

" XXI REUNION NACIONAL DE AMVEC 86 "

Título: "COMPARACION DEL EFECTO CITOTOXICO DE LA TOXINA TERMOLABIL DE CTNCO
SEROTIPOS DE HAEMOPHILUS PLEUROPNEUMONIAE SOBRE MACROFAGOS ALVEOLARES DE CERDO"

Autor (es): GARCIA M.del C.; PLJOAN C.; FUENTES M.

Institución (es): EES CUAUITITLAN U.N.A.M.; UNIVERSIDAD DE MINNESOTA

Area: SANIDAD ANIMAL

INTRODUCCION.

HAEMOPHILUS pleuropneumoniae es un patógeno primario para el cerdo en el cual provoca neumonía hemorrágica necrosante, en ocasiones asociada a pleuritis fibrinosa.

Existen nueve serotipos de H. pleuropneumoniae. Los serotipos más frecuentes en Norteamérica son los serotipos 1,5 y 7. En México el serotipo 1 parece ser el más frecuente.

Se ha observado cierta diferencia en la virulencia de los diversos serotipos. El serotipo 3 muestra menor virulencia, cuando se comparan las lesiones causadas por éste, en cerdos S.P.F. y las causadas por los serotipos 1,2 y 7.

Los sobrenadantes de cultivo de H. pleuropneumoniae libres de la bacteria son capaces de producir neumonía localizada, similar microscópicamente a la neumonía causada por la infección espontánea en el cerdo.

Existen contradicciones respecto a las características de la toxina. Bauer reporta una toxina termoestable, hemolítica de peso molecular de 200mil MW. Mientras de Boyd, reporta que se trata de una toxina termosensible, no hemolítica y de peso molecular de 10-20 mil MW.

Objetivo

Evaluar el efecto citotóxico de los sobrenadantes de cultivo de diferentes serotipos de Haemophilus pleuropneumoniae, sobre macrófagos alveolares de cerdo.

Material y Metodos

Se utilizaron los sobrenadantes de cultivo de cinco diferentes serotipos de H. pleuropneumoniae (1,3,5,6,7 y la cepa Bes-1). Las cepas se crecieron en medio BHI suplementado con NAD, levadura y suero de caballo inactivado.

La toxicidad de tales sobrenadantes se probó sobre monocapas de macrófagos alveolares de cerdo, obtenidos por lavado traqueobronquial y mantenidos 48 hrs en cajas plásticas de cultivos celulares (COSTAR) con medio RPMI-1640 suplementado con suero fetal bovino y con antibióticos.

Los macrófagos se expusieron durante 18 hrs. a una dil. 1:10 de los sobrenadantes, incubándose a 37°C con atmósfera de CO₂.

Pasado el tiempo de incubación se tiñeron las placas conteniendo a los macrófagos, con una sol. 1:20 de azul de tripan, para determinar viabilidad.

RESULTADOS

Se encontró que los sobrenadantes de los serotipos 1 y 5, así como la cepa Bes-1, eran los que provocan un mayor porcentaje de mortalidad en los macrófagos alveolares de cerdo y que la producción de esta toxina termolábil se presenta dentro de las primeras 18 hrs. de cultivo bacteriano.

Ver tablas I

Discusión

Rosendal y Nicolet comentan las diferencias en virulencia de los diversos serotipos de H. pleuropneumoniae en base a la gravedad de las lesiones causadas en pulmón y a la dosis necesaria de cada serotipo para producir tales lesiones.

Aquí mostramos que la citotoxicidad sobre macrófagos alveolares de cerdo que producen los sobrenadantes de los serotipos 1,3,5,6,7 y la cepa Bes 1 (serotipo 1) difieren. Nos muestran que los serotipos 5,6 y 7 presentan toxicidad similar. En cambio el porcentaje de mortalidad causado por el serotipo 1 es mayor. El serotipo 3 es un caso muy especial pues parecería ser que esta toxina aun- que si bien es producida por tal serotipo no resulta ser un factor de patogeni- cidad considerable, para el serotipo 3 que es de baja virulencia.

Tabla I. Porcentajes de Mortalidad, promedio de cinco ensayos.

<u>H. pleuropneumoniae</u> serotipos:	Sobrenadante de 8 hrs.
1	97.8%
3	87.5%
5	67.3%
6	84.5%
7	93.8%
Bes-1	95.3%