

Diferencias entre el slime y la cápsula de *Staphylococcus aureus*

M. Pérez¹, C. Rota², M. Monzón¹, L. Costa³, J.C. Lee⁴ y B. Amorena¹

¹CSIC. Servicio de Investigación Agraria (SIA, Diputación General de Aragón), Aptdo. 727, 50080 Zaragoza; ²Dpto. de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Facultad de Veterinaria. 50013 Zaragoza; ³Laboratorios Hipra, S.A. 17170. Amer (Girona); ⁴Harvard Medical School. Department of Medicine. Boston, MA 02115.

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS.

Las vacunas profilácticas frente a la mastitis pueden evitar pérdidas en la producción lechera. En algunas de ellas (6, 11), se utilizan antígenos capsulares. En otras, se usa slime (1). Ambos, cápsula y slime, rodean a la pared bacteriana (3) pero hasta la fecha, al menos en el caso de *Staphylococcus aureus*, no se ha determinado todavía si ambos, son en realidad un único componente. Mientras se han realizado numerosos estudios sobre la naturaleza exopolisacáridica e inmunológica de la cápsula de *S. aureus*, los estudios sobre el slime en dicha especie son muy escasos, existiendo más aportaciones en el caso de *Staphylococcus epidermidis* (5). El objetivo de este trabajo es demostrar que el slime es un carbohidrato, distinto a la cápsula inmunológicamente y en su carga durante la electroforesis, y también que la regulación de la producción de ambos, cápsula y slime, es independiente.

MATERIAL Y METODOS

Cepas y obtención de slime. Se emplearon 14 cepas de *S. aureus* productoras de exopolisacáridos (PE), obtenidas a partir de cepas no productoras (4). Cinco de ellas pertenecientes a la Unidad de Sanidad Animal del SIA, presentaron los tipos capsulares cp5 y cp8. También se emplearon 9 cepas NPE standard del Channing Laboratory (Medical School, Boston, EEUU), 5 de ellas conteniendo antígenos capsulares (de los tipos 5, 8, 1, 2) y 4 careciendo de ellos, al contener transposones. Las 9 cepas fueron sometidas a 30 pases para su reversión a SP, según el procedimiento de Baselga et al 1993.

Tratamiento con periodato sódico. Con el fin de determinar si el slime es un carbohidrato (por lo que éste sería sensible al periodato), se trató con periodato sódico 0,125 M durante 18 h a temperatura ambiente y en la oscuridad (7, 8). Las muestras tratadas procedían de cepas productoras de slime y cápsula y se analizaron por inmunoelectroforesis.

Tests de inmunoprecipitación en geles de agarosa. Se realizó en geles de agarosa al 1% una doble difusión (test de AGID) y ensayos de inmunoelectroforesis, tanto en la primera dimensión (IEP-1D), como en la segunda (IEP-2D). Se utilizaron para ello sueros hiperinmunes frente a slime, cápsula y componentes de pared.

Obtención y absorción de sueros. Los sueros utilizados en estas técnicas, se obtuvieron mediante hiperinmunización en ovinos, utilizando como inmunógenos muestras enriquecidas con slime y cápsula. Los sueros hiperinmunes fueron absorbidos con preparaciones carentes de slime pero conteniendo cápsula y viceversa. También fueron absorbidos con cepas carentes de ambos (cápsula y slime), para eliminar anticuerpos frente a la pared bacteriana.

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados demuestran que el slime es un carbohidrato, al ser sensible al periodato sódico: la muestra tratada con periodato no reaccionó en AGID ni en IEP 1D. El slime resultó ser electropositivo (migra al cátodo, lo contrario que la cápsula (véase IEP 1D y 2D en Fig. 1).

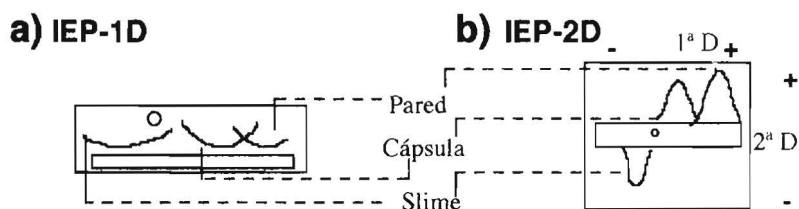


Fig. 1. Inmunoelectroforesis 1D (a) y 2D (b) de slime, cápsula y componentes de pared.

