

DEMOSTRACIÓN DE ANTICUERPOS ANTIESPERMA EN CARNEROS EXPERIMENTALMENTE INFECTADOS CON *ACTINOBACILLUS SEMINIS*.

ANTISPERM ANTIBODIES DEMONSTRATION IN EXPERIMENTAL RAM EPIDIDYMITIS INDUCED BY *ACTINOBACILLUS SEMINIS*.

Cuevas P.; Ma.A. ¹; Henández A., L.²; Acosta D., J.P.³; Lara S., V.¹ y Tórtora P., J.¹
1 FES Cuautitlán-UNAM; 2 CENID Microbiología-INIFAP; 3 Escuela de Veterinaria UAE Hidalgo.
tortora@unam.mx

Introducción: *A. seminis* es considerado junto con *B. ovis* uno de los principales agentes productores de epididimitis en el carnero, la patogenia de la enfermedad sin embargo no es clara y existen elementos para suponer que gran parte de las lesiones son inducidas por mecanismos autoinmunes.

Las lesiones que afectan la barrera hematotesticular, o determinan procesos inflamatorios en el tracto del macho, que permiten la relación entre las células de respuesta inmune y el semen pueden inducir anticuerpos contra este (AAS) y los tejidos genitales^{1, 2, 5}.

Material y métodos: Se emplearon 12 carneros sanos y seronegativos a *A. seminis* y *B. ovis*, en tres grupos de 4 animales.

Un grupo (n=4) fue infectado con *A. seminis* directamente en la cola del epidídimo (IE), otro (n=4) vía intrauretral (IU) y el tercero IE (n=4) con solución salina intraepididimal (IESS), este grupo actuó como control del efecto traumático sobre la barrera hematoepididimaria, al sacrificio de los animales se tomaron muestras de testículo, epidídimo y glándulas anexas del tracto reproductor, para estudios histopatológicos en formalina al 10% y en congelación para estudios bacteriológicos².

Como testigos sanos se evaluaron sueros sanguíneos de corderos y corderas, de cinco meses de edad, clínicamente sanos.

La determinación de AAS en suero y plasma seminal, se realizó con la prueba de ELISA empleando microplacas sensibilizadas con antígeno de cabeza espermática y el resultado se cuantificó en densidad óptica (DO).

El antígeno se preparó mediante lavados, sonicación y centrifugación del semen para obtener las cabezas espermáticas³.

El inóculo de desafío se preparó con la cepa ATCC 15768 de *A. seminis*, con una concentración de 2.3×10^9 UFC ml.

Se evaluaron las muestras de suero y semen de la semana previa al desafío y de las semenas 2 a la 6 posdesafío.

La extracción del semen se realizó con electroeyaculador.

Para determinar el tipo de inmunoglobulina involucrada en cada caso se emplearon anticuerpos peroxidados anti IgG e IgA de ovino elaborados por los laboratorios Bethyl, Montgomery, USA.

Los resultados se analizaron por ANOVA y parcela dividida.

Resultados y discusión: Los carneros infectados IU, no desarrollaron lesiones en epidídimo pero si presentaron ampulitis y vesiculitis, se recuperó la bacteria del semen, presentaron en forma errática anticuerpos contra *A. seminis* y células de respuesta inmune local aumentadas².

Las DOs fueron mayores en el plasma seminal que en el suero sanguíneo en los 12 animales experimentales a partir de la 3era semana posdesafío ($p < 0.05$).

Mientras no ocurrieron diferencias significativas entre IgG e IgA en suero, en el plasma seminal fue mayor la cantidad de IgG, posiblemente como consecuencia de la trasudación de esta Ig desde el suero sanguíneo al contenido del tracto, en las zonas de lesión del epidídimo y las glándulas anexas. No se presentaron diferencias en las DOs entre estos tres grupos, pero si fueron mayores que las de los corderos machos y hembras testigos ($p < 0.05$), figura 1.

Paradójicamente las corderas evidenciaron DOs mayores que los corderos y la diferencia resultó significativa ($p < 0.05$).

Los altos valores de las DOs de AAS, en los carneros experimentales, confirman que pueden ser parte de la patogenia de la epididimitis, inducida en los IESS por el traumatismo y en los IE e IU por la presencia de la bacteria en el tracto, que si produjo lesión en glándulas anexas².

Igual que en la respuesta de anticuerpos contra *A.seminis*, se presentaron valores más altos en el plasma seminal, que en el suero².

Considerando que los picos más altos en la respuesta de AAS, ocurrieron tres semanas después de la infección, aún en animales sin epididimitis, es posible que estos fueran inducidos por el daño en glándulas anexas y se puede especular que en estas glándulas ocurre el daño primario y que la epididimitis es la lesión clínicamente visible y severa, pero secundaria.

La demostración de AAS en corderas, que no habían sido expuestas al macho, puede atribuirse a mecanismos inmunes de regulación de la diferenciación sexual de las hembras⁴.

Conclusión: Se confirma la participación de las respuestas autoinmunes en la patogenia de la epididimitis, aún en casos sin lesiones aparentes de la enfermedad.

Literatura citada:

- 1- Acosta D, J.; Díaz A., E.; Arellano R.,B.; Tenorio G., V. y Tórtora P., J. (2006) Inducción experimental de epididimitis en ovinos, por inoculación itrauretral con *Actinobacillus seminis*: estudio bacteriológico, serológico e histopatológico. *Téc. Pecu. Méx.*, 44: 257-267.
- 2- Acosta D, J. Díaz Aparicio, E.; Tenorio Gutiérrez, V.; Suárez Güemes, F. y Tórtora Pérez, J. (2007) Determination of pathological changes in the reproductive tract, IgG, IgM and IgA antibodies in blood, seminal plasma and smegma of rams inoculated with *Actinobacillus seminis*. *J. Anim. Vet. Advances* 6: 105-113.
- 3- Eggert-Kruse, W.; Huber, K.; Rohr, G. y Runnebaum B. (1993) Determination of antisperm antibodies in serum samples by means of enzyme-linked immunoabsorbent assay. A procedure to be recommended during infertility investigation. *Hum Reprod.* 8: 1405-1413.
- 4- Flickinger, C.J.; Howards, S.S.; Baran, M.L.; Pessoa N, Herr JC. (1997) Appearance of "natural" antisperm autoantibodies after sexual maturation of normal Lewis rats. *J. Reprod. Immunol.* 33: 127-145.
- 5- Naz, R.K. y Menge, A.C. (1994) Antisperm antibodies: origin, regulation and sperm reactivity in human infertility. *Fertil. Steril.* 61: 1001-1013.

Densidades ópticas de las pruebas de ELISA, empleando el antígeno de cabeza de espermatozoides y los sueros de los grupos experimentales y el de las corderas testigo. No se observan diferencias entre los grupos experimentales, pero sí entre estos y las corderas ($p < 0.05$).