

NOTAS CIENTÍFICAS

ANTICORPOS CONTRA ENTEROTOXINA TERMOLÁBIL (LT) DE *ESCHERICHIA COLI* EM AMOSTRAS DE SOROS DE BOVINOS DE CORTE¹

MIDORI MIGUITA², RENATO ANDREOTTI E SILVA³,
MÁRCIA SUELI ASSIS ANDREASI, MARIA ELIZA TROUY GALLES⁴,
MARLENE BRAIDE SERAFIM⁵
e ANTÔNIO FERNANDO PESTANA DE CASTRO⁶

RESUMO - Visando detectar anticorpos contra enterotoxina termolábil (LT) de *Escherichia coli*, foram examinados 221 soros de bovinos de corte abatidos em matadouros provenientes de diferentes micro-regiões do Estado de Mato Grosso do Sul. O teste utilizado na pesquisa de anticorpos anti-LT foi o de imuno-hemólise passiva (IHP). Os resultados foram todos negativos.

ANTIBODIES AGAINST THERMOLABILE (LT) ENTEROTOXIN OF *ESCHERICHIA COLI* IN SERUM SAMPLES FROM BEEF CATTLE

ABSTRACT - In order to detect antibodies against thermolabile enterotoxin (LT) of *Escherichia coli* in beef cattle, 221 serum samples obtained from slaughter cattle in different micro-regions of the state of Mato Grosso do Sul (Brazil), were examined. The techniques used for that purpose was the passive immunohaemolysis test. All results were negative.

Na colibacilose suína, as amostras de *Escherichia coli* isoladas podem produzir enterotoxinas termolábeis (LT) e termoestáveis (STa e STb) (Gyles 1971, Burgess et al. 1978), enquanto na colibacilose bovina é relatada, na maioria dos trabalhos, apenas a ocorrência de amostras de *E. coli* produtoras unicamente da enterotoxina STa (Moon et al. 1976).

Como a enterotoxina LT é de natureza protéica e imunogênica, é possível admitir que animais com ela imunizados ou que tenham se recuperado de uma ou mais infecções por *E. coli* LT⁺, com ou sem manifestações clínicas evidentes, apresentem no seu soro anticorpos específicos para LT (anti-LT).

De fato, a pesquisa de anti-LT tem sido usada para se avaliar a eficácia de vacinas contendo LT (Klipstein et al. 1983) ou ainda para se fazer um diagnóstico retrospectivo da infecção por amostras de *E. coli* LT⁺ (Whipp & Donta 1976). Desse modo, dados sobre a frequência de anti-LT em algumas espécies animais são, também, uma medida indireta da frequência de infecções por *E. coli* LT⁺ nestas espécies.

¹ Aceito para publicação em 8 de abril de 1987.

² Biól., EMBRAPA/Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte (CNPq), Caixa Postal 154, CEP 79100 Campo Grande, MS.

³ Méd.-Vet., Bolsista CNPq/EMBRAPA.

⁴ Farmacêutica Bioq., Profa. de Microbiologia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Caixa Postal 649, CEP 79100 Campo Grande, MS.

⁵ Bioq., Dra. Profa.-Assistente, Dep. de Microbiologia e Imunologia, Universidade Estadual de Campinas, Caixa Postal 1170, CEP 13100 Campinas, SP.

⁶ Méd.-Vet., Dr., Prof.-Titular, Dep. de Microbiologia e Imunologia, Universidade Estadual de Campinas.

Considerando-se que em bovinos não se conseguiu ainda isolar amostras de *E. coli* que produzam LT clássica, antigenicamente relacionada à toxina colérica (Clements & Finkelstein 1978), a certeza da presença de anti-LT em soros de bovinos seria uma real indicação da infecção por *E. coli* LT⁺ nesta espécie animal.

O presente trabalho teve como objetivo detectar, através do teste de imuno-hemólise passiva (IHP), a presença de anti-LT em 221 soros de bovinos de corte, abatidos em matadouros, provenientes de diferentes microrregiões do Estado de Mato Grosso do Sul.

Após a colheita de sangue da veia jugular de bovinos e posterior separação do soro, os mesmos foram acondicionados em frascos de 10 ml com mertiolato na concentração 1:10.000 e mantidos à temperatura de -20°C.

O teste de IHP, realizado no Departamento de Microbiologia e Imunologia da Universidade Estadual de Campinas, SP, foi semelhante ao descrito por Serafim et al. (1979) e Castro et al. (1980), introduzindo-se adaptações para detecção de anti-LT ao invés de LT.

Em nenhuma das 221 amostras de soro foi demonstrada a presença de anticorpos anti-LT. Na Tabela 1 são apresentadas oito reações com soros de bovinos, escolhidos ao acaso, sendo que todas elas foram falso-positivas, inclusive nas hemácias sensibilizadas com extratos brutos, preparados a partir da *E. coli* K₁₂, não produtora de LT. Quando os mesmos soros foram exaustivamente absorvidos com suspensão bacteriana concentrada de *E. coli* K₁₂, verificou-se que dois deles (165, 214) ainda reagiram com hemácias sensibilizadas com *E. coli* K₁₂.

