



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**  
**CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO**

INFORME DE INVESTIGACIÓN SOBRE:

**“DETERMINACIÓN DE PROLACTINA Y SU RELACIÓN CON EL  
PERFIL TIROIDEO EN PACIENTES DE SEXO FEMENINO”**

Requisito previo para optar por el Título de Licenciada en Laboratorio Clínico

**Autora:** Saquinga Galora, Nancy Maricela

**Tutora:** Dra. Mg. Tabares Rosero, Lourdes Gioconda

**Ambato –Ecuador**

**Agosto, 2016**

## **APROBACIÓN DEL TUTOR**

En mi calidad de Tutora del Trabajo de Investigación sobre el tema: **“DETERMINACIÓN DE PROLACTINA Y SU RELACIÓN CON EL PERFIL TIROIDEO EN PACIENTES DE SEXO FEMENINO”** de Nancy Maricela Saquinga Galora estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico, considero que reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la evaluación del jurado examinador designado por el H. Consejo Directivo de la Facultad de Ciencias de la Salud.

Ambato, Abril 2016

## **LA TUTORA**

---

Tutora Dra. Tabares Rosero, Lourdes Gioconda

## **AUTORÍA DEL TRABAJO DE GRADO**

Los criterios emitidos en el trabajo de investigación “**DETERMINACIÓN DE PROLACTINA Y SU RELACIÓN CON EL PERFIL TIROIDEO EN PACIENTES DE SEXO FEMENINO**” como también contenidos, ideas, análisis y conclusiones son de mi exclusiva responsabilidad, como autora de este trabajo de grado.

Ambato, Abril 2016

## **LA AUTORA**

---

Saquina Galora, Nancy Maricela

## **DERECHOS DE AUTOR**

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este proyecto de investigación o parte de ella un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación.

Cedo los derechos en línea patrimoniales de mi proyecto de investigación, con fines de difusión pública; además apruebo la reproducción de este proyecto de investigación, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autora.

Ambato, Abril 2016

## **LA AUTORA**

---

Saquina Galora, Nancy Maricela

## **APROBACIÓN DEL JURADO EXAMINADOR**

Los miembros del Tribunal Examinador aprueban el Informe de Investigación, sobre el tema “**DETERMINACIÓN DE PROLACTINA Y SU RELACIÓN CON EL PERFIL TIROIDEO EN PACIENTES DE SEXO FEMENINO**” de Nancy Maricela Saquina Galora, estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico.

Ambato, Agosto 2016.

**Para constancia firman:**

.....  
**PRESIDENTE/A**

.....  
**1er VOCAL**

.....  
**2do VOCAL**

## DEDICATORIA

El regalo más valioso que Dios me ha dado es mi familia, quienes han creído en mí siempre, dándome el ejemplo de superación, humildad y sacrificio, instruyéndome a valorar todo lo que tengo.

Al creador de todas las cosas, al que me ha dado la fortaleza para continuar, cuando a punto de caer he estado, con toda la humildad y sencillez de mi corazón dedico primero a Dios.

A Rosa (+), mi abuelita por su apoyo incondicional, sé que desde el cielo me cuidas, gracias por los años que compartiste conmigo, gracias por enseñarme hacer una buena mujer y gracias por regalarme todo tu amor, hasta siempre mi viejita linda.

A Abel, mi padre quién ha salido adelante con nosotros sin importar los inconvenientes que en el camino se han presentado, eres ejemplo de lucha y superación, todos los días le ruego a Dios para que perdures muchos años a nuestro lado.

A Inés, mi madre por su gran apoyo y confianza a quién, con valores fue parte fundamental de mi crecimiento.

A mis queridos hermanos Carlos y Mishel por ser mi ejemplo a seguir, gracias por estar a mi lado cuando los necesito.

Con todo mi amor

Nancy Maricela

## **AGRADECIMIENTO**

Un agradecimiento a la Universidad Técnica de Ambato, a las Autoridades y Docentes que en cada paso de mi vida Universitaria han sabido brindar sus valiosos conocimientos que han contribuido a mi formación profesional.

Al Hospital Básico Edgar Arcos, área de Laboratorio Clínico, al personal que labora y a las pacientes, por brindarme la apertura para el desarrollo de mi investigación.

A mi Tutora Dra. Mg. Lourdes Gioconda Tabares Rosero por brindarme su apoyo, orientación y colaboración durante la realización de este trabajo.

A toda mi Familia, compañeras, amigas y a la vez hermanas por brindarme su apoyo incondicional y entusiasmo en la culminación de mi Proyecto de Investigación, como también en toda la Carrera. Para ellos:

Muchas gracias y que Dios los bendiga siempre.

Nancy Maricela

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

PORTADA .....	ii
APROBACIÓN DEL TUTOR.....	ii
AUTORÍA DEL TRABAJO DE GRADO.....	iii
DERECHOS DE AUTOR.....	iv
APROBACIÓN DEL JURADO EXAMINADOR .....	v
DEDICATORIA.....	vi
AGRADECIMIENTO .....	vii
ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	viii
ÍNDICE DE IMÁGENES .....	x
ÍNDICE DE TABLAS .....	xi
ÍNDICE DE GRÁFICOS .....	xii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xiii
ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS.....	xiv
RESUMEN.....	xv
SUMMARY .....	xvi
INTRODUCCIÓN .....	17
<b>CAPÍTULO I .....</b>	<b>2</b>
<b>EL PROBLEMA.....</b>	<b>2</b>
1.1 TEMA.....	2
1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:.....	2
1.2.1 CONTEXTO.....	2
1.2.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA .....	4



1.3	JUSTIFICACIÓN .....	4
1.4	OBJETIVOS .....	5
1.4.1	OBJETIVO GENERAL .....	5
1.4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	5
	<b>CAPÍTULO II.....</b>	<b>6</b>
	<b>MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>6</b>
2.1	ESTADO DEL ARTE .....	6
2.2	FUNDAMENTO TEÓRICO .....	8
2.3	HIPÓTESIS .....	28
	<b>CAPÍTULO III .....</b>	<b>29</b>
	<b>MARCO METODOLÓGICO.....</b>	<b>29</b>
3.1	NIVEL O TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	29
3.2	SELECCIÓN DE ÁREA O ÁMBITO DE ESTUDIO.....	30
3.3	POBLACIÓN.....	30
3.3.1	CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN .....	31
3.3.2	DISEÑO MUESTRAL.....	31
3.4	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES .....	32
3.5	DESCRIPCIÓN DE LA INTERVENCIÓN Y PROCEDIMIENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN.....	34
3.6	ASPECTOS ÉTICOS .....	42
	<b>CAPÍTULO IV.....</b>	<b>44</b>
	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>44</b>
4.1	RESULTADOS DE LABORATORIO .....	44
4.2	TABULACIÓN DE RESULTADOS.....	46
4.3	VERIFICACIÓN DE LA HIPÓTESIS .....	53
4.4	CONCLUSIONES .....	56

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	58
BIBLIOGRAFÍA: .....	58
LINKOGRAFÍA: .....	60
CITAS BIBLIOGRÁFICAS-BASES DE DATOS UTA .....	62
ANEXOS.....	63

### ÍNDICE DE IMÁGENES

Imagen N° 1: Prolactina .....	8
Imagen N° 2: Glándula Tiroides.....	16
Imagen N° 3: Hipertiroidismo .....	23

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 1: Causas de Hiperprolactinemia .....	15
Tabla N° 2: Niveles normales de hormonas tiroideas.....	21
Tabla N° 3: Comparación entre hipotiroidismo e hipertiroidismo .....	28
Tabla N° 4: Registro de resultados .....	44
Tabla N° 5: Prolactina.....	46
Tabla N° 6: TSH.....	47
Tabla N° 7: T4 total .....	49
Tabla N° 8: T4 Libre.....	50
Tabla N° 9: T3 total .....	51
Tabla N° 10: T3 libre .....	52
Tabla N° 11: Frecuencias observadas .....	54
Tabla N° 12: Frecuencias esperadas .....	54
Tabla N° 13: Cálculo de Ji Cuadrado .....	55

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico N° 1: Niveles de prolactina.....	46
Gráfico N° 2: Niveles de TSH.....	47
Gráfico N° 3: Niveles de T4 Total.....	49
Gráfico N° 4: Niveles de T4 Libre .....	50
Gráfico N° 5: Niveles de T3 Total.....	51
Gráfico N° 6: Niveles de T3 Libre .....	52

## ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO N° 1: AVAL DEL TEMA.....	64
ANEXO N° 2: AUTORIZACIÓN DE LA EJECUCIÓN .....	65
ANEXO N° 3: CONSENTIMIENTO INFORMADO .....	66
ANEXO N° 4: INSERTO DE PROLACTINA .....	67
ANEXO N° 5: INSERTO DE TSH .....	72
ANEXO N° 6: INSERTO DE T4 TOTAL .....	74
ANEXO N° 7: INSERTO DE T3 TOTAL .....	76
ANEXO N° 8: INSERTO DE T3 LIBRE.....	78
ANEXO N° 9: FOTOGRAFÍAS .....	80

## ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

Fotografía N° 1: Lugar de investigación (Hospital Básico Edgar Arcos).....	80
Fotografía N° 2: Área de Laboratorio Clínico.....	80
Fotografía N° 3: Verificación de pedido médico.....	81
Fotografía N° 4: Material requerido para la toma de muestra.....	81
Fotografía N° 5: Toma de muestra sanguínea .....	82
Fotografía N° 6: Procesamiento de muestras (centrifugación para obtener suero) .....	82
Fotografía N° 7: Muestras de análisis .....	83
Fotografía N° 8: Reactivos de hormonas tiroideas – prolactina y equipo de laboratorio. ....	83
Fotografía N°9: Procesamiento de muestras. ....	84

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

**“DETERMINACIÓN DE PROLACTINA Y SU RELACIÓN CON EL  
PERFIL TIROIDEO EN PACIENTES DE SEXO FEMENINO.”**

**Autora:** Saquina Galora, Nancy Maricela.

**Tutora:** Dra. Mg. Tabares Rosero, Lourdes Gioconda.

**Fecha:** Abril, 2016.

**RESUMEN**

El presente trabajo investigativo consiste en la determinación de prolactina y a su vez relacionarla con los niveles del perfil tiroideo en pacientes de sexo femenino, que acuden al Hospital Básico Edgar Arcos del Cantón Píllaro y que sean de edad adulta. El objetivo principal es encontrar la relación que existe entre estas hormonas ya que están estrechamente relacionadas con la tiroides, se dice que cuando hay una concentración demasiado elevada de prolactina, está asociada con el hipotiroidismo, junto a la elevación de la TSH hay una elevación de la prolactina (hiperprolactinemia). Es una asociación bastante más frecuente de lo que se piensa.

La importancia de evaluar la prolactina en pacientes de sexo femenino es un apoyo primordial dentro del tratamiento que emite el médico, especialmente para descartar o confirmar una patología tiroidea. La metodología fue realizada en el Laboratorio Clínico del Hospital Básico Edgar Arcos, se registró a 70 pacientes que acuden con pedidos médicos para análisis de perfil tiroideo y prolactina. De las cuales mediante un muestreo no probabilístico intencional se realizó el estudio en 24 pacientes; con los respectivos análisis llegamos a concluir que existe una buena correlación entre los valores elevados de prolactina y los valores elevados de TSH, sirviendo la hiperprolactinemia como parámetro orientador sobre el mal funcionamiento de la glándula tiroides en lo referente a la hormona estimulante de la tiroides.

**PALABRAS CLAVES:** PERFIL\_TIROIDEO, PROLACTINA, HIPOTIROIDISMO, HIPERTIROIDISMO, HIPERPROLACTINEMIA.

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

**"DETERMINATION OF PROLACTIN AND ITS RELATION WITH THYROID PROFILE IN FEMALE PATIENTS."**

**Author:** Saquinga Galora, Nancy Maricela.

**Tutor:** Dra. Mg. Tabares Rosero, Lourdes Gioconda.

**Date:** April, 2016.

**SUMMARY**

This research work is the determination of prolactin and in turn relate to levels of thyroid function in female patients, who come to the Basic Edgar Arcos Hospital Canton Píllaro and are of adulthood. The main objective is to find the relationship between these hormones as they are closely related to the thyroid, it is said that when a too high concentration of prolactin, is associated with hypothyroidism, with the elevated TSH is a lift prolactin (hyperprolactinemia). It is a far more common than thought association.

