

CONTRIBUCIONES ORIGINALES

REACCIONES INMUNOLOGICAS CON ANTIGENO CIRCULANTE
DE *TOXOPLASMA GONDII*

MAXIMILIANO RUIZ-CASTAÑEDA * ‡ e ISABEL SYMES ‡

El empleo de antígeno circulante y soluble obtenido de conejos inoculados con Toxoplasma gondii ha permitido obtener resultados comparables a los observados con antígenos del tipo desarrollado por Fulton y perfeccionado por Couzineau, cuando las pruebas comparativas se practican siguiendo el método de fijación en superficie. Mediante el empleo de esos antígenos ha sido posible obtener resultados satisfactorios en la determinación del título de anticuerpos de sueros positivos previamente sometidos a las pruebas de Sabin y Feldman y de inmunofluorescencia.

Con sueros positivos obtenidos de los laboratorios del Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales de México, así como de pacientes del Pabellón 1 del Hospital General de México, referidos por el doctor Margín Puig Solanes, se llevó a cabo la prueba de fijación en superficie, siguiendo el mismo método empleado para el diagnóstico de la amibiasis¹ y de la toxoplasmosis.² Se practicaron pruebas preliminares empleando antígeno de toxoplasma preparado según el método de Couzineau y Baufine-Ducrocq.³ Los sueros que mostraron intensidad satisfactoria sirvieron para las pruebas de titulación que se describen en este artículo.

* Académico honorario.

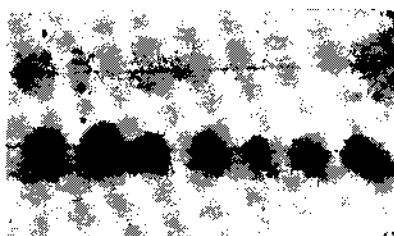
‡ Hospital Infantil de México.

Material

Los antígenos circulante y soluble se obtuvieron de conejos previamente preparados mediante inyección intraperitoneal de una emulsión de aceite mineral y lanolina, emulsificados con solución salina isotónica. A las 72 horas, se inocularon por la misma vía con exudado peritoneal de ratones infectados con *Toxoplasma gondii* suministrado por el Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales. Los conejos se sacrificaron 96 horas después, obteniéndose sangre por punción cardíaca y recuperándose el líquido de lavado de la cavidad peritoneal, practicado con solución salina formalinizada al 1 por ciento. Del suero sanguíneo se obtuvo el antígeno circulante y del peritoneo, el soluble. Fueron muy escasos los parásitos recuperados del peritoneo.

Mediante pruebas de fijación en superficie, empleando sueros de alto contenido en anticuerpos y controlados con sueros normales, se pudo confirmar la presencia, tanto en el suero sanguíneo como en el exudado peritoneal, de un agente desprovisto de cuerpos parasitarios, de actividad en todo comparable a las pruebas similares practicadas con el antígeno de Couzineau.

Para titulaciones de control se utilizó el antígeno de Couzineau previamente adicionado con suero nor-



1 Titulación de un suero positivo empleando como antígeno el antígeno circulante del suero de un conejo inoculado con *Toxoplasma gondii*. Diluciones desde 1/2 a 1/256.

mal de conejo, en proporción de cuatro partes de la suspensión comercial adquirida de los laboratorios Bio-Merieux, con una parte de suero.

Para las titulaciones con suero de conejo conteniendo antígeno circulante, se utilizaron diluciones al 1/5 en solución salina y el exudado peritoneal se adicionó de una quinta parte de suero normal. De más de un centenar de sueros positivos, se seleccionaron cuarenta para pruebas de titulación. El suero normal de conejo se utilizó como control de las titulaciones.

Métodos

Sobre placas de plástico de las empleadas para pruebas de microaglutinación dotadas con concavidades con capacidad aproximada de 0.05 ml. de líquido, se aplica el número necesario de volúmenes de 0.02 ml. de antígeno. Al primer pozo se agregan 0.02 ml. del suero por titular; de éste se transfieren 0.02 ml. al segundo, y así sucesivamente, hasta el último pozo.

