



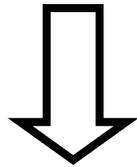
ELISA

“Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay”

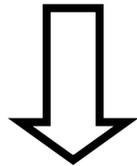
Recordemos...

Cuando un Ag y un Ac interaccionan in vitro

PRIMERA ETAPA

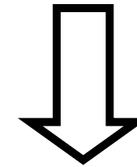


INTERACCIÓN 1ª

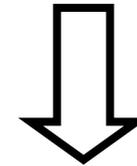


No visualizable

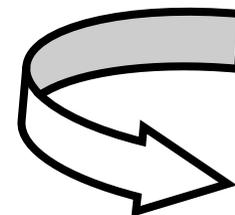
SEGUNDA ETAPA



INTERACCIÓN 2ª

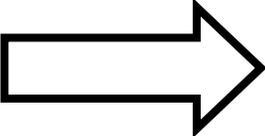
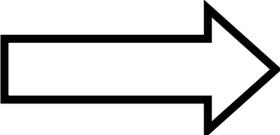


Fenómeno visible
Precipitación
Aglutinación



¿Cómo podemos visualizar la PRIMERA ETAPA?

Ag o Ac se unen covalentemente a distintos marcadores

Trazador		Método
radiactivo		RIA
fluorescente		IF
enzimático		ELISA
emisor de luz		Quimioluminiscencia Electroquimioluminiscencia

Los ELISA se basan en:

1. la elevada especificidad de los Ac;
2. la alta actividad de algunas enzimas usadas en este tipo de ensayos, lo que permite la amplificación de la señal generada por la muestra.

Comprenden dos etapas generales:

1. la reacción de un inmunorreactante con un Ag o Ac;
2. la detección de ese inmunorreactante mediante la utilización de un conjugado enzimático.

SENSIBILIDAD

- Es el cambio en la respuesta por cada cambio de la cantidad de reactante.

LÍMITE DE DETECCIÓN

- Es la mínima cantidad de inmunorreactante que puede detectar el sistema.

Método	Anticuerpo [μg/mL]	Sensibilidad relativa
Precipitación (medio gelosado)	20	1
Precipitación (medio líquido)	10	2
Fijación del complemento (100% de lisis)	5	4
Fijación del complemento (50% de lisis)	0,2	100
Aglutinación	0,4	50
HAI	0,15	133
IFI	0,05	400
ELISA	0,01	2.000
RIA	0,001	20.000

Clasificación de los EIA

- a. EIA homogéneos;
- b. EIA heterogéneos.

Heterogéneos:

Los más utilizados.

Diversos formatos:
microplacas, partículas
magnéticas, membranas
de nitrocelulosa.

Implican un paso de
separación del Ag o Ac
unido del no unido.

Homogéneos:

Más utilizados en drogas
de abuso y monitoreo de
fármacos.

Sin pasos de separación,
no se requiere la
separación del Ag o Ac
unido del no unido.

Heterogéneos

Ventajas:

Menos interferencias, más específicos y sensibles.

Instrumentación menos costosa.

Admiten mayor tamaño de muestra, así disminuye el límite de detección.

Más versátiles en cuanto a tipo de analito.

Desventajas:

Más difíciles de automatizar.

Mayor tiempo de análisis.

Homogéneos

Ventajas:

Más precisos.

Al ser en general automatizados se llevan a cabo sin entrenamiento especial.

Desventajas:

Son más costosos en reactivos.

En general sólo sirven para fármacos.

Los EIA heterogéneos pueden clasificarse en dos tipos:

1. enzimoimmunoanálisis de amplificación de actividad o no competitivos;
2. enzimoimmunoanálisis de modulación de actividad o competitivos.

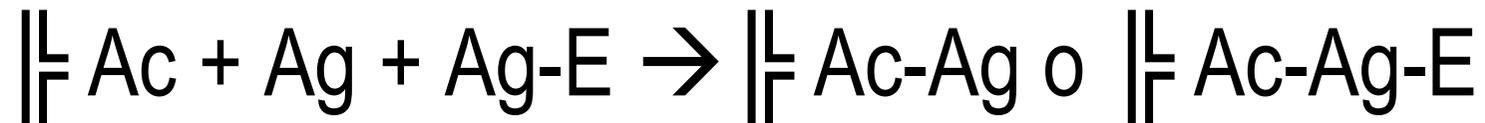
EIAs no competitivos

- Se emplea un gran exceso del inmunorreactante con el objeto de obtener una señal máxima debida a la presencia del compuesto a ser dosado.

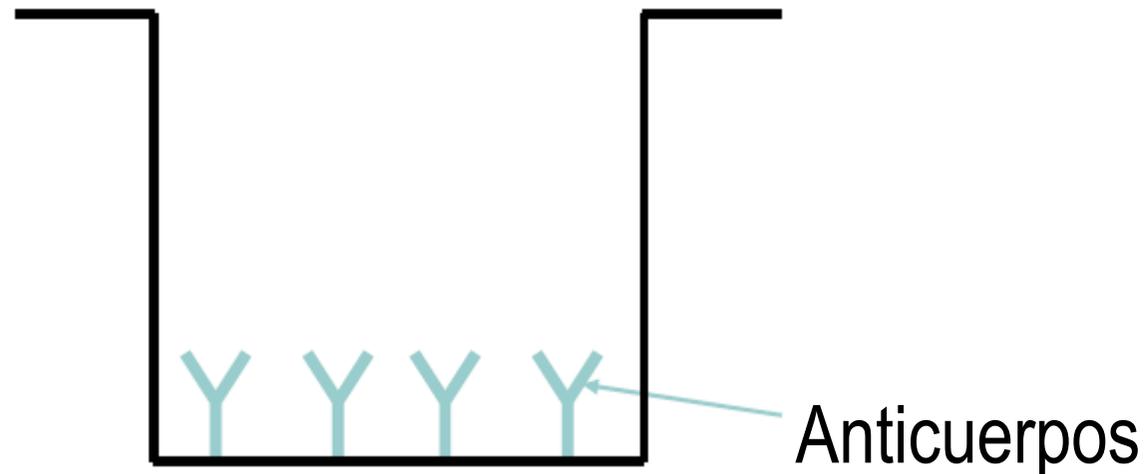
EIAs competitivos

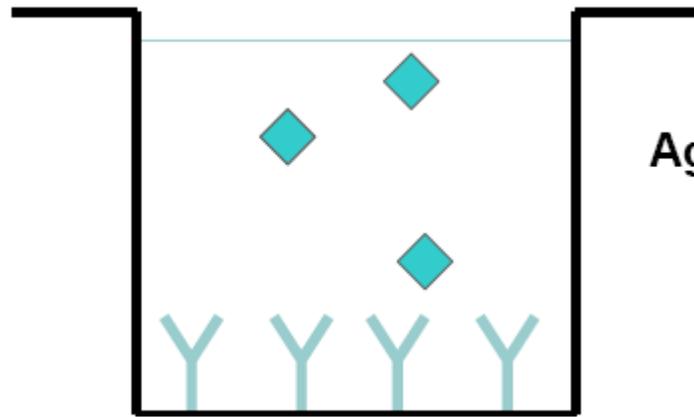
- Los enzimoimmunoanálisis competitivos (ya sea por inmovilización de Ac o por inmovilización de Ag) tienen por objeto la cuantificación de Ag.

EIAs competitivos con Ac inmovilizado en fase sólida

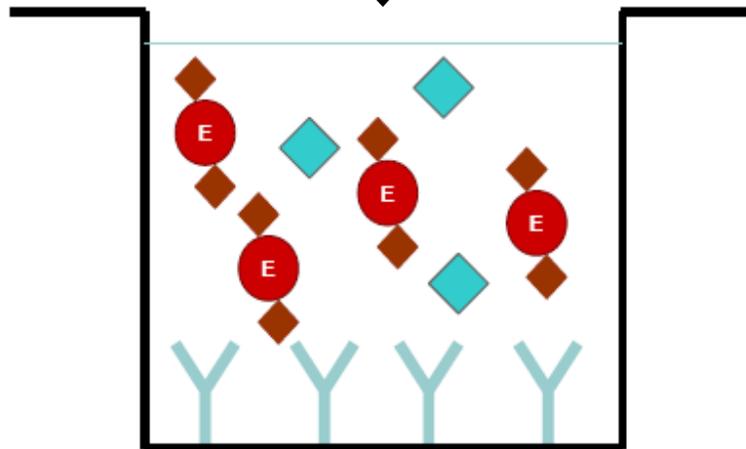


Control: "dosis cero" de Ag libre \rightarrow
 $\rightarrow \text{||} \text{ Ac-Ag-E} \rightarrow 100\%$ de señal

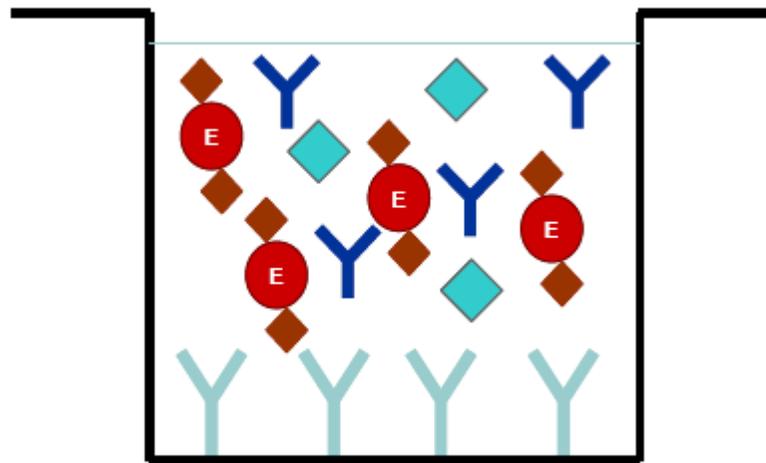




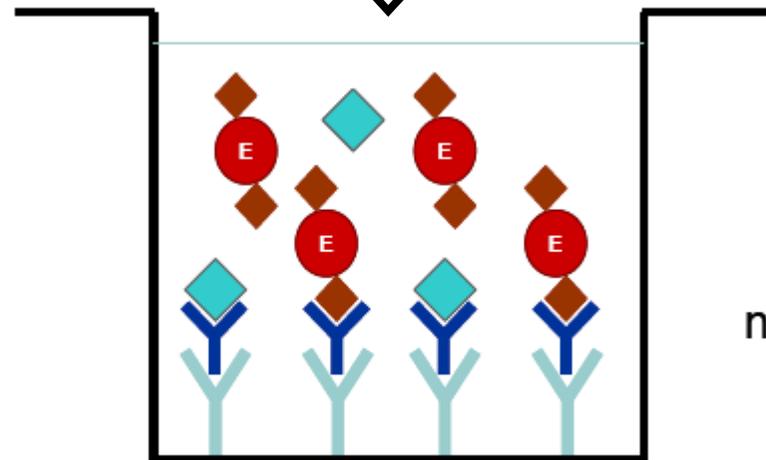
Agregar Estándar ó Muestra



Agregar Enzima Conjugada

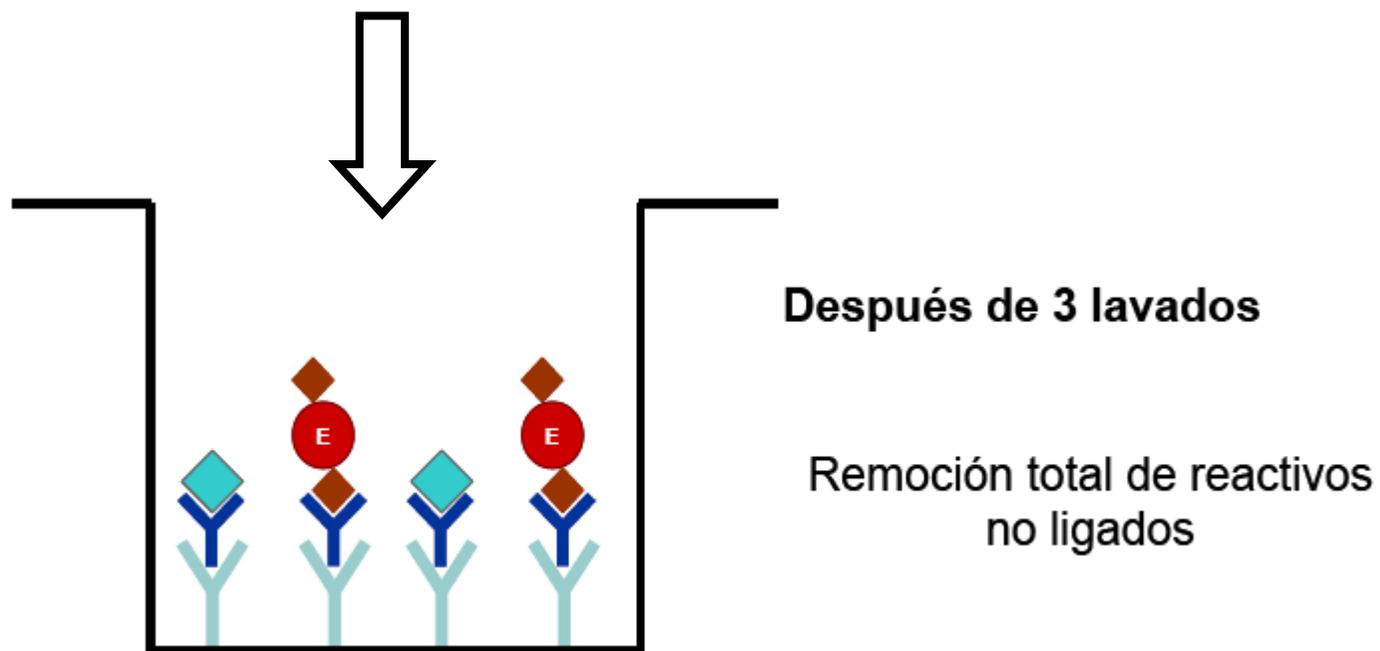
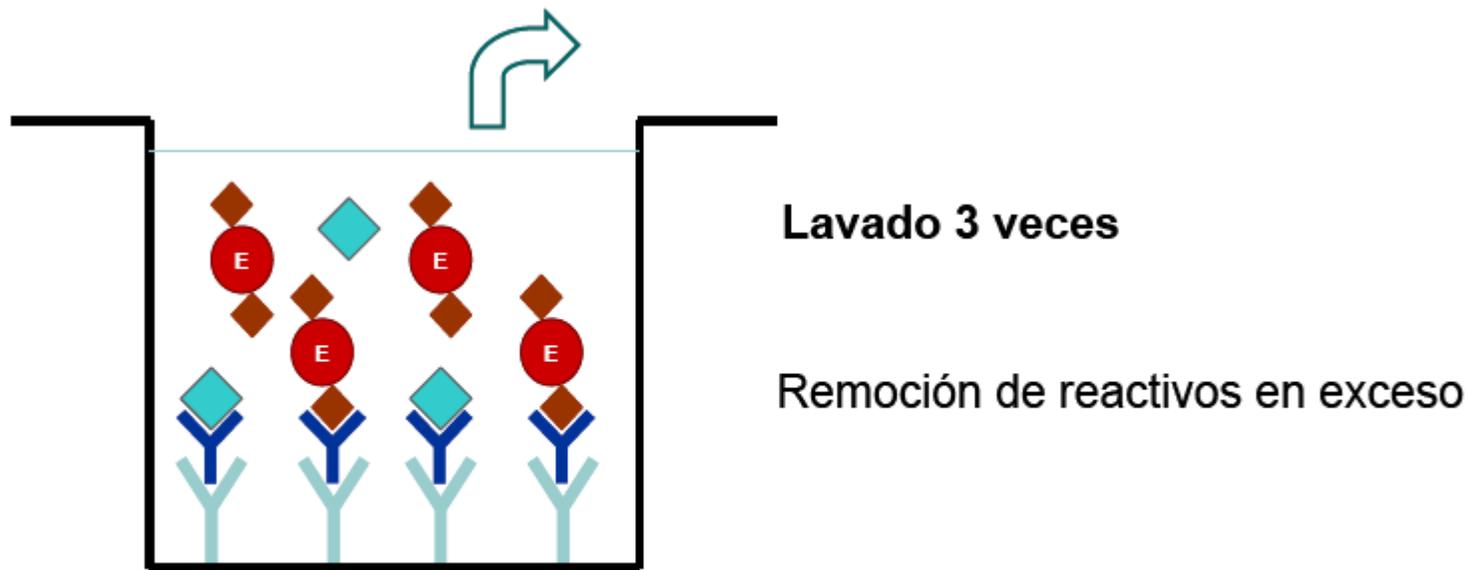


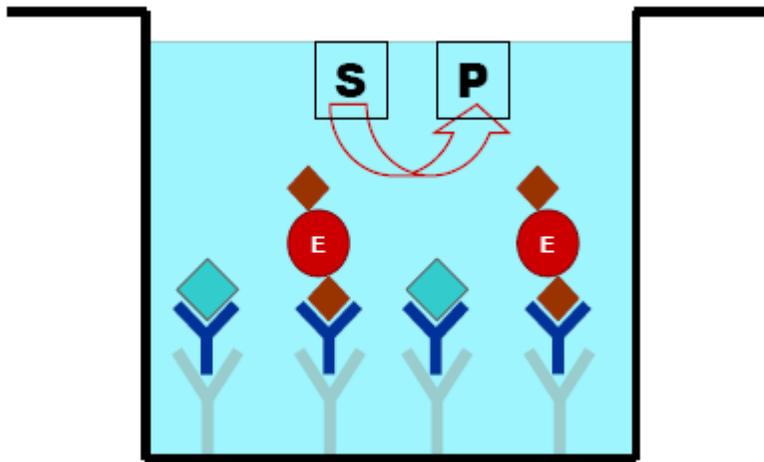
Agregar solución de anticuerpo



Empieza la reacción

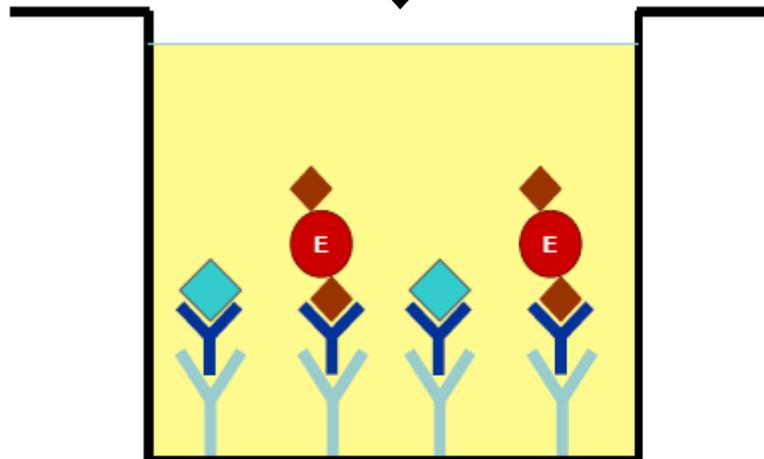
Equilibrio entre el analito ligado y no ligado de muestras ó estándares y la enzima conjugada





Agregar Substrato/Cromógeno

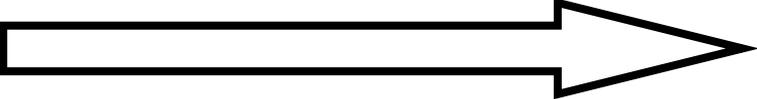
El Substrato (S) desarrolla color en el Producto (P) en presencia de la enzima



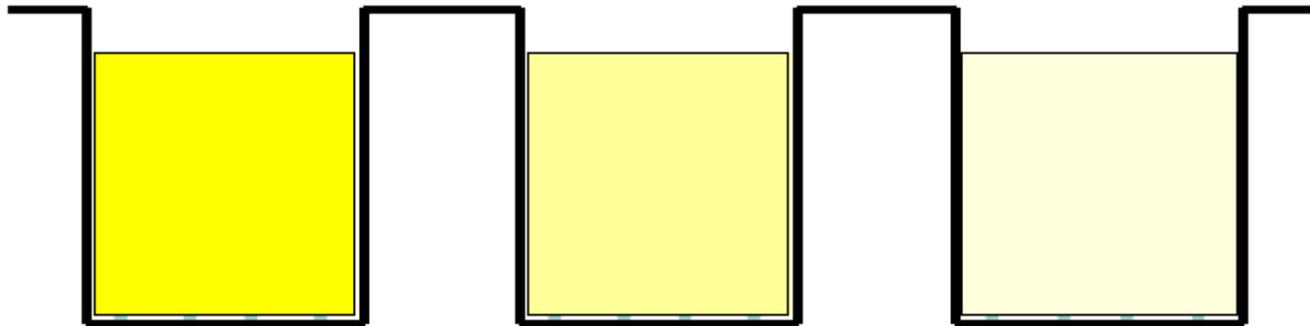
Agregar Solución de parada

Se para la reacción y el color desarrollado es medido visualmente ó mediante un espectrofotómetro

La intensidad del color es inversamente proporcional a la concentración de las Muestras / Estándares – **a más color es mas baja la concentración de la muestra / Estándar**

