

---

---

# UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

---

---

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

AISLAMIENTO Y DETERMINACION DE LOS FACTORES DE  
VIRULENCIA DEL GENERO YERSINIA A PARTIR  
DE HECES DIARREICAS DE CERDOS.

---

---

## TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A

P.M.V.Z. TARSICIO RODRIGUEZ OCHOA

DIRECTOR DE LA TESIS:

M. V. Z. MINERVA SOTO ROSALES

GUADALAJARA, JAL.

MAYO 1993

---

---

## DEDICATORIA

### A MIS PADRES:

Juan Rodríguez de la C. y Brígida Ochoa de Rodríguez, por darme la vida, respaldo, comprensión, apoyo y por hacer posible mi superación.

### A MIS HERMANOS:

Por su apoyo y comprensión.

### A LOS SEÑORES:

José Pérez Plascencia y A. Guillermina Burgos de Pérez, por todo su apoyo respaldo y ayuda incondicionales.

### A MIS AMIGOS:

José Alberto y Lety, Ricardo y Pilar, Ernesto y Celina y de manera muy especial a Héctor Gustavo, por su amistad, apoyo y ayuda incondicionales.

### A LA MEMORIA DE MI ENTRANABLE AMIGO:

Carlos Rolando Juárez Picón, por su amistad y nobleza.

### A LA MEMORIA DE MI ACESOR:

M.V.Z. Victor Manuel Mendoza Gómez, por su bondad, sencillez y tiempo empleado en mi formación y por transmitirme sus conocimientos.

#### AGRADECIMIENTOS:

1. A la Universidad de Guadalajara, y especialmente a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, por hacer posible mi formación académica.
2. A mi Director de Tesis M.V.Z. Minerva Soto Rosales, por su colaboración, paciencia y tiempo empleado para la elaboración de mi tesis, muchas gracias.
3. A la Q.F.B. Cristina Moran S. y al Biol. Carlos Bravo C. por su orientación, ayuda y colaboración.
4. A mis Maestros, por transmitirme sus conocimientos y experiencia.
5. Al Sr. Abraham Eugenio Saldivar V. por su colaboración en la realización de esta Tesis.
6. Al M.V.Z. J. Jesús Olvera M. por su orientación y apoyo brindados para realizar mi tesis.
7. Al Sr. Hugo Serrano de A. por su ayuda y amistad.
8. A la Sra. Paz Picón y Enrique Carrillo P. por su amistad y apoyo en bien de mi superación.

## CONTENIDO

	Página
RESUMEN .....	X
INTRODUCCION .....	1
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	9
JUSTIFICACION .....	10
HIPOTESIS .....	11
OBJETIVOS .....	12
MATERIAL Y METODO .....	13
RESULTADOS.....	16
DISCUSION.....	20
CONCLUSIONES.....	22
ANEXO 1.....	23
ANEXO 2.....	24
BIBLIOGRAFIA .....	25

R E S U M E N

## RESUMEN:

Uno de los problemas que se presentan en forma común dentro de la empresa porcícola son las afecciones diarreicas. Esta situación ocurre a consecuencia de una serie de eventos mal encausados dentro de las granjas, entre los que destacan el stress producido por mal manejo, higiene deficiente, cambios drásticos de alimentación y cambios bruscos del medio ambiente ( Temperaturas ).

Es importante señalar que el género Yersinia afecta al cerdo solamente con la presencia de los factores antes mencionados.

Se trabajaron en el laboratorio un total de 100 muestras distribuídas en cinco muestreos de 20 cada uno así mismo se utilizó la técnica señalada en el material y método, para obtener los siguientes resultados.

Se aisló el género Yersinia en un 8 % y se demostraron algunos de sus factores asociados a la virulencia y enterotoxigenicidad, finalmente se observó su patogenicidad en ratones de laboratorio Swiss Albino ICR.

Los resultados no fueron significativos estadísticamente.

I N T R O D U C C I O N

## INTRODUCCION

En México uno de los problemas infecciosos de más frecuencia en los cerdos son los problemas diarreicos de etiologías regularmente desconocidas por falta de investigación ya que los diagnósticos se realizan basados en cuadros clínicos más conocidos en las diarreas de los cerdos como E. Coli, Salmonella spp., Treponema spp., Campylobacter spp., Enterobacter spp. y Proteus spp. por lo que se sospecha de Yersinia; basado ésto en sus antecedentes y la presencia del microorganismo en forma saprófita en el aparato digestivo del cerdo. En el país existe poca información con respecto a éstas bacterias debido a que su investigación no es de forma rutinaria (4, 14, 18, 22, 30, 42, 56).

El género Yersinia es de distribución mundial y existen regiones endémicas de Y. pestis en varios continentes. Los resultados obtenidos por estudios realizados en todo el mundo son similares por lo que se han tomado como base para el estudio e identificación de Y. enterocolítica sus serotipos 03, 05, 08, 09 y 027. Aunque existen otros aislados en regiones específicas de los Estados Unidos, como el 015, y 021, además del serotipo 04 y 032. Los cinco primeros son los más importantes por ser de distribución mundial, existen aproximadamente 56 serotipos de los cuales la mayoría son patógenos. El cerdo es considerado portador de la bacteria y esta se encuentra a lo largo del intestino al igual que en lengua y faringe por lo que es un microorganismo oportunista, causa gastroenteritis y diarrea de tipo sanguinolenta en el

cerdo, es una enfermedad latente, algunos serotipos de esta bacteria han sido aislados a partir de ganglios linfáticos mesentéricos del cerdo en un 25% y un 35% a partir de lengua, en intestinos de cerdos sanos para abasto. Fue aislado de 2 a 5% de la faringe en 30% y en muestras de heces provenientes de intestino de cerdos sanos se ha recuperado el serotipo 03 en un 1.7% (9, 12, 18, 31, 32, 37, 43, 48, 53, 54)

