

VALORACIÓN DE LA UTILIDAD DE LA TOXINA BETA-2 COMO MARCADOR DE VIRULENCIA EN AISLADOS DE *Clostridium perfringens* DE ORIGEN PORCINO.

Puente H., Brossa M., Gómez-García M., Mencía-Ares O., Argüello H., Rubio P., Carvajal A.

Departamento de Sanidad Animal, Universidad de León, León, España

INTRODUCCIÓN

- Bacilos Gram positivos, anaerobios, esporulados y móviles
- Capaces de producir 4 toxinas principales (alfa, beta, épsilon e iota)
- Porcino *C. perfringens* A y C

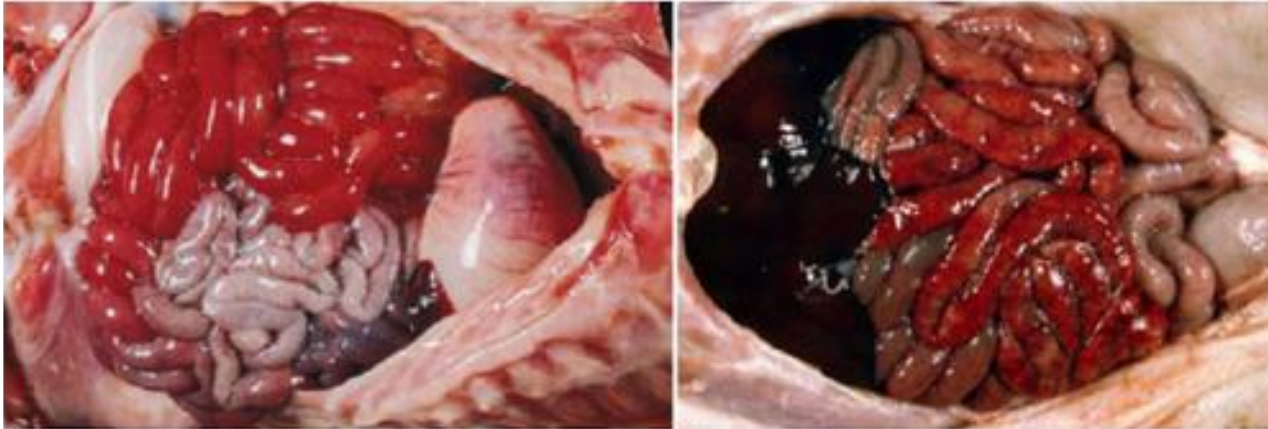
Toxinotipos	Toxinas principales
C. perfringens tipo A	Alfa
C. perfringens tipo B	Alfa, beta y épsilon
C. perfringens tipo C	Alfa y beta
C. perfringens tipo D	Alfa y épsilon
C. perfringens tipo E	Alfa e iota

TOXINAS SECUNDARIAS:

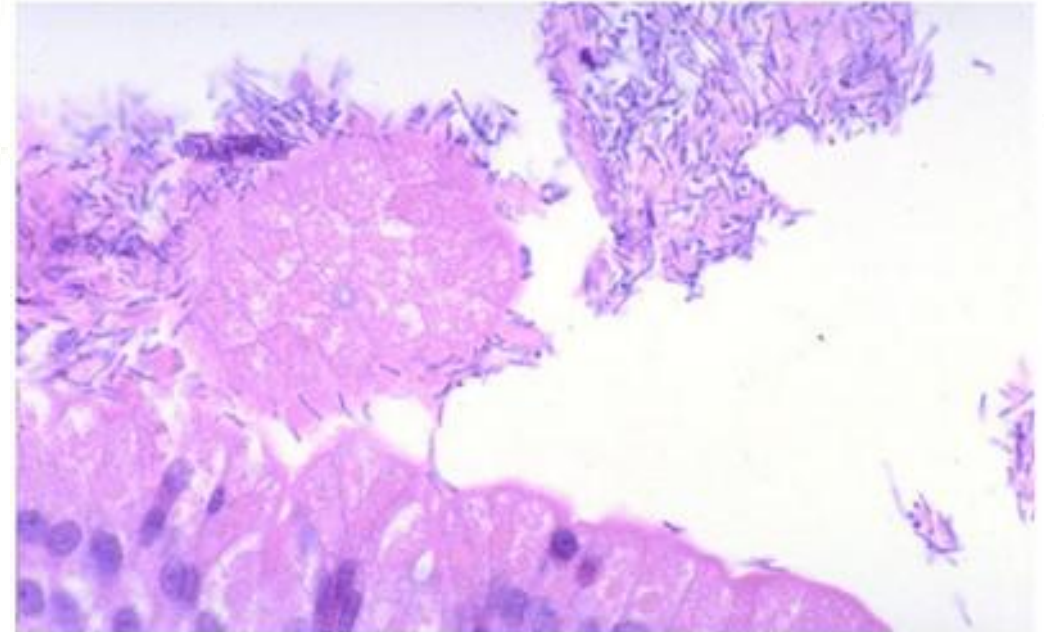
Beta-2, enterotoxina, TpeL, NetB, BecA/B, NetF, NetG, NanI, NanJ, Kappa, mu, lambda, clostripain y delta.

