

ESTUDIO DEL GENOTIPO DE CEPAS DE *Vibrio cholerae* O1 AISLADAS EN MEXICO

Guadalupe Rodríguez-Angeles¹, Pilar Torres¹, Iliana Cortés¹, Alejandra Moreno¹, Olga Arciniega², Pablo Aguilera¹, Rosa María, Ribas³, Silvia Giono³. 1) Laboratorios de Bacteriología Molecular y de Bacteriología Diagnóstica. InDRE. Carpio 470. Col. Sto Tomás. CP 11340. Fax 5-341-3264. 2)Depto de Morfología. ENCB. IPN, 3) Depto. de Microbiología ENCB. IPN. magraa_1999@yahoo.es.

Palabras clave: *Vibrio cholerae*, ribotipo, citotoxina.

Introducción. El principal mecanismo de patogenicidad de *Vibrio cholerae* O1 causante de cólera, es la toxina colérica (CT) pero también puede producir otras toxinas como la zonula occludens (ZOT) y ACE (1). Por otro lado los métodos moleculares como la ribotipificación y PCR-ERIC de *V. cholerae* O1 permiten estudiar su diversidad genética y relacionarla con el fenotipo (2,3).

Nuestro interés fue determinar la diversidad genética en cepas toxigénicas de *V. cholerae* aisladas en México.

Metodología. Se estudiaron 47 cepas de *V. cholerae* O1 aisladas de casos de cólera, seleccionadas por su capacidad toxigénica en células Vero. Se realizó ensayo de asa ligada de conejo para observar la patología causada por las toxinas. También se efectuó PCR para los genes de las toxinas: *ctxAB*, *zot* y *ace*.

La ribotipificación se hizo con sonda obtenida por transcripción reversa a partir de rRNA 16S+23S dando un patrón de bandas. La PCR-ERIC se realizó con un programa de amplificación de 35 ciclos obteniéndose múltiples fragmentos (3).

Resultados y discusión. Se observó efecto citotónico (CTN) como células alargadas, citotóxico (CTX) como células redondas/lisis y efecto vacuolizante (V). En asa ligada CT y ZOT causaron esfacelación, edema, hemorragia, necrosis y en 14/47 cepas se observó apoptosis. Los fragmentos de amplificación de *ctxA*, *ctxB*, *zot* y *ace* fueron de 540, 630, 1083 y 314 pb respectivamente, pero hubo 8 cepas que no amplificaron ningún gen. El cuadro 1 muestra el número de cepas y su ribotipo.

Cuadro 1. Correlación de efecto citopático y ribotipo.

EFECTO EN CELULAS VERO	RIBOTIPO		
	5	6a	OTRO
CTN	14	13	4
CTN-V	3	2	3
CTX	2	1	2
CTX-V	0	0	1

V	1	0	1
TOTAL	20	16	11

En PCR-ERIC se obtuvieron fragmentos entre 1,512 y 165 pb, que permitieron encontrar diferentes clonas (3).

Conclusiones. Se encontraron cepas con capacidad para producir toxina vacuolizante y apoptosis. Las 8 cepas que no amplificaron fragmentos de genes para CT, ACE y ZOT sugieren que el efecto que se observa en células se debe a otro mecanismo de patogenicidad como una citohemolisina. La ribotipificación y PCR-ERIC indican que en México además del ribotipo 5 y 6 a antes reportados, están presentes dos clonas mas y que el ribotipo 2 no se encuentra en la costa del Golfo, como lo está en Estados Unidos.

Bibliografía.

1. Kaper J, Levine M.1995. Cholera.Clin Microbiol. Rev. **8** (1):48-86.
- 2.Evins G. Cameron D, Wells J. 1994. Diversity of electrophoretic types of *Vibrio cholerae*. *J Infect Dis.* **172**(5):173-179.
3. Rivera I, Chowdhury M, Colwell R. 1995. Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus Secuencias and PCR for *V. cholerae* strains. *Appl Environ. Microbiol.* **60**(7):2898-2904