



**ANÁLISIS POR RT PCR, PCR_n Y SECUENCIACIÓN DE CINCO AISLAMIENTOS
MEXICANOS DEL VIRUS DE PRRS. PARTE II.**

Lara, PJH.^{*1}; Díaz, EEF.¹; Rodríguez, IS¹; Macías, M.²; Moreno, Y.²; Ramírez, R.²; Díaz, RC.³; Carreón, R.³; Mendoza, R.³; Viguera R.²; Hernández, J.¹; García, C.¹; Hernández, J.¹; Ohlinger, V.⁴.

¹ Boehringer Ingelheim Vetmedica, S. A. de C. V.; Calle 30 #2614, Zona Industrial, porcinos@gua.boehringer-ingelheim.com; Guadalajara, Jalisco; México.

² CENASA, Carretera México Pachuca Km. 37.5 s/n, CP 55740, Santa Ana Tecámac, Estado de México.

³ UNAM, Av. Universidad #3000, FMVZ, Departamento de producción animal (cerdos) México, D.F.

⁴ bioscreen European Veterinary Disease Management Center GmbH, Mendelstr. 11; 48149 ohlingerv@bioscreen-ms.de, Münster, Germany.

El virus de PRRS (PRRSv) es una enfermedad que genera un impacto económico significativo en la producción porcina. Se caracteriza por problemas reproductivos y respiratorios. Por la necesidad de conocer los posibles tipos del PRRSv que pudieran estar presentes en México surge el presente trabajo. Se utilizaron cinco aislamientos nacionales del PRRSv para las pruebas de RT-nPCR y secuenciación; en donde el RNA se extrajo usando una columna de cromatografía. Para el RT PCR se utilizaron los primers PLS/PLR, los cuales generan fragmentos de 433bp y 397bp, y se combinaron con los primers anidados P-US-7-14970-s/P-US-7-15306 y P-EU-7-14684-s/P-EU-7-14903 para el genotipo americano/europeo, que generan fragmentos de 326bp y 241bp. Se desarrolló la técnica descrita por varios autores para el RT PCR utilizando el Kit Titan One Tube. Las condiciones fueron 45°C/1 hora/94°C/1 min./58°C/1 min./72°C/45 seg. y una prolongación de 5 min.. Se utilizó 1 ml del producto del RT-PCR para el PCR_n utilizando el Qiagen Taq y sus constantes de ciclo fueron similares a las del RT-PCR; un volumen final de 5µl del PCR_n se analizó por electroforesis junto con los controles adecuados en agarosa gel Tris-acetato EDTA Amortiguado y se tiñó con bromuro de etidio. A los productos de este PCR se les secuenció utilizando primers marcados y la secuencia nucleotídica se realizó con un secuenciador automático LI-COR DNA Gene READIR y se analizó por medio del AlignIR[®], DiscoverIR[®], y DNASIS[®]; las distancias genéticas se calcularon por el método 2 paramétrico de Kimura comparándolos con la cepa VR2332 y la RFLP 142. Los resultados del RT-PCR_n indican que los fragmentos amplificados tuvieron un tamaño de 326bp y fueron solamente positivos para el genotipo americano del PRRSv. La homología nucleotídica de los aislamientos a la cepa VR2332 en el ORF7 fue del 94.01-94.39% y a la cepa RFLP142 de 94.01-95.14%, y entre aislamientos del 97.38-99.63%. Estos resultados indican claramente que los aislamientos están más relacionados con la cepa VR2332 que con la RFLP142. Podemos concluir que los aislamientos del PRRSv Mexicanos al día de hoy son sólo genotipo americano y no derivan de cepas vacunales existentes. La secuenciación indica una relación estrecha en el ORF7 a la cepa VR2332 y el ORF5 al RFLP 142. Debido a este alto grado de similitud, una vacuna producida con la cepa VR2332 puede



**Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en
Cerdos
XXXVI Congreso Nacional Querétaro 2001
Julio 25 – 29 de 2001**

brindar una protección homologa al desafío con los aislamientos de campo del PRRSv en México.