

VENTAJAS DEL MÉTODO DE QUIMIOLUMINISCENCIA FRENTE AL DE RADIOINMUNOANÁLISIS (RIA)

GARCÍA RODRÍGUEZ, Carmiña; MARTINEZ MALDONADO, Ivon.

Laboratorio de Endocrinología y Biomarcadores, Instituto de Servicios de Diagnóstico e Investigación en Salud (SELADIS). Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas, UMSA. La Paz - Bolivia.

Correspondencia heidy8_1@hotmail.com

RESUMEN

Actualmente se han desarrollado sistemas automatizados para realizar diferentes determinaciones laboratoriales. Los requerimientos básicamente pretenden abaratar costos, eficiencia y calidad de resultados. Así el uso de Inmunoensayos basados en el método de Quimioluminiscencia (emisión de luz asociada con la energía), es sin duda una tecnología con importantes ventajas, donde su ejecución no requiere del marcaje con isótopos radioactivos.

La perspectiva es disponer de tecnología de vanguardia, que utilice determinaciones inmunológicas más sencillas, con la ecuanimidad en la determinación y que admita realizar diferentes determinaciones de casi todas las áreas del Laboratorio Clínico tales como: Endocrinología, Inmunología, Virología, Epidemiología, Hematología, Bioquímica Clínica, etc.

La quimioluminiscencia es un método de lectura que se basa en el principio de emisión luminosa a través de una reacción (Enzima-Sustrato). Los laboratorios de investigación que han desarrollado estos ensayos de quimioluminiscencia han demostrado la excelente correlación con los ensayos de referencia, como los automatizados y Radioinmunoanálisis, donde encuentran precisión, baja reactividad cruzada, gran sensibilidad analítica sobre el orden de diez veces más sensible que la mayoría de los ensayos de hoy en día. La mayor parte de los ensayos se determinan en aproximadamente 30 minutos a una hora.

Este método posee una gran especificidad y sensibilidad ya que se puede determinar una reacción antígeno-anticuerpo del orden de los picogramos y con un mínimo de desnaturalización.

En esta revisión bibliográfica se mostrarán las ventajas del nuevo método de quimioluminiscencia en comparación

con el RIA a fin de dar una opción más al bioquímico para realizar pruebas de inmunoensayo.

Palabras clave: Quimioluminiscencia, Radioinmunoanálisis, Inmunoradiometría.

ABSTRACT

At the moment automated systems have been developed to make different laboratoriales determinations. The requirements basically try to lower the price of costs, efficiency and quality of results. Thus the use of Immunoassay based on the method of Quimioluminiscencia (emission of light associated with the energy), is without a doubt a technology with important advantages, where its execution does not require of the labelled with radioactive isotopes.

The perspective is to have technology of vanguard, that uses simpler immunological determinations, with the security in the determination and that it admits to make different determinations from almost all the areas of the Clinical Laboratory such as: Endocrinology, Immunology, Virology, Epidemiology, Hematology, Clinical Biochemistry, etc.

Chemiluminescent reading method is based on the principle of luminous emission through a reaction (Enzyme-Substrate). The research laboratories that have developed these tests of chemiluminescent have demonstrated the excellent correlation with the reference tests, like automated and the Radioimmunoassay, where they find precision, low reactivity crossed, the great analytical sensitivity on the order of ten times more sensible than most of the tests of nowadays. Most of the tests are determined in approximately 30 minutes to one hour.

This method has a great specificity and sensitivity since a reaction can be determined antigen-antibody of the order of the picogram and with a minimum of denaturation.



In this bibliographical revision were the advantages of the new method of chemiluminescent in comparison with the RIA in order to give one more an option to the biochemist to make tests of immunoassay.

INTRODUCCIÓN

El descubrimiento de las diferentes técnicas inmunológicas se remonta aproximadamente, a un poco más de 100 años. En todo este camino junto a las innumerables satisfacciones y contrariedades de diferentes métodos laboratoriales, surgen las técnicas más sensibles y exactas como el radioinmunoanálisis (RIA) y la Quimioluminiscencia, ambas utilizadas para la determinación de sustancias de tipo no hormonal y hormonal de sangre u otros líquidos corporales.

