

## INVESTIGACIONES SOBRE MODO DE ACCION DE LA ENTEROTOXINA ESTAFILOCOCICA

Por Guillermo Suárez Fernández

El modo de acción de la enterotoxina estafilocócica no se conoce todavía de una manera concluyente<sup>1</sup>. Existen probablemente distintas localizaciones de receptores de la acción vomitiva de esta toxina que varían con la especie<sup>2</sup>.

De otro lado, la purificación parcial o total de algunos tipos de enterotoxina ha permitido precisar el carácter preferentemente neurotóxico de estas sustancias<sup>3</sup>, en contraposición con el criterio clásico que sugería una acción periférica que habría de afectar bien a las terminaciones nerviosas o a la musculatura lisa del intestino delgado<sup>4</sup>.

La experimentación sobre la acción farmacológica de la enterotoxina se ha orientado principalmente al estudio de su mecanismo emético. Existen, sin embargo, otras acciones de carácter secundario<sup>5,6,7</sup>, y la aportación de nuevo conocimiento en esta dirección podría conducir eventualmente al hallazgo de un método de ensayo biológico, satisfactorio y simple, para la detección de la enterotoxina en los alimentos.

Algunos de los métodos biológicos propuestos para el diagnóstico de la enterotoxina<sup>8,9,10</sup> han resultado inespecíficos y debidos a sustancias, probablemente metabólicas, que acompañan a la toxina propiamente dicha. Sin menospreciar el papel que dichas sustancias puedan desempeñar en el establecimiento de la patogénesis de este tipo de intoxicación,<sup>11</sup> en este estudio hemos utilizado únicamente enterotoxina B purificada. Con ello se trata de evitar toda interferencia en la especificidad de los resultados.

## MATERIALES Y METODOS

Se realizaron varios ensayos farmacobiológicos: valoración en fragmentos de intestino (ileon) de cobayo, perfundido en solución nutritiva, en intestino de gato recién nacido, en útero de coneja virgen y en presión sanguínea de gato anestesiado.

En las tres primeras pruebas se siguieron las técnicas de la Pharmacopee Francaise para valoración de histamina y oxitocina<sup>12</sup> y para la de acción sobre presión sanguínea de gato el método FDA.<sup>13</sup> Los resultados se registraron sobre cartulina ahumada colocada en tambor Marey.

El número de pruebas realizadas fue de seis, seis, cuatro y ocho, respectivamente, para los métodos citados.

Las diluciones de enterotoxina B purificada se realizaron en agua bidestilada estéril.

## RESULTADOS

### 1. *Intestino de cobayo perfundido en solución nutritiva.*

En ningún caso se observó acción directa alguna en concentraciones de 0,2, 2 y 20 mcgr. de enterotoxina B por cc. de líquido nutriente, sobre intestino (ileon) de cobayo, ni tampoco acción antihistamínica cuando se mezclaron estas cantidades con 0,2 mcgr. de histamina por cc. en el baño de órgano. No se pudo apreciar tampoco intoxicación del segmento intestinal en contactos prolongados durante cinco minutos, con dosis de enterotoxina de 2 mcgr. por cc. de medio, ya que la contracción a la dosis de histamina era idéntica. Se selecciona como representativa de este ensayo la fig. 1.

### 2. *Intestino de gatito.*

El comportamiento del intestino de gatito fue idéntico al descrito, con la única diferencia de una menor intensidad de contracción en respuesta al estímulo histamínico.

### 3. *Utero de coneja virgen.*

La acción sobre útero de coneja virgen experimentó variaciones individuales en los casos ensayados y aunque no puede descartarse to-

talmente una acción espasmódica en una de las pruebas efectuadas (fig. 2) esta es demasiado ligera para ser tomada en consideración, cuando se compara con una contracción tipo de 20 mcgr. de adrenalina por cc. de medio nutritivo.

