

**UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN**  
**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS**  
**Departamento de Patología y Medicina Preventiva**



**DETECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE *Escherichia coli* VEROTOXIGÉNICA  
SEROTIPO O157 Y NO O157 UTILIZANDO UNA REACCIÓN DE  
INMUNOENSAYO TIPO SANDWICH Y PCR MÚLTIPLE EN MUESTRAS DE  
HECES Y CANALES BOVINAS**

MEMORIA DE TÍTULO PRESENTADA  
A LA FACULTAD DE CIENCIAS  
VETERINARIAS PARA OPTAR AL  
TÍTULO DE MÉDICO VETERINARIO

**MARLENE DENISSE PINO ZAPATA**  
**CHILLÁN-CHILE**

**2008**

## I.- RESUMEN

### DETECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE *Escherichia coli* VEROTOXIGÉNICA SEROTIPO O157 Y NO O157 UTILIZANDO UNA REACCIÓN DE INMUNOENSAYO TIPO SANDWICH Y PCR MÚLTIPLE EN MUESTRAS DE HECES Y CANALES BOVINAS

### DETECTION AND IDENTIFICATION OF VEROTOXIGENIC *Escherichia coli* SEROTYPE O157 AND NON O157 USING A SANDWICH-TYPE IMMUNOASSAY REACTION AND MULTIPLEX PCR IN BOVINE FAECES AND CARCASSES SAMPLES

*Escherichia coli* verotoxigénica (ECVT) es un patógeno emergente causante del síndrome hemolítico urémico (SHU). El serotipo O157:H7 es el más asociado a la presentación de esta enfermedad. El objetivo de este estudio fue identificar la presencia de ECVT serotipo O157 y no O157 aisladas desde heces y canales bovinas, mediante una reacción de inmunoensayo tipo sandwich (kit diagnóstico Transia card) y PCR múltiple. Tómulas con muestra fecal y esponjas con muestras de la superficie de canales se homogenizaron en 4ml y 20ml de agua peptonada tamponada respectivamente, para luego traspasarlas a una placa de agar Endo, incubándose a 37°C por 24 horas. Las colonias *E. coli*, confirmadas por pruebas bioquímicas, se sometieron al kit diagnóstico Transia card para detección de *E. coli* O157 y PCR múltiple para identificación de los genes *vt*<sub>1</sub>, *vt*<sub>2</sub>, *eaeA* y *H7*. De un total de 130 bovinos, ECVT se identificó en un 24,6% y un 3,1% desde muestras de heces y canales respectivamente por la técnica de PCR múltiple. ECVT serotipo O157 se identificó sólo desde muestras de heces en un 15,6%. En muestras de heces el serotipo O157 presentó el perfil toxigénico *vt*<sub>1</sub>+*vt*<sub>2</sub> en un 60% mientras que en el no O157 predominó *vt*<sub>1</sub> (63%), en canales se identificó sólo *vt*<sub>1</sub>. ECVT fue más frecuentemente aislada de animales adultos (35,3%) que de animales juveniles en muestras de heces. *E. coli* serotipo O157 fue identificado en un 11,1% por el kit diagnóstico Transia card, mientras que un 7,9% se identificó por PCR múltiple. El ganado bovino es un reservorio de ECVT, principalmente del serotipo no O157 el que predominó tanto en muestras de heces como de canales.

Palabras clave: ECVT, *E. coli* O157, kit diagnóstico Transia card, PCR múltiple, bovinos.

## II.- SUMMARY

Verotoxigenic *Escherichia coli* (VTEC) is an emerging pathogen that causes hemolytic uremic syndrome (HUS). The serotype O157:H7 is the most associated this disease presentation. The aims of this study was to detect VTEC serotype O157 in bovine fecal and carcasses samples, using a sandwich-type immunoassay reaction (Transia card diagnostic kit) and multiplex PCR assay. Swabs with fecal samples and sponges with samples from carcasses surface were homogenized in 4ml and 20ml of buffer peptone water respectively, then a loop ful was transferred to an Endo agar plate, and incubated at 37°C for 24 hours. *E coli* strains confirmed by biochemical tests were subjected to transia card diagnostic kit to detect *E. coli* O157 and multiplex PCR assay to identify *vt*<sub>1</sub>, *vt*<sub>2</sub>, *eaeA* and *H7* genes. A from of 130 bovines, were VTEC positive a 24,6% and 3,1% from faeces and carcasses samples respectively by multiplex PCR assay. VTEC serotype O157 was detected only in 15,6% froms fecal samples. Froms fecal samples O157 serotype 60% was profile *vt*<sub>1</sub>+*vt*<sub>2</sub> while non O157 predominantly was found *vt*<sub>1</sub> (63%), and in carcasses only *vt*<sub>1</sub>. VTEC was more frequently isolated from adults animals (35,3%) that from young animals in fecal samples. *E coli* O157 serotype was confirmed by transia card diagnostic kit in 11,1%, while a 7,9% was detected by multiplex PCR. Bovine cattle is a VTEC reservoir, mainly serotype non O157, that was predominantly in both fecal and carcasses samples.

Keywords: VTEC, *E. coli* O157, Transia card diagnostic kit, multiplex PCR, bovine.