

Precipitinas para el agar¹ (Cuarta comunicación)

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

El agar es capaz de engendrar anticuerpos cuando se inyectan cultivos de *B. anthracis* o de *E. typhi* crecidos en medios que lo contienen.

La capacidad antigénica del agar puede ser atribuida a una propiedad intrínseca de esta substancia, o a su activación por las bacterias que en él han crecido.

La primera hipótesis es poco verosímil, pues ya hemos demostrado que la actividad antigénica del agar depende de la especie cultivada, y así *N. intracellularis* produce sueros apenas activos mientras que *E. typhi* y *B. anthracis* engendran precipitinas de mucha actividad para el agar, hechos todos que indican una participación de la bacteria en la activación antigénica.

La prueba de que el agar no es por sí solo antigénico fué obtenida directamente por la falta de producción de precipitinas por la inyección intravenosa de soluciones de esta substancia.

Estas fueron preparadas por disolución directa del agar en solución fisiológica caliente, y por extracción del mismo medio de cultivo usado para la siembra de las bacterias (agar-suero) con solución fisiológica.

Queda así establecido que el agar es solo antigénico en presencia de bacterias (*B. anthracis* y *E. typhi*, y en menor grado con *N. intracellularis*).

Se trata de un antígeno sintético que podemos considerar por el momento constituido por la simple asociación del agar con los cuerpos microbianos.

A continuación consideraremos algunos caracteres de este antígeno complejo.

a) El antígeno es fácilmente disociable.

Un cultivo de *B. anthracis* en agar suero, suspendido en solución fisiológica, produce cuando se lo inyecta a un caballo, anticuerpos precipitantes para la substancia específica soluble de dichos bacilos, para la porción designada como nucleoproteína² y para el agar.

Pero si las bacterias se separan del líquido de emulsión por centrifugación y luego se lavan dos veces con solución fisiológica, es fácil comprobar que este antígeno no contiene más agar, y que solo engendra precipitinas para las substancias extractivas del *B. anthracis* y no para el agar.

b) El agar manifiesta solo su actividad antigénica en presencia de los cuerpos microbianos.

El antígeno constituido por la emulsión de *B. anthracis* crecidos en agar suero y que produce precipitinas para dichos bacilos y para agar, puede ser disociado en la forma explicada, en una emulsión de bacilos sin agar y una solución que contiene además de las substancias extractivas de los bacterios una cierta proporción de agar.

La inmunización con los bacilos lavados y sin agar, produce solamente precipitinas para las substancias extractivas (nucleoproteínas y substancia específica soluble).

El suero obtenido de animales inmunizados con la segunda fracción no contiene precipitinas ni para el agar ni para la substancia específica soluble del *B. anthracis*: contiene en cambio precipitinas para la nucleoproteína del bacilo.

¹ Tercera comunicación: A. SORDELLI y E. MAYER. *Precipitinas para el agar*. «Folia Biológica», n.º 11-13, pág. 46, febrero-abril 1932.

² Sobre la separación de substancias extractivas véase: A. SORDELLI, V. DEULOFEU y J. FERRARI. Véase «Folia Biológica», n.º 11-13, pág. 45, febrero-abril 1932.

c) Para que el agar sea antigénico es necesario y suficiente la presencia de cuerpos microbianos.

Esta conclusión deriva de la anterior exposición de hechos, y está reforzada por la experiencia siguiente: Si a la emulsión de *B. anthracis*, crecidos en agar suero, se la separa en un líquido que no puede engendrar precipitinas para el agar y en una suspensión de bacterias que produce tan solo las que corresponden al *B. anthracis*, es posible dar actividad antigénica al agar mezclando ambas fracciones o añadiendo a la emulsión de bacilos lavados una solución de agar en solución fisiológica.

