

Colibacilosis Entérica Porcina

Leonel Lazo Pérez



Edición: Liset Ravelo Romero
Corrección: Estrella Pardo Rodríguez
Diagramación: Roberto Suárez Yera
Diseño de cubierta: Claudia María Larrea Marin

Leonel Lazo Pérez, 2010
Editorial Feijóo, 2010

ISBN: 978-959-250-503-2



EDITORIAL
Feijóo

Editorial Samuel Feijóo, Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas, Carretera a Camajuaní, km 5 ½, Santa Clara, Villa Clara, Cuba. CP 54830

RESUMEN

En el trabajo se aborda la epizootiología de las infecciones entéricas producidas por *E. coli* en cerdos jóvenes, haciendo énfasis en la etiología, susceptibilidad, síntomas clínicos, las lesiones anatomopatológicas y el diagnóstico. Se emiten consideraciones sobre el papel de las cepas de *E. coli* como desencadenantes de diarrea neonatal, enteritis del destete y enfermedad edemática del cerdo. También se desarrollan las medidas de lucha contraepizoótica para la prevención y control de la colibacilosis entérica porcina, los factores de virulencia y categorías de *E. coli*, en cepas productoras de diarrea en cerdos neonatos y postdestetados. Culmina con aspectos de la serotipificación y susceptibilidad ante los antibióticos.

ÍNDICE

Introducción.....	5
Desarrollo.....	8
1. Epizootiología de las infecciones entéricas producidas por <i>E. coli</i> en cerdos jóvenes	8
1.1. Etiología.....	8
1.2. Susceptibilidad.....	9
1.3. Síntomas clínicos.....	10
1.4. Lesiones anatomopatológicas.....	11
1.5. Diagnóstico.....	12
1.6. Papel de <i>E. coli</i> como desencadenante de diarrea neonatal, enteritis del destete y enfermedad edemática del cerdo	16
1.7. Medidas de lucha contraepizoótica para la prevención y control de la colibacilosis entérica porcina	19
2. Factores de virulencia y categorías de <i>E. coli</i>, en cepas productoras de diarrea en cerdos neonatos y postdestetados	23
3. Serotipificación.....	34
4. Susceptibilidad ante drogas antimicrobianas.....	36
Bibliografía.....	41
Anexos.....	57

INTRODUCCIÓN

En nuestro país, la colibacilosis es una de las primeras causas de mortalidad infecciosa en cerdos neonatos y según datos del IMV, con una pérdida anual de hasta un 10 %, lo cual afecta la economía nacional en más de un millón de pesos (MN). Muchas de estas pérdidas son provocadas por la debilidad y el incremento de su predisposición a otras enfermedades del animal que sobrevive, además del costo en fármacos y el personal relacionado con el manejo del animal (Wong y col., 1996).

E. coli es la mayor causa de infección entérica en cerdos neonatos en Cuba (Castro y col., 2002). Las colibacilosis causadas por *Escherichia coli* enterotoxigénicos (ECET) son muy frecuentes en los animales domésticos, afectando fundamentalmente a animales de pocos días de edad y recién destetados, ocasionando importantes pérdidas económicas en explotaciones porcinas de todo el mundo (Blanco, 2006). La diarrea postdestete en cerdos es con frecuencia el principal problema infeccioso de las granjas a gran escala, y es responsable de pérdidas significativas a nivel mundial (VuKhac y col., 2006)

En nuestro país constituyen antecedentes de la problemática científica, los importantes aportes realizados por Talavera (1981, 1983b), que estudió la enteropatogenicidad en cepas aisladas de cerdos diarreicos, basado en el estudio de antígenos somáticos y capsulares, el comportamiento frente a determinadas pruebas bioquímicas y el empleo de la prueba de inmunofluorescencia directa para la detección de cepas de *E. coli* K88 y K99. Estos estudios permitieron comparar los caracteres entre cepas enteropatógenas y no enteropatógenas, para lo cual se utilizó como criterio de enteropatogenicidad, la respuesta de las cepas ante la prueba de intestino ligado en cerdos. El estudio no reveló asociación de la enteropatogenicidad de las cepas con su antígeno somático, ni con los caracteres bioquímicos investigados.

También fue desarrollada una tecnología de producción de sueros policlonales para el diagnóstico serológico de *E. coli*, a partir de cepas que expresaban fimbrias K88, K99, F41 y 987P (Talavera, 1983a; Talavera y Montes de Oca, 1987) y de antisueros marcados contra cepas de *E. coli* para inmunofluorescencia directa (Pedroso y Talavera, 1983a, b y c). La evaluación de

los antisueros, arrojó una elevada especificidad y buen nivel de detectabilidad; los inmunosueros marcados obtenidos, resultaron eficaces para el diagnóstico inmunofluorescente directo de las cepas K88 y K99 de *E. coli*, que permite la técnica la detección sencilla y rápida de dichos antígenos a partir de muestras de campo procedentes de cerdos, confiriéndole a este método valor diagnóstico presuntivo para detectar estos antígenos en heces fecales de cerdos.

Se han efectuado estudios de la presencia de plásmidos de virulencia y de resistencia en cepas de *E. coli* aisladas en cerdos diarreicos de diferentes unidades porcinas de la provincia de Villa Clara (Pernas, 1980; Pernas y col., 1985; Pernas y Roja, 1985; Pernas y Bravo, 1986), así como el empleo de pruebas de intestino ligado (Pernas y col., 1981; Pernas y col., 1986) y del ratón lactante (Gebremariam y col., 1985) para la detección del poder patógeno en cepas de *E. coli* aisladas en cerdos con diarrea.

Pérez y Talavera, (1984) evaluaron el efecto de la enterotoxina TL de *E. coli* en la línea celular CRT-2 y demostraron que este es similar al producido por la enterotoxina en las células VERO. Barreto y Karadjov (1985) realizaron un estudio ecológico sobre cepas de *E. coli* aisladas en cerdos diarreicos de tres unidades porcinas de la provincia de Camagüey, para lo cual emplearon estudios bioquímicos y serológicos, determinaron la producción de colicinas y la sensibilidad frente a un grupo de antibióticos.

Basulto y col., (1997, 1999) utilizaron sondas de ADN específicas en la identificación de los genes que codifican los antígenos fimbriales K88, K99, F41 y 987P en aislamientos de *E. coli* de cerdos con diarrea. Castro y col. (2002) emplearon un ELISA para determinar la presencia de factores de colonización K88, K99, 987P y F41 en muestras fecales de cerdos con diarrea.

Más recientemente se han efectuado estudios de caracterización de aislados de *E. coli*, en los cuales se han empleado diferentes métodos de diagnóstico como la detección de los genes que codifican factores de virulencia, el serotipado y el estudio de los perfiles de electroforesis en campos pulsantes (PFGE). Los resultados mostraron que en los procesos diarreicos causados por *Escherichia coli*, que afectan al cerdo durante la etapa neonatal y postdestete en diferentes granjas porcinas de la provincia de Villa Clara, predominan los patotipos O141 H- TSa TSb VT2 y O157 H19 VT2., la mayoría de los seropatotipos evaluados presentaron gran diversidad genética, al mostrar diferentes clones con patrones electroforéticos distintos, se evidenció relación

clonal entre los aislados de uno de los serotipos más prevalentes detectados en granjas ubicadas en zonas geográficamente distantes (Lazo y col., 2004, 2005, 2007; Blanco y col., 2006).

Todos estos importantes estudios realizados contribuyeron a incrementar los conocimientos sobre el diagnóstico microbiológico, los factores de virulencia, la resistencia a drogas antimicrobianas y los serogrupos de *E. coli* presentes en los aislados de origen porcino en Cuba. Teniendo en cuenta que, a pesar de los ingentes esfuerzos que se han dedicado al estudio de la problemática planteada en Cuba, y los aportes de la ciencia en este campo de trabajo, esta enfermedad continúa siendo una de las más importantes que afectan al cerdo en Cuba, y por su carácter multifactorial requiere de una constante actualización en los aspectos esenciales del diagnóstico, patogenia, prevención y control.

1. Epizootiología de las infecciones entéricas producidas por *Escherichia coli* en cerdos jóvenes

1.1. Etiología

Escherichia coli fue descrita por primera vez por el médico alemán Theodore Escherich, en 1885, a partir de heces fecales de individuos sanos, y fue denominada por él como *Bacterium coli commune*. *E. coli* ha sido aislada desde entonces a partir del hombre y animales con síntomas de enfermedades gastrointestinales (Blanco y col., 2002). Se trata de un bacilo Gram negativo anaerobio facultativo que pertenece a la familia *Enterobacteriaceae* (Sussman, 1997; Swing, 1999; Blanco y col., 2002). *Escherichia coli* es un importante patógeno entérico de cerdos destetados, causante de la diarrea postdestete (PWD por sus siglas en inglés) y de la enfermedad edemática (ED por sus siglas en inglés), también puede perturbar la mucosa intestinal permitiendo a la bacteria ir desde la mucosa a la sangre y órganos internos causando septicemia (Holm y Poulsen, 1996).

Este microorganismo es clasificado dentro del género *Escherichia*, y puede subdividirse en biotipos, según sean sus propiedades, es un germen Gram- negativo, anaerobio facultativo, rodeado de flagelos peritricos de variable longitud, es habitante normal del intestino grueso de aves y mamíferos y es agente causal de infecciones intra intestinal y extra intestinal, tales como, infecciones del tracto urinario, cistitis, pielonefritis, meningitis, peritonitis, mastitis, septicemia y neumonía (Van den Broeck y col., 2000).

E. coli puede ser diferenciada en dos grupos cuando se siembra en caldo nutriente, donde se puede ver el medio uniformemente turbio cuando se trata del crecimiento de cepas lisas (S) y en el caso de bacterias que provienen de cepas rugosas (R) se observa el sobrenadante claro y un sedimento granuloso. En medios sólidos las colonias tienen una apariencia circular y lisa con bordes bien manifiestos, aunque algunas cepas producen colonias mucoides. En Agar sangre las colonias adoptan un color amarillento que va tornándose a pardo o pardo-dorado a medida que envejece el cultivo, algunas cepas manifiestan en este medio la excreción de α -hemolisina soluble, al igual que en otras se puede detectar la β -hemolisina. En Agar eosina-azul las colonias

son de color rojo negrozco con brillo metálico, mientras que en Agar Mac Conkey son planas, rojas o rosado oscuras, rodeadas de una zona de precipitación y en Agar verde brillante de Kauffmann se presentan de color amarillo-verdoso (Hampsom, 1994).

1.2. Susceptibilidad

Las infecciones entéricas por *E. coli* en los cerdos, afectan principalmente a los animales jóvenes, con mayor frecuencia que a los adultos (Hampsom, 1994). La enfermedad edemática o colienterotoxemia, afecta exclusivamente al cerdo, normalmente la enfermedad ocurre en los primeros 14 días después del destete, pero puede también ser encontrada después de pasar a la etapa de ceba (Bertschinger, 1999).

La susceptibilidad depende de la edad, y se debe a varios aspectos, la alta permeabilidad relativa de la mucosa intestinal en los animales neonatos, el Ph gástrico relativamente neutro en los animales recién nacidos (3,4-5,8) lo cual favorece el paso de las bacterias a través del estómago, los cambios rápidos en las condiciones del intestino y la rediferenciación del epitelio del ileon inmediatamente después del destete, el desarrollo del sistema inmune del hospedero y la presencia de receptores intestinales dependientes de la edad (De Graaf y Gaastra, 1994).

La presencia de receptores específicos K88 en el mucus del ileon de porcinos es dependiente de la edad (Conway y col., 1990). Los receptores del intestino delgado dependen de la edad del cerdo, los animales recién nacidos son los más sensibles a las infecciones por ECET, un aumento temporal a la susceptibilidad puede ocurrir como un fenómeno del postdestete (Lindahl y col., 1990). La resistencia genética de algunos cerdos a la colonización intestinal por la bacteria causal de esta enfermedad, se le atribuye a la ausencia de receptores para las fimbrias F107 en la membrana del enterocito de cerdos neonatos y para las fimbrias K99, P987 y F41 en la membrana del enterocito de cerdos postdestetados. Por lo que, los lechones son resistentes a la infección, si ellos son genéticamente deficientes en su habilidad para expresar receptores específicos K88 en el borde ciliado de la membrana celular (Hu y col., 1993).

La edad y la base genética parecen ser determinantes inherentes a la susceptibilidad de los lechones para *E. coli*. Los cerdos son resistentes a *E. coli* F18⁺ al nacimiento, pero llegan a ser susceptibles después de varias semanas (Imberechts y col., 1997). La susceptibilidad frente a infecciones por *E. coli* es dominante sobre las resistencias (Francis y col., 1998) y las resistencias

heredables a colibacilosis causadas por ECET K88 y F18 están bien documentadas, pero no han sido descritas con referencia a *E. coli* que produce otras fimbrias de adhesión (Francis y col., 1998). Algunos lechones carecen de receptores para la cepa K88 de *E. coli* y, por tanto, son resistentes a la misma y a la diarrea que causan. Esta característica, carencia de receptores para la cepa K88 es autosómica, recesiva en un solo locus. También parece posible que la resistencia a las cepas K99 y F4 de *E. coli* sea determinada por un solo gen (Todd, 2000).

1.3. Síntomas clínicos

Pocos días después del nacimiento, los cerdos infectados con cepas patógenas de *E. coli* se atontan y maman sin vigor o rehúsan mamar. Por lo general, presentan diarrea acuosa, amarillenta o de color grisáceo, aunque a veces se encuentran estreñidos, se desmedran y se debilitan con rapidez, no se mueven con facilidad en la nidada y no viven por mucho tiempo. A veces, los rabos se recubren con heces que al secarse, si los cerdos sobreviven, el período agudo de la infección obstaculizan la circulación produciendo el desprendimiento del rabo. En los cerdos en la edad de destete el desarrollo de los signos es más rápido en la infección de *E. coli* y la coloración de la piel menos pronunciada. La elevación de la temperatura alcanza cifras de 40 a 41,1° C. La diarrea es un signo precoz, pero no se observa hasta después de tres a cuatro días de la enfermedad, y el consumo de alimentos está marcadamente disminuido (Imbrechts y col., 1994; Bouguenec y Bertin, 1999).

En la enfermedad edemática las muertes súbitas de cerdos en crecimiento y en buen estado de carne, pueden ser el primer signo; y los cerdos son frecuentemente encontrados muertos sin síntomas previos de la enfermedad (Hampson, 1994). Los cerdos se mueven con una marcha tambaleante hacia el alimento, pudiendo comer escasamente o solo hociquean el alimento, seguidamente pierden el control de las extremidades posteriores o anteriores, y en pocas horas la parálisis es completa y los cerdos no pueden levantarse, en otros casos se observan ataques de convulsiones y movimientos de corrida (Bertschinger y Gyles, 1994).

Los signos neurológicos característicos comprenden ceguera aparente, ataxia y marcha en círculos, que progresan a decúbito lateral con opistótonos y movimientos de nadar con las patas. Puede haber evidencia de edema de los párpados o de la frente y el edema de la laringe puede causar un rugido con un timbre característico. La muerte generalmente ocurre varias horas o dos

días después, y algunos animales que se recuperan presentan signos neurológicos persistentes de severidad variable. La morbilidad en un grupo afectado es de alrededor de un 5 % (Hampson, 1994).

La inflamación alrededor de los ojos frecuentemente combinada con enrojecimiento de la piel, puede deberse a una forma benigna de presentación de la enfermedad, de la cual los cerdos se recuperan; la temperatura rectal es normal salvo algunas excepciones, puede observarse constipación marcada, pero en brotes debido a cepas de *E. coli* que producen una o más enterotoxinas, la diarrea puede preceder a los síntomas de la enfermedad edemática (Bertschinger y Gyles, 1994). En ciertos brotes los cerdos pueden sobrevivir y desarrollar la enfermedad crónica caracterizada por un crecimiento más lento con o sin signos de una encefalopatía local (Kausche y col., 1992).

1.4. Lesiones anatomopatológicas

Las alteraciones que se encuentran en los cerdos con enteritis producidas por *E. coli* son: enteritis catarral, que puede ser moderada o grave y que se caracteriza por congestión de los vasos mesentéricos anteriores y posteriores. El estómago puede contener cantidades variables de la leche coagulada, pero por lo general no presenta alteraciones hemorrágicas notables. El intestino contiene a menudo una sustancia acuosa amarillenta y gaseosa. Los ganglios linfáticos mesentéricos pueden estar aumentados de tamaño y edematosos. Los casos de enteritis hemorrágicas son poco frecuentes. En los cerdos de más edad con enteritis necrótica se han aislado serotipos patógenos de *E. coli*. Es de presumir que tales organismos contribuyan al desarrollo de dicho estado. En cualquier edad se puede encontrar como complicaciones neumonías, peritonitis y pleuritis (Frasser, 1993). En los casos de septicemia, la piel puede presentar cierta coloración, que casi siempre es moderada, los abscesos de las articulaciones se presentan a veces después de que la septicemia ha declinado (Wenneras y col. 1990).

