



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

***Patogenicidad de Escherichia coli aisladas de  
Casos Clínicos de Septicemia Aviar en México:  
Demostración de Producción de la Toxina Letal  
para Pollos por Inoculación en Pollitos; y  
Adherencia a Células Epiteliales Traqueales***

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA  
P R E S E N T A :  
CARLOS ALBERTO GONZALEZ ALDANA



ASESORADO POR: M.V.Z. GUSTAVO A. GARCIA DELGADO  
M.V.Z. LUZ MA. RODRIGUEZ LOPEZ

CIUDAD UNIVERSITARIA D.F.

1993

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## INDICE .

### Página

RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
MATERIAL Y METODOS	8
RESULTADOS	12
DISCUSION	13
CONCLUSIONES	15
TABLAS Y FIGURAS	16
Literatura Citada	23

RESUMEN.

GONZALEZ ALDANA CARLOS ALBERTO. Patogenicidad de Escherichia coli aisladas de casos clínicos de septicemia aviar en México: Demostración de producción de la Toxina Letal para Pollos por inoculación en pollitos; y Acherencia a Células Epiteliales Traqueales. (Bajo la asesoría de M.V.Z., M. Sc. Gustavo A. García Delgado y M.V.Z. Luz Ma. Rodríguez López).

Con el fin de detectar la producción de la toxina letal para pollos (TLP), a partir de E. coli septicémica, al inocular pollitos de un día y tres semanas de edad y la adherencia in vitro a cilios de células epiteliales traqueales de pollo de ocho semanas de edad; de 30 aislamientos de E. coli de casos clínicos de septicemia aviar, obtenidos en el Depto. de Prod. Animal: Aves, FMVZ UNAM (1988-1991). Se inocularon pollos de 3 semanas de edad por vía intravenosa y se encontró que el 96.66% de los aislamientos mostraron los efectos tóxicos de TLP, en grados variables, evaluados por mortalidad; y lesiones septicémicas al sacrificio dos semanas después de la inoculación. Se probó la adherencia específica in vitro a células epiteliales de tráquea de pollos de ocho semanas de edad a 29 de los aislamientos, 28 de ellos mostraron un alto índice de adherencia (de 19 a 58 bacterias  $\sqrt{\text{por}}\text{ célula}$ ). Sólo un aislamiento no fué estadísticamente diferente ( $P < 0.01$ ) tanto a la producción de TLP como a la adherencia. La correlación estadística mostró que estos dos factores patógenos son eventos independientes.

### INTRODUCCIÓN.

La infección por E. coli en las aves tiene una gran variedad de manifestaciones en las cuales se incluyen: enteritis, artritis, infección del saco vitelino, onfalitis, coligranuloma (Enf. de Hjärre), peritonitis, panoftalmis, aerosaculitis, colisepticemia y salpingitis. Estas presentaciones colectivamente son responsables de grandes pérdidas económicas para la industria avícola, tanto por mortalidad -que puede alcanzar del 5-50% (20)- en pollo de engorda, como por mortalidad embrionaria en incubadora y nacedora (22); además, entre otras causas de pérdidas destacan: costo de tratamiento, deconisos en rastro y gallinas falsas ponedoras. De todas las manifestaciones la colisepticemia es la más común (17,20,24,28,32,35,50,55). La colisepticemia es una enfermedad que afecta principalmente a pollos de engorada de 4 a 8 semanas de edad, pero también ocurren casos en aves de reemplazo, aves adultas, guajolotes y otras aves. La enfermedad se caracteriza por una pericarditis, perihepatitis, aerosaculitis y neumonia fibrinopurulenta (16,17,24,28,51,55).

La Escherichia coli pertenece a la familia Enterobacteraceae; son bacilos Gram (-), no esporulados, anaerobios facultativos, móviles gracias a flagelos peritricos, aunque algunos son inmóviles, reducen nitratos a nitritos y fermentan la glucosa y algunos géneros la lactosa. De las siete tribus de ésta familia E. coli pertenece a la tribu I Escherichias, que se caracteriza por dar una reacción positiva a la prueba de Indol, negativa a la prueba de Voges Proskauer, no produce ácido sulfhídrico ni ureasa y no licúa la gelatina

(20,24,25,32). La E. coli es habitante normal de intestino de animales de sangre caliente y poiquiloterms, por lo que su distribución se considera mundial (20,24,25,28,55).

**FACTORES DE VIRULENCIA BACTERIANOS INVOLUCRADOS EN LA PATOGENIA DE LA COLIBACILOSIS AVIAR.** Entre los factores predisponentes más importantes involucrados en la presentación de la enfermedad están las infecciones causadas por virus respiratorios (14,15,35,43) vacunales (8) y de campo (7), como Newcastle, Bronquitis Infecciosa y Laringotraqueitis Infecciosa, y Micoplasmas; incluso se ha encontrado que la infección con reovirus, adenovirus o el virus de la Infección de la Bolsa de Fabricio incrementan la susceptibilidad de pollos de dos semanas de edad a la infección por E. coli septicémica. Además, la participación de ventilación inadecuada (con altas concentraciones de amoníaco) (15), la sobrepoblación (14) y el estrés (16). Se ha demostrado la inhalación como la principal vía de entrada de E. coli en las aves (8,12,15,20,21,22,24,28,35).

**SEROTIPO.** Más de 35 serotipos de E. coli han sido aislados de brotes en aves pero los grupos 01:K1, 02:K1 y 078:K80, son frecuentes (9,20,28,36,51,55); estos a su vez, pueden ser aislados de aves sanas. Estos tres grupos han sido aislados de colisepticemia, enteritis, panoftalmítis, artritis, infección del saco vitelino, peritonítis y salpingítis (28). Los aislamientos de E. coli que han sido encontrados en tráquea y sacos aéreos tienen alta correlación con los aislados de pericarditis (12,21,22), a diferencia de los aislados de intestino.

