

## INMUNOPATOGENIA DE LOS GRANULOMAS PRODUCIDOS POR MICOBACTERIAS DE INTERÉS VETERINARIO EN ESPECIES ANIMALES PRODUCTORAS DE ALIMENTO

Investigadores USAL:

Director Delgado, Fernando (fernando.delgado@usal.edu.ar); Blanco Viera, Francisco Javier

### Resumen

*Mycobacterium bovis* y *M. avium* subsp *paratuberculosis* son agentes causales de tuberculosis (TB) y paratuberculosis (PTB) en bovinos, las cuales afectan la producción animal y la salud pública. Aunque ambos producen inflamación granulomatosa, poco se conoce de su patogenia tras la infección natural debido al prolongado período de incubación.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el perfil de respuesta inmune desarrollado tras la infección natural por ambas micobacterias. Se analizaron muestras de 5 bovinos con lesiones de TB (2 de hígado, 2 de ganglio linfático y 1 de cerebelo) y 6 de animales con PTB (íleon).

Los tejidos con TB (excepto el cerebelo) mostraron autólisis. Se evaluó la presencia de lesiones microscópicas y micobacterias mediante las coloraciones con hematoxilina, eosina, y de Ziehl Nielsen, y se determinó la expresión de las citoquinas IL10,  $\beta$ TGF,  $\alpha$ TNF y  $\gamma$ INF mediante inmunohistoquímica (IHQ). Las lesiones microscópicas observadas fueron similares a las descritas para ambas enfermedades, con lo cual se confirmó la autólisis descrita en 4 casos de TB. Las lesiones de TB fueron granulomas multifocales con necrosis de tamaño variable.

Por su parte, en los casos de PTB se detectó enteritis granulomatosa difusa. Se encontraron bacilos ácido-alcohol resistente (BAAR) en el citoplasma de macrófagos de los 11 animales, escasos en aquellos con TB y abundantes en los que padecían PTB. No se observó inmunomarcación para ninguna citoquina en ningún animal con lesiones de TB. Por el contrario, se evidenció marcación intensa frente a todas las citoquinas en los casos con PTB.

Los resultados obtenidos indican que la técnica de IHQ empleada permite la detección de las citoquinas de interés. La ausencia de inmunotinción en los casos de TB podría relacionarse con una baja expresión de las citoquinas analizadas en este tipo de lesiones, como también con el proceso de autólisis observado, el cual afectaría la integridad de estos mediadores. La detección de citoquinas de efecto pro y antiinflamatorio en los animales con PTB confirman el desarrollo de un proceso inflamatorio complejo. La abundante expresión de  $\alpha$ TNF y  $\gamma$ INF explicaría la extensión de la lesión, mientras que la presencia de  $\beta$ TGF e IL10 podría relacionarse con la supervivencia y proliferación de los BAAR observados. Futuros estudios serán necesarios para determinar la diferente expresión de citoquinas en tejidos con lesiones de TB y PTB en diferente estadio de desarrollo.

**Palabras clave:** salud animal; inflamación granulomatosa; patogenia

**Abstract**

Tuberculosis (TB) and Paratuberculosis (PTB) in cattle, caused by *Mycobacterium bovis* and *M. avium* subsp *paratuberculosis* respectively, induce granulomatous inflammation in affected tissues. However, pathogenesis after natural infection remains unknown.

The aim of this study was to evaluate the immune response profile developed after the infection by both agents. Samples from 5 cows with TB (2 from liver, 2 from lymph nodes and 1 from cerebellum) and 6 with PTB (ileum) were analysed.

Tissues with TB lesions (except the cerebellum) were autolysed. Microscopic changes, presence of acid fast bacilli (AFB) and expression of IL10,  $\beta$ TGF,  $\alpha$ TNF and  $\gamma$ INF were evaluated by hematoxilin/eosin and Ziehl Nielsenn staining and by immunohistochemistry. The microscopic changes found were similar to those described for TB and PTB, and the autolysis grossly described was confirmed in the TB tissues. TB changes were multifocal granulomatous inflammation with necrosis.

All animals with PTB showed diffuse granulomatous enteritis. Intracytoplasmic AFB were found in all tissues, scanty in TB cases and numerous in PTB animals. Immunostaining was negative for all cytokines in all TB samples, and strongly positive for all cytokines in the PTB cases. The lack of immunostaining in cases of TB could be originated by the low expression of the studied cytokines in this type of granuloma, or by the autolysis process which might affect the integrity of these molecules. The detection of high levels of cytokines with pro and anti-inflammatory effect in tissues with PTB changes confirm that pathogenesis of PTB development is hard to determine. The  $\alpha$ TNF and  $\gamma$ INF levels would explain the diffuse extension of lesions, and the levels of  $\beta$ TGF and IL10 could be related with the survival and proliferation of AFB within the macrophages. Further studies are necessary to determine the cytokine's expression in TB and PTB affected tissues at different stages after infection.

**Keywords:** animal health; granulomatous inflammation; pathogenesis