



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Medicina Veterinaria

Escuela Profesional de Medicina Veterinaria

**Evaluación de la presencia/ausencia de los genes *stx2e*
y *f18* en *Escherichia coli* aislados de cerdos sin diarrea**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinaria

AUTOR

Alejandra Johanna FLORES MACEDO

ASESOR

Mg. Sonia Yenny CALLE ESPINOZA

Lima, Perú

2023



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Flores A. Evaluación de la presencia/ausencia de los genes stx2e y f18 en *Escherichia coli* aislados de cerdos sin diarrea [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, Escuela Profesional de Medicina Veterinaria; 2023.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Alejandra Johanna Flores Macedo
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	75922060
URL de ORCID	No aplica
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Sonia Yenny Calle Espinoza
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	10321145
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0003-4955-2378
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Abelardo Lenin Maturrano Hernández
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	15725076
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Siever Miguel Morales Cauti
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	10685645
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Virginia Rivadeneira
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	48367432

Datos de investigación	
Línea de investigación	B.4.1.5. Microbiología y Parasitología Veterinaria
Grupo de investigación	Microbiología Aplicada a la Salud Pública, Animal y de Impacto Ambiental.
Agencia de financiamiento	Perú. Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica (CONCYTEC). FONDECYT (PROCIENCIA). N° 413-2019-FONDECYT
Ubicación geográfica de la investigación	Lugar: Laboratorio de Microbiología y Parasitología Veterinaria, sección Bacteriología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: San Borja Latitud: -12.080917 Longitud: -76.987626
Año o rango de años en que se realizó la investigación	2022 - 2023
URL de disciplinas OCDE	Biología celular, Microbiología: https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#1.06.01 Ciencia veterinaria https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#4.03.01



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIA

En el Auditorio Principal de la Facultad de Medicina Veterinaria, el día **martes 17 de octubre de 2023**, a las **11:00** horas, se constituyó el Jurado Examinador designado mediante Resolución Directoral N° **0147-EPMV/FMV-2023**, integrado por los siguientes profesores:

Blgo. Dr. Maturrano Hernández Abelardo Lenin	Presidente del Jurado
Blga. Mg. Calle Espinoza Sonia Yenny	Asesora de la Tesis
MV. Mg. Morales Cauti Siever Miguel	Miembro del Jurado
MV. Mg. Rivadeneira Virginia	Miembro del Jurado

Luego de la instalación del Jurado, a cargo del Presidente del Jurado y bajo la dirección del mismo, la Bachiller Doña: **FLORES MACEDO ALEJANDRA JOHANA**, para optar el Título Profesional de Médico Veterinaria, procedió a sustentar públicamente la Tesis:

**“EVALUACIÓN DE LA PRESENCIA/AUSENCIA DE LOS GENES stx2e y f18 EN
Escherichia coli AISLADOS DE CERDOS SIN DIARREA”**

Luego de absolver las preguntas del Jurado y del público asistente, el Jurado deliberó con la abstención reglamentaria de la Asesor de la Tesis y acordó su **APROBACIÓN** por **UNANIMIDAD**, otorgándole la nota de **dieciséis (16)**.

Habiéndose aprobado la sustentación pública de la Tesis, el Presidente en representación del Jurado recomienda que la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria proponga la aprobación del **TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIA** a la Facultad de Medicina Veterinaria y que ésta proponga al Rectorado el otorgamiento respectivo.

Siendo las 12:00 horas, concluyó el acto académico de sustentación pública de Tesis en fe de lo cual suscriben la presente acta por cuadruplicado los integrantes del Jurado:



Firmado digitalmente por
MATURRANO HERNANDEZ
Abelardo Lenin FAU 20148092282
soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 09.11.2023 09:10:40 -05:00

.....
Maturrano Hernández Abelardo Lenin Blgo.Dr.Prof. Principal DE



Firmado digitalmente por CALLE
ESPINOZA DE CAMACHO Sonia
Yenny FAU 20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 08.11.2023 15:46:04 -05:00

.....
Calle Espinoza Sonia Yenny Blga. Mg. Prof. Principal DE



Firmado digitalmente por MORALES
CAUTI Siever Miguel FAU
20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 08.11.2023 08:29:20 -05:00

.....
Morales Cauti Siever Miguel MV. Mg. Prof. Asociado TC



Firmado digitalmente por
RIVADENEIRA Virginia FAU
20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 08.11.2023 15:04:06 -05:00

.....
Rivadeneira Virginia: MV. Mg Prof. Auxiliar DE



CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo, Sonia Yenny Calle Espinoza, en mi condición de asesora acreditada con la Resolución Decanal N° 0114-EPMV/FMV-2023 de la tesis/monografía/informe de investigación/trabajo académico, cuyo título es “Evaluación de la presencia/ausencia de los genes *stx2e* y *f18* en *Escherichia coli* aislados de cerdos sin diarrea”, presentado por la bachiller Alejandra Johanna Flores Macedo para optar el título de Médico Veterinaria. CERTIFICO que se ha cumplido con lo establecido en la Directiva de Originalidad y de Similitud de Trabajos Académicos, de Investigación y Producción Intelectual. Según la revisión, análisis y evaluación mediante el software de similitud textual, el documento evaluado cuenta con el porcentaje de 8% de similitud, nivel **PERMITIDO** para continuar con los trámites correspondientes y para su **publicación en el repositorio institucional**. Se emite el presente certificado en cumplimiento de lo establecido en las normas vigentes, como uno de los requisitos para la obtención del grado/ título/ especialidad correspondiente.



Firmado digitalmente por CALLE
ESPINOZA DE CAMACHO Sonia
Yenny FAU 20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 27.10.2023 15:13:27 -05:00

Firma del Asesor _____

DNI: 10321145

Nombres y apellidos del asesor: Sonia Yenny Calle Espinoza

Huella
digital

DEDICATORIA

A Dios, por responder a mis plegarias cuando más lo necesitaba, por reconfortarme cuando me sentía perdida, por darme la fortaleza para continuar día a día. Gracias por los dones que me regalaste y por ayudarme a usarlos sabiamente.

A mis padres, Emma y Jhon, por enseñarme a encontrarle el lado bueno a cada situación y afrontar las adversidades que se presentaron en mi camino. Gracias por su amor y apoyo incondicional, por sus consejos y enseñanzas de vida, y por siempre creer en mí. Los amo mucho.

A mi hermano, Leandro, por darme ánimo y por enseñarme tanto a su corta edad, gracias por tus palabras y por enseñarme que nunca debemos darnos por vencidos. Gracias por considerarme un buen ejemplo, intentaré ser mejor cada día. El amor es mutuo.

A mi perrita Sumy, por llenarme de alegría y por sus efusivas recibidas cuando llegaba a casa. Por levantarme de la silla para jugar y despejar un poco la mente, y por acompañarme en las desveladas avanzando este trabajo, puro amor perruno.

AGRADECIMIENTOS

A mi asesora Sonia Calle, quien me brindó su total confianza y apoyo desde el inicio y durante todo el desarrollo de mi tesis. Gracias por su tiempo y orientación. Agradezco el haber tenido la oportunidad de trabajar mi tesis bajo su cuidado.

A los docentes miembros del Laboratorio de Microbiología y Parasitología, sección de Bacteriología y Micología, de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos: Luis Alvarez, Joel Palomino y Juan Siuce. Gracias por su guiado, paciencia y comprensión. Estaré eternamente agradecida por cada una de sus enseñanzas y consejos, tanto para el desarrollo del estudio como para la vida.

Al Jurado Examinador: Virginia Rivadeneira, Siever Morales y Lenin Maturrano. Gracias por sus apreciaciones en pro de la mejora de este manuscrito y tomarse el tiempo de solventar mis dudas.

A mis familiares, por comprender mis tiempos y considerarme aún en mis ausencias, por desearme lo mejor y alegrarse por mis logros. A mis amistades, por los momentos juntos y por el trabajo en equipo, por enseñarme que la vida es más divertida cuando la compartes con amigos.

ÍNDICE DEL CONTENIDO

DEDICATORIA	II
AGRADECIMIENTOS	III
RESUMEN	VI
ABSTRACT	VII
LISTA DE ABREVIATURAS	VIII
LISTA DE CUADROS	IX
LISTA DE FIGURAS	X
LISTA DE ANEXOS	XI
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
2.1. <i>Escherichia coli</i>	3
2.1.1. TAXONOMÍA	3
2.1.2. MORFOLOGÍA	4
2.1.3. ESTRUCTURA	5
2.1.4. GENOMA	5
2.1.5. CLASIFICACIÓN	6
2.2. <i>Escherichia coli</i> SHIGATOXIGÉNICA (STEC)	6
2.2.1. <i>E. coli</i> PRODUCTOR DE Stx2e (Stx2e-STEC)	7
2.2.2. FIMBRIA F18	8
2.2.3. TOXINA Stx2e	9
2.2.4. DETECCIÓN DE Stx2e-STEC EN CERDOS	10
2.3. ENFERMEDAD DE LOS EDEMAS	12
2.3.1. ETIOLOGÍA	12
2.3.2. EPIDEMIOLOGÍA	13
2.3.3. FISIOPATOLOGÍA	14

2.3.4. SIGNOS CLÍNICOS	16
2.3.5. HALLAZGOS PATOLÓGICOS	17
2.3.6. DIAGNÓSTICO	17
2.3.7. TRATAMIENTO	18
2.3.8. CONTROL Y PREVENCIÓN	19
2.4. IMPACTO EN LA PORCICULTURA	20
III. MATERIALES Y MÉTODOS	22
3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN	22
3.2. DESCRIPCIÓN DEL MATERIAL EXPERIMENTAL	22
3.2.1. MATERIAL BIOLÓGICO	22
3.2.2. MATERIALES Y EQUIPOS PARA EXTRACCIÓN DE ADN	23
3.2.3. MATERIALES Y EQUIPOS PARA PCR	24
3.2.4. MATERIALES Y EQUIPOS PARA ELECTROFORESIS	25
3.3. DESCRIPCIÓN DEL DISEÑO EXPERIMENTAL	25
3.3.1. EXTRACCIÓN DE ADN	25
3.3.2. DETECCIÓN DE LOS GENES <i>stx2e</i> Y <i>fl8</i> MEDIANTE PCR	26
3.3.3. ELECTROFORESIS EN GEL DE AGAROSA	27
IV. RESULTADOS	29
V. DISCUSIÓN	32
VI. CONCLUSIÓN	35
VII. RECOMENDACIONES	36
VIII. LITERATURA CITADA	37
IX. ANEXOS	48

RESUMEN

Escherichia coli (*E. coli*) productora de la toxina Shiga 2e y que posee la fimbria F18 es el agente etiológico de la enfermedad de los edemas (EE), patología que afecta principalmente a cerdos post destete produciendo lesiones vasculares, edema y muerte. La identificación de animales portadores de los genes *stx2e* y *f18* tiene principalmente relevancia epidemiológica, sanitaria y económica. Por ello, el objetivo del presente estudio fue evaluar si aislados de *E. coli* provenientes de cerdos sin diarrea poseen o no los genes *stx2e* y *f18*. Para ello, se evaluaron 186 aislados de *E. coli* procedentes de cerdos sin diarrea. La extracción del ADN se realizó haciendo uso de un kit de purificación comercial, mientras que la detección de los genes se llevó a cabo mediante un protocolo de PCR convencional. No se detectó producto de PCR para los genes *stx2e* ni *f18* en ninguna de los aislados obtenidos de lechones aparentemente sanos (sin diarrea), pudiendo estar presente este patotipo en frecuencias menores al 1.6%, que fue la frecuencia mínima esperada en el presente estudio.

Palabras claves: *Escherichia coli*, enfermedad de los edemas, *stx2e*, *f18*, cerdos

ABSTRACT

Escherichia coli (*E. coli*), which produces Shiga 2e toxin and has the F18 fimbriae, is the etiological agent of edema disease (EE), a pathology that mainly affects post-weaning pigs, producing vascular lesions, edema and death. The identification of animals carrying the *stx2e* and *f18* genes has mainly epidemiological, health and economic relevance. Therefore, the objective of the present study was to evaluate whether *E. coli* isolates from pigs without diarrhea possess the *stx2e* and *f18* genes or not. For this, 186 *E. coli* isolates from pigs without diarrhea were evaluated. DNA extraction was carried out using a commercial purification kit, while gene detection was carried out using a conventional PCR protocol. No PCR product for the *stx2e* or *f18* genes was detected in any of the isolates obtained from apparently healthy piglets (without diarrhea), and this pathotype may be present at frequencies lower than 1.6%, which was the minimum frequency expected in the present study.

Keywords: *Escherichia coli*, edema disease, *stx2e*, *f18*, pigs

LISTA DE ABREVIATURAS

ADN: Ácido Desoxirribonucleico

DAEC: *Escherichia coli* de Adherencia Difusa

EAEC: *Escherichia coli* Enteroagregativa

EE: Enfermedad de los Edemas

EHEC: *Escherichia coli* Enterohemorrágica

EIEC: *Escherichia coli* Enteroinvasiva

EPEC: *Escherichia coli* Enteropatógena

ETA: Enfermedades Transmitidas por Alimentos

ETEC: *Escherichia coli* Enterotoxigénica

PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa

STEC: *Escherichia coli* Shigatoxigénica

Stx2e: Toxina Shiga 2e

SUH: Síndrome Urémico Hemolítico

TBE: Tris-Borato-EDTA

VTEC: *Escherichia coli* Productora de Toxina Vero

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Secuencia de *primers* para los genes *stx2e* y *f18*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema gráfico de la pared celular de una bacteria gramnegativa (Modificada de Prescott, 2002).

Figura 2. Estructura de la toxina Shiga 2e (Lillie *et al.*, 2018).

Figura 3. Modo de acción de la *E. coli* productora de toxina Shiga 2e (Lillie *et al.*, 2018).

Figura 4. Electroforesis en gel de agarosa al 1.5% de la amplificación del gen *stx2e*.

Figura 5. Electroforesis en gel de agarosa al 1.5% de la amplificación del gen *f18*.

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1. Lista de cada aislado de *E. coli* con edad del animal muestreado y lugar de procedencia.

ANEXO 2. Procedimiento para la Purificación de ADN Genómico de bacterias Gram negativas.

I. INTRODUCCIÓN

La producción porcina, tanto en el Perú como en la industria mundial, se encuentra afectada por la presencia de agentes generadores de enfermedades, los cuales producen mermas económicas para el productor debido a la alteración de los parámetros productivos, gastos en tratamientos y muerte de los animales (VanderWaal y Deen, 2018). A través de los años se han descrito varias enfermedades que afectan a los cerdos, así que con el fin de aplicar medidas que prevengan su aparición se han identificado a los agentes generadores de dichas afecciones (Figuroa, 2016).