INTRODUCCIÓN

- *C. perfringens* tipo C ☑ Lesiones patognomónicas (toxina beta)
- *C. perfringens* tipo A ☑ Signos y lesiones inespecíficas.
- Diagnóstico ☑ Complejo



Enteritis hemorrágica asociada a *C. perfringens* tipo C



Intestino delgado de un lechón con diarrea asociada a una infección por *C. perfringens* tipo A

INTRODUCCIÓN

- *Cpb2* codifica beta-2
- ¿Presencia de *Cpb2* enteritis asociada a *C. perfringens* tipo A?



OBJETIVOS

Valoración de la toxina beta-2 como posible marcador de virulencia

- Puesta a punto de PCR convencional
- Puesta a punto de PCR múltiplex
- Determinación de la prevalencia de *Cpb2*

MATERIAL Y MÉTODOS

51 aislados de *Clostridium perfringens*



Obtenidos de brotes de diarrea en lechones de 3 a 28 días

25 aislados controles

Se alcanzó un diagnóstico etiológico (*E. coli* ETEC, *Clostridium difficile*, Rotavirus A o C)

26 aislados casos

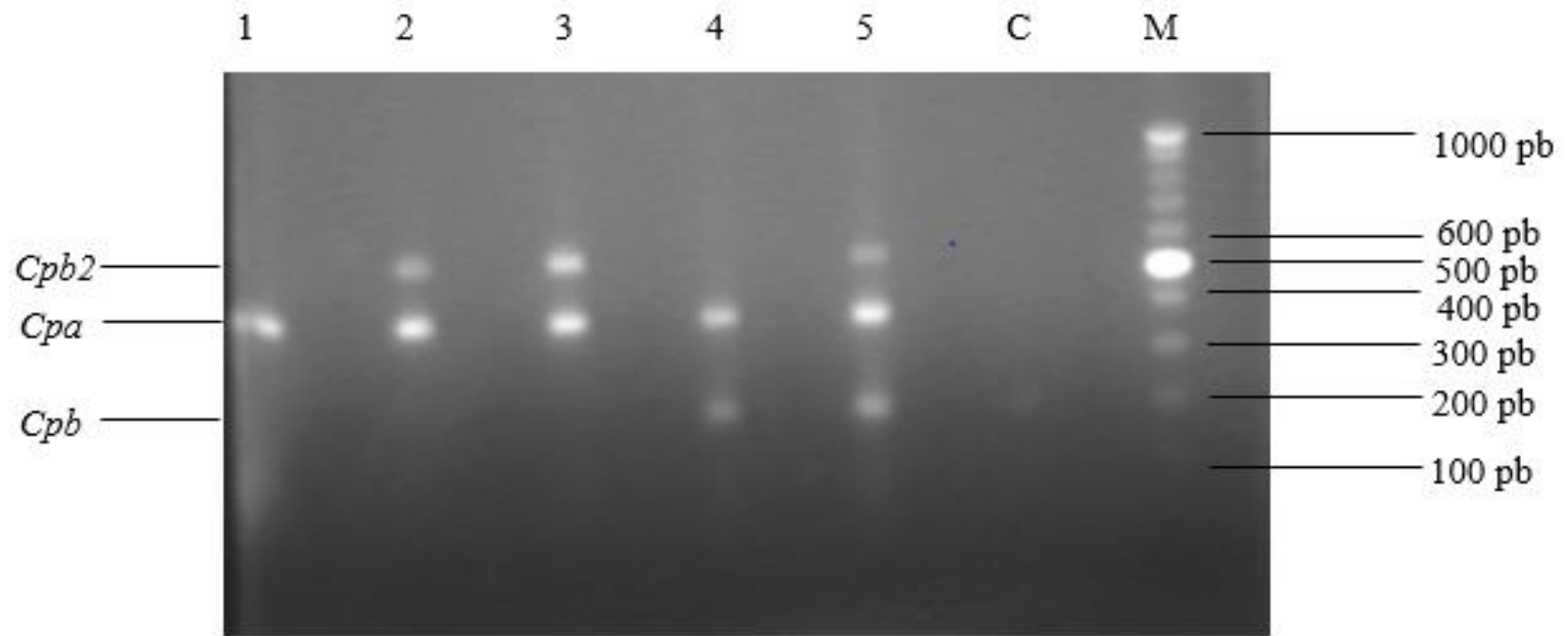
No se encontró otro agente etiológico responsable

MATERIAL Y MÉTODOS

Nombre	Secuencia 5'↗3'	Tamaño (pb)	Toxina	Referencia
CPA-Forward	TGCATGAGCTTCAATTAG	382	Alfa	(Heikinheimo y Korkeala, 2005)
CPA-Reverse	TTAGTTTTGCAACCTGCTGT			
CPB-Forward	GCGAATATGCTGAATCATCTA	196	Beta	(Wu <i>et al.</i> , 2009)
CPB-Reverse	GCAGGAACATTAGTATATCTTC			
CPB2-Forward	AAATATGATCCTAACCAAM ^a AA	548	Beta2	(Van Asten <i>et al.</i> , 2009)
CPB2-Reverse	CCAAATACTY ^b TAATYGATGC			

