

ÁREA TEMÁTICA: Respuesta inmune.

<https://dx.doi.org/10.14482/sun.01.918.623>

ACV-2025-139

Cuantificación de títulos de anticuerpos neutralizantes contra fiebre amarilla mediante un ensayo de microneutralización

BRIAN ALEJANDRO CÁCERES¹, JORGE LUIS BONILLA-ALDANA¹, ISABEL SANDOVAL¹,
CAROLINA CORONEL-RUIZ¹, FÉLIX DELGADO¹, JAIME CASTELLANOS¹

¹ Grupo de Virología, Vicerrectoría de Investigaciones, Universidad El Bosque, Bogotá (Colombia).

Correspondencia: Brian Alejandro Cáceres. bcaceres@unbosque.edu.co

RESUMEN

Introducción: El reciente brote de fiebre amarilla (FA) en Colombia evidenció la necesidad de implementar herramientas para medir títulos de anticuerpos neutralizantes en personas vacunadas y evaluar su protección. El objetivo de este estudio fue cuantificar los títulos de anticuerpos neutralizantes en población vacunada en Colombia.

Métodos: Se amplificó el virus de la FA (cepa 17D) en células vero en confluencia. La titulación viral se realizó sembrando células vero y BHK-21 en placas de 96 pozos; después de 16 horas, las células fueron infectadas con seis diluciones seriadas en base 10 del virus, y posteriormente, cubiertas con un medio semisólido compuesto (carboximetilcelulosa al 1 %. Tras 48 horas, las células se fijaron con paraformaldehído (PFA) al 4 % y las unidades formadoras de focos (UFF) fueron detectadas mediante una tinción con un anticuerpo 4G2 contra flavivirus (dilución 1:200), seguido de un anticuerpo secundario conjugado con peroxidasa de rábano picante (HRP, dilución 1:5.000). La visualización se realizó usando una reacción cromogénica con 3,3'-diaminobenzidina (DAB). Para medir los títulos de anticuerpos neutralizantes, se tomaron sueros de 20 individuos vacunados, diluidos inicialmente 1:40 y sometidos a nueve diluciones seriadas en base 3. Estas diluciones se incubaron durante una hora a 37 °C con cantidades conocidas de FA, y luego se inocularon en células vero y BHK sembradas previamente en placas de 96 pozos. Tras la infección, las monocapas se recubrieron con medio semisólido y se fijaron a las 48 horas. Las UFF se detectaron y visualizaron con el mismo procedimiento de tinción descrito anteriormente. El título de neutralización 50 (FRNT50) fue calculado utilizando el paquete estadístico Prism 10.

Resultados: Los títulos de FA obtenidos en los dos tipos de líneas celulares estuvieron entre 4×10^4 y $2,5 \times 10^5$ UFF/mL, y los títulos de anticuerpos neutralizantes de los individuos estaban entre 1:10 y 1:640.

Conclusiones: Se estandarizó un ensayo de microneutralización para la medición de títulos de anticuerpos neutralizantes contra la fiebre amarilla.

Palabras clave: fiebre amarilla, microneutralización, anticuerpos neutralizantes, vacunación.