

**Título:** ANALISIS ULTRAESTRUCTURAL Y DETERMINACION DE LAS PROTEINAS ESTRUCTURALES DEL PARAMIXOVIRUS LPM-V DEL SINDROME DEL OJO AZUL

**Autores:** Pablo Hernández-Jáuregui; Anita Sundquist; Mikael Berg; Tommy Linne Jorge Moreno López y Eduardo Gómez Conde.

**Institución:** Laboratorio de Patología Experimental, Unidad de Investigación Hospital de Especialidades. Centro Médico Regional Puebla, IMSS. 2 Norte No. 2004 C.P. 72000

**Area:** Sanidad Animal

#### INTRODUCCION

El conocimiento de un nuevo padecimiento infectocontagioso en los cerdos en La Piedad Michoacán data de mayo de 1980 cuando Stephano y col (1,2) por un lado y Moreno López y col por otro aislan, identifican y caracterizan un nuevo virus para los cerdos del grupo de los paramixovirus. En las descripciones, se encuentra que el virus aislado, tiene propiedades comunes a otros paramixovirus, sin embargo no se han estudiado las relaciones antigénicas entre estos paramixovirus, por lo que con el propósito de identificar con mayor exactitud el patrón antigénico del paramixovirus porcino, se analizaron y compararon las proteínas estructurales con otros paramixovirus por métodos de electroforesis en gel de poliacrilamida. Se determinaron 6 proteínas por inmunoprecipitación con metionina marcada con S35. Por medio del marcado selectivo con glucosamina H3 se demostraron dos bandas entre 60-65 kD en células infectadas con el paramixovirus y que corresponden a las proteínas neuroaminidasa y hemoaglutinina y a la proteína de fusión. El análisis de las nucleocápsides obtenidas de virus purificado o de células en cultivo permanentemente infectadas, reveló una banda grande de 68 kD y que corresponde a la nucleoproteína. Las otras proteínas identificadas corresponden a la Larga con 180 kD y a la proteína de la matriz con 40 kD. Al comparar el patrón de migración de estas proteínas con las de los virus de; la enfermedad del Newcastle, el del parainfluenza -3 bovino y el virus Sendai, encontramos diferencias en el patrón de migración y por ende en los pesos moleculares.

TABLA I Comparación de las Proteínas estructurales del LPM-V con t otros Paramixovirus.

PROTEINA	V I R U S				
	LPM-V	PI-3V	Sendai	Newcastle	Paperas
Larga	200	200	200	200	200
Hemoaglutinina	66	68	71	72	79
Neuroaminidasa					
NucleoProteína	68	65	58	53	72
Fusión	59	54	49	53	61
Proteína P	52	79	79	53	45
Proteína M	40	39	38	37	40

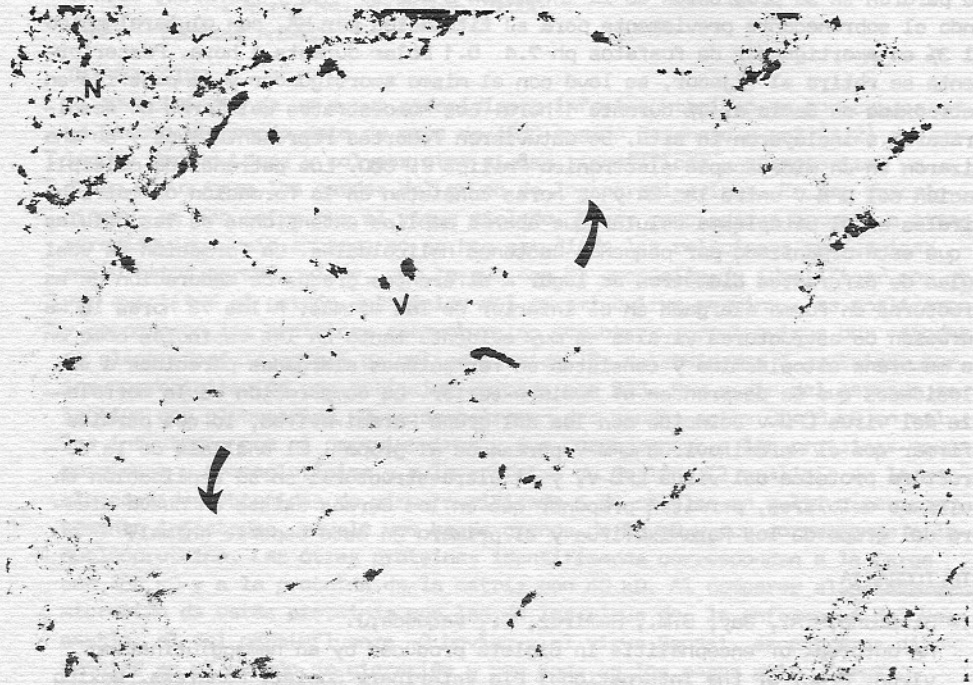
El recuadro indica la inversión de estas proteínas.

