

# Folia Biologica

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

Dirección y Administración: VELEZ SANSFIELD 563

Folia Biol.

Buenos Aires, Mayo Junio 1933

N<sup>os</sup> 26-27

## TRABAJOS ORIGINALES

### Sobre el antígeno de fijación de *B. anthracis*

Por A. SORDELLI y V. DEULOFEU.

La presencia en el *B. anthracis* de un antígeno de fijación, o de un grupo de antígenos que así actúa, diferente de los antígenos hidrocarbonados de coagulación, fué demostrada por SORDELLI y DEULOFEU<sup>1</sup>, en 1930.

Al poseer un mayor conocimiento de las fracciones que componen a dichos bacilos, el cual deriva de los estudios realizados por SORDELLI y sus colaboradores, nos pareció oportuno tratar de determinar cual es entre ellas la que actúa como antígeno de fijación *in vitro*.

En nuestro primer trabajo<sup>2</sup> sobre la actividad antigénica *in vivo* del *B. anthracis* y sus fracciones, se demostró que tanto la inmunización con bacilos enteros como aquella con líquido sobrenadante de la emulsión de los mismos o con la fracción clasificada cual nucleoproteína, conducen a la formación de anticuerpos de fijación, mientras estos anticuerpos faltan completamente cuando se inmuniza con la substancia específica soluble de naturaleza hidrocarbonada.

En esta oportunidad hemos estudiado la fijación del complemento colocando frente a sueros preparados por inmunización con *B. anthracis* enteros, las diversas fracciones de estos bacilos, que se pueden obtener tanto directamente como después de sufrir diversos tratamientos.

Los antígenos empleados fueron:

I. — Fracción insoluble a pH 3.8 del líquido sobrenadante de una emulsión de *B. anthracis*.

II. — Fracción soluble a pH 3.8 del mismo líquido sobrenadante.

III. — Fracción insoluble a pH 3.8, preparada de la manera siguiente: Una emulsión de *B. anthracis* es llevada a pH 3.8 y centrifugada. El líquido sobrenadante constituye el antígeno siguiente (IV). El residuo se lleva a pH 7 y se acidifica a pH 3.8; centrifúgase nuevamente y el residuo se alcaliniza a pH 7. Se centrifuga la emulsión y el líquido claro sobrenadante se precipita a pH 3.8. Este precipitado es el antígeno III.

IV. — Líquido sobrenadante de la primera precipitación a pH 3.8 de la emulsión de *B. anthracis* (ver antígeno III).

<sup>1</sup> A. SORDELLI y V. DEULOFEU. *Pluralidad de antígenos contenidos en el B. anthracis*. «Revista del Instituto Bacteriológico del D. N. de H.», vol. V, n<sup>o</sup> 7, págs. 778-785. Buenos Aires, julio 1930.

<sup>2</sup> A. SORDELLI, V. DEULOFEU y J. FERRARI. *Actividad antigénica in vivo del B. anthracis y sus fracciones. I. Anticuerpos de fijación*. «Folia Biológica», n<sup>o</sup> 11, 12 y 13, págs. 45-46. Buenos Aires, febrero, marzo y abril 1932.

- V. — El antígeno III desecado en vacío y redisolto.
- VI. — Parte insoluble en sulfato de amonio del extracto de *B. anthracis*.
- VII. — Una fracción designada como nucleoproteína, purificada por varias precipitaciones, desecada y conservada en contacto del aire por varios meses.
- VIII. — Una suspensión de *B. anthracis* de 5.000 millones, empleada como testigo.

En las experiencias se emplearon sueros que se fraccionaron por agua destilada saturada de ácido carbónico, utilizándose para la fijación la parte soluble en esas condiciones, pues la parte insoluble, como ya lo hemos demostrado, no sólo no fija el complemento sino que puede actuar como inhibidora.

Los antígenos se diluyeron en solución fisiológica (pH 7) de tal manera que correspondían a una suspensión de 5.000 millones de *B. anthracis* por cm<sup>3</sup>, a excepción de la fracción de nucleoproteína purificada (antígeno VII), que tenía una concentración de 1 mg por cm<sup>3</sup>, es decir superior a las demás.

El complemento se tituló en la forma corriente y en la fijación se empleó 0.2 cm<sup>3</sup> de dilución 1/20, cantidad que con la dosis de antígeno, utilizada hemolizaba perfectamente a los contralores. Fijación 1 hora. Hemolisis 30'.

CUADRO I

Antígeno	I		II		III		IV		V		VI		VII		VIII		
	3.202	3.471	3.202	3.471	3.202	3.471	3.202	3.471	3.202	3.471	3.202	3.471	3.202	3.471	3.202	3.471	
Dosis de antígeno	0,1	0	0	CH	CH	0	0	0	CH	0	0	0	0	0	0	0	0
	0,05	0	0	CH	H	0	0	1/2 H	CH	0	0	0	1/4 H	0	PH	0	0
	0,025	0	1/2 H	H	H	0	1/2 H	CH	H	0	1/4 H	0	1/4 H	0	1/2 H	0	0
	0,0125	1/4 H	1/4 H	H	H	PH	CH	CH	H	PH	CH	0	CH	0	1/4 H	0	1/2 H
	0,005	CH	H	H	H	1/4 H	CH	PH	H	CH	H	1/4 H	H	0	1/4 H	1/2 H	CH

0 . . . . . = no hay hemolisis  
 PH . . . . . = poca hemolisis  
 1/4, 1/2, 3/4 H = grados de hemolisis  
 CH . . . . . = hemolisis casi total  
 H . . . . . = hemolisis total.

Los resultados indicados en el cuadro I permiten establecer que el poder fijador reside en la fracción insoluble a pH 3,8 (antígeno I), que ha sido clasificada en trabajos anteriores como nucleoproteína. La purificación de la misma (antígenos III y VII) o la desecación en vacío (antígeno V) no destruyen sus propiedades fijadoras.

El sulfato de amonio precipita del líquido sobrenadante la substancia con poder fijador (antígeno VI), que posiblemente sea la nucleoproteína ya señalada, pues trabajos en vía de realización indican que comienza a precipitar de sus soluciones en concentraciones de sulfato de amonio del 25 %.

La fracción soluble a pH 3,8 (antígenos II y IV) no posee o tiene muy atenuada la propiedad de fijar el complemento.

Todas las fracciones antigénicas empleadas dan reacción de precipitinas con suero anticarbuncloso ad-hoc, pero la intensidad de la reacción es variable,

CUADRO II  
 Precipitinas. Suero 3.522

Fración	I	II	III	IV	V	VI	VII
Intensidad.....	+	+++	++	+++	++	++++	++++

Se puede observar que no existe relación entre las actividades precipitinógenas y fijadoras. Este hecho es fácilmente explicable si se tiene presente que existen dos precipitinógenos; uno de ellos hidrocarbonado, muy activo y desprovisto de actividad fijadora, y otro, probablemente nucleoproteico, que es el antígeno fijador, con una capacidad precipitinógena *in vitro* menos intensa.