



Predicción molecular de serotipos de *Streptococcus suis* aislados de granjas porcinas en México



Arianna Romero Flores ^a

Marcelo Gottschalk ^b

Gabriela Bárcenas Morales ^a

Víctor Quintero Ramírez ^a

Rosario Esperanza Galván Pérez ^c

Rosalba Carreón Nápoles ^c

Ricardo Ramírez R. ^d

José Iván Sánchez Betancourt ^c

Abel Ciprián Carrasco ^a

Susana Mendoza Elvira ^{a*}

^a Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Cuautitlán Izcalli Estado de México, México.

^b University of Montreal. College of Veterinary Medicine. Canada. 3200 Sicotte, Saint-Hyacinthe, Québec, Canada.

^c Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Ciudad de México, México.

^d John Innes Centre, UK. Norwich Research Park Norwich, NR4 7UH, UK.

* Autor de correspondencia: seme_6@yahoo.com.mx

Resumen:

Las infecciones causadas por *Streptococcus suis* (*S. suis*) representan un problema para la industria porcina en todo el mundo. Los cerdos a menudo portan múltiples serotipos de *S. suis* en el tracto respiratorio superior, de donde *S. suis* se aísla con frecuencia. El diagnóstico clínico de la infección es presuntivo y generalmente se basa en signos clínicos, la edad del animal y lesiones macroscópicas. En el laboratorio, la identificación de *S. suis* se realiza bioquímicamente, y luego, se realiza la serotipificación con antisueros para determinar el serotipo, pero estas pruebas pueden no ser concluyentes. A la fecha, existen pocos estudios que han documentado la presencia y diversidad de serotipos de *S. suis* en México. En el presente estudio, se caracterizaron cepas de *S. suis* de granjas porcinas mexicanas utilizando enfoques moleculares; las muestras se procesaron primero mediante PCR del gen *gdh* para detectar *S. suis*. Después, las muestras positivas se sometieron a una PCR múltiple de dos pasos (PCR *cps*) para detectar y caracterizar cada cepa; el primer paso consistió en una PCR de agrupación y el segundo paso consistió en una PCR de tipificación. Los serotipos detectados en las áreas de cría de cerdos de México incluyeron 1/2, 2, 3, 5, 7, 8, 9, 17 y 23. Estos hallazgos son importantes para la caracterización de los serotipos presentes en México y para la prevención de brotes.

Palabras clave: PCR *gdh*, Granjas porcinas, Serotipos, *Streptococcus suis*.

Recibido: 21/04/2020

Aceptado: 04/12/2020

Introducción

Streptococcus suis (*S. suis*) es un patógeno importante en varios países de Europa, Asia y América. Esta especie bacteriana causa septicemia, meningitis, endocarditis, encefalitis y bronconeumonía en cerdos y es un agente zoonótico⁽¹⁾. La mayoría de los cerdos portan cepas de múltiples serotipos en sus tractos respiratorios superiores^(2,3). Los síntomas de la infección a menudo se encuentran en lechones a partir de las dos semanas de edad, pero son más comunes en cerdos recién destetados⁽⁴⁾. *S. suis* crece en placas de agar sangre (PAS) y aparece como pequeñas colonias α -hemolíticas con un diámetro de 0.5 a 1 mm. Las colonias son grisáceas o transparentes y son ligeramente mucoides. Cuando se utiliza la tinción de Gram, los cocos aparecen aislados, en pares y en cadenas cortas. *S. suis* es una bacteria facultativamente anaeróbica, inmóvil y catalasa y oxidasa negativa, que exhibe metabolismo fermentativo y produce ácido a partir de azúcares, incluido el manitol. *S. suis* también es amilasa positiva, Voges-Proskauer negativa, NaCl positiva, y resistente a la optoquina; esta bacteria tiene una cápsula con epítomos que permiten la identificación de 35 serotipos.

La identificación de *S. suis* se realiza a través de métodos bacteriológicos, y se recomienda que las pruebas bioquímicas se complementen con serotipificación confirmatoria. La serotipificación es una parte importante del diagnóstico rutinario y se basa en antígenos polisacáridos capsulares que se encuentran en la superficie de las cepas de *S. suis*, aunque algunas cepas de casos clínicos se han considerado no tipificables⁽³⁾. En los últimos 12 años, más de 4,500 cepas han sido serotipadas de cerdos enfermos en todo el mundo; los serotipos que se aislaron con mayor frecuencia fueron, en orden decreciente, 2 (28 %), 9 (19.4 %) y 3 (15.9 %), seguidos de los serotipos 1/2 y 7⁽⁵⁾. La distribución de los serotipos aislados de cerdos infectados varía según la ubicación geográfica⁽⁶⁾, pero el serotipo 2 se aísla con mayor frecuencia en casos de meningitis tanto de cerdos como de humanos⁽⁷⁾.