En la enfermedad edemática aunque algunos cerdos pueden no presentar lesiones visibles, otros, particularmente los que han muerto recientemente, presentan edema evidente del subcutis, notablemente en la región craneal, en los párpados, sobre el hueso nasal, en la región inguinal y sobre el vientre (Bertschinger y Gyles, 1994). La submucosa de la curvatura mayor del estómago

y el mesenterio del colon en espiral pueden mostrar un edema gelatinoso; y las cavidades serosas pueden contener una cantidad excesiva de líquido ámbar claro (Hampson, 1994).

Las lesiones pueden presentarse en varias combinaciones y la severidad de los cambios muestran enormes variaciones; los nódulos linfáticos subcutáneos están edematosos con un moteado rojizo en la superficie, en el corazón pueden aparecer petequias ocasionalmente, en los pulmones y en la pared de la vejiga biliar se presenta edema variable, el estómago está frecuentemente lleno de un contenido seco y fresco parecido a migajas de alimentos, la mucosa está pálida y en la región del cardias puede presentarse un edema de variado espesor, a nivel de la submucosa (Bertschinger y Gyles, 1994).

1.5. Diagnóstico

Blanco y col. (2002), señalan que las diarreas en cerdos a la edad de amamantamiento y dentro de las dos primeras semanas postdestete, están casi siempre acompañadas por algún tipo de infección por *E. coli* no-comensal. El diagnóstico de la infección por ECET se hace en la detección de factores de virulencia conocidos y del serogrupo de ECET sospechoso. Esto puede no requerir necesariamente del cultivo de la bacteria. Pero la necesidad de determinar la resistencia antibiótica simultáneamente, hace que el cultivo y pruebas de características culturales “in vitro” sean parte del diagnóstico de rutina para los laboratorios. Para el cultivo usualmente se usa intestino de cerdo o heces, de las cuales es aconsejable inocular medios específicos requeridos para el crecimiento potencial de algunas adhesinas (MINCA, para K88 o Difco Blood Agar base con sangre de cabra para P987).

Los medios más frecuentemente utilizados para el aislamiento de *E. coli* son el agar de MacConkey con lactosa y el medio de eosina con azul de metileno (EMB o LEVINE). Se trata de medios selectivos que diferencian las colonias en positivas y negativas con respecto a la lactosa. Aunque la mayoría de las cepas de *E. coli* son lactosa positiva no se debe descartar el estudio de las colonias lactosa negativas, ya que en el 5 % de *E. coli* que no fermenta la lactosa se pueden encontrar cepas patógenas. La biotipificación se puede realizar con una serie corta de pruebas bioquímicas: indol (+), rojo de metilo (+), Voges Proskauer (-), citrato (-), SH2 (-) y ureasa (-). No obstante, hay que tener en cuenta que hay cepas atípicas: indol (-), citrato (+), SH2 (+) o ureasa (+) (Blanco y col. 2005).

Para probar si los aislamientos son ECET, los antígenos fimbriales K88, K99, F41 y 987P pueden detectarse por aglutinación de látex para lo cual hay disponibles kits basados en anticuerpos monoclonales. Las fimbrias adhesivas producidas “in vivo” pueden ser más eficientemente detectados por pruebas de cuadros diarreicos usando ensayo de anticuerpos fluorescentes. Como puede ser que la cepa de ECET no sea conocida (o detectable), es aconsejable preparar ensayos para comprobar enterotoxinas de igual manera. Las toxinas TL y TSa pueden ser identificadas por ELISA o por aglutinación del látex, desafortunadamente estas pruebas no son factibles para TSb. Pruebas de ADN (hibridación RCP) son usadas para la detección “in vitro” de casi todos los genes virulentos conocidos de ECET porcino (Osek, 1999^a, 1999^b). Su uso, sin embargo, parece ser muy costoso y consume mucho tiempo bajo condiciones de diagnóstico de rutina en laboratorio. Por eso posteriores investigaciones han sido y aún son llevadas a cabo en técnicas tales como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en Inglés) múltiple que podría facilitar su uso para diagnóstico de laboratorio (Nielsen y Andersen, 2003).

El diagnóstico de la diarrea postdestete (PWD) requiere de cuidadosa consideración de los factores predisponentes y resultados bacteriológicos. Esto es casi siempre una necesidad para la investigación en el diagnóstico diferencial tales como detección de virus. Por ello en caso de PWD, es muy aconsejable no ser con un posible resultado bacteriológico donde se detecten varios tipos de ECET, pero es también necesario considerar otros factores fisiológicos, ambientales, dietéticos y virales que pueden a veces ser tan importantes como las mínimas bacterias ECET. Cultivo y/o identificación inmunofluorescente “in vivo” de cepas de ECET del íleo de cerdos diarreicos es la vía más simple y eficiente para el diagnóstico bacteriológico (como se describe para la diarrea en recién nacido). El análisis bacteriológico de muestras fecales para ECET es más difícil porque la bacteria presente en las heces puede no reflejar el status microbiológico del intestino delgado. Hay una variedad de técnicas “in vitro” que detectan los factores de virulencia (adhesinas y toxinas) de ECET incluyendo ensayos inmunológicos y biológicos, pruebas moleculares (hibridación del ADN y RCP), como se mencionó antes para la diarrea en recién nacidos (Blanco y col. 2005).

La presencia de uno o más tipos de ECET puede ser a menudo acompañada por *rotavirus*, *calicivirus*, *coccidia* o por *coronavirus* de la diarrea epidémica porcina en ambos grupos de edad,

neonatos y destetados, pero sobre todo en cerdos destetados (Imberechts y col., 1997). El diagnóstico diferencial puede incluir frecuentemente la detección de *rotavirus* y *coronavirus* así como *espiroquetas* y *salmonellas* (Frank y col. 1998).

Al respecto, Monserratt (2004), señala que los agentes que provocan diarrea en lechones son numerosos, pudiendo ser de carácter infeccioso o no. Entre los agentes infecciosos se encuentran diversos virus (GTT, Rotavirus, etc) y bacterias (*Clostridium perfringens*, etc). Algunos parásitos también aparecen relacionados (coccidias).

En relación con la colienterotoxemia, los cerdos normalmente están en buenas condiciones y los signos clínicos o hallazgos de la necropsia en animales de muerte reciente son distintivos. La enfermedad de los edemas afecta fundamentalmente a lechones destetados, tiene una elevada mortalidad y está causada por cepas que además de producir enterotoxinas sintetizan la verotoxina VT2v (también conocida como Vt2e o toxina edematosa), responsable de las alteraciones neuronales (Blanco y col., 2002).

La confirmación se basa en la demostración histológica de malacia focal en el tallo cerebral o de lesiones vasculares degenerantes típicas en varios lugares (Hampson, 1994). Son importantes las lesiones microscópicas en el cerebro, y las lesiones en pequeñas arterias y arteriolas, consistentes en pignosis y cariorrexis del núcleo en la túnica media del endotelio, necrosis de las células de la muscular de la mucosa, en el intestino. Glóbulos de material eosinofílico se observan alrededor de los vasos afectados en el cerebro (Erickson y col., 1992). El diagnóstico diferencial incluye la meningitis por *Streptococcus suis*, Pseudo rabia, septicemia por *Salmonella* e intoxicación con cloruro de sodio y compuestos arsenicales orgánicos (Hampson, 1994).

Al respecto, Bertschinger y Gyles, (1994) refieren que esta enfermedad es fácilmente diagnosticada cuando ocurren brotes típicos, sin embargo, los casos esporádicos especialmente aquellos que afectan grupos de edades atípicas y requieren diferenciación con otras enfermedades caracterizadas por un curso corto y por signos neurológicos como la Pseudo rabia, Poliencfalomielitis enteroviral, Fiebre porcina, Meningoencefalitis bacteriana causada por *Streptococcus suis* o *Haemophilus parasuis*, otitis media, y privación de agua.

En estudios comparativos de infecciones intestinales, mediante el empleo de métodos histopatológicos, se ha demostrado que las infecciones por rotavirus se caracterizan por la

destrucción de las vellosidades de las células epiteliales, mientras las infecciones por parvovirus se caracterizan por la destrucción de las criptas de las células epiteliales. Las infecciones por organismos intracelulares parecidos a *Campylobacter* se caracterizan por hiperplasia de las células epiteliales. Mientras que las infecciones por *E. coli* enterotoxigénicos se caracterizan por la adherencia de *E. coli* a las vellosidades del epitelio, con daño escaso o inaparente en la estructura de la mucosa y por el ataque a la superficie de la membrana de las células epiteliales, sobre todo en las microvellosidades (Moxley y Duhamel, 1999).

En algunos casos convendría determinar su fagotipo y patrón de electroforesis en campos pulsantes (PFGE). Solamente en determinados laboratorios de investigación de referencia se realiza el serotipado completo, el fagotipado y la técnica de PFGE (Blanco y col., 2005).

La técnica de electroforesis en gel de campos pulsantes (*Pulsed Field Gel Electrophoresis*, PFGE) es la técnica de epidemiología molecular que ha dado mejores resultados para detectar las conexiones clonales entre cepas relacionadas epidemiológicamente. En esta técnica se usan enzimas de restricción que cortan de manera infrecuente el ADN cromosómico para generar fragmentos muy grandes que son separados por electroforesis. Los fragmentos de ADN generados son mayores de 40 kb y se pueden separar si se alterna cíclicamente la orientación del campo eléctrico durante la electroforesis (Blanco, 2004). Sin embargo, Nemoy y col. (2005), señalan que aunque la PFGE es el método actual más usado para el tipado molecular de las bacterias, el tipado de la secuencia del multilocus (*multilocus sequence typing*, MLST) ofrece ventajas sobre la PFGE ya que tiene mayor capacidad discriminadora para definir las relaciones genéticas entre cepas.

Mora y col. (2000), han empleado la fagotipificación como un método de caracterización y clasificación de *E. coli* verotoxigénicos aisladas en España. Otro método que no es común utilizarlo en el diagnóstico de rutina es la inmunoelectromicroscopia, lo cual permite identificar las bacterias con fimbrias F107, las cuales se adhieren fuertemente al borde de las vellosidades de los enterocitos de fragmentos de intestino delgado, y con la preparación de antisueros contra estas fimbrias se puede visualizar la unión de anticuerpos fimbriales anti F107 unido a las bacterias que colonizan el intestino (Blanco y col., 2002).

La detección de las enterotoxinas puede realizarse por métodos fenotípicos (TL en células Vero, TSa en el ensayo del ratón lactante y TSb en asas intestinales ligadas de cerdo) o genotípicos (hibridación y RCP). También se pueden identificar los serotipos de ECET detectando sus antígenos de colonización con pruebas de aglutinación (Blanco y col., 2002).

1.6 Papel de las cepas de *E. coli* como desencadenantes de diarrea neonatal, enteritis del destete y enfermedad edemática del cerdo

Escherichia coli, es un enteropatógeno porcino que causa tres manifestaciones de colibacilosis entérica porcina: la diarrea neonatal, la enteritis del destete y la enfermedad edematosa. La diarrea neonatal es producida principalmente por cepas de *E.coli* enteropatógenicas (ECEP) de los serotipos O8: K87, O64, O101, O138: K81, O141: K85, O147: K89, O149: K91 y O157, que suelen expresar el antígeno fimbrial de colonización intestinal K88, aunque algunas cepas pueden expresar otros antígenos de colonización (P987, K99 y F41). En la enteritis del destete, predominan las cepas de los serotipos O138: K81, O141: K85 AB. Estos dos últimos serotipos junto con el O139: K82, son típicos de cepas asociadas a la enfermedad edematosa. *E.coli* enteropatógenicos que causan diarrea en lechones y cerdos destetados suelen producir enterotoxinas (TL, TSa y/o TSb), mientras que las responsables de la enfermedad edemática generalmente sintetizan la verotoxina citotóxica VT (Blanco, 2003).

E. coli enterotoxigénico (ECET) y verotoxigénico (ECVT) constituyen la mayor categoría de bacterias que causan infecciones entéricas en cerdos. ECET causa diarrea principalmente en cerdos recién nacidos y destetados, en tanto que la enfermedad de los edemas, caracterizada por anorexia, neuropatía, edema en intestino y párpados, ocurre usualmente en lechones tempranamente destetados (Bertschinger, 1999). Las cepas patógenicas colonizan el intestino delgado por medio de factores específicos de colonización (fimbrias) y producen una o varias endotoxinas responsables de la enfermedad (Bertschinger, 1999).

De forma general la colibacilosis neonatal y postdestete están causadas más frecuentemente por cepas de *E. coli* enterotoxigénicos (ECET) que producen enterotoxinas (toxinas termolábiles TL) o cepas de *E. coli* verotoxigénicos (ECVT) que producen toxinas termoestables (TSa/TSb). Ambos tipos de toxinas actúan en el intestino y estimulan la hipersecreción de mucina y electrolitos resultando en una diarrea aguda y deshidratación (Thomson, 2001). La enfermedad

edemática es atribuida a una toxina termolábil de la familia Shiga toxin (también conocida como verotoxina o Shiga like toxin), producida por ciertos serotipos de *Escherichia coli* y nombrada Shiga toxin 2e (Stx2e). (Imberechts y col., 1992).

La colibacilosis neonatal continúa siendo un problema importante pero la morbilidad y mortalidad aguda postdestete ha emergido como enfermedad más frecuente. Se ha incrementado más en granjas de alto estado sanitario en EUA que usan sistemas de destete temprano segregado (SEW, por sus siglas en inglés) y destete temprano medicado (MEW, por sus siglas en inglés), procedimientos que no eliminan *E. coli* (Winkelman, 1995).

La diarrea postdestete y la enfermedad edemática son las causas más comunes de mortalidad en los cerditos recientemente destetados (Bertschinger y Gyles, 1994; Hampson, 1994). La diarrea postdestete producida por diferentes serotipos de *E. coli* es de frecuente presentación en establecimientos de crías intensivas. Los signos clínicos predominantes son diarrea, deshidratación y muerte, muchas veces esta se presenta rápidamente sin sintomatología previa. En su etiopatogenia coexisten factores medioambientales y nutricionales, los que favorecen la proliferación de *E. coli* enterotoxigénico (ECET) y las manifestaciones clínicas de diarrea o muerte súbita. Esta comunicación parte de la descripción de un cuadro de diarrea postdestete y muerte súbita persistente durante un año con alta mortalidad y en el que se aísla en forma sistemática, ECET (Armocida, 1997).

Thomson (2001), plantea que la diarrea postdestete, postwine disease (PWD) es normalmente la enfermedad más constante en muchas granjas, especialmente en aquellas que se desteta a las 3-4 semanas de edad. La PWD comienza pocos días después que la protección láctea culmina completamente y los cerdos son ubicados en un ambiente nuevo desde el punto de vista técnico, social y microbiológico. Es ampliamente aceptado que serotipos y patotipos específicos de ECET son responsables de la mayor parte de las PWD. Es también discutido que la enfermedad es un complejo multifactorial. ECET sólo desempeña una parte (sin embargo una esencial). Es frecuentemente visto en la mayoría de las cochiqueras, pero es una de las enfermedades más difíciles para la reproducción experimental, diarreas y reducción en peso son solo parte de las pérdidas; crecimiento retardado, el cual usualmente está seguido de episodios diarreicos en cerdos destetados, que hacen aún peor las pérdidas.

Por otra parte, diversos autores afirman que la diarrea postdestete y la enfermedad edemática son consecuencia de un desequilibrio de la flora gastrointestinal, otros consideran que el aumento del Ph en el estómago de cerdos destetados favorece la colonización del intestino delgado por cepas de ECET, y que un ambiente ácido tiene un efecto inhibitorio sobre *E. coli*, por lo que muchos consideran que el estado fisiológico del epitelio intestinal influye en la adherencia de las bacterias; otros consideran que las infecciones virales a nivel del intestino del cerdo, pueden producir cambios en el ambiente (Kausche y col., 1992).

La enfermedad edemática del cerdo es de tipo toxémica y de curso agudo, afecta fundamentalmente a los cerdos jóvenes ya destetados, se presenta en los animales más robustos, más desarrollados y mejor alimentados, se caracteriza clínicamente por ser asintomática, muerte súbita, alteraciones relacionadas con el sistema nervioso, como dificultades al caminar o crisis convulsivas, edemas generalizados, especialmente visibles en los párpados, apatía, y anatomopatológicamente por la presencia de edemas y hemorragias en distintos órganos. Generalmente, los animales que alcanzan estos síntomas son prácticamente irrecuperables (Frasser y col., 1993). Hampson (1994) plantea que constituye un trastorno neurológico agudo de gran mortalidad que normalmente ocurre de cinco días a dos semanas después del destete, y que puede a veces acompañarse de diarrea.

La enfermedad edemática se presenta con frecuencia como casos esporádicos o pequeños brotes limitados a ciertos grupos de edades. Se presenta en cerdos recién destetados, con mayor frecuencia 7-10 días después del destete, sin embargo, suelen observarse casos esporádicos y brotes aislados en cerditos lactantes de dos semanas de edad o más. La disminución de la susceptibilidad con la edad se debe al desarrollo de la inmunidad (Bertschinger y Gyles, 1994).

