

# CHAGATEK ELISA RECOMBINANTE

ENZIMOINMUNOENSAYO (ELISA) DE TERCERA GENERACIÓN PARA LA  
DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ESPECÍFICOS CONTRA EL TRYPANOSOMA CRUZI  
EN SUERO O PLASMA HUMANO

Sólo para uso diagnóstico “in vitro”

**PRESENTACIONES:** 96 determinaciones (Cod. R96)  
192 determinaciones (Cod. R192)

## ASPECTO CLÍNICO Y USO AL QUE ESTA DESTINADO

La Enfermedad de Chagas es causada por el protozoo flagelado *Trypanosoma cruzi* afectando principalmente a los países de Latinoamérica. Las vías de transmisión del *Trypanosoma cruzi* pueden ser vectorial a través del las heces infectadas del insecto vector del género *Triatominae*, congénita por la ruta transplacentaria, transfusional por contacto con sangre infectada, por trasplante de órganos o por accidente laboral. Se reconocen tres períodos evolutivos de la enfermedad. El período agudo, generalmente visto en niños es usualmente asintomático. La mayoría de los casos agudos se resuelve en dos a tres meses. Le sigue el período indeterminado donde la seropositividad es la evidencia de la existencia de la enfermedad. La enfermedad crónica se manifiesta principalmente por la falla cardíaca que puede conducir a la muerte súbita. Los tests basados en la detección de anticuerpos específicos son los más comúnmente usados como ensayos de rutina para inferir la infección por el *Trypanosoma cruzi*, desarrollandose principalmente técnicas de HAI, IFI y ELISA.

## PRINCIPIO DEL ENSAYO

Es un ensayo inmunoenzimático, heterogéneo, no competitivo, basado en el método indirecto de tercera generación debido al uso de antígenos recombinantes para la detección de anticuerpos contra el *T.cruzi* en muestras de suero ó plasma humano. Los antígenos se obtienen por técnica de ADN recombinante y representan epitopes inmunodominantes correspondientes a los estadios epimastigote y trypomastigote de diferentes cepas del *Trypanosoma cruzi*.

Una dilución apropiada de las muestras se incuba en pocillos de poliestireno, recubiertos con antígenos purificados de *T.cruzi*. Los anticuerpos contra *T.cruzi* son específicamente capturados por esos antígenos, quedando unidos a la fase sólida. Luego de varios lavados, a fin de eliminar las inmunoglobulinas no capturadas, el sistema se incuba con un anticuerpo anti-inmunoglobulina humana conjugado a peroxidasa. Este conjugado reacciona específicamente con los anticuerpos contra *T.cruzi* inmunocapturados. El conjugado no unido se desecha por lavado y se revela la presencia de peroxidasa mediante el agregado de peróxido de hidrógeno/tetrametilbencidina como sustrato cromogénico. Esta incubación da como resultado la aparición de un color azul cuya intensidad depende de la concentración y de la afinidad de los anticuerpos contra *T.cruzi* de la muestra. La reacción enzimática puede ser detenida mediante el agregado de ácido sulfúrico, lo que produce un viraje de color hacia el amarillo espectrofotométricamente cuantificable.

## CONTENIDO

**Microplaca con tiras de pocillos:** Microplaca(s) de 12x8 tiras con pocillos rompibles sensibilizados con antígenos recombinantes de *Trypanosoma cruzi*. La microplaca está envasada en una bolsa tipo aluminio sellada con silicagel como desecante en su interior. Llevar a temperatura ambiente antes de abrir para prevenir la formación de humedad.

Nº de microplacas      Cod. R96    1              Cod. R192    2

**Control Positivo:** Dilución de suero humano reactivo para anticuerpos contra el Trypanosoma cruzi, con estabilizadores proteicos, inactivado químicamente, con conservadores. Material potencialmente infeccioso. Listo para usar.

Volumen Cod. R96 0,6 ml Cod. R192 0,8 ml

**Control Negativo:** Dilución de suero humano no reactivo para anticuerpos contra el Trypanosoma cruzi, con estabilizadores proteicos, inactivado químicamente, con conservadores. Material potencialmente infeccioso. Listo para usar.

Volumen Cod. R96 0,6 ml Cod. R192 0,8 ml

**Diluyente de Muestras:** Suspensión proteica para la dilución de las muestras, estabilizada buffereada con P.B.S., con inhibidores de inespecificidad, con conservadores. Agitar antes de usar.

