a	37,000	514,000
Brasil (2019) ^b	130,000	900,000
México (2013) ^c	350,000	1,700,000
Canadá (2016) ^d	31,000	103,000
Chile (2020) ^e	11,000	21,000

^a Meyer and Goodwin, 2021.

^b Daniel, 2019.

^c Towers, 2014.

^d Bergmann, 2016.

^e PorciNews, 2021.

Cuadro 9. Set de primers diseñados por Agüero en 2003 publicados y recomendados para el diagnóstico molecular en el Manual Terrestre de la OMSA, revisado en 2021.

Manual Terrestre de la OMSA 2021	Nombre	Dirección	Primers (5'-3') (oligonucleótidos o cebadores)	Posición	Tamaño del Amplicon
Amplificación PCR Convencional (Agüero <i>et al.</i> 2003)	PPA-1 (Cebador Directo)	Sentido "Forward"	5'-AGT-TAT-GGG-AAA-CCC-GAC-CC-3'	1883-1902	257 pb
	PPA-2 (Cebador Inverso)	Antisentido "Reverse"	5'-CCC-TGA-ATC-GGA-GCA-TCC-T-3'	1646-1664	

Cuadro 10. Descripción general de las secuencias en nucleótidos y aminoácidos del análisis *in silico*.

Nombre del Aislado	No. de acceso nct	No. de acceso aa	País de Origen	Año	Genotipo	Virulencia	Huésped
Kenya_1950	AY261360	AY261360 (Traducido en ORFfinder)	Kenia	1950	X ^{a, c, d, e, h} XX/I ^b	Alta ^a	Cerdo
Georgia 2007/1	FR682468	CAD2068444	Georgia	2007	II ^{a, b, c, d, e}	Alta ^a	Cerdo
Portugal/L60	KM262844	AIY22273	Portugal	1960	I ^{a, b, c, d, k}	Alta ^{a, c}	Cerdo
Portugal/NHV	KM262845	AIY22431	Portugal	1968	I ^{a, b, d, k}	Baja ^a	Cerdo
Spain/BA71V	NC_001659	NP_042775	España	1971	I ^{a, d, k}	Avirulenta ^a	Célula Vero
Spain/BA71	KP055815	AKO62763	España	1971	I ^{a, b, c, d, k}	Alta ^{a, c}	Cerdo
Spain/E75	FN557520	CBH29183	España	1975	I ^{a, c, d, k} II ^b	Alta ^a	Cerdo
Portugal/OURT_88/3	AM712240	CAN10431	Portugal	1988	I ^{a, b, c, d, i, k}	Baja ^{a, c}	Garrapata
Benin_97/1	AM712239	CAN10181	Benín	1997	I ^{a, b, c, d, e, k}	Alta ^{a, c}	Cerdo
Italy/47/Ss/2008	KX354450	AOO54423	Cerdeña, Italia	2008	I ^{a, b, d, j, k}	Alta ^a	Cerdo
Italy/26544/OG10	KM102979	AJZ77054	Italia	2010	I ^{a, b, c, d, k}	Alta ^{a, c}	Jabalí
Georgia_2008/1	MH910495	AZP53976	Georgia	2008	II ^{a, b, d}	Alta ^a	Cerdo
Georgia_2008/2	MH910496	AZP54155	Georgia	2008	II ^{a, b, d}	Alta ^a	Cerdo
Estonia/2014	LS478113	SPS73505	Estonia	2014	II ^{a, b, c, d, k}	Baja ^a	Jabalí
ASFV_Belgium_2018/1	LR536725	VFV48016	Bélgica	2018	II ^a	Alta ^a	Jabalí
China/2018/AnhuiXCGQ	MK128995	AYW34053	China	2018	II ^{a, c, d, k}	Alta ^{a, c}	Cerdo
China/Pig/HLJ/2018	MK333180	QBH90570	China	2018	II ^{a, i, k}	Alta ^a	Cerdo
China/DB/LN/2018	MK333181	QBH90755	China	2018	II ^{a, d, k, p}	Alta ^a	Cerdo
ASFV cepa R8	MH025916	AXB49310	Uganda	2015	IX ^{a, b, c, d, g, k}	Alta ^{a, c}	Cerdo
ASFV cepa R7	MH025917	AXB49484	Uganda	2015	IX ^{a, b, c, d, g, k}	Alta ^{a, c}	Cerdo
ASFV cepa R25	MH025918	AXB49656	Uganda	2015	IX ^{a, b, c, d, g, k}	Alta ^{a, c}	Cerdo
ASFV cepa N10	MH025919	AXB49827	Uganda	2015	IX ^{a, b, c, d, g, k}	Alta ^{a, c}	Cerdo
ASFV cepa R35	MH025920	AXB50000	Uganda	2015	IX ^{a, b, c, d, e, g, k}	Alta ^{a, c}	Cerdo
Kenya/Ken06.Bus	KM111295	AJL34260	Kenia	2006	IX ^{a, b, c, d, e, h}	Alta ^{a, h}	Cerdo
Kenya/Ken05/Tk1	KM111294	AJL34095	Kenia	2005	X ^{a, b, c, d, e, h}	Baja ^a Moderada ^h	Garrapata
mk	AY578700	AAT84449	Sudáfrica	1978	I/VII ^{b, c} XII ^d I ^e	Alta ^c	Garrapata
UgH03	EF121429	ABL67020	Uganda	2003	ND	ND	Cerdo
Germany 2020/1	LR899193	CAD7112593	Alemania	2020	II ^{e, p}	ND	ND
Pr5	AY578703	AAT84452	Sudáfrica	1996	ND	ND	Garrapata
wart	AY578706	AAT84455	Namibia	1980	IV ^{c, e}	ND	Jabalí (Warthog)
wb	AY578707	AAT84456	Sudáfrica	1987	III ^{a, d, e}	ND	Garrapata

					III/I ^{b, c}		
Krasnodar 2012	KJ195685	AHN94306	Rusia	2012	II (NCBI)	ND	Cerdo
VNUA HY-ASF1	MK554698	QDB63892	Vietnam	2019	II ^{e, i}	ND	Cerdo
HBNH-2019	MN207061	QIJ58136	China	2019	II (NCBI)	ND	Cerdo
Armenia/2007	MW296945	QUW40009	Armenia	2007	ND	ND	ND
ASFV aislado Zaire VP72	MW296952	QUW40016	Zaire	ND	ND	ND	ND
ASFV aislado Estonia VP72	MW296946	QUW40010	Estonia	ND	ND	ND	ND
LA9_Nigeria/2020	MZ054172	QUW40070	Nigeria	2020	ND	ND	ND
ASFV Moldova 2017/1	LR722599	VVW94164	Moldavia	2017	II ^{d, p}	ND	ND
ASFV CzechRepublic 2017/1	LR722600	VVW94171	República Checa	2017	II ^{d, e, p}	ND	ND
Tanzania/Rukwa/2017/1	LR813622	CAD0059533	Tanzania	2017	II ^e	ND	Cerdo
Belgium/Etalle/wb/2018	MK543947	QED90525	Bélgica	2018	II ^{b, d, e, k}	ND	Jabalí
ASFV/LT14/1490	MK628478	QEY87888	Lituania	2014	II ^{d, k}	ND	Jabalí
ASFV_HU_2018	MN715134	QGV56821	Hungría	2018	II ^{d, k}	ND	Jabalí
ASFV/Ulyanovsk 19/WB-5699	MW306192	QUQ60547	Rusia	2019	II ^{l, p}	ND	Jabalí
ASFV/Timor-Leste/2019/1	MW396979	QTE18767	Timor-Leste	2019	II ^{e, k, p}	ND	Cerdo
Nu1986	MW723482	UCX48788	Cerdeña, Italia	1986	I ^j	ND	Cerdo
ABTCVSCK_ASF007	OM481276	UPH95737	India	2021	ND	ND	ND
2802/AL/2022 Italy	ON108571	UPT51756	Italia	2022	ND	ND	Jabalí
Korea/YC1/2019	ON075797	URS64846	Corea Sur	2019	II ^s	ND	Jabalí
Dr-1980	ON185726	USZ79867	Republica Dominicana	1980	ND	ND	Jabalí
ASF/VN/CanTho-OM/2021	ON402789	UUV61501	Vietnam	2021	II ^m (NCBI)	ND	Cerdo
A4	ON963982	UUH61877	Filipinas	2021	II ⁿ	ND	Jabalí
ASFV Wuhan 2019-1	MN393476	QIE06872	Wuhan, China	2019	II ^{d, k, p}	ND	Cerdo
ASFV-SY18	MH766894	WKD79589	China	2018	II ^{a, d, i, k, p}	Alta ^a	Cerdo
Ghana_6/2017	MW296947	QUW40011	Ghana	2017	ND	ND	ND
Pig/SD/DY-I/2021	MZ945537	UEN73249	China	2021	I ^{i, k}	Baja ^f	Jabalí
K49	MZ202520	QZK26783	Congo	1949	I (NCBI)	ND	Cerdo
ASF-MNG19	OP467597	WFQ97671	Mongolia	2019	II (NCBI)	Virulento ^o	Cerdo
ASFV JS	OR180113	WKE35961	China	2022	I/II ^f	Alta ^f	Cerdo
Pig/Inner Mongolia/DQDM/2022	OQ504955	WFS78366	Mongolia	2022	I (NCBI) I/II ^f	Alta ^f	Cerdo
Pig/Hubei/628/2020	OR126359	WMP24077	China	2020	II (NCBI)	ND	Cerdo
TAN/08/Mazimbu	ON409981	WEG42281	Tanzania	2008	XV ^e	ND	Jabalí
TAN/16/Magu	ON409980	WEG42130	Tanzania	2016	IX ^e	ND	Jabalí
TAN/17/Mbgala	ON409982	WEG42426	Tanzania	2017	II ^e	ND	Jabalí
TAN/20/Morogoro	ON409983	WEG42605	Tanzania	2020	II ^e	ND	Jabalí

ASF/IND/Bandipur/CAD/642/22/W_PIG	OR290061	WMB97721	India	2022	II (NCBI)	ND	Sus scrofa cristatus
ASFV3	OP796668	WGV39661	India	2022	ND	ND	Cerdo
Korea/PC1432/2021	OR180305	WMQ58382	Corea Sur	2021	ND	ND	Jabalí
S-S-VR-413000-00008	OR159218	WKW81398	Corea Sur	2020	ND	ND	Jabalí
ASFV2020-013-B	MW791753	UTS58430	Filipinas	2020	II (NCBI)	ND	Cerdo
20355/RM/2022_Italy	OP605386	WBR50374	Italia	2022	II ^e	ND	Jabalí
ASFV Korea/pig/Yeoncheon1/2019	MW049116	UID85795	Corea Sur	2019	II ^{i, s}	ND	Cerdo
SY-1	OM161110	UYC33156	China	2020	II ^t	ND	Jabalí
SY-2	OP612151	UZP65488	China	2021	ND	ND	Bama Minipig
HK_NT_202103	OK358852	UYW66585	Hong Kong	2021	II ^p	ND	Cerdo
China/LN/2018/1	OP856591	WGM83270	China	2018	II ^q (NCBI)	ND	Cerdo
Pig/Henan/123014/2022	OQ504954	WFS78194	China	2022	I (NCBI) I/II ^f	Alta ^f	Cerdo
SG/NParks/A-MAM-2023-02-00021	OR135685	WLG15985	Singapur	2023	II (NCBI)	ND	Jabalí
19155_WB	OP312970	WFD50984	Cerdeña, Italia	2015	I (NCBI)	ND	Jabalí
Korea/CW714/2020	OR162436	WMM66568	Corea Sur	2020	ND	ND	Jabalí
ht	AY578695	AAT84444	Haití	1979	ND	ND	Cerdo
ker	AY578697	AAT84446	Kenia	1964	ND	ND	Cerdo
kn	AY578698	AAT84447	Kenia	1966	ND	ND	Cerdo
ASFV aislado Brazil p72 (B646L) gene	MN886938	QJD20681	Brasil	2015-2019	ND	ND	ND
VN/HY/2022-ASFV2	OR227304	WMZ41375	Vietnam	2022	II ^r	ND	Jabalí
Pol17_55892_C754	MT847620	QOW02657	Polonia	2017	II ^k	ND	Jabalí
Pol17_31177_O81	MT847622	QOW03032	Polonia	2017	II ^k	ND	Jabalí
Pol18_28298_O111	MT847621	QOW02846	Polonia	2018	II ^k	ND	Jabalí
Pol19_53050_C1959/19	MT847623	QOW03218	Polonia	2019	II ^k	ND	Jabalí

*Las literales corresponden a la descripción de las citas bibliográficas de los taxones analizados.

^a Genotipos y virulencia publicados en Wang *et al.* 2020

^b Genotipos publicados en Gilliaux *et al.* 2019, reportaron MK543947

^c Genotipos y virulencia publicados en Bao *et al.* 2019, reportaron MK128995

^d Genotipos publicados en Forth *et al.* 2020

^e Genotipos publicados en Hakizimana *et al.* 2023, reportaron ON409980-ON409983

^f Genotipos y virulencia publicado por Zhao *et al.* 2023, reportaron OQ504955, OQ504954, OR180113

^g Genotipos publicados en Masembe *et al.* 2018, reportaron MH025916-MH025920

^h Genotipos y virulencia publicados en Bishop *et al.* 2015, reportaron KM111294 y KM111295

ⁱ Genotipos publicados en Cho *et al.* 2023, reportaron MW049116

^j Genotipos publicados en Fiori *et al.* 2021, reportaron MW723482

^k Genotipos publicados en Sun *et al.* 2021, reportaron MZ945537

- ^l Genotipos publicados en Mazloum *et al.* 2021 reportaron MW306192
^m Genotipos publicados en Hein *et al.* 2022, reportaron ON402789
ⁿ Genotipos publicados en Montecillo *et al.* 2022, reportaron ON963982
^o Virulencia publicada en McDowell *et al.* 2022
^p Genotipos publicados en Go *et al.* 2023, reportaron OK358852
^q Genotipos publicados en Zhang *et al.* 2023, reportaron OP856591
^r Genotipos publicados en Le *et al.* 2023, reportaron OR227304
^s Genotipos publicados en Kim *et al.* 2023, reportaron ON075797
^t Genotipos publicados en Lv *et al.* 2022, reportaron OM161110 y crearon OP612151

Abreviaturas:

ND = No Descrito.

NCBI = genotipos que se encontraron en el análisis BLAST® del NCBI.

Cuadro 11. SNPs identificados en los sitios de hibridación del primer sentido.

Nombre del Aislado	# de Acceso GenBank	# de Sitios Conservados	Porcentaje de Conservación	Posiciones de los Cambios	Cambios
Kenya_1950	AY261360	20/20	100%	NA	NA
Georgia 2007/1	FR682468	19/20	95%	1885	G → A
Portugal/L60	KM262844	20/20	100%	NA	NA
Portugal/NHV	KM262845	20/20	100%	NA	NA
Spain/BA71V	NC_001659	20/20	100%	NA	NA
Spain/BA71	KP055815	20/20	100%	NA	NA
Spain/E75	FN557520	20/20	100%	NA	NA
Portugal/OURT_88/3	AM712240	20/20	100%	NA	NA
Benin_97/1	AM712239	20/20	100%	NA	NA
Italy/47/Ss/2008	KX354450	20/20	100%	NA	NA
Italy/26544/OG10	KM102979	20/20	100%	NA	NA
Georgia_2008/1	MH910495	19/20	95%	1885	G → A
Georgia_2008/2	MH910496	19/20	95%	1885	G → A

Estonia/2014	LS478113	19/20	95%	1885	G → A
ASFV_Belgium_2018/1	LR536725	19/20	95%	1885	G → A
China/2018/AnhuiXCGQ	MK128995	19/20	95%	1885	G → A
China/Pig/HLJ/2018	MK333180	19/20	95%	1885	G → A
China/DB/LN/2018	MK333181	19/20	95%	1885	G → A
ASFV cepa R8	MH025916	20/20	100%	NA	NA
ASFV cepa R7	MH025917	20/20	100%	NA	NA
ASFV cepa R25	MH025918	20/20	100%	NA	NA
ASFV cepa N10	MH025919	20/20	100%	NA	NA
ASFV cepa R35	MH025920	20/20	100%	NA	NA
Kenya/Ken06.Bus	KM111295	20/20	100%	NA	NA
Kenya/Ken05/Tk1	KM111294	20/20	100%	NA	NA
mk	AY578700	19/20	95%	1885	G → A
UgH03	EF121429	20/20	100%	NA	NA
Germany 2020/1	LR899193	19/20	95%	1885	G → A
Pr5	AY578703	19/20	95%	1888	G → A
wart	AY578706	20/20	100%	NA	NA
wb	AY578707	20/20	100%	NA	NA
Krasnodar 2012	KJ195685	19/20	95%	1885	G → A
VNUA HY-ASF1	MK554698	11/20	55%	1883	G → A
				1884	G → C
				1887	C → G
				1892	T → C
				1894	C → A
				1895	C → T
				1898	T → C
				1899	A → T
				1902	T → G
HBNH-2019	MN207061	11/20	55%	1883	G → A
				1884	G → C
				1887	C → G

				1892	T → C
				1894	C → A
				1895	C → T
				1898	T → C
				1899	A → T
				1902	T → G
Armenia/2007	MW296945	11/20	55%	1883	G → A
				1884	G → C
				1887	C → G
				1892	T → C
				1894	C → A
				1895	C → T
				1898	T → C
				1899	A → T
				1902	T → G
ASFV aislado Zaire VP72	MW296952	11/20	55%	1883	G → A
				1884	G → C
				1887	C → G
				1892	T → C
				1894	C → A
				1895	C → T
				1898	T → C
				1899	A → T
				1902	T → G
ASFV aislado Estonia VP72	MW296946	11/20	55%	1883	G → A
				1884	G → C
				1887	C → G
				1892	T → C
				1894	C → A
				1895	C → T

				1898	T → C
				1899	A → T
				1902	T → G
LA9_Nigeria/2020	MZ054172	11/20	55%	1883	G → A
				1884	G → C
				1887	C → G
				1892	T → C
				1894	C → A
				1895	C → T
				1898	T → C
				1899	A → T
				1902	T → G
ASFV Moldova 2017/1	LR722599	19/20	95%	1885	G → A
ASFV CzechRepublic 2017/1	LR722600	19/20	95%	1885	G → A
Tanzania/Rukwa/2017/1	LR813622	19/20	95%	1885	G → A
Belgium/Etalle/wb/2018	MK543947	19/20	95%	1885	G → A
ASFV/LT14/1490	MK628478	19/20	95%	1885	G → A
ASFV_HU_2018	MN715134	19/20	95%	1885	G → A
ASFV/Ulyanovsk 19/WB-5699	MW306192	19/20	95%	1885	G → A
ASFV/Timor-Leste/2019/1	MW396979	19/20	95%	1885	G → A
Nu1986	MW723482	20/20	100%	NA	NA
ABTCVSK_ASF007	OM481276	19/20	95%	1885	G → A
2802/AL/2022 Italy	ON108571	19/20	95%	1885	G → A
Korea/YC1/2019	ON075797	19/20	95%	1885	G → A
Dr-1980	ON185726	20/20	100%	NA	NA
ASFV serotipo 8	ON402789	19/20	95%	1885	G → A
A4	ON963982	11/20	55%	1883	G → A
				1884	G → C
				1887	C → G
				1892	T → C

