Complejidad del antígeno precipitinógeno de *B. Anthracis*

Por A. SORDELLI, V. DEULOFEU y J. FERRARI

El estudio de las reacciones de coagulación del *B. anthracis* y sus fracciones con los sueros por ellos engendrados, ha permitido establecer una mayor complejidad de estos antígenos y de los anticuerpos correspondientes que la hasta ahora descrita por nosotros.

I. *Antígenos precipitinógenos y anticuerpos correspondientes.* — Se han diferenciado dos antígenos precipitinógenos constituídos por las dos sustancias extractivas de los *B. anthracis* y cuya preparación ha sido brevemente expuesta en un trabajo anterior.

Una de ellas tiene los caracteres de una nucleoproteína y la otra, la substancia específica soluble, tiene la naturaleza de un hidrato de carbono ¹.

La precipitina para la fracción nucleoproteica se obtiene cuando se emplean como antígenos *B. anthracis* crecidos en agar o caldo, lavados o no (antígeno A), o bien el líquido sobrenadante de la emulsión de *B. anthracis* (antígeno B), o la fracción de nucleoproteínas purificada (antígeno C). Estos antígenos se comportan pues como tales tanto *in vivo* como *in vitro*.

La producción de una precipitina para la fracción de hidrato de carbono requiere condiciones diferentes. Solo se produce cuando se emplean como antígeno *B. anthracis* crecidos en distintos medios, lavados o no, pero cuando los cuerpos bacilares faltan la precipitina no se produce. Por lo tanto la inyección del líquido sobrenadante de la emulsión de *B. anthracis* (B.) o de la fracción nucleoproteica (C) e hidrocarbonada (D) no da lugar a la formación de precipitinas para los hidratos de carbono (Cuadro I).

Llama la atención que los sueros que contienen precipitinas para ambas fracciones revelen una mayor actividad para la substancia hidrocarbonada.

¹ Véase el trabajo anterior. Además, A. SORDELLI, V. DEULOFEU y J. FERRARI. *Actividad antigénica in vivo del B. anthracis y sus fracciones*. 1. *Anticuerpos de fijación*. «Folia Biológica», nº 11-13; pág. 45. Buenos Aires, febrero-abril 1932.

CUADRO I

Sueros preparados con:	1/5 mg.		1/10 mg.		1/30 mg.		1/100 mg.		1/200 mg.	
	N. P.	H. C.	N. P.	H. C.	N. P.	H. C.	N. P.	H. C.	N. P.	H. C.
<i>B. anthracis</i> cultivados en agar (938) . . .	+++++	+++++	+++++	+++++	+++	+++++	0	+++++	0	++
<i>B. anthracis</i> cultivados en caldo (894) . . .	+++	+++	++	+++++	+	++++	0	+	0	+
<i>B. anthracis</i> crecidos en agar y lavados (992) (A)	++++	++++	++	+++++	++	+++++	0	+++++	0	++
Líquido sobrenadante de la emulsión de <i>B. anthracis</i> (5000) (B)	++	0	++	0	+	0	0	0	0	0
Nucleoproteínas de <i>B. anthracis</i> (3007) (C)	++	0	++	0	+	0	0	0	0	0
Hidratos de carbono del <i>B. anthracis</i> (5010) (D)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Las dos precipitinas obtenidas pueden separarse por absorción selectiva con el antígeno correspondiente: la fracción nucleoproteica absorbe solamente sus precipitinas y la substancia hidrocarbonada absorbe tan solo su correspondiente anticuerpo. En el primer caso, el suero conserva su propiedad precipitante para la substancia hidrocarbonada, en el segundo para la nucleoproteína.

A 0.2 cm³ de suero 938 se añadió 1 mgr de hidrato de carbono disuelto en 1 cm³ de solución fisiológica. Se produce un abundante precipitado que se centrifuga después de 15 minutos. El sobrenadante que contiene un exceso de precipitinógeno pues reacciona abundantemente con suero 938 da una reacción intensa de precipitación con nucleoproteína.

En una forma semejante puede demostrarse que la nucleoproteína absorbe únicamente su correspondiente anticuerpo.

Ambas precipitinas se encuentran en la fracción del suero que precipita cuando se lo diluye diez veces con agua destilada saturada de carbónico, como ya fuera establecido por SORDELLI y sus colaboradores¹ para el extracto total de *B. anthracis*.

II. Antígeno aglutinógeno y anticuerpo correspondiente. — Los anticuerpos aglutinantes se encuentran en todos los sueros que han revelado contener precipitinas. Para procurar una diferenciación de ambos grupos de anticuerpos procedimos de manera análoga a la usada ya por otros investigadores, absorbiendo los anticuerpos precipitantes con los precipitinógenos, en este caso nucleoproteínas y substancia específica soluble, siendo fácil probar que un suero con un exceso de precipitinógenos conserva inalterado su título aglutinante.

