

## Estudios sobre leptospiras

### I. - Método para la determinación de leptospirolisinas

Por ENRIQUE SAVINO y EDUARDO RENNELLA

---

La determinación de anticuerpos en los sueros inmunes para la leptospira tiene mucha importancia no sólo para el diagnóstico, sino también para la identificación de especie. En este trabajo describimos una técnica para la determinación de lisinas fundada, en parte, en trabajos anteriormente realizados por nosotros.

#### I. - ANTECEDENTES

Martín, Pettit y Vandremmer (1917), demuestran por primera vez la presencia de aglutininas para la leptospira en los sueros sanguíneos de enfermos de leptospirosis y en el de caballos inoculados con leptospiras. Los autores indican la conveniencia del empleo de medios culturales líquidos y la necesidad de emplear el fondo oscuro para la observación del fenómeno de aglutinación.

Langworthy y Moore (1927), describen una técnica basada en la aglutinación y lisis de las leptospiras cuando éstas entran en contacto con un suero inmune.

Fletcher (1927), determina la presencia de aglutininas basado en el empleo de un medio nutritivo semisólido.

Schüffner (1934), publica una técnica empleando leptospiras vivas y muertas por formol. Con las primeras observa fenómenos de lisis y con el uso de las segundas la aglutinación. El autor se inclina por el empleo de antígeno formolado, porque en esta forma, la operación no tiene ningún peligro y los resultados son más nítidos. Este mismo autor (1932), da detalles de un método para la determinación de aglutininas por el empleo de leptospiras muertas por formol o fenol y suspendidas después en glucosa al 10 %.

Erber (1935), desarrolla un método similar al anterior y emplea cultivos vivos.

Presentado para publicar el 1º de junio de 1943.

Brown y Broom (1939), emplean desarrollos de leptospiras, en el medio de Fletcher, muertas por formol, al que previamente agregan saponina para facilitar la precipitación de las leptospiras por centrifugación.

## II. - MATERIAL

El material utilizado para la titulación de las lisinas consiste: 1° Suero sanguíneo inmune de conejo obtenido por inoculación intravenosa al conejo, de cultivo de leptospiras de 7 a 10 días de incubación, desarrollados en el medio ya descrito (Savino y Rennella, 1942). Con este objeto hemos inoculado 2, 4 y 8 ml del cultivo de leptospiras, con un intervalo de 5 días entre cada inyección y sangría del animal después de una semana de recibir la última dosis inmunizante. 2° Cultivo de leptospiras en el medio nutritivo líquido descrito por nosotros (Savino y Rennella, 1942). Utilizamos los desarrollos obtenidos en 7 a 10 días de incubación a 29-30°C, cuya concentración es de 80-150  $\times 10^6$  leptospiras por ml. 3° Cámara para la cuenta de leptospiras, descrita en un trabajo anterior (Savino y Rennella, 1942).

## III. - MÉTODO Y RESULTADOS

El método consiste en hacer diluciones del suero inmune, correspondiente a una concentración doble del título que se desea medir y agregarles igual volumen de cultivo de leptospiras. En nuestros ensayos mezclamos 0.2 ml de la dilución del suero, en solución de ClNa al 0.85 % con 0.2 ml de cultivo de leptospiras, en un tubo pequeño, estéril y tapado con algodón que luego incubamos en la estufa a 29-30°C durante 20 horas. En esta forma si el suero en estudio tiene lisinas hará desaparecer las leptospiras del cultivo vivo empleado y el título estará dado por la mayor dilución del suero que tiene acción lítica. Con mayores concentraciones del suero inmune suele observarse grumos de leptospiras en lisis, formando masas amorfas con algunas leptospiras libres. En cambio con menores concentraciones de suero sólo se manifiesta el fenómeno de lisis.

Como testigo tomamos un tubo con 0.2 ml de solución salina (0.85 %) y 0.2 ml de la suspensión de leptospiras.

En la tabla I indicamos los resultados obtenidos en la medición de un suero inmune de conejo con el empleo de la cepa homóloga.

TABLA I

*Medición del suero 797 correspondiente a la cepa 462*

Dilución	1/100	1/1.000	1/10.000	1/100.000	1/500.000	Testigo
Nº de leptospiras por ml ...	$5 \times 10^6$	0	$4 \times 10^6$	$41 \times 10^6$	$63 \times 10^6$	$68 \times 10^6$
Lisis % .....	93	100	94	40	7	0

## IV. - RESUMEN

En el presente trabajo relatamos un método para titular las leptospirolisinas contenidas en el suero de animales inmunes. Está fundado en la cuenta microscópica de leptospiras.

## V. — BIBLIOGRAFÍA

- BROWN, H. C., y BROOM, J. C. 1939. — *Observations on the agglutination test for Weil's disease. Brit. Med. Journ.*, 1178-1179.
- ERBER, B. 1935. — *Serodiagnostic par l'agglutination de la spirochétose ictéro-hémorragique. Technique et interpretation. Comp. Rend. Soc. Biol.*, 120: 618-622.
- FLETCHER, W. 1927. — *Leptospirosis, Tsutsugamuschi disease and Tropical typhus in the Federated Malay States. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 21: 265-288.
- LANGWORTHY, W. W., y MOORE, A. C. 1927. — *A study of Leptospira icterohaemorrhagiae. Journ. Inf. Dis.* 41: 70-91.
- MARTIN, L.; PETTIT, A., y VANDREMER, A. 1917. — *Sur les propriétés agglutinantes et immunisants du sérum sanguin chez les sujets atteints de spirochétoses ictéro-hémorragiques. Comp. Rend. Soc. Biol.*, 80: 949-950.
- SAVINO, E., y RENNELLA, E. 1942. — *El cultivo de la Leptospira icterohaemorrhagiae Inada e Ido, 1915. I. Condiciones y factores que rigen su desarrollo in vitro. II. Nuevo medio de cultivo. Rev. Inst. Bact. « Dr. Carlos G. Malbrán », 9 (1): 5-18, y Rev Soc. Argentina Biol.*, 18 (3): 176-189.
- SCHUFFNER, W. 1932. — *Versuch der Vereinfachung der Serodiagnostik bei Weilscher Krankheit. Arch. Schiffs. Trop. Hyg.* 36: 239-243.
- SCHUFFNER, W. 1934. — *Recent work on leptospirosis. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 28 (1): 7-31.