Se obtienen así mezclas de suero y antígeno a dilución final de 1/2-1/4-1/8-1/16, etcétera.

Se preparan diluciones similares empleando suero normal de conejo, que servirán de indicación durante el proceso de diferenciación de la prueba. La titulación puede practicarse de modo individual o simultáneamente en tantas pruebas como puedan acomodarse en la placa.

La placa se protege contra la evaporación de las mezclas mediante cinta adhesiva o con los mismos protectores suministrados por las casas comerciales. Las mezclas se mantienen a la temperatura del laboratorio por un mínimo de 60 minutos antes de proceder a revelar los resultados de las titulaciones.

Sobre tiras de papel filtro, que puede ser Ederol 208 (Binzer, Eder, Alemania) o Beckman 320046, se forman pequeños círculos transfiriendo las mezclas mediante aplicadores de madera de los comúnmente empleados en los laboratorios y partiendo de la última dilución del suero, según se ilustra en la figura 1, teniendo cuidado de aplicar sobre la misma tira huellas de las mezclas de suero normal con los antígenos. La tira se somete a tinción y diferenciación.¹

Resultados

En el cuadro 1 se presentan ejemplos de titulación empleando antígenos circulante y soluble, así como con la suspensión de parásitos completos, la que sirve para confirmar la especificidad de los productos obtenidos de los conejos inoculados con *T. gondii*. Por

Cuadro 1 Titulación de sueros sanguíneos positivos provenientes de casos humanos de toxoplasmosis

Antígeno-suero		Diluciones de suero											
		2	4	8	16	32	64	128	256	512	1 024	2 048	4 096
<i>Toxoplasma gondii</i>	Normal	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	1	4	4	4	4	3	3	3	—	—	—	—	—
	2	4	4	4	4	4	4	4	4	—	—	—	—
	3	4	4	4	4	4	4	4	4	—	—	—	—
	4	4	4	4	3	—	—	—	—	—	—	—	—
Suero de conejo	Normal	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	5	4	3	3	2	2	—	—	—	—	—	—	—
	6	4	4	4	4	4	4	4	4	—	—	—	—
	7	4	4	4	4	4	4	4	3	—	—	—	—
	8	4	4	4	4	4	4	4	4	—	—	—	—
Exudado peritoneal	Normal	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	9	4	3	3	3	3	2	2	2	1	1	1	1
	10	4	4	3	3	3	3	2	2	2	1	1	1
	11	4	2	2	2	1	1	1	1	1	1	—	—
	12	4	4	3	3	2	2	2	2	2	2	2	1

De 1 a 4 corresponde a + a +++ +.

lo general se practican pruebas preliminares con mezclas de ocho pozos, en que el título máximo llega a 1/256. Pero más de 20 sueros que llegaron a este último título se llevaron a más altas diluciones, como se ilustra en los ejemplos 9 a 12, en los que se utilizó antígeno soluble de los lavados peritoneales.

Teniendo en cuenta la posibilidad de que algunos sueros presenten reacciones debidas a los llamados "anticuerpos naturales", solamente se tomaron en cuenta títulos superiores a 1/16.

Se presentan ejemplos de titulación empleando tres antígenos:

1. Antígeno de Couzineau de parásitos completos.
2. Suero de conejo con antígeno circulante.
3. Antígeno soluble del peritoneo de conejos inoculados con *T. gondii*.

Se observó que prolongar el tiempo de incubación más allá de 60 minutos no modifica los resultados de la titulación, siempre que se mantengan las mezclas a salvo de evaporación.

Discusión

Se han presentado ejemplos de titulación que representan el estudio de más de 40 sueros positivos, en que se utilizaron como antígeno suero de conejos y líquido de lavados peritoneales, demostrándose la presencia de antígeno circulante y soluble de *T. gondii*. Como control de especificidad se practicaron titulaciones con el antígeno de Couzineau, que como se ha indicado es una suspensión de parásitos completos.

