

124
2Ej



**Universidad Nacional Autónoma
de México**

**Facultad de Medicina Veterinaria
y Zootecnia**

**FRECUENCIA DE CEPAS SEPTICEMICAS DE
E. coli, EN POLLOS DE ENGORDA**

T E S I S
Que para obtener el título de
Médico Veterinario Zootecnista
p r e s e n t a

GRACIELA LOPEZ MENDOZA



**Asesores: MVZ. Raúl Vázquez Martínez
MVZ. Bernardo Lozano Dubernard**

México, D. F.

1987



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

	<u>Página</u>
RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
MATERIAL Y METODO	5
RESULTADOS	7
DISCUSION	8
CONCLUSIONES	9
LITERATURA CITADA	10
CUADRO 1	13
CUADRO 2	14

RESUMEN

LOPEZ MENDOZA GRACIELA. Frecuencia de cepas septicémicas de E.coli, en pollos de engorda (bajo la dirección de Raúl Vazquez Martínez y Bernardo Lozano Dubernard).

La colisepticemia en las aves ocasiona graves pérdidas a la avicultura en México. Se ha observado que las cepas de E. coli, involucradas en este proceso contienen el plásmido Col V, el cual codifica para la síntesis de colicina V y de un sideróforo que aparentemente inhibe la fagocitosis del microorganismo in vivo. Una forma de identificar in vitro dicho plásmido es mediante la prueba de colicinogenia, por lo que ésta puede ser de gran utilidad para la identificación de cepas septicémicas de E.coli.

Se obtuvieron 117 cepas de E.coli aisladas a partir de diferentes órganos de aves recién sacrificadas y fueron sometidas a la prueba de colicinogenia, resultando positivas el 49.6%. Estas fueron inoculadas en pollos de 3 semanas de edad y el 79% produjo la muerte de éstos dentro de las 48 horas post-inoculación. Las cepas colicina negativa fueron inoculadas también en pollos de la misma edad y el 30% produjo la muerte en el mismo período. Los resultados obtenidos sugieren que la prueba de colicinogenia puede ser un elemento de apoyo para el diagnóstico de colisepticemia.

INTRODUCCION:

La colibacilosis septicémica es una enfermedad de distribución mundial que produce pérdidas económicas importantes, se presenta en todos los tipos y edades de aves domésticas al igual que en muchas clases de mamíferos (13).

Escherichia coli fué descrita en 1885 por Teobaldo Escherich, médico pediatra y bacteriólogo alemán que la aisló de heces de infantes, aunque el no la consideró patógena (16).

En 1894 J. Lignieres, hizo el primer reporte de colibacilosis aviar considerando a E.coli como una bacteria patógena. A partir de entonces se han descrito un sinnúmero de casos (8,13,16).

El agente etiológico es una bacteria G(-) de fácil aislamiento y comprobación bioquímica. La estructura antigénica de E. coli consta generalmente de 2 a 4 componentes morfológicos, que son el antígeno somático (O), antígeno flagelar (H), antígeno capsular (K) y los pili o pillus que son antígenos también (6,8,12).

Su tipificación resulta difícil ya que se han descrito 164 antígenos (O), 103 antígenos (K) y 51 antígenos (H), en aves, y generalmente se tipifican solamente los antígenos (O) somáticos (6,8).

De acuerdo con lo anterior existe una gran variedad de serotipos de E. coli pero se ha observado que un alto porcentaje de las cepas septicémicas pertenecen a los serotipos O1, O2 y O78 (5,6,9,11,12).

Para algunos autores existe relación entre la patogenicidad de E.coli y la producción de hemólisis en medios de cultivo enriquecidos con sangre bovina o aviaría

Otros mencionan que los pili están asociados con la patogenicidad y virulencia de E.coli y han aislado cepas con dicho factor de adherencia en casos de colisepticemia en aves (3,9,10).

En estudios recientes se ha visto que algunas bacterias producen sustancias de naturaleza proteínica con actividad antibiótica sobre cepas bacterianas diferentes inhibiendo su desarrollo, dichas sustancias son conocidas genéricamente como bacteriocinas (1,2).

La nomenclatura de las bacteriocinas es variable, sin embargo obedece generalmente al tipo de bacteria que las produce. En el caso de E.coli son llamadas colicinas, por lo que se ha relacionado la capacidad de producir septicemia a la presencia de un plásmido denominado Col V, el cual confiere información genética para la síntesis tanto de la bacteriocina denominada colicina V como de un sideróforo de hidroxamato, el cual aparentemente interfiere con la fagocitosis del microorganismo in vivo (1,2,3,14,15).

Algunos trabajos indican que aproximadamente el 75% de las cepas de E.coli septicémicas producen colicina V por lo que la determinación de esta bacteriocina puede utilizarse como un parámetro de identificación de cepas de E.coli septicémicas (2,3,14,15).

