

XXIV CONVENCION AMVEC MORELIA 89

TITULO: ENTERITIS PORCINA PRODUCIDA POR LA ENTEROTOXINA DE Clostridium perfringens TIPO A.

AUTORES: A. Estrada C.\* y D.J. Taylor.

INSTITUCION: Departamento de Bacteriología, Veterinary School, University of Glasgow.

AREA : Sanidad Animal.

INTRODUCCION.

Algunas cepas de Clostridium perfringens tipo A pueden esporular y producir enterotoxina la cual es causa frecuente de intoxicación alimenticia en humanos (1). En otras especies animales aparte del cerdo se han producido experimentalmente cuadros de enteritis por medio de la inoculación oral o intra intestinal de cepas de C. perfringens tipo A productoras de enterotoxina (3, 5). En el cerdo se han asociado síndromes diarréicos con la detección de enterotoxina de C. perfringens tipo A en heces fecales (2,4). El síndrome diarréico producido por cepas enterotoxigénicas de C. perfringens tipo A no ha sido reproducido experimentalmente en el cerdo. Los objetivos del presente trabajo fueron estudiar los efectos de la enterotoxina purificada de C. perfringens tipo A en el intestino del cerdo y su patogénesis.

MATERIAL Y METODOS.

17 cepas de C. perfringens tipo A aisladas de casos de diarrea en cerdos fueron analizadas en su capacidad de esporular en los medios promotores de esporulación de Duncan y Strong, Ellner y Tsai (6). Una cepa que produjo más de 90 % de esporulación del número total de células bacterianas se utilizó para la producción y purificación de enterotoxina. La enterotoxina se extrajo por medio de la sonicación de las esporas y se purificó por medio de precipitaciones de sobrenadante con sulfato de amonio al 40 % y 15 % seguidos por cromatografía en gel (Sephadex G-200). Antisueros contra la enterotoxina se obtuvieron por medio de inmunización de éstas en cerdos y conejos.

Cuentas de esporas de C. perfringens tipo A se determinaron en muestras fecales de 23 cerdos diarréicos y en 10 muestras de cerdos sanos por medio de diluciones seriadas de las muestras las cuales fueron calentadas a 80°C por 10 min. y sembradas en agar de triptoná-sulfito-cicloserina. La presencia de enterotoxina en las muestras se determinó por su efecto en células Ve ro; pruebas de neutralización se llevaron a cabo utilizando antienterotoxina.

Títulos de antienterotoxina se determinaron en 106 sueros de cerdos adultos sanos procedentes de 4 granjas por medio de contraímmunoelectroforesis (CIE) utilizando una concentración estandarizada de enterotoxina purificada.

Diluciones de la enterotoxina purificada se probaron en su efecto en el intestino de cerdo por medio de su inoculación en asas intestinales en un lechón de un día de edad, la acumulación de fluidos en las asas se determinó y secciones intestinales se tomaron para estudios histopatológico y de inmunofluorescencia.

En estudios de patogenicidad, dos lechones libres de patógenos específicos se infectaron oralmente con esporas y dos con células vegetativas de la cepa de C. perfringens tipo A productora de enterotoxina. Los animales se observaron por 7 días, los signos clínicos se observaron y cuentas de esporas y títulos de enterotoxina se analizaron en sus muestras fecales.

#### RESULTADOS.

Cinco de las 17 cepas de C. perfringens tipo A esporularon a un porcentaje mayor del 30 % del número total de bacterias; 7 de las cepas produjeron menos del 30% de esporas y 5 cepas no esporularon.

La enterotoxina purificada de la cepa de origen porcino presentó una actividad de 256 unidades toxicas/ml en células Vero. La anti-enterotoxina obtenida en cerdos y conejos mostraron una sola banda de identidad en pruebas de inmunodifusión doble utilizando enterotoxina cruda o purificada como antígeno.

Cuentas más altas de esporas se detectaron en animales con diarrea que en cerdos sanos; la enterotoxina se detectó solamente en la materia fecal de animales con diarrea (cuadro 1).

