

Algunas propiedades del suero antimicrobiano contra *B. perfringens*.

Por A. Sordelli y J. Ferrari

La inyección por vía venosa de cultivos de *B. perfringens* en agar y en caldo glucosado, da lugar a la formación de anticuerpos antimicrobianos revelados por la existencia de precipitinas, aglutininas y anticuerpos fijadores. La dosis mayor de gérmenes inyectados es de 20 cm.³, de 200.000 millones por cm.³. La obtención de un suero regularmente activo requiere entre dos y cuatro meses. Nuestras experiencias no nos han dado satisfacción completa respecto de la actividad del suero.

En esta corta memoria sólo referiremos las propiedades del suero y la posibilidad de su empleo para el diagnóstico rápido de *B. perfringens*.

I

a) El suero tiene propiedades precipitantes para extractos de bacilos cultivados en caldo o en agar. Los extractos llevados a la ebullición contienen aun sustancias específicas precipitinógenas.

b) La propiedad precipitante está acompañada por la de aglutinar específicamente las emulsiones de *B. perfringens*.

c) El suero tiene en alto grado la capacidad de fijar específicamente el complemento en presencia de una suspensión de *B. perfringens*.

II

El suero tratado por 10 volúmenes de agua destilada saturada de CO² precipita intensamente, y en forma comparable al suero anticarbuncloso obtenido por inmunización venosa, o

al suero neumocócico preparado de manera igual. Las fracciones soluble e insoluble en agua tienen propiedades distintas y que a continuación estudiaremos.

Protocolo.

5 cm.³ de suero 863 son precipitados con 45 cm.³ de agua saturada de CO² y centrifugados. El residuo se disuelve en solución fisiológica. El líquido sobrenadante se concentra.

a) Distribución de las precipitinas.

En ambas soluciones llevadas a un volumen que corresponde a una dilución al 1/2 del suero primitivo se investigan precipitinas. Los extractos se preparan por ebullición de *B. perfringens* en solución fisiológica. Se ensaya, además, la actividad de la sustancia específica obtenida por precipitación por alcohol acetato de sodio.

	Extracto de <i>B. perfringens</i>		Sustancia específica 1 ‰
	1/1	1/2	
Suero total	++	++	++
Fracción soluble en H ² O y CO ²	±	0	0
Fracción insoluble en H ² O y CO ²	++	+	++

Las precipitinas están contenidas en el precipitado producido por agua destilada CO². La fracción seudoglobulinas albúmina contiene apenas sustancias específicas precipitantes.

b) Anticuerpos fijadores.

Como antígeno se tentó el empleo del cultivo total en caldo glucosado y de sus dos componentes — el caldo y los bacilos. El caldo, y el cultivo total por consiguiente, tienen un poder anticomplementario tan elevado que su empleo es imposible. Los bacilos suspendidos en solución fisiológica (10.000 millones por cm.³) apenas tienen acción anticomplementaria y son empleados como antígeno.

Fijación del complemento con antígeno soluble total.

Se emplea el suero total 863 y sus dos fracciones, soluble e insoluble en agua en dosis variables.

Antígeno 0.1 cm.³ de suspensión en sol. fisiológica de *B. perfringens*, 10.000 millones.

Complemento = 1 D. hemolítica = 0.25 de la dilución 1/10.

Glóbulos 0.5 cm.³. 10 % con 5 dosis hemolíticas de amboceptor.

Volumen de fijación 1 cm.³.

Fijación 1 hora a 37°.

Hemolisis 30' a 37°.

Dosis de suero	Suero total	Parte soluble en H ₂ O CO ₂	Precipitado por H ₂ O CO ₂
0.002	O	O	pH
0.001	O	O	pH
0.0005	O	pH	¼H
0.0002	pH	CH	CH
0.0001	CH	H	H
0.00005	H	H	H
testigo 0.002	H	H	H
testigo 0.001	H	H	H

La fijación del complemento con el suero total llega a la dosis de 0.0002; con la parte soluble a 0.0005 y aproximadamente a la misma dosis con el precipitado. Hay entre la acción de la parte soluble y de la parte insoluble una diferencia que reside en la incompleta fijación con dosis grandes de esta última fracción. En el suero total parecerían reunirse las acciones de ambas partes.