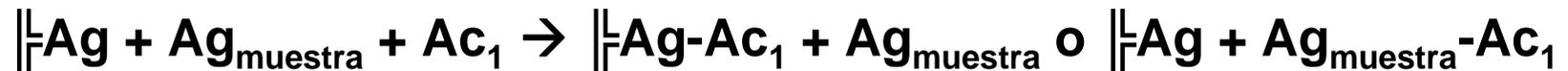
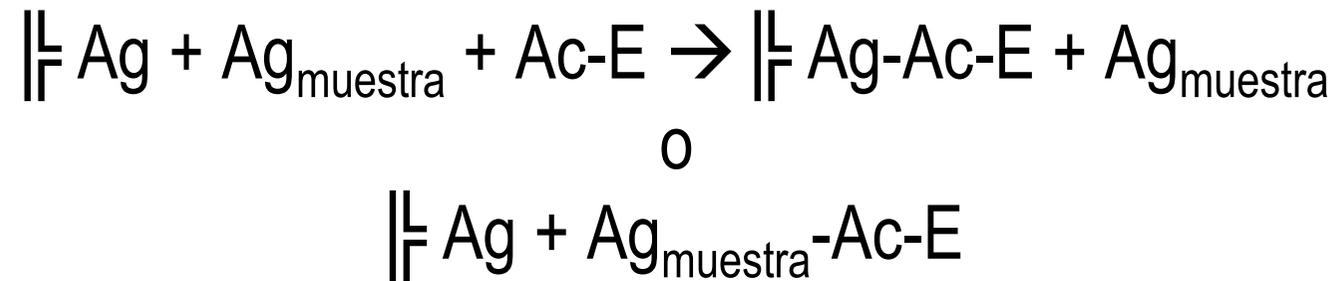
“Dosis cero” $[Ag\ libre]$ 

Solución de parada



Agregar solución de parada
Leer a 450 nm

EIAs competitivos con Ag inmovilizado en fase sólida

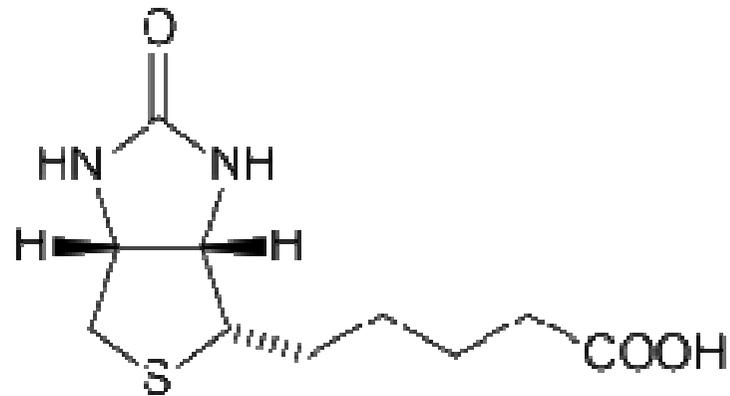


Etapas básicas:

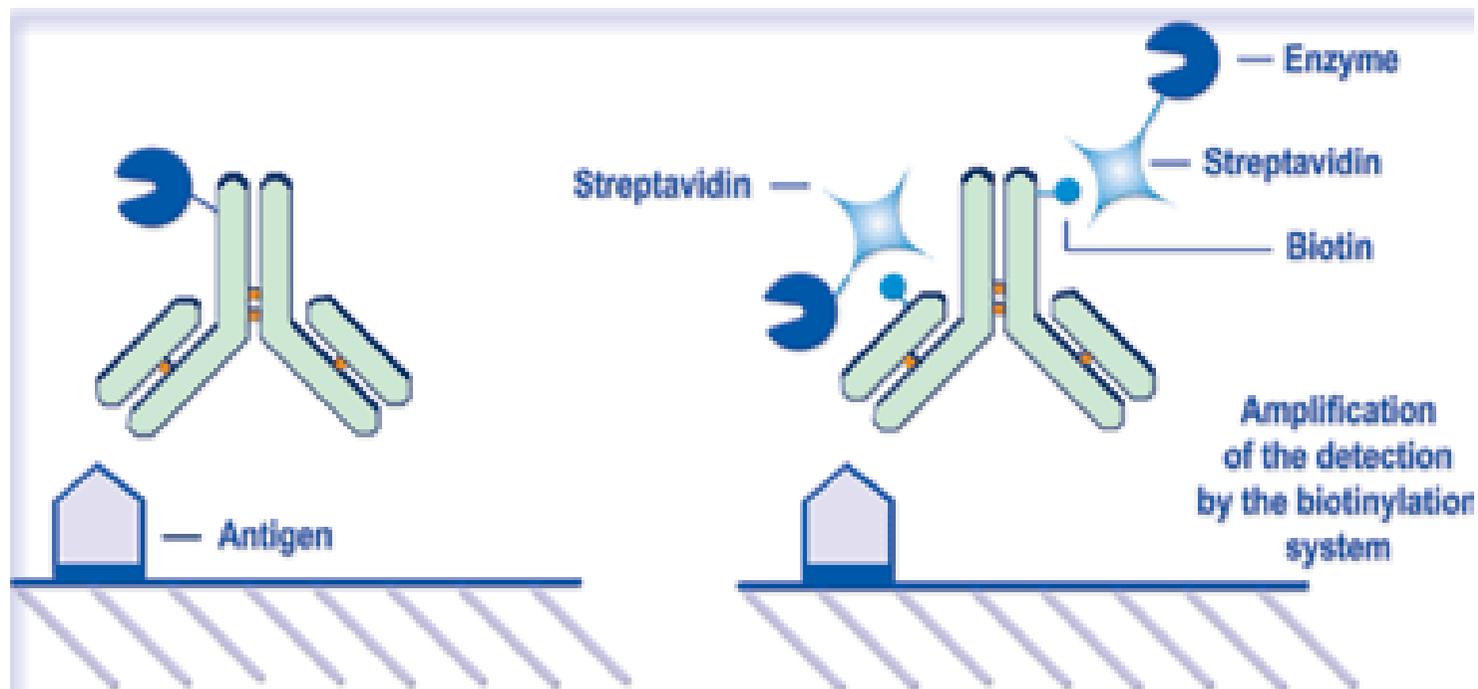
1. inmovilización del inmunorreactante (Ac o Ag) en la fase sólida;
2. incubación con la muestra de modo que ésta reaccione con el inmunorreactante inmovilizado;
3. amplificación o modulación por medio de la utilización de un conjugado enzimático.

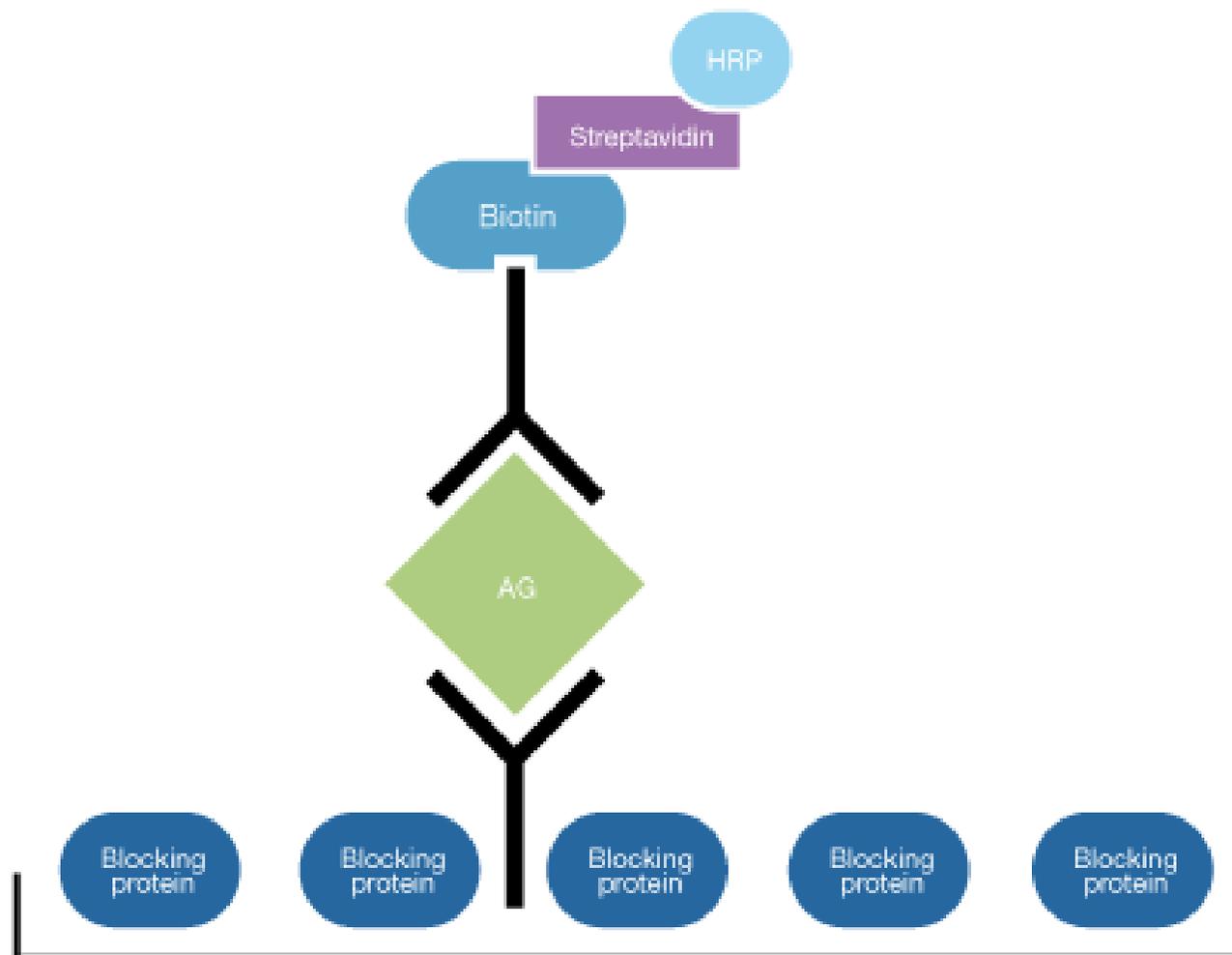
Sistemas alternativos de reconocimiento:

1. Sistema Avidina-biotina
2. Proteína A



Biotina





Enzimas más utilizadas

- Peroxidasa
- Fosfatasa alcalina
- Ureasa

Requisitos que deben reunir las enzimas

1. Deben ser estables durante su almacenamiento, ya sea libres o conjugadas.
2. Deben ser de fácil preparación, obtenerse con elevada pureza y bajo costo.
3. La actividad enzimática debe ser alta, ya sea como enzima libre o como enzima conjugada.
4. La actividad enzimática debe ser fácilmente detectable.

Requisitos que deben reunir las enzimas

5. Deben ser compatibles con las condiciones del ensayo (pH, fuerza iónica, composición de los buffers, etc.).
6. Deben poseer grupos químicos reactivos para la conjugación.
7. Deben ser fácilmente conjugables a anticuerpos u otros sistemas de detección.
8. La enzima del conjugado no debe estar presente en el componente que se fijará a la fase sólida.

Condiciones que deben reunir los sustratos o compuestos cromogénicos

1. Deben ser solubles en agua, incoloros, inodoros y no tóxicos.
2. Deben ser estables al almacenamiento y luego de la detención de la reacción enzimática.
3. No deben ser fotosensibles.
4. Debe haber un amplio rango de linealidad entre el color formado y la concentración de enzima.

Requisitos de un buen conjugado

1. Debe tener una composición definida y homogénea.
2. Debe obtenerse sin pérdida de la actividad enzimática debido al proceso de conjugación.
3. Debe ser altamente estable al almacenamiento por períodos prolongados.
4. Debe ser económico, rápido y fácil de preparar.

Requisitos de un buen conjugado

5. El procedimiento de conjugación debe conducir a un alto rendimiento en conjugado y un bajo rendimiento en homopolímeros de Ac y/o enzima.
6. El procedimiento de separación del conjugado de las especies no marcadas (Ac y enzima) debe ser sencillo.

Preparación de conjugados enzimáticos

- Conjugación química
- Conjugación inmunológica

Conjugación química

- Se puede realizar en una o dos etapas.
- Tener en cuenta el pH del buffer.
- Agentes químicos: Glutaraldehído, peridoato de sodio, etc..
- Etapa final: Separación de la enzima y del Ac no conjugados.

Conjugación inmunológica

- Es posible formar complejos inmunes enzima-anti-enzima: PAP, APAAP, etc..
- Ello se logra mediante un puenteo entre el complejo inmune enzima-anti-enzima y la inmunoglobulina a revelar, por medio de Ac anti-inmunoglobulinas especie-específicos.

1. Inmovilización de inmunorreagentes en fase sólida

Soportes sólidos:

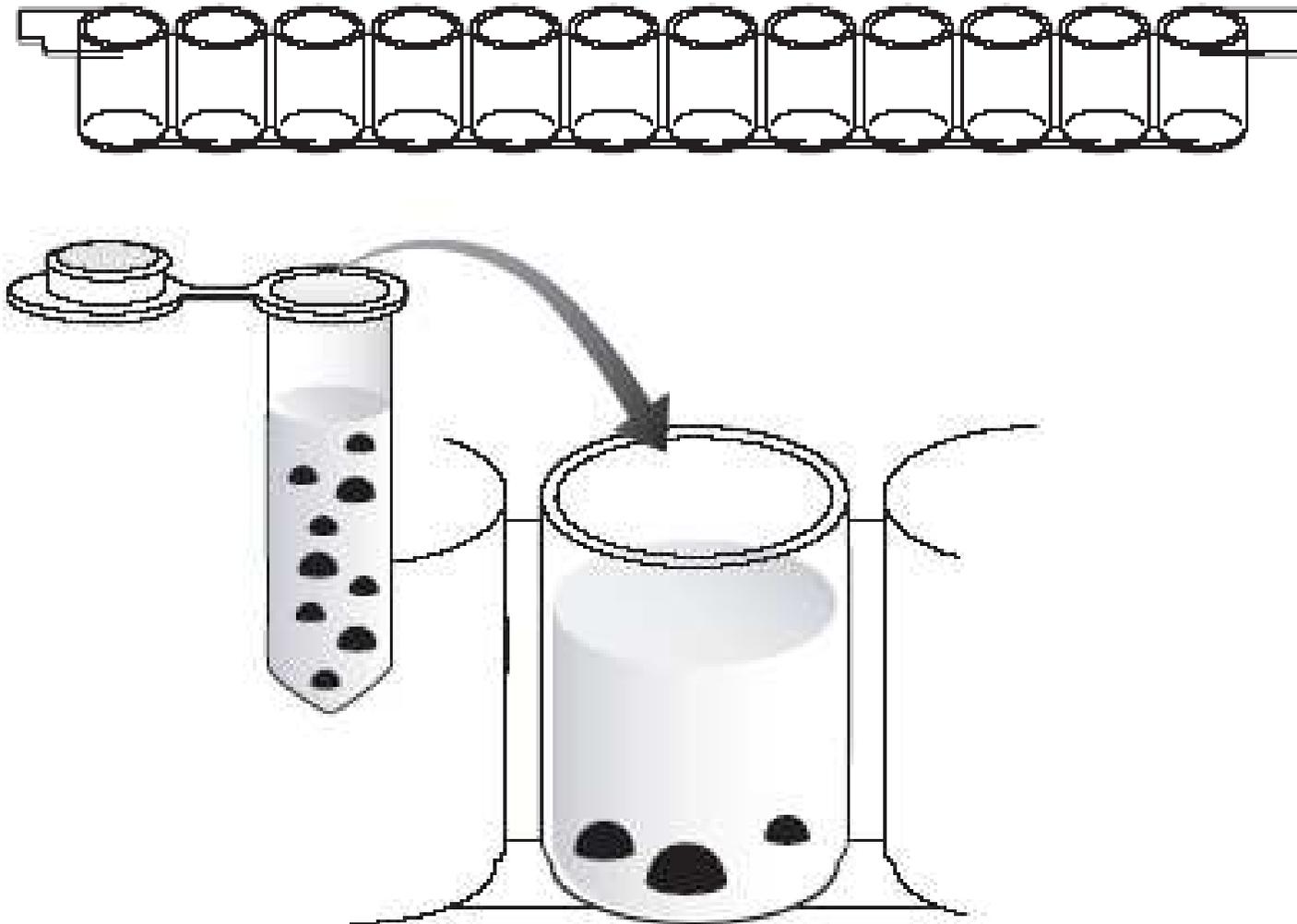
- agarosa,
- celulosa,
- dextrán,
- vidrio,
- nitrocelulosa,
- plásticos.

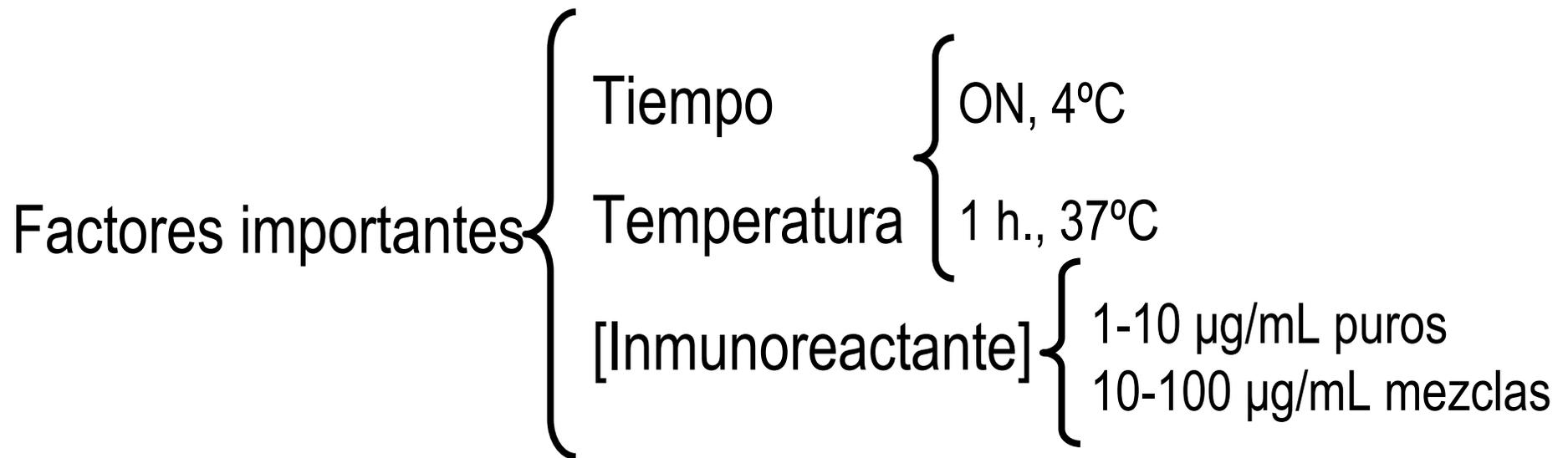
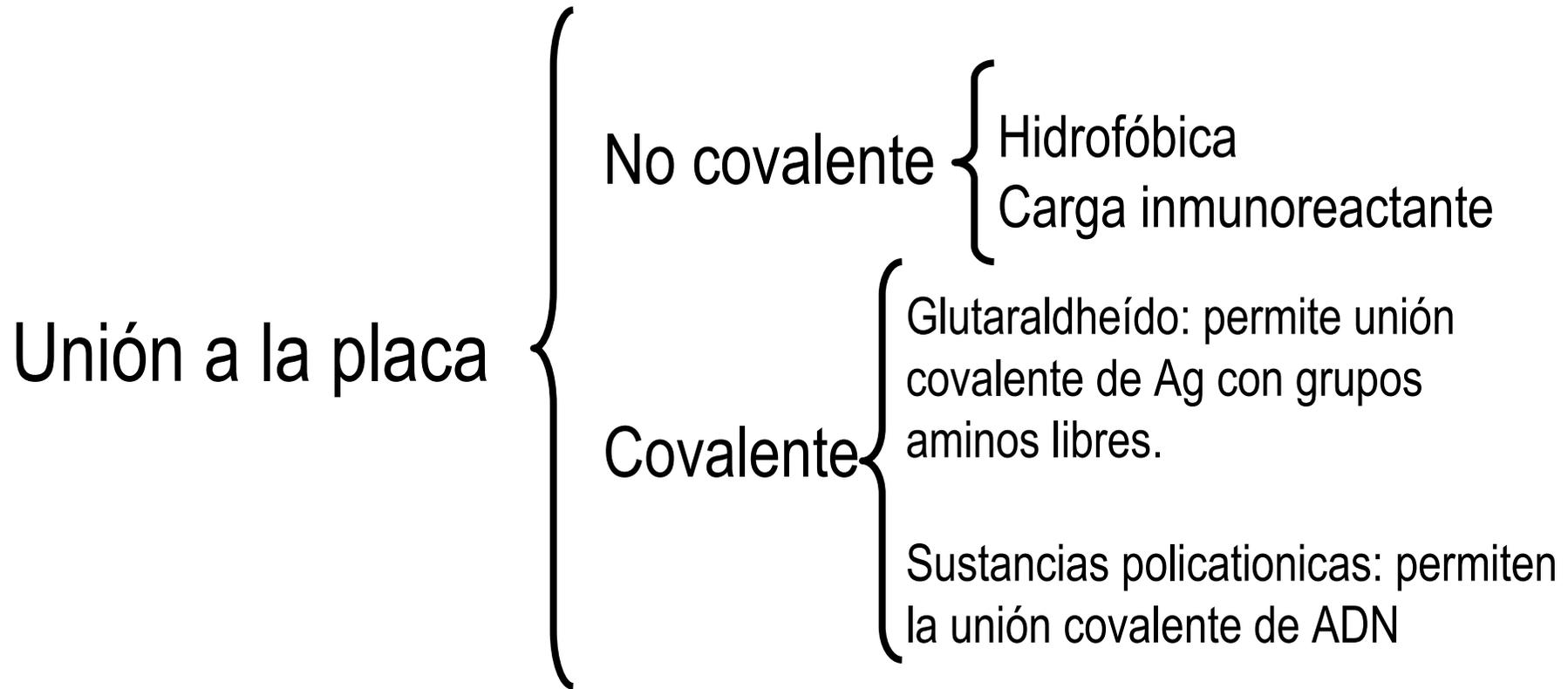
Superficies plásticas para ELISA

- esferas,
- discos,
- tubos,
- placas (policubetas) de fondo plano, en U o en V.



