



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

ANTICUERPOS FIJADORES DEL COMPLEMENTO CONTRA EL VIRUS DE VARICELA-ZOSTER

331

T E S I S

Que para obtener el título de:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P r e s e n t a :

AIDA NAVAS PEREZ

1976



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CLAS. TESI

ADO. 1976

FECHA 1976

PROC. sta

319



QUIMICA

JURADO ASIGNADO ORIGINALMENTE SEGUN EL TEMA:

Presidente	Profr.	Dr.	Oscar Amor Dodero.
Vocal	Profra.	Q.F.B.	Magdalena A los Ca...
Secretario	Profr.	Dr.	Salvador Martín Sosa.
1er Suplente	Profra.	Q.F.B.	Ernestina Ballesteros R.
2do Suplente	Profra.	Q.F.B.	Socorro Cao Romero M.

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

LABORATORIO DE VIROLOGIA DEL HOSPITAL DEL NIÑO

I. M. A. N.

NOMBRE DEL SUSTENTANTE.

AIDA NAVAS PEREZ

NOMBRE DEL ASESOR DEL TEMA:

Dr. SALVADOR MARTIN SOSA

I N D I C E

Pág.

CAPITULO

I).-	INTRODUCCION	1		
II).-	ANTECEDENTES HISTORICOS	4		
III).-	EL AGENTE	{	Características del virus	9
			Morfología	9
			Características Físicas-Químicas	12
			Replicación	16
			Características Inmunológicas	19
			Clasificación	23
IV).-	LA ENFERMEDAD	{	Cuadro clínico	27
			Variedades	28
			Tratamiento	36
			Patogenia	38
			Epidemiología	39
			Prevención y Control	40
			Diagnóstico por el Laboratorio	42
V).-	GENERALIDADES SOBRE EL COMPLEMENTO Y SOBRE LA TECNICA DE			
FIJACION DEL COMPLEMENTO		{	Propiedades generales del complemento	46
			Mecanismos de acción del complemento	48
			Prueba de fijación del complemento	53

CAPITULO

Pág.

	Material de laboratorio	56
	Material Biológico	63
VI).- MATERIAL Y METODOS	Soluciones, Antígenos y otros materiales para - la prueba de FC	65
	Metodología	73
VII).- RESULTADOS Y DISCUSION		99
VIII).- CONCLUSIONES		111
XI).- BIBLIOGRAFIA		112

CON PROFUNDO AGRADECIMIENTO Y CARIÑO PARA MIS

QUERIDOS PADRES

A LA MEMORIA DE MI MADRE CONSUELO

COMO MUESTRA DE GRATITUD Y CARIÑO A QUIEN ME DIO EL SER. GRACIAS POR TUS CUIDADOS Y PREOCUPACIONES CUANDO YO ERA NIÑA; DESEO QUE EN EL LUGAR DONDE TE ENCUENTRES TE LLEGUE ESTE MENSAJE Y TE LLENES DE FELICIDAD AL VER CORONADO EL DESEO DE VER CONVERTIDA A TU HIJA EN PROFESIONISTA.

A MI QUERIDO PADRE JOEL

ES PARTE DE LO MUCHO QUE TE MERECE POR SER EL PAPA MAS MARAVILLOSO DEL MUNDO. GRACIAS POR TUS ESFUERZOS, GRACIAS POR EL INMENSO CARIÑO QUE ME TIENES, GRACIAS POR LA COMPRESION Y AYUDA QUE ME HAS BRINDADO, GRACIAS POR HABERME DADO LA OPORTUNIDAD DE LLEGAR A SER PROFESIONISTA.

PARA MIS QUERIDOS HERMANOS

BETO

JOEL

OSCARI TO

POR SER TAN BUENOS Y CARIÑOSOS

CON MUCHO CARIÑO

A LA MEMORIA DE MI ABUELITA CARMEN

A LA MEMORIA DE MIS ABUELITOS

HERIBERTO

CLEMENTINA

MODESTO

CON MUCHO CARIÑO

A MIS PADRINOS LEON Y
LEONOR

A HECTOR

POR BRINDARME SIEMPRE AYUDA, COMPRENSION Y CARIÑO

PARA TI CON TODO MI AMOR

A MI JURADO CON CARIÑO Y ESTIMACION

Dr. OSCAR AMOR DODERO
Q.F.B. MAGDALENA ACOSTA SEGURA
Dr. SALVADOR MARTIN SOSA

POR LA AMABILIDAD Y GENTILEZA MOSTRADA EN LA REVI-
SION DE ESTE TRABAJO.

A MI DIRECTOR DE TESIS Dr. SALVADOR MARTIN SOSA

POR LA VALIOSA AYUDA QUE ME HA BRINDADO Y POR EL INTERES MOSTRADO EN LA ELABORACION DE ESTA TESIS

A TODOS MIS PROFESORES

CON AGRADECIMIENTO POR QUE CADA UNO DE ELLOS AYUDO A LA FORMACION DE UNA NUEVA Q.F.B.

A ANGELICA

POR SUS CONSEJOS Y AYUDA

A TODAS AQUELLAS PERSONAS DE LA I.M.A.N.
QUE ME BRINDARON AYUDA Y AMISTAD

A MIS FAMILIARES Y AMIGOS

CON AGRADECIMIENTO

A TODAS AQUELLAS PERSONAS QUE --
CONTRIBUYERON A LA ELABORACION --
DE ESTA TESIS

CAPITULO I

I N T R O D U C C I O N

La Varicela es una enfermedad viral clásica de la infancia, habitualmente poco severa y que no deja secuelas o cicatrices. La infección primaria se caracteriza por un exantema vesicular más o menos generalizado, y confiere inmunidad permanente.

El término "varicela" tiene muchas acepciones, por ejemplo es muy común en nuestro medio conocerla como "viruela loca", pero el inconveniente de usar este término está en que puede ser confundida la varicela con la viruela, lo cual es un grave error ya que se trata de padecimientos muy diferentes y además ocasionados por virus que pertenecen a grupos distintos. Varicela es un diminutivo irregular de viruela, de el Latín "varius" que significa "moteado".

En los países de habla inglesa el término más usado es "Chickenpox"; se le denominó así porque las vesículas que se producen en la varicela en el ser humano son muy similares a las vesículas producidas en las aves (gallinas), y este detalle dió origen a que a la varicela también se le denomine "viruela de las gallinas". Además, el término Chickenpox es una derivación del francés "Chiche" (garbanzo), y se le denominó así porque el tamaño de la pústula es mucho menor que el de un chícharo. La palabra Chickenpox da pie a confundir o a relacionar este virus dentro del grupo Poxvirus.

Debido a su carácter esencialmente benigno, durante largo tiempo no se desarrolló mayor interés hacia su prevención por medios inmunológicos, pero en la actualidad existe preocupación por las complicaciones severas y aún fatales -- que pueden presentarse principalmente en niños con desnutrición severa, con algún padecimiento capaz de inducir inmunodepresión o sometidos a tratamientos inmunodepresores. En ta

les casos, el riesgo de complicaciones graves como encefalitis y otras formas de agresión al sistema nervioso central, se eleva muy considerablemente y aparece la posibilidad de cuadros fatales o que dejarán secuelas neurológicas permanentes.

En los hospitales para niños el problema mencionado se presenta con cierta frecuencia, y no es raro que se produzcan verdaderas epidemias intra-hospitalarias que obviamente implican un riesgo mayor para los susceptibles, ya que se multiplican las posibilidades de diseminación del agente causal. La experiencia en el Hospital del Niño I.M.A.N. en los últimos cinco años y particularmente en 1975, año en el que se presentó una seria epidemia intrahospitalaria, indica que las medidas epidemiológicas tradicionales de aislamiento, control sanitario, manejo especial de los enfermos o de los contactos susceptibles, etc, no bastan para controlar la diseminación del virus en forma efectiva y en un tiempo razonablemente corto. Observaciones similares han sido hechas en otros nosocomios y en otros países, dando lugar a que diversos grupos de investigadores se hayan interesado en los últimos tiempos en la profilaxis de la varicela cuando menos en circunstancias especiales, como serían las epidemias intra-hospitalarias y, en general, los casos de individuos expuestos a un alto riesgo de complicaciones graves.

Para tal objeto han sido propuestos dos procedimientos diferentes: El uso de globulina hiper-inmune anti-varicela-zoster y la aplicación de vacuna de virus atenuados, cuyas ventajas e inconvenientes son analizados más adelante.

En todo caso, el uso racional de cualquier método inmuno-profiláctico requiere el conocimiento de diversos aspectos de la historia natural de la enfermedad, particularmente de los inmunológicos, de ahí que sea indispensable estudiar la prevalencia de anticuerpos específicos contra el agente causal, su distribución por grupo de edad, su persis-

tencia en el organismo que ha sufrido la infección y su eficacia protectora en condiciones naturales.

El trabajo objeto de esta tesis constituye una aportación al conocimiento de la seroepidemiología de la varicela en nuestro país, a través de una encuesta serológica en niños que acudieron al Hospital del Niño I.M.A.N. durante el período en que se realizó el estudio.

CAPITULO II

A N T E C E D E N T E S H I S T O R I C O S

- SIGLO XVI.- En Italia aparecen descripciones de la varicela, donde se le conocía como "crystalli". Vipio e Ingrano la mencionan sin concederle individualidad y la colocan entre viruela y sarampión, si bien la mayoría de los estudios de la época la confundían con viruela.
- 1967 .- Heberden por primera vez, demuestra, la especificidad etiológica de la varicela.
- 1820 .- Thompson establece definitivamente las diferencias clínicas y patológicas entre viruela y varicela, no obstante refiriéndolas al mismo agente etiológico.
- 1875 .- Steiner establece la naturaleza infecciosa de la varicela mediante inoculación de voluntarios.
- 1888 .- Von Bókay, por primera vez, relaciona la varicela con el zoster y reporta el acontecimiento de dos familias en las cuales se habían suscitado casos de varicela seguidos de zoster.
- 1900 .- Head y Campbell proporcionan una descripción sobre la neuropatología de la enfermedad.
- 1906 .- Tyzzer describe la respuesta patológica en varicela y proporciona una fotografía excelente de una lesión localizada.
- 1911 .- Aragão es el primero en observar al microscopio de luz pequeñas partículas en el fluido vesicular de varicela.
- 1917 .- Paschen describe corpúsculos elementales en el fluido vesicular y sugiere que el agente etiológico capaz de producir varicela sea un virus.

- 1921 .- Lipschutz describe los cambios histopatológicos en las vesículas.
- 1926 .- Rivers inocula fluido vesicular de varicela en testículos de monos y observa inclusiones intranucleares en las lesiones locales producidas.
- 1926 .- Debido a la ausencia de métodos de cultivo del virus de la varicela, se tiene que recurrir a usar costras o fluidos vesicular como antígeno para realizar los primeros estudios serológicos.
- 1926 .- Netter y Urbain tratan de efectuar las primeras pruebas de fijación del complemento.
- 1927 .- Rivers termina por concluir que las inclusiones intranucleares son una respuesta específica producida por un virus; dicha respuesta no ocurre cuando se inocula a los monos con suero de personas convalecientes y además demuestra que el único huésped susceptible a la varicela es el hombre.
- 1933 .- Brain, Netter y Urbain efectúan las primeras pruebas de fijación del complemento, usando costras o fluido vesicular como antígenos de varicela y haciéndolos reaccionar con suero de pacientes convalecientes, de cualquiera de las dos enfermedades (varicela ó zoster), observándose que reaccionan muy bien; además, por medio de la prueba de fijación del complemento demuestran que existe una relación antigénica entre varicela y zoster.
- 1934 .- Amies muestra, mediante métodos adecuados, que las partículas de varicela y de zoster en el fluido vesicular presentan una morfología similar.

- 1943 .- Ruska es el primero en realizar estudios en el microscopio electrónico con material biológico (fluido vesicular de varicela-zoster).
- 1943 .- O'Connor continúa los experimentos de Ruska en el microscopio electrónico.
- 1944 .- Goodpasture y Anderson efectúan experimentos para propagar el virus en tejidos de pollos (en el huevo embrionado) pero fracasan, como segundo experimento llevan a cabo la inoculación de fluido vesicular de zoster en la membrana corioalantoidea de huevos embrionados, obreniéndose mejores resultados.
- 1944 .- Van Rooyen, Illingworth y Wesselhoeft encuentran que si es posible distinguir la varicela de la viruela, por el método de tinción de el fluido vesicular y observación al microscopio de luz: Las partículas en caso de varicela son más pequeñas y mucho más numerosas que las partículas en caso de viruela.
- 1948 .- Rake continúa efectuando estudios de el fluido vesicular en el microscopio electrónico.
- 1949 .- Evans y Melnick proponen una cierta morfología del virus, según se observa en el microscopio electrónico.
- 1952 .- Weller y Stoddard aíslan el virus de un cultivo celular suspendido procedente de fluido vesicular de varicela o de zoster.
- 1953 .- Reagan propone una nueva morfología para el virus visto en el microscopio electrónico.
- 1953 .- Weller realiza aislamientos de el virus de varicela a partir de fluido vesicular.

- 1954 .- Weller y Coons aplican la técnica indirecta de inmunofluorescencia para detectar el virus en cultivos celulares infectados.
- 1959 .- Weller y Witton efectúan innumerables pruebas de fijación del complemento y difusión en gel con el objeto de conocer la composición antigénica del virus.
- 1959 .- Weller y Taylor-Robinson efectúan aislamientos del virus de varicela, obtenido del fluido vesicular, y realizan su propagación en cultivos en monocapa de diversos tipos de células humanas y de células de mono, pero bajo esas condiciones observan que el virus permanece asociado a la célula y por lo tanto no se puede obtener el virus infeccioso.
- 1962 .- Almeida establece la verdadera morfología de el virus de varicela zoster; emplea el microscopio electrónico y tiñe el fluido vesicular usando tinción negativa con ácido fosfotúngstico, con el objeto de detallar completamente su morfología estructural.
- 1963 .- Caunt obtiene por primera vez al virus, libre, separado de las células, con lo cual se hace posible efectuar estudios más extensos del virus.
- 1968 .- Caunt y Shaw realizan pruebas cuantitativas de neutralización para varicela.
- 1969 .- Brunell y colaboradores (6, 7) inician investigaciones para preparar una globulina inmune contra varicela.
- 1972 .- Brunell y colaboradores (7, 8) muestran que puede obtenerse globulina inmune contra varicela a partir de material procedente de pacientes con -

herpes-zoster.

1974-75 .- Takahashi (9) en Osaka, Japón, desarrolla una vacuna de virus atenuados y demuestra su efectividad en pequeños grupos de niños expuestos a alto riesgo. Esta vacuna se encuentra aún en período de prueba, y no se pretende aplicarla en forma generalizada.

NOTA .- Los datos históricos, hasta 1968 fueron obtenidos de las referencias 1, 2, 3, 4, 5.

CAPITULO III

E L A G E N T ECARACTERISTICAS DEL VIRUS

En un principio las características de este virus fueron estudiadas partiendo de fluido vesicular, en donde las partículas virales fueron vistas por primera vez en 1911 por Aragão, con ayuda del microscopio de luz y después de haber teñido frotis de fluido vesicular con colorante de Wright o de Giemsa.

Posteriormente (en 1943), Ruska efectuó los primeros estudios de fluido vesicular empleando el microscopio electrónico: Tales estudios permitieron establecer algunas características morfológicas del virus de varicela-zoster también denominado virus V-Z pero fué hasta 1962 cuando Almeida (10) presentó información completa sobre su morfología.

MORFOLOGIA

Corresponde a la del grupo Herpes. El virión está constituido por un nucleoide que mide de 30 a 50 nm de diámetro, rodeado por un cápside icosaédrico de 95 nm de diámetro; el cápside está compuesto por 162 capsómeros idénticos en apariencia y organización, descritos como prismas huecos con un centro axial, en el cual se encuentra el ADN viral. El conjunto NUCLEOCAPSIDE está rodeado por una, dos ó más membranas concéntricas de naturaleza lipoproteica que da al virión un diámetro externo total de 150-200 nm.

CUADRO No. 1

DIVERSAS MEDICIONES DEL TAMAÑO DEL VIRUS DE VARICELA-ZOSTER

REFERENCIA	MATERIAL EXAMINADO DE VARICELA (V)	*DIAMETRO TOTAL DEL VIRION	*DIAMETRO DEL VIRION DESNUDO	*DIAMETRO DEL NUCLEOIDE
Ruska, 1943	Fluido vesicular	150		
Nagler y Rake, 1948	Fluido vesicular	210 x 238		
Farrant y O'Connor, 1949	Fluido vesicular	175 - 245 (1)		
Evans y Melnick, 1949	Fluido vesicular	245 (alcance 160-320)		
Almeida, 1962	Fluido vesicular	200	95	
Shaw, 1968	C.T. de tiroides	200	100	
Montaldo, 1966	Biopsia de piel	150 - 160		50
Kimura, 1972	Biopsia de piel	180 - 200	100 (2)	
Tournier, 1957	C.T.F.H.	116 - 140	70 - 80 (2)	34 - 42
Achong y Meurisse, 1968	C.T. de amnion H.	120	90 (2)	45
Cook y Stevens, 1968	C.T. de amnion H.	115 (3)	81 - 90 (3)	
Tawara y Ogiwara, 1969	C.T. de cél. Vero	190 - 220	90 - 110	70 - 90

C.T. = Cultivo de Tejidos

F. = Fibroblastos

H. = Humanos

(1) = Depende del método de fijación usado

(2) = Cubierta individual

(3) = Valoración de fotografías

* Diámetros en nanómetros

Cuadro No. 1 y 2 tomados de : Taylor-Robinson D., Caunt, A.E. "Virology Monographs No. 12"

Ed. 1972, Springer-Verlag, pág. 9.

CUADRO No. 2

DIVERSAS MEDICIONES DEL TAMAÑO DEL VIRUS DE VARICELA-ZOSTER

REFERENCIA	MATERIAL EXAMINADO DE ZOSTER (Z)	*DIAMETRO TOTAL DEL VIRION	*DIAMETRO DEL VIRION DESNUDO	*DIAMETRO DEL NUCLEOIDE
Ruska, 1943	Fluido vesicular	150		
Farrant and O'Connor, 1949	Fluido vesicular	253		
Evans y Melnick, 1949	Fluido vesicular	230		
	Fluido cerebro - espinal	224		
Williams, 1962	Fluido vesicular	200	95	
Herzberg, 1963	Fluido vesicular	200	90 - 100	
Shaw, 1968	C.T. de tiroides	200	100	
Dohi, 1961	Corte de piel	80-90 x 140-180	60-90 x 80-100	20
Lutzner, 1962	Biopsia de piel	160		50
Esiri and Tomlinson, 1972	Piel y sección de piel	116-140	70 - 80 (2)	34 - 42
Becker, 1965	C.T.E.H. de F. de pulmón	150 (promedio)	90	45

C.T. = Cultivo de tejidos

E. = Embriones

H. = Humanos

F. = Fibroblastos

(2) = Cubierta individual

* Diámetros en nanómetros

PROPIEDADES FISICAS Y QUIMICAS

1).- Composición química

El ácido nucleico que contiene en el interior del nucleocápside es ADN, lo cual ha sido demostrado por medio de los siguientes experimentos:

En un cultivo de tejidos infectado con el virus en presencia de 5-iododesoxiuridina (IUDR) o bien 5-fluorodesoxiuridina (FUDR), pudo observarse que la replicación viral era inhibida, y la explicación fué que el IUDR y FUDR son antagonistas del ADN viral (2, 11).

Posteriormente (en 1964) Rapp (12) mostró que el virus podía ser inhibido también por citosina-arabinósido, y que dosis similares de cualquiera de los tres (IUDR, FUDR, citosina-arabinósido) produce niveles similares de inhibición viral.

Una demostración más directa de la naturaleza del ácido nucléico de este virus fué obtenida por Cook y Stevens (13), quienes en 1970 observaron, en una sección ultradelgada de células de amnion humano infectadas, que la parte densa central se destruía al ser tratada con ADNasa pero no con ARNasa.

La densidad de flotación del ADN del virus V-Z es de:

1.705 g/ml en CsCl.

Al examinar fluido vesicular al microscopio electrónico, por medio de tinción negativa con fosfotungstato de potasio o acetato de uranilo, el virión se observa icosaédrico y con envoltura.

Por lo que se refiere a la afinidad del ADN viral a algunos colorantes, la tinción de hematoxilina-eosina o la -

de Giemsa (ésta última mejor) ponen de manifiesto células gigantes multinucleadas con cuerpos de inclusión intranucleares acidófilos, ocasionalmente basófilos.

