

"FRECUENCIA DE FACTORES DE ADHERENCIA F-4 (K88), F-5 (K99), F-6 (987-P) Y F-41 EN CEPAS DE ESCHERICHIA COLI AISLADAS DE LECHONES CON DIARREA".

M.HEREDIA<sup>1</sup>; J. FLORES<sup>1</sup>; G. SUAREZ<sup>1</sup>; M. PUC<sup>1</sup>, CENTRO DE INVESTIGACIONES REGIONALES "DR. HIDEYO NOGUCHI". UNIVERSIDAD AUTONOMA DE YUCATAN, CALLE 59 # 490 X AV. ITZAES. C.P. 97000

### INTRODUCCION

La diarrea colibacilar es la forma más frecuente de infección por *E. coli* en los lechones recién nacidos. Bajo ciertas condiciones, algunas cepas de *E. coli* son capaces de desencadenar diarrea, para lo cual necesitarían proliferar en la parte anterior del intestino delgado. Con la ayuda de los factores de adherencia (adhesinas), la *E. coli* enteropatógena se fija al epitelio intestinal, causando diarrea a través de la producción de enterotoxinas (3)

El número de enterotoxinas y adhesinas reconocidos en la *E. coli* porcina se ha incrementado desde que Smith y Gyles (1970) describieron a las enterotoxinas termoestables (ST) y termolábiles (LT), y Smith y Lingood (1971) demostraron las propiedades patológicas de la enterotoxina y el antígeno K88 (F5) (Orskov y col. 1964) (3).

**OBJETIVO.** Conocer la frecuencia de los factores de adherencia K-88, K-99, 987-P y F-41 en cepas de *Escherichia coli* aisladas de cerdos con diarrea.

**MATERIAL Y METODOS.** Se estudiaron 416 cepas de *E. coli* aisladas de cerdos de 1 a 10 días de nacidos en granjas del Estado de Yucatán, y que cursaron con un cuadro de diarrea aguda.

Para la detección de la fimbria se utilizó la técnica de Inmunoensayo Enzimático ELISA (2).

Se depositaron 100 µl de la solución bacteriana en los pozos de una placa de microtitulación y se incubaron toda la noche a 37°C. Posteriormente se lavaron los pozos tres veces con PBS-Tween-20 al 0.05% dejándolos reposar 2 minutos en cada ocasión. Seguidamente se bloquearon con albúmina sérica bovina (ASB) al 0.1% (200 µl) los sitios de fijación que hubieran quedado libres en el interior de los pozos y se incubó a 37°C durante 30 minutos. Se lavó la microplaca con PBS-Tween-20 al 0.05% tres veces dejando reposar 2 minutos cada vez. Se añadieron 100 µl del anticuerpo monoclonal (IgG de ratón) con PBS-Tween-20 al 0.05% con ASB al 0.1% a una dilución de 1:100 para los antígenos correspondientes (K88, K99, 987P y F41), en los pozos de la placa y se incubó a temperatura ambiente durante 1 hr. Nuevamente se repitió el lavado. Seguidamente se añadieron 100 µl del conjugado de IgG de conejo anti-IgG de ratón con peroxidasa de rábano diluido 1:500 (K88, K99, 987P y F41), con PBS-Tween-20 con 0.1% de ASB y se incubó una 1 hr. en la oscuridad. Se lavó la microplaca y se depositaron 100 µl de la solución del sustrato enzimático (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + OPD), se incubó en la oscuridad durante 15 min. La reacción se detuvo con 100 µl de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1.0 N. La lectura se realizó a 450 nm en el lector de ELISA.

**RESULTADO.** De las 416 cepas estudiadas se encontró que 28 (6.7%) tuvieron factores de adherencia (FA) y 388 (93.3%) no.

Del total de las cepas, 15 (3.6%) tuvieron el factor de adherencia K88; 7 (1.7%) el K99 y 6 (1.4%) el 987P.

En relación con las 28 (100%) cepas con factores de adherencia; 15 (53.6%) correspondieron al antígeno fimbrial K88; 7 (25.0%) al K99 y 6 (21.0%) al 987P.

