



DETECCION DE ADHERENCIA Y CITOTOXICIDAD EN CEPAS DE *Vibrio vulnificus* AISLADAS DE PRODUCTOS DE LA PESCA

Natividad Bonifacio Iván¹, Dávalos Mecalco Selenne Gabriela², Quiñones Ramírez Elsa Irma¹, Vázquez Salinas Carlos² ¹Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Prol. de Carpio s/n Col. Santo Tomás, C. P. 011340. ²Universidad Autónoma Metropolitana Campus Iztapalapa. San Rafael Atlixco Número 186, Colonia Vicentina. C. P. 09340.
elsairma46@yahoo.com.mx

Palabras clave: Citotoxicidad, citolisina, pili

Introducción. Dentro de los alimentos involucrados como causantes de ETAs se encuentran los productos de la pesca como son los moluscos, animales sésiles, que se alimentan filtrando el agua en donde se cultivan, concentrando los microorganismos y sustancias presentes en el medio, convirtiéndose así en vehículos de enfermedades, aumentando su peligrosidad al ser consumidos crudos o ligeramente cocidos. *Vibrio vulnificus* fue descrito en 1976, y se le dominó “*Vibrio lactosa* positivo”, son bacilos gramnegativos, rectos y curvos, móviles por la presencia de un flagelo polar, oxidasa positivos, no esporulados, termolábiles y se comportan como anaerobios facultativos. Es un patógeno oportunista, se ha asociado a gastroenteritis, septicemia primaria en personas con condiciones crónicas preexistentes, tras el consumo de alimentos marinos y moluscos bivalvos crudos, colonizados naturalmente por esta bacteria¹. El papel de los factores de virulencia de este microorganismo no está bien establecido, se ha señalado que *V. vulnificus* produce toxinas extracelulares como, la citolisina (hemolisina), cuya actividad se ha relacionado con la lisis de glóbulos rojos a través de la formación de poros en la membrana de estas células y tienen efectos citotóxicos en las células de ovario de hámster chino (CHO). La capacidad de adherirse a las células epiteliales, se sugiere que se debe a la presencia de pili, factor que ayude a la adhesión. Dada la importancia que tiene este microorganismo a nivel internacional se consideró hacer un estudio en cepas de origen ambiental para evaluar si poseen dichos factores.

Metodología. Se trabajó con 40 cepas de *Vibrio vulnificus* aisladas a partir de muestras de agua (10), pescado (10) y ostión (20) procedentes de la laguna de Pueblo Viejo, Veracruz. Por medio de la PCR se amplificó el gen *vvhA* que es especie-específico para este microorganismo, se evaluó el efecto de la toxina en cultivos celulares y se realizó el análisis de adherencia en la línea celular HEp-2³.

Resultados y discusión. En el 100 % de las cepas trabajadas se logró amplificar el gen *vvhA*, el cual se ha utilizado como blanco para la identificación del microorganismo, ya que es un gen altamente conservado en esta especie, este gen codifica para una hemolisina que tiene actividad de citolisina en la línea celular CHO; un análisis de Northern blot y primer extensión revela que el gen *vvhA* se transcribe con un segundo gen *vvhB* (la función del producto de este gen es desconocida)⁴. Al realizar los ensayos de citotoxicidad en la línea celular CHO se encontró que el 100% de las cepas tienen un efecto citotóxico a las 10 horas

de incubación. Kreger y Lockwood⁵ fueron los primeros en demostrar la actividad citolítica y hemolítica de *V. vulnificus*, ellos reportaron que a las 24 horas de incubación se tenía un efecto de arredondeamiento de las células, efecto que no se observó con las cepas analizadas, ya que a las 10 horas la monocapa estaba destruida. A la citolisina se le atribuye la formación de poros en la membrana celular, poco se conoce acerca de la célula blanco de *Vibrio vulnificus* en el huésped, así como, el mecanismo citotóxico involucrado en la formación de estos poros. Al analizar la adherencia en la línea celular HEp-2, se observó que el 95 % de las cepas se adhieren; esta adherencia se le atribuye al pili tipo IV, el cual es esencial para la adherencia inicial y formación de microcolonias, así como la formación del sistema de secreción tipo II, a través del cual el microorganismo secreta la citolisina y la metaloproteasa⁶.

Conclusión. Las cepas trabajadas tienen algunos factores de virulencia que pueden causar daño en personas con enfermedades crónicas degenerativas.

Bibliografía.

- 1 Janda, M.J., C. Powers, G.R. Bryan, and L.S. Abbot. 1988. Current perspectives on the epidemiology and pathogenesis of clinically significant *Vibrio* spp. Clin. Microbiol. Rev. 1:245-267
2. Gulig, A.P., K.L. Bourdage, and A. M. Starks. 2005. Molecular Pathogenesis of *Vibrio vulnificus*. J. Microbiol. 43: 118-131
3. Elliot, E.I., C.A. Kaysner, L. Jackson, and M.L. Tamplin. 1998. *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* and other *Vibrio* spp. Chap 9. In: Food and Drug Administration, Association of Analytical Chemistry C. I. F. Bacteriology Analytical Manual. Washington, D.C., pp. 111-140.
4. Choi, H.K., N.Y. Park, D. Kim, H.J. Chuang, S. Ryu, and S. H Choi. 2002. Promoter analysis and regulatory characteristics of *vvhBA* encoding cytolytic hemolysin of *Vibrio vulnificus*. J. Biol Chem. 277: 47292-47299.
5. Kreger, A., and D. Lockwood. 1981. Detection of extracellular toxin (s) produced by *Vibrio vulnificus*. Infect. Immun. 33:583-590
6. Paranjpye, R.N., J.C. Lara, J.C. Pepe, C.M. Pepe, and M.S. Strom. 2005. A *Vibrio vulnificus* type IV pilin contribute to biofilm formation, adherence to epithelial cells, and virulence. Infect. Immun. 73:1411-1422