El comportamiento de estos antígenos complejos puede verse en el siguiente cuadro:

CUADRO I

Antígeno	Elementos que forman el antígeno	De las sustancias que contiene el antígeno resultan precipitinas <i>in vivo</i>
Suspensión en solución fisiológica de <i>B. anthracis</i> cultivados en agar suero.	<i>B. anthracis</i> Substancia específica soluble Nucleoproteína Agar	Substancia específica soluble Nucleoproteína Agar
Suspensión de <i>B. anthracis</i> cultivados en agar suero y lavados con solución fisiológica.	<i>B. anthracis</i> Substancia específica soluble Nucleoproteína	Substancia específica soluble Nucleoproteína
Líquido sobrenadante de la emulsión de <i>B. anthracis</i> cultivados en agar suero.	Substancia específica soluble Nucleoproteína Agar	Nucleoproteína
Suspensión de <i>B. anthracis</i> cultivados en agar suero y lavados, a la cual se añade solución de agar.	<i>B. anthracis</i> Substancia específica soluble Nucleoproteína Agar	Substancia específica soluble Nucleoproteína Agar

Los sueros obtenidos por inyección de los antígenos mencionados en el cuadro anterior tienen la propiedad de precipitar con el agar, las nucleoproteínas o los hidratos de carbono del *B. anthracis* en la forma que indica el siguiente protocolo:

CUADRO II

Sueros preparados con:	Precipitinas								
	Hidrato de carbono			Nucleoproteína			Agar		
	1/1000	1/3000	1/10.000	1/1000	1/3000	1/10.000	1/1000	1/3000	1/10.000
<i>B. anthracis</i> lavados (3522)	++++	+++	+++	++++	++	+	0	0	0
<i>B. anthracis</i> lavados (3482)	++	++	++	++++	+++	+	0	0	0
<i>B. anthracis</i> más agar suero	++++	++++	++++	++++	++++	+++	++++	++++	++++
<i>B. anthracis</i> crecidos en agar suero cultivo total	+++	+++	++	+++	+	+	+++	++	+
Líquido sobrenadante de la emulsión de <i>B. anthracis</i> .	0	0	0	++	+	+	0	0	0

Las precipitinas de estos sueros se hallan todas en la parte insoluble cuando se diluye los mismos con solución fisiológica.

Es de los resultados que se indican de donde se han deducido las propiedades precipitinógenas que se fijan en la última columna del cuadro I.

RESUMEN. — El agar conduce a la formación de precipitinas, sólo en presencia de bacterias y puede considerarse como un antígeno formado por dicha substancia y los cuerpos microbianos, siendo fácilmente dissociable en los dos elementos que lo forman.

TRAVAUX ORIGINAUX

Activité antigénique *in vivo* du *B. Anthracis* et de ses fractions.

II. — Anticorps de coagulation.

PAR A. SORDELLI, V. DEULOFEU ET J. FERRARI

L'immunisation par voie veineuse avec des *B. anthracis* cultivés sur l'agar sérum ou dans le bouillon, conduit régulièrement à la production de sérums doués d'activité précipitante et agglutinante.

Les sérums préparés avec les antigènes décrits dans une communication antérieure¹ et désignés *B. anthracis* lavés (A), liquide surnageant de l'émulsion de *B. anthracis* (B), et nucléoprotéines du *B. anthracis* contiennent des anticorps coagulants.

L'antigène de nature hydrocarbonée, substance spécifique soluble (D), n'a pas d'action agglutinogène ou précipitinogène.

Les expériences faites avec un extrait de *B. anthracis* qui correspond a une concentration de 50.000 millions de bacilles par cm³ nous a donné les résultats suivants:

TABLEAU I

Dilution de l'extrait du <i>B. anthracis</i>	Sérums préparés avec:					
	<i>B. anthracis</i> (agar) (938)	<i>B. anthracis</i> bouillon (894)	<i>B. anthracis</i> lavés (A) (992)	Liquide surnageant (B) (5003)	Nucléoprotéines (C) (5007)	Hydrate de carbone (D) (5010)
1/1	+++++	+++	++++	++	++	0
1/5	+++++	++	++	++	++	0
1/10	+++	+	++	+	+	0

On peut remarquer que l'activité précipitante des sérums préparés avec des *B. anthracis* est bien supérieure à celle des sérums préparés avec le liquide surnageant ou avec la fraction nucléoprotéique.

Les mêmes sérums qui renferment des précipitines ont aussi la propriété d'agglutiner les suspensions de *B. anthracis*. Cette activité agglutinante ne garde pas une relation exacte avec l'activité précipitante (Tableau II).

¹ A. SORDELLI, V. DEULOFEU et J. FERRARI. *Activité antigénique in vivo* du *B. anthracis* et de ses fractions. I. *Anticorps de fixation*. «Folia Biológica» n° 11-13, pág. 48. Buenos Ayres, février-avril 1932.