RESEÑA HISTÓRICA

El fenómeno de emisión de luz por moléculas orgánicas se ha conocido por más de cien años, desde que Radziszki y Zenski descubrieron en 1877 compuestos luminiscentes (12).

En 1928 Albrech descubrió las propiedades de un compuesto emisor de luz conocido como luminol. Al ser oxidado con peróxido de hidrógeno en un medio alcalino y en presencia de un catalizador, el luminol emite luz individualmente como fotones (10).

El potencial de aplicación analítica de la quimioluminiscencia no fue reconocido hasta 1947, cuando se aisló por primera vez la luciferasa de la luciérnaga. En 1952 Sthreler y Totter descubrieron la aplicación de la luciferasa a una técnica analítica para la medición de ATP.

En 1959 el trabajo de Berson y Yalow sobre la hormona insulina desvió la atención de las moléculas bio y quimioluminiscentes para análisis y la enfocó en el uso de radioisótopos en una técnica analítica conocida como radioinmunoensayo (RIA).

Berson y Yalon fueron los primeros en observar la gran sensibilidad posible mediante el uso de indicadores radioisótopos en la reacción antígeno anticuerpo. Además reconocieron que el antígeno marcado combinado tiene una relación cuantitativa con la cantidad de insulina (antígeno no marcado en la muestra), cuando la concentración de anticuerpo y antígeno marcado en el sistema, se mantiene constante. Esto formó la base de la teoría de enlace competitivo empleada en la mayoría de las pruebas de RIA (12).

La precisión, exactitud, simplicidad y todas las demás características del RIA, no pudieron ser igualadas por otras técnicas que se intentaron en el año 1959. El principio del RIA era inmediatamente aplicable a las hormonas peptídicas y no peptídicas existiendo una gran sensibilidad y resultados reproducibles. El RIA es aplicado ampliamente en el campo de la endocrinología clínica para medir las hormonas con mucha precisión (10).

La luminiscencia ha sido conocida aproximadamente desde 1667, la existencia de la bioluminiscencia fue reconocida por Boyle en Alemania, la describió como luz caliente. En 1887, Rad Ziszewski descubrió algunos componentes químicos que tienen propiedades luminiscentes (12).

En 1928, Albrech descubrió las propiedades del luminol un componente el cuál cuando se oxida por medio de peróxido de hidrógeno emite luz como fotones individuales.

Mientras es recordado que los soldados Japoneses en la Segunda Guerra Mundial hicieron uso de esto, mezclando bioluminiscencia de crustáceos, amasados con saliva como fuente cruda de la luz para leer mapas en la noche (10,12).

El potencial para aplicaciones analíticas no fue reconocido hasta 1947 cuando apareció la luciferasa y en 1952 Etrehler y Totter publicaron una aplicación analítica específica de la luciferasa en un ensayo para adenosin trifosfato (ATP).

El primer ensayo de quimioluminiscencia fue descrito en 1976 con un reporte de Schroeder et. al.; reportaron el desarrollo de un ensayo quimioluminiscente, este ensayo utilizó como indicador el isoluminol, éste requiere la adición de un catalizador para que la reacción de emisión de luz ocurra (8).

Considerable interés se creó en otras moléculas quimioluminiscentes con los reportes de Mc. Capra, Woodhead, Weeks, Schroeder y otros. En 1978 se hicieron reportes de muchas publicaciones sobre el uso de otro indicador quimioluminiscente llamado éster de acridina que ha causado incremento en el interés y aplicación de esta metodología (8).

El éster de acridina, no requiere la adición de un catalizador para que ocurra la reacción de emisión de luz, en contraste con la base del sistema de luminol, en donde una amplia variedad de especies químicas pueden influenciar la reacción (8,15).

