

ESTUDIO SOBRE LA ESTRUCTURA ANTIGENICA DE LAS
CEPAS INGLESAS, NACIONALES Y AMERICANAS,
DE HAEMOPHILUS PERTUSSIS EN FASE I

Por RICARDO A. MARGNI

Cuando estudiábamos las características de las cepas de *Haemophilus pertussis* en fase I, aisladas en nuestra Sección, de material proveniente de secreción rinofaríngea, de niños afectados de coqueluche, me llamó enormemente la atención el hecho de que cepas en fase I inglesas y americanas eran aglutinadas con diferente intensidad, cuando se las ponía en presencia de un suero antipertussi fase I, obtenido por inmunización de conejos con cepas aisladas en nuestro país. Como el problema inverso también se presentaba, ello me llevó a efectuar un estudio detallado sobre la estructura antigénica de las cepas de diferente procedencia.

Las utilizadas fueron las siguientes:

122 y 128 de Lederle (estadounidenses).

8189 y 7233 del Collected Type Culture London y 154; 298 y 310 de Chelsea Poly London (inglesas).

1; 14; 40 y 50 (argentinas), aisladas en nuestra Sección.

Todas estas cepas respondían a las características tipo de la fase y ninguna de ellas presentó aglutinación con suero antipertussis fase IV.

El estudio se hizo mediante la búsqueda de antígenos aglutinables. Los antígenos utilizados consistieron en suspensiones bacterianas (5.000 millones de gérmenes por mililitro) de *Haemophilus pertussis* en fase I, cultivados en medio de Bordet con 20 por ciento de sangre de conejo y muertos por el formol al 5 por mil.

Los sueros inmunes fueron preparados por inoculación a conejos, por vía endovenosa, de acuerdo al siguiente plan:

- 1ra. inoculación: 500 millones de gérmenes muertos por el formol.
- 2da. inoculación: 1000 millones de gérmenes muertos por el formol.
- 3ra. inoculación: 2000 millones de gérmenes muertos por el formol.
- 4ta. inoculación: 2000 millones de gérmenes vivos.

Todas las inoculaciones fueron hechas con intervalo de una semana y la sangría definitiva ocho días después de la última inyección.

Como los diferentes sueros aglutinantes tenían títulos que oscilaban entre 1:200 y 1:500, para uniformar, los de mayor concentración fueron diluidos hasta conseguir un título aglutinante máximo de 1:200.

Para las reacciones de floculación 0,5 ml de antígeno preparado con cada una de las cepas fué puesto en presencia de 0,5 ml de tres diluciones de cada antisuero. Las empleadas fueron 1:20; 1:50 y 1:150. Si la aglutinación era franca en los tres tubos la reacción se expresaba como positiva cuatro cruces; en caso contrario, el número de cruces era el promedio de las aglutinaciones obtenidas en los tres tubos.

Los resultados se consignan en el cuadro que sigue:

Sueros aglutinantes

Antígenos	1	14	40	50	122	128	154	298	310	7233	8189
1	++++	++	++++	++++	++	+++	++	++	+	++++	++++
14	++	++++	++++	++	++	+++	++	++	+	++++	++++
40	+++	++++	++++	++	++	++	+	+	+	++++	++++
50	+++	++	++	++++	++	++	+	+	+	++++	++++
122	++	++	+	++	++++	++++	—	—	—	+	++++
128	++	++	++	++	++++	++++	—	—	—	+	++++
154	++	++	+	+	—	—	++++	++++	+	+	+
298	++	++	+	+	+	—	++	++++	++	+	+
310	++	++	+	+	—	—	++	++	++++	+	+
7233	++++	++++	++++	++++	+	+	+	+	+	++++	++++
8189	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+	+	+	++++	++++

Se efectuaron también ensayos de fijación del complemento. La reacción se hizo en tres tubos con dosis de 0,1 ml; 0,2 ml; y 0,3 ml de suero diluidos 1:20. Se utilizaron tres antígenos diferentes preparados del siguiente modo:

- nº 1: idéntico al empleado en las reacciones de aglutinación.
- nº 2: suspensiones bacterianas lisadas por congelaciones y descongelaciones bruscas.
- nº 3: suspensiones bacterianas calentadas a ebullición durante 15 minutos.