Otra prueba específica para detectar el ADN viral - en los cuerpos de inclusión es la reacción de Feulgen, en la cual el ADN toma una coloración magenta. Los cuerpos de inclusión son acúmulos virales.

2).- Resistencia a los agentes físicos y químicos

a).- Efecto del pH

El virus es muy poco estable a temperatura ambiente y a pH inferior a 6.2 ó superior a 7.8. Dentro de estos límites de pH su estabilidad es precaria, por lo que debe recurrirse a temperaturas de congelación y medios o soluciones adecuadas, según puede verse en el cuadro No. 3.

b).- Sensibilidad hacia los solventes orgánicos

La infectividad del virus V-Z es rápidamente destruída por el éter, pero no es afectada por la acetona y el éter de petróleo. El metanol y el etanol absolutos alteran rápidamente la estructura de los capsómeros; se ha observado que el etanol al 96 % presenta menos efecto destructivo.

c).- Efecto de la temperatura

La capacidad que presenta el virus para infectar a la célula huésped se pierde después de haber sido calentado el material viral a 60°C durante 60 minutos.

d).- Efectos de la vibración ultrasónica

El virus V-Z puede ser liberado de algunos cultivos celulares infectados (suspensión de células tiroideas -

humanas, tejido de fibroblastos humanos) y de fluido vesicular, por medio de vibración ultrasónica; el tiempo óptimo para obtener una mayor liberación de células viables es de 15 a 30 segundos.

e).- Efectos de la tripsina

Se ha observado que el título de infectividad del virus V-Z replicado en fibroblastos de pulmón humano embrionario, se reduce después de ser tratado durante 30 minutos a 25 °C con 0.02 mg/ml de tripsina.

CUADRO No. 3

METODOS PARA PRESERVAR LA INFECTIVIDAD DEL VIRUS DE VARICELA-ZOSTER

PROCEDECENCIA DEL VIRUS	MEDIO ADECUADO DE CONSERVACION	TEMPERATURA	TIEMPO DE PRESERVA-CION
Fluido vesicular	Leche estéril libre de grasa	-65°C	13 meses
Fluido vesicular		-70°C	75 días
Cultivos de fragmentos de piel o de pulmón humanos embrionarios		-70°C	6.5 años
Vibración ultrasónica de células - tiroides humanas	Medio 199 con 5% de suero de ternera	-70°C	84 días
Fibroblastos humanos embrionarios, sometidos a vibración ultrasónica	10% de sorbitol + solución salina	-73°C	varios meses
Células tiroides humanas o una línea celular de riñón de mono	Medio 199	-20°C	4 días
Fibroblastos de pulmón humano embrionario infectados con virus de varicela	Medio de Eagle + 20% suero de ternera + 15% de glicerol	En N ₂ líquido a -195 C	años
Cultivos de tejidos, infectados en los cuales el virus está asociado a la célula	5% de extracto embrionario de bovino + 95% de líquido amniótico bovino + 5% de suero de caballo	-40°C a -50	2 meses
Células diploides humanas	Medio de Eagle + 10% de suero de ternera + 5% de glicerol	-70°C	años
Células amnióticas humanas infectadas	Medio de Eagle + 10% de suero de caballo	-70°C	255 días

REPLICACION

La replicación de este virus no se ha podido llevar a cabo en embrión de pollo, ni en animales de laboratorio; - pero se ha podido replicar en cultivos celulares:

- a).- Primarios
- b).- Cepas diploides
- c).- Lineas continuas

En los cuadros 6, 7 y 8 se mencionan varios cultivos celulares susceptibles al virus de la varicela.

CUADRO No. 4

CULTIVOS CELULARES SUSCEPTIBLES AL VIRUS
DE LA VARICELA

CULTIVO CELULAR	REFERENCIAS DE EL EFECTO DEL VIRUS
<u>PRIMARIO</u>	
F.E.H. (músculo de piel)	Weller (1953), (1958), Taylor-Robinson (1959), Gurvich (1962)
F.E.H. (pulmón)	Rapp y Benyesh-Melnick (1963) Meurisse (1969)
F.E.H.	Tournier (1957), Géder (1963) Géder (1964)
F.H. (prepucio)	Weller (1953), (1958) Taylor-Robinson (1959)
Riñón humano	Weller (1958), Gold (1965)
Amnion humano	Weller (1958), Taylor-Robinson (1959), Rosanoff (1963), Caunt y Taylor-Robinson (1964) Netter (1964) Gold (1965), Schmidt (1965), Meurisse (1969)
Tiroides humano	Caunt (1963), y Taylor-Robinson (1964) Géder (1964), Gold (1965), Meurisse (1969)
Riñón de mono Rhesus	Weller (1958), Rosanoff (1963), Geder (1964), Schmidt (1965a) (1965b) Meurisse (1969)
Riñón de mono verde africano	Rosanoff (1963), Slotnick (1963) Meurisse (1969)
Riñón de baboon	Rosanoff (1963)
Riñón de conejo	Weller (1958)
F.E. de cuy	Söltz-Szöts (1964; 1965)

E. = Embriones

H. = Humanos

F. = Fibroblastos

CUADRO No. 5

CULTIVO CELULAR	REFERENCIAS DE EL EFECTO DEL VIRUS
<u>CEPAS DIPLOIDES</u>	
E. H. (pulmón)	Rosanoff (1963), Slotnick y Rosanoff (1963), Kapsenberg (1964), - Brunell (1967), Schmidt (1969)
E.H. (músculo de piel)	Rosanoff (1963), Schmidt (1964)
E.H. (riñón)	Schmidt (1965)
WI-38 (E.H. pulmón) (Hayflick y Moorhead 1961)	Rosanoff (1963), Rawls (1964), Hermann (1964), Martos (1970)
F. de placenta humana	Rawls (1964), Hermann (1967)
F. de prepucio humano	Kissling (1968)

CUADRO No. 6

CULTIVO CELULAR	REFERENCIAS DE EL EFECTO DEL VIRUS
<u>LINEAS CONTINUAS</u>	
HeLa (Gey 1952)	Weller (1958), Gold (1965), Svedmyr (1965), Meurisse (1969)
Amnion humano (Fogh y Lund 1957)	Rosanoff (1963)
BS-C-1 (Riñón de mono verde africano) (Hopps y col. 1963)	Rosanoff (1963), Slotnick (1963)
GMK-AH-1 (Riñón de mono grivet)	Svedmyr (1966), Kissling (1968)
VERO (Riñón de mono vervet)	Caunt y Shaw (1969), Tawara (1969)
V 3 A (Riñón de mono vervet)	Meurisse (1969)
Riñón de mono III/I (Ruzicska 1964)	Géder (1964)

Cuadro No. 4, 5, 6. Tomados de: Taylor-Robinson D., y Caunt A.E., "Virology Monographs No. 12" Ed. 1972, Springer-Verlag, pág. 20

CARACTERÍSTICAS INMUNOLÓGICAS

ESTRUCTURA ANTIGÉNICA

Originalmente se estudió en fluido vesicular y en extractos de costras de pacientes; posteriormente se realizaron estudios en sueros de personas en la fase aguda y en la fase convalescente de varicela o de zoster. En los últimos años se han utilizado diferentes cultivos celulares infectados.

Las técnicas que se han utilizado para determinar la estructura antigénica y la identidad entre el agente causal de la varicela y del zoster son las siguientes:

a).- Reacciones de Precipitación.- En las reacciones de precipitación fué utilizada la técnica de doble difusión de Ouchterlony, con la cual fué posible demostrar tres bandas diferentes de identidad tanto para varicela como para zoster.

Se usó:

<p>(1)</p> <p>Suero de personas convalescentes de varicela</p> <p style="text-align: center;">+</p> <p>Fluido vesicular de varicela o zoster</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>3 líneas de precipitación (p.p.)</p>	<p>(2)</p> <p>Fluido de cultivo celular infectado</p> <p style="text-align: center;">+</p> <p>Suero de personas convalescentes de varicela o zoster</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <p>3 líneas de p.p.</p>
---	--

Según los resultados anteriores, se puede concluir que la composición antigénica del agente causal de la varicela y del zoster, es idéntica.

b).- Fijación del Complemento. - Para las pruebas de fijación del complemento se usó como antígeno fluido vesicular de varicela o bien extracto de costras, que se hizo -- reaccionar con suero de personas convalecientes de varicela o de zoster, y se observó que la reacción se efectuaba a la perfección en ambos casos.

Otra experiencia se realizó con el fluido de cultivos infectados con virus de varicela, el cual tenía la capacidad de fijar el complemento en presencia de sueros obtenidos de pacientes recuperados de varicela.

Los estudios efectuados en fijación de complemento demuestran que las dos entidades clínicas derivan de una misma estructura antigénica. (14).

c).- Inmunofluorescencia. - La técnica de inmunofluorescencia, al igual que las demás, ha demostrado la identidad antigénica del agente causal de la varicela y del zoster; esta técnica es particularmente útil para detectar anticuerpos específicos en el suero de convalecientes, por medio de la prueba indirecta (2, 15, 16)

d).- Reacciones de Neutralización. - En esta prueba no se puede detectar diferencia antigénica alguna, ya que se observa una completa neutralización en el efecto citopático producido por el virus de las dos entidades clínicas.

e).- Aglutinación. - Esta prueba demostró que las partículas virales, en fluido vesicular de varicela o de zoster, podían ser aglutinadas por suero de pacientes convalecientes de cualquiera de los dos padecimientos.

RESPUESTA INMUNOLOGICA E INMUNIDAD

La exploración inmunológica de las respuestas de anticuerpos en la varicela y en el zoster definen muy claramente a la varicela como una infección primaria; en ésta, los anticuerpos específicos aparecen en las fracciones 1gM e 1gG (ésta muy escasa), ambas en títulos bajos, en tanto que en el zoster definido como infección secundaria los títulos son más elevados, con franco predominio de 1gG.

Leonard y colaboradores (17) efectuaron estudios con sueros de pacientes en la fase convaleciente de varicela y de zoster usando métodos cromatográficos con DEAE-celulosa; el resultado de estos estudios cromatográficos fué la detección de dos fracciones de 1gG con movilidad electroforética diferente. Observaron también que la fracción que migraba más rápidamente es la que presentaba la mayor capacidad protectora, y se encontró en sueros de convalecientes de zoster; la fracción de movilidad electroforética lenta se encontró en el suero de convalecientes de varicela, por lo que del estudio se pudo concluir que la respuesta inmunológica en la varicela podría considerarse como incompleta, no sólo por la escasez de 1gM sino porque no aparece la fracción 1gG que presenta movilidad electroforética rápida.

La transferencia placentaria de anticuerpos maternos confiere protección durante los primeros meses de la vida; no obstante, la inmunidad materna parece ser menor, comparada con otras enfermedades, ya que la varicela ha sido adquirida por niños recién nacidos cuando se exponen al contacto con enfermos de varicela. En el caso de que la madre haya adquirido varicela unos cinco días antes del parto, se ha observado que se produce viremia trasplacentaria, pero no hay paso de anticuerpos específicos, ya que estos tardan cuando menos cinco días en formarse.

Dudgeon en 1969 (18) demostró que el virus de varicela-zoster puede sobrevivir en el feto durante todo el embarazo y producir anticuerpos persistentes.

La ausencia de anticuerpos fijadores de complemento en el caso de la varicela no es una indicación de falta de - inmunidad, ya que en muchos casos de virosis y en la fiebre-amarilla aparecen los anticuerpos neutralizantes en el suero del paciente antes que los anticuerpos fijadores del complemento; además se ha observado que al cabo de cierto tiempo - estos anticuerpos fijadores del complemento tienden a bajar su título o bien ya no son detectados en la prueba, por razones de sensibilidad de ésta.

Lo mejor para diagnosticar la varicela mediante la - reacción de fijación del complemento es tomar dos muestras - de suero del enfermo: Una en la fase aguda de la enfermedad - y otra durante la convalecencia (dos semanas después). Las - reacciones negativas o debilmente positivas en la fase agu-- da, seguidas de un aumento de título superior a cuatro veces en la fase de convalecencia son significativas desde el pun- to de vista diagnóstico.

La resistencia producida por un proceso de varicela confiere inmunidad permanente a la reⁱⁿfección exógena, por- lo que los ataques secundarios de esta enfermedad son vir- - tualmente desconocidos. Se ha postulado que la entidad clíni- ca del zoster constituye una reinvasión por el virus V-Z de- una persona parcialmente inmune.

CLASIFICACION

En 1954 Andrewes (19) clasificó al grupo Herpesvirus, para lo cual se basó en las siguientes características:

- 1).- Forma icosaédrica con 162 capsómeros y con envoltura
- 2).- Tamaño de 150 a 200 nm de diámetro
- 3).- Acido nucleico: ADN de doble filamento, de peso molecular 70-100 millones
- 4).- Sensibilidad al éter debido a la envoltura lipoproteica
- 5).- Hemaglutinación no demostrable
- 6).- No tiene antígenos comunes de grupo, pero hay cruce antigénico
- 7).- Replicación en cultivos de tejidos, y algunos también en huevo embrionado
- 8).- Replicación en el núcleo de la célula huésped
- 9).- Producen lesiones proliferativas, las cuales pronto se vuelven necróticas
- 10).- Se producen cuerpos de inclusión intranucleares característicos, del tipo Cowdry A
- 11).- Muchos integrantes de este grupo se replican en el sistema nervioso central, y algunos viajan a lo largo de los nervios hasta alcanzar el sistema nervioso central

Melnick (20), en 1964, sugirió que el grupo Herpesvirus podía ser dividido en dos grupos, el A y el B, según que el virus sea liberado de las células infectadas, o que -

quede asociado a ellas. En el grupo A incluyó al virus de herpes simple, y en el grupo B incluyó a los de varicela-zoster y a citomegalovirus. Pero en 1967 Plummer (21) impugnó esta división considerando que no es suficientemente precisa.

El virus de varicela llenó los criterios establecidos y por lo tanto fué incluido en el grupo Herpesvirus como *Herpesvirus varicellae* por Andrewes en 1954.

En 1967, Plummer y Crandell (2, 21) también incluyen al virus de varicela dentro del grupo Herpesvirus por su morfología, contenido de ADN, replicación en el núcleo de la célula huésped, presencia de una envoltura sensible al éter, número de capsómeros y simetría icosaédrica.

CUADRO No. 7

CLASIFICACION PROPUESTA PARA EL VIRUS DE LA VARICELA POR EL
COMITE PROVISIONAL PARA LA NOMENCLATURA DE LOS VIRUS (CPNV)
EN 1967

DIVISION	CLASE	ORDEN	FAMILIA		GENERO	TIPOS DE ESPECIES	NOMBRE COMUN
TIPO DE MATERIAL GENETICO	SIMETRIA DEL NUCLEOCAPSI DE	NUCLEOCAPSI DE	NUMERO DE TRIANGULACION Y NUMERO DE CAPSOMEROS	NOMBRE DE LA FAMILIA			
DESOXIVIRUS	DESOXICUBICA	PEPLOVIRALES CON CUBIERTA	16; 162	Hepersviridae	Herpesvirus	varicellae	VARICELA

Tomado de: Rhodes, A.J. y Van Rooyen, C.E., "Text Book of Virology" Ed. 1970, Williams and Wilkins, pág. 12.

CUADRO No. 8

GRUPO: HERPESVIRUS

}	Infectan al Hombre	{ Herpes simple Varicela-Zoster Citomegalovirus Epstein-Barr
	Infectan a los animales	{ Virus B de los monos del Viejo Mundo Virus de los monos tífes del Nuevo Mundo Virus de la pseudorrabia de los cer- dos Virus III de los conejos Virus de la rinoneumonitis equina - (aborto equino) Herpesvirus canino Virus de la laringotraqueítis infec- ciosa de las aves Citomegalovirus de los monos, caba- llos, ratones y otras especies anima- les.

CAPITULO IV

L A E N F E R M E D A DCUADRO CLINICO

El período de incubación es generalmente de 13 a 17 días con extremos de 10 a 20 días. El período de infectividad es de 2 a 3 días antes de que aparezca la erupción, y se prolonga hasta que las lesiones cutáneas alcanzan el período pustular.

En algunos casos los primeros síntomas son: Malestar, fiebre, escalofríos, cefalalgia, náuseas, vómitos; dichos síntomas duran unas 24 horas, En otros casos el comienzo es brusco y la erupción suele ser la primera manifestación.

El exantema comienza por manchas planas de un rojo claro, circunscritas; en el centro de estas manchas salen -- después vesículas llenas de un líquido claro, muy abultadas y rodeadas de una areola roja.

La erupción producida por la varicela permanece en la epidermis y está distribuida en una forma centrípeta, apareciendo primero sobre el tronco y después sobre la cara; -- los miembros casi no son afectados. En ocasiones las vesículas también pueden aparecer en mucosas: Boca, faringe, vagina y conjuntiva, en cuyos casos las vesículas son más dolorosas y de difícil tratamiento.

Una vez que ha aparecido la lesión, ésta pasa rápidamente del estadio de mácula al de pápula, después al de vesícula y por último al de costra. Las costras se forman de 7 a 9 días después del comienzo de la enfermedad.

La distribución central de las vesículas de la vari

cela, y su ausencia de las palmas de las manos, juntamente - con la aparición en distintos momentos y la menor afectación general del paciente, son datos que diferencian este proceso patológico del de la viruela.

Se han descrito varias complicaciones de la erupción, la cual suele ser acompañada por una linfadenopatía generalizada:

- 1).- La primera y más frecuente es ocasionada por el mismo paciente, ya que las erupciones producen prurito y el paciente, al rascarse pueden dar lugar a erisipela, abscesos subcutáneos -- producidos por estafilococos, o bien a la formación de focos purulentos, los cuales al sanar suelen dejar una cicatriz permanente.
- 2).- Las segundas complicaciones son: Ulceras corneales, otitis y neumonía.
- 3).- La tercera complicación es la encefalitis, cuyas manifestaciones suelen presentarse de 4 a 10 días después de la aparición del exantema; el índice de mortalidad en esta complicación es del 10 %.
- 4).- La cuarta complicación es el zoster.

VARIEDADES CLINICAS DE LA VARICELA

1).- Forma PENFIGOIDE O AMPOLLAR

La varicela ampollar se caracteriza porque algunas o varias de las vesículas se transforman en ampollas. Esto se observa principalmente en niños que, además de varicela, sufren impétigo, sarampión o escarlatina, pero -- puede aparecer también de modo independiente.

2).- Forma HEMORRAGICA

La varicela hemorrágica es muy grave, pero se observa raramente.

El contenido de las vesículas es hemático y se producen además hemorragias cutáneas, en forma de petequias y -- equimosis, así como hemorragias en diversas mucosas: -- Conjuntival, bucal y de las vías digestivas. Los signos diagnósticos generalmente son: Nefritis ligeras, por lo común con albuminuria, escalofríos, cefalalgia, vómitos, calambres, edema y artritis. La varicela hemorrágica es propia de pacientes debilitados y su pronóstico suele ser fatal.

3).- Forma GANGRENOSA

La varicela gangrenosa puede adoptar una forma aguda -- que conduce a la muerte en algunas horas en medio de -- grandes lesiones gangrenosas cutáneas y profunda intoxicación del paciente, y una forma subaguda, más benigna, la cual aparece con frecuencia en enfermos tuberculosos y anémicos.

Muchas eflorcencias, al curarse, se recubren de una -- escara negra y se rodean de una areola roja, produciéndose posteriormente necrosis en el lugar afectado (pulmones, órganos abdominales, cerebro); la necrosis progresa hacia la periferia y acaba por desprenderse la escara, dando lugar a una úlcera profunda. En cuanto al tejido celular subyacente (en caso de varicela gangrenosa a nivel pulmonar), se cubre de un exudado purulento y el paciente desarrolla una tos seca, que generalmente origina un esputo sanguinolento; hay, al mismo tiempo, fiebre, taquicardia y astenia progresiva con desenlace fatal en la mayoría de los casos.

Se han descrito como complicaciones de la varicela gangrenosa: Encefalitis, meningo-encefalitis, mielitis, -- neuritis, polineuritis y complicaciones oculares. La -- más importante por su relativa frecuencia es la encefalitis varicelosa, que suele aparecer entre el quinto y décimo día después del brote del exantema. En la sangre se observan alteraciones consistentes en leucopenia con neutropenia, y luego linfocitosis y monocitosis moderadas.

VARICELA NEONATAL

Este tipo de varicela se presenta principalmente en niños nacidos de madres que han sufrido de varicela durante las dos últimas semanas del embarazo o después del nacimiento. En la mayoría de los casos el niño es infectado en el momento o poco después del parto, pero hay algunos casos de infección "in utero".