La severidad de la enfermedad depende en gran parte del serotipo que se encuentre involucrado y de la zona geográfica donde se encuentre, además de las condiciones fisiológicas en que se encuentre el organismo. El plásmido de Y. enterocolítica ha sido aislado de antígenos de lechón Y. pseudotuberculosis ha sido aislada de heces, intestinos y ganglios linfáticos mesentéricos, por lo que es otra de las especies de este género que tienen importancia en el cerdo, esta bacteria ha sido separada en 6 grupos serológicos (I, II, III, IV, V, VI), encontrándose con mayor frecuencia en estudios las bacterias pertenecientes al grupo II y IV (10, 18, 31, 32, 38, 40, 43, 48, 53)

Las bacterias de este género se distinguen por ser células cocobacilares pequeñas, Gram negativas, que miden de 0.5 - 1 nanómetros de ancho por 1 - 2 nanómetros de largo, son inmóviles a 37 oC y móviles de 22 a 29 oC, presentan de dos a quince flagelos peritricos, no encapsuladas, anaerobias facultativas intracelulares de formas regulares y con temperatura óptima para su cultivo de 28 - 29 oC, pero pueden ser cultivadas a temperaturas de 4 - 42 oC, la Y. pestis y Y. pseudotuberculosis toleran pH de 5 - 9.6, otras toleran pH de 4 - 10, pero el pH óptimo para todas las especies del género

es de 7.2 - 7.4. Y. pseudotuberculosis y Y. enterocolitica son lactosa negativas y son distintas a otros miembros de la familia de las enterobacterias a causa de su escaso crecimiento después de 24 horas de incubación aerobia a 37 oC, estas bacterias crecen en los medios de cultivo comunes como el Agar Mc Conkey, CIN agar SR 109, y verde brillante. las colonias de Y. pseudotuberculosis son largas opacas y abundantes sobre el medio de agar citrato dexosicolato pero pueden cultivarse de igual forma que Y. enterocolitica, Y. pestis sobre agar Mc Conkey, agar sangre y agar Mc Conkey Carbeneicilina (4, 5, 6, 20, 34, 42, 55)

Las colonias típicas de Y. enterocolitica se desarrollan como una mancha o sombra roja (ojo de buey) circundado por un borde transparente en el medio de CIN Agar SR 109, las colonias de esta especie son lisogénicas al ser cultivadas a 25 oC pero no a 37 oC. la forma de las colonias de Yersinia en los medios de cultivo comunes donde se puede obtener su crecimiento son colonias de una apariencia transparente o translúcida sobre todo en agar Mc Conkey. Cabe mencionar que Y. pestis en ningún momento es móvil debido a que a diferencia de las demás especies del género, carece de flagelos y requiere para su cultivo la adición de L isoleucina, L valina, Glicina, L Treonina. Los cuales reduce en un medio enriquecido con CO<sub>2</sub> atmosférico, las cepas virulentas requieren CA o ATP para cultivarse a 37 oC pero no a 25 oC.

La Yersinia de mayor importancia por su frecuente presencia en problemas infecciosos en animales y humanos son:

Y. pseudotuberculosis, Y. enterocolítica, las cuales causan la pseudotuberculosis y la Y. pestis quien es causante de la peste bubónica (4, 9, 10, 12, 34, 37, 47, 49, 53)

El género *Yersinia* es patógeno para el cerdo y diversas especies de animales domésticos y animales de vida libre esto se ha podido comprobar mediante el reporte de la producción de una especie de "Fimbrias" llamadas también proteínas de tipo fibrilar denominadas PI o también YOP 1 (25, 37, 51, 84) Quienes determinan los factores de virulencia, este tipo de proteínas son producidas por parte de ciertas estrías que existen en la superficie de las células bacterianas lo cual determina su factor virulento (7, 11, 14, 18, 45, 48, 56)

Se sabe que estas bacterias producen 2 toxinas, una termoestable, pero no se conoce exactamente su desempeño en el organismo, lo que si se determina por parte de los PI o YOP es que ejercen un efecto citotóxico determinando su patogenicidad (7)

De estas toxinas la primera es endotoxina antigénica y tóxica para animales de laboratorio, su letalidad (LD) es de 1 mg, la segunda toxina es exotoxina, las dos son proteínas naturales relacionadas entre si por lisis producidas por las células bacterianas, estas toxinas también son denominadas como A y B y son de un peso de 0.5 - 1 mg (10, 17, 20, 34, 54)

La estructura antigénica de las especies de Yersinia es compleja pero algunos antígenos son tomados para Y. pseudotuberculosis, Y. enterocolítica y Y. pestis han sido comunmente encontrados en todos las especies investigadas. Estos antígenos que determinan la patogenicidad son designados

como VW los cuales están asociados a la virulencia. Los plásmidos de estas bacterias poseen un peso de 40 - 48 megadaltons molecular Y. pseudotuberculosis, posee antígenos flagelar y somáticos como factores de virulencia que determinan su patogenicidad y con la prueba de aglutinación se dividen en 6 serotipos o (I - VI) con cinco antígenos H distintos, los cuales tienen relación antigénica con Y. pestis, y Y. enterocolítica posee una antígeno complejo "O" antígenos flagelar. Esta bacteria presenta 34 serotipos designados y quizás basados sobre la posición específica de sus antígenos "O", los cuales en conjunto determinan su patogenicidad (8, 10, 12, 17, 21, 25, 28, 29, 32, 33, 34, 35, 38, 39, 40, 41, 46, 48)

La Yersinia se ha designado como bacteria a partir del siglo pasado en 1853, se efectuó el primer reporte de Y. pseudotuberculosis, por Melassez y Vignal; en el que se señala la observación de lesiones en cerdos de Guinea similares a las lesiones de tipo nodular producidas por la tuberculosis. Esta bacteria produce enfermedad en diferentes especies ocasionándoles focos blanquecinos de tipo guisante lo que hace suponer granulomas de tipo tuberculoso de ahí su determinación (57)

Esta bacteria también fue nominada en 1894; por French Aje Yersin; al ser aislado por primera vez el bacilo de la plaga o peste durante una epidemia ocurrida en Hong Kong (34). Este microorganismo afecta principalmente al hombre, roedores y animales en general. En 1909 fueron reportados numerosos casos de infecciones en humanos producidos por Y. pestis, esta bacteria ha afectado durante las últimas décadas del milenio principalmente al hombre al que le produce la Peste Bubónica.