La enfermedad edemática en cerdas de cría y verracos no es rara, tomando un curso más prolongado que en los cerdos jóvenes, pudiendo extenderse los brotes por períodos de tiempo más largos (Burgi y col., 1992). En los brotes de enfermedad edemática, es característica la afectación severa de los cerdos, con ataques repentinos y un curso rápido, seguido de una terminación abrupta. Con frecuencia las pérdidas por muerte cesan dentro de los primeros cuatro a cinco días de aparecer la enfermedad y por lo general no aparecen nuevos casos en el lote de cerdos. La incidencia varía de acuerdo a la persistencia del microorganismo. En resumen, la

enfermedad edemática del cerdo tiene las características de una enfermedad transmisible endémica (Bertschinger y Gyles, 1994).

La etiología de la enfermedad es compleja, están involucradas en la patogénesis, cambios en la consistencia y composición del alimento, baja protección pasiva de las cerdas y susceptibilidad genética de los lechones. La causa principal de su aparición está estrechamente asociada a diversos factores predisponentes, como destetes bruscos, cambios cualitativos y cuantitativos en la dieta, así como un manejo zootécnico inadecuado (Imberechts y col., 1992).

Es una enfermedad frecuentemente fatal que ocurre en lechones postdestetados cuando varios factores ambientales y nutricionales predisponen a los cerdos a padecerla (Bertschinger y Gyles, 1994). En las enfermedades multifactoriales el agente etiológico involucrado en muchos casos tiene menor importancia que las condiciones bajo las cuales los cerdos son mantenidos pues este puede permanecer inaparente durante mucho tiempo y cuando los factores ambientales actúan sobre el hospedero de forma negativa se torna súbitamente evidentes (Sobestiank, 1994).

1.7. Medidas de lucha contraepizoótica para la prevención y control de la colibacilosis entérica porcina

El control de las infecciones por *E. coli* se lleva a cabo por vacunación, buena higiene y manejo adecuado, con tratamiento de antibióticos durante los cuadros clínicos de la enfermedad. Existen varios aspectos importantes de la prevención de enfermedades diarreicas producidas por ECET en cerdos, dentro de ellos las técnicas de manejo (todo dentro-todo fuera, lugares secos y limpios, desactivación de las heces diarreicas, minimización del síndrome Mastitis-Metritis-Agalactia (MMA) en cerdas, etc. y buena práctica de cría son a la larga los más decisivos. Esto es especialmente cierto para técnicas que sirven para la prevención de diarreas postdestete (régimen alimentario, destete temprano y aislado, etc.). Las dietas que influyen sobre la capacidad de absorción del intestino hacen al mismo más propenso a la colonización y subsiguiente diarrea, es por ello que dietas altamente digestibles *ad libitum* reducen los problemas postdestete, así como el suministro de piensos de arranque. Bajar el pH del tracto gastrointestinal es la base para el control estratégico de estos problemas (Thomson, 2001).

La prevención se debe basar en la higiene de las aguas, en el control de los alimentos, y en la mejora de las condiciones higiénicas y de manipulación. Hay que intentar eliminar todos los

factores predisponentes de las infecciones oportunistas. Para evitar las septicemias neonatales que afectan a lechones hipogammaglobulinémicos de menos de una semana de vida, es fundamental alimentar a los neonatos con un calostro rico en anticuerpos, sobre todo en las granjas en las que este tipo de infecciones son frecuentes. Se han ideado vacunas elaboradas con bacterias enteras muertas (bacterianas) o con antígenos fimbriales (K88, P987, K99 y F41) purificados, para prevenir la diarrea en lechones recién nacidos. Se vacuna a las madres uno o dos meses antes del parto y su descendencia recibe los anticuerpos pasivamente a través del calostro (Blanco y col., 2005).

En granjas con problemas frecuentes de colibacilosis postdestete, el uso de altas concentraciones de óxido de zinc (2.500-3.000 ppm) durante dos semanas después del destete es beneficioso. El control de *E. coli* se lleva a cabo mediante la reducción de la proliferación en el intestino de estos microorganismos. Los estudios han mostrado que pocos organismos se cultivan a partir de los ganglios linfáticos mesentéricos de cerdos que recibieron óxido de zinc, lo que sugiere que reduce la diseminación de *E. coli* desde el intestino delgado hacia los ganglios linfáticos mesentéricos (Holm y Poulsen, 1996).

Una de las diversas áreas de la prevención por no antibiótico y no inmune de la PWD es la reducción de los factores del manejo que predisponen a la enfermedad. Estos factores incluyen la edad de destete y peso, dieta del destete, hacinamiento y contaminación ambiental de lotes anteriores. La suplementación del agua con ácidos, o de comida con probióticos, ha sido recomendada, lo cual ha mostrado una mayor evidencia de crecimiento y buen estado de salud de los animales (Ayala y col., 2005).

El empleo de ácidos orgánicos en la alimentación del cerdo, se ha incrementado en diversos países, no solo por el efecto protector contra la acción de microorganismos y hongos sobre el alimento, sino también, debido a su efecto sobre el Ph del estómago y la flora intestinal, con la consecuente reducción de procesos diarreicos (Camino y col., 2004)

Luckstadt y Moore (2005), demostraron que el consumo de dietas con aditivos probióticos (un compuesto mineral acidificado) incorporados a la ración a razón de 3 kg del producto por tonelada de alimento, mejoran la ganancia media diaria, la conversión alimentaria, reducen el pH

del estómago y disminuyen la proliferación de bacterias patógenas en el intestino de los cerdos tratados.

Los probióticos se han usado como alternativa de la antibioterapia, para inhibir la proliferación de *E. coli* en el intestino (Álvarez y col., 2005; China y col., 2005; Guerra y col., 2005; Pérez y col., 2005). En este sentido, Piloto y Legarda (2005), incorporaron un probiótico (Sorbial) en la alimentación de cerdos lactantes, logrando reducir la mortalidad y la incidencia de diarrea en el grupo de cerdos tratados.

Como alternativa ante el uso de antibióticos, Harvey (2004) desarrolló un cultivo mezclado de bacterias comensales obtenidas a partir de otros cerdos, estos microorganismos colonizan el intestino de los lechones y ayudan a establecer poblaciones sanas de microbios en la luz intestinal. Estas poblaciones de bacterias comensales se adhieren en las paredes intestinales y bloquean sitios para prevenir que las bacterias patógenas que causan enfermedades puedan adherirse y competir por los nutrientes necesitados. Algunas de las bacterias colonizadoras también producen compuestos bactericidas que combaten los patógenos que causan enfermedad, reduciendo aún más su habilidad de colonizar el tracto intestinal.

Actualmente existe una tendencia mundial a la no utilización de antibióticos en las dietas de los animales por los efectos residuales que estos traen consigo y el gasto en medicamentos, debido a esto, los productores de carne de cerdo han buscado otras alternativas para el control de diarreas a partir de productos naturales (Anónimo, 2005). En este sentido, Castro (2002) señala, que los probióticos, prebióticos, ácidos orgánicos, aditivos fitogénicos y otros productos naturales como las zeolitas han sido empleados en la prevención de diarreas en cerdos.

La prevención mediante la vacunación, continúa siendo un método inmunoprolifáctico que se aplica en muchos países. En Cuba, Talavera y col., (1984) obtuvieron una vacuna bivalente contra la diarrea enterotóxica en cerdos, contentiva de los antígenos de *E. coli* K88 y K99, posteriormente emplearon una vacuna de *E. coli* K88+ en cerdas gestantes, usando como adyuvante beta 1-3 glucano (Montes de Oca y Talavera, 1994).

También fueron realizadas pruebas clínicas controladas y de campo, para evaluar la efectividad de una vacuna oral inactivada a partir de cepas de *E. coli* portadoras de plásmidos de virulencia enterotóxicos y de factores de colonización K88 y K99, para prevenir la diarrea en cerdos recién

nacidos y postdestetados, mediante la estimulación de las células inmunocompetentes del tejido linfoide intestinal y por la colonización competitiva local que se logra inmediatamente después de su aplicación (Pernas y col., 1985a; Pernas y Bravo, 1986; Lazo y col., 1988; Benítez y col., 1989).

Wong y col. (1996) evaluaron la eficacia de una vacuna recombinante, utilizada en condiciones de campo contra la colibacilosis neonatal y postdestete en cerdos de diferentes granjas de la provincia de Camagüey.

Para prevenir la diarrea postdestete y la enfermedad de los edemas hay que vacunar a los animales durante la segunda semana de vida, pero en general los resultados no son tan buenos como los conseguidos con las vacunas contra la diarrea neonatal (Blanco y col., 2002). La inmunización pasiva puede ser una alternativa atractiva, que puede lograrse por la ingestión de anticuerpos contra determinantes esenciales de virulencia, como las fimbrias adhesivas. Este efecto puede lograrse mediante la inmunización de gallinas con factores adhesivos o fimbrias purificadas, de esta forma los huevos obtenidos contienen grandes cantidades de anticuerpos (IgY), los cuales son profilácticamente y terapéuticamente efectivos en las infecciones neonatales de cerditos con *E. coli* enterotoxigénico, al ser aplicados de forma continua por vía oral (Yocoyama y col., 1997).

En relación con el tratamiento de esta enfermedad la mayoría de los autores consideran que los cerdos que muestran signos neurológicos tienen un pronóstico desfavorable. La restricción del alimento en el período postdestete es recomendado en casos de brotes de la enfermedad, al igual que los antimicrobianos administrados en el alimento y dietas con los contenidos de nutrientes reducidos. Las sustancias antibacterianas son frecuentemente adicionadas al pienso, pero esta medicación profiláctica puede interferir con la inmunización activa y desarrollar resistencia antimicrobiana, lo cual se ha demostrado frente a la Ampicilina, Cloranfenicol, Tetraciclina, Estreptomina, Kanamicina, Sulfonamida, Trimetoprim, no así con la Gentamicina, Enrofloxacin, Sulfametoxazol más Trimetoprim (Pohl y col., 1991).

En general, todos los procesos diarreicos requieren, como base fundamental del tratamiento, una adecuada reposición de líquidos y electrolitos. Esta reposición puede ser oral en casos leves, pero en situaciones de grave deshidratación la rehidratación parenteral no debe demorarse. El

tratamiento de las enteritis con antibiótico está muy cuestionado, y en algunos casos totalmente contraindicado. Se ha demostrado que algunos antibióticos potencian la liberación de las verotoxinas de tal forma que pueden agravar el estado del enfermo. Los antibióticos que se utilicen deben ser activos *in vitro*, y alcanzar cantidades suficientes en el foco infeccioso, debiéndose escoger los menos tóxicos y los que tengan menor tendencia a seleccionar formas de resistencia entre los eficaces. Los antibióticos más frecuentemente empleados son la Amoxicilina (asociada al ácido clavulánico), las cefalosporinas, los aminoglucósidos, el Cotrimoxazol y las quinolonas (Blanco y col., 2005).

Como una alternativa ecológica y de sostenibilidad se han empleado tratamientos basados en la medicina natural bioenergética, con el empleo de la acupuntura y la homeopatía en el tratamiento del síndrome diarreico en cerdos (Cuesta, 2005).

2. Factores de virulencia y categorías de *E. coli*, en cepas productoras de diarrea en cerdos neonatos y postdestetados

En el anexo 1, se especifican los factores de virulencia y en el anexo 2 se representan los mecanismos de patogénesis de los diferentes grupos de *E. coli* que pueden causar diarrea en animales. La virulencia bacteriana es un fenómeno multifactorial. Las cepas patógenas de *E. coli* poseen diferentes tipos de factores de virulencia que contribuyen conjuntamente a potenciar su patogenicidad. Así, *E. coli* enterotoxigénicos para poder causar diarrea, además de secretar enterotoxinas, responsables de la deshidratación, deben poseer factores de colonización que les permitan adherirse a los enterocitos y colonizar el epitelio intestinal. Sin las adhesinas las bacterias enterotoxigénicas serían eliminadas mecánicamente por el lavado ejercido por los movimientos peristálticos del intestino delgado, y no podrían provocar diarrea a pesar de producir enterotoxinas (Blanco y col., 2005).

Dentro de los factores de virulencia en *E. coli*, se describen las fimbrias de adhesión, las cuales facilitan la adherencia de la bacteria a la superficie mucosal, las fimbrias producidas incluyen K88 (F4), K99 (F5), P987 (F6), F41 y F18 (F107, 2134P, “8813”) como factores principales en el acto de colonización (Thomson, 2001).

Las cepas de ECET sintetizan enterotoxinas termoestables (TSa y/o TSb) y termolábil (TL) (Bertschinger, 1999; Nagy y Fekete, 1999). Estas toxinas causan diarrea por los cambios en el

balance de agua y electrolitos del intestino delgado (Fairbrother, 1999). Mientras que las cepas de ECVT sintetizan verocitotoxina edemática (Vte) o Shiga - like toxin II variant (SLT- IIv). Existen dos tipos de verotoxinas, VT1(o SLT-I) y VT2(o SLT-II), y diversas variantes de VT2, entre las que se incluye la VT2e o toxina edematosa (Blanco y col., 2002).

ECVT producen la variante verocitotoxina 2e (VT2e) causante de lesiones vasculares en el intestino, subcutis y cerebro, produciendo edema y síntomas neurológicos (Bertschinger, 1999; Bouvet y col., 2001). Algunas cepas de *E. coli* porcina producen ambas VT2e y enterotoxinas, y la infección con tales cepas puede resultar en diarrea y/o enfermedad edemática (ED) (Blanco y col., 2005). La enfermedad depende de la colonización del intestino delgado por cepas de *E. coli* que poseen la habilidad de producir el principio de la enfermedad edemática, también conocido como toxina de la enfermedad edemática, neurotoxina, angitoxina, vasotoxina o verotoxinas (VTs) por el efecto citotóxico sobre los cultivos de células Vero (Imberechts y col., 1992).

Se han encontrado cepas de *E. coli* que son capaces de competir con otras de su misma especie, eliminando a estas últimas por medio de la producción de una proteína llamada colicina. Las colicinas son sustancias producidas por algunas cepas de *E. coli* que resultan tóxicas para otras cepas de la misma especie. La producción de colicinas puede suponer una ventaja durante la colonización del epitelio intestinal, ya que las diferentes cepas de *E. coli* tienen que competir entre ellas para poder establecerse dentro de la flora normal. Es posible que estas proteínas estén implicadas en las relaciones de competencia entre organismos estrechamente emparentados, lo cual hace que aumente su virulencia (Blanco y col., 1996).

En estudios efectuados con aislados de esta bacteria en cerdos, se encontró que un 45-50 % de cepas del serotipo 08, la producían, 22-25 % del serotipo 0138, 21-22 % del 0139, 55-60 % del 0141 y 50 % del 0149. La Colicina no es letal para las bacterias que la producen pues portan el gen de resistencia *cea* (Bertin y Duchet, 1991). Esta es una proteína compleja que actúa sobre la membrana celular en general y es producida por un plásmido llamado Col V. Se han descrito varios tipos de colicinas, entre las más comunes están la Colicina BeIb, E1 y K, E2 y E3 con diferentes mecanismos de acción como es el daño de la membrana plasmática, el desacople de los procesos dependientes de energía, la degradación del ADN y la escisión del ARN ribosomal 16S, esta última Colicina (E3) corta alrededor de 50 nucleótidos a partir del extremo 3' del ARNr

16S de *E. coli*. Este mecanismo de acción elimina totalmente el inicio de la síntesis de proteína (Stahl y col., 2004).

En *E. coli* septicémicos de origen porcino, la resistencia al suero y a la fagocitosis constituyen importantes factores de virulencia (Blanco y col., 2002). Cuando *E. coli* llega al torrente circulatorio, para poder sobrevivir tiene que resistir la actividad lítica del complemento sérico. Se cree que a la resistencia al suero contribuyen algunos antígenos O y K, y determinadas proteínas presentes en la membrana externa de la pared celular bacteriana (Wooley y col. 1992).

E. coli patógenos se han englobado en diferentes grupos o categorías: *E. coli* enteropatógenos (ECEP), *E. coli* enterotoxigénicos (ECET), *E. coli* enteroinvasivos (ECEI), *E. coli* verotoxigénicos (ECVT) o enterohemorrágicos (ECEH), *E. coli* enteroagregativos (ECEA), *E. coli* con adherencia difusa (ECAD), *E. coli* bacterémicos o septicémicos, *E. coli* necrosantes (ECNT) (Blanco y col., 2005). En el ganado porcino se reportan algunos de los tipos de *E. coli* mencionados anteriormente, cuya patogenicidad está asociada a determinados factores de virulencia, algunas de ellas presentan características particulares que las distinguen, poseen diferentes tipos de factores de virulencia, pertenecen a serotipos distintos y provocan patologías específicas (Blanco, 2001).

E. coli enteropatógenos (ECEP)

En 1947, Kaufman propone una forma de diferenciar *E. coli* sobre la base de la determinación de los antígenos superficiales O (somáticos), K (Capsulares) y H (Flagelares) (**anexo 3**). Esta forma de clasificación serológica resultó muy útil en los estudios epidemiológicos y de patogénesis de *E. coli*, facilitando la diferenciación entre cepas virulentas e inocuas. Actualmente, se reconocen 173 antígenos O (O1 a O181), 103 antígenos K (K1 a K103) y 56 antígenos H (H1 a H56), y aunque existen numerosas combinaciones o serotipos O: K: H, tan solo algunas son frecuentes entre las cepas patógenas (Blanco y col., 2005).

