

ANÁLISIS FILOGENÉTICO DE LA GLICOPROTEINA 5 (GP5) DEL VIRUS DEL SÍNDROME RESPIRATORIO Y REPRODUCTIVO DEL CERDO (PRRSV)

Sotomayor A*, Trujillo MI, Mercado M, Saenz B, Galindo M, Sánchez J.

Departamento de Medicina y Zootecnia de Cerdos, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM.

Palabras clave: PRRS, GP5, filogenia. **Email:** mvzaliciasotomayor@gmail.com

Introducción

PRRS se considera una de las enfermedades más importantes que afectan a la industria porcina ocasionando grandes pérdidas económicas. Se caracteriza por falla reproductiva en el último tercio de gestación y enfermedad respiratoria en cerdos de todas las edades. El análisis del virus aislado en Europa y en EE.UU. ha llevado a la designación de dos serotipos principales de referencia: el americano (VR2332) y el europeo (Lelystad), y entre ellos la variabilidad genética puede llegar a ser muy alta. Entre cepas americanas el ORF 5 presenta una identidad de 88 a 97% y entre cepas americanas y europeas la identidad es de 51 a 59%. Debido a la alta variabilidad que presenta, se utiliza para identificar aislamientos genéticamente distintos.

Material y métodos

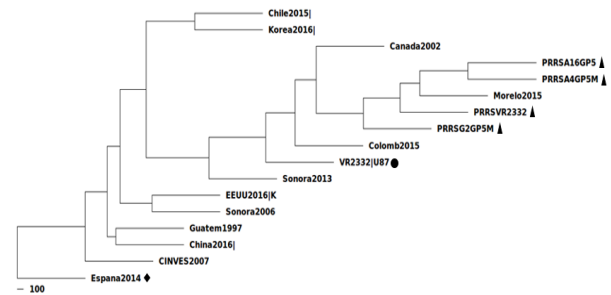
Se obtuvieron muestras de hisopo nasal y pulmón de diferentes estados de la República Mexicana. La extracción de RNA se llevó a cabo siguiendo la técnica de fenol-cloroformo. Se diseñaron oligonucleótidos específicos para amplificar completamente el ORF5. El RT-PCR se llevó a cabo con el kit OneStep RT-PCR de QIAGEN® con el siguiente protocolo: un ciclo de 50°C durante 30 min, un ciclo de 95° por 15 min, 40 ciclos de: 94 °C durante 30 s, 54°C durante 60 s, 72 °C durante 60 s y un ciclo final de 72 °C durante 10 min. El producto se colocó en un gel de agarosa al 2% para su visualización. La purificación se realizó con el kit de purificación QIAmp® Viral RNA (QIAGEN) según las recomendaciones del fabricante y los productos se enviaron al Instituto de Fisiología Celular para ser secuenciados. Las cuatro secuencias obtenidas se editaron con BioEdit Sequence Alignment Editor. La alineación de las secuencias obtenidas, así como diversas secuencias de América y Asia obtenidas de GenBank, se realizó con el programa ClustalW. El árbol filogenético se realizó con el programa Phylip por el método de Neighbor Joining/UPMGA con 1000 repeticiones bootstrap y se utilizó una secuencia de España del genotipo I como grupo externo.

Resultados y Discusión

Las mutaciones presentes en ORF5 corresponden solamente a sustituciones. Se encontraron ocho sustituciones en comparación con la cepa de referencia;

produciendo cuatro cambios no sinónimos en la secuencia de aminoácidos. Se sabe que la GP5 es muy polimórfica al estar bajo una presión permanente de selección debido a su posición expuesta en el exterior del virión, por esta razón es utilizada para encontrar variantes virales en una población. La construcción del árbol filogenético (figura 1) con las secuencias encontradas confirma que las muestras obtenidas pertenecen al tipo 2 del virus de PRRS, y se agrupan con subtipos virales pertenecientes a Morelos, Canadá y Colombia. Interesantemente, presentan mayor similitud con estas secuencias que con aquellas reportadas en México en Sonora y el CINVESTAV.

Figura 1. Árbol filogenético de la glicoproteína de PRRSV. Las muestras de este estudio están marcadas con un triángulo, la cepa control (VR2332) con un círculo y el grupo externo con un triángulo.



Conclusión

La identificación de variantes virales es esencial para el desarrollo de vacunas y pruebas de diagnóstico para el control más eficiente de los virus de PRRS en México. Se deben llevar a cabo análisis más profundos que incluyan la identificación de las variaciones genéticas en el genoma completo del virus para determinar los epítomos implicados en la respuesta inmune protectora.

Referencias Bibliográficas

- Hu J, Zhang C; *Transboundary and Emerging Diseases* 2014, 61(2):109-120.
- Cheon DS, Chae C; *Arch Virol* 2000, 145(7):1481-1488.
- Zhou YJ, Yu H, Tian ZJ, Li GX, Hao XF, Yan LP, Peng JM, An TQ, Xu AT, Wang YX et al; *Virus Res* 2009, 144(1-2):136-144.