El diagnóstico presuntivo de la infección por *S. suis* en lechones a menudo se basa en signos clínicos y lesiones macroscópicas; la confirmación se logra aislando el agente infeccioso y observando lesiones microscópicas en los tejidos afectados⁽³⁾. Para los casos clínicos en cerdos, el aislamiento y la identificación de cepas son relativamente fáciles; la identificación exitosa se puede lograr utilizando un mínimo de pruebas bioquímicas, y la confirmación se puede lograr mediante la serotipificación basada en antígenos polisacáridos capsulares. Sin embargo, el uso de kits bioquímicos rápidos y multiprueba puede ser engañoso, ya que algunas cepas de *S. suis* pueden identificarse erróneamente como *Streptococcus pneumoniae*, *S. bovis* y estreptococos del grupo viridans (por ejemplo, *S. anginosus* y *S. vestibularis*). Del mismo modo, aunque la serotipificación debe ser parte de la identificación rutinaria de cepas de *S. suis* recuperadas de cerdos y humanos enfermos para confirmar aún más la identidad del patógeno, puede haber reacciones cruzadas entre los serotipos. Las técnicas de serotipificación son relativamente simples; sin embargo, la producción de antisueros es laboriosa, requiere mucho tiempo y es costosa. Además, hay cepas que no pueden ser serotipadas utilizando antisueros⁽¹⁾. Una desventaja de la serotipificación con antisueros es que las cepas no encapsuladas no pueden ser caracterizadas y se denominan no tipificables. Estas cepas se identifican utilizando técnicas moleculares como la PCR siempre y cuando no se hayan modificado los genes del grupo de genes de la cápsula (*cps*)⁽⁸⁾.

Clonado el gen que codifica la glutamato deshidrogenasa (*gdh*) de *S. suis* tipo 2, observaron que, al igual que los genes que codifican otros GDH, el gen de *S. suis* estaba altamente conservado y tenía una tasa de mutación muy baja en relación con la de otros genes. Con la ayuda de PCR *gdh*, se pueden identificar aislados de *S. suis*. La PCR *gdh* se ha utilizado como una técnica de diagnóstico rápida y fiable para muestras de animales sanos y enfermos, y también es valiosa en casos humanos⁽⁷⁾.

En el presente estudio, la caracterización de cepas de *S. suis* aisladas de animales enfermos, incluida la determinación del serotipo, se realizó mediante técnicas moleculares, PCR del gen *gdh* y PCR múltiple^(8,9). El objetivo de este estudio fue determinar los serotipos de *S. suis* presentes en granjas porcinas ubicadas en diferentes zonas de la República Mexicana.

Material y métodos

Recolección e identificación de muestras microbiológicas

Se obtuvieron sesenta y tres (63) muestras de órganos de cerdos con signos clínicos característicos de infección por *S. suis* de diferentes granjas de la República Mexicana. Las muestras se maceraron en solución salina estéril tamponada con fosfato, se rayaron sobre PAS al 5 % y luego se incubaron a 37 °C durante 24 h. Se seleccionaron colonias que estaban formadas por cocos α -hemolíticos, Gram positivos, agrupados en cadenas, catalasa y oxidasa negativos.

PCR del gen *gdh*

La extracción de ADN se realizó utilizando el sistema de purificación de ADN Wizard Plus SV minipreps (Promega, Madison, WI, EE. UU.), seguido de PCR *gdh* para identificar cepas de *S. suis* utilizando un kit Invitrogen (Thermo Fisher Scientific, Carlsbad, CA, EE. UU.). Las reacciones se ejecutaron en un termociclador Techne Progene bajo las siguientes condiciones: 2 min a 40 °C, 5 min a 94 °C, 35 ciclos (1 min a 94 °C, 1 min a 55 °C y 1 min a 72 °C), y 7 min a 72 °C. El número de acceso de GenBank de la secuencia utilizada para diseñar los cebadores fue AF229683.1. La secuencia de los cebadores es JP4 (5' GCAGCGTATTCTGTCAAACG 3') y JP5 (5'CCATGGACAGATAAAGATGG 3'). Los productos de reacción se visualizaron en un gel de agarosa al 2 %, teñido con GelRed, utilizando un sistema de bioimagen Gene Genius (Artisan Technology Group, Champaign, IL, EE. UU.)⁽⁹⁾.

