

M-19

DETECCIÓN DE FACTORES DE PATOGENICIDAD DE *E. coli* ENTEROPATÓGENA Y ENTEROHEMORRÁGICA A PARTIR DE MUESTRAS DE ALIMENTOS MEDIANTE PCR

Martínez Tinajero Miguel Ángel, Azuara Salas Julio Cesar, Castillo Castillo Benjamín, Cruz Pulido Wendy, Rivera Sánchez Gildardo, Bocanegra García Virgilio.

Departamento de Biología Molecular y Bioingeniería. U. A. M. Reynosa-Aztlán, U. A. T.

Palabras clave: PCR, *E. coli*, factores de patogenicidad, EHEC

Introducción: *Escherichia coli* es un bacilo grueso, corto, de 0.4 a 0.7 micras de grosor y de 1 a 4 micras de longitud, la motilidad varía según los medios de cultivo, no forma esporas; es gramnegativas y se tiñe uniformemente por los colorantes de anilina, y no presentan estructuras íntimas características. *E. coli* es parte de la flora normal del intestino grueso en el hombre y de los animales. Algunas cepas de *E. coli* son por naturaleza patógenas y pueden producir infección entérica o enfermedades extraintestinales; estas cepas patógenas se han englobado en seis diferentes grupos o categorías: *E. coli* enteropatógenos (EPEC), *E. coli* enterotoxigénico (ETEC), *E. coli* enteroinvasivos (EIEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC), *E. coli* con adherencia difusa (DAEC), siendo de estas anteriores la ETEC y la EHEC las de mayor prevalencia. Las infecciones por *E. coli* provocan en los seres humanos del orden de 630 millones de casos de diarrea en el mundo y aproximadamente 775,000 muertes al año afectando fundamentalmente a la población infantil de los países en vías de desarrollo.^{1,2}

Objetivo: Determinar la prevalencia de los factores de patogenicidad asociados de *E. coli* entehemorrágica y enteropatógena.

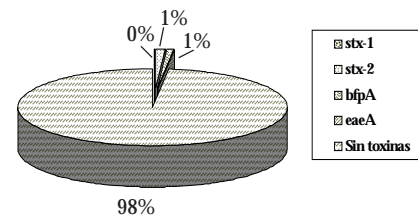
Materiales y métodos: Muestreo. Se procesaron 70 muestras de tres tipos de alimentos: queso fresco, carne molida de bovino y porcino. Procesamiento de la muestra Se pesaron 25 g una muestra representativa del alimento, y se homogenizaron. Se tomó una porción de 10 g del homogenizado y se inoculó en un matraz con 90 ml de caldo soya tripticasa. Luego se incubaron a 36± 1°C por 16 a 20 horas con agitación a 150 rpm. Determinación de mesófilos y coliformes La calidad microbiológica de los alimentos se determinó mediante las normas NOM-093 SSA1 1994 y NOM-112 SSA1 1994 Extracción del DNA La extracción de DNA se realizó mediante lisis directa de una suspensión bacteriana (0.5 mL) mediante choques de calor Amplificación por PCR Las reacciones de PCR se estandarizaron, para determinar las condiciones óptimas de amplificación utilizando los siguientes iniciadores.³

| Gen | Iniciadores | Amplicón |
|-------------|---|----------|
| <i>bfpA</i> | F:5' AATGGTGCTTGCCTTGCTGTC3' R:5' GCCGCTTTATCCAACCTGGTA3' | 324 pb |
| <i>eaeA</i> | F:5' GACCCGGCACAAGCATAAGC3' R:5' CCACCTGCAGCAACAAGAGG3' | 384 pb |
| Stx1 | F:5' CTGGATTTAATGTCGCATAGTG3' R:5' AGAACGCCCACTGAGATCATC3' | 150 pb |
| Stx2 | F:5' GGCAGTGTCTGAAACTGCTCC3' R:5' TCGCCAGTTATCTGACATTCTG3' | 255 pb |

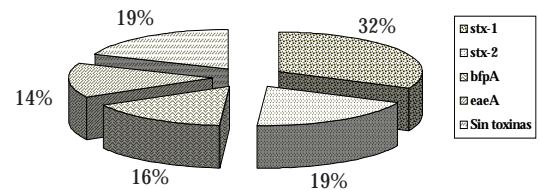
Los productos amplificados se correrán por electroforesis en geles de agarosa al 2% y posterior tinción con bromuro de etidio para su observación en un transiluminador.

Resultados: Se detectaron de los diferentes factores de patogenicidad de *E. coli* en las muestras de alimentos, la prevalencia se muestra en la figura 1.

Prevalencia de toxinas *E. coli* en carne de res



Prevalencia de toxinas *E. coli* en carne de cerdo



Prevalencia de toxinas *E. coli* en queso fresco

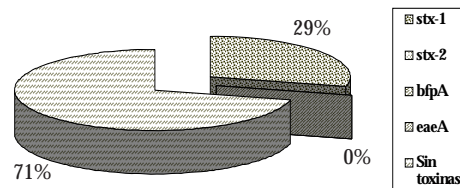


Figura 1. Prevalencia de los factores de patogenicidad de *E. coli* detectados en las muestras de alimento.

Conclusiones: La prueba de PCR para cada factor de patogenicidad solo se aplicó a las muestras positivas para coliformes fecales. La carne de res el alimento en el que menos factores de patogenicidad se detectaron y la carne de cerdo fue en la que se detectaron más factores de patogenicidad.

REFERENCIAS

- Nataro JP, Kaper JB. Diarrheogenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev* 1998; 11: 142-201.
- Wang RF, Cao WW, Cerniglia CE. A Universal Protocol for PCR Detection of 13 Species of Foodborne Pathogens in Foods. *J Appl Microbiol* 1997; 83: 727-736.
- López-Saucedo C, et al. Single Multiplex Polymerase Chain Reaction To Detect Diverse Loci Associated with Diarrheogenic *Escherichia coli*. *Emerg Infect Dis* 2003 Jan; 9: 127-31.