

Boletín 196



Abril - Junio 2012

aam

BOLETÍN DE LA
ASOCIACIÓN ARGENTINA DE MICROBIOLOGÍA
MIEMBRO DE LA INTERNATIONAL UNION OF
MICROBIOLOGICAL SOCIETIES (IUMS)

Deán Funes 472
(C1214AAD) Buenos Aires - Argentina
Tel.: (54-11) 4932-8858 y (54-11) 4932-8948
correo electrónico: info@aam.org.ar
página web: www.aam.org.ar

NUEVA PRESENTACIÓN

PLACAS LISTAS PARA USAR

MICROBIOLOGÍA

- CLÍNICA
- PRODUCTOS FARMACÉUTICOS
- ALIMENTOS
- AGUAS
- COSMÉTICOS

PRESENTACIÓN:
ENVASE X 10 PLACAS



Britania[▲]

www.britanialab.com

info@britanialab.com

LABORATORIOS BRITANIA S.A.
LOS PATOS 2175 (C1283AB)
CABA - ARGENTINA
TEL/FAX 54 11 4306 - 0041
FAX 0800-333-HEMO (4388)

ción. La menor respuesta inflamatoria se evidenció cualitativamente mediante observación de cortes histológicos de intestino delgado teñidos con H-E y se confirmó mediante métodos cuantitativos de inmunofluorescencia para determinación del número de macrófagos y células dendríticas; la infiltración de polimorfo-nucleares (PMN) se evaluó mediante determinación de la actividad mieloperoxidasa (MPO) en intestino delgado. El probiótico disminuyó significativamente la actividad MPO a nivel intestinal e incrementó el número de macrófagos y células dendríticas en comparación al grupo control de infección, demostrando que efectivamente la población infiltrativa inducida por el probiótico post-infección correspondería a células mononucleares, principal diferencia con *Salmonella* que induce un incremento de PMN. La administración continua (previa y post-infección) de *L. casei* CRL 431 mantuvo incrementado el número de células secretoras de IgA y la IgA-S total e incrementó la IgA-S específica anti-*Salmonella* post-desafío [3]. En placas de Peyer, sitio inductor de la respuesta inmune a nivel intestinal y principal sitio blanco de *Salmonella*, la administración de *L. casei* CRL 431 post-infección incrementó los niveles de TNFa e IFNg sin aumentar la IL-10, promoviendo una fuerte respuesta tipo Th1. Al analizar el perfil de citoquinas en lámina propia de intestino delgado, observamos que la administración continua de *L. casei* CRL 431 disminuyó la producción de TNFa, mantuvo los niveles de IL-6 y aumentó los niveles de IL-10 e IFNg en comparación con el control de infección, perfil fuertemente asociado al efecto protector observado [1]. Mediante un ensayo *ex vivo* observamos que el probiótico indujo un aumento precoz (a las 24 h post-desafío) y significativamente mayor en la secreción de IL-6 y de la quemoquina MCP-1 por parte de la célula epitelial intestinal (CEI) en comparación con el control de infección y en estadíos finales evitó la secreción desregulada de IL-6. *Lactobacillus acidophilus* CRL 730 y *L. bulgaricus* CRL 423 no fueron capaces de disminuir la mortalidad de los animales o inhibir la diseminación extra intestinal del patógeno. Si bien la administración de *L. acidophilus* CRL 730 incrementó el número de células IgA (+) en lámina propia de ID previo y post-infección y la administración de *L. bulgaricus* CRL 423 aumentó la actividad fagocítica de macrófagos de placas de Peyer, peritoneo y bazo e indujo un aumento en la secreción *in vitro* de MCP-1 por la CEI, estos mecanismos aislados no fueron suficientes para conferir protección frente a *Salmonella* en ratones. *L. bulgaricus* CRL 423 y *L. acidophilus* CRL 730 no fueron capaces de inducir la producción de anticuerpos IgA-

S específicos anti-*Salmonella* ni la producción o secreción de citoquinas como IFNg e IL-10, parámetros inmunes de importancia crítica en la protección frente a una infección por *Salmonella enterica* serovar Typhimurium.

