

PREPARACION DE ANTICUERPOS CONTRA HERPES  
TIPO 1 Y 2 PARA PRUEBAS DE FIJACION DEL COMPLEMENTO.  
COMUNICACION PRELIMINAR

Hugo Hernández\*, Mary Lane Martin\*\* y Erskine Palmer\*\*

RESUMEN

Anticuerpos contra antígenos asociados a la membrana de virus herpes simple tipo 1 y 2, fueron preparados en cobayos y evaluados para identificación de aislamientos mediante la prueba de fijación del complemento.

La respuesta predominante e inicial de anticuerpos a la infección primaria de virus herpes simple, medida por fijación del complemento (2), y por la prueba indirecta de hemaglutinación (1), está dirigida hacia antígenos asociados a la envoltura viral.

En esta comunicación reportamos la preparación de anticuerpos contra antígenos asociados a la cubierta del virus herpes tipo 1 (VHS-1) y virus herpes tipo 2 (VHS-2), y el valor de esos anticuerpos, a través de sus reacciones cruzadas, mediante pruebas de fijación del complemento (FC).

Ya ha sido demostrado que los anticuerpos 19S pueden usarse para diferenciar los tipos de virus herpes simple (4), y que éstos reaccionan con la superficie de la envoltura viral; apareciendo los anticuerpos contra el cápsido más tardíamente (5, 7).

Los virus usados para producir antígenos de cubierta fueron las cepas

---

\* Instituto de Investigación Clínica. Apartado 1151. Maracaibo, Venezuela.

\*\* Virology Division. Center for Disease Control. Atlanta, Georgia, USA.

VR3 de VHS-1 (9) y la cepa MS de VHS-2 (3), siendo inoculadas en monocapas de fibroblastos de pulmón embrionario de cobayo (FPEC), extracando el material viral con éter y pH alto, como se describió previamente (6).

En la inmunización de animales se utilizaron cobayos adultos cepa Hartley. Los antígenos fueron mezclados con igual volumen de adyuvante completo de Freund, y 0,5 ml de esa mezcla fué inoculada en los cojinetes de las patas posteriores. Un volumen equivalente de antígeno control, sin actividad para FC, fué igualmente tratado e inoculado. Los animales fueron sangrados por punción cardíaca en los días 0, 13 y 21 posteriores a la inmunización, y los sueros fueron probados para determinar anticuerpos contra VHS-1, VHS-2 y control, utilizando la prueba de FC.

Los patrones virales usados para probar la especificidad de los sueros de cobayo fueron obtenidos de Karen Sanderlin (CDC, Atlanta, USA), y habían sido tipificados mediante la prueba de microneutralización (8). A estos virus patrones se les hizo un repique adicional en fibroblastos humanos MA-184, y cuando las células infectadas mostraron un efecto citopatogénico de 3+, fueron desprendidas en buffer de glicina pH 9,0 y mantenidas en congelación a  $-20^{\circ}$  hasta su uso.

La tabla I muestra que, al inocular los cobayos con el antígeno, ocurre una marcada variación individual en la respuesta de anticuerpos FC. Todos los animales inoculados con herpes 1 habían producido anticuerpos homólogos a los 13 días, sin reacción cruzada para VHS-2; mientras que los animales inoculados con VHS-2 para esa misma fecha no habían desarrollado anticuerpos.

A los cobayos inoculados con herpes 2, a los 13 días no hubo respuesta para ninguno de los dos virus, mientras que a los 21 días la aparición de anticuerpos contra VHS-2 se acompañó de reacción cruzada con VHS-1.

Un segundo grupo de cobayos fué inoculado con antígeno VHS-2, manteniendo aislados los cobayos. Se produjeron anticuerpos para VHS-2 el día 21, y aún cuando solo uno tuvo anticuerpos específicos (cobayo 3), los sueros con títulos homólogos de 32 ó más, y título heterólogo de más ó menos 8 se mezclaron para usarlos en la prueba de FC (Tabla II).

**TABLA I**

TITULOS FIJADORES DE COMPLEMENTO DE SUEROS  
DE COBAYOS INOCULADOS CON HERPES TIPO 1 y 2

Antígeno inoculado	Cobayo N°	Título del suero contra HSV-1		Título del suero contra HSV-2	
		13 días	21 días	13 días	21 días
HSV-1	1	16	32	< 8	16
	2	8	32	< 8	< 8
	3	8	32	< 8	16
	4	64	64	< 8	16
	5	16	16	< 8	< 8
	6	64	128	< 8	32
HSV-2	1	< 8	< 8	< 8	< 8
	2	< 8	8	< 8	32
	3	< 8	16	< 8	64
	4	< 8	< 8	< 8	8
	5	< 8	8	< 8	8
	6	< 8	8	< 8	32

**TABLA II**

TITULOS FIJADORES DE COMPLEMENTO DE SUEROS  
DE COBAYOS INOCULADOS CON HERPES TIPO 2

Antígeno inoculado	Cobayo N°	Título del suero* contra HSV-1	Título del suero* contra HSV-2
HSV-2	1	16	32
	2	8	8
	3	< 8	16
	4	8	16
	5	8	32
	6	8	8
	7	16	16
	8	8	16
	9	8	32
	10	8	64

\* Tomado a los 21 días después de la inoculación del antígeno.

