

DETECCION DE TOXINA TERMO-ESTABLE "b" (STb) EN CEPAS DE *ESCHERICHIA COLI* NO
FERMENTADORAS DE LACTOSA.

M. Heredia¹; J. Flores¹; G. Suarez¹; M. Pué¹; M. Vivas¹; L. Mendoza¹; I. UADY.

INTRODUCCION.- Los estados de la República que tienen la producción porcícola más alta son: Sonora, Puebla, Jalisco, Veracruz, Michoacán, Guerrero y Guanajuato. Yucatán cuenta con el 7% del inventario total (3). La porcicultura es una industria ganadera que proporciona no solamente proteínas de origen animal para el consumo humano, sino que también es una fuente importante para la captación de recursos económicos por la diversidad de industrias que se generan en torno a ella. También es cierto que esta industria no está exenta de sufrir pérdidas importantes, sobre todo cuando los animales padecen enfermedades infecciosas, sean éstas de origen viral, parasitario o bacteriano.

La diarrea neonatal es uno de los problemas a los que se enfrentan los productores de ganado porcino, sobre todo la producida por cepas de *Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC), ya que provoca pérdidas económicas importantes debido a la frecuencia con que se presenta, a la cantidad de lechones que mueren y a la reducción de la ganancia de peso y de la eficiencia alimentaria en los que sobreviven.

Toxinas termolábiles (LT).- Actualmente se reconocen dos grupos de toxinas LT: la enterotoxina termolábil tipo I con las variantes antigénicas LT_{1a} y LT_{1b}, producidas por cepas de *E. coli* de humano y cerdo respectivamente, y el tipo II de la enterotoxina termolábil de *E. coli* con sus variantes antigénicas: LT-IIa y LT-IIb (2).

Toxinas termoestables (ST).- Se han descrito dos tipos de toxina ST, la toxina tipo "a" que es soluble en metanol y activa en intestino de ratones lactantes, y la tipo "b", insoluble en metanol, inactiva en el intestino de ratones lactantes pero con actividad en asas ligadas de intestino de conejos y lechones (2).

OBJETIVO.- Detectar la presencia de toxina termoestable "b" (STb) en cepas de *Escherichia coli* no fermentadoras de lactosa.

MATERIAL Y METODO.- Se realizó un muestreo a 300 lechones de 1 a 10 días de edad, que cursaron con un cuadro diarreico. Las muestras se inocularon en agar MacConkey y agar XLD (xilosa-lisina-desoxicolato), los cuales se incubaron a 37°C durante 24 horas. A las colonias sugestivas se les realizaron pruebas bioquímicas como fermentación de azúcares, utilización de aminoácidos, etc., recomendadas por la American Society for Microbiology.

Se recolectaron todas las cepas de *E. coli* que no fermentaron la lactosa, se inocularon en tubos de ensayo conteniendo 3 ml de caldo de infusión cerebro corazón (BHI), y se incubaron en agitación durante 24 hrs a 37°C. Posteriormente se centrifugaron a 3500 rpm durante 10 min, para obtener el sobrenadante, el cual se filtró.

Se utilizaron unas hembras de la cepa "Wistar", puras, con un peso entre 250 y 300 gr. a las que se les suspendió el alimento por 72 hrs antes de la cirugía; durante este tiempo sólo se les suministró agua. Se realizaron ligaduras del intestino cada 7 cm y se procedió a lavar cada segmento con una solución de inhibidor de tripsina (trypsin inhibitor, type B-S; Soybean, Sigma Chemical Co.) al 0.004% en solución fisiológica. Se realizó una ligadura posterior de 2 cm y en los 5 cm restantes se inoculó 0.5 ml de sobrenadante de las cepas problema más 0.1 ml de solución de inhibidor de tripsina a una concentración de 0.02%. Primero se inoculó el control positivo, luego las cepas problema y por último el control negativo. Posteriormente y con la ayuda de un Vernier se midieron los diámetros iniciales de los segmentos inoculados y se suturó la abertura abdominal con hilo quirúrgico.

