



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Dirección General de Estudios de Posgrado

Facultad de Farmacia y Bioquímica

Unidad de Posgrado

**Detección de genes de virulencia específicos y su
correlación con la expresión fenotípica en cepas de
Escherichia coli diarreogénicas aisladas en Lima-Perú**

TESIS

Para optar el Grado Académico de Doctora en Farmacia y
Bioquímica

AUTOR

Mirtha ROQUE ALCARRAZ

ASESOR

Gladys Constanza ARIAS ARROYO

Lima, Perú

2018



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

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

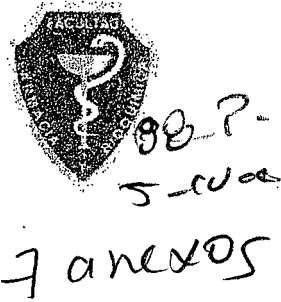
Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan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

Referencia bibliográfica

Roque M. Detección de genes de virulencia específicos y su correlación con la expresión fenotípica en cepas de *Escherichia coli* diarreogénicas aisladas en Lima-Perú [Tesis de doctorado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Unidad de Posgrado; 2018.



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
UNIDAD DE POSGRADO



**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR
AL GRADO ACADÉMICO DE DOCTORA EN FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

Siendo las **12:00 hrs. del 30 de abril de 2018** se reunieron en el auditorio de la Unidad de Posgrado de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, el Jurado Examinador y Calificador de tesis, presidido por la Dra. Luisa Pacífica Negrón Ballarte e integrado por los siguientes miembros: Dra. Gladys Constanza Arias Arroyo (Asesora), Dr. Juan Manuel Parreño Tipian, Dr. Víctor Crispín Pérez y la Dra. Yadira Fernández Jerí; para la sustentación oral y pública de la tesis intitulada: "**DETECCIÓN DE GENES DE VIRULENCIA ESPECÍFICOS Y SU CORRELACIÓN CON LA EXPRESIÓN FENOTÍPICA EN CEPAS DE *Escherichia coli* DIARREOGENICAS AISLADAS EN LIMA-PERÚ**", presentada por la Magíster en Microbiología **MIRTHA ROQUE ALCARRAZ**.

Acto seguido se procedió a la exposición de la tesis, con el fin de optar al Grado Académico de **Doctora en Farmacia y Bioquímica**. Formuladas las preguntas, éstas fueron absueltas por el graduando.

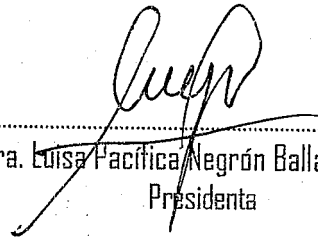
A continuación el Jurado Examinador y Calificador de tesis procedió a la calificación, la que dio como resultado el siguiente calificativo:

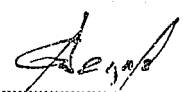
Excelente (19) Diecinueve

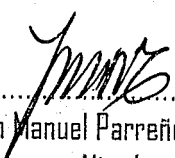
Luego, la Presidenta del Jurado recomienda que la Facultad proponga que se le otorgue a la Magíster en Microbiología **MIRTHA ROQUE ALCARRAZ**, el Grado Académico de Doctora en **Farmacia y Bioquímica**.


Siendo las **13:45** hrs. se levanta la sesión.

Se extiende el acta en Lima, a las **13:45** hrs. del 30 de abril de 2018.


