

Técnicas en Radiofarmacia



Tema 38. Técnicas de Radioinmunoanálisis

38.1- Aplicación de técnicas de Radioinmunoanálisis

- ❑ La Medicina Nuclear, además de una faceta diagnóstica tiene una faceta dentro del mundo de la terapia metabólica y dentro del diagnóstico de bioquímica analítica.
- ❑ Esta última nos permitirá hacer un estudio "in vitro" de muestras tomadas de pacientes "in vivo"
- ❑ La técnica in vitro más importante es el RIA (Radioinmunoanálisis)



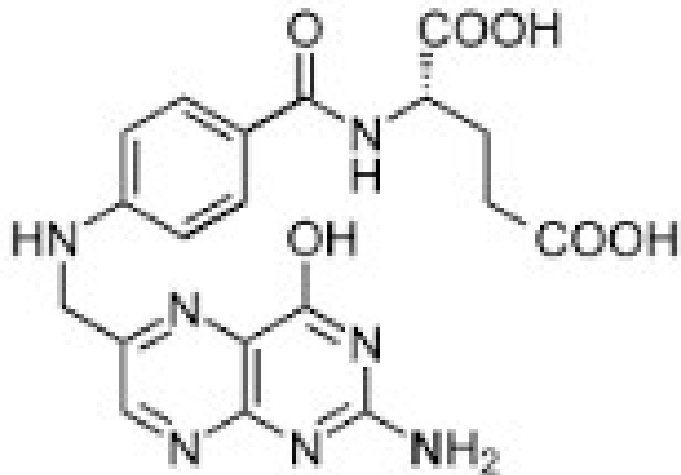
Conceptos y fundamentos teóricos del los inmunoanálisis

- ❑ Métodos inmunoanalíticos análogos al RIA (no radiactivos) han surgido dando lugar a una gran cantidad de inmunoensayos.
- ❑ Estos serían a base de enzimas (enzimoinmunoanálisis o EIA), compuestos luminiscentes (luminoimunoanálisis o LIA), compuestos fluorescentes (fluoroimunoanálisis o FIA), y quimioluminiscentes (quimioluminoimunoanálisis o QIA)



Aplicación de técnicas de Radioinmunoanálisis

- ❑ La introducción de los procesos basados en las reacciones inmunológicas (inmunoensayos) ha supuesto un importante avance en el análisis de sustancias biológicas difíciles de detectar hasta entonces.
- ❑ De entre ellos, los más útiles son los que se basan en la unión Ag-Ac.
- ❑ El RIA y el IRMA permiten la detección de sustancias biológicas que se encuentran en el organismo en cantidades ínfimas (ng/ml o pg/ml) en saliva, orina, sangre o heces: Proteínas, Ácido Fólico, vitamina B12, eritropoyetina, interferones, endorfinas, etc



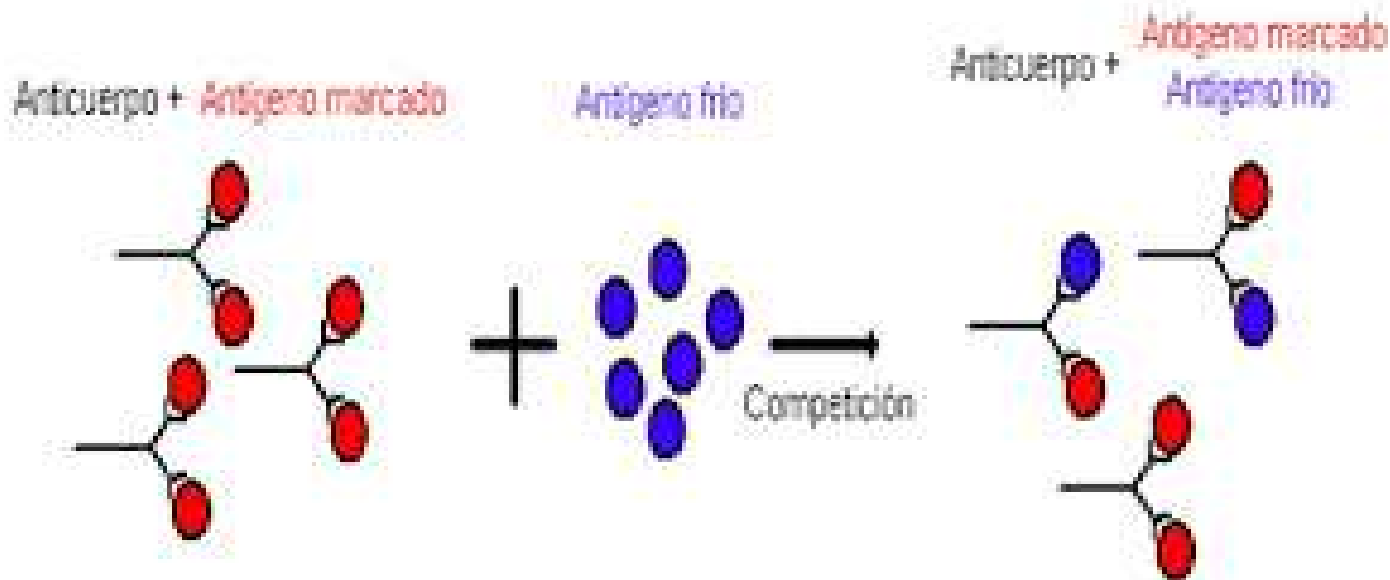
38.2-Conceptos y fundamentos teóricos del los inmunoanálisis

- ❑ El RIA fue desarrollado simultáneamente en Estados Unidos por Rosalyn Yalow y Salomon Berson y en Reino Unido por Ekins a finales de los años 50 del siglo pasado.
- ❑ El IRMA, por su parte, fue desarrollado por Miles en la década posterior.
- ❑ Previo a la aparición de ambas, Ekins había desarrollado el concepto de **"Análisis de saturación"**; en el que haciendo reaccionar una sustancia "problema" con una cantidad limitada de un reactivo con el que se combina de forma específica; éste es saturado por la sustancia problema quedando una parte sin reaccionar.
- ❑ De esta forma la "sustancia problema" queda en parte **combinada y en parte no combinada o libre.**



Conceptos y fundamentos teóricos del los inmunoanálisis

- ❑ La proporción de ambas partes (Ag y Ac) no se determina directamente
- ❑ Se emplean pequeñas cantidades de sustancia marcada que reacciona de forma similar con el Ac que un Ag no marcado; y cuya distribución de forma combinada o libre permite **calcular la proporción** en que se encuentran cada uno de ellos.



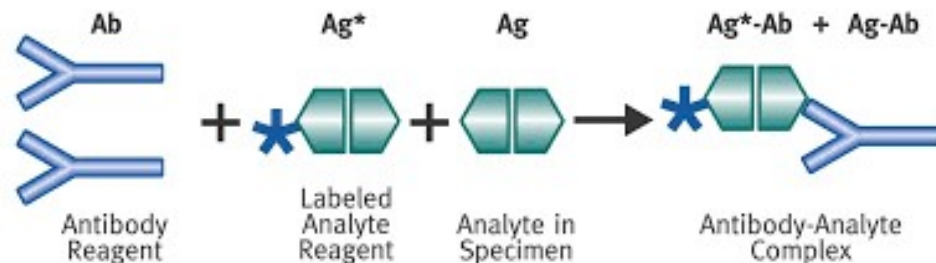
Conceptos y fundamentos teóricos del los inmunoanálisis

Los inmunoanálisis, pueden subdividirse en dos clases principales:
Tipo I y tipo II

- Tipo I (IRMA): Se emplea un exceso de anticuerpo sobre el elemento analizado y **se marca el anticuerpo reactivo.**



- Tipo II (RIA): La cantidad de anticuerpo es menor que la del elemento analizado y **se marca la sustancia analizada.**



Conceptos y fundamentos teóricos del los inmunoanálisis

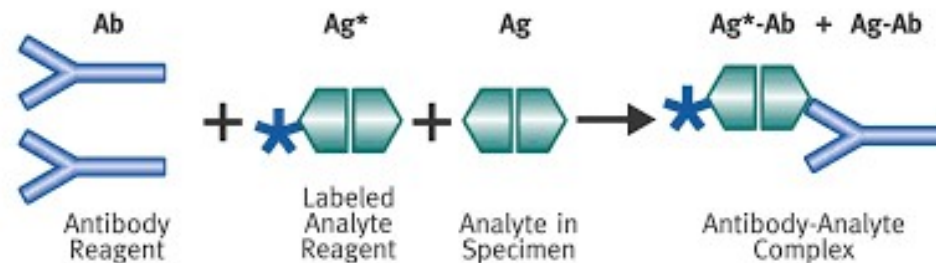
38.2.1-Tipo I (IRMA):



- ❑ Se obtienen mejores resultados y más fiables en los casos en los que la cantidad de Ac mucho mayor que de Ag.
- ❑ Los antígenos de reacción cruzada serán equipotentes en un sistema con exceso de anticuerpo. Tienen la misma capacidad de enlace.
- ❑ La reacción Ac-Ag está poco influida por sustancias ajenas: sales, urea, etc., presentes en la muestra.
- ❑ El tiempo de análisis es relativamente rápido.

