

## **1.5 A veces es más fácil cultivar los virus en huevos**

### **Embrión de pollo**

Bienvenidos. Ya hemos visto que los virus necesitan crecer en células vivas. Inicialmente se emplearon los animales de experimentación que vimos en el paso anterior. Pero en 1931 Goodpasture descubrió que los virus podían crecer también en huevos de gallina con embrión. Esto supuso un gran avance, porque es mucho más fácil manejar huevos que manejar animales, aunque sean tan pequeños como los ratones. Desde este descubrimiento, los huevos embrionados se han empleado con diversos objetivos. Es importante tener en cuenta, que al igual que mencionamos en los cultivos celulares o incluso al hablar de animales de experimentación, no vale cualquier huevo para cualquier virus. Los más empleados son los de gallina, pero también se pueden emplear de paloma, de codorniz y de otras especies. De forma ideal, los huevos han de tener de 7 a 12 días de edad.

En los huevos se identifican diferentes zonas con características distintas. Los diversos virus tienen preferencia por localizaciones concretas.

### **Membrana corioalantoidea**

La membrana corioalantoidea es el lugar preferente para inocular poxvirus. Tras unos días, se pueden observar en esta membrana unas marcas, llamadas pocks, que son como manchas blanquecinas en el tejido transparente. La inoculación de poxvirus en la membrana corioalantoidea se puede emplear para cuantificar la concentración de virus, ya que se considera que cada pock está producido por un virus. También pueden inocularse aquí el virus del herpes simplex, y el virus del sarcoma de Rous.

### **Cavidad alantoidea**

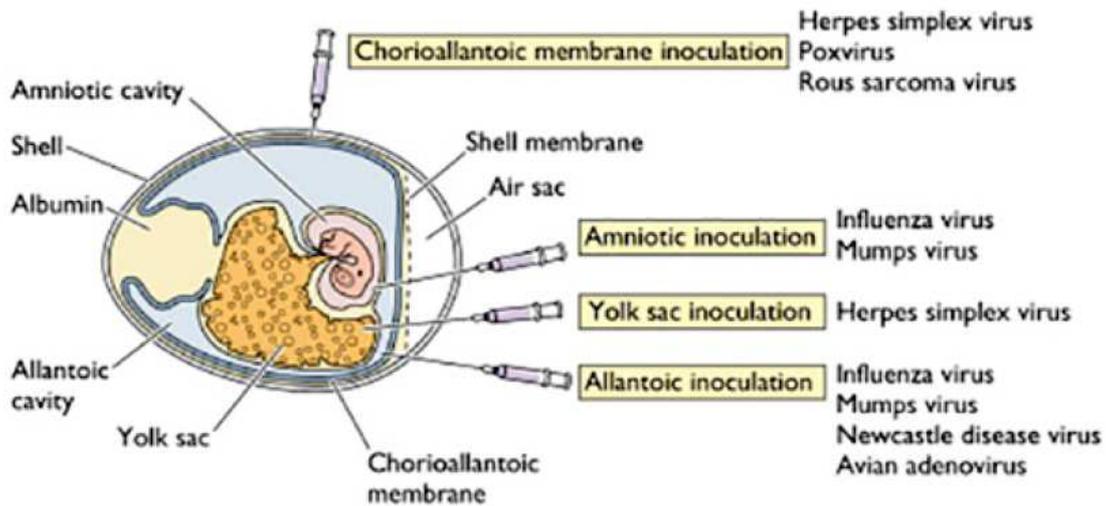
Otra localización es la cavidad alantoidea. La mayoría de los virus aviares se pueden aislar inoculando la muestra en esta cavidad. Aquí se incluirían los adenovirus aviares, o el virus de la enfermedad de Newcastle. Además, se emplea para la producción de vacunas frente a la influenza, la fiebre amarilla, la rabia, o las paperas.

### **Saco amniótico**

El saco amniótico se emplea para el aislamiento primario de virus influenza o de las paperas, virus que al tener hemaglutininas pueden detectarse porque producen hemaglutinación.

