

**TITULO: DETERMINACION DE PATRONES ANTIGENICOS DE EXTRACTOS
MEMBRANALES DE CUATRO SEROTIPOS DE Haemophilus
(Actinobacillus) pleuropneumoniae USADO INMUNOTRANSFERENCIA.**

AUTORES: ROMERO R. A. , CAMACHO M. J. Y MONTARAZ J. A.

**INSTITUCION: COORDINACION GENERAL DE INVESTIGACION Y
ESTUDIOS DE POSGRADO. FES-CUAUTITLAN. UNAM.**

AREA: SANIDAD ANIMAL

INTRODUCCION

Son grandes las pérdidas que representan las enfermedades neumónicas del cerdo a los porcicultores; entre los agentes causantes de esta enfermedad destaca el Haemophilus (Actinobacillus) pleuropneumoniae. Son variados los estudios realizados a los antígenos de esta bacteria, que incluyen la cápsula (1,2,3), el lipopolisacárido (3) y la hemolisisna, sin embargo el problema es más complejo debido a la presencia de diversos serotipos (6).

OBJETIVOS

a) Establecer el patrón antigénico de extractos membranales de cuatro diferentes serotipos de Haemophilus (Actinobacillus) pleuropneumoniae (1,2,5, y 7) utilizando Inmunotransferencia con sueros hiperinmunes de conejo y sueros de cerdos Hp positivo.

METODOLOGIA

Los extractos membranales fueron preparados mediante una novedosa y sencilla metodología usando Tritón X100 como agente solubilizante. Estas muestras se corrieron en geles discontinuos de poliacrilamida (7) y transferidos a papeles de nitrocelulosa (8) cada extracto membranal fué enfrentado a sueros hiperinmunes de conejo serotipo específico (1 al 8) y sueros de cerdo Hp positivo, la reacción fué detectada con sueros anticonejo y anticerdo peroxidados, usando alfa-cloronaftol como revelador.

RESULTADOS

1- En el enfrentamiento con los sueros hiperinmunes de conejo y los diferentes serotipos, los antisueros reconocieron 4 proteínas principales:

a) Del serotipo 1: 23kd, 30kd, 47kd y 55kd.

b) Del serotipo 2: 23kd, 30kd, 47kd y 71kd.

c) Del serotipo 5: 18kd, 32kd, 60kd y 80kd.

d) Del serotipo 7: 29kd, 56kd, 62kd, 74kd y 81kd.

2- Dentro de los marcadores de la seroespecificidad del Haemophilus (Actinobacillus) pleuropneumoniae no solamente se encuentran involucradas la cápsula de la bacteria sino un

grupo de proteínas que se encuentran dentro de los siguientes pesos moleculares:

- a) Serotipo 1: 29kd y 81kd.
 - b) Serotipo 2: 25kd.
 - c) Serotipo 5: 30kd.
 - d) Serotipo 7: 21kd, 33kd, 35kd y 36kd.
3. Las siguientes proteínas fueron reconocidas solamente por los sueros de cerdo y no por los sueros de conejo:
- a) Serotipo 2: 27kd.
 - b) Serotipo 5: 41kd, 72kd y 78kd.
 - c) Serotipo 7: 81kd.

CONCLUSIONES

1. El hecho de que los antisueros reconocieron proteínas comunes en todos los extractos membranales, nos sugiere que si hay similitud antigénica entre los serotipos de Hp y por lo tanto la posibilidad de un inmunógeno polivalente.
2. Se encontraron proteínas en los extractos membranales que sólo fueron reconocidas por el antisuero homólogo (serotipoespecíficas).
3. Se detectaron proteínas que eran detectadas por el suero de una de las especies animales que se trabajaron (conejo y cerdo).

BIBLIOGRAFIA

1. Romero, R.A., Calzada F.P. y Camacho M.J. (1985). Aislamiento y ensayo de la antigenicidad del Polisacarido Capsular del sobrenadante de un Cultivo de *H. pleuropneumoniae*, serotipo 5. Tesis de Licenciatura, FES-Cuatutitlán, UNAM, México.
2. Altaman E. et al. (1987). Structural studies of the capsular polysaccharide from *H. pleuropneumoniae* serotype 5.
3. Fenwick, B.W. et al. (1986). Immunoresponses to the lipopolysaccharide and capsular polysaccharide of *H. pleuropneumoniae* in convalescent and immunized pigs. *Inf. Imm.* 575-582.
4. Bendixen H. (1981). Toxicity of *H. pleuropneumoniae* for porcine lung macrophages peripteral blood monocytes and testicular cells. *Inf. Imm.* 33,3. 673-676.
5. Kume K. et al. (1986). Interaction between heat-stable hemolytic substance from *H. pleuropneumoniae* and porcine pulmonary macrophages in vitro. *Inf. Imm.* 51, 563-579.
6. Shultz, R.A. (1985). Compendium on Swine *H. pleuropneumoniae*. Annual Meeting of the American Association, Des Moines, Iowa.
7. Mittal, K.R. et al (1983). Determination of antigenic specificity and relationship among *H. pleuropneumoniae* by an indirect hemagglutination test. *J. Clin. Microb.* 17, 787-790.
8. Towbin H. et al. (1979). Electrophoretic transfer of proteins from polyacrilamide gels to nitrocellulose sheets procedure and some applications. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 76, 4350.

9. Atilano D. y Montaraz J.A. (1988). Estudio comparativo de dos cepas de Bordetella bronchiseptica mediante un método sencillo de Inmunotransferencia. Memorias, Reunión de Investigación Pecuaria, 29 Nov. México. D.F.