Durante el curso de la historia se han registrado aproximadamente 200 millones de muertes en seres humanos, no tomando en cuenta su letalidad para primates y otros animales domésticos. Al cerdo le produce enfermedad caracterizada principalmente por diarrea sanguinolenta, inapetencia, disminución de peso corporal, decaimiento, aumento de temperatura y postración. Las lesiones causadas por ésta bacteria son linfadenitis mesentérica, enteritis, presencia de puntos necróticos en intestino y destrucción de vellosidades intestinales. (9, 12, 26, 29, 31, 33)

En 1910 se observó la ocurrencia de Y. pseudotuberculosis y características de la enfermedad a partir de ganglios linfáticos mesentéricos de niños infectados. De igual forma se observó la expresión del bacilo en heces de rata y ratones infectados (37)

Este género agrupa actualmente 7 especies diferentes dentro de las que destacan 3 de importancia, las cuales no fueron denominadas en un principio como Yersinias (9)

Y. pseudotuberculosis era denominada como: Pasteurella pseudotuberculosis o Shigella psudotuberculosis.

Y. pestis: recibió los nombres de Bacterium pestis, Bacillus pestis, Pasteurella pestis, Pasticella pestis, Plaque pestis y Pestilence.

Y. enterocolítica se conocía como: Bacterium enterocoliticum.

En 1944 Van Loghem, hizo la separación Yersinia de Pasteurella debido a que se confundía con las mismas por poseer algunas características bioquímicas similares (12, 34)

En 1954 al prosperar el género Yersinia y tras la revolución en la taxonomía de las Pasteurellas; el género fue incluido dentro de la familia de las enterobacterias asignandoles el número 11 y dandoles definitivamente el nombre de Yersinia derivandose este del apellido de French A.J.E. Yersin, bacteriólogo francés (7, 34, 40, 53, 54).

Desde 1955 se ha incrementado la enfermedad debido a Yersinia enterocolítica. A principios de los años 60's un científico reunió un pequeño grupo de cultivos que habían sido originalmente aislados de humanos, cerdos y chinchillas. El grupo fue denominado como Pasteurella pseudotuberculosis "B", Pasteurella "X" y Bacterium enterocolitucum. Durante 1964 Y. enterocolítica fue denominada como Bacterium enterocolitucum, esta bacteria ha sido aislada a partir de heces y de nódulos linfáticos del hombre y animales. Hacia la década de los 70's se incremento el estudio de estos microorganismos. En 1977 el microorganismo fue tema central del tercer simposium internacional, después se reportaron brotes de yersiniosis, que indicaron su aparición mundial, durante el año de 1980 se efectuaron estudios definitivos para su determinación bioquímica (53).

En 1981 en el estado de Guerrero se realizaron pruebas experimentales de evolución de Y. pseudotuberculosis en cobayos, se inocularon bacterias por vía intraperitoneal para observar las lesiones producidas. Existen pocos estudios, pero en los últimos años se han llevado a cabo, principalmente a partir de alimentos (4, 5, 22, 30, 33)

En 1987, se realizaron estudios en México para el aislamiento de Y. enterocolítica a partir de muestras de heces diarréicas de niños menores de 12 años (42)

En 1991, durante el Congreso Nacional de Microbiología, en Acapulco, Guerrero se expusieron trabajos sobre el aislamiento y recuperación de Y. enterocolítica a partir de mariscos y helados comerciales (4, 22)

Durante el mismo año en la Reunión Anual de Microbiología e higiene de los alimentos en Guadalajara, Jalisco, se expusieron trabajos experimentales sobre la recuperación de Y. enterocolítica a partir de leche bronca y leche pasteurizada (4, 5, 22, 33)

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las enfermedades gastrointestinales presentes en la explotación porcina aumentan su frecuencia por condiciones sanitarias, nutricionales y manejo deficientes que han permitido la evolución de microorganismos bacterianos desconocidos para los Médicos Veterinarios dedicados a la clínica.

Las diarreas representan uno de los primeros lugares entre los problemas infecciosos de los cerdos en el estado de Jalisco, debido a éste padecimiento en los cerdos y el desconocimiento de las etiologías específicas que las causan; los porcicultores utilizan bactericidas parenterales u orales para destruir al agente etiológico, lo cual solo contribuye a elevar sus costos de producción sin solucionar el problema.

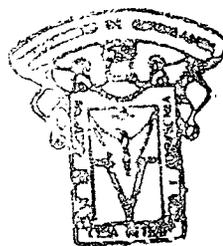
JUSTIFICACION

## JUSTIFICACION

En México se desconocen los efectos clínicos que causa el Genero Yersinia a la especie porcina, debido a la poca información y por falta de investigación de ésta bacteria que causa gastroenteritis y diarrea de tipo sanguinolento al cerdo.

El conocimiento de los agentes infecciosos de las diarreas de los cerdos mediante la investigación ayudará a evitar el uso indiscriminado de drogas bactericidas en tratamientos al azar, Y disminuir pérdidas económicas por alta mortalidad, retraso en el crecimiento, mala conversión alimenticia, reducir tiempo al mercado y gastos extras por tratamientos inadecuados además de provocar resistencia a los antibióticos.

H I P O T E S I S



OFICINA DE  
DIFUSIÓN CIENTÍFICA

## HIPOTESIS

El tratar de aislar Yersinia a partir de heces de cerdo y su determinación mediante pruebas específicas podría suponer la patogenicidad de éstas y su consideración en problemas entéricos de los cerdos.