Cuadro 1. Secuencias de los cebadores (5' a 3') utilizadas en este estudio y los tamaños predichos de los productos de PCR [Okura, *et al* 2014]⁽⁸⁾

Grupo o tipo de cps de destino	Hacia adelante	Reverso	Tamaño (pb) de los productos
I	TGGTTCAAATATCA ATGCTC	ATTGGTTGTGAGT GCATTG	933
II	TCAAAATACGCAC CTAAGGC	CACTCACCTGCCC CAAGAC	823
III	TGATTTGGGTGAG ACCATG	CTCATGCTGGATA ACACGT	583
IV	ACAGTCGGTCAAG ATAATCG	TCAGCTTGGGTAA TATCTGG	455
V	GGAAAGATGGAGG ACCAGC	CCAACCAGACTCA TATCCCC	265
III y VI	GATGCCCAAGCG ATATGCC GACGCACCAAGTG ATATGCC	GGACCAACAATGG CCATCTC GGTCCGACAATAGCCATTTC	146

Para la tipificación de PCR	Hacia adelante	Reverso	Tamaño (pb) de los productos
GRUPO I			
3	GGTTTTGATTGGTC TAGTTG	CTCTAAAGCTCGA TATCTAC	214
13	TATGGTTAAAGGT GGAAGCTG	CCTTGTATATATTC CCTCCA	408
18	TAATGGGATAGTT GCGTTAC	ATACATAAAGTTG TCCTGCG	617
GRUPO II			
2 y 1/2	TTAGCAACGTTGCC AATAAG	AATCCTCCATTAA AACCCTG	173
6	GCTCACTATTTTTA CATTACAC	TATTACTCCGCCA AATACAG	278
1 y 14	TTAGACAGACACC TTATAGG	CTAGCTTCGTTAC TTGATTC	386
16	AAGGTTATCCACG AAAGATG	TCCGGCAATATTC TTTCAAG	494
27	AGACACTGCTTGC ATTATTG	TCAGAATTAATTC CTGTTGC	655
GRUPO III			
21	TATCATATTGAGAA TCTTCCC	TTGCGTAGCATAAC AAAGTTC	160
28	ATTATGTTGGTTGC AGAAGG	CGACTCAATTGTT GTAGTAG	272
29	TTCTGGGATTTTAG GAATGC	CATGAAATACGCA CTTGTAC	415
30	TATTGCACTAGCTT CAGAAC	TGCATCCATAGTT GTATTCG	568
GRUPO IV			
4	GACTATCTGTATAC CCAAAC	TCCTTCCAAGTAT TCTCTAG	903
5	ATCTTAGGAATGAT TCGGAC	ACCAGATATCTGA GCAAATG	720
7	AACTACCTACCTG AACTTTG	AGTCTAAAAGTGA TCGAGTC	566
17	TAGCATCAGTTTAT ACGAGG	TAGTTTATCTGTG ACACACC	455
19	GTGTCGCAAATCA AGTATTG	AAGCTAGTACAAC AAGCATG	348
23	TAATGTATGCTCTG TCACTG	AACGAAACGGAAT AGTTTGC	221
GRUPO V			
8	AAATAAGGTAGGA GCTACTC	ATCCAACCTTAGC TTTCTGT	446

	15	ATCGTTTTGAGATT GAGTGG	TAAACGGATTCGG TACTCA	542
	20	TGTGGATTTCTGGG ATAATC	TGTGGACGAATTA CTACTTG	698
	22	GCATTATCAGGATT CTTTCC	CCAATTGGGTGTT CAAAAAG	296
	25	GTTTGCTCCGATCA TAATAG	CCAGTAAAAGGAC TCAATAC	174
GRUPO VI				
	9	GAAAGTAGGTATA TCTCAGC	GGGCTATTA AAAAC TCCTATC	368
	10	TTTCCCATTTGCTT ATGGAC	GGAATAAAAACG ATTGGGAG	633
	11	ATGCGATTGCAAC AATTGAC	AGGCATGAGTAAT ACATAGG	833
	12	AACAGGTATTTCA GGATTGC	CTCGGATAAAGAT AATCAGC	131
	24	TACTGAGATTTATT GGGACG	AAGCGATTGGATT ACATTGC	224
	26	TTATACCGAAATTT TGTTGCC	CGTCAATCATATA AAGTGGG	472
	33	GATGTTTTCAACAG GTGTAC	CAAAGTACCTATT TTCAGCG	710
GRUPO VII				
	31	ACAATCGTTTCTGC AATACG	GATGAAAACATCG TTGGTAG	842
	32	AACCGCTGTTGAAT TAAGAG	TTCGTTAGTTGAA CTGTTCC	570
	34	AAGTTTCATTCGAG GACTTC	GTATATAACACCG CAAGAAG	246
Control interno				
ARNr 16S		GAGTTTGATCCTGG CTCAG	AGAAAGGAGGTG ATCCAGCC	1542-1553