**ADHERENCIA.** La adhesión por medio de la fimbria a las células epiteliales bucales y traqueales constituye el primer paso de la

infección septicémica (11,13,20,26,31). Esta adherencia caracterizada en los serotipos O1 (2) y O78; y otras enterobacterias (46), por tener fimbria tipo 1 como adhesina; que se expresa al cultivar E. coli a temperaturas mayores de 30°C (30,31) cuyo peso se ha encontrado que es de 18.4 kilodaltones (2), y demostrando que D-manosa actúa como receptor endógeno celular (2,17,39,47,48). El serogrupo O2 no se conoce aún su adhesina, pero se sabe, por medio de la inhibición con metaperiodato sódico, que su receptor es un azúcar (17) aunque no se ha determinado cuál. Se ha propuesto la producción de citotoxina Vero como marcador de adherencia de E. coli a epitelio intestinal de conejo y esta adhesión es inhibida por la Conavalina A y la Lectina Lecus culinaris (38,40). El pH alcalino favorece la adherencia de bacterias Gram negativas a células epiteliales de tráquea (34). Se ha encontrado que una proteína salival de 57 kilodaltones es capaz de ligarse a la superficie de células bucales y servir como receptor exógeno a E. coli poseedora de fimbria tipo 1, por lo que aparentemente la saliva estimula y la fibronectina inhibe la adherencia (23). La hidrofobicidad de la superficie celular como factor de atracción se va incrementada en la fase exponencial de crecimiento bacteriano y esto resulta en una mejor adhesión (13,33,53,54); unido a esto, la carga neta de membranas, aunque son negativas tanto la celular como la bacteriana, provocan una teórica repulsión electrostática, que en presencia de  $Ca^{++}$ ,  $Mg^{++}$  o  $Al^{+++}$  sirven de puente para enlazar las dos membranas (54). La vacunación a base de fimbria (18,19) y la Inmunoglobulina A secretoria (56), han logrado inhibir la adherencia. La vacunación

a base de fimbria sólo proporciona protección de serotipos homólogos (48). La inmunoglobulina A secretoria inhibe la adherencia al aglutinar E. coli, ya que posee D-manosa en su estructura molecular. Se ha determinado el posible papel en la protección de la infección respiratoria de E. coli septicémica a base de macrófagos respiratorios activados por Propionibacterium acnes, E. coli cepa viva apatógena y Pasteurella multocida viva avirulenta al aumentar 25 veces el número de células fagocitarias en tracto respiratorio, y reducir la morbilidad y mortalidad en las aves desafiadas (49). La correlación entre la producción de fimbria y la virulencia también ha sido demostrada en aislamientos de E. coli a partir de septicemia de pavos (3). Así mismo, se ha encontrado en la fimbria la capacidad para aglutinar eritrocitos de ave (3) y de conejillo de Indias (33), que puede ser inhibida con D-manosa (3). También se ha asociado a la fimbria de conferir mayor resistencia a la fagocitosis por polimorfonucleares (41). La adherencia específica permite a las bacterias superar los mecanismos fisiológicos de defensa del hospedador, con ello, colonizarlo, multiplicarse y alcanzar tejidos más profundos (4,7,11).

**CAPSULA.** Se sabe que la producción de cápsulas polisacáridas K confieren resistencia a la fagocitosis por polimorfonucleares e incrementa la resistencia a la inhibición por el suero (7,20,32,44).

**QUELANTES DE HIERRO.** Los microorganismos que provocan infecciones sistémicas tienen la característica de poder crecer en condiciones limitantes de hierro y que está altamente correlacionado con la virulencia de la cepa, medida por la

letalidad en pollos jóvenes (7,11,20). Existen dos sistemas de alta afinidad de E. coli por el Hierro que compiten con las transferrinas, lactoferrinas y ovotransferrinas séricas que lo transportan en la sangre (5). Uno es el sistema Enteroquelina que es codificado por el cromosoma bacteriano y es menos hábil que las transferrinas; y el sistema Aerobactina que es codificado por pláemidos ó cromosoma y es más eficiente in vivo para quelar el catión que las transferrinas (6,20,26), con ello, E. coli es capaz de multiplicarse en sangre y tejidos (10,27).

**ENDOTOXINAS.** Por otro lado, se ha encontrado que ni la endotoxina ni la hemolisina de E. coli están asociados con la habilidad de producir enfermedad, dado que pollos y guajolotes han mostrado gran resistencia a estos productos bacterianos (24,28,52).

**EXOTOXINAS.** Se ha obtenido una toxina bacteriana que es letal para pollos de dos semanas de edad - conejos y ratones (43)- a partir de E. coli 078:K80 de origen aviar y bovino; y de los aislamientos aviáres de los grupos 02, 045 y 0190, que se ha denominado CLT (Chick Lethal Toxin o Toxina Letal para Pollos) (28,50,51). La TLP es una toxina termolábil, antigénica, alta en proteínas, inactivada por enzimas proteolíticas, con un peso molecular de 80 a 120000 MW (50,51), codificada por el pláemido Vir (29,37,42,43) y dependiendo de la dosis, la inoculación intravenosa causa la muerte entre 6 y 24 horas (43). La comprobación de hallazgos macroscópicos comunes en casos septicémicos de campo, experimentales y los inducidos por TLP son: edema y congestión subepicárdica; edema y necrosis focal de bazo; congestión, necrosis y acumulación de fibrina en el hígado;

demuestran el importante papel de la TLP en la patogenia de la colisepticemia (43,51).

