

**TITULO:** DETECCION DE TOXINA LT DE E. coli EN CULTIVOS CELULARES.  
**AUTORES:** AGUILAR M.M., MENDOZA E.S., ALVAREZ MANRIQUE C.  
**INSTITUCION:** COORDINACION GENERAL DE INVESTIGACION Y ESTUDIOS DE POSGRADO, F.E.S. CUAUTITLAN, UNAM.  
**AREA:** SANIDAD ANIMAL.

### INTRODUCCION

Dentro de las causas mas importantes de la diarrea de los lechones esta la causada por E. coli enterotoxigenica cuya patogenicidad es debida a la presencia de fimbrias especificas y a la produccion de las toxinas labil (LT) y a estable (ST) al calor. Una cepa de E. coli puede producir una o las dos toxinas y para su deteccion se cuenta con las pruebas como el asa ligada de conejo o cerdo, con la prueba de inoculacion intragastrica en ratones lactantes para la toxina ST y ya se ha descrito el efecto de la toxina LT sobre la linea celular VERO, en donde induce cambios bioquimicos tales como: aumento de la actividad de la adenilciclasa, incremento en los niveles intracelulares de 3 5 adenosinaciclica monofosfato e induccion de la sintesis 3 cetoesteroides alterando la morfologia celular (Speirs y cols., 1977; English and Morrison, 1984).

### OBJETIVO

Utilizar cultivos primarios de intestino fetal de cerdo, embriones de pollo e intestino de gazapos de 1 a 3 dias de nacidos, con el fin de buscar nuevas alternativas celulares para la deteccion de las toxinas de E. coli con fines diagnostico y como base para futuras investigaciones en el area.

### MATERIAL Y METODOS

**1.- Produccion de la toxina :** Se emplearon 3 cepas de E. coli aislados de casos de campo y las cuales ya habian dado previamente reaccion positiva en asa ligada de lechones de 15 dias. Las cepas fueron sembradas en un matraz de 250 ml que contenia 20 ml de medio productor de toxina incubadas con agitacion por 20 a 24 hrs.. Los cultivos se centrifugaron a 5000 r.p.m. por 10 min. y sus sobrenadante fue filtrado a traves de membrana de 0.22 um y guardadas en congelacion (-20 C) hasta su uso, no mas de dos dias.

**2.-Cultivo celular primario:** Se obtuvieron los fetos de cerdo a nivel de rastro, los cuales fueron transportados rapidamente al laboratorio, donde les fue extraido su intestino, y lavado su luz con buffer de fosfatos esteril con el fin de eliminar el exceso de moco presente. Posteriormente fue macerado y tripsinizado hasta tener aprox.  $1 \times 10^6$  cels/ml en medio minimo esencial (con sales de Earle) enriquecido con 10% de SFB inactivado a 56° C durante 30 min. Se incubaron las celulas a 37° C. Una vez formado el monoestrato, se inoculo con 0.2 ml de la toxina esteril y se observo el cultivo por 7 dias antes de ser descartado (Konowalchuck y cols.,1977).

## RESULTADOS Y DISCUSION

A los 5 días de inoculados los cultivos primarios de intestino fetal de cerdo se empezó aparecer el efecto citotóxico, las células se observaban retraídas, dejando espacios en el monoestrato contrastando con las células control que no manifestaron alteración aparente. Estos datos nos permiten poder contar con otro medio de identificación de la toxina LT que pudieran ser aún más eficientes que las líneas celulares VERO ya que se emplean cultivos de células intestinales de cerdo que podrían tener una mayor sensibilidad a la toxina de E. coli. El resultado de los demás cultivos primarios está en proceso.

## BIBLIOGRAFIA

- English, P.R. and V. Morrison, 1984. Causes and prevention of piglet mortality. Pig. News and Information 5:369-376.
- Konowalchuck, J.; Speirs, J.I. and Stavric, S. 1977. VERO response to a cytotoxin of Escherichia coli. Infect. Immun. 18:775-779.
- Speirs, J.I.; Stavric, S. and Konowalchuck J. 1977. Assay of Escherichia coli heat labile enterotoxin on VERO. Infect. Immun. 16: 617-622.