Los resultados aquí indicados revelan que todos los cobayos inoculados con VHS-1 pueden producir anticuerpos homólogos a los 13 días para este tipo de virus, sin que se desarrollen anticuerpos cruzados para VHS-2. Mientras que 4 de 10 cobayos inoculados con antígeno VHS-2 pudieron producir, a los 21 días, un suero que permitía el uso específico para este tipo de virus.

La tabla III muestra los resultados de la prueba de FC con 17 patrones de aislamiento (los cuales habían sido identificados previamente como VHS-1 ó VHS-2 por microneutralización). Se observa que las reacciones son tipo específicas cuando reaccionan con aislamientos de VHS-2, pero los sueros para el antígeno VHS-1 presentaron casi todos reacción cruzada; permitiendo que aquellos que reaccionaban con dichos sueros fueran clasificados como VHS-1, y aquellos que no reaccionaban como VHS-2.

**TABLA III**

**TITULOS FIJADORES DE COMPLEMENTO DE SUEROS  
DE COBAYOS INOCULADOS CON HERPES TIPO 1 y 2  
USANDO ANTIGENOS PATRONES**

Antígeno Patrón VHS-1	Suero VHS-1/VHS-2	Antígeno Patrón VHS-2	Suero VHS-2/VHS-1
A	4/2	H	8/0
B	4/2	I	4/0
C	4/2	J	4/0
D	4/2	K	8/0
E	4/2	L	8/0
F	8/0	M	4/0
G	8/2	N	4/0
		O	2/0
		P	4/0
		Q	8/0

Estos dos virus usualmente no pueden ser diferenciados por pruebas serológicas a menos que los sueros sean adsorbidos por virus o células infectadas con el virus heterólogo. Las reacciones cruzadas fueron minimizadas dándole al animal solamente una inyección inmunizante, y recolectando los sueros para uno u otro virus a diferentes días (13 para VHS-1, y 21 para VHS-2), lo que desarrolla una especificidad limitada.

Estos datos indican que las partículas VHS-2 contienen el antígeno FC de superficie común para VHS-1 y, además, contiene uno o más antígenos que no son comunes a la superficie de VHS-1, o son de diferente configuración.

#### ABSTRACT

**Preparation of antisera for typing herpes simplex virus isolates by complement fixation. Preliminary communication.** *Hernández H. (Instituto de Investigación Clínica. Apartado 1151. Maracaibo, Venezuela), Martín ML, Palmer E. Invest Clín 19(3): 102-107, 1978.* – Antibodies to herpes simplex virus type 1 and type 2 envelope-associated antigen (s) were prepared in guinea pig and evaluated as reagents for typing isolates by complement-fixation.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1– BLACK AF, SCHMIDT NJ: Reactivity of envelope, capsid and soluble antigens of herpesvirus hominis type 1 and 2 in the indirect hemagglutination test. *Infect Immun* 10: 102-106, 1974.
- 2– CASEY HL: Adaptation of LBCF microtechnique. Part II. *Public Health Monograph N° 74. PHS publication N° 1228. US Government Printing Office. Washington, DC. 1965.*
- 3– GUDNADOTTIR M, HELGADOTTIR H, BJARNASON O, JONSDOTTIER K: Virus isolated from the brain of a patient with multiple sclerosis. *Exptl Neurol* 9: 85-95, 1964.
- 4– HAMPAR B, MARTOS LM, CHAKRABARTY M, BURROUGH MAK: 19S rabbit antibody neutralization test for differentiating herpes simplex virus type 1 and 2. *J Immunol* 104: 593, 1970.
- 5– KALIMO KOK, MARTLILA RJ, GRANFORS K, VILJANEN MK: Solid-phase radioimmunoassay of human immunoglobulin M and immunoglobulin G antibodies against herpes simplex virus type 1 capsid, envelope and excreted antigens. *Infect Immun* 15: 883-889, 1977.

- 6— MARTIN ML, PALMER EL, KISSLING RE: Complement-fixing antigens of herpes simplex virus type 1 and 2. Reactivity of capsid, envelope and soluble antigens. *Infect Immun* 5: 248-254, 1972.
- 7— MIYAMOTO K, MORGAN C, HSU KC, HAMPAR B: Differentiation by immunoferritin of herpes simplex virion antigens with the use of rabbit 7S and 19S antibodies from early (7-day) and late (7-week) immune sera. *J Nat Cancer Inst* 46: 629-646, 1971.
- 8— PAULS FP, DOWDLE WR: A serologic study of herpesvirus hominis strains by microneutralization tests. *J Immunol* 98: 941-947, 1967.
- 9— SCHMIDT NJ, LENNETTE EH, SHON CW: A complement-fixing antigen for herpes simplex derived from chick-embryo cultures. *Am J Hyg* 72: 59-72, 1960.