

RFLP, COMO HERRAMIENTA EPIDEMIOLÓGICA PARA DIFERENCIAR AISLAMIENTOS DEL RUBULAVIRUS PORCINO .

Arreola LJ^{1,2}, Martínez-Lara A¹, Loza-Rubio E¹, Ramírez MH², Macías M³, Correa-Girón P¹.
¹CENID-MA, INIFAP, ²FMVZ-UNAM., ³CENASA.

Introducción y objetivos

La enfermedad del ojo azul es considerada una de las cinco enfermedades más importantes de los cerdos en México; en 1992 se reportaban pérdidas anuales de alrededor de \$20 millones de dólares americanos. El *Rubulavirus porcino* (RvPo), pertenece a la familia *Paramyxoviridae*. Tiene un genoma de ARN con polaridad negativa, integrado por seis diferentes genes, los cuales codifican para el mismo número de proteínas: la hemaglutinina (HN) localizada en la envoltura, está relacionada con la antigenicidad y unión al receptor; las proteínas de fusión (F1 y F2), también localizadas en la membrana; la proteína de matriz (M) se ubica entre la nucleocápside y la parte interna de las glicoproteínas transmembranales; la proteína de alto peso molecular (L); la fosfoproteína (P), asociada al genoma viral, y la nucleoproteína (NP) estrechamente asociada al ARN. Se ha mencionado que los paramyxovirus, al igual que otros virus ARN, presentan altas tasas de mutaciones; en promedio una por cada 10,000 bases durante cada ciclo de replicación (1). En infecciones persistentes causadas por el virus del sarampión, el gene M ha sido encontrado altamente mutado (2). Por otra parte, se ha demostrado que el RvPo causa infecciones persistentes, lo cual se deba probablemente a mutaciones en este gene. Objetivo.- Establecer la técnica del Polimorfismo del Largo de los Fragmentos de Restricción (RFLP) para determinar si existen mutaciones en el gen M, que puedan ser detectadas mediante esta prueba, como un indicio de variaciones moleculares.

Material y métodos.

Se trabajaron nueve aislamientos procedentes de diferentes brotes, los cuales se replicaron intracerebralmente en ratones (CD-21) y en células (PK-15). El ARN de las diferentes muestras se extrajo con Trizol®. El ADN complementario se sintetizó con el iniciador sentido. La PCR se llevó a cabo usando las condiciones y programa previamente establecidos (3); con cada producto de amplificación se visualizó una banda de 382 pb. Para establecer la RFLP se utilizaron tres enzimas de restricción: la BgIII, la SspI y la ApaI.

Resultados y discusión

Al utilizar las enzimas BgIII, y la SspI se presentó el mismo patrón de restricción para todos los aislamientos; sin embargo al emplear la endonucleasa ApaI se detectaron dos diferentes patrones. Lo que indica que existen variaciones moleculares dentro del fragmento

amplificado. Se sugiere realizar la secuenciación de los aislados para identificar a que nivel se encuentra la mutación detectada.

Referencias

- (1) Domingo E, *et al.* 1998. *Emerging Infect. Dis.* 4(4):521-527.
- (2) Cattaneo R and Billeter MA, 1992. *Curr Top. Microbiol. Immunol.* 176:63-74.
- (3) Loza-Rubio E, Arreola L J, Martínez LA, Solís HM, Coba AMA, Correa GP. *Mem. XXXIX Reunión Nal. de Invest. Pec. en México 2003*, p 125.

* Trabajo financiado parcialmente por CONACyT (Proyecto No. 34771-B).