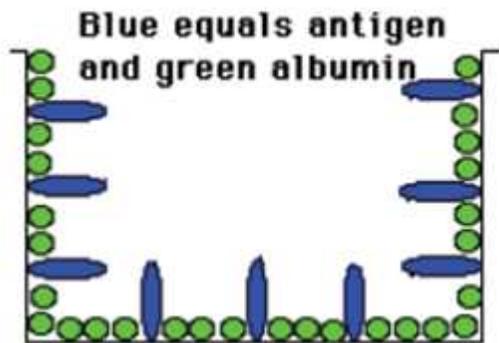
1. Inmovilización de inmunorreagentes en fase sólida





2. Bloquear los sitios libres

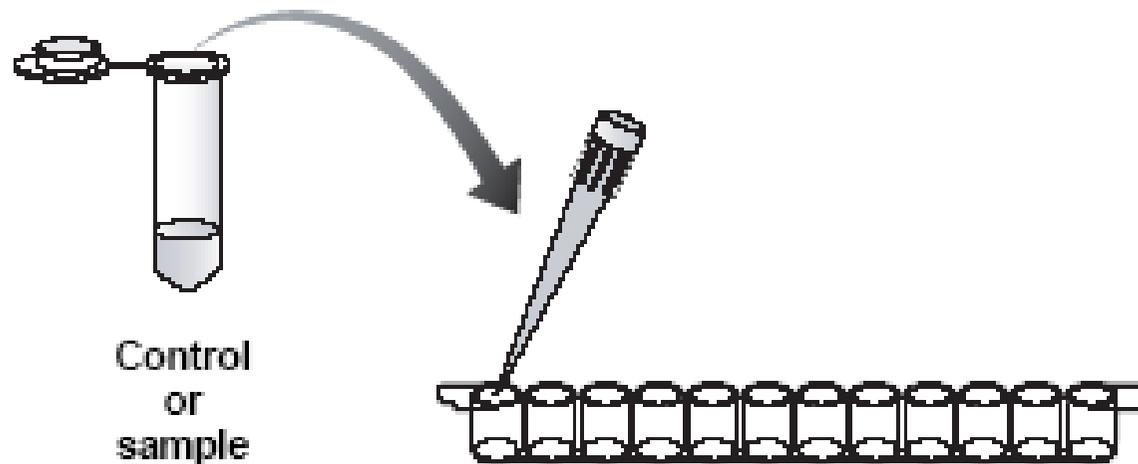
- Se realiza para tapar los sitios de unión al plástico libres que persisten luego de la etapa de sensibilización.
- Se utilizan proteínas ajenas al sistema diluidas en solución salina (PBS)

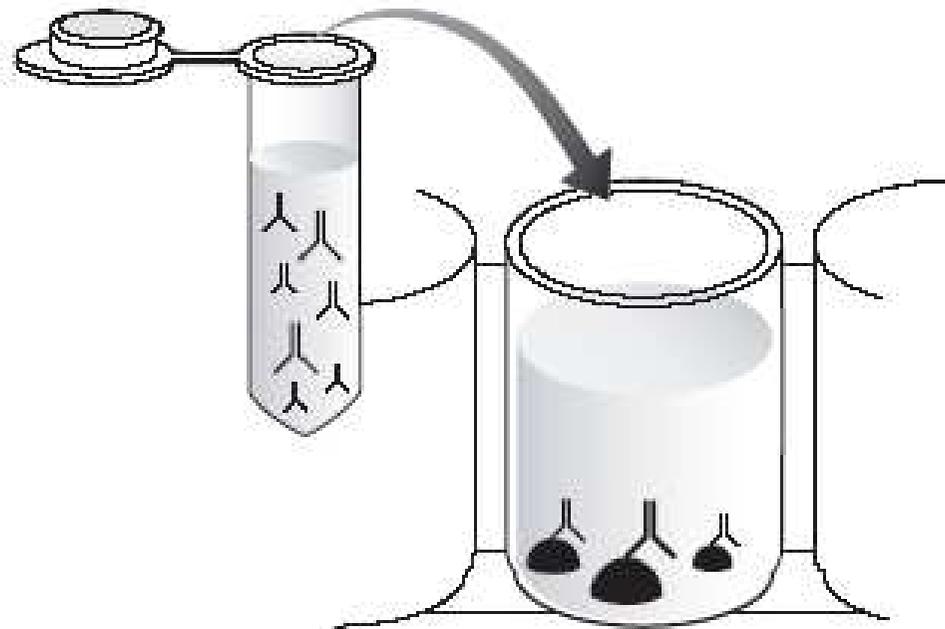
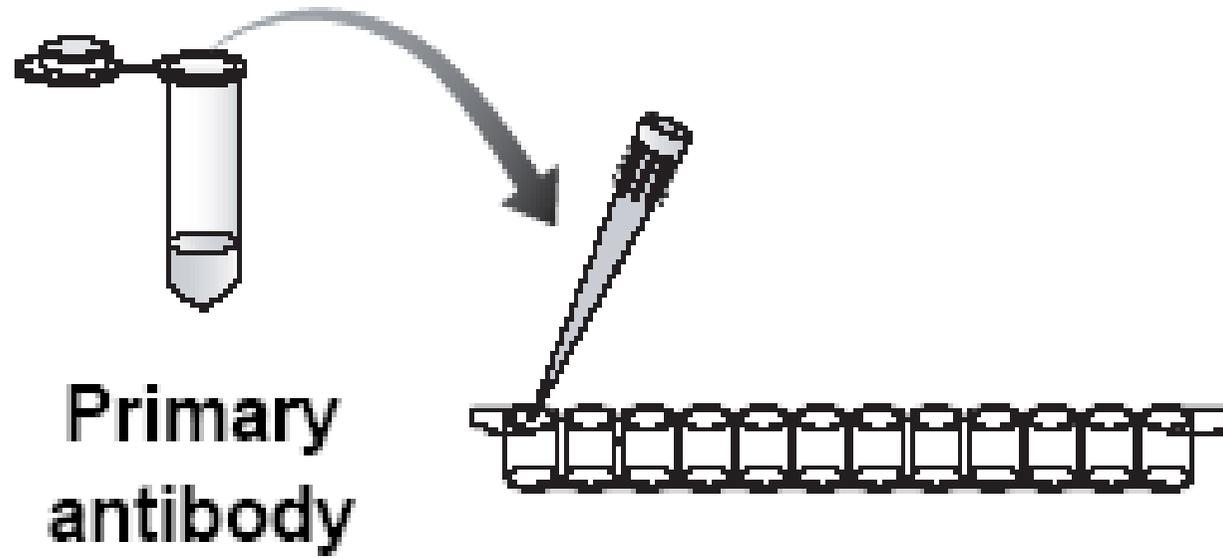


Leche descremada 3%
Suero de animales

3. Incubar con la muestra problema (suero)

- Se diluyen las muestras en el líquido de bloqueo.
- Se incuba un tiempo determinado a 37°C.
- Se lava con PBS Tween.



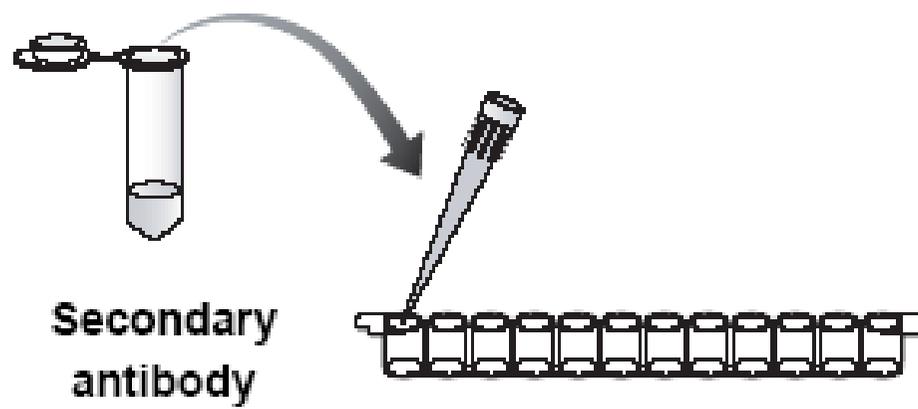
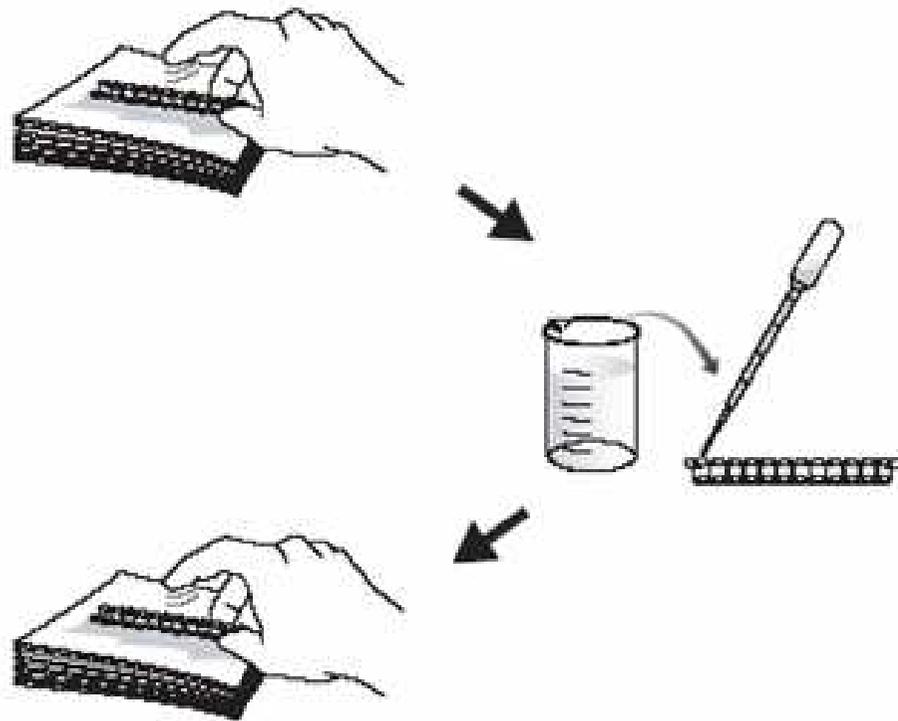


Lavados



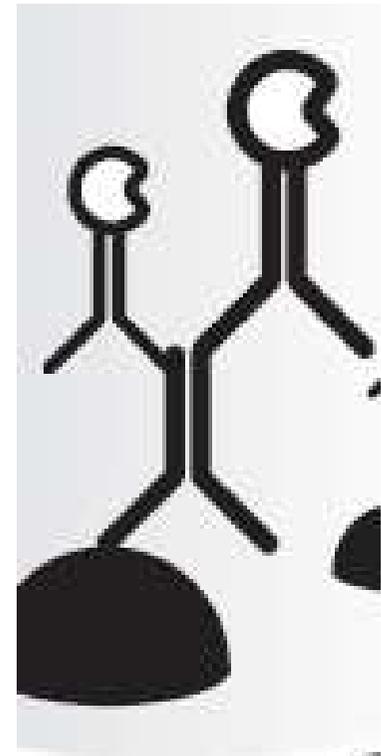
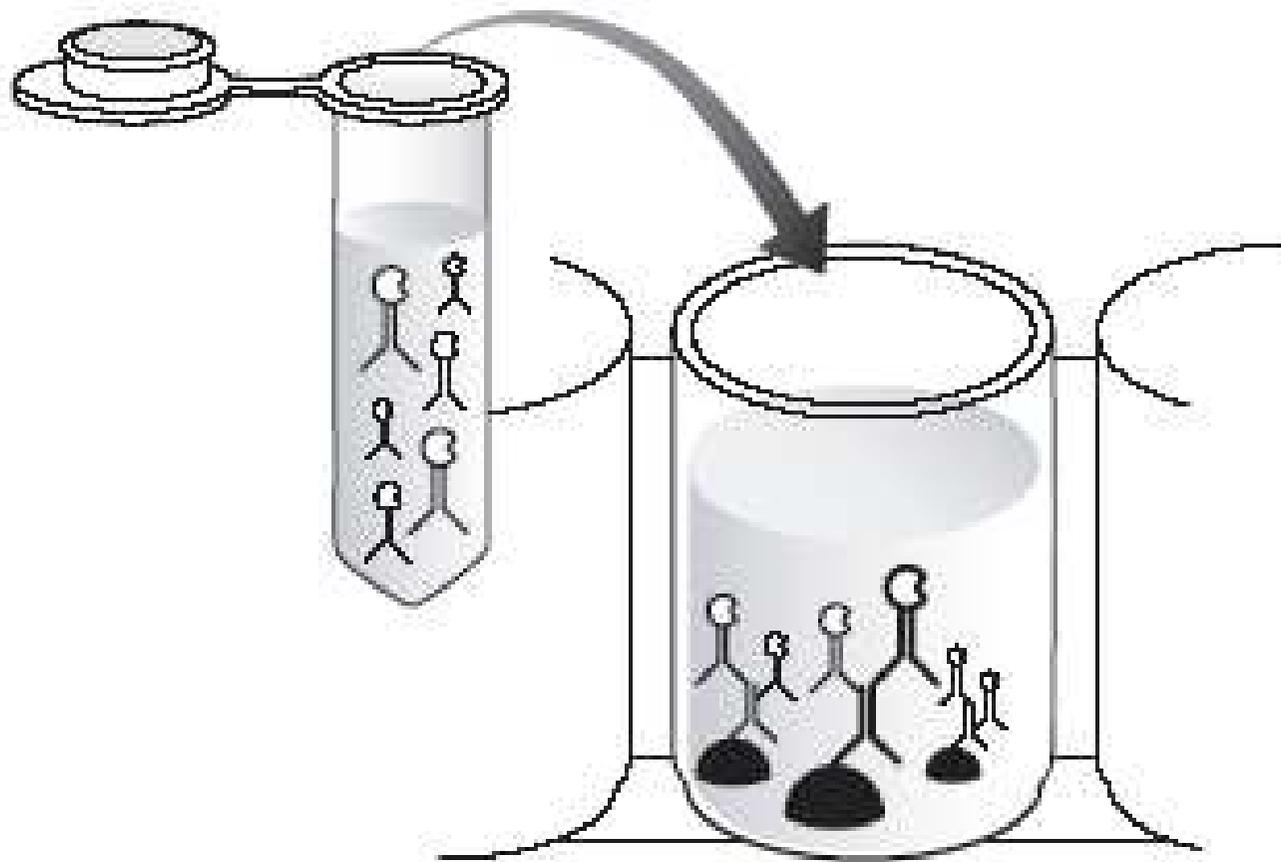
Lavados

- Se eliminan componentes libres o unidos de manera no específica al inmunoreactante inmovilizado en la placa.
- Se utilizan soluciones salinas isotónicas (PBS) suplementadas con detergentes (Tween 20).



4. Incubación con el conjugado enzimático

- Ac marcados con peroxidasa (también puede ser FA).
- Cantidad de conjugado diluido que se encuentre en exceso.
- Se incuba un tiempo determinado a 37°C.
- Se lava con PBS Tween.

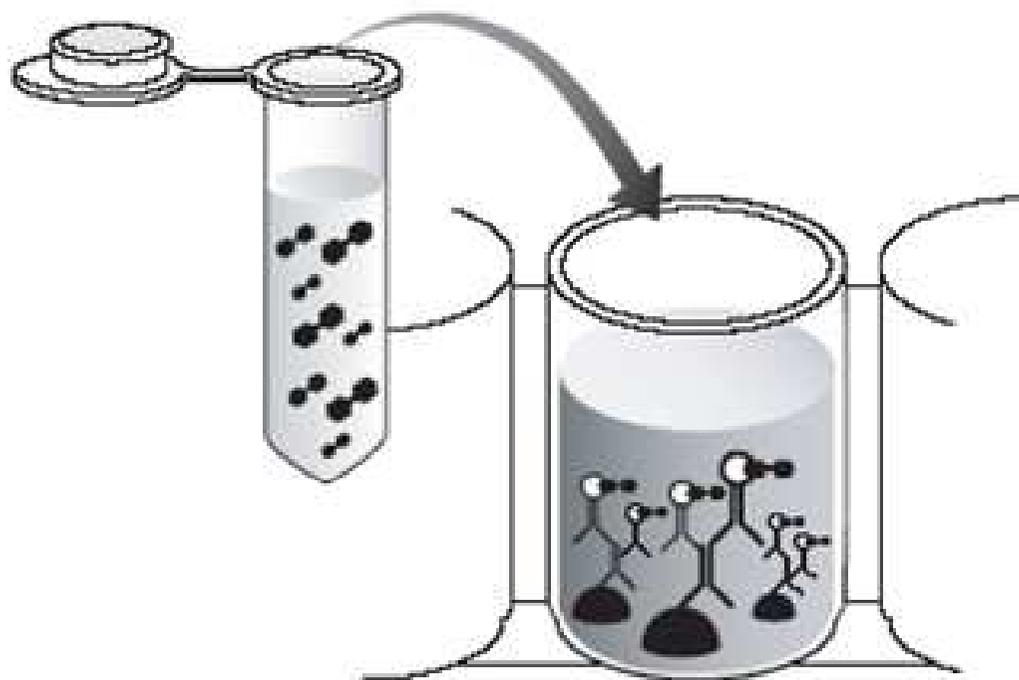
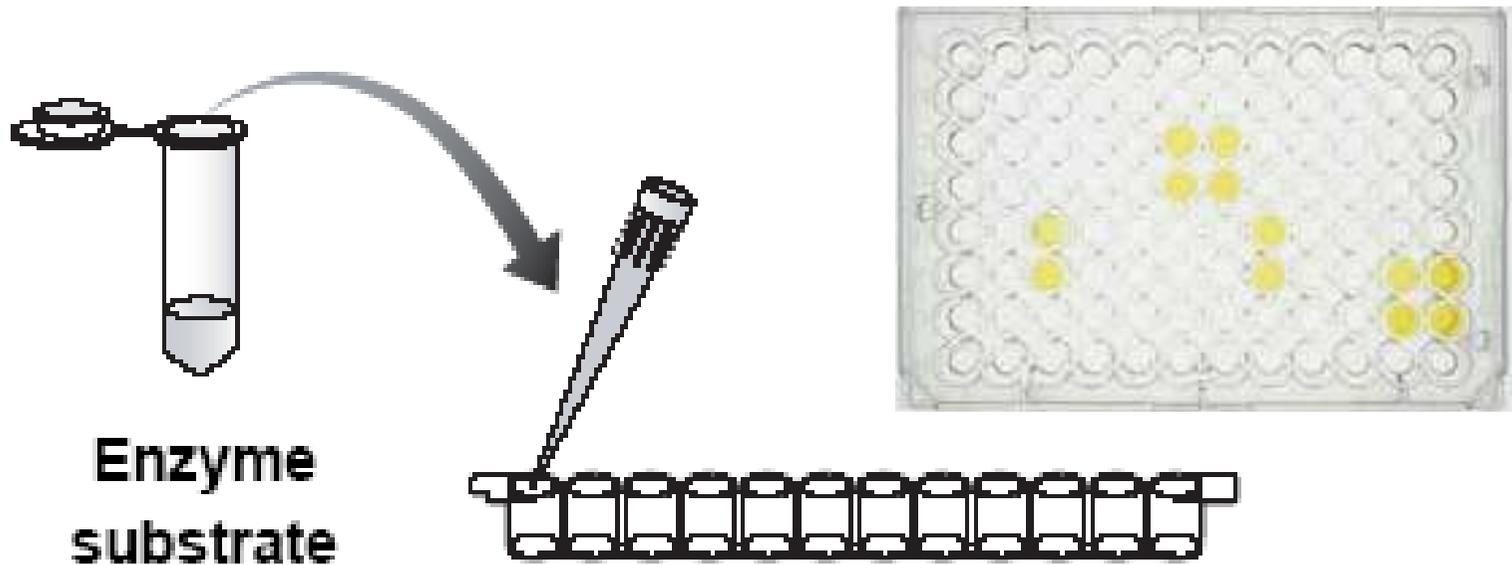


