

QI 95'

1

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES  
UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

- 1.-DEPARTAMENTO: QUIMICA INORGANICA, ANALITICA Y FISICOQUIMICA Y QUIMICA BIOLOGICA.
- 2.-CARRERA DE: a) Licenciatura en.....Orientación.....  
b) Doctorado y/o Post-Grado: **POST-GRADO.**  
c) Profesorado en.....  
d) Cursos técnicos en Meteorología.....  
e) Cursos de Idiomas.....
- 3.-1ER. CUATRIMESTRE DE 1995.
- 4.-Nº DE CODIGO DE CARRERA ---
- 5.-MATERIA: **CURSO DE RADIOINMUNOANALISIS Y OTRAS TECNICAS INMUNOANALITICAS MANUALES Y AUTOMATIZADAS.**  
Nº DE CODIGO: 6025.
- 6.-PUNTAJE PROPUESTO: 5 PUNTOS.
- 7.-PLAN DE ESTUDIO AÑO: ---
- 8.-CARACTER DE LA MATERIA: OPTATIVA.
- 9.-DURACION: CUATRIMESTRAL.
- 10.-HORAS DE CLASE SEMANALES:
 

a) Teóricas.....	6 hs.	d) Seminarios.....	hs.
b) Problemas.....	hs.	e) Teórico-problemas.....	hs.
c) Laboratorio.....	8 hs.	f) Teórico-prácticas.....	hs.
g) Total		14	hs.
- 11.-CARGA HORARIA TOTAL: 220 hs.
- 12.-ASIGNATURAS CORRELATIVAS: EGRESADOS DE CARRERAS AFINES.
- 13.-FORMA DE EVALUACION: ESCRITO: DOS PARCIALES Y EXAMEN FINAL.
- 14.-PROGRAMA ANALITICO: Se adjunta.
- 15.-BIBLIOGRAFIA: Se adjunta.

Fecha.....

Firma Profesor. *Rosendo Lucio* Firma Director.....

Aclaración firma..... Aclaración firma.....

Dra. CELIA E. COTO  
DIRECTORA  
DPTO. QUIMICA BIOLOGICA

lcg.-

APROBADO POR RESOLUCION eD 870/95.



## PROGRAMA TEORICO

### PRIMERA PARTE

Clase inaugural (Miercoles 5 de Abril)

Teórico 1 (Jueves 6 de Abril)

FUNDAMENTOS DE FISICA NUCLEAR Y ESTRUCTURA ATOMICA

Estructura del átomo. Definiciones: número atómico, elemento, número másico, Z, N, A y I. Pesos atómicos relativos. Unidad de masa atómica. Nucleidos estables y radioactivo. Estabilidad nuclear. Energía de unión.

Teórico 2 (Miercoles 12 de Abril)

RADIATIVIDAD I

Desintegración radioactiva. Equivalencia entre masa y energía. Mecanismos de desintegración alfa. Desintegración beta, captura electrónica, requisitos. Desintegración gamma, transición isomérica, conversión interna, mecanismo. Fisión espontánea.

Teórico 3 (Miercoles 19 de Abril)

RADIATIVIDAD II

Interacción de las partículas y las radiaciones electromagnéticas con la materia. Interacciones de las partículas con la materia que generan radiaciones electromagnéticas. Medición de partículas y radiaciones. Clasificación de los métodos de detección, Fundamento. Componentes de los equipos.

Teórico 4 (Jueves 20 de Abril)

RADIATIVIDAD III

Ley de la desintegración radiactiva, periodo de semidesintegración. Actividad absoluta, unidades. Actividad medida, unidades. Concepto de eficiencia.

Concentración de actividad y Dilución isotópica, su importancia en el campo de las técnicas radioinmunoanalíticas.

Teórico 5 (Miercoles 26 de Abril)

CENTELLEO LIQUIDO

Contadores, fundamentos físicos, componentes de los equipos. Eficiencia, expresión correcta del resultado de actividad. Quenching, distintos tipos de quenching, su importancia. Métodos de relación de canales, RASE, SOPE, SQPI, selección óptima de las condiciones de lectura para cada nucleido. Equipos automáticos, soluciones centelladoras, preparación de muestras. Efecto CHERENKOV en agua para  $^{32}\text{P}$

Teórico 6 (Jueves 27 de Abril)

RADIODOSIMETRIA I

Normas de seguridad, energía absorbida, dosis absorbida, tasa de dosis, equivalente de dosis, tasa de equivalente de dosis, unidades. Período físico, biológico y efectivo. Dosimetría de fuentes  $\beta$  internas, en contacto y externas. Fuentes gamma internas y externas.