Volumen Cod. R96 25 ml Cod. R192 50 ml

**Solución para Lavado 25X:** Solución para lavado de los pocillos concentrada 25X para ser diluida con Agua Destilada o Desionizada antes de usar. Contiene un buffer fosfato concentrado y un agente surfactante.

Volumen Cod. R96 50 ml Cod. R192 100 ml

**Conjugado 10X:** Solución proteica buffereada que contiene un anticuerpo anti-inmunoglobulina humana conjugado con peroxidasa (HRP), concentrado 10X. Contiene estabilizadores de proteínas y conservadores. Diluir 1:10 antes de usar con el Diluyente de Conjugado provisto.

Volumen Cod. R96 2,5 ml Cod. R192 3,5 ml

**Diluyente de Conjugado:** Suspensión proteica para la dilución del conjugado concentrado 10X, estabilizada buffereada con P.B.S., con conservadores. Agitar antes de usar.

Volumen Cod. R96 15 ml Cod. R192 30 ml

**Sustrato:** Solución que contiene peróxido de hidrógeno tamponado. Para mezclar con el Cromógeno.

Volumen Cod. R96 9 ml Cod. R192 15 ml

**Cromógeno:** Solución que contiene 3,3',5,5', Tetrametilbenzidina (TMB) con estabilizadores. Para mezclar con el Sustrato. *Advertencia: Almacenar y manipular protegida de la luz.*

Volumen Cod. R96 9 ml Cod. R192 15 ml

**Solución Stop:** Solución de Acido Sulfúrico 1M. Reactivo corrosivo. Listo para usar.

Volumen Cod. R96 15 ml Cod. R192 30 ml

**Manual de Instrucciones:** El presente documento.

**Nota:** Control Positivo y Negativo se preparan a partir de suero humano no reactivo para HBsAg y para anticuerpos contra HCV y HIV, adecuadamente inactivado. Sin embargo, por ser derivados de la sangre humana deben manejarse con precaución.

## MATERIALES NECESARIOS NO PROVISTOS

1. Micropipetas de 10-20, 100, 200 y 1000 µl con puntas descartables.
2. Material volumétrico de vidrio.
3. Cronómetro y papeles absorbentes.
4. Agua Destilada o Desionizada.
5. Incubador de microplacas de ELISA termostatzado a 37±1 °C.
6. Sistema lavador microplacas automático o manual capaz aspirar y dispensar volúmenes de 300-400 µl con recipiente colector de desechos potencialmente infecciosos.
7. Lector fotométrico de ELISA lineal con filtro de 450nm o bicromático provisto con filtros de 450nm y 620-630 nm. (de uso alternativo).
8. Materiales de bioseguridad.

## **ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD**

1. El kit tiene que ser conservado entre 2 y 8°C siempre en posición vertical y usarse antes de la fecha de vencimiento declarada en los rótulos. No congelar.
2. La microplaca debe ser llevada a temperatura ambiente antes de abrir su envase. Saque del marco sólo los pocillos necesarios para la prueba programada y guarde los restantes en su propio envase en presencia del desecante. Cierre herméticamente y colóquelas nuevamente entre 2 y 8 °C.
3. La Solución de Lavado diluida es estable a temperatura ambiente durante 1 semana.
4. Todos los otros reactivos son estables entre 2 y 8°C siempre que se hayan manipulado cuidadosamente para evitar la contaminación.

## **PRECAUCIONES DE SEGURIDAD**

1. Todos los reactivos contenidos en el kit son sólo para uso diagnóstico “in vitro”.
2. No utilice el kit o los reactivos después de la fecha del vencimiento declarada en los rótulos. El kit tiene que ser conservado entre 2 y 8°C.
3. Los procedimientos deben realizarse cuidadosamente para obtener resultados e interpretaciones clínicas fiables.
4. Evite cualquier contaminación de los reactivos al sacarlos de sus recipientes. Nosotros recomendamos utilizar pipetas automáticas con puntas descartables. Cuando dispense los reactivos no toque las paredes y el fondo de los pocillos.
5. No mezcle reactivos de lotes diferentes. No intercambie la tapa entre los diferentes reactivos componentes del kit.
6. Asegúrese que el Sustrato/Cromógeno no entre en contacto con agentes oxidantes o con superficies metálicas; evite su exposición a la luz durante la etapa de incubación o en su manipulación. Cuando utilice el reactivo hágalo sólo en recipientes y materiales plásticos descartables, perfectamente limpios o estériles.
7. Muestras y materiales potencialmente infecciosos tienen que ser manejados con cuidado siguiendo las normas de bioseguridad vigentes.
8. Todos los objetos en contacto directo con las muestras y los residuos del ensayo deben tratarse como potencialmente infecciosos. Los procedimientos más efectivos para la inactivación son el tratamiento con autoclave a 121°C durante 30 minutos o con Hipoclorito de Sodio a una concentración final de 2.5% durante 24 horas.
9. Evite cualquier contacto de líquidos con la piel y mucosas. Siempre use para su protección guantes, lentes, etc., según las normas de bioseguridad.
10. La Solución Stop es Irritante por lo tanto manipúlela con cuidado.