Es posible que la infección intrauterina ocurra secundariamente a la exposición primaria de la madre a la varicela, y que la ruta transplacentaria sea la vía más probable a través de la cual el producto se pone en contacto con el virus. La infección puede originarse desde época temprana -- del embarazo y puede tener como consecuencia el aborto, malformaciones congénitas, parto prematuro o enfermedad neonatal generalmente benigna. La Foret y Lynch (22) han considerado a la varicela con potencialidad teratogénica cuando se presenta en época temprana del embarazo.

Se ha observado que el período de incubación en el neonato es más corto de lo habitual, por lo cual debe considerarse varicela neonatal cuando se presenta no más allá del décimo día después del nacimiento. Respecto a este tipo de varicela, se ha observado que adquiriendo la madre varicela-

hasta cinco días antes del parto, se produce viremia transplacentaria pero no hay paso de anticuerpos específicos (estos tardan cuando menos cinco días en formarse), resultando así lesiones necróticas diseminadas en las vísceras abdominales, generalmente mortales. Es posible que las lesiones cutáneas se encuentren alteradas al nacimiento y que sea necesario el diagnóstico diferencial con impétigo, sobre todo cuando el proceso se acompaña de invasión multivisceral; la mortalidad en estos casos es elevada, ya que uno de cada cinco fallece en etapa neonatal.

Además de muertes por invasión multivisceral se han observado muertes por neumonía y por encefalitis varicelosa. La incidencia de encefalitis varicelosa en el neonato es aproximadamente de un 20%; de este 20%, el 10% muere y el otro 10% queda permanentemente lesionado del sistema nervioso central.

Dumont realizó una observación en 24 mujeres embarazadas que padecieron varicela durante la gestación, la mitad de ellas durante el primer trimestre; el porcentaje de malformaciones congénitas fue de 1.8% contra 2.3% que sería esperarse en la población general.

En 1975 Williamson (23) publicó un artículo en el cual indica las posibles malformaciones congénitas producidas por este virus; en la página 555 de dicho artículo aparece un cuadro en el cual agrupa las malformaciones y las complicaciones que se presentan en el neonato.

VARICELA EN PACIENTES CON TERAPIA INMUNODEPRESORA Y ENFERMEDADES MALIGNAS

Debe evitarse que tanto niños como adultos con leucemia u otra enfermedad maligna se exponga a la varicela, ya que en tales casos es grave y a veces hasta mortal; además -

CUADRO No. 9

INFECCIONES EN EMBARAZO Y ANOMALIAS CONGENITAS ENTRE 16,994 NIÑOS DE
3 a 9 DIAS DE NACIDOS EN MARZO DE 1958

DIAGNOSTICO CLINICO	CASOS		MALFORMACIONES CONGENITAS	
	PRIMER TRIMESTRE	MAS TARDE	PRIMER TRIMESTRE	MAS TARDE
Rubeola	5	6	2	0
Parotiditis	4	0	1	0
Varicela	1	3	0	0
Sarampión	0	2	0	0
Hepatitis infec.	0	5	0	1 murió
Herpes zoster	0	7	0	0
Tosferina	0	1	0	0

CUADRO No. 10

INFECCIONES EN EMBARAZO Y MUERTES PERINATALES

DIAGNOSTICO CLINICO	NUMERO ENTRE LOS NAC. DE UNA SEMANA	NUMERO ENTRE MUERTES PERINATA- LES EN TRES MESES	
		OBSERVADO	ESPERADO
Hepatitis infec.	5	4	1.8
Fiebre glandular	1	2	0.4
Poliomelitis	1	2	0.4
Rubeola	11	4	4.6
Varicela	11	4	4.6
Parotiditis	9	3	3.8
Sarampión	2	2	0.8

Cuadros No. 9 y No. 10 tomados de: "Intrauterine Infections" Ciba Foundation Symposium 10 (new series) Ed. 1974, Elsevier. Excerpta Medica. North-Holland, págs. 152 y 153

Haggerty y Eley en 1956 probaron que aquellos individuos bajo terapia con cortisona, mercaptopurina, metrotexato, esteroides adrenales y radiaciones, están más expuestos a un desenlace fatal en el caso de que se les presente la varicela, ya que se ha comprobado que los medicamentos mencionados pueden inhibir la respuesta inmunitaria.

En general la severidad de la varicela varia de paciente a paciente, siendo más severa en personas que habitan climas tropicales, en personas adultas y en casos de leucemia o algún tipo de cancer u otra enfermedad maligna, así como en pacientes que presenten hypogammaglobulinemia.

ESTUDIOS POST-MORTEM DE CASOS DE VARICELA

El mayor número de autopsias reportadas es en niños, en el período neonatal (Ehrbeen 1958), y en adultos.

Schleussing, en 1927, fué el primero en reportar los cambios patológicos en los órganos internos. En 1952 Eisenbeed reportó haber encontrado lesiones necróticas en el hígado y en el bazo de gemelos prematuros (3 semanas de nacido), sin mencionar cuerpos de inclusión.

Oppenheimer en 1944 y Lucchesi en 1947 examinaron varios casos de neonatos muertos y llegaron a la conclusión de que el virus presenta una estrecha afinidad por las células epiteliales de varios tejidos. Oppenheimer observó que el virus es dermatropo, es decir, que tiene afinidad por la piel y se fija a ella selectivamente. Johnson en 1940 observó inclusiones intranucleares en células endoteliales de vasos sanguíneos y linfáticos, histiocitos, células del páncreas y células de las glándulas suprarrenales.

Cheatham en 1956 reportó inclusiones intranucleares en células endoteliales presentes en vesículas de piel y en-

áreas hemorrágicas de los testículos, en endotelio vascular de la lengua y en células endoteliales de timo, pulmón, tracto intestinal, hígado, páncreas y riñones.

En observaciones de autopsias procedentes de muertes por varicela asociada con neumonía (Waring 1942, Claudy-1942), los cortes revelaron cambios consistentes con neumonía viral y Eisenbeed en 1952 describió inclusiones intranucleares típicas en células alveolares.

En 1953, Kaplan y Tully reportaron un paciente con adenocarcinoma broncogénico que tenía cuerpos de inclusión de varicela en ambos epitelios y en tejidos mesenquimatosos, así como en las células de adenocarcinoma de pulmón.

Los descubrimientos histológicos no encefalitis varicelosa, revisados por Appelbaun en 1953, se limitaron a infiltración celular perivascular.

En general, las muestras seleccionadas para el aislamiento de virus son las siguientes: Piel, hígado, bazo, -- pulmón, además se ha encontrado en sangre.

CUADRO No. 11

MORTALIDAD EN LAS COMPLICACIONES DE
LA VARICELA

COMPLICACION	% DE MUERTES
Pneumonía en mujeres embarazadas	44%
Tratamiento con antimetabolitos corticoesteroides o radiación	20%
Pneumonía en adultos	17%
Encefalitis	10%
Meningo-encefalomielitis	3%
Meningitis	1%
<u>En el recién nacido</u>	
Encefalitis	10%
Lesiones del sistema nervioso central	10%
Pneumonía	7%
Lesiones necróticas diseminadas en las vísceras abdominales	2%
<u>Varicela diseminada</u>	
Referencia Merselis y cols. (35)	36%
Referencia Feldman y cols. (36)	7%

TRATAMIENTO

En general no existe un tratamiento específico, pero existen innumerables recursos para controlarla; en los casos de infección bacteriana secundaria grave, los antibióticos y las sulfonamidas juegan un papel muy importante, ya que contribuyen a acortar el curso de la enfermedad.

Para el prurito se ha recomendado la aplicación local de antipruríticos y secantes, como la loción de calamine que se aplica sobre las lesiones cutáneas, y también se ha recomendado la administración de antihistamínicos.

Debe evitarse por completo el empleo de cortisona, ya que produce complicaciones graves tales como hemorragias.

Se han empleado antagonistas del ADN tales como:

a).- 5-fluorodesoxiuridina (FDUR)

Ha resultado útil in vitro contra virus de vacinia y de herpes simple pero no contra el virus de varicela, además presenta una alta toxicidad al organismo.

b).- 5-iododesoxiuridina (IDUR)

Ha sido utilizada con éxito en la terapia tópica de la queratitis herpética producida por los virus del herpes simple y de varicela zoster; sin embargo, su utilidad como medicamento sistémico está limitada por su elevada toxicidad para el hígado y la médula ósea.

c).- Citocin-arabinósido (Ara-c)

En un estudio realizado por Movassaghi (24) se encontró un efecto favorable del Ara-c en tres niños con procesos malignos que iniciaron un cuadro de varicela mientras recibían drogas inmunosupresoras. Esta sustancia inhibe in-

vitro la síntesis del ADN y la replicación de los virus de herpes simple, de V-Z y de polioma. Si esta droga se administra repetidamente en dosis grandes produce severos efectos mieloproliferativos e inmunosupresores, y como es rápidamente deaminada e inactivada en el organismo su actividad antiviral es de corta duración. Debido a lo anterior, en las pruebas clínicas mencionadas se han utilizado dosis subcitotóxicas y subinmunosupresoras, pero que han resultado virus-táticas, lo cual ha sido logrado en la práctica por infusión intravenosa continua de dosis no tóxicas. Dosis: 2mg/Kg durante 4 días como mínimo y vigilancia estrecha del funcionamiento de la médula ósea; en algunos casos se han empleado hasta 5 mg/Kg el primer día y 3 mg/Kg los días subsecuentes.

d).- Adenin-arabinósido (Ara-a)

Estudios efectuados por Buchanan y colaboradores (25) indican que el Ara-a puede ser una droga muy efectiva en la terapia de ciertos pacientes que presenten complicaciones por el virus de varicela-zoster, pero su administración debe ser rigurosamente controlada ya que es una sustancia bastante tóxica y frecuentemente produce náuseas, vómitos y leucopenia.

El Citocfn-arabinósido y el Adenfn-arabinósido son empleados principalmente en las formas graves de la varicela o bien en las complicaciones neumonitis y encefalitis.

Ross en 1962 (26) reportó que el uso de la globulina gamma estándar no es de valor en la prevención de la varicela, ya que el título de anticuerpos antivari-cela que presenta es muy bajo.

La quimioterapia antiviral a base de antimetabólicos está contraindicada durante el embarazo y el único recurso disponible es la globulina gamma hiperinmune de convalecientes de herpes zoster o el plasma de estas mismas personas.

PATOGENIA

La patogenia no ha sido completamente dilucidada, - pero es casi seguro que el virus penetra por el tracto respi-- ratorio, se multiplica en él y en las vísceras y finalmente-- invade la sangre, localizándose luego en la piel y a veces - en los pulmones y otros órganos

Las lesiones cutáneas se parecen mucho a las del -- herpes-zoster. La vesícula se encuentra en la capa de célu-- las espinosas y tiene forma de cúpula. El techo está formado por el estrato córneo y la base por las capas profundas de - células espinosas; las células espinosas infectadas muestran inclusiones nucleares.

La formación vesicular es debida a una licuefacción que se produce en unas pocas células espinosas, y es el re-- resultado de la tumefacción de las células epiteliales, de la-- degeneración vacuolar y de la acumulación de líquidos tisula-- res.

A partir de las bases de las vésiculas se forman -- unas costras que presentan unas células gigantes caracterís-- ticas (de Tzanck) con inclusiones nucleares eosinófilas, - - principalmente durante los primeros estadios de la enferme-- dad.

Hasta la fecha el hombre es el único huesped conoci-- do para albergar este virus, ya que animales de laboratorio-- y embriones de pollo no pueden ser infectados.

La infección puede ser transmitida en niños o adul-- tos por medio de inoculación intradérmica de fluído vesicu-- lar. Otra forma de transmisión es tanto por gotitas de sali-- va como por contacto directo e indirecto con la superficie - de la piel, y también por contacto con personas que presen-- tan herpes-zoster.

EPIDEMIOLOGIA

La incidencia de varicela es poco más o menos igual en hombres que en mujeres; ésto fué reportado por Gordon - - (27) en 1962, quién realizó un estudio en Massachusetts con- 159,512 casos en un lapso de 10 años, (1952 - 1961) y obtuvo los siguientes resultados:

Mujeres	52%
Hombres	48%

Datos experimentales han comprobado que la mayor in- cidencia de varicela se presenta por lo general en indivi- - duos menores de 20 años, es decir, que se observa principal- mente en la infancia, pero que alrededor del 20% de los ca- - sos ocurren en adultos, al menos en otros países.

Hope-Simpson (1952) (28) ha intentado formular una- expresión cuantitativa de las posibilidades de contagio de - la varicela con respecto a otras enfermedades en personas -- susceptibles en una misma casa; así se comprobó que el índi- ce de sensibilidad a la exposición a varicela es de 61%.

El paciente con varicela puede contagiar la enferme- dad desde unas 24 horas antes de la aparición de la erupción, hasta alrededor de una semana después. La infección es dise- minada por las gotitas de las secreciones respiratorias prin- cipalmente.

La varicela es una de las infecciones más comunes - en las escuelas, orfanatorios, hospitales, y su incidencia - depende de la proporción de personas susceptibles. La infec- ción suele persistir durante varias semanas o meses cuando - adquiere características epidémicas. Los brotes de varicela- pueden ser originados por un caso de zoster.

PREVENCIÓN Y CONTROL

Como medidas preventivas para controlar la diseminación de la varicela se han recomendado las siguientes:

- 1).- En hospitales el uso de luz ultravioleta en áreas destinadas al aislamiento de enfermos infectados.
- 2).- Durante las épocas epidémicas, abstenerse de llevar a niños susceptibles a lugares muy concurridos.
- 3).- La higiene personal debe ser estricta para evitar la infección secundaria de las vésiculas cutáneas. En ocasiones es necesario sujetar los brazos de los enfermos o ponerles guantes, además de cortarles y limpiarles las uñas.
- 4).- Administrar globulina inmune anti-zoster en individuos expuestos a alto riesgo, que hayan tenido contacto con enfermos de varicela. Se consideran casos de "alto riesgo" los que se ajustan a los criterios siguientes (29):

1).- Una de las siguientes enfermedades o condiciones:

- a).- Leucemia o Linfoma
- b).- Inmunodeficiencia congénita o adquirida
- c).- Bajo medicación inmunosupresora
- d).- Recién nacido de madre con varicela

2).- Uno de los siguientes tipos de exposición a enfermo de varicela o de zoster:

- a).- Contacto doméstico
- b).- Contacto de juego (mas de una hora)
- c).- Contacto hospitalario (en la misma sala o en camas

- contiguas)
- d).- Contacto escolar (pupitres adyacentes en el salón-de clase)
- e).- Contacto neonatal (recién nacido cuya madre contrajo la varicela dentro de los cuatro días anteriores al parto).
- 3).- Antecedentes negativos o desconocidos de haber sufrido-la enfermedad
- 4).- Edad inferior a 15 años
- 5).- Posibilidad de iniciar la profilaxia dentro de las 72 - horas siguientes a la exposición.

Brunell y colaboradores (6) en 1969 y (30) en 1973- Brunell y Gershon mostraron que podía obtenerse globulina hiper-immune contra la varicela a partir de material procedente de convalecientes de herpes-zoster, cuyo plasma contiene-altos títulos de anticuerpos específicos.

El desarrollo de cepas atenuadas de virus V-Z para-preparar una vacuna no ha dado muy buenos resultados ya que-se ha observado que la vacuna protege contra varicela, pero-después de un período de tiempo los pacientes que fueron vacunados desarrollan zoster y es por esto que su uso no se ha extendido.

No obstante, en Osaka, Japón, el Dr. Takahaschi (9) ha logrado elaborar una vacuna al parecer efectiva.

DIAGNOSTICO DE LABORATORIO

Es muy raro tener que confirmar un diagnóstico de varicela en el laboratorio, pero a menudo puede ser necesario establecer una distinción entre la varicela y la viruela; entonces sí resulta muy importante y urgente hacer la diferenciación diagnóstica.

Los métodos serológicos se utilizan para determinar la condición inmunitaria en circunstancias especiales como pueden ser las epidemias intrahospitalarias, en cuyo caso los niños susceptibles deben ser sometidos a los procedimientos preventivos antes mencionados. Estos métodos también se han utilizado para definir algunas características epidemiológicas de la enfermedad; además por medio del diagnóstico de laboratorio se puede demostrar la presencia de anticuerpos en un paciente con varicela, o bien la presencia de virus según el origen de la muestra; para tales fines se cuenta con las siguientes pruebas de laboratorio:

- A).- HISTOPATOLOGIA.- El examen microscópico de biopsias de las lesiones cutáneas y la tinción con Giemsa revela cuerpos de inclusión intranucleares de color rojo y células multinucleadas gigantes; el resultado puede tenerse en una hora (prueba de Tzanck).

- B).- MICROSCOPIA ELECTRONICA.- Permite diferenciar agentes del grupo Herpes de agentes del grupo Pox (viruela, vaccinia).

- C).- DIFUSION EN GEL.- En 1971 Brunell (31) diseñó el método diagnóstico por difusión en gel de agar, el cual indica la identidad de -

los antígenos de la varicela y del herpes-zoster; aún cuando se trata de un procedimiento sencillo y tiene su mayor aplicación en estudios epidemiológicos, la prueba no ha sido usada para seguir la formación de los anticuerpos precipitantes en los enfermos.

D).- AISLAMIENTO DEL VIRUS.- El virus no se replica en huevo embrionado ni en animales de laboratorio. Puede aislarse a partir de:

- a).- fluido vesicular
- b).- otras muestras biológicas (sangre, biopsias)
- c).- puede aislarse sólo en cultivos celulares susceptibles al virus de la varicela, tales como: Fibroblastos humanos, cepa WI-38, células VERO, HeLa; (ver cuadro 4, 5, 6)

E).- PRUEBAS SEROLÓGICAS PARA LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS

a).- Fijación del complemento.- La presencia de un antígeno fijador del complemento en el líquido de las vesículas, así como el descubrimiento del antígeno soluble fijador del complemento en los líquidos de los cultivos de tejido, son ahora la base de pruebas serológicas más fácilmente realizables.

b).- Neutralización.- La neutralización del virus se demuestra por la inhibición de las lesiones focales producidas en cultivos de

células humanas. Esta técnica está limitada por la dificultad para cultivar al virus.

- c).- Inmunofluorescencia.- Sirve para detectar anticuerpos en el suero humano; los sueros se ponen en contacto con cultivos de tejido infectados con virus V-Z.

Weller y Coons en 1954 aplican la técnica indirecta de inmunofluorescencia para detectar el virus V-Z en cultivos celulares infectados, ellos trabajaron con la línea celular HeLa infectada -- con el virus V-Z, como fuente de antígeno.

Schmidt en 1965, usó como fuente de antígeno células de riñón de mono infectadas con el virus V-Z.

La técnica que usaron consiste en hacer diluciones seriadas del suero del paciente, las cuales se agregan sobre el cultivo celular (HeLa ó células de riñón de mono) infectado con virus V-Z, en seguida se incuba, y después de incubar y lavar el complejo antígeno anticuerpo, este se expone a la acción de un suero anti-globulina humana marcado con isotiocianato de fluoresceína.

El título de anticuerpos estará dado por la más alta dilución del suero que muestre fluorescencia definida.

La detección de anticuerpos específicos

cos en este complejo localizado en la membrana celular ha sido usada para -- confirmar el diagnóstico clínico de la infección por virus de varicela-zoster.

• Su ventaja particular sobre otros métodos es su sensibilidad, y además es rápido, específico y fácil de realizar, por lo que resulta muy útil para la búsqueda de susceptibles a la varicela. (2, 15, 16)

CAPITULO V

G E N E R A L I D A D E S S O B R E E L C O M P L E M E N T O
Y S O B R E L A T E C N I C A D E F I J A C I O N D E L C O M P L E M E N T O

El descubrimiento del complemento surgió de las observaciones de Buchner en 1880, de van Fodor y de Nuttall, los cuales observaron que el suero sanguíneo ejerce una acción destructora sobre las bacterias. Nuttall encontró que este poder bactericida decrece a medida que el suero envejece y se pierde rápidamente por calentamiento a 56°C. Pero no fué sino hasta 1894 cuando Pfeiffer realizó la primera descripción de un fenómeno lítico como parte de una reacción inmunitaria, a la cual se le dió el nombre de fenómeno de Pfeiffer. La observación de Pfeiffer consistió en que el vibrión colérico se lisaba en la cavidad peritoneal de un cobayo inmunizado.

Bordet, quien denominó "alexina" al complemento, al efectuar el experimento in vitro observó que para la lisis celular se requería lo siguiente: Anticuerpos, células bacterianas y un componente termolábil del suero normal; posteriormente Ehrlich substituyó el nombre de alexina por el de complemento cuya abreviatura es C'.

