

10

REACCIONES ANTÍGENO ANTICUERPO



TEMA 10

REACCIONES ANTÍGENO / ANTICUERPO Y SUS APLICACIONES.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Al finalizar el tema el estudiante podrá:

1. Explicar el papel de la respuesta inmune en las enfermedades infecciosas.
2. Citar los factores que afectan la reacción antígeno anticuerpo.
3. Discutir brevemente el fundamento, la aplicación e interpretación de los resultados de las siguientes reacciones antígeno / anticuerpo.

Neutralización
Precipitación
Aglutinación
Inmunofluorescencia

4. Señalar las características y actividades biológicas del complemento.
5. Discutir brevemente el fundamento, la aplicación e interpretación de los resultados de la prueba de fijación de complemento.
6. Elaborar un cuadro comparativo de las reacciones antígeno / anticuerpo, incluyendo:
Tipo de antígeno, clase de Anticuerpo involucrado, sensibilidad y aplicaciones.

REACCIONES ANTIGENO-ANTICUERPO

Las reacciones antígeno-anticuerpo se estudian más fácilmente "in vitro" utilizando preparaciones de antígenos y antisueros.

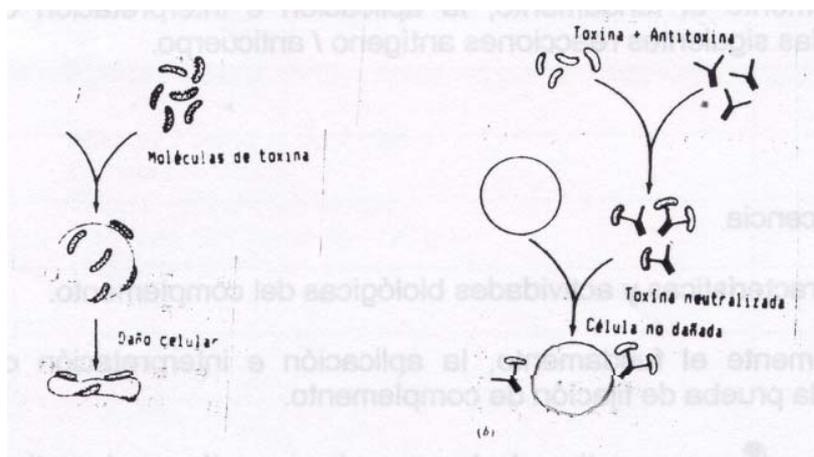
El estudio de las reacciones antígeno-anticuerpo "in vitro" se denomina serología y es de especial importancia en la microbiología diagnóstica.

En las reacciones antígeno-anticuerpo se distinguen 2 fases: la primera consiste en la unión del antígeno con el anticuerpo y la segunda en las manifestaciones que resultan de dicha unión. La primera fase se realiza por la combinación de áreas pequeñas tanto del antígeno como del anticuerpo, denominadas respectivamente determinante antigénico y sitio activo, que al unirse forman un complejo antígeno-anticuerpo. La reacción es reversible, siguiendo, por consiguiente, la ley de acción de masas y existen factores externos que pueden modificar dicha unión, como son: el pH, la temperatura y la fuerza iónica.

Dependiendo de la naturaleza del antígeno y del anticuerpo y de las condiciones de la reacción se pueden observar diferentes tipos de reacciones serológicas:

