

LA RESPUESTA INMUNE CELULAR DE CERDOS INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE
CON *Mycoplasma hyopneumoniae*.

T. Cruz, M.A. Vega¹, C. León, S., F. Díaz A., J.H. Lara P., S. Mendoza E., E. Hernández B. y A. Ciprián C. A. Coordinación General de Estudios de Posgrado. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México. Ap. 222. Cuautitlán, Izcalli. Edo. Mex. Cátedra Afecciones Bacterianas y Virales de los Cerdos. 1.CINVESTAV. IPN. PADEP 100303.

INTRODUCCIÓN.

Mycoplasma hyopneumoniae es el agente causal de la Neumonía Enzootica (EP). Las infecciones por *Mycoplasma* han sido implicadas en efectos de inmunosupresión en mamíferos y en un incremento de la susceptibilidad a patógenos secundarios. Recientemente se han venido haciendo trabajos con el fin de dilucidar la intervención de la respuesta inmune celular (1,2). En este trabajo se dan a conocer la integración entre las lesiones pulmonares, la producción de anticuerpos y la reacción de algunas subpoblaciones de células T en el pulmón del cerdo. Observamos el desarrollo de la respuesta celular inmune en el pulmón infectado con *M. hyopneumoniae*.

MATERIALES Y METODOS.

Doce cerdos de un mes de edad fueron inoculados intratraquealmente con homogeneizado pulmonar conteniendo *M. hyopneumoniae*. Dos cerdos fueron sacrificados los días 0, 4, 8, 12, 16 y 20 post-inoculación junto con un control. Los seis cerdos control habían sido inoculados intratraquealmente con medio de Friis (3). Después de la eutanasia el animal fue necropsiado y fue analizada la extensión de las lesiones pulmonares. Se tomaron muestras de las lesiones para someterlas a inmunofluorescencia directa usando el conjugado de inmunofluorescencia (Been-Ek) desarrollado en FES-C. De cada uno de los cerdos fue obtenido suero para la titulación de anticuerpos por medio de la prueba de ELISA Tween 20, implementado en FESC, con antígeno y reactivos nacionales, realizando diluciones dobles del suero. Otras muestras pulmonares con lesiones fueron fijadas en paraformaldehído y analizadas por inmunohistoquímica para células T, utilizando anticuerpos monoclonales específicos para antígenos CD4 y CD 8 (donados amablemente por el Dr. Zuckerman, University of Illinois, USA). para la observación de las células se utilizó el kit comercial Extra avidin (Immunochemicals-Sigma), utilizando diaminobenzidina (Immunochemicals-Sigma) como revelador y hematoxilina de Harris como contratincción. Las células positivas fueron contadas determinando el tejido y la densidad de las células (número de células/ unidad de área) mediante el uso de un analizador de imágenes asistido por computadora a 400 x, observando de cada preparación 15 planos, realizando el promedio y desviación estandar. Para determinar la histopatología de las lesiones se realizó la tinción de hematoxilina y eosina (H.E.). También se realizó el aislamiento de *M. hyopneumoniae* utilizando los procedimientos y medios recomendado por Friis (1975). Los aislamientos fueron identificados por la prueba de inhibición de crecimiento utilizando suero hiperinmune de conejo.

RESULTADOS Y DISCUSION.

Las lesiones pulmonares macroscópicas se comenzaron a apreciar a partir del día 4 P.I. con un 1.5% de lesión y al día 20 P.I. se observó un promedio de 15%

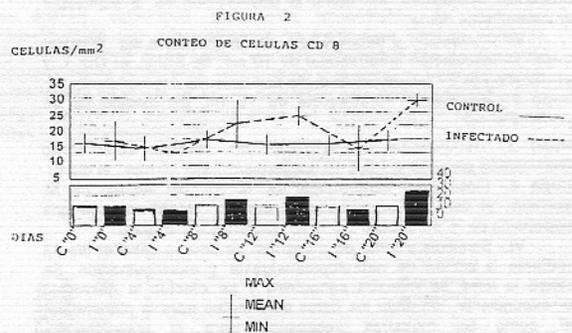
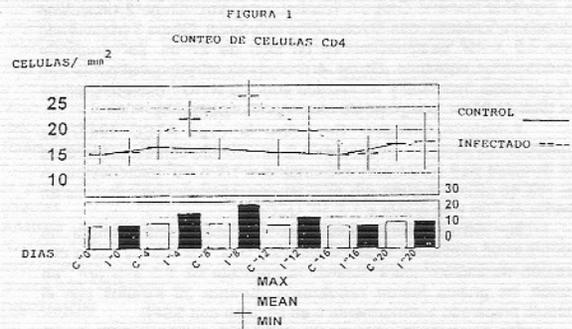
Los animales inoculados resultaron positivos a la prueba de ELISA Tween 20 a partir del día 12, alcanzando para el último día del experimento el título más alto, en cambio los controles permanecieron negativos.

Los cerdos inoculados fueron positivos a la prueba de inmunofluorescencia a partir del día 8 postinoculación. Todos los cerdos inoculados fueron positivos al aislamiento de *Mycoplasma hyopneumoniae*.

La histopatología mostró el desarrollo de lesiones características, observándose al día 20 P.I., la infiltración linfocitaria peribronquial y perivascular típica de la enfermedad. Con relación al comportamiento de las células T com marcador CD4 se observó que tenía una localización preferencial alrededor de bronquios y bronquiolos. Se observaron dos picos

de elevación de estas células al día 8 y 16 PI (figura 1). Es de hacer notar que en el día 8 PI. se apreció una activación del tejido linfoide asociado a bronquios (BALT), así como numerosas células plasmáticas, coincidiendo esto en la elevación de anticuerpos observada en la Prueba de ELISA. Con respecto a las células CD8 estas no tienen un sitio preferencial, siendo siempre mayor el número de ellas en relación a las células CD4, circulando en todo el tejido. Las células CD8 también mostraron una elevación significativa los días 8 y 20 P.I.(figura 2). El día 12 PI, se manifestó el inicio de áreas de consolidación y se observaron por histopatología que correspondía a la llegada de otras células como son polimorfonucleares y macrófagos. El día 20 PI se marca un elevado número de células CD8 que coincide en el día en que se observó mayor lesión pulmonar.

La gran llegada de células a tejido donde no se considera que se establezca *M. hyopneumoniae* y la actividad mitogénica que se ha demostrado tener, hace pensar que este se comporte como un superantígeno, hecho que se ha observado en otros micoplasmas.



Referencias.

1. Bhogal B. y cols. (1992) Proceeding of the 12th International Pig Veterinary Society. The Netherlands. August. p. 298.
2. Bahannson y cols. (1994) Proceeding of the 13th International Pig Veterinary Society. Bangkok, Thailand. June. p. 131.
3. Friis N.F. (1975) Nord. Vet. Med. 27. p 337-339.
4. Sorensen y cols. (1994) Proceeding of the 13th International Pigs Veterinary Society. Bangkok, Thailand. June. p. 190.