Uno de estos agentes es *E. coli*, una bacteria que forma parte de la microbiota intestinal normal de varios animales y del ser humano (OMS, 2018). *E. coli* es, en general, considerada no patógena; sin embargo, hay un grupo de cepas que sí tienen la capacidad de causar enfermedad en el hospedero que infectan, una de esas cepas patógenas es la variante de *E. coli* shigatoxigénica que produce la toxina Shiga 2e (Stx2e-STEC), la cual se caracteriza por producir edema y signos de disfunción neurológica con ocurrencia de muerte súbita en lechones recientemente destetados (Moredo, 2012; Figuroa, 2016).

Las cepas de *E. coli* productoras de la toxina Shiga 2e y de la adhesina F18 son causantes de la denominada enfermedad de los edemas, patología de distribución mundial que afecta a los cerdos, teniendo un impacto económico negativo sobre la industria porcina debido a la presentación de signos clínicos y muerte de los lechones enfermos (Moredo, 2012; Fairbrother, 2023). Para el control de la enfermedad se suelen emplear

antibióticos; sin embargo, el uso inadecuado de los mismos contribuye a generar resistencia antimicrobiana, problema que afecta gravemente a la salud pública por la aparición de cepas resistentes a los antibióticos de uso común (Arrunátegui, 2016).

Se conocen estudios realizados en otros países donde detectaron la presencia de los genes *stx2e* y *f18* en casos clínicos de colibacilosis porcina (Baldo *et al.*, 2020). Este tipo de estudios son importantes en la vigilancia epidemiológica. En algunas granjas porcinas nacionales se han identificado, pero no registrado oficialmente, casos sugerentes de la enfermedad. Asimismo, en un estudio aún no publicado, se han detectado los genes *stx2e* y *f18* a partir de muestras obtenidas de cerdos con diarrea (F. Ramos, datos no publicados). Por otro lado, ante la posibilidad de tener al porcino como portador de la EE, se han realizado estudios en busca de detectar cepas de STEC que poseen el gen *stx2e* en animales sin manifestación clínica de diarrea (Moredo, 2012). A la fecha, no existen publicaciones oficiales de brotes cuya etiología sea compatible con cepas de *E. coli* productora de toxina Shiga 2e causantes de la EE en granjas porcinas nacionales, este vacío de información dificulta la aplicación de medidas preventivas para la enfermedad a fin de mantener el estatus sanitario de las granjas porcinas y reducir las pérdidas económicas que pueda generar. En ese sentido, la presente tesis tiene por objetivo evaluar si aislados de *E. coli* provenientes de cerdos sin diarrea poseen o no los genes *stx2e* y *f18*.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. *Escherichia coli*

2.1.1. TAXONOMÍA

E. coli es una bacteria clasificada dentro del filo Proteobacteria, clase Gammaproteobacteria, orden Enterobacterales, familia Enterobacteriaceae y género *Escherichia* (InterPro, 2023). Siendo *E. coli* la especie más estudiada y representativa de dicho género, caracterizada genotípica y fenotípicamente desde su descubrimiento (Yu *et al.*, 2021).

La familia Enterobacteriaceae se compone de un amplio y variado número de bacterias gramnegativas que naturalmente habitan el intestino del ser humano, así como de animales homeotermos (Carroll y Hobden, 2016; OMS, 2018). Entre los géneros que componen esta familia están *Escherichia*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Shigella*, entre otros (Carroll y Hobden, 2016).

La especie más representativa del género *Escherichia* es *E. coli*, que se caracteriza por no formar esporas, ser anaerobio facultativo, negativo a la prueba de oxidasa y positivo a la de catalasa, mesófila con temperatura óptima de crecimiento de aproximadamente 37 °C (Arumí, 2020).

2.1.2. MORFOLOGÍA

La bacteria *E. coli* tiene forma de bacilo corto, cilíndrico y recto, mide aproximadamente 1.1-1.5 μm de ancho x 2-6 μm de largo (Moredo, 2012). Es una enterobacteria gramnegativa que presenta factores de virulencia tales como adhesinas y puede o no poseer flagelos (Rípodas, 2017). Los flagelos son estructuras anexas que confieren movilidad, siendo de tipo peritricos en el caso de *E. coli* (Basavaraju y Gunashree, 2023), lo que significa que la bacteria posee múltiples flagelos que rodean toda la superficie de su cuerpo celular (Guttenplan *et al.*, 2013).

Las adhesinas fimbriales y no fimbriales pueden presentarse tanto en las cepas móviles como en las que no tienen esta característica (Basavaraju y Gunashree, 2023), constituyendo un factor de virulencia crucial para *E. coli* por permitir su adherencia a receptores presentes en las células epiteliales como las que se encuentran en el intestino (Canal *et al.*, 1999).

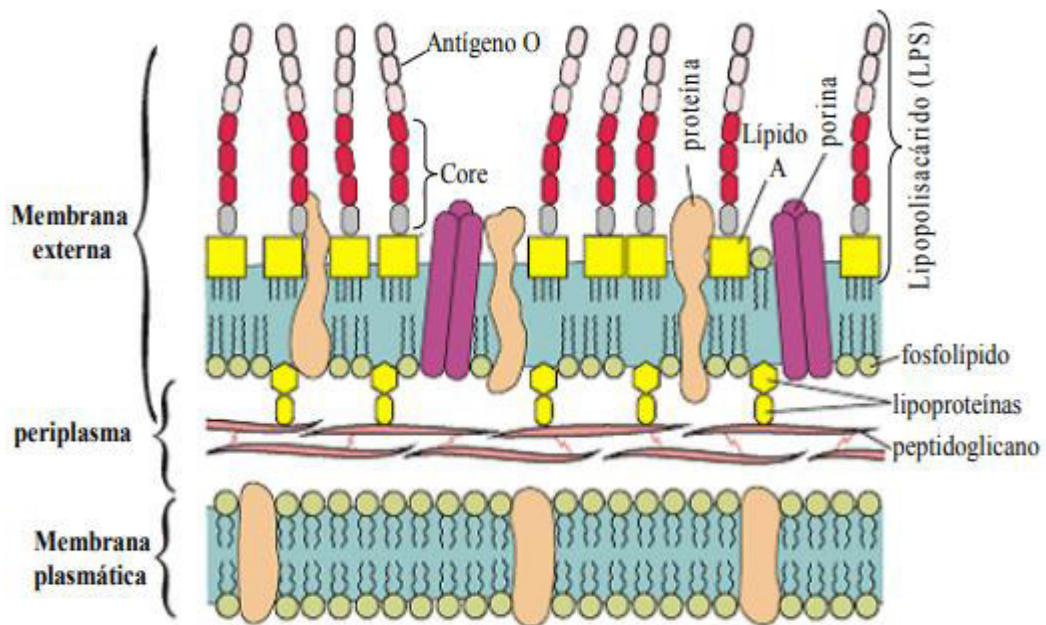
Dentro de la variedad de adhesinas fimbriales que puede presentar *E. coli* destacan F4, F5, F6, F17, F18 y F41 (Vidotto *et al.*, 2009; Siuce *et al.*, 2021). Siendo las de tipo F4 específicas para la especie porcina, mientras que las F5 son capaces de producir enfermedad en bovinos y ovinos, además de cerdos (Moredo, 2012). Respecto a F17, ha sido frecuentemente aislada de terneros (Nguyen *et al.*, 2011). Los genes que codifican para las fimbrias F6 y F41 han sido más asociados a casos de diarrea neonatal porcina, mientras que el gen que codifica para F18, a diarrea post destete y EE (Tseng *et al.*, 2014).

2.1.3. ESTRUCTURA

Al ser una bacteria gramnegativa, *E. coli* posee estructuralmente tres capas: dos bicapas lipídicas (una membrana externa y una membrana citoplasmática o interna) y el periplasma. La membrana externa presenta el lado superficial y está constituida por el

lipopolisacárido; mientras que la interna, por fosfolípidos. Por otro lado, el periplasma contiene el peptidoglicano o mureína (Prescott, 2002; Aquili, 2007) (**Figura 1**).

Figura 1. Esquema gráfico de la pared celular de una bacteria gramnegativa (Modificada de Prescott, 2002).



2.1.4. GENOMA

El genoma bacteriano es dinámico, se encuentra en constante cambio y evolución, el material genético contenido en *E. coli* no es la excepción, su genoma está compuesto por al menos 4'639,221 pares de bases, y se conoce que codifica para 4,288 proteínas (Aguillón *et al.*, 2021). Sin embargo, este tamaño difiere entre cepas e incluso variantes de las mismas, Souza *et al.* (2001) menciona una diferencia de 1,387 genes entre las cepas K12 y enterohemorrágica O157:H7 de *E. coli* a pesar de haber estado emparentadas millones de años atrás.

2.1.5. CLASIFICACIÓN

E. coli es descrita por la OMS (2018) como una enterobacteria que forma parte de la microbiota intestinal normal de humanos y animales de sangre caliente. En general, es considerada no patógena; sin embargo, existen algunas cepas que presentan factores de virulencia tales como factores de adherencia o incluso son capaces de producir toxinas,

lo que les otorgan un carácter patógeno y, de esa manera, algunos tienen la capacidad de producir cuadros clínicos de enfermedad (Moredo, 2012).

Las cepas de *E. coli* que causan patología gastrointestinal, generalmente caracterizadas por la manifestación de diarrea, se dividen en seis grupos patógenos o patotipos según su patogénesis y los signos clínicos que producen en el huésped que infectan: *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* enteropatógena (EPEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* de adherencia difusa (DAEC) y *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), esta última también es conocida como shigatoxigénica o productora de toxina Vero o toxina semejante a Shiga o Shigatoxina (VTEC o STEC) (Kaper *et al.*, 2004).

2.2. *Escherichia coli* SHIGATOXIGÉNICA (STEC)

STEC es el patotipo de *E. coli* diarreogénica más comúnmente relacionado a producir enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) y, por tanto, es de gran importancia en temas de salud pública, además, puede causar el síndrome urémico hemolítico (SUH) en humanos (Lucas *et al.*, 2016). El SUH es una enfermedad principalmente descrita en niños y se caracteriza por producir insuficiencia renal aguda, trombocitopenia y anemia hemolítica (Loza, 2015).

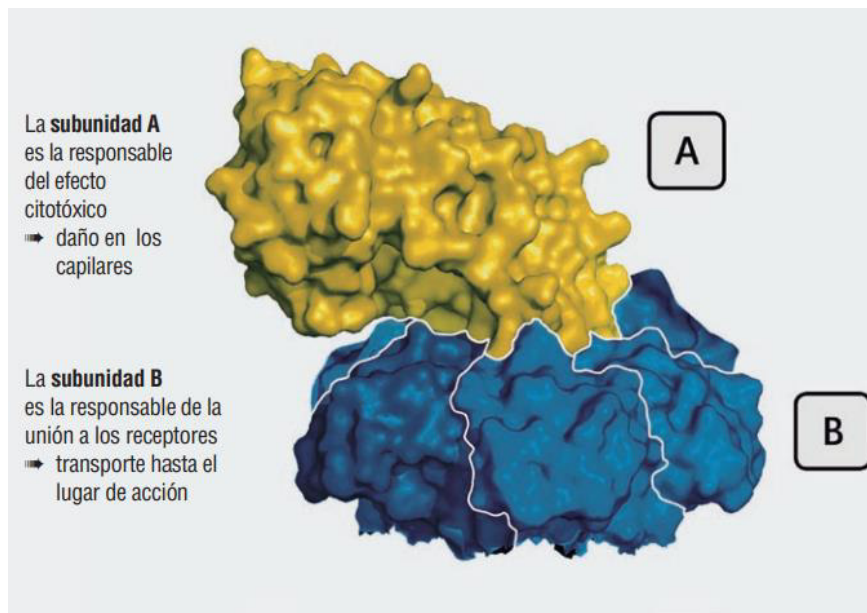
La principal vía de ingreso de STEC se da a través del consumo de alimentos contaminados con heces (Herrera *et al.*, 2019). En general, los rumiantes son el primordial reservorio de STEC, habitando principalmente el tracto gastrointestinal del ganado bovino (Gyles, 2007); sin embargo, también se han reportado la presencia de STEC en muestras de heces obtenidas de cerdos, gatos y perros sanos, aunque con menor frecuencia que lo aislado de rumiantes domésticos con la misma condición (Beutin *et al.*, 1993).

STEC tiene como principal factor de virulencia la producción de toxina Shiga o Shigatoxina (Stx), de tipo AB₅ constituida por dos principales subunidades: la subunidad pentamérica B, que se une al receptor glicolípido globotriaosilceramida (Gb₃) o al receptor glicolípido globotetraosilceramida (Gb₄), ambos presentes en las células endoteliales, y la subunidad monomérica A, capaz de inhibir la síntesis de proteínas

cuando ya se encuentra en el citoplasma (**Figura 2**) (Fuller *et al.*, 2011; Cavero y Praga, 2021).

Figura 2. Estructura de la toxina Shiga 2e (Lillie *et al.*, 2018).

La toxina Shiga se divide en dos principales grupos diferenciados inmunológicamente, Stx1 y Stx2, responsables de las complicaciones a nivel intestinal y sistémico (Hannaoui *et al.*, 2009). Stx1 presenta cuatro subtipos (Stx1a y Stx1c a Stx1e),



mientras que Stx2 agrupa nueve (Stx2a, Stx2b, Stx2c, Stx2d, Stx2e, Stx2f, Stx2g, Stx2h, Stx2i y Stx2k) (Yang *et al.*, 2021). Estudios realizados en primates demostraron que Stx2 está más asociada a producir SUH que la toxina Stx1, incluso a las mismas dosis infectivas (Siegler *et al.*, 2003).

2.2.1. *E. coli* PRODUCTOR DE Stx2e (Stx2e-STEC)

A diferencia de los subtipos de Stx1 y otras variaciones de Stx2, Stx2e es más afín al receptor Gb4 que al Gb3 debido a algunos cambios en la disposición de los aminoácidos que componen la subunidad B (Fuller *et al.*, 2011). Asimismo, la cepa de *E. coli* productora de toxina Shiga 2e es conocida como el agente etiológico de la enfermedad de los edemas (EE) y, como consecuencia de la toxina que libera (Stx2e), se caracteriza por producir lesiones vasculares, edema, trastornos neurológicos y una alta tasa de mortalidad en lechones recientemente destetados (Lo *et al.*, 2014).