## **PRECAUCIONES TÉCNICAS**

- Coloque todos los reactivos a temperatura ambiente al menos 1 hora antes de comenzar con la prueba.
- Saque del marco sólo los pocillos necesarios para la prueba programada y guarde los restantes en su propio envase que contiene el desecante. Obture firmemente el envase con cinta antes de guardarlas entre 2 y 8°C.
- Los tiempos de distribución e incubación deben ser los mismos para todos los pocillos; evite interrupciones entre los pasos del ensayo.
- En el procedimiento de lavado, use sólo la Solución para Lavado proporcionada con el kit y siga cuidadosamente las indicaciones expresadas en la sección “Instrucciones de Lavado”.
- Elimine el exceso de Solución de lavado de los pocillos golpeándolos en forma invertida sobre papel absorbente.
- El color desarrollado en la última incubación es estable como máximo 30 minutos en la oscuridad.

## RECOLECCIÓN Y ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Puede utilizarse suero fresco o plasma (EDTA, Heparina, Citrato) humano. La sangre se extraerá de un paciente preferentemente en ayunas siguiendo las normas generales.

Las muestras deben ser límpidas. Ante la presencia de turbiedad, precipitados o coágulos recomendamos centrifugar a 2000 rpm durante 20 minutos a temperatura ambiente o filtrar con membranas de 0.22 $\mu$ . No utilizar muestras con contaminación bacteriana dado que pueden producir falsos resultados.

Muestras altamente lipémicas, ictericas o hemolizadas no deberían ser usadas ya que pueden dar falsos resultados en el ensayo. No utilice muestras inactivadas por calor.

Si las muestras no son usadas inmediatamente pueden guardarse entre 2 y 8°C durante 1 semana. En caso de almacenamiento prolongado congélelas a -20°C. Evite congelamientos y descongelamientos reiterados. Muestras congeladas deben ser homogeneizadas y centrifugadas antes de usar.

## PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

*Diluyente de Muestras y Diluyente de Conjugado:* Agitar antes de usar.

*Solución para Lavado:* La Solución para Lavado concentrada 25X tiene que ser diluida 1:25 con Agua Destilada o Desionizada antes de usar. Homogeneizar bien. La Solución para Lavado diluida es estable a temperatura ambiente durante 1 semana.

*Conjugado 10X:* Minutos antes de usar diluya el Conjugado concentrado 1:10 con el Diluyente de Conjugado provisto. Homogeneizar la solución suavemente. Preparar sólo la cantidad necesaria para las pruebas en curso.

*Sustrato/Cromógeno:* Aproximadamente 5 minutos antes de usar mezcle un volumen de Sustrato con un volumen de Cromógeno en un recipiente de plástico descartable, en cantidad necesaria de acuerdo a las necesidades. Esta solución es estable durante 1 hora a temperatura ambiente protegido de la luz.

## INSTRUCCIONES DE LAVADO

Un buen procedimiento de lavado es esencial para obtener datos analíticos correctos y precisos. Recomendamos que utilice un equipo lavador automático de microplacas de Elisa, calibrado y en buen funcionamiento. Normalmente 6 ciclos de lavado automático de 300-400  $\mu$ l/pocillo cada uno, con un reposo de 30 segundos entre cada ciclo, son suficientes para remover falsos positivos y ruido de fondo. Recomendamos calibrar el sistema de lavado sobre el propio kit para tener reproducibilidad en el desarrollo analítico.

En caso de lavado manual, se sugiere realizar 6 ciclos, distribuyendo y aspirando 300-400  $\mu$ l/pocillo por ciclo.