Conceptos y fundamentos teóricos del los inmunoanálisis

38.2.2-Tipo II (RIA):



- ❑ Se obtienen mejores resultados y más fiables cuando la cantidad de Ac mucho menor que de Ag.
- ❑ La sensibilidad depende de la constante de afinidad del Ac.
- ❑ La reacción analítica es lenta ya que debe realizarse en equilibrio.

Conceptos y fundamentos teóricos del los radioinmunoanálisis

- ❑ En el caso del IRMA denominado clásico o secuencial, el ligando negativo (L) reacciona con dos anticuerpos (Ac1 y Ac2) que se fijan en distintos epítotos del Ag.
- ❑ Uno de los Ac generalmente está fijado a un soporte sólido (tubo, esferas..) Para facilitar la posterior separación de la fase unida o ligada.
- ❑ El otro Ac es el que está marcado. Después de la incubación se produce la reacción siguiente:



Conceptos y fundamentos teóricos del los radioinmunoanálisis

- En el IRMA tipo "Sandwich" tenemos un Ac1 unido a la fase sólida y al añadir un Ag y un segundo Ac2* se forman tantos complejos como sea posible (complejos Ac1-Ag-Ac2*) y la actividad presente en el tubo tras el lavado será directamente proporcional a la cantidad de ligando negativo (L) presente en la muestra.



Conceptos y fundamentos teóricos del los radioinmunoanálisis

Como variantes del IRMA tenemos el IRMA competitivo o de inhibición y el IRMA no competitivo tipo "sandwich".

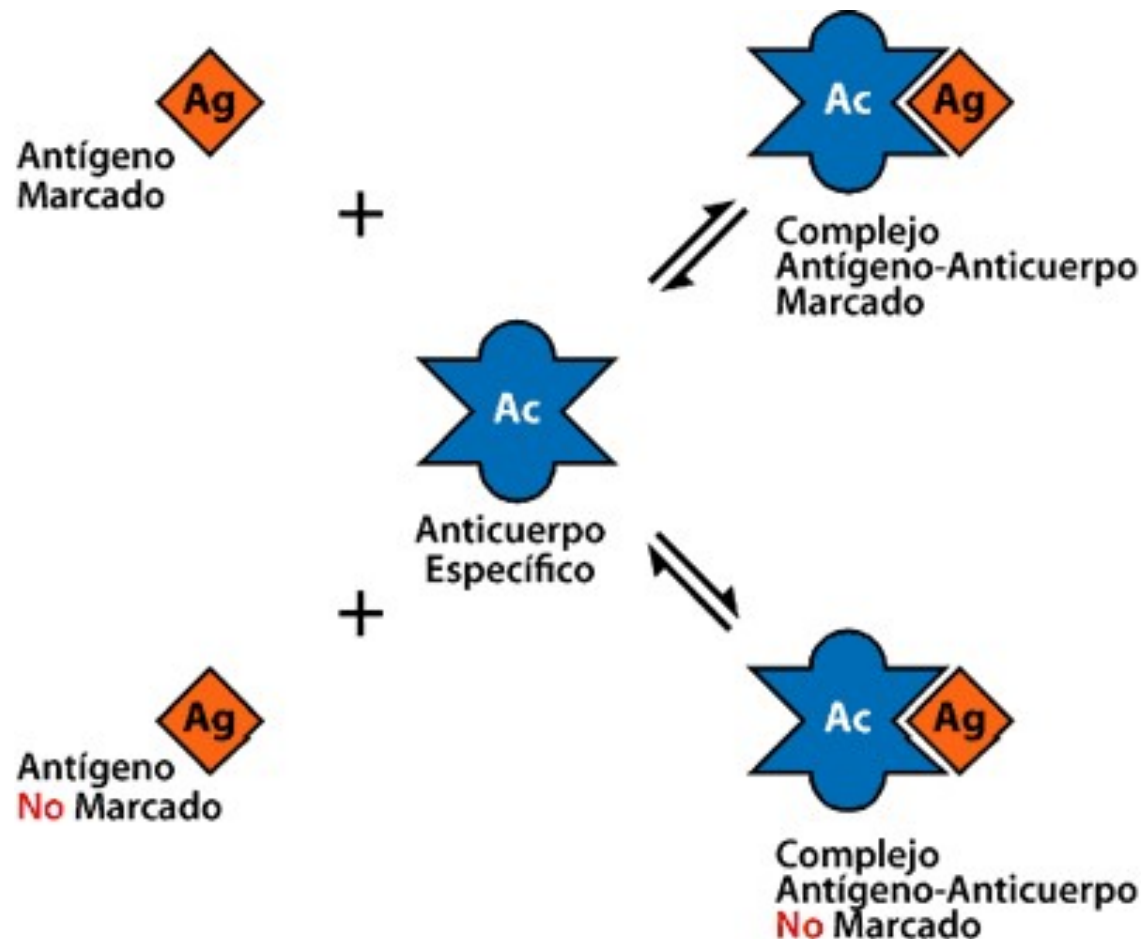
- En el IRMA competitivo o de inhibición tenemos el Ag unido a un tubo de reacción y al añadir la muestra y el Ac* se produce una competición entre los Ag por unirse a los Ac* formándose dos tipos de compuestos: Ag-Ac* del tubo y Ag-Ac* de la muestra.

Tras el lavado, la actividad del complejo en fase sólida es inversamente proporcional a la del ligando negativo L.



Aplicación de técnicas de Radioinmunoanálisis

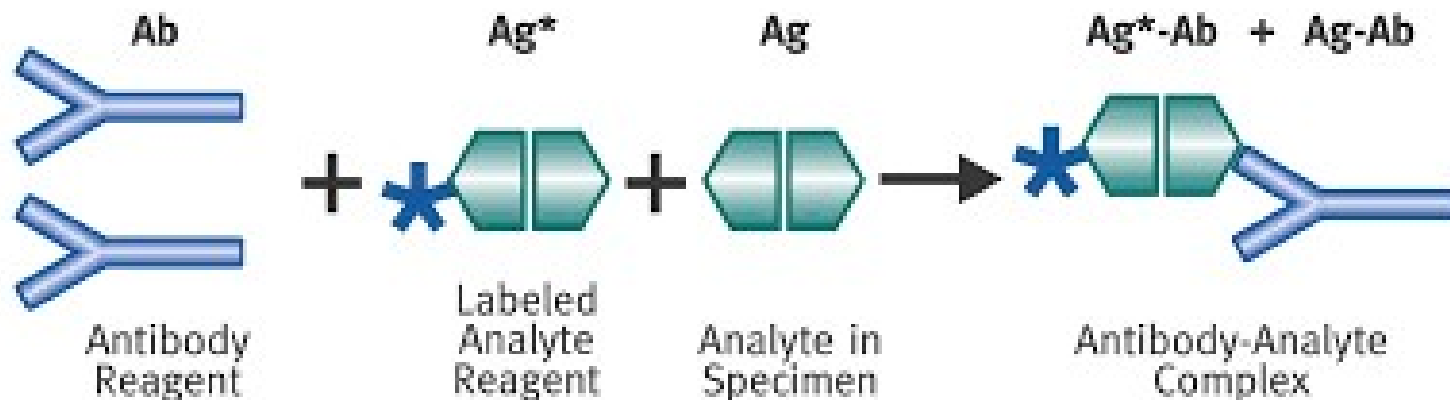
Principales métodos analíticos basados en la unión Ag-Ag:



En este caso,
el Ag No marcado
es la
sustancia
que
queremos
detectar.