Stx2e-STEC posee genes que codifican para la adhesina F18 y la toxina Stx2e (*f18* y *stx2e*, respectivamente), principales factores de virulencia e importantes en la patogénesis de la enfermedad de los edemas que afecta a cerdos (Fairbrother, 2023). Si bien *E. coli* productora de Stx2e afecta particularmente a la especie porcina, raramente se ha descrito la detección del agente en muestras obtenidas de otros animales, alimento y del medio ambiente, no siendo considerada una amenaza para la salud humana a pesar de que se ha aislado de heces de personas sanas y en casos esporádicos de diarrea leve (Friedrich *et al.*, 2002; Beutin *et al.*, 2008; Remfry *et al.*, 2021).

E. coli productor de Stx2e puede presentar otros factores de virulencia como enterotoxinas y adhesinas diferentes a Stx2e y F18, pero estas dos últimas se mantienen como los principales involucrados en la EE (Cheng *et al.*, 2005; Casey y Bosworth, 2009). Cabe resaltar que no todas las cepas de STEC positivas para la toxina Stx2e presentan el gen que codifica para la fimbria F18 (Gotter, 2014), es decir, se han aislado Stx2e-STEC negativas para F18 en casos de enfermedad de los edemas (Cheng *et al.*, 2005; Barth *et al.*, 2007; Martineau *et al.*, 2018).

2.2.2. FIMBRIA F18

En general, la fimbria F18 ha sido observada en los patotipos ETEC y STEC, asociadas a la diarrea post destete y enfermedad de los edemas, respectivamente (Nagy *et al.*, 1997). Asimismo, este factor presenta dos variantes antigénicas, F18ab y F18ac, siendo la primera mayormente detectada en aislados de STEC relacionada a la EE, mientras que la segunda variante se halla más en cepas de ETEC (Cheng *et al.*, 2005; Won y Lee, 2016).

La estructura proteica de F18 está compuesta principalmente por una subunidad mayor denominada FedA (*fedA*) y dos subunidades menores llamadas FedE (*fedE*) y FedF (*fedF*) (Smeds *et al.*, 2003), siendo estas dos últimas fundamentales para la unión de F18 a su receptor ubicado en las células epiteliales intestinales (Smeds *et al.*, 2001). Por tanto, anticuerpos anti-FedF son capaces de inhibir la adhesión de la bacteria a los enterocitos (Smeds *et al.*, 2001).

El inicio de la infección ocurre tras el ingreso de la bacteria y la unión de la misma a su receptor ubicado en las células intestinales, mediada principalmente por la fimbria

F18 (Fairbrother y Gyles, 2006), aunque también pueden estar involucrados otros factores de adhesión (Martineau *et al.*, 2018). Para F18 se ha descrito al receptor ECF18R ubicado en los enterocitos del intestino delgado (Barth *et al.*, 2011). La expresión de receptores para F18 está directamente relacionada a la edad del lechón, aumentando en número desde el nacimiento hacia aproximadamente las tres semanas de vida, manteniéndose hasta alrededor de las 23 semanas de edad (Coddens *et al.*, 2007).

2.2.3. TOXINA Stx2e

La toxina Stx2e está compuesta por una subunidad A, que es enzimáticamente activa, y cinco subunidades B, que se unen al receptor glicolípidico Gb de la superficie celular (Lo *et al.*, 2014), principalmente Gb4 (Fuller *et al.*, 2011). Tras esta adherencia, la subunidad A de la toxina es endocitada, movilizada hacia el aparato de Golgi, luego al retículo endoplasmático rugoso y finalmente inhibe la síntesis de proteínas mediante un mecanismo enzimático, lo que conlleva a muerte celular (Hannaoui *et al.*, 2009; Lo *et al.*, 2014).

Por tanto, este factor de virulencia cumple un papel fundamental en el daño que se observa en la EE, ya que lesiona las células del hospedero, entre ellas las presentes en el endotelio vascular, causando inflamación y haciendo que sean más permeables, permitiendo que se acumule líquido en el espacio intersticial, lo que se manifiesta como edema generalizado, principalmente a nivel de la frente, párpados, estómago y el cerebro (Fairbrother y Gyles, 2006).

La severidad de los signos clínicos que se manifiestan en la EE es, entre otros factores, dependiente de la dosis de la toxina Stx2e (Gannon y Gyles, 1990), así como de la presencia o ausencia de receptores para la misma (Paton, J. y Paton, A., 1998). Por tanto, la inmunización de los animales con vacunas toxoides contra la EE que contienen a la toxina Stx2e modificada genéticamente ha demostrado ser eficaz incluso en granjas con antecedentes de la enfermedad (Mesonero *et al.*, 2021; Sperling *et al.*, 2022).

2.2.4. DETECCIÓN DE Stx2e-STEC EN CERDOS

La cepa de *Escherichia coli* shigatoxigénica que posee los genes que codifican para la toxina Stx2e y la fimbria F18 es el agente causal de la EE (Berger *et al.*,

2021), patología reemergente que afecta a las granjas porcinas en diferentes países (Bertschinger, 1999; Martineau *et al.*, 2018; Mesonero *et al.*, 2021). La EE suele afectar más a aquellos lechones recientemente destetados que presentan buena condición corporal, aunque no siempre se cumple este patrón (Pittman, 2010; Martineau *et al.*, 2018).

A diferencia de otras variantes de Stx2 que están presentes en animales sin necesariamente generar signos clínicos de enfermedad en ellos (Beutin *et al.*, 1993; Gyles, 2007), Stx2e es la principal variante detectada en la especie porcina siendo capaz de causar la EE (Casanova *et al.*, 2018) que se caracteriza por la manifestación clínica de edema (Gelberg, 2017). Desde el primer reporte vinculado a la enfermedad (Shanks, 1938) se ha evidenciado esta particularidad descrita durante la necropsia (Martineau *et al.*, 2018).

Diversos autores han identificado estos genes característicos de STEC, tanto en animales con algún signo clínico sugerente de la EE, como en ejemplares aparentemente sanos (Parma *et al.*, 2000; Souza *et al.*, 2001; Cheng *et al.*, 2006; Vu-Khac *et al.*, 2007; Moredo *et al.*, 2012; Meng *et al.*, 2014; Baldo *et al.*, 2020). Siendo la prueba de PCR el método preferido para la identificación de los genes al ser una técnica rápida, altamente específica y relativamente práctica (Blanco *et al.*, 1997). Respecto a la sensibilidad, en un estudio realizado en Brasil se demostró, mediante PCR, que casi el 70% de los aislados de *E. coli* obtenidos de casos de EE resultaron tener el gen *stx2e*, y de esos, el 83% presentaban el gen que codifica para la fimbria F18ab (Souza *et al.*, 2001). Asimismo, Cheng *et al.*, en el 2006, determinaron mediante PCR que la fimbria F18ab está más frecuentemente asociada a la EE. Aunque la detección genética de los diferentes factores de virulencia involucrados en determinada enfermedad permite tener un mejor conocimiento del agente que la provoca, la serotipificación de *E. coli* también es relevante para fines epidemiológicos, ya que varía de una región a otra (Frydendahl, 2002).

Baldo *et al.* (2020), en Italia, evaluaron aislados de *E. coli* procedentes de 2,060 casos clínicos de colibacilosis en cerdos (1,337 muestras obtenidas por necropsia y 723 hisopados rectales de cerdos vivos con diarrea) y 171 porcinos sanos (29 lechones destetados y 142 en engorde), detectando al gen *stx2e* en 230/2,060 (11.16%) cerdos enfermos y 3/171 (1.75%) cerdos sanos. Además, los autores evaluaron la presencia de

genes para factores fimbriales (*f4*, *f5*, *f6*, *f18* y *f41*) en los aislados positivos para *stx2e*, siendo *f18* el gen mayormente detectado en cerdos enfermos (177/230; 76.96%). Sin embargo, no obtuvieron resultados positivos para el gen *f18* (0/3; 0%) en ninguno de los *stx2e* positivos procedentes de cerdos sanos.

Si bien los animales que evidentemente manifiestan signos clínicos de la EE son cruciales para establecer un diagnóstico, la detección de portadores también cobra relevancia a la hora de instaurar medidas preventivas y de control, ya que se sospecha que los animales aparentemente sanos que sean portadores de los genes vinculados a la EE podrían representar un riesgo para mantener un buen estatus sanitario ante un cuadro de inmunosupresión. Moredo (2012) entendió esta problemática, por lo que evaluó la presencia de genes de virulencia relacionados a STEC (*stx1*, *stx2* o *stx2e*) en aislados de cerdos sin manifestación clínica de diarrea, obteniendo la amplificación de al menos uno de dichos genes en 82/986 (8.3%) aislados. De ellos, detectó el gen *stx2e* en casi el 7% (69/986) de los cerdos. Los animales evaluados fueron categorizados por edades en tres grupos (21 ± 3 días de edad, 86 ± 3 días de edad y 165 ± 3 días de edad), donde se detectó al gen *stx2e* sólo en los dos grupos de mayor edad (69/986; 7%), pero no en los lechones de 21 ± 3 días de vida.

Parma *et al.* (2000), anteriormente en el mismo país, evaluaron por primera vez la presencia de *stx2e* en animales sanos y con diarrea en Argentina. Sin embargo, no obtuvieron amplificación del gen que codifica para la toxina Stx2e en aislados de *E. coli* de lechones sin diarrea (0/19; 0%) ni de sus madres (0/20; 0%). Respecto a los otros animales, detectaron el gen *stx2e* en 3/127 (2.4%) lechones con diarrea, 3/48 (6.3%) lechones sin diarrea, pero con retraso en el crecimiento y en un lechón que falleció súbitamente presentando signos clínicos asociados a la EE.

Cabe resaltar que es más probable hallar genes relacionados a la EE en animales que manifiestan signos clínicos que en aquellos aparentemente sanos (Vu-Khac *et al.*, 2007; Baldo *et al.*, 2020). Vu-Khac *et al.* (2007), en Eslovaquia, analizaron 220 aislados de *E. coli* provenientes de lechones con diarrea y 30 aislados recuperados de cerdos sanos, todos los animales muestreados tenían menos de 14 días de vida. Los autores encontraron una prevalencia de 4% (9/220) para el gen *stx2e*, mientras que para el gen *f18* fue de 9%

(20/220), ambos en cerdos con diarrea. Pero no hallaron ni *stx2e* ni *f18* (0%) en cerdos sanos.

Asimismo, los resultados en la detección de los genes de STEC no sólo puede variar por país o por la condición del animal, sino también por el método de detección y por cómo fue obtenida la muestra (Meng *et al.*, 2014).

2.3. ENFERMEDAD DE LOS EDEMAS

2.3.1. ETIOLOGÍA

La enfermedad de los edemas (EE) es una patología que se caracteriza por la presentación de vasculitis y, consecuentemente, edema en diferentes zonas del cuerpo, principalmente a nivel de la submucosa gástrica, mesocolon y rostro (Fairbrother, 2023). Esta enfermedad afecta a los porcinos y puede desencadenar alteraciones neurológicas como falta de coordinación, pérdida de equilibrio, debilidad, temblores y convulsiones (Gelberg, 2017).

El agente etiológico de la EE es un tipo de cepa de *E. coli* que produce la toxina Shiga 2e, esta variante además expresa adhesinas fimbriales, principalmente la fimbria F18, la cual presenta dos variantes antigénicas, F18ab y F18ac (Fairbrother, 2023). A este patógeno se le denomina *E. coli* shigatoxigénica por producir una toxina similar estructural y funcionalmente a la toxina de *Shigella dysenteriae* tipo I (O'Brien *et al.*, 1992), incluso se le ha nombrado *E. coli* enterohemorrágica y *E. coli* verotoxigénica, esto último porque sus toxinas tienen un efecto citotóxico sobre las células Vero (Farfán *et al.*, 2016).

Las adhesinas fimbriales son factores de virulencia importantes para la colonización de *Escherichia coli* shigatoxigénica sobre las células intestinales, siendo la fimbria codificada por el gen *f18* la principalmente asociada a Stx2e-STECS relacionada a la enfermedad de los edemas (Nagy y Fekete, 1999; Cheng *et al.*, 2005; Fairbrother, 2023). Por otro lado, la toxina Stx2e es uno de los principales factores que interviene en la patogenia de la enfermedad de los edemas, siendo responsable de las lesiones vasculares que se manifiestan clínicamente como edema, pudiendo desencadenar alteraciones neurológicas y muerte de los animales afectados (Lo *et al.*, 2014).

2.3.2. EPIDEMIOLOGÍA

El primer reporte relacionado a la EE fue registrado por Shanks (1938) en Irlanda, el autor describió el hallazgo como una "afección inusual que afecta los órganos digestivos del cerdo". Desde los años cincuenta, autores en diversos estudios buscaron el agente causante de esta patología en cerdos (Timoney, 1950, 1957; Erskine *et al.*, 1957; Smith y Halls, 1968).

Los principales factores de virulencia asociados a la EE son la fimbria F18 y la toxina Stx2e, sin embargo, otras adhesinas y enterotoxinas podrían estar presentes en *E. coli* asociada a dicha enfermedad (Casey y Bosworth, 2009). De las dos variantes antigénicas que presenta F18, F18ab es la mayormente asociada y detectada en aislados de STEC relacionada a la enfermedad de los edemas (Cheng *et al.*, 2005).

Respecto a la morbilidad, esta es relativamente baja, mientras que la mortalidad puede ser variable y alta, pudiendo llegar a causar la muerte de más del 90% del rebaño en menos de dos semanas de iniciado el brote (Moxley, 2000). Los cerdos con mejor condición corporal suelen ser los más afectados, falleciendo generalmente todos los animales infectados (Gelberg, 2017).

Existen diferentes factores de riesgo para que se desarrolle la EE en cerdos, uno de ellos es la edad, pues la expresión de receptores para las adhesinas fimbriales aumenta considerablemente a partir de las dos a tres semanas de edad, haciendo que los lechones sean más susceptibles para el desarrollo de la patología (Fairbrother, 2023). Antes de ello, la expresión de receptores en las células intestinales para la adhesina fimbrial F18 es nula (Moxley, 2000) o baja durante ese periodo (Coddens *et al.*, 2007). Sin embargo, raramente se presentan casos en lechones aún no destetados y menores de 21 días, así como en animales que están ingresando a engorde, considerándose casos esporádicos (Martineau *et al.*, 2018).

