

ESTUDIS SOBRE ELS SÈRUMS ANTILIPÒIDICS OBTINGUTS AMB LA TÈCNICA DELS LIPOIDES ADSORBITS. TÈCNiques D'INVESTIGACIÓ. FLOCULACIONS.

per

M. ARMANGUÉ

P. GONZÁLEZ

Ja hem dit¹ que els sèrums dels conills immunitzats amb els lipoides adsorbits segons el nostre mètode, tenien la propietat de flocular els mateixos lipoides. Però no hem exposat el fet que aquests sèrums contenen anticossos que actuen, no solament sobre els lipoides immunitzants, sinó també sobre els lipoides d'altres vísceres o de les cèl·lules que contenen els antígens de Forsmann; no actuen sobre els lipoides d'altres teixits o vísceres que no en contenen.

Si operem amb lipoides del grup Forsmann (hematies de be, ronyó de cavall, ronyó de cobai), es pot estudiar els anticossos hemolítics pel moltó, les fixadores de l'alexina, les floculines, i l'acció tòxica pel cobai.

Per a l'estudi de les fixadores és preferible emprar un complexe hemolític antibou o alguna ltre, ja que els sèrums estudiats són excessivament rics en hemolisina

1. Congrès Internacional de Microbiologia. París, 1930, II, 42, C. R. de la Soc. de Biol., CVI, 1006, 1931.

antimoltó, i això dificulta la reacció, si es vol emprar el sistema hemolític de moltó.

Per a estudiar les floculacions, hem immunitzat conills i cobais amb hematies de moltó o be amb cèl·lules de ronyó de cavall o de ronyó de cobai, que contenen antigens de Forsmann, formadors d'hemolisines anti-moltó. Hem injectat també extractes de ronyó de cavall o de ronyó de cobai, preparats per maceració durant quatre dies a la nevera en sèrum fisiològic, de polpa seca de ronyó després d'extracció repetida amb alcohol etílic absolut, que arrossega gairebé la totalitat dels lipoides. No es pot obtenir l'extracció total del lipoides, ja que això alteraria massa les proteïnes. Aquesta dificultat s'ha de tenir en compte en la valoració dels resultats obtinguts. Sempre hem de recordar la presència d'aquests residus lipòidics en els extractes proteics. A altres animals se'ls ha injectat lipoides absorbits provinents d'extractes alcohòlics de teixits. Els controls han rebut lipoides sols no absorbits; aquests animals no han produït anticossos floculants i solament de vegades anticossos hemolítics en petita quantitat, especialment els que han rebut lipoides extrets d'hematies de moltó.

Les injeccions s'han fet sempre per via intraperitoneal. S'ha d'operar sobre diversos animals, car les variacions individuals són molt importants en aquest cas.

Els lipoides s'han obtingut a partir de teixits dessecats i polvoritzats, que s'extreuen després a 10-37° amb 7-10 vegades llur volum d'alcohol etílic absolut, durant 2-4 dies. De vegades hem extret de teixits trinxats sense dessecació prèvia; altres vegades hem extret de teixits prèviament extrets amb acetona i dessecats.

La tècnica que hem emprat per a la recerca de la floculació consisteix en fer ús d'una suspensió de lipoides en sèrum fisiològic, suspensió que ha d'ésser bastant

rica en lipoides, força tèrbola, i contenir poc o gens alcohol. Degut això s'han de dispersar en sèrum fisiològic solucions riques en lipoides, que permeten una dilució a 40 volums. Si es té una solució pobra en lipoides, es pot concentrar al banymaria, fins a reducció del volum a una cinquena part i àdhuc fins a $1/10$ del volum primitiu; aleshores es dilueix lentament, afegint sèrum fisiològic gota a gota a la solució alcoholica concentrada encara calenta. De vegades amb aquest procediment es pot observar la precipitació grollera d'alguns lipoides, la formació de volves, etc.; s'han de separar per filtració o per una lleugera centrifugació. També es pot preparar la suspensió de lipoides per evaporació lenta a 37° o ràpida al banymaria, de la solució alcoholica de lipoides en un matràs; després de la dessecació, s'afegeix sèrum fisiològic i algunes boles de vidre i es tapa el matràs, que es deixa un cert temps en un aparell agitador. L'alcohol exerceix sobre els lipoides una acció estabilitzadora, que dificulta la manifestació de les propietats floculants dels sèrums examinats.

Les suspensions lipòidiques s'han de controlar sempre i s'ha d'estar sempre segur que no sedimenten ràpidament ni floculen espontàniament o en presència de sèrums normals.

Els lipoides són tan aptes per a fixar els anticossos abans com després d'haver-se calentat. Els lipoides que serveixen per a la immunització són completament actius després de calentar-los a 100° ; això demostra que els lipoides són antigènics per ells mateixos i pels indicis de proteïnes que poden extreure els dissolvents dels teixits.

Les floculacions es porten a cap barrejant íntimament en els tubs d'aglutinació 1 cc. de suspensió de lipoides amb 0'05-0'02 i 0'01 de sèrum fresc i clar. Es fan

controls de suspensió lipòidica sola i de sèrum amb sèrum fisiològic. La reacció és lenta, rarament ràpida, i les lectures es fan al cap de 10-18 hores. Deixem els tubs a 18-24°, cosa que ens sembla més favorable que la incubació a 37°. Les floculacions són més visibles sobre fons negre, amb il·luminació lateral i lleuger moviment alternant de rotació.

Laboratori Bacteriològic Municipal. Barcelona.