De las 416 cepas *Escherichia coli* estudiadas, 68 (16.3%) fueron toxigénicas (Sta+) y 348 (83.7%) no. De las 68 cepas toxigénicas 15 (22.1%) presentaron factores de adherencia y 53 (77.9%) no. De estas 15 cepas con factor de adherencia, 8 (11.8%) presentaron el

antígeno fimbrial K88; 6 (8.8%) el K99 y 1 (1.5%) el 987P. De las

348 cepas de *E. coli* no toxigénica, 13 (3.7%) tuvieron factores de adherencia y 335 (96.3%) no, y de estas, 7 (2.0%) presentaron el antígeno fimbrial K88; 1

(0.3%) el K99 y 5 (1.4%) el 987P. No se detectó el antígeno fimbrial F41.

**DISCUSION.** Nakazawa (Japón, 1987), encontró un 11.7% de antígeno K88 en cepas ETEC aisladas de lechones con diarrea (1).

Soderlind y col., (1988), en un estudio realizado en cerdos de 0-6 días de edad y con diarrea, las cepas de *E. coli* Sta+ tuvieron un 10.04% de antígeno K99, 6.34% de Ag 987P y un 0.39% de F41. En cepas de *E. coli* no enterotoxigénica se encontró un 19.43% de Ag K88 (4).

Supar y Patten (Indonesia, 1991), estudiaron cepas de *E. coli* aisladas de cerdos con y sin diarrea encontraron una frecuencia de 56.4% de Ag 987P; 3.4% de K88; 11.2% de K99 y 16.1% de F41 en cepas de *E. coli* de cerdos con diarrea. En las cepas de *E. coli* de cerdos sin diarrea se encontró 18% de Ag 987P solamente (5).

En nuestro trabajo el 6.7% de todas las cepas de *E. coli* presentan factor de adherencia.

Además, del total de cepas de *E. coli* estudiadas, el 16.3% (68 cepas) fueron toxigénicas, productoras de Sta. Entre las cepas toxigénicas encontramos 22.1% de positividad a factores de adherencia: 11.8% tuvieron K88, 8.8% K99 y 1.5% tuvieron 987P.

Comparando los estudios anteriores, vemos que las cifras de detección del Ag K88 varía ampliamente (del 3 al 92.9%), por lo que la cifra encontrada por nosotros queda dentro de esta gama tan amplia y concuerda sobre todo con el trabajo de Nakazawa (Japón, 1987).

Nuestra cifra de detección de K99 (8.8%) se acerca a la cifra reportada por Soderlind (1988), y Supar y Patten (Indonesia, 1991). Nuestro porcentaje de detección de 987P (1.5%) queda bastante por debajo de las cifras reportadas en otros estudios, sobre todo el de Supar y Patten (56.4%).

Entre las cepas no toxigénicas que estudiamos encontramos también que el Ag fimbrial más frecuente fue K88 (2.0%), seguido por 987P (1.4%), casi igual al encontrado en las cepas toxigénicas y en tercer lugar al K99 (0.3%). Estos datos no son comparables con otros estudios, puesto que sólo hay uno (Soderlind, 1988) que ha detectado antígenos fimbriales en cepas de *E. coli* no toxigénicas o bien a las que no se ha buscado producción de toxina.

### BIBLIOGRAFIA

1. Nakasawa, M., Sugimoto, C., Isayama, Y., Kashiwasaki, K., (1987). *Vet. Microbiol.* 13:291-300.
2. Osek, J., Svennerholm, A.M., (1991). *Vet. Microbiol.* 29:299-307.
3. Soderlind, O., Molby, R., Thafvelin, B., (1985). Encuentro sobre enfermedades infecciosas del cerdo. A.M.V.E.C ed.
4. Soderlind, O., Thafvelin, B., Molby, R., (1988). *Jour. Clin. Microb.* 26:879-884.
5. Supar, Hirst, R.G., Patten, B.E., (1991). *Vet. Microbiol.* 26:393-400.