PROPIEDADES GENERALES DEL COMPLEMENTO

- 1).- El complemento es un componente termolábil del suero normal
- 2).- El complemento se encuentra en todos los sueros normales de mamíferos
- 3).- La actividad lítica del complemento, en presencia de --

complejo antígeno-anticuerpo, desaparece por inactivación térmica del suero a 56°C durante 30 minutos. Los sueros calentados, al pasar el tiempo, recuperan parte de su actividad complementaria.

- 4).- El complemento interviene en todas las reacciones antígeno-anticuerpo, salvo las relacionadas con inmunoglobulinas A y E. Es muy poca la especificada de especie del complemento; de ordinario, el complemento de cobayo es compatible con los anticuerpos de cobayo, de humano, de conejo y de otras muchas especies.
- 5).- El complemento no es una substancia, es un complejo formado por once proteínas séricas importantes, que actúan de manera concertada.
- 6).- Los once componentes del complemento resultan necesarios para las reacciones antígeno-anticuerpo de tipo lisis.
- 7).- Ciertas fracciones del sistema del complemento intervienen en la opsonización directa, fagocitosis, quimiotactismo, formación de anafilotoxina, adherencia inmunitaria y anafilaxia cutánea pasiva. Sólo se necesita complemento completo para las dos últimas.
- 8).- El complemento no es el producto de una reacción de inmunización.

LA ACTIVIDAD DEL COMPLEMENTO DEPENDE DE:

- a).- La presencia de iones Ca^{++} y Mg^{++}
- b).- La fuerza iónica del medio
- c).- pH dentro de una escala de 7.2 a 7.6
- d).- La temperatura óptima (30° a 37°C)

En los sueros de todas las especies animales se encuentran cantidades variables de complemento. Durante muchos años, se empleó como fuente primaria en la mayor parte de los sistemas serológicos suero de cobayo normal, pues este animal posee concentraciones altas de complemento con propiedades líticas muy activas.

La medición de la actividad del complemento en el suero es útil en varias situaciones clínicas. Se puede estudiar el complemento sérico total o sus componentes aislados. La actividad del complemento disminuye por el efecto de la temperatura o bien por trastornos congénitos del sistema del complemento (edema angioneurótico hereditario) y en las situaciones clínicas que se acompañan de mayor utilización o menor síntesis de complemento (por ejemplo glomerulonefritis aguda).

MECANISMOS DE ACCION

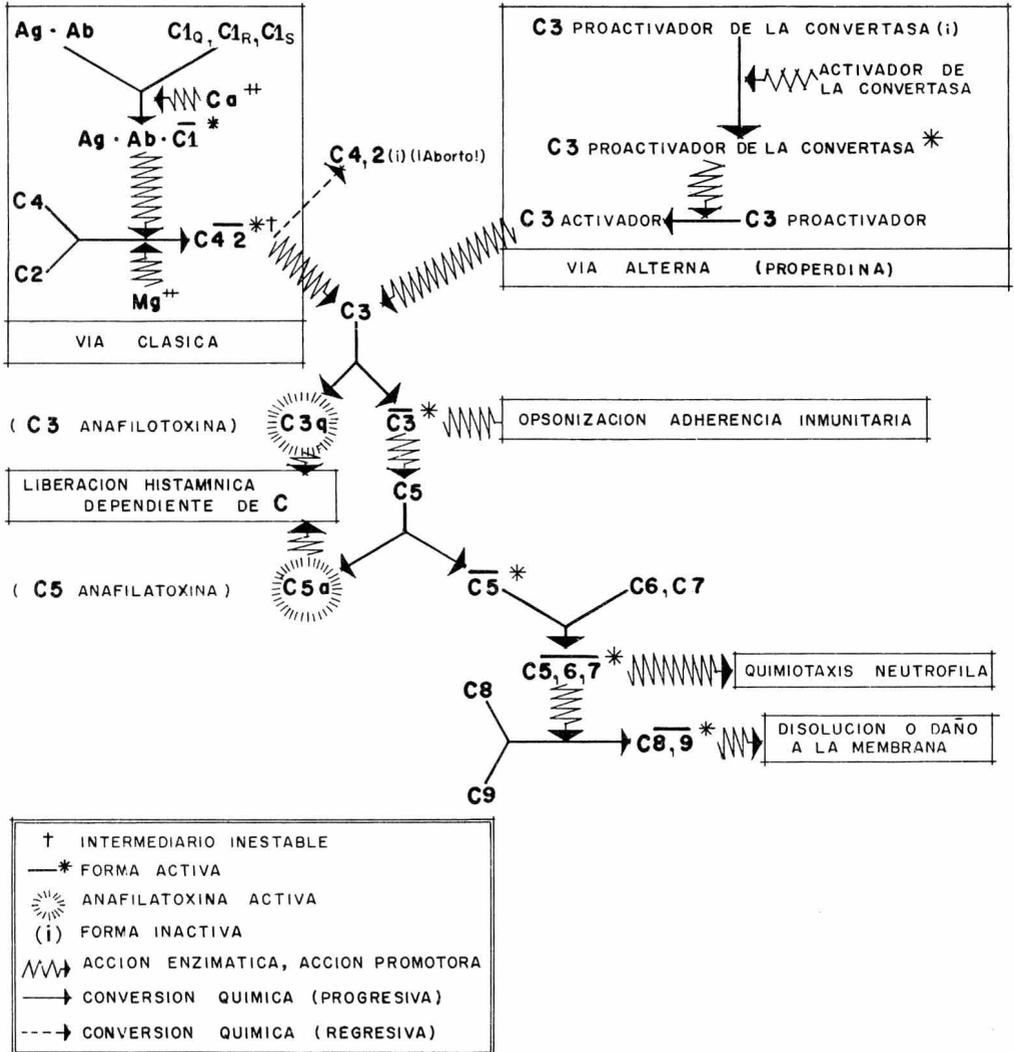
DEL COMPLEMENTO

VIA CLASICA DE ACTIVACION DEL COMPLEMENTO

Está representada por una sucesión de reacciones enzimáticas que siempre ocurren en un orden determinado y fijo. Algunas de estas reacciones necesitan la presencia de iones- Ca^{++} y Mg^{++} ; todas tienen lugar con un máximo de eficiencia a 37°C . La secuencia en la activación del sistema del complemento en las reacciones antígeno-anticuerpo se presenta en la figura 1.

Los números que designan estos componentes, no se relacionan con el orden en el cual intervienen, sino con el orden en el cual se descubrieron. La mayor parte de los componentes se presentan en bajísimas concentraciones séricas.

FIGURA No. 1
REACCIONES DEL SISTEMA COMPLEMENTO



TOMADO DE: GORDON L. B. "LO ESENCIAL DE LA INMUNOLOGIA"
EDITORIAL EL MANUAL MODERNO, S.A. 2ª EDICION
PAG. 77, 1975

Pero es posible medir cuantitativamente varios de ellos, específicamente Clq, C2, C3, C4 y C5, mediante análisis inmunoquímico. El primer componente comprende tres subunidades proteínicas llamadas Clq, C1r, C1s, unidas por un ión calcio -- que actúa como enlace. C1r, unido a Clq, actúa sobre C1s activándolo. Ocurrido esto se dice que el complejo C1 se ha activado. Debido a su actividad de esterasa, C1 puede actuar -- sobre C4 y C2, que son sus substratos. La interacción de C1 con C2 requiere la presencia de iones magnesio. La interacción de C1 con C4 y C2 da lugar a proteólisis, formándose a partir de C4, y también de C2, una molécula grande y una pequeña. La unión natural del fragmento mayor de C4 con el -- fragmento mayor de C2 da lugar al conjunto conocido como -- C42, que ejerce una actividad enzimática (proteolítica) sobre el componente siguiente, C3, y su migración electroforética cambia al transformarse en proteína más ácida. Por esta razón, C42 se llama convertasa de C3, el C3 activado puede -- quedar unido a la superficie celular, o puede estar libre en la solución. La interacción inmediata con el componente siguiente (C5) produce desdoblamiento del mismo. C5, C6 y C7 -- forman espontáneamente un complejo común en el suero. Aún -- cuando existan interacciones seriadas aisladas con estas proteínas, en ciertas circunstancias, el complejo trimolecular -- puede actuar como una sola molécula frente a los demás componentes del complemento. Los productos de interacción de C8 y C9 no se conocen con exactitud. Si las interacciones finales tienen lugar cerca de una superficie celular, se produce un efecto citotóxico que puede relacionarse con alteraciones de la membrana observables bajo el microscopio electrónico. En consecuencia se pierde la integridad funcional de la célula -- (por el efecto de Donnan), porque a la membrana se le forma una especie de agujeros (tales agujeros se consideran focos de rearreglo local o discontinuidad de la membrana lipídica -- externa del glóbulo), lo que da lugar a una mayor fragilidad osmótica, perdiéndose el equilibrio de Donnan, y por lo tan-

to va a haber penetración de agua y salida de sales y proteínas lo que va a ocasionar la disolución o daño irreversible de la membrana (lisis celular).

No todos los anticuerpos son capaces de activar el complemento. Parece que la capacidad de activar el complemento mediante la vía clásica se limita a los anticuerpos IgM e IgG. La fijación del complemento es una función de la región del Fc (Fragmento cristalizante, el cual es necesario para permitir la activación del complemento) de la molécula del anticuerpo. La secuencia se inicia con cambios en la conformación de esta región, después de la reacción con el antígeno.

Cuando un anticuerpo activador del complemento reacciona con su antígeno, las regiones del Fab (Fragmento para la unión con los antígenos (antigen-binding) sufren cambios de conformación. Eventualmente, los cambios alostericos alteran la configuración de toda la molécula, incluyendo a la región del Fc, y activan la fijación de C1 por parte del anticuerpo; C1 fijado adquiere actividad de esterasa, preparando el sitio de la reacción antígeno-anticuerpo para la subsecuente fijación de C4 y C2; a partir de entonces, la reacción puede proceder hasta su terminación o declinar, por medio de una reacción abortiva.

El sistema del complemento sirve como importante mecanismo de defensa y, en circunstancias diferentes, como un potente mecanismo lesivo al organismo; por lo tanto, es muy importante que esté funcionando en el organismo de una manera homeostática en el momento adecuado, para evitar una activación cuando pudiera desempeñar un papel lesivo.

VIA ALTERNA (VIA DE LA PROPERDINA)

El sistema de la properdina ha sido objeto de muchas controversias. Originalmente fué descubierto por Pillemer en 1954, y está constituido por un factor del suero llamado properdina que es una proteína con acción bactericida, (contra bacterias gram-negativas pero no contra bacterias gram-positivas), virocida y hemolítica; reacciona con zymosan (carbohidrato extraído de la pared celular de levaduras) y está implicada en otras situaciones de resistencia o inmunidad. La properdina actúa en presencia de iones Mg^{++} y de algunos componentes del complemento.

La properdina parece ser un nuevo factor no específico, parecido al complemento, que participa en algunas actividades antimicrobianas del suero normal. Además, se ha demostrado que muchas sustancias son activadoras de la vía de la properdina; éstas incluyen varios tipos de agregados inmunológicos, polisacáridos tales como inulina, gelosa, endotoxina y las paredes de las células de las levaduras, al igual que otras sustancias como una proteína proveniente del veneno de cobra común (*Naja naja*) y las enzimas tripsina y plasmina.

PRUEBA DE FIJACION DEL COMPLEMENTO

La prueba de fijación del complemento constituye uno de los estudios serológicos mas sensibles y de empleo mas frecuente en los laboratorios de diagnóstico. Se trata de una reacción que se realiza en dos etapas, en las que intervienen los siguientes sistemas:

CUADRO No. 12

ETAPA 1		ETAPA 2	
1.- Ac + Ag + C'	Ac-Ag-C'	+ E.S	No lisis
2.- Ac + C'	Ac + C'	+ E.S	lisis
3.- Ag + C'	Ag + C'	+ E.S	lisis

Ac = anticuerpo Ag = antígeno C' = complemento (suero de cuy)

E.S= eritrocitos de carnero sensibilizados con hemolisina

1.- Ocurrió la reacción de fijación del complemento

2 y 3.- No ocurrió la reacción de fijación del complemento

Tomado de: Eisen, N, Herman "Immunology"., Harper I. Row, Publishes
ed. 1974. pág. 513

La prueba comprende:

- 1).- El sistema a investigar integrado por el antígeno, el suero problema y el complemento, o bien un suero con anticuerpos específicos conocidos, un antígeno desconocido y el complemento.
- 2).- El sistema hemolítico o indicador, formado por hemafias de carnero sensibilizador con hemolisina. Esta se encuentra en el suero de conejos inmunizados con eritrocitos de carnero; también se le llama ambceptor, anticuerpo o sensibilizador hemático.

El consumo de complemento ocurre en la primera etapa de la reacción antígeno-anticuerpo. La fijación del complemento se determina indirectamente, mediante un sistema de reconocimiento formado por eritrocitos cubiertos de anticuerpos capaces de mostrar la presencia de una actividad residual de complemento. En la primera etapa, se incuban el antígeno conocido y el suero del paciente (inactivando su complemento por calentamiento previo) en presencia de una cantidad conocida de complemento de cobayo. La cantidad de complemento que se emplea es muy crítica y debe ser la necesaria para lisar una suspensión patrón de glóbulos rojos de carnero sensibilizados por anticuerpos de conejo contra los propios glóbulos.

Al terminar la incubación primaria, se añaden los glóbulos rojos sensibilizados de carnero y es aquí donde se inicia la segunda etapa. Si el suero del paciente contenía anticuerpos contra el antígeno conocido de prueba, se produjo una reacción antígeno-anticuerpo y se consumió el complemento; por lo tanto, ya no hay complemento o queda muy poco, y no son lisados los glóbulos rojos, por lo que se dice que hubo "fijación del complemento" y ello se interpreta como la presencia de anticuerpos específicos. En cambio, si no había anticuerpos en el suero del paciente, no tuvo lugar ninguna reacción antígeno-anticuerpo en la primera etapa, y queda en el sistema una cantidad de complemento suficiente para producir la lisis de los glóbulos rojos; esta lisis significa que no hubo fijación del complemento, o sea, que el suero no contenía anticuerpos. La ausencia de anticuerpos fijadores del complemento en el sistema problema no significa necesariamente una carencia total de anticuerpos; sólo nos indica que no hay anticuerpos fijadores del complemento, o que estos se encuentran en concentraciones inferiores al límite de sensibilidad de la prueba.

La técnica de fijación del complemento presenta la-

característica además de que si se dispone de un suero positivo conocido, se puede emplear la prueba para identificar el antígeno correspondiente. De esta manera, la prueba de fijación del complemento permite investigar tanto antígenos como anticuerpos.

Los fundamentos de la reacción son simples pero presenta diversos problemas técnicos como la adsorción inespecífica del complemento por el mismo suero problema o por extractos de tejidos y otros materiales complejos en cuyo caso se habla de actividad anticomplementaria, y la necesidad de trabajar con materiales biológicos cuidadosamente estandarizados. Por esta razón, es preciso titular perfectamente cada reactivo antes de su uso, y llevar paralelamente controles adecuados del antígeno y del suero con el objeto de ver si no presentan actividad anticomplementaria, así como del complemento y de los eritrocitos sensibilizados.

Esta técnica constituye un método cuantitativo de gran sensibilidad para el estudio de anticuerpos; la prueba es particularmente útil y hasta cierto punto económica ya que puede realizarse por microtécnica. El procedimiento de la microtécnica fué establecido en 1950 por Takatsky (32) y modificado en 1962 por Sever.

CAPITULO VI

M A T E R I A L Y M E T O D O SMATERIAL DE LABORATORIO:

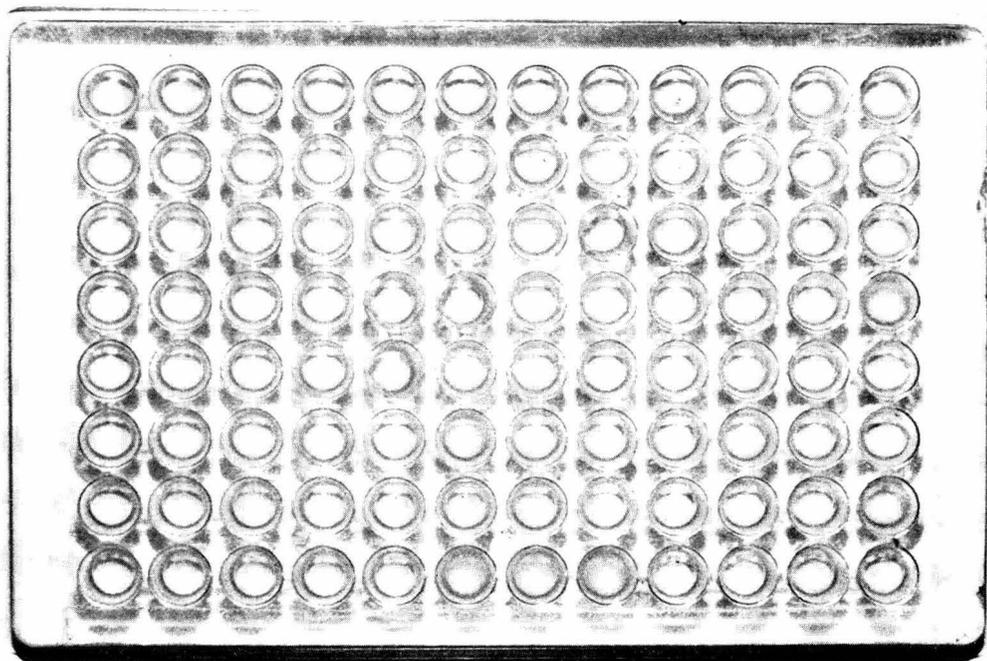
a).- EQUIPO DE MICROTITULACION formado por:

1).- PLACAS PARA MICROTITULACION con fondo en "U", de 96 cavidades, 12 a lo largo y 8 a lo ancho; cada cavidad tiene una capacidad de 12 gotas de 0.025 ml o sea 0.3-ml. Figuras 2 y 3.

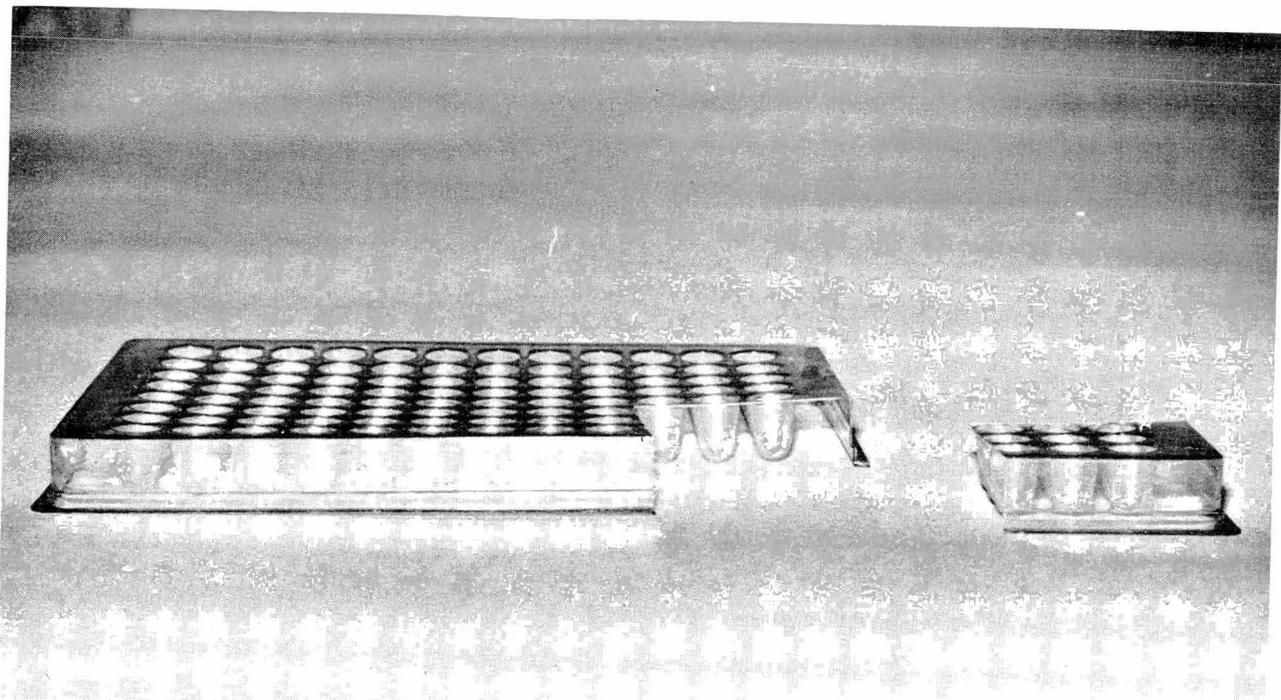
2).- MICROPIPETAS CALIBRADAS.- Tienen una capacidad de 5 ml. y el volumen de la gota es de 0.25 ml. Figura 4.