				1894	C → A
				1895	C → T
				1898	T → C
				1899	A → T
				1902	T → G
ASFV Wuhan 2019-1	MN393476	19/20	95%	1885	G → A
ASFV-SY18	MH766894	19/20	95%	1885	G → A
Ghana_6/2017	MW296947	11/20	55%	1883	G → A
				1884	G → C
				1887	C → G
				1892	T → C
				1894	C → A
				1895	C → T
				1898	T → C
				1899	A → T
				1902	T → G
Pig/SD/DY-I/2021	MZ945537	20/20	100%	NA	NA
K49	MZ202520	20/20	100%	NA	NA
ASF-MNG19	OP467597	19/20	95%	1885	G → A
ASFV JS	OR180113	19/20	95%	1885	G → A
Pig/Inner Mongolia/DQDM/2022	OQ504955	20/20	100%	NA	NA
Pig/Hubei/628/2020	OR126359	19/20	95%	1885	G → A
TAN/08/Mazimbu	ON409981	19/20	95%	1885	G → A
TAN/16/Magu	ON409980	20/20	100%	NA	NA
TAN/17/Mbgala	ON409982	19/20	95%	1885	G → A
TAN/20/Morogoro	ON409983	19/20	95%	1885	G → A
ASF/IND/Bandipur/CAD/642/22/W_PIG	OR290061	19/20	95%	1885	G → A
ASFV3	OP796668	19/20	95%	1885	G → A
Korea/PC1432/2021	OR180305	19/20	95%	1885	G → A
S-S-VR-413000-00008	OR159218	19/20	95%	1885	G → A

ASFV2020-013-B	MW791753	19/20	95%	1885	G → A
20355/RM/2022_Italy	OP605386	19/20	95%	1885	G → A
ASFV Korea/pig/Yeoncheon1/2019	MW049116	19/20	95%	1885	G → A
SY-1	OM161110	19/20	95%	1885	G → A
SY-2	OP612151	19/20	95%	1885	G → A
HK_NT_202103	OK358852	19/20	95%	1885	G → A
China/LN/2018/1	OP856591	19/20	95%	1885	G → A
Pig/Henan/123014/2022	OQ504954	20/20	100%	NA	NA
SG/NParks/A-MAM-2023-02-00021	OR135685	19/20	95%	1885	G → A
19155_WB	OP312970	20/20	100%	NA	NA
Korea/CW714/2020	OR162436	19/20	95%	1885	G → A
ht	AY578695	20/20	100%	NA	NA
ker	AY578697	20/20	100%	NA	NA
kn	AY578698	20/20	100%	NA	NA
ASFV aislado Brazil p72 (B646L) gene	MN886938	20/20	100%	NA	NA
VN/HY/2022-ASFV2	OR227304	19/20	95%	1885	G → A
Pol17_55892_C754	MT847620	19/20	95%	1885	G → A
Pol17_31177_O81	MT847622	19/20	95%	1885	G → A
Pol18_28298_O111	MT847621	19/20	95%	1885	G → A
Pol19_53050_C1959/19	MT847623	19/20	95%	1885	G → A

Cuadro 12. SNPs identificados en los sitios de hibridación del primer antisentido.

Nombre del Aislado	# de Acceso GenBank	# de Sitios Conservados	Porcentaje de Conservación	Posiciones de los Cambios	Cambios
Kenya_1950	AY261360	19/19	100%	NA	NA
Georgia 2007/1	FR682468	19/19	100%	NA	NA
Portugal/L60	KM262844	19/19	100%	NA	NA
Portugal/NHV	KM262845	19/19	100%	NA	NA

Spain/BA71V	NC_001659	19/19	100%	NA	NA
Spain/BA71	KP055815	19/19	100%	NA	NA
Spain/E75	FN557520	19/19	100%	NA	NA
Portugal/OURT_88/3	AM712240	19/19	100%	NA	NA
Benin_97/1	AM712239	19/19	100%	NA	NA
Italy/47/Ss/2008	KX354450	19/19	100%	NA	NA
Italy/26544/OG10	KM102979	19/19	100%	NA	NA
Georgia_2008/1	MH910495	19/19	100%	NA	NA
Georgia_2008/2	MH910496	19/19	100%	NA	NA
Estonia/2014	LS478113	19/19	100%	NA	NA
ASFV Belgium_2018/1	LR536725	19/19	100%	NA	NA
China/2018/AnhuiXCGQ	MK128995	19/19	100%	NA	NA
China/Pig/HLJ/2018	MK333180	19/19	100%	NA	NA
China/DB/LN/2018	MK333181	19/19	100%	NA	NA
ASFV cepa R8	MH025916	19/19	100%	NA	NA
ASFV cepa R7	MH025917	19/19	100%	NA	NA
ASFV cepa R25	MH025918	19/19	100%	NA	NA
ASFV cepa N10	MH025919	19/19	100%	NA	NA
ASFV cepa R35	MH025920	19/19	100%	NA	NA
Kenya/Ken06.Bus	KM111295	19/19	100%	NA	NA
Kenya/Ken05/Tk1	KM111294	19/19	100%	NA	NA
mk	AY578700	19/19	100%	NA	NA
UgH03	EF121429	19/19	100%	NA	NA
Germany 2020/1	LR899193	19/19	100%	NA	NA
Pr5	AY578703	19/19	100%	NA	NA
wart	AY578706	19/19	100%	NA	NA
wb	AY578707	19/19	100%	NA	NA
Krasnodar 2012	KJ195685	19/19	100%	NA	NA
VNUA HY-ASF1	MK554698	10/19	52.6%	1646	C → T
				1649	Gap
				1651	A → T
				1653	T → A

				1655	G → T
				1657	A → C
				1658	G → T
				1662	C → G
				1663	C → G
HBNH-2019	MN207061	10/19	52.6%	1646	C → T
				1649	Gap
				1651	A → T
				1653	T → A
				1655	G → T
				1657	A → C
				1658	G → T
				1662	C → G
				1663	C → G
Armenia/2007	MW296945	10/19	52.6%	1646	C → T
				1649	Gap
				1651	A → T
				1653	T → A
				1655	G → T
				1657	A → C
				1658	G → T
				1662	C → G
				1663	C → G
ASFV aislado Zaire VP72	MW296952	10/19	52.6%	1646	C → T
				1649	Gap
				1651	A → T
				1653	T → A
				1655	G → T
				1657	A → C
				1658	G → T

				1662	C → G
				1663	C → G
ASFV aislado Estonia VP72	MW296946	10/19	52.6%	1646	C → T
				1649	Gap
				1651	A → T
				1653	T → A
				1655	G → T
				1657	A → C
				1658	G → T
				1662	C → G
				1663	C → G
				LA9_Nigeria/2020	MZ054172
1649	Gap				
1651	A → T				
1653	T → A				
1655	G → T				
1657	A → C				
1658	G → T				
1662	C → G				
1663	C → G				
ASFV Moldova 2017/1	LR722599	19/19	100%	NA	NA
ASFV CzechRepublic 2017/1	LR722600	19/19	100%	NA	NA
Tanzania/Rukwa/2017/1	LR813622	19/19	100%	NA	NA
Belgium/Etalle/wb/2018	MK543947	19/19	100%	NA	NA
ASFV/LT14/1490	MK628478	19/19	100%	NA	NA
ASFV_HU_2018	MN715134	19/19	100%	NA	NA
ASFV/Ulyanovsk 19/WB-5699	MW306192	19/19	100%	NA	NA
ASFV/Timor-Leste/2019/1	MW396979	19/19	100%	NA	NA
Nu1986	MW723482	19/19	100%	NA	NA
ABTCVSCK ASF007	OM481276	19/19	100%	NA	NA
2802/AL/2022 Italy	ON108571	19/19	100%	NA	NA

Korea/YC1/2019	ON075797	19/19	100%	NA	NA
Dr-1980	ON185726	19/19	100%	NA	NA
ASFV serotipo 8	ON402789	19/19	100%	NA	NA
A4	ON963982	10/19	52.6%	1646	C → T
				1649	Gap
				1651	A → T
				1653	T → A
				1655	G → T
				1657	A → C
				1658	G → T
				1662	C → G
				1663	C → G
ASFV Wuhan 2019-1	MN393476	19/19	100%	NA	NA
ASFV-SY18	MH766894	19/19	100%	NA	NA
Ghana_6/2017	MW296947	10/19	52.6%	1646	C → T
				1649	Gap
				1651	A → T
				1653	T → A
				1655	G → T
				1657	A → C
				1658	G → T
				1662	C → G
1663	C → G				
Pig/SD/DY-I/2021	MZ945537	19/19	100%	NA	NA
K49	MZ202520	19/19	100%	NA	NA
ASF-MNG19	OP467597	19/19	100%	NA	NA
ASFV JS	OR180113	19/19	100%	NA	NA
Pig/Inner Mongolia/DQDM/2022	OQ504955	19/19	100%	NA	NA
Pig/Hubei/628/2020	OR126359	19/19	100%	NA	NA
TAN/08/Mazimbu	ON409981	19/19	100%	NA	NA
TAN/16/Magu	ON409980	19/19	100%	NA	NA

TAN/17/Mbgala	ON409982	19/19	100%	NA	NA
TAN/20/Morogoro	ON409983	19/19	100%	NA	NA
ASF/IND/Bandipur/CAD/642/22/W_PIG	OR290061	19/19	100%	NA	NA
ASFV3	OP796668	19/19	100%	NA	NA
Korea/PC1432/2021	OR180305	19/19	100%	NA	NA
S-S-VR-413000-00008	OR159218	19/19	100%	NA	NA
ASFV2020-013-B	MW791753	19/19	100%	NA	NA
20355/RM/2022_Italy	OP605386	19/19	100%	NA	NA
ASFV Korea/pig/Yeoncheon1/2019	MW049116	19/19	100%	NA	NA
SY-1	OM161110	19/19	100%	NA	NA
SY-2	OP612151	19/19	100%	NA	NA
HK_NT_202103	OK358852	19/19	100%	NA	NA
China/LN/2018/1	OP856591	19/19	100%	NA	NA
Pig/Henan/123014/2022	OQ504954	19/19	100%	NA	NA
SG/NParks/A-MAM-2023-02-00021	OR135685	19/19	100%	NA	NA
19155_WB	OP312970	19/19	100%	NA	NA
Korea/CW714/2020	OR162436	19/19	100%	NA	NA
ht	AY578695	19/19	100%	NA	NA
ker	AY578697	19/19	100%	NA	NA
kn	AY578698	19/19	100%	NA	NA
ASFV aislado Brazil p72 (B646L) gene	MN886938	19/19	100%	NA	NA
VN/HY/2022-ASFV2	OR227304	19/19	100%	NA	NA
Pol17_55892_C754	MT847620	19/19	100%	NA	NA
Pol17_31177_O81	MT847622	19/19	100%	NA	NA
Pol18_28298_O111	MT847621	19/19	100%	NA	NA
Pol19_53050_C1959/19	MT847623	19/19	100%	NA	NA

Cuadro 13. Identificación de polimorfismos de las secuencias en aminoácidos de la proteína p72 del VPPA.

Nombre del Aislado	# de Acceso GenBank	# de Sitios Variables	% de Variación	Posición de Variación	Cambios
Kenya_1950	AY261360	13/646	2%	57	Leu → Met
				70	Val → Ile
				125	Thr → Ser
				245	Ile → Val
				246	His → Gln
				248	Leu → Met
				269	Ser → Thr
				376	Val → Ile
				383	Ala → Pro
				403	Asn → Ser
				506	Ile → Val
				528	Val → Ile
				570	Ala → Ser
Georgia 2007/1	CAD2068444	0/646	0%	NA	NA
Portugal/L60	AIY22273	3/646	0.46%	126	Ser → Ala
				376	Val → Ile
				383	Ala → Pro
Portugal/NHV	AIY22431	3/646	0.46%	126	Ser → Ala
				376	Val → Ile
				383	Ala → Pro
Spain/BA71V	AKO62763	3/646	0.46%	126	Ser → Ala
				376	Val → Ile
				383	Ala → Pro
Spain/BA71	CBH29183	3/646	0.46%	126	Ser → Ala
				376	Val → Ile
				383	Ala → Pro

Spain/E75	CAN10431	3/646	0.46%	126	Ser → Ala
				376	Val → Ile
				383	Ala → Pro
Portugal/OURT_88/3	CAN10181	3/646	0.46%	126	Ser → Ala
				376	Val → Ile
				383	Ala → Pro
Benin_97/1	AOO54423	3/646	0.46%	126	Ser → Ala
				376	Val → Ile
				383	Ala → Pro
Italy/47/Ss/2008	AJZ77054	3/646	0.46%	126	Ser → Ala
				376	Val → Ile
				383	Ala → Pro
Georgia_2008/1	AZP53976	0/646	0%	NA	NA
Georgia_2008/2	AZP54155	0/646	0%	NA	NA
Estonia/2014	SPS73505	0/646	0%	NA	NA
ASFV_Belgium_2018/1	VFV48016	0/646	0%	NA	NA
China/2018/AnhuiXCGQ	AYW34053	0/646	0%	NA	NA
China/Pig/HLJ/2018	QBH90570	0/646	0%	NA	NA
China/DB/LN/2018	QBH90755	0/646	0%	NA	NA
ASFV cepa R8	AXB49310	14/646	2.17%	57	Leu → Met
				70	Val → Ile
				125	Thr → Ser
				245	Ile → Val
				246	His → Gln
				248	Leu → Met
				269	Ser → Thr
				376	Val → Ile
				383	Ala → Pro
				403	Asn → Ser
				506	Ile → Val
				526	Ser → Thr

				528	Val → Ile
				570	Ala → Ser
ASFV cepa R7	AXB49484	14/646	2.17%	57	Leu → Met
				70	Val → Ile
				125	Thr → Ser
				245	Ile → Val
				246	His → Gln
				248	Leu → Met
				269	Ser → Thr
				376	Val → Ile
				383	Ala → Pro
				403	Asn → Ser
				506	Ile → Val
				526	Ser → Thr
				528	Val → Ile
				570	Ala → Ser
ASFV cepa R25	AXB49656	14/646	2.17%	57	Leu → Met
				70	Val → Ile
				125	Thr → Ser
				245	Ile → Val
				246	His → Gln
				248	Leu → Met
				269	Ser → Thr
				376	Val → Ile
				383	Ala → Pro
				403	Asn → Ser
				506	Ile → Val
				526	Ser → Thr
				528	Val → Ile
				570	Ala → Ser

ASFV cepa N10	AXB49827	14/646	2.17%	57	Leu → Met
				70	Val → Ile
				125	Thr → Ser
				245	Ile → Val
				246	His → Gln
				248	Leu → Met
				269	Ser → Thr
				376	Val → Ile
				383	Ala → Pro
				403	Asn → Ser
				506	Ile → Val
				526	Ser → Thr
				528	Val → Ile
				570	Ala → Ser
				ASFV cepa R35	AXB50000
70	Val → Ile				
125	Thr → Ser				
245	Ile → Val				
246	His → Gln				
248	Leu → Met				
269	Ser → Thr				
376	Val → Ile				
383	Ala → Pro				
403	Asn → Ser				
506	Ile → Val				
526	Ser → Thr				
528	Val → Ile				
570	Ala → Ser				
Kenya/Ken06.Bus	AJL34260	14/646	2.17%		
				70	Val → Ile

				125	Thr → Ser
				245	Ile → Val
				246	His → Gln
				248	Leu → Met
				269	Ser → Thr
				376	Val → Ile
				383	Ala → Pro
				403	Asn → Ser
				506	Ile → Val
				526	Ser → Thr
				528	Val → Ile
				570	Ala → Ser
Kenya/Ken05/Tk1	AJL34095	14/646	2.17%	57	Leu → Met
				70	Val → Ile
				125	Thr → Ser
				245	Ile → Val
				246	His → Gln
				248	Leu → Met
				269	Ser → Thr
				376	Val → Ile
				383	Ala → Pro
				403	Asn → Ser
				506	Ile → Val
				526	Ser → Thr
				528	Val → Ile
				570	Ala → Ser
mk	AAT84449	4/646	0.62%	126	Ser → Ala
				376	Val → Ile
				383	Ala → Pro
				569	Asn → Ser

UgH03	ABL67020	12/646	1.86%	35	Asn → Ser
				57	Leu → Met
				70	Val → Ile
				92	Phe → Ser
				125	Thr → Ser
				376	Val → Ile
				383	Ala → Pro
				403	Asn → Ser
				506	Ile → Val
				526	Ser → Thr
				528	Val → Ile
				570	Ala → Ser
				Germany 2020/1	CAD7112593
Pr5	AAT84452	0/646	0%	NA	NA
wart	AAT84455	1/646	0.15%	528	Val → Ile
wb	AAT84456	0/646	0%	NA	NA
Krasnodar 2012	AHN94306	0/646	0%	NA	NA
VNUA HY-ASF1	QDB63892	0/646	0%	NA	NA
HBNH-2019	QIJ58136	2/646	0.31%	488	His → Tyr
				569	Asn → Ser
Armenia/2007	QUW40009	0/646	0%	NA	NA
ASFV aislado Zaire VP72	QUW40016	3/646	0.46%	126	Ser → Ala
				376	Val → Ile
				383	Ala → Pro
ASFV aislado Estonia VP72	QUW40010	0/646	0%	NA	NA
LA9_Nigeria/2020	QUW40070	0/646	0%	NA	NA
ASFV Moldova 2017/1	VVW94164	0/646	0%	NA	NA
ASFV CzechRepublic 2017/1	VVW94171	0/646	0%	NA	NA
Tanzania/Rukwa/2017/1	CAD0059533	0/646	0%	NA	NA
Belgium/Etalle/wb/2018	QED90525	0/646	0%	NA	NA
ASFV/LT14/1490	QEY87888	0/646	0%	NA	NA