Otros factores asociados a la etapa posterior al destete e involucrados en el desarrollo de la EE son el estrés por cambios ambientales, nutricionales o dietarios, jerárquicos, entre otros (Moredo *et al.*, 2012). Smith y Halls (1968) demostraron mayor susceptibilidad en los cerdos de rápido crecimiento. En adición a ello, los casos mayormente se registran en sistemas de crianza intensiva (ISU, 2023), donde el cerdo es

rápidamente destetado y engordado para estar listo para venta en el menor tiempo posible (Chávez, 2009).

Esta enfermedad es de distribución mundial (Bertschinger, 1999), sin embargo, los escasos reportes de la misma dificultan las acciones preventivas. Diversos autores (Boerlin *et al.*, 2005; Moredo, 2012, Baldo *et al.*, 2020) entendieron esta problemática, por lo que se enfocaron en detectar los genes asociados a la EE, tanto en cerdos con manifestación clínica de diarrea como animales clínicamente sanos. Moredo (2012), además de buscar llenar este vacío de información tras la búsqueda de genes asociados a STEC en cerdos sin diarrea, planteó la hipótesis de que el cerdo aparentemente sano podría ser un potencial reservorio de este patógeno. Un estudio similar se llevó a cabo en animales de compañía, caninos y felinos, con el objetivo de precisar si serían reservorios de STEC asociado a SUH en humanos, sin obtener resultados positivos (Zotta *et al.*, 2015), a pesar que en otro trabajo realizado anteriormente en el mismo país sí detectaron la presencia de STEC en dichas especies (Gallego *et al.*, 2006).

En el Perú no existen reportes oficiales de la enfermedad, pero se conocen, por comunicaciones personales de médicos veterinarios y porcicultores durante conferencias realizadas a nivel nacional (2021), casos presuntivos de la EE orientados por la manifestación de signos clínicos, siendo algunas sospechas confirmadas mediante necropsia y pruebas de laboratorio (C. Camacho, Lima, comunicación personal). Asimismo, en un trabajo de investigación en curso que se viene realizando en Lima, Perú, se detectó la presencia de los genes *stx2e* y *f18* en aislados de *E. coli* provenientes de cerdos con manifestación clínica de diarrea (F. Ramos, datos no publicados). Asimismo, en una revista técnica publicaron una prevalencia del 14% para el gen *stx2e* en Perú (Barba y Melendez, 2021). Todo ello sugiere que es posible detectar genéticamente al agente en nuestro medio.

2.3.3. FISIOPATOLOGÍA

La infección por Stx2e-STEC inicia con el ingreso y unión de la bacteria, mediada por adhesinas, principalmente F18, a los receptores expresados en las células epiteliales intestinales (Moxley, 2000). A ese nivel, el agente prolifera y libera en gran cantidad un tipo de toxina denominada Stx2e (Fairbrother, 2023), la cual es absorbida por los enterocitos y liberada al torrente sanguíneo (Zhitnitskiy, 2021), donde se une

principalmente al receptor Gb4 presente en varias células (endoteliales, epiteliales e incluso en la superficie celular de los eritrocitos) causando daño al endotelio vascular (Lo *et al.*, 2014; Martineau *et al.*, 2018).

Como se muestra en la **Figura 3**, Stx2e es liberada por la bacteria y se absorbe en intestino hacia la circulación sanguínea, donde provoca angiopatía degenerativa, aumento de la permeabilidad capilar, consecuentemente edema a nivel gástrico, mesentérico, subcutáneo y encefálico, es decir, genera daño en diferentes órganos a nivel sistémico, pudiendo observarse desórdenes neurológicos en los animales afectados (Moredo *et al.*, 2012; Lillie *et al.*, 2018).

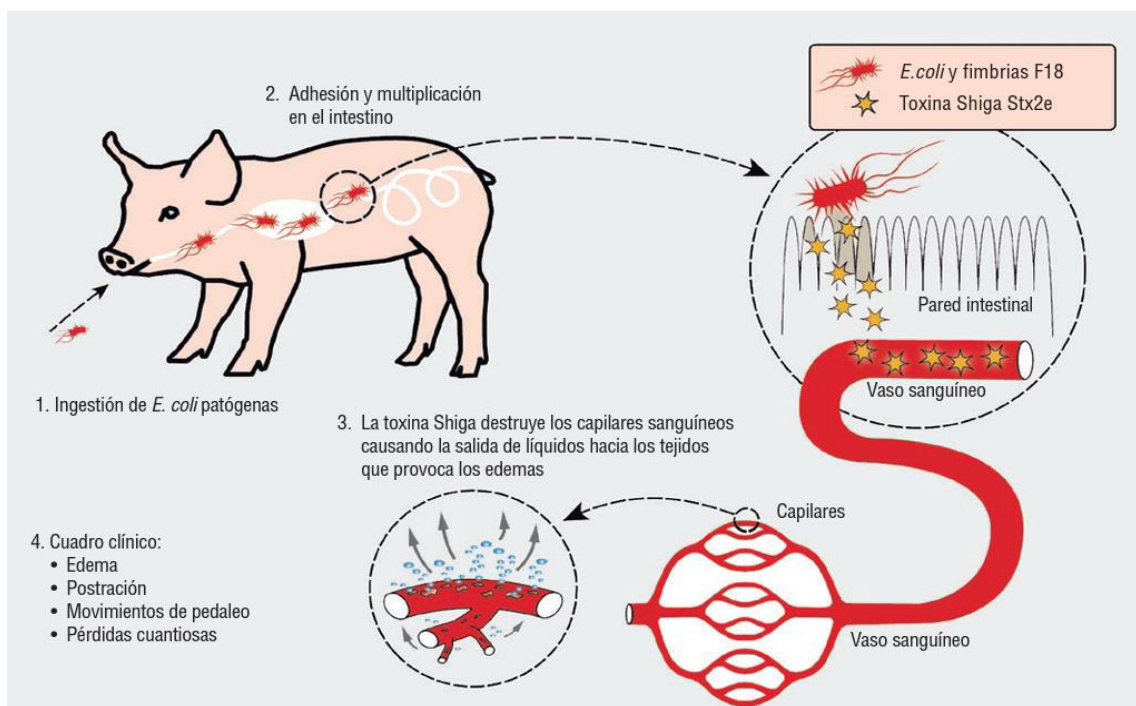


Figura 3. Modo de acción de la *E. coli* productora de toxina Shiga 2e (Lillie *et al.*, 2018)

Junto a otros factores de virulencia menos descritos en la literatura, altas dosis de la toxina Stx2e pueden causar gastroenteritis hemorrágica aguda e incluso muerte súbita en lechones afectados (ISU, 2023). La dosis infectiva de Stx2e-STEC es de 10^9 bacterias, siendo el grado de colonización determinante para producir la EE (Fairbrother y Gyles, 2006).

Los cerdos pueden entrar en contacto con el agente tras exponerse a un ambiente contaminado, o mediante la vía oro-fecal, pero la probabilidad que desarrollen infección

si son lechones menores de 20 días de edad es baja, por la no expresión de receptores para la fimbria F18 (Zhitnitskiy, 2021), salvo en raras excepciones (Martineau *et al.*, 2018).

2.3.4. SIGNOS CLÍNICOS

La severidad de los signos clínicos que se manifiestan en la EE están directamente relacionados a los niveles de toxina Stx2e en sangre (Barba y Melendez, 2021).

La enfermedad de los edemas puede presentarse de forma subclínica, clínica y crónica. En la EE subclínica, los cerdos son clínicamente normales pero internamente desarrollan lesiones vasculares, con consecuentes alteraciones de los parámetros productivos como disminución de la tasa de crecimiento (Fairbrother, 2023).

La manifestación clínica de la enfermedad involucra encontrar edema subcutáneo localizado en diferentes zonas del cuerpo, siendo más frecuente visualizarlo a nivel de los párpados, en el área frontal y nasal, y en las áreas ventroabdominal e inguinal (Moxley, 2000). Los animales afectados pueden convulsionar debido al edema cerebral, siendo pocos los cerdos que sobreviven a la fase aguda, y los que lo hacen muestran retraso en el crecimiento (Quyén, 2023).

Otros signos clínicos incluyen anorexia, ataxia, estupor y posición decúbito lateral, a menudo acompañados de movimientos de las extremidades similares a “remar y correr”, mientras que la diarrea no suele ser un signo característico de la EE (ISU, 2023). Sin embargo, los casos sobreagudos se caracterizan por presentar diarrea terminal o muerte súbita (Moxley, 2000).

La forma crónica se distingue por falta de crecimiento y signos de movimientos circulares, así como torsión de la cabeza y atrofia de los músculos de las extremidades. La EE puede ser esporádica o puede afectar a todo el rebaño, pudiendo causar muerte en menos de 24 horas y sin aparentes signos de la enfermedad, o, por el contrario, generar edema visible de la cara con malestar generalizado y comprometer el sistema nervioso central (ataxia, parálisis, decúbito lateral, entre otros) (Fairbrother, 2023).

2.3.5. HALLAZGOS PATOLÓGICOS

2.3.5.1. Macroscópicas

Aunque la EE afecta principalmente la vasculatura, los hallazgos en la necropsia pueden variar, siendo lesiones sugestivas de la enfermedad la congestión visceral, edema del tejido subcutáneo de la cara o los párpados, submucosa gástrica o mesenterio del colon espiral, y cerebro (ISU, 2023). Adicionalmente, el edema puede acompañarse de hemorragia, y pueden encontrarse hebras de fibrina en la cavidad peritoneal, así como líquido seroso en las cavidades pleural y peritoneal (Fairbrother, 2023).

2.3.5.2. Microscópicas

Se pueden encontrar cambios degenerativos microscópicos en pequeñas arterias y arteriolas de diferentes zonas, cambios que a veces son evidentes en los vasos que irrigan el cerebro. El estudio histopatológico de secciones del tronco encefálico y ganglios basales con signos de hemorragia y malacia, resultado del daño vascular que lleva a edema e isquemia, pueden contribuir a confirmar la sospecha de EE (ISU, 2023).

2.3.6. DIAGNÓSTICO

Una historia clínica de muerte repentina de cerdos recientemente destetados, sumado a la observación de signos clínicos anteriormente descritos, como edema periocular, y hallazgos en la necropsia como edema extenso a nivel del estómago y el mesocolon, dan indicios que el diagnóstico es la enfermedad de los edemas (Fairbrother, 2023).

Debido a que en la EE también se puede manifestar signología neurológica, esta debe tener como diagnósticos diferenciales a patologías como la Enfermedad de Aujeszky (pseudorrabia), privación de agua o intoxicación por sal. Asimismo, debe diferenciarse de otras causas de septicemia y meningoencefalitis originadas por *Streptococcus suis*, *Salmonella choleraesuis*, *Erysipelothrix rhusiopathiae* o *Haemophilus parasuis* (ISU, 2023).

Para un diagnóstico definitivo de la enfermedad de los edemas es necesario el aislamiento de *E. coli*, seguido de la detección genética del agente causal (Gotter, 2018).

La amplificación por Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) de los genes que codifican para la fimbria F18 y para la toxina Stx2e se puede utilizar para demostrar que la *E. coli* aislada es una cepa causante de la EE (Moxley, 2000; Fairbrother, 2023). Si bien F18 es el principal factor de adhesión involucrado en la enfermedad de los edemas (Martineau *et al.*, 2018), es posible la identificación de adhesinas más relacionadas a otros patotipos de *E. coli* (Casey y Bosworth, 2009; Siuce *et al.*, 2021). Asimismo, el diagnóstico de la EE puede darse con la única identificación del gen que codifica para Stx2e, pues existen cepas que producen la toxina, pero son negativas para el factor fimbrial F18 (Cheng *et al.*, 2005; Barth *et al.*, 2007; Martineau *et al.*, 2018).

La PCR es una técnica molecular que permite detectar una amplia variedad de agentes etiológicos, así como sus factores de virulencia y resistencia, en un periodo de tiempo menor al de otras técnicas de diagnóstico convencionales (Blanco *et al.*, 1997; Méndez y Pérez, 2004). Aunque es una prueba aparentemente simple, requiere de un proceso de estandarización y optimización para obtener resultados más fiables (Bolívar *et al.*, 2014), evitando así la aparición de productos inespecíficos al momento de visualizar e interpretar las bandas formadas en el gel de agarosa (Escalante, 2021). Estas inespecificidades pueden estar asociadas a los componentes de la mezcla de reacción, el régimen de ciclaje o a la *Taq* ADN polimerasa (Bolívar *et al.*, 2014).

Las muestras biológicas usadas para la técnica molecular PCR suelen proceder de hisopados rectales individuales, muestras fecales frescas (recogidas del piso), hisopado de botas o incluso de saliva impregnada en cuerdas masticables (Berger y Marcus, 2020). La materia fecal puede contener componentes como polisacáridos complejos o sales biliares que resultan ser inhibidores de la PCR (Fratamico *et al.*, 2000); sin embargo, durante la extracción del ADN y realización del PCR se prevén dichos factores (Baldo *et al.*, 2020).

2.3.7. TRATAMIENTO

No existe un tratamiento único y cien por ciento efectivo para combatir la enfermedad, diferentes autores mencionan el uso de antibióticos a elección tras un antibiograma. En todo caso, es posible la administración parenteral (intramuscular) del fármaco en cerdos con signología, y la administración del medicamento a través del agua de bebida en los demás animales, pues podrían estar afectados de forma subaguda

(Zhitnitskiy, 2021; Moxley, 2000; Fairbrother, 2023). Sin embargo, es contraproducente el uso de antibióticos durante la etapa aguda de la EE, ya que se liberan las toxinas en gran cantidad tras la destrucción de la bacteria, empeorando la presentación clínica (Lillie *et al.*, 2018). Cabe resaltar que el uso indiscriminado de antibióticos puede generar resistencia a los antimicrobianos en cepas de STEC (Moxley, 2000; Fratamico *et al.*, 2008).

2.3.8. CONTROL Y PREVENCIÓN

El control de la enfermedad de los edemas también es difícil. Algunas estrategias involucran el manejo de la dieta aumentando los niveles de fibra y disminuyendo los de proteínas, así como reducir la cantidad de alimento que se les da a los lechones destetados, todo ello contribuirá a aumentar el pH del medio intestinal y dejar de favorecer el crecimiento de *E. coli*. En la etapa temprana de la enfermedad también se debe compensar la deshidratación con la administración de fluidos (ISU, 2023; Fairbrother, 2023). Se ha reportado el uso de óxido de zinc (ZnO) en la dieta, pues el ZnO inhibe la actividad citotóxica de la toxina (Barba y Melendez, 2021), de esa manera, suele emplearse de manera preventiva y para el control de la diarrea post destete, pero su uso está restringido, al menos en países de la Unión Europea, por su impacto ambiental negativo (Ekhlal *et al.*, 2021).