Conceptos y fundamentos teóricos del los radioinmunoanálisis

- El principio en el que se basa el RIA (denominado competitivo, directo, clásico o en equilibrio) es el siguiente:
- Existe una cantidad desconocida de sustancia problema denominada "ligando negativo (L)" sería, en RIA, la sustancia antigénica presente en la muestra y que queremos determinar.
- Tenemos una cantidad determinada (conocida) de la misma sustancia problema, pero marcada con un radiosíotopo denominada "Ligando Marcado (L*)" o trazador.
- Ambas compiten por unirse a una cantidad limitada de Ac



Conceptos y fundamentos teóricos del los radioinmunoanálisis

- Después de la incubación, se establece un equilibrio entre L, L*, L-Ac y L*-Ac



- Después de separar los ligandos ("per se" o con ayuda) unidos de los libres, se determina la proporción existente entre ellos.
- Si conocemos las cantidades de L* y de Ac, el porcentaje de L*-Ac es más pequeña cuanto mayor sea la concentración de L en la muestra.
- Esto se explica porque ambos (L y L*) compiten por unirse a Ac. Si se ha unido poco L* es porque hay mucho L; y tras la cuantificación diríamos que éste ha "ganado la batalla".

Conceptos y fundamentos teóricos del los radioinmunoanálisis

Como variante de este RIA competitivo encontramos el RIA secuencial y el RIA de desplazamiento.

- ❑ RIA secuencial: Se realiza en dos pasos: Primero se incuba L con Ac en exceso y después L* para completar la saturación de Ac.
- ❑ RIA de desplazamiento: Se incuba L* con el Ac y posteriormente se añade L que desplaza a L*

RIA directo o competitivo



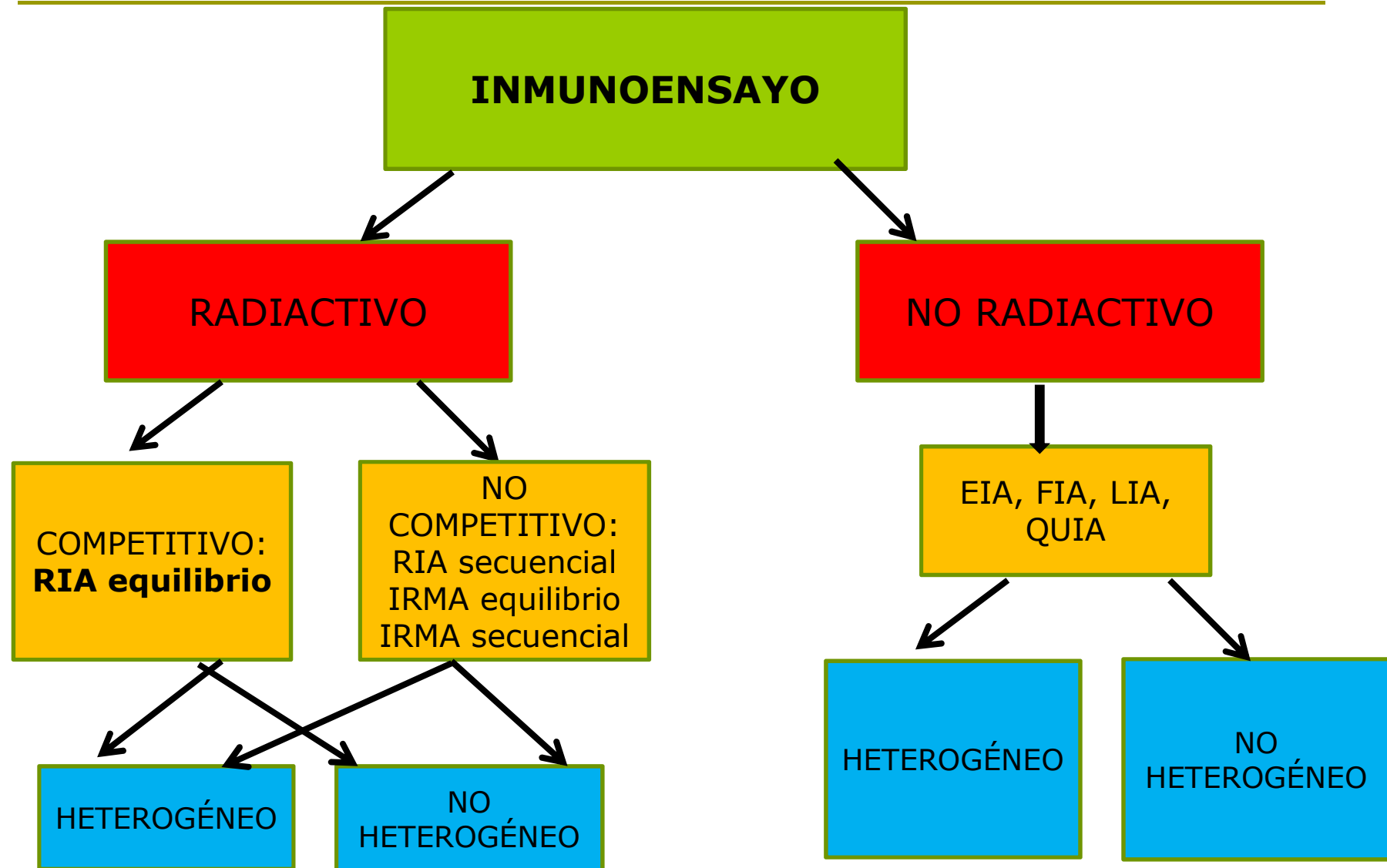
Conceptos y fundamentos teóricos del los inmunoanálisis

Los inmunoensayos, a su vez, pueden clasificarse como homogéneos y heterogéneos:

- Homogéneos: Si el compuesto marcado (Ac^* o Ag^*) se comporta de forma diferente según esté libre o ligado.
No es necesaria la separación física de ambas fracciones para cuantificarlo.
- Heterogéneos: **Sí** es necesaria la separación física de ambas fracciones al no comportarse de forma diferente.



Conceptos y fundamentos teóricos del los inmunoanálisis



38.3- Tratamiento de muestras autólogas

- ❑ Todo proceso analítico se compone de tres fases:
- ❑ 1- Toma de muestras.
- ❑ 2- Proceso analítico propiamente dicho
- ❑ 3- Comprobación de los resultados analíticos.



Comprobación de los resultados analíticos

Tratamiento de muestras autólogas

Toma de muestras:

- ❑ Sirve para tener una cantidad aleatoria representativa del espécimen a analizar.
- ❑ Se entiende por muestra la parte del espécimen que se va a analizar.
- ❑ Puede ser sólida, líquida o gaseosa.
- ❑ En función del tipo de muestra, debe reunir unas condiciones u otras.



Tratamiento de muestras autólogas

- ❑ En los análisis de RIA, la toma de muestra será generalmente mediante extracción de sangre (venopunción). En otras serán muestras de orina
- ❑ En los casos de extracción de sangre será el plasma o el suero la muestra que analicemos. En el caso de la orina trataremos de eliminar la mayor parte del agua posible antes de analizar.
- ❑ Plasma: Sangre sin células sanguíneas.
- ❑ Suero: Sangre sin células sanguíneas ni fibrinógeno.



Tratamiento de muestras autólogas

- ❑ Plasma: Sangre sin células sanguíneas.
- ❑ Se le añade un anticoagulante al tubo: Oxalato, citrato(ACDA) o heparina.
- ❑ Posteriormente se separarán mediante centrifugación.
- ❑ Finalmente se extrae el plasma mediante aspiración con jeringa.



Tratamiento de muestras autólogas

- ❑ Suero : Sangre sin células sanguíneas ni fibrinógeno.
- ❑ Se coagula la sangre extraída en el tubo y se separan células sanguíneas y suero mediante centrifugación.
- ❑ El fibrinógeno se quedará depositado junto con las células sanguíneas.
- ❑ Posteriormente se extrae el suero mediante aspiración con jeringa.