The importance of assessing prolactin in female patients is a fundamental pillar of treatment issued by the doctor, especially to rule out or confirm a thyroid disease. The methodology was conducted at the Clinical Laboratory Edgar Arcos Base Hospital, 70 patients presenting with medical orders for analysis of prolactin and thyroid profile was recorded. Of which the study was conducted in 24 patients who had altered thyroid function results; by the respective analysis we conclude that there is a good correlation between elevated prolactin levels and high TSH values, serving on the malfunction of the thyroid gland in terms of stimulating hormone will thyroid hyperprolactinemia as a guiding parameter.

**KEYWORDS:**



PROFILE\_THYROID, PROLACTIN, HYPOTHYROIDISM,  
HYPERTHYROIDISM, HYPERPROLACTINEMIA.

## INTRODUCCIÓN

*“EL ÉXITO en la vida*

*No se mide por lo que logras*

*Sino por los obstáculos*

*Que **SUPERAS**”*

**Nancy Saquina**

El presente proyecto de investigación consiste en la determinación de prolactina y su relación con el perfil tiroideo en pacientes de sexo femenino. La hormona prolactina también llamada hormona luteotropin, es una hormona proteica producida por la glándula pituitaria, que actúa junto a otras hormonas para iniciar la secreción de leche por las glándulas mamarias. En la escala evolutiva, la prolactina es una hormona antigua, que sirve a múltiples funciones en el organismo. Aparte del embarazo, la causa más común de unos elevados niveles de prolactina en la sangre, lo que se denomina hiperprolactinemia, es el hipotiroidismo.

La hormona tirotrópica o denominada TSH es una hormona producida por el eje hipotalámico, la hormona se encarga de regular la producción de las hormonas tiroideas denominadas T3 (triyodotironina) y T4 (tiroxina), pues la variación de dichas hormonas conducen al paciente a un estado patológico. La prevalencia de enfermedades tiroideas ha llegado a tener un índice bastante amplio, principalmente en mujeres, ya que son más propensas a contraer este tipo de

anomalías. La relación existente entre la hormona prolactina y hormonas tiroideas han coadyuvado a ejecutar el presente Proyecto de Investigación.

## **CAPÍTULO I**

### **EL PROBLEMA**

#### **1.1 TEMA**

**DETERMINACIÓN DE PROLACTINA Y SU RELACIÓN CON EL PERFIL TIROIDEO EN PACIENTES DE SEXO FEMENINO.**

#### **1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:**

##### **1.2.1 CONTEXTO**

Los problemas de tiroides son sumamente comunes, especialmente en el sexo femenino, son ocho veces más frecuentes en mujeres que en hombres. Existen hasta 300 millones de personas a nivel mundial que padecen de problemas tiroides. (1)

La prevalencia de enfermedades tiroideas en el sexo femenino es más frecuente que en los varones debido a que la mujer es más propensa a desarrollar

enfermedades autoinmunes y el 80% de los casos de trastornos tiroideos es el factor autoinmune y se presume que la mitad de ellas no son conscientes de su condición. (2)

Se estima que por cada varón hay por lo menos veinte mujeres que presentan problemas de tiroides, por lo que se les recomienda hacerse chequeos periódicos y un despistaje con análisis de prolactina y TSH (hormona estimulante de la tiroides) en caso presenten algunos síntomas de la enfermedad. La hormona prolactina actúa como elemento transmisor entre distintas células y órganos. Es responsable, junto con las hormonas cortisol y la insulina, del crecimiento de la glándula mamaria y la leche durante la lactancia, es por eso que también es llamada "hormona de la lactancia". Durante mucho tiempo se consideraba que esta hormona servía únicamente para la producción de leche materna, pero según los estudios realizados se ha demostrado que la prolactina participa en una amplia variedad de procesos biológicos, actúa afectando desde la proliferación celular hasta el estado inmune del individuo (3). Tanto así que la prolactina ha sido considerada como una citocina (4). Además, los niveles de prolactina están estrechamente relacionados con la tiroides. En una concentración demasiado elevada de prolactina, está asociada con el hipotiroidismo, junto a la elevación de la TSH hay una elevación de la prolactina (hiperprolactinemia). Es una asociación bastante más frecuente de lo que se piensa. La hiperprolactinemia ocurre con mayor frecuencia en mujeres. La prevalencia se estima entre el 0,4% de una población adulta normal general y el 17% en mujeres con desórdenes reproductivos (5).

Existen dos tipos de trastorno tiroideo: el hipotiroidismo (deficiencia de hormonas tiroideas) y el hipertiroidismo (exceso de producción de hormonas tiroideas)., la prevalencia global entre ambos se acerca a los índices de la diabetes, entre 9 a 11 por ciento a nivel mundial. Afirmando que los casos más frecuentes son de hipotiroidismo, alrededor de un 5 por ciento de la población mundial, en

comparación con el hipertiroidismo que está entre el 2 y 3 por ciento (6). Evidencias epidemiológicas demuestran que las enfermedades de la tiroides se presentan con mayor frecuencia en zonas montañosas, donde se ha demostrado una deficiencia de yodo, la cual unida a otros factores como los bociógenos, los inmunológicos y los genéticos, constituyen las causas y orígenes de estas enfermedades. En el Ecuador las enfermedades de la tiroides son muy frecuentes en la consulta del médico endocrinólogo, en el lapso de ocho meses se ha visto 500 pacientes con problemas de esta glándula, afecta a 7 mujeres en relación con un varón, por lo tanto el sexo es importante (7). Datos recientes demuestran que el hipotiroidismo se presenta cerca del 8% en la población adulta, y el hipotiroidismo congénito tiene una incidencia relativamente alta de 1 en 1,500 nacimientos; tomando en cuenta que el Ecuador es uno de los países de América Latina que no tiene una ley que establezca la prevención del hipotiroidismo, con un programa de detección oportuna y seguimiento del recién nacido. (8)

### **1.2.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA**

¿Existe relación entre los niveles de prolactina y el perfil tiroideo en pacientes de sexo femenino?

### **1.3 JUSTIFICACIÓN**

El presente trabajo de investigación sobre “Determinación de prolactina y su relación con el perfil tiroideo en pacientes de sexo femenino”, es muy importante realizarlo ya que muestran la originalidad de este tema, pues no se ha encontrado trabajos anteriores, por lo que nace la iniciativa de investigar si los niveles anormales de prolactina mantienen relación con el funcionamiento de la tiroides. Por otra parte el incremento diario de pacientes de sexo femenino que presentan anomalías a nivel de tiroides, ha llevado a un verdadero interés por realizar esta investigación.

Nuestra investigación busca beneficiar a los pacientes que asisten al Hospital Básico Edgar Arcos, y en general a toda la comunidad, informando sobre los beneficios de los exámenes a realizar, aplicando los conocimientos adquiridos como estudiantes y aplicándolos al ámbito profesional, buscando mejorar su estilo de vida mediante los análisis clínicos, con la procura de difundir los resultados, aplicando métodos y técnicas actualizadas confiables de última tecnología.

El proyecto de investigación es viable, ya que se cuenta con los conocimientos necesarios, además de los recursos materiales, económicos y humanos que nos servirán de gran ayuda para esta investigación; además contamos con el apoyo de las autoridades del Hospital básico Edgar Arcos, lugar en donde se va a realizar la investigación, más la capacitación continua y oportuna del tutor que orientó en la elaboración de este trabajo investigativo con la única finalidad de obtener resultados certeros y así constatar la veracidad del mismo.

## **1.4 OBJETIVOS**

### **1.4.1 OBJETIVO GENERAL**

Determinar los niveles de prolactina y su relación con el perfil tiroideo en pacientes de sexo femenino.

### **1.4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- ✓ Cuantificar prolactina utilizando el método de Elisa.
- ✓ Cuantificar T3, T4, fT3, fT4 y TSH utilizando el método de Elisa.
- ✓ Correlacionar los valores obtenidos de prolactina con los valores del perfil tiroideo.

## **CAPÍTULO II**

### **MARCO TEÓRICO**

#### **2.1 ESTADO DEL ARTE**

Luego de realizar una investigación bibliográfica sobre el presente tema de investigación se encontraron los siguientes antecedentes investigativos que sirvieron de sustento a la investigación.

Según el artículo publicado en Paraguay por Lidia Vera, Karina Martínez, Florentina Kaimen y Cecilia Saldívar en Diciembre del 2012 con el título “Perfil Tiroideo de pacientes ambulatorios que acudieron al Laboratorio del Hospital Nacional (Itauguá)” y cuyo objetivo de estudio fue: Evaluar el perfil tiroideo de los pacientes ambulatorios del Hospital Nacional (Itauguá) entre Diciembre 2010 y Mayo 2011. Se estudiaron 312 pacientes con solicitud de hormonas tiroideas, de los cuáles 106 pacientes (34%) obtuvieron resultados alterados del perfil tiroideo. De los sujetos con valores alterados de las hormonas tiroideas, las mujeres presentaron mayor riesgo de padecer tanto hipotiroidismo como hipertiroidismo en comparación a los varones, ya que guardan una relación 4:1 (81% mujeres con respecto a 19% de varones). Llegando a la conclusión de que la alteración de las hormonas tiroideas se registró en 34% de la población en estudio,

mayoritariamente en mujeres y la patología asociada de mayor relevancia es el hipotiroidismo primario.

Según la tesis realizada por Daniela Dolores Avila Bernal y Mónica Paola Benavides García en la ciudad de Cuenca en el año 2013 bajo el tema “Determinación de prolactina y su relación con ciclos menstruales irregulares”, y cuyo objetivo fue: Determinación de prolactina y su relación con ciclos menstruales irregulares de la ciudad de Cuenca. Se realizó un estudio Descriptivo, Prospectivo, No experimental, se trabajó con 50 muestras realizando el duplicado del 50% de las mismas, para lo cual se obtuvo suero de cada una de las pacientes y estas muestras fueron llevadas al Laboratorio de Atención al Público de la Universidad de Cuenca para realizar su análisis por el método de Quimioluminiscencia., como conclusión se obtuvo que existe una relación gráfica significativa entre los valores de prolactina vs tiempo de retraso menstrual de las 50 muestras analizadas.

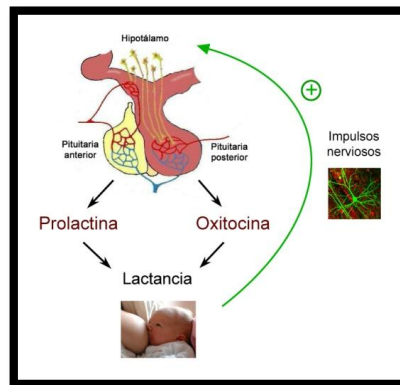
En la tesis realizada por Encalada Ontaneda Evelyn Tatiana en la ciudad de Loja en el año 2013 bajo el tema” Perfil tiroideo como diagnóstico presuntivo de hipotiroidismo y su relación con la prolactina en mujeres embarazadas que asisten a consulta externa del Hospital Provincial general Isidro Ayora de Loja”, y cuyo objetivo fue: Determinación del perfil tiroideo como diagnóstico presuntivo de hipotiroidismo y su relación con la prolactina. En esta investigación se determinó los niveles de Triyodotironina (T3), Tiroxina (T4), Tirotropina (TSH) y Prolactina (PRL) en 112 mujeres embarazadas utilizando métodos de electroquimioluminiscencia con un análisis inmunológico totalmente automatizado, llegando a la conclusión que un gran porcentaje de mujeres embarazadas presentaron valores alterados tanto en hormonas tiroideas como en prolactina durante el primer y segundo trimestre de embarazo, siendo de gran interés realizar un seguimiento a cada una de la pacientes que presentaron niveles

alterados ya sean bajos o elevados para monitorear el correcto desarrollo del bebé y evitar complicaciones durante y después del embarazo.

