

TITULO Efecto de la Remoción-Retención de Pasteurella multocida en Cornetes y Pulmones de ratón por la toxina de Bordetella bronchiseptica.

AUTOR(S): Castillo, S.I, López D.E, Tórtora, P.J., Lara S.V, Mendoza E.S, Y Ciprián C.A.

INSTITUCION: COORDINACION GENERAL DE ESTUDIOS DE POSGRADO, FES-CUAUTITLAN. U.N.A.M.

AREA: Sanidad Animal.

#### INTRODUCCION.

La rinitis atrófica es una enfermedad infecto-contagiosa de distribución mundial, que se caracteriza principalmente por la atrófia de los cornetes nasales del cerdo en sus diferentes grados. Experimentalmente sólo se ha desarrollado la atrófia nasal del cerdo y ratón, con Bordetella bronchiseptica y Pasteurella multocida cuando estos han sido inoculados en cultivos puros por vía intranasal (Leman y cols. 1985, Smith, 1980). Se ha reportado que la causa del cuadro rinitico, son las toxinas Dermonecrotóxicas producidas por estas bacterias (Rütter, 1983). La principal forma de transmisión es mediante aerosoles infectados, por lo que se han desarrollado modelos experimentales de remoción en animales de laboratorio para facilitar el estudio de la patogenia de la enfermedad (Mendoza, 1989). La determinación de la remoción bacteriana del pulmón y su relación con el daño producido en cornetes constituye un método "in vivo" que se utiliza para medir la velocidad a la cual las bacterias inhaladas se remueven del tracto respiratorio, lo que ayudaría a evaluar la relación que se establece en grupos inoculados de interés (Jericho, 1987).

#### OBJETIVOS

Estudiar el efecto de la toxina de Bordetella bronchiseptica sobre la remoción de Pasteurella multocida en un modelo de aerosoles/ratón para la evaluación de futuros inmunógenos a base de toxoides.

#### MATERIAL Y METODOS:

Se utilizarán 80 ratones machos de 9 a 14 g. de peso, de 21 días de edad, de forma aleatoria se formarán 4 grupos de 20 ratones que quedarán integrados de la siguiente forma:

- GRUPO I. Inoculado con caldo BHI estéril.
- GRUPO II. Toxina de B. bronchiseptica por vía intranasal.
- GRUPO III. Pasteurella multocida aerosolizada.
- GRUPO IV. Tóxina de B. bronchiseptica por vía intranasal y P.multocida aerosolizada.

La toxina de Bordetella bronchiseptica se aplicó por vía intranasal cada tercer día a los grupos II y IV. La aerosolización se efectuó durante 10 min. para los grupos III y IV, la concentración en la suspensión bacteriana inicial fue de  $5 \times 10^6$ . De cada grupo se tomaron 2 animales los días 0, 2, 4, 8 y 16. Posteriormente se extrajeron los cornetes, los cuales se lavaron con PBS estéril y se realizaron diluciones y se contaron las UFC. También se extrajeron los pulmones, los

cuales se maceraron con PBS estéril y se obtuvieron las UFC. se maceraron en Tembrock con PBS estéril y se obtuvieron las UFC, para cada muestra. A los mismos días post-inoculación se sacrificaron otros dos ratones para el estudio histopatológico, para lo cual se extraían los cornetes y se les hacía el tratamiento adecuado para dicho estudio.

## RESULTADOS

La remoción de P. multocida en cornete, en el grupo control y en el grupo previamente tratado con tóxina de B. bronchiseptica, se observa que el efecto del tiempo es significativo en el grupo control, ya que hay una disminución del número de bacterias en el día 2 postinoculación, un aumento en el día 4, para mantenerse constante hasta el día 9 y posteriormente una disminución hasta el día 16 (graf. 1). En el grupo previamente tratado con tóxina de B. bronchiseptica no se observa efecto del tiempo significativo, el número de bacterias permanece constante desde el inicio hasta el final del experimento. La gráfica 2 muestra la remoción de P. multocida en pulmón en el grupo control y en el grupo previamente tratado con tóxina de B. bronchiseptica, la cuál muestra una disminución en el día 2, un aumento en el día 4, y se mantiene constante hasta el día 16. En el grupo previamente tratado con tóxina de B. bronchiseptica no se observa efecto del tiempo significativo, el número de bacterias permanece constante desde el inicio hasta el final del experimento. La diferencia entre el número de bacterias en pulmón y en cornete fué significativamente diferente, los resultados en pulmón fueron mayores independientemente del día o el grupo experimental.

