Alteración de la inmunidad celular y humoral en corderas intoxicadas con aflatoxinas

Sanz M.C.[1], Verde M.T.[1], Ramos J.J.[1], Pérez M.[1], Hernández M.[2], Fernández A.[1]
[1]*Depto. Patología Animal, Facultad de Veterinaria, Miguel Servet 177, 50013-Zaragoza*
[2]*Laboratorio de Sanidad Animal y Campañas Ganaderas, Doctor Iranzo 6, 50013-Zaragoza*

INTRODUCCION

Las aflatoxinas son un grupo de micotoxinas producidas por hongos del género *Aspergillus*, principalmente por *A. flavus* y *A. parasiticus* que se pueden encontrar en los piensos (Pier, 1992). Las aflatoxinas producen una deficiencia en la respuesta inmune que varía ampliamente dependiendo de la especie animal, dosis, tiempo de intoxicación y alimentación. Hay experimentos que sugieren que durante la aflatoxicosis la respuesta inmune celular se encuentra más afectada que la inmunidad humoral (Tuekam et al., 1994). Los estudios realizados en aves (Kadian et al., 1988) y en cerdos intoxicados (Van Heugten et al., 1994) señalan una disminución en la respuesta inflamatoria frente a antígenos. Generalmente, el ganado ovino se había considerado como una de las especies más resistentes a los efectos tóxicos de las aflatoxinas, pero hay recientes estudios que demuestran que los animales jóvenes son muy sensibles a la intoxicación (Saez et al., 1993). Sin embargo, no hay ningún trabajo que estudie *in vivo* la respuesta inmunitaria mediada por células en rumiantes intoxicados frente aflatoxinas. Este trabajo describe la alteración de la inmunidad celular y la humoral valorada mediante la respuesta frente a fitohemaglutinina y actividad bactericida del suero en corderas intoxicadas con 2 ppm de aflatoxinas y después de un período de desintoxicación.

MATERIAL Y METODOS

Animales: 36 corderas (Romanov x Fleichaf) de 5 meses de edad y de 27±2,9 kg pv se alojaron en las instalaciones del Servicio de Apoyo a la Experimentación Animal de la Universidad de Zaragoza. Disponían de agua y pienso *ad libitum*.

El lote intoxicado lo constituyeron 24 corderas que consumían un pienso intoxicado con 2 ppm de aflatoxinas y el lote control, 12 corderas sin aflatoxinas en el pienso. El período de intoxicación duró 37 días y el de aclaramiento 35 días. Se sacó sangre de la yugular en el día 0, 7, 14, 23, 30 y 37. En el laboratorio se obtuvo el suero y se guardó a -20ºC hasta su análisis. Para elaborar la toxina se utilizó la cepa de *A. parasiticus* NRLL 2999 según la metodología descrita previamente (Fernández et al., 1994).

Reacción de hipersensibilidad retardada (DTH): Se realizó el día 30 de intoxicación y el día 30 de aclaramiento. Se inoculó vía intradérmica a cada

cordera con 0,1 ml de una solución de fitohemaglutinina (PHA, Sigma, 2,5 mg/ml en SSF) en la axila izquierda. Se inculó 0,1 ml de SFS como control. La medida del grosor de la piel (con un calibrador Hauptner) se tomó en el momento de la inyeccion (T0) a las 12 h (T12), 24 h (T24) y 48 h (T48) después. Los resultados se expresan como la ratio entre el grosor de la piel con el antígeno frente al grosor de la piel con el control.

Actividad bactericida del suero: Se siguió el método descrito por Thurston et al., (1986). Brevemente, se utilizó una cepa de *E. coli* rugosa, gentilmente cedida por el Dr. J.J. Carramiñana. El método consiste en medir la inhibición del crecimiento de una determinada concentración de gérmenes en caldo TSB. El crecimiento del organismo se determina midiendo la transmitancia a 540 nm.

RESULTADOS Y DISCUSION

La reacción intradérmica frente a fitohemaglutinina presenta una buena relación lineal con el test *in vitro* de linfoblastogénesis (Blencha et al., 1983) por lo que es muy útil como prueba clínica de inmunidad celular sin tener que utilizar marcadores radiactivos ni laboratorios especiales. En la tabla 1 se muestran los resultados, observándose una disminución del grosor de la piel ($P<0,05$) a las 12 y 24 horas en corderas que llevaban 30 días intoxicadas. Estos resultados están de acuerdo con las pruebas DTH realizada en pollos (Kadiam et al., 1988; Tuekam et al., 1994) y en cerdos (Van Heugten et al., 1994) en los que se observaba que la disminución de la reacción era dependiente de la dosis de aflatoxinas. A los 30 días de aclaramiento no se observó ninguna variación significativa ($P>0,05$) en el grosor de la piel. Esto indica que no hubo ningún efecto residual de la intoxicación sobre la inmunidad celular, y sólo Kadiam et al., (1988) observaron un efecto residual al menos durante tres días después de la desintoxicación.