TABELA 1. Resultados dos testes de imuno-hemólise passiva em oito amostras de soros de bovinos de corte, antes e depois da absorção com *Escherichia coli* K₁₂.

Identificação do soro	Hemácias sensibilizadas com extratos brutos das amostras					
	40T (humana)		0149/8 (suína)		K ₁₂ (controle)	
	Antes	Após	Antes	Após	Antes	Após
72	0,54 ^a	0,09	0,62	0,11	1,50	0,10
87	0,34	0,09	0,46	0,11	0,64	0,10
90	0,90	0,09	1,30	0,11	1,20	0,10
109	0,85	0,10	0,81	0,11	1,00	0,10
165	0,71	0,16	0,20	0,20	0,61	0,21
183	1,30	0,17	0,63	0,16	1,30	0,12
214	0,61	0,22	0,37	0,50	0,75	0,48
222	0,60	0,10	0,23	0,09	0,87	0,10

^a Leitura no espectrofotômetro a 420 nm. Negativo = a 420 < 0,17.

Sherwood et al. (1983), utilizando a técnica do cultivo de células da linhagem Y - 1 (célula de tumor adrenal de camundongo), onde a LT produz efeito característico, observaram que, entre 743 amostras de *E. coli* isoladas de bezerros, oito produziram arredondamento de células. Portanto, as oito amostras eram produtoras de um fator citotóxico, termolábil, diferente antigenicamente das LTs clássicas.

No presente trabalho, os resultados negativos, encontrados nas 221 amostras examinadas através do IHP, são semelhantes aos obtidos por Moon et al. (1976), embora contradizendo os dados obtidos por Whipp & Donta (1976) e Dobrescu (1979), que observaram a existência de anticorpos anti-LT em soros de bovinos.

A ausência de anticorpos anti-LT nas 221 amostras de soros examinados neste trabalho sugere que a enterotoxina LT provavelmente não participa da patogenia da colibacilose em bezerros no Estado de Mato Grosso do Sul, visto que, segundo Finkelstein et al. (1976), esta toxina é imunogênica e induz a formação de anticorpos anti-LT em animais que tenham se recuperado de infecções naturais com amostras de *E. coli* LT⁺.

REFERÊNCIAS

- BURGESS, M.N.; BYWATER, R.J.; COWLEY, C.M.; MULLAN, N.A.; NEWSONE, P.M. Biological evaluation of methanol; soluble, heat-stable *Escherichia coli* enterotoxin in infant mice, pigs, rabbits and calves. *Infect. Immun.*, 21(2): 526-31, 1978.
- CASTRO, A.F.P. de; SERAFIM, M.B.; GOMES, J.A.; GATTI, M.S.V. Improvements in the passive immunohemolysis test or assaying enterotoxigenic *Escherichia coli*. *J. Clin. Microbiol.*, 12(5):714-7, 1980.
- CLEMENTS, J.D. & FINKELSTEIN, R.A. Demonstration of shared and unique immunological determinants in enterotoxins from *Vibrio cholerae* and *Escherichia coli*. *Infect. Immun.*, 22(3):709-13, 1978.
- DOBRESCU, L. Heat-labile enterotoxin in calves. *Res. Vet. Sci.*, 27(1):133-4, 1979.
- FINKELSTEIN, R.A.; LA RUE, M.K.; JOHNSTON, D.W.; VASIL, M.L.; EHO, G.J.; JONES, J.R. Isolation and properties of heat-labile enterotoxin (s) from enterotoxigenic *Escherichia coli*. *J. Infect. Dis.*, 133:120-37, 1976. Suplemento.
- GYLES, C.L. Discussion: heat-labile and heat-stable forms of enterotoxin from *Escherichia coli* strains enteropathogenic for pigs. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 176: 314-22, 1971.
- KLIPSTEIN, F.A.; ENGERT, R.F.; HOUGHTEN, R.A. Protection in rabbits immunized with a vaccine of *Escherichia coli* heat-stable toxin cross-linked to the heat-labile. *Infect. Immun.*, 40(3):888-93, 1983.
- MOON, H.W.; WHIPP, S.C.; SKARVEDT, S.M. Etiologic diagnosis of diarrheal diseases of calves; frequency and methods for detecting enterotoxin and k99 antigen production by *Escherichia coli*. *Am. J. Vet. Res.*, 37(9):1025-9, 1976.
- SERAFIM, M.B.; CASTRO, A.F.P. de; REIS, M.H.L. dos; TRABULSI, L.R. Passive immune hemolyses for the detection of heat-labile enterotoxin produced by *Escherichia coli*. *Infect. Immun.*, 24(3):606-10, 1979.
- SHERWOOD, D.; SNODGRASS, R.D.; LAWSON, G.H.K. Prevalence of enterotoxigenic *Escherichia coli* in Scotland and Northern England. *Vet. Rec.*, 113 (10):208-12, 1983.
- WHIPP, S.C. & DONTA, S.T. Serum antibody to *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin in cattle and swine. *Am. J. Vet. Res.*, 37(8):905-6, 1976.