

COMPARACIÓN DE TRES TÉCNICAS DE INACTIVACIÓN DEL VIRUS DE INFLUENZA PORCINA

*Mora DJC¹, Sciutto E², Sánchez BJI¹

¹Departamento de Medicina y Zootecnia Cerdos FMVZ, UNAM, México D.F.

²Laboratorio de Inmunología, IIB, UNAM
juanleaf@yahoo.com.mx

INTRODUCCIÓN

Influenza porcina es uno de los principales patógenos causante de enfermedades respiratorias en los cerdos. Actualmente es un virus de preocupación mundial por su gran distribución, su rápida replicación y su capacidad de mutar. La mayoría de las vacunas que se utiliza actualmente son inactivadas, bivalentes y contienen el virus completo. Es por eso que la inactivación es un punto sumamente importante.

El objetivo del estudio fue determinar el mejor método de inactivación, basándonos en la capacidad hemoaglutinante.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron tres métodos físicos de inactivación del virus de influenza: por temperatura, por rayos UV y por rayos gamma.

Se trabajó con el virus (A/swine/Michoacán 40/DMZC.FMVZ.UNAM/2010) que forma parte del banco de virus del Departamento de Medicina y Zootecnia de Cerdos, FMVZ-UNAM. La inactivación del virus por temperatura se realizó conforme a lo establecido por la OIE, en baño María a 56°C durante una hora. Posteriormente se inocularon 4 embriones de pollo de 11 días, con 200 µl del virus inactivado. Se incubaron a 37°C durante 72 horas. Se utilizó un embrión de pollo como control positivo. Se determinó la replicación del virus o la ausencia de ésta mediante la titulación del líquido alantoideo.

La inactivación por rayos UV se realizó mediante un foco de rayos UV de 300 nm de longitud de onda dispuesto a 30 cm del virus el cual se encontraba sobre refrigerante a 4° C. Se inactivaron 3 ml del virus y se manejaron diferentes tiempos 30, 45, 60, 75 y 90 min. El virus se tituló previamente y se seleccionaron 64 y 128 Unidades Hemaglutinantes (UH). Para cada tiempo y UH se utilizaron 4 embriones y su respectivo control positivo.

La inactivación por rayos gamma se realizó utilizando el irradiador Gammacell 1000 Elite. Primero se hizo una dilución del virus iniciando desde 1024 UH. Se utilizaron 650 Gy y conforme a esto se determinó el tiempo de exposición el cual fue de 4 horas, 1 minuto y 22 segundos. El procedimiento de infección y titulación fue el mismo que el anterior.

RESULTADOS

- Inactivación por temperatura

No hubo replicación del virus en los cuatro embriones inoculados y el control positivo fue adecuado.

- Inactivación por rayos UV

No hubo replicación del virus cuando se inactivó por 60 minutos con un título de 64 UH. En el caso del virus a 128 UH, no se logró la inactivación en ninguno de los tiempos y si logró replicarse en los embriones.

- Inactivación por rayos gamma

El virus no se inactivó con 650 Gy en ninguno de los títulos.

Rayos gamma					
1024 UH		128 UH		32 UH	
Rep	No rep	Rep	No rep	Rep	No rep
3	0	3	0	2	1

Rep: Replicación del virus.

No rep: No hubo replicación del virus.

DISCUSIÓN

La inactivación del virus de influenza por temperatura es muy efectiva, pero la desventaja de este método es la posible alteración de la estructura del virus.

Para que la inactivación por rayos gamma sea efectiva se necesita aumentar la dosis de Gy, dando como resultado un aumento en el tiempo de exposición siendo lo ideal hasta 1 día. Esto tiene la desventaja de que el virus no puede estar tanto tiempo en el equipo, ya que la temperatura del contenedor puede no ser la óptima, además de que el irradiador no puede estar tanto tiempo trabajando.

La inactivación por rayos UV es efectiva dependiendo del título (UH) que tenga el virus. Entre mayor sea este mayor es el tiempo de exposición. No es recomendable exponer el virus por mucho tiempo debido a que el virus puede perder la viabilidad. Y además puede perder la capacidad aglutinante, no precisamente por el método empleado sino por el tiempo de exposición.

CONCLUSIÓN

Se recomienda utilizar luz UV cuando la concentración viral es menor a 64 UH. También el método aprobado por OIE es adecuado para inactivar el virus, sin embargo, es probable que se pierda capacidad inmunogénica por alteraciones protéicas. Este método no está indicado para inactivación de antígenos vacunales.

BIBLIOGRAFÍA

- http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/2.08.08.%20Gripe%20porcina.pdf

- Alsharifi M, The γ -irradiated influenza vaccine and the prospect of producing safe vaccines in general. Imm and Cell Bio; 2009:1-2