Bibliografía

1. Castillo NA, Perdígón G, and de Moreno de LeBlanc A. Oral administration of a probiotic *Lactobacillus* modulates cytokine production and TLR expression improving the immune response against *Salmonella enterica* serovar Typhimurium infection in mice. BMC Microbiol. 2011; 11: 177.
2. Chaves S, Perdígón G, de Moreno de LeBlanc A. Yoghurt Consumption Regulates the Immune Cells Implicated in Acute Intestinal Inflammation and Prevents the Recurrence of the Inflammatory Process in a Mouse Model. J Food Prot. 2011; 74(5): 801-811.
3. de Moreno de LeBlanc A, Castillo NA, and Perdígón G. Anti-infective mechanisms induced by a probiotic *Lactobacillus* strain against *Salmonella enterica* serovar Typhimurium infection. Int J Food Microbiol. 2010; 138: 223-231.
4. de Moreno de LeBlanc A, Chaves S, Perdígón G. (2009) Effect of yoghurt on the cytokine profile using a murine model of intestinal inflammation. Eur J Inflamm. 2009; 7(2): 97-109.
5. de Moreno de LeBlanc A, Matar C, Perdígón G. The application of probiotics in cancer. Br J Nutr. 2007; 98 (1): 105-110.
6. Dogi CA, Perdígón G. Importance of the host specificity in the selection of probiotic bacteria. Journal of Dairy Research. 2006; 73(3): 357-366.
7. Maldonado Galdeano, C, de Moreno de LeBlanc A, Dogi CA, Perdígón G. (2010). Lactic acid bacteria as immunomodulators of the gut associated immune system. Capítulo de libro en: Biotechnology of lactic acid bacteria: Novel applications. (ISBN: 9780813015831) Ed.: Fernanda Mozzi, Graciela Vignolo y Raúl Raya. Wiley-Blackwell. USA.2010. 125-140.
8. Maldonado Galdeano C, de Moreno de LeBlanc A, Vinderola G Bibas Bonet ME, Perdígón G. Proposed model: mechanisms of immunomodulation induced by probiotic bacteria. American Society for Microbiology Ed. ISSN: 1556-6811. Clinical and Vaccine Immunology. 2007; 14(5): 485-92

CONTROL DE NEMATODOS FITOPATÓGENOS. ¿*Pasteuria penetrans* UNA ALTERNATIVA VIABLE DE BIOCONTROL?

Diego H. Sauka*

División de Microbiología Agrícola y Ambiental (DIMAyA) - Asociación Argentina de Microbiología.

*Investigador del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Investigador Asistente del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) y Docente de Microbiología en la Facultad de Farmacia y Bioquímica (FFyB) de la Universidad de Buenos Aires (UBA). dsauka@cni.inta.gov.ar

Los nematodos patógenos de plantas producen síntomas característicos tanto en la parte aérea (hojas, flores y/o semillas), como en raíces. El nematodo al alimentarse del tejido vegetal produce daños mecánicos que, en general, no son de una gran importancia. No obstante, la secreción de sustancias contenidas en su saliva que inyectan al vegetal, son la causa principal del daño debido a las reacciones

que desencadenan en la célula. Esta secreción de enzimas puede generar una lesión necrótica al matar el tejido que lo rodea, esta mancha es pequeña, que en ocasiones puede detener el crecimiento al evitar la división celular. La reacción de los tejidos vecinos al lugar de donde se alimenta puede producir una hipertrofia y/o hiperplasia celular, produciendo síntomas tales como agallas, nódulos, deforma-

ciones, vesículas, retorcimientos, excesiva ramificación de raíces, desarrollo anormal de verticilos florales. Las plantas afectadas pueden presentar como síntomas secundarios menor crecimiento, clorosis y/o marchitamiento en momentos de mayor demanda hídrica de la planta. En otros casos, el nematodo es vía de entrada para hongos y bacterias produciendo pudriciones en las plantas que afectan.

