

CULTIVOS CELULARES PRIMARIOS DE CÉLULAS DE PEJERREY (*Odontesthes bonariensis*) PARA SU USO COMO SUSTRATOS EN EL ESTUDIO DE VIRUS DE INTERÉS ICTÍCOLA

Nogueiras JP¹, Colina SE², Castro NN¹, Yorojo Moreno V³, Serena MS², Echeverría MG², Metz GE²

¹ Pasantes de Virología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata. La Plata, Buenos Aires, Argentina.

² Virología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata. La Plata, Buenos Aires, Argentina / CONICET.

³ Instituto de Limnología "Dr. Raúl. A. Ringuelet", CCT La Plata, La Plata, Buenos Aires, Argentina.

germanmetz@fcv.unlp.edu.ar

Objetivos

El pejerrey (*Odontesthes bonariensis*) es un pez de importancia económica y ecológica de la región pampeana. Se describen numerosos tipos de microorganismos que lo afectan, sin haberse documentado aun a los virus. El aislamiento viral en células susceptibles es la técnica de referencia recomendada para el estudio de virus, por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue obtener, cultivar y mantener *in vitro* células de *O. bonariensis* para utilizarlas como sustrato.



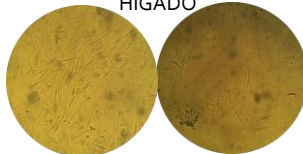
Materiales y métodos

Se recolectaron dos ejemplares de *O. bonariensis* en la laguna San Lorenzo (provincia de Buenos Aires) y se mantuvieron vivos en bolsas de plástico con agua de origen y oxígeno. En el laboratorio, los peces se sacrificaron por tracción medular de acuerdo con los estándares de bienestar animal (Guía Eutanasia AVMA 2020) y en esterilidad se procedió a la recuperación de diferentes órganos para realizar las técnicas de explanto y cultivo primario. Se tomaron muestras de piel, aleta caudal, gónada, riñón, hígado y cerebro. Para realizar los explantos se siguieron los procedimientos estándar. Luego, con la mayor fracción posible del órgano de interés se disgregó primero mecánicamente en mortero, para luego proceder a la disgregación enzimática con tripsina. Se separaron por filtración las fracciones de órganos que no se hubieran disgregado de manera completa, se inactivó la tripsina con suero fetal bovino, y diferentes alícuotas de las células disgregadas se sembraron en placas de 24 y frascos T25.

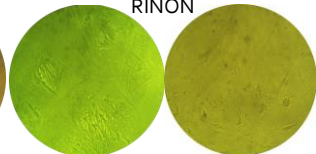
Resultados

Se testearon diferentes medios de cultivo: MEM, MEM con HEPES, RPMI y Dulbecco, todos suplementados con 20% de suero fetal bovino e incubando en estufa a 23°C. Con la técnica de explantos se obtuvieron células de piel, aleta caudal, hígado y cerebro, mientras que por disgregación enzimática, células de gónada y riñón, todos los cultivos con medio MEM. Hasta el momento, se realizan pasajes con diluciones de 1/2 o 1/3 al llegar las células a confluencia y se continúa trabajando en la caracterización celular y en la cinética de crecimiento de cada uno de los cultivos obtenidos.

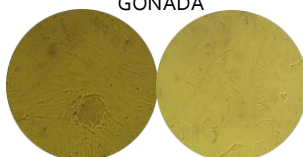
Cultivo primario
HÍGADO



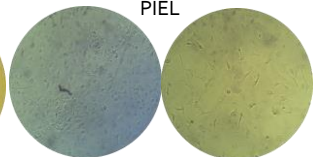
Cultivo primario
RIÑÓN



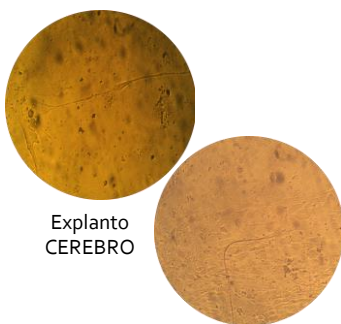
Cultivo primario
GÓNADA



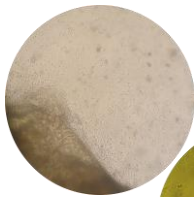
Cultivo primario
PIEL



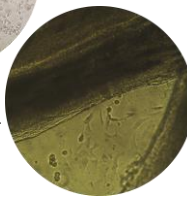
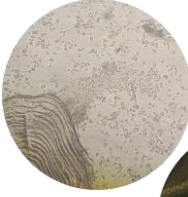
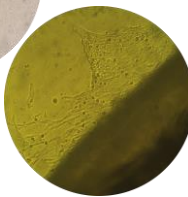
Explanto
CEREBRO



Explanto
PIEL



Explanto
ALETA CAUDAL



Conclusiones

En este trabajo se logró recuperar, desarrollar y mantener *in vitro* células de pejerrey para ser utilizadas en futuros trabajos en virología.