Teórico 7 (Miercoles 3 de Mayo)

RADIODOSIMETRIA II

Exposición, tasa de exposición, unidades. Medición: Camaras de ionización. Sistemas de protección para las radiaciones externas. Blindaje. Cálculo y diseño de blindajes para las radiaciones electromagnéticas. Haz directo y radiación dispersa, factor de multiplicación, influencia de la geometría de la fuente, blindaje para la radiación  $\beta$ . Elección de los materiales del blindaje.

Teórico 8 (Jueves 4 de Mayo)

CLASE DE PROBLEMAS DE APLICACION DE TEORICOS Y PRACTICOS



Teórico 9 (Miércoles 10 de Mayo)

ANTICUERPOS

Antígenos. Producción de anticuerpos policlonales y monoclonales.  
Metodologías. Especificidad y afinidad. Purificación de anticuerpos.  
Diferentes métodos, ventajas y desventajas. Aplicaciones.

Teórico 10 (Jueves 11 de Mayo)

MARCACION DE MOLECULAS CON  $^{125}\text{I}$

Diferentes técnicas de marcación, separación y purificación.  
Marcación de hormonas proteicas, tiroideas, esteroideas y anticuerpos monoclonales. Métodos para el calculo de la actividad especifica.

Teórico 11 (Miércoles 17 de Mayo)

RADIORECEPTORES I

Interacción ligando-receptor, características de la unión. Ecuación de equilibrio. Parámetros.  
Representaciones gráficas y distintos métodos de linearización. Ecuación de SCATCHARD. Análisis de sistemas con distinta afinidad. Ocupación de sitios por distintos ligandos.  
Características de los receptores biológicos: Criterios de identificación, mecanismos de acción: 2° mensajeros.

Teórico 12 (Jueves 18 de Mayo)

RADIORECEPTORES II

Metodologia del estudio de receptores: Planteo experimental. Elección del radioligando. Optimización del estudio de receptores: preparación de receptores, elección del tiempo y la temperatura de incubación, métodos de separación. Unión inespecifica.  
Procesamiento de datos experimentales: Ensayos de saturación y competencia, MCU, aplicaciones biológicas. Resolución de problemas numericos.  
Cálculo de la Actividad Especifica de radioligandos: Método de autodesplazamiento. Fundamento. Resolución de problemas.

Teórico 13 (Miércoles 24 de Mayo)

RADIOINMUNOANALISIS I

Fundamento, utilidad y requerimientos.  
Clasificación de técnicas inmunoanalíticas, competitivas y no competitivas, isotópicas y no isotópicas.  
Sistema ideal de ría competitivo: Análisis de las características y propiedades de cada componente, TRAZADOR, 1° ANTICUERPO, ESTANDARES, SUEROS CONTROL, MUESTRAS, 2° ANTICUERPO y RANGO DE TRABAJO.  
Ley que rige el sistema radioinmunoanalítico ideal. Ecuación de EKINS.

Teórico 14 (Miércoles 31 de Mayo)

RADIOINMUNOANALISIS II

Diferentes sistemas de separación de la fracción libre (F) de la unida (B): Fase líquida y fase sólida.  
Optimización del sistema RIA competitivo, titulación del 1° y 2° anticuerpo, concentración molar de los componentes, volúmenes, temperatura y tiempos de incubación. Test de dilución y recuperación.  
Criterios de validez de técnicas inmunoanalíticas: Sensibilidad, especificidad, precisión, exactitud y reproducibilidad.

Teórico 15 (Jueves 1° de Junio)

CLASE DE REPASO: Teoría y práctica

PRIMER PARCIAL (Viernes 2 de junio)



## SEGUNDA PARTE

Teórico 16 (Miércoles 7 de Junio)

## RADIOINMUNOANALISIS III

Análisis de datos. Diferentes formas de representación gráfica. Señales de control de los distintos sistemas inmunoanalíticos, competitivos y no competitivos.

Dosis mínima detectable.

Control de calidad interno, intra y entre ensayos.

Perfil de imprecisión, RER, D20, D50, D80, cartas de control interno, cartas de progreso.

Teórico 17 (Jueves 8 de Junio)

## RADIOINMUNOANALISIS IV

Computación básica: (teórico-práctico) Introducción al DOS, programa de aplicación científico, procesadores de palabras para físicos, químicos y biólogos, hojas electrónicas de cálculo, programas de análisis estadísticos y programas para el análisis de datos de técnicas inmunoanalíticas.

