

UNIVERSIDAD DE CONCEPCION
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
Departamento de Patología y Medicina Preventiva

**CARACTERISTICAS ULTRAESTRUCTURALES DE CELULAS DE LA LINEA
PK-15 INOCULADA CON EL VIRUS DE LA PESTE PORCINA CLASICA.**



**MEMORIA DE TITULO
PRESENTADA A LA FACULTAD
DE MEDICINA VETERINARIA
PARA OPTAR AL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO**

RICHARD ANTHONY RIOS LAZO

CHILLAN – CHILE

2004

CARACTERISTICAS ULTRAESTRUCTURALES DE CELULAS DE LA LINEA PK-15 INOCULADA CON EL VIRUS DE LA PESTE PORCINA CLÁSICA.

ULTRASTRUCTURAL CHARACTERISTICS OF CELLS LINE PK-15 INOCULATED WITH THE CLASSICAL SWINE FEVER VIRUS.

RESUMEN

Con el propósito de conocer, caracterizar y realizar morfometría de las principales modificaciones celulares asociadas a la replicación del virus de la peste porcina clásica (VPPC) se inocularon cultivos celulares de la línea PK-15 con el aislado Quillota. Los cultivos inoculados fueron fijados a las 0, 4, 8, 12, 16, 24, 48 y 72 horas post inoculación (hpi) y se realizó un seguimiento a través de inmunofluorescencia indirecta (IFI) para luego ser evaluados por microscopía electrónica. Se pudo determinar que el VPPC ingresa a la célula por endofagocitosis o por fusión del virión a la membrana plasmática, regulado por receptores de membrana, una vez en el interior de la célula, la replicación se llevaría a cabo enteramente en el citoplasma, tal como se describe para otros pestivirus, ya sea asociado a estructuras vacuolares donde el genoma sería expuesto, o bien, a través de la fusión de su cubierta viral a la membrana vacuolar, liberando su genoma al citoplasma donde iniciaría su replicación en independencia a las estructuras vacuolares, de manera similar a lo que harían los viriones que se integran a la célula por fusión de su cubierta a la membrana celular con integración directa del genoma al citoplasma. Estas estrategias de replicación definirán la forma de liberación, sea esta por exocitosis o por gemación a través del polo apical de la célula o hacia el espacio intercelular. A partir de las 4 hpi y hasta las 72 hpi, se pudo identificar tumefacción celular, hiperplasia de organelos celulares y formación de vacuolas, originadas a partir de endomembranas modificadas o de endofagosomas, desde donde el virus lograría su maduración. No se observó necrosis celular o algún daño inducido directamente por el proceso de replicación por lo que se puede suponer que el aislado estudiado no es citopatogénico.

Palabras claves: Pestivirus, ultraestructura, *in vitro*, PPC.

SUMMARY

In order to understand, to characterize and to make morphometric analysis of the main cellular modifications associated to the replication of the classical swine fever virus (CSFV), PK15 cell cultures were inoculated with the Quillota strain. The inoculated cultures were fixed to 0, 4, 8, 12, 16, 24, 48 and 72 post-inoculation hours (pih) and followed through indirect immunofluorescence (IIF) test and then evaluated by electronic microscopy. It was determined that the CSFV enters the cell by endophagocytosis or fusion of the virion to the plasmatic membrane, regulated by membrane receptors. Once inside the cell, the replication would be entirely carried out in the cytoplasm, as described for other Pestivirus, associated to vacuolar structures where the genome would be exposed, or, through the fusion of its viral envelope to the vacuolar membrane, releasing its genome to the cytoplasm. In the cytoplasm vacuoles would initiate its replication independently the structures, similarly as the virions would do, which are integrated to the cell by fusion of its envelope to the cell membrane with direct genome integration to the cytoplasm. These replication strategies will define the liberation way, by exocytosis or release through the apical pole of the cell or towards the intercellular space. Since the 4 pih, could be identified cell swelling, cell organell hyperplasia and vacuole formation, originated from modified endomembranes or endophagosomes, from where the virus would reach its maturation. Cellular necrosis was not observed, nor any damage directly induced by the replication process, therefore it can be supposed that the Quillota isolated was not cytopathogenic.

Key words: Pestivirus, ultrastructure, *in vitro*