PCR múltiple de dos pasos

Para determinar los serotipos, se utilizó una PCR múltiple de dos pasos. En primer lugar, se realizó una PCR de agrupación bajo las siguientes condiciones de termociclador: 15 min a 95 °C, 30 ciclos (30 s a 94 °C, 90 s a 90 °C y 60 s a 72 °C), y 10 min a 72 °C. En segundo lugar, se realizó una PCR tipificación bajo las siguientes condiciones de termociclador: 15 min a 95 °C, 30 ciclos (30 s a 94 °C, 90 s a 53 °C y 90 s a 72 °C), y 10 min a 72 °C, utilizando un termociclador Biometra (Biometra, Göttingen, Alemania). Se utilizó la mezcla maestra de PCR multiplex Qiagen, y los productos de PCR se visualizaron por electroforesis en un gel de agarosa al 2 % (100 V, 40 min)

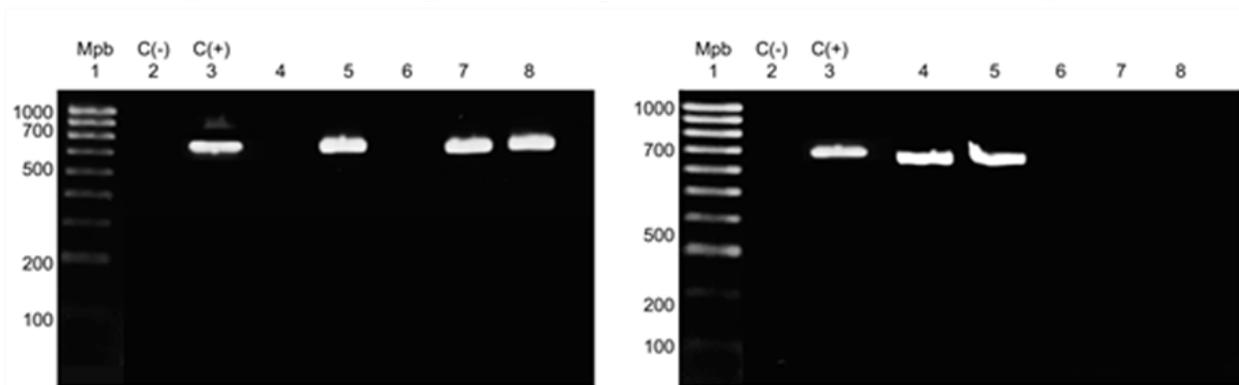
teñido con GelRed⁽⁸⁾. Las secuencias de los cebadores y los tamaños de producto predichos para cada tipo de PCR⁽¹⁰⁾ se muestran en el Cuadro 1.

Resultados

Recolección e identificación de muestras microbiológicas

De las 63 muestras (pulmón, corazón y cerebro) recolectadas de animales, 23 fueron positivas para *S. suis* por PCR, con un producto de 688 pb de longitud amplificado mediante PCR *gdh* (Figura 1).