En la literatura se encuentran diversos reportes sobre la posible correlación entre los factores de virulencia de E. coli, en especial de la virulencia con los plásmidos Col V y Vir, además de la adherencia a células de diferentes hospedadores, hemoaglutinación, presencia de fimbria, toxinas, diversos antígenos y tiempo de generación (3,10,19,29,37,43,44,45). Estos reportes han tenido gran variabilidad en cuanto a dicha correlación como en la virulencia y mortalidad, desde un 0 hasta un 100%.

Rosenberger y cols. (35) proponen en relación a los factores asociados a la virulencia, establecer una evaluación, desde el punto de vista experimental en alta (más del 50% de lesiones o mortalidad), media (entre el 25 y 50%) y baja (hasta un 25%).

En México se desconoce la frecuencia con la que se presentan los factores de patogenicidad, sólo se ha estudiado la virulencia a través de exposición directa (1), o bien, mediante pruebas indirectas como Rojo Congo. Por ello mismo, tampoco se sabe su correlación y la variación con la que se presenta la virulencia y otros factores de patogenicidad; con lo que, se hace necesario su estudio.

Con la idea de que las cepas septicémicas de Escherichia coli aisladas en México son patógenas para pollos por producción de TLP, demostrable mediante la inoculación en pollitos y la adherencia a células epiteliales respiratorias de pollo.

Es que los objetivos del presente trabajo fueron:

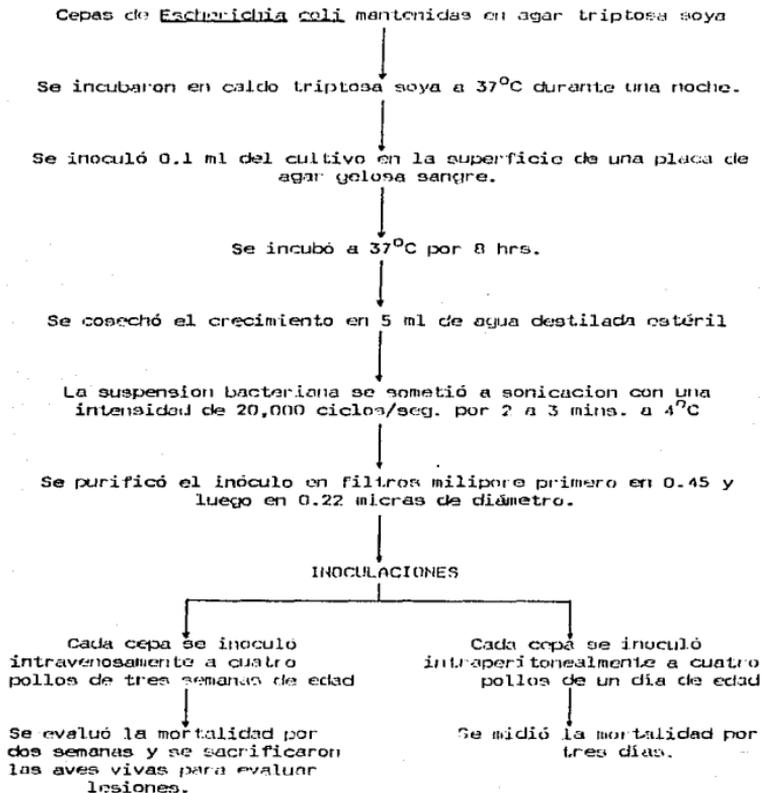
- Detectar la producción de TLP de cepas de E. coli aisladas de casos clínicos en México, por inoculación en pollitos de un día y tres semanas de edad.
- Demostrar que las cepas de E. coli septicémicas estudiadas, tienen un alto índice de adherencia in vitro a células epiteliales traqueales en pollos de ocho semanas de edad.
- Determinar la correlación estadística entre éstos dos factores de patogenicidad: producción de TLP y adherencia a células epiteliales.

#### MATERIAL Y MÉTODOS.

Las cepas de E. coli septicémicas han sido aisladas en el DPA: Aves de la UNAM, de casos clínicos caracterizados por colisepticemia (pericarditis, perihepatitis y aerosaculitis fibrinopurulenta). Como testigo negativo se utilizó la cepa E. coli 712 y un grupo testigo negativo de la cepa JL206. CLT+ tratada por calentamiento a 56°C por 30 mins (50) para quitarle el efecto tóxico esperado; y como testigo positivo la cepa E. coli JL206 (Vir+, Km-R, CLT+, codifica para fimbria y pelo sexual)\*\*\*.

\*\*\*Donadas por el MVZ José López-Alvarez (Animal Health Laboratory, Saskville, N.B., Canadá).

DEMOSTRACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE TLP: la técnica según López-Alvarez (\*.78,29,43) para detección de la producción de TLP se describe como sigue:



\*MVZ José López-Alvarez: comunicación personal.

La virulencia se evaluó según el criterio de Rosenberger (35) en tres distintas virulencias alta, media y baja; y las virulentas. Las cepas de virulencia alta son las que ocasionaron mortalidad y lesiones severas en más del 50% de las aves inoculadas. Las de virulencia media lesiones y mortalidad de un 25 al 50%. Las de baja virulencia produjeron mortalidad o lesiones hasta el 25% de las aves inoculadas; y las avirulentas 0%.

Se analizaron estadísticamente los resultados por la prueba de análisis de Varianza y por la prueba de Tukey ( $P < 0.01$ ).

