

TITULACION DEL PARAMYXOVIRUS DEL OJO AZUL (POA) EN DIFERENTES LINEAS CELULARES UTILIZANDO 3 PROCEDIMIENTOS TECNICOS

Carreón, N. R.*; Ramírez, M.H.*

* Depto. Producción Animal: Cerdos. Fac. de Med. Vet. y Zoot. UNAM Coyoacán, México, D.F. 05410.

INTRODUCCION: Se tiene el antecedente de que el Paramyxovirus de Ojo Azul (POA) se replica con facilidad en cultivos primarios de células de riñón de cerdo, tiroides de bovino y en líneas celulares tales como: riñón de cerdo (PK 15), testículo de cerdo (ST), mono (vero maru), riñón de hamster (BHK 21) y dermis equina (ED) en el citoplasma, así mismo en células de cornete de bovino (BT) alcanzando títulos altos a partir del segundo día de incubación, los cuales persisten hasta por 7 días; sin embargo las líneas que más se han utilizado para titular el POA son las BT y la PK 15 y se desconoce cual pueda ser el título del POA en otras líneas celulares. Esto puede evaluarse utilizando colorantes como el rojo neutro y el cristal violeta a diferentes tiempos ya que estos han sido empleados favorablemente en el diagnóstico de varias enfermedades de aves entre otras, así como la hemoadsorción en ojo azul. Con estos antecedentes se decidió aplicar estas técnicas para conocer los títulos virales del POA en varias líneas celulares.

MATERIAL Y METODOS: Se utilizaron las siguientes 8 líneas celulares y 1 cultivo primario: PK-15, MDBK, BT, VERO, MDCK, RK, EBL, STV y ST respectivamente. El virus empleado fue un POA aislado de campo pase 4. Se hicieron diluciones decuples de 10-1 a 10-9 del POA, las cuales se agregaron a monocapas de los cultivos celulares antes mencionados en volúmenes de 0.050 ml/pozo utilizando 8 pozos por dilución y 3 placas de 96 pozos fondo plano por cada línea y se colocaron a incubación dentro de una estufa a 37 C. A las 72 horas de incubación de una de las placas se tomó el sobrenadante y se aglutinó con eritrocitos de cuye al 0.75% y bovino al 0.05% en placas con fondo en V y U respectivamente. Se decantó el resto del sobrenadante y se colocaron 0.1 ml de una suspensión de eritrocitos de ave al 2% y se incubó 30 minutos a temperatura ambiente, decantándose después de este tiempo. Con la segunda placa se decantó el medio de mantenimiento del monoestrato y se adicionó 0.05 ml de rojo neutro diluido 1:10000 en solución de Hanks incubándose por 6 horas en la estufa y decantándose posteriormente. A las 168 horas con la tercera placa se tomó 0.05 ml del sobrenadante y se realizó el mismo procedimiento que a las 72 horas y además se llevó a cabo la tinción con cristal violeta. Estos procedimientos se efectuaron con cada línea celular y el cultivo primario.

RESULTADOS: Los títulos que se obtuvieron con cada una de las líneas celulares y el cultivo primario a los 3 y 7 días de incubación, se muestran en el cuadro 1.

CUADRO 1 A

| 72 horas CELULAS | Hemoadsorción | | Rojo Neutro | Hemoadsorción G.R. ave 2% |
|---------------------|---------------|---------|----------------|------------------------------|
| | Cuye | Bovino | | |
| PK-15 | 10-4 | 10-4 | (-) | (-) |
| MDBK | 10-5 | 10-5 | (-) | (-) |
| BT | 10-5.25 | 10-5.25 | (-) | 10-5.25 |
| VERO | 10-5.25 | 10-5.25 | 10-5.25 | 10-5.25 |
| MDCK | 10-2.5 | 10-2.5 | (-) | (-) |
| RK | (-) | (-) | (-) | (-) |
| EBL | 10-4.87 | 10-4.87 | 10-5 | (-) |
| STV | 10-6.25 | 10-4.75 | (-) | 10-3 |
| STP | 10-1.5 | 10-1.5 | (-) | (-) |

CUADRO 1 B

| 168 horas CELULAS | Hemoadsorción | | Cristal Violeta |
|----------------------|---------------|---------|--------------------|
| | Cuye | Bovino | |
| PK-15 | (-) | (-) | (-) |
| MDBK | 10-2.75 | 10-2.75 | 10-4.75 |
| BT | (-) | (-) | 10-6.25 |
| VERO | 10-5 | 10-5 | 10-6 |
| MDCK | (-) | (-) | (-) |
| RK | 10-1.5 | 10-1.5 | (-) |
| EBL | 10-4.75 | 10-4.75 | 10-4.75 |
| STV | 10-5.37 | 10-5.37 | 10-5 |
| STP | 10-5.25 | 10-5 | 10-5.37 |

DISCUSION Y CONCLUSION: En todas las líneas celulares a las 72

CUADRO No 1

horas, no se apreciaba aun el efecto citopático en diluciones superiores a 10, sin embargo al realizar la hemoadsorción esta resultaba similar al efecto citopático alcanzando a las 168 horas en las líneas en que si se multiplicó el virus. Las mejores líneas que respondieron a la hemoadsorción, a la tinción con rojo neutro y con cristal violeta fueron las VERO, BT y MDBK. Estos resultados son una pauta que indica que se pueden utilizar varias líneas celulares para la titulación del POA y el comportamiento del POA es completamente diferente en cada una de ellas.

BIBLIOGRAFIA:

- 1.- Carreón, N.R.: Frecuencia de anticuerpos contra el Paramyxovirus de Ojo Azul en cerdos de altiplano y norte de México. Tesis de Licenciatura FMVZ-UNAM México D.F. 1989.
- 2.- Graham, P. H. and etal. Microbiología Médica. México, D.F.

- 1.- Rentería F. J. : Evaluación de la producción de vacuna antirrábica V-311 producida en cultivo celular de paso bajo y cultivo celular en paso alto empleando la línea 13-50 1-7. Tesis licenciatura FMVZ UNAM 1983.
2. Armada R. J; Ramirez M. N; Rentería F. J; Porras A. A.: Uso del suero de ternera irradiado con Co en cultivos celulares primarios de embrión de pollo y embrión de pato. Memoria de Reunión de Investigación Pecuaria en México