

CARACTERIZACIÓN FILOGENÉTICA DEL VIRUS DE PRRS EN JALISCO, MÉXICO.

Galindo-Barboza A.J.^{1*}, Rivera-Benítez J.F.^{2*}, De La Luz-Armendáriz J.³, Saucedo-Cerecer S.G.⁴, Rivera-Flores A.⁴, Lugo-Vargas J.⁴, Guízar-Delgado A.M.⁴, Álvarez-Félix G.N.⁴, González-González J.J.⁴ y De Alba-Campos J.E.⁵

¹Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Doctorado en Ciencias de la Producción y de la Salud Animal, UNAM. ²Laboratorio de Virología, Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad, INIFAP. ³Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM. ⁴Comite Estatal para el Fomento y Protección Pecuaria en el Estado de Jalisco, CEPPP. ⁵Unión Regional de Porcicultores de Jalisco, URPJ.

*Alberto Jorge Galindo Barboza; allogaba@gmail.com * José Francisco Rivera Benítez; rivera.francisco@inifap.gob.mx

Introducción.

El virus del PRRS (vPRRS) es uno de los principales agentes infecciosos que genera problemas sanitarios y pérdidas en la porcicultura. Identificar su diversidad genética es imprescindible. El ORF5 de este virus ha sido ampliamente utilizado para su clasificación filogenética en linajes debido a su alta variabilidad y relevancia en la respuesta inmune [1, 2]. Aunque se han explorado otros enfoques para la caracterización del virus, la secuenciación de ORF5 sigue siendo una herramienta fundamental en la vigilancia epidemiológica y el monitoreo de la diversidad genética de este virus [2]. El enfoque de esta investigación pretende sentar la base para relacionar la diversidad genética con distintas condiciones de producción. El objetivo del presente estudio fue caracterizar filogenéticamente el virus del PRRS en granjas de Jalisco, México.

Materiales y métodos.

80 granjas comerciales de Jalisco participaron en el estudio, distribuidas en cuatro regiones conforme a la densidad animal, estas granjas participan en el programa "Sanidad Jalisco" de la URPJ. Un total de 4,207 muestras de suero fueron colectadas, 3,802 de cerdos sin signos clínicos y 405 con signos relacionados al vPRRS. Por granja se obtuvieron 60 muestras, distribuidas por etapa productiva; cerdos en lactancia, destete, crecimiento, desarrollo, finalización y hembras gestantes. Las muestras se agruparon en pools de 5 (12 pools/granjas). De cada pool (n=844) se realizó la extracción de RNA mediante columnas con el kit QIAamp® Viral RNA Mini Kit (QIAGEN, Cat. No. 52906). El RNA fue analizado con una qRT-PCR para detectar el ORF7 empleando el kit QuantiTect® Probe RT-PCR Kit (QIAGEN, Cat. No. 204445), con la finalidad de identificar las muestras positivas, consideradas así, aquellas con un Ct <35. Se utilizaron iniciadores y sondas reportados previamente [3] y se adaptó la metodología en el laboratorio de virología del INIFAP, palo alto. Las muestras que presentaron un Ct<30, fueron seleccionadas para la amplificación del ORF5 mediante una PCR punto final (898 pb) con el kit OneStep® RT-PCR (QIAGEN, Cat. No. 210215). Las muestras amplificadas fueron purificadas con el kit QIAquick® PCR Purification (QIAGEN, Cat. No. 28106) y secuenciadas por el método de Sanger. Las secuencias obtenidas fueron ensambladas y analizadas con el software MEGA versión 11. Se determinaron *in silico* los RFLP [1].

Resultados.

La frecuencia relativa de positivos (Ct<35) fue: para cerdos en lactancia 38.2%, destete 61.1%, crecimiento 40.4%, desarrollo 27.6%, finalización 27% y cerdas lactantes 19.5%. Por región, fue

de 44.6% para B2, 35.1% B3, 34.5% A, y 30.7% en B1. Se obtuvieron 39 secuencias del ORF5: 21 seq. L1A; 1 seq. L1C; 7 seq. L1I; 1 seq. L2; 5 seq. L5A; 1 seq. L8C; y 3 seq. L8D.