### 4. *Presión sanguínea en gato anestesiado.*

No se manifestó una acción directa de la toxina sobre la presión sanguínea. Sin embargo, cuando se inocularon 100 mcgr. de enterotoxina mezclados con 0,6 mcgr. de histamina la variación instantánea en la presión sanguínea fue normal pero la recuperación de la presión sanguínea se realizó en menos de diez segundos. El tiempo de recuperación ante la inyección de la dosis de histamina, era en cambio de 20 segundos, sin llegar a ser total. Se elige como típica de esta prueba la fig. 3.

## DISCUSION

Con el fin de evitar las acciones inespecíficas producidas por los componentes de origen metabólico, que se hallan presentes en la enterotoxina cruda, o no purificada, se ha utilizado en este estudio el tipo B de enterotoxina, cuyo proceso de purificación es el mejor conocido hasta el momento en este grupo de toxinas, con un alto grado de pureza.

Las aportaciones más sobresalientes al conocimiento del modo de acción de estas sustancias provienen sin duda del equipo de investigadores del Food Research Institute en Norteamérica, destacando los nombres de DACK, SUGIYAMA, BERGDOLL, McKISSIC y FOSTER. Sin embargo, el modo de acción de la enterotoxina no se conoce todavía perfectamente, habiendo demostrado SUGIYAMA<sup>14</sup> y SUGIYAMA y McKISSIC<sup>15</sup> una cierta similitud entre la respuesta de diversos animales de experimentación a la enterotoxina y la correspondiente a endotoxinas de bacterias gram negativas. DACK<sup>16</sup> manifiestaba que el mejor conocimiento del modo de acción de la enterotoxina podría conducir a un procedimiento de ensayo biológico, más simple que los conocidos, para la detección de dicha sustancia. Siguiendo esta idea pensamos que dicha solución podría hallarse no solamente con relación al punto central de acción del producto, sino en alguna reacción secundaria, si ésta resulta ser específica.

Con la expresión de los resultados obtenidos se pretende realizar una contribución en el sentido expuesto.

## RESUMEN

Se han realizado varios ensayos biológicos, utilizando enterotoxina B con un elevado grado de pureza, en íleon de cobayo perfundido en líquido nutritivo, en intestino de gatito, en útero de coneja virgen y en presión sanguínea de gato anestesiado.

Los resultados obtenidos indican una acción de la enterotoxina, observable en las distintas pruebas, sobre la velocidad de recuperación de la presión sanguínea a continuación de la desviación producida por la inoculación de 0,6 megr. de histamina.

No se ha podido observar estímulo definido alguno sobre intestino (íleon) de cobayo de gatito recién nacido, o útero de coneja virgen.

## RESUME

On a effectué plusieurs essais biologiques dans lesquels on a employé de l'entérotoxine B à un haut degré de pureté dans l'ileon de cobaye perfondu dans du liquide nutritif, dans l'intestin de petit chat, dans l'utérus de lapine impubère et dans la pression sanguine de chat anesthésié.

Les résultats obtenus indiquent une action de l'entérotoxine sur la rapidité de récupération de la pression sanguine après la déviation produite par inoculation de 0,6 microgrammes d'histamine; ce qui a pu être observé dans les différents essais effectués.

Aucun stimulus bien défini n'a pu être observé sur l'ileon de cobaye, sur l'intestin de petit chat nouveau né ou sur l'utérus de lapide impubère.

## SUMMARY

We have carried out various biological tests using enterotoxin B at a high degree of purity on ileum of guinea-pig perfused into a nutritive liquid, on intestine of kitten, on uterus of impuber doe and on blood pressure of anaesthesized cat.

The results obtained show an enterotoxin action or effect, observable in the various tests carried out, upon the speed in blood pressure reco-

very after the deviation caused by inoculating 0.6 megr. of histamine.

No definite stimulus has been observed upon ileum of guinea-pig, of new-born kitten, or upon uterus of impuber doe.