Las reacciones químicas que emiten luz y las reacciones biológicas tienen un diverso rango de aplicaciones pero muchas no han sido adoptadas para la rutina de los laboratorios clínicos. Las ventajas de la quimioluminiscencia en los ensayos incluyen sensibilidad (límites de detección de moles, nanogramos, picogramos) y velocidad (señal generada en unos pocos segundos y en algunos casos estable por varias horas), sin residuos peligrosos, y procedimientos simples. La mayoría de las aplicaciones son en inmunoensayos, marcaje de proteínas, ensayos en moléculas de DNA. Las moléculas quimioluminiscentes investigadas marcadas incluyen el luminol, isoluminol, ésteres de acridina, tioésteres y sulfaminas, y ésteres de fenantreno. En bioluminiscencia, una reacción química mediada por enzimas es responsable por la excitación, y esta reacción es siempre emparentando a organismos vivos.

En 1976, una tecnología semiautomatizada para ensayos de captación fue descrita al usar isoluminol como el indicador con el requerimiento de la adición de un catalizador para que la emisión de luz ocurra (8,11). Con este método semiautomatizado ya ofrecen los inmunoensayos utilizando la tecnología de quimioluminiscencia. Aquí la oxidación de éster de acridina ocurre rápidamente, con un pico de emisión de luz en un segundo.

Desde 1983, los métodos de Quimioluminiscencia y Bioluminiscencia han sido desarrollados con varios marcadores de enzimas tales como fosfatasa alcalina, glucosa 6 fosfato deshidrogenasa, peroxidasa del rábano, la luciferasa de la renilla, y la xantina oxidasa. En estos últimos años se introdujeron al mercado de la comunidad científica inmunoensayos, los cuales consistían en una fase sólida como método de separación. Éste grupo de ensayos usan partículas paramagnéticas (PMP) como fase sólida. La separación es perfeccionada al colocar los tubos en una banda magnética. Ambas fracciones ligadas se agregan en el área magnética y la fracción libre es decantada, eliminando la necesidad de centrifugación (12).

Ciba Corning fue el primero en ofrecer inmunoensayos utilizando esta tecnología quimioluminiscente con el equipo Magic Lite semiautomatizado. La compañía Abbot crea el Axsyn totalmente automatizado, la compañía Sanofi Pasteur crea el sistema Access, totalmente automatizado también. La compañía Ciba Corning (ahora llamada Bayer) no se queda atrás y crea el sistema ACS 180 totalmente automatizado, de ahí el ACS plus con capacidad de más pruebas después crea el Centauro otro equipo también automatizado pero con mayor capacidad y velocidad. Todos ellos utilizando la tecnología

de quimioluminiscencia (11).

FUNDAMENTO DEL RIA

El RIA es una técnica de análisis en el que una pequeña cantidad de sustancia marcada radioactivamente, es desplazada de su unión específica por otra similar no marcada que va a competir con la sustancia marcada radioactivamente.

Al sistema de fijación elegido se le agrega una cantidad x de antígeno marcado, posteriormente se le agrega una cantidad x de antígeno sin marcar o sea el suero problema, así se establece la competencia por los sitios de unión del anticuerpo, sigue la incubación a 37 grados Celsius, procediendo a los lavados mediante los cuales se realiza la separación del antígeno unido y del libre, de la cantidad de antígeno marcado fijado a diferentes concentraciones se hace una curva que permite encontrar cualquier concentración de antígeno no marcado que sea desconocido (12).

El RIA es una técnica analítica de referencia con calidad incomparable, además son un sin número de pruebas y aplicaciones que se pueden realizar mediante este. El isótopo más utilizado para marcar hormonas es el I^{125} , I^{131} . Son usados en el marcaje de hormonas esteroides y drogas. La vida media es de 60 días y de 8 días respectivamente (12).

Los medios de separación que utiliza el RIA son: separación cromoelectroforética, cromatografía, difusión en gel, electroforesis en el papel o acetato de celulosa, absorción, proteína A-estafilococcica. Estos medios separan de la hormona libre y del complejo, eliminando la presencia de sustancias no específicas y no alterando el equilibrio antígeno anticuerpo conseguido en la incubación, son rápidos, cómodos y baratos. Las automatizaciones han disminuido el error inherente de las técnicas manuales, como lo era la influencia de la temperatura, medio ambiente iónico, el pH, la presencia de varios contaminantes que pueden interferir o degradar una molécula o su porción radiactiva del componente final del sistema RIA será la separación de la fracción marcada ligada al complejo y la fracción que se encuentra libre, seguida por la cuantificación de la actividad de ambas fracciones ya sin interferencia por la automatización.