Teórico 18 (Miércoles 14 de Junio)

## RADIOINMUNOANALISIS V

Computación aplicada a técnicas inmunoanalíticas.

Programa de procesamiento de datos de IAEA y CEMBAL. Fundamento de ambos.

Comparación con los cálculos manuales.

Teórico 19 (Jueves 15 de Junio)

## RADIOINMUNOANALISIS VI

Control de Calidad Interno y Externo.

A cargo del profesional a designar por CEMIC.

Teórico 20 (Miércoles 21 de Junio)

## RADIOINMUNOANALISIS VII

Invitados a designar.

Teórico 21 (Jueves 22 de Junio)

## RADIOINMUNOANALISIS VIII

Nociones de Mercadotecnia: Marketing y Publicidad para las prácticas inmunoanalíticas en laboratorios de alta complejidad.

Promoción y publicidad: Resultado de la capacitación práctica y teórica de la labor metodológica y el conocimiento los últimos avances científicos en las diferentes áreas de diagnóstico.

Competencia y competitividad en el mercado de prácticas de diagnóstico in-vitro de alta complejidad.

Teórico 22 (Miércoles 28 de Junio)

OTRAS TECNICAS RADIOANALITICAS I: Marcación de sondas de DNA y RNA con  $^{32}\text{P}$ ,  $^{35}\text{S}$  y  $^3\text{H}$ .

Síntesis de sondas de DNA uniformemente marcadas utilizando el método de "Random Primers"

Teórico 23 (Jueves 29 de Junio)

OTRAS TECNICAS RADIOANALITICAS II: Marcación de sondas de DNA y RNA con  $^{32}\text{P}$ ,  $^{35}\text{S}$  y  $^3\text{H}$ .

Síntesis de sondas de RNA: transcripción in Vitro



Teórico 24 (Miércoles 5 de Julio)

ENZIMOINMUNOANALISIS I

Características generales de los ELISA. Clasificación. Sensibilidad y nivel de detección de ensayos de modulación y amplificación de actividad. Diseño: ELISA competitivo y no competitivo en fase sólida y homogénea. Cinética y naturaleza de la interacción antígeno - anticuerpo en el ELISA: concepto de avidéz, reacción cruzada y especificidad.

Teórico 25 (Jueves 6 de Julio)

ENZIMOINMUNOANALISIS II

Distintos tipos de fase sólida. Adsorción no-covalente y acoplamiento covalente de reactivos a la fase sólida. Consideraciones de los ELISAs de péptidos y células. Técnicas de "screening" de monoclonales. Sistemas de reconocimiento molecular no inmunológico en ELISAs (sistema avidina - biotina).

Teórico 26 (Miércoles 12 de Julio)

ENZIMOINMUNOANALISIS III

Naturaleza de las actividades enzimáticas en inmunoensayos. Técnicas de amplificación y diseños especiales. ELISAs cuantitativo, procesamiento de datos y control de calidad de enzimoimmunoensayos. Otros inmunoensayos no radiactivos. Inmunoensayos por aglutinación de partículas, MEIA, DELFIA y Quimioluminiscencia.

Teórico 27 (Jueves 13 de Julio)

ENZIMOINMUNOANALISIS IV

Discusión de problemas específicos.

Teórico 28 (Miércoles 19 de Julio)

OTRAS APLICACIONES DE LA RADIOACTIVIDAD I: Fundamento y aspectos legales. EFECTOS BIOLÓGICOS DE LAS RADIACIONES: Efectos 1° y 2°. Transferencia lineal de energía y efectos biológicos. Efectos estocásticos y no estocásticos. Acción de las radiaciones sobre las moléculas de alto significado biológico: enzimas y DNA. Efectos celulares, tisulares y somáticos.

Radiólisis y autorradiólisis. Radiólisis del agua: Formación de radicales libres. Fenómenos secundarios.

Teórico 29 (Jueves 20 de Julio)

CLASE DE REPASO: Teoría y práctica

SEGUNDO PARCIAL (Viernes 21 de Julio)

Teórico 30 (Miércoles 26 de Julio)

CLASE DE REPASO: Teoría y práctica

Teórico 31 (Jueves 27 de Julio)

CLASE DE REPASO: Teoría y práctica

FINAL DEL CURSO (Viernes 28 de Julio)



## PROGRAMA DE TRABAJOS PRACTICOS

### PRIMERA PARTE

#### Trabajo práctico 1 (Viernes 21 de Abril)

- GENERALIDADES PARA LA UTILIZACION DE RADIOISOTOPOS.
- Radioprotección y manipulación de material radiactivo sin riesgos.
- Espectrometría  $\gamma$ . Fenómeno de centelleo.
- Origen del impulso, diferencias entre números de impulso y altura del impulso.
- Medición del  $^{125}\text{I}$  y  $^{129}\text{I}$  - Estadística de la medición radiactiva.
- Geometría de volumen.

