



IDENTIFICACIÓN DE GENES DE VIRULENCIA DE *Escherichia coli* EN LECHONES CON DIARREA EN LAS ETAPAS DE LACTANCIA Y DESTETE MEDIANTE LA TÉCNICA DE PCR

*¹Gómez Merino MD, ¹Cruz Benavides GC, ¹López Morales JR, ¹Carreón Nápoles R, ¹Ramírez Hernández G, ²Toledo Rojas A, ²Castro AM.

¹Departamento de Producción Animal: Cerdos, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM.,

²Departamento de Salud Pública, Facultad de Medicina, UNAM.

Introducción. La diarrea en lactancia y post-destete en cerdos, son de tipo infeccioso y originan importantes pérdidas económicas (1). Esta enfermedad es causada por cepas de *E. coli* enterotoxigénica (ETEC) así como por *E. coli* productoras de Shiga toxinas (STEC). Los factores de virulencia como son las fimbrias y toxinas producidas por la bacteria son los involucrados en el establecimiento de la enfermedad. Las fimbrias y las toxinas más comunes producidas por *E. coli* son F4, F5, F6, F18, F41, STa, STb, LT y STx (2). En este trabajo se pretende identificar los genes de virulencia de *E. coli* asociados a diarrea porcina mediante la técnica de PCR.

Material y Métodos. Se colectaron un total de 166 muestras de heces de lechones con diarrea en cinco granjas de la República Mexicana; 113 pertenecen a lechones con diarrea y 53 a lechones sin diarrea. Éstas se aislaron en medios Eosina Azul de Metileno (EMB) y Mac Conkey, posteriormente se les realizaron pruebas bioquímicas. La extracción del DNA de los aislamientos fue hecha de acuerdo a Zhang (3) La identificación de los ocho genes de virulencia (LT, STa, STb, STx1, Stx2, F18, F41, F4) se llevó a cabo mediante el ensayo de PCR sencillo y duplex utilizando como iniciadores ocho oligonucleótidos específicos. Las condiciones de las PCRs utilizadas se tomaron de acuerdo a lo ya reportado, con algunas modificaciones (1,4) Los productos de amplificación fueron identificados mediante geles de agarosa al 2 % y teñidos con bromuro de etidio. Se utilizaron cepas de referencia como controles positivos y negativos para cada uno de los genes.

Resultados y Discusión. 150 muestras correspondieron a *E. coli*, donde 110 (73.33%) fueron positivas para uno o más de un factores de virulencia de ETEC y EHEC, de las cuales 30 (52.7%) provenían de lechones en lactancia y 41 de lechones destetados. De las cepas de lechones sin diarrea, 39 (84.8%) presentaron alguno de los genes estudiados. (Tabla 1). STa fue la toxina más detectada en un 31%, lo que concuerda con estudios realizados por Thuy N. Do y cols, Cicuta M. E y cols y Chen X y cols (5,6,7). La fimbria F41 fue el gen más encontrado en un 59% (Tabla 2) a diferencia de otros países donde sólo la detectan en menos del 3%, esto tiene gran importancia, ya que es un nuevo hallazgo y nos permite considerar que las cepas de *E. coli* aisladas de lechones en México presentan perfiles de genes de virulencia diferentes, como en el caso de la F41; a lo reportado por otros países como Vietnam, Argentina y China (5,6,7).

Se encontraron 19 combinaciones, siendo la más frecuente STa/ F41 en un 11.3%.

El presente trabajo tiene gran importancia, ya que es uno de los primeros realizados en México acerca de la detección de genes de virulencia de *E. coli* en lechones de lactancia y destete, mediante esta técnica, además sugiere que tanto las fimbrias como las toxinas son importantes para la presentación de la diarrea en lechones de lactancia y destete. Por tal motivo este estudio permitió desarrollar un método diagnóstico rápido y certero de esta enfermedad.

Tabla 1. Cepas positivas de *E. coli* en lechones con y sin diarrea.

| Lechones | Cepas aisladas de <i>E. coli</i> | Porcentaje de cepas de <i>E. coli</i> positivas |
|-------------|----------------------------------|---|
| Lactancia | 57 | 52.63 |
| Destete | 47 | 87.23 |
| Sin diarrea | 46 | 84.78 |
| total | 150 | 73.33 |

Tabla 2 Porcentaje de factores de virulencia en cepas de *E. coli*.

| Genes identificados | Presencia de genes en cepas de <i>E. coli</i> (%) |
|---------------------|---|
| F41 | 59 |
| STa | 31 |
| STb | 18 |
| LT, F18 | 8 |
| STx2, F4 | ≤ 6 |
| STx1 | 0 |

Bibliografía

1. Vu-Khac H, Holoda E, Pilipcinec E, et al. 2006. BMC Vet Res. 20;2:10.
2. Lee SI, Rayamahji N, Lee WJ, 20th International Pig Veterinary Society Congress (IPVS), Durban Sudáfrica. 2008, vol. 2, pag: 245.
3. Zhang W., Zhao M., 2007. *Veterinary Microbiology* 123: 145–52.
4. Osek J, Gallien P, Truszczynski M, Protz D. 1999. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 22 (3): 163-74.
5. Cicuta M. E, Parma A. *Rev. Vet.* 10/11, 1 y 2.
6. Do T, Phu H, Et.al. 2006. *Journal of Medical Microbiology* 55: 93-99.
7. Cheng X, Gao S, 2004. *Veterinary Microbiology.* 103: 13-20.