La serotipificación rutinaria de las cepas de *E. coli* aisladas de casos esporádicos y de brotes de diarrea en Europa y EE.UU. permitió, en los años cuarenta y cincuenta, asociar con la diarrea un grupo de cepas de *E. coli* pertenecientes a un número limitado de serogrupos a las que Neter y colaboradores denominaron, en 1955, *E. coli* enteropatógenos (ECEP). A pesar de que varios estudios realizados con voluntarios en la década de los cincuenta demostraron claramente que

estas cepas eran capaces de inducir diarrea, al descubrirse en los años setenta que ECEP no producían enterotoxinas ni tenían capacidad enteroinvasiva, algunos investigadores concluyeron precipitadamente que dichas cepas no eran enteropatógenas. La polémica suscitada fue resuelta por Levine y colaboradores, en 1978, al demostrar, tras inoculación oral a voluntarios, que las cepas ECEP no enterotoxigénicas ni enteroinvasivas conservadas en el laboratorio durante más de siete años, todavía eran capaces de causar diarrea por mecanismos no conocidos (Blanco y Blanco, 1993a).

Estas cepas afectan mayormente a cerditos, terneros y corderos recién nacidos, produciendo la llamada diarrea neonatal a los pocos días del nacimiento (Mainil y col., 1998), también puede ser la causante de diarreas en los conejos y se ha demostrado experimentalmente en cerditos (Turnes y col., 1999). Las cepas de ECEP se adhieren a las membranas de los enterocitos destruyendo las microvellosidades intestinales sin evidencias de invasión. En el momento de adhesión de la bacteria al borde en cepillo (microvellosidades) de las células intestinales, estas manifiestan signos de degeneración y desaparecen progresivamente. Más tarde aparece una estructura como de “pedestal” en el sitio donde tuvo lugar el contacto entre la bacteria y la célula epitelial (Blanco y col., 2002).

Actualmente, se conocen bastante bien los mecanismos de patogénesis de ECEP. Poseen una adhesina BFP (bundle-forming pilus) codificada en el plásmido EAF (EPEC adherence factor). Dicha adhesina es responsable de la adhesión a distancia de la bacteria al enterocito y de la adhesión localizada a células HEp-2. Presentan también la isla de patogenicidad LEE (locus of enterocyte effacement) con los genes: *eae*, *tir*, *esp* y *sep*. El gen *eae* codifica para una proteína de la membrana externa denominada intimina que es responsable de la adhesión íntima de la bacteria al enterocito. El gen *tir* (translocated intimin receptor) codifica para el receptor celular al que se une la intimina. La bacteria después de unirse a distancia al enterocito mediante las fimbrias BFP excreta el receptor Tir que se fijan al enterocito y a continuación la bacteria se une íntimamente al enterocito al fijarse la intimina al receptor Tir. Los genes *esp* (*E. coli* secreted proteins) (codifican para proteínas necesarias para la producción de la lesión de adhesión y borrado (attaching and effacing) del *microvilli* intestinal y la condensación de la actina del citoesqueleto celular que provoca la aparición de un pedestal en forma de copa sobre el que descansa la bacteria. Los genes *sep* (secretion of *E. coli* proteins) codifican para las proteínas que

constituyen un sistema de secreción de proteínas tipo III. Al menos, tres proteínas (EspA, EspB y EspD) y el receptor Tir son exportadas por el sistema tipo III al interior del enterocito. La entrada de Esp A y EspD permite la translocación de EspB y Tir. Una vez en el interior del enterocito el receptor Tir es activado por una fosforilación realizada por la célula eucariota e insertado en la membrana del enterocito (Blanco y col., 2005).

E. coli enterotoxigénicos (ECET)

Escherichia coli enterotoxigénicos (ECET) son una importante causa de infección intestinal en animales y humanos (Marina y col., 1999). En animales domésticos, las colibacilosis causadas por ECET son muy frecuentes, afectan fundamentalmente a animales de pocos días de edad y recién destetados, y ocasionan importantes pérdidas económicas en las explotaciones de ganado porcino y bovino (Nataro y Kaper, 1998; Nagy y Fekete, 1999). Existe una alta especificidad de huésped, no siendo ECET de origen animal patógenos para los seres humanos y viceversa (Koper y Brien, 1998). Estas son las cepas mejor caracterizadas en veterinaria. Ellas se adhieren al epitelio del intestino delgado donde se multiplican y producen las enterotoxinas (Murray y col., 1999).

Hay dos factores de virulencia muy importantes que influyen en su mecanismo de patogénesis, que son la adhesina y la enterotoxina (Gyles, 1994). Las adhesinas de ECET se han localizado en fimbrias y fibrillas que reciben el nombre de factores de colonización (González y Garabal, 1998). Las fimbrias constituyen un importante factor de virulencia en la patogénesis de ECET, la adhesión de estas y la subsecuente colonización del intestino delgado y la liberación de enterotoxinas alteran el transporte de electrolitos en los enterocitos, resultando en una aguda y severa diarrea (Gyles, 1994).

ECET causan diarrea mediante la elaboración de la enterotoxina termolábil (TL) y/o la enterotoxina termoestable (TSa). Ambas son sintetizadas en la luz del intestino delgado y provocan secreción de fluidos sin dañar las células epiteliales (Nagy y col., 1992). ECET causan diarrea gracias a la coincidencia de dos de sus factores de virulencia fundamentales. Por una parte su capacidad de producir enterotoxinas y por otra la posesión de adhesinas específicas que les permiten colonizar el epitelio intestinal (Blanco y Blanco, 1993).

La enterotoxina termolábil (TL) es una proteína inmunogénica con un peso molecular de 87000 Da, constituida por una subunidad A, donde reside la actividad enzimática, cinco subunidades B responsables de la unión de la toxina a los receptores de las células epiteliales, TL actúa activando la adenilato ciclasa, lo que provoca una acumulación intracelular de AMPc consecuencia de la cual se produce la expulsión de agua y electrolitos al lumen intestinal. Los genes que codifican para la síntesis de TL parecen estar localizados en el cromosoma bacteriano (Blanco y col., 2005).

Las enterotoxinas termoestables (TSa y TSb) son pequeños polipéptidos de 1900 a 5000 Da. La enterotoxina termoestable TSa es una proteína poco inmunogénica con bajo peso molecular que contiene seis residuos de cisteína que le permite establecer puentes disulfuros, lo que le confiere la resistencia a la temperatura y la hidrólisis enzimática. Las enterotoxinas actúan incrementando la concentración de monofosfato cíclico de adenosina o guanocina en los enterocitos, lo que provoca una importante salida de agua y electrolitos a la luz intestinal (Blanco y col. 2005).

E. coli verotoxigénicos (ECVT)

El grupo de ECVT engloba a todas aquellas cepas de *E. coli* que producen verotoxinas. En el cerdo es frecuente aislar *E. coli* verotoxigénico asociada a la enfermedad de los edemas (ED), ECVT de origen porcino, de los serogrupos O138, O139, y O141 producen la variedad VT2v, la cual no es sintetizada ni por *E. coli* que causa infecciones en seres humanos ni por *E. coli* que hace en el ganado bovino, y es la misma toxina que el principio de la enfermedad edemática (MacLeod y Gyles, 1990).

Las verotoxinas son potentes citotoxinas que destruyen las células Vero y están relacionadas estructural e inmunológicamente con la toxina Shiga producida por *Shigella dysenteriae* tipo 1. Están constituidas por una subunidad enzimática A de aproximadamente 32.000 d y 5 subunidades B que tienen un peso molecular de unos 7.700 d y fijan la toxina a receptores celulares compuestos por glicolípidos (globotriaosilceramida, Gb3). La variante VT2e se une a Gb4. La subunidad A es translocada al citoplasma e inhibe la síntesis proteica al inactivar catalíticamente la subunidad ribosomal 60S (Blanco y col., 2005).

Los mecanismos de captación de la toxina en el intestino no han sido completamente elucidados; tras la unión, la subunidad A activa, penetra en la célula mediante la endocitosis dependiente de

receptor. Las vesículas internadas de esta manera se fusionan con lisosomas y son traslocadas, primero al aparato de Golgi, y después al citosol. Mediante bloqueo de la síntesis proteica se produce la muerte celular (Sandvig y col., 1992).

ECVT, además de producir verotoxinas, presenta factores de virulencia adicionales que incrementan su poder patógeno. Así, ECVT se unen al epitelio del intestino grueso a través de unas fimbrias codificadas en el plásmido pO157 (60 MDa) y posteriormente barren el microvilli intestinal por la acción de unas proteínas presentes en su membrana externa que están controladas por el gen cromosómico *eae* y reciben el nombre de *intiminas* (anexo 4). Aunque ECVT se unen íntimamente a los enterocitos, no llegan a invadirlos intracelularmente (Blanco y col., 2005).

Aunque tanto VT1 como VT2 tienen el mismo modelo de acción su efecto *in vitro* e *in vivo* difiere considerablemente. VT1 se une más eficientemente al receptor G3b y es más potente sobre las células Vero. VT 2 es 400 veces más letal para ratones que VT1 cuando se inyecta intravenosamente (Tesh y col. 1993). Aunque el gen *eae* se considera que es un importante factor de virulencia de ECVT, su presencia no es esencial para la patogenicidad e incluso cepas *eae* negativas pueden provocar patologías muy graves (Mainil y col., 1993).

También se ha comprobado que muchos ECVT producen un nuevo tipo de hemolisina plasmídica denominada enterohemolisina (EHEC-hly o EHly), pero constituyen un subgrupo de *E. coli* productores de verocitotoxina (VTEC) denominadas ECEH que pueden causar colitis hemorrágica y Síndrome urémico hemolítico (SUH) en humanos (Blanco y col., 2005).

En estudios realizados en Chile por Ríos y col. (1999), encontraron que muchas de las cepas de ECVT aisladas en los cerdos muestreados, poseían los cuatro factores de virulencia de ECEH (VT1, VT2, *eaeA* y *hlyA*), contrariamente a los resultados obtenidos en Hong Kong por Leung y col. (2001) y en Bélgica por Botteldoorn y col. (2003).

Unkmeir y Schmidt (2000), plantearon la posibilidad de la propagación de verotoxinas a *E. coli* no productoras de verotoxinas, por medio de bacteriófagos, ya que todas las verotoxinas se encuentran codificadas en el genoma de profagos integrados en el cromosoma bacteriano. La transducción de genes que codifican para VT1 y VT2 se puede producir *in vitro* e *in vivo* y en medios naturales (Toth y col, 2003). Además se ha comprobado que los fagos *vt2* infectivos y

capaces de insertar los genes en cepas no patógenas se encuentran frecuentemente en las aguas residuales de las poblaciones urbanas (Muniesa y Jofre, 1998).

E. coli necrosantes (ECNT) o E. coli productor necrotizante citotóxico 1 (CNF I)

Aún no se conoce bien la importancia de estas cepas de *E. coli* en la patología veterinaria. Se ha comprobado que causan diarreas en terneros y cerdos y que sus toxinas inducen policitocariosis de las líneas celulares Vero (Blanco, 2003). Caprioli y col. (1983), descubrieron que algunas cepas de *E. coli* aisladas de niños con enteritis en Italia, producían una nueva toxina con actividad necrosante a la que denominaron factor necrosante citotóxico (FNC), la toxina asociada a la célula bacteriana FNC, además de causar necrosis en piel de conejo, provocaba la aparición de células gigantes multinucleadas en varias líneas celulares (HeLa, Vero, CHO, MA-104, McCoy y Hep-2). En *E. coli* de origen animal la producción de FNC fue descrita por primera vez por González y Blanco (1985), en cinco cepas hemolíticas (Hly⁺) de los serotipos O2: K- y O75: K- y O75:K95 aisladas de cerditos con diarrea en España.

Otras diez cepas de origen porcino, posiblemente FNC⁺ pertenecientes a los serogrupos O4, O6, O8, y O88, fueron detectadas por McLaren y Wray, (1986) en el Reino Unido. Más tarde, Blanco y col. (1988), aislaron otra cepa FNC⁺ del serogrupo O8:K40 en un cerdo afectado por la enfermedad de los edemas. No obstante, *E. coli* FNC⁺ son aislados raramente de las heces de ganado porcino con diarrea y de los controles sanos, lo cual fue demostrado por Garabal y col. (1995), en un estudio realizado en España, que abarcó cinco años, en el cual solo hallaron (ECNT) productora de FNC1 en cinco (1,5 %) cerdos (cuatro con diarrea y uno con enfermedad edemática).

E. coli con adherencia difusa (ECAD)

Aunque su papel enteropatogénico no está claramente demostrado, se piensa que pueden causar diarrea en niños mayores de un año de edad y en adultos. Se adhieren a las células Hep-2 cultivadas “*in vitro*” siguiendo un patrón de adherencia difuso. Se han descrito dos tipos de adhesinas: la fimbria F1845 y una proteína de la membrana externa conocida como AIDA-I (adhesión involved in diffuse adherence). Tras adherirse al epitelio intestinal provocan una elongación del microvilli que engloban las bacterias sin que aparentemente se produzca una invasión interna. ECAD, como los ECEA, se reparten en un amplísimo abanico de serotipos. La

detección de ECAD se realiza fenotípicamente determinando si la cepa aislada presenta el patrón de adherencia difusa en células Hep-2 ó genéticamente detectando las secuencias que codifican para la fimbria F1845 (Blanco y col., 2005).

La proteína de la membrana externa (AIDA), puede representar un determinante de virulencia adicional, en las cepas de *E. coli* que la portan (Ha y col., 2004b). Estas cepas producen una proteína de membrana (intimina) la cual está involucrada en la adhesión íntima de la bacteria a los enterocitos (Zhu y col., 1995; Oswald y col., 2000; Zhang y col., 2002). La colonización intestinal causante de lesiones de adhesión y barrido (attaching and effacing), similares a las producidas por ECEP en humanos han sido también asociadas con *E. coli* causantes de diarrea postdestete (Yamamoto y Nacazagua, 1997; An y col., 2000; Penteado y col., 2001, Ha y col., 2004). Estas cepas han sido aisladas en un 17,6 % de cerdos clínicamente sanos, por lo que se ha considerado al cerdo como un reservorio natural de cepas de *Escherichia coli* de adhesión y barrido (Krause y col., 2005).

Escherichia coli enteroagregativos (ECEA)

Las cepas de *Escherichia coli* enteroagregativos (ECEA) son los más recientemente reconocidos dentro de las categorías de *E. coli* diarrogénicos, las mismas se adhieren a cultivos celulares de tejidos en una adherencia agregativa, y están asociadas con diarreas acuosas en niños en países desarrollados (Nataro y Kaper, 1998). Estos mismos autores refieren que la patogénesis de las infecciones por ECEA no está completamente dilucidada; sin embargo, ha sido descrita una lesión histopatológica característica y un factor de virulencia, el cual es considerado como una proteína de 38 aminoácidos nombrada enteroaggregative *E. coli* heat-stable enterotoxin 1 (EAST1). EAST1 de ECEA y TS1 de ECET son enterotoxinas genética e inmunológicamente distintas, pero ambas activan la guanidilciclase en las células del epitelio intestinal (Savarino y col., 1993).

La toxina termoestable, reconocida como EASTI, encontrada en *E. coli* enteroagregativa patogénica en humanos, también han sido halladas en cepas de ECEP y ECET en porcino (Ngeleka y col., 2003).

El gen (*astA*) codifica la producción de EAST1 y ha sido hallado dentro de plásmidos, cromosomas y en ambos (Yamamoto y col., 1997). El papel de EAST1 en la secreción intestinal

no ha sido claramente determinado, sin embargo, se ha demostrado una fuerte asociación de la toxina con unos factores de colonización en cepas de ECET en humanos, la enterotoxina EAST1 estuvo presente no solo en cepas de ECEA sino también en otras *E. coli* diarrogénicas de humanos y animales (específicamente en cerdos), incluyendo ECET, ECEP y ECEH (Choi y col., 2001).

En estudios realizados por Choi y col. (2001), encontraron el gen EAST1 en 33,3 % de *E. coli* aisladas de cerdos con diarrea postdestete y/o enfermedad edemática. Sin embargo, Ngeleka y col. (2003), plantean que el patotipo EAST1 no es probablemente un marcador importante para la diarrea en lechones. La colibacilosis entérica es común en cerdos destetados, y hay muy poca información concerniente a la prevalencia de *E. coli* EAST1- positiva en los aislamientos bacterianos de casos de diarrea en estos animales (Osek, 2003). Sin embargo, Vu-Khac y col., (2004), hallaron un 53,3 % de incidencia de genes *astA* en 92 cepas de *E. coli* aisladas en lechones diarreicos con edades comprendidas entre 14-28 días en República Checa.

ECEA presentan fimbrias (AAF/I y AAF/II) que les permiten adherirse de forma agregativa a las células Hep-2 y unirse al epitelio intestinal. Provocan un aumento de la secreción de mucus que conduce a la formación de un biopelícula (biofilm) donde quedan atrapadas las bacterias. Se cree que la formación de la biopelícula puede promocionar la colonización persistente y tal vez una mala absorción. Posteriormente, la bacteria produce una enterotoxina termoestable (EAST1, enteroaggregative ST1) de 4100 Da y una citotoxina de 108 KDa que pueden ser responsables de la diarrea y de las lesiones histopatológicas (acortamiento del villi). La enterotoxina EAST1 y los factores de colonización AAF/I y II se encuentran codificados en plásmidos. ECEA pertenecen a una amplísima variedad de serotipos. La detección de ECEA se realiza investigando la adhesión agregativa a células Hep-2 y por pruebas genéticas (hibridación ó PCR) que detectan un plásmido (pCVD432) asociado con el patrón de adherencia enteroagregativa (Blanco y col., 2005).