## PRUEBA DE ADHERENCIA IN VITRO ESPECÍFICA (\*\*\*):

Preparación de suspensiones bacterianas y celulares

## BACTERIAS

29 aislamientos de E. coli se inocularon en caldo infusión cerebro corazón y se incubaron a 37°C por 8 horas.

Se ajustó la cuenta bacteriana con el tubo número 4 del nefelómetro de McFarland equivalente a  $1.2 \times 10^9$  bacterias por mililitro

## CELULAS

Se sacrificaron pollos de 8 semanas de edad, se expuso la tráquea y se lavó con PBS.

Se raspó con cepillo el epitelio unidireccionalmente, cosechando las células en solución amortiguadora lisa eritrocitos al 1% de Bromhexina a 4°C.

Se dejó reposar por 3 hrs., se decantó el sobrenadante y se resuspendió en sol. Hank-Gelatina (Hank-G).

Exposición bacterias-células epiteliales

Se mezcló 1 ml de suspensión bacteriana con 1 ml de la suspensión celular y se incubó en baño María a 37°C durante 1 hora, con 20 oscilaciones por minuto.

Se centrifugó la mezcla a 200 r.p.m. durante cinco minutos y se decantó el sobrenadante, resuspendiendo en sol. Hank-G, éste proceso se repitió dos veces.

El sedimento se colgó en portaobjetos, se fijaron las células con ligero calor y metanol puro.

El frotis se tiñó con el colorante de Giemsa May Grunwald por 1 min. y Fucsina básica por 15 segundos.

Se contaron bacterias adheridas a cilios de 25 células por cepa.

\*\*\*Según técnica descrita por Bonilla (6).

Se utilizó como testigos negativos la cepa E. coli 712 y una suspensión colular sin bacterias; y como testigo positivo la cepa JL206.

Los resultados de la prueba de adherencia se analizaron estadísticamente por la prueba de T student ( $P < 0.01$ ).

Finalmente los datos analizados de la prueba de virulencia y adherencia se sometieron a correlación estadística r.

#### RESULTADOS.

Los resultados de la detección de ILP se muestran en las tabla 1 y figura 1, en las que se observan los porcentajes de virulencia; y tabla 3, donde se correlacionan los resultados de virulencia con los de adherencia; en la cual se observa que sólo uno de los 30 aislamientos probados no fué patógena para pollitos de 3 sem. vía Intravenosa, mientras que de los 29 patógenos (96.66%); 6 fueron de alta virulencia (20%), 11 fueron de mediana virulencia (36.67%), 12 fueron de baja virulencia (40%) y sólo una fué avirulenta (3.33%) y no diferente estadísticamente por la prueba de Análisis de Varianza y prueba de Tukey ( $P < 0.01$ ) al testigo negativo. La mayor mortalidad se presentó a los 7 días post-inoculación IV (60%). Las lesiones que se consideraron como positivas fueron la pericarditis fibrinopurulenta y la necrosis hepática principalmente. Por vía IP sólo 8 aislamientos mostraron virulencia, media (3) y baja (5); siendo la mortalidad observada dentro de los dos primeros días post-inoculación.

Los resultados de la adherencia a cilios se muestran en las tablas 2 y 3; donde se observa que una cepa (3.44%) de los 29 aislamientos probados no se adhirió significativamente diferente en la prueba estadística de T student ( $P < 0.01$ ) respecto

al testigo negativo. Las bacterias se adherieron a toda la membrana celular pero hubo una marcada adherencia hacia los cilios a razón de 5:1 con el resto de la membrana. Tanto las células como las bacterias se tiñeron mejor con Fucsina básica, que permitió contrastar los cilios con las bacterias mejor que el Giemsa. La correlación estadística (r) mostró que no hay asociación directa entre estos dos factores patógenos.

#### DISCUSIÓN.

Debido a la frecuencia del plásmido Vir encontrada en cepas septicémicas de E. coli por otros autores como Smith y López-Alvarez (10,29,43) que va de un 1-20% nos hace pensar que existe otro factor patógeno que participa en la patogenicidad de E. coli y que seguramente interviene en las cepas Col VF (43,44,45) dado que no se ha encontrado todavía una toxina, un factor letal u otro producto bacteriano en estas cepas (que caracterizan hasta un 60% de los aislamientos septicémicos de aves, bovinos e incluso humanos) y que pudo haber potencializado el efecto de TLP; a pesar de que las exposiciones experimentales de aves y pavos a la endotoxina -Lipopolisacárido- no ha mostrado efectos patógenos se sigue estudiando esta posibilidad. Estos resultados corroboran lo encontrado por otros autores (28,33), que nos indican que la producción de TLP está presente en las cepas de E. coli en México, como factor de patogenicidad; se ha podido demostrar que la TLP es la responsable de las lesiones fibrinopurulentas (50) de las cuales muchas veces no es posible aislar E. coli sino hasta estados terminales de la enfermedad (observaciones no publicadas), mostrando el carácter crónico en el desarrollo de las lesiones específicas de colisepticemia y que

concorda con la presentación de la mayor mortalidad a la semana de edad. La vía de inoculación IV fué mejor que la vía IP para reproducir las lesiones (51).