REACTIVOS DE ANÁLISIS

Es necesario contar con una forma muy purificada del antígeno en cuestión para el marcaje. Las formas menos



purificadas de antígeno no pueden servir perfectamente para usar como inmunógeno y estándar. Los requerimientos de pureza del material a marcar son muy estrictos, porque en última instancia lo que se mide es la radioactividad. Si ésta última se asocia en grado significativo con especies moleculares ajenas a la que va a medirse, en ese grado el análisis será no específico y quizás inútil. Por otra parte, siempre que el antígeno sea inmunógeno puede estar contenido en una mezcla relativamente muy impura, pues la especificidad de la inhibición de unión observada depende exquisitamente de la pureza de la especie marcada con ligando presente. El requerimiento más crítico del ligando a usar como estándar es un análisis es que se comporte en el sistema de análisis en forma idéntica al comportamiento del ligando de interés en el líquido biológico analizado. También un agente de unión con características apropiadas es indispensable para un buen análisis (10,12).

Para sustancias de peso molecular bajo, especialmente aquellas en las que puede introducirse tritio por vías biosintéticas en niveles muy altos de actividad específica, este isótopo puede ser apropiado para usar en análisis de unión competitiva, aunque el marcador de elección es el I125, la vida media es de alrededor de 60 días y permite gran actividad específica pero no requiere uso inmediato de análisis. Para la elección del agente de unión se tiene que tomar en cuenta diversos factores. Si el ligando en cuestión es un inmunógeno potente, la producción de antisuero puede no ser difícil y éste puede ser el método de elección (12).

Si hay interés especial en medir la porción biológicamente activa de un grupo heterogéneo pero estrechamente relacionado de moléculas, un análisis radiorreceptor que emplea un receptor tisular puede ser el método de elección.

Casi todos los análisis de unión competitiva son satisfactorios con valores de pH aproximados de 7.0 a 8.6 pero hay excepciones, y cuando se emprende un análisis es conveniente hacer por lo menos un experimento de dependencia del pH para asegurarse de que no habrá pérdida de tiempo experimental siguiente. También se necesitan diversas sustancias recolectoras o limpiadoras que se emplean para saturar y limpiar sitios de absorción física y minimizar las pérdidas de reactivos críticos en plástico o vidrio. También se debe incluir los inhibidores de proteasa para eliminar la susceptibilidad de glucagón y ACTH a las proteólisis por enzimas normalmente presentes en el plasma (12).

En los servicios de medicina nuclear se han realizado técnicas de RIA desde su instauración, ya que en ellos

ha existido la instrumentación necesaria, los especialistas calificados y, además, acreditan la condición de instalación radiactiva como imperativo legal imprescindible para la utilización de isótopos radiactivos (12).

Los especialistas en medicina nuclear y la acreditación docente para los hospitales que pueden impartirla exige la existencia de laboratorios en los servicios de esta especialidad médica, en los que se deben realizar técnicas de RIA (12).

LA QUIMIO LUMINISCENCIA

La luminiscencia es definida como la emisión de luz asociada con la disipación de energía con una sustancia electrónicamente excitada. Si los electrones de un componente luminiscente son estimulados por una luz en estado normal, estos dan energía en forma de luz cuando ellos regresan al estado.

TIPOS DE LUMINISCENCIA

Hay diferentes formas de luminiscencia:

Fotoluminiscencia, también conocida como fluorescente, la sustancia es estimulada por fotones de luz, la emisión de la luz con un trazador fluorescente es diferente (8).

Bioluminiscencia, una reacción química mediada por enzimas es responsable por la excitación, y esta reacción está siempre emparentada a organismos vivos (8).

Quimioluminiscencia, la emisión de luz es causada por los productos de una reacción específica química, en la cual se involucran las siguientes sustancias según el sistema automatizado que sea utilizado: éster de acridina, peróxido-ácido, hidróxido de sodio, fosfatasa alcalina. En el caso de esta reacción el agente quimioluminiscente es el éster de acridina que es oxidado por el peróxido-ácido y el hidróxido de sodio (8,14).