Neutralización

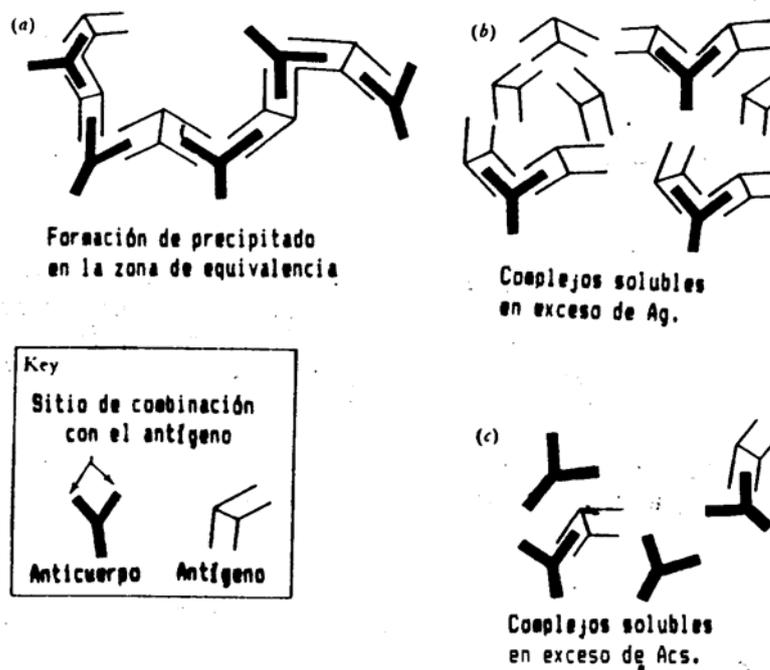
Mediante anticuerpos específicos se pueden neutralizar toxinas, virus o enzimas. Los anticuerpos neutralizantes requieren un solo tipo de combinación con el antígeno para poder actuar y así pueden ser univalentes, aunque anticuerpos bivalentes o multivalentes pueden neutralizar también. Un antisuero que contiene anticuerpos neutralizantes contra una toxina se denomina "antitoxina".



(a) Acción de una toxina (b) Neutralización

Precipitación

La reacción de precipitación ocurre cuando se combina un anticuerpo, por lo menos divalente, con un antígeno soluble y esto conlleva a la formación de agregados que precipitan. Como las reacciones de precipitación son fácilmente observables "in vitro", éstas resultan pruebas serológicas muy útiles, especialmente para medir concentraciones de anticuerpos. Para que la precipitación ocurra en forma máxima se necesita que tanto el antígeno como el anticuerpo estén en concentraciones óptimas, cuando cualquiera de los reaccionantes están en exceso no se pueden formar grandes agregados antígeno-anticuerpo.



Reacción de precipitación

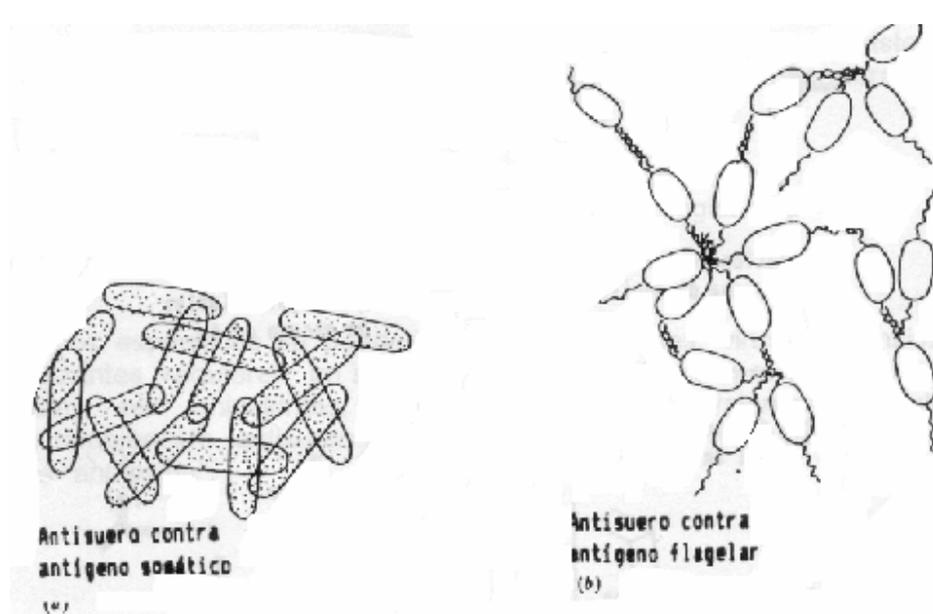
Aglutinación

Cuando un antígeno particulado reacciona con su anticuerpo específico (divalente por lo menos) se observa la formación de grumos o agregados de estas partículas, esto se conoce como aglutinación. En estas reacciones el determinante antigénico está sobre la superficie de una partícula o de una célula.