Se contabilizó la adherencia a cilios exclusivamente dada su relevancia en la patogenia, aunque también se presentó adherencia al resto de la membrana, mostrando que los receptores son comunes en toda la membrana y no son exclusivos de los cilios, una bacteria tendrá más oportunidad de unirse a la porción ciliada de la célula que a la porción basal para infectarla. Se demostró que la adherencia de E. coli es un factor de patogenicidad por la diferencia promedio de cero bacterias adheridas por células en el testigo negativo, a más de treinta en las cepas probadas aisladas de brotes. La fucsina básica superó a la tinción de Giemsa en la célula, que en la técnica se tiñó primero con Giemsa y después con fucsina, tomando la célula el color rojo en lugar del violeta de Giemsa, dando un mejor contraste cilio-bacteria adherida e incluso mejor que azul de toluidina. Se añadió a la prueba original (6) el agregar bromhexina como mucolítico que liberó a las células de formaciones viscosas, que además permitió un contacto más íntimo bacteria-membrana celular y los cilios se separaron mejor que los controles sin bromhexina.

Solo una cepa no fué virulenta en ambas pruebas, ésta bien pudo ser una cepa que migró de intestino en etapa terminal de la enfermedad; lo que de nuevo muestra que estos dos factores patógenos son necesarios en las cepas septicémicas de E. coli.

Sin embargo, la correlación mostró que no hay asociación directa entre las pruebas, entendiéndose esto, como que un factor no afecta

el grado de presentación del otro; como lo encontrado por Arp, et al. (3); aunque la relación en su presentación fué muy alta (96.66%) lo que nos dice que un aislamiento a partir de un órgano interno de un ave con lesiones fibrinopurulentas es altamente considerable como septicémica y virulenta, y origen del problema que se presenta clínicamente. La variación encontrada en la virulencia y la adherencia de E. coli en éste trabajo corrobora lo encontrado por Rosenberger (35) y por Arp (3) respecto a su amplio rango de presentación.

Se concluye que:

-En el 96.66% de los aislamientos estudiados se encontró la virulencia provocada por TLP como son la mortalidad y lesiones fibrinopurulentas sobre todo en pericardio.

-La adherencia de las cepas estudiadas a las células epiteliales de la tráquea de pollo también se encontró en un 96.66%.

-La correlación entre estos factores de patogenicidad fué de 0.086 (pero ambos estuvieron presentes en el 96.66% de los aislamientos estudiados).

-Ambos factores de patogenicidad y su correlación nos muestra, que con relación al diseño del muestreo en México, el 96.66% de los aislamientos a partir de casos clínicos de campo son patógenos por su capacidad de adherirse, invadir sangre y tejidos; y producir toxinas que provocarán lesiones desde serosas hasta fibrinopurulentas y caseosas; y finalmente la muerte del ave.

Tabla 1. CUADRO DE EVALUACIÓN DE LA VIRULENCIA DESPUES DE LA INOCULACIÓN INTRAVENOSA DE TLP EN POLLOS DE TRES SEMANAS DE EDAD

Tipo de cepa	Virulencia(*) (positivos/inoculados)	Número de Cepas (porcentaje)
Cepas de alta virulencia	(3 ó 4/4).....	6..(20)
Cepas de virulencia media	(2/4).....	11.(36.67)
Cepas de baja virulencia	(1/4).....	12..(40)
Cepas avirulentas	(0/4).....	1..(3.33)

(\*)= Aves muertas durante el periodo de observación ó que mostraron lesiones colisepticémicas al sacrificio dos semanas post-inoculación.

Figura 1.

### PORCENTAJE DE VIRULENCIA DE TLP POSTINOCULACIÓN I.V. A POLLOS DE 3 SEM.

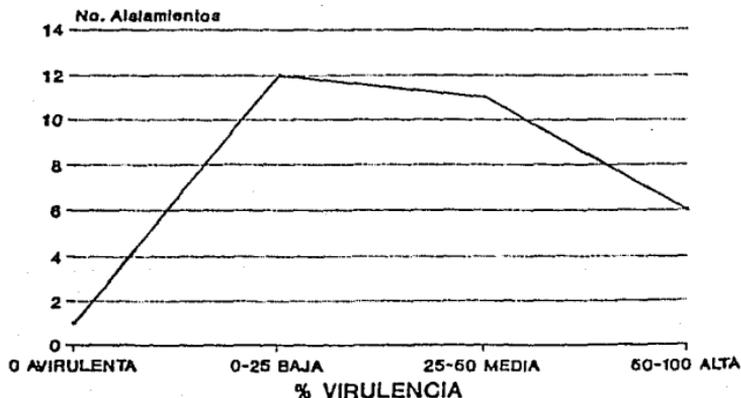


Tabla 2. ADHERENCIA DE *Escherichia coli* A CELULAS EPITELIALES  
TRAQUEALES DE POLLO (A)

CEPA	ADHERENCIA A CILIOS (Promedio bacteria/célula)	ADHERENCIA AL RESTO DE LA MEMBRANA
JL206	65.88	+
27	58	+
30	48.76	+
1	42.32	+
2	41.92	+
29	41.48	+
13	41.24	+
22	38.56	+
17	36.84	+
24	35.76	+
9	33.16	+
23	32.28	+
21	31.64	+
11	31.44	+
3	31.2	+
26	30.72	+
16	29.76	+
8	29.52	+
25	27.92	+
20	27.72	+
10	26.56	+
19	26.36	+
12	25.4	+
18	25.32	+
15	25.12	+
28	22.96	+
14	22.64	+
6	21.96	+
7	19.6	+
4	4.72 C	+
5 B	-----	-
712	0.16	-
Testigo sin bacterias	0.07	-

A= Se contaron 25 células por cepa.

B= Cepa que no se pudo trabajar la adherencia.

C= Sin diferencia estadística en la prueba de T Student ( $P < 0.01$ )  
respecto al testigo negativo (cepa 712).

Tabla 3. CORRELACION ENTRE LA PRODUCCIÓN DE TLP Y LA ADHERENCIA ESPECIFICA A CELULAS EPITELIALES TRAQUEALES DE POLLO.