Figura 1: Geles de agarosa (2 %) que muestran resultados de la PCR *gdh*

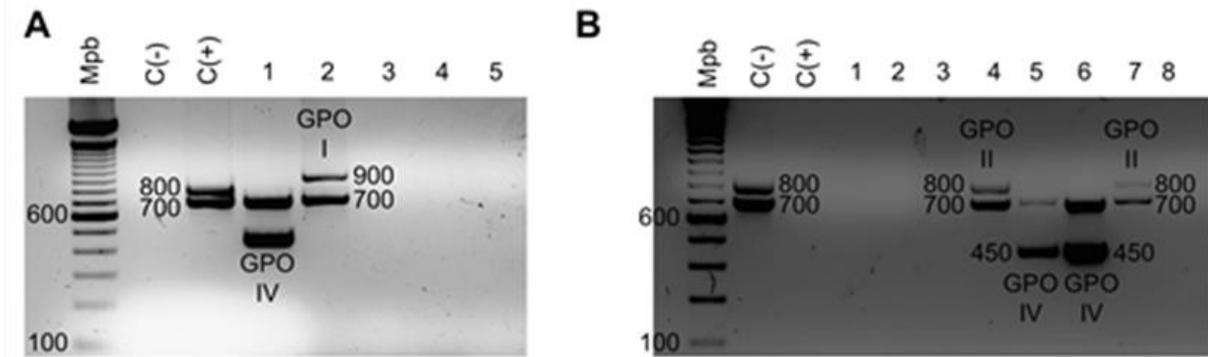


Carril 1, marcador de 100–1,000 pb; carril 2, control negativo, C(-); carril 3, control positivo, C(+) = *S. suis* serotipo 2; carriles 4 a 8, muestras de animales enfermos.

PCR del gen *gdh*

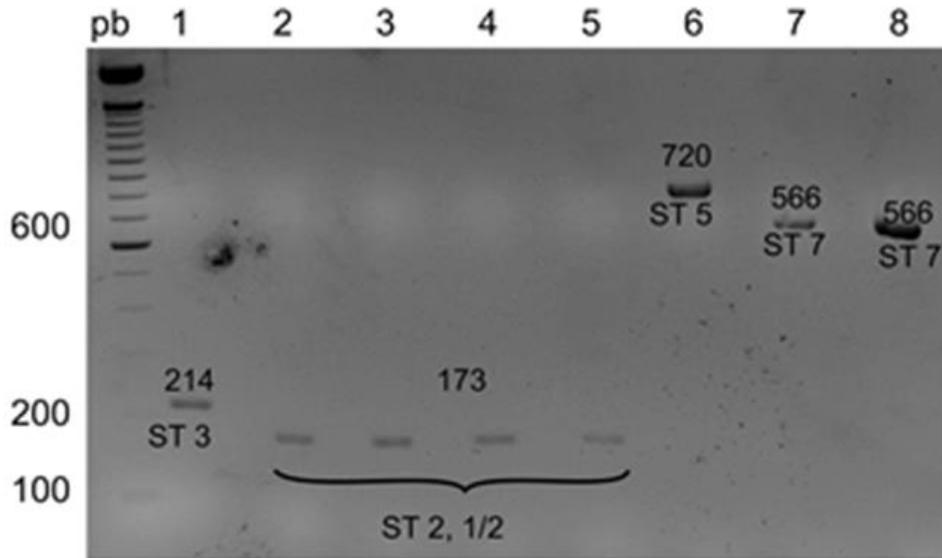
Los resultados de la PCR de agrupación se muestran en la Figura 2; las muestras se asignaron a los siguientes grupos en función de los tamaños de los productos de PCR: I, II, IV, V y VI, correspondientes a los tamaños de productos de PCR de 933, 823, 455, 265 y 146 pb, respectivamente. La Figura 3 muestra los resultados de la PCR de tipificación, en la que se determinó el serotipo de cada muestra. Los serotipos 1/2 y 2 se caracterizaron por el mismo tamaño de sus productos de PCR (173 pb); los serotipos 3, 5, 7, 8, 9, 17 y 23 produjeron fragmentos de PCR de 214, 720, 566, 446, 368, 445 y 221 pb, respectivamente. Para diferenciar los serotipos 1/2 y 2, se utilizó la coagulación con antisueros específicos.

Figura 2: Geles de agarosa (2 %) que muestran los resultados de la PCR de agrupación



Gel A: carril Mpb, marcador de 100-1,000 pb; carril C(-), testigo negativo; carril C(+), serotipo 2 de *S. suis*; carriles 1 a 5, muestras de *S. suis*. Gel B: carril Mpb, marcador de 100-1,000 pb; carril C(-), testigo negativo; carril C(+), serotipo 2 de *S. suis*; carriles 1 a 8, muestras.

Figura 3: Gel de agarosa (2 %) que muestra los resultados de la PCR de tipificación



Carril pb, marcador de 100–1,000 pb; carril 1, serotipo 3 de *S. suis*; carriles 2 a 5, muestras positivas para los serotipos 2 y 1/2; carril 6, serotipo 5 de *S. suis*; carriles 7 y 8, serotipo 7 de *S. suis*.

PCR múltiple de dos pasos

Los resultados de multiplexar la PCR se muestran en el Cuadro 2, el cual resume la información de las zonas geográficas donde se recolectaron las muestras, los órganos procesados y los serotipos identificados.

