

Diagnóstico clínico, molecular y serológico del virus de la leucemia en ratas Wistar.

Fontes F¹, Rocha S.¹, Santos M¹ y Breijo M¹

1-Unidad de Reactivos y Biomodelos de Experimentación, Facultad de Medicina-UdelaR Montevideo-Uruguay.

INTRODUCCIÓN

El virus de la Leucemia de Ratas (RaLV) es un retrovirus endógeno de tipo C, subfamilia Oncovirinae, aislado inicialmente de células de embriones de ratas Sprague-Dawley cultivadas *in vitro*. No existen hasta el momento reportes de enfermedad clínicas en ratas. En el área libre de patógenos del bioterio, observamos ratas Wistar jóvenes con cuadros neurológicos (ataxia, convulsiones), infertilidad, linfomas (Figura 1) y leucemias. Se pudo detectar mediante hemograma que en todos los casos los animales presentaban alteraciones hematológicas compatibles con enfermedades leucemizantes diagnosticadas en otras especies.

OBJETIVO

- Determinar la presencia de retrovirus mediante PCR convencional y de anticuerpos anti RaLV mediante ELISA, en muestras de animales enfermos.

MATERIALES Y MÉTODOS

- Se diseñaron primers a partir de la secuencia de cDNA del RaLV, abarcando regiones de los 3 genes presentes en el virus (tabla1).

Specie	Sequences	Target gene	Product size (bp)	GenBank access number
Rat Leukemia virus	5'TACCCTGTACCTACAGCCCC3'	gag	253pb (1145-1397)	M77194.1
	3'TGAGAGCCACCGGATCCTTA5'			
	5'CAGAGGACCCAAATTCGCC3'	gag	73pb (1092-1164)	
	3'GGGGCTGTAGGTACAGGTA5'			
	5'GGAGCATACTGAGCGGACTC3'	env	169pb (6017-6185)	
	3'CTCTTGGTCCCCACCATC5'			
	5'GGCCACTTCTGAGACAGCAT3'	pol	204pb (3267-3470)	
	3'CCATTCTTGGGGCTGGGAT5'			

Tabla 1: primers diseñados para la detección del RaLV. Genes GAG,POL y ENV

- A partir de muestras de timo y útero de animales afectados, se extrajo ARN y posteriormente se sintetizó cDNA. Se ajustaron condiciones y se realizó PCR. Los fragmentos amplificados se visualizaron en un gel de agarosa 2% (Figura2).
- Se diseñó un ELISA a partir de la síntesis de la proteína de envoltura del virus y se determinó la presencia de anticuerpos anti RaLV.



Figura 1: linfoma de timo.

RESULTADOS

- Confirmamos la presencia del RaLV (Figura 2).
- Los animales con sintomatología clínica desarrollaron anticuerpos específicos contra el virus, no detectándose en animales sanos (Figura 3).

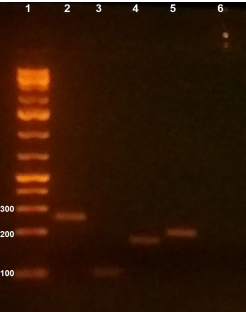


Figura 2: Identificación del virus de RaLV a partir de cDNA. Carril 1 : Marcador de peso molecular; carril 2 gen GAG 253pb; carril 3 gen GAG 73pb; carril 4: gen ENV 169pb; carril 5: gen POL 204pb; carril 6: control negativo

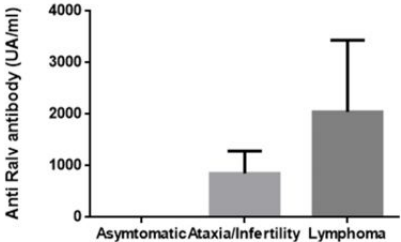


Figura 3: Determinación de anticuerpos contra RALV por ELISA. Los animales eran 484 agrupados según la gravedad de los signos clínicos incluyendo asintomáticos 485 (n=5), ataxia/infertilidad (n=6) y linfoma (n=4).

CONCLUSIÓN

- Los resultados sugieren por primera vez una relación entre la epidemiología, los signos clínicos y el diagnóstico de RALV. Factores genéticos o ambientales pudieron desencadenar un incremento de la carga viral y el desarrollo de la enfermedad.