

DIVERSIDAD GENÉTICA DEL ORF5 DE AISLAMIENTOS MEXICANOS DEL VIRUS DEL SÍNDROME REPRODUCTIVO Y RESPIRATORIO PORCINO RESPECTO A LA CEPA VR-2332.

Massa, A.¹, Ramírez, S.^{1*}, Flores, A.¹, Macías, M.¹, Raya, R.¹, Orozco, V.¹, Franco, A.¹

¹Lapisa S.A. de C.V.; Carretera La Piedad-Guadalajara Km. 5.5, Col. Camelinas, C.P. 59375, La Piedad, Michoacán; México. www.lapisa.com

INTRODUCCIÓN

Los virus del Síndrome Reproductivo y Respiratorio Porcino (PRRSv) se dividen en dos genotipos, el norteamericano (tipo II) y el europeo (tipo I). En México no han sido identificados aislamientos de tipo Europeo. La envoltura del virus presenta 4 glicoproteínas de superficie, siendo la GP5 la de mayor variación dentro de cada genotipo¹ además de ser la principal inductora de formación de anticuerpos neutralizantes². La GP5 contiene un marco de lectura abierta nombrada ORF5. La comparación genética del ORF5 es un procedimiento estándar para diferenciar aislamientos de este agente. El presente estudio describe la variación de secuencias genéticas de nucleótidos y aminoácidos del ORF5 de aislamientos mexicanos del PRRSv respecto a la cepa norteamericana de referencia VR-2332.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para la identificación de RNA viral de PRRSv, se utilizó un kit comercial de reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR) de tiempo real.

Las muestras fueron procesadas e inoculadas en la línea celular MA-104 usando una modificación de la técnica descrita por Macías *et al.* (2006)³, y la región ORF5 de los aislamientos fue amplificada y secuenciada mediante un secuenciador LICOR modelo 4300DNA Analyzer.

Se seleccionaron al azar y de manera proporcional 50 secuencias ORF5 del total de aislamientos obtenidos de 2009 a 2012 en nuestro laboratorio de diagnóstico para este análisis. Los aislamientos fueron logrados de muestras colectadas en granjas porcinas de diversos estados de la república incluyendo Michoacán, Jalisco, Puebla, Sonora, Guanajuato, Sinaloa, Estado de México y Yucatán.

La secuencia de la cepa de referencia VR-2332 fue obtenida del GenBank con número de acceso U87392. Las secuencias de nucleótidos de la cepa de referencia así como de los aislamientos obtenidos, fueron traducidas a aminoácidos para su comparación. La GP5 codifica para 603 pares de bases y 200 aminoácidos más un codón de término³. La alineación pareada de secuencias y matrices de identidad fueron creadas y analizadas mediante el programa BioEdit sequence alignment editor 7.1.3.0.

RESULTADOS

Los resultados de porcentajes de similitud de las secuencias de ORF5 obtenidas de aislamientos mexicanos comparadas con la cepa de referencia se presentan en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Homología de secuencias de nucleótidos y aminoácidos del ORF5 de 50 aislamientos mexicanos de PRRSv respecto a la cepa VR-2332.

Año	No. cepas	Porcentaje de homología	
		nucleótidos	aminoácidos
2009-2012	50	85.7 – 98.8	85.0 – 97.0
2009	6	86.7 – 98.8	87.5 – 97.0
2010	7	86.7 – 91.8	85.5 – 92.5
2011	13	85.7 – 98.1	85.0 – 95.5
2012	24	85.7 – 98.3	85.0 – 97.0

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Distintos porcentajes de similitud de nucleótidos del gen ORF5 respecto a la cepa VR-2332 han sido reportados para aislamientos de tipo II de diversas partes del mundo. Entre estos podemos mencionar un 85-99% en Canadá¹, 87.8-89.0% en Corea⁴, 86.9-99.0% en China y 88% para un aislamiento mexicano³. El rango de 85.7-98.8% de homología en nuestras cepas analizadas, indica gran variación en aislamientos mexicanos respecto a la cepa de referencia tal como ha sido reportado en otros países.

Al comparar secuencias de aminoácidos, existe hasta un 15% (Cuadro 1) de diferencia, similar a lo reportado por Pirzadeh *et al.* (1998), quienes indicaron un rango de 85-92% de similitud, existiendo estudios previos señalando homologías de 88-97% en aislamientos estadounidenses⁵. Se demuestra que diferencias en la secuencia de nucleótidos han provocado cambios en la composición aminoacídica de cepas surgidas en granjas mexicanas.

Al analizar resultados por año se observa que el límite inferior de similitud de 2012 respecto a 2009 tiende a disminuir. Aislar cepas con homología elevada respecto a la VR-2332 es esperado debido a esquemas de vacunación con cepa viva estrechamente relacionada. Esto indica coexistencia de cepas derivadas de la VR-2332 en conjunto con otras de gran variabilidad que han evolucionado mediante cambios paulatinos en su genoma.

La elevada variación encontrada en cepas mexicanas de PRRSv respecto a la VR-2332, pudiera significar cambios antigénicos importantes que otorguen ventajas encaminadas a evadir la respuesta inmune o establecer infecciones persistentes. Esto deberá ser considerado para la elección de estrategias que contribuyan a una inmunización efectiva para el control de este agente en campo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ¹Pirzadeh, B. *et al.* 1998. *Can. J. Vet. Res.* (62):170-177.
- ²Mardassi, H. *et al.* 1995. *Arch. Viro.* (140), 1405-1418.
- ³Macías *et al.* 2006. *Vet. Méx.* 37(2):197-208.
- ⁴Kim *et al.* 2009. *J. Vet. Sci.* 10(2):121-130.

⁵Meng et al. 1995. J. Gen. Virol. 76:3181-3188.