

## RATONES COMO POSIBLES VECTORES DE *Brachyspira hyodysenteriae* Y *Brachyspira pilosicoli* , DESARROLLO DE UN MODELO DE COLONIZACIÓN

<sup>1</sup>Corona E\*, <sup>2</sup>Bernardeau M, <sup>3</sup>Thomson J y <sup>4</sup>Smith D.

<sup>1</sup>ZAP-University of Edinburgh, Scotland, UK y CIESA-UAEM, Toluca, México; <sup>2</sup>University of Caen, France; <sup>3</sup>VIC-Scottish Agricultural College, Scotland UK; <sup>4</sup>Moredun Research Institute, Scotland, UK

### Introducción

La patogénesis de agentes bacterianos puede variar por factores como susceptibilidad del animal a infecciones, cepa y grado de pasaje, dosis infectante, y dieta. Colonización a nivel experimental de cerdos gnotobióticos, pollos y ratones con espiroquetas intestinales (EI) se ha hecho en varios estudios (2,3). Las líneas de ratón C<sub>3</sub>H/HeJ y C<sub>3</sub>H/HeN han mostrado mayor susceptibilidad a infección por *B. hyodysenteriae* que las líneas DBA/1J and BALB/cByJ (2). Similarmente, la línea C<sub>3</sub>H/HeJ (alta susceptibilidad a LPS) mostró mayor respuesta a la infección con *B. pilosicoli* que la línea C<sub>3</sub>H/HeOuJ (baja susceptibilidad a LPS) (3). El objetivo de este estudio fue desarrollar un modelo de colonización con *B. hyodysenteriae* y *B. pilosicoli* en ratones convencionales (129 Sv/Ev) y de línea consanguinea (C<sub>3</sub>H/HeN).

### Material y Métodos

*B. pilosicoli* ATCC-51139, NCTC 12874 y el aislamiento P784 de *B. hyodysenteriae* se propagaron en 5 ml de infusión cerebro corazón (ICC) + 5.0 % de suero de conejo mediante incubación anaerobia a 42 °C por 48 hrs. Seis grupos (3 o 6 por jaula) de ratones 129 Sv/Ev y C<sub>3</sub>H/HeN fueron inoculados oralmente con 0.25 ml del cultivo conteniendo aproximadamente 10<sup>7</sup>-10<sup>9</sup> células espiroquetales/ml. No hubo restricción de acceso a comida/agua a ratones antes ni después de ser inoculados, y fueron alimentados con alimento comercial. Muestras de heces fueron tomadas 3 veces / semana desde 2 dpi y diluidas por diluciones 10-seriadas, de las cuales inoculos (10 µl) por triplicado fueron sembrados en medio de cultivo selectivo, incubados en anaerobiosis a 42 °C por 3-4 días para detectar *B. hyodysenteriae* y *B. pilosicoli* y estimar números de células espiroquetales/g de heces.

### Resultados y Discusión

El aislamiento P784 de *B. hyodysenteriae* fue recuperado en cultivo de todos los ratones inoculados (45/45) desde 2 dpi y la excreción de EI fue detectada hasta 56 dpi, lo que sugirió que una vez establecida la colonización con esta espiroqueta es mantenida por largo periodo de tiempo. Los números de *B. hyodysenteriae* excretados de ratones 129 Sv/Ev fueron 1x10<sup>6</sup>/g heces, ligeramente menores a 1x10<sup>7</sup>/g heces excretados por ratones C<sub>3</sub>H/HeN. En estudios previos

