

RESUMEN

En este estudio se busca estandarizar la técnica para aislar el virus de estomatitis vesicular (VEV) de muestras de epitelios de vacas infectadas, proporcionadas por la Agencia de Regulación y Control Fito y Zoosanitaria-Agrocalidad. La estomatitis vesicular (EV) es una enfermedad que afecta principalmente al ganado bovino y al ser clínicamente indistinguible de la Fiebre Aftosa (FA), surge la necesidad de contar con pruebas confirmatorias. El aislamiento viral es una técnica sensible, en el que se utilizan cultivos celulares, los cuales son inoculados con el virus viable presente en la muestra y una vez que ocurre replicación viral efectiva, se observan cambios morfológicos de las células hospederas o efectos citopáticos (ECP).

Se realizó el crecimiento de línea celular baby hamster kidney (BHK-21) en DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) suplementado y enriquecido, de donde se pudo determinar a través de una curva de crecimiento que la mejor concentración para inocular el virus es 3000 células/ml., después de 72 horas de incubación.

Se procesaron 30 epitelios que fueron definidos como positivos para VEV a través de ELISA-sándwich, con el protocolo de aislamiento viral en cultivo celular de PANAFTOSA, y con los cuales se efectuó la repetibilidad. Con ayuda de un microscopio óptico invertido se determinó la presencia de 3 muestras con ECP superior a 80% que fueron recogidas, congeladas y sometidas a análisis molecular para identificación viral. El análisis molecular reveló la presencia de VEV en las muestras provenientes de aislamiento viral.

PALABRAS CLAVE:

- AISLAMIENTO VIRAL**
- EFEECTO CITOPÁTICO**
- ESTOMATITIS VESICULAR**

ABSTRACT

This study aims to standardize the technique to isolate vesicular stomatitis virus (VSV) from samples of infected cow epithelia, provided by the Agency for the Regulation and Control of Phytosanitary and Animal Health-Agrocalidad. Vesicular stomatitis (VE) is a disease that mainly affects cattle and, being clinically indistinguishable from Foot-and-Mouth Disease (FMD), creating the need for confirmatory tests. Viral isolation is a sensitive technique, in which cell cultures are used to inoculate the viable virus present in the sample, and once effective viral replication occurs, morphological changes of the host cells or cytopathic effects (CPE) are observed.

The baby hamster kidney cell line (BHK-21) was grown in supplemented and enriched DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium), from which it was possible to determine through a growth curve that the best concentration to inoculate the virus is 3000 cells / ml., after 72 hours of incubation.

30 epithelia defined as positive for VSV through ELISA-sandwich were processed with the protocol of viral isolation in cell culture of PANAFTOSA, these samples were used to perform the repeatability assay. Using an inverted optical microscope, 3 samples with greater CPE than 80% were determined, collected, frozen and subjected to molecular analysis for viral identification. Molecular analysis revealed VSV presence.

KEY WORDS:

- VIRAL ISOLATION**
- CYTOPATHIC EFFECT**
- VESICULAR STOMATITIS**