



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Ciencias Biológicas
Escuela Académico Profesional de Microbiología y Parasitología

**“Evaluación de estabilizadores sobre los antígenos del
virus dengue utilizados en pruebas ELISA de captura
IgM”**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Bióloga Microbióloga
Parasitóloga

AUTOR

Bía Margarita PEÑA PERALTA

ASESORES

Dra. Egma Marcelina MAYTA HUATUCO
Lic. TM. María Paquita GARCÍA MENDOZA (Co-asesora)

Lima, Perú

2013

RESUMEN

El ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) es una prueba bastante sensible que es usada para la detección de anticuerpos o antígenos específicos. Los componentes usados en esta prueba requieren temperaturas de congelación de -20°C , estas condiciones no pueden ser alcanzadas por los laboratorios regionales. Los kits comerciales, cuyas temperaturas de almacenamiento pueden ser cumplidas por estos laboratorios, no resultan económicos.

Por la urgencia del desarrollo de un kit de diagnóstico más barato, se evaluó la capacidad del estabilizante StabilZyme[®] SELECT y la Albúmina Bovina Sérica fracción V sobre antígenos del virus dengue sometidos a un rango de temperatura de $2-8^{\circ}\text{C}$ por un periodo de estudio de 12 semanas. Se evaluó la estabilidad de los antígenos de cada serotipo por separado y en un pool con el mismo título producidos en cerebro de ratón lactante y del serotipo 1 del Virus Dengue en la línea celular ATCC C6/36 HT. Paralelamente, se evaluaron dos tipos de soporte, las placas Nunc y las tiras Immulon 2HB. Al final del tiempo de evaluación, se realizó una prueba con el panel de sueros del laboratorio de Metaxénicas Virales del Instituto Nacional de Salud (INS), se empleó el pool de antígenos de cerebro de ratón que estuvieron estabilizados con StabilZyme[®] SELECT.

Se demostró la estabilidad del antígeno sometido al estabilizante StabilZyme[®] SELECT a temperaturas de $2-8^{\circ}\text{C}$ durante el periodo de evaluación, lo mismo sucedió con el antígeno crudo conservado a -20°C ; mientras el antígeno crudo sometido a temperaturas de $2-8^{\circ}\text{C}$ disminuyó su título a lo largo del tiempo, la misma situación se dio aplicando Albúmina Bovina al rango de $2-8^{\circ}\text{C}$. La corrida del panel mostró una sensibilidad y especificidad de 95.33% y 96.15% respectivamente para las tiras Immulon 2HB y 94.0% de sensibilidad y 96.15% de especificidad para las placas Nunc.

Palabras clave: Virus Dengue, antígeno del virus Dengue, estabilizantes para ELISA.

ABSTRACT

The Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) is highly sensitive and it's used for antibodies or antigens detection. The components of this probe require low temperatures of -20°C , these conditions cannot be reached by regional laboratories. The commercial kits have storage temperatures that those laboratories can meet but they're not economic.

By the urgency of developing a cheaper diagnostic kit, the capacity of the stabilizer StabilZyme [®] SELECT and Bovine Serum Albumin fraction V was evaluated with Dengue Virus antigens subjected to a range of $2-8^{\circ}\text{C}$ for a study period of 12 weeks. We evaluated the stability of the antigen of each serotype separately and in a pool (all 4 serotypes) produced in suckling mouse brain and Dengue Virus serotype 1 in the cell line ATCC C6/36 HT. In parallel, two types of supports were evaluated, Nunc plates and Immulon 2HB strips. At the end of the evaluation period, a test with the panel of sera from the laboratory of Metaxénicas Virales of the National Institute of Health (INS) was conducted; we used the pool of antigens that were stabilized with StabilZyme [®] SELECT.

We demonstrated the stability of the antigen subjected to the stabilizer StabilZyme [®] SELECT at temperatures $2-8^{\circ}\text{C}$ during the evaluation period, as did the crude antigen stored at -20°C , while the crude antigen subjected to temperatures of $2-8^{\circ}\text{C}$ decreased its titer over time, the same situation occurred using Bovine Albumin to the range of $2-8^{\circ}\text{C}$.

The results of the ELISA test using the panel of sera with the pool of antigens had sensitivity and specificity of 95.33% and 96.15% respectively for Immulon 2HB strips and 94.0% of sensitivity and 96.15% of specificity for Nunc plates.

Key words: Dengue Virus, Dengue Virus's antigen, stabilizers for ELISA.