QUIMIO LUMINISCENCIA (DIRECTA)

Weeks y colaboradores en 1984 desarrollaron una nueva técnica basada en la quimioluminiscencia, la cual emplea como fase sólida, micropartículas paramagnéticas recubiertas de anticuerpos específicos contra la sustancia a analizar y como marca el éster de acridina (7).

Este ensayo es de tipo heterogéneo y, se caracteriza por la emisión de luz visible debido a una reacción química producida por la oxidación del éster de acridina empleado como marca. Se realizan ensayos tanto por competencia

como por "sandwich" (9,10).

Las partículas paramagnéticas empleadas en estos ensayos ofrecen una máxima superficie de contacto (100 veces más que los métodos convencionales) y una rápida separación magnética, con una mínima unión inespecífica (11,15).

QUIMIOLUMINISCENCIA AMPLIFICADA (INDIRECTA)

Existe otro método quimioluminiscente, el cual emplea como marca una enzima, la fosfatasa alcalina que cataliza la hidrólisis del éster de fosfato del substrato adamantil diacetano (el cual es un compuesto estable) para formar constantemente un anión inestable el cual produce una fuerte emisión de luz. Esta señal luminosa prolongada en lugar del relámpago de luz de los otros métodos quimioluminiscentes permite hacer numerosas lecturas con el consiguiente aumento en la precisión del ensayo (11,15).

VENTAJAS DE LA QUIMIOLUMINISCENCIA

La quimioluminiscencia (tanto directa como indirecta) representa una alternativa automatizada del RIA que no sacrifica la eficiencia del ensayo, por lo que es uno de los métodos de inmunoanálisis con mejor futuro inmediato en la práctica clínica habitual, por presentar (6):

- Alta sensibilidad (femtogramos 10^{-15} g).
- No emplea radiactividad.
- No genera riesgo contaminante ni ruido de fondo a la hora de efectuar el proceso del análisis de una muestra, control o estándar.
- Los resultados son rápidos (generalmente a los 15 min).
- Equipos automatizados de fácil manejo.

A la fecha el método de quimioluminiscencia ha sufrido innumerables cambios una modificación importante del método, es que permite la cuantificación de una sustancia, sobre el basamento de la reacción antígeno anticuerpo, empleando un marcador como indicador de la reacción que puede ser el éster de acrinina u otro. Que en combinación con los reactivos: peróxido-ácido e hidróxido de sodio, en contacto con la muestra y el analizador proporcionan la reacción quimioluminiscente. El peróxido-ácido provee el agente oxidante para el éster de acridina, el hidróxido de sodio, proporciona el cambio de pH necesario para que la reacción de oxidación ocurra (6,15).

La combinación de las propiedades de aplicación del método de quimioluminiscencia, llevaron a desarrollar un sistema de reacción que involucra a una enzima, así el método proporciona una alta sensibilidad analítica. En la actualidad la cual se basa en el principio de emisión de energía luminosa a través de una reacción química (Enzima - Sustrato) (5,6). La gama de pruebas que conforman su menú permite realizar diferentes perfiles de casi todas las áreas del laboratorio clínico, empleando reactivos de alta calidad que permiten obtener resultados muy confiables (15).

Para cuantificar un analito determinado por este método, el sistema inyecta un reactivo 1 y después el reactivo 2 en las cubetas de análisis conteniendo la mezcla de reacción. Esto dispara la reacción que resulta en la emisión de fotones de luz. El fotomultiplicador (PMT), un fotodetector, detecta los fotones de luz emitida y los convierte en pulsos eléctricos. Los sistemas cuentan estos pulsos eléctricos, leen y los resultados son comparados en una curva madre definida para cada ensayo, finalmente el sistema emite su cálculo de la concentración del analito determinado (15,16).

