

## Investigación de un Brote – Serie de Videos Dr. Max Teplitski

<https://www.youtube.com/playlist?list=PLvgkamPnkczk53-mLCNSaysR8mr4yg1h7>

### Transcripción, Video 4: Herramientas Inmunológicas para Investigaciones de Brotes

Las técnicas inmunológicas podrían ser de gran utilidad para la identificación de ambos: patógenos y determinar si los pacientes fueron expuestos (y respondieron) a los agentes patógenos.

Dependiendo de la pregunta, se usaría cualquiera de las muestras que contienen al agente patógeno, o de sangre que contienen anticuerpos, los cuales son producidos por el sistema inmune en respuesta al reconocimiento del patógeno.

Las pruebas pueden ser directas (búsqueda para el patógeno de interés) o indirectas (la búsqueda de evidencia sobre la respuesta del sistema inmune al patógeno). Prestar atención que al igual que los enfoques discutidos anteriormente, como los basados en ácidos nucleicos o los basados en medios de cultivo, las técnicas inmunológicas también tienen sus limitaciones inherentes. En concreto, las pruebas directas no dicen si un patógeno en particular está presente o ausente, solo si un antígeno específico lo está.

Las pruebas indirectas no dicen si el sistema inmune del paciente efectivamente respondió al patógeno, en lugar de eso, dicen si este respondió a un antígeno característico del patógeno de interés.

Cualquier estructura sobre la superficie del agente patógeno puede ser un antígeno, muchos kits disponibles comercialmente fueron diseñados para detectar estructuras superficiales características de patógenos específicos. Más comúnmente, ELISA (inmunoensayos ligados a enzimas) se utilizan para la detección de antígenos o anticuerpos. Se llaman ligados a enzimas, ya que en este sistema, la unión de un antígeno o un anticuerpo se detecta mediante un ensayo enzimático.

Ensayos inmunológicos indirectos, que implican la detección de anticuerpos producidos por el sistema inmunológico requieren muestras de sangre. Tenga en cuenta, que el suero sanguíneo de los pacientes que han sido previamente inmunizados da positivo para anticuerpos contra patógenos específicos. Por ejemplo, la vacuna contra la hepatitis A es muy popular, por lo tanto, los sistemas inmunes de las personas que fueron vacunadas pueden producir los anticuerpos detectables en ensayo inmunológico indirecto.

En un ELISA directo, un antígeno (como un fragmento de la cápsula viral o la pared celular bacteriana) es absorbido sobre una placa de plástico. Una muestra de suero sanguíneo que contiene potencialmente los anticuerpos de interés es también aplicada sobre las mismas placas. Luego la unión del anticuerpo a las placas, se detecta usando anticuerpos secundarios a los que se les conjuga una enzima. La adición de un sustrato cromogénico (productores de color) nos permite detectar la presencia del complejo anticuerpo-enzima.

Otro método, ELISA sándwich, puede ser utilizado para detectar antígenos asociados a patógenos virales, bacterianos y eucariotas, así como una variedad de toxinas. Es incluso un método robusto en muestras complejas. No obstante, la desventaja principal del enfoque inmunológico es el de no poder utilizarse para la detección de patógenos que tienden a mutar

rápidamente, técnicamente sí, pero con muy poco éxito. Por ejemplo, los Vibrios (Vibrio cholera incluido) se vuelven naturalmente competentes cuando crecen en quitina, esta habilidad ha permitido a los Vibrios adquirir genes con propiedades inmunogénicas cambiantes. Kits de ELISA sándwich contienen anticuerpos específicos "de capturar" unidos a las superficies de las placas de plástico.

Las muestras contenedoras del antígeno se añaden y se unen por el lado izquierdo de los anticuerpos y a continuación la unión es detectada por otro conjunto de segundos anticuerpos, los cuales están fusionados a una enzima. La adición de un sustrato cromogénico (productor de color) permite detectar la presencia del complejo anticuerpo-enzima.

La principal ventaja del ELISA sándwich es que cualquier muestra (agua, fluido corporal, heces, alimentos, etc.) que contenga el antígeno de interés puede ser probada.

Durante los últimos años, la separación inmunomagnética ha ganado popularidad como una herramienta que podría ser utilizada para el cultivo selectivo de patógenos de interés a partir de muestras complejas. En la separación inmunomagnética, los anticuerpos contra antígenos específicos (representativos de patógenos específicos) se conjugan en perlas paramagnéticas. Estas perlas recubiertas de anticuerpos podrían ser mezcladas en una muestra compleja, siendo retiradas con un imán y lavadas para eliminar cualquier contaminante. Estos complejos que contienen perlas, anticuerpos y agentes patógenos pegados a los anticuerpos, pueden ser sembrados directamente en medios selectivos de cultivo o podrían ser utilizados en las reacciones de PCR como plantillas.