3).- MICRODILUTORES CALIBRADOS.- A una capacidad de 0.025 ml. Figura 5 y 6.

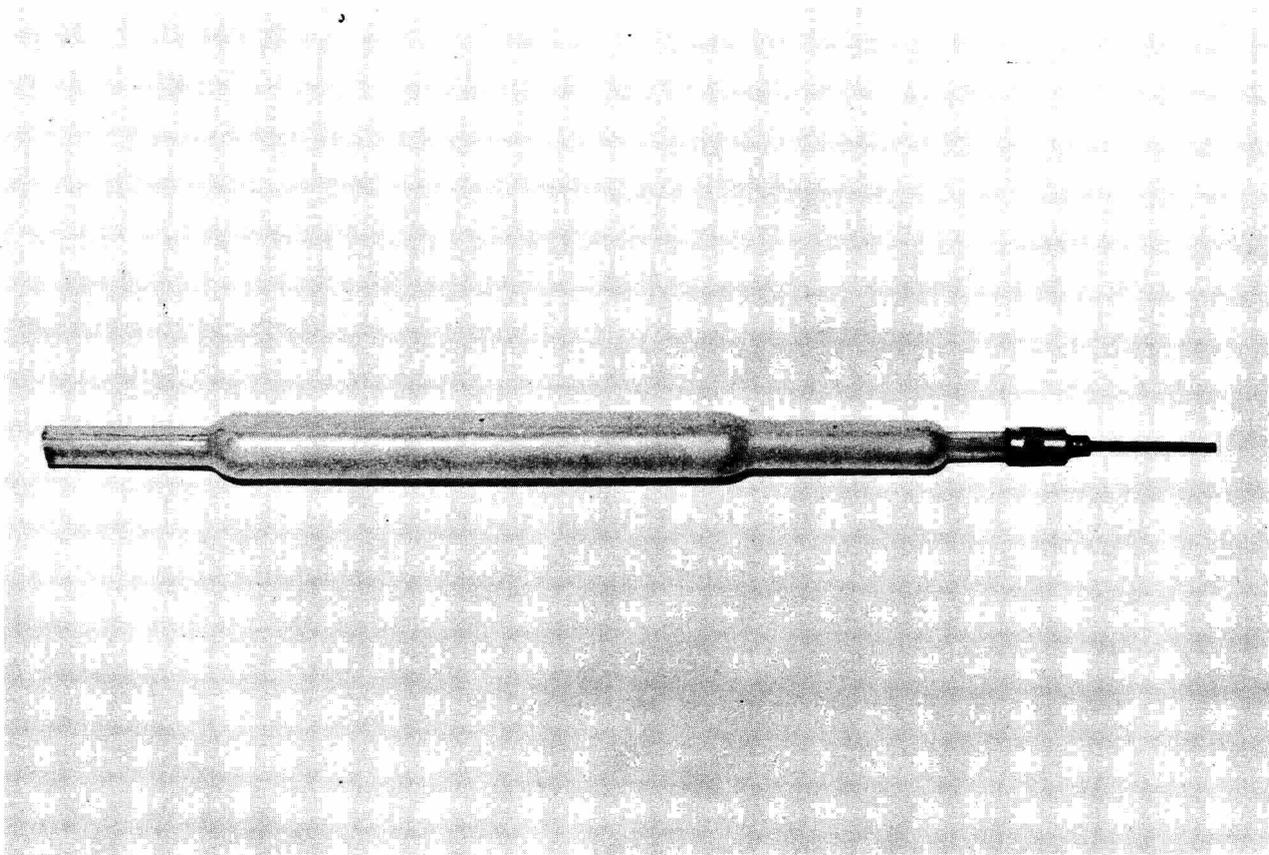
4).- CANASTILLA ESPECIAL PARA CENTRIFUGAR MICROPLACAS. Figura 7.



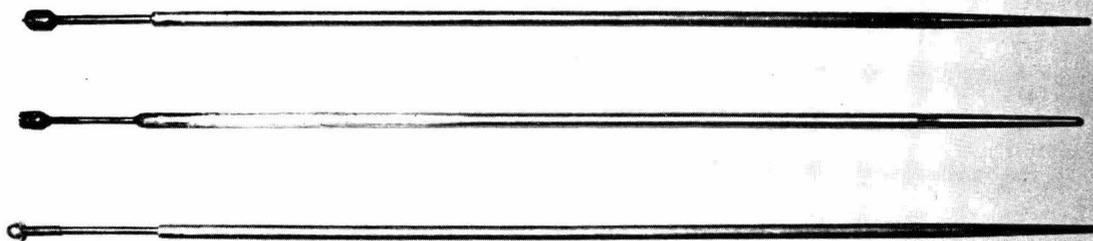
PLACA PARA MICROTITULACION



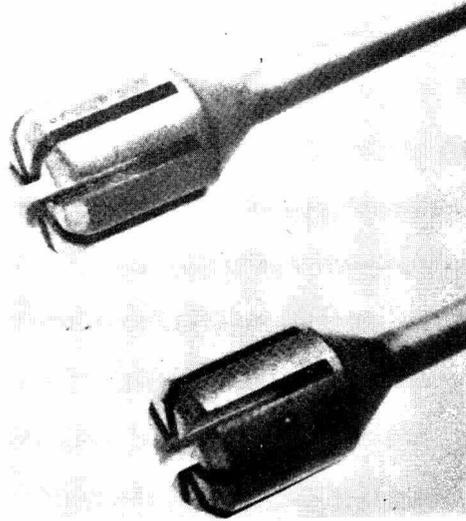
VISTA LATERAL DE UNA MICROPLACA



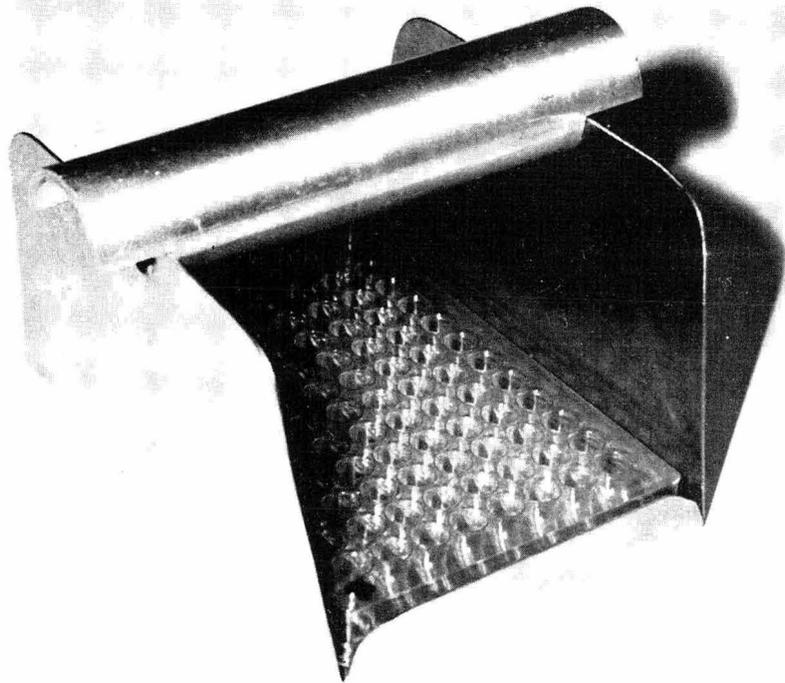
MICROPIPETA



TRES TIPOS DIFERENTES DE
MICRODILUTORES
(observese el extremo calibrado)



ACERCAMIENTO DE EL EXTREMO CALIBRADO
DE UN MICRODILUTOR



CANASTILLA ESPECIAL PARA CENTRIFUGAR
MICROPLACAS

MATERIAL BIOLÓGICO

Consta de dos grupos:

1).- GRUPO I.M.A.N.

Este grupo está compuesto por 650 sueros obtenidos por punción venosa en niños que acudieron al Hospital I.M.A.N. durante el período en que se realizó este trabajo.

Los sueros obtenidos se guardaron en congelación a -20°C hasta el momento de realizar la prueba.

2).- GRUPO CHIAPAS

Este grupo está compuesto por 176 sueros obtenidos por punción venosa en condiciones estériles. Estos sueros son representativos de diferentes poblaciones del estado de Chiapas y fueron proporcionados para este estudio por el Dr. Fernando Beltrán, Director del Centro de Investigaciones Ecológicas del Sureste (CIES).

Todos los sueros fueron separados en el laboratorio del CIES en San Cristobal de las Casas, Chiapas, ahí mismo fueron congelados y en seguida los transportaron al Laboratorio de Virología de la I.M.A.N. en la Ciudad de México en donde se conservaron a -20°C hasta el momento de realizar la prueba.

PREPARACION DEL MATERIAL PARA LA PRUEBA

LAVADO DE LAS PLACAS

Las placas nuevas se dejan de 18 a 24 horas en agua con 1% de detergente 7X (el 7X es un detergente atóxico para las células). Sacarlas y enjuagarlas muy bien con agua corriente de la llave y en seguida con agua destilada 5 veces; sacudir, dejar escurrir y proceder a limpiar con un isopo de algodón cavidad por cavidad.

Una vez usadas las placas, proceder a colocarlas en una solución de formol al 10% durante 18 a 24 horas; al cabo de ese tiempo enjuagarlas y pasarlas a una solución al 1% de detergente 7X y seguir con el tratamiento anterior.

LAVADO DE LAS MICROPIPETAS

Para las micropipetas se sigue el mismo método de lavado que para las placas, sólo que después de enjuagar con agua destilada se dejan escurrir en un vaso de precipitados (con una gasa o algodón al fondo) hasta que sequen o bien pueden secarse con aire a presión o con vacío.

ESTERILIZACION DE LOS MICRODILUTORES

La mejor forma de esterilizar los microdilutores es a la flama del mechero (deben mantenerse en la flama hasta el rojo vivo), operación que debe hacerse cada vez que se use un microdilutor.

SOLUCIONES, ANTIGENOS Y OTROS MATERIALES PARA LA PRUEBA DE -
FIJACION DEL COMPLEMENTO

a).- ANTIGENO ESPECIFICO PARA VARICELA-ZOSTER

El antígeno de varicela-zoster para la prueba de fijación del complemento están preparados por un procedimiento especial de cultivo de tejidos de células humanas infectadas con virus de varicela-zoster. Este antígeno fué obtenido comercialmente en forma liofilizada, se rehidrató con un mililitro de agua destilada al momento de emplearse en la prueba. Con el objeto de mantener al título se guardó a una temperatura de + 4°C a + 6°C, en estas condiciones su título -- permanece constante aproximadamente durante 7 a 10 días.

b).- CONTROL NEGATIVO DE ANTIGENO

Está preparado a partir de cultivo de tejidos no infectados, de la misma manera como se prepara el de cultivo -- de tejidos infectados. Este control fué obtenido comercialmente en forma liofilizada y rehidratado con un mililitro de agua destilada. Se mantiene estable en refrigeración a una -- temperatura de + 4°C a 6°C, durante una semana o semana y me -- dia y de 15 a 25 días a - 20°C.

c).- CONTROLES POSITIVO Y NEGATIVO

Estos controles fueron obtenidos comercialmente en forma liofilizada (estos controles son obtenidos de donado -- res humanos) rehidratados con 0.5 ml de agua destilada al mo -- mento de emplearse. Se mantienen estables en refrigeración a una temperatura de + 4°C a + 6°C, durante varias semanas.

NOTA.- Los reactivos para la reacción de fijación del complemento en varicela-zoster (liofilizados), preservan su actividad durante un año a una temperatura de + 4°a + 6°C.

d).- MATERIALES DE REFERENCIA

Como materiales de referencia se usaron el lote 218 K de antígeno FC de varicela, y el lote 4 de suero de convaleciente de varicela (con un título de 1:256), proporcionados ambos por el Dr. James H. Nahano, Jefe de la Sección de Exantemas Virales de la División de Virología del Center For Diseases Control en Atlanta, Georgia, U.S.A.

e).- SOLUCION AMORTIGUADORA DE GVB (5X)

Se prepara como sigue:

SOLUCION I

Cloruro de sodio	85 g
Dietil-barbiturato de sodio	3.25 g
Agua destilada c.b.p.	1000 ml

SOLUCION II

Agua destilada caliente	800 ml
Ac. dietil-barbitúrico	5.75 g
Gelatina	2.0 g

SOLUCION III

Mg Cl ₂ . 6 H ₂ O	1.0 M	10 g
Ca Cl ₂ . 2 H ₂ O	0.3 M	1 g
Agua destilada c.b.p.1000 ml

PREPARACION

Se usa una matr az volum etrico de 1000 ml, al cual -- se agregan todas las sales de la solución I y agua destilada hasta lograr la disolución completa de las sales, y se afora a la marca con agua destilada.

En una matr az Erlenmeyer de 1000 ml colocar 800 ml- de agua destilada y dejarla calentar hasta punto de ebulli- ción; en seguida agregar la gelatina y esperar hasta que se- disuelva totalmente. Retirar del fuego y agregar el ácido -- dietil-barbitúrico; agitar hasta disolución total y dejarla- enfriar a temperatura ambiente, hasta que se iguale a ésta -- (nunca enfriar al chorro del agua o por otros métodos)

Mezclar ambas soluciones en un matr az volum etrico -- de 2000 ml y agregar 10 ml de la solución III; aforar hasta- la marca con agua destilada. En seguida proceder a medir el- pH, el cual debe ser de 7.6; guardar la solución amortiguado- ra en un frasco muy limpio, de ser posible estéril y a una -- temperatura de 4  C con el objeto de evitar en lo posible las- contaminaciones.

NOTA.- Solución de trabajo de GVB.- Diluir 1:5 en agua desti-
lada la solución de GVB (5X).

f).- SOLUCION ANTICOAGULANTE DE ALSEVER

La solución de Alsever es una solución isotónica -- que permite preservar la sangre de carnero en refrigeración-- cerca de diez semanas.

FORMULA

Dextrosa	20.50 g
Citrato de sodio	8.0 g
Ac. Cítrico	0.55 g
Agua destilada	1000 ml

Disolver los ingredientes en agua destilada y la solución resultante esterilizarla en autoclave a 15 libras -- (121°C) durante 15 minutos, el pH de la solución esterilizada debe ser 6.1

g).- ERITROCITOS DE CARNERO

En primer lugar proceder a sangrar al carnero en -- las máximas condiciones de esterilidad; la extracción de la sangre se hace por punción de la yugular externa.

En seguida, en una bolsa de plástico o frasco (estériles) se coloca solución de Alsever y un volumen igual de -- eritrocitos de carnero; se agita esta mezcla muy bien y se -- deja en refrigeración durante 3-5 días con el objeto de que los eritrocitos maduren. Posteriormente, esta mezcla bien homogenizada se reparte en tubos de 13 x 100 mm, en alicuotas-- según la cantidad requerida para cada prueba. Estos tubos -- con eritrocitos se guardan a 4°C y pueden servir durante un mes.

h).- SUSPENSION DE ERITROCITOS DE CARNERO AL 2 %

a).- Se toma una de las alícuotas (eritrocitos con-
Alsever) y se procede a lavar las células con GVB; en segui-
da centrifugar durante 8 minutos a 2000 r.p.m. y repetir esta
operación tres veces.

b).- Una vez lavados, se obtiene un paquete de eri-
troцитos con el cual se va a hacer una suspensión al 2% en-
GVB, como sigue: 0.5 ml de eritrocitos lavados, más 25 ml de
GVB. La suspensión de eritrocitos se coloca en hielo.

c).- Se procede a estandarizar dicha suspensión co-
lorimétricamente, de la siguiente manera: Se lisan 0.8 ml de
la suspensión con 3.2 ml de agua destilada y se determina la
densidad óptica de la solución resultante de hemoglobina, a-
550 milimicras, en su espectrofotómetro, ajustando a cero con
agua destilada; la densidad óptica debe ser 0.47, pero puede
aceptarse hasta 0.48 (menos de 0.47 no es aceptable).

Se usan cubetas con espesor (paso de luz) de un cen-
tímetro. En este estudio se utilizó un espectrofotómetro --
Zeiss modelo PM4.

d).- En caso de que la densidad óptica de los eri-
troцитos lisados sea mayor que la deseada, se procederá a --
agregarle GVB según la siguiente fórmula:

$$\frac{DO_1}{DO_2} = \frac{V_1}{V_2} \quad \text{Despejando } V_2 = \frac{V_1 \times DO_2}{DO_1}$$

$$\text{Volumen final } (V_2) = \frac{\text{Volumen inicial } (V_1) \times \text{Densidad óptica } (DO_2)}{\text{Densidad óptica requerida } (DO_1)}$$

$$V_2 - V_1 = \text{Volumen adicional}$$

Ejemplo:

$$V_1 = 25.5 \text{ ml} - 0.8 \text{ ml} = 24.7 \text{ ml}$$

$$DO_1 = 0.47$$

$$DO_2 = 0.60$$

$$V_2 =$$

$$V_2 - V_1 =$$

Sustituyendo valores:

$$V_2 = \frac{24.7 \text{ ml} \times 0.60}{0.47} = 31.53 \text{ ml}$$

$$31.53 \text{ ml} - 24.7 \text{ ml} = 6.83 \text{ ml}$$

$$V_2 = 31.53 \text{ ml}$$

$$V_2 - V_1 = 6.83 \text{ ml}$$

Según las operaciones efectuadas, la cantidad de GVB que deberá adicionarse a la suspensión de eritrocitos para obtener la D.O deseada es de 6.83 ml.

e).- Una vez estandarizada la suspensión de eritrocitos, se lleva al refrigerador (4°C) hasta el momento de usarla.

f).- En caso de que la D.O sea menor que la deseada,

se agregan eritrocitos a la suspensión y se vuelve a estandarizar según la fórmula.

i).- COMPLEMENTO C'

La fuente del complemento C' usado en la parte experimental, fué sangre total de cuy obtenida en el Bioterio -- del Hospital de la I.M.A.N.; no obstante, se puede usar complemento de cuy comercial liofilizado.

Preparación del complemento en el laboratorio

a).- Se procede a sangrar al cuy por punción cardíaca, extrayéndole unos 5-8 ml de sangre total.

b).- La sangre total se deja 30 minutos a temperatura ambiente y 30 minutos sobre hielo.

c).- En seguida se procede a separar el suero por medio de una centrífuga refrigerada (no tiene que quedar en el suero ningún rastro de eritrocitos).

d).- El suero ya libre de eritrocitos se distribuye en pequeñas copitas de plástico, cada copita con una alícuota de 0.2 ó 0.3 ml.

e).- Se procede a congelar inmediatamente a una temperatura de -60°C con el objeto de evitar pérdida de título, en estas condiciones el título se mantiene estable hasta que se acabe el lote titulado.

j).- HEMOLISINA

La hemolisina fué preparada en el laboratorio de Virología de la I.M.A.N., por el método de Talmadge y colaboradores (33); no obstante, la hemolisina se puede obtener de -

fuentes comerciales.

El método consiste esencialmente en:

a).- Inmunización de conejos por vía endovenosa (a nivel de la vena marginal de la oreja) con eritrocitos de -- carnero al 10% en solución salina fisiológica, manipulados -- en forma estéril, durante un período de 17 días. La dosis -- del antígeno que se va a aplicar es de 1.0 ml por Kg de peso del animal y la secuencia de las inyecciones es la siguien-- te: día 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 13, 15 y 17.

b).- Después de una semana proceder a la sangría de cosecha. Pueden extraerse de 50 a 60 ml de sangre por pun-- ción cardíaca en forma estéril.

c).- Separar asépticamente el suero.

d).- Medir la cantidad de suero y agregar un volu-- men igual de glicerol Q.P. como conservador.

e).- Guardar en refrigeración a -4° , -6°C . En esta forma su título se preserva por lo menos durante cinco años.

METODOLOGIA

La técnica empleada para la cuantificación de anticuerpos en este trabajo es la descrita por Nathalie J. Schmidt (34), que es la siguiente.

1).- TITULACION DE HEMOLISINA

- a).- Preparar en primer lugar una solución stock de hemolisina 1:100 de la siguiente manera:

Diluyente GVB	47 ml
Fenol al 5% en GVB	2 ml
Hemolisina al 50% en glicerol . .	1 ml

Una vez preparada la solución stock de hemolisina-colocarla sobre hielo picado.