ASFV_HU_2018	QGV56821	0/646	0%	NA	NA
ASFV/Ulyanovsk 19/WB-5699	QUQ60547	0/646	0%	NA	NA
ASFV/Timor-Leste/2019/1	QTE18767	0/646	0%	NA	NA
Nu1986	UCX48788	3/646	0.46%	126	Ser → Ala
				376	Val → Ile
				383	Ala → Pro
ABTCVSCK ASF007	UPH95737	0/646	0%	NA	NA
2802/AL/2022 Italy	UPT51756	0/646	0%	NA	NA
Korea/YC1/2019	URS64846	0/646	0%	NA	NA
Dr-1980	USZ79867	3/646	0.46%	126	Ser → Ala
				376	Val → Ile
				383	Ala → Pro
ASFV serotipo 8	UUV61501	0/646	0%	NA	NA
A4	UUH61877	0/646	0%	NA	NA
ASFV Wuhan 2019-1	QIE06872	0/646	0%	NA	NA
ASFV-SY18	WKD79589	0/646	0%	NA	NA
Ghana_6/2017	QUW40011	3/646	0.46%	126	Ser → Ala
				376	Val → Ile
				383	Ala → Pro
Pig/SD/DY-I/2021	UEN73249	3/646	0.46%	126	Ser → Ala
				376	Val → Ile
				383	Ala → Pro
K49	QZK26783	3/646	0.46%	126	Ser → Ala
				376	Val → Ile
				383	Ala → Pro
ASF-MNG19	WFQ97671	0/646	0%	NA	NA
ASFV JS	WKE35961	0/646	0%	NA	NA
Pig/Inner Mongolia/DQDM/2022	WFS78366	3/646	0.46%	126	Ser → Ala
				376	Val → Ile
				383	Ala → Pro
Pig/Hubei/628/2020	WMP24077	0/646	0%	NA	NA

TAN/08/Mazimbu	WEG42281	9/646	1.39%	57	Leu → Met
				125	Thr → Ser
				269	Ser → Thr
				301	Ala → Thr
				311	His → Gln
				331	Ile → Val
				383	Ala → Pro
				526	Ser → Asn
				570	Ala → Ser
TAN/16/Magu	WEG42130	14/646	2.17%	57	Leu → Met
				70	Val → Ile
				125	Thr → Ser
				245	Ile → Val
				246	His → Gln
				248	Leu → Met
				269	Ser → Thr
				376	Val → Ile
				383	Ala → Pro
				403	Asn → Ser
				506	Ile → Val
				526	Ser → Thr
				528	Val → Ile
570	Ala → Ser				
TAN/17/Mbgala	WEG42426	0/646	0%	NA	NA
TAN/20/Morogoro	WEG42605	0/646	0%	NA	NA
ASF/IND/Bandipur/CAD/642/22/W_PIG	WMB97721	8/646	1.24%	105	Val → Gly
				202	Glu → Lys
				241	Leu → Phe
				243	Cys → Phe
				318	Gln → His

				324	Gln → His
				523	Ser → Phe
				565	His → Pro
ASFV3	WGV39661	0/646	0%	NA	NA
Korea/PC1432/2021	WMQ58382	0/646	0%	NA	NA
S-S-VR-413000-00008	WKW81398	0/646	0%	NA	NA
ASFV2020-013-B	UTS58430	0/646	0%	NA	NA
20355/RM/2022_Italy	WBR50374	0/646	0%	NA	NA
ASFV Korea/pig/Yeoncheon1/2019	UID85795	0/646	0%	NA	NA
SY-1	UYC33156	0/646	0%	NA	NA
SY-2	UZP65488	0/646	0%	NA	NA
HK_NT_202103	UYW66585	0/646	0%	NA	NA
China/LN/2018/1	WGM83270	0/646	0%	NA	NA
Pig/Henan/123014/2022	WFS78194	3/646	0.46%	126	Ser → Ala
				376	Val → Ile
				383	Ala → Pro
SG/NParks/A-MAM-2023-02-00021	WLG15985	0/646	0%	NA	NA
19155_WB	WFD50984	3/646	0.46%	126	Ser → Ala
				376	Val → Ile
				383	Ala → Pro
Korea/CW714/2020	WMM66568	0/646	0%	NA	NA
ht	AAT84444	3/646	0.46%	126	Ser → Ala
				376	Val → Ile
				383	Ala → Pro
ker	AAT84446	4/646	0.62%	126	Ser → Ala
				376	Val → Ile
				383	Ala → Pro
				455	Leu → Pro
kn	AAT84447	13/646	2.01%	57	Leu → Met

				70	Val → Ile
				125	Thr → Ser
				245	Ile → Val
				246	His → Gln
				248	Leu → Met
				269	Ser → Thr
				376	Val → Ile
				383	Ala → Pro
				403	Asn → Ser
				506	Ile → Val
				528	Val → Ile
				570	Ala → Ser
ASFV aislado Brazil p72 (B646L) gene	QJD20681	13/646	2.01%	57	Leu → Met
				70	Val → Ile
				125	Thr → Ser
				245	Ile → Val
				246	His → Gln
				248	Leu → Met
				269	Ser → Thr
				376	Val → Ile
				383	Ala → Pro
				403	Asn → Ser
				506	Ile → Val
				528	Val → Ile
				570	Ala → Ser
VN/HY/2022-ASFV2	WMZ41375	0/646	0%	NA	NA
Pol17_55892_C754	QOW02657	0/646	0%	NA	NA
Pol17_31177_O81	QOW03032	0/646	0%	NA	NA
Pol18_28298_O111	QOW02846	0/646	0%	NA	NA
Pol19_53050_C1959/19	QOW03218	0/646	0%	NA	NA

Cuadro 14. Descripción de los símbolos y abreviaturas de los aminoácidos.

Aminoácidos (aa)		
Símbolo del aa	Abreviatura del aa	Nombre Completo del aa
A	Ala	Alanina
C	Cys	Cisteína
F	Phe	Fenilalanina
H	His	Histidina
I	Ile	Isoleucina
L	Leu	Leucina
M	Met	Metionina
N	Asn	Aspargina
P	Pro	Prolina
Q	Gln	Glutamina
S	Ser	Serina
T	Thr	Treonina
V	Val	Valina
Y	Tyr	Tirosina

Lista de Figuras



Figura 1. Imágenes de garrapata blanda del genero *Ornithodoros*. Imágenes capturadas por Keir Morse en Bug Guide disponible en: <https://bugguide.net/node/view/259457/bgpage>



Figura 2. *Phacochoerus africanus* (Common Warthog). Disponible en: (A) https://en.wikipedia.org/wiki/Common_warthog, y (B) https://encrypted-tbn1.gstatic.com/licensed-image?q=tbn:ANd9GcQN_hErPHXvl4seGuRZZHkagH5vuhGaNyBS_DQo9R3UL_87cxDF1D8ekEdNxLR_OAapyO_txZ9CWzFB4U

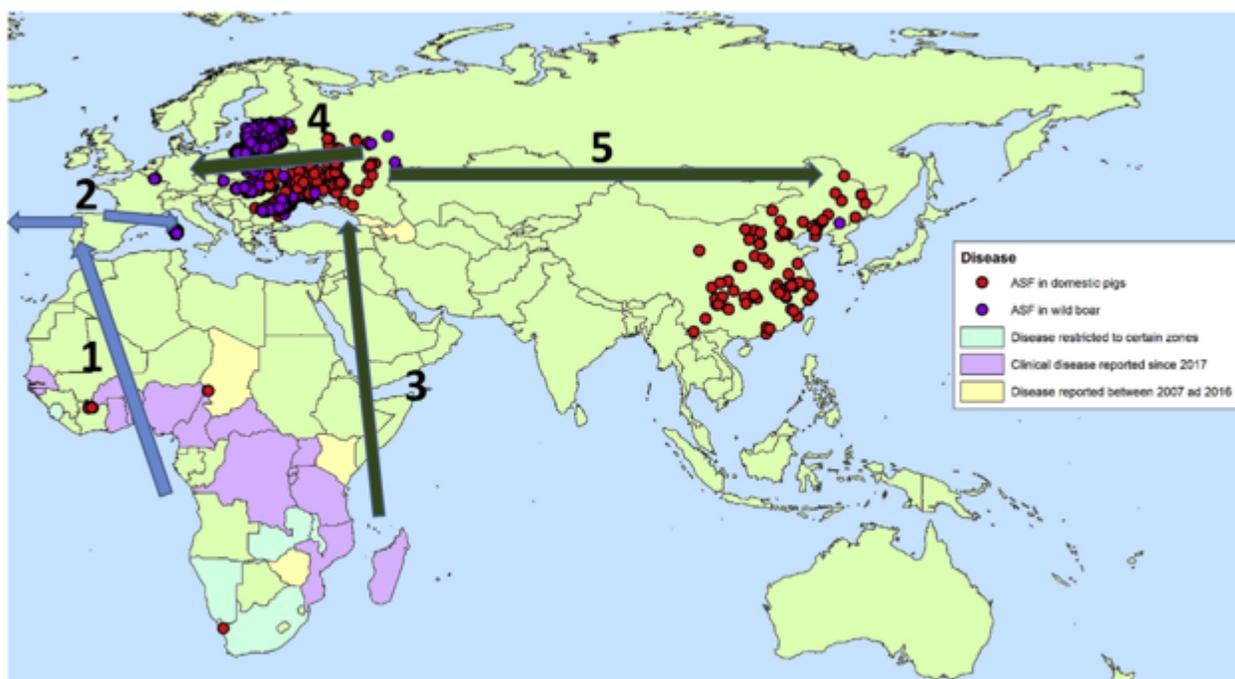


Figura 3. Cronología de la propagación transcontinental del VPPA y los brotes en cerdos domésticos y detección en jabalíes durante 2018.

La diseminación transcontinental se indica cronológicamente en la figura 3 mediante flechas de colores y números:

- (1). Las flechas de color azul muestran la propagación del virus de genotipo I desde África occidental a Portugal en 1957 y 1960; se pensaba que esto implicaba alimentar a los cerdos con carne infectada introducida desde aviones.
- (2) Desde la Península Ibérica, el virus se propagó a otros países europeos y a América del Sur y el Caribe. Estos brotes fueron erradicados a mediados de los años 1990, excepto en Cerdeña, donde la enfermedad sigue siendo endémica.
- (3). En 2007, el genotipo II del virus de la peste porcina africana se propagó desde la costa este de África hasta Georgia, en la región del Transcáucaso, y se cree que se introdujo a través de la carne infectada consumida por cerdos procedentes de envíos cerca del puerto de Poti, en el Mar Negro.
- (4). Desde Georgia, el virus se propagó a los países vecinos, incluida la Federación de Rusia, y a países de Europa oriental, incluidos varios de la UE. En 2018 se produjo una mayor propagación hacia el oeste, en Polonia y Bélgica.
- (5) En 2018, el genotipo II del virus de la peste porcina africana se propagó desde Rusia o Europa a China, extendiéndose rápidamente a muchas provincias y amenazando con una mayor propagación en la región. En 2019 se notificaron los primeros brotes en Mongolia y Vietnam. Los brotes de PPA en cerdos domésticos notificados a la OMSA durante 2018 se muestran como puntos rojos, y las detecciones en jabalíes como puntos violetas. Los países africanos que notificaron la enfermedad entre 2007 y 2016 se muestran en amarillo, y los que han notificado la peste porcina africana desde 2017 se muestran en morado. Los países donde la enfermedad está restringida a determinadas zonas se muestran en turquesa (Dixon *et al.* 2019).

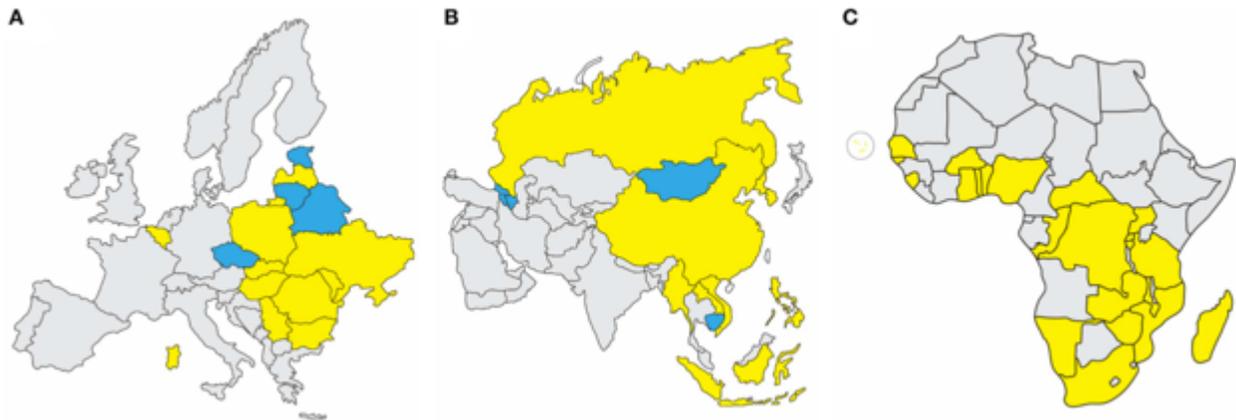


Figura 4. Situación reciente de la peste porcina africana en (A) Europa, (B) Asia y (C) África (Gaudreault et al. 2020).

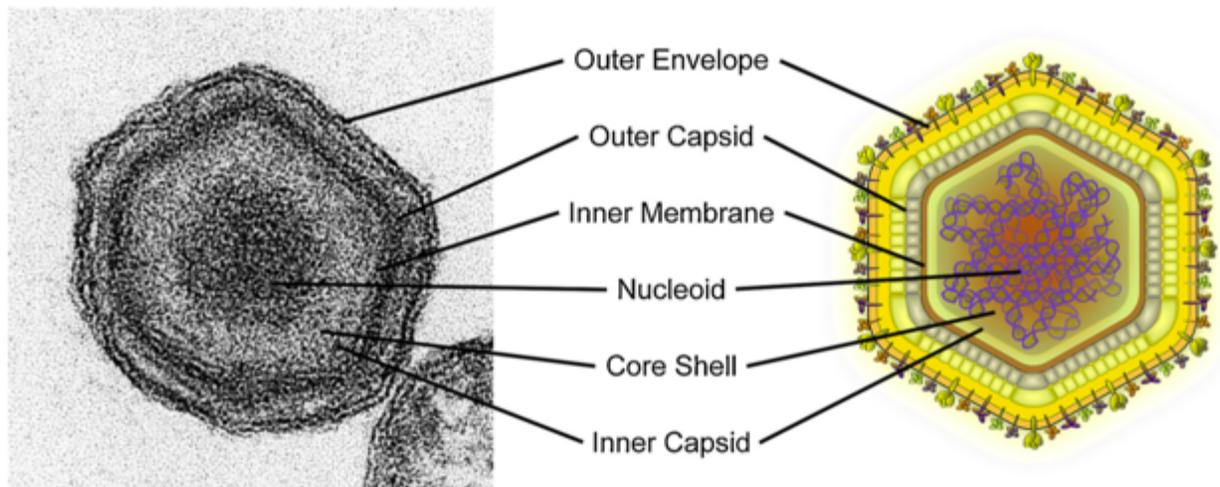


Figura 5. Estructura del virus de la peste porcina africana. (Lado izquierdo), *micrografía electrónica de una partícula del VPPA fijada químicamente incrustada en resina.* (Lado derecho), *descripción esquemática de las estructuras de la partícula. La partícula muestra la típica simetría icosaédrica con un nucleoide que contiene el genoma de ADN de doble cadena. El nucleoide está rodeado por la cubierta central y una cápside interna y externa, cada cápside está envuelta por una membrana lipídica (membrana interna y externa)* (Blome et al. 2020).

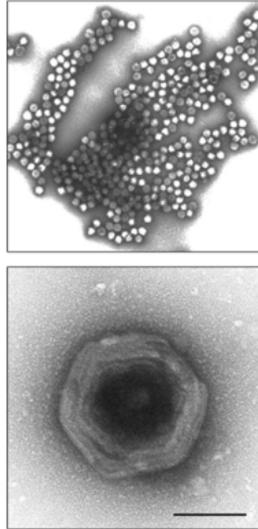


Figura 6. Control de calidad de partículas purificadas de VPPA. *Partículas de VPPA purificadas con Percoll se analizaron mediante microscopía electrónica. Barra, 100nm (Alejo et al. 2018).*

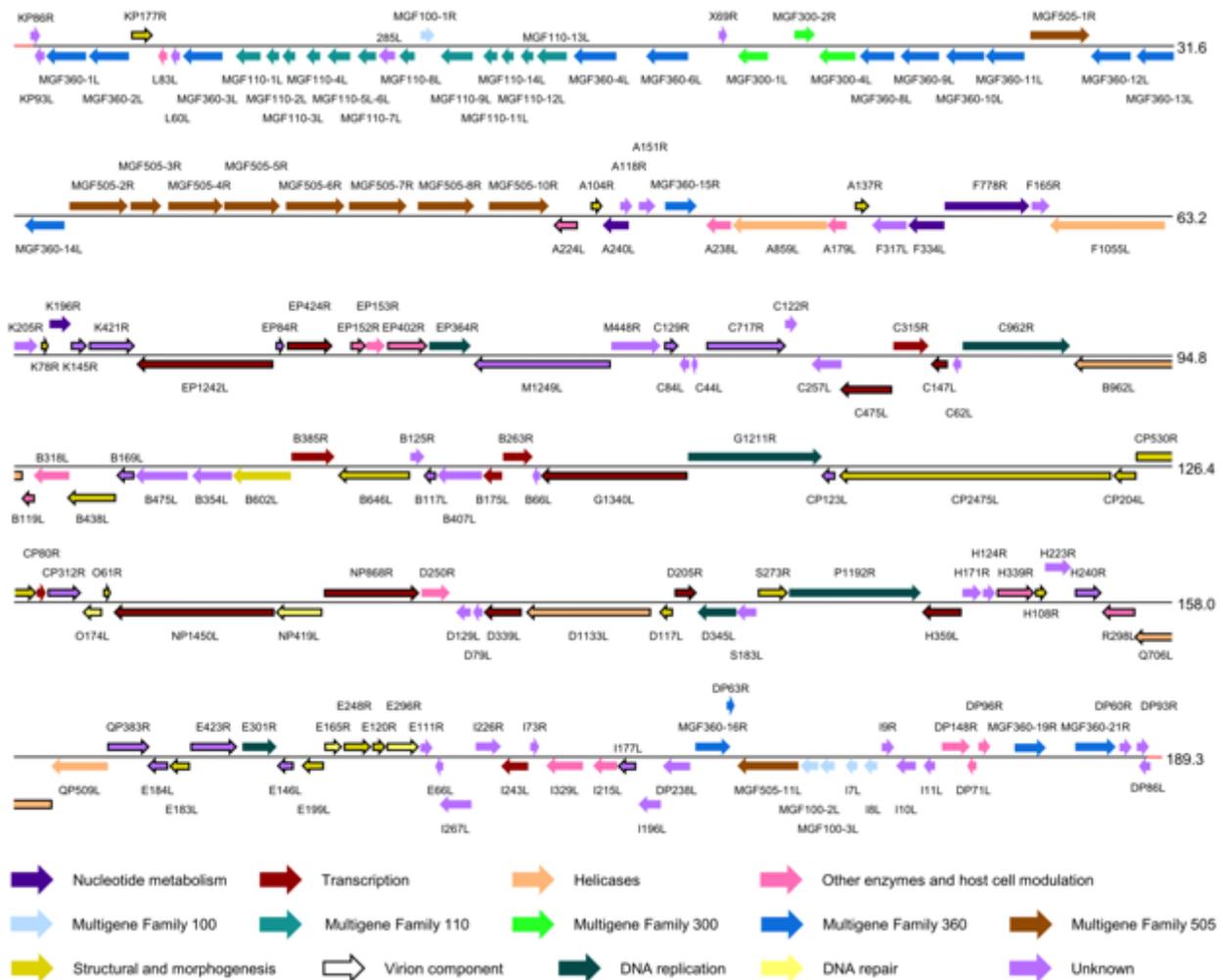


Figura 7. Representación esquemática del genoma del virus de la peste porcina africana Georgia 2007/1. Los marcos de lectura abierto se indican mediante flechas en la dirección en la que se leen (Dixon *et al.* 2021).