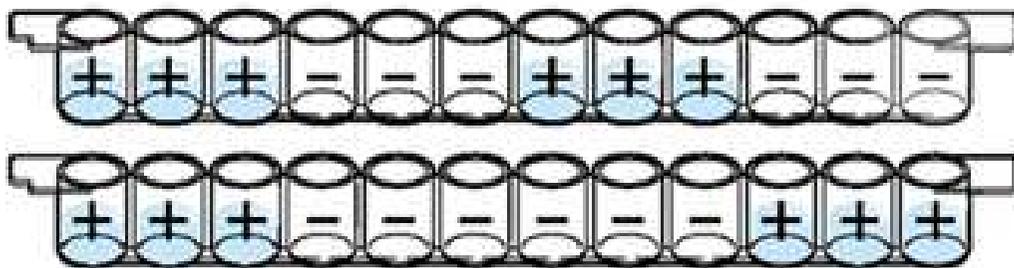
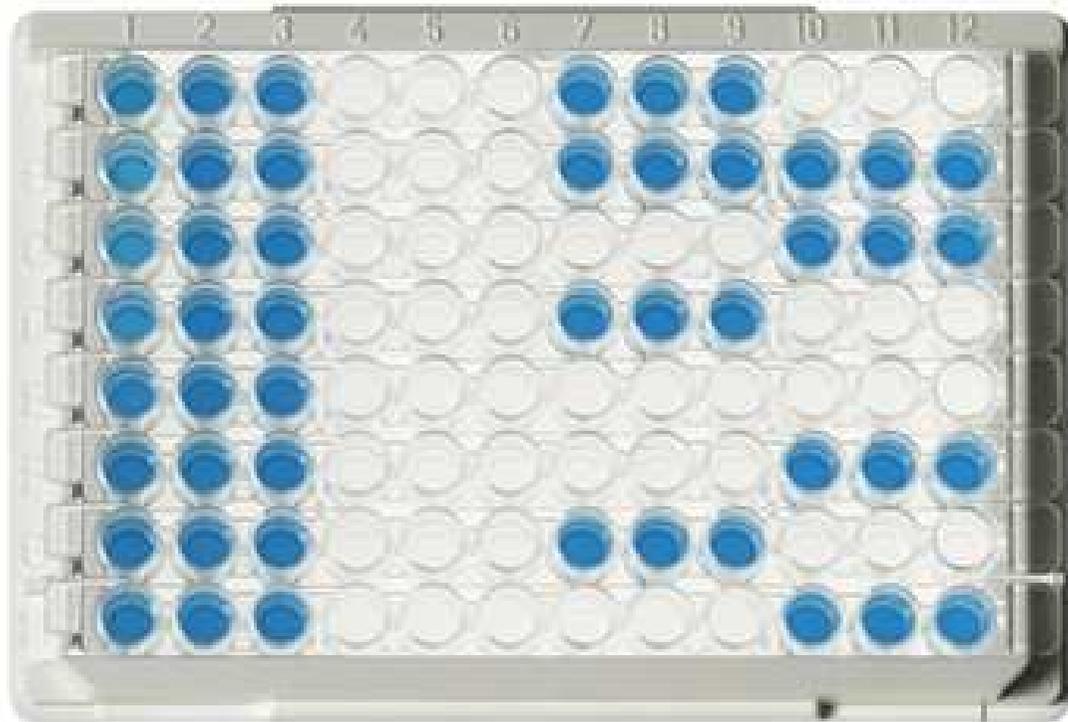
5. Revelado

- Se agrega el sustrato de la enzima
- Se forma un cromógeno soluble y cuantificable por espectrofotometría.



6. Frenar la reacción con un ácido o una base y leer DO





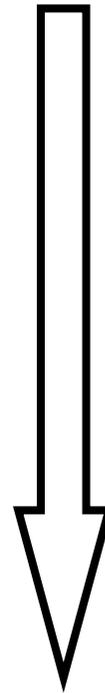
Enzimoimmunoensayos no
competitivos con Ag inmovilizado en
fase sólida

Se pueden distinguir tres tipos de métodos:

a) métodos directos;

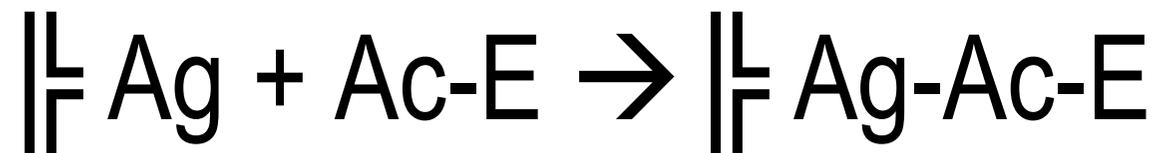
b) métodos indirectos;

c) métodos por puenteo.

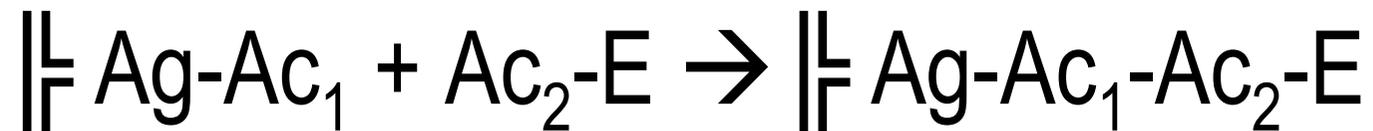
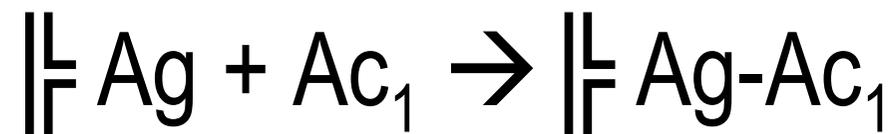


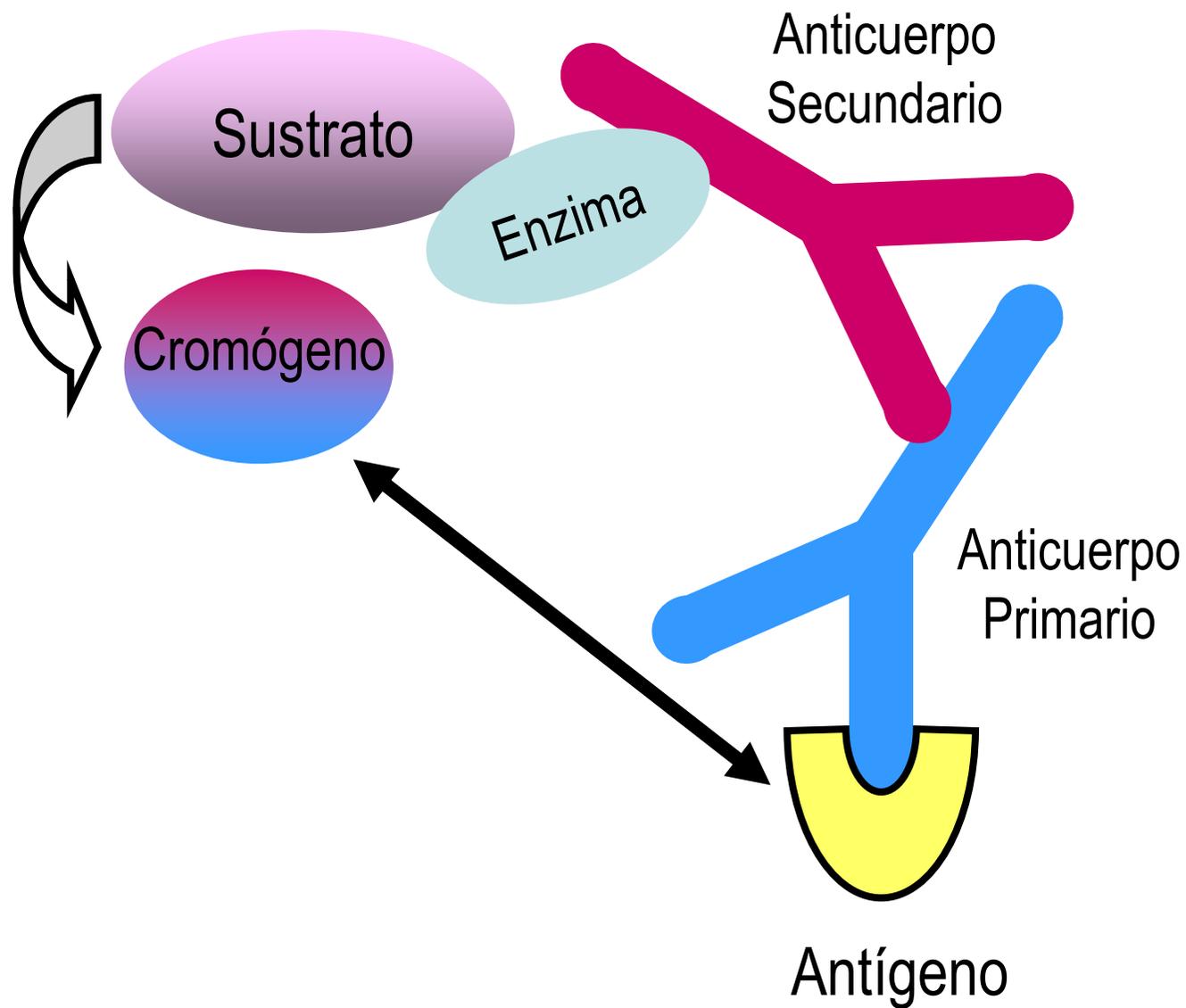
detectabilidad
creciente

Los métodos directos presentan la desventaja de que debe disponerse de un conjugado enzimático para cada Ag que se desea detectar

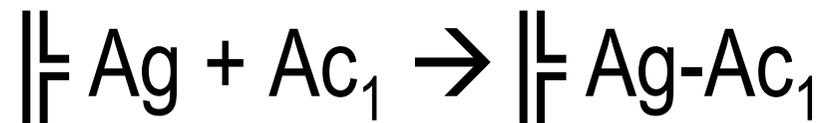


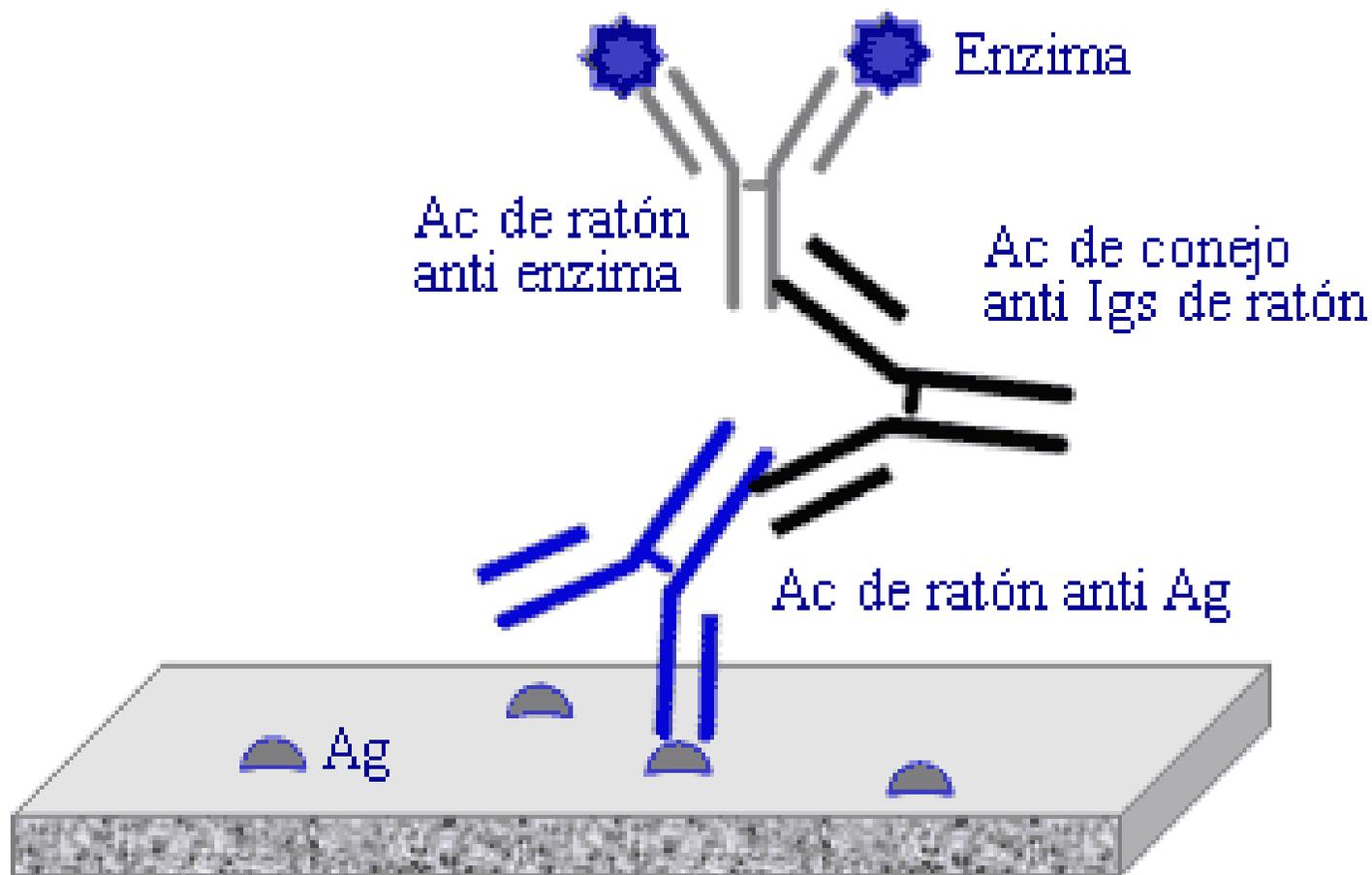
Los métodos indirectos consisten en la inmovilización de Ag, reacción con Ac específicos y posterior revelado con un conjugado anti-Igs especie-específico





Los métodos por puenteo emplean conjugados inmunológicos (como es el caso de la peroxidasa-anti-peroxidasa o PAP), la reacción entre biotina y avidina o lectinas





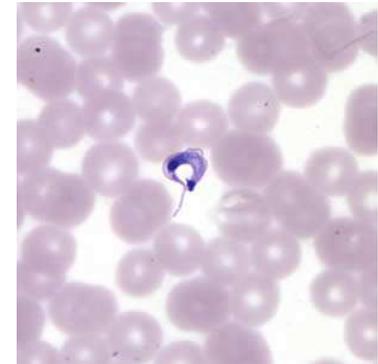
Trypanosoma cruzi

Etapa aguda → Parásito en sangre o IgM

- Diagnóstico parasitológico directo:



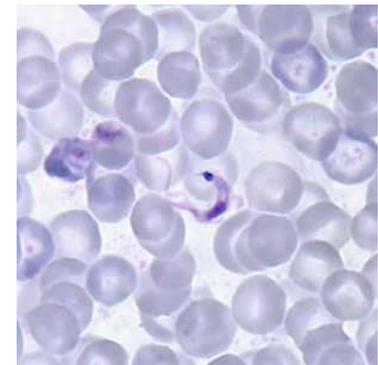
1. Observación microscópica en fresco



2. Gota gruesa



3. Método de concentración: MicroStrout



4. Xenodiagnóstico

5. PCR

Etapa crónica → Métodos inmunológicos

- Diagnóstico parasitológico indirecto:
 - HAI
 - ELISA
 - IFI

Tests serológicos para diagnóstico de la infección por T. cruzi más utilizados para el tamizaje serológico

Pruebas convencionales:

- Inmunofluorescencia indirecta (IFI)
- Hemaglutinación indirecta (HAI)
- ELISA
 - Ag lisado parasitario → 1ª Generación
 - Ag parcialmente purificados → 2ª Generación
 - Ag recombinantes → 3ª Generación

HAI

- Utilizada desde 1962
- Detección de Ac IgG
- Bajo costo
- Lectura visual
 - » Subjetiva
- Valor de corte en el tamizaje: 1/32
 - » Alto % de RFN

IFI

- Utilizada desde 1966
- Detección de Ac IgG e IgM
- Costo intermedio
- Lectura en microscópio de fluorescencia
 - » Visual / subjetiva
- Valor de corte en el tamizaje: 1/32
 - » Alto % de RFP

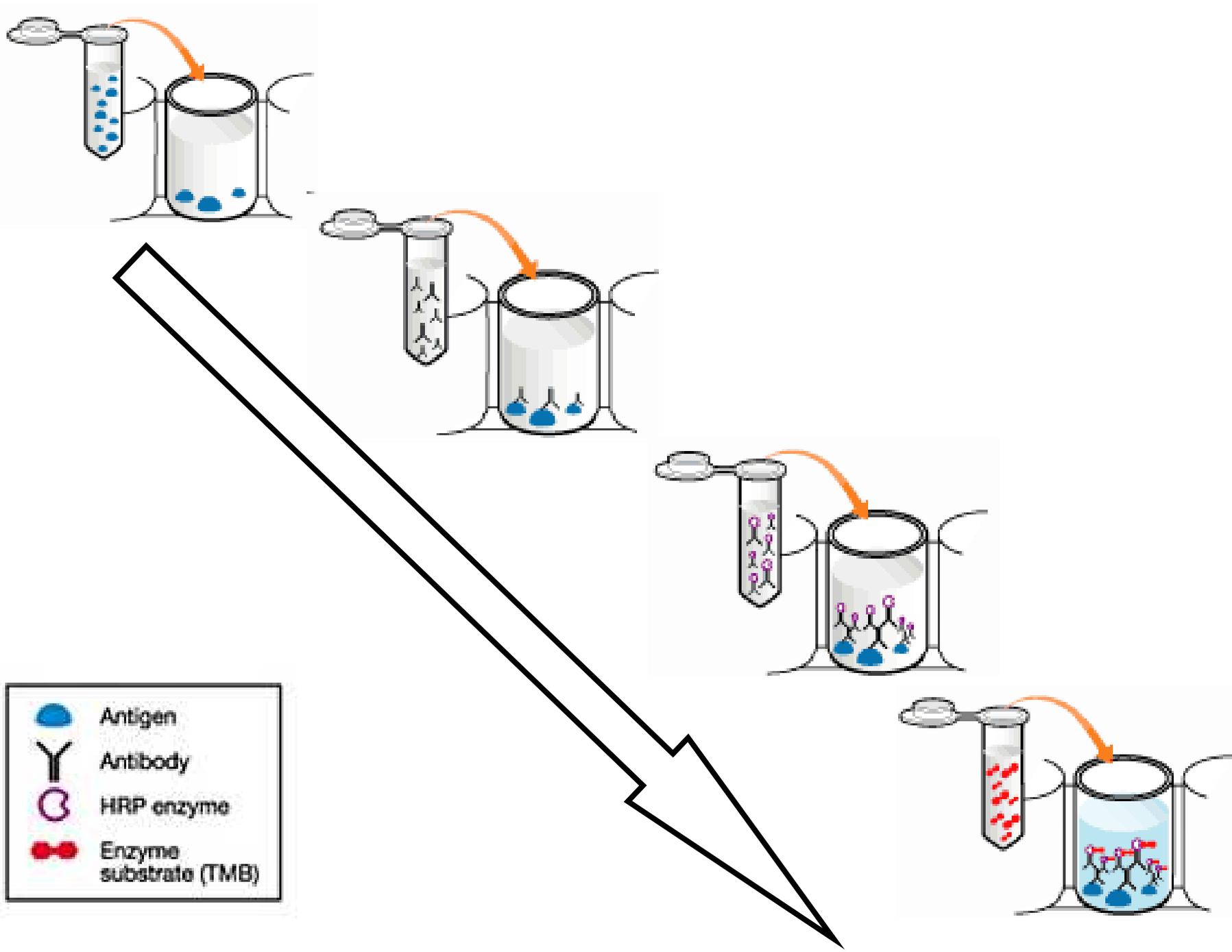
ELISA

- Utilizada desde 1972
- Detección de Ac IgG
- Costo más elevado que HAI y IFI
- Lectura en espectrofotómetro (DO)
 - » Lectura objetiva
- Valor de corte (cut-off) y zona gris
 - » Define sensibilidad y especificidad
- Gran número de kits comerciales
 - » Sensibilidad: 97,7 – 100%
 - » Especificidad: 93,3 – 100%

Chagatest

ELISA recombinante v.3.0

Ensayo inmunoenzimático (ELISA) de 3ª generación para la detección de anticuerpos contra el *Trypanosoma cruzi*



-  Antigen
-  Antibody
-  HRP enzyme
-  Enzyme substrate (TMB)

Reactivos provistos

Policubeta sensibilizada: policubeta de tiras removibles con pocillos que contienen antígenos recombinantes de *T. cruzi* inmovilizados.

Conjugado: anti-inmunoglobulinas humanas (cabra) conjugadas con peroxidasa.

Revelador A: peróxido de hidrógeno 60 mmol/l en buffer citrato 50 mmol/l pH 3,2.

Revelador B: tetrametilbencidina (TMB) 0,01 mol/l en ácido clorhídrico 0,1 N.

Stopper: ácido sulfúrico 2 N.