Otros puntos cruciales son la limpieza y desinfección de los corrales, minimizar el estrés de los animales con la mejora de factores como temperatura y densidad (Zhitnitskiy, 2021), inmunoprofilaxis pasiva mediante la ingestión de productos que contengan anticuerpos o activa a través de la vacunación, entre otros (ISU, 2023).

Según Fairbrother (2023), son varias las vacunas que ahora están disponibles a nivel comercial para la prevención de la EE, existiendo ciertas bacterinas de *E. coli* para la vacunación de cerdas que transmitirán inmunidad pasiva a los lechones, vacunas vivas bivalentes F4 y F18 no patógenas de *E. coli* que pueden administrarse en el agua de bebida de los animales, o vacunas inyectables que contienen al antígeno Stx2e recombinante modificado genéticamente para inmunizar lechones y así disminuir los signos clínicos y la mortalidad debido a la enfermedad de los edemas. Cabe resaltar que la vacunación es un método preventivo, pues la vacuna no actúa contra la bacteria una vez instaurada la enfermedad en el animal (Quyen, 2023).

2.4. IMPACTO EN LA PORCICULTURA

La porcicultura constituye una buena alternativa para producir carne de alta calidad por su aspecto nutritivo al poseer poca grasa saturada (35%) y bajo nivel de sodio, ser rica en minerales, vitaminas, ácido linoleico y contener 18 a 20 % de proteínas de alto valor biológico (Camacho, 2013; Barrios, 2020). Según Carrasco (2021), la producción porcina peruana alcanzó un volumen de 231,000 toneladas en el 2019, representando un aumento de 47.1% y 5% en comparación con las producciones del 2011 y 2018, respectivamente. Además, afirma que la tendencia al aumento en la producción está asociada a la mayor demanda interna de carne de cerdo. El autor también informa un aumento en el consumo de carne de cerdo per cápita a nivel nacional, alcanzando los 8.5 kg/persona/año para el 2019, 10.4% más que el 2018 y 165.6% en comparación con el año 2011. Para agosto del 2022, la actividad en el sector pecuario se vio incrementada gracias, en parte, al aumento de los volúmenes de carne de cerdo generados en la producción porcina (2.35%), siendo Lima uno de los principales departamentos donde se produce esta carne (INEI, 2022).

Según cálculos de la Asociación Peruana de Porcicultores (APP), existen 600,000 porcicultores en el Perú divididos en tres sistemas de crianza: rural o autoconsumo (20% de la producción anual), semi-intensivo (5% de la producción anual) e intensivo (75% de la producción anual). Datos de la FAO (2000) sugieren criar a los cerdos hasta alcanzar un peso aproximado entre 50 a 100 kg de peso vivo, lo cual se logra en un tiempo promedio de 6 meses; sin embargo, estos datos varían por país y según las exigencias del mercado. El lechón suele ser destetado a las 3 o 4 semanas de vida (Agroproyectos, 2017), siendo posible destetar a los lechones antes de los 21 días, sin embargo, a esa edad son más susceptibles a enfermedades si no se tiene el manejo adecuado (Germán *et al.*, 2005).

La tecnificación de la industria porcina ha permitido mejorar la calidad de la carne de cerdo; sin embargo, las producciones de tipo intensiva aún se ven grandemente afectadas por la presentación de enfermedades que repercuten negativamente en la economía del productor. Figueroa (2016) reconoce la necesidad de identificar a los agentes etiológicos de las enfermedades para dar tratamiento a los animales y aplicar medidas de prevención efectivas.

Son varios los agentes aislados de cerdos enfermos, uno de ellos es *Escherichia coli*, descrita por la OMS (2018) como una enterobacteria que forma parte de la microbiota intestinal normal de humanos y animales de sangre caliente. En general, es considerada no patógena; sin embargo algunas cepas presentan factores de virulencia que les otorgan un carácter patógeno (Moredo, 2012). Si bien las cepas de *E. coli* productora de toxina Shiga 2e no generan enfermedad en los humanos, en la industria porcina son de vital relevancia por ser causantes de la EE y generar importantes pérdidas económicas, ya que se presenta principalmente tras el destete de los lechones registrando mortalidades de aproximadamente el 90% de los cerdos infectados (Moredo, 2012; Colello *et al.*, 2016).

Actualmente son escasas las estrategias de prevención de la enfermedad y la etapa de control se complica debido a la poca efectividad del tratamiento antibiótico en lechones que presentan signos clínicos; otro problema es la resistencia antimicrobiana, debido a que se registran altos niveles de resistencia de estas cepas a diversos fármacos (Fratamico *et al.*, 2008). Moredo *et al.* (2012) reconocen la necesidad de aportar información sobre los patotipos de *E. coli* asociados a la EE, ello con la finalidad de implementar medidas preventivas en la producción porcina, por ejemplo, a través del desarrollo de vacunas que tras ser inoculadas en los cerdos generen anticuerpos contra los factores de virulencia de las cepas de *E. coli* productoras de Stx2e causantes de la EE.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN

El presente estudio se llevó a cabo en la sección de Bacteriología y Micología del Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (FMV-UNMSM).

3.2. DESCRIPCIÓN DEL MATERIAL EXPERIMENTAL

3.2.1. MATERIAL BIOLÓGICO

3.2.1.1. Muestras

Para el presente estudio de tipo descriptivo y corte transversal se emplearon 186 aislados de *E. coli* provenientes de cerdos sin diarrea, los cuales fueron obtenidos a partir de un muestreo aleatorio realizado en un estudio previo durante los meses de octubre a diciembre del año 2019 (**Anexo 1**).

El tamaño de muestra (n=186) fue determinado a partir de la fórmula para poblaciones desconocidas (Dohoo *et al.*, 2003) con un nivel de confianza del 95% (z=1.96), precisión de 0.018% y una prevalencia mínima esperada de 1.6% (Baldo *et al.*, 2020).

$$n = \frac{\ln \alpha}{\ln(1 - p)}$$

Donde:

n: tamaño de la muestra

α : error de tipo I = 1-NC (nivel de confianza)

p: prevalencia mínima esperada

La toma de muestra se realizó mediante hisopado rectal individual a lechones de 0 a 50 días de edad procedentes de 4 granjas tecnificadas de la región Lima. Las muestras fueron conservadas en medio Cary Blair y transportadas al laboratorio.

3.2.1.2. Controles

Se hizo uso de dos controles positivos, identificados con los códigos P5A y P2A, para monitoreo de los resultados positivos para los genes *stx2e* y *fl8*, respectivamente. Ambos controles fueron obtenidos de otros aislados de *E. coli* almacenados en la sección de Bacteriología y Micología del Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la FMV de la UNMSM. Mientras que para el control negativo se utilizó la cepa ATCC 25922 (*Escherichia coli*).

3.2.2. MATERIALES Y EQUIPOS PARA EXTRACCIÓN DE ADN

3.2.2.1. Materiales

- Aislados de *Escherichia coli*
- *Tryptic Soy Agar*
- *Mac Conkey Agar*
- Caldo Luria-Bertani
- Kit de purificación de ADN (GeneJET™ Genomic DNA Purification, Thermo Scientific)
- Ansa bacteriológica
- Viales estériles
- Tubos de microcentrífuga
- Mascarillas descartables
- Guantes de nitrilo

3.2.2.2. Equipos

- Cabina de flujo laminar
- Microcentrífuga (Thermo Scientific)
- Estufa (Precision Thelco)
- Vórtex (IsoLab)
- Termomezclador
- Micropipetas (10 µl, 100 µl y 1000 µl)
- Congeladora (-20°C)

3.2.3. MATERIALES Y EQUIPOS PARA PCR

3.2.3.1. Materiales

- DreamTaq Buffer (MgCl₂ incluido)
- Nucleótidos (dNTPs)
- DreamTaq DNA polymerase
- Cebadores o *primers* (*stx2e* y *f18*)
- Agua ultrapura
- ADN extraído de los aislados de *E. coli*
- Controles positivos (cepa P5A y cepa P2A)
- Control negativo (cepa ATCC 25922)
- Tips libres de ADN/ARN (10 µl, 200 µl y 1000 µl)
- Viales estériles (200 µl, 500 µl y 1500 µl)
- Alcohol
- Gradillas
- Tacho
- Rack congelado
- Mascarillas descartables
- Guantes de nitrilo

3.2.3.2. Equipos

- Cabina de flujo laminar (DNA/RNA UV Cleaner Box-Biosan)
- Congeladora (-20°C)

- Refrigeradora (4°C)
- Micropipetas (10 µl, 100 µl y 1000 µl)
- Vórtex (IsoLab)
- Termociclador (Biometra Tone - Analytik Jena)

3.2.4. MATERIALES Y EQUIPOS PARA ELECTROFORESIS

3.2.4.1. Materiales

- Productos obtenidos de la PCR
- Solución tampón (Buffer TBE)
- Agarosa en polvo (Agarose, Type I)
- Marcador de peso molecular (100bp)
- *Blue/Orange 6X Loading Dye*
- Diamont™ Nucleic Acid Dye
- Safe-Green™
- Tips libres de ADN/ARN (10 µl)
- Cinta parafilm
- Contenedor rojo de reciclaje para residuos
- Mascarillas descartables
- Guantes de nitrilo

3.2.4.2. Equipos

- Micropipetas (10 µl)
- Equipo de electroforesis (cámara, máquina de voltaje, transiluminador, cables, etc.)

3.3. DESCRIPCIÓN DEL DISEÑO EXPERIMENTAL

3.3.1. EXTRACCIÓN DE ADN

Los aislados de *E. coli* fueron reactivados tras su inoculación en *Tryptic Soy Agar* (TSA, por sus siglas en inglés) y *Mac Conkey Agar* (MC, por sus siglas en inglés), siendo incubados a 37°C durante 24 horas. Transcurrido el tiempo, del crecimiento se seleccionaron un par de colonias y se inocularon en viales de 2 ml con 1.5 ml de caldo Luria-Bertani (LB), para luego incubarlos a 37°C por 24 horas, tras lo cual se visualiza

cierta turbidez que indica crecimiento bacteriano. Finalmente, se siguieron las instrucciones del kit de purificación de ADN (GeneJET™ Genomic DNA Purification, Thermo Scientific) explicadas en el **Anexo 2**.

3.3.2. DETECCIÓN DE LOS GENES *stx2e* Y *fl8* MEDIANTE PCR

La detección de los genes *stx2e* y *fl8* se realizó mediante la prueba molecular denominada Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) de tipo convencional, por separado para cada gen, usando como templado el ADN obtenido en el paso previo. En el estudio se utilizaron los cebadores o *primers* específicos para los genes analizados, cuyas secuencias son detalladas en el **Cuadro 1**.

Cuadro 1. Secuencia de *primers* para los genes *stx2e* y *fl8*

<i>Primer o cebador</i>	Secuencia 5' → 3'	Producto	Referencia
Stx2e forward	AAT AGT ATA CGG ACA GCG AT	733 pb	Boerlin <i>et al.</i> , 2005
Stx2e reverse	TCT GAC ATT CTG GTT GAC GC		
F18 forward	TGG TAA CGT ATC AGC AAC TA	313 pb	
F18 reverse	ACT TAC AGT GCT ATT CGA CG		

Para amplificar cada fragmento de ADN mediante PCR, se estandarizó un protocolo basado en lo establecido por Boerlin *et al.* (2005) y Casey y Bosworth (2009).

3.3.2.1. PCR convencional para el gen *stx2e*

El protocolo se estandarizó con 20 µl de volumen final, incluyendo 19 µl de Master Mix y 1 µl de ADN. La concentración final del Master Mix consistió en 1X de DreamTaq Buffer (conteniendo 2 mM de MgCl₂), 0.2 mM de dNTPs, 0.15 µM de cada cebador (forward y reverse), 0.2 µl de DreamTaq DNA polymerase y la diferencia para llegar al volumen final se completó con agua ultrapura. Para calcular el volumen total en

μl se consideraron, adicionales a las muestras a evaluar, un control positivo (cepa P5A), un control negativo (cepa ATCC 25922) y un control blanco (agua ultrapura).

Las condiciones del termociclado fueron una desnaturalización inicial a 95°C durante 15 minutos; seguido por 35 ciclos, en cada ciclo se consideró 95°C de desnaturalización por 1 minuto, 55°C de hibridación por 1 minuto y 72°C para la elongación por 1 minuto; con una elongación final de 72°C por 10 minutos.

3.3.2.2. PCR convencional para el gen *fl8*

El protocolo se estandarizó con 20 μl de volumen final, incluyendo 19 μl de Master Mix y 1 μl de ADN. La concentración final del Master Mix consistió en 1X de DreamTaq Buffer (conteniendo 2 mM de MgCl₂), 0.2 mM de dNTPs, 0.15 μM de cada cebador (forward y reverse), 0.2 μl de DreamTaq DNA polymerase y la diferencia para llegar al volumen final se completó con agua ultrapura. Para calcular el volumen total en μl se consideraron, adicionales a las muestras a evaluar, un control positivo (cepa P2A), un control negativo (cepa ATCC 25922) y un control blanco (agua ultrapura).

Las condiciones del termociclado fueron una desnaturalización inicial a 95°C durante 15 minutos; seguido por 30 ciclos, en cada ciclo se consideró 95°C de desnaturalización por 45 segundos, 55°C de hibridación por 45 segundos y 72°C para la elongación por 45 segundos; con una elongación final de 72°C por 10 minutos.

3.3.3. ELECTROFORESIS EN GEL DE AGAROSA

Para ambos casos, se preparó el gel de agarosa al 1.5% en buffer TBE al 0.5X y las condiciones de la electroforesis fueron de 90 voltios, 90 amperios y 90 minutos.

Para el gen *stx2e*, los amplicones obtenidos del PCR fueron teñidos usando 1 μl de *Blue/Orange 6X Loading Dye* por cada 5 μl de producto amplificado. Los mismos fueron colocados en el gel y se sometieron a electroforesis bajo la condición anteriormente descrita. Asimismo, se utilizó el marcador de peso molecular 100bp *Opti-DNA Marker* para corroborar el tamaño de pares de bases. Transcurrido el tiempo, el gel fue totalmente sumergido durante 20 minutos en una solución de buffer TBE al 0.5X con *Diamont™ Nucleic Acid Dye* a 1X. Finalmente, el tamaño de las bandas se visualizó haciendo uso de un transiluminador de luz azul.