E. coli bacterémicos o septicémicos

En las infecciones extraintestinales, el hierro se convierte en uno de los principales factores que limitan el crecimiento bacteriano. Esta limitación se debe, en gran parte, al hecho de que casi todo el hierro está secuestrado en hemoproteínas, como la hemoglobina y la mioglobina, o en proteínas

quelantes de hierro involucradas en su transporte, como la transferrina o la lactoferrina. Para poder incorporar el hierro la mayoría de las cepas de *E. coli* causantes de infecciones extraintestinales poseen el sideróforo aerobactina formado por un compuesto quelante de hierro que la bacteria excreta y puede volver a captar. La bacteria secreta el sideróforo cuando hay poco hierro disponible y cuando el complejo hierro-sideróforo alcanza la superficie celular se une a una proteína receptora del sideróforo que se encuentra en la membrana externa de la pared celular (Blanco y col., 2005).

Una vía alternativa para que la bacteria adquiera hierro es la hemólisis provocada por la α -hemolisina (Hly). Los genes del sideróforo aerobactina, pueden ser cromosómicos o encontrarse en un plásmido que suele también codificar para la producción de colicina V. Las colicinas inhiben el crecimiento de otras cepas de *Escherichia coli* y le sirven a las bacterias para competir y desplazar a otras cepas bacterianas de la misma especie (Blanco y col., 2005).

Otra característica especialmente asociada a las cepas septicémicas es la capacidad de resistencia a la actividad lítica del complemento sérico y a la fagocitosis, dichas propiedades son debidas a determinados antígenos O y K (especialmente el K1) y determinadas proteínas de la membrana externa. En *E. coli* septicémicos porcinos se ha detectado la fimbria F165 y los operones *pap*, *sfa* y *afa* (Dezfulian y col., 2003). No obstante, los principales factores de virulencia de *E. coli* septicémicos de origen bovino y porcino son la resistencia al suero y a la fagocitosis.

Las cepas septicémicas bovinas y porcinas pertenecen a un limitado número de serogrupos que en general son muy parecidos entre sí y muy diferentes a los encontrados entre las cepas septicémicas humanas. A diferencia de la mayor parte de las sepsis humanas que suelen ser de origen urinario y las porcinas y bovinas que en su mayoría son de origen intestinal, las colisepticemias aviares suelen ser de origen respiratorio (Blanco y col., 2005).

E. coli enteroinvasivos (ECEI)

El grupo ECEI y *Shigella spp.* están relacionados genética y bioquímicamente ya que son descarboxilasa negativas, no móviles y lactosa negativas, además poseen antígenos O que presentan reacción cruzada con los de *Shigella*. El mecanismo de patogenicidad de ECEI es la invasión del epitelio del colon; para ello el primer paso es la adherencia de la bacteria a las

vellosidades de la mucosa requiriendo de mucinasa y adhesinas, para después entrar por endocitosis a la célula, y posterior multiplicación de la EIEC dentro de la célula y diseminación a células sanas adyacentes (Nataro y Kape, 1998).

La información genética para este mecanismo está en loci del cromosoma y del plásmido, además de tener la capacidad de elaborar una o más enterotoxinas que pudieran ser importantes en la producción de diarrea (Sethabutr y col., 2000).

La presencia de cepas de *E. coli* enteroinvasivas en cerdos recién nacidos con diarrea fue reportada en Cuba, por Barreto y col. (1987). Wada y col. (2004), aislaron del intestino delgado de dos lechones neonatos con diarrea, una cepa no hemolítica de *E. coli* del serogrupo O18, portadora de fimbrias K88, que no pudieron ser clasificadas en ninguno de los grupos diarrogénicos de *E. coli*, debido a la ausencia de genes TL, TSh, TSp, VT1, VT2, y eae. La inoculación de los aislados en células HEP-2, mostraron que algunos bacilos fueron englobados por proyecciones citoplasmáticas y localizados posteriormente en vacuolas citoplasmáticas o libre en el citoplasma. Estos resultados apoyan la idea, que la actual *E. coli* O18 es una nueva cepa enteropatogénica invasiva de los lechones.

3. Serotipificación

La serotipificación se basa en tres tipos de antígeno: el somático (O), el capsular (K) y el flagelar (H), anexo 3. El K se subdivide en tres tipos dependiendo de su calor-sensibilidad. Corrientemente el número de antígenos O ha aumentado a 171, los K a 103 y los H a 56. El antígeno somático (O) está compuesto por polisacáridos. Particularmente llamamos reacción cruzada cuando dos microorganismos tienen similitud química y serológica en cuanto a sus antígenos somáticos (O). Casi todos los antígenos de *Shigella* tienen reacción con los de *E. coli* confirmando la estrecha similitud entre ellas. También notables son las reacciones entre *E. coli* y *Salmonella*. La mayoría de *E. coli* O111 y las *Salmonella* O35 están estrechamente relacionadas (Blanco y Blanco, 1993a).

El antígeno capsular (K) está compuesto por polisacáridos y se dividieron inicialmente en antígenos K de Tipo Un, B y L. La aglutinación del antígeno (K) es inactivada a 121 °C por una hora, mientras que esto hace aglutinante al antígeno (O). La unión al anticuerpo hace que B no sea inactivado a 121 °C, mientras que L es inactivado a 100 °C por una hora. Particularmente importantes son los antígenos (K88 y K99) como causantes de diarrea en cerdos y para la vaca y corderos (K99) (Blanco y Blanco, 1993).

Con respecto al antígeno flagelar (H) *E. coli* en aislamientos primarios es no móvil o poco móvil. De cualquier modo cuando se realizan varios pases por medios semisólidos se logra una motilidad plena. Las que no desarrollan motilidad se designan no mótilas (NM) o H⁻ (Blanco y Blanco, 1993).

Inicialmente *E. coli* fue designado por sus tres tipos de antígeno O26. K60 (B6):H11. Hoy día en general el antígeno K se queda apartado y se considera como un serotipo O26:H11. Se usa el término serotipo cuando ambos, O y H son antígenos. Si el H no se ha identificado entonces el término que debe ser usado es serogrupo y así se puede describir, serogrupo O26. Con aproximadamente 170 antígenos O y 55 antígenos H hay teóricamente más de 9 000 serotipos posibles. El serotipo O26:H11 arriba expresado es aislado normalmente en (*E. coli* enteropatógena) ECEP, mientras el serotipo O157:H7 es miembro de (*E. coli* enterohemorrágica) ECEH, y el serotipo O4:H5 es normalmente asociado con infecciones del tracto urinario y el serotipo O148:H28 con (*E. coli* enterotoxigénica) ECET. Los diferentes serotipos están asociados con las condiciones ambientales. Además hay serotipos más normalmente aislados en el tracto urinario, como *E. coli* enteroinvasiva ECEI y *E. coli* enteroagregativa (EaggEC) (Blanco y Blanco, 1993^a). En el anexo 1 a) se especifican los serotipos de *E. coli* diarreagénicos para animales.

E. coli enterotoxigénicos (ECET) asociados a la diarrea postdestete (DPD) presentan un limitado número de serogrupos (O8, O138, O139, O141, O147, O149 y O157) los cuales son los que con más frecuencia se reportan ampliamente en todo el mundo (Hampson, 1994; Nagy y Fekete, 1999). La mayoría de las cepas de ECVT de la diarrea postdestete o enfermedad edemática pertenecen a los serogrupos O138, O139 y O141 (Nagy y col. 1990; Harel y col., 1991), mientras

que las cepas ECET de cerdos con diarrea pertenecen a los grupos O: O8, O9, O20, O45, O64, O115, O101, O138, O141, O147, O149, y O157 (Harel y col. 1991; Witting y Fabricius, 1992).

4. Susceptibilidad ante drogas antimicrobianas

Las bacterias han desarrollado varios mecanismos para resistir la acción de los antibióticos. El primero de ellos, es por la posesión de un sistema de expulsión activa del antimicrobiano, una especie de bomba expulsora que utilizan para la excreción de productos residuales o tóxicos, con la que pueden eliminar además muchos de estos agentes antibacterianos. El segundo, se realiza mediante la disminución de la permeabilidad de la pared bacteriana, con la pérdida o modificación de los canales de entrada (porinas). La producción de enzimas inactivantes de los antibióticos constituye el tercer mecanismo. De esta forma son inhibidos los aminoglucósidos, el cloranfenicol por la acetil transferasa, y el caso más típico, el de las betas lactamasas, para el grupo de los betalactámicos (Briñas y col., 2002). Por último, algunos antibióticos ejercen su acción contra las bacterias uniéndose a una proteína esencial para la supervivencia de estas. La resistencia bacteriana se produce cuando el germen modifica la proteína diana, y cambia su función o produce enzimas distintas.

La resistencia a antibióticos en este agente bacteriano está mediada por genes que se incluyen en el genóforo o en los elementos genéticos extracromosomales llamados plasmidios, los cuales no son esenciales para la bacteria en condiciones ordinarias de crecimiento, sino que su presencia se expresa cuando los genes que portan le confieren nuevas propiedades a la célula, como es la resistencia a los medicamentos. La resistencia mediada por plasmidios está dada por inactivación enzimática del fármaco, mientras que la gobernada o dirigida por cromosomas refleja habitualmente una afinidad disminuida de su molécula blanca para el antibiótico. Esta propiedad de resistencia a los antibióticos se ha tomado como una de las técnicas para la tipificación biológica de esta bacteria, hallándose valores muy disímiles en cuanto a cepas y especies afectadas se refiere (Blanco, 2001).

Los antibióticos son formados por microorganismos (bacterias u hongos) para poseer una ventaja competitiva frente a otros microorganismos en el mismo espacio vital. En primer lugar los genes

de resistencia son una posibilidad de las bacterias de protegerse y proteger sus descendientes contra sus propios productos del metabolismo. Por principio las resistencias primarias son codificadas por los cromosomas y son pasadas verticalmente a las células filiales. Por mutaciones en el genoma (frecuencia 10^{-7} – 10^{-9}) pueden formarse nuevas resistencias (resistencia adquirida) (Werner, 2005). Los mecanismos de transferencia de resistencias pueden clasificarse en plásmidos, transposones e integrones y casetes genéticos.

Los plásmidos son porciones circulares de ADN extracromosómico que puede estar codificado para resistencia a un determinado antibiótico. Cuando codifican resistencias se les denomina plásmidos R. Los plásmidos son autorreplicantes, independientemente del ADN cromosómico. En general codifican características que mejoran los rasgos de supervivencia de las bacterias, sin ser imprescindibles para la misma. Pueden ser transferidos entre bacterias del mismo, o diferentes géneros. La adquisición de resistencia por parte de la bacteria receptora, por lo tanto, es en un paso. Un plásmido puede ser incorporado por un virus y transferido a otra bacteria. En general se cita como ejemplo a los bacteriófagos. También puede pasar de una célula a otra por conjugación.

Los transposones son los ya clásicamente conocidos como genes saltarines. Son cadenas cortas de ADN que saltan de cromosoma a plásmido, en uno u otro sentido, entre plásmidos o entre plásmidos y bacteriófagos. La característica más sobresaliente de este tipo de material es la de integrarse con facilidad a cadenas de ADN diferente del original. A diferencia de los plásmidos, los genes saltarines no son autorreplicantes, deben mantenerse dentro de una estructura autorreplicante para replicarse. Un rasgo central y peligroso de los transposones es la posibilidad de que varios de ellos, codificando resistencias a múltiples drogas, estén incluidos dentro de un mismo plásmido, lo que permite, por transferencia de este último, la adquisición de multirresistencia por parte de la bacteria receptora.

Los integrones y casetes genéticos diferentes de los transposones pero sus mecanismos son algo parecidos. Se recombinan en un sitio específico y codifican resistencia a un solo antibiótico. Junto con los transposones, son los sistemas que más actúan en la adquisición de resistencias por parte de los plásmidos. Constan de tres regiones, dos invariables y una central variable, que es la

que porta el casete. El denominado casete es un elemento que incluye un gen y un sitio recombinante. Se han identificado más de cuarenta casetes y la mayoría porta genes de resistencia (Hall, 1997).

Se han descrito cuatro mecanismos mediante los cuales el material genético y los plásmidos pueden ser transferidos:

1. *Transducción*: el plásmido ADN es encerrado en un virus bacteriano y transferido por ese virus a otra bacteria de la misma especie; ejemplo: el plásmido que porta el gen para la producción de betalactamasa puede transferirse de un estafilococo resistente a la penicilina a uno sensible, si es transmitido por algún bacteriófago adecuado. Una transducción semejante ocurre con *Salmonella*.

2. *Transformación*: el ADN desnudo pasa de una célula de una especie a otra alterando, por lo tanto, su genotipo. Esto puede ocurrir a través de la manipulación de laboratorio.

3. *Conjugación*: es el proceso de transferencia de información genética desde una célula donadora a otra receptora, promovido por determinados tipos de plásmidos, y que requiere contactos directos entre ambas, con intervención de estructuras superficiales especializadas y de funciones específicas. Se dice que esta transferencia es mediada por un factor de fertilidad (F) que no es más que el producto de la extensión de los pelos sexuales de la célula donadora al receptor. Tanto el plásmido u otro ADN son transferidos a través de estos túbulos de proteína del donador al receptor. Es así como pueden transferirse una serie de genes que determinan *resistencia* a un medicamento, de una bacteria resistente a una sensible. Este resulta el método más común de transferencia de *resistencia* a múltiples medicamentos entre diferentes géneros de bacterias Gram negativas. La transferencia de plásmidos R también puede producirse entre algunas bacterias Gram positivas.

4. *Transposición*: entre un plásmido y otro puede ocurrir la transferencia de secuencias cortas de ADN; son los llamados transposones. Puede suceder, además, entre un plásmido y una porción del cromosoma bacteriano dentro de alguna bacteria (Llop y col., 2001).

Las bases genéticas de la resistencia se explican por el hecho de que las bacterias pueden adquirir resistencia a través de diversas rutas, que incluyen, la mutación del genoma bacteriano, por

ejemplo una mutación en un gen cromosómico y la adquisición de nuevos genes a través de transferencia horizontal de plásmidos y transposones, por ejemplo, la introducción de un plásmido R de resistencia (Hogan y Kolter, 2002). Este segundo mecanismo supone el problema más serio, ya que está muy extendido, puede conferir resistencia a varios antibióticos a la vez, y origina una rápida y global diseminación de genes que confieren resistencia a los antibióticos (Nwosu, 2001).

Se sabe que en la fase estacionaria de los cultivos hay subpoblaciones de “células persistentes” antibiótico-resistentes, que tienden a incrementar la resistencia a los antibióticos (Spoerin y Lewis, 2001). En estudios realizados Heal y Parsons (2002), demostraron que los cultivos de *E. coli* en fase estacionaria, producen un factor de difusión (diferente a los ya conocidos) que induce resistencia a los antibióticos en células de *E. coli* en crecimiento, y que la naturaleza de la señal o la respuesta celular a la señal aún no es conocida.

El surgimiento de los mecanismos de resistencia por parte de las bacterias es muy activo, por lo que el descubrimiento de nuevas bases genéticas que lo codifican es un aspecto de constante investigación (Perreten y Boerlin, 2003). En relación con la selección de mutantes resistentes, lo único que hace el antibiótico es seleccionar los mutantes resistentes espontáneos que surgen en la población, independientemente de la presencia del agente selectivo (Franklin y Snow, 1989). Esta es precisamente la base genética del surgimiento de ciertas cepas patógenas resistentes a antibióticos: el fármaco inhibe o mata las bacterias silvestres sensibles, pero no afecta a los pocos individuos que por mutación espontánea hayan adquirido un alelo resistente; estos individuos se multiplican, de modo que al final son los más prevalentes.

Existen plásmidos R de distintos grupos de incompatibilidad. Son abundantes en *Pseudomonas* y en *Enterobacterias*, desde donde pueden ser transferidos a una amplia gama de bacterias Gram-negativas, plásmidos promiscuos (Salyers y col. 1990). El uso de los antibióticos se asocia fuertemente a la resistencia antimicrobiana, la cual puede ser transmitida horizontalmente por plásmidos conjugativos, los cuales parecen ser responsables de la amplia difusión de cepas resistentes (Kang y col., 2005).

Aparte de los plásmidos R conjugativos existen otros no conjugativos, que sin embargo pueden ser transferidos entre distintas bacterias por otros medios. Los plásmidos no conjugativos

movilizables pueden ser transferidos por otro plásmido conjugativo compatible residente en la misma célula, por transducción (mediante bacteriófagos) y por transformación (el ADN desnudo del plásmido puede ser captado por una bacteria sensible receptora). La información de resistencia transmitida (resistencia adquirida) puede provocar un cambio de la permeabilidad celular en la célula bacteriana nueva, proteger, cambiar o sustituir el órgano de destino del antibiótico y conformar la estructura de una enzima, la cual inactiva antibióticos por cambios químicos (Werner, 2005).

