

DESARROLLO EXPERIMENTAL DE UN INMUNÓGENO UTILIZANDO LAS TOXINAS PURIFICADAS DE *Actinobacillus pleuropneumoniae*, BAJO EL SISTEMA DE ACARREO Y PROTECCIÓN EN CERDOS

*López, J. A.¹, Mendoza, E. S.¹, Suárez, G. F.², Quintanar, D.¹, Ciprián, C. A.¹

¹FES-Cuautitlán, UNAM. Secretaría de Posgrado Campo; ²Unidad de Investigación "Carlos Pijoan Aguade".

INTRODUCCIÓN

La pleuroneumonía contagiosa porcina es una enfermedad muy agresiva, 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 medicación y asistencia veterinaria (3). El agente etiológico de la enfermedad es la bacteria *Actinobacillus pleuropneumoniae* (*App.*) la cual está ampliamente distribuída mundialmente. Aunque multifactorial, la virulencia de *App.* está 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 ¿cómo y dónde, 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 y 3 de cepas de campo de *App* para obtener los sobrenadantes con toxinas Apx los cuales fueron enriquecidos por filtración tangencial y Cromatografía de exclusión de peso molecular. Utilizando la liofilización para concentrar los sobrenadantes. Para evidenciar las toxinas Apx, se cuantificó la concentración de proteínas por el método de Bradford y se realizó 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 estudió la liberación de las toxinas del gel utilizando pruebas de disolución *in vitro*.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Mediante filtración tangencial y cromatografía de exclusión de peso molecular se obtuvieron aquellas moléculas con un peso cercano a los 100 kDa. Las cuales

fueron evidenciadas por electroforesis en gel de poliacrilamida. 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.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hensel, A., Stockhofe-Zurwieden, N. and Petzold, W. (1995). *Infection and Immunity*. **63**: 3048-3053.
2. Maier, E., Reinhard, N., Benz, R. and Frey, J. (1996). *Infection and Immunity*. **64**: 4415-4423.
3. Mendoza, E. S. y Ciprián, C. A. (). Tercer ciclo nacional "Enfermedades respiratorias del cerdo". Ed. UNAM. México, D.F. 75-84, 100-111.

Agradecimientos:

Por su apoyo técnico al Sr. Gabino Sánchez y al MVZ David Trujillo.