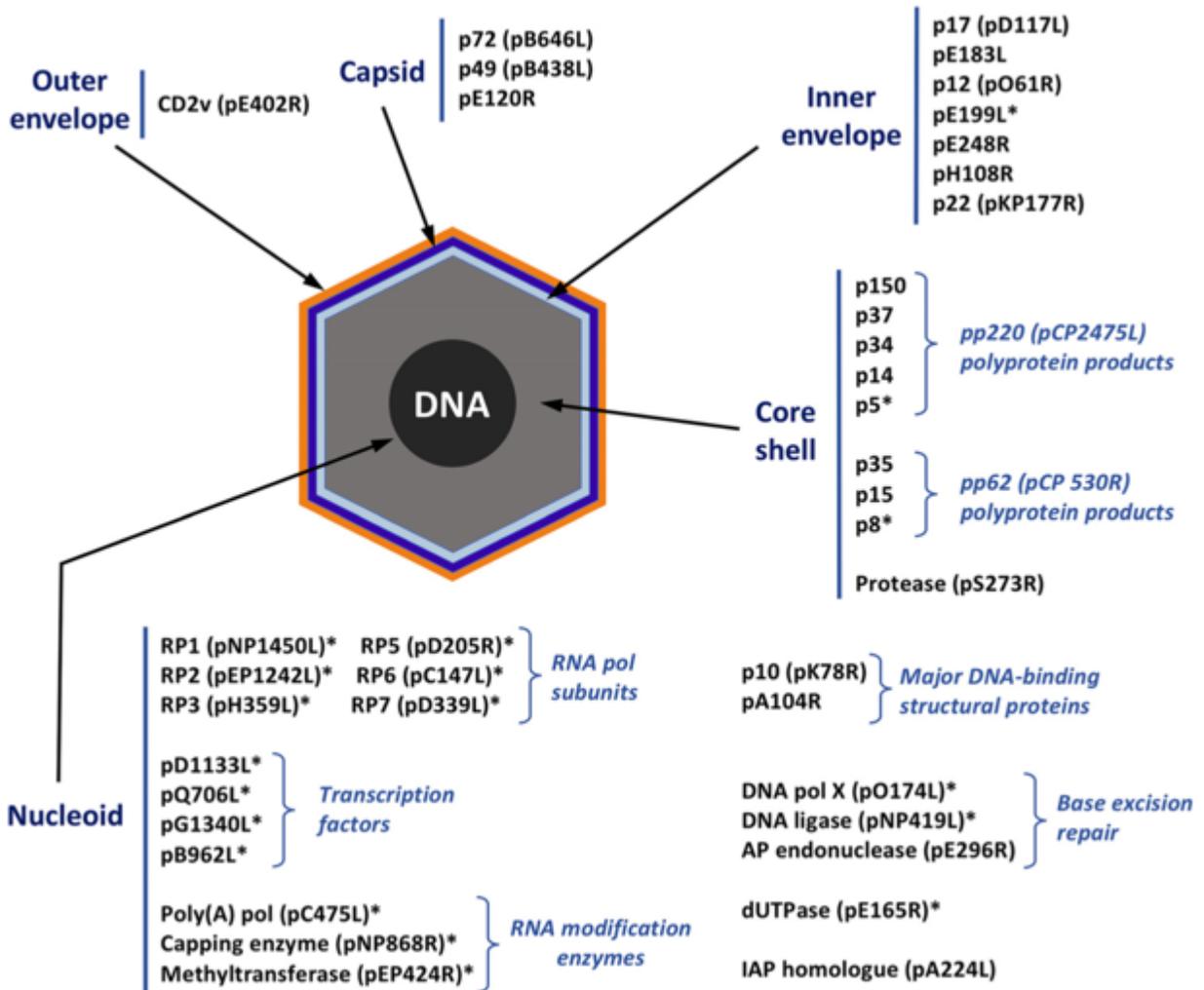


Figura 8. Atlas de VPPA. Distribución de las proteínas marcadas con un asterisco se dedujo del papel predicho o conocido, mientras que la de las proteínas restantes se determinó mediante microscopía inmunoelectrónica (Alejo *et al.* 2018).

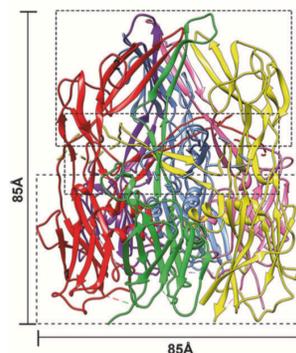


Figura 9. Trímero de la p72 (Liu *et al.* 2019).

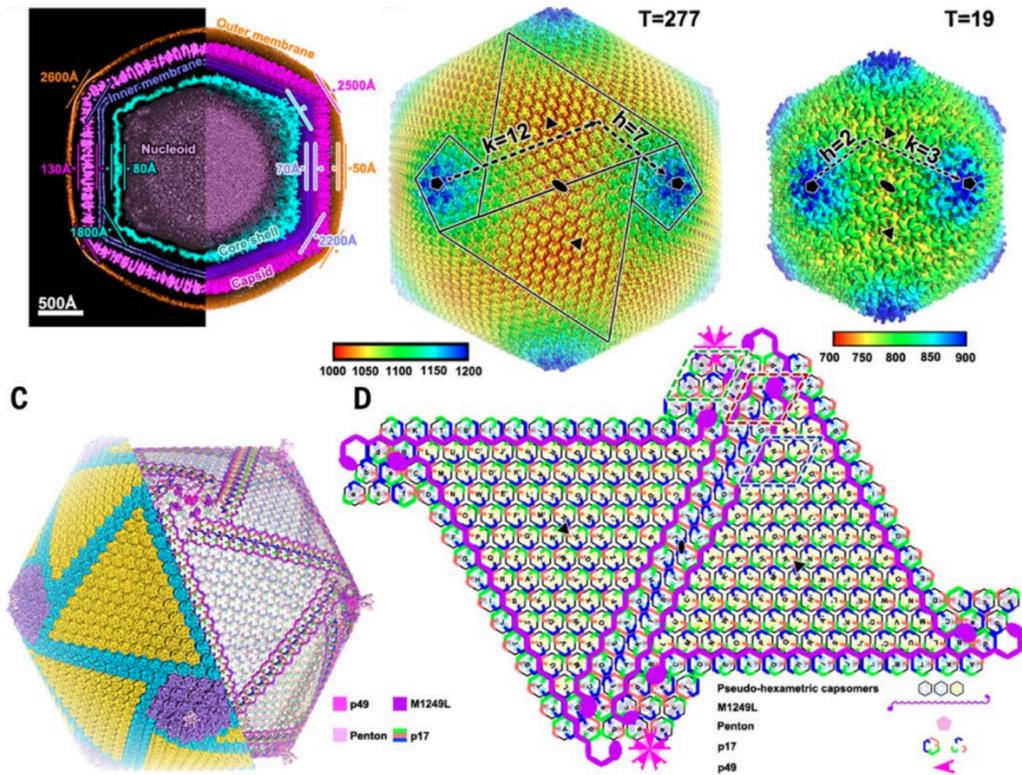


Figura 10. Arquitectura del virión del VPPA (Wang *et al.* 2019).

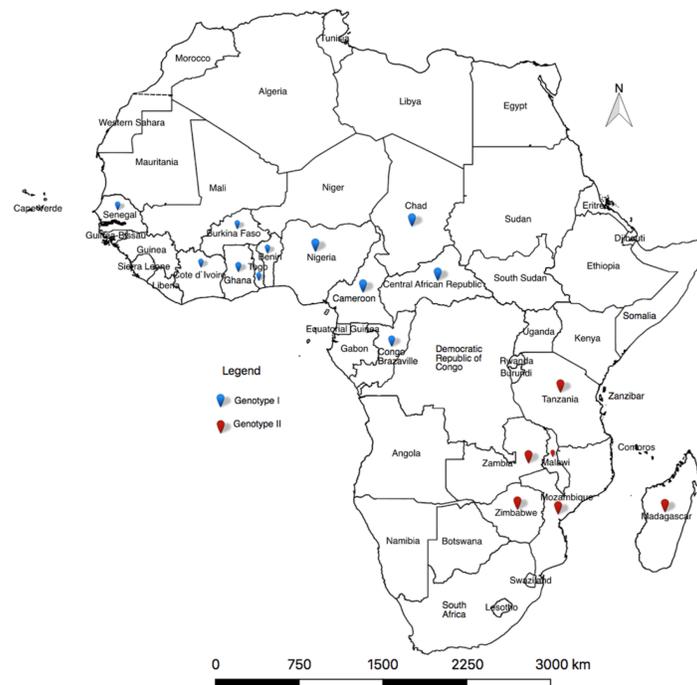


Figura 11. Distribución geográfica del genotipo I y II en África. El genotipo I ha dominado la parte occidental. Mientras que la distribución del genotipo II es más frecuente en la parte oriental de África (Njau *et al.* 2021).

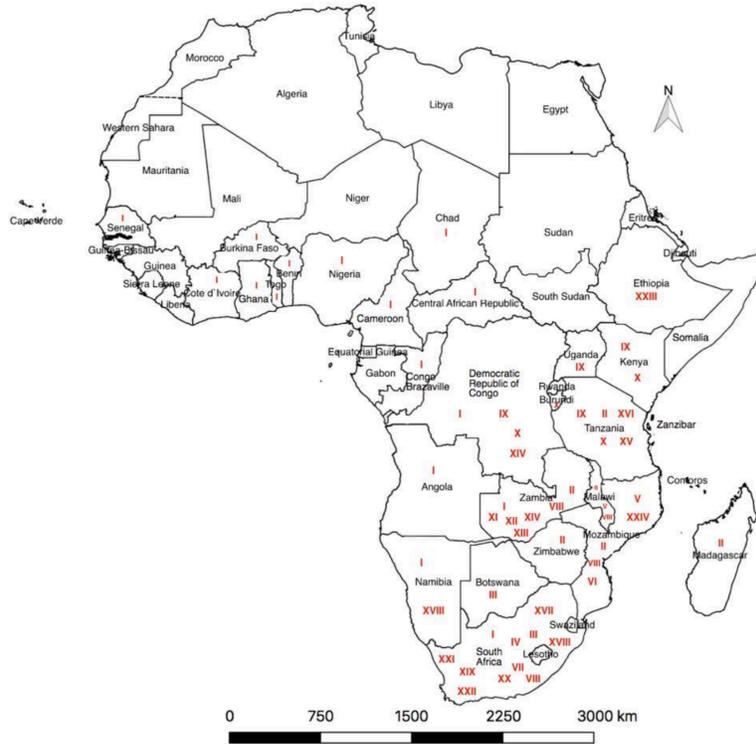


Figura 12. Distribución continental de los brotes de peste porcina africana de 2016 a 2020 notificados a la OMSA. Se notificaron casos activos en 32 países africanos, todos ellos pertenecientes a la región de África subsahariana (ASS). La diversidad de genotipos p72 del virus de la peste porcina africana (escritos en rojo) se observa en las partes oriental y meridional de África en comparación con las partes occidental, central y norte (Njau *et al.* 2021).

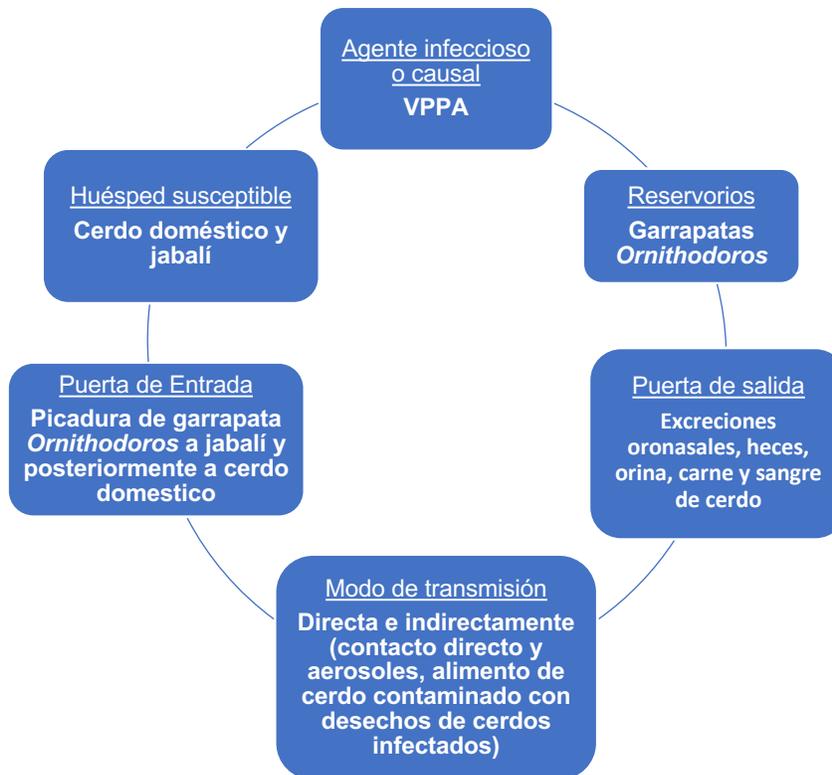


Figura 13. Cadena Epidemiológica del VPPA.

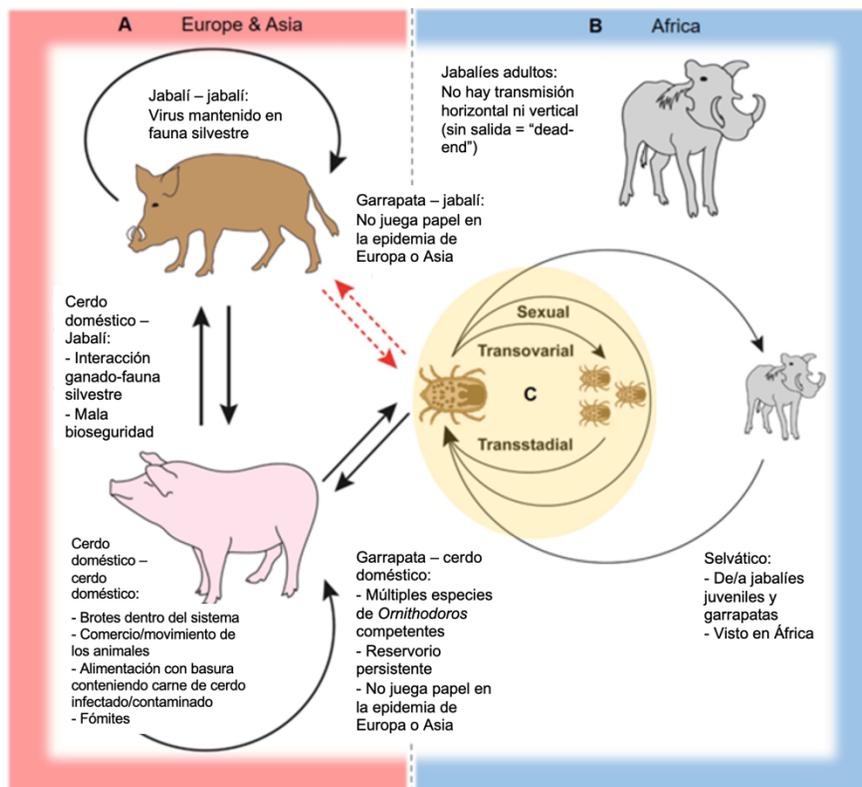


Figura 14. Esquema de los ciclos de transmisión de VPPA (Gaudreault *et al.* 2020).

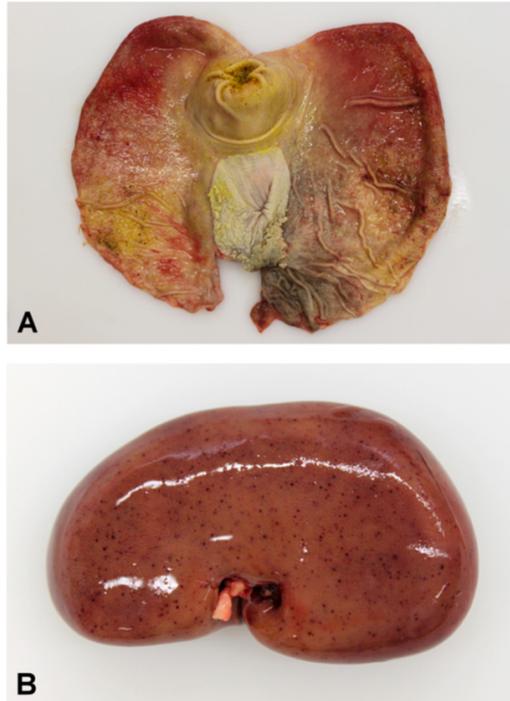


Figura 15. Lesiones patológicas macroscópicas en un lechón de jabalí europeo. El verraco (de aproximadamente seis meses de edad) se infectó por vía oronasal con 3×10^6 dosis infecciosas de cultivo tisular al 50% del aislado de VPPA caucásico altamente virulento. Este animal fue sacrificado en estado moribundo ocho días después de la infección, presentando depresión severa, fiebre alta ($41,8 \text{ }^\circ \text{C}$), taquipnea, movimientos incontrolados de las patas traseras e incapacidad para pararse. (A) Equimosis difusa aguda y petequias en la superficie de la mucosa del estómago. (B) Riñón con numerosas petequias agudas en la corteza renal (Blome *et al.* 2013).



Figura 16. Ganglios linfáticos mandibulares de un cerdo doméstico destetado mestizo (aproximadamente 30 kg). Este animal actuó como control en contacto con lechones de jabalíes europeos que se inocularon por vía oral con 2×10^6 dosis infecciosas de cultivo de tejidos al 50% del aislamiento de VPPA del Cáucaso. El animal se llevó al mismo corral tres días después de la inoculación y murió 16 días después del contacto inicial. Obsérvense las hemorragias difusas, agudas y de alto grado y el agrandamiento (Blome *et al.* 2013).



Figura 17. Signos clínicos y patológicos típicos de la peste porcina africana. (A) Hemorragias subcutáneas de las orejas que comienzan en las puntas seguidas de (B) hemorragias generalizadas adicionales en el cuerpo. (C) Agrandamiento y hemorragia del ganglio linfático gastrohepático y (D) Esplenomegalia (Maclachlan N., Dubovi E. *et al.* 2017).