Con el pensamiento de investigar si acontecían hechos análogos a los observados con *B. anthracis*, se dejó actuar sobre los bacilos el anticuerpo y luego se agregó el complemento. El comportamiento de las tres series fué comparable al experimento anterior, es decir que los fenómenos de coagulación no perturban la actividad del antígeno como fijador del complemento.

Fraccionamiento del antígeno.

La solubilidad del antígeno precipitinógeno de *B. perfringens* en agua, nos condujo a investigar como ya hicieramos

con *B. anthracis*, las propiedades de las distintas fracciones como antígenos de fijación.

La suspensión de *B. perfringens* en solución fisiológica, es calentada a 50° por 5', centrifugada y repetida la extracción dos veces más en igual forma.

Se prepara un segundo extracto hecho en idénticas condiciones pero por calentamiento a 100°. Se tienen así dos extractos a 50° y 100° y dos residuos de bacilos extraídos a 50° y 100°.

Se emplea 0.1 cm.³ de cada uno de estos antígenos, cuya concentración corresponde a una emulsión de 10.000 millones de bacilos por cm.³.

Como anticuerpos se usan las dos fracciones de suero, obtenidas con agua destilada y CO₂.

El complemento es usado en la dosis de 0.3 cm.³ de la dilución al 1/10.

Suero cm. ³	Parte soluble en H ₂ O CO ₂				Parte insoluble en H ₂ O CO ₂	
	Residuo 50°	Extracto 50°	Residuo 100°	Extracto 100°	Extracto 50°	Extracto 100°
0.002	O	H	O	H	CH	¾H
0.001	O	H	O	H	H	H
0.0005	O	H	O	H	H	H
0.0002	½H	H	CH	H	H	H
0.0001	CH	H	H	H	H	H
0.00005	H	H	H	H	H	H
0.002 testigo	H	H	H	H	H	H
0.001 testigo	H	H	H	H	H	H

De este protocolo es fácil deducir: 1° que el antígeno fijador no es soluble en solución fisiológica; 2° que es coctoestable; 3° que el antígeno precipitinógeno no tiene propiedades de antígeno fijador.

Esta última característica fué determinada también en el antígeno purificado, por precipitación alcohólica que en la dosis de 0.1 de milígramo no tiene capacidad fijadora con el suero total, ni con las dos fracciones del mismo.

III

La actividad del suero precipitante de *B. perfringens* fué puesta de manifiesto para los productos específicos que aparecen por la infección experimental con *B. perfringens*.

Se inoculan cobayas con: 1° *B. perfringens*, 2° con V. séptico, 3° con una mezcla de V. séptico y *B. perfringens*. La autopsia de estos animales revela las lesiones puras de V. séptico y *perfringens*, y en el último un cuadro más complejo. El líquido de edema de estos tres animales se diluye a la mitad con solución fisiológica y se lleva a 100° durante 15'. Se centrifuga y se ensayan los tres extractos con los sueros precipitantes 862 y 863.

Dilución del extracto	<i>Perfringens</i>			<i>Perfringens</i> y V. sep.			V. séptico		
	S. normal	S. 862	S. 863	S. normal	S. 862	S. 863	S. normal	S. 862	S. 863
1/2	0	+++	+++	0	+++	+++	0	0	0
1/5	0	+++	+++	0	+++	+++			
1/10	0	+++	+++	0	+++	+++			
1/20	0	++	++	0	++	++			
1/40	0	+	+	0	+	+			

Con los órganos (hígado y bazo) de los tres animales se hizo un ensayo igual, que permitió constatar la ausencia de antígeno precipitinógeno en los órganos.

Esta propiedad del suero precipitante de *B. perfringens* puede permitir fundar un método para el diagnóstico rápido de las afecciones gangrenosas. Quedaría por establecer el valor práctico de este método diagnóstico por el estudio sistemático de las heridas infectadas con gérmenes anaerobios.