Otra forma de identificar la patogenicidad de E.coli, puede ser mediante la inoculación por vía endovenosa o intraperitoneal de cepas sospechosas en aves de 3 semanas de edad (2,3,).

En México la colisepticemia sigue siendo a la fecha un problema que ocupa los primeros lugares, como se puede observar por el reporte del laboratorio de patología aviar de la UNAM (cuadro 1) de casos diagnosticados de

colibacilosis septicémica (C.S.) y enfermedad respiratoria crónica complicada (E.R.C.C.) , (7).

A nivel de campo el problema de enfermedad respiratoria crónica puede producir una mortalidad de 5-10% arriba del estándar en términos generales la colisepticemia puede llegar hasta 70% por lo que se calcula que puede haber costado a la industria del pollo de engorda aproximadamente 2,797 millones de pesos en el año de 1984 (7).

Por lo anterior surge la necesidad de conocer la incidencia de cepas de E.coli septicémicas mediante técnicas que permitan establecer la patogenicidad de las cepas, por lo que el objetivo del presente trabajo fué la realización de pruebas de colicinogenia (identificación del plásmido Col-V en aislamientos de E. coli a partir de aves enfermas y aves sanas, confirmando ésto por inoculación de las mismas cepas en pollos de 3 semanas de edad.

MATERIAL Y METODOS

A.- SITIO: El trabajo se realizó en el Laboratorio de Diagnósticos Clínicos Veterinarios, S.A. de C.V.

B.- AVES: Se usaron 2 aves de 3 semanas de edad Leghorn Babcock B-300 por cada cepa aislada.

C.- CEPAS: Se aislaron 117 cepas de E. coli a partir de órganos de pollos de engorda con lesiones sugestivas de colisepticemia, así como 50 cepas de E.coli intestinal de pollos sanos, todas fueron identificadas mediante pruebas bioquímicas (4), además se utilizó una cepa de E.coli K12: 711 lactosa negativa sensible a colicina V, una cepa de E.coli colicina positiva y otra colicina negativa que sirvieron como controles.

D.- MEDIOS: Se utilizó Agar LTC (lactosa-triptosa-calcio) en caja, semisólido en tubo y caldo nutritivo.

Todas las cepas aisladas e identificadas fueron sometidas a la prueba de colicinogenia que a continuación se describe.

1.- Las cepas aisladas fueron sembradas por punto en una caja de agar LTC, la cual fue incubada a 37°C durante 18 - 24 horas.

2.- Al mismo tiempo fue sembrada en caldo nutritivo la cepa de E.coli K12: 711, sensible a la colicina V también fue incubada a 37°C durante 18 - 24 horas.

3.- Una vez desarrolladas las colonias, la caja de LTC sembrada por punto fue sometida a vapores de cloroformo durante 15 minutos, con el fin de inactivar a las colonias desarrolladas.

4.- Del cultivo de E. coli K12 : 711, se obtuvieron 200 μ l y se resuspendieron en 10ml del medio semisólido LTC a una temperatura de 40°C.

5.- Una vez homogeneizado el cultivo en el medio semisólido, se vació en la caja de agar LTC con las colonias previamente inactivadas. Cuando el medio semisólido solidificó, la caja fue incubada a 37°C durante 24 horas.

La prueba positiva se determinó por la ausencia de crecimiento de E.coli K12:711 alrededor de la cepa sospechosa, lo cual se manifiesta por un halo.

Es importante hacer notar que junto con las colonias sospechosas se sembró un control positivo (colicina + y un control negativo (colicina -). Así mismo las cepas sospechosas fueron inoculadas por vía engovenosa o intraperitoneal en pollos de 3 semanas de edad. Lo anterior se realizó sembrando las cepas aisladas en caldo nutritivo e incubando durante 18 horas a 37°C, del cultivo se inculó 1 ml (1×10^6 E.F.C.) a 2 pollos por cepa. En este caso también se utilizaron controles positivo y negativo. los pollos fueron observados hasta por 72 horas.

RESULTADOS

De los 117 aislamientos de E.coli se obtuvieron un total de 58 cepas colicina positiva, lo que corresponde al 49.6%, de éstas el 79% produjo la muerte de las aves inoculadas dentro de las 48 horas pos-inoculación.

Las cepas que resultaron colicina negativa también fueron inoculadas y sólo el 30% produjo la muerte de las aves en un período de 48 horas.

Y de las cepas de E.coli aisladas de aves sanas sólo el 2% fue colicina positiva y no mataron a las aves inoculadas. (cuadro 2).

