

CARACTERÍSTICAS DEL CRECIMIENTO *IN VITRO* DE UNA CEPA VIRAL DE PRRS PROVENIENTE DE UN BROTE DE CAMPO

*Sandoval, J. A.¹, Márquez, S.² y Soto-Zárate, C.².

Departamentos de Ciencias Pecuarias¹ y Ciencias Biológicas², Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM.
cisz2012@gmail.com

Introducción

El Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino (PRRS) se caracteriza por la presencia de anorexia, aborto e infertilidad de inicio súbito, nacimiento de lechones débiles o muertos y aumento en la mortalidad de cerdos jóvenes, relacionado con problemas respiratorios (3). Los cerdos jóvenes son más susceptibles y más propensos a tener infecciones secundarias asociadas con uno o varios patógenos (5).

El virus del PRRS (PRRSV), es un virus ARN envuelto, de cadena simple y polaridad positiva, con una nucleocápside icosaédrica y su diámetro es de 50-60 nm. En base a sus características biológicas, estructurales y genéticas se agrupa en el género *Arterivirus* (2).

El virus infecta naturalmente a cerdos de todas las edades replicando primariamente en el citoplasma de grupos bien diferenciados de células del sistema mononuclear fagocítico. Los monocitos y macrófagos son las células de mayor afección por parte del virus para desarrollar efecto citopático (4). Los viriones maduros son liberados de la célula infectada a partir de las 9-12 horas postinfección (hpi) (5).

Las células que se distinguen por apoyar su ciclo de replicación incluyen a los macrófagos alveolares pulmonares, macrófagos intravasculares pulmonares y macrófagos de los tejidos linfoides. Los principales efectos citopáticos (ECP) son; redondeo de las células, aglutinación y lisis, asimismo, las células infectadas muestran la membrana citoplasmática erizada, todo este proceso transcurre en 36 a 48 hpi (1).

Objetivo

Describir los efectos citopáticos y el tiempo empleado en el desarrollo del ciclo viral en células Vero, RK-13 y PK-15.

Materiales y Métodos

Para este trabajo se utilizaron muestras de suero provenientes de un brote de campo ocurrido en una granja comercial, ubicada en Mérida, Yucatán. Adicionalmente se realizó el diagnóstico positivo al virus del PRRS por ELISA. Los cultivos celulares utilizados fueron: Vero (Epiteliales de Riñón de mono Verde Africano), RK-13 (Epiteliales de Riñón de Conejo) y PK-15 (Epiteliales de Riñón de Cerdo). Las células fueron crecidas en DMEM suplementado con suero fetal bovino y mantenidas a 37°C y en una atmósfera de CO₂ al 5%. Los sueros fueron el medio de infección primario, de tal forma que se realizaron ensayos de infección en las líneas celulares ya mencionadas. Los ensayos fueron realizados en cajas de cultivo de 60 mm y cada uno de los cultivos fue infectado con 30 µl de suero y mantenidos en

incubación durante 72 horas, después de lo cual se realizó la observación al microscopio invertido y se obtuvieron las evidencias fotográficas. Estos ensayos fueron realizados por duplicado y en todos los casos siempre se manejo un cultivo sin infectar (cultivo control).

Resultados

En las células Vero, a las 17 hpi, las células lucían redondas y aglutinadas, estaban vacuoladas, con apariencia rugosa y con pérdida de la morfología celular. Otras células mostraban proyecciones largas, formando puentes intercelulares, asimismo se encontró lisis celular. En las células RK-13, a las 17 hpi, había células en grupos, con vacuolas en el citoplasma, emisión de filopodios y formación de sincitios, también se encontró lisis celular masiva.

En las células PK-15, a las 20 hpi, se encontraron células de diferente tamaño, con apariencia rugosa, presencia de vacuolas y pérdida de la forma celular. En estas células, la lisis masiva se desarrollo en un tiempo muy corto, después de haber sido percibidos los ECP (21-23 hpi).

En todos los casos, las células del cultivo control mantuvieron su forma y tamaño hasta el final de la observación.

Se mostrarán las imágenes obtenidas y en ellas se señalarán los hallazgos descritos previamente.

Discusión y conclusión

De las líneas celulares empleadas, sólo Vero se había utilizado antes en estudios *in vitro* con este virus y se decidió probar si alguna de las otras líneas (RK-13 y PK-15) resultaba permisiva para el PRRSV, se encontró que ambas líneas permitieron el desarrollo del ciclo viral. Los ECP inducidos por la interacción con el PRRSV resultaron muy similares en los diferentes cultivos utilizados y sólo se encontraron diferencias importantes en el tiempo empleado por el virus para desarrollar su ciclo completo. Al mostrar que las líneas RK-13 y PK-15 también son útiles para realizar estudios *in vitro* con el PRRSV se están brindando nuevas herramientas experimentales.

Agradecimientos

Al apoyo brindado por la cátedra GVC-10 de la FESC.

Referencias bibliográficas

1. Benfield y col. (1992). *J Vet Diagn Invest* 4:127-133.
2. Cavanagh D. (1997). *Arch Virol*; 142: 629-633.
3. Nauwynck y col. (1999). *J Gen Virol*.80: 297-305.
4. Rossow KD. (1998). *Vet Pathol* 35: 1-20.
5. Zimmerman y col. (2006). *Disease swine*. 347-417.