Cuando estos daños se producen en plantas de valor económico, esto se traduce en reducción en los rendimientos, imposibilidad de venta de los productos debido a su mal aspecto y restricciones a su comercio nacional e internacional. La Sociedad de Nematología estadounidense junto a otras organizaciones estimó que las pérdidas globales en cultivos, debidas sólo a nematodos fitopatógenos ascienden a los US\$ 78 billones anualmente.

El control de estos microorganismos se da comúnmente a través de productos químicos. Actualmente existe una disminución constante de los nematocidas disponibles para cultivos agronómicos, debido a la preocupación que producen los efectos deletéreos al ambiente generados por estos agentes, el riesgo de que dejen residuos en los alimentos y con el objeto de aumentar la seguridad laboral del agricultor. A modo de ejemplo, el bromuro de metilo es uno de los medios más eficaces que existen para el control de nematodos fitopatógenos. Se trata de un gas altamente tóxico con impacto directo sobre la salud humana. Es un gas inodoro, incoloro e insípido, que resulta imposible de detectar cuando se inhala, a no ser que se encuentre mezclado con cloropicrina como agente «alarma». Otro efecto del bromuro de metilo es el de destruir la capa de ozono. Argentina, junto con otros 160 países, firmó en 1987 el protocolo de Montreal en el que se comprometió a eliminar su uso y el de otras sustancias que afectan la capa de ozono.

En respuesta a la disminución de opciones para el control de los nematodos, las alternativas ambientalmente más seguras para su control son de gran interés. Entre las más prometedoras se encuentran los agentes de control biológico, es decir, la utilización de organismos vivos para combatir específicamente los agentes dañinos que afectan los cultivos. Un ejemplo de los agentes para el biocontrol de nematodos lo constituyen las bacterias de la especie *Pasteuria penetrans*.

¿Quién es *Pasteuria penetrans*?

Es una bacteria gram-positiva, formadora de endosporas, parásito obligado de nematodos formadores de agallas (*Meloidogyne* spp.). Es conocida por su capacidad para interrumpir la reproducción en sus hospedadores. Ha demostrado reducir el daño producido por estos nematodos y llevarlo por debajo de los niveles del umbral de pérdida económica y mejorar los rendimientos de los cultivos. Las endosporas permanecen latentes en el suelo hasta que individuos juveniles del segundo estadio del nematodo entran en contacto con ellas. La bacteria lo penetra para multiplicarse en su interior. Las endosporas se liberan con la muerte y descomposición de los mismos, dispersándose en el suelo.

¿Cómo actúa *P. penetrans*?

El control de los nematodos por esta bacteria nematocida se puede resumir brevemente en dos etapas. En la primera, ocurre que la cantidad de las endosporas que se hallan en el suelo en general son suficientes para adherirse a la mayoría de los juveniles. Las endosporas germinan una vez que el nematodo penetra la raíz de la planta huésped y comienza a alimentarse. El proceso de infección involucra la formación de un tubo germinativo que atraviesa la pared del cuerpo del nematodo. En el pseudoceloma, comienza la formación de estructuras primarias que tienen forma de "ramilletes de uvas alargadas". Las estructuras hijas son formadas a partir de la elongación de

las estructuras madres y producen a su vez agrupaciones de "esporangios". Estas estructuras dan origen a las endosporas que llenan todo el cuerpo de las hembras de *Meloidogyne* spp.; el sistema reproductivo de las hembras se degenera siendo incapaz de producir huevos y las endosporas maduras son liberadas aumentando la cantidad de *P. penetrans* en el suelo.

Cuando la población de la bacteria en el suelo es alta, muchas endosporas se adhieren a los individuos juveniles del segundo estadio del nematodo, pero en esta oportunidad no pueden llegar a penetrar la raíz de la planta huésped. Cuando llega a ocurrir esto, se considera que el suelo se tornó "supresivo" y la población del nematodo tiende a caer drásticamente. Esto se debe fundamentalmente a que los juveniles con muchas esporas adheridas a su cuerpo se debilitan y retardan el encuentro con sus plantas hospedantes.

¿*P. penetrans* posee especificidad por los huéspedes que parasita?

