

EL USO DE ANTICUERPOS FLUORESCENTES  
EN EL ESTUDIO DE ALGUNAS  
ENFERMEDADES INFECCIOSAS\*

I

FUNDAMENTOS DE LA TÉCNICA DE INMUNOFLUORESCENCIA

DR. JORGE OLARTE

LA FLUORESCENCIA fue empleada por primera vez en la microbiología por Coons et al,<sup>1</sup> en la Universidad de Harvard, en 1942. Poca atención recibió durante los primeros años; sin embargo, a partir de 1950 ha encontrado múltiples aplicaciones en el estudio de diversos fenómenos inmunológicos, así como en otros campos de la Biología.<sup>2-3</sup>

Los fundamentos de la inmunofluorescencia son los mismos de las reacciones antígeno-anticuerpo clásicas, como la aglutinación, precipitación, fijación del complemento, etc. La diferencia consiste en la introducción en la molécula del anticuerpo de sustancias que poseen la propiedad de emitir rayos de luz fluorescente al ser sometidas a la acción de luz de onda corta, generalmente ultravioleta o azul. Al combinarse tales fluorocromos, es decir, las sustancias fluorescentes, con los anticuerpos, confieren a estos últimos sus propiedades luminosas. El perfeccionamiento logrado en los aparatos para microscopía permite detectar con gran precisión, aún cantidades muy pequeñas de los complejos resultantes de las reacciones inmunológicas, cuando se usan los conjugados fluorescentes. Es así como, en ciertos casos, la inmunofluorescencia ofrece ventajas evidentes de sensibilidad y rapidez sobre los métodos serológicos ordinarios.

\* Trabajo de conjunto presentado en la sesión ordinaria del 3 de abril de 1964.

Aunque se ha ensayado un número considerable de fluorocromos, entre otros, diversos tipos de rodaminas, acridinas, etc., se ha encontrado que el isothiocianato de fluoresceína es más estable, se combina fácilmente con las globulinas, siendo el ojo humano muy sensible a la luz amarillo-verdosa que emite. Por estas razones se le prefiere en la mayoría de los sistemas actuales de inmunofluorescencia.

También es posible el uso de antígenos fluorescentes, en lugar de los anticuerpos marcados, siempre y cuando la naturaleza de los antígenos les permita entrar en combinación con fluorocromos. En esta ocasión se tratará únicamente de sistemas que utilizan anticuerpos fluorescentes.

Aunque no es nuestra intención dar detalles de los métodos, los que pueden ser consultados en monografías recientes, tales como las de Cherry et al,<sup>2</sup> y Nairn,<sup>3</sup> ya que cada investigador tiene necesariamente que enfrentarse a problemas peculiares para cada sistema, quisiéramos enumerar, nada más, los pasos generales que se siguen en la técnica directa:

*Primero.* Esta técnica sirve para determinar la presencia de microorganismos patógenos, directamente en los exudados o en los propios tejidos de los enfermos.

*Segundo.* Dichos materiales se preparan en la forma habitual de frotis, imprevista o cortes, los que se fijan con diversas substancias, según la naturaleza de los mismos materiales.

*Tercero.* En seguida se cubren las preparaciones con los sueros que contienen los anticuerpos fluorescentes, es decir, con los conjugados, y se incuban, por períodos de tiempo y a temperaturas que varían con cada sistema.

*Cuarto.* Terminada la incubación, se lavan las preparaciones con soluciones amortiguadoras especiales, a fin de eliminar el exceso de anticuerpos fluorescentes.

*Quinto.* La preparación, una vez seca, se monta usando una mezcla de suero fisiológico y glicerina, y cubreobjetos ordinarios, quedando lista para su observación al microscopio.

*Sexto.* Siempre deben utilizarse controles que eliminen las reacciones falsas o no específicas.

Por último, es importante recalcar que la especificidad de la inmunofluorescencia depende del grado de especificidad del propio sistema antígeno-anticuerpo que esté en juego, al igual que ocurre con otras reacciones serológicas conocidas.

No obstante, hay que tener en cuenta que ciertos tejidos, y en particular determinadas células, como por ejemplo, los leucocitos, poseen fluorescencia propia, llamada auto-fluorescencia. Los inconvenientes que este fenómeno presenta se pueden eliminar, por lo menos en parte, recurriendo a ciertos artificios, como son el uso de fluorocromos que den colores de contraste, purificación de los anticuerpos, absorción de los sueros, tratamiento de los tejidos con substancia que destruyan o disminuyan la fluorescencia natural, etc.

## REFERENCIAS

1. Coons, A. H., Creech, H. J., Jones, R. N., y Berliner, E. The demonstration of pneumococcal antigen in tissues by the use of fluorescent antibody. *J. Immunol.* 45:159-170, 1942.
2. Cherry, B. W., Goldman, M., y Carski, T. C. *Fluorescent Antibody Techniques in the Diagnosis of Communicable Diseases*. U.S.P.H.S. Publication No. 729, 1960.
3. Nairn, R. C. *Fluorescent Protein Tracing*. Edinburgh and London, E. & S. Livingstone Ltd., 1962.