García y De La Cruz, (1990) al referirse a las ventajas adaptativas de los plásmidos R, afirman que estos son capaces de conferir varias resistencias simultáneamente a las bacterias que los adquieran. Tienen capacidad de diseminarse epidémicamente de modo "horizontal" (es decir, entre células distintas de la misma especie o —en el caso de los promiscuos— distintas especies). Están constituidos por "módulos" móviles (transposones) de modo que tienen flexibilidad para adquirir nuevos módulos a partir de otras especies. Cuando no existe presión selectiva, pueden perderse de la mayor parte de las bacterias de una determinada población (curación espontánea), pero su modo de transmisión "epidémica" los capacita para diseminarse rápidamente a la mayoría de la población cuando la ocasión lo requiere, o sea, cuando vuelve la presión selectiva. No tienen apenas efectos negativos sobre los demás caracteres de la bacteria (incluyendo, en las patógenas, su poder virulento), y muchos de ellos responden a mayores concentraciones del antibiótico aumentando su número de copias, mediante la amplificación del número de copias en los plásmidos de control relajado.

Bischoff y col. (2005) en un estudio realizado en los Estados Unidos, con una cepa beta-hemolítica aislada de cerdos con diarrea, demostraron que la resistencia de *E. coli* al cloranfenicol se transmite a través de plásmidos con múltiples resistencias, estos investigadores hallaron un 53 % de resistencia al cloranfenicol, en cepas de *E. coli* procedentes de aislados de cerdos con diarrea, un antibiótico no permitido en producción animal desde los años ochentas. Se investigaron distintos factores que pudieron favorecer el mantenimiento del gen *cmIA* que confiere la resistencia frente al cloranfenicol en 46 aislamientos de *E. coli*. Al realizar pruebas de susceptibilidad frente a otros antibióticos que demostraron resistencia frente a sulfametazol, tetraciclina y kanamicina, se descubrió que los genes que codifican estas resistencias se encuentran en un plásmido y frecuentemente se transmiten conjuntamente al gen *cmlA*. Estos

resultados sugieren que sin que exista una selección específica el gen *cmlA* se mantiene gracias a la relación con los genes que confieren resistencia a otros antibióticos usados en producción animal.

BIBLIOGRAFIA

Álvarez S J, Rodríguez FJC, Hernández GJE, Calero I, Guerra A.: Evaluación de diferentes dosis de un probiótico en cerdos en ceba. VII Congreso Centroamericano y del Caribe de Porcicultura. La Habana. Cuba. Del 30 de mayo al 2 de junio de 2005.

An H, Fairbrother JM, Desautels C, Mabrouk T, Dugourd D, Dezfulian H, Harel J.: “Presence of the LEE (locus of enterocyte effacement) in pig attaching and effacing *Escherichia coli* and characterization of *eae*, *espA*, *espB* and *espD* genes of PEPEC (pig EPEC) strain 1390”. *Microb Pathog* 28 (5):291-300, 2000.

Anónimo. (2005). Bélgica – ORARTI Animal Nutrition of creceu alternativas para antibióticos en AveSuis [en línea] [fecha de acceso 3 de julio de 2005]; URL disponible en: http://www.engormix.com/p_news_view.asp?News=6860&AREA=POR

Armocida A, Aguirre J, Moredo F, Vigo J, Sanz M, Machuca, M, Idiart, J, Perfumo, C. (1997). Diarrea postdestete y muerte súbita de carácter enzoótico producida por *Escherichia coli*. VII Congreso Internacional de veterinarios especialistas en cerdos y V Congreso Internacional de producción porcina. Córdoba. Argentina, 1997.

Ayala Lázara, Martínez Mayuly, Castro M, Hernández L, García Estrella. (2005). Un nuevo probiótico sobre el peso vivo e indicadores de salud de las crías porcinas. VII Congreso Centroamericano y del Caribe de Porcicultura. La Habana. Cuba. Del 30 de mayo al 2 de junio de 2005.

Barreto AG, Clavería Sánchez Aída, Ortiz LA.: “Algunas consideraciones sobre cepas de *E. coli* enteroinvasivas (EIEC) aisladas de cerdos recién nacidos con diarrea en Bulgaria y Cuba”. *Revista de Producción Animal* Vol.3 (2):127-132, 1987.

Barreto AG, Karadjov J (1985). “Estudio ecológico sobre cepas de *Escherichia coli* aisladas en cerdos diarreicos de tres unidades porcinas en la provincia de Camagüey”. *Revista de Producción Animal* (3):63-70, 1985.

Basulto R, Calzada Aguilera Lesvia, Junco J y Olivera Gutiérrez Tania.: “Caracterización fenotípica de cepas autóctonas de *Escherichia coli* enterotoxigénicas 987P”. *Rev. Prod. Anim.* 12 sept. 1999/jul. 2000 1-4, 1999.

Basulto R, Calzada Aguilera Lesvia, Olivera Tania, De la Fuentes J.: “Detection of genes for fimbrial antigens in *Escherichia coli* isolated from piglets with diarrhea in Camagüey” *Biología Aplicada*. 14(4):237-241, 1997.

Benítez M Ramona, Pernas LLE, Quiñones RR, Sánchez SE, González G Oraida, Gutiérrez FG, Delgado L Marelys: Evaluación de una vacuna oral para la prevención de la colibacilosis en cerdos. Trabajo de Diploma. Universidad Central de Las Villas. Facultad de Ciencia Animal. Cuba, 1989.

Bertin AM, Duchet-Suchaux MF.: “Relationship between virulence and adherence of various enterotoxigenic *Escherichia coli* strains to isolated intestinal epithelial cells from Chinese Meishan and European Large White pigs”. *Am J Vet Res* (52):45- 48, 1991.

Bertschinger HU, Gyles CL.: *Escherichia coli* in domestic animal and human. In: *Oedema Disease of Pigs*. CAB International. (6):193-216, 1994.

Bertschinger, HU.: Postweaning *E. coli* diarrhoea and oedema disease. En: Straw, BE, D Allaire, S Mengeling, WL Taylor, DJ. Eds. *Disease of Swine*. Iowa State University Press, Ames, pp. 441-45, 1999.

Bischoft KM, White DG, McDermott PF, Zhao S, Gaines S, Maurer JJ, Nisbet Dj.: “Characterization of chloramphenicol resistance in Beta-hemolytic *Escherichia coli* associated with diarrhea in neonatal swine”. *J. Clin. Microbiol.* 40(2):389-394, 2005.

Blanco AM, Lazo PL, Blanco AJE, Dhahi Gizlane, Mora Azucena, López Cecilia, González EA, Blanco AJ.: “Serotypes, virulence genes, and PFGE patterns of enteropathogenic *Escherichia coli* isolated from Cuban pigs with diarrhea”. *Int Microbiol* Vol. 9 (1):53-60, 2006.

Blanco J, Blanco M, Blanco J E, Mora A, Alonso M P, González E A & Bernárdez M I.: Enterobacterias: características generales. Género *Escherichia*. En: Manual de Microbiología Veterinaria. Vadillo S., Píriz S & Mateos E. Eds McGraw-Hill Interamericana, Madrid. pp. 301-325, 2002.

Blanco J, Blanco M, Blanco JE, Mora Azucena, Alonso María Pilar, González EA y Bernárdez María Isabel. *Escherichia coli* patógenos para seres humanos y animales. [en línea]. [Fecha de consulta: 21/1/05]. Disponible en: <http://secuslugo.usc.es/ecoli/index.html/E.coliPATHOGENICFORPOULTRYANEUROPEANPROJECT.htm>, 2005.

Blanco J, Blanco M.: *Escherichia coli* Enterotoxigénicos, necrotoxigénicos y verotoxigénicos de origen humano y bovino. Patogénesis, epidemiología y diagnóstico microbiológico. Servicios de Publicaciones Diputación Provincial LUGO. España. pp. 54-78, 1993.

Blanco J, González E A, Blanco M, Barbadillo, MJ, del Pozo, M Castro, JM.: Caracterización de cepas de *E. coli* asociadas a colibacilosis entéricas porcinas. *Med Vet* (5):289-297, 1988.

Blanco J.: Comunicación personal. Laboratorio de Referencia de *Escherichia coli*. Facultad de Veterinaria. Universidad de Santiago de Compostela. Lugo. España, 2004.

Blanco, A.J. (2006). Serotipos y genes de virulencia de *Escherichia coli* enteropatógenos porcino, desarrollo de una nueva vacuna: COLIDEX-C. Disponible en: <http://www.lugo.usc.es/ecoli/AM-Res-JorgeBlanco.doc> [Fecha de consulta: 15/8/06] Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad de Santiago de Compostela. España.

Blanco, M.; Blanco JE, Mora A, Blanco J.: “*E. coli* septicémicos aviares: serotipos, factores de virulencia, resistencia a antibióticos y desarrollo de vacunas”. *Med Vet*. 13 (10):525-537, 1996.

Botteldoorn, N.; Heyndrickx M., Rijpens N, Herman L.: “Detection and characterization of verotoxigenic *E. coli* by a VTEC/EHEC multiplex PCR in porcine faeces and pig carcass swabs”. *Research in Microbiology* (154):97-104, 2003.

Bouguenec, CL, Bertin Y.: “AFA and F17 adhesins produced by pathogenic *Escherichia coli* strains in domestic animals”. *Vet Res* 30 (2-3):317-342, 1999.

Bouvet J, Bavai C, Rossel R, Le Roux A, Montet MP, Ray-Gueniot S, Mazuy C, Arquillière C, & Vernozy-Rozand C.: “Prevalence of verotoxin-producing *Escherichia coli* and *E. coli*

O157:H7 in pig carcasses from three French slaughterhouses”. *Int. J. Food Microbiol* (71):249-255, 2001.

Briñas L, Zarazaga M, Sáenz Y, Ruiz-Larrea F, Torres C.: “ β - lactamases in ampicillin-resistant *Escherichia coli* isolates from foods, humans and healthy animals”. *Antimicrob Agents Chemother*. Vol. 46 (10):3156-3163, 2002.

Burgi E, Sydler T, Bertschinger HU, Pospischil A.: “Mitteilung über das Vorkommen von Oedemkrankheit bei Zuchtschweinen”. *Tierärztliche Umschau* (47):582-8, 1992.

Camino Yusimy, Almaguel R, Tolón Natasha, Ramirez Marisol: “Uso del ácido acético en la prevención y tratamiento de la colibacilosis porcina”. *Revista Computarizada de Producción Porcina*. 11 (2):46-51, 2004.

Caprioli, A, Falbo, V, Roda, LG, Ruggeri, F.M, Zona, C.: “Partial purification and characterization of an *E. coli* toxin factor that induces morphological cell alteration”. *Infect Immun* (39):1300-1306, 1983.

Castro, M.: “Promotores del crecimiento. Tendencias actuales”. *Revista ACPA* (4):19-20, 2002.

Castro, M.D, Campal A, Arteaga N, Miranda A, Junco J, León L, Casas S, Álvarez T, Fuentes F. Immunodetection of colonizing antigens in enterotoxigenic *Escherichia coli* cells isolated from piglets with diarrhoea in Cuba. 6to Congreso Latinoamericano de Inmunología y 3er Congreso Cubano de Inmunología. La Habana. Cuba. Diciembre 9-13, 2002.

China R, Rodríguez JC, Hernández JE, Calero I.: Evaluación de distintos esquemas de aplicación de un probiótico en cerdas paridas con sus crías. VII Congreso Centroamericano y del Caribe de Porcicultura. La Habana. Cuba. Del 30 de mayo al 2 de junio de 2005.

Choi C, Cho W S, Chung H K, Jung T, King J, Chae C. “Prevalence of the enteroaggregative *E. coli* heat-stable enterotoxin 1(EAST1) gene in isolates in weaned pigs with diarrhea and/or edema disease”. *Vet Microbiol* (81):65-71, 2001.

Conway, P. L, Welin A, Cohen P S.: "Presence of K88 specific receptors in porcine ileal mucus is age dependent". *Infect Immun* (58):3178-3182, 1990.

Cuesta, M. M.: La Medicina Bioenergética Veterinaria en el desarrollo ganadero sostenible. III Conferencia Internacional sobre Desarrollo Agropecuario y Sostenibilidad. III Simposio de Producción y Salud Animal. Santa Clara. Cuba. Del 13-16 de junio de 2005.

De Graaf FK, Gaastra W.: Fimbriae of enterotoxigenic *Escherichia coli*. pp. 193-211. *In* P. Klemm (ed.), Fimbriae: adhesion, genetics, biogenesis, and vaccines. CRC Press, Inc., Boca Raton, Fla, 1994.

Dezfulian, H., Batisson Isabelle, Fairbrother J, Lau P, Nassar A, Szatmari G, Harel J.: "Presence and characterization of extra intestinal pathogenic *Escherichia coli* virulence genes in F165-positive *E. coli* strains isolated from diseased calves and pigs". *J Clin Microbiol* 41(4):1375-1385, 2003.

Erickson, A.K., Willgohs JA, McFarland SY, Benfield DA, Francis DH.: "Identification of two porcine brush border glycoproteins that bind the K88ac adhesin of *Escherichia coli* and correlation of these glycoproteins with the adhesive phenotype". *Infect Immun* 60 (3):983-988, 1992.

Ewing, W.H.: Edwards and Ewing's identification of *Enterobacteriaceae* (4^a Ed.). Elsevier, New York, USA, 1999.

Francis, D.H, Grange PA, Zeman DH, Baker DR, Sun R, Erickson AK.: "Expression of mucin-type glycoprotein K88 receptors strongly correlates with piglet susceptibility to K88 (+) enterotoxigenic *Escherichia coli*, but adhesion of this bacterium to brush borders does not". *Infect Immun* 66 (9):4050-4055, 1998.

Franklin, T.J, Snow GA.: Biochemistry of antimicrobial action (4th edition). Ed. Chapman and Hall, Londres, 1989.

Frasser, C.M., Bengeron J.A, Mays A, Aiello, Susan E.: El Manual Merck de Veterinaria (4ta edición). Merck and Co. Inc. EUA. Oceano/Centrum. España. pp. 222, 1993.

Garabal, J.I.; González EA, Vázquez F, Blanco J, Blanco M.: Toxigenic *Escherichia coli* in Spanish piggeries from 1986 to 1991. *Veterinary Microbiology* (47):17-25, 1995.

García L.; J.M, De La Cruz F.: Mecanismos de formación de transposones bacterianos con resistencia a múltiples antibióticos. *Microbiología*, pp. 45-51, 1990.

Gebremariam, B.T, Pernas, LLE, Castro BL, Bravo AR, Gutiérrez F.G.: Valoración de la Prueba del Ratón Lactante para la determinación del poder patógeno de las *Escherichia coli*. Trabajo de Diploma. Facultad de Ciencia Animal. Universidad Central de Las Villas. Cuba, 1985.

González EA, Garabal JI. (1998). Colibacilosis entérica porcina. Laboratorio de Microbiología. Facultad de Veterinaria. LUGO. Universidad de Santiago de Compostela. España. pp. 67-88.

González, E.A.; Blanco J.: "Production of cytotoxin VT in enteropathogenic and non enteropathogenic *E. coli* strains of porcine origin". *FEMS Microbiol Lett* (26):127-130, 1985.

Guerra A.; Hernández JE, Rodríguez JC, Álvarez JM.: Evaluación de un candidato a probiótico en condiciones controladas. VII Congreso Centroamericano y del Caribe de Porcicultura. La Habana. Cuba. Del 30 de mayo al 2 de junio de 2005.

Gyles, C.L.: *Escherichia coli* in domestic animals and humans. CAB International, Wallingford, UK, 1994.

Ha, S.K.; Choi C, Jung K, Kim J, Han DU, Ha Y, Lee SD, Kim SH, Chae C.: Genotypic prevalence of the adhesin involved in diffuse adherence in *Escherichia coli* isolates in pre-weaned pigs with diarrhoea in Korea. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health*.51 (4):166-8, 2004b.

Ha, S,K.; Hong K, Choi C, Jung K, Ha Y, Kim J, Kim SH, Yoon B, Chae C.: "Polymerase chain reaction analysis of eae gene subtypes present in attaching and effacing *Escherichia coli* isolated from pigs with diarrhea". *J Vet Diagn Invest*. 16 (6):576-8, 2004.

Hall, R.: Mobile gene cassettes and integrons: moving antibiotic genes in Gram negative bacteria. *Ciba Foundation Symposium*. 207:192-205, 1997.

Hampson, D.J.: Postweaning *E. coli* diarrhoea in pigs. En : (Ed.), *Escherichia coli* in Domestic Animals and Humans. CAB International, Wallingford, pp. 171-192, 1994.

Harel, J.; Lapointe H, Fallara A, Lortie L, Poulin M. B, Lariviere S, Fairbrother J. M.: “Detection of genes for fimbrial antigens and enterotoxins associated with *E. coli* serogroups isolated from pigs with diarrhea”. *J Clin Microbiol* (29):745-752, 1991.

Harrey R.B.: “New way to control Escherichia coli in weaned pigs”. *Agricultural Research Magazine*. 52(3): 9, 2004.