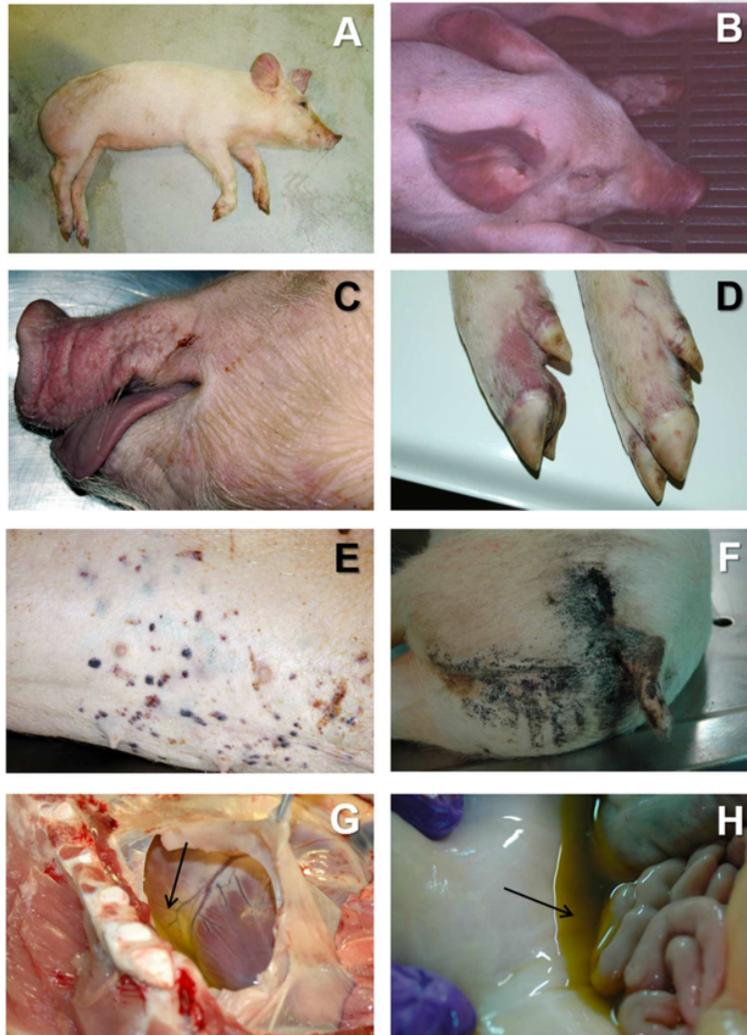


Figura 18. Lesiones macroscópicas de PPA aguda y subaguda.

(A) Animal letárgico con signología de PPA aguda. El animal muestra cianosis en las orejas, abdomen y extremidades. (B) Cianosis severa en un animal con PPA aguda, asociada a hipertermia muy alta (41-42°C). (C) Cianosis en el hocico y los labios en la PPA aguda. (D) Cianosis en las extremidades en la PPA aguda. (E) Petequias multifocales y equimosis en la piel en la PPA aguda. (F) Área perianal manchada de sangre en un cerdo afectado por PPA subaguda. (G) Hidropericardio severo en PPA subaguda. (H) Ascitis moderada a severa en PPA subaguda (Salguero *et al.* 2020).

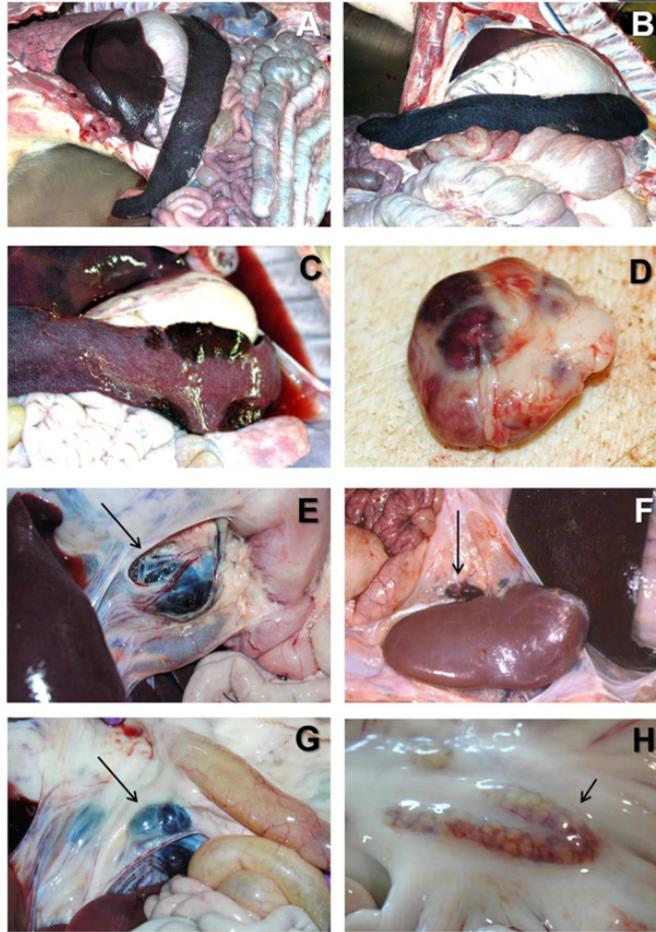


Figura 19. Lesiones viscerales macroscópicas de PPA aguda y subaguda.

(A) Esplenomegalia hemorrágica severa observada en la apertura de la cavidad abdominal de un animal con PPA aguda. El hígado está severamente congestionado. (B) Bazo muy grande, de color oscuro, con bordes redondeados (esplenomegalia hemorrágica), y que ocupa gran volumen de la cavidad abdominal en la PPA aguda. (C) Múltiples áreas de esplenomegalia hemorrágica parcial en el bazo de un animal con PPA subaguda. (D) Hemorragias multifocales en un ganglio linfático con aspecto marmóreo en la PPA aguda. (E) Adenopatías (linfadenopatía) hemorrágicas graves en el ganglio gastrohepático en la PPA aguda. (F) Linfadenopatía hemorrágica severa en el ganglio linfático renal en la PPA aguda. (G) Adenopatías hemorrágicas severas en el ganglio linfático ileocecal en la PPA aguda. (H) Adenopatías hemorrágicas moderadas en el ganglio mesentérico en la PPA aguda (Salguero *et al.* 2020).

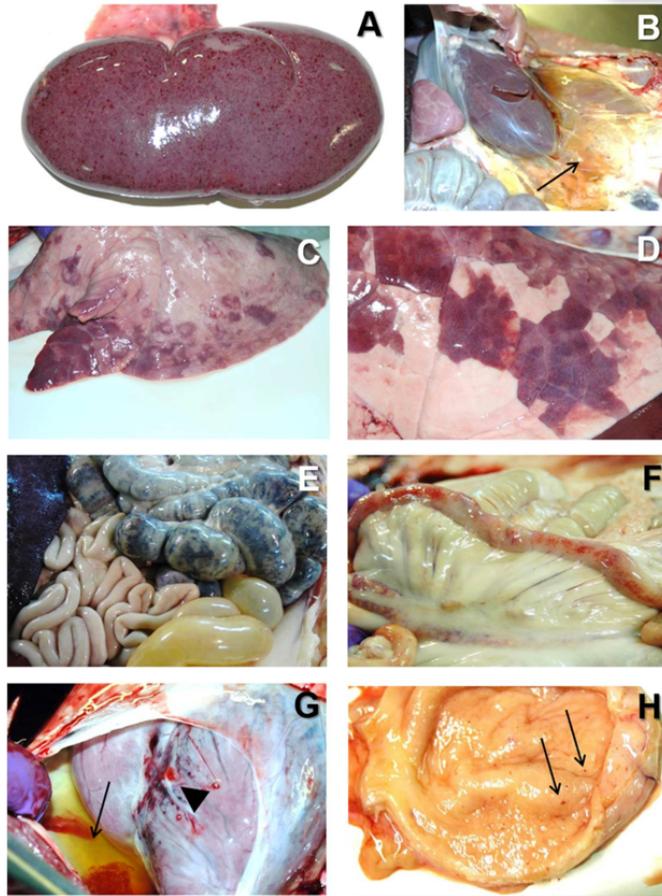


Figura 20. Cambios patológicos de la PPA subaguda y aguda.

(A) Múltiples hemorragias petequiales en la superficie cortical del riñón en la PPA aguda. (B) Edema perirrenal grave en un cerdo con PPA subaguda. (C) Áreas multifocales de consolidación y edema pulmonares en PPA subaguda. (D) Neumonía multifocal con áreas de color oscuro en el lóbulo diafragmático del pulmón en PPA subaguda. (E) Colitis hemorrágica extensa grave en la PPA subaguda. (F) Múltiples hemorragias petequiales en la serosa del intestino delgado en la PPA aguda. (G) Múltiples hemorragias petequiales y equimóticas en el epicardio junto con hidropericardio severo en la PPA subaguda. (H) Múltiples hemorragias petequiales en la mucosa de la vejiga urinaria en la PPA aguda (Salguero *et al.* 2020).



Figura 21. PPA Subaguda. Edema intenso de la pared de la vesícula biliar (A) y que rodea al riñón (B). (C) Bazo con esplenomegalia hiperémica parcial. Ganglios linfáticos gastrohepáticos (D) y renales (E) hemorrágicos y edematosos. (F) Riñones con hemorragia intensa en la corteza, médula y pelvis (Sánchez-Vizcaino *et al.* 2015).

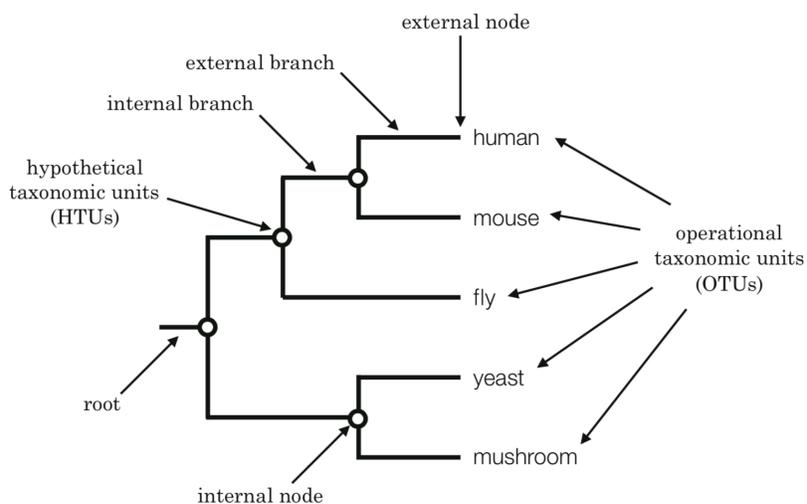


Figura 22. Composición de un árbol filogenético. La terminología utilizada frecuentemente en los árboles filogenéticos está etiquetada en el árbol (Ajawatanawong, 2016).

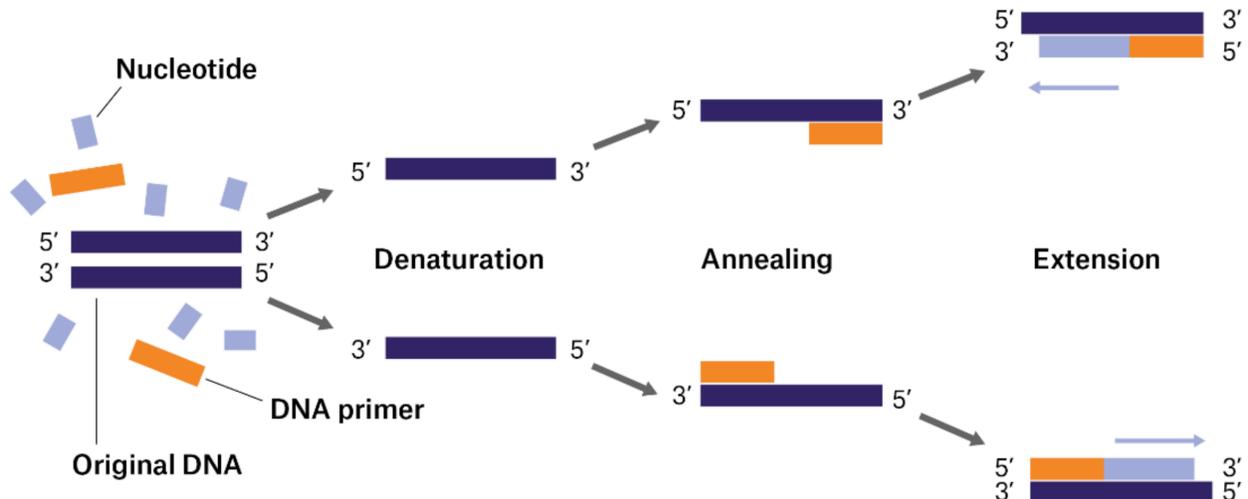


Figura 23. Etapas de PCR (Khalil, 2021).

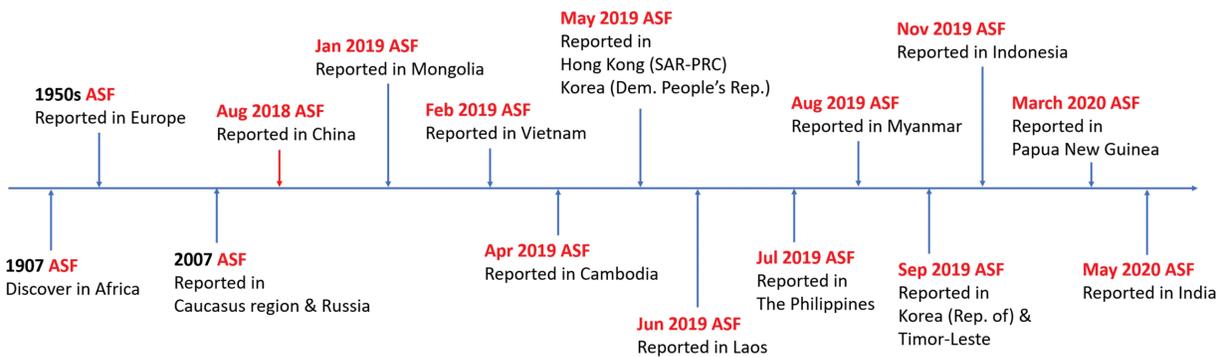


Figura 24. Cronología de los brotes de peste porcina africana en la región de Asia y el Pacífico después del primer brote en China (Woonwong *et al.* 2020).

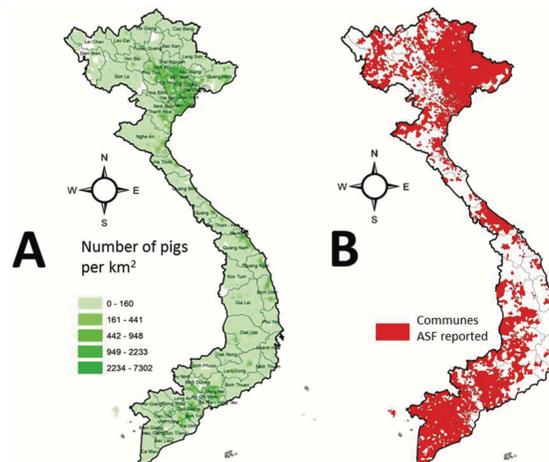


Figura 25. Densidad estimada de explotaciones porcinas en Vietnam (A) y comunidades afectadas por la peste porcina africana en Vietnam (B) (Woonwong *et al.* 2020).

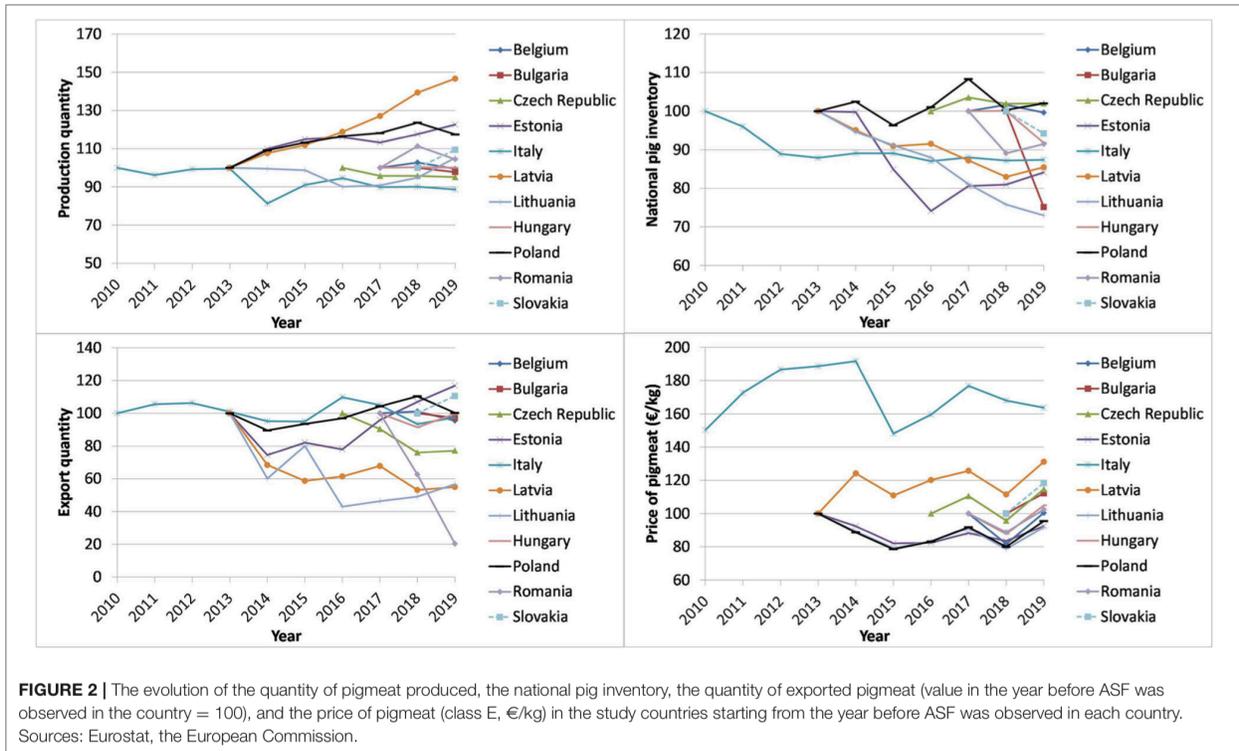


Figura 26. Evolución de la cantidad de carne de cerdo producida, el inventario nacional de cerdos y la cantidad de carne de cerdo exportada antes de los brotes de los brotes de PPA observadas en Europa (Niemi, 2020).



Figura 27. Identificación de sistemas de producción porcina con bajo nivel de bioseguridad (Más de 1 cerdo por km² combinado en sectores de traspatio y semiextensivo) (FAO, 2022).

ORDER MENU You are using the Uniparts-Mexico IDT portal.

