Análisis temporal de la replicación del virus de la Diarrea Viral Bovina en cultivo primario de células epiteliales del oviducto bovino.

Yavorsky, MS(1,2); Norero, NS(3); Verna, AE(1); Pereyra, SB(1); Urrutia Luna, N(2); Ríos, GL(2); González Altamiranda, EA(1).

(1) Laboratorio de Virología Veterinaria, Instituto de Innovación para la Producción Agropecuaria y el Desarrollo Sostenible (IPADS, INTA-CONICET), Ruta 226 km 73.5, CP 7620 Balcarce, Buenos Aires, Argentina; (2) Laboratorio de Producción de Embriones, Instituto de Innovación para la Producción Agropecuaria y el Desarrollo Sostenible (IPADS, INTA-CONICET), Ruta 226 km 73.5, CP 7620 Balcarce, Buenos Aires, Argentina; (3) Laboratorio de Agrobiotecnología Agrícola, Instituto de Innovación para la Producción Agropecuaria y el Desarrollo Sostenible (IPADS, INTA-CONICET), Ruta 226 km 73.5, CP 7620 Balcarce, Buenos Aires, Argentina.
Contacto: yavorsky.marisol@inta.gob.ar

El virus de la diarrea viral bovina (vDVB), del género *Pestivirus* (*Flaviviridae*), es un patógeno de bovinos a nivel mundial. El vDVB tiene tropismo por células del tracto reproductor. Si bien el comportamiento *in vitro* de algunas cepas ha sido estudiado en líneas celulares, aún no se ha evaluado en cultivos primarios. El objetivo de este estudio fue analizar la cinética replicativa in vitro de una cepa de campo en cultivos primarios de células del epitelio oviductal (CEO). Para ello, se utilizaron cultivos primarios de CEO bovino. La cepa de campo utilizada, identificada como 440 (E16.002), pertenece al genotipo 1b y corresponde a un biotipo no citopático. Se recolectaron muestras de sobrenadante y células infectadas a las 24, 48 y 72 horas post-infección (hpi). La cuantificación de partículas virales se llevó a cabo mediante RT-qPCR. Los datos fueron analizados mediante ANOVA de una vía. Se obtuvieron diferencias significativas (p 0.05) en la cantidad de partículas virales a lo largo del tiempo en ambos tipos de muestra siendo mayores en las CEO. En el sobrenadante, la cantidad de partículas aumentó significativamente a las 48 hpi (p 0.05). Mientras que, en las CEO, el incremento fue progresivo, con diferencias significativas entre las 24 y 72 hpi (p 0.05). Los títulos virales observados en el sobrenadante son consistentes con los reportados por otros autores utilizando una cepa de referencia (NADL) en otras líneas celulares (NCL-1), así como en cepas de campo (genotipo 1b) en células MDBK. Sin embargo, numerosos trabajos resaltan los cambios en la cinética replicativa de una misma cepa empleando diferentes tipos celulares. Asimismo, los títulos virales obtenidos en las CEO (intracelular) son concordantes con la cinética observada en cepas del genotipo 1b en células MDBK. El bajo número de partículas virales detectadas en el sobrenadante en todos los puntos de tiempo podría estar relacionado con la capacidad del vDVB para realizar una transmisión directa de célula a célula. Además, se sugiere que el mecanismo de transmisión viral desde el sobrenadante hacia las células podría estar ocurriendo en paralelo, lo que explicaría la disminución en la cantidad de partículas virales observada a las 72

hpi. Este fenómeno podría estar relacionado con la asincronía celular y la presencia de células no infectadas en los cultivos primarios. En conclusión, los resultados obtenidos destacan la importancia de los cultivos primarios como modelos más representativos en comparación con las líneas celulares inmortalizadas, permitiendo estudiar de manera más precisa la cinética replicativa del vDVB. Además, se evidencia cómo dicha cinética varía en función de la cepa y el tipo celular. Estos hallazgos proporcionan una valiosa herramienta metodológica para el desarrollo de estrategias más eficaces en el control y estudio del vDVB.