Esta bacteria tiene una alta especificidad por nematodos formadores de agallas correspondientes a algunos miembros del género *Meloidogyne*. Se reportaron aislamientos de *P. penetrans* con patogenicidad frente a *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria*, *M. paranaensis* y *M. hapla*; sin embargo, fueron incompatibles con otros como *M. graminicola* y *M. mayaguensis*.

¿Existe algún riesgo en el uso de *P. penetrans* como agente de biocontrol?

P. penetrans tendría un impacto casi nulo en el ecosistema debido a su alta especificidad de hospederos. Se halla naturalmente en el ambiente como ocurre con otros microorganismos que se emplean como agentes de control biológico. Lo más importante es que no parasita plantas, animales, seres humanos o cualquier otro organismo que pueda ser benéfico.

¿Existen limitantes para el desarrollo de formulaciones que contengan a *P. penetrans* como ingrediente activo?

Existen problemas prácticos y técnicos asociados a la producción masiva de *P. penetrans* destinada a su empleo como ingrediente activo de formulaciones para su aplicación en campo. El mayor impedimento para su uso comercial como producto para el control de nematodos radica en la imposibilidad de su crecimiento en ausencia del nematodo hospedante, impidiendo su uso a gran escala con métodos de bajos costos de producción. Actualmente, la reproducción de *P. penetrans* se realiza *in vivo* sobre las raíces de un cultivo susceptible infestadas por *Meloidogyne* spp. Para ello es necesario mantener las poblaciones de nematodos sobre un cultivo hospedante en macetas donde se inocula la bacteria para su multiplicación. Las raíces infectadas se extraen de la maceta, se secan al sol y se muelen. Este polvo es el que se utiliza para la aplicación al campo. Un gramo de polvo de raíz puede contener aproximadamente 80 millones de endosporas. Con niveles de aplicación de 1×10^6 endosporas/kg de suelo se obtiene alrededor del 95 % de efectividad en el control de las poblaciones de *Meloidogyne* spp., con un incremento estimado del 30% en los rendimientos de los cultivos.

Consideraciones finales

Pasteuria penetrans nos ha demostrado su efectividad en la regulación de poblaciones de *Meloidogyne* spp. en diversos agroecosistemas. Sus efectos no son tan rápidos como el de los nematocidas químicos que reducen las poblaciones de campo inmediatamente después de su aplicación, pero en contraparte, nos muestran la gran ventaja de que no presentan ningún peligro para el ser humano y el medio ambiente. El método de reproducción *in vivo*, proporciona las cantidades de

endosporas necesarias para realizar los estudios que hasta el presente han demostrado la potencialidad de esta bacteria como agente biocontrol, tanto en condiciones de laboratorio como en pequeñas parcelas y para entender parte de los mecanismos que intervienen en las interacciones con sus hospedantes en el suelo. Recientemente se ha informado la reproducción masiva *in vitro* de varias cepas de *Pasteuria* en fermentación líquida utilizando un medio de cultivo que contiene tejidos viables del nematodo *Belonolaimus longicaudatus* y que puede ser utilizada también para el control de especies de *Meloidogyne*.

No obstante, a pesar de las dificultades mencionadas para ser reproducida *in vitro* y que retrasan su desarrollo a gran escala, las investigaciones realizadas hasta hoy y la posibilidad de disponer un medio de cultivo adecuado avizoran su desarrollo eminente como un producto biológico comercial de gran efectividad sobre los nematodos fitoparásitos de importancia económica.

Bibliografía

1. Bishop A, Ellar D. Attempts to culture *Pasteuria penetrans* *in vitro*. *Biocontrol Sci Tech*. 1991; 1: 101-114.
2. Chen Z, Dickson D. Review of *Pasteuria penetrans*: Biology, ecology, and biological control potential. *J Nematol*. 1998; 30: 313-340.
3. Davies K. Understanding the interaction between an obligate hyperparasitic bacterium, *Pasteuria penetrans* and its obligate plant-parasitic nematode host, *Meloidogyne* spp. *Adv Parasitol*. 2009; 68: 211-245.
3. Gómez L, Gandarilla H, Rodríguez M. *Pasteuria penetrans* como agente de control biológico de *Meloidogyne* spp. *Rev Protección Veg*. 2010; 25: 137-149.
3. Kariuki G, Dickson D. Transfer and development of *Pasteuria penetrans*. *J Nematol*. 2007; 39: 55-61.