OBJETIVOS

## OBJETIVOS

### General:

Aislar e identificar el genero Yersinia y demostrar los factores de virulencia a partir de diarreas en cerdos.

### Particular.

- 1.- Conocer nuevas etiologías de las diarreas del cerdo.

MATERIAL Y METODOS

## MATERIAL Y METODO

Se muestrearon 100 cerdos al azar entre el primero y cuarto mes de edad, con diarrea, sin previo tratamiento de una granja localizada en el municipio de Lagos de Moreno, Jalisco, la recolección de las heces se realizó por estimulación fecal; al introducir el dedo en el recto para recibir las heces diarréicas en un frasco de boca ancha con medio de transporte de Stuart estéril. Posteriormente se trasladaron en termo con refrigerantes a una temperatura de 4 a 7 grados centígrados y se trabajaron en el laboratorio de Bacteriología de la sección "A" del Departamento de Medicina y Salud Pública de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de Guadalajara.

Las heces diarréicas se sembraron en caldo Mc Conkey con cloruro de sodio 5%, taurocolato de sodio 5%, de acuerdo a la metodología propuesta en el manual para la identificación de Bacteriología (15), se incubaron a temperatura de 25 oC por 48 - 72 horas, posteriormente se realizó una resiembra por duplicado en Agar Mc Conkey y Agar Mc Conkey carbenicilina (4, 5, 34, 42). Se incubaron a 25 oC en un ambiente aerobio por 48 - 72 horas.

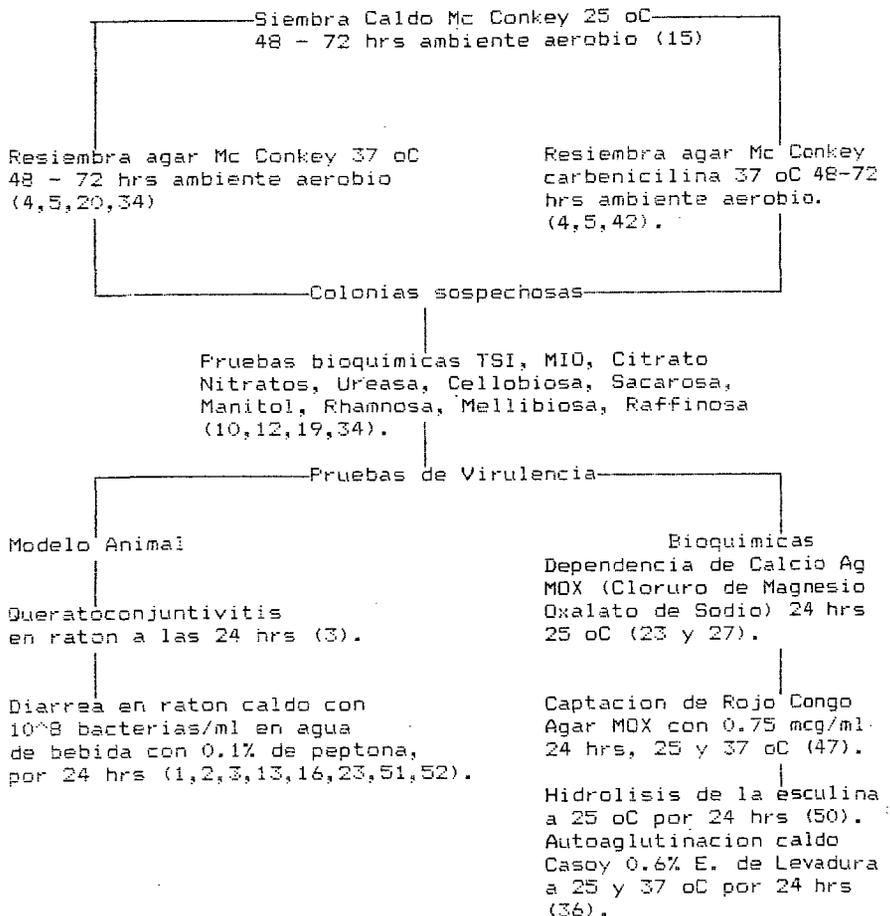
Las colonias sospechosas se identificaron de acuerdo a los esquemas bioquímicos propuestos por Carter (12), Bergeys (34), Lennette (19), Burrows (10). Las bacterias que presentaron la identificación bioquímica del género Yersinia se les determinaron los factores de virulencia los que fueron: la prueba de autoaglutinación en caldo Casoy con 0.6% de extracto de levadura por 24 horas a 25 y 37 oC de acuerdo al

método propuesto por Laird y Cavanaugh (36), Kapperaud y colaboradores (33), dependencia de calcio del género Yersinia en Agar Mox (Cloruro de magnesio - oxalato de sodio) por 24 horas a 25 oC descrito por Higuchi y Smith (23, 27) captación de rojo congo en agar Mox (cloruro de magnesio - oxalato de sodio) con 0.75 mcg de rojo Congo por ml a 25 y 37 oC por 24 horas y observar colonias rosa en núcleo y transparentes en la periferia (47), hidrólisis de la esculina a 25 oC por 24 horas (30), producción de enterotoxinas, por inoculación de una gota de caldo Casoy con 0.6% de extracto de levadura con 10 bacterias por ml en un ojo a ratones y observar a las 24 horas queratoconjuntivitis (5, 16, 17, 24). Producción de diarrea en ratones Swiss albino ICR de 20 - 22 gr sin agua por 24 horas para luego inocularles 0.5 ml de caldo Casoy con 0.6% de extracto de levadura con 10<sup>8</sup> bacterias por ml en 100 ml de agua con 0.1% de peptona como agua de bebida por 24 horas y observar signos de diarrea (1, 2, 3, 13, 14, 34, 44, 51, 52)

Se realizó un análisis estadístico de los resultados basado en  $X^2$  para comprobar la hipótesis.