92.5 % de los sueros examinados presentaron anticuerpos hacia la enterotoxina, con títulos variando de 1:2 - 1:64 (cuadro 2).

Concentraciones de la enterotoxina purificada de 0.356 mg/ml a 5.7 mg/ml produjeron acumulación de fluido en las asas intestinales. La histopatología de las secciones mostró que la enterotoxina causa destrucción del epitelio intestinal. La enterotoxina se observó adherida a las células epiteliales del intestino por medio de inmunofluorescencia

Los lechones infectados con la cepa de C. perfringens tipo A productora de enterotoxina presentaron una diarrea profusa que duró 12 horas. No hubo diferencias en las características de la diarrea de los lechones inoculados con células esporuladas o vegetativas (cuadro 3).

## XXIV CONVENCION AMVEC MORELIA 89

Cuadro 1

Rango de cuentas (esporas/g)	Número de muestras dentro del rango		
	Heces normales	Diarrea	Detección de enterotoxina
0	4	4	
5 X 10 <sup>3</sup>	5	9	-
5 X 10 <sup>3</sup> a 5 X 10 <sup>5</sup>	1	8	2
5 X 10 <sup>5</sup>	-	3	3

Cuadro 2

CIE (Recíproco del título).	Número de cerdos				Total	%
	Granja 1	Granja 2	Granja 3	Granja 4		
0	3	2	3	0	8	7.5
2	5	8	6	1	20	18.8
4	9	7	8	4	28	36.4
8	17	8	5	2	32	30.1
16	4	3	0	2	9	8.4
32	2	1	2	3	8	7.5
64	0	1	0	0	1	0.9
TOTAL	40	30	24	12	106	100

Cuadro 3

Lechón	Diarrea	Cuenta de esporas. (esporas/g heces)	Títulos de entero toxina (heces)
Control	-		
1 Cel. esporuladas	+	7.0 X 10 <sup>5</sup>	1:8
2 Cel. esporuladas	+	5.5 X 10 <sup>5</sup>	1:8
3 Cel. vegetativas	+	3.5 X 10 <sup>5</sup>	1:32
4 Cel. vegetativas	+	4.5 X 10 <sup>5</sup>	1:16

DISCUSION.

70.5 % de las cepas aisladas en cerdos de C. perfringens tipo A mostraron la capacidad de esporular en diferentes grados, indicando que cepas productoras de enterotoxina pueden estar ampliamente distribuidas en poblaciones porcinas.

Altos niveles de enterotoxina purificada se obtuvieron de una cepa de origen porcino al igual que altos niveles de anticuerpos fueron inducidos por inmunización.

La detección de altos niveles de esporas y de enterotoxina en algunos casos de diarrea en cerdos sugiere que la enterotoxina se encuentra involucrada en el síndrome. La alta prevalencia de anticuerpos antienterotoxina en los hatos porcinos sugiere que la exposición individual a la enterotoxina de C. perfringens tipo A es común. La enterotoxina provoca acumulación de fluido en asas intestinales de lechón siendo capaz de causar daño intestinal y adherencia al epitelio intestinal.

La infección de lechones libres de patógenos específicos con una cepa productora de enterotoxina fueron detectadas.

Cepas de C. perfringens tipo A productoras de enterotoxina son causa de diarrea en lechones y pueden estar involucradas en síndromes diarreicos en otras etapas de producción.

REFERENCIAS.

- 1.- Borrielo, S. et al. 1985. J. Med. Microbiol. 20:363-372.
- 2.- Estrada, A. Tesis de PhD. 1986. University of Glasgow, Gran Bretaña.
- 3.- Hauschild, A. et al. 1971. Can. J. Microbiol. 17: 987-991.
- 4.- Jestin, A. et al. Am. J. Vet. Res. 46:2149-2150.
- 5.- Niilo, L. and Dorward, V. 1971. Res. Vet. Sci. 12 : 376-378.
- 6.- Tsai, C. 1974. Formosan. Med. Assoc. 73:404-409.