Buffer de Lavado concentrado: cloruro de sodio 1,4 mol/l en buffer fosfatos 100 mmol/l y tensioactivo no iónico 0,1 g/l.

Diluyente de Muestras: albúmina bovina en solución fisiológica tamponada con buffer fosfatos pH 7,2.

Control Positivo: dilución de suero inactivado conteniendo anticuerpos contra el *Tripanosoma cruzi*.

Control Negativo: dilución de suero no reactivo, inactivado.

	D	CP	CN
Diluyente de Muestras	200 μ L	200 μ L	200 μ L
Control Positivo	-	10 μ L	-
Control Negativo	-	-	10 μ L
Muestra	10 μ L	-	-



Incubar y lavar

Luego agregar 1 gota del conjugado

Luego agregar en cada pocillo:

- 1 gota de Revelador A (H_2O_2 en buffer citrato),
- 1 gota de Revelador B (TMB: tetrametilbencidina en HCl).

- Mezclar durante 10". Incubar 30' a T ambiente y luego agregar: 1 gota de Stopper (H_2SO_4). Mezclar durante 10".

- Leer en espectrofotómetro a 450 nm o evaluar el resultado a simple vista por comparación con los CP y N.

Cálculo del valor de corte

- Un elemento esencial en todo ELISA cuantitativo es establecer el valor de discriminación entre una muestra positiva y una muestra negativa. Este valor se denomina valor de corte o “cut-off”.

Chagatest

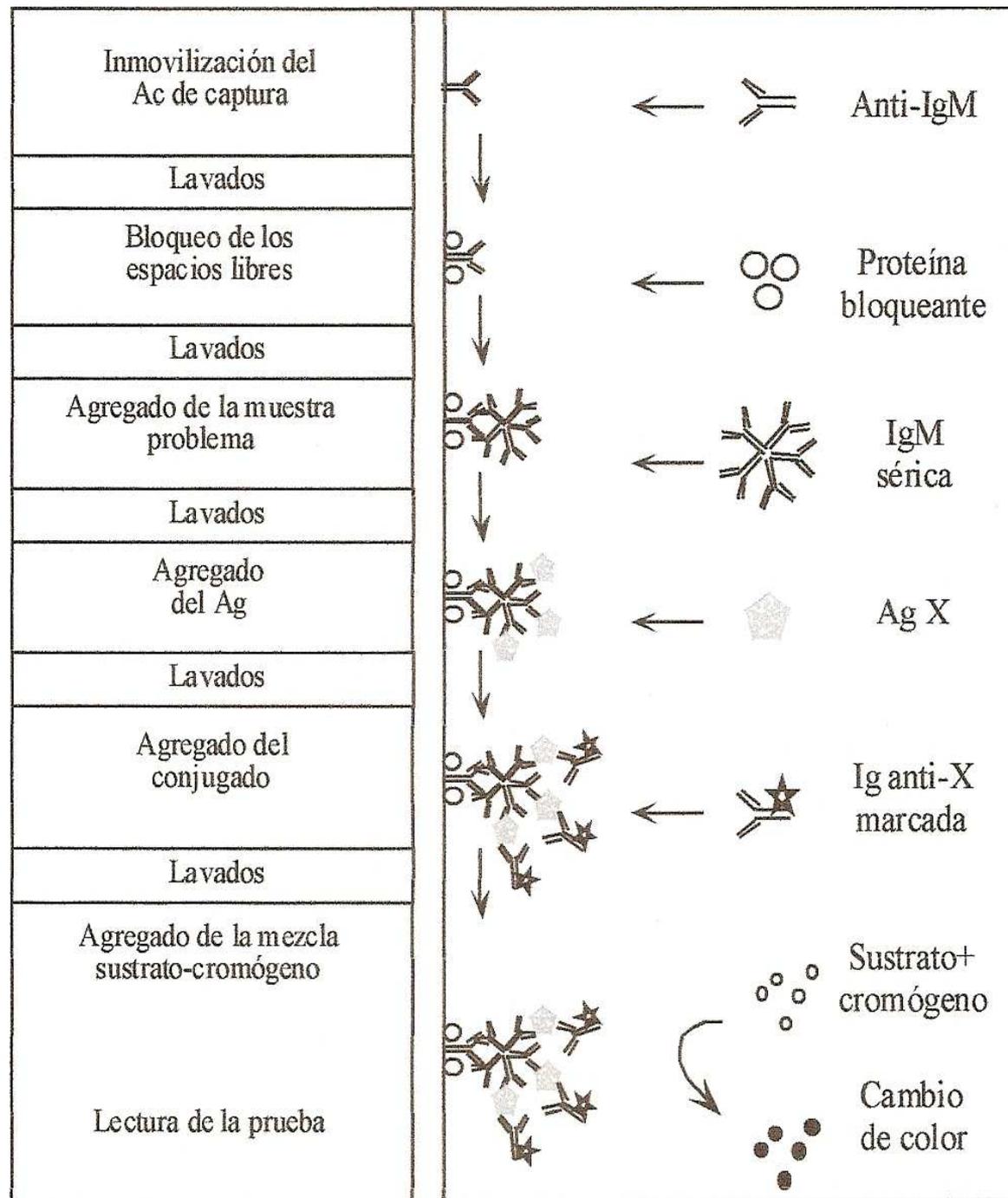
ELISA

Ensayo inmunoenzimático (ELISA) para la detección de anticuerpos contra el Trypanosoma cruzi

Policubeta sensibilizada: policubeta de tiras removibles con pocillos que contienen antígenos citoplasmáticos y de membrana de Trypanosoma cruzi inmovilizados.

Enzimoimmunoensayos no
competitivos con Ac inmovilizado en
fase sólida

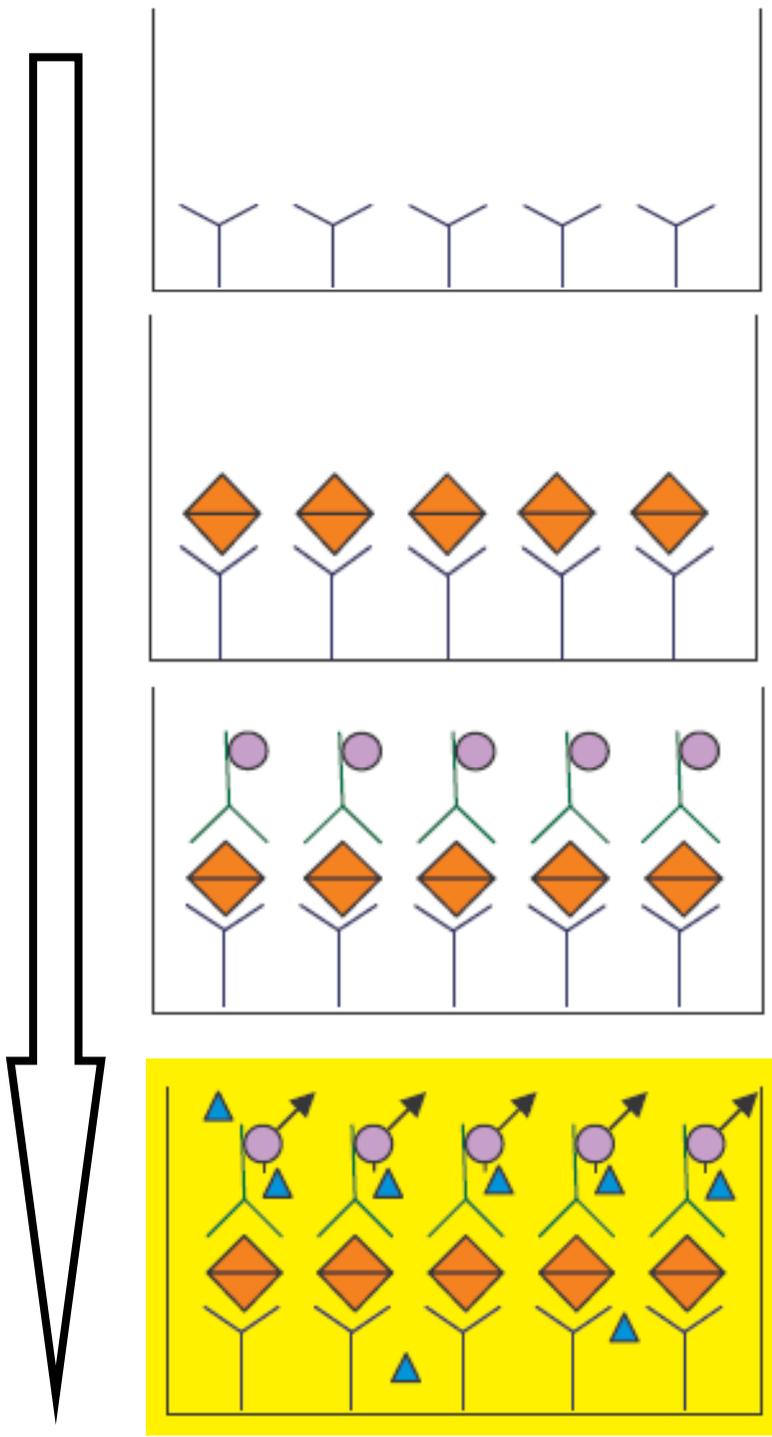
“ELISAs de captura o Sandwich”



Hepatitis B (HBsAg)

ELISA

Ensayo inmunoenzimático (ELISA) de 3ª generación para la detección del antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HBsAg)



Reactivos provistos

Policubeta sensibilizada: policubeta de tiras removibles con pocillos que contienen anticuerpo monoclonal anti-HBs inmovilizado.

Conjugado concentrado: anticuerpo monoclonal anti-HBs conjugado con peroxidasa.

Diluyente de Conjugado: buffer Tris conteniendo aditivos y conservantes.

Revelador A: peróxido de hidrógeno 60 mmol/l en buffer citrato 50 mmol/l.

Policubeta sensibilizada: policubeta de tiras removibles con pocillos que contienen anticuerpo monoclonal anti-HBs inmovilizado.

Conjugado concentrado: anticuerpo monoclonal anti-HBs conjugado con peroxidasa.

Diluyente de Conjugado: buffer Tris conteniendo aditivos y conservantes.

Revelador A: peróxido de hidrógeno 60 mmol/l en buffer citrato 50 mmol/l.

	D	CP	CN
Control Positivo	-	100 μ L	-
Control Negativo	-	-	100 μ L
Muestra	100 μ L	-	-

Incubar y lavar



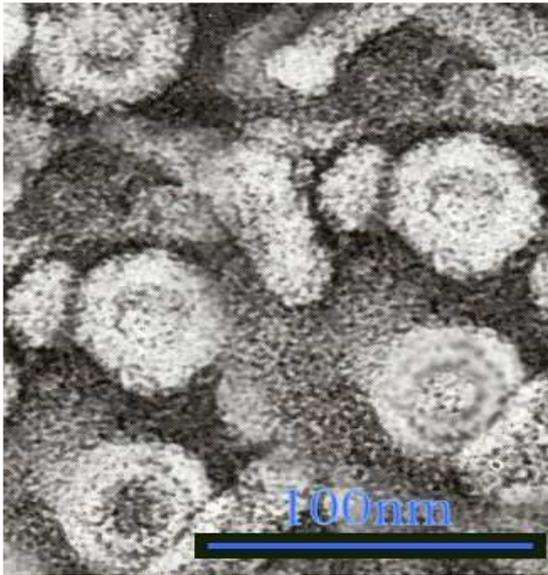
Luego agregar 100 μ L de conjugado

Luego agregar en cada pocillo:

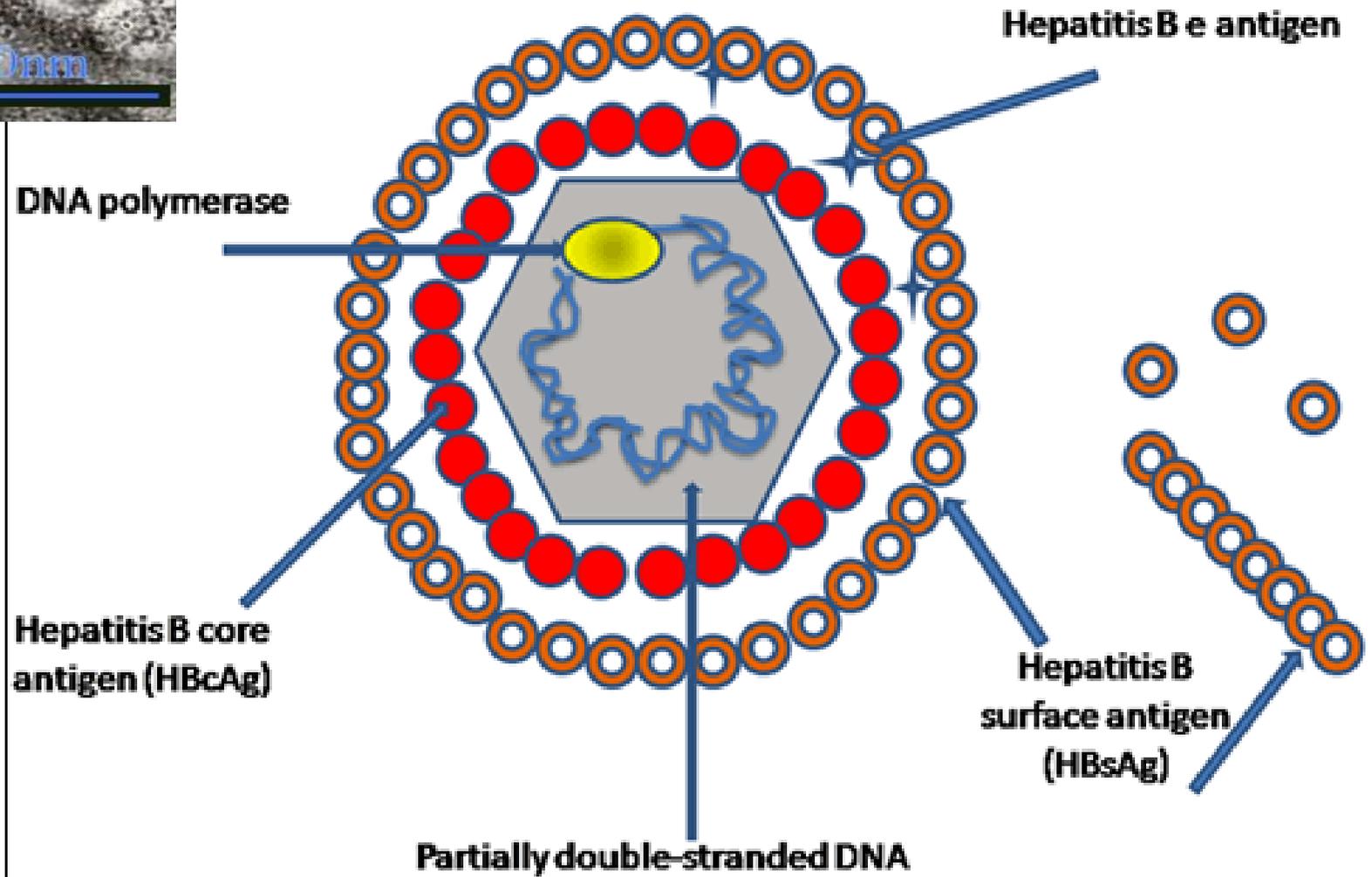
- 1 gota de Revelador A (H_2O_2 en buffer citrato),
- 1 gota de Revelador B (TMB: tetrametilbencidina en HCl).

- Mezclar durante 10". Incubar 30' a T ambiente y luego agregar: 1 gota de Stopper (H_2SO_4). Mezclar durante 10".

- Leer en espectrofotómetro a 450 nm o evaluar el resultado a simple vista por comparación con los CP y N.



HBV



HBsAg anti-HBc anti-HBs	negative negative negative	Susceptible
HBsAg anti-HBc anti-HBs	negative positive positive	Immune due to natural infection
HBsAg anti-HBc anti-HBs	negative negative positive	Immune due to hepatitis B vaccination
HBsAg anti-HBc IgM anti-HBc anti-HBs	positive positive positive negative	Acutely infected
HBsAg anti-HBc IgM anti-HBc anti-HBs	positive positive negative negative	Chronically infected
HBsAg anti-HBc anti-HBs	negative positive negative	Interpretation unclear; four possibilities: 1. Resolved infection (most common) 2. False-positive anti-HBc, thus susceptible 3. "Low level" chronic infection 4. Resolving acute infection

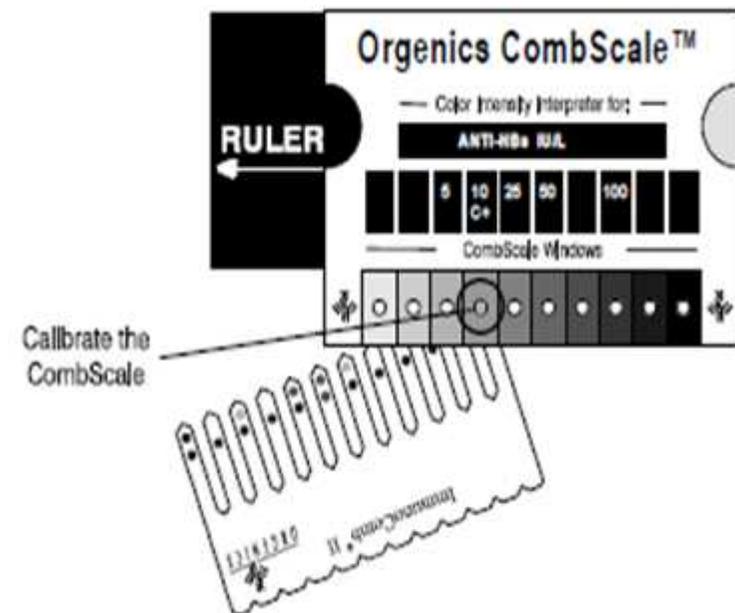
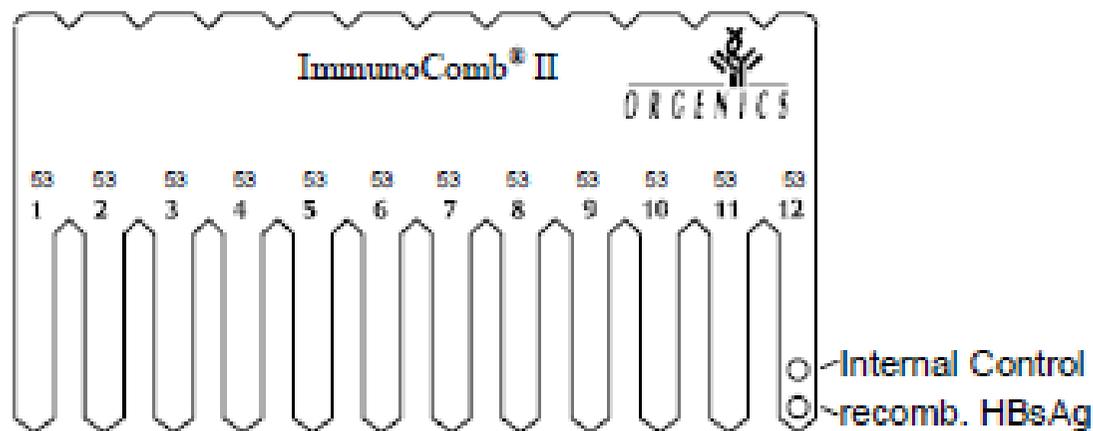
■ **Hepatitis B surface antigen (HBsAg):**

A protein on the surface of hepatitis B virus; it can be detected in high levels in serum during acute or chronic hepatitis B virus infection. The presence of HBsAg indicates that the person is infectious. The body normally produces antibodies to HBsAg as part of the normal immune response to infection. HBsAg is the antigen used to make hepatitis B vaccine.

ImmunoComb® II

Anti-HBs

- **Hepatitis B surface antibody (anti-HBs):**
The presence of anti-HBs is generally interpreted as indicating recovery and immunity from hepatitis B virus infection. Anti-HBs also develops in a person who has been successfully vaccinated against hepatitis B.



Puenteo no inmunológico



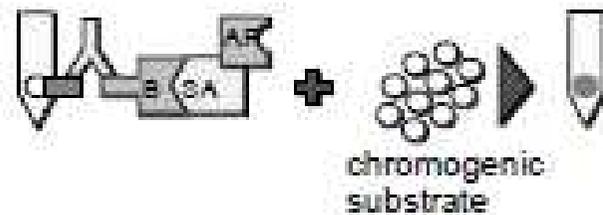
HBsAg – antibody complex formation; 120 min/37°C



Binding of biotinylated HBsAg; 30 min/37°C

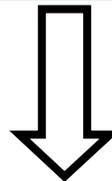


Binding of streptavidin- AP; 20 min/37°C



Enzymatic color reaction; 10 min/37°C

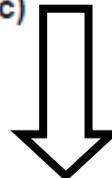
- **Total hepatitis B core antibody (anti-HBc):** Appears at the onset of symptoms in acute hepatitis B and persists for life. The presence of anti-HBc indicates previous or ongoing infection with hepatitis B virus in an undefined time frame.



