

## ESTRUTURA ANTIGÊNICA E CONSTITUIÇÃO QUÍMICA DAS LEPTOSPIRAS

João José Pereira da Silva \*

### ESTRUTURA ANTIGÊNICA

A estrutura antigênica das leptospiiras parece bastante complexa, havendo muita semelhança nas propriedades imunológicas entre os diversos sorotipos. Já Schlossberf e Pohlmann, em 1936, frisavam esta complexidade ao considerarem tal aparelho antigênico como constituído não de um único mas de diversos grupamentos imunogênicos (7).

Os primeiros antígenos a serem considerados são aqueles que fazem parte do envoltório externo do microorganismo. Estes antígenos de superfície são os responsáveis pela positividade da reação de soroprecipitação e mostram-se específicos para cada sorotipo. Tais antígenos foram denominados por Rothstein e Hiatt (19) de antígenos P. Sua ação principal parece ser a de um aglutinogênio, embora em certas condições possam atuar como um precipitado ou ainda como um antígeno fixador do complemento. Também Sefer (36) refere-se à presença, nas camadas externas, de leptospiiras patogênicas, de substâncias com atividade antigênica específica para cada tipo. Sua composição química parece ser a de um complexo glico-protéico (32).

Os antígenos profundos, localizados no interior do corpo bacteriano, são comuns aos diversos sorotipos e parecem ser responsáveis, muitas vezes, pelas reações sorológicas cruzadas. Rothstein e Hiatt (17) deram a estas substâncias a denomi-

nação de antígenos S (antígeno somático). Pelo fato de estarem localizados no interior do corpo da leptospira desempenham papel nas reações imunológicas onde o microorganismo permanece íntegro. Nestes casos, como ocorre nas reações de soroprecipitação com leptospiiras vivas, os fenômenos imunológicos se relacionam exclusivamente com os antígenos superficiais. Por outro lado, quando é provocada a ruptura do espiroqueta, são postos em liberdade os antígenos somáticos (S) que, como vimos, são comuns aos vários sorotipos. Daí a pouca especificidade das reações que se baseiam na utilização dos microorganismos desintegrados (Reações de fixação do complemento, imunofluorescência etc.) (14, 39, 40).

Faine e Carter (18) ainda, referem-se à existência de um antígeno Z de localização profunda na estrutura microbiana. Suas características e localização precisa permanecem pouco esclarecidas.

Com relação à estrutura química dos antígenos, tem sido referida a existência, inclusive em leptospiiras não patogênicas, de lipopolissacarídeos com atividade imunogênica definida (21, 26), justificando assim a importância de certas reações sorológicas elaboradas com suspensões de leptospiiras saprófitas (2, 13, 38).

Tais substâncias além de desempenharem importante papel nos fenômenos imunológicos, parecem representar um fator fundamental na ação tóxica do espiro-

\* Auxiliar de Ensino da Disciplina de Doenças Infecciosas e Parasitárias da Faculdade de Medicina da UFF.

queta. São consideradas como endotoxinas e como tal responsabilizadas por muitos dos fenômenos fisiopatológicos ocorridos na doença (4, 5, 9, 10, 30).

Outras importantes substâncias têm sido isoladas empregando-se diversas técnicas. Assim Sefer (36), utilizando a centrifugação após congelação e descongelação repetidas, obteve duas frações: a primeira, composto de ácido nucleico e de uma substância solúvel no álcool que foi responsabilizada pela atividade imunológica tipo-específico. A segunda fração era constituída pelos detritos de células sem alterações morfológicas aparentes.

O fundamental a ressaltar é que, em termos imunológicos, a primeira fração se comportou como um precipitôgeno tipo específico, enquanto a segunda apresentou propriedades de um antígeno fixador do complemento gênero específico.

Também Schneider (34) identificou quatro frações, as quais numerou de 1 a 4. Estas frações eram dotadas de propriedades químicas e imunológicas diferentes entre si.

Borg-Petersen (8) isolou um antígeno termolábil presente nas amostras Ictero nº 1, Mankarso e Naam. O antígeno apresentava propriedades aglutinogênicas que podiam ser inativadas à temperatura de 56°C.

Van Riel e cols. (42) empregando a imunoelctroforese, foram capazes de identificar 4 frações antigênicas na amostra Wijnberg e 7 na amostra Waleiden. As 4 primeiras corresponderam a uma fração proteica, enquanto apenas uma fração da última amostra foi identificada. Esta também correspondia a uma proteína.