De complemento se empleó una dosis.

Los resultados obtenidos, si bien con variaciones en el grado de intensidad, fueron concordantes con los hallados en las pruebas de aglutinación.

De acuerdo al cuadro que antecede, se deduce que la estructura antigénica del *H. pertussis* en fase I, no es homogénea. Muy probablemente se trate de un mosaico con antígenos de carácter aglutinante y fijadores del complemento que responden a una misma estructura.

Los antígenos serían dos, el A y el B en concentraciones diferentes según las cepas. En algunas razas inglesas existe además una tercera parcela antigénica que llamaremos X. La misma más que un tercer componente de los gérmenes en fase I parece ser un elemento de transición a la fase II ya que las cepas con estas características son débilmente aglutinadas por los sueros en fase I y francamente aglutinadas por los sueros en fase III. Esto puede aceptarse de acuerdo a la concepción anterior si se tiene en cuenta, por los trabajos de Leslie y Gardener, que las cepas de *H. pertussis* en fase I son aglutinadas a título (100%) por los sueros anti*pertussis* fase I y 25% por sueros anti*pertussis* fase III. Las cepas en fase II se caracterizan en cambio por aglutinar a título (100%) con los sueros anti*uertussis* fase II y fase III. Como las cepas anteriormente nombradas tienen la particularidad de aglutinar débilmente con los sueros en fase I, cosa que no ocurre cuando se encuentran en fase II exclusivamente y además aglutinan muy bien con los sueros en fase III, puede admitirse que la parcela X es de transición de la fase I a la II y no exclusivo componente I.

Por lo tanto la estructura antigénica de los diferentes *Haemophilus pertussis* en fase I sería la siguiente:

Cepas inglesas: AB; Ab; $\boxed{X_a - A}$

Cepas argentinas: Ab.

Cepas norteamericanas: B; Ba

Considerando el esquema anterior como el de la estructura antigénica de los *Haemophilus pertussis* en fase I, se comprende fácilmente los resultados obtenidos en los cuadros experimentales ya descritos. En efecto, de las cepas inglesas estudiadas hay una, la 8189, que respondería al esquema AB, en la que ambos componentes se hallan en exceso, por lo que se los representa con mayúsculas. La 7233 sería del tipo Ab, en tanto que otras, como las 154; 298, y 310, serían del tipo X_a, si es que admitimos a X como componente exclusivo de la fase I, o muy probablemente del tipo A si a dicho elemento lo consideramos de transición. Lo que es curioso es que todas estas cepas proceden de un mismo destino. A estas cepas se les ha asignado dicha estructura, teniendo en cuenta que son débilmente aglutinadas por los sueros con aglutininas anti A (cepas 8189, 7233, argentinas y algunas norteamericanas) y no por las que contienen las anti

B exclusivamente (cepas norteamericanas). Además las reacciones de aglutinación entre cepas de esta estructura son más intensas, lo que confirma la presencia de un tercer antígeno, el X, no compartido por las demás razas de *Haemophilus pertussis* en fase I.

Las cepas argentinas responden al esquema Ab, ya que están constituidas por gran cantidad de A y menor proporción de B, por lo que se representa a este componente con minúscula; dejando constancia que la concentración de este segundo componente varía según las cepas, no así el primero que parece hallarse en una concentración más estable. Esto explica que las mismas aglutinen a todas las cepas americanas e inglesas aquí estudiadas.

Las cepas norteamericanas responderían a una estructura inversa a la de las nacionales y estarían constituidas por el componente B exclusivamente o por el mismo acompañado de pequeñas cantidades de A. Este sería el motivo de que aglutinen únicamente a las cepas inglesas AB; Ab y a las argentinas con igual estructura, no así a las inglesas Xa con las que no reaccionan o dan aglutinaciones dudosas.

