



GENOTIPIFICACIÓN DE DIFERENTES AISLAMIENTOS DEL RUBULAVIRUS PORCINO

Quezada M. F., Castro P. F., Cortes F. R., Echeveste G. R., Lozano D. B., Sarfati M. D., Soto P. E., Lara P. J. H.*
Laboratorio Avi-Mex, S. A. de C. V., lara@avimex.com.mx

Introducción

El Síndrome de Ojo Azul (SOA), fue reportado a principios de la década de los 80s, en explotaciones porcinas vecinas a La Piedad, Michoacán; México, caracterizado por afectar a cerdos de diversas edades, generando signos nerviosos y alta mortalidad en lechones, así como opacidad corneal y trastornos reproductivos en animales adultos (Sthepano y cols. 1981). El primer aislamiento fue caracterizado por Moreno *et al* (1986) y se denominó LPMV, este es considerado el prototipo del género *Rubulavirus* (Santos *et al* 2004). El objetivo de este trabajo fue conocer la relación de la secuencia genética de 13 aislamientos logrados en nuestro laboratorio en conjunto con 7 secuencias obtenidas del Gen Bank contra la secuencia original LPMV.

Materiales y Métodos

Muestras: se trabajaron 13 aislamientos virales realizados entre el 2000 – 2007, provenientes de 4 estados de la República. La secuencia de 7 virus fue obtenida del Gen Bank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) con diferentes números de acceso, (Cuadro 1)

Propagación: Se infectaron células PK-15 con un período de incubación de 5 días a 37° C, para la replicación de los virus.

Identificación por RT-PCR: se realizó la extracción del material genético (ARN) el cual sirvió para obtener el cADN por el método de transcriptasa reversa. A partir del cADN se amplificó el fragmento deseado (HN) por PCR y se visualizó en gel de agarosa utilizando el protocolo desarrollado por Cortés y col. (datos no publicados).

Secuenciación: el fragmento amplificado fue purificado y secuenciado mediante la técnica descrita por Cortés y col. (datos no publicados). Los resultados obtenidos fueron comparados utilizando el programa Vector NTI Advance™ 10 (Invitrogen Corp. 2007) para el alineamiento y generación del dendograma.

Resultados

La presencia del virus fue confirmada por inhibición de la hemoaglutinación y por RT-PCR.

Cuadro 1. Muestras trabajadas

Muestra	IdGen Bank	Muestra	IdGen Bank
AVX 1	Aisl Propio	AVX 11	Aisl Propio
AVX 2	Aisl Propio	AVX 12	Aisl Propio
AVX 3	Aisl Propio	AVX 13	Aisl Propio
AVX 4	Aisl Propio	LPHN 1	EF413172
AVX 5	Aisl Propio	LPHN 2	EF413173
AVX 6	Aisl Propio	LPHN 3	EF413174
AVX 7	Aisl Propio	LPHN 4	EF413175
AVX 8	Aisl Propio	LPHN 5	EF413176
AVX 9	Aisl Propio	LPHN 6	EF413177
AVX 10	Aisl Propio	LPHN 7	EF413178

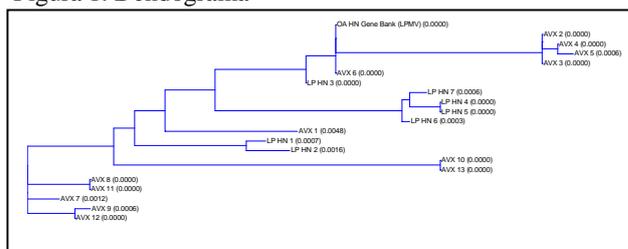
En relación a la secuenciación se encontró una homología en relación a LPMV de los aislamientos propios y otras secuencias publicadas del 97.9% al 100%. (Cuadro 2)

Cuadro 2. Porcentajes de homología de aislamientos y secuencias obtenidas contra LPMV (Gen Bank).

Identificación	Homología	Identificación	Homología
AVX 1	99.7 %	AVX 11	99.0 %
AVX 2	99.5 %	AVX 12	99.0 %
AVX 3	99.4 %	AVX 13	98.0 %
AVX 4	98.7 %	LPHN 1	99.0 %
AVX 5	97.9 %	LPHN 2	98.0 %
AVX 6	100 %	LPHN 3	100 %
AVX 7	99.0 %	LPHN 4	99.0 %
AVX 8	99.0 %	LPHN 5	99.0 %
AVX 9	99.0 %	LPHN 6	99.0 %
AVX 10	98.0 %	LPHN 7	99.0 %

Igualmente se pudo observar la formación de 6 grupos (clusters) entre los aislamientos (Figura 1). Es importante mencionar que las diferencias genéticas encontradas entre los aislamientos contra la secuencia de LPMV superan el 2% lo cual es mayor a lo reportado por Berg *et al* (1997), además se encontraron diferencias de hasta el 3% al comparar todas las secuencias entre ellas, sin que esto se manifieste como cambios en la antigenicidad *in vivo* (Lara y cols. datos no publicados), y que es similar cuando se le compara con otros virus de la familia Paramyxoviridae como el de la Enfermedad de Newcastle (ANECA, 2000).

Figura 1. Dendograma



Bibliografía

ANECA (2000) Enfermedades Emergentes: Enfermedad de Newcastle.
Berg M. *et al*. Virus Genes 14:55-61 (1997).
Stephano H. A. y cols. XVII AMVEC. 46-47 (1981)
Moreno J. L. *et al*. Arch. Virol; 91: 221-231(1986)
Burleson G. F. Virology: A Laboratory Manual. Academic Press. New York. 86-92
Santos-López G. *et al*. J. Arch. Med. Vet. v.36 n. 2 (2004).