



**.UBA** veterinaria  
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS



**VI Jornadas Internacionales  
Instituto de Investigación y Tecnología  
en Reproducción Animal  
INITRA**

**25, 26 y 27 de agosto 2021**

# Efecto del virus de la diarrea viral bovina en cultivo primario de células endometriales infectados con el gammaherpesvirus bovino tipo 4: modelo *in vitro* de coinfección viral

ROMEO, F<sup>1,3</sup>; GONZÁLEZ-ALTAMIRANDA, E<sup>1,2</sup>; LOUGE URIARTE, E<sup>2</sup>; DELGADO S.G.<sup>3</sup>; PÉREZ, S<sup>1,4</sup>; VERNA, A<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup> Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup> Grupo de Sanidad Animal, IPADS Balcarce Instituto de innovación para la Producción Agropecuaria y el Desarrollo Sostenible, Balcarce, Argentina. <sup>3</sup> Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata, Argentina. <sup>4</sup> Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNCPBA)/CIVETAN, Sede Tandil, Buenos Aires, Argentina.

El virus de la diarrea viral bovina (DVB) y el gammaherpesvirus bovino 4 (BoHV-4) infectan el útero del ganado siendo responsables de importantes pérdidas económicas. La patogenia del BoHV-4 en el tracto reproductivo bovino se ha dilucidado en parte mediante pruebas en cultivos primarios. Es importante contar con condiciones *in vitro* óptimas, evitando la presencia de otros patógenos que puedan alterar los resultados. El DVB es uno de los contaminantes virales más frecuentes de los cultivos celulares. El biotipo del DVB no citopático (NCP) puede generar ganado infectado persistentemente (PI), siendo la principal fuente de transmisión del virus en rebaños susceptibles. El objetivo del presente trabajo fue evaluar cómo la infección natural de células endometriales bovinas (CEB) con una cepa NCP de DVB (CEB + DVB) afecta la replicación de BoHV-4. Los cultivos primarios de células BEC y BEC infectadas naturalmente con BVDV (BEC + BVDV) se cultivaron en placas de 24 pocillos, a una concentración de  $2,2 \times 10^5$  células / ml. Se inocularon las monocapas confluentes con la cepa 10/154 de BoHV-4 a una multiplicidad de infección (MOI) de 0,5. Se recolectaron células y sobrenadantes a los tiempos post-inoculación (24, 48, 72 y 96 hpi) y se conservaron a -80 °C. Se extrajo el ARN de las células para amplificar los genes que codifican el transcripto 2 (IE2) y las glicoproteínas B (gB), H (gH) y L (gL) mediante RT-PCR y se evaluó la cinética de replicación viral por el método de titulación de punto final, utilizando las células MDBK, BEC y BEC + BVDV en placas de microtitulación. Bajo un diseño aleatorizado con tres repeticiones, los factores puestos a prueba fueron: medio de cultivo (con dos niveles: CEB libres de DVB y CEB + DVB) y tiempo de lectura (con 4 niveles: 24, 48, 72 y 96 hs). Se realizó el análisis de la varianza y el test Bonferroni. Los resultados de RT-PCR mostraron un retraso en la expresión génica del BoHV-4 para el gen IE2 y la glicoproteína gB; no habiendo diferencias en la cinética de expresión de las glicoproteínas gH y gL. En cuanto a los títulos virales se observaron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los cultivos celulares en todos los tiempos, siendo siempre más bajos en células CEB + DVB. Se demostró cómo la infección natural de CEB con una cepa NCP de DVB afecta la expresión génica y la cinética de replicación de BoHV-4. El retraso en la expresión génica en las células CEB + DVB se puede atribuir a alteraciones producidas por el DVB en la célula huésped, lo que generaría la falta de factores celulares necesarios para que BoHV-4 pueda llevar a cabo su ciclo replicativo de forma eficiente. La comparación de los títulos de BoHV-4 en cultivos celulares mostró que la concentración viral en el medio extracelular se vio afectada por una infección previa con DVB. Este hallazgo destaca la importancia de detección de infección por DVB en cultivos de células primarias bovinas, para evitar interferencias biológicas o malas interpretaciones de los resultados a la hora de realizar estudios *in vitro* con BoHV-4.