## 2.2 FUNDAMENTO TEÓRICO

### PROLACTINA:

La prolactina es una hormona producida por la hipófisis anterior, una glándula de pequeño tamaño, como un grano de uva, que se encuentra localizada en la base del cerebro, descansando sobre una estructura ósea del cráneo, conocida como “silla turca”. Su principal acción es la de estimular la producción de leche tras el embarazo, y durante toda la lactancia. (9)



**Imagen N° 1: Prolactina (19)**

La prolactina (PRL) fue descubierta en el año 1928 en la hipófisis de vaca, y es considerada la hormona más antigua del reino animal. Es una hormona polipeptídica de cadena única, es sintetizada y secretada principalmente por



células especializadas de la hipófisis anterior denominada lactotropos, tiene un peso molecular aproximado 22,500 daltons, siendo la hormona adenohipofisiaria que interviene en la lactación, por medio de eventos fisiológicos y bioquímicos.

Su cadena polipeptídica está constituida por unos 198-200 residuos aminoácidos cuya secuencia completa no ha sido conocida.

En una persona normal del 80 al 90% consiste en una forma pequeña pero funcional que se denomina 1-PRL (littlePrlactin) constituida por 199 monómeros de aminoácidos también llamada nativa. También encontramos una forma hormonal de mayor peso molecular (40,000-50,000 daltons) llamada prolactina grande (big-PRL) la cual se presupone es una forma de depósito, que pocas veces es detectada en el suero y su actividad biológica es casi nula. Sin embargo se le detecta en los procedimientos de hiperprolactinemia sin manifestaciones clínicas patológicas, tal vez segregada directamente por la hipófisis o representa una forma de agregados poliméricos. (10)

Además se ha reportado una forma dimérica de la big-PRL que quizás este unida a una inmunoglobulina IgG, se le ha llamado macroprolactina (bigbig-Prolactin) con un peso molecular superior a los 100,000 daltons y sin actividad biológica.

## **ACCIONES FISIOLÓGICAS DE LA PROLACTINA**

- **Inicio y mantenimiento de lactancia**

Es la principal función fisiológica de la prolactina.

La prolactina interviene sobre el tejido glandular mamario estimulando la captación de agua y la síntesis de lactosa, proteínas y lípidos para la producción de leche que se activa después del parto por la disminución de los niveles de progesterona y estrógenos. La succión del pezón y el vaciamiento de la leche

almacenada en la glándula aumentan la secreción de prolactina y mantienen la lactancia, mientras que la suspensión del vaciamiento mamario lo inhibe, volviendo a los 7 días aproximadamente a los valores normales.

- **Inhibición de la hormona liberadora de Gonadotropina**

La prolactina inhibe la secreción de GnRH y por lo tanto los ciclos de la hormona luteinizante (LH), folículo estimulante (FSH) y hormonas ováricas, por lo que actúa como anticonceptivo natural evitando nuevos embarazos.

- **Equilibrio hidroelectrolítico**

Reduce la secreción de agua, K y Na por el riñón y aumenta la absorción intestinal de agua, probablemente para asegurar el aporte hídrico y de iones de leche materna.

- **Crecimiento y desarrollo**

La Prolactina tiene cierto efecto en el desarrollo y maduración de distintos tipos celulares durante la vida fetal, colabora en la hipertrofia de la mucosa intestinal, la proliferación de células de músculo liso, prostáticas y del sistema inmunitario, la diferenciación de preadipocitos, la maduración de células germinales y la maduración pulmonar.

- **Sistema inmunitario**

Aunque se ha probado la existencia de receptores de prolactina en linfocitos, no parece que este efecto sea biológicamente relevante.

- **Metabolismo glucídico**

La prolactina estimula la secreción de insulina, pero a nivel periférico tiene una leve acción contrainsular. (10)

## **CONTROL Y REGULACIÓN DE LA PROLACTINA**

La regulación de la síntesis y liberación de prolactina está a cargo del hipotálamo que ejerce un poder inhibitor, pero no es el único factor que influye en esta regulación, también están involucrados diversos factores farmacológicos y fisiológicos que interaccionan con elementos neurohormonales hipotalámicos, llevando a cabo una regulación de la actividad de la prolactina. El sistema nervioso central también tiene un papel importante en la regulación de la secreción de prolactina mediante un mecanismo de inhibición, vía conexiones hipotálamo-hipófisis. El hipotálamo ejerce una función importante inhibitoria para establecer el nivel normal de secreción de prolactina, a través de un factor no identificado llamado factor PIF (Prolactin Inhibitor Factor) su efecto tónico inhibitorio es predominante, y cuando se presenta una desconexión hipotálamo-adenohipofisaria por sección del tallo hipotalámico o por lesiones destructivas hipotalámicas lleva consigo una hipersecreción de prolactina. (11)

Además se habla mucho del papel de la dopamina en cuanto a la regulación de esta hormona, ya que su concentración en la circulación portal es inversamente proporcional con los niveles de prolactina en plasma. Esto se debe a que la dopamina está ligada a los receptores dopaminérgicos sobre el lactótropo en el resultado de la inhibición de prolactina. (12)

En conclusión podemos decir que la PRL es una hormona que no posee un órgano blanco específico pero si una heterogenicidad funcional, cuyos mecanismos de acción endocrinos, paracrinos y autocrinos, le permiten comportarse como hormona y como factor de crecimiento, como neurotransmisor y como inmunomodulador.

Puede ser sintetizada en cualquiera de los órganos que poseen receptores específicos y no exclusivamente por los lactótrofos de la hipófisis, sin embargo, una parte importante de la síntesis de PRL se lleva a cabo en las células somatotropas.

## **MÉTODO DE DETERMINACIÓN DE PROLACTINA**

### **TÉCNICA DE ELISA**

#### **¿Qué es ELISA?**

Son las siglas por las que se conoce al **ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas** (en inglés enzyme-linked immunosorbent assay). Se trata de un método de laboratorio, que tiene como principal objetivo poner en evidencia la presencia de anticuerpos o de antígenos específicos de una enfermedad en una muestra de sangre, este examen utiliza una proteína llamada enzima, que se fijara a ciertos componentes específicos de la enfermedad; por la identificación y la cuantificación de esta enzima se puede confirmar la enfermedad y evaluar su intensidad.

### **FUNDAMENTO ELISA**

Se basa en el uso de antígenos o anticuerpos marcados con una enzima, de forma que los conjugados resultantes tengan actividad tanto inmunológica como enzimática. Al estar uno de los componentes (antígeno o anticuerpo) marcado con una enzima e insolubilizado sobre un soporte (inmunoabsorbente) la reacción antígeno-anticuerpo quedara inmovilizada y, por tanto, será fácilmente revelada mediante la adición de un substrato específico que al actuar la enzima producirá un color observable a simple vista o cuantificable mediante el uso de un espectrofotómetro o un colímetro. (13)

## **VALORES DE REFERENCIA**

Los valores de referencia para la prolactina son los siguientes:

- Hombres: 1.8-17 ng/mL
- Mujeres que no estén embarazadas: 1.2-19.5 ng/mL

Nota: ng/mL = nanogramos por mililitro.

Se debe tomar en cuenta que estos valores pueden variar según la técnica a utilizar y algunos factores como:

- Estrés emocional o físico
- Comidas altas en proteínas
- Estimulación intensa de las mamas
- Un examen mamario reciente
- Ejercicio reciente
- Ciertas medicinas
- Edad
- Género

## **ALTERACIONES EN EL NIVEL DE PROLACTINA**

Las alteraciones en la secreción o falta de inhibición de la prolactina pueden desencadenar varios trastornos en el organismo de un ser humano entre los que podemos aludir los siguientes:

- **HIPERPROLACTINEMIA**

La hiperprolactinemia es un trastorno en el cual la persona tiene un nivel anormalmente alto de la hormona prolactina en la sangre que puede provocar anovulación y amenorrea secundaria de aparición espontánea, como en el síndrome de Forbes-Albright, causada por tumor o también el síndrome de Chiari-Frommel que cursa con galactorrea persistente después del embarazo debido a un trastorno funcional. (10)

## CAUSAS DE HIPERPROLACTINEMIA

<b>I. Estimulación directa de células lactotrópicas hipofisarias</b>
<p><b>Exceso de estrógenos</b>  Embarazo  Anticonceptivos orales  Otros estrógenos</p> <p><b>Influencias nerviosas</b>  Estimulación de los pezones  Traumatismo o intervención quirúrgica sobre la pared torácica  Herpes zoster torácico</p> <p><b>Estimulación de TRH</b>  Hipotiroidismo o tiroides con un nivel de actividad insuficiente, lo cual significa que la glándula de la tiroides no produce suficiente hormona tiroidea</p>
<b>II. Disfunción de la inhibición de la liberación de prolactina por dopamina</b>
<p><b>Disminución de dopamina hipotalámica</b>  Reserpina  Alfa metildopa</p> <p><b>Bloqueo del receptor de dopamina en células lactotrópicas.</b>  Fenotiacinas y anti psicóticos (p.ej, Compazine, Thorazine, Stelazine, Mellaril, Haldol, Risperidone)</p> <p><b>Antagonistas dopaminérgicos</b>  Metoclopramida  Sulpirida</p>
<b>III. Trastornos primarios del hipotálamo y la hipófisis</b>

<p><b>Hipotálamo</b>  Craneofaringioma  Sarcoidosis y otras enfermedades granulomatosas</p> <p><b>Hipófisis</b>  Hiperprolactinemia idiopática  Microadenoma hipofisario  Macroadenoma hipofisario  Sección del tallo de la hipófisis  Síndrome de la silla turca vacía</p> <p><b>Causas diversas</b>  Insuficiencia renal crónica.</p>
---

**Tabla N° 1: Causas de Hiperprolactinemia (14)**

- **HIPOPROLACTINEMIA**

La hipoprolactinemia se refiere a la disminución en los niveles de prolactina circulantes en sangre, este fenómeno es causado por la incapacidad de las células lactotropas presentes en la hipófisis de producir prolactina. También puede ser causada por el síndrome de Sheehan que es necrosis hipofisaria producida después del parto, una disfunción de la adenohipfisis, o la ingesta de medicamento para bajar los niveles de prolactina.

Esta enfermedad es muy rara y no tiene repercusión clínica, a menos que la paciente se encuentre en periodo de lactancia, en cuyo caso puede producir disminución en la producción de leche materna y por ende la mala alimentación del bebe. (15)

## **GLÁNDULA TIROIDES**

La glándula tiroides es un órgano endocrino grande e impar que tiene forma de mariposa; está localizada en la cara anterior del cuello, al alcance de la vista y manos del explorador. Su función es la síntesis y liberación de hormonas tiroideas, que se encargan de regular y mantener múltiples procesos metabólicos. (16)

Debe su nombre a Thomas Wharton, quien le designó así en 1656. Es la primera glándula endocrina en desarrollarse en el embrión alrededor de 24 días después de la fertilización, iniciando como un engrosamiento en el piso de la faringe y unido a la lengua por el conducto tirogloso, pesa aproximadamente de 15 a 20g en adultos normales. Está formado por dos lóbulos que se encuentran situados uno a cada lado de la tráquea y unidos por una banda de tejido tiroideo llamado istmo, en la parte posterior de cada lóbulo se encuentran dos pequeñas glándulas paratiroides. Para funcionar correctamente la glándula tiroidea se encuentra irrigada por cuatro arterias principales, una en cada lado de los lóbulos, esta irrigación es abundante y aumenta cuando la glándula crece. (17)

Las hormonas tiroideas son fundamentales para el metabolismo normal del individuo. Intervienen en el metabolismo de glúcidos, lípidos, proteínas y afectan a órganos tan importantes como el corazón. (18)

La función de la glándula tiroidea es controlada por otra glándula llamada hipófisis. Esta glándula, localizada sobre la base del cráneo, produce una hormona llamada tirotropina o TSH que es la hormona estimulante de la tiroidea. La TSH es muy sensible a las variaciones de los niveles circulantes de hormonas T4 y T3. Un pequeño aumento de la concentración de T4 libre produce una gran disminución de la concentración de TSH, y viceversa. (19)

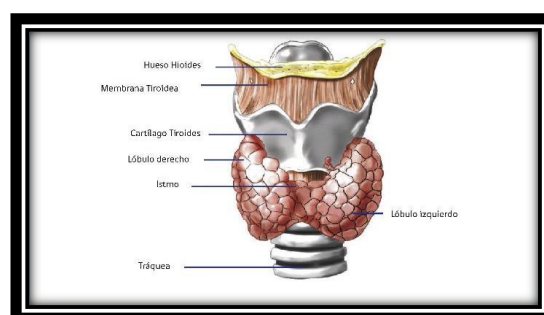


Imagen N° 2: Glándula Tiroides (20)

## FISIOLOGÍA DE LAS HORMONAS TIROIDEAS



La síntesis de hormonas tiroideas se produce gracias al aporte de yodo en el organismo a través de su consumo en la dieta, este es absorbido en forma de yoduro a través del intestino delgado, luego es transportado en el plasma hacia la glándula tiroides mediante transporte activo mediado por una bomba de yodo, es lo que se llama captación. Una vez que ingresa a la glándula es oxidado y se une a la tiroxina pero para que esto ocurra el yodo debe ser transformado de yodo inorgánico a orgánico mediante la acción de la Tiroperoxidasa (TPO), sin la cual no se podría formar la hormona tiroidea.