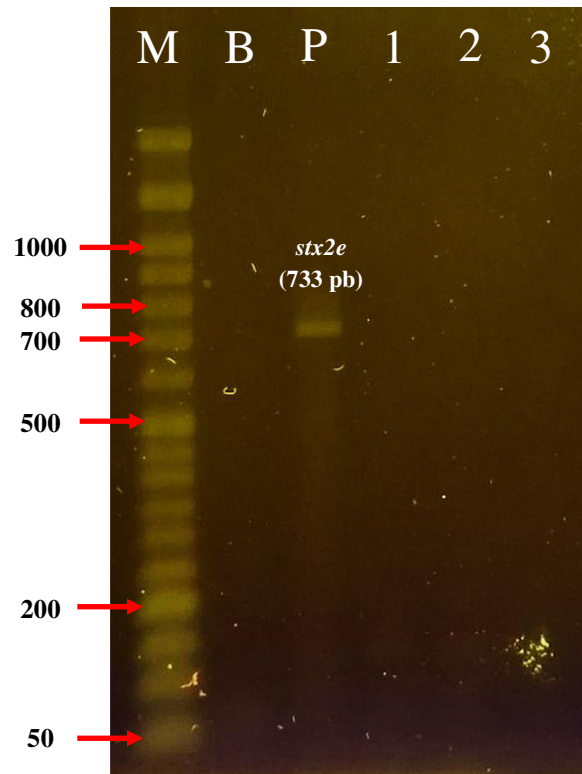
Para el gen *f18*, los amplicones obtenidos del PCR fueron teñidos usando 1 µl de buffer de carga Safe-Green™ por cada 5 µl de producto amplificado. Los mismos fueron colocados en el gel y se sometieron a electroforesis bajo la condición anteriormente descrita. Asimismo, se utilizó el marcador de peso molecular 100bp *Plus Opti-DNA Marker* para corroborar el tamaño de pares de bases. Finalmente, el tamaño de las bandas se visualizó haciendo uso de un transiluminador de luz azul.

IV. RESULTADOS

El objetivo del estudio fue evaluar si los genes *stx2e* y *fl8* están presentes o no en aislados de *E. coli* provenientes de cerdos sin diarrea de 0 a 50 días de edad procedentes de 4 granjas tecnificadas de la región Lima, los cuales fueron obtenidos a partir de muestreos por hisopado rectal individual realizado en otro estudio durante los meses de octubre a diciembre del año 2019. Para lo cual se reactivaron los 186 aislados, para luego extraer y purificar el ADN de cada muestra, y analizarlo mediante la prueba molecular PCR convencional. Para, finalmente, analizar e interpretar los resultados mediante la técnica de electroforesis (**Figura 4 y 5**).

Figura 4. Electroforesis en gel de agarosa al 1.5% de la amplificación del gen *stx2e*.

Descripción: **carril M:** Marcador de peso molecular de 100 pb; **carril B:** control



blanco; **carril P:** control positivo (cepa P5A); **carril 1:** control negativo (cepa ATCC 25922); **carril 2:** muestra negativa (EC-405); **carril 3:** muestra negativa (EC-406).

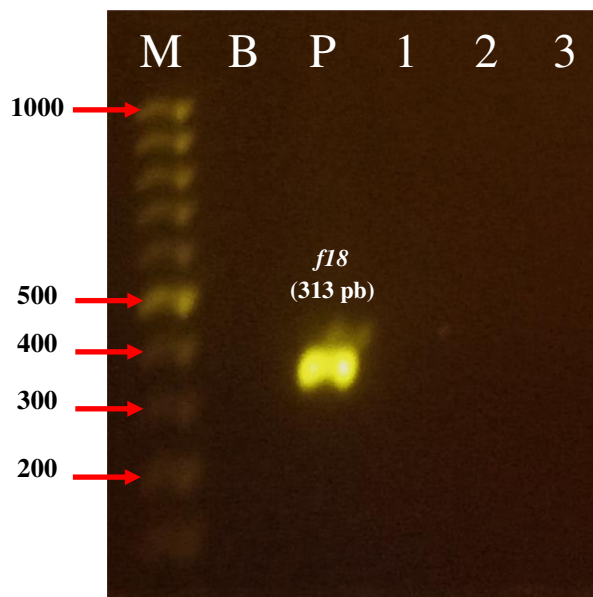


Figura 5. Electroforesis en gel de agarosa al 1.5% de la amplificación del gen *f18*.

Descripción: **carril M:** Marcador de peso molecular de 100 pb; **carril B:** control blanco; **carril P:** control positivo (cepa P2A); **carril 1:** control negativo (cepa ATCC 25922); **carril 2:** muestra negativa (EC-405); **carril 3:** muestra negativa (EC-406).

De los 186 aislados de *E. coli* procedentes de cerdos sin diarrea, muestreados en el año 2019, almacenados en el cepario de la sección de Bacteriología y Micología del Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la FMV-UNMSM, no se detectó producto de PCR para los genes *stx2e* ni *f18* en ninguna de las muestras procesadas, resultando una frecuencia del 0% (0/186).

Las 186 muestras provienen de 4 granjas tecnificadas ubicadas en la región Lima, las cuales tienen sospecha de antecedentes no registrados de EE. Las granjas incluidas en el estudio manejaban o un sistema de crianza intensivo o uno semi intensivo, utilizaban alimento formulado propio o adquirido de otras empresas. Todas las muestras fueron obtenidas mediante hisopado rectal individual y los animales muestreados fueron elegidos al azar. El 28.5%, 16.13%, 24.73% y 30.65% de los cerdos provenían de las granjas 1, 2, 3 y 4, respectivamente. Las edades de los animales no superaban los 50 días de vida.

V. DISCUSIÓN

Este es el primer estudio llevado a cabo en Perú con el fin de evaluar si los genes *stx2e* y *fl18* están o no presentes en aislados de *Escherichia coli* (*E. coli*) provenientes de cerdos sin diarrea procedentes de granjas porcinas de la región Lima, las cuales tienen antecedentes sugerentes de la enfermedad de los edemas (EE). En otros países, diversos autores han identificado genes característicos de STEC, incluyendo *stx2e* o *fl18*, tanto en animales con signos clínicos asociados a la EE, como en animales aparentemente sanos (Parma *et al.*, 2000; Souza *et al.*, 2001; Cheng *et al.*, 2006; Vu-Khac *et al.*, 2007; Moredo *et al.*, 2012; Meng *et al.*, 2014; Baldo *et al.*, 2020) por la importancia epidemiológica de la enfermedad.

En el presente estudio se procesaron 186 muestras, de las cuales no se detectó producto de PCR en ninguno de los genes evaluados (0/186; 0%). Meng *et al.* (2014), en China, demostraron que la prevalencia de STEC en cerdos sanos es casi 2.5 y 4.4 veces más alta en muestras obtenidas del colon que de heces y del intestino delgado, respectivamente. Para este trabajo la metodología de muestreo empleado fue el hisopado rectal, por lo que el sitio anatómico de donde se tomó la muestra podría haber influido en los resultados negativos obtenidos.

Similar resultado obtuvieron Parma *et al.* (2000), en Argentina, tras evaluar por primera vez la presencia de *stx2e* en animales sanos sin detectar la amplificación del gen ni en aislados de *E. coli* de lechones sin diarrea (0/19; 0%) ni de sus madres (0/20; 0%),

estos resultados similares podrían explicarse por la edad, la cual en este grupo etario son menos susceptibles o los casos son menos reportados, como en los lechones, los cuales aún no son destetados (Fairbrother, 2023). De igual manera, Moredo (2012) tampoco detectó al gen en lechones de 21 ± 3 días de vida, pero sí en los grupos de mayor edad (69/986; 7%).

Vu-Khac *et al.* (2007), en Eslovaquia, encontraron una prevalencia de 4% (9/220) para el gen *stx2e*, mientras que para el gen *f18* fue de 9% (20/220), ambos en cerdos con menos de 14 días de vida, pero con diarrea. Si bien, el grupo etario de animales es el mismo que se evaluó en el presente estudio, estos hallazgos explicarían que, si bien la edad es un factor crucial para la manifestación baja o nula de la EE, existen casos en los que sí pueden detectarse los genes vinculados a la enfermedad aún en lechones lactantes, siendo la diarrea un signo asociado a esta presentación. Además, esta probabilidad es menor si se trata de aislados recuperados de lechones no destetados sanos, ya que en el mismo estudio de Vu-Khac y colaboradores no hallaron casos positivos ni *stx2e* ni *f18* (0%) en animales aparentemente sanos como los animales muestreados en este estudio. Por tanto, la edad resulta ser un factor crucial, ya que los lechones que se encuentran en la etapa post destete, no sólo son más susceptibles por el estrés que sufren al cambio de alimento (Germán *et al.*, 2005), sino también porque la expresión de receptores para F18 aumenta después de las tres semanas de vida, edad a la que suelen ser destetados los lechones (Fairbrother, 2023). Este concepto podría explicar en parte los hallazgos negativos, ya que, si no hay expresión suficiente de receptores para la bacteria, esta no se adhiere al epitelio intestinal, por lo que no prolifera ni libera toxinas (Stx2e) en gran cantidad, y la posibilidad de detectar al gen o que se manifieste la enfermedad disminuye.

Baldo *et al.* (2020), en Italia, evaluaron 171 porcinos sanos (29 lechones destetados y 142 en engorde), detectando al gen *stx2e* en 3 de ellos (1.75%), también evaluaron la presencia de *f18* en los aislados positivos para *stx2e*, pero no obtuvieron resultados positivos (0/3; 0%). Así, la probabilidad de encontrar animales positivos a *f18* es menor que la frecuencia de *stx2e*, pues puede haber cepas Stx2e-STEC que posean el gen *stx2e* pero que sean *f18* negativas aún en casos con diagnóstico presuntivo de EE (Cheng *et al.*, 2005; Barth *et al.*, 2007; Martineau *et al.*, 2018), pudiendo estar involucrados otros factores de virulencia menos descritos (Martineau *et al.*, 2018). En el

presente estudio al no detectarse el gen *stx2e*, la probabilidad de detección de *f18* se redujo significativamente, siendo otro factor que podría explicar la ausencia de casos positivos a *f18*.

Una posible limitación de este estudio fue la falta de acceso de primera mano a la información (manejo, alimentación, estatus sanitario, entre otros) de las granjas tecnificadas, lo que restringe la comparación y total comprensión de los resultados. Sin embargo, como se mencionó párrafos antes, la condición de salud, edad de los animales, cantidad de aislados, método de muestreo o técnica de diagnóstico son factores a considerar que pueden influir en la detección de los genes que producen la EE. Asimismo, Moredo (2012) sugiere que en el caso de hallar amplificaciones de genes de virulencia en aislados de cerdos sin manifestación clínica de diarrea, puede que dichos genes no se encuentren expresados o dicha expresión sea leve, por lo que no desencadenan la enfermedad. Cabe resaltar que el hecho de no detectar la presencia de los genes *stx2e* y *f18* en los aislados de *E. coli* procedentes de cerdos aparentemente sanos en el presente estudio, no determina que estas cepas no sean patógenas, ya que no se han evaluado genes asociados a otros patotipos diarreogénicos, como son las enteropatogénicas (EPEC) y enterotoxigénicas (ETEC), por lo que no se puede asumir completamente que sean aislados comensales.

Es importante resaltar que ante la creciente preocupación por la resistencia antimicrobiana de cepas STEC (Mesonero *et al.*, 2021; Yang *et al.*, 2021), se hace importante la continua evaluación epidemiológica en diversas granjas tecnificadas en todo el mundo, reconocer aspectos de virulencia a nivel molecular para desarrollar alternativas de inmunizaciones más específicos con el fin de prevenir la enfermedad en lugar de tratar a los animales con antibióticos (Mesonero *et al.*, 2021; Correa *et al.*, 2022). Dichas opciones aún no son viables en nuestro medio ante la falta de estudios que corroboren la presencia del agente, el cual puede repercutir negativamente en la producción porcina.

VI. CONCLUSIÓN

No se encontraron positivos con un nivel de detección límite de 1.6%, a los genes *stx2e* ni *f18* en aislados de *E. coli* provenientes de cerdos sin diarrea de 0 a 50 días de edad procedentes de granjas tecnificadas de la región Lima.

VII. RECOMENDACIONES

Considerando que los aislados de *E. coli* provenían de lechones sin diarrea de menos de 50 días de vida, se sugiere replicar el estudio también en cerdos de otras edades estratificándolos por rangos. Asimismo, realizar el estudio con una población mayor disminuyendo la prevalencia límite a detectar, para definir un mejor panorama sobre la situación de la enfermedad de los edemas en la porcicultura del país.

VIII. LITERATURA CITADA

1. **Aguillón A, Duarte I, Tornero F, Cordero E, Vargas N, Padilla F, Franco B. 2021.** Análisis filogenético y estructural de factores transcripcionales de *Escherichia coli* de función desconocida. Jóvenes en la ciencia. 13 p.
2. **Agroproyectos. 2017.** Parámetros técnicos y reproductivos en los cerdos. [Internet]. Disponible en: https://agroproyectos.org/parametros-tecnicos-productivos-cerdos/#google_vignette
3. **Aquili V. 2007.** Caracterización de cepas de *Escherichia coli* con fenotipos de multirresistencia inducidos o seleccionados in vitro con antimicrobianos o con fármacos no antimicrobianos. Tesis doctoral. Las Palmas de Gran Canaria: Univ. de Las Palmas de Gran Canaria. 406 p.
4. **Arancia S, Lurescia M, Lorenzetti S, Stravino F, Buccella C, Caprioli A, Franco A, Battisti A, Morabito S, Tozzoli R. 2019.** Detection and isolation of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) isolates in caecal samples from pigs at slaughter in Italy. *Vet Med Sci* 5: 462-469.
5. **Arrunátegui V. 2016.** Frecuencia de colibacilosis por *Escherichia coli* enteroinvasivo en *Suis scrofa domestica* “porcino” procedentes del sector La Merced, distrito Laredo. Tesis de Biólogo-Microbiólogo. Trujillo: Univ. Nac. de

Trujillo. 29 p.