Tratamiento de muestras autólogas

- ❑ El ligando negativo en ocasiones no está presente en la muestra de forma directa y hemos de someter a esta a una serie de procesos para poder separar y separarlo del resto de la muestra.
- ❑ Esto se puede hacer por centrifugación o hidrolizando la muestra.



Tratamiento de muestras autólogas

Conservación de las muestras

- Tanto suero como plasma pueden conservarse sin problemas hasta 24h si están a 4°C.
- Si se precisa conservarlas más de 24h, las muestras deben conservarse congeladas ya que de lo contrario se daría crecimiento bacteriano y autodegradación.
- Posteriormente, para analizarlas se deben descongelar lentamente desde 24h antes.

- Todo el material que llega a un laboratorio está potencialmente infectado y constituye un foco de riesgo para el personal por lo que debe tratarse tomando todas las EPIs que sean posibles:
 - Máxima limpieza
 - Prohibición de comer, beber y fumar en el laboratorio
 - Guantes
 - Bata
 - Mascarilla
 - Papeles absorbentes, etc..

Tratamiento de muestras autólogas



1
Mameluco impermeable, para riesgo biológico



2
Protección facial o gafas (anti-empañante)



3
2 pares de Guantes de nitrilo



4
Sabana descartable (2 x 1,5 m)



5
Cubre-calzado impermeable tipo bota.



6
N95 con válvula.



7
1 par de Guantes nitrilo largos



8
Toallas descartables impregnadas en cloro



9
Recipiente, bolsa roja de residuos bio-peligrosos y precinto cierre.



10
Cinta ancha de baja adherencia



11
Delantal nylon descartable

2. Reactivos principales en RIA

- Son varios los componentes que se necesitan en RIA para un correcto análisis y resultado de las muestras: El trazador, los anticuerpos, los estándares de calibración, los reactivos, etc..
- Vamos a ver en detalle algunos de ellos: El ligando negativo (L), el ligando marcado (L^*), el Anticuerpo (AC) y los métodos de calibración.
- Posteriormente estudiaremos el procedimiento analítico.

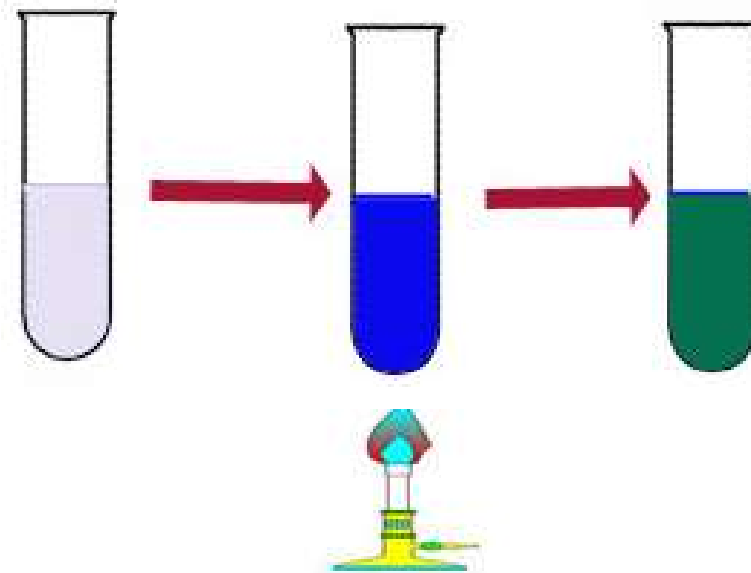
Reactivos principales en RIA

EL LIGANDO NEGATIVO:

- ❑ Hasta ahora, decíamos que el Ligando negativo era la sustancia a determinar (hormona, enzima, antígenos, proteínas...). La sustancia "problema".
- ❑ Hemos de saber que hay que diferenciar entre Ligando negativo que queremos determinar en la muestra (Lm) y Ligando negativo patrón (Lp).
- ❑ Ésto nos va a permitir construir una curva patrón del ensayo y de la muestra del paciente y por tanto saber cuanta cantidad de Lm tenemos presente en la muestra y compararla con los estándares de normalidad.

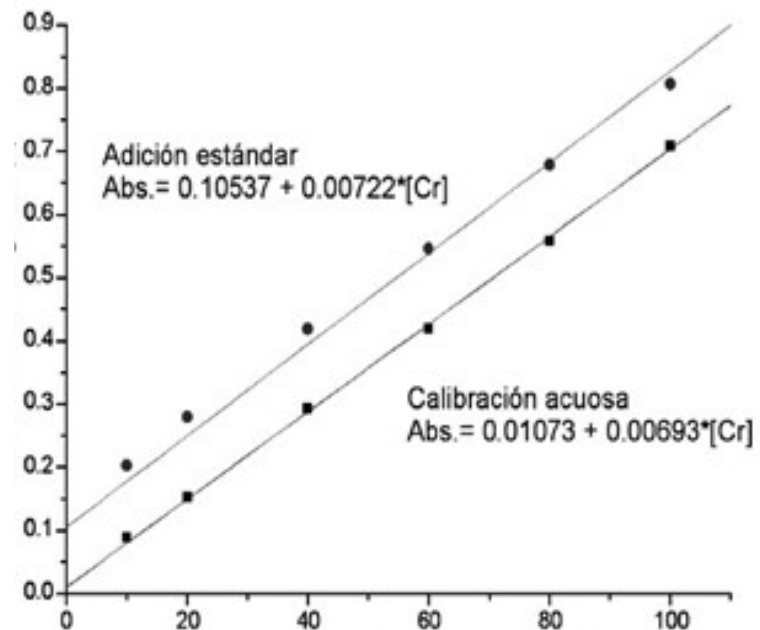
Reactivos principales en RIA

- ❑ El ligando negativo, como vimos en el tema anterior, en ocasiones no está presente en la muestra de forma directa y hemos de someter a ésta a una serie de procesos para poder separar y extraer el Ln del resto de la muestra.
- ❑ Esto se puede hacer por centrifugación o hidrolizando la muestra.



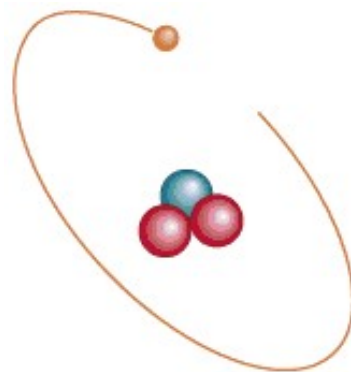
Reactivos principales en RIA

- ❑ Los patrones o estándares son soluciones de concentraciones conocidas que compararemos con nuestras muestras.
- ❑ A éstos se les va a someter al mismo tratamiento que a las muestras a analizar
- ❑ De esta manera sabremos de una manera feaciente si los resultados obtenidos están por encima o debajo de la normalidad.



Reactivos principales en RIA

- ❑ Los RN a emplear variarán en función de factores como la disponibilidad del antígeno en forma pura, la fácil reproductibilidad del marcaje, estabilidad del mismo, etc..
- ❑ Los más empleados, además del ^{99m}Tc , son: ^{125}I para antígenos proteicos, ^3H para antígenos no proteicos; y el ^{57}Co .
- ❑ **El ^{125}I va a ser el RN de elección** ya que es un emisor gamma con buena eficiencia de conteo (fotopico en 159Kev) y un periodo de desintegración de 60 días. Se puede sustituir por ^{99m}Tc



Tritio



Reactivos principales en RIA

LOS MÉTODOS DE PARTICIÓN:

- Una vez que se ha establecido la relación entre L, L* y Ac; y se han formado los complejos (Ac, L, L*, Ac-L y Ac-L*) las fases libres y ligadas deben separarse.
- Este proceso se denomina "partición".
- Existen múltiples métodos de partición y su elección se debe basar en varios requisitos.