Una vez que el yodo ha pasado por el proceso de oxidación se une con los residuos de tirosina presentes en la tiroglobulina para formar las iodotirosinas (moniodotirosinas y diiodotirosinas). La unión de una o dos moléculas de yodo a la Tirosina produce la Monoiodotirosina (T1) o Diiodotirosina (T2).

A su vez la unión de dos moléculas de T2, dará origen a la Tiroxina (T4) con 4 átomos de yodo y el de una molécula de T1 y otra de T2 formará la T3 o Triyodotironina. Todos estos elementos se combinan y forman un producto más complejo que es la Tiroglobulina (TGB). (20)

La Tiroglobulina es el depósito de hormonas tiroideas en la tiroides y a partir de ella, por hidrólisis, se formarán la T4 y la T3 que pasan a la sangre, como hormonas tiroideas. La tiroxina o T4 es la principal hormona tiroidea liberada por la glandula tiroides en individuos sanos, se caracteriza porque tiene 4 átomos de yodo y es el único componente de la fisiología de los vertebrados que contienen yodo, aunque también se produce la liberación de triyodotironina o T3 (con tres átomos de yodo), estas hormonas pueden circular en forma libre (0.03% de T4 y 0.3% de T3) o unidas a proteínas, a la albumina y una  $\alpha$ -globulina específica.

Una vez sintetizadas las hormonas tiroideas son almacenadas en el coloide folicular hasta que el organismo necesite su secreción, cuando esto ocurre son separadas de la tiroglobulina y finalmente liberadas a través del torrente sanguíneo.

La T3 y T4 entran en las células a través de difusión para ser metabolizadas y cumplir sus acciones biológicas, la T3 es producida en células de los tejidos periféricos por lo tanto puede ser liberada a la circulación o ligarse al receptor nuclear para producir la acción biológica, por el contrario la T4 se manifiesta más lentamente, pero su acción dura más tiempo (tiempo medio de actividad biológica=6 días) que el caso de la T3 (tiempo medio de actividad biológica=1,5días). (21)

## **REGULACIÓN DE LAS HORMONAS TIROIDEAS**

Si bien la producción de hormonas tiroideas en el organismo se produce lentamente, también se realiza en forma constante, es por ello que se requiere de un mecanismo que controle y regule su secreción. (22)

Esta regulación está dada en gran parte por la hormona estimulante de la tiroides, tirotropina o TSH por sus siglas en inglés (Thyroid Stimulating Hormone) la cual es una glucoproteína de 28 kDa producida por células tirotropas de la adenohipófisis, la cual actúa sobre la tiroides estimulando la producción y secreción de hormonas tiroideas además de estimular el crecimiento de la glándula tiroidea, lo que produce vasodilatación, aumento de flujo sanguíneo y se estimula la angiogénesis. (22)

La TSH es la encargada de estimular todos los pasos para la biosíntesis de hormonas tiroideas y de su liberación por la tiroides, también es responsable de todos los acontecimientos metabólicos que se producen en la célula tiroidea, estimulando la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos, mecanismos por los que ocurre la hiperplasia e hipertrofia de la glándula. (23)

La regulación de la secreción de tirotropina (TSH) depende de la hormona liberadora de tirotropina o TRH (thyrotropin – releasing hormone) producida por las neuronas localizadas en el núcleo periventricular del hipotálamo. La

regulación de la TSH también está dada por catecolaminas, sobre todo por DA y por somatostatina hipotalámica.

Otro proceso de regulación de hormonas tiroideas es el sistema de retroalimentación negativa que se lleva a cabo por las propias hormonas tiroideas las cuales actúan inhibiendo la secreción de TSH por una actuación directa sobre la hipófisis y también actúan de forma indirecta inhibiendo la producción de TRH. Es decir, cuando el nivel de hormonas tiroideas baja en sangre, la hipófisis lo detecta y aumenta la producción de TSH que estimula la tiroides para que produzca y libere más hormona tiroidea; cuando el nivel de hormonas tiroideas es alto, la hipófisis se frena, baja la TSH en sangre y el tiroides ralentiza su actividad.

Durante este proceso de retroalimentación predominara la acción inhibidora de hormonas tiroideas y de la intensidad de esta inhibición dependerá la liberación de TSH. El objetivo de todo este proceso es lograr niveles normales de hormonas tiroideas en el organismo. (23)

## **FUNCIÓN DE LAS HORMONAS TIROIDEAS**

Las hormonas tiroideas son indispensables en el organismo, ya que cumplen varias funciones, las mismas que presentamos a continuación:

- Son necesarias para un correcto crecimiento y desarrollo
- Tienen acción calorígena y termorreguladora
- Aumentan el consumo de oxígeno
- Estimulan la síntesis y degradación de las proteínas
- Regulan las mucoproteínas y el agua extracelular
- Actúan en la síntesis y degradación de las grasas
- Intervienen en la síntesis del glucógeno y en la utilización de la glucosa
- Son necesarias para la formación de la vitamina A, a partir de los carotenos

- Estimulan el crecimiento y la diferenciación
- Son imprescindibles para el desarrollo del sistema nervioso central y periférico
- Intervienen en los procesos de la contracción muscular y motilidad intestinal
- Participan en el desarrollo y erupción dental

En resumen, las hormonas tiroideas intervienen prácticamente en la totalidad de las funciones orgánicas, activándolas y manteniendo el ritmo vital. (24)

## **EXÁMENES DEL PERFIL TIROIDEO**

Los exámenes o pruebas del perfil tiroideo se utilizan para determinar si la tiroides está trabajando normalmente.

Las pruebas a realizarse son:

- ✓ TSH
- ✓ T4 total
- ✓ T4 libre
- ✓ T3 total
- ✓ T3 libre

## **MÉTODOS PARA DETERMINAR HORMONAS TIROIDEAS**

### **Inmunoensayo por quimioluminiscencia**

Se basa en el principio de emisión de energía luminosa a través de una reacción química (enzima-sustrato). Mide saltos de energía (fg), fotodetectores, contadores de centelleo líquido, sistema de detección fotográficos y de imágenes utilizando: éster de acridina, peróxido ácido, hidróxido de sodio, fosfatasa alcalina. Actualmente es el método más sensible debido a la posibilidad de multiplicación y

amplificación de la señal. Las reacciones de luminiscencia se miden en RLU (Unidades Relativas de Luz), que son proporcionales a la cantidad de muestra.

### **Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzima (ELISA)**

Se basa en la detección de un antígeno inmovilizado sobre una fase sólida mediante anticuerpos que directa o indirectamente producen una reacción cuyo producto, por ejemplo un colorante, puede ser medido espectrofotométricamente.

### **Radioinmunoensayo (RIA)**

Es un ensayo de competición. La técnica se basa en medir la cantidad de antígeno marcado que se desplaza de los lugares de unión del anticuerpo debido a la llegada posterior de un antígeno frío, conociendo así la cantidad de antígeno frío que teníamos en nuestra muestra. La medición se realiza de la fracción libre que queda, antes y después de la adición del antígeno frío. (25)

### **VALORES DE REFERENCIA**

Los valores de hormonas tiroideas considerados como normales en el suero sanguíneo de una persona son los siguientes:

TSH	0.3-6.2 mUI/L
T3 Total	0.69-2.02 ng/mL
T4 Total	4.8 a 11.6 ng/mL
FT4	0.8-2.0 ng/mL
FT3	1.4-4.2 ng/mL

**Tabla N° 2:** Niveles normales de hormonas tiroideas (17)

Los valores normales pueden variar según el método utilizado para la determinación.

## ALTERACIONES DE LAS HORMONAS TIROIDEAS

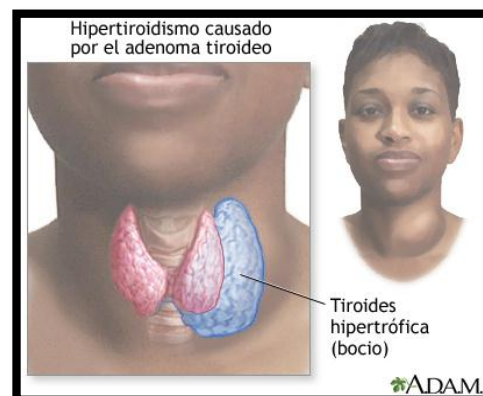
### Entre las principales tenemos

- Bocio
- Hipertiroidismo
- Hipotiroidismo
- Nódulo tiroideo

### HIPERTIROIDISMO

Esta enfermedad se caracteriza por una excesiva producción de tiroxina o tiroxina o triiodotironina o de las dos al mismo tiempo y sus síntomas se deben a una aceleración en general del metabolismo. (26)

Estos síntomas van desde temblores, taquicardia, pérdida de masa corporal a pesar del aumento de apetito, fatiga y debilidad muscular. Las principales causas de este padecimiento son la enfermedad de Graves o bocio toxico difuso (etiología más común con 70-80%), adenoma tiroideo toxico, bocio multinodular tóxico, tiroiditis subaguda, los efectos de algunos medicamentos, inflamación de la tiroides debido a infecciones virales u otras causas, tumores no cancerosos de la glándula tiroidea o de la hipófisis, tumores de los testículos o de los ovarios, tomar grandes cantidades de hormona tiroidea. (26)



### **Imagen N° 3: Hipertiroidismo (29)**

## **HIPOTIROIDISMO**

Es una afección en la cual la glándula tiroides no produce suficiente hormona tiroidea. Esta afección a menudo se llama tiroides hipoactiva.

### **Causas:**

El hipotiroidismo es más común en las mujeres y personas mayores de 50 años.

La causa más común de hipotiroidismo es la tiroiditis. La hinchazón y la inflamación dañan las células de la glándula tiroides.

Las causas de este problema abarcan:

- El sistema inmunitario ataca la glándula tiroides.
- Infecciones virales (resfriado común) u otras infecciones respiratorias.
- Embarazo (a menudo llamado tiroiditis posparto).

Otras causas de hipotiroidismo:

- Determinados medicamentos, como litio o amiodarona.
- Anomalías congénitas (al nacer)
- Terapias de radiación al cuello o al cerebro para tratar cánceres diferentes.
- Yodo radiactivo usado para tratar una tiroides hiperactiva.
- Extirpación quirúrgica de parte o de toda la glándula tiroidea.
- Síndrome de Sheehan, una afección que puede ocurrir en una mujer que sangra profusamente durante el embarazo o el parto y causa destrucción de la hipófisis.
- Tumor hipofisario o cirugía de la hipófisis.

**Síntomas:**

- Heces duras o estreñimiento
- Aumento de la sensibilidad a la temperatura fría
- Fatiga o sentirse lento
- Períodos menstruales abundantes o irregulares
- Dolor muscular o articular
- Palidez o piel reseca
- Tristeza depresión
- Cabello o uñas quebradizas y débiles
- Debilidad
- Aumento de peso

**Pruebas y exámenes**

El médico hará un examen físico y encontrara que la tiroides esta agrandada. Algunas veces, la glandula es de tamaño normal o más pequeña de lo normal. El examen también puede revelar:

- Uñas quebradizas
- Rasgos faciales toscos
- Piel pálida o reseca que puede ser fría al tacto
- Reflejos que son anormales
- Hinchazón de brazos y piernas
- Cabello delgado y quebradizo

Igualmente se ordenan exámenes para medir las hormonas tiroideas TSH y T4.