- b).- En un recipiente que contenga hielo picado colocar una gradilla con tubos de 16 x 150 mm, en los cuales se realizan las siguientes diluciones:

CUADRO No. 13

TUBO	DILUCION	ml DE DILUCION DE HEMOLISINA	GVB
1	1:500	1 ml de hemolisina (1:100)	4 ml
2	1:600	1 ml de hemolisina (1:100)	5 ml
3	1:700	1 ml de hemolisina (1:100)	6 ml
4	1:800	1 ml de hemolisina (1:100)	7 ml
5	1:1000	0.5 ml de hemolisina (1:100)	4.5 ml
6	1:2000	1 ml de hemolisina (1:1000)	1 ml
7	1:6000	1 ml de hemolisina (1:1000)	5 ml
8	1:8000	1 ml de hemolisina (1:1000)	7 ml

- c).- Una vez efectuadas las diluciones, colocar sobre hielo picado una gradilla conteniendo suficientes tubos de 12 x 75 mm con el objeto de correr la prueba por duplicado; a dicha serie de tubos agregar los siguientes reactivos:

CUADRO No. 14

TUBO →	1	2	3	4	5	6	7	8
Diluciones de hemolisina (1:500-1:8000)	0.2ml							
Complemento 1:30	0.1ml							
Eritrocitos al 2%	0.2ml							
GVB	0.5ml							

- d).- Control de Eritrocitos.- En un tubo de 12 x 75 mm depositar 0.2 ml de la suspensión de eritrocitos al 2% y agregarle 0.8 ml de GVB.

- e).- Agitar perfectamente los tubos e incubar a baño maría - de 37°C durante 30 minutos con agitación cada 10 minutos.
- f).- Centrifugar los tubos durante 3 - 5 minutos a 2000 - - 3000 r.p.m. con el objeto de sedimentar los eritrocitos y facilitar la lectura.
- g).- Interpretación de los resultados: El tubo que contenga la más alta dilución de hemolisina y que presente hemólisis total representa una unidad hemolítica.

Nota.- Para la prueba de Fijación del Complemento es importante usar dos unidades para lo cual se requiere dividir entre dos el título obtenido. Ejemplo:

El título de hemolisina obtenido en este trabajo fué de 1:1000 ya que en esta dilución mostró hemólisis total; por lo tanto, la dilución 1:1000 representa una unidad y dos unidades estarán representadas por la dilución 1:500 de hemolisina.

2).- SENSIBILIZACION DE ERITROCITOS

- a).- Preparar una suspensión de eritrocitos al 2% con una D.O de 0.47
- b).- En un matríz que esté sobre hielo picado hacer la dilución de hemolisina (la cantidad es según se requiera para la prueba); en seguida agregar un volumen igual de la suspensión de eritrocitos y homogeneizar la mezcla muy bien.
- c).- Incubar durante 20 minutos a 37°C con agitación a los 10 minutos.
- d).- Estos eritrocitos sensibilizados se deben sacar --

del baño maría y colocar en hielo; además, deben usarse en seguida ya que en un lapso de 20 a 30 minutos pierden su efectividad.

3).- TITULACION DE COMPLEMENTO

- a).- "Es muy importante que la titulación de complemento se lleve a cabo en frío". El material que se requiere es: Gradilla con tubos de 12 x 75 mm.
- b).- Efectuar diluciones seriadas (para efectuar las diluciones se tiene que tomar en cuenta la fuente de donde procede el complemento; en nuestro caso la fuente de complemento fué suero de cuy, por lo que partimos de una dilución 1:60 considerando que el complemento de cuy presenta un título elevado.

CUADRO No. 15

TUBO	1	2	3	4	5	6	7	8
GVB ó Ag (-) 2U	0.10ml							
Complemento	0.12ml	0.11ml	0.10ml	0.09ml	0.08ml	0.07ml	0.06ml	0.05ml
GVB	0.08ml	0.09ml	0.10ml	0.11ml	0.12ml	0.13ml	0.14ml	0.15ml
Eritrocitos sensibilizados	0.20ml							

Nota.- En caso de que se use antígeno se procedera a incubar los tubos durante 30 minutos a 37°C con agitación cada 10 minutos, antes de agregarles los eritrocitos sensibilizados.

De esta titulación de complemento también se determina la dilución óptima del complemento que debe utilizarse en el control del antígeno negativo en la prueba propiamente dicha.

- c).- Agitar perfectamente los tubos y colocarlos en baño maría a 37°C durante 30 minutos con agitación cada 10 minutos.

- d).- Centrifugar de dos a tres minutos a 2000 r.p.m.; en seguida proceder a interpretar los resultados.
- e).- Interpretación de los resultados.- El título que contenga la menor cantidad de complemento y que muestre hemólisis total representa una unidad; para la prueba de fijación del complemento se requiere usar dos unidades (2U) para lo cual es conveniente aplicar la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{Dilución original}}{\text{Vol. de } G' \times 2} \times 0.1 = 2U$$

Ejemplo:

Al titular el complemento, este dió lisis total en la dilución 1:110 en el tubo 5, o sea 0.08 ml de la dilución 1:110 de complemento es igual a una unidad; entonces, 0.16 ml de la dilución 1:110 de complemento es igual a dos unidades.

$$\frac{110}{0.16} \times 0.1 = 68.75$$

Por lo tanto 2U de complemento estarán representadas por una dilución 1:68.75 (para fines prácticos 1:68)

4).- TITULACION DEL ANTIGENO

La titulación del antígeno (Fig. 8) se efectuó pro-

bando diluciones seriadas del antígeno contra diluciones seriadas del suero positivo control que contiene los anticuerpos específicos.

Para las diluciones de antígeno se ocupan tubos de 13 x 100 mm, y las diluciones serán desde 1:2 hasta 1:128.

Mientras se están preparando las diluciones del antígeno, inactivar el suero control positivo y el suero control negativo 56°C durante 30 minutos; luego proceder a lo siguiente:

- a).- En todas las cavidades de una microplaca agregar -- con micropipeta 0.025 ml (una gota) de GVB.
- b).- En la primera hilera vertical de la microplaca -- agregar con micropipeta 0.025 ml de suero control (+) en cada cavidad, y con los microdilutores efectuar las diluciones de manera horizontal desde 1:2 hasta 1:128; descartar los 0.025 ml que quedan en los microdilutores al mezclar la última cavidad.
- c).- Agregar las diluciones de antígeno de la siguiente manera: A cada cavidad de la primera hilera horizontal agregar 0.025 ml de la dilución 1:2 de antígeno, a las cavidades de la segunda hilera horizontal agregar 0.025 ml de la dilución 1:4 de antígeno, y así sucesivamente hasta la dilución 1:128 -- del antígeno.
- d).- Agregar a todas las cavidades de la placa 0.025 ml de complemento en su óptima dilución a dos unidades.
- e).- Preparar controles de los reactivos usados:

1).- CONTROL DE SUERO POSITIVO

En las microplacas hacer las diluciones del --
suero positivo desde 1:2 hasta 1:128 usando co
mo diluyente GVB. Las cavidades destinadas pa--
ra el control del suero positivo deben conte--
ner:

- 0.025 ml de GVB
- 0.025 ml de la dilución del suero positivo
- 0.025 ml de antígeno de positividad conocida
dil. a 2U
- 0.025 ml de complemento a 2U

2).- CONTROL DE ANTICOMPLEMENTARIDAD DEL SUERO POSI
TIVO

En otra hilera de la placa se hacen las mismas
diluciones o sea desde 1:2 hasta 1:128. Las ca
vidades destinadas para el control de anticom
plementaridad deben contener:

- 0.025 ml de GVB
- 0.025 ml de la dilución del suero positivo
- 0.025 ml de complemento a 2U

3).- CONTROL NEGATIVO DEL ANTIGENO CON EL SUERO PO
SITIVO

En otra hilera de la placa efectuar las mismas
diluciones anteriores. Las cavidades destina--
das al control negativo del antígeno con el --
suero positivo deben contener:

0.025 ml de GVB
0.025 ml de la dilución del suero positivo
0.025 ml de el control negativo del antígeno
no
0.025 ml de complemento a 2U

NOTA..- El control negativo del antígeno debe -
estar diluido en la misma forma que el-
antígeno de positividad conocida.

4).- CONTROL DE SUERO NEGATIVO

En otra hilera de la placa efectuar las mismas diluciones anteriores. Las cavidades destinadas para este control deben contener:

0.025 ml de GVB
0.025 ml de la dilución del suero negativo
0.025 ml de antígeno de positividad conocida dil. a 2U
0.025 ml de complemento a 2U

5).- CONTROL DE ANTICOMPLEMENTARIDAD DEL SUERO POSITIVO

En otra hilera de la microplaca efectuar las -
mismas diluciones anteriores. Las cavidades --
destinadas para este control deben contener:

0.025 ml de GVB
0.025 ml de la dilución del suero negativo
0.025 ml de complemento a 2U

6).- CONTROL NEGATIVO DEL ANTIGENO CON EL SUELO NEGATIVO

En otra hilera de la microplaca efectuar las mismas diluciones anteriores. Las cavidades -- destinadas para este control deben contener:

- 0.025 ml de GVB
- 0.025 ml de la dilución del suero negativo
- 0.025 ml de el control negativo del antígeno
- 0.025 ml de complemento a 2U

7).- CONTROL DE LAS DILUCIONES DEL ANTIGENO QUE SE ESTÁ TITULANDO

Colocar con una micropipeta en la primera cavidad de la microplaca 0.025 ml de la dilución 1:2 del antígeno que se está titulando, a la segunda cavidad agregar con micropipeta 0.025 ml de la dilución 1:4 y así sucesivamente hasta la dilución 1:128 del antígeno. Las cavidades destinadas al control de las diluciones -- del antígeno que se está titulando deben contener:

- 0.025 ml de la dil. correspondiente del antígeno
- 0.025 ml de complemento a 2U

NOTA.- Este control debe correrse por duplicado. Sirve para observar si el antígeno que se está titulando no presenta anticomplementaridad.

8).- CONTROL DEL ANTIGENO POSITIVO CONOCIDO (V-Z)

Agregar con micropipeta a 2 ó 3 cavidades de la microplaca:

0.025 ml de antígeno positivo a 2U

0.025 ml de complemento a 2U

9).- CONTROL NEGATIVO DEL ANTIGENO

Agregar con micropipeta a 2 ó 3 cavidades de la microplaca:

0.025 ml de el control negativo del antígeno

0.025 ml de complemento a 2U

10).- CONTROL DE ERITROCITOS SENSIBILIZADOS

Colocar en dos o más cavidades:

0.075 ml de GVB

11).- CONTROL DEL COMPLEMENTO

Para comprobar que nuestro complemento está -- funcionando a dos unidades es necesario realizar la siguiente determinación: (figura 9)

En una placa limpia se corren los controles -- del complemento, probando diluciones del antígeno, suero positivo, suero negativo y control negativo del antígeno, contra diferentes con-- centraciones de complemento tales como: 2, 1.5, 1.0, y 0.5; las diluciones se preparan de la siguiente manera:

CUADRO No. 16

COMPLEMENTO 2U	1.0 ml	1.0 ml	1.0 ml
GVB	0.5 ml	1.0 ml	1.5 ml
UNIDADES OBTENIDAS	1.5 U	1.0 U	0.5 U

Una vez efectuadas las diluciones del complemento proceder a lo siguiente:

A las cuatro cavidades de la primera hilera horizontal añadirles 0.025 ml de la dilución 1:2 de antígeno, a la segunda hilera añadirle 0.025 ml de la dilución 1:4 de antígeno y así sucesivamente hasta la dilución 1:128; agregar a cada cavidad 0.025 ml de GVB.

Para el complemento es necesario preparar los siguientes controles:

- a).- COMPLEMENTO-SUERO POSITIVO.- Colocar cuatro cavidades - de 0.025 ml de suero positivo diluido 1:5 y 0.025 ml de GVB.
- b).- COMPLEMENTO-SUERO NEGATIVO.- Colocar cuatro cavidades - de 0.025 ml del antígeno a su óptima dilución y 0.025 ml de GVB.
- c).- COMPLEMENTO-ANTIGENO V-Z.- A cuatro cavidades poner-- les 0.025 ml del antígeno-- a su óptima dilución y - - 0.025 ml de GVB.
- d).- COMPLEMENTO-CONTROL NEGATIVO DEL ANTIGENO.- A cuatro ca-- vidades agregar 0.025 ml -

del control del antígeno a la misma dilución que el antígeno de positividad conocida y 0.025 ml de GVB.

e).- COMPLEMENTO-GVB.-

A cuatro cavidades añadirles 0.050 ml de GVB.

Adicionar en todas las cavidades el complemento en la siguiente forma:

A cada una de las cavidades de la primera hilera vertical agregarles 0.025 ml de la dilución de complemento que contenga dos unidades.

A la segunda hilera vertical agregarle 0.025 ml de la dilución de complemento que contenga 1.5 unidades.

A la tercera hilera vertical agregarle 0.025 ml de la dilución de complemento que contenga 1.0 unidades.

A la cuarta hilera vertical agregarle 0.025 ml de la dilución de complemento que contenga 0.5 unidades.

f).- Agitar perfectamente las placas, cubrirlas con papel parafilm y dejarlas a 4°C durante 18 a 24 horas.

g).- Al cabo de ese tiempo dejar a temperatura ambiente durante 15 minutos, y agregar a cada cavidad (con una micropipeta) 0.050 ml de suspensión de eritrocitos sensibilizados; agitar las placas hasta que todos los reactivos estén homogéneamente mezclados, e incubarlas en cámara húmeda a una temperatura de 37°C durante 30 a 40 minutos, con agitación cada diez minutos; en seguida colocar a 4°C durante 10 a 15 minutos con el objeto de que los eritrocitos no lisados se sedimenten, o bien centrifugar las placas durante 2 a 3 minutos a 2000 r.p.m. después de lo cual deben interpretarse los resul

tados.

h).- INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS (figura 10)

- 1).- El título que será tomado en cuenta (dilución de - trabajo) estará dado por la más alta dilución de - antígeno que muestre fijación 3+ ó 4+ frente a la - más alta dilución de suero positivo; este título - representa una unidad, pero lo conveniente para -- efectuar la prueba de fijación de complemento es - usar dos unidades, para lo cual se requiere efec-- tuar los siguientes cálculos:

$$\text{Dilución de trabajo} = \frac{\text{título del antígeno}}{\text{número de unidades deseadas}}$$

Ejemplo:

Datos obtenidos en el laboratorio.- El título - del antígeno fué de 1:32, esto representa una unidad, y dos unidades estarán representadas por:

$$\frac{32}{2} = 16$$

Por lo tanto la dilución 1:16 representa dos unidades

2).- CONTROL DE SUERO POSITIVO

El suero más el antígeno positivo debe dar botón - en las cavidades que contengan anticuerpos.

3).- CONTROL DE ANTICOMPLEMENTARIDAD DEL SUERO POSITIVO

El suero positivo más el complemento debe dar li--

sis completa.

4).- CONTROL NEGATIVO DEL ANTIGENO CON EL SUERO POSITIVO

El suero positivo más el antígeno negativo debe -- dar lisis completa.

5).- CONTROL DE SUERO NEGATIVO

El suero negativo más el antígeno positivo debe -- dar lisis completa.

6).- CONTROL DE ANTICOMPLEMENTARIDAD DEL SUERO NEGATIVO

El suero negativo más el complemento debe dar lisis completa.

7).- CONTROL NEGATIVO DEL ANTIGENO CON EL SUERO NEGATIVO

El suero negativo más el control negativo del antígeno debe dar lisis completa.

8).- CONTROL DE LAS DILUCIONES DEL ANTIGENO QUE SE ESTA TITULANDO

Las diluciones del antígeno más el complemento deben dar lisis completa.

9).- CONTROL DEL ANTIGENO POSITIVO CONOCIDO (V-Z)

El antígeno positivo conocido más el complemento -- debe dar lisis completa.

10).- CONTROL NEGATIVO DEL ANTIGENO

El control del antígeno negativo más el complemento debe dar lisis completa.

11).- CONTROL DE ERITROCITOS SENSIBILIZADOS

Los eritrocitos más el GVB deben dar botón.

12).- INTERPRETACION DE LOS CONTROLES DE COMPLEMENTO

- a).- Las cavidades que contienen 2.0 y 1.5 unidades deberán mostrar hemólisis total.
- b).- Las cavidades que contengan 1.0 unidades de complemento deberán mostrar hemólisis parcial.
- c).- Las cavidades que contienen 0.5 unidades de complemento deberán mostrar la menor hemólisis posible o bien no mostrar ninguna ya que lo contrario significa que durante la prueba se usó un exceso de complemento.
- d).- En caso de que las cavidades con 2.0 y 1.5 -- unidades de complemento no muestren hemólisis total, quiere decir que durante la prueba se usó cantidad insuficiente de complemento.

PRUEBA DE FIJACION DEL COMPLEMENTO (Figs. 11, 12)

- 1).- En primer lugar inactivar el ó los sueros problema, el control positivo y el control negativo en un baño serológico a una temperatura de 56°C durante 30 minutos; al cabo de los cuales sacar del baño serológico los sueros y colocar sobre hielo picado.
- 2).- Durante los treinta minutos en que se están inactivando los sueros, preparar el material necesario para realizar la prueba.
- 3).- Rotular las microplacas.
- 4).- Colocar en todas las cavidades que se van a usar de la microplaca 0.025 ml de GVB ó sea una gota.
- 5).- En las tres primeras cavidades de la microplaca agregar 0.025 ml de suero problema y hacer la diluciones correspondientes, de 1:2 hasta 1:128.

a).- La primera hilera horizontal debe contener:

0.025 ml de GVB
 0.025 ml de la dilución del suero problema
 0.025 ml de el antígeno (V-Z) a 2U
 0.025 ml de complemento a 2U

Esta hilera sirve para detectar los anticuerpos -- presentes en el suero.

b).- La segunda hilera horizontal debe contener:

0.025 ml de GVB

0.025 ml de la dilución del suero problema

0.025 ml del control negativo del antigeno

0.025 ml de complemento a 2U

Esta hilera sirve para comprobar que los anticuerpos presentes en las reacciones positivas corresponden al virus V-Z y no a proteínas de las células en las que se replicó el virus para preparar el antígeno.

c).- La tercera hilera horizontal debe contener:

0.025 ml de GVB

0.025 ml de la dilución del suero problema

0.025 ml de complemento a 2U

Esta hilera sirve para observar la anticomplementaridad que pudiese presentar el suero problema.

Los tres pasos anteriores deben hacerse para cada suero problema.

6).- Junto con los sueros problema deben correrse los siguientes controles:

NOTA.- La elaboración de cada control así como su interpretación se encuentra ampliamente explicada en la titulación del antígeno, (ver figuras 8, 9, - 10).

a).- CONTROL DE SUERO POSITIVO

b).- CONTROL DE ANTICOMPLEMENTARIDAD DEL SUERO POSITIVO.

- c).- CONTROL NEGATIVO DEL ANTIGENO CON EL SUERO-POSITIVO
 - d).- CONTROL DEL SUERO NEGATIVO
 - e).- CONTROL DE ANTICOMPLEMENTARIDAD DEL SUERO -POSITIVO
 - f).- CONTROL NEGATIVO DEL ANTIGENO CON EL SUELO-NEGATIVO
 - g).- CONTROL DEL ANTIGENO POSITIVO DEL VIRUS V-Z a 2U
 - h).- CONTROL NEGATIVO DEL ANTIGENO
 - i).- CONTROL DE COMPLEMENTO A DIFERENTES UNIDADES
 - j).- CONTROL DE ERITROCITOS SENSIBILIZADOS
- 7).- Agitar perfectamente las placas, taparlas con papel parafilm y dejar a 4°C durante 18 a 24 horas.
- 8).- Al cabo de este tiempo colocar las placas a temperatura ambiente durante 15 minutos mas ó menos.
- 9).- Preparar una cantidad adecuada de eritrocitos sensibilizados y añadir a cada cavidad 0.050 ml de estos eritrocitos.
- 10).- Agitar nuevamente las placas con el objeto de homogeneizar perfectamente, tapar e incubar a 37°C en cámara húmeda durante 30 a 40 minutos, con agitación cada diez - minutos.
- 11).- Se puede dejar sedimentar durante 15 minutos a 4°C para

interpretarlas, o bien para mayor rapidez y comodidad, centrifugar a 2000 r.p.m. durante 2 a 3 minutos en centrifuga refrigerada.

12).- Leer e interpretar.

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

Para realizar la interpretación de la prueba de fijación del complemento es necesario que todos los contrôles hayan funcionado correctamente; esto quiere decir que tanto el botón formado como el grado de hemólisis que presenten se rá muy importante, ya que de lo contrario la prueba debe repetirse.

