

EVALUACIÓN DE LA FASE CÚBICA DEL MONOLEATO DE GLICERILO COMO SISTEMA DE PROTECCIÓN Y ACARREO DE TOXINAS DE *Actinobacillus pleuropneumoniae*.

López A^{1*}, Quintanar D¹, Romero A¹, Reyes J², Ciprián A¹, y Mendoza S¹
¹Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM, ²Facultad de Farmacia, UAEMor,
seme@servidor.unam.mx

Introducción

La Pleuroneumonía Contagiosa Porcina es una enfermedad devastadora, altamente contagiosa, posee un extraordinario interés económico por los elevados porcentajes de mortalidad que produce así como por el alargamiento en el periodo de cebo, altos costos en medicamentos, asistencia veterinaria entre otras (3). El agente etiológico de la enfermedad es la bacteria *Actinobacillus pleuropneumoniae* (APP) la cual esta ampliamente distribuida mundialmente. Aunque multifactorial la virulencia de App esta fuertemente relacionada con la producción de las toxinas Apx las cuales son las responsables de las lesiones iniciales en la enfermedad características por ser hemorrágicas y necróticas (2). Es ya del conocimiento general que la ruta de administración de un inmunógeno influencia como y donde se expresa una respuesta inmune. El concepto de un sistema inmune integral de las mucosas ha sido ya establecido por diversos estudios utilizando la vía de administración oral (1). El objetivo de este trabajo es estudiar un gel a base de monoleato de glicerilo en fase cúbica como vehículo acarreador y protector de las toxinas Apx, con la finalidad de obtener un inmunógeno que administrado por vía oral proteja de la infección por *Actinobacillus pleuropneumoniae*.

Material y métodos

Se utilizaron los serotipos 1, 3, 5 y 7 de referencia de *Actinobacillus pleuropneumoniae* para obtener los sobrenadantes con toxinas Apx los cuales fueron enriquecidos por filtración tangencial y después concentradas por liofilización. Para evidenciar las toxinas Apx, se cuantifico la concentración de proteínas por el método de Bradford y se realizo la electroforesis en gel de poliacrilamida-SDS de las muestras. Se evaluó la capacidad del gel de monoleína para atrapar las toxinas Apx así como el efecto de la inclusión de estas sobre la fase cúbica mediante estudios de microscopía de luz polarizada. Se estudio la liberación de las

toxinas del gel utilizando pruebas de disolución *in vitro*. Se observó el efecto antigénico del producto inoculado por vía oral en ratones en donde se identificaron cambios en las poblaciones celulares de linfocitos T y B mediante citometría de flujo y se buscaron anticuerpos contra el antígeno utilizando una prueba de ELISA.

Resultados y discusión

El gel de monoleína fue capaz de atrapar una concentración de 400 µg/ml de antígeno sin que esto afectara la formación de la fase cúbica. Aproximadamente el 60 % de las moléculas proteicas fueron liberadas del gel en un tiempo de 4 horas.

Mediante la citometría de flujo se detectaron cambios en las poblaciones de linfocitos con los marcadores CD4 y CD19 que permitieron especular sobre una posible estimulación del sistema inmune por el antígeno, lo cual se confirmo con la aparición de anticuerpos en el suero de los animales identificados por la prueba de ELISA.

Referencias bibliográficas

1. Hensel, A., Stockhofe-zurwieden, N., Petzold, W., 1995. Infect. And Immunity. 63:3048-3053.
2. Maier, E., Reinhard, N., Benz, R., Frey, J. 1996. Infect. and Immunity. 64:4415-4423.
3. Mendoza, S., Ciprián, A., Tercer ciclo nacional "Enfermedades respiratorias del cerdo". Ed. UNAM. México DF. 75-84, 100-111.

Agradecimientos: Por su apoyo técnico al Sr. Gabino Sánchez y al MVZ David Trujillo.
Proyecto PAPIIT IN 223203-2