

Serología: Tipos de serologías

Paula Sánchez Giménez

Técnica Veterinaria Responsable del Área de Reproductoras de la empresa Agropor S.L.

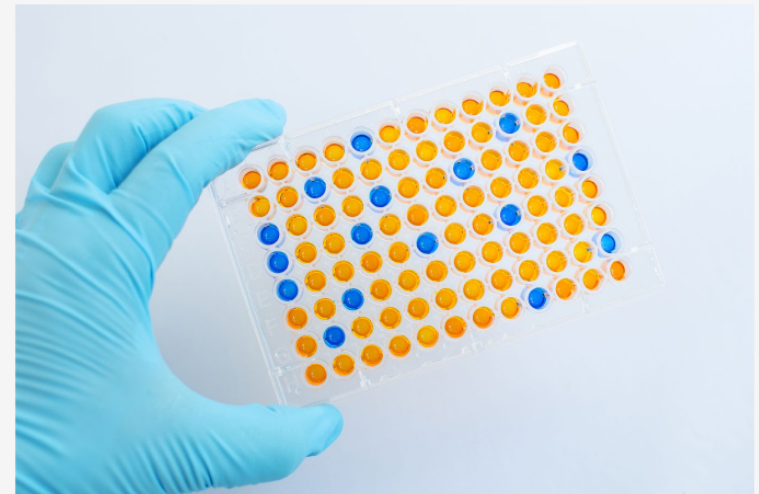


La **definición** básica de “serología” es el estudio químico y bioquímico del suero sanguíneo, pero también otros tipos de material como orina, saliva o tejidos, donde se utilizan para determinar la presencia de anticuerpos específicos u antígenos.

Su etimología viene del latín, al unir los términos “serum” (suero) y “logia” (estudio).

- ▶ Los elementos básicos en este tipo de reacciones son los ANTICUERPOS (Ac), que se incluyen dentro de la respuesta de tipo específica y humoral. Son glucoproteínas producidas por los linfocitos B.

Por otro lado, están los ANTÍGENOS (Ag), estructuras proteicas unidas a la superficie de sustancias extrañas al organismo. Su nombre viene del inglés *antibody generator*.



Cada Ac tiene un *parátipo* o parte de unión distinto que reconoce solamente un tipo de epítipo o porción del Ag reconocida por el sistema inmune. Por tanto, cada Ac solo puede unirse a un Ag complementario. Los anticuerpos no destruyen a las sustancias extrañas directamente; en cambio, promueven su destrucción, facilitando que otros mecanismos de defensa puedan encontrarlos y eliminarlos.

Para su medición, se habla de “**títulos**” de Ac, que sería la dilución más alta de suero que muestra una reacción observable (con Ag) en una prueba en particular.

Dos características muy importantes de este tipo de reacciones son:

- ▶ **Sensibilidad** o exactitud con la cual un test puede detectar la presencia de infección (Ac o Ag).
- ▶ **Especificidad** o exactitud con la cual un test puede detectar la presencia de infección (Ac o Ag).



Las aplicaciones principales de este tipo de técnicas son:

- ▶ Diagnóstico de procesos infecciosos (directamente el Ag o la presencia de inmunidad específica de Ac).
- ▶ Estimación severidad o estado de la infección.
- ▶ Determinación de respuesta a un tratamiento.
- ▶ Estudios epidemiológicos.
- ▶ Diagnóstico infecciones congénitas.
- ▶ Cribado para donación de sangre o tejidos.
- ▶ Diagnósticos no-infecciosos (tumores, autoinmunes, endocrinología...).



Los **Tipos** de pruebas serológicas son:

- 1** ELISA o Ensayo de inmunoabsorción ligado a enzima
- 2** Aglutinación
- 3** Precipitación
- 4** Neutralización
- 5** Opsonización
- 6** Prueba de Fijación del Complemento (CFT)
- 7** Inmunofluorescencia (IF)
- 8** Radio inmunoensayo (RIA)
- 9** Inmunocromatografía.
- 10** Ensayo de inmunotransferencia.
- 11** Ensayo de quimioluminiscencia (CLIA)
- 12** Prueba de microscopía inmunoelectrónica



1. ELISA O ENSAYO DE INMUNO ABSORCIÓN LIGADO A ENZIMA

Técnica bioquímica en la que se detecta la presencia de un Ac/Ag en una muestra. Se usa comúnmente en la vigilancia y el seguimiento de enfermedades, así como herramienta diagnóstica.

Las placas de microtitulación para pruebas ELISA están hechas con materiales como el poliestireno, polipropileno o policarbonato; contienen 96 pocillos, y en cada uno, pueden albergar varios mililitros de líquido.

Como *ventajas*, es un test rápido, sencillo, seguro, bastante sensible, específico y económico.

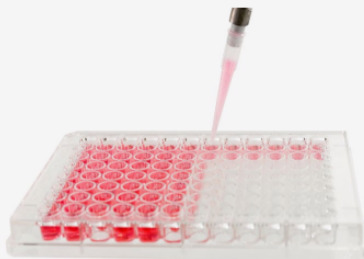
Los pasos básicos de la técnica son los siguientes: Recubrir pocillos con Ag o AC objetivo.