Heal, R.D, Parsons AT.: “Novel intercellular communication system in Escherichia coli that confers antibiotic resistance between physically separated populations”. *J Appl Microbiol* (92):1116-1122, 2002.

Hogan, Deborah, Kolter R.: Why are bacteria refractory to antimicrobials? *Current Opinion in Microbiology* (5):472-477, 2002.

Holm, A. Poulsen ND.: “Swine production management update, Zinc oxide in treating *E. coli* diarrhoea in pigs after weaning. Compendium of Continuing Education” *Practising Veterinarians* (18): 26-28, 1996.

Hu, Z.L.; Hasler-Rapacz J, Huang S. C and Rapacz J.: “Studies in swine on inheritance and variation in expression of small intestinal receptors mediating adhesion of the K88 enteropathogenic *E. coli* variants”. *J Hered* (84):157-165, 1993.

Imberechts, H.; De Greve H and Lintermans: “The pathogenesis of edema diseases in pigs”. *Veterinary Microbiology* (31):221-233, 1992.

Kang, H.Y.; Jeong YS, Oh JY, Tae SH, Choi CH, Moon DC, Lee WK, Lee YC, Seol SY, Cho DT, Lee JC.: Characterization of antimicrobial resistance and class 1 integrons found in *Escherichia coli* isolates from humans and animals in Korea”. *Journal Antimicrob Chemother* 55 (5):639-44, 2005.

Kausche, F.M.; Dean E.A, Arp L.H, Samuel JE and Moon HW. (1992). “An experimental model for subclinical edema disease (*Escherichia coli* enterotoxemia) manifest as vascular necrosis in pigs”. *American Journal of Veterinary Research* (53):281-287, 1992.

Koper, J.B. & O'Brien A.D. (1998). (Eds.) *Escherichia coli* 0157: H7 and other Shiga toxin-producing *E. coli* strains. ASM Press, Washington, USA, 1998.

Krause, G.; Zimmermann S, Beutin L.: “Investigation of domestic animals and pets as a reservoir for intimin- (eae) gene positive *Escherichia coli* types”. *Vet Microbiol* 106 (1-2):87-95, 2005.

Lazo, P.L.; Blanco AJ, Blanco AM, Blanco AJ, Dibha Cristina y col.: Prevalencia y características de cepas de *E. coli* aisladas en cerdos con síndrome diarreico en la región central de Cuba. Memorias del VII Congreso Centroamericano y del Caribe de Porcicultura. La Habana. Ciudad Habana. Cuba. Del 30 de mayo al 2 de junio de 2005. ISBN 959-7164-90-6.

Lazo, P.L.; Blanco AJ, Blanco AM, Blanco AJ.: Prevalence serotypes and virulence factors of *Escherichia coli* strains isolated in pig with diarrhea in the province of Villa Clara. Memorias del Workshop Teaching and research in plant and animal science. Villa Clara. Santa Clara. Cuba. Del 24-28 mayo, 2004. ISBN 959-250-167-10.

Lazo, P.L.; Ghizlane Dhab, Blanco AM, Blanco AJE, Blanco AJ, Llorens B.F.: Aplicación de técnicas moleculares en la caracterización de aislados de *Escherichia coli* procedentes de cerdos con síndrome diarreico en la provincia de Villa Clara. Memorias del VI Congreso Internacional de Ciencias Veterinarias, II Seminario Internacional de Salud Animal. La Habana. Ciudad Habana. Cuba. Del 10-13 de abril de 2007. ISBN 978-959-282-047-3, 2007.

Lazo, P.L.; Pernas LLE, Martínez Alfonso Buenaventura, Sánchez S.E.: Evaluación de una vacuna oral para la prevención de la colibacilosis en porcinos jóvenes. Trabajo de Diploma. Facultad de Ciencia Animal. Universidad Central de Las Villas. Cuba, 1988.

Leung PHM, Yam WC, NG WWS, & Peiris JSM.: “The prevalence and characterization of verotoxin-producing *Escherichia coli* isolated from cattle and pigs in an abattoir in Hong Kong”. *Epidemiol Infect* 126: 173-179, 2001.

Lindahl, M. Carlstedt I.: Binding of K99 fimbriae of enterotoxigenic *Escherichia coli* to pig small intestinal mucin glycopeptides. *J Gen Microbiol* (136):1609-1614, 1990.

Llop Hernández Alina, Valdès – Dapenz Vivanci María Margarita, Zuazo S.J L.: Microbiología y Parasitología Médica. En: Origen de la resistencia de las bacterias a los antibióticos. Tomo I. La Habana. Editorial Ciencias Médicas. Pp 85-86, 2001.

Luckstadt, C, Moore D.: Well Balanced acidifier-part of the new feeding concept for weaned piglets. VII Congreso Centroamericano y del Caribe de Porcicultura. La Habana. Cuba. Del 30 de mayo al 2 de junio de 2005.

MacLaren I, Gras C. (1986). Another animal *E. coli* cytopathic factor. *Vet Rec* (119):576- 577.

MacLeod DL and Gyles CL. (1990). Purification and characterization of an *Escherichia coli* Shiga-like toxin II variant. *Infection and Immunity* (58):1232-1239.

Mainil JG, Daube G, Jaquemin E, Pohl P, Kaeckenbeek A. (1998). Virulence plasmids of enterotoxigenic *Escherichia coli* isolates from piglets. *Vet Microbiol* 62 (4):291- 299.

Mainil JG, Jaquemin ER, Kaeckenbeek AE, Pohl PH. (1993). Association between the effacing (eae) gene and the shiga-like toxin-encoding genes in *E. coli* isolate from cattle. *Am J Vet Res* (54):1064-1068.

Marina D, Jeyasingham, Pascal Butty, Thimothy P, King Robert Begbie, Denise Kelly. (1999). *Escherichia coli* K88 receptor expression in intestine of disease-susceptible weaned pigs. *Veterinary Microbiology* (68):219-234.

Monserratt González Mary. (2004). *E. coli*, Enterotoxiosis en el cerdo. [en línea]. [Fecha de consulta 13/5/04]. Disponible en: [Porcicultura_com colibacilosis. Htm 2004.](#)

Montes de Oca, Nivia, Talavera CA. (1994). Uso del beta 1-3 glucano como adyuvante en una vacuna de *E. Coli* K88+ en cerdas gestantes. *Revista Salud Animal* 16 (1-3) :27-32.

Mora A, Usera MA, Blanco M, Blanco JE, Alonso MP, Prats G, Stirrat A, Carter FM, & Blanco J. (2000). Bacteriophage typing and virulence genes of verocytotoxigenic *E. coli* (VTEC) O157:H7 strains isolated in Spain. En: *Verocytotoxigenic E. coli in Europe*, 3. Pathogenicity and virulence of verocytotoxigenic *E. coli*. Concerted Action CT98-3935. Eds. Duffy G, P Garvey, J Coia, Y Wasteson & DA McDowell. Teagasc, The National Food Centre, Dublin: 189.

Moxley RA, Duhamel GE. (1999). Comparative pathology of bacterial enteric diseases of swine. *ExpMedBiol* (473):83-101

Muniesa, M & Jofre J. (1998). Abundance in Sewage of Bacteriophages That Infect *Escherichia coli* O157:H7 and That Carry the Shiga Toxin 2 Gene *Appl Environ. Microbiol* 64(7):2443-2448 .

Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC & Tenover RH. (1999). (Eds.) *Manual of clinical microbiology* (7ªEd.). Capítulos dedicados a las enterobacterias: 27 a 30. ASM Press, Washington, USA. Pp.442-496

- Nagy B, Casey TA, Wipp SC, Moon HW and Dean-Nystrom EA. (1992). Pilli and adhesiveness of porcine postweaning enterotoxigenic and verotoxigenic *Escherichia coli*. In: Proceedings 12th International pig Veterinary Society Congress, The Hague. Royal Netherland Veterinary Association, ORBIT, GAIB Hertogenbosch, The Netherlands, p. 240. 1992
- Nagy B, Fekete PZ. (1999). Enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) in farm animals. *Vet Res* (30):259-284
- Nataro JP, Kaper JB. (1998). Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Journal* 11 (1):142-201.
- Nemoy LL, Kotetishvili M, Tigno J, Keefer-Norris A, Harris AD, Perencevich EN, Johnson JA, Torpey D, Sulakvelidze A, Morris JG Jr, Stine OC. (2005). Multilocus sequence typing versus pulsed-field gel electrophoresis for characterization of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* isolates. *J Clin Microbiol* 43 (4):1776-81.
- Ngeleka M, Pritchard J, Appleyard G, Middleton DM, Fairbrother JM. (2003). Isolation and association of *Escherichia coli* AIDA-I/STb, rather than EAST1 pathotype, with diarrhea in piglets and antibiotic sensitivity of isolates. *J Vet Diagn Invest* 15 (3):242-52.
- Nielsen E M, & M T Andersen. (2003). Detection and characterization of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* by automated 5' nuclease PCR assay. *J Clin Microbiol* 41:2884-2893.
- Nwosu VC. (2001). Antibiotic resistance with particular reference to soil microorganisms. *Res Microbiol* (152):421-430.
- Osek J (1999a). Prevalence of virulence factors of *Escherichia coli* strains isolated from diarrheic and healthy piglets after weaning. *Vet Microbiol* (68):209-217.
- Osek J. (2003). Detection of the enteroaggregative *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin 1 (EAST1) gene and its relationship with fimbrial and enterotoxin markers in *E. coli* isolates from pigs with diarrhoea. *Veterinary Microbiology* (91):65-72.
- Oswald E, Schmidt H, Morabito S, Karch H, Marchès O, & Caprioli A. (2000). Typing of intimin genes in human and animal enterohemorrhagic and enteropathogenic *Escherichia coli*: characterization of a new intimin variant. *Infect Immun* 68: 64-71.

Pedroso Miriam, Talavera CA (1983a). Evaluación de un antisuero marcado contra cepas K88 y K99 de E. coli para inmunofluorescencia directa. *Revista Salud Animal* Vol. 5 (1):43-50.

Pedroso Miriam, Talavera CA (1983b). Inmunofluorescencia directa para el diagnóstico de E. coli cepas K88+ y K99+ en cerdos diarreicos y no diarreicos. *Revista Salud Animal* Vol. 5 (3):493-502.

Pedroso Miriam, Talavera CA (1983c). Empleo de la Inmunofluorescencia directa en la detección de antígenos enteropatógenicos K88 y K99 de E. coli en cerdos diarreicos y no diarreicos. Informe Técnico. CENSA.

Penteado AS, Aidar L, Pestana de Castro AF, Yamada A, Andrade JRC, Blanco J, Blanco M, Blanco JE. (2001). EAE-negative attaching and effacing *Escherichia coli* from piglets with diarrhea. *Research in Microbiology* 152 (1):75-81

Pérez EM, Talavera CA. (1984). Caracterización de una línea celular de riñón de ternero III. Sensibilidad frente a la enterotoxina termolábil de E. coli. *Revista Salud Animal* 6(4):655-658.

Pérez RM, Armenteros Mabelyn, Vega E, Gallardo Y. (2005). Evaluación de la colonización del tracto digestivo desde el nacimiento hasta los 21 días en cerdos recién nacidos tras la administración de un agente probiótico. VII Congreso Centroamericano y del Caribe de Porcicultura. La Habana. Cuba. Del 30 de mayo al 2 de junio de 2005.

Pernas JL, Pino Delfina, Barreto G, Loret M María Eugenia (1989). Algunas consideraciones sobre cepas de E. coli aisladas de cerdos diarreicos en unidades porcinas de la provincia de Camaguey. *Revista Ciencia y Técnica en la Agricultura. Veterinaria*. Vol.11 (1):59-69.

Pernas LLE, Bravo AR (1986). Diagnóstico, tratamiento e inmunoprofilaxis de las diarreas colibacilares del cerdo. *Rvta. Cub. Cienc. Vet.* 17 (3 y 4):131-138.

Pernas LLE, Bravo AR, González GG, Llorens FB, Llanes A, (1986). Valoración del poder patógeno de cepas de *Escherichia coli* mediante la prueba del intestino ligado en cerdos. *Revista Ciencia y Técnica en la Agricultura. Ganado Porcino*. Vol. 9 (2):81-89

Pernas LLE, Bravo AR, Silveira PE, González Oraida, Talavera CA, García JC, González María Teresa, Fuentes Eloina, Gutiérrez FG (1985a). Prueba controlada de la efectividad de una vacuna

para la prevención de las colidiarreas en cerdos recién nacidos. *Revista Ciencia y Técnica en la Agricultura. Ganado Porcino* Vol. 8 (4):85-91.

Pernas LLE, Llorens F, Rojas Delfa, Pérez Antonia, Gutiérrez G (1985). Determinación de la presencia de plásmidos de resistencia (R) en cepas de *E. coli* aisladas de cerditos recién nacidos que presentaban diarrea. *Revista Ciencia y Técnica en la Agricultura. Ganado Porcino* Vol. 7 (1):73.

Pernas LLE, Rojas Delfa (1985). Circulación de plásmidos K88, K99, Hly en dos unidades porcinas. *Revista Ciencia y Técnica en la Agricultura. Ganado Porcino* Vol. 7 (1):65.

Pernas LLE. Estudio de la presencia de plásmidos virulentos y plásmidos de resistencia en cepas de *E. coli* aisladas en unidades porcinas de la provincia de Villa Clara. [Tesis doctoral]. Escuela Superior de Medicina Veterinaria. Kosice. Checoslovaquia; 1980.

Perreten y Boerlin, 2003).

Piloto MJL, Legarda Y. (2005). Resultados obtenidos en Cuba con la utilización del probiótico "sorbial" producido por la compañía francesa SORBIAL S. A. S en la alimentación de cerdos lactantes. VII Congreso Centroamericano y del Caribe de Porcicultura. La Habana. Cuba. Del 30 de mayo al 2 de junio de 2005.

Pohl P, Verlinden M, Lintermans P, Van Robaey G and Stockmans F. (1991). Antibiogramme des Enterobacteries pathogenes pour les animaux d'élevage et les pigeons, isolees en Belgique. De 1986 a 1990. *Annales de Medecine Veterinaire* (135):101-108.

Salyers AA, Speer BS, Shoemaker NB. (1990). New perspectives in tetracycline resistance. *Molec Microbiol* (4):151-156.

Sandvig K, Garred O, Prydz K, KoslarJV, Hansen S, Van Deurs B. (1992). Retrograde transport of endocytised shiga toxin to the endoplasmic reticulum. *Nature* (358):510-512.

Savarino SJ, Fasano A, Watson J, Martin BM, Levine MM, Guandalini S, Guerry P. (1993). Enteraggregative *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin 1 represents another subfamily of *E. coli* heat-stable toxin. *Proc Natl Acad Sci USA* (90):3093-3097.

Sethabutr O, Venkatesan M, Yam-Pang LW, Smoak BL, Sang WK y col. (2000). Detection of PCR products of the ipaH gene from Shigella and enteroinvasive Escherichia coli by enzyme linked immunosorbent assay. *Diagn Microbiol Infect Dis* (37):11-16.

Sobestiansk, J. (1994). Epidemiología, factores de riesgo y eficiencia reproductiva en sistema de producción de suinos confinados. III Congreso Nacional de Producción Porcina. pp 167-182, Cordova. Argentina 1994.

Spoering AL, Lewis K. (2001). Biofilms and planktonic cells of Pseudomonas aeruginosa have similar resistance to killing by antimicrobials. *J Bacteriol* (183):6746-6751.

Stahl CH, Callaway TR, Lincoln LM, Lonergan SM, Genovese KJ. (2004). Inhibitory activities of colicins against *Escherichia coli* strains responsible for postweaning diarrhea and edema disease in swine. *Antimicrob Agents Chemother* 48 (8):3119-21.

Sussman M. (1997). (Ed) *Escherichia coli: Mechanisms of virulence*. Cambridge University Press, UK.

Talavera A, Montes de Oca Nivia. (1987). Obtención de sueros diagnóstico a partir de fimbria de E. coli. Informe de la Academia de Ciencias de Cuba. La Habana. Cuba.

Talavera CA (1983a). Diagnóstico de la diarrea enterotóxica por E. coli. Método de aglutinación rápida (K: 88) y (K: 99) en laboratorios de Diagnóstico. Informe Técnico. CENSA.

Talavera CA (1983b). Enteropatogenicidad de cepas de *Escherichia coli* aisladas de cerdos y su relación con el antígeno somático y comportamiento bioquímico. *Revista Salud Animal* Vol. 5 (2):267-274.

Talavera CA, García P, Carlos J, Fuente María Elena, González F María Teresa, inventores; asignado Centro Nacional de Salud Animal. Vacuna contra la diarrea enterotóxica por *Escherichia coli* (E. coli) en cerditos. Cuba. Patente 21550. Certificado de autor de invención. Oficina Cubana de la Propiedad Industrial. Pp 1-6. 1984.

Talavera CA. Enteropatogenicidad de cepas de *Escherichia coli* aisladas de terneros y cerdos. [Tesis Doctoral]. Instituto Superior de Ciencias Agropecuarias de La Habana. Centro Nacional de Salud Animal. La Habana. Cuba. 1981

Thesh VI, Burris JA, Owens JE, Gordon VM, Waldelkowski EA, O'Brien AD and Samuel JE. (1993). Comparison of relative toxicities of shiga-like toxins type I and type II for mice. *Inf Im* (61):3392-3402.