OligoAnalyzer

Sequence 5' MOD ▾ INTERNAL ▾ 3' MOD ▾ MIXED BASES ▾

Bases 0 CLEAR SEQUENCE

[Try the new batch mode here](#)

Parameter sets

SpecSheet (Default) ▾

Target type DNA ▾

Oligo Conc 0.25 μ M

Na⁺ Conc 50 mM

Mg²⁺ Conc 0 mM

dNTPs Conc 0 mM

[Instructions](#) | [Definitions](#) | [Feedback](#)

ANALYZE

HAIRPIN

SELF-DIMER

HETERO-DIMER

NCBI BLAST

TM MISMATCH

ADD TO ORDER

Figura 28. Página del OligoAnalyzer proporcionado por Integrated DNA Technologies (IDT).

 **National Library of Medicine**
National Center for Biotechnology Information Log in

BLAST® Home Recent Results Saved Strategies Help

Basic Local Alignment Search Tool

BLAST finds regions of similarity between biological sequences. The program compares nucleotide or protein sequences to sequence databases and calculates the statistical significance. [Learn more](#)

NEWS

BLAST Quick Start guides!
Need some help getting started with BLAST?
Thu, 22 Jun 2023 [More BLAST news...](#)

Web BLAST



Nucleotide BLAST
nucleotide \triangleright nucleotide



blastx
translated nucleotide \triangleright protein



tblastn
protein \triangleright translated nucleotide



Protein BLAST
protein \triangleright protein

BLAST Genomes

Enter organism common name, scientific name, or tax id Search

[Human](#) [Mouse](#) [Rat](#) [Microbes](#)

Figura 29. Página del Basic Local Alignment Search Tool (BLAST®).

NIH National Library of Medicine
National Center for Biotechnology Information

BLAST® » blastn suite Home Recent Results Saved Strategies Help

blastn blastp blastx tblastn tblastx Standard Nucleotide BLAST

BLASTN programs search nucleotide databases using a nucleotide query. more... [Reset page](#) [Bookmark](#)

Enter Query Sequence

Enter accession number(s), gi(s), or FASTA sequence(s) [Clear](#) **Query subrange** [?](#)

CCCTGAATCGGAGCATCCT From To

Or, upload file No file chosen [?](#)

Job Title

Enter a descriptive title for your BLAST search [?](#)

Align two or more sequences [?](#)

Choose Search Set

Database Standard databases (nr etc.): rRNA/ITS databases Genomic + transcript databases Betacoronavirus

New Experimental databases [Try experimental taxonomic nt databases](#) [Download](#)

For more info see [What are taxonomic nt databases?](#)

Nucleotide collection (nr/nt) [?](#)

Organism [?](#) exclude [Add organism](#)

Optional Enter organism common name, binomial, or tax id. Only 20 top taxa will be shown [?](#)

Exclude Models (XM/XP) Uncultured/environmental sample sequences

Optional

Limit to Sequences from type material

Optional

Entrez Query [Create custom database](#)

Optional Enter an Entrez query to limit search [?](#)

Program Selection

Optimize for Highly similar sequences (megablast)

More dissimilar sequences (discontiguous megablast)

Somewhat similar sequences (blastn)

Choose a BLAST algorithm [?](#)

BLAST Search database Nucleotide collection (nr/nt) using Megablast (Optimize for highly similar sequences)

Show results in a new window

Figura 30. Página de análisis BLAST® de nucleótidos.

[Edit Search](#) Save Search Search Summary

How to read this report? BLAST Help Videos Back to Traditional Results Page

Your search parameters were adjusted to search for a short input sequence.

Job Title	Nucleotide Sequence
RID	JB9180FU013 Search expires on 10-12 03:21 am Download All
Program	BLASTN Citation
Database	nt See details
Query ID	Ic Query_120103
Description	None
Molecule type	nucleic acid
Query Length	19
Other reports	Distance tree of results MSA viewer

Filter Results

Organism only top 20 will appear exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

[Add organism](#)

Percent Identity to E value to Query Coverage to

[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Sequences producing significant alignments

Download Select columns Show 100

select all 100 sequences selected

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	African swine fever virus isolate 50665.12_2152/GE/2022 Italy, complete genome	African swine fe...	38.2	38.2	100%	8.8	100.00%	190592	OR460741.1
<input checked="" type="checkbox"/>	African swine fever virus isolate 50665.9_2157/AL/2022 Italy, complete genome	African swine fe...	38.2	38.2	100%	8.8	100.00%	190594	OR460740.1
<input checked="" type="checkbox"/>	African swine fever virus isolate 50665.8_2167/AL/2022 Italy, complete genome	African swine fe...	38.2	38.2	100%	8.8	100.00%	190599	OR460739.1
<input checked="" type="checkbox"/>	African swine fever virus isolate 50665.5_2168/AL/2022 Italy, complete genome	African swine fe...	38.2	38.2	100%	8.8	100.00%	190592	OR460738.1
<input checked="" type="checkbox"/>	African swine fever virus isolate 50665.4_2159/AL/2022 Italy, complete genome	African swine fe...	38.2	38.2	100%	8.8	100.00%	190598	OR460737.1
<input checked="" type="checkbox"/>	African swine fever virus isolate 50665.1_2170/AL/2022 Italy, complete genome	African swine fe...	38.2	38.2	100%	8.8	100.00%	190592	OR460736.1
<input checked="" type="checkbox"/>	African swine fever virus isolate 34612_2115/RM/2022 Italy, complete genome	African swine fe...	38.2	38.2	100%	8.8	100.00%	190584	OR460734.1
<input checked="" type="checkbox"/>	African swine fever virus isolate 47169.14_1497/AL/2022 Italy, complete genome	African swine fe...	38.2	38.2	100%	8.8	100.00%	190588	OR460733.1
<input checked="" type="checkbox"/>	African swine fever virus isolate 47169.16_1499/AL/2022 Italy, complete genome	African swine fe...	38.2	38.2	100%	8.8	100.00%	190586	OR460732.1
<input checked="" type="checkbox"/>	African swine fever virus isolate 47169.12_1495/GE/2022 Italy, complete genome	African swine fe...	38.2	38.2	100%	8.8	100.00%	190599	OR460731.1
<input checked="" type="checkbox"/>	African swine fever virus isolate 21730_1474/RM/2022 Italy, complete genome	African swine fe...	38.2	38.2	100%	8.8	100.00%	190590	OR460730.1
<input checked="" type="checkbox"/>	African swine fever virus isolate TAN/01/2011, complete genome	African swine fe...	38.2	38.2	100%	8.8	100.00%	185651	OQ434234.1
<input checked="" type="checkbox"/>	African swine fever virus isolate Lisbon 1957, complete sequence	African swine fe...	38.2	38.2	100%	8.8	100.00%	188854	OR20801.1
<input checked="" type="checkbox"/>	African swine fever virus isolate CMR2018/lab1, complete genome	African swine fe...	38.2	38.2	100%	8.8	100.00%	181952	OR387521.1
<input checked="" type="checkbox"/>	African swine fever virus isolate CAM1994/1, complete genome	African swine fe...	38.2	38.2	100%	8.8	100.00%	183179	OR387520.1
<input checked="" type="checkbox"/>	African swine fever virus isolate CAM1982, complete genome	African swine fe...	38.2	38.2	100%	8.8	100.00%	182999	OR387519.1
<input checked="" type="checkbox"/>	African swine fever virus strain VN/HY/2022-ASFV2, complete genome	African swine fe...	38.2	38.2	100%	8.8	100.00%	189607	OR227304.1
<input checked="" type="checkbox"/>	African swine fever virus isolate Korea/PC1432/2021 genomic sequence	African swine fe...	38.2	38.2	100%	8.8	100.00%	188585	OR180305.1
<input checked="" type="checkbox"/>	African swine fever virus isolate Pig/Hubei/628/2020, complete genome	African swine fe...	38.2	38.2	100%	8.8	100.00%	189386	OR126359.1
<input checked="" type="checkbox"/>	African swine fever virus isolate Korea/CW714/2020, complete genome	African swine fe...	38.2	38.2	100%	8.8	100.00%	188784	OR162436.1
<input checked="" type="checkbox"/>	African swine fever virus ASF/IND/Mudumalai/CAD/685/22/W_PIG major capsid protein P72 (B646L), gene, co...	African swine fe...	38.2	38.2	100%	8.8	100.00%	1941	OR290060.1
<input checked="" type="checkbox"/>	African swine fever virus strain SGNParks/A-MAM-2023-02-00021, complete genome	African swine fe...	38.2	38.2	100%	8.8	100.00%	189529	OR135685.1
<input checked="" type="checkbox"/>	African swine fever virus isolate Nigeria_Ni-08/LaOK VP72, protein gene, complete cds	African swine fe...	38.2	38.2	100%	8.8	100.00%	1965	MW296951.2
<input checked="" type="checkbox"/>	African swine fever virus isolate S-S-VR-413000-00002, complete genome	African swine fe...	38.2	38.2	100%	8.8	100.00%	189400	OR159219.1
<input checked="" type="checkbox"/>	African swine fever virus isolate S-S-VR-413000-00008, complete genome	African swine fe...	38.2	38.2	100%	8.8	100.00%	189429	OR159218.1
<input checked="" type="checkbox"/>	African swine fever virus isolate S-S-VR-413000-00015, complete genome	African swine fe...	38.2	38.2	100%	8.8	100.00%	189411	OR159217.1
<input checked="" type="checkbox"/>	African swine fever virus isolate pig/HuB1/2019, complete genome	African swine fe...	38.2	38.2	100%	8.8	100.00%	180555	OQ737679.1
<input checked="" type="checkbox"/>	African swine fever virus isolate ASFV_JS, complete genome	African swine fe...	38.2	38.2	100%	8.8	100.00%	192224	OR180113.1
<input checked="" type="checkbox"/>	African swine fever virus isolate ASFV-SY18, complete genome	African swine fe...	38.2	38.2	100%	8.8	100.00%	189402	MH766894.3
<input checked="" type="checkbox"/>	African swine fever virus strain ASFV Korea/pig/Yeoncheon1/2019 genotype II genomic sequence	African swine fe...	38.2	38.2	100%	8.8	100.00%	187848	MW049116.2
<input checked="" type="checkbox"/>	African swine fever virus strain ASFV/Korea/pig/Paju1/2019, complete genome	African swine fe...	38.2	38.2	100%	8.8	100.00%	187848	MT748042.2
<input checked="" type="checkbox"/>	African swine fever virus strain ASF-MNG19, partial genome	African swine fe...	38.2	38.2	100%	8.8	100.00%	187868	OP909713.1
<input checked="" type="checkbox"/>	African swine fever virus isolate HK_NT_202103, complete genome	African swine fe...	38.2	38.2	100%	8.8	100.00%	192298	OK358852.1
<input checked="" type="checkbox"/>	African swine fever virus strain 33262WB, complete genome	African swine fe...	38.2	38.2	100%	8.8	100.00%	181905	ON260841.1
<input checked="" type="checkbox"/>	African swine fever virus strain 28784WB, complete genome	African swine fe...	38.2	38.2	100%	8.8	100.00%	182085	ON260840.1
<input checked="" type="checkbox"/>	African swine fever virus isolate ASFV3 major capsid protein P72 (P72), gene, complete cds	African swine fe...	38.2	38.2	100%	8.8	100.00%	2255	OP796668.1

Figura 31. Resultados del análisis BLAST®.

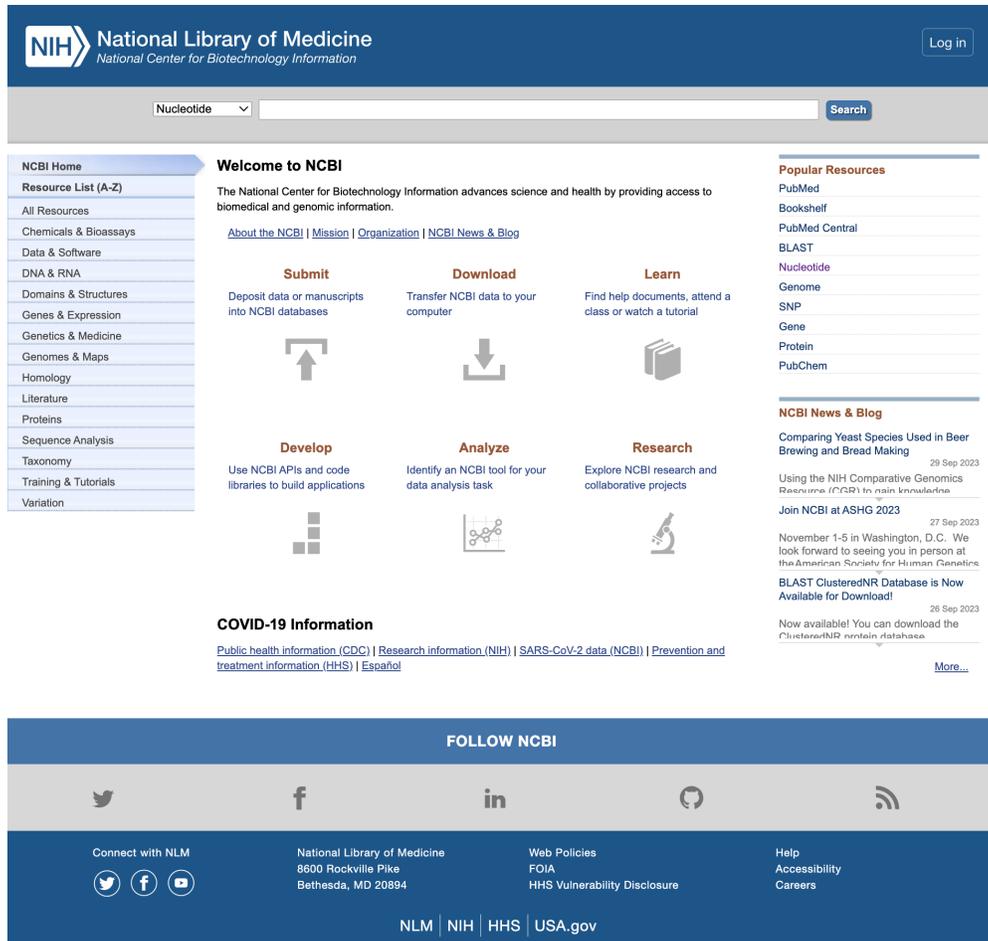


Figura 32. Página del National Center for Biotechnology Information (NCBI).

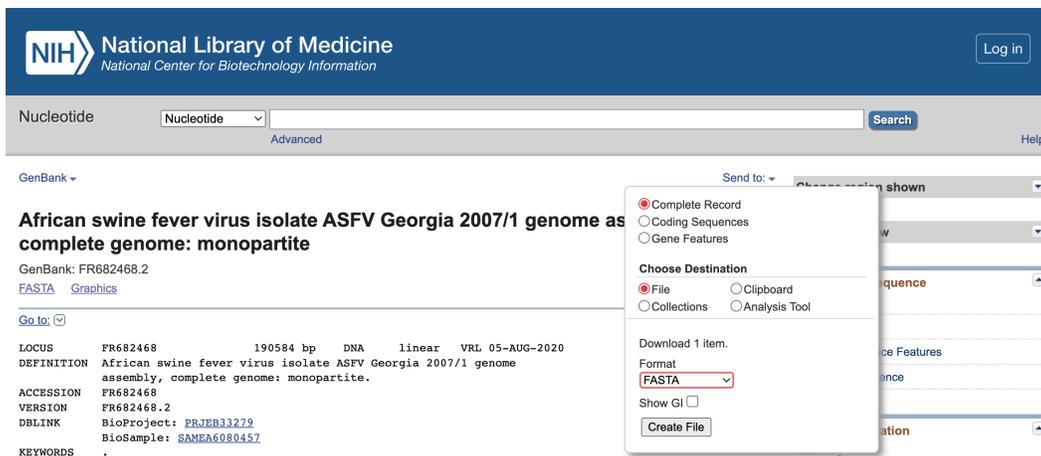


Figura 33. Ejemplo de descarga de una secuencia de interés.

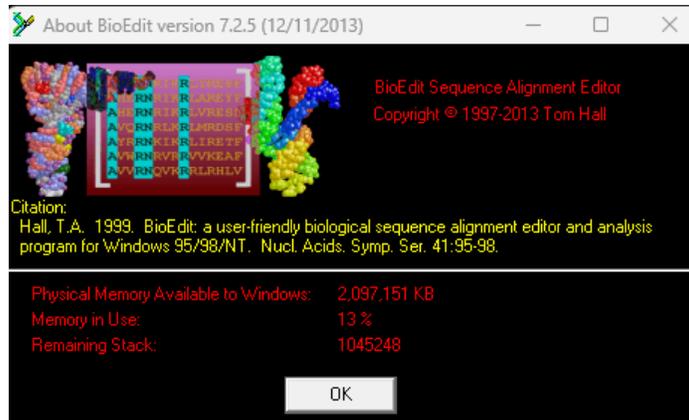


Figura 34. Programa BioEdit® Sequence Alignment Editor.

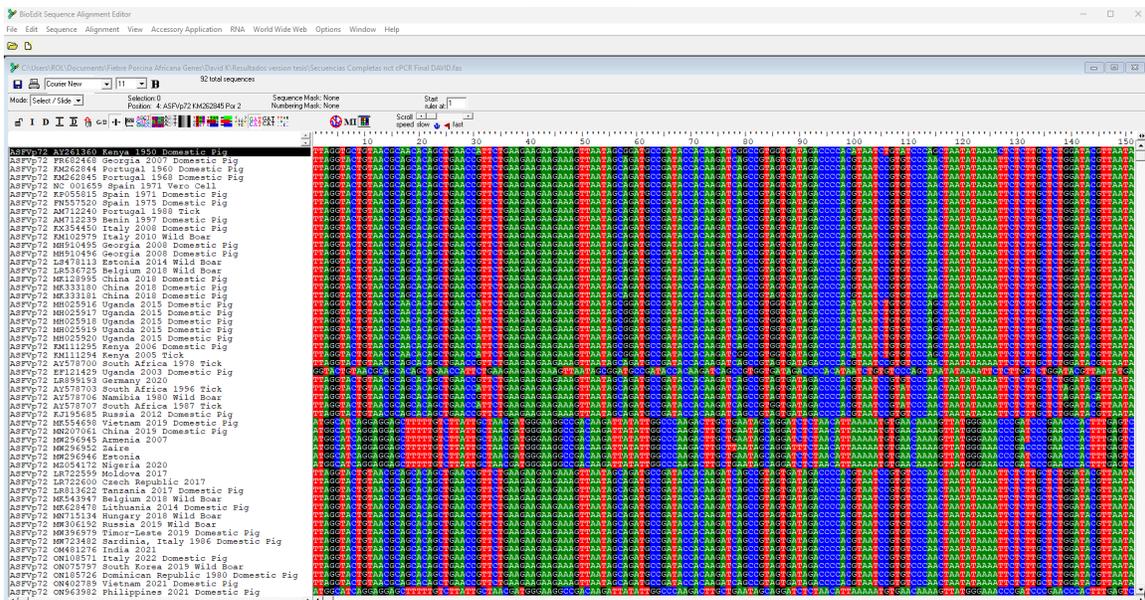


Figura 35. Base de datos generada en BioEdit® del genoma en nucleótidos de la proteína p72.