DISCUSION

Los resultados obtenidos coinciden parcialmente con los descritos por otros autores, quienes han encontrado un porcentaje mayor (75%) de cepas colicina positiva asociadas a colisepticemia que el obtenido en este trabajo (49.6%)

El porcentaje de cepas colicina positiva que producen la muerte de los pollos coinciden con lo descrito por otros autores (2,3).

Sin embargo el porcentaje de cepas colicina negativa aisladas de aves enfermas que produjeron la muerte de las aves inoculadas resultó mayor que el que se ha descrito en diferentes trabajos (2,3).

CONCLUSIONES

De acuerdo con lo anterior se concluye que la prueba de colicinogenia puede ser de utilidad para el diagnóstico de cepas de E.coli septicémicas, siempre y cuando ésta se asocie a inoculación de pollos de 3 semanas de edad.

LITERATURA CITADA.

- 1.- Adler, H.: Escherichia coli. infection of turkeys and chickens. Proc. of 28th. Western Poultry Health Symposium Davis California (1985).
- 2.- Almanza, Y, López, J. y Peres, A.: Papel del plásmido Col-V en la patogenicidad de la colisepticemia aviar: I. Estudios in vivo. Proc. Memorias Reunión de investigación pecuaria en México. México, D.F. (1986).
- 3.- Almanza, Y. López, J. y Peres, A.: Papel del plásmido Col-V en la patogenicidad de la colisepticemia aviar: II. Participación del plásmido Col-V en la interacción de E. coli con macrófagos peritoneales de pollo. Proc. Memorias Reunión de investigación pecuaria en México. México, D.F. (1986).
- 4.- Edwards, P. and Eving, V. Identification of enterobacteriaceae. 3a. ed. Burgess Publishing., (1972).
- 5.- Hitchner, S. and Domermuth, C.: Isolation and identification of avian pathogens. American association of avian pathologists. Texas., (1980).
- 6.- Hofstad, M.S. and Barnes, J.: Disease of Poultry 8a. ed. Iowa state University Press ., (1984).
- 7.- Mosqueda, T., A. Análisis y perspectivas de la patología aviar en México. Memorias de III Symposium sobre ganadería tropical. 1er. ciclo de conferencias sobre cerdos y aves. Veracruz, Ver. (1984).
- 8.- Mosqueda, A. y Lucio, B.: Enfermedades comunes de las aves domésticas. Departamento de producción animal aves.

México, D.F. (1985).

- 9.- Naveh, M. and Ron, E.: Vaccination against colisepticemia in chickens. Proc. of the 34th Western Poultry Disease Conference and 13th Poultry Health Symposium. Davis California. (1979).
- 10.-Naveh, M. and Ron, E.: Effect of adherence pili on invasiveness of avian strains of Escherichia coli. Proc. of the 33th Western Poultry Disease Conference. Davis California. (1984).
- 11.-Naveh, M. and Ron, E.: Studies of O78 colisepticemia in Chickens. Proc. of the 34th Western Poultry Disease Conference. Davis California., (1985).
- 12.-Schwartz, T. and Jayappa, H.: Laboratory testing of new killed E. coli vaccine for chickens and turkeys. Proc. of the 34th Western Poultry Disease Conference. Davis California, (1985).
- 13.- Witeaman, C. and Bickfor, A.: Manual de enfermedades de las aves. Asociación Americana de Patólogos Aviarios. Pennsylvania., (1983).
- 14.-Williams, H.: A search for transmissible pathogenic characters in invasive strains of Escherichia coli. Discovery of a plasmid controlled toxin and plasmid controlled lethal character closely associated or identical with colicine V. J. Med. Mic. 83:95-111 (1974).
- 15.-Williams, H. and Huggins M.: Further observations on the association of the colicine V of Escherichia coli with pathogenicity and with survival in the alimentary tract. J. General Mic. 92:335-350. (1976).

- 16.- Zurita, D.: Relación entre el aislamiento de Escherichia coli y enfermedad. Proc. Memorias del LX Congreso Latinoamericano de Avicultura, XXIV Congreso Nacional de Avicultura, X Convención Nacional de Especialistas en Ciencias Avícolas. Acapulco Gro. (1985).

Cuadro 1

Reporte de casos diagnosticados de colibacilosis septicémica (C.S.) y Enfermedad Respiratoria Crónica (E.R.C.) por el laboratorio de patología aviar UNAM.

AÑO		PORCENTAJE	NO. DE CASOS
1981	Colibacilosis	27.5	648
	ERC	3.9	92
1982	ERC	16.1	381
1983	Colibacilosis	18.6	590
	ERC	9.5	302

CUADRO 2

Frecuencia de cepas de E.coli colicinogénicas que produjeron la muerte en pollos de 3 semanas de edad

Cepas de <u>E.coli</u>	%	% de muerte.
Colicina (+)	49.6%	79.0%
COLICINA (-)	50.4%	30.0%