- Añadir muestra
- Incubar y lavar
- Añadir Ac marcado o 2^o, Incubar y lavar
- Añadir sustrato o sustrato fluorescente, Incubar
- Lectura resultados.

Según el objetivo de la detección, diferenciamos entre *ELISA de anticuerpos* y *ELISA de antígenos*.

Los distintos tipos de pruebas ELISA son:

- ▶ **ELISA directo.** Los antígenos del patógeno unidos a una fase sólida plástica se detectan mediante la adición de un anticuerpo conjugado.
- ▶ **ELISA indirecto.** Utiliza un anticuerpo secundario marcado para la detección. La inmovilización del antígeno de interés se realiza indirectamente a través de un anticuerpo de captura que se ha unido a la placa.



- ▶ **ELISA sándwich.** El anticuerpo de captura se une a la fase sólida plástica. Los antígenos de la muestra se unirán al anticuerpo de captura y luego serán detectados por un segundo anticuerpo marcado con enzima.
- ▶ **ELISA competitivo.** El antígeno de la muestra se preincuba con el anticuerpo primario y luego se agrega a un pocillo cubierto con un anticuerpo secundario junto con un antígeno conjugado con enzima que compite con el antígeno de la muestra para unirse al anticuerpo primario. Cuanto más antígeno viral haya en la muestra, menos antígeno conjugado se unirá y menor será la señal. Si no

Para la lectura de resultados, se usa un lector o espectrofotómetro mide la absorbancia o densidad óptica. El *punto de corte* para cada test ELISA puede ser diferente y viene preestablecido por el fabricante en base a la sensibilidad y especificidad deseadas.

Como puntos a tener en cuenta para interpretar resultados **positivos** de los test ELISA están:

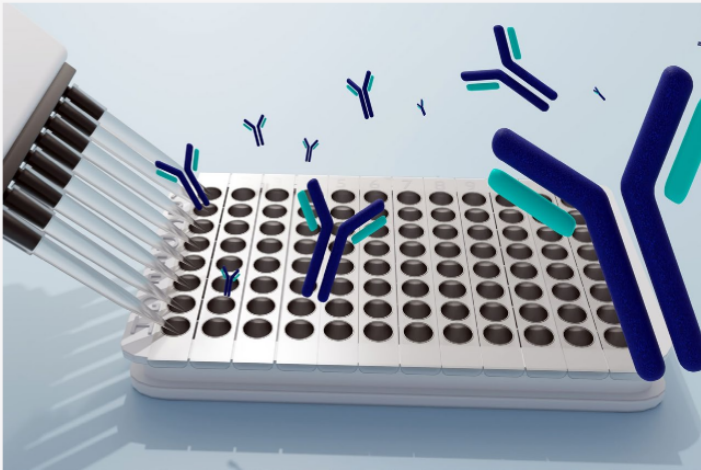
- ▶ Muestra realmente positiva, con exposición o vacunación.
- ▶ Incapaz de diferenciar anticuerpos maternos y/o vacunales a los de la exposición, a excepción de vacunas DIVA (*Differentiating Infected from Vaccinated Animals*).

- ▶ Según qué patógeno buscamos, la detección de la proteína (Ag/Ac) no siempre confirma la enfermedad (ej. PCV2).
- ▶ Las contaminaciones cruzadas son poco probables, ya que se necesita una gran cantidad de contaminación para producir un resultado positivo (es concentración dependiente).



Para la interpretación de resultados **negativos**:

- ▶ Muestra realmente negativa, sin exposición o vacunación.
- ▶ No hay suficiente Ag en la muestra para su detección.



- ▶ La muestra fue recogida demasiado pronto y todavía no se ha generado una respuesta inmune.
- ▶ La muestra se tomó demasiado tarde y el patógeno ya no está presente.
- ▶ Baja prevalencia (animal/es muestreados eran negativos).
- ▶ No todos los animales vacunados seroconvierten.
- ▶ Dilución de una muestra débilmente positiva (si se agrupa).

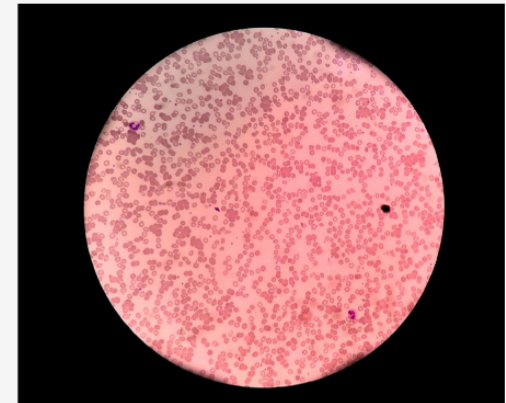
2. AGLUTINACIÓN

Los Ac se unen a los Ag formando agregados visibles que precipitan.

La reacción puede ser en placa o en tubo, como el Test Aglutinación Microscópica o MAT.