A atividade antigênica da ou das toxinas parece ser desprezível, uma vez que o antissoro específico para leptospira parece ser impotente para neutralizá-la e os macrófagos do animal imune apresentam-se totalmente susceptíveis a ela.

A única explicação para a concomitância das atividades imunológicas e tóxicas seria admitir que o complexo toxina-anticorpo fosse tóxico para o hospedeiro (37).

Quanto à análise das propriedades imunológicas das diversas estruturas individualmente, devemos dizer que é bastante prejudicada uma vez que há grande dificuldade em se obter um preparado com uma só estrutura celular. Na realidade o

que se consegue é uma mistura de elementos celulares de difícil avaliação (41).

Entretanto, alguns autores têm se referido a certas características imunológicas de algumas destas estruturas. Assim, Yaganawa e Faine (43) referem-se à pouca aglutinogenicidade da parede celular e Chang e Faine (12a) descrevem, na composição química do filamento axial, a presença de antígenos que podem ser identificados como sorologicamente diversos daqueles responsáveis pela aglutinação das leptospiros. Estes mesmos autores relatam que as células cujos envoltórios foram parcialmente removidos pelo etanol, mostram um decréscimo na aglutinabilidade (12a).

Para concluir faz-se mister lembrar que o comportamento imunológico das leptospiros nem sempre é uniforme, uma vez que sua estrutura antigênica é passível de modificações, desde que suas culturas sejam colocadas em contato repetido com o antissoro homólogo (7, 7a), ou mesmo em alguns casos, com um antissoro heterólogo (3a, 22a).

#### CONSTITUIÇÃO QUÍMICA

As referências sobre a composição química das leptospiros são relativamente escassas (3, 15) e os dados fornecidos não elucidam totalmente o problema.

Carlifanti (12) ao descrever a presença de uma substância lipóidica em vários sorotipos de leptospira, parece ter dado início ao complexo estudo da imunquímica destes microorganismos.

A partir daí, alguns pesquisadores têm procurado demonstrar a presença de numerosas substâncias como componentes de sua constituição química. Assim Hiat (21) empregando técnicas bastante complicadas, foi capaz de identificar uma fração em cuja composição parcial estavam presentes nitrogênio, fósforo, ácidos ribo e desoxirribonucleico, enxofre e complexos polissacarídicos.

Estudos mais sofisticados forneceram dados apurados sobre a natureza dos hidratos de carbono presentes nesta fração. Desta forma, através da cromatografia foi identificada e comprovada a presença de monossacarídeos cuja velocidade de migração comportou-se de maneira semelhante à L (—) arabinose, d (—) xilose, l (—) ramnose e glucosamina.

Ainda graças às pesquisas de Schneider (34) foram obtidos maiores subsídios sobre a verdadeira estrutura química dos referidos glicídios. Confirmando o relato de outros autores, chama a atenção para a presença da pentose e metil-pentose em leptospiras de sorotipos diferentes.

Em estudos posteriores este mesmo autor (35), utilizando-se de um complexo esquema, foi capaz de individualizar 4 frações com características químicas diversas. A primeira delas continha principalmente polissacarídeos (hexoses, pentoses, metil-pentoses e glucosamina); a segunda, além de conter menores quantidades de pentose, não possuía glucosamina. A terceira pareceu ser constituída predominantemente de proteínas, encerrando cerca de 40% do nitrogênio total da célula. Finalmente a quarta fração era composta sobretudo de substâncias nitrogenadas de origem não protéica.

A existência de substâncias químicas com propriedades enzimáticas definidas tem sido descrita por vários autores. Entre estas enzimas destacam-se lipases, cata-

lases, oxidases, transaminases, estearases, aminopeptidases e pirofosforilases (1, 17, 19, 20, 22, 24, 25, 27, 28, 29, 31, 33), que parecem desempenhar importantes funções metabólicas, algumas vezes fundamentais no determinismo da atividade patogênica da leptospira. Este fato, entretanto, permanece até o momento, pouco esclarecido, embora "in vitro" a atividade enzimática das amostras patogênicas seja mais proeminente que a desenvolvida pelas cepas saprófitas (37).

Green e cols. (20), em valioso estudo do perfil enzimático de vários sorotipos de leptospira, concluíram que a presença destas enzimas, sugere a existência de complexos processos metabólicos, englobando entre eles o ciclo dos ácidos tricarbóxílicos.- Estes mesmos autores referem-se à importância de tais fermentos na caracterização taxonômica destes organismos.

