



IDENTIFICACIÓN DE GENOTIPOS DE ROTAVIRUS BOVINO PREVALECIENTES EN MÉXICO COMO HERRAMIENTA PARA EL DESARROLLO DE UNA VACUNA RECOMBINANTE

William A. Rodríguez-Limas, Octavio Tonatiuh Ramírez, Laura A. Palomares
Instituto de Biotecnología. Universidad Nacional Autónoma de México.
Av. Universidad 2001 Col. Chamilpa Cuernavaca, Mor. 62210. México
e-mail: laura@ibt.unam.mx

Palabras clave: rotavirus, genotipo, vacuna.

Introducción: Rotavirus es la principal causa de enfermedad diarreica en neonatos de bovinos y porcinos, encontrándose frecuentemente en las heces de animales enfermos^(1,2). Los genes que codifican para las proteínas virales de la cápside externa VP7 y VP4 de rotavirus, definen los genotipos G y P respectivamente. Se han encontrado hasta la fecha 15 genotipos G y 26 genotipos P. A pesar de que existen vacunas tradicionales con virus atenuados o inactivados, estas son frecuentemente ineficientes e inseguras. También se ha visto que la protección entre diferentes genotipos de rotavirus es limitada, con lo que el cubrimiento brindado por estas vacunas es restringido y específico a unos pocos genotipos que no necesariamente están presentes en el territorio mexicano.

El objetivo de este proyecto es identificar los genotipos de rotavirus bovino prevalecientes en México, los cuales serán utilizados para el desarrollo de una vacuna recombinante basada en pseudopartículas virales (PPV).

Metodología: Se realizó muestreo en diferentes zonas del territorio nacional en ranchos de cría para ganado lechero y ganado doble propósito, bajo el apoyo de Biozoo S.A. de C.V. Se muestrearon animales afectados por la enfermedad y también animales asintomáticos como control. Se extrajo dsRNA viral usando un *kit* comercial (QIAamp[®] viral RNA, QIAGEN). Para identificar los genotipos G y P de las muestras obtenidas en la etapa anterior, se realizó una técnica de *multiplex PCR*, utilizando un *primer* genérico y un cóctel de *primers* de tipificación específicos para G6, G8 y G10 y P[1], P[5] y P[11]. Los tamaños de cada producto de la segunda amplificación determinan los genotipos P y G de las muestras de campo. La tabla 1 resume los tamaños de los amplicones esperados para cada genotipo. Los productos de PCR fueron analizados en geles de agarosa al 1.0%. Se realizó confirmación de los resultados obtenidos por análisis de secuencias de los amplicones y se desarrolló un análisis de similitud de secuencias "BLAST"⁽³⁾.

Tabla 1. Tamaño de los amplicones obtenidos para genotipos G y P

Genotipo	Tamaño del amplicón
G6	450 pb
G8	665 pb
G10	224 pb
P1	622 pb
P5	555 pb
P11	314 pb

Resultados y discusión: En total se analizaron 128 muestras fecales provenientes de zonas ganaderas de 10 estados mexicanos. Se muestrearon 26 ranchos con episodios de diarrea neonatal, también se muestrearon animales que estuvieron enfermos y que ya no presentaban síntomas y animales sanos como control negativo. El 15.6% de los animales que presentaban síntomas de diarrea neonatal bovina resultaron positivos para rotavirus grupo A. Estos animales se encontraban en un rango de edad entre 5 y 42 días de nacidos, lo cual corresponde a datos reportados en la literatura⁽²⁾. La enfermedad fue hallada en 7 de los 10 estados muestreados. Un dato importante para analizar es que animales cuyas madres habían sido vacunadas contra genotipos G6,P[1] (vacuna comercial), fueron afectados por rotavirus de genotipos G10,P[11]. Este grupo corresponde al 36.4% del total de positivos encontrados, mostrando así una vez más que la protección entre genotipos es limitada y que la vacuna disponible en el mercado podría no ser la mejor para el país. Los genotipos hallados fueron los siguientes: **G10, P[11] (67%); G6, P[5] (25%); G10, P[5] (8%)**. La información encontrada muestra una relación clara entre genotipos y especie, siendo éstas combinaciones comunes para rotavirus bovino.

Conclusiones: La incidencia de rotavirus bovino genera pérdidas económicas considerables al sector ganadero mexicano. El presente estudio sugiere que la vacuna disponible en el mercado tendría una protección limitada. El proceso de genotipificación realizado es la herramienta inicial para el desarrollo de una vacuna recombinante que proteja eficientemente al ganado bovino de la región.

Agradecimiento:

Apoyo en muestreo de campo por la compañía BIOZOO S.A. de C.V. Apoyo económico proyectos CONACyT-SAGARPA 2004-C01-103, PAPIIT-UNAM IN223805 y 206407.

Bibliografía

1. Snodgrass, D.R., Terzolo, H.R., Sherwood, D, Campbell, I, Menzies, J.D., Syngde, B.A. (1986). Aetiology of diarrhea in young calves. *Vet Rec.* 119: 31 - 34.
2. Holland, R.E., (1990). Some infectious causes of diarrhea in young farm animals. *Clin. Microb. Rev.* 3: 345-375.
3. Altschul, S., Madden, T., Schaffer, A., Zhang, J, Zhang, Z, Miller, W, and Lipman D. (1997). Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res.* 25(17):3389-402.