

# EFFECTO DE UN INMUESTIMULANTE EN CERDOS VACUNADOS CONTRA EL SÍNDROME RESPIRATORIO Y REPRODUCTIVO PORCINO Y DESAFIADOS CON UN VIRUS DE REFERENCIA I. PREPARACIÓN DE UN STOCK VIRAL.

Vargas, A<sup>1\*</sup>, Mendoza, S<sup>2</sup>; Hernández-Baumgarten E<sup>4</sup>, Romero, A<sup>2</sup>, Correa, P. Y Ciprián, A<sup>2</sup>

<sup>1</sup>.-CEIEPP-Jilotepec. F-MVZ. UNAM. <sup>2</sup>.-FES-Cuautitlán C1. UNAM. <sup>3</sup>-DPA:Cerdos. F-MVZ. UNAM <sup>4</sup>.-INIFAP, CENID-Microbiología. seme@servidor.unam.mx

## Introducción.

En México ya es posible realizar el diagnóstico del síndrome disgenésico y respiratorio porcino (PRRS) por métodos moleculares (4), el aislamiento del virus (3) su caracterización (1). lo cuál ayuda a conocer información acerca de la epidemiología y comportamiento del agente. Para continuar avanzando en el conocimiento del virus, es necesario realizar preparaciones virales que sean inoculadas en cerdos por alguna vía para proceder a realizar ulteriores investigaciones u observaciones (7). Objetivo. Manipulación de la línea celular susceptible para la producción a futuro de preparaciones virales de diferente concentración, de acuerdo a los requerimientos para infección, así como de las células donde el agente se replica con el fin de realizar estudios In Vitro ó In vivo con la finalidad de conocer más acerca del virus del PRRS (VPRRS).

## Material y métodos

Descongelado de vial con células MA-104 (ATCC No.CRL-2378) a 37<sup>0</sup>C en agua estéril. Transferencia de la suspensión celular hacia cajas Falcon con Medio Mínimo Escencial de Eagle (EMEM) adicionado con suero fetal bovino (SFB) al 10% . Incubación por 24 hs y cambio del medio. Incubación por 48 hs y selección de los monoestratos con 80% de confluencia. Inoculación de monoestratos celulares contenidos en cajas Falcon de 25 ó 175 cm<sup>3</sup> con 1 ó 7 ml respectivamente del stock viral (ATCC No.VR-2332). Incubación a 37<sup>0</sup>C con SFB al 3% . Inspección diaria de monoestratos en busca del efecto citopático (ECP). Triple congelación y descongelación del monoestrato infectado. Clarificación de la suspensión a 6000 x g por 30 minutos y a 110 000 x g por 1.15 hs en rotor SW-28 (Beckmann). Resuspensión de pastilla en PBS pH : 7.2. Almacenamiento a – 80<sup>0</sup>C. Para la titulación del stock viral fueron sembrados 35 pozos de una microplaca con 2 x 10<sup>4</sup> células / pozo en EMEM al 10%. Fue incluido un control positivo y otro negativo. Se incubaron a 37<sup>0</sup>C por 24 hs y se inocularon con 50 µl de una suspensión con 10<sup>2.6</sup> dosis infectantes para cultivos celulares 50% (DICC<sub>50</sub>) del stock viral. Para titular los preparados se utilizó el método de Reed and Muench.

## Resultados

La visualización del efecto citopático positivo indicativo de una infección productiva consistió en: aglomeración celular y formación de “racimos” en las primeras 48 hs postinoculación (PI), redondeamiento y desprendimiento de células a las 72 hs PI y formación de espacios en el monoestrato desde el día 3 PI hasta el desprendimiento y flotación del monoestrato completo. Por otro lado, se obtuvieron dos stock virales que al ser titulados por el

Método antes descrito, obtuvieron un título viral de 10<sup>2.6</sup> DICC<sub>50</sub> y otro de 10<sup>2.6</sup> DICC<sub>50</sub>. El primero fue utilizado para la obtención de un stock madre (Token-Freeze) y fue designado como STOCK1VPRRS y el segundo se utilizó para la inoculación de cerdos dentro de una cámara de nebulización y se designó como STOCK2VPRRS.

## Discusión

Existen varios métodos para aumentar la concentración de un stock viral. Puede utilizarse el pasaje en macrófagos porcinos seguido del pasaje en líneas celulares no porcinas (2). También se puede utilizar la replicación viral en un monoestrato susceptible adicionado con medio mínimo esencial (EMEM) alto en glucosa (5). En este trabajo fue utilizada la ultracentrifugación a diferentes velocidades con la finalidad de ir clarificando la suspensión de células infectadas con el VPRRS. Se utilizó el coeficiente de sedimentación del género de los arterivirus (214S - 230S) para calcular el tiempo al cuál debía ser centrifugada la suspensión viral (6).

## Bibliografía.

1. Batista, et al. 2002. En Memorias del XXXVII Congreso Nacional AMVEC 2002. p188-190. 2. Beyer, et al. 2000. J. Vet. Med. 47: 9-25. 3. Lara et al, 2002. En Memorias del XXXVII Congreso Nacional AMVEC 2002. p94-95. 4. Ortega, et al. 2002. En Memorias del XXXVII Congreso Nacional AMVEC 2002. p76. 5. Swenson, et al. 1994. JAVMA. Vol 24, No 12, p1943-1947. 6. van Regenmortel, et al. 2000. Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Academic Press. P 851-854. 7. Weimersheimer, et al. 2002. En Memorias del XXXVII Congreso Nacional AMVEC 2002. p77-78.

**Agradecimientos:** Por su asistencia técnica al Sr. Gabino Sánchez, Ing. Draucin Jiménez, MVZ David Trujillo

**Apoyo: Cátedra** “Afecciones Bacterianas y Virales del Cerdo”  
**Proyecto** PAPIIT IN223203-2