

ESTUDIO EXPERIMENTAL EN CERDOS CON LAS "CEPAS" VACUNAL Y DE REFERENCIA DE FIEBRE PORCINA CLASICA (FPC):II.- Patrón electroforético de proteínas.

Coba A.^{1,2*}, Torres A.O.*^{1A}, Trujillo C.D.¹, Aguilera C.E.¹, Correa G.P.^{1,2}, Ciprián C.A.¹, Mendoza E.S.¹ 1.-Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. 2.-CENID-MV, INIFAP, SAGAR. Proyecto CONACYT 1082P-B Becario CONACYT No. 93890^A, 93885^C Cátedra Afecciones Bacterianas y Virales del Cerdo y Enfermedades Respiratorias del Cerdo

INTRODUCCION.

El virus de la Fiebre Porcina Clásica (VFPC) que pertenece a la Familia Flaviviridae, Género Pestivirus, esta estrechamente relacionado al virus de la Diarrea Viral Bovina (VBVD) y con el de la Enfermedad de la Frontera (BD). Dentro de las diferentes "cepas" del VFPC que se conocen, las "cepas" de campo varían grandemente en virulencia y muestran un amplio rango de patogenicidad, desde muy virulentas hasta casi avirulentas; en el caso de "cepas" de alta virulencia, producen enfermedad aguda y mortalidad en ocasiones hasta en el 100 % de los susceptibles; "cepas" de moderada virulencia, generalmente producen la enfermedad subaguda o crónica; se tienen también las "cepas" atenuadas, que son las usadas como vacunas, las cuales son avirulentas. Se ha visto también que factores del hospedador parecen influenciar en el resultado de las infecciones con "cepas" del VFPC, y ha sido reportado que la virulencia del VFPC, puede ser una propiedad inestable, ya que "cepas" del VFPC parecen incrementar su virulencia mediante pasajes seriados en cerdos. Con el VFPC se ha encontrado una marcada variación antigénica entre las "cepas", basándose en la utilización de Anticuerpos Monoclonales (AcM), de modo que se pueden distinguir varios grupos antigénicos. Aún dentro de algunas "cepas" de FPC, la heterogeneidad antigénica esta presente, y no se encuentra una relación entre grupos antigénicos y virulencia. Con algunos de los AcM producidos contra el VFPC es posible diferenciar los aislados de campo de FPC y de BVD.

OBJETIVO.

Comparar el patrón proteico de las "cepas" de referencia ALD y vacunal PAV-250 del VFPC, mediante el estudio de electroforesis en geles de poliacrilamida.

MATERIALES Y METODOS.

Se usaron dos virus de FPC, el virus vacunal PAV-250 y el virus patógeno ALD; ambos virus fueron obtenidos a partir de cosechas de cultivos celulares infectados con dichos virus. Para el virus vacunal PAV-250 se usó la línea celular PK-15 de riñón de cerdo; y el virus patógeno fue reproducido en cultivo primario de médula ósea de cerdo. Además de los virus de trabajo y para comparar, se obtuvieron: medio de cultivo solo (MEM-GIBCO), células PK-15 no inoculadas, lisadas y sonicadas, suero fetal bovino (GIBCO). Las células infectadas de ambos virus (PAV-250 y ALD), fueron congeladas y descongeladas, centrifugadas y almacenadas a -70 °C, para su posterior uso. Con todas las muestras así obtenidas, se procedió a realizar la prueba de electroforesis en geles de poliacrilamida al 12.5 % (SDS-PAGE) de acuerdo a la técnica de Laemmli, (1970), utilizando un marcador de peso molecular (PM) preteñido. Inmediatamente después de la electroforesis, los geles fueron fijados en metanol y las proteínas en el gel fueron detectadas por medio de la tinción con Nitrato de Plata, en base a Hitchcock y Brown (1983) y Tsai y Frash (1982). Para poder llevar a cabo la electroforesis, a todas las muestras trabajadas se les determinó la concentración de proteínas totales en base a el método de Bradford (1978); ajustando cada muestra a 1 µg/µl de proteína. Con los geles así obtenidos, se procedió a determinar los Rf (movilidad relativa), de las bandas observadas, para poder correlacionarlas con los PM's.

RESULTADOS.

En base a la prueba de electroforesis se detectaron las siguientes bandas de proteínas, para cada una de las siguientes muestras: medio de cultivo, bandas de proteína con PM de 221 a 100 Kd; SFB, bandas de 220 a 4 Kd; virus patógeno ALD de 5 a 150 Kd; células PK-15, bandas de 230 a 12 Kd y el virus vacunal PAV-250, con bandas de 145 a 18 Kd. Las bandas de proteína descritas anteriormente se mencionan en el siguiente cuadro.

RESULTADOS DE LAS ELECTROFORESIS TEÑIDAS CON NITRATO DE PLATA

MEDIO	SUERO	V-ALD	CEL. PK15	PAV-250
221	220	158	230	145
195	158	149	194-179	113
158	128-100	111	158	100
128-100	85	99	139	88
	78	69	118	75
	66	61	108	68
	61	51	92	60
	17-4	46	78	51
		38	63	34
		32	54	33
		24	49	18
		19	43	
		9	38	
		8	35	
		6	28	
			24	
			18	
			16	
			12	

CONCLUSIONES.

De acuerdo a la técnica de electroforesis utilizada, se encontraron diferentes número de bandas de proteína entre el virus vacunal PAV-250 y el virus patógeno ALD de FPC. Los datos mostrados serán utilizados para pruebas de inmunotransferencia para experimentos posteriores.