Hepatitis B (anti-HBc)

ELISA

Ensayo inmunoenzimático (ELISA) para la detección de anticuerpos contra el antígeno core del virus de la hepatitis B (anti-HBc)

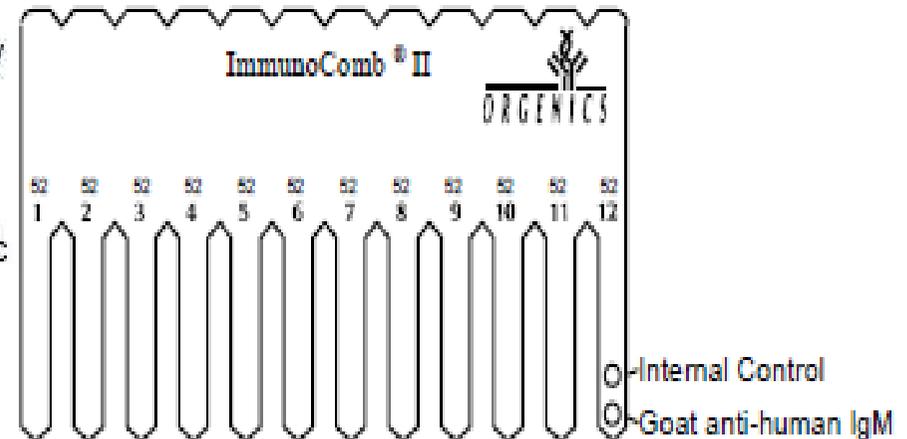
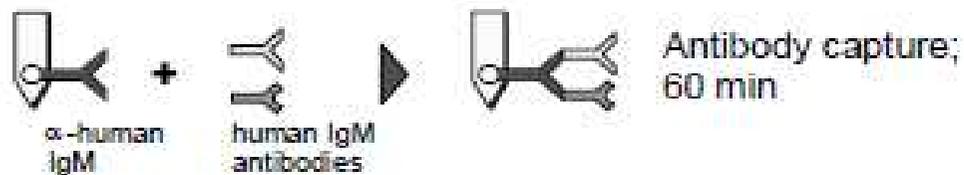


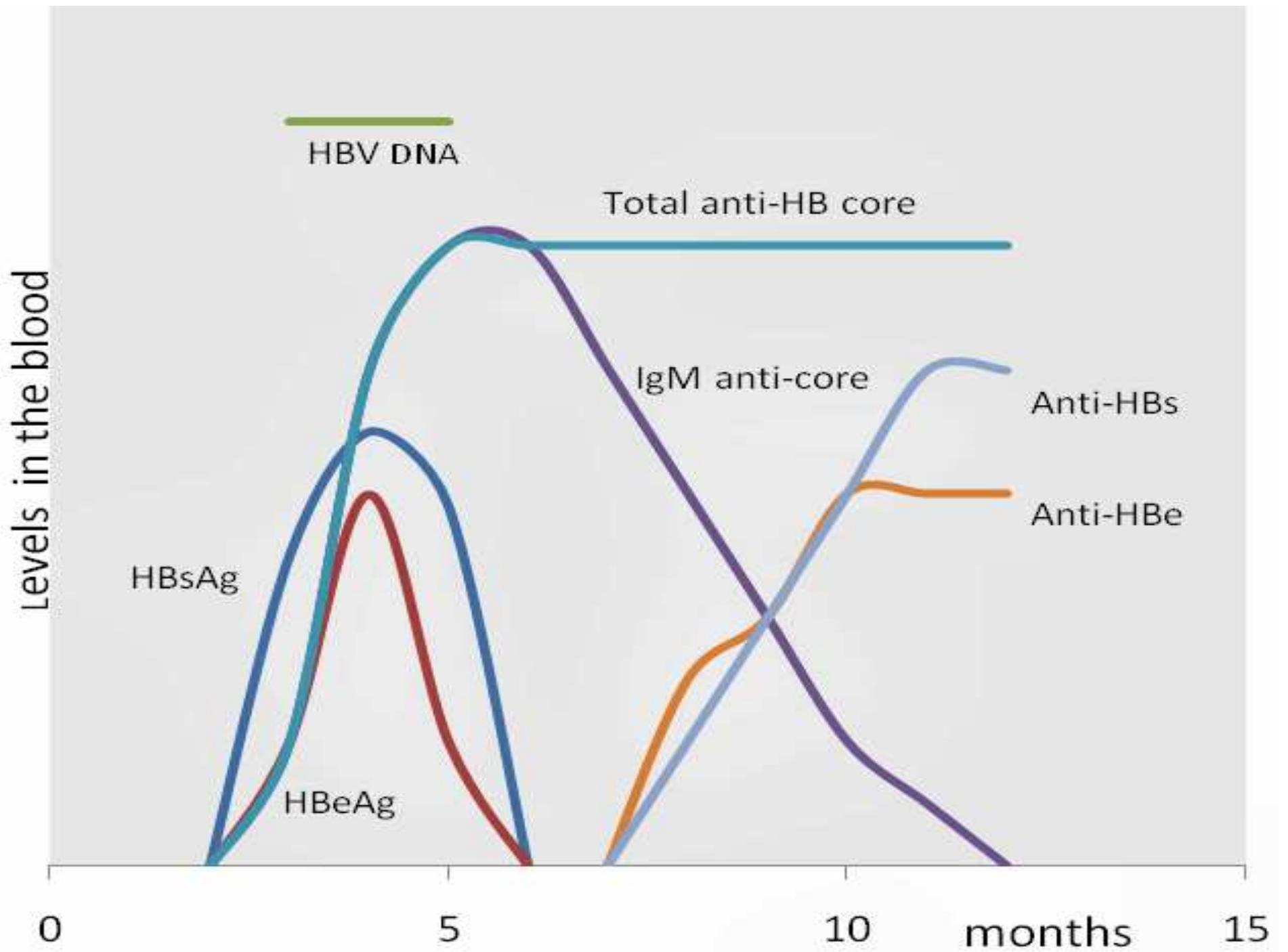
Policubeta sensibilizada: policubeta de tiras removibles con pocillos que contienen HBcAg recombinante inmovilizado.
Conjugado: anticuerpo anti-HBc conjugado con peroxidasa.

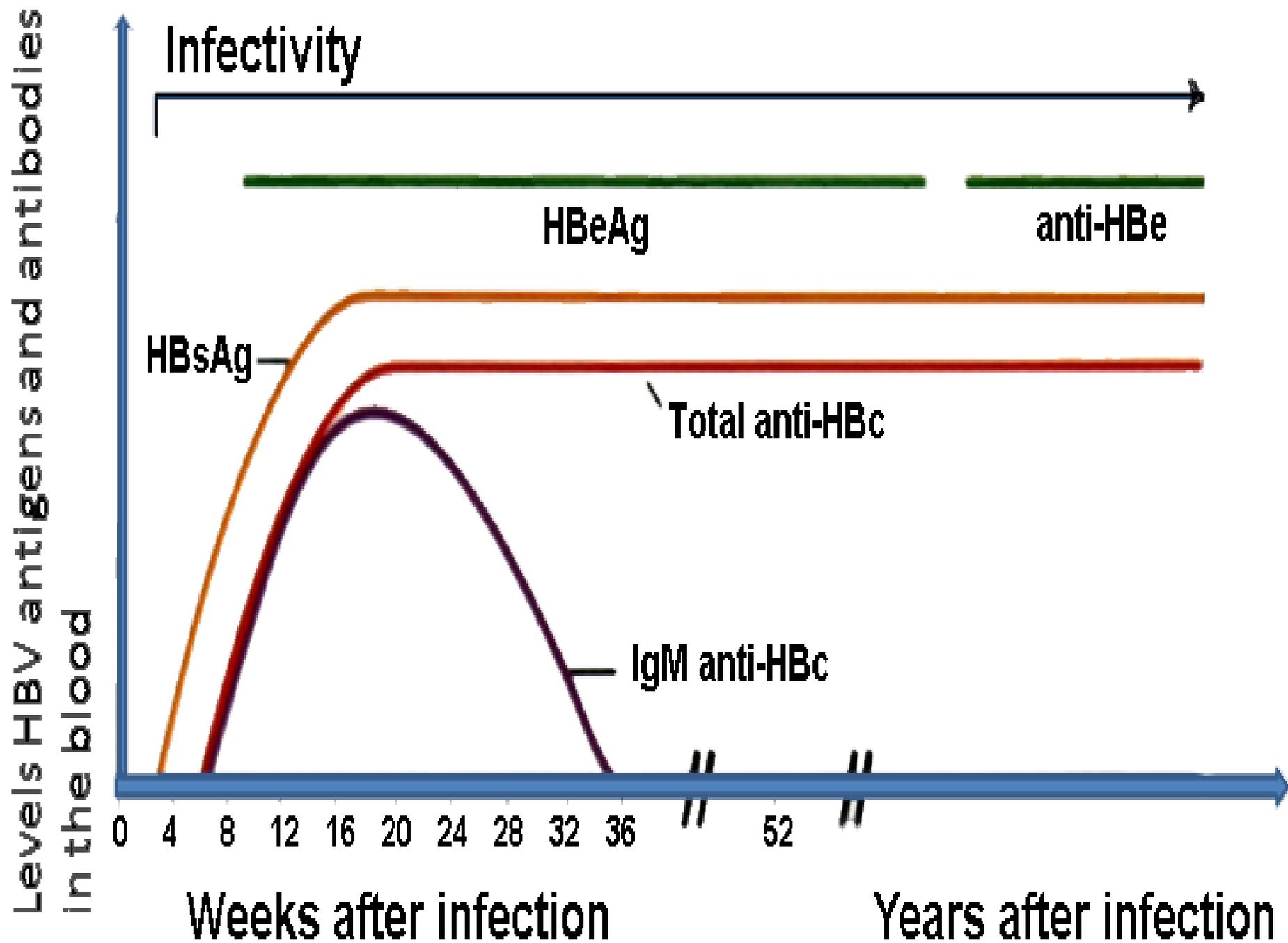
ImmunoComb® II

HBc IgM

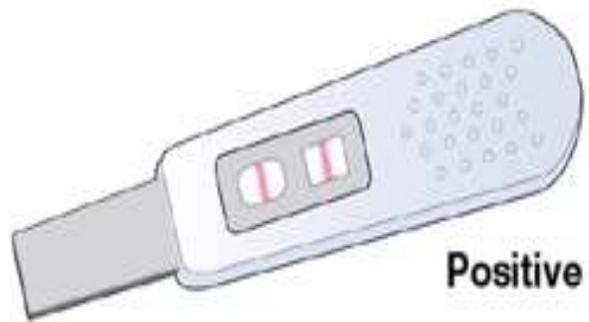
■ IgM antibody to hepatitis B core antigen (IgM anti-HBc): Positivity indicates recent infection with hepatitis B virus (≤ 6 mos). Its presence indicates acute infection.



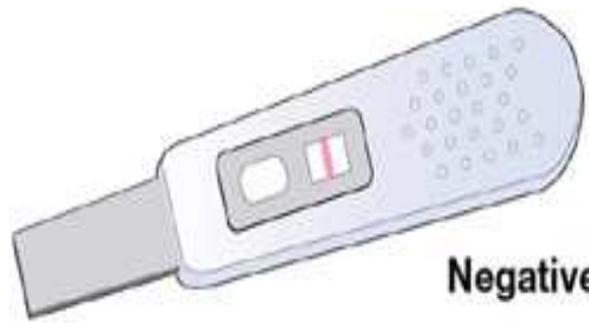




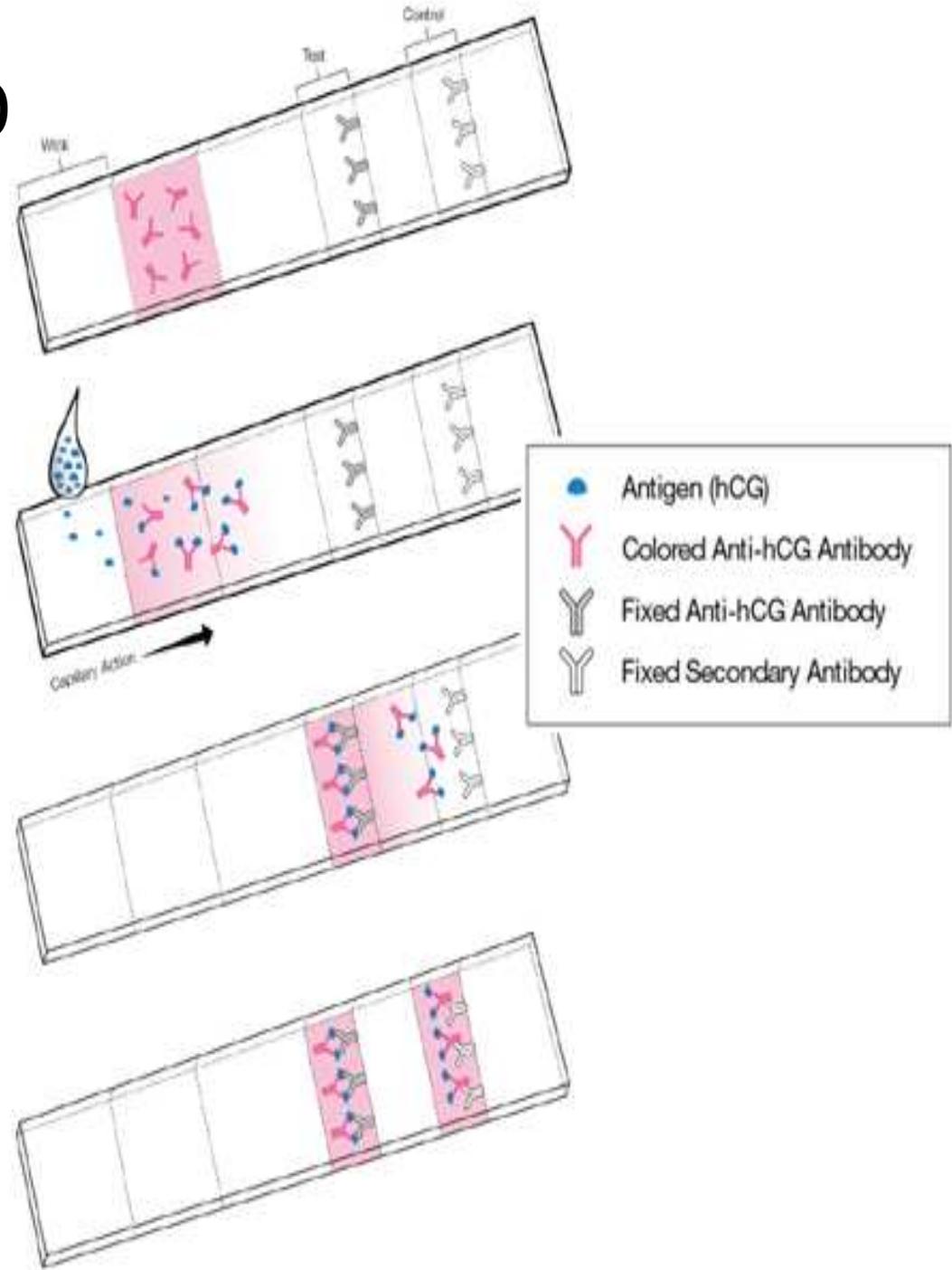
Test de Embarazo



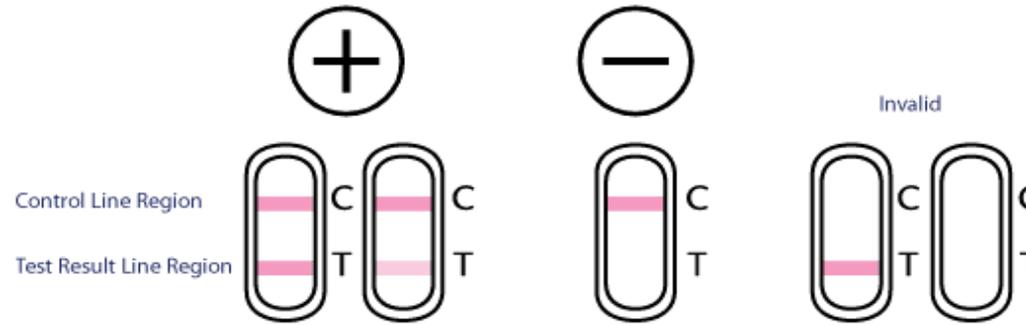
Positive



Negative



Positivo

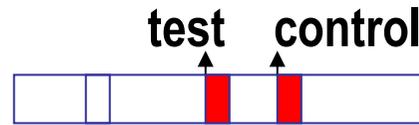
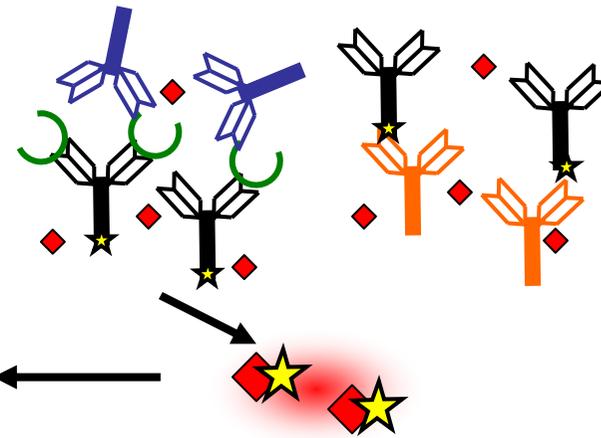
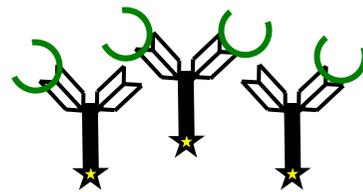
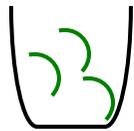


muestra con hormona hCG

hCG se pega a AcMo de ratón anti-hCG-E en la zona de reacción

Ac policlonales anti-hCG + sustrato en la zona del test se unen a otros epítopes de la hCG

AcMo de ratón anti-hCG-E que no se unieron se pegan a Ac anti-ratón + sustrato en la zona de control



Unión del sustrato con la enzima y desarrollo de color

Dot-blot

- El Dot-blot es un método inmunoenzimático en el que se inmoviliza un inmunorreactante en una fase sólida compuesta por un papel.
- Los sustratos que se emplean generan un producto insoluble que se deposita sobre la nitrocelulosa en los sitios donde se localiza la actividad enzimática.

ImmunoComb



Principio de la Prueba

- Es un EIA y como todos los demás, consiste en dos componentes:
 1. fase sólida: peine plástico con 12 dientes sensibilizados en diferentes puntos con materiales reactivos y un control interno.
 2. El conjugado y otros reactivos están listos para ser usados dentro de la bandeja de desarrollo del ImmunoComb sellada con papel de aluminio.

- La prueba se realiza de manera rápida y fácil.
- Se depositan los especímenes en los pocillos de la primera línea de la bandeja de desarrollo del ImmunoComb y se avanza el peine de línea en línea, incubando en cada paso.
- Los resultados se visualizan en minutos, apareciendo como puntos de color gris – azul sobre la superficie de los dientes del peine.



Fraccionando el peine para realizar un número menor de determinaciones



Dispensar muestras y controles



Insertar el peine en la fila A e incubar



Insertar el peine en la fila B e incubar



LUEGO DE LAS INCUBACIONES
EN FILAS C, D y E:
Reacción de color en la fila F



Leer los resultados.
El peine puede archivar
como documentación

ImmunoComb

- Toxo IgG: Detecta Ac IgG anti-T. gondii en suero o plasma humano. Pueden persistir durante toda la vida.
- Toxo IgM: Detecta Ac IgM anti-T. gondii en suero o plasma humano. Indica infección aguda o reciente.

