

Resumen

La Peste Porcina clásica (PPC) es una de las enfermedades más infecciosas y contagiosas que afectan a los cerdos domésticos y silvestres. Existen diferentes métodos serológicos de diagnóstico, el ensayo de neutralización ligada a peroxidasa (NPLA) es un método considerado como el Gold Standard para esta enfermedad. El NPLA permite evaluar la capacidad de los anticuerpos presentes en un suero para neutralizar la infección del *virus in vitro*, esta técnica mediante anticuerpos monoclonales permite identificar entre animales enfermos y vacunados. Para la estandarización del ensayo primero se determinó el crecimiento de la línea celular de riñón de cerdo (PK-15) y su viabilidad celular con distintas densidades celulares y tiempos de incubación, estableciendo una densidad inicial de 12×10^3 células/pocillo para todos los ensayos y realizando una lectura a las de 72 h post-infección del virus de PPC. Mediante inmunoperoxidasa directa se evaluó la replicación viral en la línea celular y la cuantificación de los títulos virales infectivos ($\text{DICT}_{50}/\text{mL}$) replicando el virus semilla (cepa Alfort 187) en la línea celular PK-15 logrando después de 4 subcultivos sucesivos un título infectivo de $10^{8.26} \text{ DICT}_{50}/\text{mL}$. Los títulos de anticuerpos neutralizantes mediante NPLA de las muestras de suero fueron altos entre 1.8 y 7.85 (\log_{10}). En sensibilidad analítica los sueros con títulos de 7.8 (\log_{10}) son capaces de neutralizar el virus hasta una dilución 1:1280. El ensayo de NPLA demostró una alta especificidad al no neutralizar sueros exclusivos ni inclusivos del género *Pestivirus*.

Palabras claves:

- **NPLA**
- **PESPE PORCINA CLÁSICA**
- **LÍNEA CELULAR PK-15**
- **DIAGNÓSTICO**

Abstract

Classical swine fever (CSF) is one of the most infectious and contagious diseases that affect domestic and wild pigs. There are different serological methods of diagnosis, the peroxidase-linked neutralization assay (NPLA) is a method considered the Gold Standard for this disease. The NPLA allows the evaluation of the capacity of the antibodies present in a serum to neutralize the virus infection in vitro, this technique by means of monoclonal antibodies allows to identify between sick and vaccinated animals. For the standardization of the assay, the growth of the pig kidney cell line (PK-15) and its cell viability were first determined with different cell densities and incubation times, establishing an initial density of 12×10^3 cells/well for all the assays and performing a reading at 72 h post-infection of the CSF virus. Using direct immunoperoxidase, viral replication in the cell line and the quantification of infective viral titers ($TCID_{50}/mL$) were evaluated by replicating the seed virus (strain Alfort 187) in the PK-15 cell line, achieving an infective titer after 4 successive subcultures of $10^{8.26} TCID_{50}/mL$. The neutralizing antibody titers by NPLA of the serum samples were high between 1.8 and 7.85 (\log_{10}). In analytical sensitivity, sera with titers of 7.8 (\log_{10}) are capable of neutralizing the virus up to a 1:1280 dilution. The NPLA assay demonstrated high specificity by not neutralizing exclusive or inclusive sera of the genus *Pestivirus*.

Keywords:

- **NPLA**
- **CLASSICAL SWINE FEVER**
- **PK-15 CELL LINE**
- **DIAGNOSTIC**