Version: 2.11.2.7

Built: 17:26:16 30 June 2023 from Source git-commit:bd990168d0 [releases/Release_2.11.2_Branch]

Authors: Jim Procter, Mungo Carstairs, Ben Soares, Kira Mourao, Tochukwu 'Charles' Ofogebu, Andrew Waterhouse, Jan Engelhardt, Lauren Lui, Anne Menard, Daniel Barton, Natasha Sherstnev, David Roldan-Martinez, Michele Clamp, James Cuff, Steve Searle, David Martin & Geoff Barton

Jalview is free software released under GPLv3.

Development is managed by The Barton Group, University of Dundee, Scotland, UK.
University of Dundee

For help, see www.jalview.org/faq and join discourse.jalview.org

If you use Jalview, please cite:
Waterhouse, A.M., Procter, J.B., Martin, D.M.A., Clamp, M. and Barton, G.J. (2009)
Jalview Version 2 – a multiple sequence alignment editor and analysis workbench
Bioinformatics doi: 10.1093/bioinformatics/btp033

Figura 36. Software Jalview® para la alineación de secuencias del genoma de la p72 (Waterhouse et al. 2009).

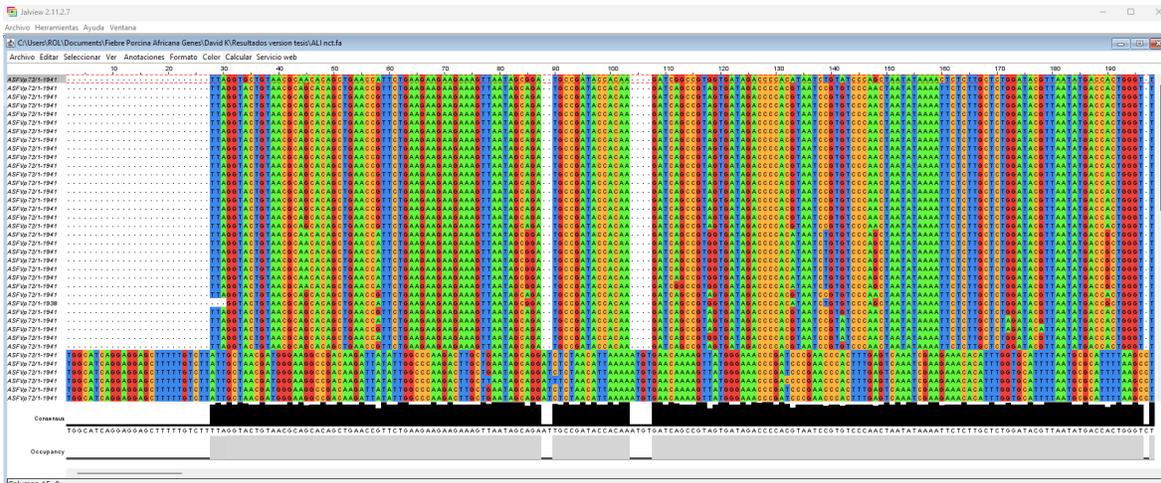


Figura 37. Alineación de las secuencias en el software Jalview®.

Figura 38. ORFfinder proporcionada por el NCBI.

	Model	#Param	BIC	AICc	InL	Invariant	Gamma
1	JTT+G	178	6339.719426	4744.050422	-2193.475497	n/a	0.05
2	JTT	177	6341.286025	4754.575328	-2199.744101	n/a	
3	JTT+H	178	6341.703812	4746.034808	-2194.467689	0.692764409	n/a
4	JTT+G+H	179	6350.766243	4746.139002	-2193.513601	0.280953615	0.112170592
5	LG+G	178	6361.595965	4765.926961	-2204.413766	n/a	0.05
6	cpREV+G	178	6362.477682	4766.808678	-2204.854625	n/a	0.1
7	LG	177	6362.954456	4776.243758	-2210.578316	n/a	
8	cpREV	177	6364.466128	4777.755431	-2211.334152	n/a	
9	WAG+G	178	6366.471794	4770.80279	-2206.851681	n/a	0.05
10	LG+H	178	6367.824727	4772.155723	-2207.528147	0.476006192	n/a
11	rtREV+G	178	6367.937234	4772.26823	-2207.584401	n/a	0.05
12	WAG	177	6368.103766	4781.393068	-2213.152971	n/a	
13	cpREV+H	178	6368.898845	4773.229841	-2208.065206	0.476006192	n/a
14	rtREV	177	6369.584555	4782.873857	-2213.893366	n/a	
15	LG+G+H	179	6372.821334	4768.1941	-2204.541149	0.260156797	0.112411446
16	cpREV+G+H	179	6372.948434	4768.321193	-2204.604696	0.476006192	0.1
17	WAG+H	178	6373.242161	4777.573157	-2210.236864	0.475443321	n/a

Figura 39. Modeltest realizado en el software MEGA®.

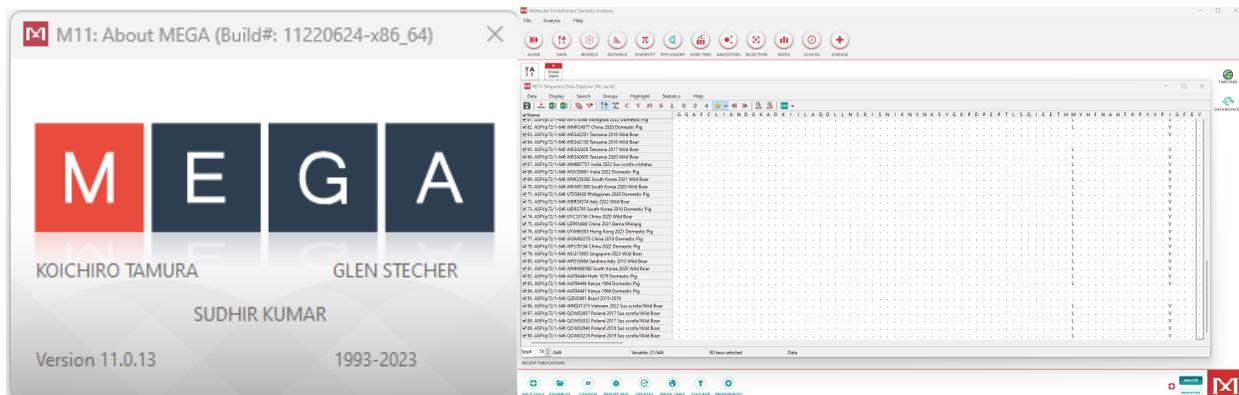


Figura 40. Software MEGA®.

Results

RESUSPENSION

DILUTION

SEQUENCE	5'- AGT TAT GGG AAA CCC GAC CC -3'
COMPLEMENT	5'- GGG TCG GGT TTC CCA TAA CT -3'
LENGTH	20
GC CONTENT	55 %
MELT TEMP	57 °C
MOLECULAR WEIGHT	6111 g/mole
EXTINCTION COEFFICIENT	196600 L/(mole-cm)
nmole/OD ₂₆₀	5.09
µg/OD ₂₆₀	31.08

MELTING TEMPERATURE SETTINGS

TARGET TYPE	DNA
OLIGO CONC	0.25 µM
Na ⁺ CONC	50 mM monovalent salt
Mg ⁺⁺ CONC	0 mM divalent salt
dNTPs CONC	0 mM nucleotide triphosphate

Figura 41. Resultados del OligoAnalyzer de la pagina IDT para el primer sentido.

Results

RESUSPENSION

DILUTION

SEQUENCE	5'- CCC TGA ATC GGA GCA TCC T -3'
COMPLEMENT	5'- AGG ATG CTC CGA TTC AGG G -3'
LENGTH	19
GC CONTENT	57.9 %
MELT TEMP	56.8 °C
MOLECULAR WEIGHT	5748.8 g/mole
EXTINCTION COEFFICIENT	174300 L/(mole-cm)
nmole/OD ₂₆₀	5.74
µg/OD ₂₆₀	32.98

MELTING TEMPERATURE SETTINGS

TARGET TYPE	DNA
OLIGO CONC	0.25 µM
Na ⁺ CONC	50 mM monovalent salt
Mg ⁺⁺ CONC	0 mM divalent salt
dNTPs CONC	0 mM nucleotide triphosphate

Figura 42. Resultados del OligoAnalyzer de la pagina IDT para el primer antisentido.

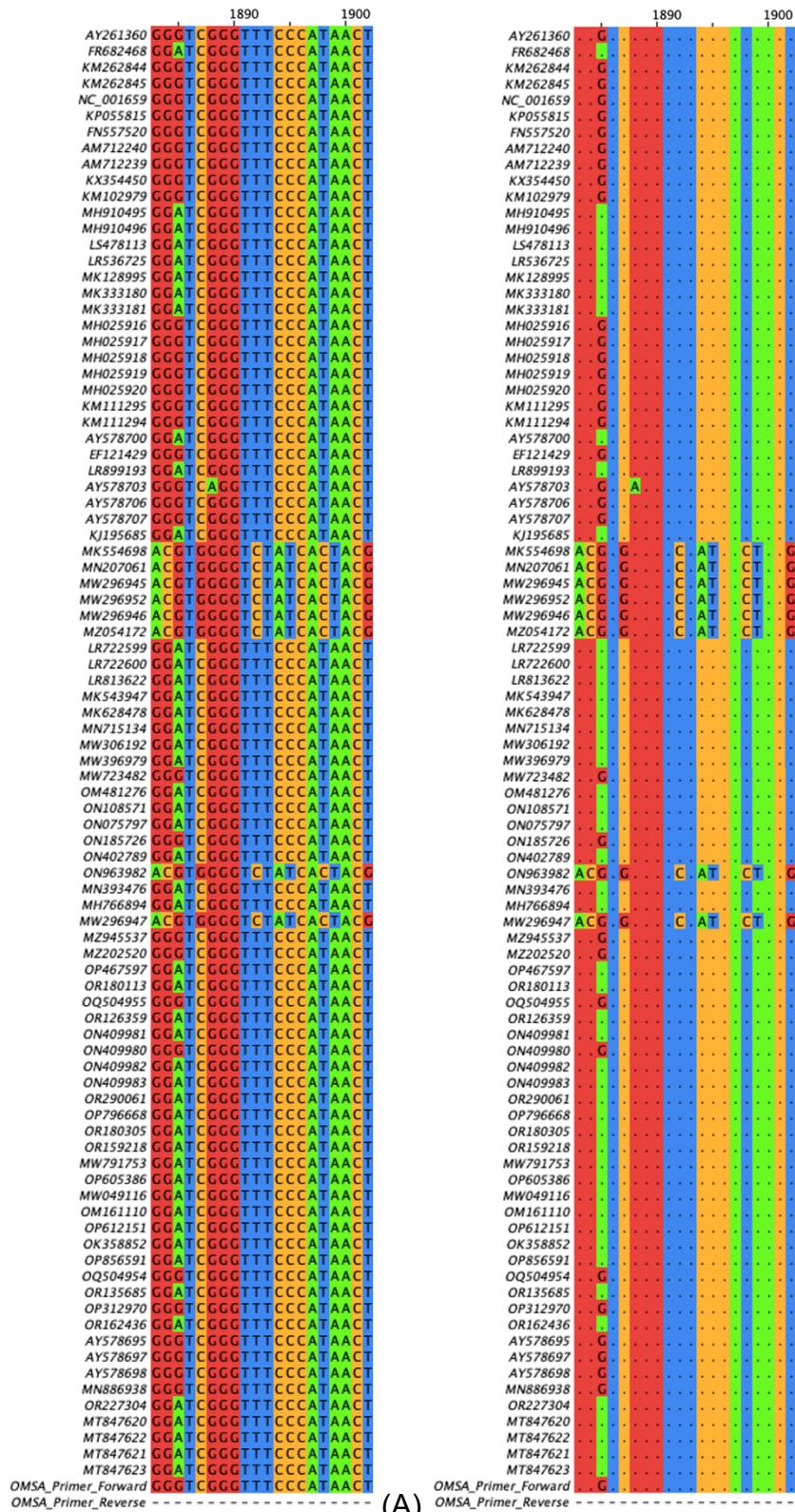


Figura 43. Alineación del primer sentido con las diferentes secuencias obtenidas del NCBI de los principales brotes en el mundo.

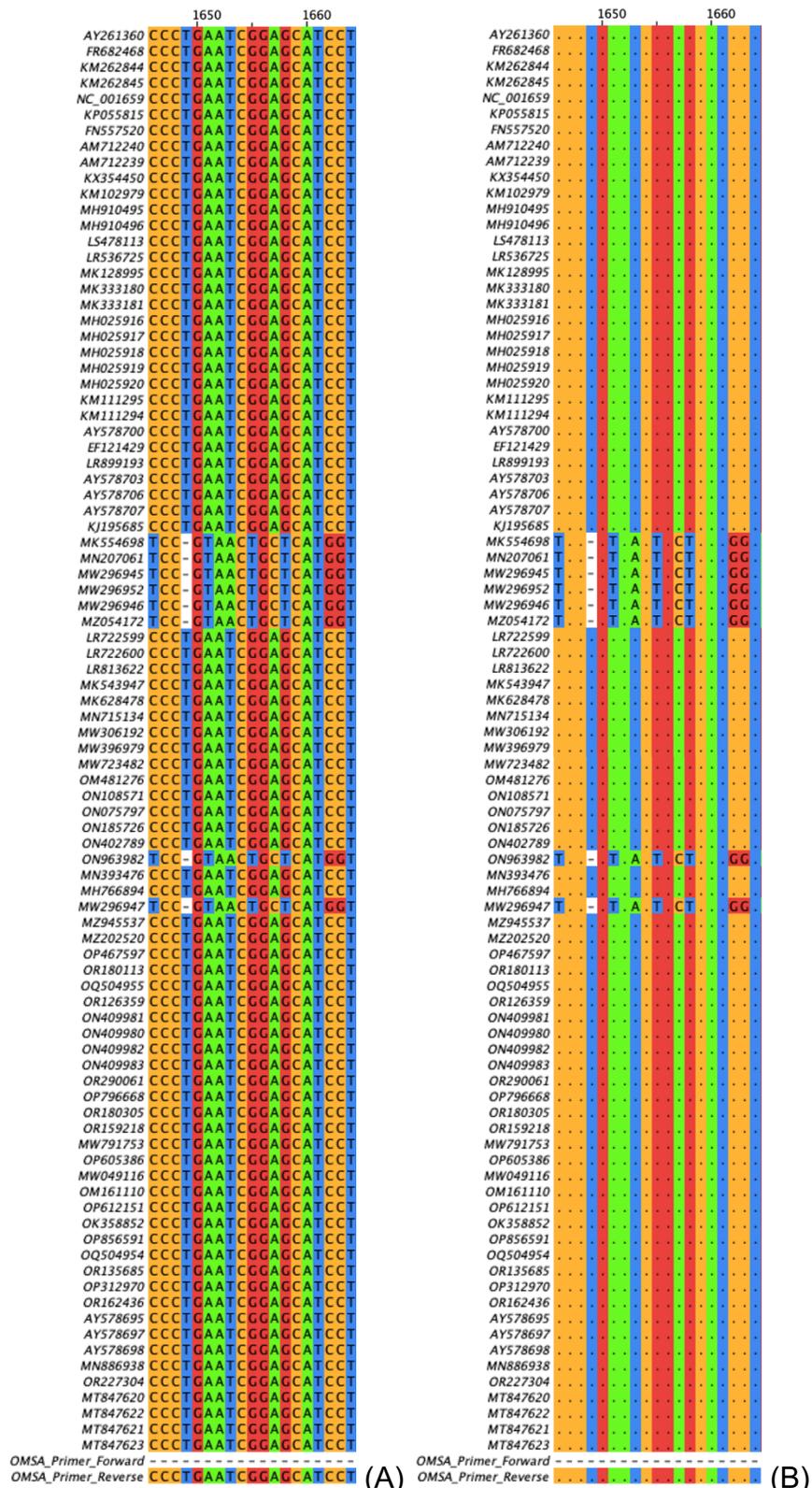


Figura 44. Alineación del primer antisentido con las diferentes secuencias obtenidas del NCBI de los principales brotes en el mundo.

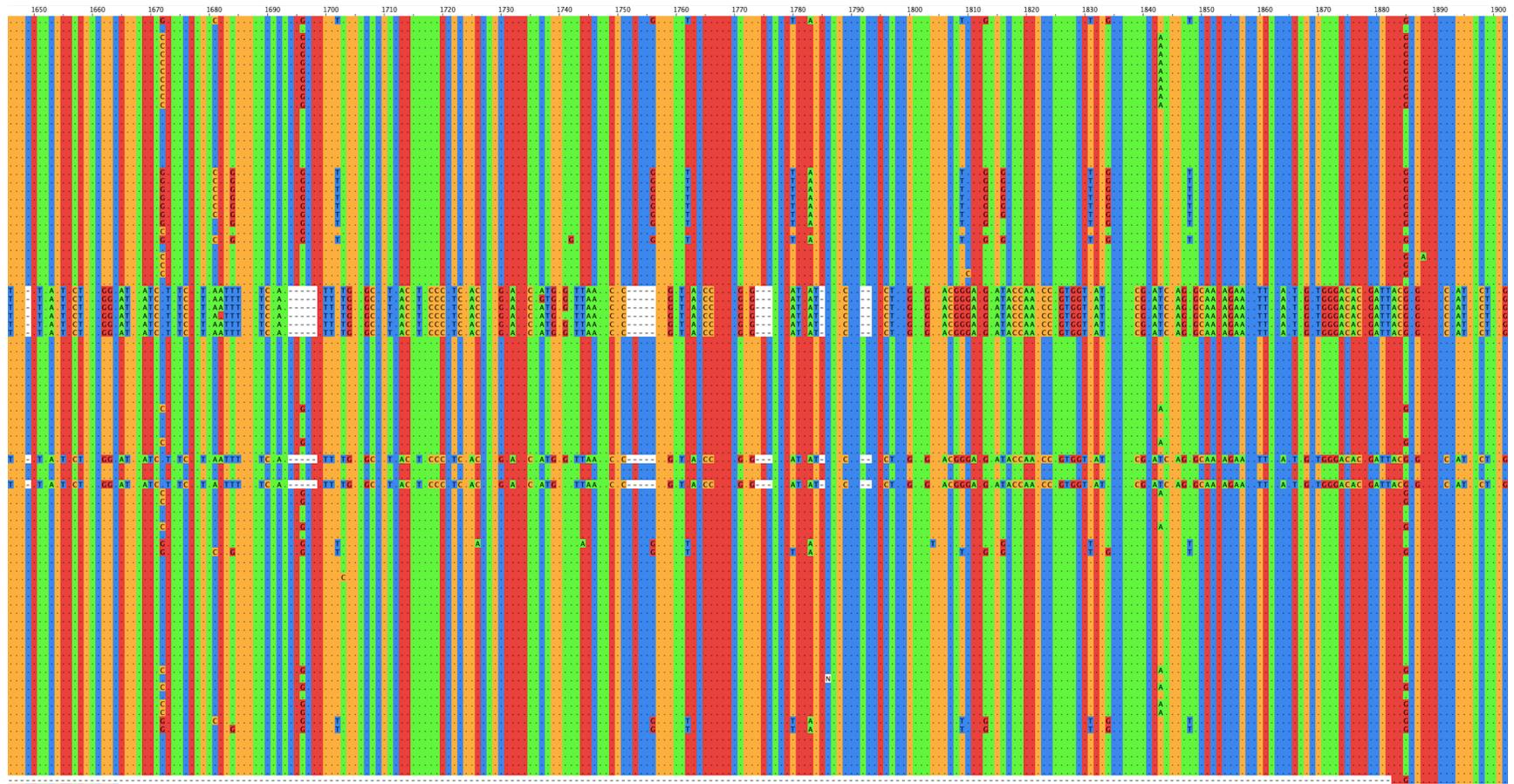


Figura 45. Región de amplificación de los primers en programa Jalview®.