Thomson J. (2001). Etiología y control de las principales infecciones entéricas porcinas. *Revista del Consejo General de Colegios Veterinarios de España. Información Veterinaria. Ciencias Veterinarias*. [en línea]. [Fecha de consulta: 7 de abril de 2003]. Disponible en: <http://www.colvet.es/infovet>

Todd S. (2000). Anormalidades genéticas importantes en cerdos III. *Cerdos Swine* (38):36-39.

Toth I, Schmidt H, Dow M, Malik A, Oswald E, Nagy B. (2003). Transduction of porcine enteropathogenic *Escherichia coli* with a derivative of a shiga toxin 2-encoding bacteriophage in a porcine ligated ileal loop system. *Appl Environ Microbiol*. 69 (12):7242-7247.

Turnes CG, Aleixo JA, Monteiro AV, Dellagostin OA. (1999). DNA inoculation with a plasmid vector carrying the *faeG* adhesin gene of *Escherichia coli* K88ab induced immune responses in mice and pigs. *Vaccine* 17 (15-16):2089-2095.

Unkmeir A & Schmidt H. (2000). Structural Analysis of Phage-Borne *stx* Genes and Their Flanking Sequences in Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* and *Shigella dysenteriae* Type 1 Strains. *Infection and Immunity* 68 (9):4856-4864.

Van den Broeck W, Cox E, Oudega B, Godderis BM. (2000). The F4 fimbrial antigen of *Escherichia coli* and its receptors. *Veterinary Microbiology* (71):223-244.

VuKhac H, Holada E, Pilipcinec E, Blanco M, Blanco JE, Mora Azucena, Dhahi G, Lopez C, González EA, Blanco J (2006). Serotypes, virulence genes, and PFGE profiles of *Escherichia coli* isolated from pigs with postweaning diarrhoea in Slovakia. *Vet. Rec.* Mar 20:2-10.

Vu-Khac H, Holoda E, Pilipcinec EJ. (2004). Distribution of virulence genes in *Escherichia coli* strains isolated from diarrhoeic piglets in the Slovak Republic. *Vet Med B Infect Dis Vet Public Health*. 51 (7):343-7.

Wada Y, Kato M, Yamamoto S, Shibahara T, Ishikawa Y, Kadota K. (2004). Invasive ability of *Escherichia coli* O18 isolated from swine neonatal diarrhoea. *Vet Pathol* 41 (4):433-7.

Wenneras C, Holmgren J, Svennerholm AM. (1990). The binding of colonization factor antigens of enterotoxigenic *Escherichia coli* to intestinal cell membrane proteins. FEMS Microbiol Lett (66):107-112.

Werner A. (2005). Desarrollo de resistencia. Aspectos presentes y futuros en la terapia antibiótica. VII Congreso Centroamericano y del Caribe de Porcicultura. La Habana. Cuba. Del 30 de mayo al 2 de junio de 2005.

Wiedemann, V. (1990). Gewinnung und Anwendung schutzender Dotterantikörper gegen enterotoxische *Escherichia coli* – keime beim Ferkel. Diss München

Winkelman NI. (1995). *E. coli* septicaemia. Proceedings of the Allen D. Leman Swine Conference, University of Minnesota 22 pp. 59-60

Wittig W, Fabricius C. (1992). *E. coli* types isolated from porcine *E. coli* infections in Saxony from 1963 to 1990. Zentralblatt für Bakteriologie (277):389-402.

Wong Idania, Bover E, Ramos M, Gonzalez N, Exposito M, Segura Rutdalys Eladio Salazar E, Agraz A, Jiménez Idalmis, Herrera L y de la Fuente J (1996). Eficacia en condiciones de campo de una vacuna recombinante contra la colibacilosis porcina. Biotecnología Aplicada, 13:16-19.

Wooley RE, Spears KR, Brown J, Nolan LK, Fletcher OJ. (1992). Relationship of complement resistance and selected virulence factors in pathogenic avian *E. coli*. Avian. Dis (36):679-684.

Yamamoto T, Nakazawa, M. (1997). Detection and sequences of the enteroaggregative *E. coli* heat-stable enterotoxin I gene in enterotoxigenic *E. coli* strains isolated from piglets and calves with diarrhea. J Clin Microbiol (35):223-227.

Yamamoto T, Wakisaka N, Sato F, Kato A. (1997). Comparison of the nucleotide sequence of enteroaggregative *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin 1 genes among diarrhea-associated *Escherichia coli*. FEMS Microbiol Lett (147):89-95.

Yokoyama H, Hashi T, Umeda K, Kuroki M, Ikemori Y y Kodama Y. (1997). Effect of oral egg antibody in experimental F18+ *E. coli* infection in weaned pigs. J Vet Med Sci (59):917-921.

Zhang WL, Köhler B, Oswald B, Beutin L, Karch H, Morabito S, Caprioli A, Suerbaum S & Schmidt H. (2002). Genetic diversity of intimin genes of attaching and effacing *Escherichia coli* strains. J. Clin. Microbiol. 40:4486-4492.

Zhu C, Harel J, Dumas F, Fairbrother JM. (1995). Identification of EaeA protein in the outer membrane of attaching and effacing *E. coli* O45 from pigs. FEMS Microbiol Lett (129):237-242

ANEXOS

Anexo 1. Factores de virulencia de *E. coli* diarreagénicos para animales

***E. coli* enterotoxigénicos (ECET)**

Causantes de diarrea en ganado porcino

- Enterotoxinas LT, STa y STb.
- Antígenos fimbriales de colonización: K88 (F4), P987 (F6), K99 (F5) y F41. Muy pocas cepas poseen las adhesinas: F18ac (2134P, 8813, PCFO141), F42 y F165.
- Las cepas responsables de la enfermedad de los edemas que afecta a cerdos recién destetados suelen producir enterotoxinas y la verotoxina VT2e (cepas ECET/ECVT). Dichas cepas poseen la adhesina fimbrial F107 (F18ab).
- α -hemolisina fundamentalmente en las cepas LT+ y K88+.

Causantes de diarrea en ganado bovino y ovino

- Enterotoxina STa.
- Antígenos fimbriales de colonización intestinal: K99 y F41.
- Algunas cepas poseen la adhesina F17 (FY o Att25).

Causantes de diarrea en perros

- Enterotoxinas STa y STb.
- Es posible que produzcan nuevos tipos de enterotoxinas termolábiles.
- Adhesina K99 únicamente en algunas cepas del serotipo O42:H37.
- Posiblemente presenten nuevas adhesinas específicas.
- α -hemolisina.

***E. coli* verotoxigénicos (ECVT). Causantes de diarrea en ganado bovino**

- Verotoxina VT1. Locus cromosómico LEE con genes: *eae*, *tir*, *esp* y *sep*.
- Plásmido de 60 Mda que codifica una enterohemolisina (EntHly) y una adhesina fimbrial que puede estar implicada en la colonización intestinal.

***E. coli* enteropatógenicos (ECEP)**

Causantes de diarrea en conejos. Locus cromosómico LEE con genes: *eae*, *tir*, *esp* y *sep*. Adhesinas fimbriales AF/R1 (plasmídica) y AF/R2 (cromosómica).

Causantes de diarrea en perros. Locus cromosómico LEE con genes: *eae*, *tir*, *esp* y *sep*. Algunas

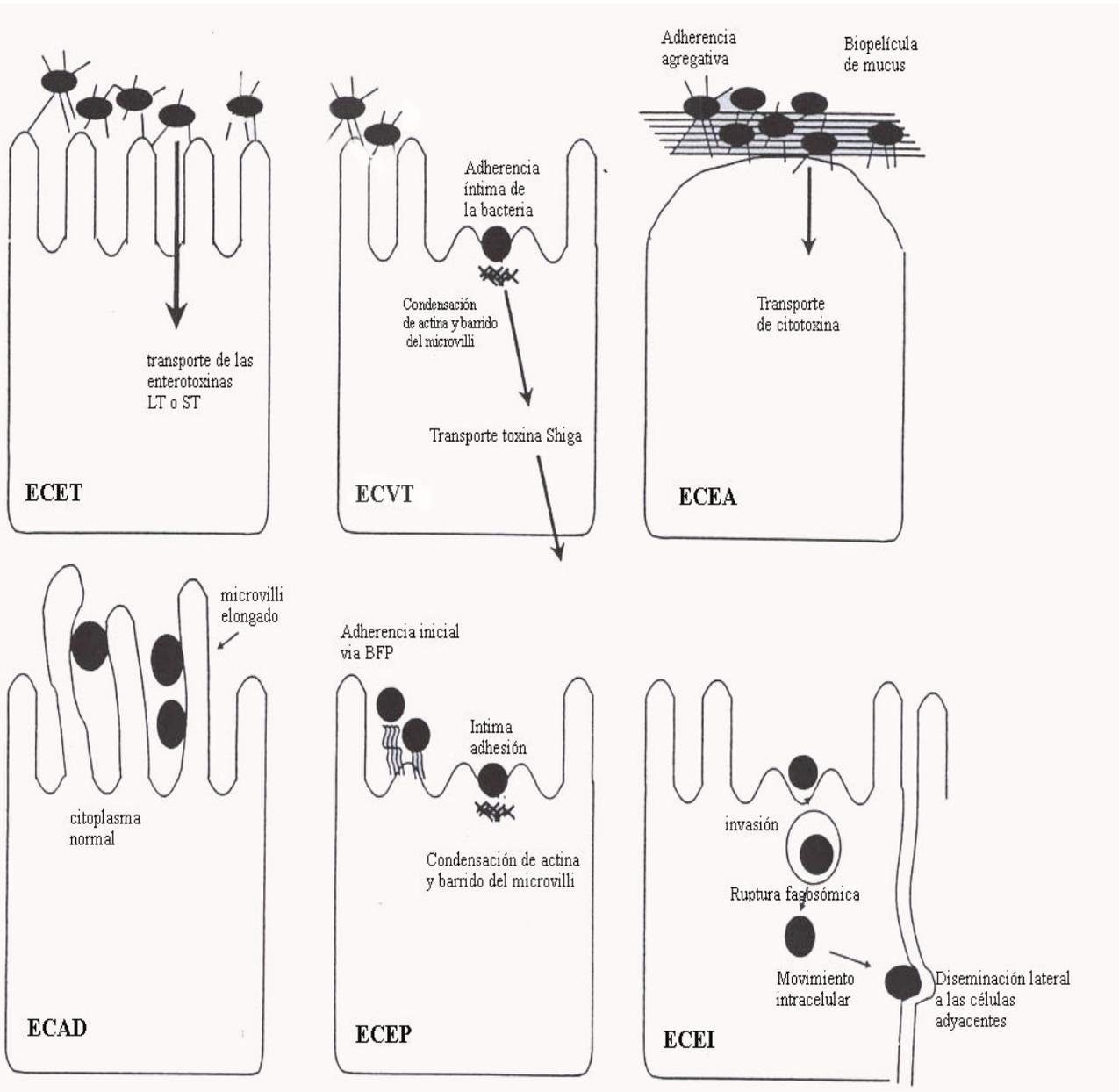
cepas llevan el plásmido EAF que codifica la adhesina BFP.

Anexo 1 a). Serotipos de *E. coli* diarreagénicos para animales

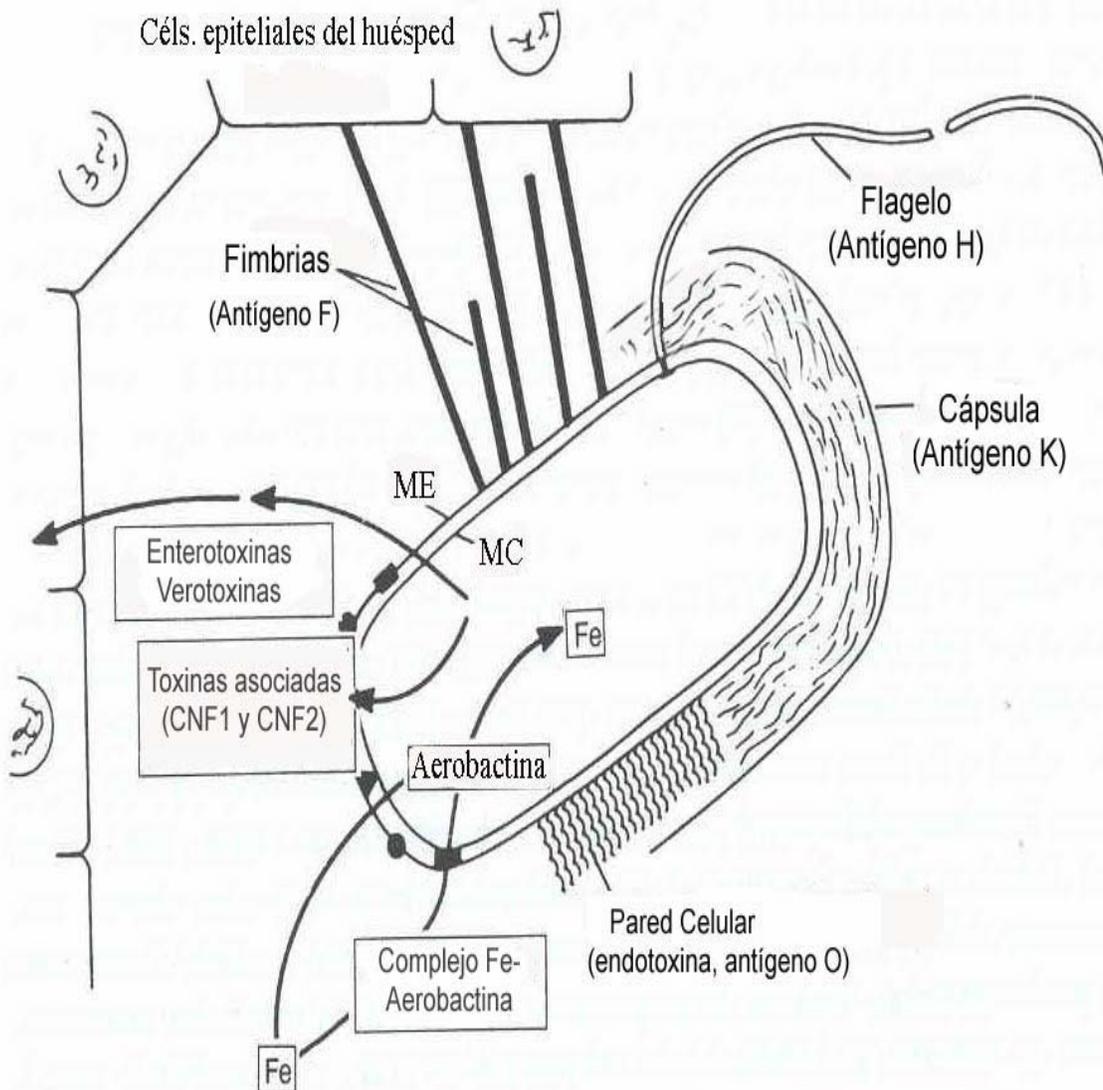
Porcinos	Rumiantes	Perros	Conejos
ECET (y ECVT)^a	ECET (Bovinos-ovinos)	ECET	ECEP
O8:K85:H2	O8:K25,K85,K208	O4	O2:H6
O8:K87	O9:K30,K35,K37	O5	O15:H-
O8:K201:H6,H9,H14	O20:K?	O6	O20:H7
O8:K-:H11	O64:K-	O8	O26:H11,H-
O8:K48:H31	O101:K27,K28,K30,	O17	O49:H2
O9:K103:H-	K32,K103,K-	O20	O92:H2
O9:K?:H-		O23	O103:H2
O20:K101:H-	ECVT (Bovinos)	O25	O109:H2,H7
O45	O5:H-	O42:H37	O110:H6
O64:K-:H-	O8:H8,H9	O70:H-	O119:H2
O101:K30:H9	O20:H19	O105	O126:H2,H-
O101:K-:H9	O26:H11		O128::H2,H-
O101:K103	O103:H2	ECEP	O132:H2
O138:K81:H14,H-	O111:H8,H11,H-	O45	O153:H7
O139:K82:H1	O118:H16	O49:H10	
O141:K85:H4,H-	O145	O115	
O141:K87		O118:H-	
O147:K87		O119	
O147:K89		ONT	
O149:K89			
O149:K91:H10,H19			
O157:K-:H7,H43			

^aAlgunas cepas (principalmente de los serogrupos O138, O139, O141) son enterotoxigénicas y VT2e+.

Anexo 2. Mecanismos de patogénesis de las seis categorías reconocidas de E. coli diarreagénicos. Basado en el original de Nataro & Kaper (Clin. Microbiol. Rev. 1998, 11: 142-201).



Anexo 3. Esquema de la bacteria *Escherichia coli* en el que se representan los principales antígenos de superficie (O, K, H y F) y algunos factores de virulencia. Basado en el original de Johnson (Clin. Microbiol. Rev. 1991, 4: 80-128)



Anexo 4. Modelo del desarrollo de la lesión de adhesión y borrado (attaching and effacing) de los *Escherichia coli* enteropatogénicos (ECEP) y verotoxigénicos (ECVT). Basado en el original de Donnenberg et al. (Trend. Microbiol. 1997, 5: 109-114)

