

# DESARROLLO DE UN SISTEMA DE DIAGNÓSTICO RÁPIDO PARA LA DETERMINACIÓN DE NIVELES ELEVADOS DE TNF- $\alpha$ ?

Laura Uribe Figueroa, Alberto Díaz-Quinonez, Jorge F. Paniagua-Solís. Laboratorios Silanes, S.A. de C.V. Amores 1304 Col. del Valle 03100, México, D.F. la\_u\_ris@yahoo.com

*Palabras clave: TNF- $\alpha$ , inmunocromatografía, partículas paramagnéticas.*

**Introducción.** El factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) es una citocina pro-inflamatoria que funciona como uno de los mediadores inmunológicos más importantes en respuesta a la infección. Sin embargo, el exceso en la concentración circulante de esta molécula, es responsable de muchos de los efectos patológicos de los procesos infecciosos (1). Un sistema de diagnóstico para la detección de TNF- $\alpha$ , sería muy útil para el seguimiento de terapias anti-TNF y para sentar las bases del estudio de la fisiopatología en enfermedades relacionadas con procesos inflamatorios. La cuantificación de analitos a bajas concentraciones en muestras biológicas con fines diagnósticos requiere sistemas de amplificación reproducibles y con alta sensibilidad (2). El objetivo del trabajo es desarrollar un sistema para el diagnóstico de TNF- $\alpha$  en formato de inmunocromatografía de flujo lateral que pueda interpretarse de manera semi-cuantitativa, o cuantitativa mediante un lector de partículas paramagnéticas (3).

**Metodología.** El sistema inmunocromatográfico se desarrolló fijando faboterápico anti-TNF- $\alpha$  (Laboratorios Silanes, S.A. de C.V –Instituto Bioclon) en una membrana de nitrocelulosa. La muestra con TNF- $\alpha$  se coloca en el cojinete de muestra y al iniciar su flujo, se combinará con el reactivo revelador para alcanzar la línea prueba, donde el TNF- $\alpha$ , quedara capturados desarrollando una línea colorida. El sistema tiene una línea control que sirve como control de calidad interno. Se evaluó otro método basado en la utilización de un monoclonal conjugado a partículas paramagnéticas (Latex-Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> ). Estas pruebas se analizaron utilizando un lector MAR (Quantum Design, San Diego, CA).

**Resultados y discusión.** El sistema semi-cuantitativo funcionó para la detección de hasta 1  $\mu$ g/ mL de TNF- $\alpha$ . En el sistema paramagnético se obtuvieron 10 lecturas por cada muestra. La mayoría de ellas con una correlación aceptable. La muestra con la menor concentración de TNF- $\alpha$  presentó una lectura 3 veces mayor que el fondo de la muestra negativa, lo que habla de una discriminación real entre muestras negativas y positivas. Las correlaciones entre 0.7-0.9 se consideraron como aceptables.

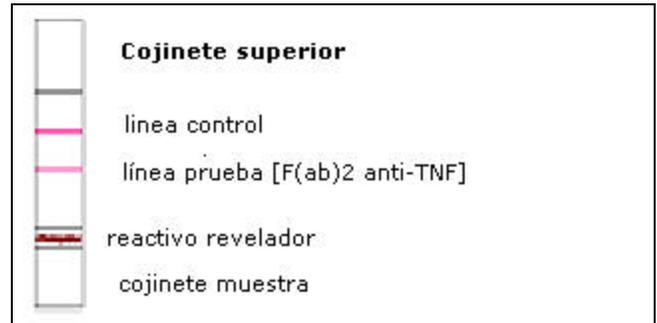


Fig. 1. Esquema del sistema inmunocromatográfico de flujo lateral.

Cuadro 1. Lecturas con el dispositivo MAR de las tiras inmunocromatográficas

Concentración de TNF- $\alpha$	Promedio de lectura	Corr
1.12 mg/mL	391.0	0.9366
100 $\mu$ g/mL	255.9	0.9505
50 $\mu$ g/mL	238.8	0.9040
25 $\mu$ g/mL	134.1	0.8215
10 $\mu$ g/mL	288.0	0.9090
10 ng/mL	13.8	0.6801
Negativo	3.8	0.1989

## Conclusiones.

Existe la posibilidad de desarrollar un sistema inmunocromatográfico de flujo lateral con características semi-cuantitativas para la determinación de analitos en bajas concentraciones (nanogramos por mililitro) utilizando la tecnología MAR (Magnetic assay reader). El desarrollo de un sistema cuantitativo, requiere de un mayor análisis y desarrollo tanto del lector paramagnético como del sistema inmunocromatográfico.

**Agradecimientos.** Agradecemos a la compañía Quantum Design (San Diego,CA) por los ensayos paramagnéticos preliminares.

## Bibliografía.

1. Knight, J.; Kwiatkowski.D. (1999). Inherited Variability of Tumor Necrosis Factor Production and Susceptibility to Infectious Disease *Proc Assoc Am Physicians* 111(4): 290-298.
2. Danielson,S. Thin film immunoassays en *Immunoassay*. Diamandis E.,Christopoulos T. Academic Press.USA 505-535.
3. Laborde R, O Farrell (2002) Paramagnetic-particle detection in lateral-flow assays. *IVD*