El estudio histopatológico de los cornetes de los ratones (Grupos II y IV), muestran elementos indicativos de remoción periostal del hueso del cornete, inflamación local con congestión y hemorragia y adelgazamiento del cornete (atrofia del hueso). En los cornetes de los ratones (Grupo III), muestran al inicio del experimento: osteoclastos, calcificación del tabique congestión y hemorragia y posteriormente remoción del periosteo así como atrofia del hueso.

## DISCUSION

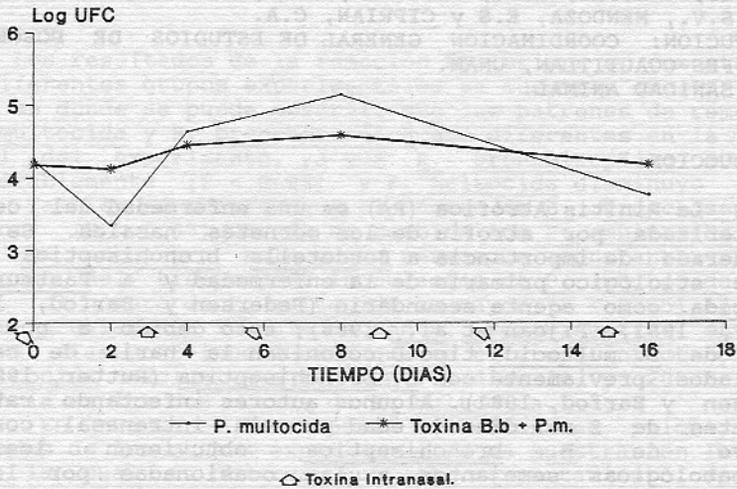
El efecto de la tóxina de B. bronchiseptica parece inhibir los mecanismos de defensa inespecíficos que hacen que mantenga el número de bacterias al inicio y al final de la infección y aunque el curso del desarrollo bacteriano en los 2 grupos a partir del día 4 fue similar, esto ocurrió tanto en pulmón como en cornete. Las lesiones microscópicas encontradas en los cornetes del grupo II, indican que la toxina de B. bronchiseptica fue capaz de inducir daño a los cornetes del ratón, mientras que la observación de las lesiones microscópicas encontradas en el grupo IV, no

permitieron discriminar el posible efecto de la tóxina de P. multocida. Sin embargo, las lesiones en estos Grupos estuvieron presentes durante todo el tiempo que duro el experimento, mientras que las lesiones presentes en el Grupo III, fueron diferentes tanto al inicio y como al final del experimento.

#### BIBLIOGRAFIA

- Jericho K.W.F (1987). Experimental studies of Infection respiratory disease. Can.J. Comp. Mic. 41:211-214.
- Leman H.; Straw,B.;Glock, R.; Mengeling W.; Penny R.; Giles, C.(1985). Diseases of swine sixth edition. cap. 38-40.
- Mendoza, E.S. (1989). Estudio de las toxinas de Bordetella bronchiseptica y Pasteurella multocida en la patogenia del cerdo. FES-Cuautitlan. UNAM.
- Smith ,I.M.' Giles, C.J. and Bakerville, A.J. (1980). High prevalence of strains of Bordetella bronchiseptica resistant to pottentiated sulphonamide in english pigs herds in 1978-1979 . Vet Rec. 106: 462.
- Rutter J. (1983). Virulence of P.m in atrophic rhinitis of gnotobiotic pigs infected with Bordetella bronchiseptica. Res Vet Sci 34: 287-295.

**FIG 1** REMOCION BACTERIANA  
INTERACCION TOXINA DE *B. bronchiseptica*  
Y *P. multocida* EN CORNETE.



**FIG 2** REMOCION BACTERIANA  
INTERACCION TOXINA DE *B. bronchiseptica*  
Y *P. multocida* EN PULMON.