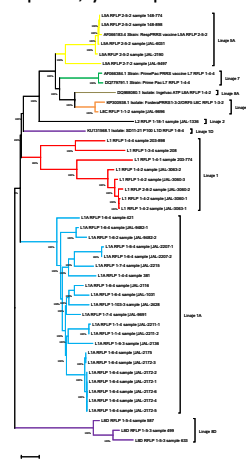


Figura 5. Análisis filogenético del ORF5 del vPRRS de las secuencias obtenidas, construido mediante el método de Neighbor-Joining con 1000 bootstrap. Las distancias evolutivas se calcularon con MEGA 11 utilizando el método de Kimura de 2 parámetros con una distribución gamma (1.42).

Discusión

El 53.8% de las secuencias en Jalisco pertenecen al sublinaje L1A, coincidiendo con su predominio en EE.UU. y otros países [4]. Su baja distancia genética (3.6%) sugiere estabilidad, aunque la presencia de otros linajes más diversos indica evolución activa y posibles retos para el control.

Conclusiones.

Es necesario determinar si existen factores de manejo o vacunales que determinen cambios genéticos en el virus y su efecto sobre aspectos inmunológicos y patogénicos.

Agradecimientos

A la Asociación IPVS México 2014 A.C. por los fondos otorgados para esta investigación. No. SIGI: 1520226989.

Referencias bibliográficas.

[1]. Zeller et al., (2024). *Front. Vet. Sci.* 11:1419340. [2]. Yim-Im et al., (2023). *Microbiology spectrum*, 11(6), e0291623. [3]. Rivera-Benítez et al., (2024). 27th IPVS congress. Pp 304.

Palabras claves.

PRRS, Linajes, Jalisco.





CARACTERIZACIÓN FILOGENÉTICA DEL VIRUS DE PRRS EN JALISCO, MÉXICO

Galindo-Barboza A.J.1*, Rivera-Benítez J.F.2*, De La Luz-Armendáriz J.3, Saucedo-Cerecer S.G.4, Rivera-Flores A.4, Lugo-Vargas J.4, Guízar-Delgado A.M.4, Álvarez-Félix G.N.4, González-González J.J.4 y De Alba-Campos J.E.5

1Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Doctorado en Ciencias de la Producción y de la Salud Animal, UNAM. 2Laboratorio de Virología, Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad, INIFAP. 3Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM. 4Comite Estatal para el Fomento y Protección Pecuaria en el Estado de Jalisco, CEFPP. 5Unión Regional de Porcicultores de Jalisco, URPJ.

*Alberto Jorge Galindo Barboza; aljogaba@gmail.com * José Francisco Rivera Benítez; rivera.francisco@inifap.gob.mx

OBJETIVO

Caracterizar filogenéticamente el virus del PRRS en granjas de Jalisco, México, con la finalidad de conocer su diversidad y distribución en el estado.

INTRODUCCIÓN

El virus del PRRS (vPRRS) es uno de los principales agentes infecciosos que genera problemas sanitarios y pérdidas en la porcicultura. Identificar su diversidad genética es imprescindible. El ORF5 de este virus ha sido ampliamente utilizado para su clasificación filogenética en linajes debido a su alta variabilidad y relevancia en la respuesta inmune [1, 2]. Aunque se han explorado otros enfoques para la caracterización del virus, la secuenciación de ORF5 sigue siendo una herramienta fundamental en la vigilancia epidemiológica y el monitoreo de la diversidad genética de este virus [2].

MÉTODOS

80 granjas comerciales de Jalisco participaron en el estudio, distribuidas en cuatro regiones conforme a la densidad animal, estas granjas participan en el programa "Sanidad Jalisco" de la URPJ.

Un total de 4,207 muestras de suero fueron colectadas, 3,802 de cerdos sin signos clínicos y 405 con signos relacionados al vPRRS. Por granja se obtuvieron 60 muestras, distribuidas por etapa productiva; cerdos en lactancia, destete, crecimiento, desarrollo, finalización y hembras gestantes. Las muestras se agruparon en pools de 5 (12 pools/granjas).