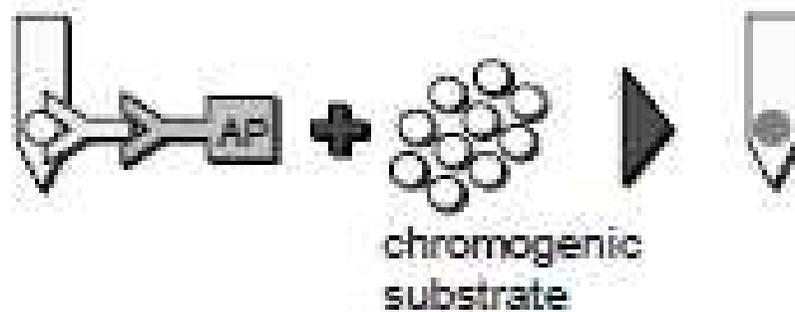
Toxo IgG



Toxo antigen — antibody complex formation; 10 min



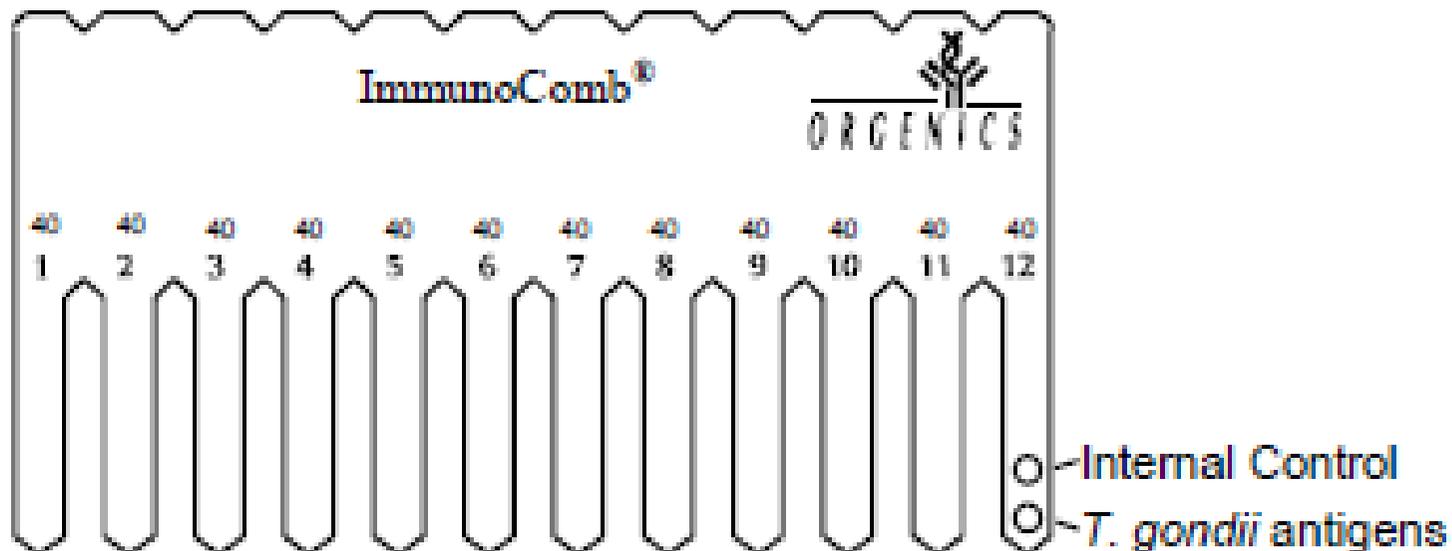
Binding of anti-human IgG conjugate; 20 min



Enzymatic color reaction; 10 min

Peine

upper spot — human immunoglobulins (Internal Control)
lower spot — inactivated *T. gondii* RH antigens



The contents of each row are as follows:

Row A specimen diluent

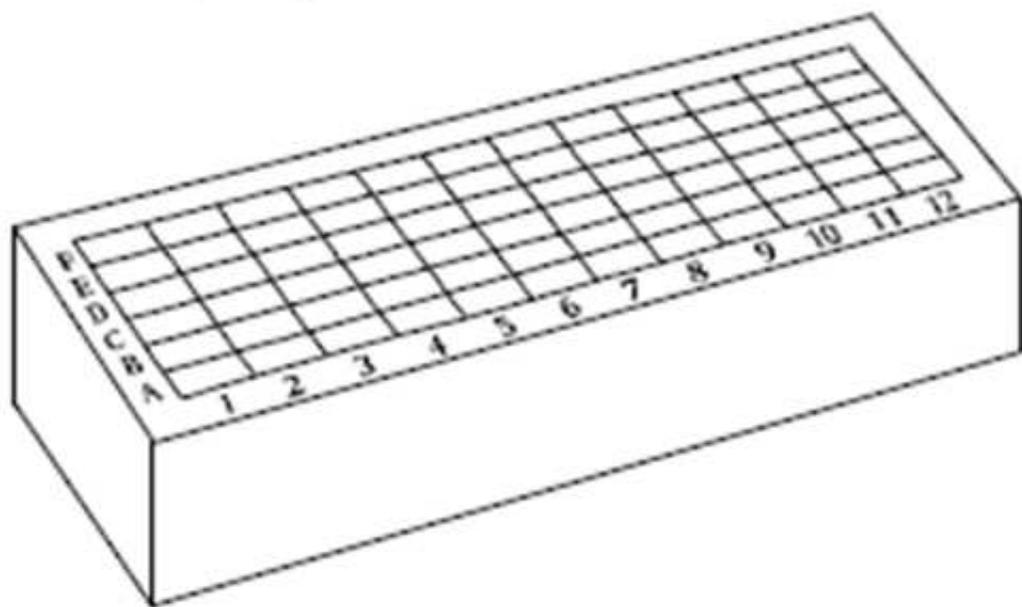
Row B washing solution

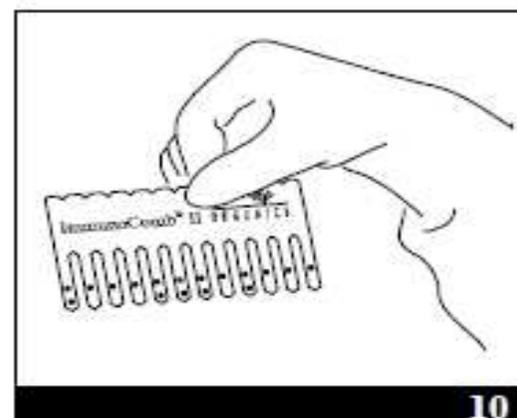
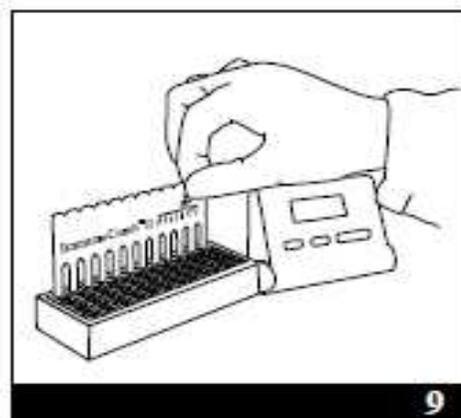
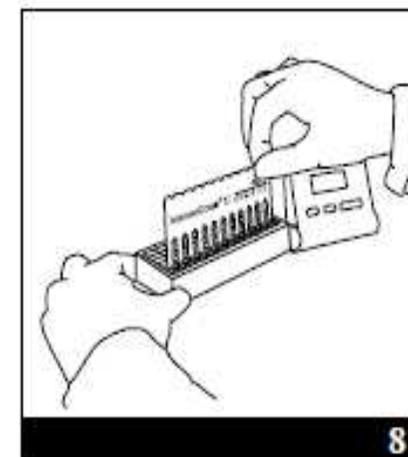
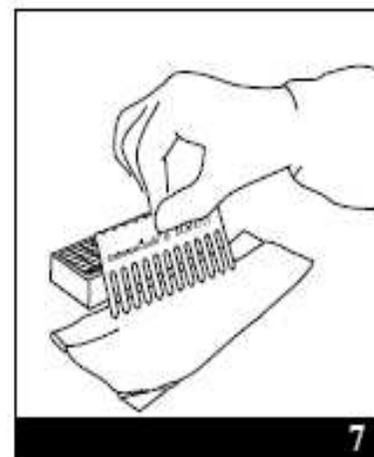
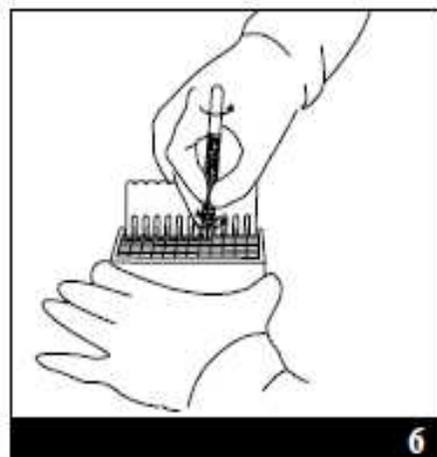
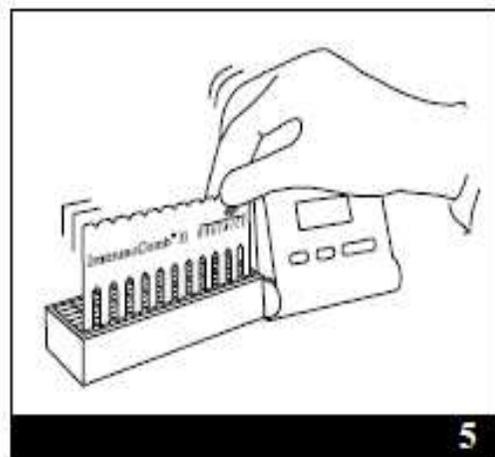
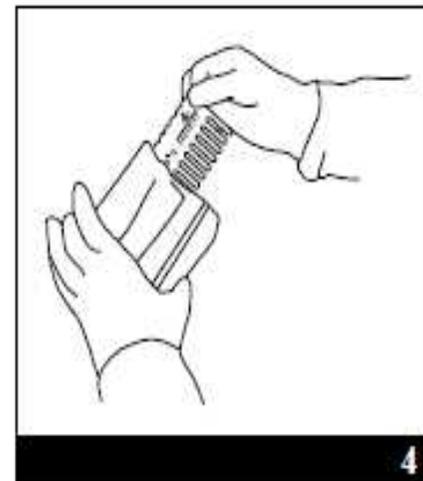
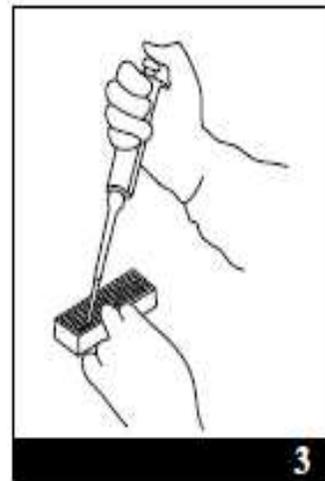
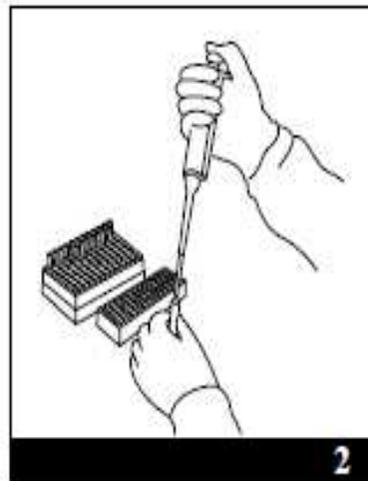
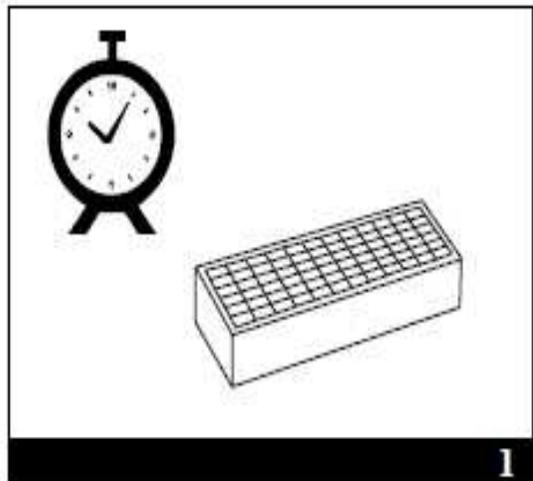
Row C alkaline phosphatase-labeled goat anti-human IgG antibodies

Row D washing solution

Row E washing solution

Row F chromogenic substrate solution containing 5-bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate (BCIP) and nitro blue tetrazolium (NBT)



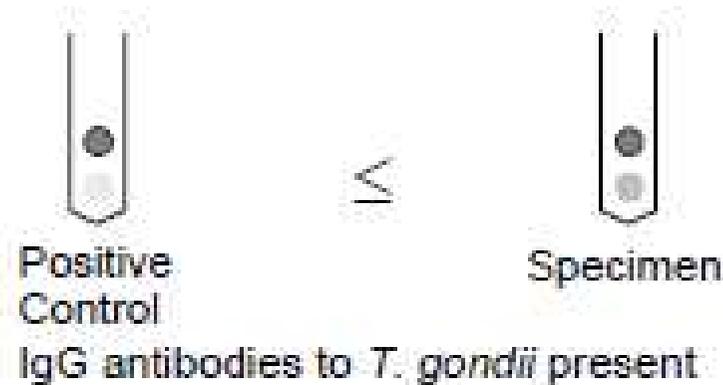


Step	Row	Proceed as follows
Antigen-antibody reaction	A	Mix; incubate 10 minutes; absorb.
Wash	B	Agitate; incubate 2 minutes; absorb.
Binding of conjugate	C	Mix; incubate 20 minutes; absorb.
Wash	D	Agitate; incubate 2 minutes; absorb.
Wash	E	Agitate; incubate 2 minutes; absorb.
Color reaction	F	Mix; incubate 10 minutes.
Stop reaction	E	Incubate 1 minute; dry in air.

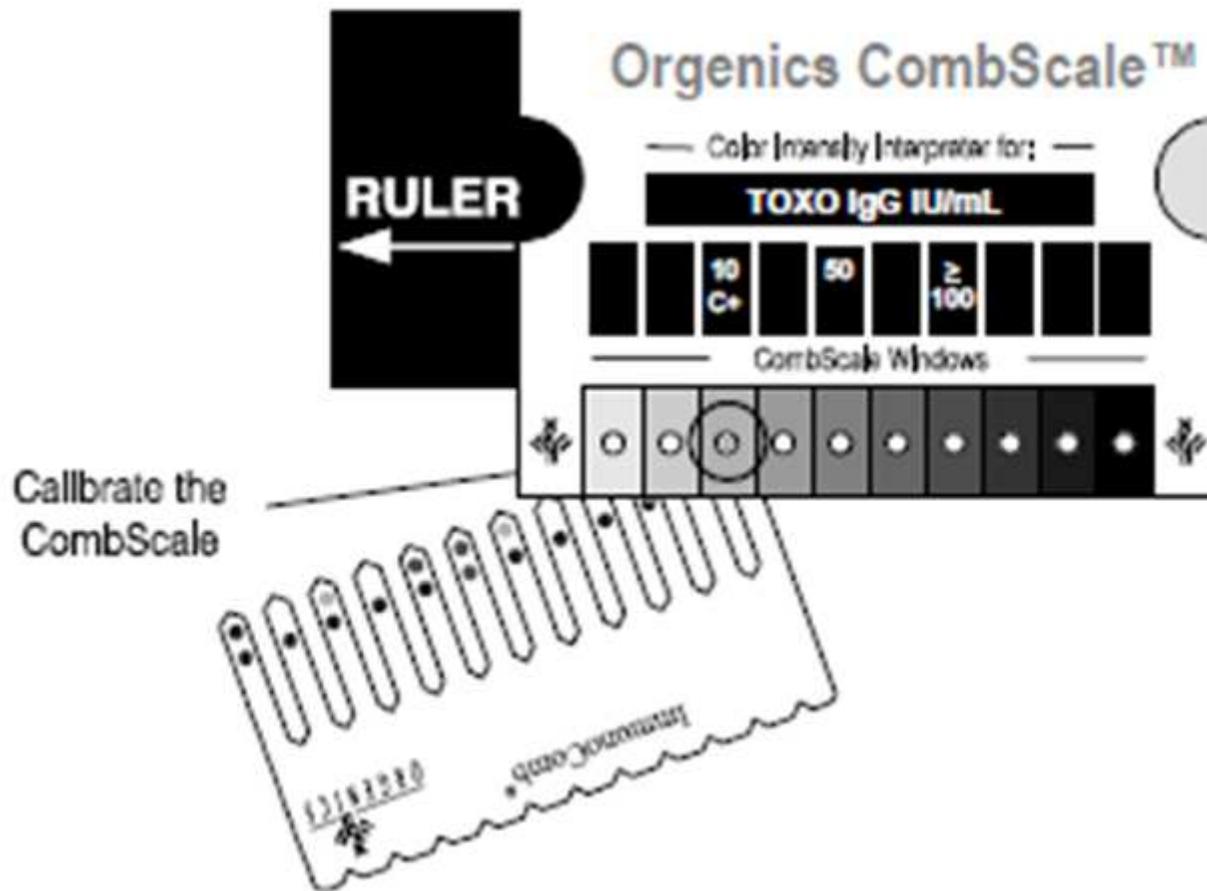
Validación



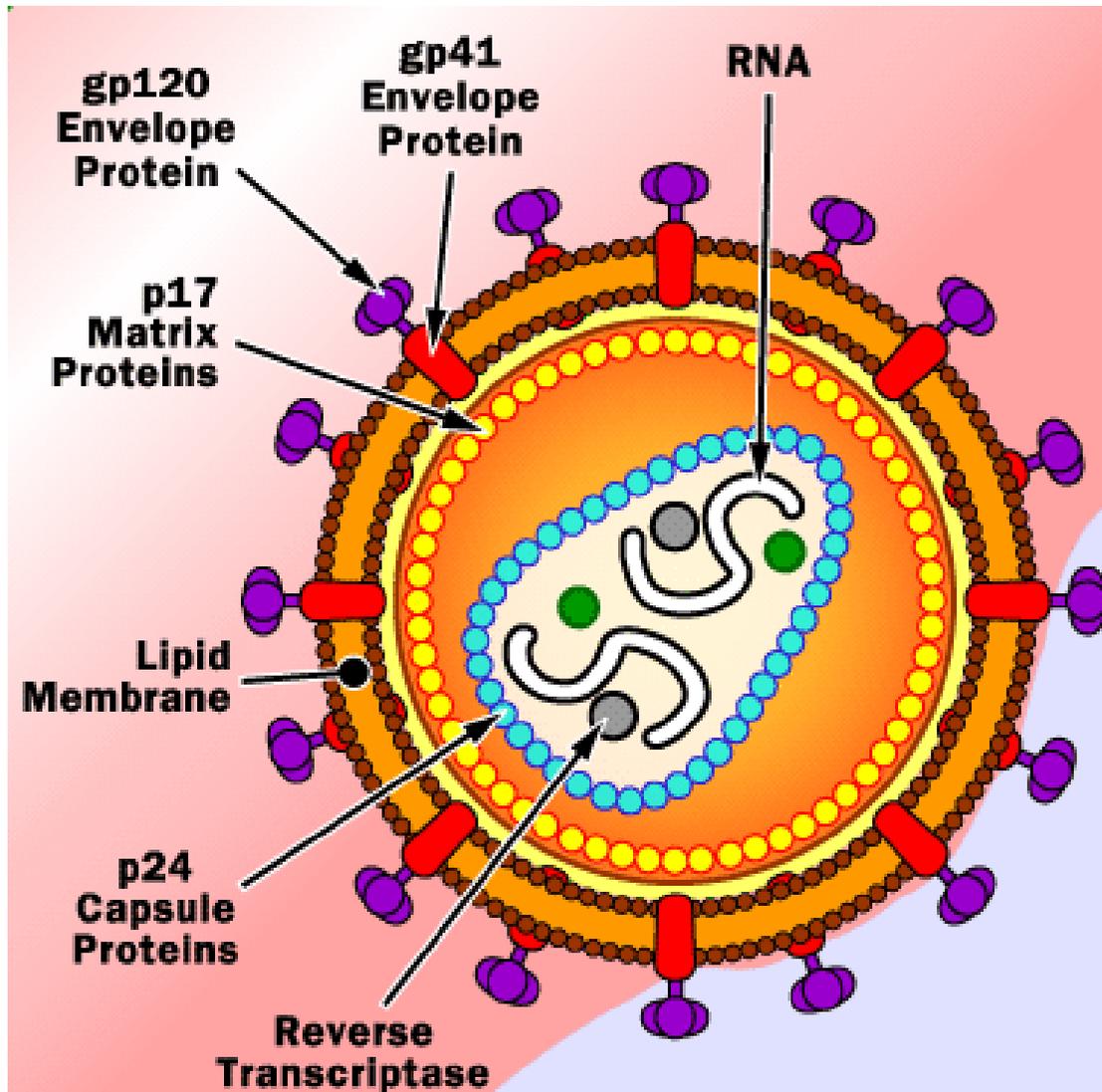
Screening



Interpretación semi-cuantitativa



HIV

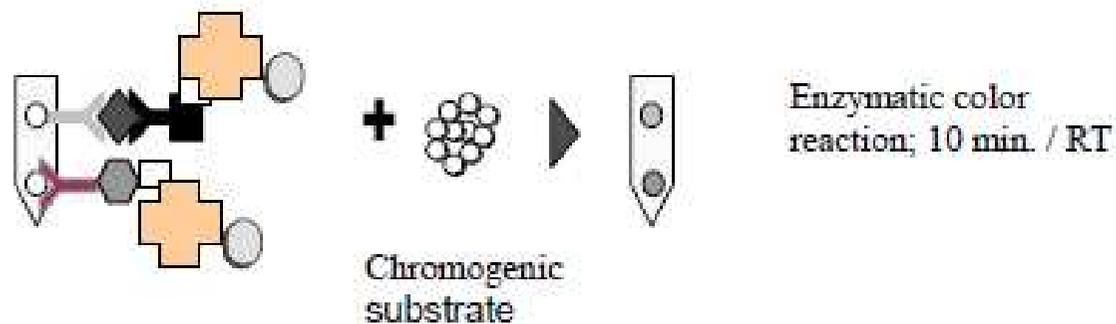
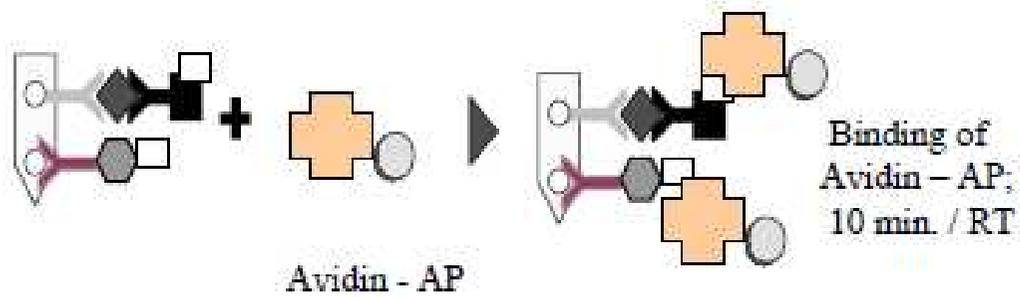
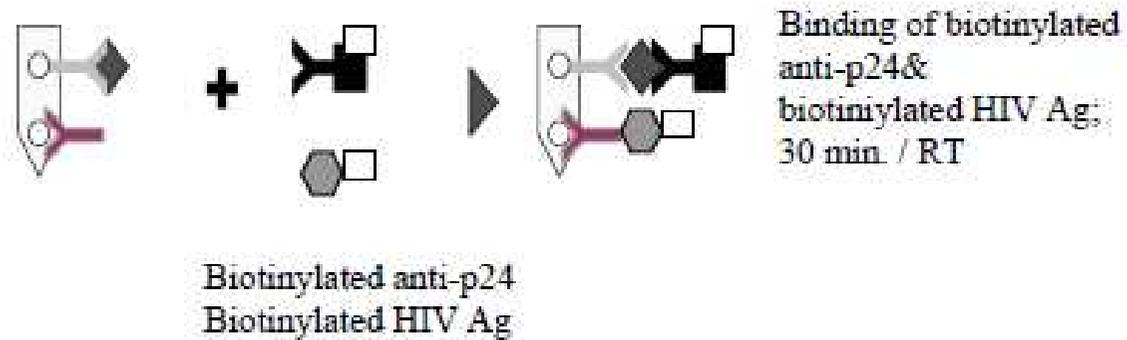
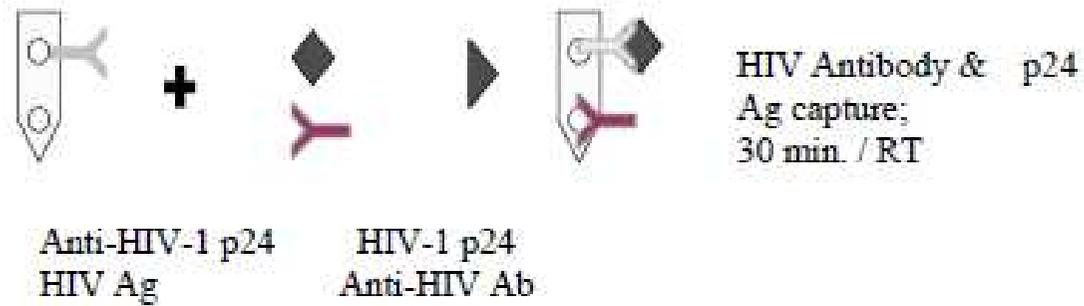