#### Trabajo práctico 2 (Viernes 28 de Abril)

- CENTELLEO LIQUIDO
- Preparación de muestras - Expresión del resultado
- Diferentes métodos del cálculo de la eficiencia
- Actualidad en equipamientos para la detección de muestras radiactivas.
- Marcación de sondas con  $^{32}\text{P}$  para técnicas de Biología molecular.

#### Trabajo práctico 3 (Viernes 5 de Mayo)

- RADIODOSIMETRIA
- Cuantificación del daño biológico por el uso de radiaciones directa e indirectamente ionizantes. Problemas de aplicación.

#### Trabajo práctico 4 (Viernes 12 de Mayo)

- MARCACION DE MOLECULAS
- Marcación de hormonas tiroideas con  $^{125}\text{I}$
- Marcación de hormonas protéicas con  $^{125}\text{I}$  por diferentes técnicas.
- Purificación de los productos marcados.
- Estimación de la actividad específica por graficación.

#### Trabajo práctico 5 (Viernes 19 de Mayo)

- RADIORECEPTORES I (  $^{125}\text{I}$  )
- Ensayos de saturación, competencia, máxima capacidad de unión, cálculo de S, Q y Kd.
- RADIORECEPTORES II (  $^3\text{H}$  )
- Ensayos de saturación, competencia, de Q y Kd.

#### Trabajo práctico 6 (Viernes 26 de Mayo)

- RADIOINMUNOANALISIS I
- Titulación del 1° anticuerpo - Titulación del 2° anticuerpo
- Interpretación de los resultados experimentales

#### PRIMER PARCIAL (Viernes 2 de Junio)



SEGUNDA PARTE

Trabajo práctico 7 (Viernes 9 de Junio)

- RADIOINMUNOANALISIS II
- Ensayos de RIA de competencia en diferentes condiciones (fase líquida) de tiempos y temperaturas de incubación, título del 1° anticuerpo, diferentes actividades del trazador, etc.
- Procesamiento de datos en forma manual.

Trabajo práctico 8 (Viernes 16 de Junio)

- RADIOINMUNOANALISIS III
- Ensayos con kits comerciales de RIA de competencia
- Procesamiento de datos por computadora. Programas IAEA y CEMBAL.
- Control de calidad interno (intra y entre ensayo)

Trabajo práctico 9 (Viernes 23 de Junio)

- RADIOINMUNOANALISIS IV
- Ensayos con kits comerciales de IRMA no competitivos.
- Procesamiento de datos por computadora. Programas IAEA y CEMBAL.
- Control de calidad interno (intra y entre ensayo)

Trabajo práctico 10 (Viernes 30 de Junio)

- OTRAS TECNICAS RADIOANALITICAS: Utilización de  $^{32}\text{P}$ ,  $^{35}\text{S}$  y  $^3\text{H}$
- Marcación de sondas de DNA
- Marcación de sondas de RNA
- Actualizaciones de técnicas inmunoanalíticas (RIA y EIA para revelado de PCR) para distintas patologías.

Trabajo práctico 11 (Viernes 7 de Julio)

- ENZIMOINMUNOANALISIS I
- ELISA de antígenos solubles. Titulación de anticuerpos a utilizar con el uso de distintas enzimas y distintos pasos de amplificación.

Trabajo práctico 12 (Viernes 14 de Julio)

- ENZIMOINMUNOANALISIS II
- ELISA completo. Acoplamiento de antígeno. Reacción con anticuerpo y antígeno de competencia. Incubación con sistema de amplificación. Titulación de antígeno soluble y resolución de muestras incognita.