Cuadro 2: Resultados con la zona geográfica donde se recolectaron las muestras, los órganos procesados y los serotipos

Zona geográfica	Órgano	Serotipo
Perote-Veracruz	Cerebro	7
Perote-Veracruz	Cerebro	7
Perote-Veracruz	Cerebro	2
Perote-Veracruz	Cerebro	2
Perote-Veracruz	Pulmón	1/2
Perote-Veracruz	Cerebro	3
Perote, Veracruz	Cerebro	9
Jalisco	Pulmón	9
Jalisco	Corazón	7
Jalisco	Pulmón	9
Jalisco	Corazón	17
Jalisco	Corazón	9
Jalisco	Corazón	9
Jalisco	Pulmón	3
Jalisco	Pulmón	7
Jalisco	Corazón	23
Jalisco	Corazón	5
Puebla	Corazón	8
Puebla	Corazón	9
La Piedad Michoacán	Corazón	9

Discusión

La PCR del gen *gdh* es una técnica atractiva para su uso tanto en laboratorios clínicos como en estudios epidemiológicos⁽⁹⁾. No obstante, debido a la complejidad de la serotipificación de las cepas de *S. suis*⁽⁸⁾, se ha desarrollado una PCR múltiple de dos pasos. Se secuenciaron y analizaron un grupo de genes de cepas pertenecientes a los 35 serotipos y reportaron que 31 de los serotipos (3 a 13 y 15 a 34) tenían genes específicos, mientras que los serotipos 1 y 14, así como los 2 y 1/2 eran casi idénticos. En el primer paso de la PCR múltiple, las cepas se clasifican en siete grupos de genes *cps*, llamados grupos de homología (GH). Estos genes *cps* se agrupan dentro del mismo locus en el cromosoma. A cada GH se le asigna un número (I-VII) e incluye serotipos específicos de *S. suis*. La PCR de tipificación detecta genes *cps* específicos para cada grupo e identifica el serotipo. La serotipificación molecular utilizando PCR múltiple es atractiva porque ya no se

requieren animales para la producción de los 35 antisueros, ya que los antisueros solo son necesarios para identificar los serotipos 1, 1/2, 2 y 14⁽¹¹⁾. Anteriormente, *S. suis* se había clasificado en 35 serotipos (1/2 y 1-34), y luego, el número de serotipos se redujo a 33 porque las cepas de los serotipos 32 y 34 se reclasificaron como *Streptococcus orisratti*. Más recientemente, se ha propuesto eliminar las cepas de los serotipos 20, 22, 26 y 33 del taxón *S. suis* ⁽¹²⁾; sin embargo, en el presente estudio, ninguna de las cepas mexicanas aisladas perteneció a estos serotipos.

En este estudio, se determinaron serotipos de cepas de *S. suis* aisladas de animales enfermos de granjas porcinas mexicanas, y el tiempo de diagnóstico se redujo, lo que fue una ventaja sobre los métodos de diagnóstico rutinarios. Se encontró que el serotipo 9 fue predominante en siete muestras, aisladas ya sea de Jalisco (cuatro muestras), Veracruz, Michoacán o Puebla (una muestra cada uno), seguido del serotipo 7, con cuatro muestras de Jalisco y Veracruz (dos muestras cada uno), y el serotipo 8, con cuatro muestras de Puebla. Dos muestras de Veracruz fueron positivas para el serotipo 2, y dos muestras de Jalisco y Veracruz fueron positivas para el serotipo 3. Una muestra cada uno fue positiva para los serotipos 1/2, 5, 17 y 23. Jalisco fue el estado que presentó la mayor variación en los serotipos, con seis aislamientos diferentes de pulmón y corazón pertenecientes a los serotipos 3, 5, 7, 9, 17 y 23. En Veracruz se detectaron cinco serotipos en las muestras de pulmón y cerebro. Puebla estuvo representada por dos serotipos de muestras de corazón. Sólo se detectó un serotipo en una muestra de corazón de Michoacán.