En todos los casos, los desechos potencialmente infectivos del lavado de las microplacas tienen que ser inactivados con Hipoclorito de Sodio al 2.5% en concentración final durante 24 horas y desechados según la legislación vigente como residuos patogénicos.

## PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

*Por lo menos 1 hora antes de usar coloque todos los reactivos necesarios para la prueba a temperatura ambiente. Agite antes de usar el Diluyente de Muestras y el Diluyente de Conjugado.*

1. Extraer del envase la cantidad de Pocillos de Reacción necesarios para el ensayo considerando como mínimo dos Controles Negativos y uno Positivo.
2. Agregar a cada pocillo 200  $\mu$ l de Diluyente de Muestras (ver Preparación de los Reactivos).
3. Dispensar 10 $\mu$ l de cada Muestra y los Controles en el Diluyente de Muestras anteriormente agregado. Luego de cada dispensado homogeneizar bien por carga y descarga de la micropipeta.
4. Aplicar sobre los pocillos movimientos circulares o pequeños golpes laterales durante 10

- segundos.
5. Incubar a 37 °C durante 30 minutos.
  6. Descartar el contenido total de los pocillos por aspiración y lavarlos 6 veces con la Solución para Lavado diluida (ver Preparación de los Reactivos) según las instrucciones indicadas en *Instrucciones de lavado*. Por último invertir los pocillos y golpearlos sobre papel absorbente para eliminar el líquido residual.
  7. Durante la incubación y minutos antes de usar preparar la solución de conjugado diluido (ver Preparación de los Reactivos).
  8. Dispensar en cada pocillo 100µl de la solución de conjugado diluido.
  9. Aplicar sobre los pocillos movimientos circulares o pequeños golpes laterales durante 10 segundos.
  10. Incubar a 37 °C durante 30 minutos.
  11. Descartar la solución de conjugado y lavar 6 veces como se indicó en el punto 6.
  12. Prepara la solución de Sustrato/Cromógeno (ver Preparación de los Reactivos). Agregar 100 µl de Substrato /Cromógeno a todos los pocillos. Homogeneizar bien durante 10 segundos aplicando sobre los pocillos movimientos circulares o pequeños golpes laterales
  13. Incubar a 37 °C y oscuridad durante 30 minutos.
  14. Retirar del incubador y leer los resultados en forma visual inmediatamente ó alternativamente frenar la reacción enzimática con el agregado de 100 µl de Solución Stop, homogeneizar bien durante 10 segundos y medir la Densidad Optica a 450 nm con un lector de ELISA empleando blanco de aire, dentro de los 30 minutos de agregada la solución.

**Esquema del procedimiento de ensayo:**

<i>Posición</i>	<i>Controles/Muestras</i>
A1+B1	Control Negativo
C1	Control Positivo
D1..... H12	Muestras

<i>Reactivos</i>	<i>Controles</i>	<i>Muestras</i>
<b>Diluyente de Muestras</b> (Ver Preparación de los Reactivos)	<b>200µl</b>	<b>200µl</b>
<b>Controles</b>	<b>10µl</b>	-
<b>Muestras</b>	-	<b>10µl</b>
<i>Homogeneizar 10 segundos e incubar durante 30 minutos a 37 °C.</i>		
Lavar 6 veces con Solución para Lavado diluida (Ver Preparación de los Reactivos)		
Diluir cantidad necesaria de Conjugado 10X		
<b>Conjugado diluido</b> (Ver Preparación de los Reactivos)	<b>100µl</b>	<b>100µl</b>
<i>Homogeneizar 10 segundos e incubar durante 30 minutos a 37 °C.</i>		
Lavar 6 veces con Solución para Lavado diluida (Ver Preparación de los Reactivos)		
Preparar cantidad necesaria de Sustrato/Cromógeno		
<b>Sustrato/Cromógeno</b> (Ver Preparación de los Reactivos)	<b>100µl</b>	<b>100µl</b>
<i>Homogeneizar 10 segundos e incubar durante 30 minutos a 37 °C y oscuridad.</i>		
Leer inmediatamente los resultados en forma visual o frenar la reacción.		
<b>Solución Stop</b>	<b>100µl</b>	<b>100µl</b>
Homogeneizar 10 segundos y leer espectrofotométricamente a 450 nm contra blanco de aire dentro de los 30 minutos de agregada la Solución.		

## INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS EN FORMA VISUAL

El Control Negativo debe ser incoloro o puede presentar una coloración celeste tenue. El Control Positivo, debe ser de color celeste o azul diferenciable del Control Negativo.

Las muestras incoloras o con coloración celeste tenue similar a la del Control Negativo, se considerarían presumiblemente **no reactivas** para anticuerpos contra T.cruzi. Las muestras que evidencien una coloración azul o celeste claramente distinguible del Control Negativo se considerarían presumiblemente **reactivas** para anticuerpos contra T.cruzi.

## INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS CON UN LECTOR DE ELISA

Luego del agregado de la Solución Stop, homogeneizar durante 10 segundos y medir la densidad óptica (D.O.) de cada pocillo con un lector fotométrico de ELISA lineal con filtro de 450nm o alternativamente bicromático provisto con filtros de 450nm y 620-630 nm, empleando blanco de aire, dentro de los 30 minutos de agregada la solución.

## VALIDEZ DEL ENSAYO

El ensayo es considerado válido si:

1. El valor de DO 450nm promedio del Control Negativo (CN) es  $< 0.250$ . Valores anormales se observan si el sistema de lavado es defectuoso o no se observaron las “Instrucciones de Lavado” descriptas en la sección correspondiente.
2. El valor de DO 450nm del Control Positivo (CP) es  $\geq 0.500$ . Valores diferentes se observan en caso de mantenimiento incorrecto del kit.

En caso de que no se cumpla alguna de las especificaciones mencionadas anteriormente, antes de repetir el test, verifique la fecha de vencimiento del kit, el correcto funcionamiento de los instrumentos usados en el ensayo, el procedimiento de distribución de Controles y Muestras o cualquier falla operativa.

## CÁLCULO DE RESULTADOS

La presencia o ausencia presumible de anticuerpos contra Trypanosoma cruzi, debe ser analizada teniendo en cuenta el Límite de Decisión (Cut-off value).

Calcule el valor promedio de densidad óptica (DO) del Control Negativo, verifique la validez del ensayo como se describió y aplique la fórmula siguiente:

$$\text{Límite de Decisión o Cut-off value} = \text{DO promedio del Control Negativo} + 0.100$$

Muestras con un valor de DO 450nm dentro del valor del Cut-off  $\pm 10\%$  se considerarían en zona gris.

Las muestras con un valor de DO 450nm por debajo del límite inferior de la zona gris se considerarían no reactivas para anticuerpos contra Trypanosoma cruzi.

Muestras con un valor de DO 450nm más alto que el límite superior de la zona gris se considerarían reactivas para anticuerpos contra Trypanosoma cruzi.

### *Ejemplo de cálculo*

Control Negativo promedio DO 450nm      0.160

Control Positivo DO 450nm                    1.700

Cut-off = CN + 0.100 = 0.260

Zona gris: Entre 0.234 y 0.286

Muestra #1 DO 450nm = 0.085 No reactiva

Muestra #2 DO 450nm = 1.158 Reactiva

## CONCLUSIONES

Toda muestra que ha sido reactiva y las correspondientes a la zona gris en una primera prueba deberían ser ensayadas nuevamente para su confirmación. Si el resultado es negativo en el segundo ensayo, la muestra se consideraría no reactiva.

Resultados no reproducibles en la reactividad de las muestras o de los controles podrían deberse a algunas de las siguientes causas:

- Lavado incorrecto de los pocillos de reacción.
- Contaminación cruzada de una muestra no reactiva con una muestra reactiva adyacente.
- Contaminación del Sustrato y Cromógeno con agentes oxidantes (como por ejemplo cloro).
- Contaminación de la Solución Stop.
- Contaminación de la Solución para Lavado diluida.
- Conservación inadecuada de los pocillos de reacción no utilizados.
- Mal dispensado y homogeneizado de las muestras.
- Incorrecto funcionamiento de los equipos y materiales utilizados para el desarrollo de la reacción.
- Usar materiales no provistos potencialmente contaminados o mal lavados.
- Usar recipientes para la preparación de los reactivos potencialmente contaminados o mal lavados.
- Insuficiente atemperado del kit al retirarlo de su temperatura de conservación antes de realizar la prueba.
- Inobservancia del procedimiento especialmente en la temperatura y tiempo de incubación.
- Otras.

## CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO DEL PRODUCTO

**SENSIBILIDAD:** La sensibilidad se ha determinado en ensayos clínicos empleando muestras comprobadamente reactivas del Centro Nacional de Referencia para la Enfermedad de Chagas de Argentina. También el kit fue enfrentado con miembros de un panel interno reactivo para anticuerpos contra el *Trypanosoma cruzi* por los métodos de HAI, IFI y otros ELISA. En todos los estudios se obtuvo una concordancia del 100%.

**ESPECIFICIDAD:** Se ha calculado empleando paneles de muestras no reactivas pertenecientes a hemodadores y de muestras que presentan potencialmente reactividad cruzada con otras parasitosis, mujeres embarazadas y factor reumatoideo obteniéndose una especificidad superior al 99% sobre suero y plasma.

**REPRODUCIBILIDAD:** Se ha calculado con el Control Positivo y el Control Negativo repetidamente probados en días diferentes. Se obtuvieron CV% intraensayos e interensayos menores que el 20% para ambos Controles.

## LIMITACIONES DEL MÉTODO

La serología sólo constituye un dato auxiliar para el diagnóstico. La técnica de ELISA, como cualquier otra técnica serológica, no puede ser concebida como un método de diagnóstico definitivo ya que éste debe basarse en la correlación de los resultados de más de un test con los datos clínicos y epidemiológicos. En ese sentido, todo resultado debe ser interpretado como una probabilidad mayor o menor de acierto en relación al caso estudiado, dentro de la población normal o parasitada.

Toda muestra reactiva para ELISA tiene que ser confirmada por un método alternativo.

Un resultado no reactivo no excluye la posibilidad de exposición o infección por el *Trypanosoma cruzi*. En infecciones muy recientes (menos de 30/45 días de evolución) la técnica puede presentar resultados no reactivos o reactividades muy bajas.

## **BIBLIOGRAFÍA**

1. Franco da Silveira, J.; Umezawa, E. and Luquetti, A.: Chagas disease: recombinant Trypanosoma cruzi antigens for serological diagnosis. Review Trends in Parasitology. Vol. 17 N° 6 June 2001.
2. Houghton, R.; Benson, D.; Reynolds, L. and col.: Multiepitope Synthetic Peptide and Recombinant Protein for the detection of Antibodies to Trypanosoma cruzi in Patients with Treated or Untreated Chagas' Disease. Journal of Infectious Diseases 181:325-30 (2000).
3. Houghton, R.; Benson, D.; Reynolds, L. and col.: A multi-Epitope Synthetic Peptide and Recombinant Protein for the Detection of Antibodies to Trypanosoma cruzi in Radioimmunoprecipitation-Confirmed and Consensus-Positive Sera. Journal of Infectious Diseases 179:1226-34 (1999).
4. Venkatesan, P. and Wakelin, D.: Techniques Elisas for parasitologists: or Lies, Damned Lies and Elisas. Parasitology Today 9(6): 228-232 (1993).
5. Cantarero, L.A.; Butler, J.E. and Osborne, J.W.: The adsorptive characteristics of proteins for polystyrene and their significance in solid-phase immunoassays. Analytical Biochemistry 105: 375-382 (1980).
6. Hillyer, G.V. and Kagan, I.G.: New advances in the immunodiagnosis of parasitic infections. I. The enzyme-linked immunosorbent assay. Bol. Asoc. Med. P. Rico 71(10): 366-377 (Octubre 1979).
7. Voller, A.; Bidwell, D.E. and Bartlett, A.: The enzyme linked immunosorbent assay (ELISA): a guide with abstracts of microplate applications. Fowline Press, Guernsey, Channel Islands 1-125 (1979).
8. Engvall, E.; Perlmann, P.: Quantitation of specific antibodies by enzyme-labeled anti-immunoglobulin in antigen-coated tubes. The Journal of Immunology. 109(1): 129-135 (July 1972).

### **LABORATORIO LEMOS S.R.L.**

Director Técnico: Jorge O. Carradori. Bioquím. y Farm.

Santiago del Estero 1162

C1075AAX. C.A.B.A. Argentina.

Telefax: (5411) 4304-2204/2374

E-mail: info@lab-lemos.com

www.lab-lemos.com

Autorizado por A.N.M.A.T. PM-1545-6164

USO PROFESIONAL-VENTA EXCLUSIVA  
A LABORATORIOS DE ANÁLISIS CLÍNICOS.

Industria Argentina