NO. DE CEPA	VIRULENCIA (D)		PROMEDIO DE ADHERENCIA Bacterias/célula
	Vía de Inoculación de TLP IP (1 día)	IV (3 sem)	
1	1/4	4/4	42.32
7	0/4	4/4	19.6
13	0/4	3/4	41.24
8	0/4	3/4	29.52
18	0/4	3/4	25.32
6	0/4	3/4	21.96
30	0/4	2/4	48.76
2	0/4	2/4	41.92
29	2/4	2/4	41.48
24	2/4	2/4	35.76
23	0/4	2/4	32.28
3	1/4	2/4	31.2
20	0/4	2/4	27.72
10	1/4	2/4	26.56
19	0/4	2/4	26.36
12	0/4	2/4	25.4
14	0/4	2/4	22.64
27	0/4	1/4	58.0
22	0/4	1/4	38.56
17	0/4	1/4	36.84
9	2/4	1/4	33.16
21	0/4	1/4	31.64
11	0/4	1/4	31.44
26	0/4	1/4	30.72
16	0/4	1/4	29.76
25	1/4	1/4	27.92
15	0/4	1/4	25.12
28	1/4	1/4	22.96
5	0/4	1/4	-----C
4	0/4	0/4	4.72 A
712	0/4	0/4	0.16
JL206	0/4	2/4	65.88
JL206 *	0/4	0/4	-----
Testigo celular sin bacterias			0.07

A = Sin diferencia estadística en la prueba de T student ( $P < 0.01$ ) con el testigo negativo (cepa 712).

B = Sin diferencia estadística en la prueba de Analisis de Varianza con los testigos negativos (cepas 712 y JL206\*).

C = Cepa con la que no se pudo trabajar adherencia.

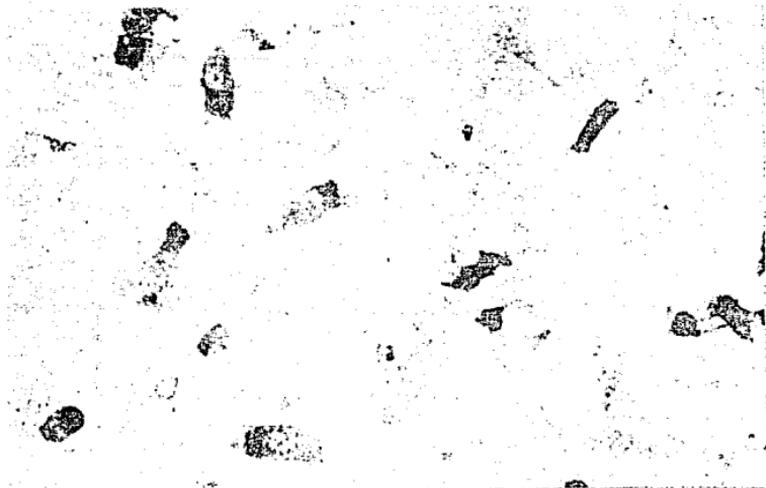
D = Aves muertas o que mostraron lesiones septicémicas.

\* = Extracto sonificado de la cepa *E. coli* JL206 inactivado.

IP=Intraperitoneal. IV=Intravenoso. ()= Edad de las aves.



Figura 2.  
Corte de tráquea normal, donde se observa el  
epitelio pseudoestratificado ciliado, la lámina  
propia y el cartílago.



**Figura 3.**  
**Células epiteliales en suspensión, con los cilios**  
**separados libres de moco. Se observa fácilmente**  
**su tamaño y forma.**

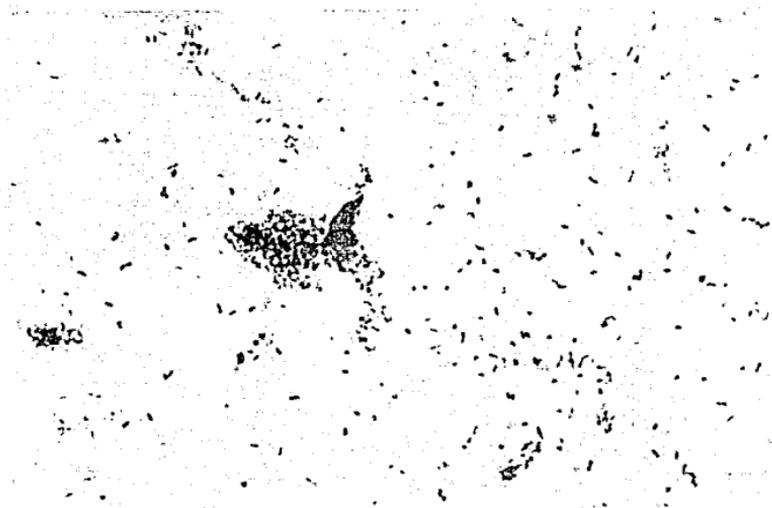


Figura 4.  
Representación de adherencia negativa, las bacterias están aglutinadas en el moco y dispersas en el campo visual.