Por lo antes mencionado, consideramos que el Paramixovirus porcino cuenta con los estudios correspondientes para incorporarlo como un nuevo miembro del género Paramixovirus.

Además de los métodos de purificación de proteínas virales como evidencia de identificación, la microscopía electrónica constituye un método de gran valor para la identificación de un virus. Para evaluar el mecanismo de multiplicación del LPM-V en cultivos celulares, se infectaron células PK-15 con el virus original caracterizado por Moreno y col (3) incubando a 37°C. Los cultivos se pararon en su progresión de la infección a las 24 - 48 y 72 horas, obteniendo el sobrenadante previamente para su titulación por HA, con glutaraldehído al 3% en amortiguador de fosfatos pH 7.4 0.1 Molar durante 1 hora. Posteriormente se retiró el fijador, se lavó con el mismo amortiguador y se postfijó en tetróxido de Osmio al 1% durante 1 hora. Los monoestratos celulares se deshidrataron e incluyeron in situ. Se obtuvieron recortes representativos y se analizaron en un microscopio electrónico Philips EM 300. Los patrones de multiplicación del LPM-V entre las 24 y 48 horas consisten en la formación de matrices virales en el citoplasma celular que abarca amplias extensiones de las células y que está organizado por pequeños bastones helicoidales. La formación de vesículas de diferentes diámetros da lugar a diferentes grados de maduración de estas estructuras en forma alargada en el interior de las mismas. A las 72 horas la maduración de estructuras virales es muy evidente tanto en las vesículas como en la membrana citoplásmica y consisten en formaciones alargadas parecidas a vellosidades que se desprenden al medio exterior. La comparación de la morfología del virus LPM-V coincide con los del grupo Paramixovirus, lo que permite afirmar que el Paramixovirus LPM-V pertenece al grupo. El análisis de la estructura proteica del virus LPM-V, y el ultraestructural en su replicación en cultivos celulares, permiten proponer que en los cerdos existe un nuevo miembro del grupo de los Paramixovirus y el primero en esta especie animal.

#### BIBLIOGRAFIA

- 1.- Stephano, H.A., Gay, G.M., Ramirez, C., Maqueda, J.  
An outbreak of encephalitis in piglets produced by an hemagglutinating virus. Proc. of the International Pig Veterinary Society Congress. Mexico p. 153. 1981.
- 2.- Stephano, H.A., Gay, G.M., Ramirez, T.C.: Encephalomyelitis, reproductive failure and corneal opacity (blue eyes) in pigs, associated with a paramyxovirus infection. Veterinary Record. 122, 6-10, 1988.
- 3.- Moreno-López J., Correa-Girón, P., Martínez, A. and Eriksson, A. : Characterization of a paramyxovirus isolated from the brain of a piglet in Mexico. Arch. Virol. 91. 221-231, 1986.



Microscopia Electrónica del citoplasma de una célula PK-15 después de 72 horas de infección con el Paramixovirus LPM-V. Note el núcleo (N) y la vesícula intracitoplásmica (V) en donde emergen numerosas proyecciones filiformes del virus ( flechas ) X 18.400