HIV Ag/Ac ELISA 4^a Generación

- Detección simultánea de anticuerpos anti-VIH y antígeno p24.
- Aumenta la capacidad clínica de detección, reduciendo el período “de ventana” de 4-10 días, permitiendo la detección temprana de la infección del VIH.

HIV Ag/Ac ELISA 4^a Generación

- Los pocillos de la policubeta están recubiertos con PR y PS de HIV-1 y HIV-2 y AcMo anti-p24.
- La muestra se incuba en los pocillos y si la misma contiene p24 y/o Ac anti-HIV-1 o HIV-2 se unirán a los Ag y/o Ac del pocillo.
- El material no unido se remueve por lavado.
- En el paso siguiente se agrega el Conjugado 1 que contiene Ac y Ag marcados con biotina que se unirán a los Ag/Ac si están presentes en la muestra.



HIV Ag/Ac ELISA 4^a Generación

- Luego se agrega el Conjugado 2 (peroxidasa-estreptavidina) que se unirá al Conjugado 1.
- El conjugado no unido se remueve por lavado.
- A continuación se agrega una solución conteniendo TMB y H₂O₂.
- Las muestras reactivas desarrollan color azul que vira al amarillo cuando la reacción se detiene con H₂SO₄ (Stopper).

Determine® HIV-1/2

Inmunoanálisis cualitativo in vitro de lectura visual para detección de Ac VIH-1 y VIH-2 en suero, plasma o sangre total.



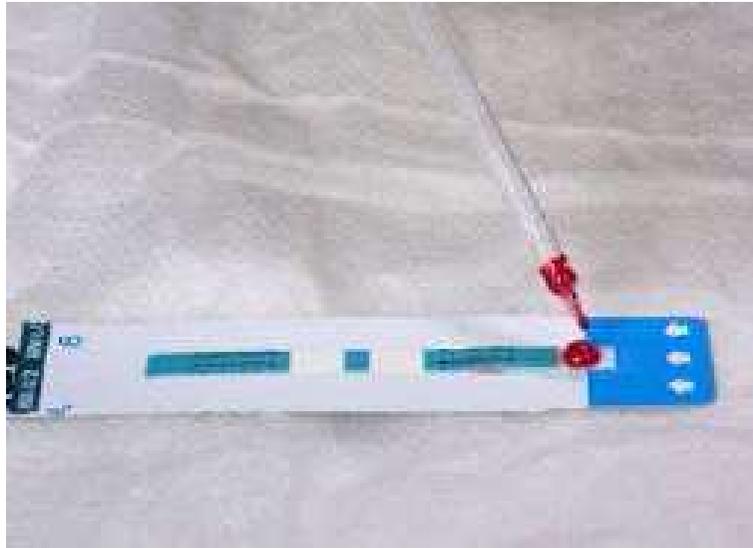
- Procedimiento Simple.
- Requiere de mínimo entrenamiento.
- No requiere de un equipo especial para llevar a cabo la prueba.
- La obtención de la muestra puede ser por venopunción o punción digital.
- No requiere refrigeración.
- Puede ser transportado y almacenado en diferentes condiciones ambientales (2-30°C).

Procedimiento



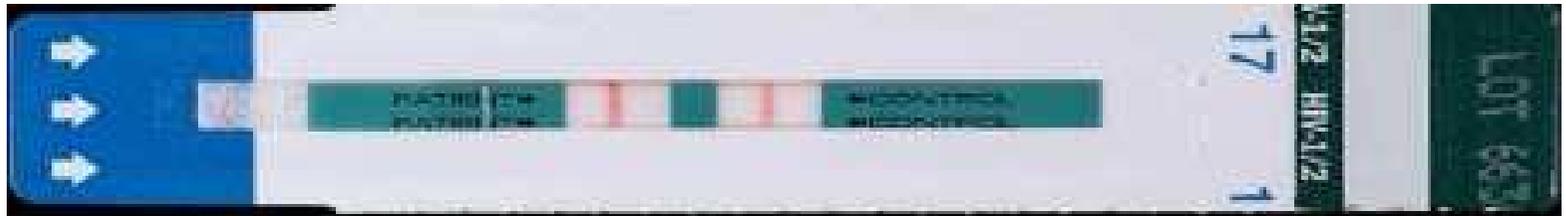
Recolección de la muestra





Interpretación de los resultados

Positivo



Negativo



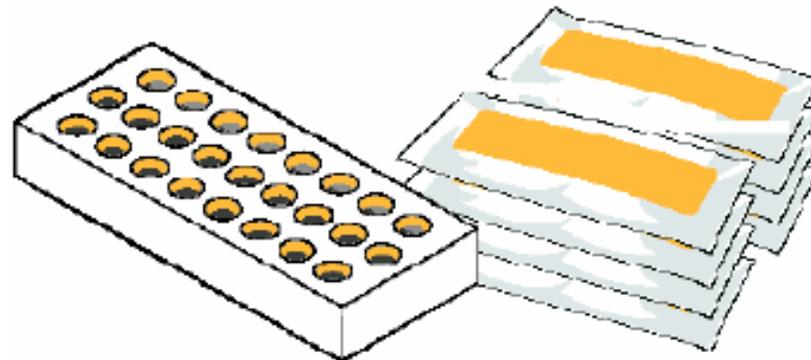
Inválido

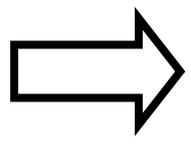
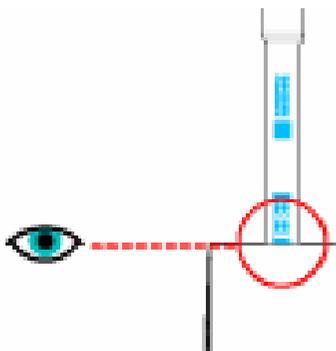
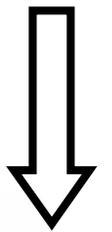
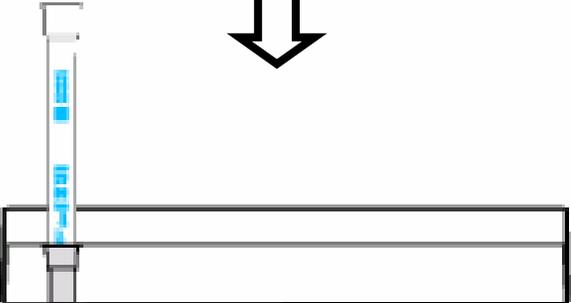
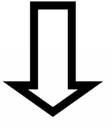
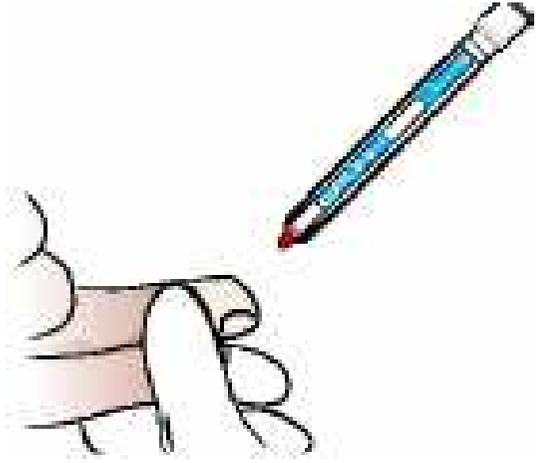
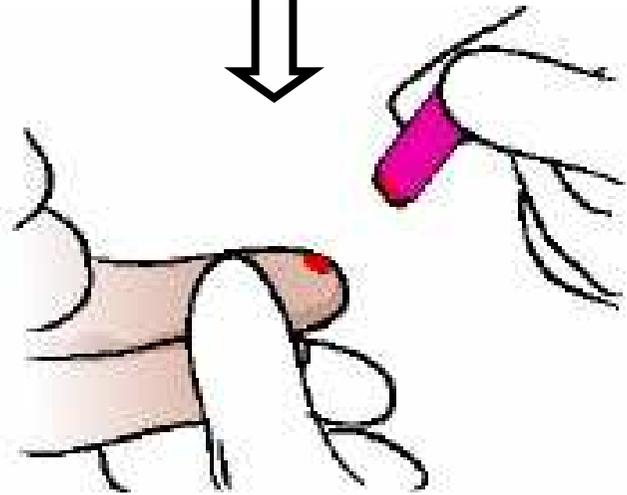
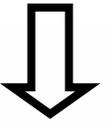
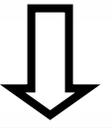
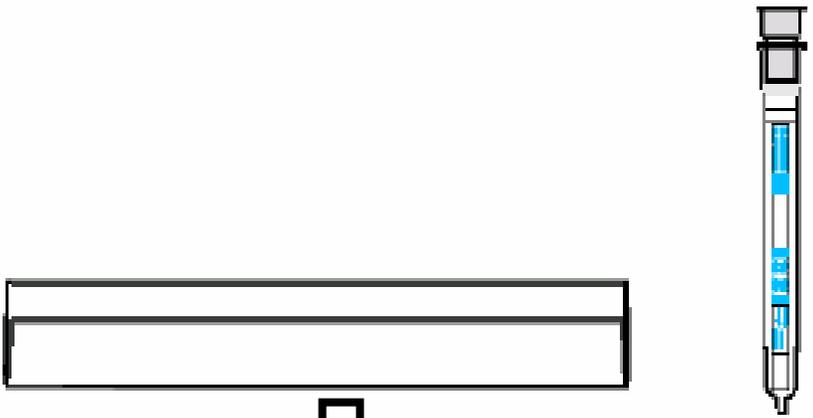


Clearview® COMPLETE HIV 1 / 2

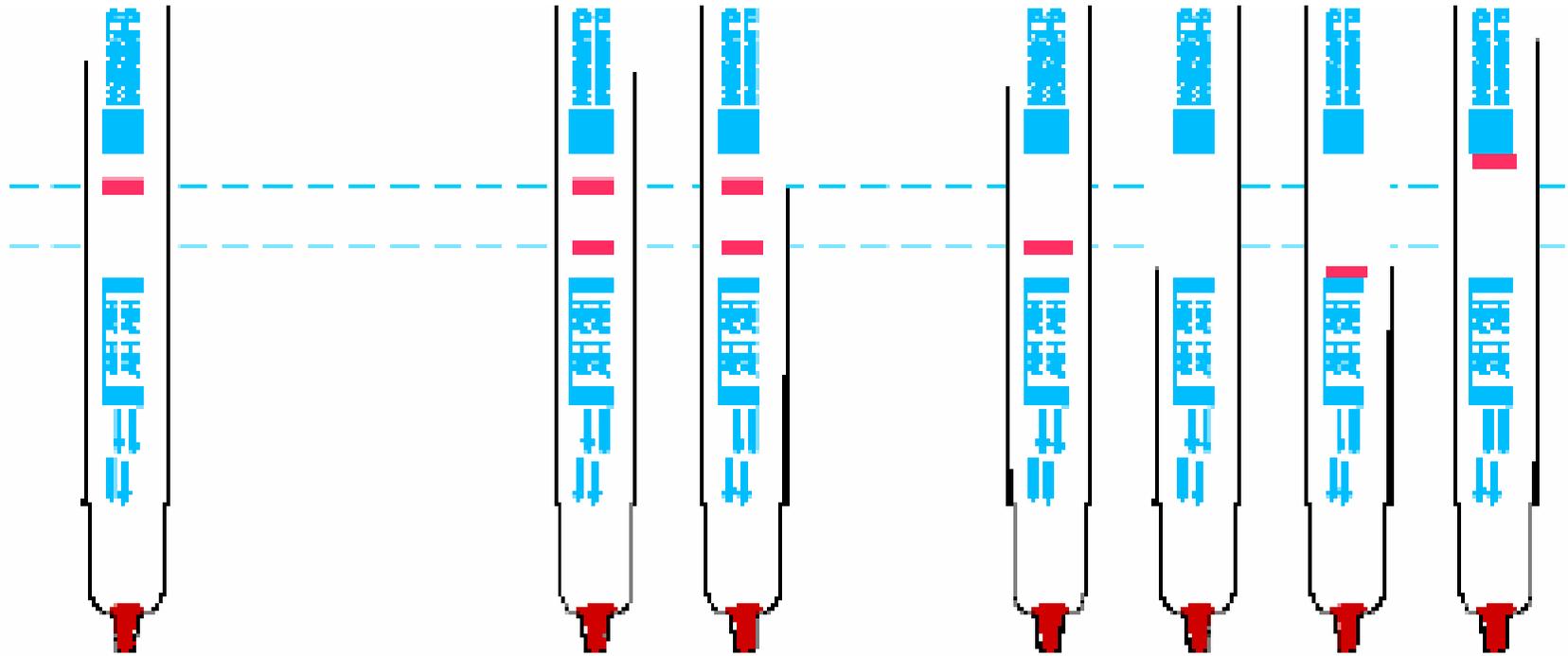
Recolección – Proceso – Análisis, 3 pasos en 1.

Sistema de colección de muestra, procesamiento y análisis de la muestra de sangre total, suero o plasma, para la detección de anticuerpos VIH-1 y VIH-2





Resultados



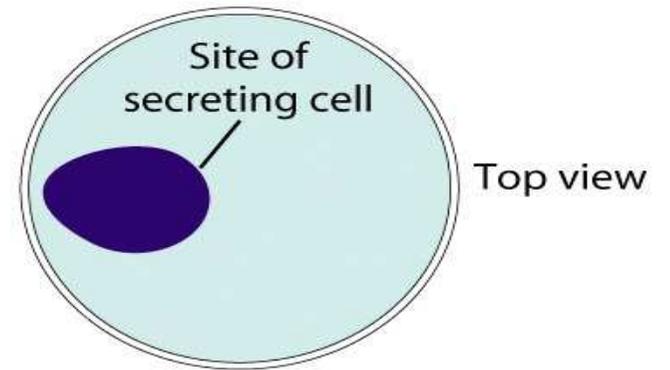
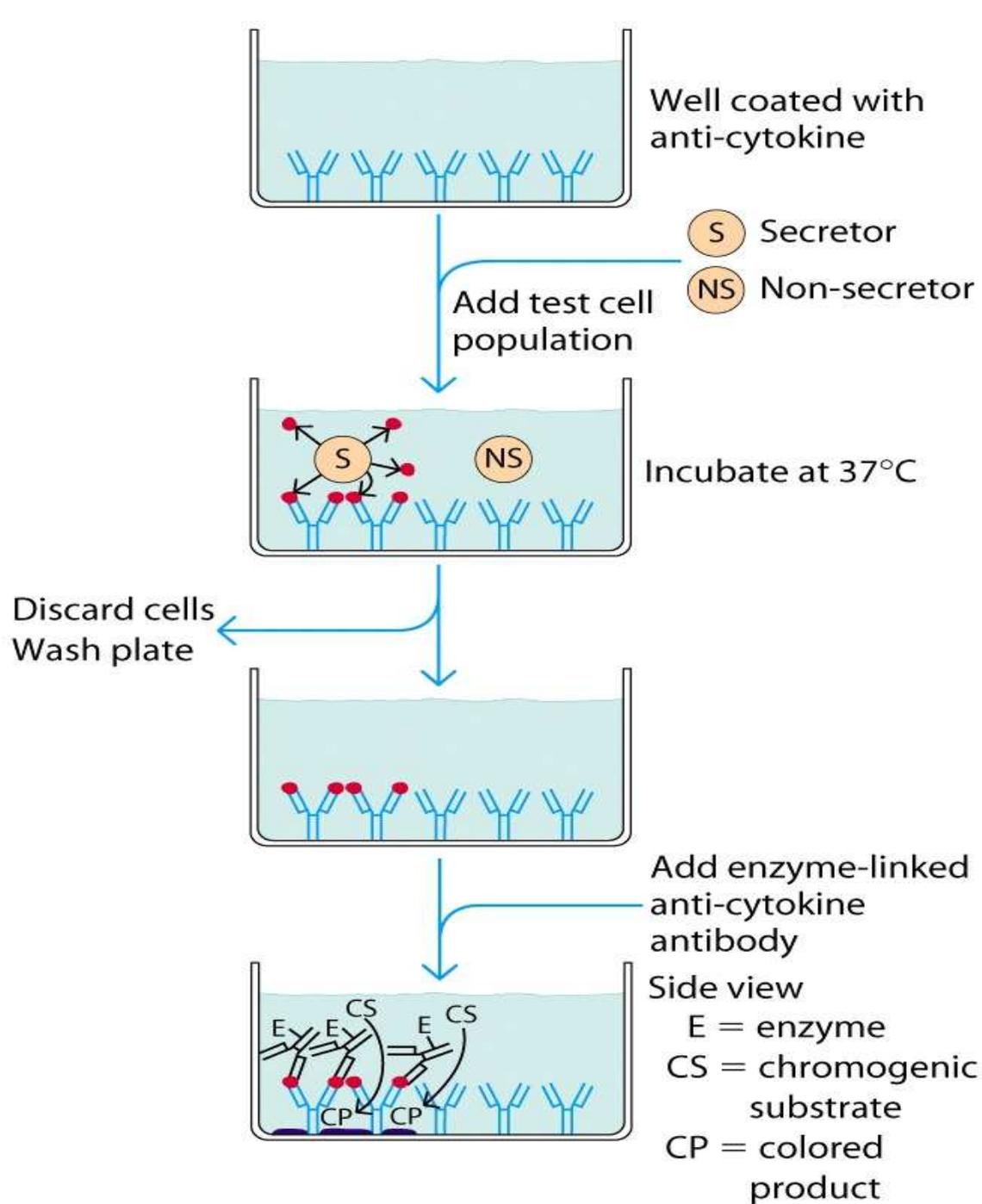
Negativo

Positivo

Inválido

ELISPOT

- Es una técnica que permite detectar la frecuencia de células T productoras de una determinada citocina.
- La población de células T es estimulada con un Ag específico.
- Estas células son dejadas en reposo en pocillos de ELISA cuya superficie contiene adsorbido el Ac anti-citocina.
- Estas células son activadas a secretar la citocina, que es capturada por el Ac que se halla fijado a la placa.
- Se remueven las células.
- Un Ac secundario se añade a la placa revelando la localización donde existe citocina (lugar donde estuvo la célula).
- Finalmente se cuentan los spots = n° de células productoras de la determinada citocina.



ELISPOT