

CULTIVO DEL VIRUS DE COLERA PORCINO
M.V.Z. JULIO MUÑOZ M.

LUCTA MEXICANA, S.A.
AV. DR GUSTAVO BAZ PTE. 53 H SAN LUIS TLATILCO, NAUCALPAN, MEX.
C.P. 53630 MEXICO.

Considerando que cada tipo de cultivo celular animal tiene su aplicación en virología, la elección de las especies y tejidos, así como el cultivo (primario, cepas celulares o líneas celulares) dependen del virus y de los objetivos experimentales. Resulta interesante observar que en Medicina Humana no se emplean líneas celulares permanentes para producción de vacunas víricas, mientras en Medicina Veterinaria sí. El argumento es el temor que se tiene de que los virus propagados en dichos cultivos puedan adquirir determinantes genéticos de malignidad, dado que estas líneas celulares se asemejan groseramente a las células malignas en sus patrones de cultivo y en su aneuploidía. En Medicina Humana sólo se utilizan cultivos primarios que, por otra parte, pueden contener una variedad de virus latentes que pueden constituir un peligro (9). La adsorción de los viriones a la membrana celular ocurre a través de estructuras específicas que se localizan externamente a la envoltura viral. Estas estructuras han sido aisladas y corresponden a los receptores que al ser neutralizados por los anticuerpos, originan la no adsorción y no penetración del virus a la célula en los cerdos inmunizados. Sólo células de ciertas especies y de ciertos tejidos muestran receptibilidad en mayor o menor grado. El virus de CP es pantotrópico. También se sabe que las concentraciones óptimas de cationes en el medio de cultivo favorecen la adsorción de los virus a las células. (9). Uno de los primeros intentos para cultivar al virus de CP en células renales de cerdo fue en 1960; las características de replicación, conservación de la patogenicidad y antigenicidad fueron determinantes para la ulterior popularidad de este método (10). Se ha observado que la composición del medio de cultivo, el tampón y el tipo de células, determinan el desarrollo de el efecto citopático del virus de CP sobre el cultivo celular; el mecanismo que ejerce este fenómeno es desconocido, pero se conjetura que es el sistema enzimático celular el que se ve comprometido; en ocasiones, el suero utilizado para el medio de cultivo puede contener anticuerpos que inhibirán la acción del virus, impidiendo el efecto citopático. (7) Menos del 1% de las células (línea PK-15) contienen antígeno viral a las cuatro horas postinoculación, y a las 12 horas el 99% de las células lo contienen. El antígeno únicamente está en el citoplasma de las células infectadas lo que sugiere que la replicación del virus de CP es enteramente extranuclear (18). En líneas celulares de linfocitos y monocitos, el virus de CP puede replicarse satisfactoriamente; de ambas, los monocitos mostraron células gigantes y células pequeñas polinucleadas. El virus propagado en estos cultivos pierde capacidad patógena para el cerdo (13). En un estudio sobre la replicación del virus de CP no se encontró diferencia en los títulos alcanzados en cultivos de macrófagos provenientes de cerdos inmunes y no inmunes; sin embargo, cuando se utilizaban cultivos en los que predominaban los linfocitos de cerdos no inmunes, el título obtenido era 150 veces mayor que con linfocitos de cerdos inmunes. Por estudios de anticuerpos fluorescentes (FA) se localizaron globulinas en las células linfoides de cerdos en recuperación, y no se detectó fluorescencia específica para el virus; se concluye que en los cerdos en recuperación

se forma una población distinta de linfocitos inmunes en la cual no se replica el virus de CP (14). La técnica de FA para demostrar antígeno de CP en cultivos celulares junto con la utilización de células renales de cerdo para estudios in vitro del virus de CP surge después de que se diseñó dicho método (12). De ahí el origen de el aprovechamiento de este descubrimiento para utilizarse en forma práctica para diagnóstico (29). Para la investigación del virus se han utilizado diferentes tipos de células, mientras que para el diagnóstico existe la tendencia a usar la línea PK-15 (1). Se menciona que si la línea PK-15 (ATCC) se mantiene infectada en forma continua, ésta al cabo de cierto número de pases, muestra alteraciones de origen genético (21), pero existen controversias al respecto, pues en otros estudios se asegura que dicha infección persistente no afecta a las células PK-15 (NADL) (20), aún cuando el virus pueda transmitirse de células madres a células hijas durante la mitosis. Se ha estimado que las células PK-15 normales tienen un ciclo de reproducción de 15.2 horas; la síntesis de DNA se estima en un período de 6.9 horas; la fase de postsíntesis de DNA y mitosis en 3.8 horas, y la fase postmitótica en 4.5 horas. Estas células, en condiciones de infección aguda o permanente con virus de CP extienden el período de síntesis de DNA en 0.9 y 0.7 horas respectivamente (25). Se ha visto que el virus de CP puede replicarse con más éxito si las células PK-15 son previamente tratadas con virus Sendai (virus Parainfluenza-1) inactivado con betapropiolactona. Dichas células desarrollan numerosos sincitios (26). También se ha determinado que las células infectadas con virus de CP incrementan la absorción de glucosa del medio y elevan la producción de glicógeno y de ácido pirúvico a las 36 horas postinfección (33). Se ha pretendido la multiplicación del virus de CP en especies diferentes al cerdo como son ratón y rata silvestres, conejo cola de algodón, gorriones, mapaches y pichones, pero de los mencionados, ninguno desarrolló respuesta antigénica. Las especies en las que sí hubo respuesta antigénica fueron: pécari, cabra, borrego, venado y becerro. Se demostró que en cohabitación, los becerros inoculados no transmitían el virus a los cerdos susceptibles (15). En las células PK-15 (NADL) se ha observado que la formación de puentes citoplásmicos de una célula a otra es un fenómeno común. El hallazgo de estas formaciones puede o no tener relación con la división celular, pues se ha visto que el citoplasma puede proyectarse de una a otra célula estableciéndose un puente, sin que esto tenga que ver con la mitosis. En base a este fenómeno se especula la posibilidad de transmisión del virus de CP de una célula infectada a otra célula susceptible en los monocultivos de células PK-15 (23). Eventualmente se originan nuevos cultivos y se estudia la susceptibilidad de éstos al virus de CP (19,22,24). También se ha tratado de multiplicar el virus en cultivos de pulmón en fibroblastos aviares después de algunos pases en embrión de pollo (1) y células testiculares de cordero (27). Los resultados confirman que las células PK siguen siendo el cultivo preferido para la replicación del virus de CP. Existen controversias al tratar de determinar la capacidad citopática de algunas cepas virales de CP sobre monocultivos de PK-15 (5). Se ha probado la inmunidad contra CP utilizando