Estas reacciones son más sensibles que las de precipitación para detectar pequeñas cantidades de anticuerpos, debido a que relativamente pocas moléculas de anticuerpo pueden unir efectivamente un gran número de partículas de antígeno en grumos gruesos macroscópicamente visibles. Es por esto que cuando queremos aumentar la sensibilidad de una reac-

ción de un antígeno soluble con su anticuerpo específico, se transforma el antígeno soluble en particulado adsorbiéndolo o uniéndolo químicamente a estructuras particuladas tales como esferas de látex o arcilla coloidal y de esta manera pueden ser detectados los anticuerpos por reacciones de aglutinación, estos ensayos se conocen como ensayos de AGLUTINACION PASIVA.

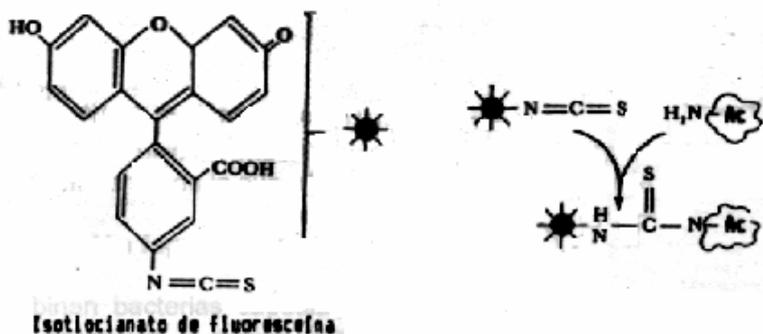
También se pueden aglutinar glóbulos rojos y este fenómeno se conoce como HEMAGLUTINACION. Los anticuerpos pueden reaccionar con antígenos de los glóbulos rojos, u otros antígenos que se pueden adsorber a los glóbulos rojos y observarse hemaglutinación cuando se una el anticuerpo específico.



Apariencia de células bacterianas aglutinadas por anticuerpos contra (a) Antígenos somáticos (b) Antígenos flagelares

Inmunofluorescencia

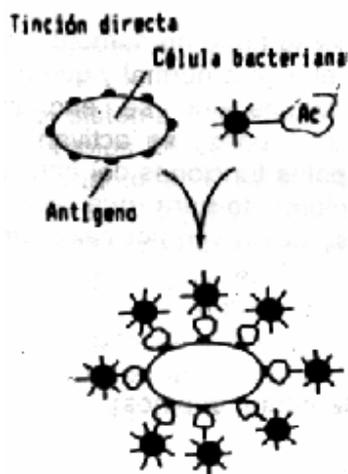
Es una técnica donde las moléculas de anticuerpos son convertidos en sustancias fluorescentes, uniéndoles químicamente a compuestos orgánicos fluorescentes tales como isotiocianato de fluorescencia o rodamina B. Esto no altera la especificidad del anticuerpo pero hace posible su detección cuando está unido a células o tejidos usando un microscopio para fluorescencia. Los anticuerpos fluorescentes son de considerable utilidad en microbiología diagnóstica.



