

## **CITOLÓGIA DEL EPITELIO PREPUICIAL DE MACHOS CAPRINOS INFECTADOS CON EL VIRUS DE ARTRITIS ENCEFALITIS CAPRINA (VAEC).**

### **CYTOLOGY OF FORESKIN EPITHELIAL CELLS IN MALE GOATS INFECTED WITH CAPRINE ARTHRITIS-ENCEPHALITIS VIRUS (CAEV).**

Aguilar TMC \*1, Martínez RHA 1, Rodríguez VR1 y Aguilar SA 2, 3, Buendía JJA 1.  
Laboratorio de genética viral y biología molecular campo 4. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México. 2Coordinación de Estudios de Posgrado. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México. 3Centro Médico Nacional Siglo XXI. Laboratorio de Inmunología.  
[carmina.at@gmail.com](mailto:carmina.at@gmail.com)

#### **Resumen.**

El presente estudio se realizó con el fin de comparar el porcentaje y tipos de células prepuciales (CP) de animales seropositivos (S+) y seronegativos (S-) al virus de artritis encefalitis caprina (VAEC).

En el se utilizaron seis animales machos de la raza Toggenburg, tres de ellos seronegativos (> de 7 meses al inicio de la investigación) y tres seropositivos Alpinos (> de 1 año) a la prueba de ELISA indirecta.

Se realizaron lavados prepuciales con solución de Hank's cada 30 días por un periodo de 12 meses.

Las células fueron fijadas con metanol y teñidas con la técnica de Papanicolaou.

Al conteo se le realizó un promedio por tipo celular tomando en cuenta su estatus serológico.

Así los **S+** con parabasales 9%, intermedias 39% y superficiales 51%; **S+** neutrófilos 90%, linfocitos 6% y macrófagos 4% y **Sparabasales** 15%, intermedias 38%, superficiales 47%; **S-** neutrófilos 90%, linfocitos 6% y macrófagos 4%.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre animales seropositivos y seronegativos con respecto a las proporciones de los tipos de células estudiadas.

#### **Introducción.**

El VAEC se transmite principalmente por vía vertical a través de la ingesta de calostro y leche<sup>1,3</sup>, el cual afecta tejidos *in vivo* como son: cerebro, pulmón, membrana sinovial <sup>1,11,10</sup>, células de la granulosa, células endoteliales de la aorta, células endoteliales y epiteliales de glándula mamaria, en estudios realizados en 1998, 1999<sup>12</sup>, se detectó la presencia del virus de VAEC en semen de machos infectados naturalmente y en forma experimental.

Esto mismo se ha encontrado en otros retrovirus como son: El virus de inmunodeficiencia humana, virus de inmunodeficiencia bovina<sup>9</sup>, virus de Maedi-Visna<sup>4</sup> y el virus de leucemia felina<sup>6</sup>.

Así mismo el virus de VAEC se ha encontrado replicándose en células epiteliales de endotelios, glándula mamaria y en células de córnea.

Se desconoce si otras células epiteliales son permisivas al virus de VAEC<sup>5</sup>.

Por otra parte se sabe que la convivencia y el hacinamiento de machos con actividad sexual, propicia la monta entre ellos, lo cual puede ocasionar lesiones en prepucio, las lesiones prepuciales pueden incrementar la cantidad de células inflamatorias en el semen y favorecer la distribución de la enfermedad por vía venérea, lo que puede ser un mecanismo potencial de difusión del virus<sup>8</sup> por lo que no se debe descartar la transmisión sexual, existiendo el factor de riesgo para su diseminación, además que no se presentan signos o lesiones aparentes y pueden pasar por animales sanos y ser utilizados como sementales<sup>7,2</sup>.

Actualmente se denomina como Lentivirus de los pequeños rumiantes.

En el presente trabajo se buscaron las diferencias celulares existentes entre animales seropositivos y seronegativos al virus de VAEC.

**Justificación.**

Es posible que el macho, como semental; juegue un papel fundamental en la diseminación del virus de AEC;

Ya que los estudios que se han hecho son en una gran mayoría en hembras, restándole importancia al macho.

**Hipótesis.**

Las células epiteliales del prepucio son permisivas al VAEC, por lo que pueden alterarse y diseminarse lo que sugiere que los machos sin manifestaciones clínicas son posibles diseminadores del virus.

**Objetivo.**

Obtener células epiteliales del prepucio caprino, para identificar, diferenciar y cuantificar por medio de la tinción de Papanicolaou.

**Material y método.**

Se utilizaron tres machos caprinos adultos seropositivos y tres seronegativos de la unidad caprina de la FES-C, UNAM, de razas Alpino (S+) y Toggenburg (S-) los cuales se tenían identificados por medio de la prueba de ELISA indirecta.

Previamente se les realizó limpieza y desinfección de la zona del prepucio.

La obtención de células del prepucio fue por medio de la introducción de 10 ml de solución de Hank's estéril sin glucosa con antibiótico, con un pH de 7.2 con una pipeta estéril de 30 cm de largo para la obtención de células, previo lavado alrededor de 15 a 20 segundos para la recolección de la mayor cantidad de líquido.

La solución recolectada se depositó en tubos de plástico de 15 ml estériles.

Las muestras se centrifugaron a 200xg durante 5 minutos. Se retiró el sobrenadante y el contenido celular se fijó en portaobjetos con metanol durante 10 minutos y se secó al aire, posteriormente se utilizó la tinción de Papanicolaou, para identificar, diferenciar y cuantificar las células obtenidas.