De cada pool (n=844) se realizó la extracción de RNA mediante columnas con el kit QIAamp® Viral RNA Mini Kit (QIAGEN, Cat. No. 52906). El RNA fue analizado con una qRT-PCR para detectar el ORF7 empleando el kit QuantiTect® Probe RT-PCR Kit (QIAGEN, Cat. No. 204445), con la finalidad de identificar las muestras positivas, consideradas así, aquellas con un Ct <35. Se utilizaron iniciadores y sondas reportados previamente [3] y se adaptó la metodología en el laboratorio de virología del INIFAP, palo alto. Las muestras que presentaron un Ct<30, fueron seleccionadas para la amplificación del ORF5 mediante una PCR punto final (898 pb) con el kit OneStep® RT-PCR (QIAGEN, Cat. No. 210215).

Las muestras amplificadas fueron purificadas con el kit QIAquick® PCR Purification (QIAGEN, Cat. No. 28106) y secuenciadas por el método de Sanger. Las secuencias obtenidas fueron ensambladas y analizadas con el software MEGA versión 11. Se determinaron in silico los RFLP [1].

RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

La frecuencia relativa de positivos (Ct<35) fue: para cerdos en lactancia 38.2%, destete 61.1%, crecimiento 40.4%, desarrollo 27.6%, finalización 27% y cerdas lactantes 19.5%. Por región, fue de 44.6% para B2, 35.1% B3, 34.5% A, y 30.7% en B1. Se obtuvieron 39 secuencias del ORF5: 21 seq. L1A; 1 seq. L1C; 7 seq. L1I; 1 seq. L2; 5 seq. L5A; 1 seq. L8C; y 3 seq. L1J.

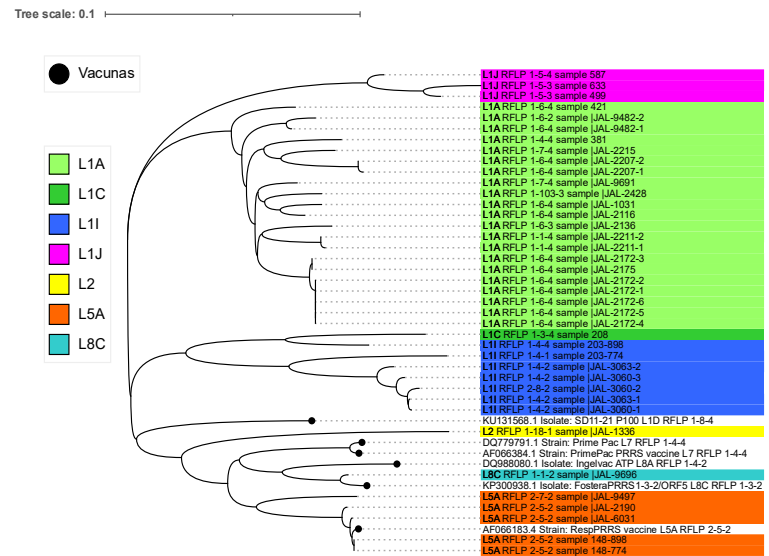


Figura 1. Análisis filogenético del ORF5 del vPRRS de las secuencias obtenidas, construido mediante el método de Neighbor-Joining con 1000 Bootstrap. Las distancias evolutivas se calcularon con MEGA 11 utilizando el método de Kimura de 2 parámetros con una distribución gamma (1.42). Arbol elaborado y anotado con iTOL versión: 7.2

El 53.8% de las secuencias en Jalisco pertenecen al sublinaje L1A, coincidiendo con su predominio en EE.UU. y otros países [2]. Su baja distancia genética (3.6%) sugiere estabilidad, aunque la presencia de otros linajes más diversos indica evolución activa y posibles retos para el control.

CONCLUSIONES

Es necesario determinar si existen factores de manejo o vacunales que determinen cambios genéticos en el virus y su efecto sobre aspectos inmunológicos y patogénicos.

PALABRAS CLAVE

PRRS, Linajes, Jalisco.

REFERENCIAS

[1]. Zeller et al., (2024). Front. Vet. Sci. 11:1419340. [2]. Yim-Im et al., (2023). Microbiology spectrum, 11(6), e0291623. [3]. Rivera-Benítez et al., (2024). 27th IPVS congress. Pp 304.

AGRADECIMIENTOS



A la Asociación IPVS México 2014 A.C. por los fondos otorgados para esta investigación. No. INIFAP/SIGI: 1520226989.



Ciencia y Tecnología Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación

A la SECIHTI por el apoyo otorgado para la realización de estudios de doctorado.