## AGRADECIMIENTO

Al doctor MERLIN S. BERGDOLL del Food Research Institute, University of Wisconsin, Madison, Wisconsin, por el envío de dos lotes de enterotoxina estafilococica tipo B, purificada.

## BIBLIOGRAFIA

1. FOSTER, E. M. y BERGDOLL, M. S. (1967).—«Staphylococcal food poisoning». Comunicación presentada a la *Hemispheric Conference on Safety and Importance of Foods*. Mayagüez, Puerto Rico.
2. DACK, G. M. (1963).—Staphylococcus enterotoxin: a review. *Jap. J. Med. Sci. Biol.* **16**, 1.
3. SUGIYAMA, H., CHOW, K. L. y DRAGSTEDT, II (1961). Study of Emetic Receptor Sites for Staphylococcal Enterotoxin in Monkeys. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* **108**, 92.
4. BAYLISS, M. (1940).—Studies on the mechanism of vomiting produced by staphylococcus enterotoxin. *J. Exper. Med.* **72**, 669.
5. SUGIYAMA, H., BERGDOLL, M. S. y DACK, G. M. (1958). Increased serum glutamic-oxalacetic transaminase of monkeys following oral administration of staphylococcal enterotoxin. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* **98**, 33.
6. CLARK, W. G., VANDERHOOF, G. F. y BORISON, H. L. (1961). Emetic and pyrogenic effects of staphylococcal enterotoxin in cats. *Fed. Proc.* **20**, 230.
7. SUGIYAMA, H., McKISSIC, E. M. y HAYAMA, T. (1964).—Hyperfibrinogenemia and thrombocytopenia after staphylococcal enterotoxin. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* **117**, 726.
8. PISU, I. (1951).—La prova biológica nella rana per la identificazione della enterotoxina stafilococcica. *Boll. Inst. Sier. Mil.* **30**, 622.
9. DEL VALLE, M. R. (1960).—The nematode as an assay organism for staphylococcal enterotoxin. *M. S. Thesis*, Winsconsin University.
10. GABBRIELI, G. y BUZZANCA, E. (1967).—Sobre la validez de algunas pruebas biológicas para la valoración del poder enterotóxico de

las cepas de *Staphylococcus aureus*. *Laboratorio*. 271, 23. (Trad. del italiano).

1. SUAREZ FERNANDEZ, G. (1966). Microflora estafilococica de leche natural. *An. Fac. Vet. León*, 8, 141.
12. PHARMACOPEE FRANCAISE. (1965).—VIII Edition. «Ministre de la Santé Publique et de la Population». París.
13. F D A (1966).—Regulations for tests and methods of assay of antibiotic drugs. *Amendment published in Federal Register*. 141 b. 105. U. S. Department of Health, Education and Welfare. Washington.
14. SUGIYAMA, H. (1966).—Endotoxin-like responses induced by staphylococcal enterotoxin. *J. Infect. Dis.* 116, 162.
15. SUGIYAMA, H. y McKISSIC, E. M. (1966). Leucocytic response in monkeys challenged with staphylococcal enterotoxin. *J. Bacteriol.* 92, 349.
16. DACK, G. M. (1962).—Staphylococcal enterotoxin. En AYRES, J. C. et al. *Chemical and Biological Hazards in Food*. Iowa state University Press. Ames, Iowa.