SITUACIÓN DEL CARBUNCLO RURAL EN LA ARGENTINA 2011

Ramon P. Nosedá. OMS-WHO-CSR/C8-370-37

Laboratorio Azul Diagnóstico S.A – Av. 25 de Mayo N° 485 (7300) Azul - Provincia de Buenos Aires.
rnosedá@laboratorioazul.com.ar

Desde 1977 hasta la actualidad, se resguarda la información de casos de carbunclo bovino con aislamiento e identificación de *Bacillus anthracis*, llegando a registrar en la actualidad 428 brotes distribuidos en 30 partidos de la provincia de Buenos Aires; constituyendo de esta manera la principal base de datos nacional de esta zoonosis, denominada: *Área de Evaluación de Carbunclo Rural*. Estas y otras acciones relacionadas se efectuaron en el contexto de la *Epidemiología Participativa*. La recolección de los datos que sirven para la epidemiología cualitativa, están contenidos dentro de las observaciones que la comunidad realiza sobre la enfermedad, formando el *Conocimiento Veterinario Existente*, que sirve para identificar y priorizar los problemas de salud animal en las comunidades afectadas. La incorporación en el año 2004 de la *Zona de Alerta y Respuesta*, incluyó con precisión más sucesos y participantes en el diseño de implementación, monitoreo y revisión. Esta Comisión constituida por Decreto Municipal en el 2004, está integrada por 9 Instituciones relacionadas con la Salud Pública de la comunidad del partido de Azul. Todo lo expresado da sustento para seguir avanzando en el control de esta enfermedad infecto-contagiosa que por la sobrevivencia de los esporos, las características edafológicas de los suelos y la falta de responsabilidad ciudadana de no vacunar a las especies susceptibles, aseguran la continuidad del carbunclo o ántrax rural para futuras generaciones de argentinos.

Área de evaluación del carbunclo rural

a) distribución porcentual de carbunclo en bovinos muertos súbitamente durante los años 1977 - 2011

El área de monitoreo del diagnóstico rural participativo realiza, desde 1977, en 30 partidos de la provincia de Buenos Aires (PBA), la interacción entre veterinarios y ganaderos que la integran, notificando la información a través de una *Encuesta Epidemiológica* que evalúa: 1) medio ambiente, 2) dinámica animal, 3) inmunización, 4) observación clínica y 5) eliminación de cadáveres, ofreciendo patrones de la enfermedad animal para su control (Figura 1).

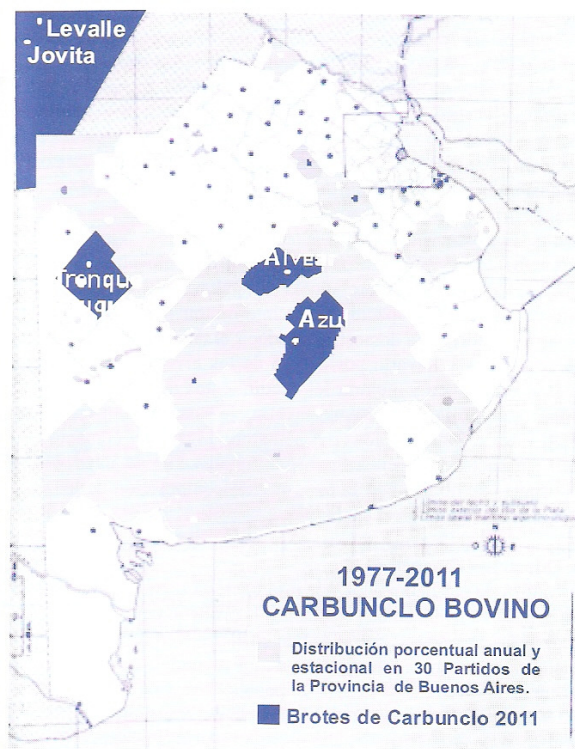


Figura 1. Partidos de la provincia de Buenos Aires donde se localizaron los brotes.