La prueba de fijación del complemento se considera positiva en las cavidades donde se presente una fijación 3+ ó 4+ del complemento, es decir, en las que se observe el botón completo y no haya prácticamente nada de hemólisis. (Fig. 13)

La interpretación es la siguiente:

1).- SUERO PROBLEMA

- a).- Cuando el suero problema resulta positivo, o sea cuando se ha fijado el complemento, se observara botón en las cavidades que contengan anticuerpos específicos.
- b).- En caso de que el suero problema resulte negativo se observará lisis --

completa.

c).- El control de suero problema (que no presente anticomplementaridad) con control negativo del antígeno debe dar lisis completa, de lo contrario el control negativo del antígeno no está funcionando bien.

d).- El control de anticomplementaridad de el suero debe presentar lisis completa, de lo contrario deberá de tratarse el suero.*

2).- La interpretación de los otros 10 controles se encuentra explicada en la titulación del antígeno.

*TRATAMIENTO DE LOS SUEROS QUE PRESENTAN ANTICOMPLEMENTARIDAD

Para este trabajo se usó la técnica de Takatsky - - (32), la cual consiste en adicionar un volumen de complemento fresco de cobayo a 3 volúmenes de suero problema; la mezcla se deja a 4°C toda la noche y al día siguiente se incuba a 37°C durante 30 minutos e iniciar la prueba de fijación -- del complemento una vez más.

Fig. No. 8

TITULACION del ANTIGENO

		DILUCIONES DEL SUERO POSITIVO						
		1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256
DILUCIONES DEL ANTIGENO	1:2	→						
	1:4							
	1:8			Cada pozo contiene:				
	1:16			0.025 ml. de suero (+) 0.025 ml. de antígeno 0.025 ml. de C' a 2 U				
	1:32							
	1:64							
	1:128							
CONTROL DEL SUERO (+)	SUERO (+) GVB C' 2U	0.025 ml. 0.025 ml. 0.025 ml. →						
CONTROL DEL SUERO (-)	SUERO (-) GVB C' 2U	0.025 ml. 0.025 ml. 0.025 ml. →						
CONTROL DE UN ANTIGENO (+) CONOCIDO	SUERO (+) AG (+) 2U C' 2U	0.025 ml. 0.025 ml. 0.025 ml. →						
CONTROL NEGATIVO DEL ANTIGENO	SUERO (+) CONTROL (-) DEL Ag C' 2U	0.025 ml. 0.025 ml. 0.025 ml. →						

Fig. No. 9

CONTROLES DEL COMPLEMENTO

		2U	1.5U	1.0U	0.5U
CONTROLES C'- ANTIGENO	ANTIGENO 1:2 GVB COMPLEMENTO	0.025 ml. 0.025 ml. 0.025 ml.	→		
	ANTIGENO 1:4 GVB COMPLEMENTO	0.025 ml. 0.025 ml. 0.025 ml.	→		
	ANTIGENO 1:8 GVB COMPLEMENTO	0.025 ml. 0.025 ml. 0.025 ml.	→		
	ANTIGENO 1:16 GVB COMPLEMENTO	0.025 ml. 0.025 ml. 0.025 ml.	→		
	ANTIGENO 1:32 GVB COMPLEMENTO	0.025 ml. 0.025 ml. 0.025 ml.	→		
	ANTIGENO 1:64 GVB COMPLEMENTO	0.025 ml. 0.025 ml. 0.025 ml.	→		
	ANTIGENO 1:128 GVB COMPLEMENTO	0.025 ml. 0.025 ml. 0.025 ml.	→		
CONTROL C'-ANTIGENO CONOCIDO	ANTIGENO POSITIVO CONOCIDO* GVB COMPLEMENTO	0.025 ml. 0.025 ml. 0.025 ml.	→		
CONTROL NEGATIVO DEL ANTIGENO	CONTROL NEGATIVO DEL ANTIGENO** GVB COMPLEMENTO	0.025 ml. 0.025 ml. 0.025 ml.	→		
CONTROL C'-SUERO (+)	SUERO (+) 1:5 GVB COMPLEMENTO	0.025 ml. 0.025 ml. 0.025 ml.			
CONTROL C'-SUERO (-)	SUERO (-) 1:5 GVB COMPLEMENTO	0.025 ml. 0.025 ml. 0.025 ml.			
CONTROL C'-GVB	GVB COMPLEMENTO	0.050 ml. 0.025 ml.			
CONTROL DE ERITROCITOS SENSIBILIZADOS	GVB	0.075 ml.	0.075 ml.		

*LOTE DE Ag PREVIAMENTE TITULADO Y EMPLEADO A SU OPTIMA DILUCION.

**DEBE ESTAR DILUIDO EN LA MISMA FORMA QUE EL ANTIGENO DE POSITIVIDAD CONOCIDA.

INCUBAR A 4°C TODA LA NOCHE Y AL DIA SIGUIENTE AGREGAR 0.050 ml. DE ERITROCITOS SENSIBILIZADOS A CADA CAVIDAD.

Fig. No. 11

Prueba de Diagnóstico · Microtecnica

		DILUCION DEL SUERO							
		1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	
ENSAYO DEL SUERO PROBLEMA DESCONOCIDO	PRUEBA	SUERO PROBLEMA ANTIGENO 2U C' 2U	0.025 ml. 0.025 ml. 0.025 ml. →						
	CONTROL DEL SUERO	SUERO PROBLEMA GVB C' 2U	0.025 ml. 0.025 ml. 0.025 ml. →						
	CONTROL NEGATIVO DEL ANTIGENO	SUERO PROBLEMA CONTROL (-) del Ag C' 2U	0.025 ml. 0.025 ml. 0.025 ml. →						
ENSAYO DEL SUERO POSITIVO CONOCIDO	PRUEBA	SUERO (+) ANTIGENO 2U C' 2U	0.025 ml. 0.025 ml. 0.025 ml. →						
	CONTROL DEL SUERO	SUERO (+) GVB C' 2U	0.025 ml. 0.025 ml. 0.025 ml. →						
	CONTROL NEGATIVO DEL ANTIGENO	SUERO (+) CONTROL (-) del Ag C' 2U	0.025 ml. 0.025 ml. 0.025 ml. →						
ENSAYO DEL SUERO NEGATIVO CONOCIDO	PRUEBA	SUERO (-) ANTIGENO 2U C' 2U	0.025 ml. 0.025 ml. 0.025 ml. →						
	CONTROL DEL SUERO	SUERO (-) GVB C' 2U	0.025 ml. 0.025 ml. 0.025 ml. →						
	CONTROL NEGATIVO DEL ANTIGENO	SUERO (-) CONTROL (-) del Ag C' 2U	0.025 ml. 0.025 ml. 0.025 ml. →						
CONTROL DE ERITROCITOS SENSIBILIZADOS		GVB	0.075 ml.	0.075 ml.	0.075 ml.				

Fig. No. 12

CONTROLES DE COMPLEMENTO

		c' 2U	c' 1.5U	c' 1.0U	c' 0.5U
CONTROLES C'- ANTIGENO	ANTIGENO 2 U GVB COMPLEMENTO	0.025 ml. 0.025 ml. 0.025 ml.	→		
CONTROL C'-SUERO PROBLEMA	SUERO PROBLEMA GVB COMPLEMENTO	0.025 ml. 0.025 ml. 0.025 ml.	→		
CONTROL C'-SUERO POSITIVO	SUERO (+) GVB COMPLEMENTO	0.025 ml. 0.025 ml. 0.025 ml.	→		
CONTROL C'-SUERO NEGATIVO	SUERO (-) GVB COMPLEMENTO	0.025 ml. 0.025 ml. 0.025 ml.	→		
CONTROL C'-CONTROL NEGATIVO DEL Ag	CONTROL NEGATIVO DEL Ag GVB COMPLEMENTO	0.025 ml. 0.025 ml. 0.025 ml.	→		
CONTROL C'- GVB	GVB COMPLEMENTO	0.025 ml. 0.025 ml. 0.025 ml.	→		

INCUBAR A 4°C TODA LA NOCHE, Y AL DIA SIGUIENTE AGREGAR 0.05 ml.
DE ERITROCITOS SENSIBILIZADOS A CADA CAVIDAD.

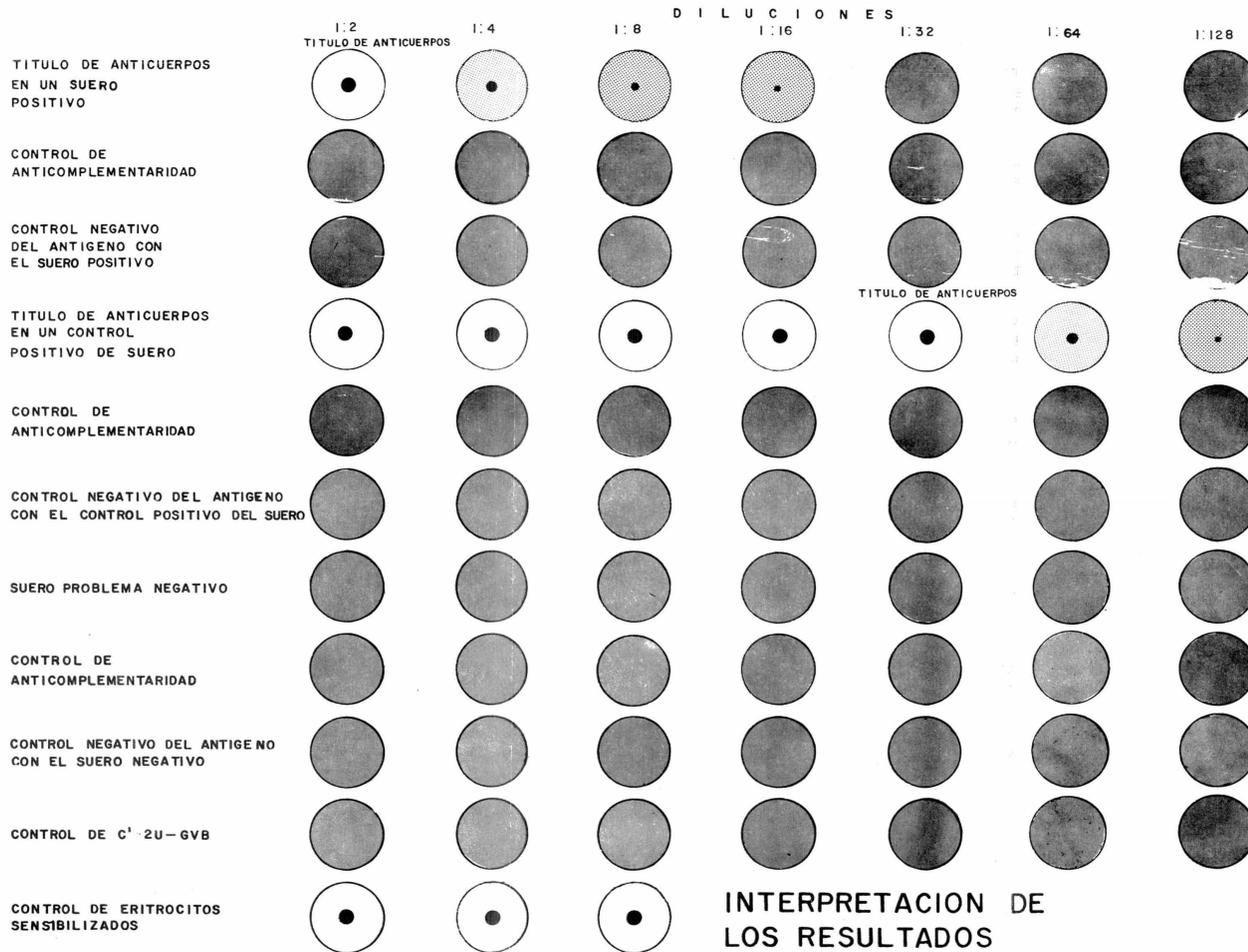


Fig. No. 13

CAPITULO VII

R E S U L T A D O S Y D I S C U S I O N

Llama la atención la escasa cantidad de información sobre la seroepidemiología de la varicela y del herpes zoster, por lo cual debe considerarse de gran interés la realización de estudios que nos permitan conocer mejor esos aspectos de tales padecimientos.

Hasta hace unos cuantos años se había dado poca importancia a la varicela, principalmente porque en la gran mayoría de los casos cursa con poca severidad y sin complicaciones. La epidemiología de esta enfermedad, sin embargo, se ha modificado al extenderse el uso de medicamentos inmunosupresores y citotóxicos para el tratamiento de padecimientos malignos en niños, lo cual ha permitido prolongar, a veces considerablemente, la vida de estos pacientes, los cuales deberán enfrentarse a diversas agresiones por agentes infecciosos. En el caso particular de la varicela, cuando la infección ocurre en ese tipo de enfermos las probabilidades de complicaciones graves y la mortalidad se elevan de manera significativa, de ahí que en la actualidad exista un interés especial en buscar soluciones a esos problemas.

Las estadísticas sobre mortalidad indican cifras variables. Merselis y cols. (35) observaron una mortalidad de 36% por varicela diseminada en una serie de pacientes que estaban recibiendo drogas citotóxicas e inmuno-supresoras, tanto que Feldman y cols. (36) tuvieron una mortalidad de 7% en un grupo de 60 pacientes de características similares. Muy recientemente, Williamson (23) ha presentado evidencias indicadoras de la posibilidad de que el virus V-Z pueda en ocasiones producir malformaciones congénitas. Estas tasas de mortalidad contrastan en gran medida con las que han sido re

portadas para población general. En Dinamarca, por ejemplo, Olsen (37) encontró el 0.034% entre 123,246 casos analizados; en el estado de Massachusetts, E.U.A., Gordon (27) encontró el 0.025% en 171,419 casos. Kumate (37) refiere que en países tropicales puede llegar al 0.58%.

Las figuras 15 y 16 han sido elaboradas a partir de los datos de Gordon (27) y de Calderón y col (38) sobre morbilidad de varicela en niños del estado de Massachusetts, E.U.A., y de la ciudad de México. A pesar de que los autores analizaron sus datos en base a grupos de edad un tanto diferentes, parece obvio que los perfiles acumulativos son muy similares excepto en dos aspectos: 1) en el grupo de Massachusetts la máxima prevalencia de casos clínicos se observó en niños de 5, 6 y 7 años de edad (44.3% en total), en tanto que en los niños de la ciudad de México se presentó en el grupo de 1 a 4 años de edad (47.9% en total) y 2) la morbilidad acumulada, hasta los 7 años de edad, fué de 71.4% en el grupo de Gordon y de 95.5% en el de Calderón y col. Estas cifras indican claramente que en nuestro medio el virus V-Z se disemina ampliamente entre niños de corta edad, ya que aproximadamente 4 de cada 5 sufren la varicela antes de cumplir los 5 años. En la figura 16 se ha incluido también el perfil serológico resultante de los datos obtenidos en este estudio, el que presenta una gran similitud con el perfil acumulativo de morbilidad, si bien a un nivel mas bajo; esto se explicaría por el hecho de que los anticuerpos FC suelen desaparecer paulatinamente en una proporción de individuos inmunes, lo cual significaría que la cantidad de inmunes es en realidad más elevada que la de seropositivos. Los datos obtenidos en el grupo de niños del Hospital del Niño I.M.A.N. están indicados en el cuadro No. 17, y su perfil de seropositividad se encuentra en la figura No. 14.

En los distintos grupos estudiados en el estado de-

Chiapas se obtuvieron los resultados que aparecen en los cuadros Nos. 20 y 21, y en los cuadros 18 y 19 aparecen las características de las comunidades de donde se obtuvieron las muestras, la distribución por grupos de edad y el tamaño de la muestra respecto de los universos correspondientes. Si bien algunos de estos grupos no pueden considerarse muy representativos por el número relativamente bajo de casos estudiados, es indudable que la proporción de seropositivos está cerca de la realidad y refleja la condición inmunitaria de las comunidades respectivas. Solamente llama la atención la baja prevalencia de anticuerpos FC contra varicela en el grupo de edades pediátricas en Villa de Motozintla, que apenas llegó al 42.1%, para lo cual no tenemos una explicación satisfactoria en buena parte debido a que carecemos de información sobre las características ecológicas de ese lugar. Tampoco es posible encontrar por ahora una explicación a las cifras relativamente bajas (64.7) y 66.7% respectivamente) encontradas en los grupos de adolescentes y adultos en Villa de Arriaga y Lacanjá. En esta última comunidad, de la cual se estudió una muestra correspondiente al 25% del total de habitantes, la seropositividad global alcanzó el 76.7%, nivel comparable al de comunidades de características ecológicas muy diferentes.

Tomando en consideración que algunos investigadores (39) han encontrado diferencias estadísticamente significativas en la prevalencia de anticuerpos contra citomegalovirus entre hombres y mujeres, y por tratarse de virus de características similares que los colocan en el mismo grupo de las clasificaciones aceptadas en la actualidad, en el cuadro No. 22 se presenta un análisis estadístico de nuestros resultados con virus V-Z para tratar de precisar si existe diferencia en ese aspecto. Si bien al parecer existe alguna diferencia en los grupos del estado de Chiapas, el número relativa-

mente pequeño de muestras estudiadas no autoriza a considerarlas significativas; cuando se analizan los resultados obtenidos en grupos más numerosos, como es el caso del grupo - I.M.A.N., en el que se encontró apenas el 2.1% de seropositivos a favor del sexo masculino, se llega a la conclusión de que lo más probable es que no exista tal diferencia.

CUADRO No. 17

PREVALENCIA DE ANTICUERPOS FC CONTRA VIRUS V-Z
EN EDADES PEDIATRICAS DEL GRUPO
I.M.A.N.

GRUPO DE EDAD	SEROPOSITIVIDAD	
	A	%
6 a 8 meses	22/50	44.0
9 a 11 meses	20/50	40.0
1 año	18/50	36.0
2 años	16/50	32.0
3 años	17/50	34.0
4 años	19/50	38.0
5 años	23/50	46.0
6 años	24/50	48.0
7 años	23/50	46.0
8 años	23/50	46.0
9 a 10 años	34/50	68.0
11 a 12 años	38/50	76.0
13 a 16 años	41/50	82.0
TOTAL	318/650	48.9

A = Total de positivos / total de muestras

CUADRO No. 18

COMUNIDADES ESTUDIADAS DE CHIAPAS

POBLACION	NUMERO DE HABITANTES	NUMERO DE MUESTRAS	% TOTAL DE LA POBLACION
VILLA DE ACALA	13,000	42	0.32
LACANJA	120	30	25.0
VILLA DE ARRIAGA	27,000	50	0.18
VILLA DE MOTOZINTLA	28,000	54	0.19
TOTAL	68,120	176	0.26

CUADRO No. 19

FLUCTUACION DE EDADES

GRUPO DE EDAD	NUMERO DE MUESTRAS
0 - 5 años	9
6 - 14 años	78
15 - 44 años	74
45 - 6 más años	15
TOTAL DE MUESTRAS	176

CUADRO No 20

PREVALENCIA DE ANTICUERPOS FC EN EDADES PEDIATRICAS EN
LAS COMUNIDADES DE CHIAPAS

POBLACION	<u>0 - 5 años</u>				<u>6 - 14 años</u>				A	TOTAL DE POSITIVOS
	POSITIVOS		NEGATIVOS		POSITIVOS		NEGATIVOS			
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%		
VILLA DE ACALA	0	0	0	0	16	80	4	20	16/20	80.0%
LACANJA	3	100	0	0	10	8.3	2	16.7	13/15	86.7%
VILLA DE ARRIAGA	5	100	0	0	19	68	9	32	24/33	72.7%
VILLA DE MOTOZINTLA	0	0	1	100	8	44.4	10	55.6	8/19	42.1%

A = Total de positivos / total de muestras

CUADRO No. 21

PREVALENCIA DE ANTICUERPOS DE FC EN ADOLESCENTES Y ADULTOS EN
LAS COMUNIDADES DE CHIAPAS

POBLACION	<u>15 - 44 años</u>				<u>45 años o más</u>				B	TOTAL DE POSITIVOS
	POSITIVOS		NEGATIVOS		POSITIVOS		NEGATIVOS			
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%		
VILLA DE ACALA	17	81	4	19	0	0	1	100	17/22	77.3%
LACANJA	8	72.7	3	27.3	2	50	2	50	10/15	66.7%
VILLA DE ARRIAGA	10	62.5	6	37.5	1	100	0	0	11/16	64.7%
VILLA DE MOTOZINTLA	20	77	6	23	8	89	1	11	28/35	80.0%

B = Total de positivos / total de muestras

CUADRO No. 22

SEROPOSITIVIDAD EN HOMBRES Y EN MUJERES

POBLACION	NUMERO DE CASOS MUJERES	NUMERO DE POSITIVOS	%	NUMERO DE CASOS HOMBRES	NUMERO DE POSITIVOS	%	DI FERENCIA (M - H)
VILLA DE ACALA	23	21	91.3	19	12	63.2	28.1
LACANJA	21	15	71.4	9	8	88.9	-17.5
VILLA DE ARRIAGA	28	21	75.0	22	14	63.6	11.4
VILLA DE MOTOZINTLA	34	22	64.7	20	14	70.0	-15.3
MUESTREO I.M.A.N.	326	156	47.9	324	162	50.0	-2.1

FIG. N° 14

PERFIL DE SEROPOSITIVIDAD ANTICUERPOS F.C.
CONTRA EL VIRUS V-Z GRUPO I.M.A.N.