6. **Arumí M. 2020.** *Escherichia coli*. Microbiología para humanos [Internet]. Disponible en: <https://microbiologiaparahumanos.wordpress.com/2020/01/15/escherichia-coli/>
7. **Baldo V, Salogni C, Giovannini S, D’Incau M, Boniotti M, Birbes L, Pitozzi A, Formenti N, Grassi A, Pasquali P, Alborali G. 2020.** Pathogenicity of Shiga Toxin Type 2e *Escherichia coli* in Pig Colibacillosis. *Front Vet Sci* 7: 1-10.
8. **Barba E, Melendez A. 2021.** Mass screening with molecular diagnosis reveals a high risk of Oedema Disease with the reduction of ZnO. *The Pig Site* [Internet]. Disponible en: <https://www.thepigsite.com/articles/mass-screening-with-molecular-diagnosis-reveals-a-high-risk-of-oedema-disease-with-the-reduction-of-zno>
9. **Barrios P. 2020.** El consumo de carne de cerdo y sus beneficios nutricionales. *Porcicultura.com* [Internet]. Disponible en: <https://www.porcicultura.com/destacado/El-consumo-de-carne-de-cerdo-y-sus-beneficos-nutricionales>
10. **Barth S, Tscholshiew A, Menge C, Weiss R, Baljer G, Bauerfeind R. 2007.** Virulence and fitness gene patterns of Shiga toxin-encoding *Escherichia coli* isolated from pigs with edema disease or diarrhea in Germany. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 120: 307-316.
11. **Barth S, Schwanitz A, Bauerfeind R. 2011.** Polymerase chain reaction-based method for the typing of F18 fimbriae and distribution of F18 fimbrial subtypes among porcine Shiga toxin-encoding *Escherichia coli* in Germany. *J Vet Diagn Invest* 23: 454-464.
12. **Basavaraju M, Gunashree BS. 2023.** *Escherichia coli*: An Overview of Main Characteristics. In: Starčić MS, ed. *Escherichia coli - Old and New Insights*. 1^a ed. United Kingdom: IntechOpen. p 3-23.
13. **Beutin L, Geier D, Steinruck H, Zimmermann S, Scheutz F. 1993.** Prevalence and some properties of verotoxin (Shiga-like toxin) - producing *Escherichia coli* in

seven different species of healthy domestic animals. J Clin Microbiol 31: 2483-2488.

14. **Berger P, Marcus D. 2020.** Oedema disease—correct sampling is crucial. Pig Progress [Internet]. Disponible en: <https://www.pigprogress.net/health-nutrition/oedema-disease-correct-sampling-is-crucial/>
15. **Berger P, Hermanns S, Kerner K, Schueler V, Schmelz F, Ewers C, Bauerfeind R, Doherr M. 2021.** Prevalence of edema disease *Escherichia coli* (EDEC) in weaned piglets in Germany. En: 12th edition of ESPHM. Bern: European Symposium of Porcine Health Management.
16. **Bertschinger HU. 1999.** Postweaning *Escherichia coli* diarrhea and edema disease. In: Straw BE, D'Allaire S, Mengeling WL, Taylor DJ, eds. Diseases of swine. 8^a ed. USA: Wiley-Blackwell. p 441-454.
17. **Blanco M, Blanco JE, Gonzalez EA, Mora A, Jansen W, Gomes TA, Zerbini LF, Yano T, de Castro AF, Blanco J. 1997.** Genes coding for enterotoxins and verotoxins in porcine *Escherichia coli* strains belonging to different O:K:H serotypes: relationship with toxic phenotypes. J Clin Microbiol 35: 2958-2963.
18. **Boerlin P, Travis R, Gyles C, Reid-Smith R, Janecko N, Lim H, Nicholson V, McEwen S, Friendship R, Archambault M. 2005.** Antimicrobial Resistance and Virulence Genes of *Escherichia coli* Isolates from Swine in Ontario. Appl Environ Microbiol 71: 6753-6761.
19. **Bolívar A, Rojas A, Garcia P. 2014.** PCR y PCR-Múltiple: parámetros críticos y protocolo de estandarización. Avan Biomed 3: 25-33.
20. **Camacho C. 2013.** Calidad e importancia de la carne porcina. Cult Cienc Tecnol 3: 3-10.
21. **Canal AM, Cubillos V, Zamora J, Reinhardt G, Paredes E, Ildefonso R, Alberdi A, Macías P. 1999.** Identificación de fimbrias de *Escherichia coli* enteropatógeno mediante inmunohistoquímica en cerdos lactantes con diarrea. Arch Med Vet 31: 37-44.
22. **Carrasco S. 2021.** Peruvian Pork. Denmark: The Trade Council. Industry analysis.

57 p.

23. **Carroll KC, Hobden JA. 2016.** Bacilos gramnegativos entéricos (*Enterobacteriaceae*). En: Carroll KC, Hobden JA, Miller S, Morse SA, Mietzner TA, Detrick B, Mitchell TG, McKerrow JH, Sakanari JA, eds. Microbiología médica. 27ª ed. México: McGraw Hill. p 231-236.
24. **Casanova NA, Redondo LM, Dailoff GC, Arenas D, Fernández ME. 2018.** Overview of the role of Shiga toxins in porcine edema disease pathogenesis. *Toxicon* 148: 149-154.
25. **Casey TA, Bosworth BT. 2009.** Design and Evaluation of a Multiplex Polymerase Chain Reaction Assay for the Simultaneous Identification of Genes for Nine Different Virulence Factors Associated with *Escherichia Coli* that Cause Diarrhea and Edema Disease in Swine. *J Vet Diagn Invest* 21: 25-30.
26. **Cavero T, Praga M. 2021.** Síndrome Hemolítico Urémico. *Nefrología al día* [Internet]. Disponible en: <https://www.nefrologiaaldia.org/216>
27. **Chávez R. 2009.** Crianza de porcinos. Lima: INIA. Folleto Técnico. 20 p.
28. **Cheng D, Sun H, Xu J, Gao S. 2005.** Prevalence of fimbrial colonization factors F18ab and F18ac in *Escherichia coli* isolates from weaned piglets with edema and/or diarrhea in China. *Vet Microbiol* 110: 35-39.
29. **Cheng D, Sun H, Xu J, Gao S. 2006.** PCR detection of virulence factor genes in *Escherichia coli* isolates from weaned piglets with edema disease and/or diarrhea in China. *Vet Microbiol* 115: 320-328.
30. **Colello R, Cáceres M, Ruiz M, Sanz M, Etcheverría A, Padola N. 2016.** From Farm to Table: Follow-Up of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Throughout the Pork Production Chain in Argentina. *Front Microbiol* 7: 1-7.
31. **Correa F, Luise D, Amatucci L, Palumbo F, Viridis S, Negrini C, Clavenzani P, Vecchi M, Mazzoni M, Bosi P, Trevisi P. 2022.** Effect of an *Escherichia coli* F4/F18 bivalent oral live vaccine on gut health and performance of healthy weaned pigs. *Animal* 16: 1-10.

32. **Dohoo IR, Martin W, Stryhn H. 2003.** Veterinary epidemiologic research. Charlottetown: Atlantic Veterinary College. 706 p.
33. **Ekhlás D, García E, Ortiz J. 2021.** Eliminación de antibióticos y óxido de zinc del pienso (1/2): cómo, cuándo y porqué. 3tres3 [Internet]. Disponible en: https://www.3tres3.com/latam/articulos/eliminacion-de-antibioticos-y-oxido-de-zinc-del-pienso_12562/
34. **Erskine R, Sojka W, Lloyd M. 1957.** The experimental reproduction of a syndrome indistinguishable from oedema disease. Vet Rec 69: 301-303.
35. **Escalante D. 2021.** Detección de genes de resistencia antimicrobiana en aislados de *Escherichia coli* de cerdos de producción con cuadros diarreicos. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ. Nac. Mayor de San Marcos. 85 p.
36. **Fairbrother JM, Gyles CL. 2006.** Postweaning *Escherichia coli* Diarrhea and Edema Disease. In: Straw BE, D'Allaire S, Mengeling WL, Taylor DJ, eds. Diseases of Swine. 8^a ed. USA: Wiley-Blackwell. p 649-662.
37. **Fairbrother JM. 2023.** Edema Disease in Pigs. MSD Manual [Internet]. Disponible en: <https://www.msdsvetmanual.com/generalized-conditions/edema-disease/edema-disease-in-pigs>
38. **FAO. 2000.** Cría de cerdos. Roma: FAO. Manual de Capacitación para Trabajadores de Campo en América Latina y El Caribe. 205 p.
39. **Farfán AE, Ariza SC, Vargas FA, Vargas LV. 2016.** Mecanismos de virulencia de *Escherichia coli* enteropatógena. Rev Chilena Infectol 33: 438-450.
40. **Figueroa M. 2016.** Manual de enfermedades de los cerdos. Tesina de Médico Veterinario Zootecnista. Toluca: Univ Autónoma del Estado de México. 285 p.
41. **Fratamico P, Bhagwat A, Injaian L, Fedorka-Cray P. 2008.** Characterization of Shiga Toxin–Producing *Escherichia coli* Strains Isolated from Swine Feces. Foodborne Pathog Dis 5: 827-838.
42. **Friedrich AW, Bielaszewska M, Zhang WL, Pulz M, Kuczius T, Ammon A, Karch H. 2002.** *Escherichia coli* harboring Shiga toxin 2 gene variants: frequency and

- association with clinical symptoms. *J Infect Dis* 185: 74-84.
43. **Frydendahl K. 2002.** Prevalence of serogroups and virulence genes in *Escherichia coli* associated with postweaning diarrhoea and edema disease in pigs and a comparison of diagnostic approaches. *Vet Microbiol* 85: 169-182.
 44. **Fuller CA, Pellino CA, Flagler MJ, Strasser JE, Weiss AA. 2011.** Shiga toxin subtypes display dramatic differences in potency. *Infect Immun* 79: 1329-1337.
 45. **Gallego V, Deza N, Carbonari C, Gugliada J, Stambulian J, Repetto H. 2006.** Detección de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC) en adultos asintomáticos que conviven con mascotas. En: VI Congreso Argentino de la SADI. Mar del Plata: Sociedad Argentina de Infectología.
 46. **Gannon VP, Gyles CL. 1990.** Characteristics of the Shiga-like toxin produced by *Escherichia coli* associated with porcine edema disease. *Vet Microbiol* 24: 89-100.
 47. **Gelberg H. 2017.** Alimentary System and the Peritoneum, Omentum, Mesentery, and Peritoneal Cavity. In: Zachary JF, ed. *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. 6^a ed. USA: Mosby. p 401-405.
 48. **Germán C, Camacho J, Gallegos J. 2005.** Producción de cerdos. México: COLPOS. Manual del participante. 82 p.
 49. **Gotter V. 2014.** Implicaciones nutricionales en el control de *E.coli*. *NutriNews* [Internet]. Disponible en: <https://nutrinews.com/download/Implicaciones-nutricionales-control-ecoli-IDT-nutrinews-revista-noviembre-2014.pdf>
 50. **Gotter V. 2018.** Métodos usados para diagnosticar las infecciones por *Escherichia coli*. Shigatoxin [Internet]. Disponible en: https://www.shigatoxin.com/assets/res/downloads/Monografico_STEC_SUIS_2018.pdf
 51. **Guttenplan SB, Shaw S, Kearns DB. 2013.** The cell biology of peritrichous flagella in *Bacillus subtilis*. *Mol Microbiol* 87: 211-229.
 52. **Gyles C. 2007.** Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: An overview. *J Anim Sci* 85: E45-E62.

53. **Hannaoui E, Villalobos L, Martínez R. 2009.** *Escherichia coli* shigatoxigénica: Patogénesis, diagnóstico y tratamiento. *Rev Soc Ven Microbiol* 29: 13-20.
54. **Herrera F, Santos J, Villamizar R. 2019.** Primer reporte de *Escherichia coli* Productora de Toxina Shiga no O157 que codifica el gen de la enterohemolisina en carne cruda en Colombia. *ALAN* 69: 59-67.
55. **[INEI] Instituto Nacional de Estadística e Informática. 2022.** Producción nacional. Lima: INEI. Informe Técnico. 64 p.
56. **InterPro. 2023.** Classification of protein families: *Escherichia coli*. [Internet]. Disponible en: <https://www.ebi.ac.uk/interpro/taxonomy/uniprot/562/>
57. **[ISU] Iowa State University. 2023.** Edema disease. [Internet]. Disponible en: <https://vetmed.iastate.edu/vdpam/FSVD/swine/index-diseases/edema-disease#:~:text=Edema%20disease%20is%20caused%20by,%2C%20neurotoxin%2C%20or%20vasotoxin>
58. **Kaper JB, Nataro JP, Mobley HLT. 2004.** Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiol* 2: 123-140.
59. **Lillie K, Köchling M, Lindner T. 2018.** Ecoporc Shiga, la nueva vacuna contra la enfermedad de los edemas (I). IDT [Internet]. Disponible en: https://www.shigatoxin.com/assets/res/downloads/Monografico_STEC_SUIS_2018.pdf
60. **Lo AW, Moonens K, De Kerpel M, Brys L, Pardon E, Remaut H, De Greve H. 2014.** The molecular mechanism of Shiga toxin Stx2e neutralization by a single-domain antibody targeting the cell receptor-binding domain. *J Biol Chem* 289: 2537-25381.
61. **Loza R. 2015.** Síndrome Urémico-hemolítico. Problemas aún no resueltos. *Rev Med Hered* 26: 69-70.
62. **Lucas J, Morales S, Salazar E, Eslava C, Alvarado D. 2016.** Contaminación por *Escherichia coli* Shigatoxigénica en Puestos de Expendio de Carne de Pollo en un Distrito de Lima. *Rev Inv Vet Perú* 27: 618-625.

63. **Martineau G, Amenna N, Waret A. 2018.** Enfermedad de los edemas. Cuadro clínico y lesional y fisiopatología. IDT [Internet]. Disponible en: https://www.shigatoxin.com/assets/res/downloads/Monografico_STEC_SUIS_2018.pdf
64. **Méndez S, Pérez E. 2004.** La PCR múltiple en microbiología clínica. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 22: 183-192.
65. **Meng Q, Bai X, Zhao A, Lan R, Du H, Wang T, Shi C, Yuan X, Bai X, Ji S, Jim D, Yu B, Wang Y, Sun H, Liu K, Xu J, Xiong Y. 2014.** Characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from healthy pigs in China. *BMC Microbiol* 14: 1-14.
66. **Mesonero S, Morales J, Mainar RC, Díaz G, Arnal JL, Casanovas C, Barrabés S, Segalés J. 2021.** Effect of Edema Disease Vaccination on Mortality and Growth Parameters in Nursery Pigs in a Shiga Toxin 2e Positive Commercial Farm. *Vaccines (Basel)* 9: 1-7.
67. **Moredo F. 2012.** Prevalencia de *Escherichia coli* enterotoxigénico y *Escherichia coli* productor de toxina Shiga en cerdos sin manifestación clínica de diarrea de la provincia de Buenos Aires. Tesis de Doctor en Ciencias Veterinarias. La Plata: Univ. Nac. La Plata. 246 p.
68. **Moredo FA, Cappuccio JA, Insarralde L, Perfumo CJ, Quiroga MA, Leotta GA. 2012.** Caracterización genotípica de aislamientos de *Escherichia coli* obtenidos de cerdos con diarrea posdestete y enfermedad de los edemas. *Rev Argent Microbiol* 44: 85-88.
69. **Moxley RA. 2000.** Edema Disease. *Vet Clin North America: Food Animal Practice.* 16: 175-185.
70. **Nagy B, Whipp SC, Imberechts H, Bertschinger HU, Dean-Nystrom EA, Casey TA, Salajka E. 1997.** Biological relationship between F18ab and F18ac fimbriae of enterotoxigenic and verotoxigenic *Escherichia coli* from weaned pigs with oedema disease or diarrhoea. *Microb Pathog* 22: 1-11.