Tabla 1: *Prueba de hipersensibilidad retardada con fitohemaglutinina en corderas intoxicadas con aflatoxinas y control. Ratio grosor de la piel con el antígeno/SSF.*

Hora	30 días de intoxicación		30 días de aclaramiento	
	Intoxicado	*Control*	*Intoxicado*	*Control*
0	1,21±0,24	1,31±0,2	1,19±0,21	1,06±0,14
12	2,78±0,97*	3,51±1,05	2,31±0,62	2,39±0,23
24	2,47±0,52*	2,93±0,67	2,32±0,88	2,62±1,08
48	1,98±0,7	1,74±0,71	2,23±0,67	2,18±0,65

*P<0,05. Grupo intoxicado n=24, control n=12

Estos resultados pueden tener importancia práctica porque algunas pruebas de diagnóstico mediante test de hipersensibilidad retardada, como el brucelergeno en ganado ovino para el diagnóstico de brucelosis (Blasco et al., 1994), se pueden encontrar disminuídas como consecuencia de una intoxicación por aflatoxinas.

La actividad bactericida del suero se encontró afectada como consecuencia de la intoxicación por aflatoxinas como se observa en la figura 1. El valor de la trasnmitancia de los sueros intoxicados fue inferior al de los controles lo cual indicaba menor actividad bactericida del suero. Hay estudios que demuestran que las aflatoxinas disminuyen la concentración del complemento de cobayos (Thurston y Richard, 1979) y de ganado vacuno (Thurston et al., 1986), lo que puede producir una disminución de la capacidad bactericida del suero, ya que es una propiedad dependiente del complemento, necesitándose la integridad de todos sus componentes y lisozimas (Taylor, 1983). Las infecciones por gérmenes G- son frecuentes y como consecuencia de una aflatoxicosis puede observarse un aumento de la susceptibilidad de los animales frente a estas infecciones.

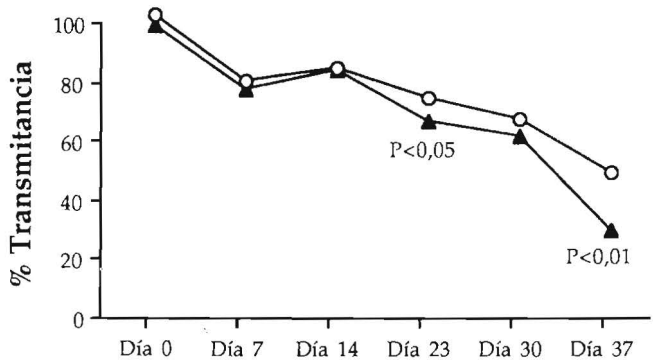


Figura 1: *Actividad bactericida del suero de corderas intoxicadas con aflatoxinas (* ——▲—— *) y control (* ——o—— *) durante 37 días. Grupo intoxicado n=24, control n=12.*

Agradecimientos: Este trabajo se ha financiado con una Ayuda de Apoyo a la Investigación de la Universidad de Zaragoza (nº 21-883).

BIBLIOGRAFIA

Blasco J.M. et al. (1994). J. Clin. Microbiol., 32, 1835-1840.

Blencha F. et al. (1983). J. Anim. Sci., 56, 396-400.

Fernández et al. (1994). Avian Pathol., 23, 37-47.

Kadian, S. K., et al. (1988). Mycopathologia, 104, 33-36.

Pier A.C. (1992). J. Anim. Sci., 70, 3964-3967.

Saez T. et al., (1993). XVIII Jornadas Científicas de la SEOC.

Taylor P.W. (1983). Microbiol. Reviews, 46-83.

Thurston J.R. et al., (1986). Am. J. Vet. Res., 47, 846-849.

Thurston J.R., Richard J.L. (1979). A,. J. Vet. Res., 40, 1206-1208.

Tuekan T.D. et al. (1994). J. Appl. Anim. Res., 6, 27-35.

Van Heugten E. et al. (1994). J. Anim. Sci., 72, 658-664.