También le pueden hacer exámenes para verificar:

- Niveles de colesterol
- Hemograma
- Enzimas hepáticas
- Prolactina
- Sodio



**Según el origen el hipotiroidismo se clasifica en:**

### **Hipotiroidismo Primario**

También se llama hipotiroidismo tiroideo, pues su causa se debe a una insuficiencia de la propia glandula tiroidea. Constituye el 95% aproximadamente de todas las formas de hipotiroidismo. A su vez puede cursar bocio.

### **Congénito: Disgenesia Tiroidea**

El hipotiroidismo congénito es aquel de origen genético que aparece en el momento del nacimiento del bebé. Es importante su detección precoz mediante análisis clínicos pues los niños pueden no presentar signo aparente tras el nacimiento. Las hormonas son necesarias para el normal desarrollo del crecimiento y de importantes órganos como el cerebro, el corazón y el aparato respiratorio. Si no se trata adecuadamente de forma precoz puede provocar discapacidad física y mental.

### **Iatrogénico**

Post Iodo Radioactivo o cirugía. Supone un tercio de todos los casos de hipotiroidismo. La falta de glandula tiroides puede ser por tiroidectomía, como por ejemplo la practicada en el cáncer de tiroides, por ablación radiactiva con yodo 131 ante una tirotoxicosis o por radioterapia de tumores de cabeza y cuello.

### **Síndrome endocrino poliglandular**

Donde se ve afectada junto a otras glándulas en el contexto de entidades sistémicas como la diabetes mellitus, anemia perniciosa, lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoide, síndrome de Sjogren, etc.

### **Hipotiroidismo Secundario**

Ocurre un paso más arriba de la tiroides, en la hipófisis. Hay un déficit de hormona TSH encargada de liberar las hormonas tiroideas. Puede ocurrir por necrosis hipofisaria, síndrome de Sheehan, etc.

### **Hipotiroidismo Terciario**

Ocurre un paso más arriba de la hipófisis, en el hipotálamo y se debe a un déficit o secreción inadecuada del factor hipotalámico liberados de tirotropina (TRH) que es el encargado de liberar la TSH. Es menos frecuente aun y se debe a un déficit o secreción inadecuada del factor hipotalámico liberador de tirotropina (TRH).

### **Hipotiroidismo Cuaternario**

Aquí cambiamos la dirección ya que este ocurre en el nivel de más abajo. Se debe a la resistencia periférica a las hormonas tiroideas en los órganos blancos o a anticuerpos circulantes contra hormonas tiroideas.

### **Hipotiroidismo subclínico**

Es una enfermedad asintomática en la mayoría de los casos, en la que la reducción del funcionamiento de la tiroides no es tanto como para que aparezcan signos clínicos. se conoce que el 8% de la población femenina a partir de los 45-50 años podían tener molestias o alteraciones a las que habitualmente no se les concedía

mucha importancia, pero que son causadas por el hipotiroidismo subclínico y que deben y pueden tratarse. (27)

### COMPARACIÓN ENTRE EL HIPOTIROIDISMO Y EL HIPERTIROIDISMO

	<b>Hipotiroidismo</b>	<b>Hipertiroidismo</b>
<b>Hormonas tiroideas</b>	Se encuentran disminuidas o ausentes	Se encuentran aumentadas
<b>Síntomas</b>	Depresión, fatiga, lentitud del habla, aumento de peso, intolerancia al frío, estreñimiento, alteraciones de la piel, disminución de la frecuencia cardíaca, hipotensión y anemia.	Insomnio, palpitaciones, taquicardia, temblor en manos, nerviosismo, pérdida de peso, intolerancia al calor, caída de cabello, sudoración excesiva, diarreas y signos oculares.
<b>Causas</b>	Autoinmune, congénito, secundaria a la administración de iodo, secundaria a la resección quirúrgica (tiroidectomía).	Autoinmune en la mayoría de los casos (enfermedad de graves). Otras causas: adenomas, inflamación de la tiroides.
<b>Diagnóstico</b>	Determinación de niveles de hormonas tiroideas en	Determinación de niveles de hormonas tiroideas en

	la sangre.	la sangre. Estudios de imagen
<b>Tratamiento</b>	Sustitución de hormonas tiroideas.	Bloqueo de la función de la tiroides, administración de yodo radioactivo.
<b>¿Requiere cirugía?</b>	En caso de existir (bocio)	Actualmente es raro. Es necesario en caso de adenomas o tiroiditis.

**Tabla N° 3:** Comparación entre hipotiroidismo e hipertiroidismo (28)

### 2.3 HIPÓTESIS

La determinación de prolactina es un parámetro útil para identificar trastornos del perfil tiroideo en pacientes de sexo femenino.

## CAPÍTULO III

### MARCO METODOLÓGICO

#### 3.1 NIVEL O TIPO DE INVESTIGACIÓN

El presente estudio tiene los siguientes niveles y tipos de investigación:

**Descriptivo:** Porque permite describir toda la información obtenida, analizar el problema y correlacionarlo en cuanto al tema de investigación se refiere, mencionando cada uno de los procesos de relación que existen entre las hormonas tiroideas con la prolactina.

**Asociación entre variables:** Porque se relacionaron la variable independiente y la dependiente. La variable independiente que es la determinación de prolactina y la

variable dependiente que es el perfil tiroideo. Generando una hipótesis y su respectiva comprobación al termino del trabajo investigativo.

**Exploratorio:** Porque permite investigar todo sobre el problema planteado el mismo que debe ser analizado, a su vez genera hipótesis.

**Bibliográfica:** Porque se recolectó la información necesaria para poder desarrollar el marco teórico, por medio de libros, publicaciones científicas e internet, con el propósito de fundamentar nuestra investigación.

### **3.2 SELECCIÓN DE ÁREA O ÁMBITO DE ESTUDIO**

**Delimitación del contenido:**

**Campo:** Laboratorio Clínico

**Área:** Hormonas

**Aspecto:** Niveles de prolactina y hormonas tiroideas

**Delimitación espacial:**

Esta investigación se realizó en el Hospital Básico Edgar Arcos.

### **3.3 POBLACIÓN**

La población a investigarse está determinada por 70 pacientes de sexo femenino.

De las cuales se realizó el estudio en 24 pacientes que dieron resultados alterados del perfil tiroideo.

### **3.3.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN**

#### **Criterios de inclusión**

- ✓ Se incluyen todas las pacientes atendidas en el Hospital Básico Edgar Arcos durante los meses de Septiembre, Octubre, Noviembre y Diciembre del año 2015 con solicitud del perfil tiroideo y prolactina, a quienes se dio a conocer los objetivos de la investigación y dieron el consentimiento informado para participar en ella.
  
- ✓ Mujeres adultas con edad de 30 a 76 años

#### **Criterios de exclusión**

- ✓ Se excluye a mujeres en periodo de lactancia y estado gestacional.
- ✓ A las pacientes que obtuvieron valores normales en las hormonas tiroideas.

### **3.3.2 DISEÑO MUESTRAL**

De las 70 pacientes que conforman el universo, obtuve una muestra de 24 pacientes de sexo femenino mediante el muestreo no probabilístico intencional.

### 3.4 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Variable Independiente: DETERMINACIÓN DE *PROLACTINA*

CONCEPTUALIZACIÓN	DIMENSIONES	INDICADORES	ÍTEMS BÁSICOS	TÉCNICAS	INSTRUMENTOS
Es un análisis que mide la cantidad de hormona prolactina en la sangre.	Análisis de laboratorio	Eficacia Efectividad Control de calidad	¿Cómo se puede medir la cantidad de prolactina en la sangre?	Exámenes de laboratorio clínico utilizando la Técnica de Elisa	Registro de resultados
	Cantidad de hormona prolactina en sangre	Valores de referencia 1.2-19.5 ng/mL	¿Qué valores de prolactina presentan las pacientes?	Validación de resultados	Archivo físico

Elaborado por: La Investigadora



**Variable Dependiente:** Perfil Tiroideo.

CONCEPTUALIZACIÓN	DIMENSIONES	INDICADORES	ÍTEMS BÁSICOS	TÉCNICAS	INSTRUMENTOS
Es un perfil analítico que evalúa el funcionamiento de la glándula tiroides. Cuantifica las hormonas tiroideas, que es secretada principalmente en la hipófisis.	<p>Perfil analítico</p> <p>Funcionamiento de la glándula tiroides</p> <p>Cuantificación de hormonas tiroideas</p>	<p>Conjunto de pruebas tiroideas</p> <p>Producción de hormonas tiroideas</p> <p>Valores de referencia                      TSH 0,3 a 6,2 mUI/L                      T3T 0.69-2.02 ng/mL                      T4T 4.8-11.6 ng/mL                      fT4 0.8-2.0 ng/mL                      fT3 1.4-4.2ng/mL</p>	<p>¿Cuáles son las hormonas que forman parte perfil tiroideo?</p> <p>¿Qué factores predisponen a que exista un inadecuado funcionamiento de la glándula tiroides?</p> <p>¿Cuáles son los valores que se encuentran alterados en las pacientes?</p>	<p>Valoración analítica</p> <p>Observación</p> <p>Exámenes de laboratorio clínico utilizando la Técnica de Elisa</p>	<p>Registro específico</p> <p>Cuaderno de anotaciones</p> <p>Archivo físico</p>

**Elaborado por:** La Investigadora

### **3.5 DESCRIPCIÓN DE LA INTERVENCIÓN Y PROCEDIMIENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN.**

#### **Pasos de la Investigación:**

Para realizar la presente investigación el primer paso a seguir fue pedir la autorización correspondiente al director del Hospital Básico Edgar Arcos con la finalidad de que se me permita desarrollar el tema “Determinación de prolactina y su relación con el perfil tiroideo en pacientes de sexo femenino” en las instalaciones del establecimiento que dirige.

Se explicó a las pacientes el tema de estudio y se elaboró el consentimiento informado el que constan los datos y firma respectiva de las pacientes autorizando la realización del estudio.

Se realizó la toma de muestras sanguíneas, que se realizó mediante una punción venosa y siguiendo siempre los protocolos establecidos y las normas de bioseguridad.

Se analizaron las muestras mediante el método de Elisa con un análisis totalmente automatizado. Para ello se siguió cuidadosamente la técnica de manejo del equipo y reactivos establecida por el fabricante.

Se determinaron los niveles de prolactina, TSH, T3 total, T4 total, T3 libre, T4 libre.

Se reportó los resultados obtenidos en una hoja de registro de resultados pre elaborada.

Se entregaron los resultados directamente a cada paciente.

#### **Plan de tabulación y análisis de datos**

Los resultados obtenidos del procesamiento de muestras se representaron en tablas estadísticas y gráficos de frecuencia con el programa Microsoft Office

Excel que permitió la facilidad en el manejo de datos con sus respectivas interpretaciones.

## **PROTOCOLO PARA LA TOMA DE MUESTRA**

Antes de la toma de muestra se deben tomar en cuenta las siguientes indicaciones:

- Asistir al laboratorio durante las primeras horas de la
- Acudir en ayunas.
- Evitar el estrés, antes y durante la toma de la muestra.
- No hacer ejercicios vigorosos durante 3 días antes de tomar la muestra.
- No ingerir bebidas alcohólicas antes, ni durante la toma de la muestra.
- No fumar.
- Los pacientes en reposo no deberán cambiar de postura al tomar la muestra.

## **ANÁLISIS DE MUESTRAS SANGUÍNEAS**

El procedimiento que se llevó a cabo fue tomar una muestra sanguínea por punción venosa en tubos tapa roja que no contiene anticoagulante para la determinación de prolactina y hormonas tiroideas.