A continuación se mencionan algunas características y beneficios generales de estos sistemas (3,4,5):

- Los inmunoensayos por quimioluminiscencia evitan los desechos tóxicos y los resultados que se obtienen son equiparables con Radioinmunoanálisis.
- Estos sistemas son accesibles, conservando los reactivos en buen estado con el mínimo de manipulación por parte del operador, evita la necesidad de reinicializar el equipo para las pruebas con lo que se puede disponer del equipo en cualquier momento.
- Cuenta con lector de código de barras para identificar muestras y reactivos permitiendo un mejor control de los mismos evitando confusiones y disminuyendo el tiempo de programación.
- Estos equipos trabajan al menos 5 perfiles de pruebas a una misma muestra sin necesidad de medir o de montar 5 veces la misma muestra lo que disminuye considerablemente el tiempo de trabajo de rutina en el laboratorio.
- Capacidad para trabajar de urgencia sin interrumpir el trabajo ya programado en proceso obteniéndose el resultado de la urgencia en el



mínimo de tiempo independientemente de las otras muestras programadas.

- Cuentan con acceso continuo de muestras y reactivos necesarios en forma constante sin necesidad de interrumpir el trabajo que se está realizando y así, disminuye y optimiza el tiempo de trabajo de rutina.
- Todas las pruebas se realizan bajo el mismo principio facilitando el orden o tipo de prueba que se le programe a las muestras.
- El rango de tiempo para la obtención de los resultados de los perfiles va de 15 a 50 minutos, por ejemplo: un perfil tiroideo se obtiene en 20 o 40 min., perfil ginecológico igual, un VIH en 20 minutos, una GCH en 17 minutos, etc (2).
- La estabilidad de las calibraciones es de 28 días optimizando el costo por prueba.
- Tiene capacidad para procesar 20 muestras simultáneamente con opción a seguir programando por medio del software del sistema, el cual reporta los horarios exactos para la obtención de los resultados. Por lo tanto optimizan los tiempos de rutina.
- El sistema reporta los resultados tanto de muestra impresa como en pantalla y se puede consultar momento aunque se encuentre trabajando. Se puede obtener de la memoria resultados de días anteriores ya que posee una memoria para 100 resultados.
- Las curvas de calibración pueden ser consultadas en cualquier momento y obtener su reporte impreso, lo que constituye un soporte para la confiabilidad de los resultados.

Los sistemas cuentan además con una función especial para el control de calidad de todas y cada una de las pruebas que realiza con la posibilidad de obtener un reporte impreso diario, semanal, mensual, por lotes de reactivos de manera específica, etc.

MENÚ DE PRUEBAS OFERTADAS POR MÉTODO DE QUIMIOLUMINISCENCIA EN UN EQUIPO AUTOMATIZADO

El desarrollo del método de Quimioluminiscencia, también ha permitido la aplicación de este a varias tecnologías de sistemas automatizados (1). El menú de pruebas se encuentra en continuo crecimiento y las pruebas que se mencionan a continuación podrían variar de sistema a sistema (1,2):

| Alergia | |
|-------------------------------|--|
| Prueba | <ul style="list-style-type: none"> • Hormonas. • Tiroides. • Fertilidad. • Próstata. • Marcadores tumorales. • Marcadores óseos. |
| Allergy Sreen | ACTH |
| ECP (sólo para investigación) | Coritsol |
| IgE Total | |
| Anemia | |
| Prueba | |
| EPO | |
| Ferritina | |
| Ácido Fólico | |
| Homocysteina | |
| Vitamina B12 | |
| Metabolismo Óseo | |
| Prueba | |
| Calcitonina | |
| PTH | |
| Pyrilinkis®-D | |
| Toxoplasma IgG | |
| (Quantitativa) | |
| Toxoplasma IgM | |
| Marcadores Inflamatorios | |
| Prueba | |
| High Sensitivity CRP | |
| IL 1B, IL2R, IL6, IL8 | |
| Endocrinología Reproductiva | |
| Prueba | |
| AFP (NTD) | |
| Androstenediona | |
| DHEA-SO ₄ | |
| Estradiol | |
| FHS | |
| HCG (Total HCG) | |
| LH | |
| Progesterona | |
| Prolactina | |
| SHBG | |
| Teltesteron Total | |