El método ideal debe:

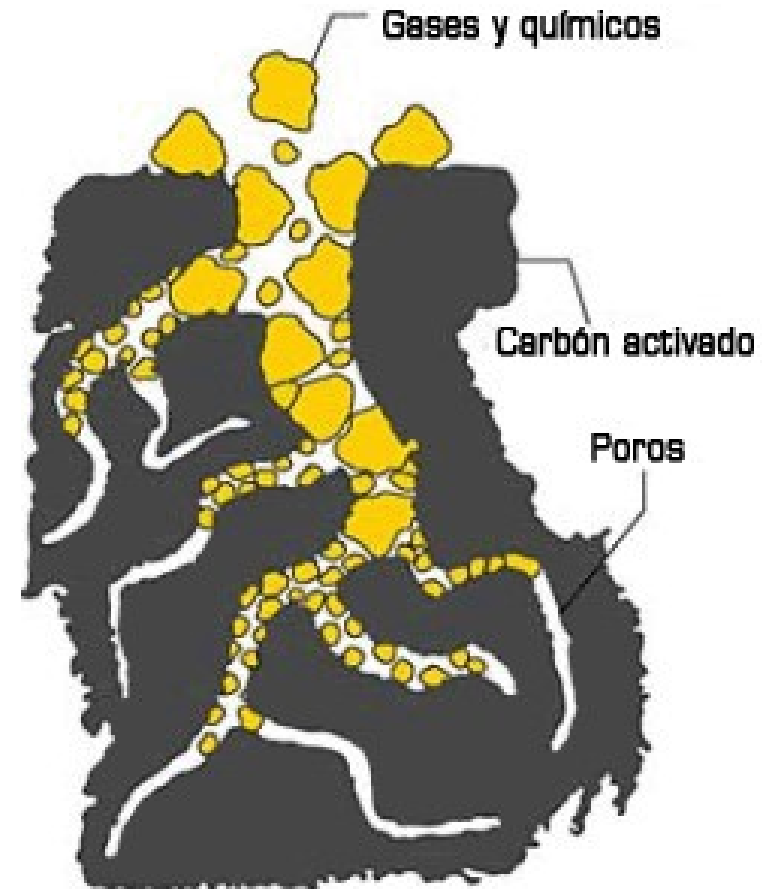
- 1- Conseguir una completa separación de la fracción ligada y la libre.
- 2- Que no se vea influenciado por las numerosas sustancias presentes en la reacción.
- 3- Que sea reproducible, sencillo, barato y técnicamente rápido.
- 4- Que no interfiera en la reacción Ac-Ag

Reactivos principales en RIA

Los métodos empleados se basan en las diferentes propiedades fisicoquímicas existentes entre el Ag y el complejo Ag-Ac. Los más empleados son los siguientes:

Método de adsorción del Ag libre:

Consiste en la adsorción del Ag libre en la superficie porosa de diversas sustancias como el carbón activo, carbón con dextrano, silicatos (talco), o resinas de intercambio iónico. La separación de ambas fases se produce mediante centrifugación y decantación del sobrenadante.



El carbón activo adsorbe gases y químicos

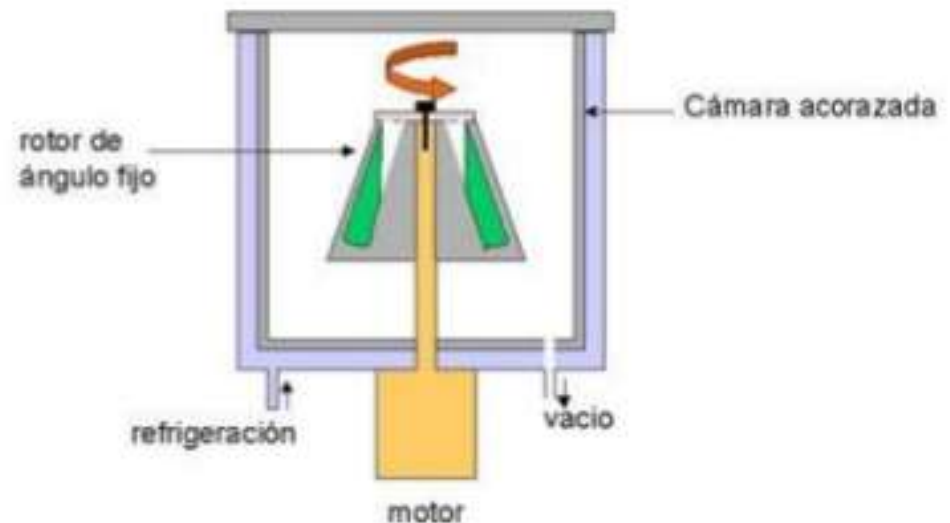
Reactivos principales en RIA

Centrifugación: para separar líquidos inmiscibles; sólidos y líquidos.

La fuerza centrífuga que actúa sobre las fases, permite la separación en base a los coeficientes de sedimentación de cada componente.

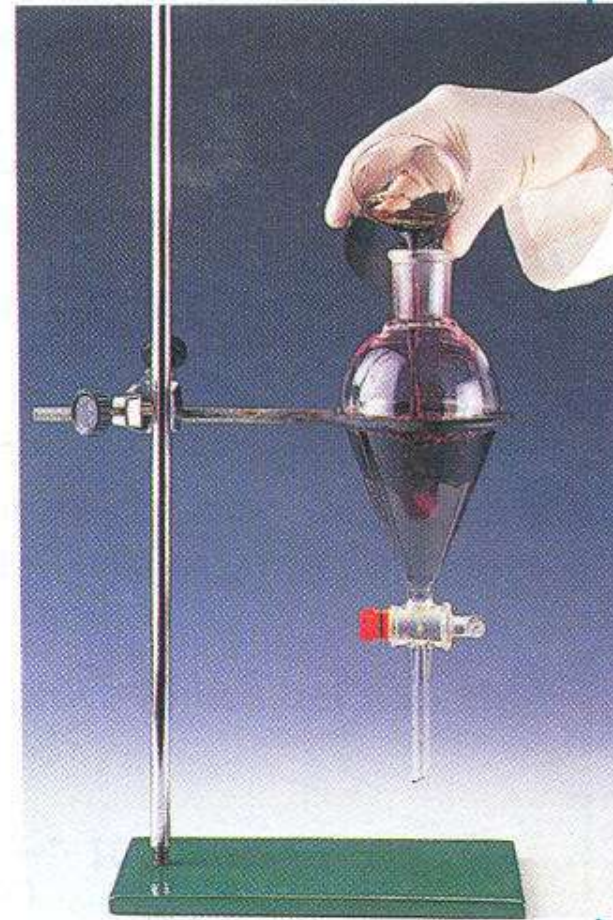


ESQUEMA BÁSICO DE UNA ULTRACENTRÍFUGA



Reactivos principales en RIA

Decantación: Precipitan por concentración gaseosa determinadas sustancias.



Reactivos principales en RIA

Método de precipitación inespecífica del complejo Ac-Ag:

Grandes concentraciones de sales inorgánicas, polietinglicol, etanol, etc.. atrapan las moléculas de agua de la solución, insolubilizando el complejo Ac-Ag y haciendo que éste precipite.

Métodos de precipitación específica del complejo Ac-Ag (o método de doble anticuerpo y método de la proteína A) Consiste en adicionar un segundo Ac (Ac2) dirigido contra el anticuerpo (Ac1) de manera que se forma un complejo triple Ac2-Ac1-Ag* que es insoluble y precipita.