### **Saco vitelino (Yolk sac)**

Finalmente, la inoculación en el saco vitelino es el método más sencillo para la multiplicación de virus, aunque se dan mecanismos de interferencia en la mayoría de los virus aviares. En el saco vitelino, que no es más que la yema del huevo, pueden crecer los virus del herpes simplex.



### Ventajas

Los huevos embrionados tienen muchas ventajas. Algunas de ellas son las siguientes:

- Son baratos de obtener y puede disponerse de ellos fácilmente.
- Son fáciles de manipular, y su manejo no exige mucho personal ni que esté especialmente entrenado, como ocurría en el caso de los animales de experimentación.
- Son estériles y libres de contaminación bacteriana e incluso de muchos virus que pueden estar latentes en aves o en mamíferos.
- Las células de embriones son muy indiferenciadas, y, por lo tanto, muchos virus pueden crecer en ellas.
- Como hemos visto, presentan diferentes localizaciones con distintas características, por ejemplo, de pH, de cantidad de grasa, etc. Esto permite buscar el sitio mejor o más adecuado para cada virus.
- Carecen de respuesta inmunitaria que eliminaría al virus.

### Desventajas

A pesar de las ventajas, los huevos embrionados presentan algunas desventajas. Por ejemplo:

- El sitio de la inoculación y la edad del embrión varía con los diferentes virus, y cuando se trata de virus en los que esta circunstancia no se conoce hay que hacer diferentes pruebas.
- También hay variabilidad individual.

### Usos

Como hemos comentado antes, los huevos embrionados se emplean ampliamente para el aislamiento de muchos virus aviares y algunos de mamíferos, que pueden adaptarse a crecer en embriones de aves. A través de este proceso, pueden atenuarse, adquiriendo mutaciones que los hacen menos patógenos.

En la actualidad, las vacunas antigripales se producen en embriones de pollo.

### **Técnica**

Aunque puedes encontrar la técnica en el enlace que te enseñamos [http://Vet.UGA.edu/images/uploads/pdrc/Villegas\\_Lab\\_Manual.pdf](http://Vet.UGA.edu/images/uploads/pdrc/Villegas_Lab_Manual.pdf)

Para inocular los embriones habría que hacer lo siguiente:

1. Desinfectar la cáscara con iodo
2. Disponer el huevo sobre una superficie que tenga una abertura un poco más pequeña que el tamaño del huevo y una luz bajo ella, para poder visualizar el interior del huevo
3. Hacer un pequeño agujero en la misma con un taladro
4. Inocular la suspensión vírica en la zona de elección haciendo uso de procedimientos estériles. No olvidar incluir controles a los que se inocule la solución en la que el virus está suspendido
5. Volver a colocar el trocito de cáscara retirado y sellarlo con gelatina o con parafina
6. Incubar a 36-38°C de 2 a 4 días, anotando las observaciones cada día
7. Romper el huevo, buscar los signos de crecimiento vírico, aislar el virus a partir del tejido del huevo
8. Descartar todo el material en contenedores con lejía

<http://www.slideshare.net/CyrusNgullie1/egg-inoculation-by-chinithung-ngullie-2-59052236>

### **Signos de crecimiento viral**

Durante la incubación o ya al final hay que determinar si en el huevo inoculado ha ocurrido algo de lo siguiente, siempre comparándolo con los huevos control:

- Atrofia: que es cuando el embrión está más pequeño que el control
- Muerte: que se caracteriza porque el embrión deja de moverse
- Pocks que son las lesiones en las membranas del huevo que mencionamos previamente y que aquí puedes observar en esta fotografía
- Hemorragias en el embrión o en las membranas, que también serían indicativo de crecimiento vírico

### **Resumen**

Por tanto, en este paso hemos visto cuáles son las especies de aves cuyos huevos se emplean para crecer virus, las membranas y cavidades del huevo donde se pueden inocular los distintos virus, cuáles son las ventajas y las desventajas del cultivo de virus en los embriones, las aplicaciones y las consecuencias de la infección vírica.

Muchas gracias por tu atención y no te olvides de consultar el material adicional donde te damos más indicaciones sobre el crecimiento en embrión de ave, y además también deberías hacer las actividades que te proponemos.