

CULTIVO *EX VIVO* DE EXPLANTES TRAQUEALES DE CERDO PARA LA EVALUACIÓN DE LA PATOGENIA DEL *RUBULAVIRUS PORCINO*

Vega-Valencia M^{1*}, Gómez-Núñez L², Lara-Romero R³, Ramírez-Mendoza H¹, Sánchez-Betancourt JI¹, Rivera-Benítez JF²

¹FMVZ-UNAM; ²CENID-Microbiología Animal, INIFAP; ³FESC.
e-mail: misael_0608@hotmail.com

Palabras clave: *Rubulavirus porcino*, patogenicidad, explantes.

Introducción

El *Rubulavirus porcino* (RVP) es un virus ARN envuelto de cadena sencilla en sentido negativo, pertenece a la familia *Paramyxoviridae*¹. La infección con RVP en lechones causa signos neurológicos y respiratorios, mientras que en cerdos en crecimiento y engorda se evidencian signos clínicos respiratorios^{2,3}. El tracto respiratorio superior (TRS) representa una de las primeras líneas de defensa contra los agentes infecciosos. Los explantes de órganos, en donde la arquitectura tridimensional del tejido y el contacto entre células es preservada, representan un modelo de estudio viable en la susceptibilidad de infección a agentes patógenos⁴. El presente estudio tuvo como objetivo desarrollar un modelo de cultivo *ex vivo* con explantes traqueales de cerdo para evaluar la patogenicidad del RVP.

Material y Métodos

Se adaptó un modelo de estudio *ex vivo* con tráqueas de cerdo de seis semanas de edad. Las tráqueas de cerdo fueron colectadas de forma aséptica en medio de cultivo, DMEM y RPMI 1640 suplementado con antibióticos. Se realizaron seis lavados de las tráqueas en un periodo de tres horas por inmersión del órgano en medio fresco pre-calentado DMEM/RPMI. El tejido conectivo circundante del cartilago fue removido y las tráqueas se abrieron longitudinalmente para cortar cada anillo en explantes de 1 cm². Los explantes fueron colocados en placas de doce pozos con 2 ml de DMEM/RPMI por pozo. Se realizó la inoculación de 4,42 Log₁₀ copias de ARN del RVP/5 µL en cada explante y se mantuvieron en una incubadora a 37°C con una atmósfera del 5% de CO₂ durante siete días. La evaluación se realizó en dos porciones de tráquea, anterior y posterior, realizando evaluaciones a las 0, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144 y 168 horas post-infección (HPI). Se realizó la evaluación histológica y cuantificación de copias de ARN viral por qRT-PCR. Para evaluar la viabilidad de los explantes se realizó una prueba de aclaramiento ciliar, considerándose viables si se lograba el aclaramiento en menos de 30 minutos.

Resultados y discusión

Viabilidad de explantes. El aclaramiento ciliar total de los explantes traqueales fue identificado solo hasta los seis días que se mantuvo el cultivo de los explantes, en el día siete no se logró evidenciar un aclaramiento ciliar total, por lo que se consideró viable el cultivo de explantes traqueales durante seis días.

Evaluación histológica. Los explantes no infectados presentaron una estructura histológica sin aparentes alteraciones durante seis días. En los explantes infectados se identificó daño en el epitelio ciliar y presencia de núcleos picnóticos en lámina propia a partir de las 24 HPI. Un aumento progresivo de la cantidad de moco en la superficie apical del epitelio se observó desde las 48 HPI, coincidiendo con estudios similares con otros agentes virales⁴.

Cinética de replicación viral. Se observó una tendencia de replicación viral más eficiente (aumento en el número de copias de ARN viral) en la porción anterior de la tráquea, siendo más evidente a las 24 horas PI (Figura 1).

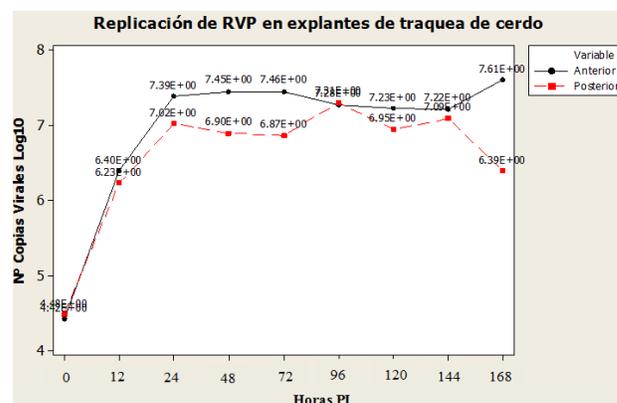


Figura 1. Copias virales expresadas en Log₁₀/ml de RVP en explantes traqueales de cerdo.

Conclusión

El cultivo de explantes traqueales de cerdo es un modelo de estudio viable para evaluar la fase temprana de la patogenicidad del RVP en TRS. El RVP causa daños histológicos en tráquea y se replica de forma más eficiente en la porción anterior a partir de las 24 HPI.

Referencias

1. Moreno-López, J., et al 1986. *Arch. Virol.* 91, 221–231.
2. Rivera-Benitez, J. F. et al. 2013. *Virus Res.* 176, 137–43
3. Allan, G. M. et al. 1996. *J. Vet. Diagnostic Investig.* 8, 405–413.
4. Nunes, S. F. et al. 2010. *Influenza Other Respi. Viruses* 4, 7–15.