Preparación de anticuerpos fluorescentes acoplado el colorante fluorescente isotiocianato de fluoresceína al anticuerpo

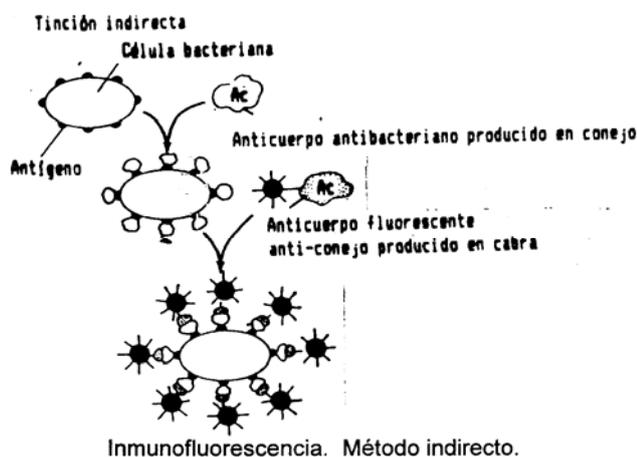
Para demostrar la presencia de antígenos o células bacterianas utilizando anticuerpos fluorescentes, existen dos procedimientos: el método directo y el indirecto.

En el método directo, el anticuerpo marcado es específico contra el antígeno .



Immunofluorescencia. Método directo

En el método indirecto, la presencia del anticuerpo específico sobre la superficie de la célula es detectado por el uso de otro anticuerpo fluorescente dirigido contra el anticuerpo específico.



Complemento

Además de las reacciones antígeno-anticuerpo ya descritas, existen otros tipos de reacciones de gran importancia en inmunidad donde participa el Complemento.

El complemento actúa junto con los anticuerpos específicos para llevar a cabo varios tipos de reacciones antígeno-anticuerpo que de otra manera no podrían ocurrir, tales como: lisis de células bacterianas, muerte de células bacterianas, hemólisis, etc.

El complemento no es un anticuerpo (por lo tanto no aumenta con la inmunización), sino una serie de enzimas que se encuentran en el suero normal y que atacan a las células bacterianas u otros agentes extraños. Estas enzimas, que se encuentran aún en individuos no inmunizados, son normalmente inactivas, pero se activan cuando ocurre una reacción antígeno-anticuerpo. Una de las principales funciones del anticuerpo es reconocer las células invasoras y activar el sistema del complemento para que actúe. Ciertos componentes del complemento son muy termolábiles, se destruyen por calentamiento a 56°C por 30 minutos, por otra parte los anticuerpos son termoestables.

Acciones del complemento

Entre las principales acciones del complemento tenemos:

Lisis de los glóbulos rojos (hemólisis)

Si un antisuero contra glóbulos rojos se mezcla con una suspensión de glóbulos rojos y se le añade suero normal como fuente de complemento ocurre la lisis a los 30 minutos de incubación a 37°C. La hemólisis se usa a menudo como prueba de la presencia de complemento en sueros desconocidos o para medir la fijación de complemento.

Lisis bacteriana

Especialmente de bacterias Gram negativas, cuando los anticuerpos específicos se combinan con el antígeno de la superficie bacteriana en presencia de complemento.

Muerte microbiana

En ausencia de lisis ocurre la muerte microbiana cuando los anticuerpos específicos se combinan con los antígenos de la superficie bacteriana en presencia de complemento.

Promoción de la acción fagocitaria:

Cuando se combinan bacterias capsuladas con el anticuerpo específico en presencia de complemento se promueve la acción fagocitaria. Este proceso en el cual los anticuerpos específicos más complemento hacen una célula susceptible a la fagocitosis se llama **OPSONIZACIÓN**.

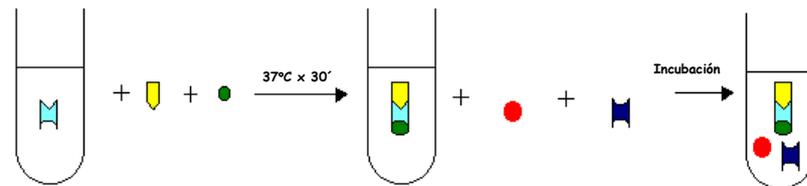
Prueba de fijación de Complemento

Una propiedad importante del sistema del complemento es que sus componentes son enzimáticamente alterados durante la reacción, de modo que no reaccionarán en una nueva secuencia de reacciones, es decir si el complemento es consumido durante las reacciones antígeno-anticuerpo esto es llamado **FIJACION DE COMPLEMENTO** y ocurre cuando un anticuerpo de tipo IgG o IgM reacciona con el antígeno en presencia de complemento, aún cuando éste no sea requerido en la reacción.