SEGUNDO PARCIAL (Viernes 21 de Julio)

FINAL DEL CURSO (Viernes 28 de Julio)



### 3.5 BIBLIOGRAFIA

- ASHKAR, F.S., COLOMBETTI, L., Radiobioassays, Vol. I, CRC Press, Inc., Boca Paton, Florida, 1983.
- CAREY, J.E., LINE, R.C., KEYES, J.W., CREC Manual -- of Nuclear Medicine Procedures, 4th ed., CRC Press, Inc., Boca Paton, Florida, 1983.
- CEMBER, H., Introduction to Health Physics, 2 nd. ed., Pergamon Press, New York 1983.
- CHASE, G.D., RABINOWITZ, J.L., Principles of Radioisotope Methodology, 3rd ed. Burgess Publication Co., - Minneapolis 1967.
- COMISION DE ENERGIA ATOMICA DE LOS E.U.A.; Radioisótopos en diagnóstico médico. Atomos en acción. Instituto de Estudios Nucleares de OAK Ridge, Tennessee.
- DEPARTMENT OF HEALTH AND SOCIAL SECURITY, Scottish -- Home and Health Department. Code of Practice for the Protection of Persons against Ionizing Radiations arising from Medical and Dental use. London, Her Majesty's Stationery Office. Fourth impression, 1979.
- FAIRES, R.A., BOSWELL, G.G.J. Radioisotope Laboratory Techniques. Butterworths and Co. Ltd., Fourth Edition, 1981.
- GARZA FLORES, J. DIAZ SANCHEZ, V. Manual Teoría y --- Práctica en Radioinmunoanálisis. Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán, México, D.F., 1983.
- IMPERIAL COLLEGE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY, UNIVERSITY OF LONDON. Code of practice against radiation hazards. Radiation Safety Committee. Sixth Edition, March, 1973.
- INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY, Basic Safety Standards for Radiation Protection. Safety Series No. 9. IAEA, Vienna, 1967.
- INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY, Radiation Protection Procedures. Safety Series N38. IAEA, Vienna, -- 1973.



- INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. Safe Handling of Radionuclides. Safety Series N 1, Code of Practice sponsored by IAEA and WHO, IAEA, Vienna, 1973.
- INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY, Laboratory Training Manual on the Use of Nuclear Techniques in Animal Parasitology. Technical Reports Series N 219, -- IAEA, Vienna, 1982.
- INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. The Quality Control of Nuclear Medicine Instruments, TECDOC (Draft) Vienna, 15 August (1984).
- INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. Laboratory Training Manual on Radioimmunoassay in Animal Reproduction, Technical Reports Series No. 233, IAEA, Vienna (1984).
- KNOLL, G.F., Radiation Detection and Measurement, -- John Wiley & Sons, New York (1979).
- MARTIN, A. AND HARBISON S.A., An Introduction to Radiation Protection. Second Edition, 1979.
- NATIONAL RADIOLOGICAL PROTECTION BOARD. Living with radiation. Great Britain, Her Majesty's Stationery Office, 1983.
- ORGANISMO INTERNACIONAL DE ENERGIA ATOMICA. Requisitos fundamentales para la vigilancia radiológica individual, Colección seguridad No. 14. OIEA, Viena --- (1981).
- ORGANISMO INTERNACIONAL DE ENERGIA ATOMICA, Normas básicas de Seguridad en Materia de protección radiológica, Colección seguridad No. 9, OIEA, Viena (1983).
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. The SI for the health professions. Geneva, 1977.



- AMARASIRI F and WILSON GS, "Multiple epitope interactions in the two-step sandwich immunoassay", *J Immunol Methods*, 151:67-86, 1992.
- BUTLER JE, NI L, NESSLER R, JOSHI KS, SUTER M, ROSENBERG B, CHANG J, BROWN WR and CANTARERO LA, "The physical and functional behavior of capture antibodies adsorbed on polystyrene", *J Immunol Methods*, 150:77-90, 1992.
- CZERKINSKY CC, NILSSON L-A, NYGREN H, OUCHTERLONY Ö and TARKOWSKI A, "A solid-phase enzyme-linked immunospot (ELISPOT) assay for enumeration of specific antibody-secreting cells", *J Immunol Methods*, 65:109-121, 1983.
- JENKINS SH, "Homogeneous enzyme immunoassay", *J Immunol Methods*, 150:91-97, 1992.
- KURSTAK E, "Progress in enzyme immunoassays: production of reagents, experimental design, and interpretation", *Bull World Health Organization*, 63:793-811, 1985
- NAKAMURA RM, VOLLER A and BIDWELL DE, "Enzyme immunoassays: Heterogeneous and homogeneous systems", pp 27.1-27.20. En *Handbook of experimental immunology*, vol 1: *Immunochemistry*. Weir DM, ed. Blackwell Scientific Publications, Londres, 1986.
- NIETO A y CARBONETTO CH, "Enzimoimmunoensayo (Elisa)", pp 571-586. En *Inmunología e inmunología química*. Margni RA, ed. Editorial Médica Panamericana SA, Buenos Aires, 1989.