Para determinar que en las cepas argentinas y norteamericanas existía predominio de una de las parcelas que componen la estructura de ciertas cepas inglesas, la 8189 especialmente, se hizo prueba de absorción de aglutininas con el siguiente resultado. Al suero aglutinante preparado con la cepa 8189 se le absorbió aglutininas con la cepa americana 128. Después de la absorción, sobre el suero remanente, se hizo una nueva reacción de aglutinación con la cepa nacional n° 40, con resultado positivo. El problema inverso, es decir, la absorción con la cepa 40 y aglutinación del residual con la 128, también se efectuó, con idénticos resultados, por lo que se deduce que con la cepa americana se absorbieron las aglutininas anti B y con la nacional las anti A y pequeña cantidad de las anti B. Además, como al hacer reacciones de aglutinación o fijación del complemento entre cepas norteamericanas y sueros obtenidos por inmunización con cepas argentinas, hay pequeña absorción de anticuerpos; al igual que si se realiza el procedimiento inverso, se confirma la estructura del mosaico antigénico de las diferentes cepas de *H. pertussis* en fase I.

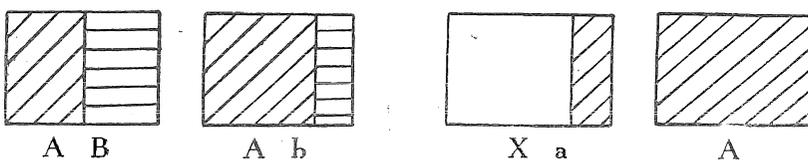
Los sueros aglutinantes anti 154; 298 y 310 fueron absorbidos con suspensiones de la cepa 8189. Con el suero residual se efectuaron pruebas de aglutinación frente a las cepas 7233; 1; 14; 40 y 50, con resultado negativo. Las aglutinaciones de ese residual con las cepas 154; 298 y 310, aunque débiles, fueron positivas, hecho este

en favor de un tercer antígeno, el X, no compartido por las demás cepas.

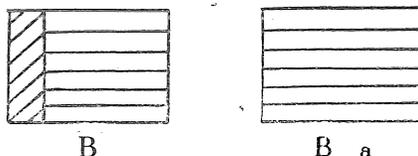
Queda aún por señalar que si bien la cepa inglesa 7233 tiene la misma estructura que las argentinas, en aquella, el componente B se encuentra en menor proporción, ya que las reacciones de aglutinación frente a las cepas norteamericanas son de menor intensidad.

La estructura antigénica de las diferentes cepas puede representarse esquemáticamente del siguiente modo:

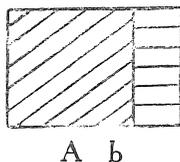
Cepas inglesas:



Cepas norteamericanas:



Cepas argentinas:



Conclusiones:

Los resultados obtenidos tienen particular importancia.

1) Cuando quiera ponerse en evidencia serológicamente la fase I de una cepa en estudio, no conviene utilizar sueros aglutinantes preparados con cualquier cepa, sino los que provienen de la inmunización con aquellas ricas en las fracciones A y B, tal como la 8189 por ejemplo.

2) Las vacunas preventivas y curativas elaboradas con *H. pertussis* en fase I no pueden fabricarse con cualquier cepa. Lo mejor es hacerlo con un conjunto seleccionado en el que predominen ambas

parcelas antigénicas. De este modo se conseguiría en la inmunización humana, la formación en alto título de anti-cuerpos defensivos contra los antígenos A y B, ya que son éstos los únicos, que desigualmente repartidos, se encuentran en las diferentes razas de *Haemophilus pertussis* en fase I.

3) Sería de desear que se estudiaran nuevas cepas, sobre todo provenientes de distintas epidemias, para poder confirmar las conclusiones de este trabajo, las que parecen demostrar que la fase I del *H. pertussis* no es homogénea sino que está formada por dos parcelas antigénicas, con desigual distribución según las razas bacterianas.

BIBLIOGRAFIA:

- 1) ELDERING Y KENDRICK. *Journ Infect. Dis.* 1958. 55:561.
- 2) KRISTENSEN, N. Y LARSEN, S. A. — *Comunicación del Instituto Seroterápico del Estado Danés.* 1926.
- 3) MILLER, J. J., RYAN, M. L. Y HAVARD, E. — *Amer. Journ. Dis. Child.* 1948. 75:872.
- 4) LESLIE, CH. Y GARDENER, A. D. — *The Journ. of Hygiene.* 1951, pág. 423-34.
- 5) SAUER, L. N. — *Journ. Amer. Med. Ass.* 1959. 112:505.
- 6) SHIBLEY, G. S. Y HOELSCHER, H. — *Journ. Exper. Med.* 1954. 60:403.