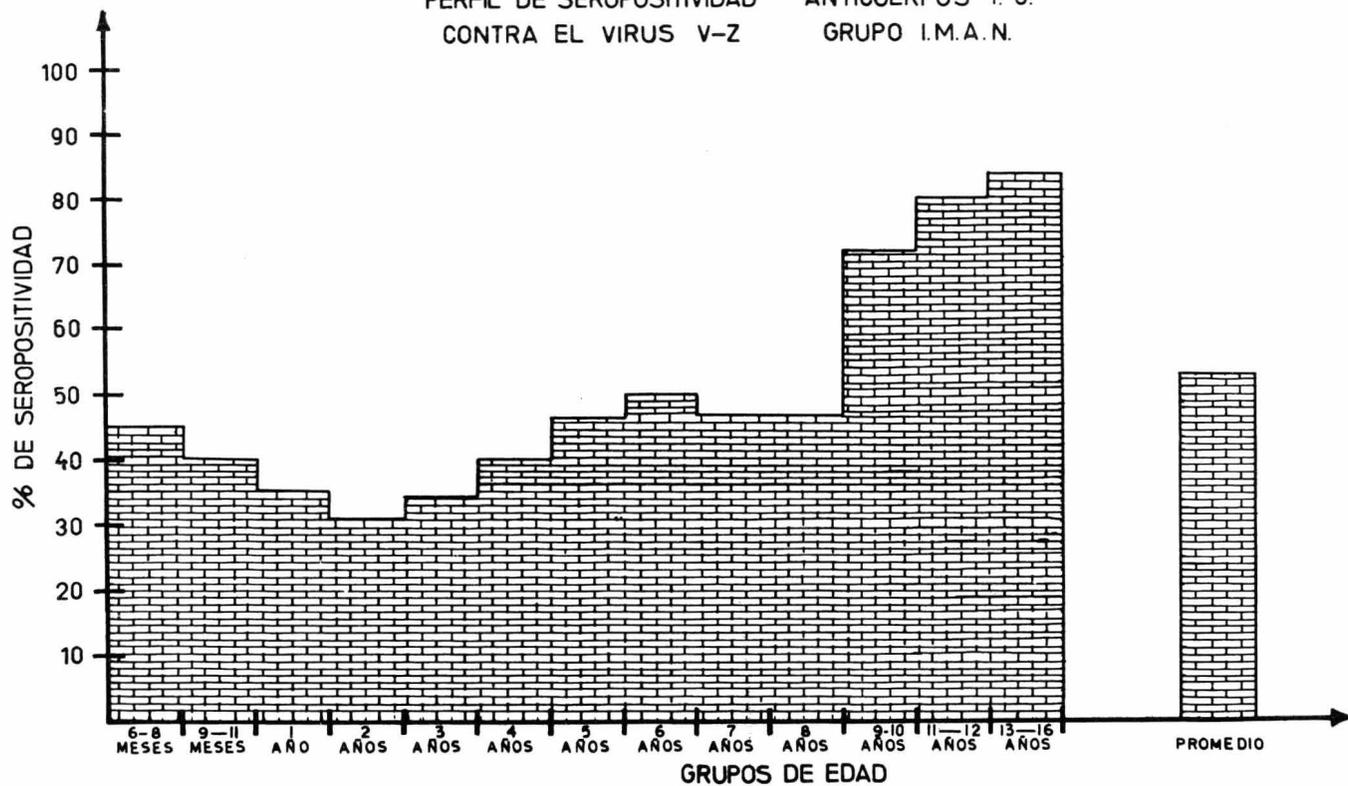
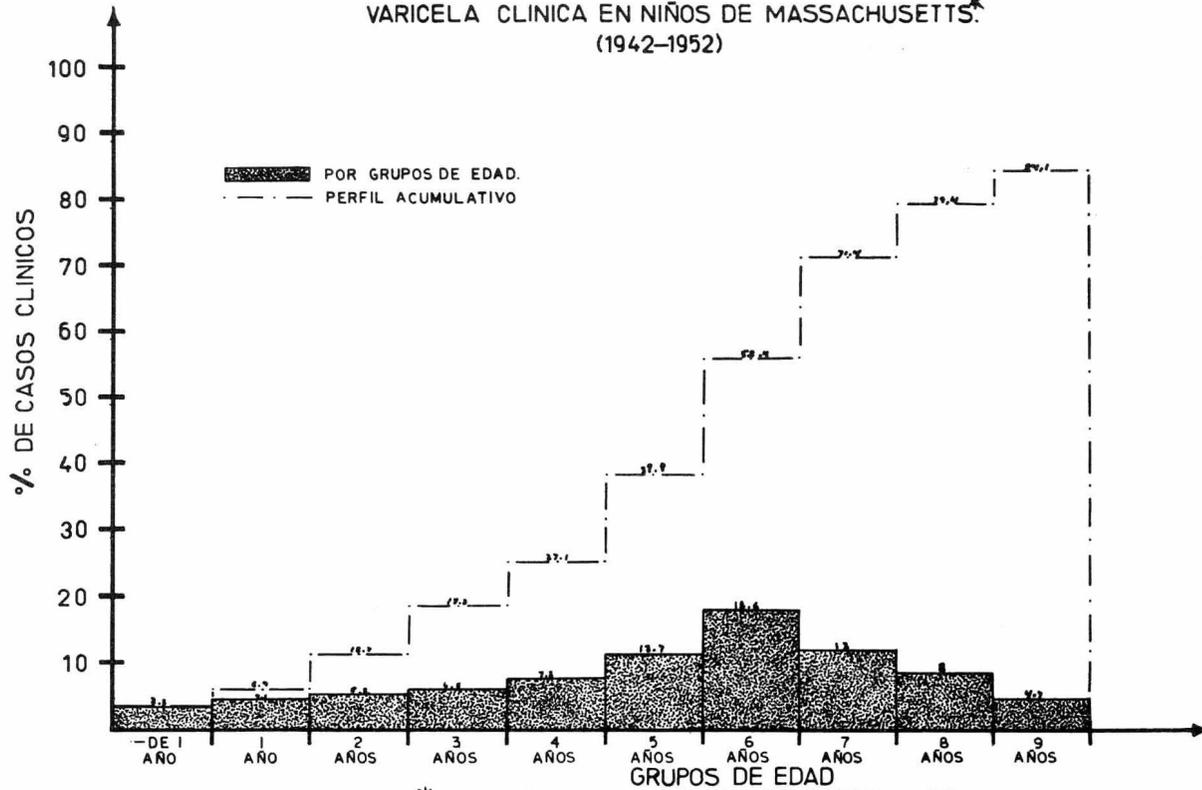


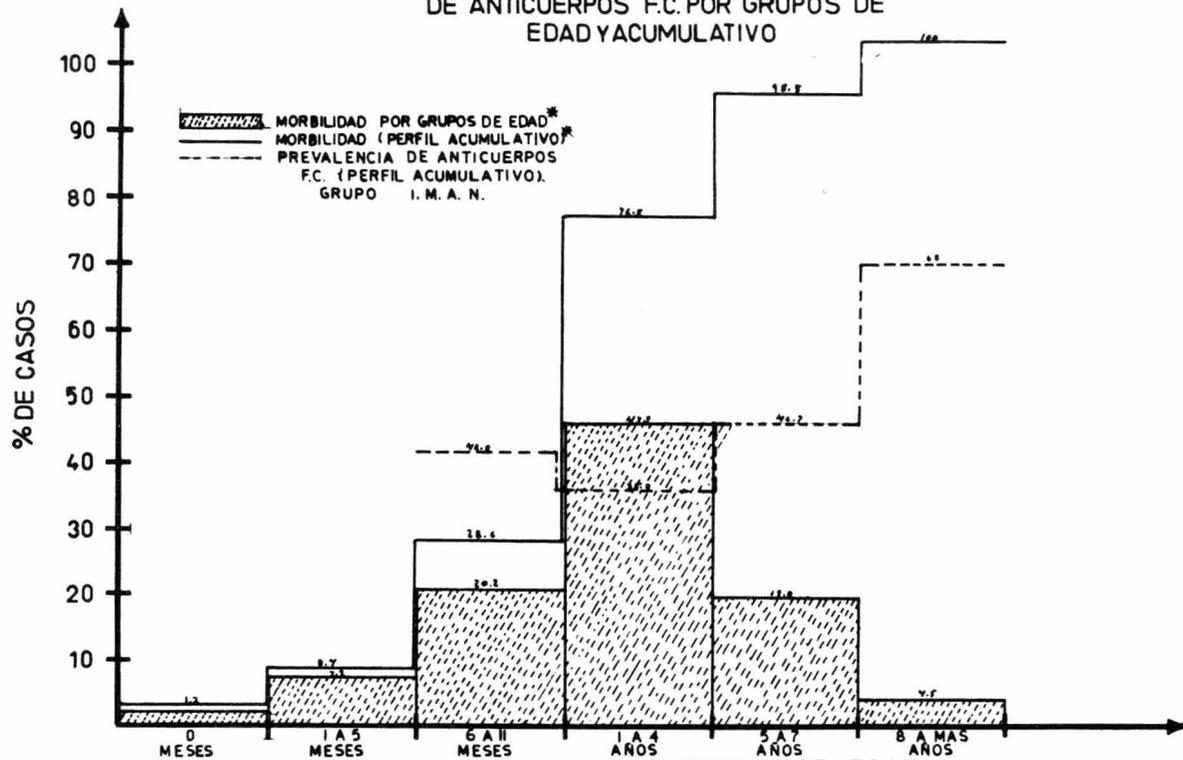
FIG. N° 15
 VARICELA CLINICA EN NIÑOS DE MASSACHUSETTS*
 (1942-1952)



*DE ACUERDO A LOS DATOS DE GORDON (27)

FIG. N° 16

PERFILES DE MORBILIDAD (CLINICA)* Y DE PREVALENCIA DE ANTICUERPOS F.C. POR GRUPOS DE EDAD Y ACUMULATIVO



*BASADO EN LOS DATOS DE CALDERÓN Y COL. (38)

CAPITULO VIII

C O N C L U S I O N E S

Los resultados de este estudio serológico sobre varicela en dos grupos humanos diferentes, uno de 650 niños de 6 meses a 16 años de edad y otro de 176 niños y adultos de varias comunidades del estado de Chiapas, indican una elevada prevalencia de la infección por el virus V-Z desde los primeros años de la vida, lo cual va de acuerdo con las observaciones clínicas y epidemiológicas sobre el padecimiento. Los resultados indican también que la prevalencia de anticuerpos fijadores del complemento contra el virus V-Z se eleva paulatinamente a medida que aumenta la edad de los grupos estudiados, lo cual también concuerda con las características epidemiológicas de la varicela.

La prueba de fijación del complemento no ofreció mayores dificultades técnicas y permitió obtener bastante información útil para un mejor conocimiento de las características seroepidemiológicas de la varicela. Sin embargo, de acuerdo a la opinión de algunos investigadores, es probable que la prueba basada en detectar complejos antígeno-anticuerpo localizados en membrana celular por microscopía de fluorescencia, resulte más específica y sensible para establecer con mayor certeza la condición inmunitaria contra el virus V-Z.

CAPITULO IX

B I B L I O G R A F I A

- 1).- Enciclopedia Universal Ilustrada Europeo-Americana. Tomo LXVII. 1a. Edición Espasa-Calpe, págs. 62, 1929.
- 2).- Taylor-Robinson D, y Caunt A E: Virology Monographs No. 12 Edit Springer-Verlag, 1972.
- 3).- Horsfall F L, Rivers T M: Viral and ricketssial infections of man. 3a Ed., J B Lipincott, Philadelphia. págs 773, 1959.
- 4).- Horsfall F L y Tamm: Viral and ricketssial infections of man. 4a Ed. y J B Lipincott, Philadelphia. págs 915, 1972.
- 5).- Lennette E H, Schmidt N J: Diagnostic procedures for viral and ricketssial infections. 4a Ed., American Public-Health Association págs 34, 52, 646, 732, 1969.
- 6).- Brunell P A, Ross A, Miller L H: Prevention of Varicella by Zoster Immune Globulin. New Engl J Med 280: 1191, 1969.
- 7).- Bellanti A J: Inmunología. 1a. Ed., Editorial Interamericana págs 111, 489, 1972.
- 8).- Brunell P A, Gershon A A, Hughes W T, Riley H D Jr, - - Smith J: Prevention of Varicella in High Risk Children: A Collaborative Study. Pediatrics 50: 718, 1972.

- 9).- Takahashi M, Otsuka T, Okuno Y: Live Vaccine Used to - Prevent the Spread of Varicella in Children in Hospi-- tal. Lancet 30: 1288, 1974.
- 10).- Almeida J D, Howatson A F, Williams M G: Morphology of Varicella (Chickenpox) virus. Virology 16: 353, 1962.
- 11).- Swain R H A, Dodds T C: Clinical Virology. Ed E & S Li vingstone, págs 302, 1967.
- 12).- Rapp F: Inhibition by metabolic analogues of plaque -- formation by herpes zoster and herpes simplex viruses. J Immunol 93: 643, 1964.
- 13).- Cook M L, Stevens J H: Replication of varicella-zoster virus in cell culture: an ultrastructural study. J Ul- trastruct Res 32: 334, 1970.
- 14).- Brunell P A, Casey H L: Crude Tissue Culture Antigen - of Determination of Varicella-Zoster Complement Fixing Antibody. Public Health Reports 79: 838, 1964.
- 15).- Williams V, Gershon A, Brunell P A: Serologic Response to Varicella-Zoster Membrane Antigens Measured by Indi- rect Immunofluorescence. J Infect Dis 130: 669, 1974.
- 16).- Gershon A A, Krugman S: Seroepidemiologic survey of va- ricella: Value of specific fluorescent antibody test.- Pediatrics 56: 1005, 1975.
- 17).- Leonard L L, Schmidt N J, Lennette E H: Demonstrarion - of viral antibody activity in two immnoglobulin G sub- classes in patients with varicella-zoster virus infec- tion. J Immunol 104: 23, 1970.

- 18).- Dudgeon J A, Marshall W C and Soothiel J F: Immunological responses to early and late intrauterine virus infections. *J Pediatrics* 75: 1149, 1969.
- 19).- Andrewes C H: Nomenclature of viruses. *Nature* 173: 620, 1954.
- 20).- Melnick J L, Midulla M, Wimberly I, Barrera-Oro J G, - Levy B M: A new member of the herpes-virus group isolated from South American marmosets. *J Immunol* 92: 596,- 1964.
- 21).- Plummer G: Comparative virology of the herpes group. - *Progr Med Virol* 9: 302, 1967.
- 22).- La Foret E G, Lynch C L: Multiple congenital defects-- following maternal varicella. Report of a case. *New -- Engl J Med* 236: 534, 1947.
- 23).- Williamson A P: The varicella-zoster virus in the etiology of severe congenital defects. A survey of eleven reported instances. *Clinical Pediatrics* 14: 553, 1975.
- 24).- Movassaghi N: The prevention and treatment of varicella-zoster infection in patients at high risk. *Clinical Pediatrics* 12: 299, 1973.
- 25).- Buchanan R A, Johnson M T, Luby J P, Mikulec D: Treatment of varicella-zoster virus infections with adenine arabinoside. *J Infect Dis* 131: 225, 1975.
- 26).- Ross A H: Modification of chickenpox in family contacts by administration of gamma globulin. *New Engl J-Med* 267: 369, 1962.

- 27).- Gordon J E: Chickenpox: An epidemiological review. -- Amer J Med Sci 244: 362, 1962.
- 28).- Hope-Simpson. Tomado de: Rhodes A J y Van Rooyen: Tratado de Virología. Ed Toray, Barcelona, pág 176, 1973.
- 29).- Morbidity and Mortality Weekly Report: Vol 25, No. 11- pág 86, 1976.
- 30).- Brunell P A, Gershon A A: Pásive immunization against varicella-zoster infections and other modes of therapy. J Infect Dis 127: 415, 1973.
- 31).- Brunell P A, Cohen B H, Granat M: A Gel-Precipitin -- Test for the Diagnosis of Varicella. Bull Wld Hilth -- Org 44: 811, 1971.
- 32).- Takatsy G. Kiserl Orvostud 2: 393, 1950.
- 33).- Talmadge D W, Freter G G, Taliaferro W H: The effect - of repeated injections of sheep red cells on the hemolytic and combining capacities of rabbit antiserums. J Infect Dis 98: 293, 1956.
- 34).- Schmidt N J. Tomado de: Habel K y Salzman N P: Funda-- mental Techniques in Virology. Ed Academic Press, pág- 263, 1969.
- 35).- Merselis J G, Kaye D, Hooke E W: Disseminated herpes- zoster. Arch Intern Med 113: 679, 1964.
- 36).- Feldman S, Hughes W T, Daniel C B: Varicella in chil-- dren with cancer: Seventy-seven cases. Pediatrics 56:- 388 No. 3 Sept 1975.

- 37).- Kumate J, Gutierrez-Trujillo G: Manual de Infectología. 2a. Ed. Ediciones Médicas del Hospital Infantil de México, pág 171, 1974
- 38).- Calderón E, Heredia A, Gómez B D: Varicela: características clínicas y epidemiológicas. Bol Méd Hosp Infant- (Méx) 26: 543, 1969.
- 39).- Tesis: Avilés Sosa E V: Anticuerpos contra citomegalovirus por el método de fijación de complemento. Facultad de Química, UNAM 1975.

LIBROS ADICIONALES CONSULTADOS

- Barret T J: Inmunología. Ed Interamericana pág 134, 1972.
- Burnet M F, Stanley W M: The Viruses. Ed Academic Press, -- págs 533, 1959.
- Boyd C W: Fundamentos de Inmunología. 2a. Ed. Universitaria-de Buenos Aires, pág 326, 1970.
- Cunningham C H: Virología Práctica. Ed Acribia, págs 105, -- 1959.
- Cushing E J, Campbell H D: Principios de Inmunología. Ed -- Acribia, págs 122, 313, 315 y 318, 1960.
- Davies D B, Dulbecco R, Eisen N H, Ginsberg S H y Wood B W - Jr: Microbiology. Ed A Harper International págs 510, 1244, - 1970.

Diccionario Enciclopédico de Ciencias Médicas. Ed. Editorial Panamericana, pág 1277, 1968.

Eisen N H: Immunology: Editorial Hansen I Row, Publishes pág 513, 1974.

Enciclopedia Salvat de Ciencias Médicas. 9a Ed Tomo XII, págs 935, 1960.

Fenner F J, White D O: Virología Médica. Ed La Prensa Médica Mexicana págs 206, 215, 242, 1973.

Gell H G P, Coombs A R R y Lachmann J P: Clinical Aspects of Immunology. 3a Ed Blackwell Scientific Publications, págs 325, 1975.

Gordon L B: Lo esencial de la Inmunología. Ed El Manual Moderno págs 74, 1975.

Intrauterine Infections. Ciba Foundation Symposium 10 Ed Elsevier Excerpta Médica. North-Holland págs 152, 153, 1974.

Jawetz E, Melnick J L, Adelberg E A: Manual de Microbiología Médica. Ed El Manual Moderno, México págs 168, 443, 516, 1973.

Kabat A E, Mayer M M: Inmunoquímica Experimental. Ed La Prensa Médica Mexicana págs 123, 124, 197, 226, 1968.

Luria S E: General Virology. Ed John Wiley and Sons págs 37, 57, 237, 1956.

Rhodes A J, Van Rooyen C E: Textbook of Virology. 5a Ed The-Williams and Wilkins Co. págs 397, 1970.

A Guide to the Performance of the Standardized Diagnostic Complement Fixation Method and Adaptation to Micro-test. U.S. - Department of Health, Education and Welfare, Public Health - Service. Atlanta, Georgia, E U A 1969.