

## MÉTODOS INMUNOLÓGICOS

Los métodos inmunológicos o inmunoensayos son métodos analíticos basados en la reacción Antígeno- Anticuerpo (**Ag-Ac**).

Se entiende como antígeno (**Ag**) cualquier molécula que puede ser reconocida específicamente por cualquiera de los componentes del sistema inmunitario (SI) que protege al organismo de una amplia variedad de agentes infecciosos. En un sentido más restrictivo un Ag es cualquier molécula capaz de inducir la producción de anticuerpos (**Ac**) específicos.



Los anticuerpos (**Ac**), también conocidos como inmunoglobulinas, son un grupo de moléculas séricas que producen los linfocitos B. Los diferentes tipos de Ac tienen una estructura básica común a todos ellos, siendo específico de cada uno el sitio por el que se unen al Ag. La zona de la molécula del Ag a la que se une el Ac se denomina **epítipo**. Un antígeno puede presentar un número variable de epítipos de estructura única o repetitiva. La complejidad

estructural de las proteínas favorece que éstas presenten por lo general un número elevado de epítipos. Los reactivos para anticuerpo se desarrollan a partir de anticuerpos policlonales y monoclonales.

Los **inmunoensayos** se pueden clasificar en:

1) Inmunoensayos Directos. Medida directa del complejo Ag-Ac.

2) Inmunoensayos con Reactivos Marcados o Indirectos. Requieren el uso de material marcado para medir la concentración de antígeno o anticuerpo presente. Estos a su vez se clasifican:

A) Según el *TIPO DE MARCADOR*

**Radioinmunoensayos** La reacción Ag-Ac se pone de manifiesto por la competición entre el Antígeno o el Anticuerpo que estemos estudiando y una concentración conocida del mismo compuesto marcado radiactivamente.

**Fluoroimunoensayos** Para la realización de estas técnicas el anticuerpo se marca con un fluorocromo detectándose la formación del complejo Ag-Ac por la fluorescencia emitida.

**Enzimoimunoensayos** Utilizan una enzima como marcador para amplificar la señal obtenida de la reacción entre un antígeno y un anticuerpo. Dentro de los enzimoimunoensayos hay que destacar los **Quimioimunoensayos**, en los cuales la enzima cataliza la oxidación de un sustrato.

B) Según el *MÉTODO DE SEPARACIÓN*

**Heterogéneos.** El Ag marcado unido al Ac (Ac-Ag\*) debe de ser físicamente separado del Ag marcado que permanece libre en la disolución (Ag\*). El procedimiento de separación puede llevarse a cabo por precipitación de los Ac o por la adición de un segundo Ac que atrapa y precipita el Ac original.

**Homogéneos.** No requieren la separación de la unión anti Ac-Ag\* del Ag\* libre.

C) Según el *DISEÑO DEL ENSAYO*

**Competitivos.** En los formatos competitivos, el analito sin marcar (generalmente antígeno) en la muestra se mide por su capacidad para competir con un antígeno marcado en el inmunoensayo. El antígeno sin marcar bloquea la capacidad del antígeno marcado de unirse puesto que ese punto de unión en el anticuerpo ya se encuentra ocupado. En el formato competitivo de un solo paso tanto

el reactivo del antígeno marcado (Ag\*) como la muestra sin marcar (o analito de la muestra) compiten por una cantidad limitada de anticuerpo. La concentración de antígeno es inversamente proporcional a la concentración de la señal.

**No competitivos o “sandwich”.** El analito está unido (como un sandwich) entre dos reactivos de anticuerpo muy específicos. En los ensayos no competitivos, la medición del analito marcado, generalmente un anticuerpo, es directamente proporcional a la concentración de antígeno presente en la muestra, lo que puede representarse por medio de una curva de respuesta a la concentración. El eje X traza la concentración de un antígeno. El eje Y traza la respuesta, que en este caso se trata de la señal. Así, cuanto mayor sea la cantidad de antígeno presente, más anticuerpos marcados se unirán.

En el Laboratorio de control de dopaje de la AEA, los métodos inmunológicos se utilizan para la detección y confirmación de las hormonas peptídicas que se encuentran prohibidas en la Lista de Sustancias y métodos prohibidos publicada por la Agencia Mundial Antidopaje (AMA), dichas sustancias son; La **Hormona gonadotropina corionica (hCG)** que promueve el mantenimiento del cuerpo luteo durante el inicio del embarazo, la **Hormona Luteneizante (LH)** puede inducir también la ovulación y la producción de testicular de testosterona. Ambas hormonas presentan una gran similitud estructural y La **Hormona del crecimiento (GH)** también se le llama somatotropina, es un compuesto de naturaleza polipeptídica constituida por una sola cadena que se produce en las células somatótropas y en la glándula pituitaria.