

DESARROLLO DE UN MODELO DE COLONIZACION-PATOGENICIDAD DE *Salmonella* sp. serovar Choleraesuis EN RATÓN CONVENCIONAL, ASPECTOS PATOLÓGICOS

Corona, E⁵., Trujano, M¹., Pradal-Roa, P²., Sahagún, A²., Carrera, E³., Diosdado, F³., Socci, G³., Martínez, A³.; Galván, E²., Mercadillo, A²., Aguilar, M⁴., Segura, R²., y Vázquez, J³.

¹LeSaffre, Toluca, México; ²FMVZ-UNAM, México, D.F. México; ³CENID-Microbiología, INIFAP, Palo Alto, México D.F. México; ⁴Instituto Nacional Virología, México, D.F. México; ⁵Investigador Independiente, México, D.F. México. enriquecoronas@gmail.com

Introducción

Salmonella sp. serovar Choleraesuis es un patógeno importante para el cerdo, causa infección no tifoide en intestino grueso y septicemia. Estudios *in vivo* son necesarios para conocer relación entre *Salmonella* y el hospedero. Un modelo de *S. Typhimurium* desarrollado en ratón ayudo a explicar la patogenicidad después que los ratones mostraron una inflamación intestinal aguda (1). En otro estudio de *S. Typhi* en ratón se encontró que las cepas carentes de toxina no colonizaron, mostrando que la toxina es importante en la patogénesis (3). El objetivo de este trabajo fue desarrollar un modelo de colonización-patogenicidad de *S. Choleraesuis* en ratón convencional.

Material y Métodos

El estudio se realizó en unidad de trabajo con animales de laboratorio del Cenid-Microbiología, Palo Alto-INIFAP, Mx. Los ratones tenían acceso libre a agua y alimento y fueron alojados en cajas de fibra de vidrio en grupos de 6. *S. Choleraesuis* ATCC-13312 de fue crecida en Agar Nutritivo (Difco, USA) a 37°C/24 hrs, luego se subcultivó en medio cromogénico (BioMerieux, Fr) incubando a 37°C/24 hrs para corroborar identidad y pureza. El inoculo de infección se obtuvo de la propagación de *S. Choleraesuis* en Caldo Nutritivo (Difco, USA) a 37°C/18 hrs en agitación constante. Diluciones decuple seriadas de la suspensión bacteriana fueron practicadas en PBS para determinar CFU/ml mediante técnica Miles & Misra.

Ratones línea NIH fueron usados, alojados en 4 grupos de 6 c/u, total 24. La inoculación fue vía intra-esofágica con 0.25ml y representaron las concentraciones (UFC/ml) del inoculo, **Alta** (3.3×10^8); **Media** (1.25×10^6); **Baja** (8.3×10^4) y **Control** (agua estéril). Los animales fueron observados clínicamente del día 1 al 8, después sacrificados. A la necropsia observaron y describieron lesiones macroscópicas. Muestras de bazo, hígado, intestino grueso y pulmón fueron colectadas para estudio histopatológico (preservadas en formol al 10.0 %). También inoculadas en Caldo Tetratoato (Difco, USA), por 24h/37°C y sembrar medios selectivos Verde Brillante, *Salmonella*-*Shigella* y Sulfito Bismuto (Difco, USA), incubando 37°C/24h y recuperar *S. choleraesuis*.

Resultados

No se observaron signos clínicos francos pero hubo mortalidad (22.2 %, 4/18) en grupos tratados.

Gp. Alta.- 1/6 ratón murió 5 dpi, a la Nx el resto (5/5) mostraron varios grados de hepato-y-esplenomegalia y formación de abscesos; 2/5 ascitis hemorrágica y congestión moderada en intestino grueso; 3/5 lesiones de neumonía. Al microscopio en hígado de todos los ratones había necrosis coagulativa moderada, vasculitis, congestión, megacariocitos y cambios degenerativos. En pulmón 2/5 neumonía intersticial y en 5/5 congestión leve en pulmón. Bazo de todos los animales había hiperplasia linfóide, presencia de mononucleares, congestión y megacariocitos. En intestino uno de los animales mostró macro y microscópicamente enteritis membranosa.

Gp. Media.- 1/6 ratón murió 2 dpi, el resto de ratones 2/5 hepatomegalia y pálido; 1/5 esplenomegalia; 1/5 peritonitis y ascitis. Al microscopio en hígado 5/5 presentaron lesiones leves y moderadas de cambios degenerativos, focos de necrosis coagulativa y vasculitis. Sólo uno mostró neumonía intersticial. En bazo 4/5 con lesiones leves de hiperplasia linfóide, megacariocitos y predominio de mononucleares.

Gp. Baja.- 2/6 ratones murieron a 6 dpi y 8 dpi; 3/4 hígado pálido; 2/3 esplenomegalia; 1/4 peritonitis ascitis. Al microscopio en hígado los 4 animales presentaron lesiones leves de necrosis coagulativa, cambios degenerativos y vasculitis. En bazo los cuatro animales mostraron leve esplenomegalia, la cual al microscopio presentó lesiones leves de hiperplasia de tejido linfóide, megacariocitos, congestión y hemorragias. En intestino solo se observó congestión. En pulmón, 2/4 animales presentaron neumonía intersticial y 4/4 había congestión.

Gp Control.- no hubo bajas y a la Nx no se observaron lesiones, tampoco a nivel microscópico.

S. Choleraesuis ATCC-13312 se recuperó en cultivo.

Discusión

S. Choleraesuis es un agente adaptado al cerdo, modelos animales (ratón) son importantes para estudiar su patogenicidad. En este estudio no se encontró mortalidad de 100 % o mayoría, la mortalidad de los inoculados fue de 22.2 %. Los grupos inoculados no mostraron signos clínicos francos a pesar de un inoculo (3.3×10^8), sin embargo, las lesiones en hígado y bazo (megalia y formación de abscesos), principalmente en grupo Alta indican un claro daño por *S. Choleraesuis*. Lo anterior indicaría una resistencia del ratón línea NIH a la infección. Este estudio se terminó a los 8 dpi, por lo que no hubo oportunidad para conocer si los ratones podrían recuperarse de una infección crónica por *S. Choleraesuis*. Modelos de infección de *S. Choleraesuis* en animales de laboratorio son escasos comparados con aquellos de *S. Typhi*, del cual se generó infección crónica, permitiendo estudiar la enfermedad más ampliamente (2). Las lesiones observadas en este estudio nos hacen pensar cómo podría ser afectado el desarrollo de un animal (cerdo) en granja por este patógeno.

Conclusión

Este modelo ratón de *S. Choleraesuis* mostró la capacidad de este patógeno para establecerse en ratón y generar lesiones importantes, lo cual será de utilidad en medicina veterinaria para estudios futuros.

Reconocimientos

LeSaffre proporcionó los fondos para este estudio.

Referencias

- 1.Hapfermeier, S and Hardt, W. (2005). *Trends Microbiol.* 13(10):497-503.
- 2.Shaoping *et al.* (2010). *J Vis Exp.* 31;(39) doi:10.3791/1947.
- 3.Song *et al.* (2010). *Cell Host Microbe.* 8(4):369-76.

XLVII Congreso Nacional AMVEC 2012

Comentarios:

