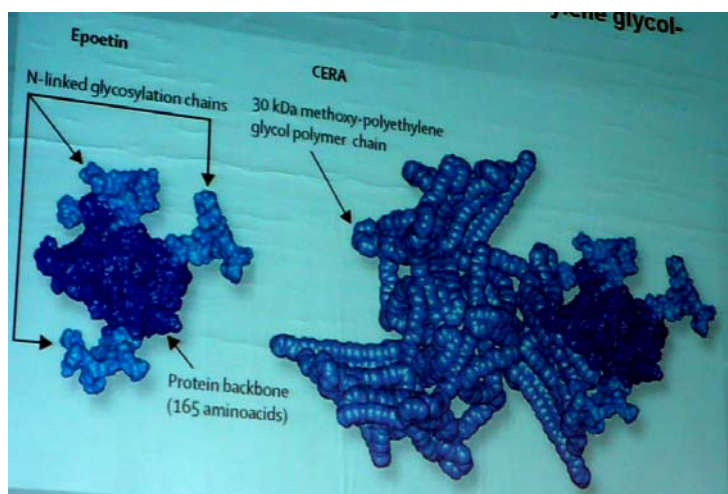


## DETECCION DE EPO (CERA) EN SANGRE

**C.E.R.A**, **C**ontinuous **E**rythropoietin **R**eceptor **A**ctivator, es un agente estimulante de la eritropoiesis de tercera generación. Se utiliza para el tratamiento de la anemia provocada por insuficiencia renal, pero además de modo fraudulento, puede ser empleado por algún deportista con el fin de incrementar su capacidad de oxigenación muscular.

La EPO tipo CERA se obtiene por unión de un polímero de metoxipolietilenglicol (PEG) a la epoietina  $\beta$ , lo que supone un incremento en su peso molecular (60kDa), que entre otras cosas provoca el tiempo de actividad sea mucho mayor frente a otros tipos de EPO, el paciente debe acudir con menos frecuencia a tratarse.

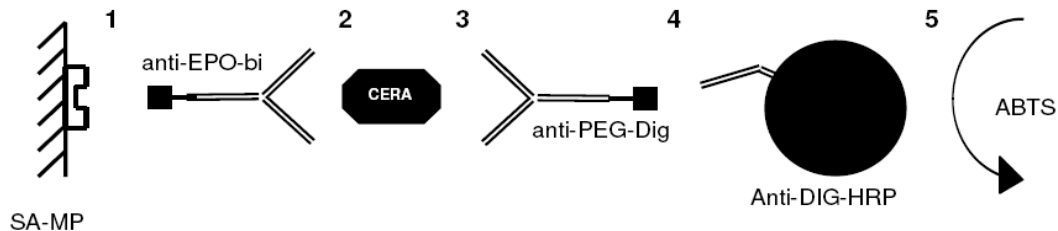


El método de detección de eritropoyetina recombinante "sintética" actualmente utilizado en el control de dopaje, *L'Asne et al (Nature, 2000)*, se basa en el empleo de la orina como matriz, el uso como herramienta de análisis de la electroforesis

de isoelectroenfoque y tiene como elemento clave la elevada selectividad que aporta el uso de anticuerpos específicos para EPO.

Este método de ensayo se ha mostrado muy eficaz en la discriminación entre Eritropoietina "natural o endógena" y sus análogos producidos por los laboratorios farmacológicos. Sin embargo para la EPO CERA, debido a la baja excreción urinaria, consecuencia del tamaño de la molécula, y la menor posología que se requiere para conseguir el mismo efecto terapéutico, se

ha debido recurrir al desarrollo de una metodología específica que se basa en el empleo de la sangre como matriz y que se apoya en una técnica inmunológica tipo ELISA.



El ensayo ELISA para la detección de CERA en sangre es un inmunoensayo tipo sándwich indirecto diseñado específicamente para la detección de CERA en suero: Un anticuerpo policlonal biotinilado específico para la unidad EPO de la molécula de CERA (anti-EPO-bi) se fija a la superficie de una microplaca sobre la que previamente se ha fijado streptavidina (SA-MP). El anticuerpo se une a la moléculas de CERA presentes en las muestras de suero, calibradores y/o controles. La molécula de CERA es a continuación detectada mediante la adición de un anticuerpo monoclonal específico de la unidad Pegilada de la misma marcado con digoxigenin (anti-PEG-Dig), que es posteriormente detectado mediante la adición de horseradish peroxidasa y ABTS. La intensidad de la señal es directamente proporcional a cantidad de proteína ligada a las paredes del pocillo.