Reactivos principales en RIA

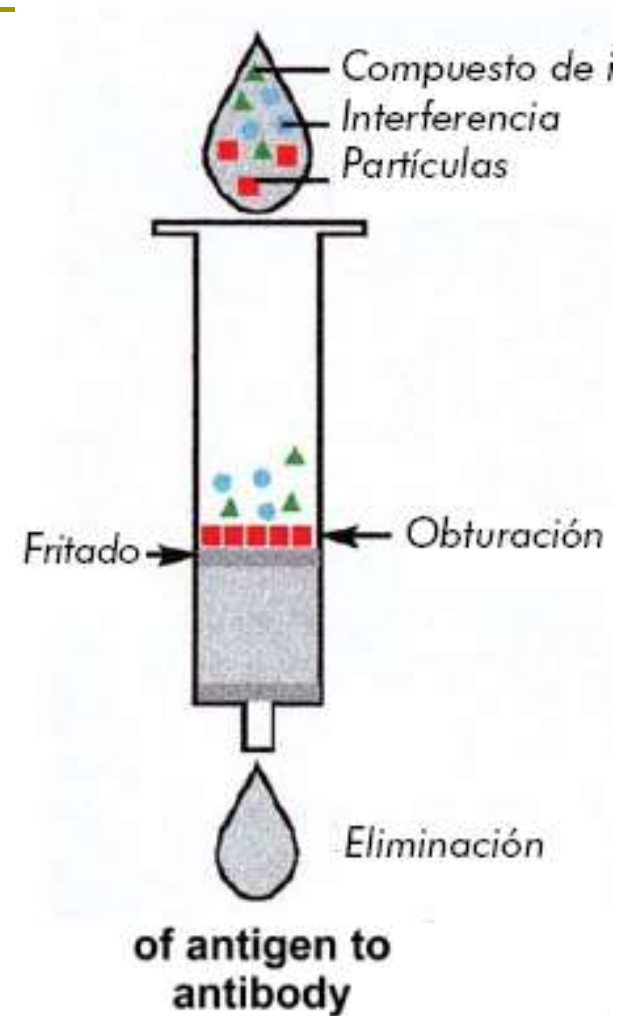
Métodos de separación en fase sólida:

En estos métodos, el Ac está ligado químicamente o adsorbido por una matriz sólida insoluble.

Los más empleados son los tubos revestidos de Ac; o los Ac Adsorbidos por esferas o discos de plástico.

La separación física de las fracciones libre y ligada se hace mediante el lavado de los tubos, esferas o discos.

Aunque actualmente menos usados, también pueden emplearse métodos de separación con geles, electroforesis, cromatografía, etc..



38.4 - El procedimiento analítico

- Los reactivos empleados son KITs comerciales.

- En el procedimiento analítico se siguen 8 pasos:
 - Preparación de la muestra y los reactivos.
 - Dispensación de los volúmenes de muestras y reactivos.
 - Incubación.
 - Separación de las fracciones libre y unida.
 - Contaje de la radiactividad de las muestras.
 - Cálculo de la curva patrón.
 - Lectura de resultados
 - Control del ensayo

El procedimiento analítico

1º Preparación de la muestra y los reactivos

- Se debe descongelar la muestra si procede.
- Se deben reconstituir los reactivos si vienen liofilizados.
- Se deben identificar los tubos de ensayo



El procedimiento analítico

2º Dispensación de los volúmenes de muestras y reactivos

En los tubos de ensayo se pipetea los diversos componentes: Muestra problema, muestra patrón, antígeno marcado y anticuerpo(antisuero).

Todas las determinaciones se hacen por duplicado.

Es imprescindible disponer de un blanco para control de falsos positivos.

En todo caso pondremos:

- 1 tubo rotulado como «blanco»
- 6 tubos como «patrón»
- 1 como «control positivo»
- 2 tubos como «muestra».

En cada uno pondremos 25µl de muestra y 100µl de trazador y de anticuerpo.

El procedimiento analítico

3º Incubación:

Las condiciones de la incubación dependen del ensayo. Generalmente la unión Ag-Ac aumenta con la temperatura. Cuando se requiere una alta sensibilidad se incuba a temperatura ambiente. Cuando se requiere una alta precisión y reproductibilidad, a bajas temperaturas.

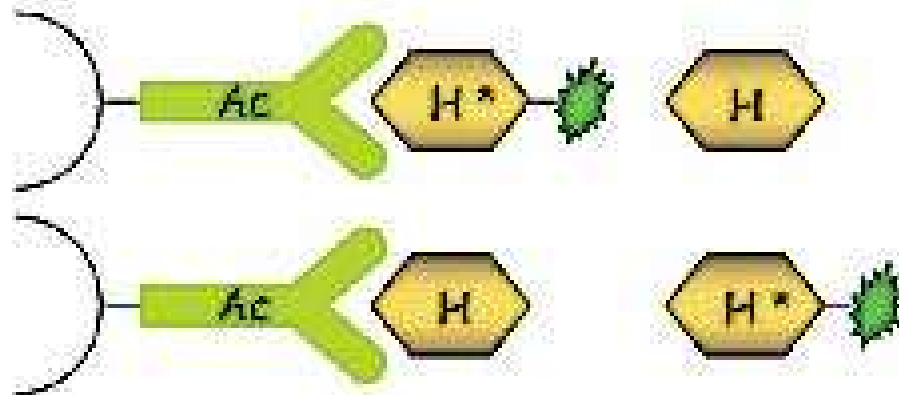


El procedimiento analítico

4º Separación de las fracciones libre y unida

Tras la incubación deben separarse las fracciones libre y ligada. Se utilizan los métodos de partición que ya hemos visto antes. Así podremos contarlas de forma individualizada.

Ensayo de hormona marcada



El procedimiento analítico

5º Contaje de la radiactividad de las muestras

Normalmente contamos la fracción unida expresando el resultado en cuentas por minuto (cpm) o en sus variantes

En ambos casos usamos contadores que emplean cámara de ionización gaseosa (activímetros)



El procedimiento analítico

6º Cálculo de la curva patrón

Hemos de hacer una curva patrón para comparar con nuestros resultados.

Esta curva nos permite relacionar la concentración de sustancia a detectar y de radioisótopo.

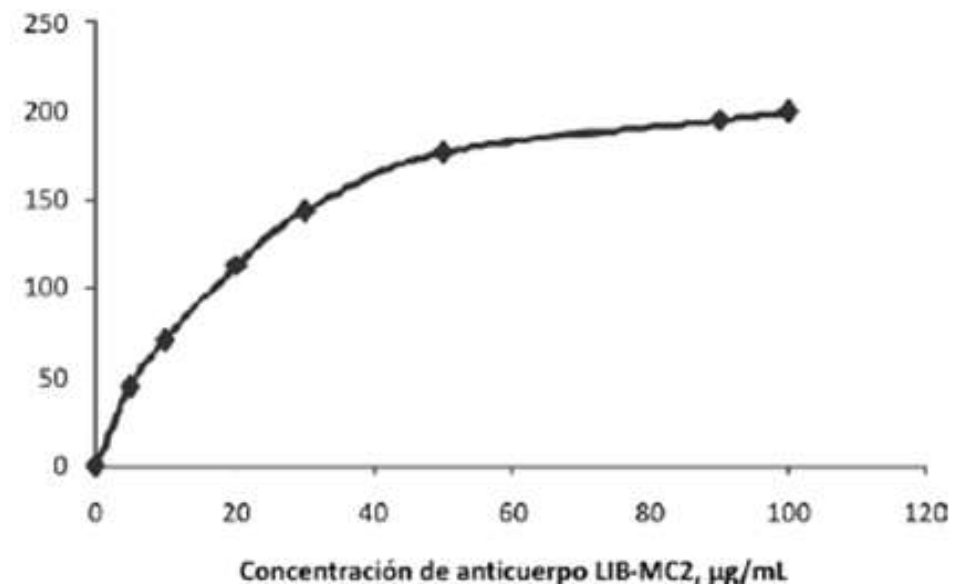
El cálculo lo haremos de forma manual o digital mediante programas que incorporan los activímetros.

De esta forma podremos comparar nuestra curva con la patrón.

La curva patrón va a ser diferente en RIA clásico con respecto al IRMA.

En RIA clásico la concentración y la radiactividad a medida que sube una, descende la otra.

