

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

III

APLICACIONES DE LAS TÉCNICAS DE INMUNOFLUORESCENCIA  
AL ESTUDIO DE LA RABIA\*

DR. CARLOS CAMPILLO SÁINZ

Las técnicas de inmunofluorescencia son de gran valor para el diagnóstico de la rabia que hasta ahora clásicamente había sido hecho en el laboratorio, por el examen microscópico del tejido nervioso y por el aislamiento del virus en el ratón blanco.

El hallazgo de corpúsculos de Negri en el encéfalo es patognomónico de la rabia. En la práctica se da preferencia a la tinción de Sellers que en unos cuantos segundos tiñe selectivamente los corpúsculos de color magenta. Es importante recalcar que, aproximadamente, el 15% de los animales rabiosos confirmados no presentan corpúsculos de Negri en el encéfalo. En estos casos es necesario intentar el aislamiento del virus por inoculación intracerebral al ratón. Si el inóculo contiene virus rábico, los ratones presentarán síntomas de encefalitis que termina con la muerte en un plazo comprendido desde 7 hasta 30 días. La presencia de corpúsculos de Negri en el cerebro de los animales muertos durante el período de observación confirma el diagnóstico. Aunque la inoculación al ratón tiene un margen de error muy pequeño, su principal inconveniente estriba en el tiempo tan largo que tiene que transcurrir para obtener un resultado, que siempre será tardío para normar el criterio sobre la aplicación *inmediata* de los recursos preventivos.

\* Trabajo presentado en la sesión ordinaria de la Academia Nacional de Medicina el 3 de abril de 1963.

Los inconvenientes de los métodos anteriores se evitan con el uso de la técnica de fluorescencia que, en su modalidad de tinción directa ya explicada en una presentación anterior, puede aplicarse tanto a muestras de tejido nervioso, como de glándulas salivales. El estudio de estas últimas reviste particular importancia en la determinación de la capacidad transmisora de un animal rabioso. En efecto, puede darse el caso de que el virus se encuentre en el tejido nervioso, pero que no haya pasado a la glándula salival, y, por consiguiente, haya sido imposible su transmisión por la saliva.

Otra ventaja de la técnica de fluorescencia es que se efectúa en poco menos de cinco horas. La lectura es perfectamente clara si los reactivos han sido bien preparados, observándose en las muestras positivas la presencia de puntos fluorescentes de color verde manzana. Solamente la fluorescencia que tiene esa tonalidad se considera específica y, por tanto, se hace caso omiso de la fluorescencia inespecífica producida por otras estructuras que aparecen con tonalidades distintas de la mencionada. Por lo general, la lectura no requiere más de 4 a 5 minutos y se interpreta siempre en comparación con una muestra testigo. Además de los corpúsculos de Negri que son intensamente fluorescentes y cuya estructura puede casi siempre apreciarse con cierto detalle, se observan también, en las preparaciones positivas, numerosos puntos luminosos más pequeños que se han designado con el nombre de "polvo antigénico".

Por lo que toca a especificidad, las técnicas de fluorescencia son comparables y aun superiores a la inoculación intracerebral en el ratón, como lo demuestran

INSTITUTO NACIONAL DE VIROLOGIA DE LA S.S.A.

RESULTADOS DE LABORATORIO OBTENIDOS CON DISTINTAS TECNICAS EN  
104 CEREBROS DE ANIMALES SOPECHOSOS DE PADECER RABIA

1963

| <i>P o s i t i v o s</i>                                     |   |                                  | <i>Negativos<br/>a los tres<br/>métodos</i> | <i>Total</i> |
|--|---|----------------------------------|---|--------------|
| <i>Corpúsculos<br/>de Negri<br/>(Tinción<br/>de Sellers)</i> | <i>Inoculación<br/>al ratón por<br/>vía intracerebral</i> | <i>Inmuno-<br/>fluorescencia</i> |   |              |
| 81 *   | 88 **   | 88                               | 16  | 104          |

\* Respecto de las otras dos pruebas la búsqueda de corpúsculos de Negri resultó negativa en el 8% de los casos.

\*\* Todas las muestras positivas por inoculación al ratón lo fueron también por inmunofluorescencia.

los casos en que esta última fue negativa, mientras la fluorescencia dio resultado positivo en pruebas correctamente ejecutadas (ver cuadro).

Además de la descrita, las técnicas de inmunofluorescencia han encontrado otras aplicaciones en el estudio de la rabia. Gracias a ellas se ha podido demostrar que el corpúsculo de Negri está formado por conglomerados de partículas virales, lo que hasta hace poco era todavía motivo de discusión. Por otra parte, valiéndose de estas técnicas, se emprenden en la actualidad investigaciones tendientes a esclarecer la patogenia de la rabia. La idea de que el virus es estrictamente neurotrópico va a rectificarse en vista de que se le ha encontrado en el tejido adiposo subcutáneo y en la corteza suprarrenal de animales infectados experimentalmente por vía parenteral.

Por último, las técnicas de inmunofluorescencia son de gran utilidad para demostrar la presencia del virus en los distintos intentos que actualmente se hacen para propagarlo "in vitro" en cultivo de tejidos.

#### REFERENCIAS

1. Goldwasser, R. A., y Kissling, R. E. "Fluorescent Antibody Staining of Street and Fixed Rabies Virus Antigens." (23996). Proc. Soc. Exper. Biol. & Med., 98(2) 219-223, 1958.
2. Goldwasser, R. A., Kissling, R. E., Carski, T. R. "Fluorescent Antibody Staining of Rabies virus antigens in the Salivary Glands of Rabid Animals". Bull. Org. Mond. Sante, 20, 579-588, 1959.
3. Kaplan, M. M., Forseck, Z., y Koprowski, H. "Demonstration of rabies virus in tissue culture with fluorescent antibody technique." Bull. Wld. Hlth. Org., 22 434-435, 1960.
4. Sokolov, N. N., Vanag, K. A. "The nature of intranuclear inclusions in experimental rabies." Acta Virol. (Praha) (Eng), 6, 452-7, 1962.
5. Sikes, R. K. "Pathogenesis of rabies in wildlife. I. Comparative effect of varying doses of rabies virus inoculated into foxes and skunks." Am. J. Vet. Res., 23, 1041-7, 1962.
6. Carski, T. R., Wilsnack, R. E., Sikes, R. K. "Pathogenesis of rabies in wildlife. II. Fluorescent Antibody studies." Am. J. Vet. Res., 23, 1048-52, 1962.