Cardiovascular

| Prueba |
|-------------|
| CK-MB |
| Myoglobina |
| Troponina I |

Diabetes

| Prueba |
|------------------|
| Urinary Albumina |
| Péptido - C |
| Insulina |

Desarrollo y Cracimiento

| Prueba |
|------------------|
| Urinary Albumina |
| Peptido - C |
| Insulina |

Enfermedades Infecciosas

| Prueba |
|-------------------------------|
| CMV |
| H. Pylori IgG |
| Anti-HBc |
| Anti-HBc IgM |
| HBsAg |
| HBsAg Confirmatoria |
| Anti-HBs |
| Herpes I & II IgG |
| Rubela IgG (Cuantitativa) |
| Rubela IgM |
| Toxoplasma IgG (Cuantitativa) |
| Toxoplasma IgM |

Marcadores Inflamatorios

| Prueba |
|-----------------------|
| High Sensivity CRP |
| IL 1B, IL2R, IL6, IL8 |

Fármacos y Drogas

| Prueba |
|-----------------|
| Carbamazepina |
| Digitoxina |
| Phenobarbital |
| Phenytoina |
| Theophyllina |
| Ácido Valproico |

Función Tiroidea

| Prueba |
|------------------------|
| T3 Libre |
| T3 Total |
| T4 Libre |
| T4 Libre |
| TBG |
| Theophyllina |
| Anti-TG Ab |
| Anti-TPO Ab |
| TSH Rápida |
| TSH Tercera Generación |

Marcadores Tumorales

| Prueba |
|------------------------|
| AFP |
| BR-MA (CA 15-3) |
| CEA |
| OM-MA (CA 125) |
| PAP |
| PSA |
| PSA Tercera Generación |

Ensayos Rápidos

| Prueba |
|-------------|
| CK-MB |
| HCG |
| Myoglobina |
| PTH |
| Troponina I |

Veterinaria

| Prueba |
|-----------------|
| TLI Canina |
| Total T4 Canina |
| TSH Canina |

Otros Análisis

| Prueba |
|-----------------------|
| Beta-2 Microglobulina |
| Canabinoides (THCA) |
| Gástrica |



CONCLUSIONES

Ante la posible y previsible tendencia a cierta unificación de laboratorios y sustitución de técnicas de RIA por otras como el método de quimioluminiscencia, se requiere de una información clara y ordenada que evidencie las características del RIA y sus ventajas frente a otras técnicas analíticas.

En la mayoría de los hospitales las técnicas de RIA están sólidamente establecidas desde hace muchos años. Recientemente en las direcciones de los mismos se observa una tendencia a plantearse la sustitución del RIA por otras técnicas de más reciente introducción. Estas pretenden como máximo objeto igualar la calidad del RIA. Ofrecen como mayor aportación real, facilidad y velocidad en la obtención de resultados. Su argumentación la basan en la automatización de los equipos y en la información incorporada a los mismos.

Sin embargo el cambio no debe atribuirse sólo a automatizar un determinado laboratorio sino comprender las ventajas y desventajas que implica tal decisión. Aunados todos los criterios se debe contemplar la necesidad inmediata de los usuarios de un determinado laboratorio, de tal forma que se potencie todos los requerimientos.

Un aspecto importante es que si bien un laboratorio elige estar a la vanguardia de la tecnología, no debemos olvidar que detrás de cualquier resultado emitido, esta un criterio muy bien fundamentado por un profesional, que sin lugar a duda ningún sistema automatizado podrá realizar. Es decir el fallo final siempre lo da el operador profesional, especialista del área.

Respecto a costos, cada método es manejado según sea conocido en el mercado, no obstante la premisa será siempre que la salud es la mejor inversión y que invertir en un método que arroje fiabilidad será de beneficio común. No obstante estamos sujetos a negocios de diferentes tipos, ya que en ciertas circunstancias el fabricante compromete de carácter exclusivo solo a su empresa o por el contrario no garantiza el suministro adecuados y a tiempo de reactivos e insumos. Esta es una desventaja a la hora de elegir sistemas automatizados pero considerando el buen y oportuno manejo (1).