Los anticuerpos frente a la cápsula y frente al slime no presentan reactividad cruzada, porque ambos son inmunológicamente diferentes, según pudo comprobarse en AGID (Fig. 2) y en IEP 1D.

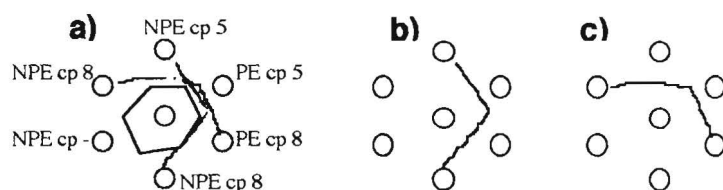


Fig. 2. Inmunoprecipitación observados al utilizar en el pocillo central un inmunosuero frente a slime, cápsula (tipo 5) y componentes de pared sin absorber (a), absorbido con antígenos capsulares y de pared (b) o absorbido con slime y componentes de pared (c). Los pocillos periféricos en a), b) y c) contienen los antígenos correspondientes a las cepas que se indican en a).

El slime y la cápsula no están corregulados, ya que las cepas pueden presentar cápsula (independientemente del tipo capsular), sin slime y viceversa (Tabla 1). Se desconoce si hay diferencias antigénicas entre preparaciones de slime, cuando éste se obtiene de distintas cepas.

En su conjunto, este trabajo demuestra que el slime y la cápsula son dos componentes distintos dentro de los exopolisacáridos que rodean al estafilococo. Considerando el papel del slime en la promoción de la colonización (4), inhibición de la fagocitosis, y promoción de la adherencia bacteriana (10), puede explicarse su papel como inóculo vacunal frente a la mastitis (1) y su importancia en la prevención de las misma, con la consiguiente mejora de la producción lechera, tanto en ganado vacuno (2) como en ganado ovino (9).

Tabla 1. Independencia entre los controles de producción de cápsula y slime.

| Nº de cepas | Tipo capsular | Producción de slime en cepas originales | Cepas revertidas a SP previo al pase 30 | |
|-------------|---------------|--|--|-------------|
| | | | Factible | No factible |
| 4 | Si (8) | NSP (todas las colonias) | 3 | 1 |
| 4 | Si (5) | NSP (todas las colonias) | 2 | 2 |
| 1 | Si (1) | NSP (todas las colonias) | 0 | 1 |
| 1 | Si (2) | NSP (todas las colonias) | 1 | 0 |
| 4 | No | NSP (todas las colonias) | 2 | 2 |

AGRADECIMIENTOS.

Agradecemos especialmente la colaboración de los ganaderos y del equipo de Fidel Lahoz, al cargo de los animales estudiados. Financiado por FIS (Nº 96/0230) y CONSID (Nº PCM1694). Así mismo nuestro agradecimiento a la empresa HIPRA y al CSIC por su apoyo y financiación, sin los cuales no hubiera podido llevarse a cabo este estudio.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Amorena, B., Baselga, R., Albizu, I., 1994. Vaccine 12: 243-249.
- (2) Amorena, B. et al., 1996. ITEA 92A: 53-66.
- (3) Baselga, R., Albizu, I., Amorena, B., 1994. Vet. Microbiol. 39:195-204.
- (4) Baselga, R., et al. 1993. Infect. Immun. 61: 4857-4862.
- (5) Baldasarri, L., et al. 1996. Infect. Immun. 64: 3410-3415.
- (6) Fattom, A., et al. 1996. Infect. Immun. 64: 1659-1665.
- (7) Florence, B., et al. 1994. J. Microbiol. 20: 39-46.
- (8) Mack et al., Infect. Immun. 1992. 60: 2048-2057.
- (9) Marco et al., 1995. ITEA 16 (II): 521-523.
- (10) Monleon, E., et al. 1997. Vet. Microbiol. (En prensa).
- (11) Watson, D. L., et al. 1988. Res. Vet. Sci. 45:16-21.