## **TOMA DE MUESTRA**

### **Materiales para la extracción**

- Torundas de algodón
- Alcohol antiséptico
- Cápsula para vacutainer
- Aguja para vacutainer
- Tubos de ensayo al vacío tapa roja
- Funda roja
- Recipiente para corto - punzantes

- Guantes
- Torniquete

## **PROCEDIMIENTO PARA VENOPUNCIÓN**

- Colocar al paciente lo más cómodo posible para la extracción.
- Antes de iniciar la extracción sanguínea preguntar al paciente sus datos.
- Preguntar al paciente si ha realizado ayuno.
- Explicar el proceso que se le va a realizar al paciente, previo a una aceptación por medio del consentimiento informado.
- Se inspecciona y palpa la vena: El brazo del paciente debe estar estirado. Examinamos el brazo y seleccionamos una vena mientras el paciente aprieta el puño con fuerza.
- Desinfectar la zona de la flebotomía con alcohol del 70%.
- Aplicar el torniquete mientras canalizamos la vena.
- Introducir el tubo en el vacutainer. En venas normales, en cuanto la sangre comienza a fluir dentro del tubo, el torniquete puede retirarse. Si la vena es muy fina, el torniquete debe mantenerse. Se pedirá al paciente que abra el puño. Para extraer el tubo lleno del vacutainer, ejercer una presión contraria con el pulgar sobre las aletas del vacutainer esto evita que la aguja cambie de posición y facilita la extracción del tubo.
- Mientras se retira la aguja se colocará una torunda, haciendo presión, sobre la zona de punción. A continuación se aplicará un apósito y se indicará al paciente que mantenga el brazo estirado durante unos minutos.
- La aguja se depositará en los residuos corto punzantes
- Se procede a centrifugar las muestras para separar los sueros y determinar los niveles de prolactina y perfil tiroideo.

## **DETERMINACIÓN DE PROLACTINA**

### **TÉCNICA PROLACTINA**

#### **ELISA MONOBIND**

##### **Materiales:**

1. Pipeta capaz de dispensar 25 y 50 $\mu$ l con una precisión superior al 1.5%
2. Dispensador(es) para las distribuciones repetidas de 0.100 ml y 0.350ml volúmenes con una precisión superior al 1.5%.
3. Lavador de microplaca o una botella de lavado (opcional).
4. Lector de microplaca con capacidad de absorbancia de 450nm a 620nm.
5. Papel absorbente para borrar los pocillos de la microplaca.
6. Cubierta plástica o de microplaca para los pasos de incubación.
7. Aspirador al vacío (opcional) para los pasos del lavado.
8. Cronómetro
9. Materiales de control de calidad.

#### **PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA**

Antes de proceder con el análisis lleve todos los reactivos, las referencias séricas y los controles a temperatura ambiente (20-27°C).

1. Marcar los pozos de la microplaca para cada suero de referencia, el espécimen control y del paciente para que sean ensayados por duplicado. Colocar las tiras no utilizadas de micro pozos nuevamente en la bolsa de aluminio, sellar y almacenarlo a 2-8°C.

2. Pipetear 0.025 ml (25 $\mu$ l) del suero de referencia apropiado, control o espécimen dentro del pocillo asignado.
3. Adicionar 0.100ml (100 $\mu$ l) de Reactivo de Enzima de PRL a todos los pozos.
4. Agitar suavemente la microplaca durante 20-30 segundos para mezclar y cubrir.
5. Incubar 60 minutos a temperatura ambiente.
6. Descartar los contenidos de la microplaca por decantación o aspiración. Si se decanta, se debe sacudir la placa sobre un papel absorbente.
7. Adicionar 350 $\mu$ l de buffer de lavado (ver Sección Preparación de Reactivos), decantar (golpear y secar) o aspirar. Repetir dos 2 veces más para un total de 3 lavados. Se puede utilizar un lavador de placas automatizado o manual. Seguir las instrucciones del fabricante para un uso apropiado. Si se usa una botella lavadora, llene cada pozo (evitar la formación de burbujas) para dispensar el lavado. Decantar el lavado y repetir dos (2) veces más.
8. Adicionar 0.100 ml (100 $\mu$ l) de solución de sustrato de trabajo a todos los pozos (Ver Sección de Preparación del Reactivo). Siempre adicione reactivos en el mismo orden para minimizar las diferencias del tiempo de reacción entre los pozos.

**NO MEZCLAR LA MICROPLACA DESPUÉS ADICIONAR EL SUSTRATO**

9. Incubar a temperatura ambiente por quince (15) minutos.
10. Adicionar 0.050 ml (50 $\mu$ l) de solución de parada a cada pozo y mezclar ligeramente (por 15-20 segundos). Siempre adicione reactivos en el mismo orden para minimizar las diferencias del tiempo de reacción entre los pozos.
11. Leer la absorbancia en cada pozo a 450 nm (usando una longitud de referencia de 620-630 nm para minimizar las imperfecciones del pozo) en un lector de microplaca. Los resultados deben ser leídos dentro de los treinta (30) minutos siguientes de la adición de la solución de parada.

## **DETERMINACIÓN DE HORMONAS TIROIDEAS**

### **PERFIL TIROIDEO**

Incluyen TSH, T4 total, T4 libre, T3 total y T3 libre, por la similitud que presentan dichas pruebas, a continuación se presenta solo la técnica de TSH

### **TÉCNICA TSH**

#### **ELISA MONOBIND**

#### **Materiales Requeridos:**

1. Pipeta(s) capaces de distribuir 50 uL y 100uL con una precisión superior al 1.5%
2. Dispensador(es) para las distribuciones repetidas de 0.100 ml y 0.350ml con una precisión superior al 1.5% (opcional)
3. Lavador de microplaca o una botella de lavado (opcional).
4. Lector de microplaca con capacidad de absorbancia de longitud de onda de 450nm a 620nm (El filtro de 620 nm es opcional).
5. Papel absorbente para borrar los pozos de la microplaca.
6. Cubierta plástica o de microplaca para los pasos de incubación.
7. Aspirador al vacío o vacuo (opcional) para los pasos del lavado.
8. Cronómetro
9. Contenedor de almacenaje para almacenar el buffer de lavado.
10. Agua destilada o desionizada.
11. Materiales de control de calidad.

## **PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS**

### **1. Buffer para Lavado**

Diluir los contenidos del Concentrado de Lavado a 1000 ml con agua destilada o desionizada en un contenedor de almacenaje adecuado. Almacenar a temperatura ambiente de 20-27°C hasta 60 días.

### **2. Solución de Substrato de Trabajo**

Vierta los contenidos del vial ámbar marcada con “A” dentro del vial claro marcado como solución “B”. Colocar la tapa amarilla al vial claro para una fácil identificación. Mezcle e identifique según corresponda. Almacenar de 2-8°C.

Nota: No usar el substrato de trabajo si se ve azul.

## **PROCEDIMIENTO DE PRUEBA**

Antes del procedimiento, permitir que todos los reactivos, los calibradores y los controles alcancen temperatura ambiente (20-27°C).

1. Marcar los pozos de la microplaca para cada calibrador, controles y muestras para que sean ensayadas por duplicado. Colocar los pozos no utilizados dentro de la bolsa de aluminio, sellarlo y almacenarlo de 2-8°C.
2. Pipetear 0.050 ml (50ul) del calibrador, control o espécimen dentro del pozo asignado.
3. Adicionar 0.100ml (100ul) de Reactivo de Enzima- TSH a cada pozo. Es muy importante dispensar todos los reactivos cercanos al fondo del pozo cubierto.
4. Mezclar la microplaca ligeramente por 20-30 segundos y cubrir.
5. Incubar 60 minutos a temperatura ambiente



6. Descartar los contenidos de la microplaca por decantación o aspiración. Si se decanta, se debe sacudir la placa sobre un papel absorbente.

7. Adicionar 350ul de buffer de lavado (ver Sección Preparación de Reactivos), decantar (golpear y secar) o aspirar. Repetir dos 2 veces más para un total de 3 lavados. Se puede utilizar un lavador de placas automatizado o manual. Seguir las instrucciones del fabricante para un uso apropiado. Si se usa una botella lavadora, llene cada pozo (evitar la formación de burbujas) para dispensar el lavado. Decantar el lavado y repetir 2 veces más.

8. Adicionar 0.100 ml (100ul) de solución de sustrato de trabajo a todos los pozos (Ver Sección de Preparación del Reactivo). Siempre adicione reactivos en el mismo orden para minimizar las diferencias del tiempo de reacción en los pozos.

### **NO MEZCLAR LA MICROPLACA DESPUÉS ADICIONAR DE SUBSTRATO**

9. Incubar a temperatura ambiente por 15 minutos.

10. Adicionar 0.050 ml (50ul) de solución de parada a cada pozo y mezclar ligeramente (por 15-20 segundos).

Siempre adicione reactivos en el mismo orden para minimizar las diferencias del tiempo de reacción en los pozos.

11. Leer la absorbancia de cada pozo a 450 nm (usando una longitud de referencia de 620-630 nm para minimizar las imperfecciones del pozo) en un lector de microplaca. Los resultados deben ser leídos dentro de los 30 minutos siguientes a la adición de la solución de parada.

Para mejorar la sensibilidad ( $< 0.5$  9UI/ml). Incubar 120 minutos a temperatura ambiente. El calibrador de 40 9UI/ml será excluido desde que la absorbancia este sobre 3.0 unidades donde será experimentado.

## **CONTROL DE CALIDAD**

Cada laboratorio deberá ensayar controles a los niveles de rango de hipotiroidismo, eutiroidismo e hipertiroidismo para monitorear el desempeño del ensayo. Estos controles deberán tratarse como muestras desconocidas y los valores se determinaran en cada procedimiento de ensayo que se realice.

Se mantendrán graficas de desempeño de calidad para hacerle el seguimiento al desempeño de los reactivos suministrados. Se utilizaran métodos estadísticos pertinentes para evaluar las tendencias. El laboratorio en particular deberá establecer límites de desempeño aceptables para el estudio. Adicionalmente, la absorbancia máxima deberá ser consistente con las experiencias anteriores. Una desviación significativa con respecto del desempeño establecido podrá indicar que hay un cambio no detectado en las condiciones experimentales o degradación de los reactivos. Se deben utilizar reactivos frescos para determinar la causa de las variaciones.

### **3.6 ASPECTOS ÉTICOS**

#### **Autonomía del paciente**

En el presente Proyecto de Investigación se utilizó el principio de Autonomía informando a los pacientes los pormenores de los exámenes que se les va a efectuar teniendo en cuenta que la paciente tiene la libertad y responsabilidad de decidir lo que es bueno para él, sin influencia de presiones externas o internas resguardando así sus derechos humanos.

#### **Consentimiento informado**

Demostrando el respeto hacia la intimidad de las pacientes y por ende a sus derechos humanos, para la realización de esta investigación, se aplicó el consentimiento informado, en donde se solicitó la autorización a cada una de las pacientes en estudio para la extracción de las muestras sanguíneas y ejecución de

los exámenes hormonales. Se indicó que las personas son libres de retirarse del estudio en el momento que deseen y se guardará absoluta confidencialidad respecto a sus datos, que solamente se utilizarán en la realización del presente proyecto de investigación.

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente capítulo se presentan los resultados de laboratorio, obtenidos en la determinación conjunta de los niveles de hormonas prolactina y perfil tiroideo en 24 pacientes de sexo femenino que fue motivo de nuestra investigación.

