**VII SIMPOSIO INTERNACIONAL DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS** **2019**

**Estandarización de un Elisa para la cuantificación de IgG contra VME de *Salmonella* *Paratyphi* A**

***Standardization of an ELISA for the quantification of IgG antibodies against OMV Salmonella Paratyphi A***

Yisabel Aranguren Mazorra1, Yosbany Pérez Barrios2, Kirenia Blain Torres3, Mabel Hernández Cedeño4, Darcy Núñez Martínez5, Maylin Álvarez Tito6, Caridad Zayas Vignier7, Reinaldo Acevedo Grogues8, Jean Pierre Soubal Mora9, Dagmar García Rivera10, Sonsire Fernández Castillo11

1. Yisabel Aranguren Mazorra. Instituto Finlay de Vacunas, Cuba. yaranguren@finlay.edu.cu
2. Yosbany Pérez Barrios. Instituto Finlay de Vacunas, Cuba. ypbarrios@finlay.edu.cu
3. Kirenia Blain Torres. Instituto Finlay de Vacunas, Cuba. kblain@finlay.edu.cu
4. Mabel Hernández Cedeño. Instituto Finlay de Vacunas, Cuba. mahernandez@finlay.edu.cu
5. Darcy Nuñez Martínez. Instituto Finlay de Vacunas, Cuba. dnunez@finlay.edu.cu
6. Maylin Álvarez Tito. Instituto Finlay de Vacunas, Cuba. maylin\_alvarez@finlay.edu.cu
7. Caridad Zayas Vignier. Instituto Finlay de Vacunas, Cuba. czayas@finlay.edu.cu
8. Reinaldo Acevedo Grogues. Instituto Finlay de Vacunas, Cuba. racevedo@finlay.edu.cu
9. Jean Pierre Soubal Mora. Instituto Finlay de Vacunas, Cuba. jsoubal@finlay.edu.cu
10. Dagmar García Rivera. Instituto Finlay de Vacunas, Cuba. dagarcia@finlay.edu.cu
11. Sonsire Fernandez Castillo. Instituto Finlay de Vacunas, Cuba. sfernandez@finlay.edu.cu

**Resumen:**

*Salmonella* Paratyphi A es un patógeno exclusivo de humanos, es la segunda causa más común de fiebre entérica en el sudeste asiático y recientemente se ha incrementado su incidencia en Estados unidos. Actualmente no existen vacunas licenciadas contra este patógeno. El Instituto Finlay de Vacunas se encuentra trabajando en la obtención de un candidato vacunal basado en vesículas de membrana externa (VME) contra *S.* Paratyphi A, por lo que se hizo necesario contar con una técnica para la evaluación de su inmunogenicidad. El objetivo de este trabajo fue el montaje y la estandarización de un ELISA para la cuantificación de anticuerpos IgG contra VME de *S.* Paratyphi A. Para la estandarización de este ELISA se empleó un suero hiperinmune generado en ratones Balb/c inmunizados con células inactivadas de S. Paratyphi A que mostró valores de absorbancia anti-OMV superiores a 1,0 por ELISA indirecto. Se determinaron las mejores condiciones de este ensayo en cuanto a concentración óptima de recubrimiento, tiempos de incubación y dilución de trabajo del conjugado. Además, se definió el intervalo y linealidad de la curva, la precisión intra e interensayo, la especificidad y el límite de detección. La curva de calibración presentó un buen ajuste lineal con un R2 =0.98. Los coeficientes de variación en los ensayos de precisión intra e interensayo estuvieron en los intervalos establecidos para cada uno (10%,20% respectivamente). Los resultados obtenidos avalan el empleo de este ELISA cuantitativo para evaluare la inmunogenicidad de formulaciones de VME de *S.* Paratyphi A en fases de investigación y desarrollo.

***Abstract:*** *Salmonella Paratyphi A, human-only pathogen is the second most common cause of enteric fever in Southeast Asia and has recently increased its incidence in the United States. At present there are not licensed vaccines against this pathogen. The Finlay institute of vaccines is working to obtain a vaccine candidate based on Outer Member Vesicles (OMV) against S. paratyphi A, so it became necessary to have a technique for the evaluation of immunogenicity. The objective of this work was the assembly and standardization of an ELISA for the quantification of IgG antibodies against OMV of S. Paratyphi A. For the standardization of this ELISA a hyperimmune serum was generated in Balb / c mice immunized with inactivated cells of S. Paratyphi A, which showed anti-OMV absorbance values ​​higher than 1.0 by indirect ELISA. The best conditions for this assay were determined in terms of optimum coating concentration, incubation times. In this paper we present the results of the standardization process, in which the interval and linearity of the curve, intra and interassay precision, accuracy, specificity, detection limit were determined. The calibration curve, generated with an internal standard serum, presented a good linear fit with a R2≥ 0.98. The coefficients of variation in the tests of were within the intervals established for each one (10%, 20% respectively. The results obtained support the use of this quantitative ELISA for the evaluation of the immunogenicity of S. paratyphi formulations in research and development phases.*

**Palabras Clave:** ELISA, estandarización, Salmonella *Paratyphi* *A*, Vesículas de membrane externa.

***Keywords:*** *ELISA, standardization,* Salmonella *Paratyphi A, Outer membrane vesicles*