## DIAGRAMA DE FLUJO

Heces diarreicas



## RESULTADOS

## RESULTADOS

Se procesó en el laboratorio un total de 100 muestras de las cuales 8 resultaron positivas, la mayor parte de las muestras positivas se obtuvieron 6 del área de desarrollo y 3 del área de destete.

Se aisló un total de 5 cepas de Yersinia enterocolítica y 4 cepas de Yersinia pseudotuberculosis. Se obtuvo un total de 9 cepas a partir de 8 muestras debido a que una de ellas, fue positiva a Y. enterocolítica y también a Y. pseudotuberculosis ( 90 car ). cuadro ( 1 y 2 ).

Estas 8 muestras representan el 8% del número total de muestras trabajadas en el laboratorio. ( Cuadro 3,  $P < 0.05$  ).

Las especies aisladas en el presente trabajo fueron unicamente Y. enterocolítica, y Y. pseudotuberculosis.

### PRUEBAS DE PATOGENICIDAD EN RATONES SWISS ALBINO ICR:

Y. enterocolítica. Resulto ser patógena en un 100% ya que produjo, signos de diarrea y conjuntivitis. Estas cepas resultaron positivas a varias pruebas de virulencia. Cuadro ( 1 ). La cepa ( 63 car ), provocó la muerte de un ratón a las 24 Hrs. de inoculación y presentó su plasmido "VW"

Y. pseudotuberculosis. Demostró menos capacidad patógena ya que solo una cepa produjo signos de diarrea y conjuntivitis, mientras que dos mas solo produjeron una signos de diarrea y la otra solo conjuntivitis. Estas cepas demostraron menos características asociadas a la enteropatogenicidad y enterotoxigenicidad. Cuadro ( 2 ).

## NECROPSIA A RATONES:

Estomago: Con gas, Hemorrágico, Adeherencias. Heces amarillentas con Mucosidad.

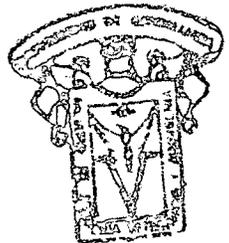
Intestino: Enteritis, Hemorrágico, Heces amarillentas verdoso con Moco y Mucosa.

Bazo: Esplecnitis y congestionado.

Ganglios Linfaticos Mesentericos: Linfadenitis.

## HISTOPATOLOGICO:

Enteritis Mononuclear, Degeneración Mucosa Moderada, Congestión y Hemorragias Discretas con Atrofia de Velloosidades. Membranas Diftéricas con Bacterias Cocoides y Bacilas abundantes, Esplecnitis Necrótica, Hiperplasia Discreta Nodular, Congestión y Hemorragias Discretas.



OFICINA DE  
SANIDAD CIENTÍFICA

CARACTERISTICAS ASOCIADAS A VIRULENCIA Y ENTEROTOXIGENICIDAD DE LAS CEPAS DE YERSINIA AISLADAS A PARTIR DE HECEAS DIARREICAS DE CERDOS.

CUADRO 1 YERSINIA ENTEROCOLITICA								
No. DE CEPA	DEPENDENCIA DE Ca <sup>2+</sup>	A. A.		PRUEBA DE SERENY	CAPTACION ROJO CONGO		HIDROLISIS ESCULINA	SIGNO DIARREA
		25oC	37oC		25oC	37oC		
26 MAC	-	+	-	+	-	+	-	+-
63 CAR	+	+	-	+	+	+	-	+
84 MAC	-	-	+	+	-	+	+	+
90 CAR	-	-	-	+	-	+	+	+
92 CAR	-	-	-	+	-	-	-	+

CUADRO 2 YERSINIA PSEUDOTUBERCULOSIS								
No. DE CEPA	DEPENDENCIA DE Ca <sup>2+</sup>	A. A.		PRUEBA DE SERENY	CAPTACION ROJO CONGO		HIDROLISIS ESCULINA	SIGNO DIARREA
		25oC	37oC		25oC	37oC		
25 MAC	-	-	-	+	+	+	-	-
44 MAC	-	-	-	-	-	+	-	+
65 CAR	-	-	-	-	-	-	-	-
90 CAR	-	-	-	+	+	+	+	+

A. A = AUTO AGLUTINACION  
 CAR = CARBENICILINA  
 MAC = MACCONKEY

CUADRO 3 ANALISIS ESTADISTICO			
N	MUESTREO	MUESTRAS	
		POSITIVAS	NEGATIVAS
20	1	-	20
20	2	2	18
20	3	1	19
20	4	2	18
20	5	3	17

$V = 5-1 = 4$  GRADOS DE LIBERTAD

$X^2$  ES LA DIVERGENCIA ENTRE DOS SERIES DIFERENTES.

SI LA DIVERGENCIA ES INFERIOR AL LIMITE ( COEFICIENTE DE SEGURIDAD )  
ES DEBIDO AL AZAR = NO ES SIGNIFICATIVO

SI LA DIVERGENCIA ES SUPERIOR AL LIMITE NO ES DEBIDO AL AZAR = ES  
SIGNIFICATIVO.

RESULTADO:

4 GRADOS DE LIBERTAD = 0.05 = 9.49 ( COEFICIENTE DE SEGURIDAD )

$X^2 = 3.53$  NO ES SIGNIFICATIVO. FUE AL AZAR.

D I S C U S I O N

## DISCUSION

Reportes de trabajos publicados en ( 1987, 1990 y 1991 ) señalan que el género Yersinia se encuentra en el cerdo de forma saprofítica y que en situaciones de stress puede causar problemas de tipo digestivo. En el presente trabajo se logró comprobar la presencia de este género bacteriano a partir de heces diarreicas de cerdos, lo cual indica la posibilidad de determinar que este género concretamente *Y. enterocolitica* es causante de gastroenteritis en el cerdo. (37, 49, 53) .