La evaluación del serotipo es una herramienta valiosa para comprender la epidemiología de un brote en particular, y la serotipificación también aumenta el éxito de los programas de vacunación dentro de las granjas. Hasta donde se sabe, este es el primer reporte sobre la distribución de serotipos de *S. suis* en áreas dedicadas a la cría de cerdos en México. Se encontró que los serotipos predominantes de *S. suis* fueron comparables a los reportados por Gottschalk *et al*⁽¹⁰⁾ entre 2008 y 2011, quienes confirmaron una prevalencia relativamente baja del serotipo 2 en América del Norte en comparación con la de los países europeos y asiáticos. Entre otros serotipos, los serotipos 1/2, 5, 9 y 14 también se han asociado con brotes en cerdos en América del Norte y Europa⁽¹⁰⁾. Aunque no se evaluó la prevalencia, el serotipo 9 fue el más frecuente, seguido de los serotipos 7 y 8. Estos resultados apoyan una hipótesis previa que sugiere que una menor prevalencia del serotipo 2 de *S. suis* es común en los países de América del Norte⁽³⁾. Dado que las cepas del serotipo 2 de América del Norte y de Europa son genotípica y fenotípicamente diferentes (con diferente potencial de virulencia)⁽¹³⁾, sería interesante estudiar más a fondo las cepas de México para determinar a qué grupo de cepas pertenecen. Del mismo modo, se ha reportado que las cepas del serotipo 9 de Europa son más homogéneas y probablemente más virulentas que las cepas norteamericanas⁽¹⁴⁾. También se necesita una mayor evaluación de las cepas mexicanas para predecir el nivel de patogenicidad de dichas cepas. Además, se necesitan más estudios, con un mayor número de aislamientos de México, para confirmar esta hipótesis. Aunque no existe una asociación clara entre los serotipos y una condición patológica determinada, se ha reportado que, en los países asiáticos, las cepas aisladas de cerdos enfermos pertenecían principalmente al serotipo 2, seguido de los

serotipos 3, 4, 5, 7, 8 y 1/2⁽¹⁵⁾. En algunos países europeos, el serotipo 9 se recupera con mayor frecuencia de animales enfermos, seguido de los serotipos 1 y 14. Sin embargo, en Canadá, los serotipos 1/2, 2 y 3 son los tres serotipos más prevalentes, seguidos de los serotipos 4, 7 y 8⁽¹⁶⁾. En humanos, el serotipo 2 es el serotipo aislado más prevalente, pero también se han reportado los serotipos 1, 4, 5, 14, 16 y 24⁽⁵⁾.

En América del Sur, sólo se han publicado dos estudios, ambos de Brasil, que reportaron el serotipo 2 como el más prevalente, con una media del 57.6 % de todos los casos, seguido, en orden decreciente de prevalencia, por los serotipos 1/2, 14, 7 y 9. Importantes países europeos productores de cerdos, como Dinamarca, Bélgica, Francia, Alemania, Italia y el Reino Unido, no han informado recientemente de la distribución de serotipos recuperados de casos clínicos en cerdos. Los últimos informes de estos países publicaron datos sobre cepas aisladas entre 1990 y 2000, y su falta de información es importante. Los únicos dos países con datos más recientes son España y los Países Bajos. De hecho, en España, el serotipo 2 ya no es el serotipo más prevalente; ahora es el segundo detrás del serotipo 9, seguido de los serotipos 7, 8 y 3. En los Países Bajos, el serotipo 9 fue el más prevalente entre 2002 y 2007, seguido de los serotipos 2, 7, 1 y 4. En estudios realizados antes de 2002, el serotipo 1 parecía ser prevalente en países como Bélgica y el Reino Unido⁽¹⁾.

Conclusiones e implicaciones

Los serotipos detectados en las zonas de cría de cerdos de México incluyeron 1/2, 2, 3, 5, 7, 8, 9, 17 y 23. Jalisco fue el estado que presentó la mayor variación en los serotipos, con seis serotipos diferentes. En Veracruz se detectaron cinco serotipos en las muestras. Puebla estuvo representada por dos serotipos de las muestras. Sólo se detectó un serotipo en una muestra de Michoacán. La evaluación del serotipo es una herramienta valiosa para comprender la epidemiología de un brote en particular, y la serotipificación también aumenta el éxito de los programas de vacunación dentro de las granjas. Estos hallazgos son importantes para la caracterización de los serotipos presentes en México y para la prevención de brotes. Hasta donde se sabe, éste es el primer informe sobre la distribución de serotipos de *S. suis* en áreas dedicadas a la cría de cerdos en México. La investigación debe continuar para lograr una mejor comprensión de este microorganismo y tener datos más completos. El MALDI TOF MS es un método alternativo para identificar *S. suis* y la prueba *gdh* se consideró específica para *S. suis*. La PCR recN es la prueba reconocida como específica para *S. suis* y así continuar con las investigaciones.

Agradecimientos

Subsidios: DGAPA PAPIIT IN228516 y PIAPI2032; Beca: CONACYT-492133, Doctorado (Posgrado de Producción y Salud Animal).