71. **Nguyen TD, Vo TT, Vu-Khac H. 2011.** Virulence factors in *Escherichia coli* isolated from calves with diarrhea in Vietnam. *J Vet Sci* 12: 159-164.
72. **O'Brien AD, Tesh VL, Donohue-Rolfe A, Jackson MP, Olsnes S, Sandvig K, Lindberg AA, Keusch GT. 1992.** Shiga toxin: biochemistry, genetics, mode of action, and role in pathogenesis. *Curr Top Microbiol Immunol* 180: 65-94.
73. **[OMS] Organización Mundial de la Salud. 2018.** *E. coli*. [Internet]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>
74. **Parma A, Sanz M, Viñas M, Cicuta M, Blanco J, Boehringer S, Blanco M. 2000.** Toxigenic *Escherichia coli* isolated from pigs in Argentina. *Vet Microbiol* 72: 269–276.
75. **Paton JC, Paton AW. 1998.** Pathogenesis and diagnosis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections. *Clin Microbiol Rev* 11: 450-479.
76. **Pittman JS. 2010.** Enteritis in grower-finisher pigs caused by F18-positive *Escherichia coli*. *J Swine Health Prod* 18: 81-86.
77. **Prescott L, Harley J, Klein D. 2002.** Prokaryotic Cell Structure and Function. En: Prescott L, Harley J, Klein D, eds. *Microbiology*. 5ª ed. USA: McGraw Hill.
78. **Quyén TM. 2023.** Edema disease in pigs. Vemedim [Internet]. Disponible en: https://vemedim.com/en/1/specialized-in-livestock-and-poultry/technical/1234/edema-disease-in-pigs#_ftn1
79. **Remfry SE, Amachawadi RG, Shi X, Bai J, Tokach MD, Dritz SS, Goodband RD, Derouchey JM, Woodworth JC, Nagaraja TG. 2021.** Shiga Toxin–Producing *Escherichia coli* in Feces of Finisher Pigs: Isolation, Identification, and Public Health Implications of Major and Minor Serogroups. *J Food Prot* 84: 169-180.
80. **Rípodas A, Fernández D, Macho M, Rípodas A, Fernández D, Macho M. 2017.** Investigación de *Escherichia Coli* productor de toxinas Shiga (STEC) en carnes y derivados cárnicos. *Sanid Mil* 73: 147-152.
81. **Shanks PL. 1938.** An unusual condition affecting the digestive organs of the pig. *Vet Rec* 50: 356-358.

82. **Siegler RL, Obrig TG, Pysner TJ, Tesh VL, Denkers ND, Taylor FB. 2003.** Response to Shiga toxin 1 and 2 in a baboon model of hemolytic uremic syndrome. *Pediatr Nephrol* 18: 92-96.
83. **Siuce J, Maximiliano J, Hurtado R, Rosadio R, Maturrano L. 2021.** Desarrollo de una proteína recombinante fimbrial F17 de *Escherichia coli* y respuesta inmune frente a células mononucleares periféricas sanguíneas (PBMC) de alpaca. *Rev Inv Vet Perú* 32: e20006.
84. **Smith H, Halls S. 1968.** The production of oedema disease and diarrhea in weaned pigs by the oral administration of *Escherichia coli*: Factors that influence the course of the experimental disease. *J Med Microbiol* 1: 45-59.
85. **Souza A, Freesz G, Amante M, Guimarães B, da Silva D. 2001.** *Escherichia coli* strains from edema disease: O serogroups, and genes for Shiga toxin, enterotoxins, and F18 fimbriae. *Vet Microbiol* 80: 227-233.
86. **Souza V, Castillo A, Rocha M, Sandner L, Silva C, Eguiarte LE. 2001.** Ecología evolutiva de *Escherichia coli*. *Interciencia* 26: 513-517.
87. **Sperling D, Isaka N, Karembé H, Vanhara J, Vinduska J, Strakova N, Kalova A, Kolackova I, Karpiskova R. 2022.** Effect of the vaccination against Shiga toxin 2e in a farm with history of oedema disease, caused by atypical *Escherichia coli* producing Shiga toxin (STEC). *Vet Med-Czech* 67: 510-518.
88. **Timoney JF. 1950.** Oedema disease of swine. *Vet Rec* 62: 748-756.
89. **Timoney JF. 1957.** Oedema disease in swine. *Vet Rec* 69: 1160-1171.
90. **Tseng M, Fratamico PM, Bagi L, Delannoy S, Fach P, Manning SD, Funk JA. 2014.** Diverse virulence gene content of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* from finishing swine. *Appl Environ Microbiol* 80: 6395-6402.
91. **VanderWaal K, Deen J. 2018.** Global trends in infectious diseases of swine. *Research Article* 115: 11495-1500.
92. **Vidotto M, De Lima N, Fritzen J, De Freitas J, Venâncio E, Ono M. 2009.** Frequency of virulence genes in *Escherichia coli* strains isolated from piglets with

diarrhea in the North Parana State, Brazil. *Braz J Microbiol* 40: 199-204.

93. **Vu-Khac H, Holoda E, Pilipcinec E, Blanco M, Blanco JE, Dahbi G, Mora A, López C, González EA, Blanco J. 2007.** Serotypes, virulence genes, intimin types and PFGE profiles of *Escherichia coli* isolated from piglets with diarrhoea in Slovakia. *Vet J* 174: 176-187.
94. **Won G, Lee J. 2016.** Effectiveness of F18+ Fimbrial Antigens Released by a Novel Autolyzed *Salmonella* Expression System as a Vaccine Candidate against Lethal F18+ STEC Infection. *Front Microbiol* 7: 1-10.
95. **Yang X, Wu Y, Liu Q, Sun H, Luo M, Xiong Y, Matussek A, Hu B, Bai X. 2021.** Genomic Characteristics of Stx2e-Producing *Escherichia coli* Strains Derived from Humans, Animals, and Meats. *Pathogens* 10: 1551.
96. **Yu D, Banting G, Neumann N. 2021.** A review of the taxonomy, genetics, and biology of the genus *Escherichia* and the type species *Escherichia coli*. *Canadian J Microbiol* 67: 553-571.
97. **Zhitnitskiy P. 2021.** Edema disease – F18 *Escherichia coli*. [Internet]. Disponible en: <https://open.lib.umn.edu/swinedisease/chapter/edema-disease/>
98. **Zotta C, Lavayén S, Hollmann P, Lanfranconi V. 2015.** Animales Domésticos Como Reservorio De *Escherichia coli* Productor De Toxina Shiga En Mar del Plata. *J Selva Andina Research Society* 6: 2-9.

IX. ANEXOS

ANEXO 1. Lista de cada aislado de *E. coli* con edad del animal muestreado y lugar de procedencia.

CÓDIGO	EDAD (DÍAS)	GRANJA 1	GRANJA 2	GRANJA 3	GRANJA 4
EC-196	17	X			
EC-197	17	X			
EC-198	15	X			
EC-199	11	X			
EC-200	11	X			
EC-201	13	X			
EC-202	13	X			
EC-203	13	X			
EC-204	11	X			
EC-205	11	X			
EC-206	10	X			
EC-207	10	X			
EC-208	10	X			
EC-209	5	X			
EC-210	5	X			
EC-213	25		X		
EC-214	25		X		
EC-215	50		X		
EC-216	50		X		
EC-217	50		X		
EC-218	25		X		
EC-219	25		X		
EC-220	25		X		
EC-221	25		X		
EC-222	25		X		
EC-223	25		X		
EC-224	25		X		

EC-225	25		X		
EC-226	25		X		
EC-227	25		X		
EC-228	25		X		
EC-229	25		X		
EC-230	25		X		
EC-231	25		X		
EC-232	25		X		
EC-233	25		X		
EC-234	22	X			
EC-235	25		X		
EC-236	25		X		
EC-237	25		X		
EC-238	22	X			
EC-239	25		X		
EC-240	25		X		
EC-241	22	X			
EC-242	22	X			
EC-243	25		X		
EC-244	25		X		
EC-245	25		X		
EC-246	25		X		
EC-247	22	X			
EC-248	22	X			
EC-249	19	X			
EC-250	19	X			
EC-251	17	X			
EC-252	17	X			
EC-253	17	X			
EC-254	17	X			
EC-255	17	X			
EC-256	17	X			
EC-257	15	X			

EC-258	15	X			
EC-259	15	X			
EC-260	13	X			
EC-261	13	X			
EC-262	13	X			
EC-263	13	X			
EC-264	10	X			
EC-265	10	X			
EC-266	7	X			
EC-267	10	X			
EC-268	7	X			
EC-269	7	X			
EC-270	7	X			
EC-271	5	X			
EC-272	7	X			
EC-273	5	X			
EC-274	5	X			
EC-275	S/D ¹			X	
EC-276	5	X			
EC-277	2	X			
EC-278	2	X			
EC-279	2	X			
EC-280	1	X			
EC-281	14			X	
EC-282	1	X			
EC-283	21			X	
EC-284	3			X	
EC-285	14			X	
EC-286	17			X	
EC-287	18			X	
EC-288	19			X	
EC-289	19			X	
EC-290	3			X	

EC-291	3			X	
EC-292	4			X	
EC-293	4			X	
EC-294	4			X	
EC-295	6			X	
EC-296	6			X	
EC-297	1			X	
EC-298	1			X	
EC-299	23			X	
EC-300	23			X	
EC-301	23			X	
EC-302	23			X	
EC-303	23			X	
EC-304	24			X	
EC-305	19			X	
EC-306	19			X	
EC-307	10			X	
EC-308	10			X	
EC-309	10			X	
EC-310	10			X	
EC-311	13			X	
EC-312	13			X	
EC-313	13			X	
EC-314	13			X	
EC-315	1			X	
EC-316	3			X	
EC-317	3			X	
EC-318	3			X	
EC-319	3			X	
EC-320	3			X	
EC-321	6			X	
EC-322	7			X	
EC-323	7			X	

EC-324	8			X	
EC-325	8			X	
EC-326	9			X	
EC-350	0				X
EC-351	0				X
EC-352	1				X
EC-353	1				X
EC-354	2				X
EC-355	2				X
EC-356	3				X
EC-357	3				X
EC-358	3				X
EC-359	4				X
EC-360	4				X
EC-361	4				X
EC-362	5				X
EC-363	6				X
EC-364	7				X
EC-365	7				X
EC-366	7				X
EC-367	8				X
EC-368	8				X
EC-369	9				X
EC-370	1				X
EC-371	2				X
EC-372	5				X
EC-373	8				X
EC-374	9				X
EC-375	9				X
EC-376	10				X
EC-377	10				X
EC-378	10				X
EC-379	11				X

EC-380	11				X
EC-381	11				X
EC-382	12				X
EC-383	12				X
EC-384	12				X
EC-385	13				X
EC-386	13				X
EC-387	14				X
EC-388	14				X
EC-389	14				X
EC-390	15				X
EC-391	15				X
EC-392	15				X
EC-393	15				X
EC-394	15				X
EC-395	15				X
EC-396	13				X
EC-397	13				X
EC-398	13				X
EC-399	13				X
EC-400	13				X
EC-401	13				X
EC-402	12				X
EC-403	12				X
EC-404	12				X
EC-405	12				X
EC-406	12				X

¹S/D: sin datos

ANEXO 2. Procedimiento para la Purificación de ADN Genómico de bacterias Gram negativas.

1. Cultivar máximo 2×10^9 células bacterianas en un tubo de microcentrífuga de 1.5 o 2 ml para centrifugarlo durante 10 min a 5000 x g. Desechar el sobrenadante.
2. Poner de nuevo en suspensión el sedimento en 180 μ l de Solución de Digestión. Adicionar 20 μ l de Proteinasa K. Mezclar hasta disolver uniformemente, usar un vórtex o pipetear.
3. Incubar a 56°C mientras se agita ocasionalmente, usar un termomezclador hasta que las células estén completamente lisadas (30 minutos en promedio).
4. Añadir 20 μ l de Solución de ARNasa A, mezclar usando un vórtex e incubar durante 10 minutos a temperatura ambiental.
5. Agregar 200 μ l de Solución de Lisis. Agitar en un vórtex alrededor de 15 segundos hasta mezclar homogéneamente.
6. Incorporar 400 μ l de etanol (al 50%) y mezclar pipeteando o agitar en un vórtex.
7. Trasladar el lisado preparado a una Columna de Purificación de ADN Genómico GenJET inserto en un tubo de recolección. Centrifugar la columna durante 1 minuto a 6000 x g. Desechar el tubo recolector que tiene la solución de flujo continuo. Colocar la Columna de Purificación de ADN Genómico GenJET en un nuevo tubo de recolección de 2 ml.
8. Aumentar 500 μ l de Tampón de lavado I (incluido etanol). Centrifugar durante 1 minuto a 8000 x g. Eliminar el flujo continuo y colocar nuevamente la Columna de Purificación en el tubo de recolección.
9. Sumar 500 μ l del Tampón de lavado II (incluido etanol) en la Columna de Purificación de ADN Genómico GenJET. Centrifugar durante 3 minutos a máxima velocidad (≥ 12000 x g). Vaciar el contenido del tubo de recolección y volver a centrifugar por 1 minuto. Desechar el tubo recolector que tiene la solución de flujo continuo. Trasferir la Columna de Purificación de ADN Genómico GenJET a un tubo de microcentrífuga estéril de 1.5 ml.
10. Añadir 200 μ l de Tampón de Elución al centro de la membrana de la Columna de Purificación de ADN Genómico GenJET para eluir el ADN genómico. Incubar durante 2 minutos a temperatura ambiental y centrifugar (1 minuto a 8000 x g).
11. Desechar la Columna de Purificación. Usar el ADN purificado inmediatamente en aplicaciones posteriores o almacenar a -20°C.