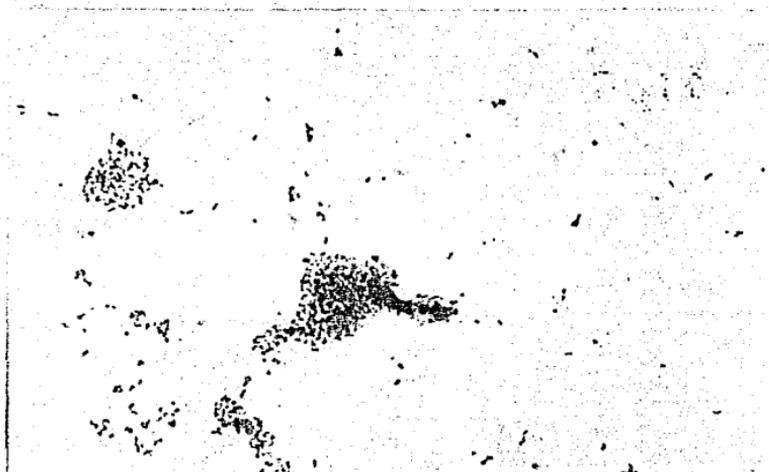


Figura 5.

Cepa JL206, se observa la adherencia positiva con las bacterias entre los cilios en un gran grupo y muy pocas libres en el campo visual.

LITERATURA CITADA.

1. Almanza, M. Y. Influencia del plásmido Col V en la fagocitosis *in vitro* de Escherichia coli. Tesis de Maestría, FMVZ-UNAM, 1992.
2. Amara, A.; *et al.* Characterization of adherence of pathogenic Escherichia coli (serotype O1). Memorias de la 40th Western Poultry Disease Conference, México, 1991. Pag 7-8.
3. Arp, L.; Jensen, A. Piliation, hemagglutination, motility and generation time of Escherichia coli that are virulent or avirulent for turkeys. Avian Dis. 24(1):153-161 (1980).
4. Beachey, E. Bacterial Adherence: Adhesin-receptor interactions mediating the attachment of bacteria to mucosal surfaces. J. Inf. Dis. 143(3):325-345 (1981).
5. Bolin, C.; Jensen, A. Passive immunization with antibodies against iron-regulated outer membrane proteins protects turkeys from Escherichia coli septicemia. Infect. Immun. 55(5):1239-1242 (1987).
6. Bonilla, L. Adherencia específica *in vitro* de cepas de Pasteurella multocida a células del tracto respiratorio superior del conejo. Tesis de Maestría, FMVZ-UNAM, México. 1989.
7. Brée, A.; *et al.* Comparative infectivity for axenic and specific-pathogen-free chickens of 02 Escherichia coli strains with or without virulence factors. Avian Dis. 33:134-139 (1989).
8. Campbell, R. The pathogenesis and pathology of avian respiratory infections. Vet. Bull. 56(7):521-543 (1986).
9. Cloud, S.; *In vivo* and *in vitro* characterization of avian Escherichia coli I. Serotypes, metabolic activity and antibiotic sensitivity. Avian Dis. 29(4):1084-1093 (1985).

10. Contrepolis, M.; et al. Septicaemic Escherichia coli and experimental infection of calves. Vet. Microbiol. 12:109-118 (1986).
11. Dho, M.; Lafont, J. Adhesive properties and iron uptake ability in Escherichia coli lethal and nonlethal for chicks. Avian Dis. 28(4):1016-1025 (1984).
12. Dho, M.; Lafont, J.; Escherichia coli colonization of trachea in poultry: comparison of virulent and avirulent strains in gnotoxenic chickens. Avian Dis. 26(4):787-797 (1982).
13. Frommer, A.; et al. Adherence-associated characteristics and pathogenicity of Escherichia coli from avian colibacillosis. Avian Pathol. 12:547-554 (1990).
14. Goren, E. Colibacillosis: etiology, pathogenesis, prevention and therapy. Memorias de la 40th Western Poultry Disease Conference, México, 1991. Pag. 109-111.
15. Goren, E. Observations on experimental infection of chicks with Escherichia coli. Avian Pathol. 7:213-224 (1978).
16. Gross, W.; Dameruth, C. Factors influencing the severity of Escherichia coli and avian Adenovirus group II infections in chickens. Avian Dis. 32:793-797 (1988).
17. Gyimah, J. Panigrahy, B. Adhesin-receptor interactions mediating the attachment of pathogenic Escherichia coli to chicken tracheal epithelium. Avian Dis. 32:74-78 (1988).
18. Gyimah, J. Panigrahy, B. Immunogenicity of an Escherichia coli (serotype O1) pili vaccine in chickens. Avian Dis. 22(4):1078-1083 (1985).

19. Gyimah, J.; Panigrahy, B.; Williams, J. Immunogenicity of an Escherichia coli multivalent pilus vaccine in chickens. Avian Dis. **30**(4):687-689 (1986).
20. Gyles, C.; Thoen, C. Pathogenesis of bacterial infections in animals. Iowa State University Press, Ames, USA, 1986. Pag 114-129.
21. Harry, E.; Hemsley, L. The association between the presence of septicæmic strains of Escherichia coli and septicæmia. Vel. Rec. **77**(2):35-40 (1965).
22. Harry, E.; Hemsley, L. The relationship between environmental contamination with septicæmia strains of Escherichia coli and their incidence in chickens. Vel. Rec. **77**(9):241-245 (1965).
23. Haaty, D.; Simpson, A. Effects of fibronectin and other salivary macromolecules on the adherence of Escherichia coli to buccal epithelial cells. Infect. Immun. **55**(?):2103-2109 (1987).
24. Hoffstad, M. Diseases of Poultry. 8th. ed. United Press. Ames, USA, 1984. Pag. 270-278.
25. Jawetz, E.; Melnick, J.; Adalberg, E. Microbiología Médica. 11a Manual Moderno. México, 1985. Pag. 240-252.
26. Lafont, J.; et al. Presence and expression of aerobactin genes in virulent avian strains of Escherichia coli. Infect. Immun. **55**(1):193-197 (1987).
27. Linggood M.; et al. Incidence of the aerobactin iron uptake system among Escherichia coli isolates from infections of farm animals. J. Gen. Microbiol. **133**:835-842 (1987).
28. López-Alvarez, J. Escherichia coli: mecanismos de patogenicidad. Ci. Vol. **1**:1-39 (1977).