**Resultados.**

Los conteos se realizaron con 2 observaciones mensualmente en ambos grupos.

Así el tipo de células que se obtuvo fue un promedio por tipo celular tomando en cuenta animales

**S- y S+:** así Sparabasales

15%, intermedias 38%, superficiales 47%; **S-** neutrófilos 90%, linfocitos 65 y macrófagos 4%;

**S+** parabasales 9%, intermedias 39% y superficiales 51%; **S+** neutrófilos 90%, linfocitos 6% y macrófagos 4%.

Al análisis de varianza utilizando el programa SPSS no se encontró una diferencia significativa entre los tipos celulares ni entre los individuos positivos y negativo (ver tabla).

Índice de Varianza.

Deviation Std. Error

95% Confidence Interval for

Mean

Between-

Component

Variance

Leucocitos 0.02806 .00429 .8946 .9135 .00009

Linfocitos 0.02313 .00341 .0538 .0689 .00005

Macrófagos 0.01338 .00196 .0289 .0375 .00002

Parabasales 0.10043 .01342 .0915 .1506 .00039

Intermedias 0.11017 .01395 .3592 .4205 .00015

Superficiales 0.14908 .01907(a) .4394(a) .5233(a) -.00191

**Índice de varianza.** Los resultados del índice de varianza muestran que el nivel de significancia es

inferior al 0.0 %, por lo que la diferencia entre los tipos celulares y los individuos positivos y negativos no es relevante (elaborada con el método estadístico SPSS, Anova).

#### **Discusión.**

Aunque existen estudios que detectan la presencia de provirus en tracto genital masculino, no existen investigaciones que demuestren que el virus pueda producir daño a nivel de células epiteliales sin embargo parece tener la capacidad de replicarse en células epiteliales de prepucio tal como lo muestran los estudios realizados por el grupo de trabajo, es importante resaltar que todos los estudios realizados sobre retrovirus en aparato genital tanto de humanos, rumiantes y monogástricos demuestran que el virus puede estar presente y eliminarse en forma intermitente, en esto parece influir la toma y procesamiento de las muestras, no observándose diferencias.

#### **Conclusiones.**

Se logro identificar y diferenciar las diferentes células epiteliales y leucocitarias (neutrófilos, linfocitos y las células blanco del virus, como son los monocitos y macrófagos), a partir de lavados prepuciales por la técnica de papanicolau en ambos grupos de machos caprinos, sin que existieran alteraciones citológicas.

#### **Bibliografía.**

1. - Anderson PK., Cheevers WP. Characterization of the infection of caprine synovial membrane cells by the retrovirus Caprine arthritis encephalitis virus. *Virology* 1981; 110: 113-119.
2. - Bertoni G. In: Recent Advances in Goat Diseases Caprine Arthritis Encephalitis Complex Institute of Veterinary Virology, Bern, Switzerland. Tempesta M. (Ed.). International Veterinary Information Service. 2007: Doc. A0902.0707
3. - Crawford, T.B.; Adams, D.S. Caprine arthritis-encephalitis: clinical features and presence of antibody in selected goat populations. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1981 v.178 (7): 713-719.
4. - De la Concha, B.A., Corral, S.M., Brodie, S.J., De Martini, J.C., Venereal Shedding of ovine lentivirus in infected rams. *Am. J. Vet. Res.* 1996; 57: 284 -688.
5. - Jan Cl., Greenland T., Balleydier S., Mornex J.F. Activation of small ruminat aortic endothelial cell after in vitro infection by caprine arthritis encephalitis virus. *Res. Vet. Sci.* 2000. 69 (3): 225 –
6. - Jordan H.L., Liang Y., Hudson L.C., and Tompkins W.A. Shedding of feline immunodeficiency virus in semen of domestic cats during acute infection. *Am. J. Vet. Res.* 1999; 60: 211 – 215.
7. - Martínez H.A., Ramírez H., Tortora J., Aguilar A., Garrido G., Montaraz J. Efecto del Virus de Artritis Encefalitis Caprina en el Aparato Reproductor de Machos Caprinos. *Veterinaria México* 2005.-36 (2): 159 – 282.
8. - M.Z. Ali Al Ahmad F. Fieni, J.L., Pellerin F., Guiguen Y., Cherel G., Chatagnon A.B., Bouzar Y., Chebloune B. Detection of viral genomes of caprine arthritis-encephalitis virus (CAEV) in semen and in genital tract tissues of male goat. *J Theriogenology* 2007:10.1016 / Vol. 69, 4, 473-480
9. - Nash, J.W., Hanson, L.A., Coats, K.St.C. Bovine immunodeficiency virus in stud bull semen. *Am. J. Vet. Res.* 1995; 56: 760 – 763.
10. - Rolland M., Chavineau, C., Valas, S., Mamout, R.Z., Perrin, G. Establishment and characterization of a goat synovial membrane cell line susceptible to small ruminant lentivirus infection 2004; 118: 123 –130.
11. - Seroude, V., Audily, G., Gluschankof and Suzan M. Viral and Cellular Specificities of Caprine Arthritis Encephalitis virus Vif protein. *Virology* 2002; 292: 156 – 161.
12. - Travassos, C., Benoit, C., Valas, S., Da Silva, A. and Perrin G. Detection du virus de l'arthritisme encéphalite caprine dans le sperma de boucs infectés expérimentalement. *Vet. Res.* 29, 1998; 578-579.