

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DEL GENOMA COMPLETO DEL RUBULAVIRUS PORCINO DE AISLAMIENTOS OBTENIDOS DE DIFERENTES CASOS CLINICOS DE CAMPO (2007 -2013).

Cuevas-Romero, S¹. Rivera-Benítez, F¹. Blomström, A-L²., Ramliden, M²., Hernández-Baumgarte, E³., Hernández-Jaúregui, P³., Ramírez-Mendoza, H⁴., Berg, M².

¹CENID-MA-INIFAP, México; ²Uppsala University SLU-Sweden; ³Investigador Independiente, México; ⁴FMVZ-UNAM, México

Introducción

La enfermedad del Ojo Azul (EOA) ocasionada por el Rubulavirus porcino (PorPV), es una de las cuatro enfermedades más importantes que afectan la industria porcina de México. No obstante, desde la presentación de los primeros brotes de la EOA a principios de los 80's, solamente se ha caracterizado el genoma completo de un aislamiento del virus realizado en 1984 (PorPV-LPMV). Aunque existe el reporte de la presencia de posibles variantes antigénicas del PorPV, relacionadas al gen de la proteína HN, lo que limita el conocimiento del comportamiento del virus en los recientes brotes. El objetivo de este trabajo fue realizar la caracterización molecular del virus completo de diferentes aislamientos virales el PorPV, procedentes de recientes brotes de la EOA, mediante el análisis de la variación genética que presentan los genes que conforman el virus.

Material y Métodos

Se obtuvieron siete aislamientos de cerdos clínicamente enfermos por la enfermedad del ojo azul (cerebro (5); pulmón (1), sangre (1)), colectadas en diferente año (2007-1, 2008-2, 2009-3, 2013-1) procedentes de Guanajuato, Jalisco y Michoacán. Se trabajaron las muestras para extracción de RNA, síntesis de cDNA, por lo procedimientos convencionales y se amplificaron los diferentes genes del virus (NP, P, F, M, HN; L), mediante el diseño de primers específicos, utilizando el Master Mix PCR Assay Kit (Promega, USA) de acuerdo al protocolo de manufactura. Las muestras de amplicones fueron purificadas y enviadas a secuenciar a Macrogen Europe, Netherlands, las secuencias fueron editadas y ensambladas con el programa SeqMan (Lasergene 9.1, DNASTAR). Las secuencias consenso fueron comparadas con la base de datos del GenBank (NP (EF095537.1); P (AF416650.1); M (YP 001331032.1); F (Y10803.1); HN (S77541.1) and L (BK005918.1) usando BLAST software (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), NCBI (National Centre for Biotechnology Information). El análisis filogenético se realizó utilizando MEGA 5 software package (neighbour-joining algorithm).

Resultados

Los resultados indican que existe una alta conservación en la expresión de las proteínas NP y P en todos los aislamientos evaluados. La proteína M presentó una variación genética de seis aminoácidos en la posición (I₁₈₇-T₁₉₂) que podría estar afectando la carga electrostática de la proteína y por lo tanto su interacción con las membranas celulares del hospedero. La proteína F, presentó dos mutaciones importantes en uno de los aislamientos (2007) obtenido de pulmón, en el sitio de escisión de la proteína F (H₁₀₁R; K₁₀₃R). La proteína HN mostró alta conservación, con la presencia de un solo cambio en un aminoácido en dos aislamientos de los seis evaluados. Los aislamientos de 2008, 2009 y 2013, mostraron regiones altamente conservadas sin afectar aparentemente la actividad hemoaglutinante de la proteína. La proteína L, presentó secuencia de aminoácidos conservadas y algunas mutaciones que podrían estar involucradas en modificaciones de la actividad de la polimerasa. El análisis filogenético, indicó la existencia de tres grupos genéticamente diferentes: 1) cepas virales (1) altamente conservadas 99.99% similares al virus original aislado en 1984; 2) cepas virales (1) asociadas a mutaciones en la proteína V y C del virus. 3) cepas virales (6) genéticamente diferente asociado a mutaciones en el gen M y F del virus.

Discusión

Los resultados obtenidos muestra que existen diferentes variantes genéticas del Rubulavirus porcino, que podrían involucrar cambios en el tropismo, la patogenicidad, y la interacción del virus con el hospedero. No obstante existen cepas virales que se han conservado por más de 25 años desde la presentación de los primeros brotes de la EOA.

Conclusión

Se concluye, la presencia de por lo menos tres variantes genéticas del PorPV agente causal de la EOA que actualmente circulan en la población porcina de las áreas geográficas afectadas (centro del país).

Bibliografía

- Tamura, (2011) *Molecular biology and evolution*. 28 (10): 2731-2739
Wang, (2012). *Virus taxonomy*. 640-653
Zhang, (2000). *J Comput Biol*. 7(1-2), 203-2014