29. López-Alvarez, J.; Gyles, C. Occurrence of the Vir plasmid among animal and human strains of invasive Escherichia coli. Am. J. Vet. Res. 41(5):769-774(1980).
30. Nagaraja, K.; et al. Identification and isolation of somatic pili from pathogenic Escherichia coli in turkeys. Am. J. Vet. Res. 44(2):284-287 (1983).
31. Naveh, M.; et al. Adherence pili in avian strains of Escherichia coli: effect on pathogenicity. Avian Dis. 28(3):651-661(1984).
32. Nicolet, J. Compendio de Bacteriología Veterinaria. Acribia, España, 1986. Pag 5.
33. Opdebeeck, J.; Frost, J.; Boyle, D. Adhesion of Staphylococcus aureus and Escherichia coli to bovine udder epithelial cells. Vet. Microbiol. 16:77-86 (1988).
34. Palmer, L.; et al. Bacterial adherence to respiratory tract cells. Am. Rev. Respir. Dis. 133:784-788 (1986).
35. Rosenberger, J.; et al. In vitro and in vivo characterization of avian Escherichia coli II. Factors associated with pathogenicity. Avian Dis. 22(4):1094-1107 (1985).
36. Rosenberger, J.; Fries, P.; Cloud, S. In vitro and in vivo characterization of avian Escherichia coli. III. Immunization. Avian Dis. 22(4):1108-1117 (1985).
37. Said, N.; et al. Virulence factors and markers in Escherichia coli from calves with bacteremia. Am. J. Vet. Res. 42(10):1657-1660 (1988).
38. Salit, I.; Gottschlich, E. Type I Escherichia coli pili: characterization of binding to monkey kidney cells. J. Exp. Med. 144:1182-1194 (1977).

39. Sharma, S.; Singh, R.; Khanna, V. Adhesion of urinary Escherichia coli to human, mouse and rat ure-epithelial cells. In. J. Med. Res. **15**:130-135 (1987).
40. Sherman, P.; et al. Attaching and effacing adherence of Vero cytotoxin-producing Escherichia coli to rabbit intestinal epithelium in vivo. Infect. Immun. **56**(4):756-761 (1988).
41. Silverblatt, F.; et al. Effect of pili on susceptibility of Escherichia coli to phagocytosis. Infect. Immun. **24**(1):218-223 (1979).
42. Smith, W. A search for transmissible pathogenic characters in invasive strains of Escherichia coli: the discovery of a plasmid-controlled toxin and a plasmid-controlled lethal character closely associated, or identical, with Colicine V. J. Gen. Microbiol. **83**:95-111 (1974).
43. Smith, H. Transmissible pathogenic characteristics of invasive strains of Escherichia coli. J. Am. Vet. Med. Ass. **173**(5):601-607 (1978).
44. Smith, H.; Huggins, M. The association of the O18, K1 and H7 antigens and the Col V plasmid of a strain of Escherichia coli with its virulence and immunogenicity. J. Gen. Microbiol. **121**:109-118 (1986).
45. Smith, H.; Huggins, M. Further observations on the association of the colicine V plasmid of Escherichia coli with pathogenicity and with survival in the alimentary tract. J. Gen. Microbiol. **22**:335-350 (1976).
46. Soerjadi, A.; et al. Some measurements of protection against paratyphoid Salmonella and Escherichia coli by competitive exclusion in chickens. Avian Dis. **25**(3):706-712 (1982).

47. Suwanichkul, A.; Panigrahy, B. Biological and immunological characterization of pili of Escherichia coli serotypes O1, O2 and O78 pathogenic to poultry. Avian Dis. **30**(4):781-787 (1986).
48. Suwanichkul, A.; et al. Antigenic relatedness and partial amino acid sequences of pili of Escherichia coli serotypes O1, O2 and O78 pathogenic to poultry. Avian Dis. **31**:809-813 (1987).
49. Toth, T. Cellular defense of the avian respiratory system: protection against Escherichia coli airsacculitis by Pasteurella multocida-activated respiratory phagocytes. Avian Dis. **32**:681-687 (1988).
50. Truscott, R. Studies on the chick lethal toxin of Escherichia coli. Can. J. Comp. Med. **37**:375-381 (1973).
51. Truscott, R.; Lopez-Alvarez, J.; Pettit, J. Studies of Escherichia coli in chickens. Can. J. Comp. Med. **38**:160-167 (1974).
52. Tufft L.; Nockels, C.; Fettman, M. Effects of Escherichia coli on Iron, Copper and Zinc metabolism in chicks. Avian Dis. **32**:779-786 (1988).
53. Van Loosdrecht, M., et al. The role of bacterial cell wall hydrophobicity in adhesion. Appl. Env. Microbiol. **53**(8):1893-1897 (1987).
54. Van Loosdrecht; et al. Influence of cell surface characteristics on bacterial adhesion to solid supports. Proc. 4th European Congress on Biotechnology, Amsterdam, Vol. 4, 1987.
55. Whiteman, C; Bickford, A. Manual de Enfermedades de las Aves. Asociación Americana de Patólogos Aviares, USA, 1983. Pag 91-94.

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

29

56. Wold, A.; et al. Agglutination of Escherichia coli by secretory IgA-A result of interaction between bacterial mannose-specific adhesins and immunoglobulin carbohydrate? Monoclonal Antibody 24:307-309 (1988).