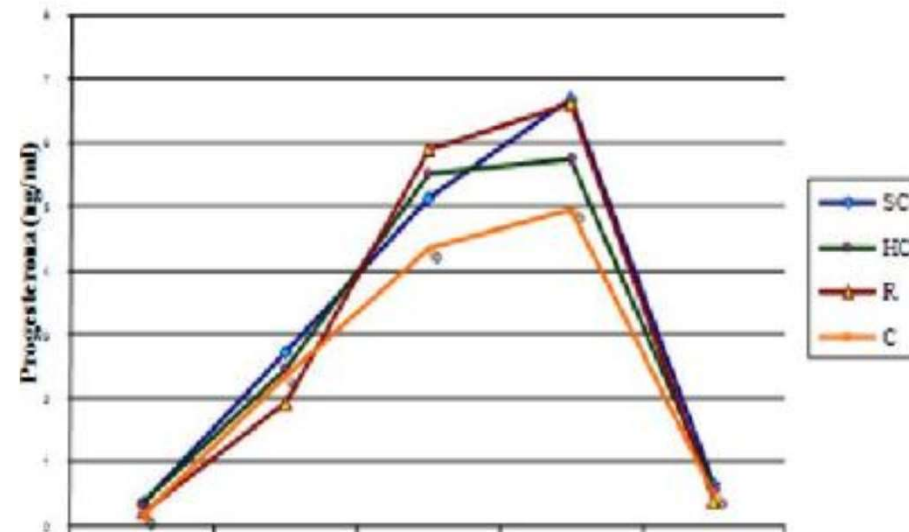
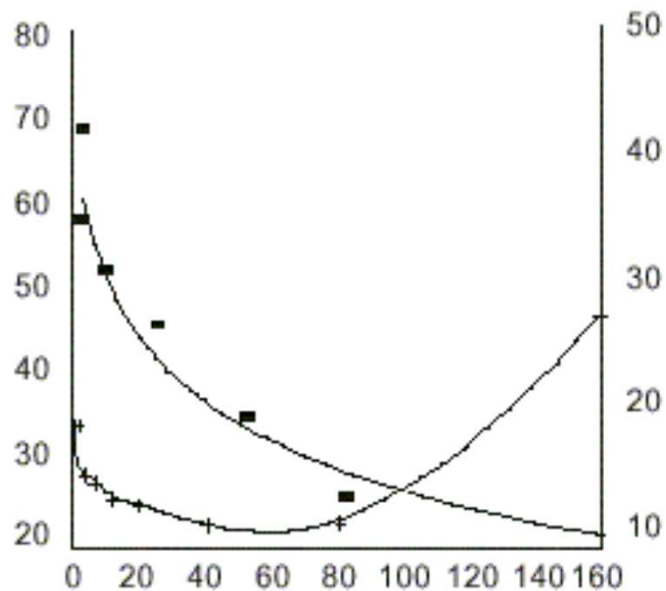
En IRMA van a la par.



El procedimiento analítico

7º Lectura de los resultados

Obtenida la curva patrón, interpolamos nuestros resultados con los de la curva. Así podremos saber la desviación de nuestros resultados.



El procedimiento analítico

8º Control del ensayo

Cada ensayo lleva un control de ejecución y de resultados. Estos se pueden hacer con muestras de control o mediante análisis de la curva patrón.

Algunos de los parámetros a controlar son:

- Cuentas totales
- Unión no específica
- Asociación máxima
- Pendiente de la curva
- Coeficiente de variación

Estos parámetros deben mantenerse constantes

38.5-Contadores de pozo

- ❑ Las radiaciones no se perciben.
- ❑ Necesitamos equipos que puedan detectarla y nos permitan conocer su intensidad y energía.
- ❑ Intensidad es la cantidad de sustancia radiactiva.
- ❑ Necesitamos equipos capaces de discriminar entre radiación primaria y radiación dispersa.

Contador Gamma
(Radioinmunoanálisis)



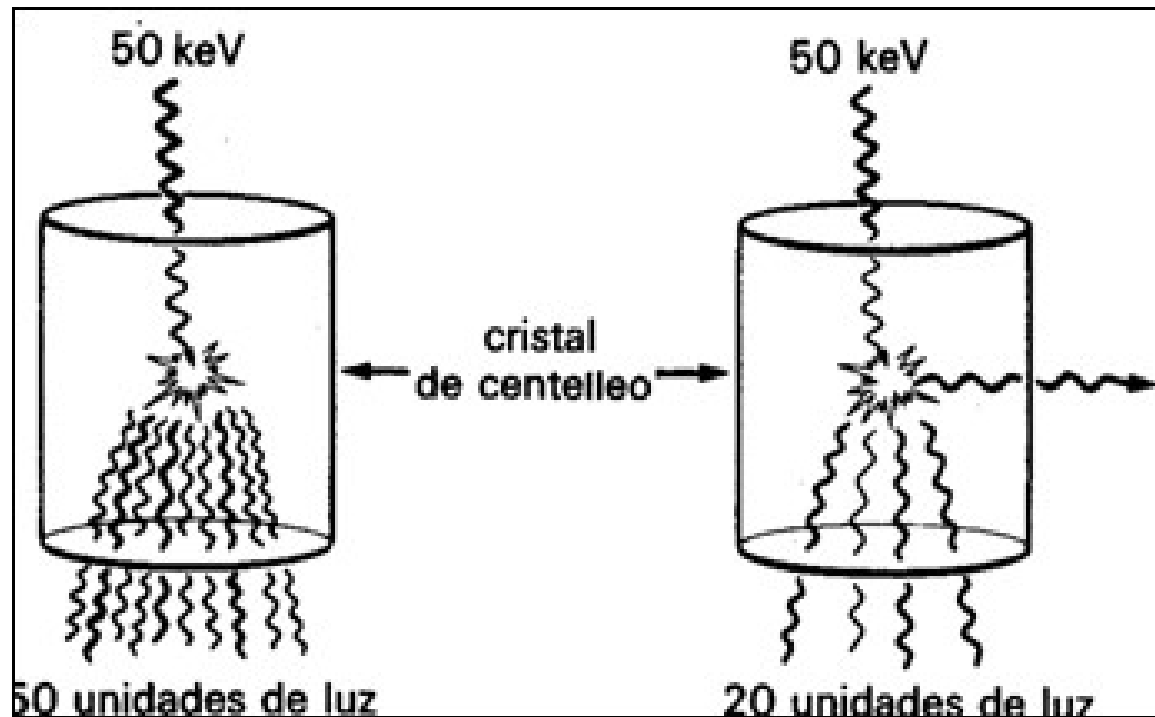
Contadores de pozo

- ❑ Contadores: Equipos capaces de detectar y medir las radiaciones.
- ❑ Se basan en los efectos de la radiación al atravesar la materia de manera directa o indirecta.
- ❑ Hay múltiples detectores según sea el tipo de radiación, mecanismo de detección y finalidad.
- ❑ En RIA se usan los contadores de centelleo con sustancias fluorescentes (emiten en forma de luz la energía absorbida de la radiación).



Contadores de pozo

- La energía del fotón excita un electrón que, al desexcitarse cede su energía en forma de luz. Es el fenómeno de luminiscencia o fluorescencia.
- Dependiendo de la naturaleza del sistema fluorescente los detectores de centelleo pueden ser de dos tipos: Centelleo sólido o líquido.



Contadores de pozo

Detectores de centelleo sólido. Contador gamma.

El material fluorescente empleado es el Ioduro de Sodio activado con Talio INa(Tl) .

La radiación llega al cristal y se produce efecto fotoeléctrico.

El electrón expulsado excita al Talio que en su desexcitación produce fluorescencia.

Ese fotón de luz, por mediación de un fotocátodo creará una corriente eléctrica medible.

Este tipo de equipos es exclusivo para contadores gamma.

Las muestras se depositan en pequeños pozos dentro de tubos de ensayo.

Contadores de pozo

Detectores de centelleo líquido. Contador Beta

Las emisiones de partículas β tienen poco poder de penetración. Por eso usamos sustancias líquidas centelleantes mezcladas con la muestra y que detectan la radiación emitida por ésta.

Para emplear los contadores de centelleo líquido o contadores Beta debemos preparar una disolución de la muestra y varios líquidos centelleadores (Fluorofósforos primario y secundario).



Contadores de pozo

Detectores de centelleo líquido. Contador Beta

La mezcla de la muestra y los líquidos se denomina "Cóctel de contaje o de centelleo". Esto será lo que introduzcamos en el vial de contaje.

Dentro, la β^- es captada por el fluoróforo primario.

Éste emite otro fotón de mayor longitud de onda captado por el fluoróforo secundario.

Éste emite otro fotón ya sí detectado por el fotocátodo.



Contadores de pozo

Consideraciones y medida de la radiactividad

Sobre la cantidad de radiación observada inciden varios factores:

- Canal de contaje
- Actividad de fondo
- Tiempo muerto
- Estadística de contaje
- Eficiencia del contador
- Desactivación, auto extinción o quenching



Contadores de pozo

▣ Canal de contaje:

Los detectores convierten la energía en impulsos eléctricos. A mayor energía, mayor número de impulsos.

Los equipos llevan incluidos dos discriminadores y un circuito de autocoincidencia.

