

APENDICES EXTRACELULARES EN Actinobacillus pleuropneumoniae
AISLADOS DE CASOS AGUDOS DE PLEURONEUMONIA PORCINA CONTAGIOSA.

GARIBAY, E.J., CIPRIAN, C.A., MENDOZA, E.S., GONZALEZ, G.S.,
HERNANDEZ-BAUMGARTEN, E.

COORDINACION GENERAL DE ESTUDIOS DE POSGRADO, FACULTAD DE
ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN, UNAM.

AREA: SANIDAD ANIMAL.

CATEDRA: AFECCIONES BACTERIANAS Y VIRALES DEL CERDO.

A) **INTRODUCCION:** Los mecanismos de patogenicidad hacia la superficie de las mucosas y tejidos, están generalmente mediados por una variedad de complejos poliméricos que se encuentran en la superficie bacteriana. Estos compuestos son generalmente descritos con el término de adhesinas, las cuales pueden estar constituidas por proteínas, polisacáridos, ácidos lipotéicoicos o conjugados de estos. Las adhesinas se han descrito y caracterizado tanto a nivel molecular como genético, y los estudios han mostrado que son proteínas. Estas adhesinas protéicas tienen la capacidad de interaccionar con receptores específicos de la célula huésped iniciándose de este modo el proceso de colonización. Las fimbrias son apéndices extracelulares que se involucran en dos funciones importantes: los pilis en la adherencia y los pilis sexuales en el fenómeno de recombinación genética en la conjugación bacteriana (1,4).

B) **OBJETIVO:** Determinar la presencia de fimbrias mediante Microscopía Electrónica en Actinobacillus pleuropneumoniae a partir de aislamientos originales hasta el tercer pase.

C) **MATERIALES Y METODOS:** Se obtuvieron 23 pulmones de cerdo que presentaban lesiones de Pleuroneumonía Contagiosa Porcina, a partir de cuatro zonas color rojo oscuro de un mismo pulmón, se hicieron los aislamientos de Actinobacillus pleuropneumoniae, (total de 92 muestras trabajadas para el aislamiento). Los pulmones se guardaron en congelación a -70 C para posteriores estudios. Para el aislamiento primario se utilizó Agar Sangre, preparado con Agar BHI y glóbulos rojos de bovino al 5%. El factor V (NAD) fué proporcionado por una cepa de Staphylococcus aureus. Todas las muestras fueron incubadas durante 12 a 18 horas a 37 C. Las colonias típicas, dependientes y positivas al fenómeno CAMP, se serotipificaron con los antisueros del 1, 3, 5 y 7 de Actinobacillus pleuropneumoniae, posteriormente fueron fijadas con solución de glutaraldehído-rojo de rutenio por 30 minutos, centrifugadas y resuspendidas en solución Buffer de fosfatos (Sorensen) 0.2M pH 7.2, absorbidas en rejillas de cobre (Mesh 100) y teñidas con ácido fosfotúngstico (1% en buffer de fosfatos pH 7.2) por 10 minutos (5). Todas las muestras fueron examinadas con el Microscopio Electrónico de Transmisión JEM-100S (JEOL LTD, Tokio Japón) a 60 Kv, evaluándose un número de 100 células por rejilla. Lo mismo se realizó con cada uno de los siguientes pases hasta completar tres, en medio de BHI con levadura al 10% sin sangre.

D) **RESULTADOS.** De los 23 pulmones trabajados, en algunas ocasiones se aislaba de las cuatro muestras, mientras que en

otras solo de una; de tal manera que se recuperaron 23 actinobacilos. La mayoría de los aislamientos correspondieron al serotipo 1 y en menor proporción al serotipo 3. El análisis reveló que en 12 cepas (52.17%) de las 23 muestras de pulmón se observaron apéndices extracelulares. Una proporción elevada de células fimbriadas se observaron en bacterias del primoaislamiento, una proporción no significativa en el segundo cultivo en agar BHI y la ausencia total de ellas en los pases restantes. El porcentaje de células fimbriadas en cada uno de los aislamientos varió desde un 25 hasta un 80%, La distribución de las fimbrias en el cuerpo bacteriano fué en forma períttrica y/o aleatoria. Este estudio presenta un análisis morfológico detallado de estas estructuras, encontrándose que existieron un alto grado de variabilidad, ya que median de 2 a 7 nm de diámetro, mientras que en su longitud osciló entre 0.5 a 6 micras. No obstante, el diámetro de fimbria que con mayor frecuencia se encontró fué de 4 nm con una longitud de 0.5 a 1.0 micras.

E) DISCUSION: El mayor número de células "fimbriadas" se observaron en los primoaislamientos con agar sangre, sin embargo en los siguientes pases en medio de BHI solo, el número de células fimbriadas fue de tan solo el 3% Se han observado fimbrias en la especie de Haemophilus parainfluenzae que se ha desarrollado en BHI (3), en nuestro estudio no fue así. En el presente pocas investigaciones han reportado la adherencia de Actinobacillus pleuropneumoniae a estructuras no fimbriadas (2), mientras que otros reportan la presencia de fimbrias adherentes en Actinobacillus pleuropneumoniae y que se pierden en pases subsecuentes (5), en este estudio, muestran que únicamente han encontrado fimbrias con un diámetro de hasta 2 nm, no obstante, en el presente estudio, nosotros hemos encontrado fimbrias que oscilan de entre 2 a 7 nm de diámetro, lo cual nos sugiere, que posiblemente Actinobacillus pleuropneumoniae pudiera estar expresando en el cerdo las dos clases de estructuras fimbriales, que se han encontrado en Escherichia coli: la "rígida" que posee diámetro de entre 5 a 7 nm y que está involucrada en la conjugación; y la forma "flexible" con diámetros de hasta 2 nm, involucradas únicamente en la adherencia (4). Sin embargo, hace falta caracterizarlas y determinar con precisión el tipo de fimbria que se está expresando. No se descarta el hecho de que Actinobacillus pleuropneumoniae presente fimbria de tipo sexual para la conjugación bacteriana (1), por lo pronto, la presencia de fimbria de conjugación debe considerarse como un factor más de patogenicidad en la Pleuroneumonía Contagiosa Porcina.

BIBLIOGRAFIA:

- 1.- Frost, S.L., 1992. Bacterial Conjugation: Everybody's doin'it. Can. J. Microbiol., 38: 1091-1096.
- 2.- Jacques, M., Belanger, M., Geneviève R. and Foiry B., 1991. Adherence of Actinobacillus pleuropneumoniae to Porcine Tracheal cells and Frozen Lung Sections. Vet. Microbiol., 27:133-143.
- 3.- Klaus, J. and Hoschützky., 1991. Characterization and Surface organization of E.coli adhesins. In: Ron, E.Z., and S. Rottem (Editor), Microbial Surface Components and Toxins in Relation to Pathogenesis, Plenum Press, New York, pp 3-10.

4.- Kahn, E.M., Gromkova, R., 1981. Occurrence of Pili on and Adhesive Properties of Haemophilus parainfluenzae. J. Bacteriol., 145: 1075-1078.

5.- Utrera, V., Pijoan, C., 1991. Fimbriae in A. pleuropneumoniae Strains Isolated from Pig Respiratory Tracts. Vet. Record., 128: 357-358.

J. - Kisev, J. and Novotny, J., 1991. Characterization and Surface Organization of E. coli Adhesins. In: Ron E. and S. Kottam (eds), Microbial Surface Components and Toxins in Relation to Pathogenesis. Plenum Press, New York, pp 3-10.