Como podemos deduzir, há uma série de dados isolados e informações pouco precisas, tornando ainda difícil a caracterização da estrutura imuno-química das leptospiras.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ADDAMIANO, L. & PAPA, J. — Leptospirae enzymatic properties on phospholipids. *Ann. Soc. Belge Med. Trop.* 46: 187, 1966.
2. ADDAMIANO, L. & BARBUDIERI, B. — Water strains of leptospira in the seropiagnosis of human and animal leptospirosis. *Bull. W.H.O.* 39: 925, 1968.
3. ALSTON, J. M. & BROOM, J. C. — Leptospirosis in man and animals. E. & S. Livingstone Ltd. Edinburgh and London, 1958.
- 3a. ANANYIN, V. V. & SEMYONOVA, L. P. — Variability of the serological and antigenic properties of pathogenic leptospire in experimental conditions. *Ann. Soc. Belge Med. Trop.* 46: 85, 1966.
4. AREAN, V. M.; SARASIN, G. & GREEN, J. — The pathogenesis of leptospirosis: toxin production by leptospira icterohaemorrhagiae. *Am. J. Vet. Res.* 25: 727, 1964.
5. BARBOSA, W. — Leptospirose. *Epiemiologia e Fisiopatologia. Rev. Pat. Trop.* 1: 5, 1972.
6. BERTOK, L. & KEMENES, F. — Studies on the lipase-system of leptospira. I. tributyrinase activity. *Acta Microbiol. Acad. Sci. Hunj.* 7: 251, 1960.
7. BESSEMANS, M. M. A.; WITTEBOLLE, P. & NIEMEGERES, L. — Modification experimentale durable de la structure antigenique des leptospires. *Bull. Acad. Roy. Med. Belg.* 8: 442, 1934.
- 7a. BESSEMANS, A. & DEROM, R. — Nouvelle transformation antigenique d'une souche leptospirienne. *Bull. Acad. Royale Med. Belg.* 12: 256, 1947.
8. BORG - PETERSEN, C. — A thremolabile antigen in the leptospira strain ictero n° 1. *Trop. Geogr. Med.* 23: 282, 1971.
9. BRITO, T. & cols. — Electron microscopy of the biopsied kidney in human leptospirosis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 14: 397, 1965.
10. BRITO, T. & cols. — Pathology of the kidney and liver in the experimental leptospirosis of the guinea-pig. *Virchows Arch. Path. Anat.* 341: 64, 1966.