La prueba de fijación de complemento se lleva a cabo en dos fases. En la fase primera se mezclan el suero del paciente (previamente calentado a 56°C) y el antígeno en presencia de una cantidad determinada de complemento; esta mezcla es generalmente incubada durante 30 minutos a 37°C. Si se forman los complejos antígeno-anticuerpo, el complemento es fijado. En la segunda fase se añade el sistema indicador que consiste en glóbulos rojos de carnero y anticuerpos contra glóbulos rojos de carnero. La ocurrencia de hemólisis indica que el complemento no fue utilizado por lo tanto, en la fase 1 no se ha producido una reacción Ag-Ac específica. En cambio, la ausencia de hemólisis, indica que el complemento ha sido fijado y por lo tanto **que en la fase 1**

se ha producido una reacción Ag-Ac, en este caso se considera una reacción de fijación del complemento positiva, mientras que en el primer caso se considera negativa la reacción de fijación de complemento. (Fig. 11.16). Utilizando un antígeno conocido, esta técnica puede ser empleada para detectar y medir anticuerpos presentes en sueros. Al ocurrir la reacción del antígeno con los anticuerpos del suero, ésta reacción Ag-Ac se puede poner de manifiesto mediante una prueba de fijación de complemento.

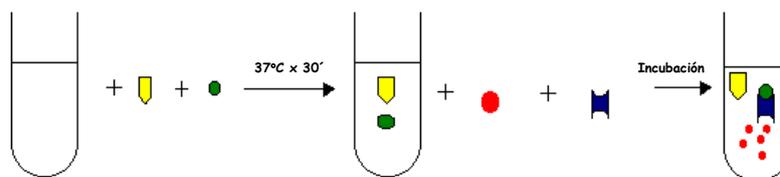
Fijación de complemento positiva



-  Ac del paciente
-  Antígeno
-  Complemento
-  Glóbulos rojos
-  Ac contra glóbulos rojos

No hay hemólisis

Fijación de complemento negativa



-  Ac del paciente
-  Antígeno
-  Complemento
-  Glóbulos rojos
-  Ac contra glóbulos rojos

Hay hemólisis

BIBLIOGRAFÍA

Madigan M.T, Martingo J. M. y Jack Parker. 2004. Décima Edición. Brock Biología de los Microorganismos Prentice Hall

Tortora G. J., B. R. Funke and Ch. L. Case 2007. Introducción a la Microbiología 9^{na} Edición. Editorial Médica Panamericana.

Magaly Pedrique de Aulacio
 Norma De Castro.
 Universidad Central de Venezuela
 Facultad de Farmacia
 Departamento de Microbiología y Parasitología
 Marzo 2000
 Revisión 2008

ACTIVIDADES ADICIONALES

¿Qué se conoce como método ELISA?. Señalé dos aplicaciones.

¿ Qué se conoce como anticuerpos monoclonales? Cite algunas aplicaciones.

Haga un esquema donde señale la ubicación del timo, bazo, y principales ganglios linfáticos.

Busque en un diccionario de inglés técnico la traducción al español de las siguientes palabras:

Abscess	
Agranulocyte	
Attack	
Barrier	
Blood vessel	
Burns	
Chemotaxis	
Cytokine	
Damaged cells	
Erythrocyte	

REACCIONES ANTÍGENO-ANTICUERPO

Harmful	
Injury	
Insect bites	
Lymph nodes	
Mast cell	
Platelet	
Skin	
Spleen	
Tissues	
Tonsil	