Literatura citada:

1. Goyette-Desjardins G, Auger JP, Xu J, Segura M, Gottschalk M. *Streptococcus suis*, an important pig pathogen and emerging zoonotic agent-an update on the worldwide distribution based on serotyping and sequence typing. EMI 2014;3:45. doi:10.1038/emi.2014.45.
2. Flores JL, Higgins R, D'Allaire S, Charette R, Boudreau M, Gottschalk M. Distribution of the different capsular types of *Streptococcus suis* in nineteen swine nurseries. Can Vet J 1993;34(3):170–171.
3. Zimmerman JJ, Karriker LA, Ramirez A, Schwartz KJ, Gregory WS, Zhang J. Diseases of swine. 11th ed. Streptococcosis. John Wiley & Sons, Inc; 2019.
4. Wisselink HJ, Smith HE, Stockhofe-Zurwieden N, Peperkamp K, Vecht U. Distribution of capsular types and production of muramidase-released protein (MRP) and extracellular factor (EF) of *Streptococcus suis* strains isolated from diseased pigs in seven European countries. Vet Microbiol 2000;74:237–248. doi:10.1016/s0378-1135(00)00188-7.
5. Liu Z, Zheng H, Gottschalk M, Bai X, Lan R, Ji S, Xu J. Development of multiplex PCR assays for the identification of the 33 serotypes of *Streptococcus suis*. PLoS One 2013;8(8):e72070. doi:10.1371/journal.pone.0072070.
6. Haas B, Grenier D. Understanding the virulence of *Streptococcus suis*: A veterinary, medical, and economic challenge. Méd Mal Infect 2018;48(3):159–166. doi:10.1016/j.medmal.2017.10.001.
7. Gottschalk M. Porcine *Streptococcus suis* strains as potential sources of infections in humans: An underdiagnosed problem in North America? JSAP 2004;12(4):197–199.
8. Okura M, Lachance C, Osaki M, Sekizaki T, Maruyama F, Nozawa T, Takamatsu D. Development of a two-step multiplex PCR assay for typing of capsular polysaccharide synthesis gene clusters of *Streptococcus suis*. J Clin Microbiol 2014;52:1714–1719. doi:10.1128/jcm.03411-13.
9. Okwumabua O, O'Connor M, Shull E. A polymerase chain reaction (PCR) assay specific for *Streptococcus suis* based on the gene encoding the glutamate dehydrogenase. FEMS Microbiology Letters 2003;218(1):79–84. doi:10.1111/j.1574-6968.2003.tb11501.
10. Gottschalk M, Lacouture S, Bonifait L, Roy D, Fittipaldi N, Grenier D. Characterization of *Streptococcus suis* isolates recovered between 2008 and 2011 from diseased pigs in Quebec, Canada. Vet Microbiol 2013;162:819–825. doi:10.1016/j.vetmic.2012.10.028.
11. Kerdsin A, Akeda Y, Hatrongjit R, Detchawna U, Sekizaki T, Hamada S, Oishi K. *Streptococcus suis* serotyping by a new multiplex PCR. J Med Microbiol 2014;63:824–830. doi:10.1099/jmm.0.069757-0.

12. Okura M, Osaki M, Nomoto R, Arai S, Osawa R, Sekizaki T, Takamatsu D. Current Taxonomical situation of *Streptococcus suis*. Pathogens 2016;5(3):45.
13. Straw BE, Zimmerman, JJ, D'Allaire S, Taylor DJ. Diseases of swine. 9th ed. Streptococcosis. Blackwell Publishing. 2006.
14. Zheng H, Du P, Qiu X, Kerdsin A, Roy D, Bai X, Xu J, Vela AI, Gottschalk M. Genomic comparisons of *Streptococcus suis* serotype 9 strains recovered from diseased pigs in Spain and Canada. Vet Res 2019;49(1):1. doi: 10.1186/s13567-017-0498-2. Erratum in: Vet Res. 2019;16;50(1):62. PMID: 29316972; PMCID: PMC5759227.
15. Wei Z, Li R, Zhang A, He H, Hua Y, Xia J, Jin M. Characterization of *Streptococcus suis* isolates from the diseased pigs in China between 2003 and 2007. Vet Microbiol 2009;137(1-2):196–201. doi:10.1016/j.vetmic.2008.12.015.
16. Gottschalk M, Lacouture S. Canada: Distribution of *Streptococcus suis* (from 2012 to 2014) and *Actinobacillus pleuropneumoniae* (from 2011 to 2014) serotypes isolated from diseased pigs. Can Vet J 2015;56(10):1093-1094.