

Resumen

La pandemia del síndrome respiratorio agudo severo causada por un coronavirus denominado (SARS-CoV-2), desafió los sistemas nacionales de salud y la economía mundial. El eje central para su control está constituido en el seguimiento de las tasas de infección y la seroprevalencia. El presente trabajo se da a costa de la actual situación sanitaria que enfrenta el país y el mundo en general. Si bien existen estimaciones de la gravedad de la enfermedad, sigue habiendo una gran laguna de conocimiento. Es así que el presente proyecto está elaborado con la finalidad de mejorar o incrementar el diagnóstico serológico de la COVID 19, para lo cual se espera utilizar la proteína S (fragmento RBD) (donada por la Division of Infectious Diseases and Vaccinology, School of Public Health, University of California, Berkeley) como antígeno en una prueba de ELISA indirecto. Para la estandarización del ensayo, se evaluó la mejor dilución de suero, usando Buffer PBS-Tween 20, diluciones a partir de 1/50, 1/100, 1/200 hasta 1/6400. Posteriormente se evaluaron diluciones de conjugado (1/6000, 1/8000, 1/10000, 1/12000 en Buffer PBS-Tween 20 y además, diferente concentración del antígeno (0.625µg/mL, 1.25µg/mL, 2.5µg/mL) diluido en PBS 1X, frente a sueros positivos y negativos, para determinar bajo que condición la razón entre ellos es mayor se usó un modelo estadístico DCA para determinar la significancia , lo que resultó en la distinción de las mejores condiciones; suero 1/100, conjugado 1/10000, antígeno 2.5µg/mL. Se logró establecer un protocolo para un ELISA fácil de realizar y robusto y para la detección de respuestas de anticuerpos contra el SARS-CoV-2 dirigidos a la proteína RBD del virus.

Palabras Clave

- **RBD**
- **SARS-COV-2**
- **DIAGNÓSTICO**
- **ELISA**

Abstract

The SARS pandemic caused by a coronavirus (SARS-CoV-2) has challenged national health systems and the world economy. The central axis for its control is constituted in the monitoring of infection rates and seroprevalence. The present work is given at the expense of the current health situation facing the country and the world in general. Although there are estimates of the severity of the disease, there is still a large knowledge gap. Thus, the present project is designed to improve or increase the serological diagnosis of COVID 19, for which the protein S (RBD fragment) (donated by the Division of Infectious Diseases and Vaccinology, School of Public Health, University of California, Berkeley) is expected to be used as an antigen in an indirect ELISA test. For assay standardization, the best serum dilution was evaluated, using PBS-Tween 20 Buffer, dilutions from 1/50, 1/100, 1/200 to 1/6400. Subsequently, dilutions of conjugate were evaluated (1/6000, 1/8000, 1/10000, 1/12000 in Buffer PBS-Tween 20 and in addition, different concentration of the antigen (0.625µg/mL, 1.25µg/mL, 2.5µg/mL) diluted in PBS 1X, against positive and negative sera, to determine under which condition the ratio between them is higher, a DCA statistical model was used to determine the significance, which resulted in the distinction of the best conditions; serum 1/100, conjugate 1/10000, antigen 2.5µg/mL. A protocol for an easy to perform and robust ELISA and for the detection of anti-SARS-CoV-2 antibody responses directed to the RBD protein of the virus was established.

Key Words

- **RBD**
- **SARS-COV-2**
- **DIAGNOSTIC**
- **ELISA**