Cada canal de contaje permite discriminar fotones que coinciden o no dentro de su rango estipulado.

▣ Actividad de fondo:

Es aquella medida que el contador detecta incluso en ausencia de actividad.

Siempre hay una actividad de fondo inevitable por lo que a la medida de la muestra habrá que restarle el fondo.

La forma de contar el fondo es hacer mediciones de los viales vacíos.

Contadores de pozo

□ Tiempo muerto:

Los contadores necesitan un tiempo mínimo para discernir entre dos pulsos eléctricos consecutivos. Este tiempo se denomina «Tiempo muerto».

Si en ese tiempo llegase un nuevo impulso, éste no se detectaría perdiendo coincidencia.

Suele ser de unos $10 \mu\text{s}$.

□ Estadística de contaje:

Una misma muestra medida varias veces no siempre da el mismo valor.

Para evitar esta deficiencia, las muestras deben dejarse leyendo durante un tiempo prudencial.

Contadores de pozo

□ Eficiencia del contador:

Serán el número de cuentas registradas por el contador comparada con el número de emisiones de la fuente.

Para eso se hacen calibraciones con fuentes similares a las de las muestras. Para los contadores gamma la fiabilidad es casi absoluta; pero para los beta influye mucho la geometría de contaje

□ Desactivación, auto extinción o quenching:

Se produce solo en los contadores beta o de centelleo líquido.

Por algún fenómeno se interrumpe la transferencia de energía dando errores en la medida.

38.6- Calidad en RIA

- ❑ Cada vez más el diagnóstico clínico se apoya en los resultados de exámenes de laboratorio.
- ❑ La calidad es fundamental ya que cada resultado puede estar afectado por un error.
- ❑ Cualquier error en las mediciones implica que los resultados enviados al médico y sus posteriores decisiones sean erróneas a su vez.
- ❑ Los errores pueden ser de varios tipos:



Calidad en RIA

El error grosero

Se debe a la falta de atención al efectuar el análisis: Confusión de especímenes, reactivos...

Son errores humanos.

Se corrigen con una correcta gestión del laboratorio



Calidad en RIA

Error sistemático o sistémico:

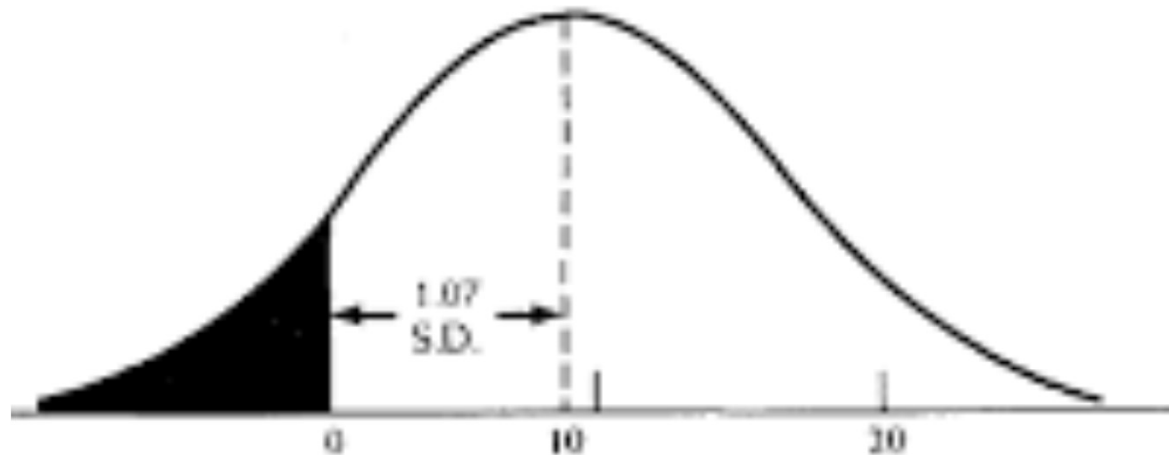
- ❑ Los resultados se desvían del valor nominal en la misma dirección.
- ❑ Sus causas no siempre se detectan. Puede estar en las pipetas mal calibradas, reactivos estropeados, etc..
- ❑ Su consecuencia final es la inexactitud
- ❑ Suelen corregirse con la experiencia



Calidad en RIA

Error aleatorio:

- ❑ Suelen ser errores casuales y puntuales.
- ❑ Son errores que afectan a la precisión.
- ❑ Se expresa como una desviación estándar (DS) o coeficiente de variación (CV)
- ❑ Es fundamental para la fiabilidad de un estudio.



Calidad en RIA

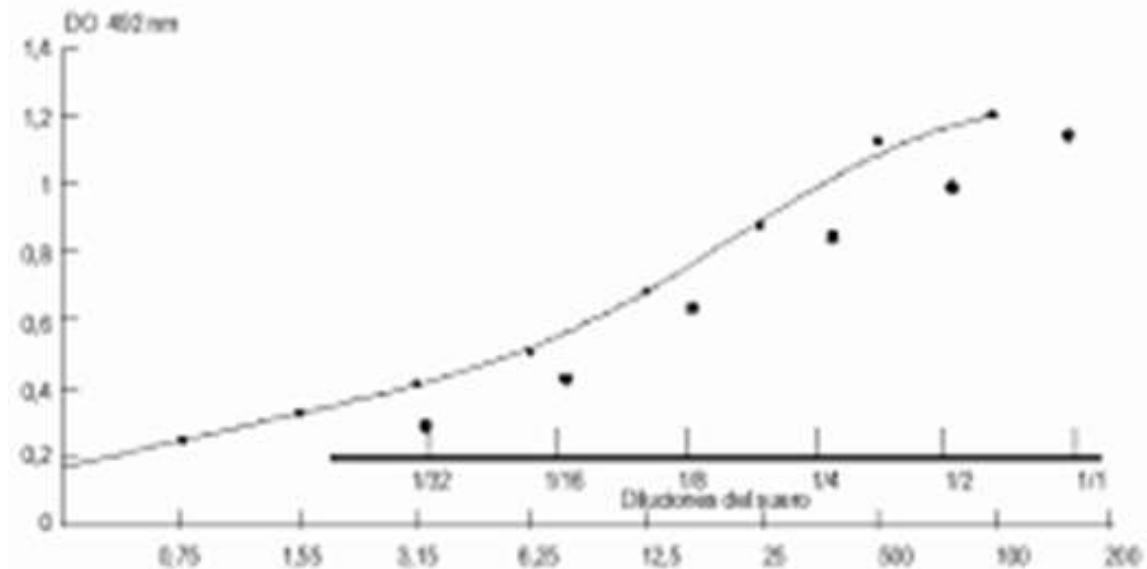
Exactitud o certeza:

Es el grado en que una cantidad medida corresponde a lo que realmente hay en la muestra.

Se consiguen mediante dos procesos: Recuperación y paralelismo

- Recuperación: Adicionando concentraciones de una sustancia a un suero libre de la misma y comprobando los resultados.
- Paralelismo: Diluciones conocidas y seriadas de una muestra. Se realiza el ensayo de RIA

y se han de obtener siempre las mismas curvas o al menos paralelas.



Calidad en RIA

Especificidad:

Es la capacidad de discriminar entre estructuras similares. Depende de la concentración de la muestra.

- Sensibilidad analítica: La más pequeña cantidad de Ag no marcado que puede ser distinguida del «estándar 0». Depende de la afinidad Ac-Ag
- Sensibilidad funcional: Es la menor concentración de muestra que un ensayo es capaz de detectar. De un ensayo a otro realizado a continuación, ésta debe variar menos de un 20%

38.7- Conclusiones del RIA

- ❑ Lo que hace útil esta técnica es su alta sensibilidad, su fácil desarrollo técnico y su bajo precio.
- ❑ El método diagnóstico de primera elección es el RIA antes que el IRMA, especialmente en investigación y menos en diagnóstico.
- ❑ Si se dispone de un anticuerpo, un receptor o una proteína transportadora podremos marcar una sustancia con un radioisótopo y crear un sistema de RIA

Conclusiones del RIA

- ❑ Las técnicas inmunológicas sin sustancias radiactivas han ido ganando espacio al RIA de manera que ésta tiende a la extinción.