^a M = A o C; ^b Y = C o T

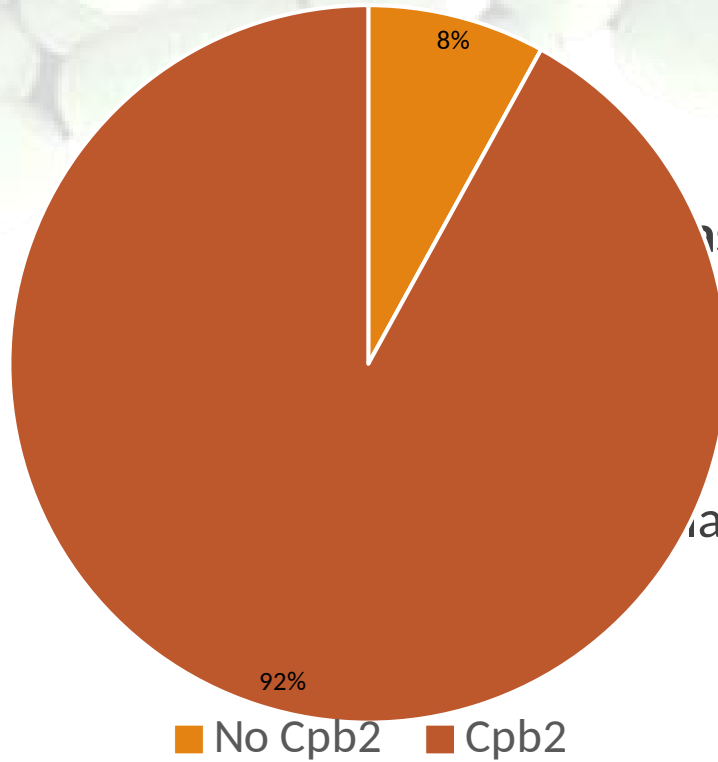
MATERIAL Y MÉTODOS



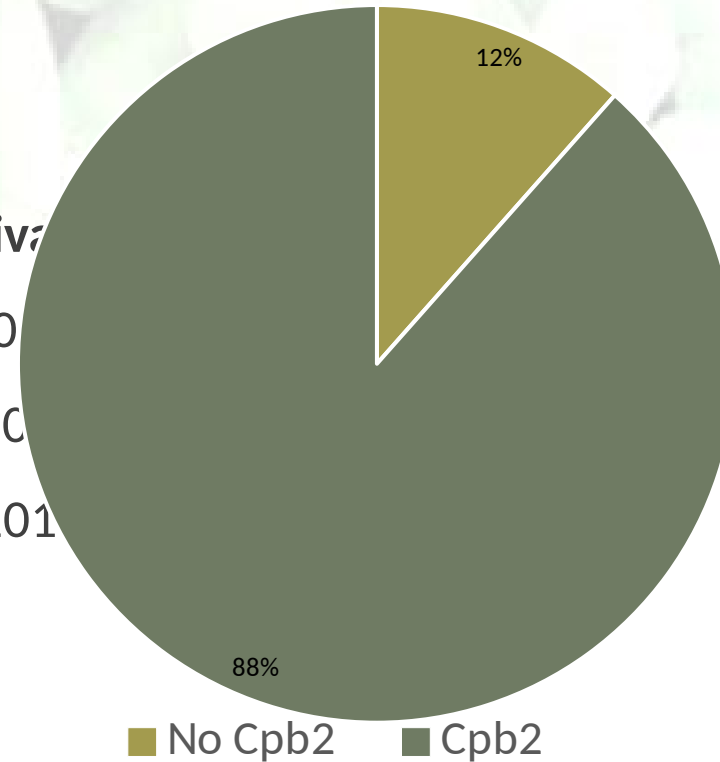
PCR convencional para la detección de *Cpb2*
PCR multiplex para la detección de *Cpa*, *Cpb* y *Cpb2*

RESULTADOS

Controles



Casos



ns significativa
gi et al., 20
an et al., 20
aart et al., 201

CONCLUSIONES

- Los resultados obtenidos permiten concluir que la presencia del gen que codifica la toxina beta-2 en aislados de *C. perfringens* en el contenido intestinal o en las heces tiene un limitado interés en el diagnóstico etiológico de la enteritis neonatal porcina, siendo cuestionable su utilidad como marcador de virulencia.

CONCLUSIONES

- A pesar de que consideramos que la detección de beta-2 tiene limitado interés diagnóstico, el uso sistemático de la PCR múltiple puesta a punto en este trabajo puede ayudar a estudiar el papel potencial de la toxina en la etiología de los brotes entéricos proporcionando además información de interés como cambios en la prevalencia de este gen en diferentes regiones o a lo largo del tiempo.

GRACIAS POR SU
ATENCIÓN



hpuef@unileon.es