- o El no empleo de material radioactivo, por el método de quimioluminiscencia, reducen los costos de mantenimiento y la contaminación.

- o Debido que el método de quimioluminiscencia es un método automatizado el tiempo de elaboración de la prueba es mucho más corto y mucho menos tedioso. Disminuyendo así el riesgo de efectos operadores en las determinaciones inmunológicas.
- o Se presenta como un alternativa este nuevo método, por que además de poseer las ventajas mencionadas anteriores, se pueden realizar muchas pruebas al igual que con el RIA y algunas otras más.
- o Y no se necesita licencia especial para poder establecer un laboratorio de medicina nuclear las determinaciones sólo la persona con el permiso correspondiente.
- o Con esto teóricamente puede decir que la Quimioluminiscencia es un método alternativo para aquellos laboratorios grandes y pequeños que deseen montar estos inmunoensayos sin mayor complicación como lo es el RIA.

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

1. Christofides ND, Sheehan CP. Enhanced chemiluminescence in the measurement of proteins and haptens: evaluation of choriogonadotropin (hCG) and free thyroxine. *J Biolumin Chemilumin.* 1990 Jul-Sep; 5(3):193-5.
2. Zucchelli GC, Pilo A, Masini S, Chiesa MR, Prontera C. A new chemiluminescence immunoassay for triiodothyronine and thyroxine: evaluation using quality control sera assayed in an interlaboratory survey. *J Clin Chem Clin Biochem.* 1990 Apr;28(4): 193-7.
3. Liappis N, Starke A, Schlebusch H. [Comparison of the luminescence enhanced enzyme immunoassay Amerlite FT4/MAB-FT4 and Amerlite FT3/MAB-FT3 in blood serum of children. Reference values]. *Klin Padiatr.* 1994 Sep-Oct; 206(5):392-6.
4. Christofides ND, Sheehan CP. Multicenter evaluation of enhanced chemiluminescence labeled-antibody immunoassay (Amerlite-MAB) for free thyroxine. *Clin Chem.* 1995 Jan; 41(1):24-31.
5. Christofides ND, Sheehan CP, Midgley JE. One-step, labeled-antibody assay for measuring free thyroxine. I. Assay development and validation. *Clin Chem.* 1992 Jan; 38(1):11-8.

6. Christofides ND, Sheehan CP. Enhanced chemiluminescence labeled-antibody immunoassay (Amerlite-MAB) for free thyroxine: design, development, and technical validation. Clin Chem. 1995 Jan; 41(1):17-23. PMID:
7. Choeder HR, Hines CM, Osborn, et al immunochemiluminometry assay for hepatitis B surface antigen. Clin chem 1981; 1378-1384.
8. Larry J. Kricka, sensitive detection systems, Chemiluminescent and Bioluminescent techniques; Clin. Chem. 37/9,1991, 1472-1481.
9. Law Sj, Chang, Palmacci Sa, et al: Polysubstituted aryl acridinium esters. U.S: patent 4 May 17 1988; 181.
10. Mc Capra F, Tutt D, Topping: The chemiluminescence of acridinium phenyl carboxylates in the presence of glucose and peroxide, in proceedings of the International Symposium on Analytical application of Bio and chemiluminescence. Brussels. Belgium, 1978.
11. Strehler BI, Totter jr: Firefly luminescence in the study of energy transfer mechanisms. Arch Biochem Biophys, 1952; 28-40.
12. Ureha F. y Davila J.I: Moléculas marcadas. Ciencia y desarrollo, 1983; 95-98.
13. Weeeks I, Capell Ak, Woodhead Js: Two site immunochemiluminometric assay for human alpha-fetoprotein. Clin chem.,1983; 148-149.
14. Weeeks I, Woodhead Js: Chemiluminescence immunoassay J. Clin. Immunol, 1984; 82-89.
15. Weeeks I, Inmonoassay Using Chemiluminescence acridinium ester labeled antibodies. Presented at medica, west Germany 6 1985.
16. Weeeks I, Beheshti I, Mc Capra F, et al: Acridinium esters as high-specific-activity labels in immunoassay Clin Chem, 1983: 1474-1479.