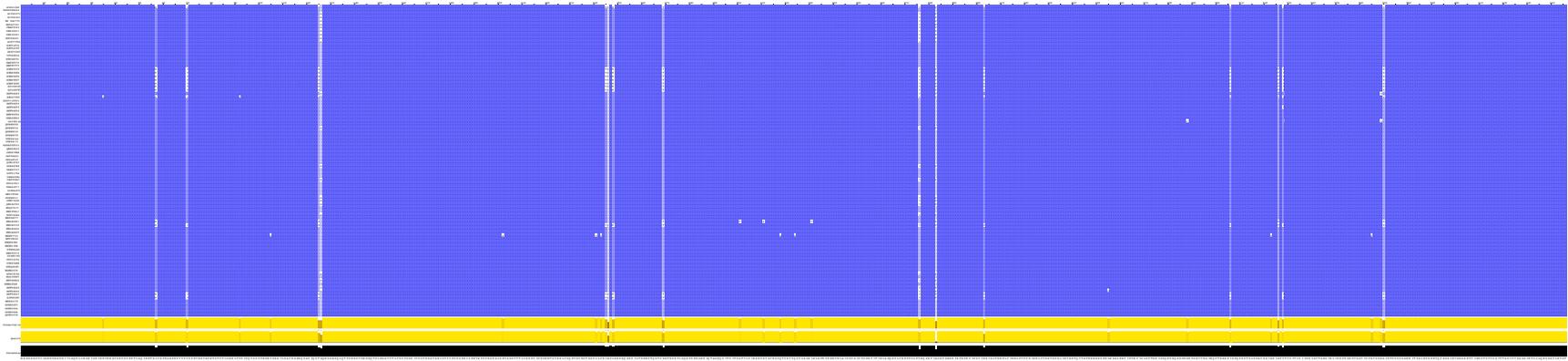


Figura 46. Polimorfismos de la proteína p72 del VPPA en secuencias de aminoácidos en Jalview®. Se puede ver una vista más cercana en los incisos A, B y C de esta figura.

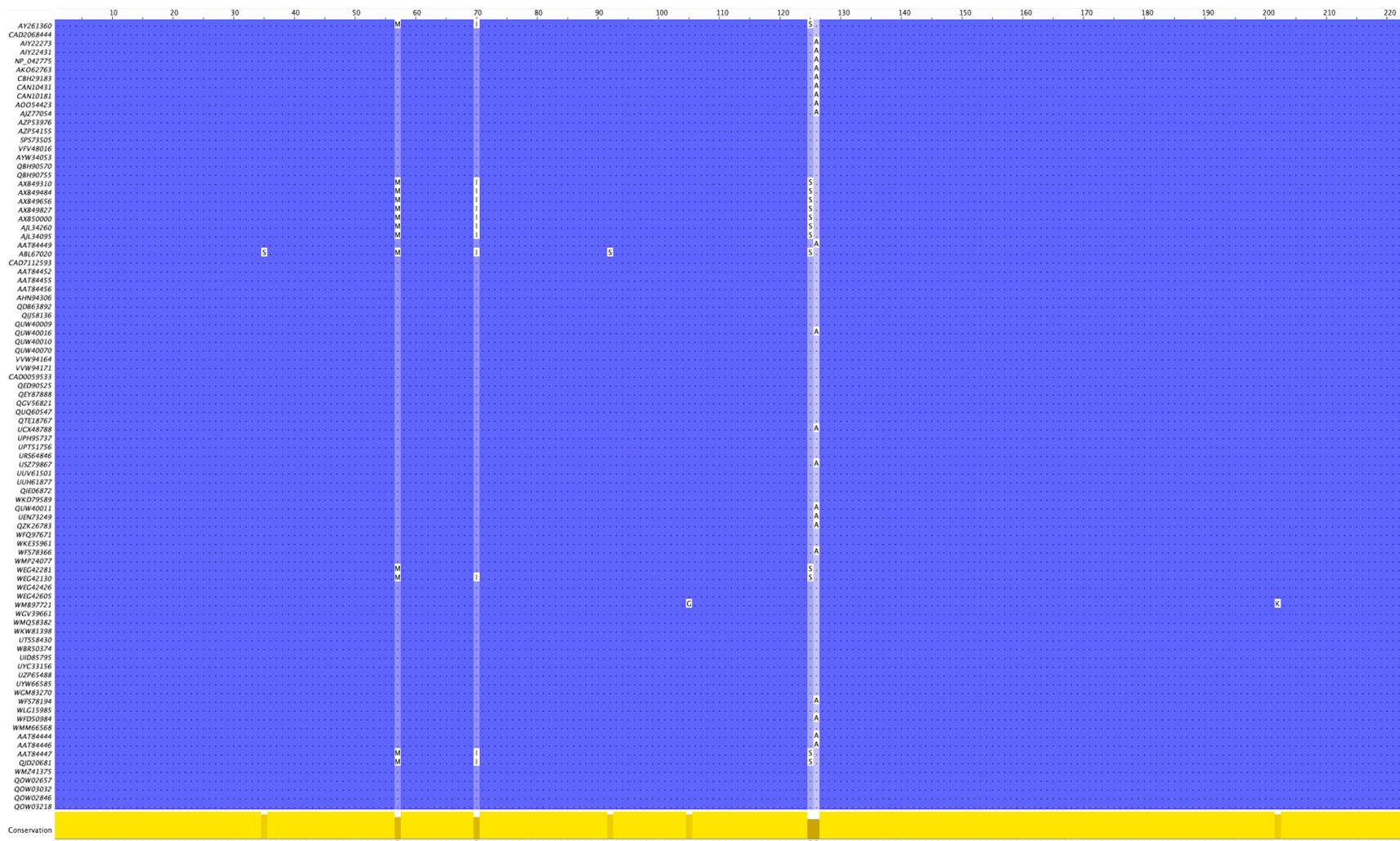


Figura 46A. Polimorfismos de la proteína p72 del VPPA en secuencias de aminoácidos en Jalview® de posiciones 0-220.

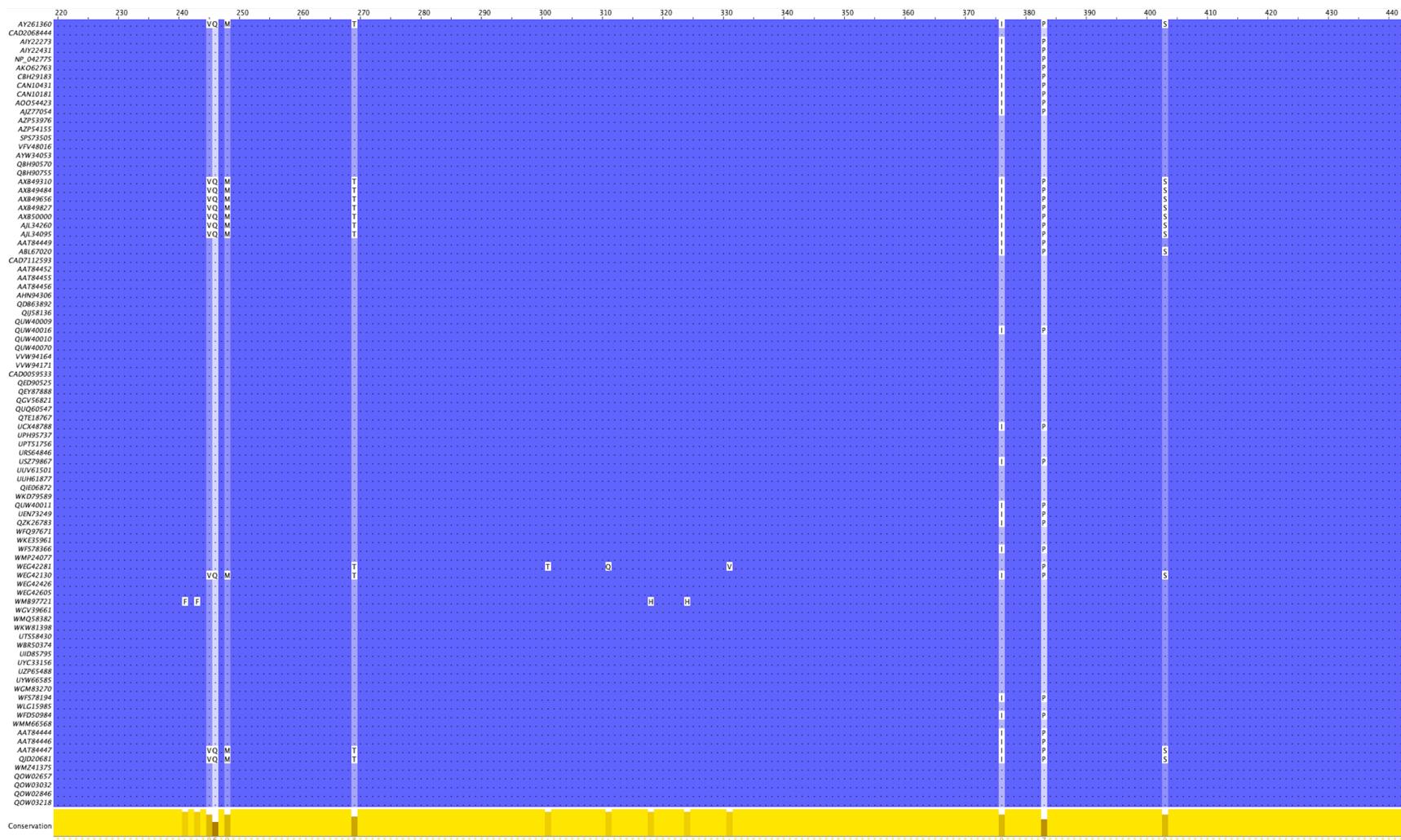


Figura 46B. Polimorfismos de la proteína p72 del VPPA en secuencias de aminoácidos en Jalview® de posiciones 220-440.

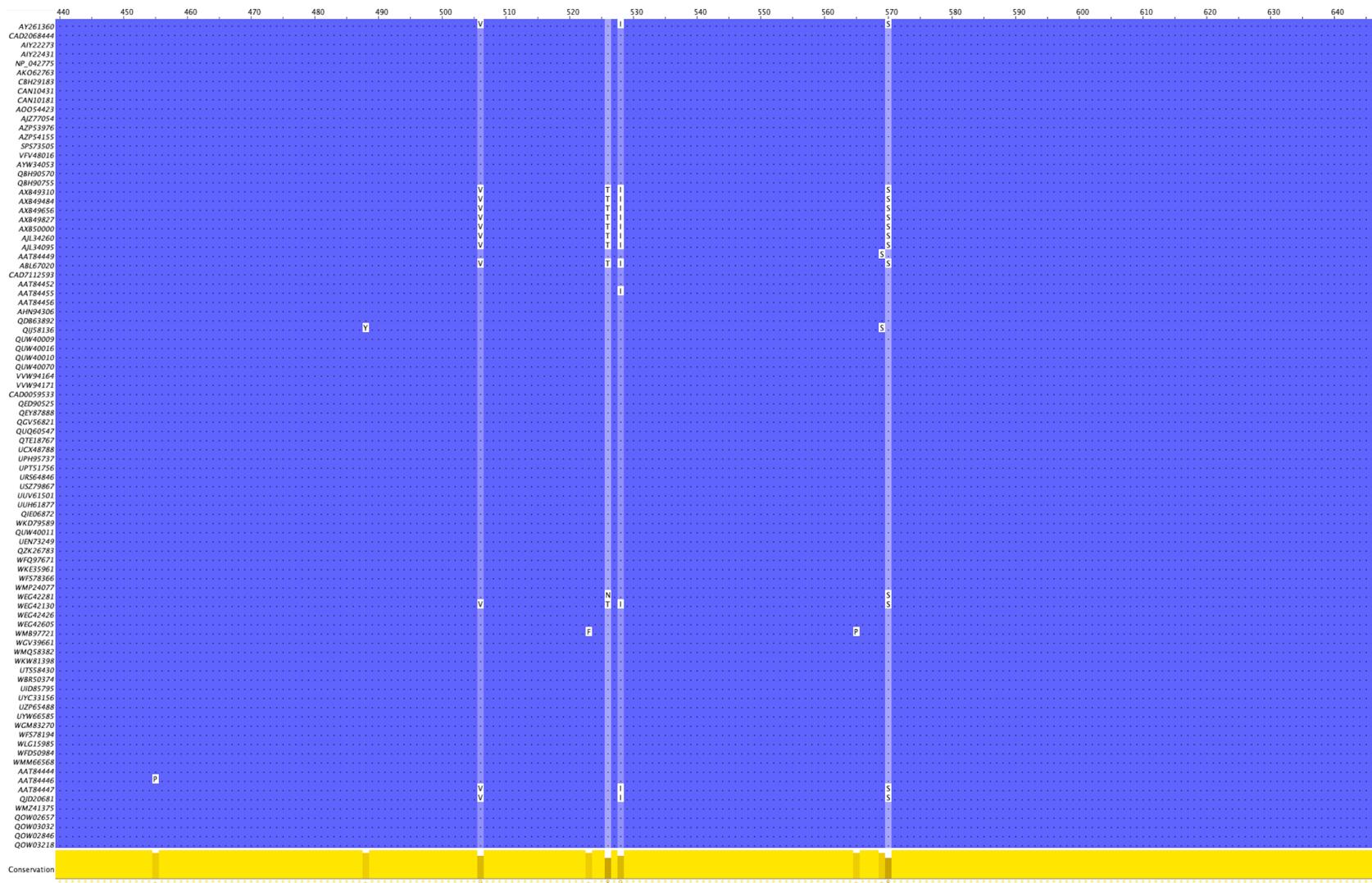


Figura 46C. Polimorfismos de la proteína p72 del VPPA en secuencias de aminoácidos en Jalview® de posiciones 440-646.

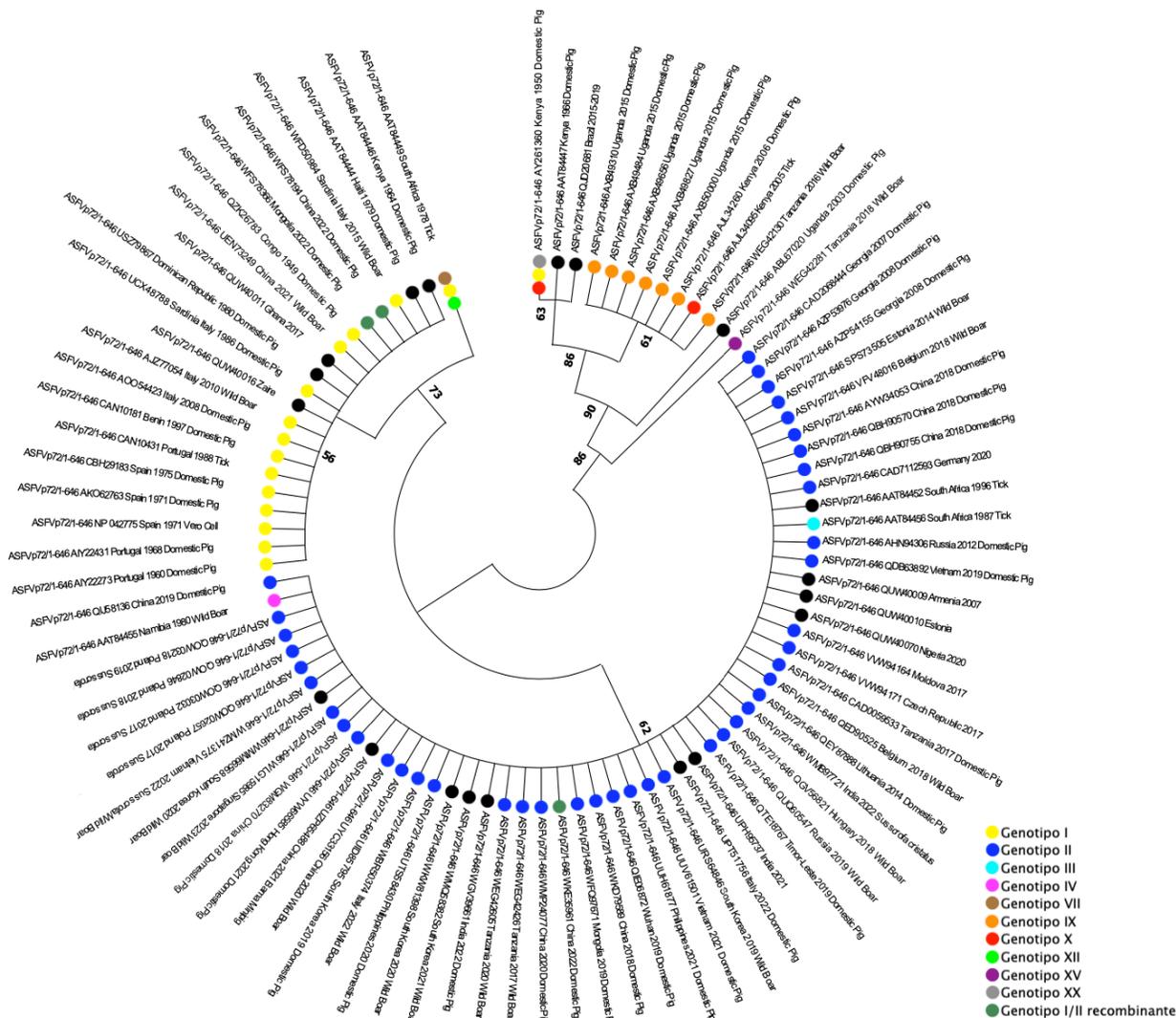


Figura 47. Árbol filogenético de la proteína p72. Árbol de Máxima Verosimilitud con 1000 repeticiones de Bootstrap con el software MEGA®. Los resultados fueron obtenidos a través del Modeltest utilizando el modelo de Jones Taylor Thornton más distribución Gamma (JTT+G). Los colores diferentes corresponden al genotipo reportado de acuerdo con la taxonomía del cuadro 10.