#### 4.1 RESULTADOS DE LABORATORIO

**Tabla N° 4:** Registro de resultados

<b>C Ó D I G O</b>	<b>E D A D</b>	<b>RESULTADOS</b>					
		<b>TSH</b>	<b>T4T</b>	<b>T3T</b>	<b>T4L</b>	<b>T3L</b>	<b>PROLACTINA</b>
		0.3-6.2 mUI/L	4.8-11.6 ng/mL	0.69- 2.02 ng/mL	0.8-2.0 ng/mL	1.4-4.2 ng/mL)	1.2-19.5 ng/mL
1	30	9.96	8.74	1.67	1.13	1.63	20.10
2	30	13.04	2.43	0.32	0.56	0.97	54.78
3	30	62.01	1.20	0.30	0.42	0.83	58.72
4	30	0.14	9.30	10.62	1.72	12.01	42.11
5	39	6.80	9.57	1.42	1.31	2.42	19.43
6	41	0.21	15.50	9.05	10.90	12.75	38.63
7	43	8.31	9.21	1.12	1.48	3.31	25.52
8	45	6.89	9.55	1.31	1.20	2.43	10.98
9	46	7.70	8.49	0.93	0.99	1.49	16.33
10	51	13.80	1.89	0.51	0.82	0.59	61.48
11	51	0.15	10.17	1.60	1.48	3.20	15.47
12	53	7.17	8.36	1.18	1.28	2.43	33.22

13	53	41.98	1.28	0.49	0.23	0.58	44.41
14	54	0.24	13.76	4.03	2.78	5.10	29.51
15	55	7.20	10.50	1.75	1.53	2.32	19.48
16	56	0.14	7.50	1.70	1.78	2.48	10.71
17	57	7.39	9.16	3.40	1.11	3.21	28.46
18	58	11.00	6.10	1.08	1.43	1.89	23.18
19	58	7.58	8.38	1.58	1.72	2.71	28.51
20	58	10.46	1.11	0.55	0.22	0.89	63.20
21	58	0.12	11.16	1.73	0.98	3.20	17.78
22	60	12.49	2.80	0.54	0.18	0.73	40.22
23	61	17.35	1.04	0.35	0.43	1.01	53.20
24	76	7.22	9.39	1.14	1.22	2.93	15.74

**Fuente:** Análisis hormonales  
**Elaborado por:** La investigadora

**NOTA:**

- Valores elevados**
- Valores normales**
- Valores bajos**

## 4.2 TABULACIÓN DE RESULTADOS

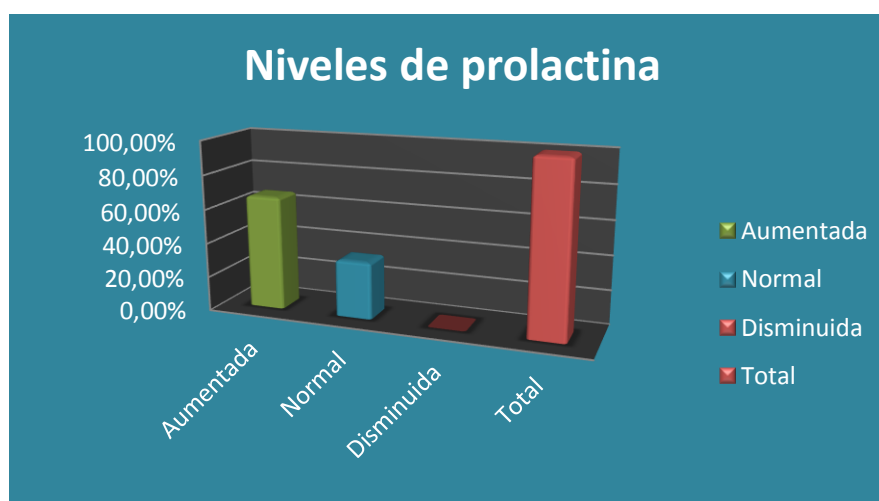
Resultado de determinación de Prolactina, en pacientes de sexo femenino.

Tabla N° 5: Prolactina

PRL	Frecuencia	Porcentaje
Aumentada	16	66.7%
Normal	8	33.3%
Disminuida	0	0%
<b>TOTAL</b>	<b>24</b>	<b>100%</b>

Fuente: Análisis hormonales  
Elaborado por: La Investigadora

Gráfico N° 1: Niveles de prolactina



Fuente: Análisis hormonales  
Elaborado por: La Investigadora

### Análisis:

De un total de 24 pacientes de sexo femenino, 16 se encontraron con niveles aumentados de prolactina representando al 66.7% y 8 pacientes con valores normales, que corresponde al 33.3% mientras que ningún paciente presentó valores disminuidos correspondiendo al 0%.

### Interpretación:

Por medio del presente estudio se evidenció que la mayoría de pacientes presentan valores elevados de hormona prolactina, lo que notablemente aborda a un diagnóstico de Hiperprolactinemia.

**Resultado de determinación de la Hormona Estimulante de la Tiroides (TSH), en pacientes de sexo femenino.**

**Tabla N° 6: TSH**

TSH	Frecuencia	Porcentaje
Aumentada	18	75%
Normal	0	0%
Disminuida	6	25%
<b>TOTAL</b>	<b>24</b>	<b>100%</b>

**Fuente:** Análisis hormonales  
**Elaborado por:** La Investigadora

**Gráfico N° 2: Niveles de TSH**



**Fuente:** Análisis hormonales  
**Elaborado por:** La Investigadora

**Análisis:**

De un total de 24 pacientes de sexo femenino, 18 se encontraron con niveles aumentados de hormona TSH representando al 75% y 6 pacientes con valores disminuidos, representando al 25% mientras que ningún paciente presentó valores normales correspondiendo al 0%.

**Interpretación:**

Los resultados abordados por el laboratorio, reflejan que existe un gran porcentaje de valores elevados de hormona TSH, existiendo así una mayor probabilidad de padecer algún trastorno tiroideo.



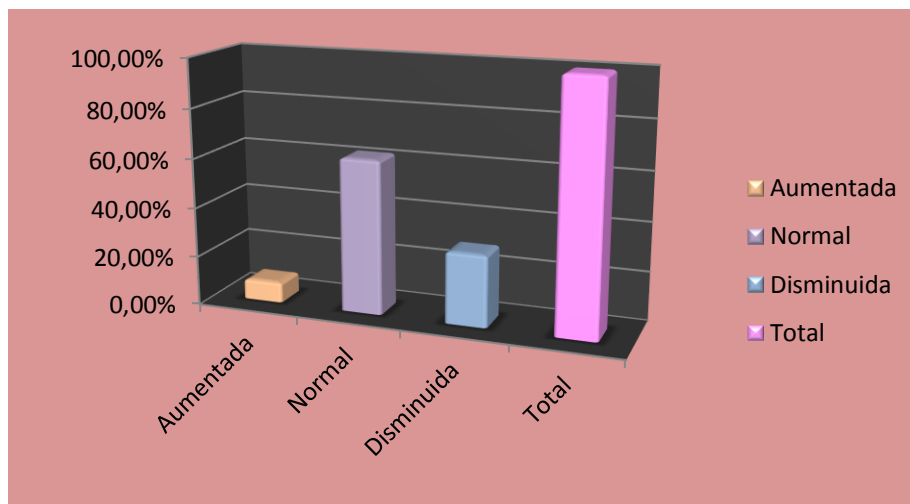
### Resultado de determinación de T4 total, en pacientes de sexo femenino.

Tabla N° 7: T4 total

T4T	Frecuencia	Porcentaje
Aumentada	2	8.3%
Normal	15	62.5%
Disminuida	7	29.2%
<b>TOTAL</b>	<b>24</b>	<b>100%</b>

Fuente: Análisis hormonales  
Elaborado por: La Investigadora

Gráfico N° 3: Niveles de T4 Total



Fuente: Análisis hormonales  
Elaborado por: La Investigadora

#### Análisis:

De un total de 24 pacientes de sexo femenino, 2 se encontraron con niveles aumentados de T4 Total representando al 8.3%, 7 pacientes con valores disminuidos, representando al 29.2% y 15 pacientes con valores normales correspondiendo al 62.5%.

#### Interpretación:

Se evidenció que en este grupo de pacientes es bajo el porcentaje con valores de T4 elevado, la mayoría tiene valores normales.

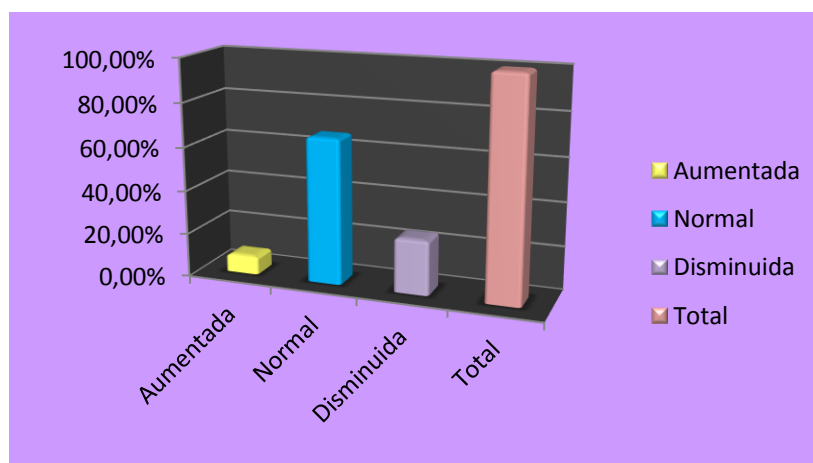
## Resultado de determinación de T4 libre, en pacientes de sexo femenino.

Tabla N° 8: T4 Libre

T4L	Frecuencia	Porcentaje
Aumentada	2	8.3%
Normal	16	66.7%
Disminuida	6	25%
<b>TOTAL</b>	<b>24</b>	<b>100%</b>

**Fuente:** Análisis hormonales  
**Elaborado por:** La Investigadora

Gráfico N° 4: Niveles de T4 Libre



**Fuente:** Análisis hormonales  
**Elaborado por:** La Investigadora

### Análisis:

De un total de 24 pacientes de sexo femenino, 2 pacientes se encontraron con niveles aumentados de hormona T4 libre representando al 8.3%, 6 pacientes con valores disminuidos, representando al 25% y 16 con valores normales correspondiendo al 66.7%.

### Interpretación:

La mayoría de pacientes tienen valores de T4 libre normales, una cierta parte presentan valores disminuidos y una minoría valores aumentados de esta hormona.

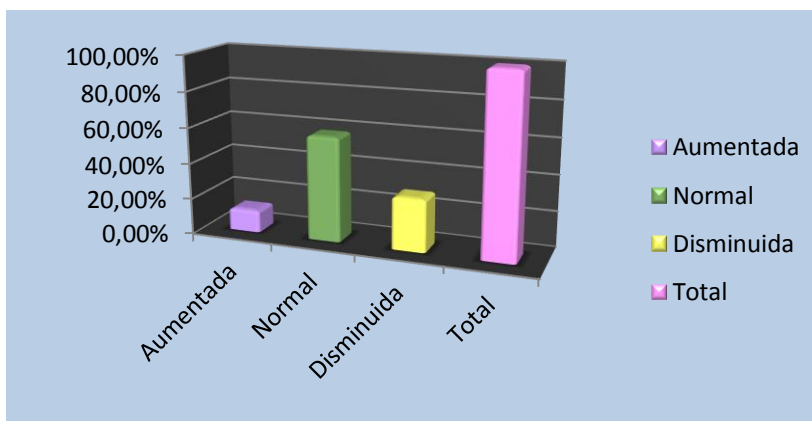
## Resultado de determinación de T3 total, en pacientes de sexo femenino.

Tabla N° 9: T3 total

T3T	Frecuencia	Porcentaje
Aumentada	3	12.5%
Normal	14	58.3%
Disminuida	7	29.2%
<b>TOTAL</b>	<b>24</b>	<b>100%</b>

Fuente: Análisis hormonales  
Elaborado por: La Investigadora

Gráfico N° 5: Niveles de T3 Total



Fuente: Análisis hormonales  
Elaborado por: La Investigadora

### Análisis:

De un total de 24 pacientes de sexo femenino, 3 pacientes se encontraron con niveles aumentados de hormona T3 Total representando al 12.5%, 7 pacientes con valores disminuidos, representando al 29.2% y 14 pacientes con valores normales representando al 58.3%.

### Interpretación:

Los resultados de laboratorio, reflejan un gran porcentaje de valores normales de esta hormona con un aumento significativo de solo el 12.5% y una disminución de 29.2% de las pacientes.

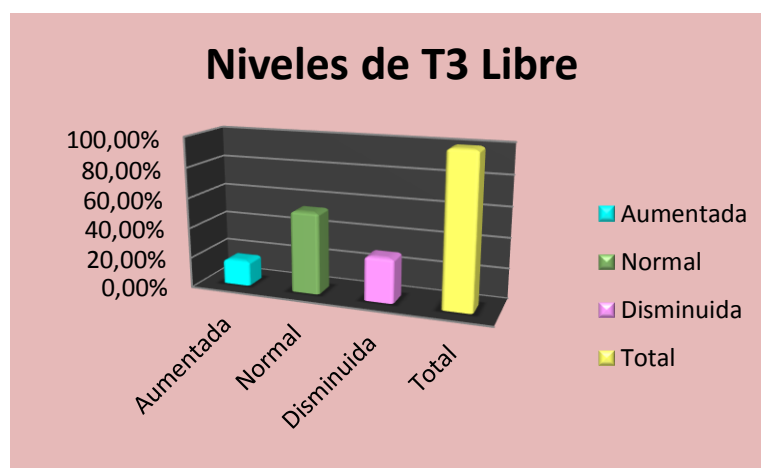
## Resultado de determinación de T3 libre, en pacientes de sexo femenino.