Se diferencia entre aglutinación:

- ▶ **Directa cualitativa:** el Ac se une a la partícula antigénica y su aglutinamiento indica un resultado positivo.
- ▶ **Directa cuantitativa:** se realizan diluciones de una muestra a testar, determinando el valor máximo de dilución donde se observa aglutinación (título).
- ▶ **Indirecta o Pasiva:** se hace uso de un transportador o carrier, para ser más fácilmente visible y siendo también una técnica más sensible.



3. PRECIPITACIÓN

Los Ac se unen a Ag solubles; así reducen su solubilidad y promueven su precipitación (precipitados insolubles) y eliminación, mediante fagocitosis.

La reacción puede hacerse en gel o en solución.



4. NEUTRALIZACIÓN

Los Ac se unen a los Ag, neutralizando su efecto dañino. A continuación, el complejo Ag-Ac puede ser eliminado, mediante la fagocitosis.

Se realiza en *huevos o tejidos animales* mayormente.

Se trata de una técnica cuantitativa al trabajar con distintas diluciones y la más utilizada es el Ensayo de neutralización por reducción de placa (PRNT).

5. OPSONIZACIÓN

Los Ac actúan como marcadores químicos, rodeando al Ag y favoreciendo su detección y eliminación por fagocitosis.



6. PRUEBA DE FIJACIÓN DEL COMPLEMENTO

En este caso, se produce una unión de complejos Ac/Ag al complemento, y en una segunda fase, se añaden eritrocitos marcados con una hemolisina.

El resultado es positivo si no pasa nada y *negativo* si se observa lisis de eritrocitos.

Se pueden usar diluciones para la cuantificación. Es una técnica con alta especificidad, pero lenta y laboriosa.

7. INMUNOFLUORESCENCIA

Se utiliza un fluorocromo como tinte fluorescente unido a un Ac, para detectar el Ag en tejidos. Para la lectura de resultados es necesario un microscopio fluorescencia.

8. RADIO INMUNOENSAYO

Se usan radio-isopos ligados a Ag o Ac. Se trata de un test cuantitativo, pero es necesario un lector radiactivo. Técnica muy sensible, aunque no muy usada actualmente por el riesgo de radiación.

9. INMUNOCROMATOGRAFÍA

Hace uso de una membrana de nitrocelulosa con Ac conjugados fijados a los que se añade la muestra. Se basa en el principio del ELISA tipo sándwich. La muestra migra por la membrana por capilaridad, unida o no al Ac conjugado.

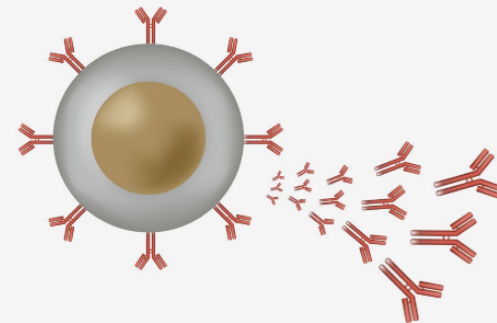
Es muy simple y rápida, con alta sensibilidad y especificidad.



10. ENSAYO DE INMUNOTRANSFERENCIA

La muestra de suero se pasa a través de una matriz de gel utilizando una corriente eléctrica (electroforesis), se transfiere mediante una técnica de “transferencia” y luego se tiñe para que las “bandas” se vuelvan visibles. En este caso, las proteínas más pesadas, migran menos, y al revés.

Es muy sensible y sirve como test cuantitativo.



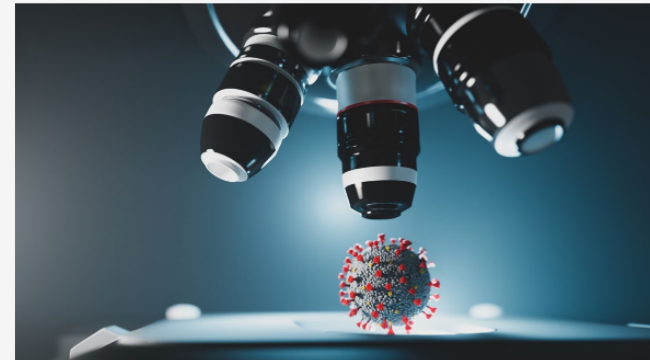
11. ENSAYO DE QUIMIOLUMINISCENCIA

Se basa en la misma base técnica que ELISA convencional, excepto que, en este caso, una enzima acoplada al anticuerpo de detección cataliza una reacción quimioluminiscente, lo que resulta en fotones emitidos que producen luz en lugar de un cambio de color visible.

Se hace la lectura con la ayuda de un detector de luz, siendo una técnica ultrasensible.

12. MICROSCOPIA INMUNOELECTRÓNICA

Se basa en Ac conjugados con partículas de metal (oro usualmente) para conferirles conductividad, que detectan Ag en tejidos. El resultado se lee con un microscopio electrónico.



¡Muchas gracias!



Grupo de Comunicación Agrinews S.L.

*Avinguda de Jaume Recoder, 17, 08301 Mataró,
Barcelona (España)*

info@grupoagrinews.com

Tel: +34 93 115 44 15

*Todas las fotografías, figuras, gráficos y tablas son propiedad del autor
y no se pueden reproducir sin su permiso.*