11. BRITO, T. — On the pathogenesis of the hepatic and renal lesions in leptospirosis. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*. 10: 238, Jul.-Aug., 1968.
12. CARLIFANTI, E. — Studien ueber die antigenen Eigenschaften der Spirochaeta icterohaemorrhagiae. *Zeitschr. Immunitätsf. Exp. Ther.* 94: 426, 1938.
- 12a. CHANG, A. & FAINE, S. — Electron microscopic evidence of reactions of axial filaments of Leptospira with IgM and IgG antibodies. *Bull. Wild. Hlth. Org.*, 43: 571, 1970.
13. CORREA, M. O. A. & cols. — Valor práctico do uso da Leptospira semarangensis Patoc I no diagnóstico das leptospiroses humanas. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*. 12: 284, 1970.
14. DU PLESSIS, J. L. & cols. — Structure antigenique des leptospiroses, comparaison des résultats donnés par plusieurs méthodes immunologiques. *Ann. Inst. Pasteur* 118: 179, 1970.
15. EDELWEISS, E. L. — Leptospiroses humanas (Contribuição ao seu estudo) (tese). Graf. Livr. Globo S. A., Porto Alegre, 1962.
16. FAINE, S. — Respiratory enzyme activity and the need for haemoglobine in culture of pathogenic leptospira. *Proc. Univ. Otago Med. School.*, 36: 27, 1958.
17. FAINE, S. — Catalase activity in pathogenic leptospira. *J. Gen. Microbiol.* 22: 1, 1960.
18. FAINE, S. & CARTER, J. N. — Natural Antibody in Mammalian Serum reacting with an antigen in some leptospires. *J. Bact.* 95: 280, 1968.
19. GOLDBERG, H. S. & ARMSTRONG, J. C. — Oxidase reaction with leptospiral colonies and its adaptation to antibiotic sensitivity testing. *J. Bacteriol.* 77: 512, 1959.
20. GREEN, S. S.; GOLDBERG, H. S. & BLENDON, D. C. — Enzyme Patterns in the Study of Leptospira. *Appl. Microbiol.* 15: 1104, 1967.
21. HIATT, C. N. — Biochemical Studies of the leptospires. Symposium on the leptospires. *Med. Sci. Publ. Washington*, 154, 1953.
22. JOHNSON, R. C. & HARRIS, V. G. — Purine analogue sensitivity and lipase activity of leptospires. *Appl. Microbiol.* 16: 1584, 1968.
- 22a. JOHNSON, R. C. & cols. — Characterization of leptospires according to fatty acid requirements. *J. Gen. Microb.*, 55: 399, 1969.
23. KASAROV, L. B. — Degradation of the erythrocytes phospholipids and Haemolysis of the erythrocytes of different animal species by leptospirae. *J. Med. Microbiol.* 3: 29, 1970.
24. KEMENES, F. & LOVREKOVICH, L. — Über den Fetttaban durch Sathefene Leptospiren. *Acta. Vet. Acad. Sci. Hung.* 9: 235, 1959.
25. KMETY, E. & BAKOSS, P. — Hämolysin und lipase produktion bei Leptospiren ver Schiedener Serotypen. *Ztbl. Bakt. I Abt. Orig.* 181: 503, 1961.
27. KOLOCHINE, B. & MAILLOUX, M. — Physiologie et metabolisme des leptospires. Monographie de L'Inst. Pasteur. Masson. Paris, 1962.
27. MARKOVETZ, A. J. & LARSON, A. D. — Transamination in Leptospira biflexa. *Proc. Soc. Explt. Biol. Med.* 101: 638, 1959.
28. PARNAS, J. A.; KOSLAK, A. & KRUKOWSKA, M. — Untersuchungen der leptospirenlipase. *Zentr. Bakteriöl. Parasitenk A.C.T. Orig.* 180: 386, 1960.
29. PATEL, V.; GOLDBERG, H. S. & BLENDON, J. — Characterization of Leptospiral lipase. *J. Bact.* 88: 877, 1964.
30. POH, S. C. & SOH, C. S. — Lung manifestations in leptospirosis. *Thorax* 25: 751, 1970.
31. RAO, P. J.; LARSON, A. D. & COX, C. D. — Catalase activité in leptospira. *J. Bacteriol.* 88: 1045, 1964.
32. ROTHSTEIN, N. & HIATT, C. W. — Studies of the immunochemistry of leptospires. *J. immunol.* 77: 257, 1956.
33. RUSSELL, C. J. & ROGERS, P. — Metabolism of leptospires. II. the action of 8 — Azaguanine — *Canad. J. Microb.* 13: 1621, 1967.
34. SCHNEIDER, M. D. — Isolation and chemical composition of complement fixing antigens from leptospires. *Proc. Soc. Exp. Biol. N.Y.* 85: 32, 1954.
35. SCHNEIDER, M. D. — Antigenic potency of cell-free extracts of leptospires. *Exp. Parasit.* 44: 107, 1965.
36. SEFER, M. — Contributions à l'étude de la constitution chimique, de la structure antigenique e du pouvoir pathogène des leptospires. III Isolement de l'endotoxine, relations entre l'antigene commun fixateur du complement et l'endotoxine des leptospires. *Arch. Roum. Path. Exp. Microbiol.* 24: 583, 1965.

37. STALHEIM, O. H. V. — A toxic factor in *Leptospira pomona* (32462). *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 126: 412, 1967.
38. STURDZA, N., ELIAN, M. & TULPAN, G. — Diagnosis of human leptospirosis by the complement fixation test with a single antigen. *Arch. Roum. Path. Exp.* 19: 571, 1966.
39. TORTEN, E.; SHENBERG, E. & VANDER HOELEN, J. — The use of immunofluorescence in the diagnosis of human leptospirosis by a Genus-specific antigen. *J. Infect. Dis.* 116: 535, 1966.
40. TORTEN, M. & cols. — The use of immunofluorescence in the diagnosis of human leptospirosis by a genus specific antigen. *J. Inf. Dis.* 116: 537, 1966.
41. VAN ESELTINE, W. P.; JONES, R. H. & GILLIARD, F. E. — Rupture of *Leptospira pomona* cells by explosive decompression. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 131: 1446, 1969.
42. VAN RIEL, J., VAN SAUDE, M. & VAN RIEL, M. — Electrophorèse et immuno-électrophorèse d'extraits leptospiens. *Ann. Inst. Pasteur.* 106: 628, 1964.
43. YANAGAWA, R. & FAINE, S. — Morphological and serological analysis of leptospiral structure. *Nature (London)*, 211: 823, 1966.