Un estudio publicado en ( 1986 ), señala que Yersinia se encuentra en intestino de animales sanos de 2 - 5 % y en heces de animales sanos en 1.7 % , es importante señalar que no sabe en cuantas granjas se realizó este estudio. Este trabajo fue realizado en una sola granja y se logró aislar un 8 % lo que demuestra mayor presencia de este microorganismo en los problemas diarreicos del cerdo por lo que se puede determinar su participación en ellos. (12, 31) .

Mediante la prueba de dependencia de Calcio se determina la presencia del plasmido "VW", si el plasmido esta presente no hay crecimiento en el medio lo cual indica la dependencia de Calcio de las colonias que carecen de su plasmido. En este trabajo se obtuvo una cepa con la presencia de su plásmido.

(23) .

La patogenicidad de este género bacteriano no es determinada por un solo factor de virulencia como es el caso del plásmido "VW" estos microorganismos cuentan con otros factores de virulencia como se señala en los cuadros ( 1 y 2 ), además su patogenicidad también esta asociada al serotipo de la cepa que se trate y a la zona geográfica donde se encuentre. La mayoría de las cepas aisladas en el presente trabajo carecieron del plásmido "VW" y fueron patógenas para animales de laboratorio, ratones Swiss Albino ICR.

(1, 37, 38, 54 )'

## CONCLUSIONES

## CONCLUSIONES:

- 1.- Se comprobó la presencia de dos especies del género Yersinia a partir de heces diarreicas de cerdo, lo cual determina la actividad patógena de estos microorganismos en los problemas digestivos de los cerdos.
- 2.- Las cepas de *Y. enterocolítica* resultaron ser más patógenas que las de *Y. pseudotuberculosis* para ratones Swiss Albino ICR. También mostraron más características asociadas a la virulencia y enterotoxigenicidad que las cepas de *Y. pseudotuberculosis*.
- 3.- Los resultados de esta investigación son similares a los obtenidos en otras investigaciones. *Y. enterocolítica* se aisló en un 5 % y *Y. pseudotuberculosis* en un 3 % .
- 4.- Aunque en el análisis estadístico los resultados del trabajo no fueron significativos, es importante tomar en cuenta las características y el tipo de bacteria ya que puede asociarse a otras enterobacterias y virus y provocar cuadros clínicos graves con un impacto económico significativo.

## ANEXO 1

CARACTERISTICAS BIOQUIMICAS DE Y. ENTEROCOLITICA Y DE  
Y. PSEUDOTUBERCULOSIS. BIBLIOGRAFIA CONSULTADA ( 10,12,19,34 )

PRUEBA BIOQUIMICA	Y. ENTEROCOLITICA	Y. PSEUDOTUBERCULOSIS
TSI	+	+
MIO	+	-
CITRATO	-	-
NITRATOS	* +	+
UREASA	+	+
CELLOBIOSA	+	-
SACAROSA	* +	-
MANITOL	+	+
RHAMNOSA	-	+
MELLIBIOSA	-	+
RAFFINOSA	-	-

\* VARIABLE

## ANEXO 2

## RESULTADOS OBTENIDOS EN EL LABORATORIO

PRUEBA BIOQUIMICA	No. DE MUESTRA DE Y. ENTEROCOLITICA					No. DE MUESTRA DE Y. PSEUDOTUBERCULOSIS			
	26	63	84	90	92	25	44	65	90
TSI	+	+	+	+	+	+	+	+	+
MIO	+	+	+	+	+	-	-	-	-
CITRATO	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NITRATO	+	+	+	+	+	+	+	+	+
UREASA	+	+	+	+	+	+	+	+	+
CELLOBIOSA	+	+	+	+	+	-	-	-	-
SACAROSA	*+	*+	*+	+	+	-	-	-	-
MANITOL	+	+	+	+	+	+	+	+	+
RHAMNOSA	-	-	-	-	-	+	+	+	+
MELLIBIOSA	-	-	-	-	-	+	+	+	+
RHAFFINOSA	-	-	-	-	-	-	-	-	-

\* VARIABLE

B I B L I O G R A F I A

## BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Aulisio C.C.G., Hill W.E. Stansfield J.T. and Morris J.A. Pathogenicity of Yersinia enterocolitica demonstrated in the suckling mouse. J. Food.Prot. 46.: pp 856 (1983).
- 2.- Aulisio C.C.G., Hill W.E. Stansfield J.T. and Sellers R.L. Evaluation of virulence factor testing and characteristic of pathogenicity in Yersinia enterocolitica. Infect.Immun. 40: pp 330.(1983).
- 3.- Aulisio C.C.G., stansfield J.T. Weagant S.D. and Hill W.E Yersiniosis associated with totu consumption serological, biochemical and pathogenicity studies of Yersinia enterocolitica isolates. J. Food.Prot. 46: pp 226 - 230 (1983).
- 4.- Baez J.G., Amador L.R. Quiñones R.E.I. y Rodríguez M.R. Recuperación de Yersinia enterocolitica a partir de alimentos. Memorias del XXII Congreso Nacional de Microbiología Acapulco Guerrero, México pp M.B. (1991)
- 5.- Baez J.G., Amador L.R. Quiñones R.E.I. y Rodríguez M.R. Recuperación de Yersinia enterocolitica a partir de leche. Memorias del XXII Congreso Nacional de Microbiología, Acapulco Guerrero, México pp 47, B 1 - 6 (1991)

- 6.- Ballows A., William J., Hausler J.R., Keneth L., Herrman H., Henry D., Isenberg H. and Shadomy J. Manual of Microbiology 15th. Amerivan Society for Microbiol. Washington D.C. pp 360 - 381 (1991)
- 7.- Bukdln G., rapperud D. and Skurnic M Genetic evidence that YOP a gene - encoded Yersinia outer membrane protein YOP4 mediates inhibition of the anti invasive effect of interferon. Infect.Immun. 58: (7): pp 2245 - 2250 (1990)
- 8.- Bundle, R. D., Gidney. J. M. A., perry, B.M., Duncan, J.R. and Cherwonogrodzky J.W.: Serological confirmation of Brucella abortus and Yersinia enterocolitica O9 O antigens by monoclonal antibodies. Infect.Immun. 46: (2) pp 389 - 393 (1984)
- 9.- Brubaker R.R. factors promoting acute and chronic diseases caused by Yersinia Clin.Microbiol. Rev 4: (3) pp 304 - 324 (1991)
- 10.- Burrows B.A. and Freeman F. Text book of Microbiology 20th. Chapter 23. W.B. Sanders Company. Pa. U.S.A. pp 501, 582, 583, 584, 591, 592 (1979).