se ha mostrado que ratones C<sub>3</sub>H/HeN son más susceptibles a la infección por *B. hyodysenteriae*, mientras que otras líneas de ratón como la BALB/cByJ pueden ser incluso completamente refractarios a la infección (2). Contrariamente, todas las muestras de los ratones 129 Sv/Ev inoculados con *B. pilosicoli* ATCC-51139 y NCTC-12874 fueron cultivo negativas a pesar de observar hasta 20 células espiroquetales/campo microscópico en frotis de muestras tomadas 18 dpi. Las razones de eso no son claras pero pudo deberse al alto pasaje (>50 veces) de las cepas usadas, ya que esas cepas fueron subcultivadas cada cinco días por un periodo aproximado de 8 meses (adaptabilidad al laboratorio). Sin embargo, el desafío inicial de ratones C<sub>3</sub>H/HeN con *B. pilosicoli* ATCC-51139 produjo una tasa de reaslamiento de 33.3 % (2/6 grupo IVa), esos aislados (bajo pasaje) rederivados fueron usados para inocular grupos subsiguientes de ratones, incrementándose la tasa de reaslamiento a 50.0 % (3/6, grupo IVb), y del grupo subsiguiente inoculado con aislados rederivados se obtuvo una tasa de reaslamiento de 100 % (6/6 grupo VI). Estos resultados concuerdan con otros estudios que reportan también 100 % de reaslamiento de *B. pilosicoli* de ratones C<sub>3</sub>H/HeN (3). Un estudio reciente reportó un fallo en la colonización de ratones con *B. pilosicoli* alimentados con alimento comercial (1). En el presente estudio la colonización de ratones convencionales y C<sub>3</sub>H/HeN con *B. hyodysenteriae*, y ratones C<sub>3</sub>H/HeN con *B. pilosicoli* se reprodujo independientemente de ser alimentados con alimento comercial, indicando con esto que la colonización se estableció a pesar del tipo de dieta. El hecho que *B. hyodysenteriae* y *B. pilosicoli* colonizan satisfactoriamente ratones podría ser fuente de infección y posibles vectores de EI para cerdos y humanos en el caso de *B. pilosicoli*.

### Referencias

- Jamshidian et al., (2003). *Proceed. 2<sup>nd</sup> Int. Conf. Intestinal Spirochaetes, A pril, Edinburgh, Scotland*
- Nibbelink and Wannemuehler, M.J. (1991). *Infect. Immun.*, 59(9): 3111-3118
- Sacco et al., (1997). *Infect. Immun.*, 65(12): 5349-5353.

### Reconocimientos

Sorbial (Francia) financió este estudio. Se agradece al personal del bioterio de Summerhall-Edinburgh University.

**Cuadro 1. Reaslamiento de *B. hyodysenteriae* y *B. pilosicoli* de heces de ratones inoculados con estas bacterias.**

Grupo	Tipo ratón	Cepa	4 dpi	10 dpi	20 dpi	56 dpi	EI/g heces
I	9 conven.	<i>B. pilo</i> ATCC-51139					
II	6 conven.	<i>B. pilo</i> NCTC-12874			-ve		NR
III	3 conven.	<i>B. hyo</i> P784	3/3	3/3	3/3	3/3	10 <sup>4</sup> -10 <sup>6</sup>
IV	A 6 C <sub>3</sub> H	<i>B. pilo</i> ATCC-51139	2/6	NR	NR	NR	NR
	B 6 C <sub>3</sub> H	<i>B. pilo</i> ATCC-51139 (RD)	2/6	3/6	1/6	NR	NR
IV	A 6 C <sub>3</sub> H	<i>B. hyo</i> P784	6/6	6/6	NR	NR	10 <sup>4</sup> -10 <sup>7</sup>
	B 6 C <sub>3</sub> H	<i>B. hyo</i> P784	6/6	6/6	6/6	NR	10 <sup>4</sup> -10 <sup>7</sup>
V	24 C <sub>3</sub> H	<i>B. hyo</i> P784	24/24	24/24	24/24	NR	10 <sup>4</sup> -10 <sup>7</sup>
VI	6 C <sub>3</sub> H	<i>B. pilo</i> ATCC-51139 (RD)	6/6	6/6	6/6	NR	10 <sup>4</sup> -10 <sup>7</sup>
	6 C <sub>3</sub> H	<i>B. hyo</i> P784	6/6	6/6	6/6	NR	10 <sup>4</sup> -10 <sup>6</sup>

RD= aislamientos re-derivados de grupos de ratones inoculados previamente; NR= no realizado