Se dejó actuar a los sobrenadantes por un periodo de 4 hrs, después de las cuales se sacrificó al animal, se retiraron las suturas de la pared abdominal y se observaron los cambios ocurridos en el intestino. La prueba se consideró positiva cuando al medir con el Vernier la porción ligada e inoculada se detectó un aumento en el diámetro y en el volumen de líquido, igual o mayor que el testigo positivo (4).

RESULTADOS.- Se aislaron 704 cepas de *Escherichia coli* y de éstas, 174 (24.7%) fueron no fermentadoras de lactosa. De las 174 (100%) cepas no fermentadoras de lactosa, en 42 cepas (24.13%) se detectó la producción de toxina STb.

DISCUSION.- Handl y colaboradores en 1968, probaron 191 cepas de *Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC) de origen porcino, comparando la técnica de ELISA con el método de asa ligada en cerdos. Encontraron que el método de ELISA puede ser usado con confianza para detectar STb, ya que al compararlo con la prueba de asa ligada de intestino de cerdos hubo una correlación de 95% entre ambas pruebas. En 1990 Whipp estudió el serotipo O9.K1, que produce sólo enterotoxina STb; concentró la toxina, y junto con un inhibidor de tripsina la inoculó en segmentos ligados de intestino de ratas adultas, cerdos y ratones lactantes. De esta forma estudió la respuesta de la secreción intestinal con respecto al tiempo y a la posición que ocupaba el segmento ligado en el intestino delgado, encontrando las respuestas óptimas en las ratas. Por esta razón propuso que éstas podían ser usadas como un bioensayo, resultando una buena alternativa a la prueba de ELISA y a la hibridación de DNA,

o a la utilización de cerditos (4).

Dubruil y colaboradores en 1991, realizaron un estudio en Canadá con cepas de *E. coli* serogrupo O115, que evaluaron con asa ligada de ratas adultas, y por ELISA. Detectaron 87.50% de cepas productoras de STb. Asimismo encontraron que la producción de toxina fue similar en TSB, en BHI y en medio mínimo de Davis (DMM) (Handl y colaboradores en 1992, probaron 437 cepas de *E. coli* de cerdos, encontrando un 31% de cepas ETEC, observaron que entre los lechones de menos de una semana de edad hubo una disminución de cepas STb+ y un aumento de cepas STa+, que la presencia de *Escherichia coli* STb+ en cerdos destetados fue del 92%, y que las cepas STb fueron las prevalentes en los cerdos de todas las edades (1).

Los resultados anteriores son muy semejantes entre sí a pesar de haber sido obtenidos con métodos diferentes, aunque ninguno de ellos estableció resultados encontrados en cepas de *Escherichia coli* no fermentadoras de lactosa. Por lo tanto no es posible comparar nuestros resultados (de 24.13%) de cepas de *Escherichia coli* enterotoxigénicas no fermentadoras de lactosa que produjeron toxina termoestable "b". Sin embargo, analizando nuestros resultados en forma aislada podemos señalar que las cepas de *E. coli* no fermentadoras de lactosa, que se encuentran en un porcentaje bastante elevado (24.70%) en los lechones con diarrea, están jugando con mucha probabilidad, un papel importante en estos casos, ya que a su vez, el 24.13% de estas cepas son productoras de enterotoxina STb, y ésta es la toxina más específica de especie entre las que produce *E. coli* enterotoxigénica.

BIBLIOGRAFIA.-

- 1.- Handl C, Ronnberg, B Wilson, F. Olsson, H. Jonsson, and JI Flock (1988) Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for *E. coli* Heat-Stable Enterotoxin Type II. Clin. Microbiol. 26(8) 1555-1560.
- 2.- Robertson D. C (1988) Pathogenesis and enterotoxins of diarrheagenic *E. coli*. In: Virulence Mechanisms of Bacterial Pathogens. Roth, J.A. American Society for Microbiology, Washington, D.C.; Caps 15: 241-263.
- 3.- Sintesis Porcina, (1993), Num. 8, págs. 18-23.
- 4.- Whipp, S. C (1990) Assay for enterotoxigenic *Escherichia coli* heat-stable toxin "b" in rats and mice. Infect. Immun. 58 (4), 930-934.