

## II CONGRESO NACIONAL AMVEC

### CULTIVO DE LEUCOCITOS CIRCULANTES PORCINOS COMO ALTERNATIVA AL CULTIVO CELULAR.

MVZ. F. Olguín R.  
UNAM. FMVZ. Depto. de Prod. Anim. Cerdos.  
Desarrollo Técnico.

Aunque los cultivos de células in vitro son primordiales en virología, implican el uso de algunos reactivos que son productos de transformaciones industrializadas de tecnología avanzada que frecuentemente no se producen en nuestro país; Tal es el caso de la tisi-na, el verseno, los medios sintéticos, etc. La crisis económica que padecemos ha hecho que cada vez resulten más difícil y caro preparar y mantener cultivos primarios y de línea para estudios virológicos. El propósito de este trabajo es el dar a conocer la técnica de cultivo de leucocitos circulantes como alternativa económica y práctica al uso de los cultivos celulares en el diagnóstico de enfermedades virales que afectan al cerdo.

La técnica consiste básicamente en obtener macrófagos de la capa blanca que se cultivan in vitro en cristalería semejante a la de cultivo celular común, con suero o plasma del animal donador como medio de cultivo. La temperatura de incubación, para evitar un crecimiento demasiado rápido es de 36°C., aunque puede tener un rango hasta de 39°C. El animal donador debe estar sano y tener una historia serológica negativa para el agente que se pretenda cultivar. La edad del animal no es limitante.

La sangre se obtiene asépticamente por punción de la vena cava anterior en tubos estériles con vacío, que contienen perlas de vidrio; se agitan para formar un coágulo de fibrina y la suspensión resultante se centrifuga para obtener el suero y la capa blanca. El suero se mantiene estéril en frascos o tubos adecuados. La capa blanca, con algunos eritrocitos se diluye 1:10 en solución salina fisiológica estéril, y se hace un conteo en la cámara cuenta glóbulos. Simultáneamente se distribuye parte del suero en tubos Leighton ó en botellas de cultivo tipo "Falco" y se añaden los leucocitos en cantidad suficiente para obtener  $10^5$  células/ml. Generalmente la suspensión de leucocitos contiene eritrocitos que son fagocitados. Un monoestrato se establece casi siempre a las 24 hrs. y está listo para ser inoculado. El medio de mantenimiento es el resto del suero que se guardó previamente.

El establecimiento del monoestrato es bastante sólido siempre que se efectúen cambios constantes de medio. Esto se establece en cada laboratorio al observar las células ya que no hay indicador de PH.

En el departamento de virología e inmunología de la FMVZ. de la UNAM. se han cultivado exitosamente los siguientes virus porcinos: gastroenteritis transmisible, cólera y parvovirus.

Se está por probar si estos cultivos son adecuados para la técnica de formación e inhibición de formación de placas y llevar a cabo con ellos estudios cuantitativos de la replicación viral.