- 11.- Carnel E., Dean C.A., Guiyoule A. and Mollares H.H.  
Purification, location and immunological characterization  
of the iron regulated high mollecular weight proteins of  
the highly pathogenic Yersinia Infect.Immun. 57: (2) pp 540  
- 545 (1989)
  
- 12.- Carter G.R. and Dum M. Diagnostic procedures in  
veterinary Bacteriology and Micology. 4th. Charles C.  
Thomas Publisher Springfield Ill. U.S.A. pp 16 - 17  
(1984).
  
- 13.- Carter P.B., Varga C.F. and Keet E.E. New strain of  
Yersinia enterocolitica pathogenic for rodents. Appl.  
Microbiol. 26: pp 1016 (1973).
  
- 14.- Christensen S.G. Yersinia enterocolitica in danish pigs.  
Denmark J. Appl. Bacteriol. 48: pp 377 (1980).
  
- 15.- Cowan Y.K. and Steels J. Manual para la identificación de  
bacterias de importancia médica. 3era edición. C.E.C.S.A.  
México. pp 205 - 208 (1985).
  
- 16.- Dean A.G., Ching Y., Willias R.G. and Hardén L.B. Test  
for Eschericha coli entrotoxin using infant mice.  
Application in a studie of diarrhea in children in  
Honolulu. J. Infect.Dis. 125: pp 407 - 411 (1972)

- 17.- Delor I., Kaeckembeecr A., Wauters G. and Guy R.C.  
Nucleotid sequence of Yst the Yersinia enterocolitica gene encoding the heat stable enterotoxin and prevalence of the gene amony pathogenic and nopathogenic Yersinia.  
Infect. Immun. 58: (9) pp 2983 - 2988 (1990)
- 18.- Doyle M.D.J., Brenner J., Ursing A.G., Steimger W., Faning G.R. and Alonso J.H. Characterization of Yersinia enterocolitica from porcine tongues Appl Ed Carter G.R. and Mullart H.H. U.S.A. pp 522 - 527 (1980).
- 19.- Edwin H., Lennete B., ballows A., William J., Hausler J.R. and Joseph P.T. Manual of clinical Microbiology 30Th. American Society for Microbiology. U.S.A. pp 146, 197, 213. (1980)
- 20.- Escudero M.C., Eiguier T., Caffer M.I., Fronchrowsky B., Fernandez C.M. y Stefanni de Guzman A.M. Cepas de Yersinia enterocolitica de origen bovino aisladas en San Luis Argentina: Virulencia, enterotoxigenicidad y sensibilidad a antibióticos.  
Rev. Lat - Amer. Microbiol. 33: pp 121 - 125 (1991).
- 21.- Fernández L.L., Santoyo F.J., Vizcaino N. and Chokmi A.  
Class specific Immune Response to Yersinia enterocolitica Serotype 09 antigens as determinated by enzyme linked immunoabsorbent assay. J. Clinic. Microbiol. 29: (6) pp 1243 - 1248 (1991).

- 22.- Gaona R.R.E., Morales E.M. y Quiñones R.E.I. Comparación de dos técnicas para recuperación de Yersinia enterocolitica en Ostiones. Resúmenes de la IV Reunión Anual de Microbiología Sanitaria del agua y los alimentos Guadaluajara, Jal. Mex. pp 9, 2 - 3 (1983).
- 23.- Gemski P.J.R., Lazare R. and Casey T. Plasmid associated with pathogenicity and calcium dependency of Yersinia enterocolitica Infect.Immun. 27: pp 682 - 684 (1980).
- 24.- Guzman A.M.S.B., Micalizzi N.B.B., Pederiva C.E., Torres P., Eiger T. y Gimenez D.F. Virulencia y enterotoxigenicidad de Yersinia enterocolitica aislada de alimentos y otros materiales biológicos. Rev. Arg. Microbiol. 17: pp 195 - 201 (1985).
- 25.- Hanski C.U., Kutschka H.P., Moranzer S.C.H., Naumann M., Stallina Ch., Hann H., Menge H. and Riecken E.O. Immunohistochemical and electron microscopic study of Yersinia enterocolitica serotype 08 with intestinal mucosa during experimental enteritis. Infect.Immun. 57: (3) pp 673 - 678 (1989)
- 26.- Hanski C.M., Haumann A., Grutzkau G., Pluschke B. Friederich H. and Riecken M.O. Humoral and cellular defense against intestinal murine. Infect.Immun. 59: (3) pp 1106 - 1111 (1991).

- 27.- Higuchi K. and Smith J.L. Studies of the nutrition and physiology of Pasteurella pestis VI. A differential plating medium for the estimation of the mutation rate to avirulence J. Bacteriol. 81: pp 605 - 608 (1961).
- 28.- Hiroshi F., Tomico S., Ren M. and Isamu T. Acute mesenteric lymphadenitis due to Yersinia pseudotuberculosis lacking a virulence plasmid. J. Clin. Microbiol. 29: pp 1271 - 1275 (1991).
- 29.- Hiobo I., Mimeo Y., Hiroshi F., Seiji K. and Tsutomu M., First isolation of Yersinia enterocolitica serotype 0:8 in Japan. J. Clin. Microbiol. 29: (4) pp 846 - 847 (1991).
- 30.- Illades A.B. y Morales C.A. Algunos estudios de las lesiones producidas en cobayos por Yersinia pseudotuberculosis. Resúmenes del XII Congreso Nacional de Microbiología. Mérida, Yucatán, México. pp 9. (1981).
- 31.- Jacques M. Compendio de Bacteriología Médica Veterinaria. Ed Acribia S.A. España. pp 33 - 38. (1986).
- 32.- Jurgen M., Algermissen B. and Rainer L. Genetically manipulated virulence of Yersinia enterocolitica. Infect. Immun. 46: (1) pp 105 - 110 (1984).