El experimento fué hecho de acuerdo al protocolo que sigue:

A 0.2 cm³ de suero 938, preparado con *B. anthracis* cultivados en agar, se añade 1 cm³ de solución fisiológica con 1 mgr de substancia hidrocarbonada de *B. anthracis*. Una vez separado

¹ A. SORDELLI, P. BELTRAMI, C. HARISPE y C. FRANCESCHI. *Las precipitinas del suero antiecarbuncloso*. «Revista del Instituto Bacteriológico del Departamento Nacional de Higiene», vol. V, n° 3, págs. 331-351. Buenos Aires, julio 1928.

A. SORDELLI y J. FERRARI. *Los anticuerpos contenidos en el suero antiecarbuncloso*. «Revista del Inst. Bact. del D. N. de H.», vol. V, n° 7, págs. 786-791. Buenos Aires, julio 1930.

el abundante precipitado que se forma rápidamente, se añade 1 mgr de nucleoproteína disuelta también en 1 cm³ de solución fisiológica centrifugando el líquido al cabo de media hora. El líquido sobrenadante queda y permanece claro, y contiene exceso de ambos precipitinógenos.

El título aglutinante de este suero sin precipitinas (?) es igual al del mismo suero completo.

Los anticuerpos aglutinantes y precipitantes revelan un comportamiento análogo al señalado por otros autores para otras bacterias y en condiciones experimentales un poco diferentes y podría inducirnos a aceptar que las precipitinas y las aglutininas son anticuerpos diferentes. Hay que considerar sin embargo que esas condiciones experimentales no permiten esta deducción, pues bien podría explicarse la aparente diferencia entre los anticuerpos por la real y grande diferencia que existe entre los antígenos usados, por una parte nucleoproteínas e hidrato de carbono, y por la otra bacterias intactas. Bastaría admitir una diferencia de afinidad entre un solo anticuerpo coagulante y los *B. anthracis* por una parte y sus sustancias extractivas por la otra para explicar las diferencias observadas sin recurrir a la hipótesis de la existencia de dos anticuerpos.

Esta suposición tiene verosimilitud solo en el caso, que por otra parte es la regla, que existan en el líquido, precipitinógeno y precipitinas que están unidos, pero que no precipitan.

Como experimento complementario y para facilitar la limitación de las hipótesis, diremos que si se absorbe durante 30 minutos el mismo suero 938 con una emulsión de *B. anthracis*, el líquido sobrenadante *contiene precipitinógeno y está libre de aglutininas.*

Recordemos, sin darle valor de argumento para admitir la unidad de los anticuerpos coagulantes, que la propiedad de las nucleoproteínas de engendrar anticuerpos y su incapacidad de absorberlos, constituye una excepción que conviene analizar.

Las aglutininas no se separan totalmente al tratar el suero con agua destilada carbónica, y se las encuentra tanto en la fracción soluble como en la que precipita, aunque con un título sensiblemente menor en la porción sobrenadante. El tiempo de aglutinación parece ser más lento con las aglutininas que se encuentra solubilizadas, lo que explicaría tal vez la contradicción entre estos resultados y los encontrados anteriormente por SORDELLI y sus colaboradores¹, quienes las hallaban solo en la fracción precipitada.

RESUMEN. — En el *B. anthracis* se diferencian dos antígenos precipitinógenos, uno con los caracteres de una nucleoproteína y otro con la naturaleza de un hidrato de carbono.

La nucleoproteína es antigénica *in vivo*, mientras que el hidrato de carbono requiere la presencia de cuerpos bacilares para actuar como antígeno.

Las dos precipitinas producidas se pueden separar por absorción selectiva con el antígeno correspondiente, y ambas se encuentran en la fracción precipitada cuando se diluyen los sueros con agua destilada saturada de carbónico.

En todos los sueros que contienen precipitinas se han encontrado aglutininas. Por la acción sucesiva de los dos precipitinógenos pueden eliminarse las precipitinas de los sueros, conservando éstos inalterado su título aglutinante.

Las aglutininas no se fraccionan por tratamiento de los sueros con agua destilada.

¹ A. SORDELLI y J. FERRARI, *loc. cit.*; A. SORDELLI, P. BELTRAMI y C. HARISPE. *Las aglutininas del suero anticarbuncoso.* «Revista del Inst. Bact. del D. N. de H.», vol. V, n° 3, págs. 368-375. Buenos Aires, julio 1928.