



REVISTA ARGENTINA DE MICROBIOLOGÍA

www.elsevier.es/ram



INFORME BREVE

Caracterización de cepas patógenas extraintestinales de *Escherichia coli* aisladas de perros y gatos de compañía de Buenos Aires, Argentina

Cecilia C. Cundon*, Alejandro Ameal, Elsa Maubecín y Adriana Bentancor

Cátedra de Microbiología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina

Recibido el 19 de octubre de 2016; aceptado el 9 de noviembre de 2017

PALABRAS CLAVE

ExPEC;
Filogrupos;
Factores de virulencia;
Animales de compañía

KEYWORDS

ExPEC;
Phylogroup;
Virulence factors;
Companion animals

Resumen El pangenoma de *Escherichia coli* se compone de un core conservado y regiones genómicas variables. El componente genético constante permite determinar la filogenia del microorganismo, mientras que la variabilidad genética ha permitido el surgimiento de cepas patógenas intestinales y extraintestinales. En este estudio caracterizamos genéticamente 85 cepas patógenas extraintestinales aisladas de caninos y felinos. Se utilizó el esquema de Clermont para agruparlas en relación con el filogrupos de pertenencia (intestinal: A y B1; extraintestinal: B2 y D) y se investigó en ellas la presencia de varios marcadores de virulencia (*pap1-2*, *pap3-4*, *sfa*, *afa*, *hlyA*, *aer* y *cnf*), así como de marcadores de patovares híbridos. El 69,4% de los aislamientos pertenecieron al filogrupos A; el 1,2% al B1; el 16,5% al B2 y el 12,9% al D. El gen encontrado con mayor frecuencia fue *sfa* (21/85), seguido de los genes *pap1-2* y *cnf* (20/85) y *pap3-4* (19/85). No se detectaron híbridos. Los aislamientos en animales deben ser estudiados debido al potencial zoonótico del microorganismo.

© 2017 Asociación Argentina de Microbiología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Characterization of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* strains isolated from household dogs and cats in Buenos Aires, Argentina

Abstract The pangenome of *Escherichia coli* is composed of a conserved core and variable genomic regions. The constant genetic component allows to determine the phylogeny of the microorganism, while genetic variability promoted the emergence of intestinal pathogenic strains and extraintestinal strains. In this study we characterized 85 extraintestinal pathogenic isolates genetically isolated from canines and felines. We used the Clermont scheme that

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: ccundon@fvet.uba.ar (C.C. Cundon).

<https://doi.org/10.1016/j.ram.2017.11.003>

0325-7541/© 2017 Asociación Argentina de Microbiología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Cómo citar este artículo: Cundon CC, et al. Caracterización de cepas patógenas extraintestinales de *Escherichia coli* aisladas de perros y gatos de compañía de Buenos Aires, Argentina. Rev Argent Microbiol. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2017.11.003>

includes intestinal (A and B1) and extraintestinal (B2 and D) phylogroups, virulence markers (*pap1-2*, *pap3-4*, *sfa*, *afa*, *hlyA*, *aer* and *cnf*) and hybrid pathogens. A percentage of 69.4% of the isolates belonged to phylogroup A; 1.2% to phylogroup B1; 16.5% to phylogroup B2 and 12.9% to phylogroup D. The most commonly found gene was *sfa* (21/85), followed by *pap1-2* and *cnf* (20/85) and *pap3-4* (19/85). No hybrids were detected. Animal isolates should be studied due to the zoonotic potential of the microorganism.

© 2017 Asociación Argentina de Microbiología. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Escherichia coli es un miembro de la microbiota del intestino grueso de los mamíferos. La posibilidad de adquirir elementos genéticos por transferencia horizontal dio lugar al surgimiento de cepas patógenas, que han sido categorizadas como intestinales o extraintestinales y que son responsables de diferentes cuadros clínicos⁷. En este último grupo, las cepas uropatógenas (UPEC) son responsables de infecciones urinarias tanto en el hombre como en animales y se asocian a distintas enfermedades urogenitales, como cistitis, nefritis y prostatitis¹³. La habilidad de este patógeno de colonizar el tracto urinario y producir infecciones se debe potencialmente, al menos en parte, a la versatilidad del genoma de UPEC, que remodela su repertorio genético a través de la adquisición y pérdida de atributos de virulencia¹². Esta plasticidad en su genoma hace que la diferencia entre aislamientos patógenos y comensales se base en sus antecedentes filogenéticos⁹.