El antígeno de Couzineau es sin duda el de más fácil manejo para la prueba de fijación en superficie, como pudo observarse en centenares de pruebas en que se confrontaron los resultados con los métodos de Sabin y Feldman y de inmunofluorescencia, practicadas en el Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales.

Como pruebas sugestivas de que en realidad se trabajó con antígeno circulante y soluble, cabe citar los trabajos de Reizman⁴ en animales inoculados experimentalmente con *T. gondii*, así como los citados en reciente comunicación, sobre el hallazgo de antígeno circulante en algunos casos de coriorretinitis.⁵

Se agradece al señor doctor Claudio Molina Pasquel su valiosa ayuda para la adquisición de sueros positivos, así como de exudado peritoneal de ratones inoculados con *T. gondii*.

REFERENCIAS

1. Ruiz-Castañeda, M.: *Investigación de anticuerpos amibianos por fijación en superficie*. GAC. MÉD. MÉX. 110:121, 1975.
2. Ruiz-Castañeda, M.: *Surface fixation as a rapid test for the detection of antibody in the serum of individuals infected with Toxoplasma gondii*. Arch. Invest. Méd. (Méx.) 8:1, 1977.
3. Couzineau, P. y Baufine-Ducrocq, H.: *Etudes des possibilités d'utilisation de sarcoma T.G. 180 de la souris. Application a la toxoplasmose*. Ann. Parasit. 44:217, 1969.
4. Reizman, R. E. y Neva, F. A.: *Detection of circulating antigen in acute experimental infection with Toxoplasma gondii*. J. Infect. Dis. 112:44, 1975.
5. Ruiz-Castañeda, M.; de la Torre, M. y Aubanel, M.: *Investigación de antígeno circulante en amibiasis invasiva*. GAC. MÉD. MÉX. 112:393, 1976.

La mayor parte de las manifestaciones heredosifilíticas precoces, han sido estudiadas de una manera detallada, ora por los que se dedican a enfermedades de la infancia, ya por los que cultivan la sifilografía.

Pero, he observado una manifestación sola, aislada, única, como signo de sífilis hereditaria precoz, manifestación poco conocida, ni siquiera mencionada en muchos tratados sobre la materia, aun extensos y que, a mi modo de ver, debe catalogarse entre las manifestaciones, no excepcionales de la heredosífilis.

Me refiero al grito, al lloro, como único síntoma. Al grito como manifestación clínica aislada de esa dolencia; grito que, en las observaciones que he hecho, ha llevado el pensamiento de algunos observadores, a dolencias muy ajenas a la sífilis.

Presumo que muchos casos de grito sífilítico, han pasado, ya inadvertidos, ya (y es casi lo mismo), han sido tomados como manifestación de trastornos gastro-intestinales, de desnutrición, etc. etc.

El desconocimiento de este síntoma, es, en mi sentir, de funestos resultados futuros, pues oculta la dolencia, más o menos tiempo, como acaece con la sífilis, reaparecerá el día menos pensado, con manifestaciones más o menos rebeldes, sino es que incurables.

Las observaciones que he llevado a cabo, son pocas, no obstante que el número de niños que veo es crecido. Esta forma de sífilis hereditaria, ya sea sola, ya acompañada de otras manifestaciones del mal, no muy claras, como la falta de desarrollo, debe ser conocida, aun por los médicos que no se dedican con especialidad a la pediatría.

En los casos dudosos y aparentemente negativos en lo tocante a los ascendientes, tenemos afortunadamente, dos piedras de toque de primera fuerza: la bacteriología y la terapéutica.

Concedo gran valor a ambas, no así igual facilidad de aplicación. Hay personas sumamente pobres o alejadas de los centros que no podrían recurrir, sino con grandes sacrificios a las investigaciones de laboratorio. La prueba terapéutica, por el contrario, es de las más sencillas, baratas y aplicables en cualquier medio.

Tres casos presento a la consideración de ustedes, en mi sentir completos y en los que, el grito, era la sola manifestación del mal. (Ramirez, S.: *El grito sífilítico*. GAC. MÉD. MÉX. 1 (4a. serie):474, 1920.)