- 33.- Kapperaud G.E., Namork and Skarped H.J. Associated with the virulence plasmid of Yersinia enterocolitica and Yersinia pseudotuberculosis. Infect. Immun. 47: pp 561 - 566 (1985).
- 34.- Krieg R.M. and John G.H. bergeyis Manual of systematic bacteriology. Ed Board. U.S.A. 1: pp 498 - 506 (1984).
- 35.- Lachica R.V., Zink D.L. and Ferris W.R. Association of febril structure formation with cell surface properties of Yersinia enterocolitica. Infect. Immun. 46: (1) pp 272 - 275 (1984).
- 36.- Laird W.J. and Cavanaugh D.C. Correlation of autoagglutination and virulence of Yersiniae. J. Clinic. Microbiol. 11: pp 430 - 432 (1980).
- 37.- Lisa A.L. Russell G.A., Conaway R., David J., Smith D., Carter D.G., Puhn D.M., Parris M.C., Keith S.R., Fimton J.R. and Tauxe V.R. Yersinia enterocolitica 0:33 infection in infants and children associated with the household. The New England J. Medecine. 1: (19) pp 981 (1990).

- 38.- Mazing H.D., Alonso J.M. and Mollaret H.M., Simple methods for demonstration of differential colony morphology of plasmid - associated virulent clones of Yersinia enterocolitica. J.Clinic.Microbiol. 17: pp 355 (1983).
- 39.- Michael P. and Doyle Il. Pathogenic Eschericha coli, Yersinia enterocolitica and Vibrio parahemolyticus. Food Borne Ill. U.S.A. V336 5: pp 1111 (1990)
- 40.- Miller L.V., Farmer J.J. Walter E.M. and Stanley F. The aiL locus is found uniquely in Yersinia enterocolitica serotypes commonly associated with diseases. Infect.Immun. 57: (1): pp 121 - 130 (1989).
- 41.- Mulder B., Michels T., Simonet M., Sory M.D. and Guy G. Identification of additional virulence determinants of the PYv plasmid of additional enterocolitica W. 227. Infect. Immun. 57: (8) pp 2534 - 2541. (1989).
- 42.- Najera G.M.C. y García G.R. Yersinia enterocolitica, aislamiento a partir de meuestras de niños con diarrea. Resúmenes del XVIII Congreso nacional del Microbiología. Acapulco Guerrero, México pp 60 (1987).
- 43.- Organización Panamericana de la Salud Enterocolitica Yersiniosis (027.8) O.P.S. México. pp 81 - 86 (1984).

- 44.- Pal C. H., Mors C.V. and Seemaye T.A. Experimental Yersinia enterocolitica enteritis in rabbits. Infect. Immun. 28: pp 238 (1980).
- 45.- Pisarenco N.I., Kutsevalov S.I. and Protsenko S.L. Properties of Yersinia enterocolitica isolates from sheep. Moskva URRS. Vet. Bull. 61: (1) pp Capítulo completo. (1991).
- 46.- Portonoy D.A., Moseley S.L. and Falkow S. Characterization of plasmid and plasmid associated determinants of Yersinia enterocolitica pathogenesis. Infect. Immun. 31: pp 775 (1981).
- 47.- Prpic J.R., Robins - Bowne R.M. and Davey R.B. Differentiation between virulent and avirulent Yersinia enterocolitica isolates by using Congo Red. J. Clin. Microbiol. 18: pp 486 - 490 (1983).
- 48.- Rosquist R., Bolin I. and Hans W.W. Inhibition of phagocytosis in Yersinia pseudotuberculosis, a virulence plasmid encoded Ability involving the YOP2b protein. Infect. Immun. 56: (8); pp 2139 - 2143 (1988).
- 49.- Scalan M.C., Introducción a la Bacteriología Veterinaria. Acribia. España. pp 121 - 122 (1991).

- 50.- Schiemann D.A. and Devenish J.A. Virulence of Yersinia enterocolitica determined by lethality in mongolian gerbils and the serenity test. Infect.Immun. 29: pp 500 (1980).
- 51.- Schiemann D.A., Devenish J.A. and Toma S. Characteristic of virulence in human isolates of Yersinia enterocolitica. Infect.Immun. 32. pp 400 (1981).
- 52.- Scheimann D.A. and Devenish J.A. Relationship of Hela Cell infectivity to biochemical serological and virulence characteristic of Yersinia enterocolitica. Infect.Immun. 35: pp 497 (1982).
- 53.- Schiemann D.A. Yersinia enterocolitica in milk and dairy products symposium. Health related aspects of milk and milk products. J. Dairy. Sci. 70: pp 383 - 385 (1987).
- 54.- Sory M.D., Hermand P., Pierre V. and Guy R.C. Oral immunization of mice with a live recombinant Yersinia enterocolitica 0:9 strain that produces the cholera toxin B subunit. Infect.Immun. 58: (8) pp 2420 - 2428 (1990).
- 55.- Suárez Q.M.L., Chavez A.P. y González R.O. Sobrevivencia de Yersinia enterocolitica en ostión (Grasotreta virginica) Resúmenes del XXII Congreso Nacional de Microbiología. Acapulco Guerrero México. pp M3 (1991).

- 56.- Wauteis G. Carriage of Yersinia enterocolitica serotype 3 by pigs as a source of human infection. Contrib. Microbiol.Immun. 3: pp 249 (1979).
- 57.- Wetzeler F.T. Yersinia pseudotuberculosis bacterial Rickettsial and micotic diseases. Chapter 21 part 2. U.S.A. pp 224 - 235 (1978).