Los factores de virulencia de cepas UPEC incluyen adhesinas fimbriales, adhesinas afimbriales, toxinas y sideróforos, entre otros¹³. Estos atributos de virulencia facilitan la habilidad de las cepas UPEC de colonizar el tracto urinario y ejercer su efecto citopático. Entre ellos se destacan las adhesinas fimbriales, como las fimbrias P (*pap*: pili asociado a pielonefritis); las fimbrias S, codificadas por el gen *sfa*; y dentro del grupo de las adhesinas afimbriales, la proteína AFA. Entre las toxinas se pueden mencionar el factor citotóxico necrosante (*cnf*) y una hemolisina (*hlyA*). La captación de hierro favorece la supervivencia en el tracto urinario. El microorganismo sintetiza 4 tipos de sideróforos, entre ellos la hidroxamato-aerobactina (*aer*)⁵.

El esquema de Clermont clasifica las cepas de *E. coli* en 2 grandes grupos: extraintestinales (filogrupos B2 y D) e intestinales (filogrupos B1 y A)². La determinación del filogrupo se basa en la presencia/ausencia de los genes *chuA*, *yjaA* y TspE4.C2. La mayoría de las UPEC pueden ser clasificadas en los filogrupos B2 o D. Además, las cepas pertenecientes al filogrupo B2 con capacidad de descarboxilar lisina y ornitina son posibles productoras de meningitis neonatal en el humano.

El objetivo del presente estudio fue determinar la presencia de factores de virulencia propios de cepas uropatógenas en aislamientos de *E. coli* provenientes de muestras clínicas de caninos y felinos atendidos en el Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires, y establecer la correlación entre la presencia de

dichos factores y el filogrupo al cual pertenecen los aislamientos.

Aislamientos: se incluyeron 85 aislamientos clínicos de *E. coli* obtenidos en el período 2006-2012 en el laboratorio del Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Veterinarias. En lo que respecta al origen, 69 fueron obtenidos de caninos (44 hembras, 25 machos) y 15 de felinos (5 hembras, 10 machos). De una muestra no se obtuvieron los datos de la especie. Los materiales clínicos de los que provenían los aislamientos incluyeron 73 muestras de cistitis, 8 de peritonitis y una de cada uno de los siguientes materiales: líquido de prostatitis, fístula paraanal, herida y hernia perineal fistulizada.

Se corroboró que los aislamientos pertenecieran a la especie *E. coli* mediante pruebas de bacteriología clásica, que incluyeron oxidasa, catalasa, oxidación-fermentación de la glucosa, reducción de nitratos a nitritos, fermentación de lactosa, producción de indol, vía de fermentación de la glucosa (rojo de metilo o Voges-Proskauer) y uso de citrato como fuente de carbono⁶. Posteriormente, se llevó a cabo la tipificación molecular de los aislamientos mediante la identificación del gen que codifica la enzima β D-glucuronidasa (*uidA*)⁸. Para la obtención de los templados, a partir del cultivo en pureza en agar triptéina soja se tomó una unidad formadora de colonia y se suspendió en 150 μ l de agua bidestilada estéril. Se hirvió al baño María durante 10 min. Se centrifugó a 13.000 rpm durante 5 min y se utilizó el sobrenadante como templado de PCR.

Agrupación en filogrupos: mediante reacción múltiple de PCR se amplificaron los 3 genes que se utilizan para la agrupación en filogrupos. Los pasos de PCR fueron los siguientes: una desnaturalización inicial a 94 °C durante 4 min, 30 ciclos (94 °C 5 s, 59 °C 10 s, 72 °C 30 s) y una extensión final a 72 °C durante 5 min. Los resultados se interpretaron de acuerdo con el esquema de Clermont et al.², considerando la presencia (+) o ausencia (–) de los 3 genes en estudio (*chuA*, TspE4.C2 y *yjaA*) de la siguiente manera: filogrupo A, *chuA* (–) y TspE4.C2 (–); filogrupo B1, *chuA* (–) y TspE4.C2 (+); filogrupo B2, *chuA* (+) y *yjaA* (+), y filogrupo D, *chuA* (+) y *yjaA* (–).

PCR de genes de virulencia: se amplificaron 7 genes considerados marcadores de virulencia de las cepas UPEC¹⁵. Los pasos de PCR para todos los genes fueron los siguientes: una desnaturalización inicial a 94 °C durante 3 min, 30 ciclos (94 °C 1 s, 63 °C 30 s, 72 °C 3 min) y una extensión final

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/8844387>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/8844387>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)