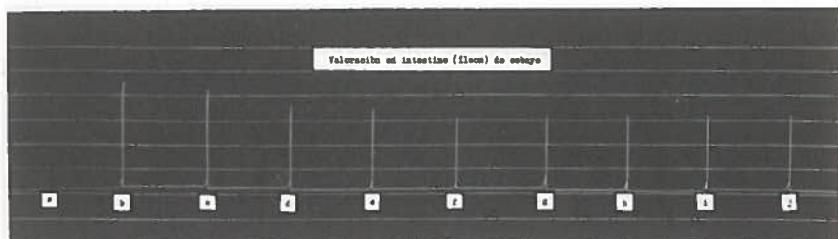


Fig. 1. *Valoración tipo en ileon de cobayo y su interpretación*. a) Intestino atropinizado preparado para el ensayo biológico. b) Contracción correspondiente a 0,2 microgramos de histamina por cc. de medio nutritivo. c) Contracción producida por 0,2 microgramos de histamina con 0,2 microgramos de enterotoxina por cc. Lavado entre c y d. d) Contracción originada por 0,2 microgramos de histamina y 2 microgramos de enterotoxina por cc. Lavado entre d y e. e) Contracción provocada por 0,2 microgramos de histamina y 20 microgramos de enterotoxina por cc. f) Contracción debida a la adición de 10 microgramos de histamina para 50 cc. de medio. Lavado entre f y g. g) Despues de cinco minutos de contacto (parada del giro del tambor) de la enterotoxina (2 microgramos por cc. de líquido) con el órgano se produce una contracción idéntica al adicionar al baño de órgano 10 microgramos de histamina. Previo lavado se repite la prueba anterior con cantidades de 0,2, 2 y 20 microgramos de enterotoxina en h, i y j.



Fig. 2. *Valoración tipo en útero de coneja virgen y su interpretación*. a) Contracción debida a 1 miligramo de adrenalina. Lavado entre a y b. b) Ligera contracción al añadir 100 microgramos de enterotoxina a 50 cc. de líquido nutritivo. Lavado entre b y c. c) Ligera contracción al añadir 10 microgramos de enterotoxina al medio nutritivo. d) Aplicación de 1 miligramo de adrenalina. e) Se repite la adición de 100 microgramos de enterotoxina. Lavado entre e y f. f) Nueva dosis de 10 microgramos de enterotoxina. g) Lavado final. h) Evolución del tono muscular a la velocidad de giro de 10 cm. por minuto.

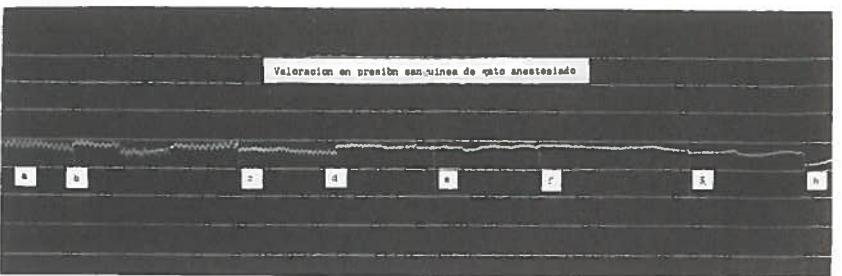


Fig. 3. *Valoración tipo en presión sanguínea de gato anestesiado y su interpretación.* a) Presión normal recuperada después de la inoculación de 0,3 microgramos de histamina por kg. de peso. b) Se inyectan por vía intravenosa 0,3 microgramos de histamina mezclados con 100 microgramos de enterotoxina, con parada del tambor de Marey, hasta la recuperación de la presión normal, durante 10 segundos. c) Inoculación de 0,6 microgramos de histamina con parada del giro durante 20 segundos. d) Inyección de 100 microgramos de enterotoxina después de un minuto de giro, con recuperación instantánea de la presión. e) Se inoculan 0,6 microgramos de histamina mezclados con 100 microgramos de enterotoxina, con parada de giro de 10 segundos, durante los cuales se recupera la presión sanguínea normal. f) Introducción por vía endovenosa de 0,3 microgramos de histamina. Alcanzada la cifra normal de presión después de una parada de dos minutos se inoculan 100 microgramos de enterotoxina, sin que se produzca modificación alguna. g) Nueva inoculación de 0,6 microgramos de histamina y 100 microgramos de enterotoxina con parada de 10 segundos. h) Inyección de 0,6 microgramos de histamina y parada de 20 segundos. La presión sigue sin alcanzar su valor normal pasados 25 segundos, con el tambor de Marey en marcha.