.....
Dra. Luisa Pacífica Negrón Ballarte (P.P., D.E.)
Presidenta


.....
Dra. Gladys Constanza Arias Arroyo (P.P., T.C.)
Miembro - Asesora


.....
Dr. Juan Manuel Parreño Tipian (P.P., T.C.)
Miembro


.....
Dr. Víctor Crispín Pérez (P.P., T.P.)
Miembro


.....
Dra. Yadira Fernández Jerí (P. Asoc., T.C.)
Miembro

Observaciones:

RESUMEN

Escherichia coli diarreogénicas (ECD) son una importante causa de diarrea en niños menores de 5 años. El objetivo de este estudio fue determinar la correlación entre la presencia de genes de virulencia específicos y su expresión fenotípica en *Escherichia coli* diarreogénicas, mediante PCR múltiple usando una combinación de 6 pares de cebadores específicos para *E. coli* diarreogénicas y un medio selectivo nuevo diferencial para el aislamiento de *E. coli* STEC no-O157, EPEC y ETEC.

De 100 cepas analizadas, el 31 % correspondieron a *E. coli* EPEC atípicas, mientras el 5 % fueron típicas porque evidenciaron la presencia del gen *eae*, y genes *eae* + *bfp* respectivamente. De las cepas STEC el 32 % presentaron el gen *Stx1*, 4 % el gen *Stx1 + eae* y solo 2 % el gen *Stx1+Stx2* y *eae*. En ETEC el 24 % poseían el gen *est* que codifica para la enterotoxina termoestable (ST) y 1% poseía los genes *est* y *elt*. Los ensayos para determinar la expresión fenotípica de *Escherichia coli* con genes de virulencia en medios de cultivo diferenciales de Posse nos permitieron identificar *Escherichia coli* STEC O26 (15%) que crecieron dando colonias purpura como consecuencia de fermentar sacarosa y sorbosa, O111 (14 %) y O103 (1 %) dieron colonias azul purpura por la fermentación de sacarosa y O114 (9 %) que no fermentan sorbosa, así como los serotipos EPEC (36 %) y ETEC (25 %) tampoco fermentaron sorbosa dando colonias rojas. Se determinó que no existe correlación entre la cepas STEC sorbosa negativas y la presencia de genes para la producción de toxinas Shx, así como la presencia de genes *est* y *elt* para la producción de enterotoxinas ST y LT en cepas ETEC demostrando que el método de la sorbosa puede ser un marcador fenotípico para la rutina en los laboratorios para la selección de estos patógenos en productos alimenticios, muestras clínicas humanas y de animales.

SUMMARY

Diarreogenic *Escherichia coli* (DEC) are an important cause of diarrhea in cases of childhood diarrhea in children under 5 years of age. The objective of this study was to determine the correlation between the presence of specific virulence genes and their phenotypic expression in diarreogenic *Escherichia coli*. We have used multiplex PCR by combining six primer pairs specific for *E. coli* diarreogenic and specific novel selective differential media for the isolation of non-O157 shiga toxin producing *E. coli* STEC and EPEC, ETEC. Among 100 strains analyzed, 31% corresponded to atypical *E. coli* EPEC, while 5% were typical because they showed the presence of the *eae* gene, and *eae* + *bfp* genes respectively. The STEC strains showed that 32% presented the *Stx1* gene, 4% the *Stx1* + *eae* gene and only 2% the *Stx1* + *Stx2* gene and *eae*. Among ETEC we identified that 24% had the *est* gene coding for the thermostable enterotoxin (ST) and 1% possessed the *est* and *elt* genes. The tests to determine the phenotypic expression of *Escherichia coli* with virulence genes in differential culture media of Posse allowed us to identify *E. coli* STEC O26 (15%) that grew giving purple colonies as a consequence of fermenting sucrose and sorbose, O111 (14%) and O103 (1%) gave purple blue colonies for the fermentation of sucrose and O114 (9%) that did not ferment sorbose, as well as the serotypes EPEC (36%) and ETEC (25%) did not ferment sorbosa giving red colonies. It was determined that there is no correlation between the sorbic negative STEC strains and the presence of genes for the production of Shx toxins, as well as the presence of genes *est* and *elt* for the production of ST and LT enterotoxins in ETEC strains demonstrating that the method of sorbose can be a phenotypic marker for routine in laboratories for the selection of these pathogens in food products, human and animal clinical samples.