

Folia Biologica

Publicación del personal técnico del Instituto Bacteriológico
del Departamento Nacional de Higiene

Dirección y Administración: VELEZ SARSFIELD 563

Folia Biol.

Buenos Aires, mayo y junio 1932

Nos. 14 y 15

TRABAJOS ORIGINALES

Contribución al Estudio de los Antígenos Formolados

I. El antígeno neumocócico *in vitro*

Por C. E. PICO y J. NEGRETE.

Es un hecho conocido que las suspensiones de *D. pneumoniae* en vehículos acuosos pierden o atenúan considerablemente, en el transcurso de poco tiempo, su capacidad antigénica *in vivo*. Por otra parte, según la experiencia adquirida en el Instituto Bacteriológico del Departamento Nacional de Higiene. Las suspensiones análogas a las cuales se les ha añadido formol en la proporción de 5 o/oo, mantienen la propiedad de engendrar anticuerpos durante largo tiempo.

Ante tales resultados nos pareció interesante estudiar el fraccionamiento del antígeno neumocócico formolado, siguiendo las indicaciones de HEIDELBERG, AVERY, SAVINO, etc., respecto al mismo antígeno sin formol.

Resumiendo los resultados obtenidos por dichos autores, y que por nuestra parte hemos corroborado, podemos decir:

La extracción acuosa del antígeno neumocócico permite separar tres funciones, a saber: una parte insoluble, constituida por cuerpos bacterianos y que es susceptible de aglutinar (diferenciación de tipo) con el antisero correspondiente; una parte soluble dentro de la cual puede, a su vez, separarse dos fracciones, la primera de las cuales estaría representada por el precipitinógeno (substancia específica soluble, de naturaleza hidrocarbonada) y la segunda, por el antígeno fijador del complemento, de naturaleza compleja, pero donde desempeñarían un papel importante ciertas nuclealbúminas, y que posee la propiedad de diferenciar la especie neumocócica aunque no el tipo.

Según los trabajos efectuados por nosotros utilizando el antígeno formolado, se presentan algunas diferencias en la manera de comportarse ante la extracción acuosa.

En primer lugar, la substancia específica soluble no se extrae con la facilidad comprobada en el antígeno natural. Se necesita un pH de 4.7 y una elevada temperatura para conseguir la liberación del precipitinógeno del antígeno formolado. A temp. amb. no se consigue separar el precipitinógeno ni a pH 4.7, 7, 7.6, ni 8. A la temp. de la ebullición del agua sólo se extrae el precipitinógeno a pH. 4.7. Este hecho explicaría la persistencia del valor antigénico de las suspensiones neumocócicas formoladas a que hemos aludido anteriormente. Debemos advertir, sin embargo, que el neumococo tipo III requiere una concentración de formol mayor que los otros tipos (I y II), puesto que para impedir la extracción del hidrocarbonado específico se necesita una proporción de formol de 10 o/oo.

Respecto a la fijación del complemento también se observa una diferencia de comportamiento entre el antígeno formolado y el no formolado. Mientras la fracción acuosa de este último es inactiva o casi inactiva a pH. 4.7, se muestra

francamente fijadora en el antígeno formolado. Es posible que a este fenómeno se vincule el poder desintoxicante que posee la formaldehida.

En cuanto a la fracción insoluble (aglutínogeno) no se advierten mayores diferencias.

La técnica empleada en nuestros experimentos puede resumirse así:

Los diversos tipos de *D. pneumoniae* fueron cultivados durante 24 horas en caldo glucosado y a pH. 8.3. Adición de formol en proporción del 5 o/oo (tipos I y II) o del 10 o/oo (tipo III). Reposo durante 4-5 días. Luego fueron enérgicamente centrifugados y suspendidos en solución fisiológica de tal modo que su concentración correspondía a 20.000 millones de gérmenes por centímetro cúbico. Inmediatamente se llevó la concentración de hidrogeniones a pH. 4.7, 7, 7.6 y 8 (diversas muestras) y se procedió a la extracción a temperatura ambiente durante 24 horas, y a la ebullición en baño María durante 10-15 minutos. Centrifugadas cada una de las muestras, se separó el sedimento microbiano del líquido sobrenadante. Con este último se efectuaron los ensayos de fijación del complemento y de precipitación (método del anillo); con el sedimento, suspendido en solución fisiológica de manera que la concentración bacteriana fuera de 5.000 millones de gérmenes por cc^3 , se hicieron pruebas de aglutinación y también de fijación del complemento.

Para demostrar que la ausencia de precipitinógeno en la fracción acuosa del antígeno formolado (en las condiciones sobredichas) era un hecho real y no aparente debido a una posible inhibición del formol sobre el fenómeno, hicimos experimentos de contralor añadiendo formol, en la misma concentración, a los extractos acuosos de *D. pneumoniae* sin previa adición de formol, y comprobamos que continuaban dando el anillo de precipitación en presencia del antisuero correspondiente.