Tabla N° 10: T3 libre

T3L	Frecuencia	Porcentaje
Aumentada	4	16.7%
Normal	13	54.1%
Disminuida	7	29.2%
<b>TOTAL</b>	<b>24</b>	<b>100%</b>

**Fuente:** Análisis hormonales  
**Elaborado por:** La Investigadora

Gráfico N° 6: Niveles de T3 Libre



**Fuente:** Análisis hormonales  
**Elaborado por:** La Investigadora

### Análisis

De un total de 24 pacientes de sexo femenino, 4 pacientes se encontraron con niveles aumentados de hormona T3 Libre representando al 16.7% y 7 pacientes con valores disminuidos, representando al 29.2% y 13 pacientes con valores normales que corresponden al 54.1%.

### Interpretación:

Por medio del presente estudio se evidenció que la mayoría de pacientes se encontraron valores normales de hormona T3 Libre pues el porcentaje de valores elevados y disminuidos es menor.

### 4.3 VERIFICACIÓN DE LA HIPÓTESIS

#### Hipótesis nula

$H_0$  = La Prolactina no tiene Relación Con El Perfil Tiroideo En Pacientes De Sexo Femenino.

#### Hipótesis Alternativa

$H_1$  = La Prolactina si tiene Relación Con El Perfil Tiroideo En Pacientes De Sexo Femenino.

#### NIVEL DE SIGNIFICANCIA

El nivel de confianza de la presente investigación será del 95% (0,95), y un nivel de riesgo del 5% (0,05).

#### Se aplica la fórmula de Ji cuadrado

$$X^2 = \sum \frac{(O - E)^2}{E}$$

Estimador estadístico

$\Sigma$  = Sumatoria

O = Frecuencia observada

E = Frecuencia esperada

$X^2$  = Ji Cuadrado

#### Grados de Libertad

Gl = (número de filas - 1) (número de columnas - 1)

Gl = (#f - 1) (#c - 1)

Gl = (6 - 1) (3 - 1)

Gl = (5) (2)

Gl = 10

$X^2_t = 18.307$

**Tabla N° 11:** Frecuencias observadas

Resultados	Aumentada	Normal	Disminuida	Total
Resultado de determinación de Prolactina, en pacientes de sexo femenino.	16	8	0	24
Resultado de determinación de la Hormona Estimulante de la Tiroides (TSH), en pacientes de sexo femenino.	18	0	6	24
Resultado de determinación de T4 total, en pacientes de sexo femenino.	2	15	7	24
Resultado de determinación de T4 libre, en pacientes de sexo femenino.	2	16	6	24
Resultado de determinación de T3 total, en pacientes de sexo femenino.	3	14	7	24
Resultado de determinación de T3 libre, en pacientes de sexo femenino.	4	13	7	24
Total	45	66	33	144

**Tabla N° 12:** Frecuencias esperadas

Respuestas	Aumentada		Normal		Disminuida	
	F O	FE	F O	FE	F O	FE
Resultado de determinación de Prolactina, en pacientes de sexo femenino.	16	8,2	8	10,6	0	5,2
Resultado de determinación de la Hormona Estimulante de la Tiroides (TSH), en pacientes de sexo femenino.	18	8,2	0	10,6	6	5,2
Resultado de determinación de T4 total, en pacientes de sexo femenino.	2	8,2	15	10,6	7	5,2
Resultado de determinación de T4 libre, en pacientes de sexo femenino.	2	8,2	16	10,6	6	5,2
Resultado de determinación de T3 total, en pacientes de sexo femenino.	3	8,2	14	10,6	7	5,2
Resultado de determinación de T3 libre, en pacientes de sexo femenino.	4	8,2	13	10,6	7	5,2

**Tabla N° 13:** Cálculo de Ji Cuadrado

O	E	O-E	(O-E) <sup>2</sup>	(O-E) <sup>2</sup> /E
16	8,2	7,8	60,84	7,42
18	8,2	9,8	96,04	11,71
2	8,2	-6,2	38,44	4,69
2	8,2	-6,2	38,44	4,69
3	8,2	-5,2	27,04	3,30
4	8,2	-4,2	17,64	2,15
8	10,6	-2,6	6,76	0,64
0	10,6	-10,6	112,36	10,60
15	10,6	4,4	19,36	1,83
16	10,6	5,4	29,16	2,75
14	10,6	3,4	11,56	1,09
13	10,6	2,4	5,76	0,54
0	5,2	-5,2	27,04	5,20
6	5,2	0,8	0,64	0,12
7	5,2	1,8	3,24	0,62
6	5,2	0,8	0,64	0,12
7	5,2	1,8	3,24	0,62
7	5,2	1,8	3,24	0,62
<b>TOTAL</b>				<b>58,72</b>

$X^2_c = 58.72$

El valor  $X^2_t = 18.307 < X^2_c = 58.72$  se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis Alternativa, es decir, la Prolactina si tiene Relación Con El Perfil Tiroideo En Pacientes De Sexo Femenino.

#### 4.4 CONCLUSIONES

Luego de realizar la investigación por los datos obtenidos, los análisis e interpretaciones he llegado a las siguientes conclusiones:

- Por medio del presente estudio se evidenció que el 66.7% de las pacientes presentaron valores elevados de prolactina, lo que notablemente aborda a un diagnóstico de Hiperprolactinemia. mientras que un 33.3% presentaron valores normales.
- En cuanto al perfil tiroideo se determinó que el 75% de las pacientes presentaron valores elevados de la hormona Estimulante de la Tiroides (TSH) mientras que un 25% tuvieron valores bajos, concurriendo así a padecer de algún trastorno tiroideo.
- Del 100% de la población en estudio, en el 8.3% se encontraron valores elevados de T4 total, el 29.2 % presentaron valores disminuidos mientras que un 62.5% no sufrieron ninguna alteración en los valores de esta hormona.
- El 66.7% de las pacientes presentaron valores normales de hormona T4 Libre un 8.3% valores elevados, y un 25 % valores disminuidos.
- Los niveles de T3 Total fueron normales en el 58.3% de la población, en el 12.5% se encontraron valores elevados y en el 29.2% valores disminuidos.
- En cuanto a la hormona T3 Libre en el 16.7% de la población se encontraron valores elevados, en el 29.2% valores disminuidos y en el 54.1% valores normales.



- Se concluye que del 100% de las pacientes con hiperprolactinemia, un gran porcentaje predominan también valores elevados de la hormona Estimulante de la Tiroides (TSH), lo que hace ver notablemente la relación existente entre estas hormonas y la importancia que esta aborda.
- Los otros resultados del perfil tiroideo T4, T3, fT4, fT3 la mayoría no presentan valores alterados en relación a la elevación de prolactina.
- Por lo tanto llegamos a concluir que existe una buena correlación entre los valores elevados de prolactina y los valores elevados de TSH, sirviendo la hiperprolactinemia como parámetro orientador sobre el mal funcionamiento de la glándula tiroides en lo referente a la hormona Estimulante de la Tiroides. Por ende es importante correlacionar estas pruebas ya que tienen una asociación bastante más frecuente de lo que se piensa.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

### BIBLIOGRAFÍA:

1. Arce V, Catalina P, Mallo F. Endocrinología. Primera ed. Gómez JR, editor. Santiago De Campostela: Universidad Santiago de Campostela; 2006. (22)
2. Arias P. Tratado de endocrinología pediátrica. segunda ed. España: Diaz de Santos S.A; 1997. (10)
3. Blanco F, Legorreta Haquet MV, Huerta Villalobos YR, Chávez Rueda K, Montoya Díaz E, Chávez Sánchez L, et al. Participación de la prolactina en la respuesta inmune. Scielo. 2012 Septiembre/Octubre; 69(5). (4)
4. Casanueva F, Vasquez J. Endocrinología Clínica. Primera ed. España: Diaz de Santos; 2005. (17)
5. Dorantes Cuellar A, Martínez Sibaja C, Guzmán Blanno A. Endocrinología Clínica. Cuarta ed. Bogotá: El Manual Moderno; 2008. (16)
6. Fuentes A, Castiñeiras L, Queraltó C. Bioquímica Clínica y patología. Segunda ed. Barcelona: Reverte; 2005. (21)
7. Kelley W. Medicina Interna. Segunda ed. Buenos Aires: Panamericana; 2002. (24)

8. Méndez I, Cariño C, Díaz L. La prolactina en el sistema inmunológico: aspectos de síntesis y efectos biológicos. Scielo. 2005 Mayo/Junio; 57(3). (3)
9. Montes Pérez RC. Las técnicas de unión para medir. Biomed. 1995 Marzo; 6(1). (25)
10. Pietrobelli D, Artese R, Duhart J, Katz D, Benencia H. Hiperprolactinemia en el hipotiroidismo subclínico. 2001; 61(3). (27)
11. Rojas W, Borrero J, Restrepo J. Endocrinología. sexta ed. Bogotá: Panamericana; 2006. (11)
12. Ruiz A, Latarjet M. Anatomía Humana. Cuarta ed. De Alvear M, editor. Argentina: Panamericana; 2008. (26)
13. Soto JR, Verbeke P SM. Disfunción tiroidea y corazón. Elsevier. 2015 Marzo; 26(2). (20)
14. Spark R. Endocrinología y Metabolismo. Tercera ed. Madrid: Marban; 2003. (14)
15. Williams RH. Williams Tratado de Endocrinología. 11th ed. Kronenberg H, Melmed S, Polonsky K, Larsen R, editors. Barcelona: Elseiver Saunders; 2009. (23)
16. Yen S, Jaffe , Barbieri . Endocrinología de la reproducción. Cuarta ed. Argentina: Panamericana; 1999. (15)

## LINKOGRAFÍA:

1. Altamirano Caicedo JL. Influencia del metabolismo tiroideo en la respuesta hemodinámica perioperatoria de los pacientes. [Online].; 2013 [cited 2015 Junio 25. Available from: <http://repo.uta.edu.ec/bitstream/123456789/3835/1/Altamirano%20Caicedo,%20Jorge%20Luis.pdf>. (8)
2. Barloz C. Salud y Medicina. [Online].; 2014 [cited 2015 Julio 14. Available from: <http://es.slideshare.net/cristinupis/elisa-copia>. (13)
3. De La Peña Llarendi A. Hipotiroidismo. [Online].; 2008 [cited 2015 Junio 13. Available from: <http://hipotiroidismo2.blogspot.com/>. (2)
4. Escobar ID. El Universal. [Online].; 2012 [cited 2015 Junio 3. Available from: <http://www.eluniversal.com.co/cartagena/vida-sana/afeccion-de-tiroides-puede-llevar-la-muerte-79057>. (1)
5. Giménez S. Medicina21. [Online].; 2011 [cited 2015 Julio 3. Available from: <http://www.medicina21.com/articulos/ver/1656>. (9)
6. Huamán E. Trastornos tiroideos afectan a 200 millones personas en el mundo. [Online].; 2013 [cited 2015 Junio 19. Available from: <http://rpp.pe/vida-y-estilo/salud/trastornos-tiroideos-afectan-a-200-millones-personas-en-el-mundo-noticia-597206>. (6)
7. Lopez M. Hiperprolactinemia. [Online].; 2011 [cited 2015 Junio 16. Available from: [http://www.osecac.org.ar/documentos/guias\\_medicas/GPC%202008/Ginecologia/Gin-40%20Hiperprolactinemia\\_v0-11.pdf](http://www.osecac.org.ar/documentos/guias_medicas/GPC%202008/Ginecologia/Gin-40%20Hiperprolactinemia_v0-11.pdf). (5)
8. MedlinePlus. Hipotiroidismo. [Online].; 2015 [cited 2015 Agosto 11. Available from:

<https://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/000356.htm>.  
(29)

9. Nossik A. Hormonas. [Online].; 2013 [cited 2015 Julio 2. Available from: <http://las-hormonas.blogspot.com/2013/01/anton-nossik-en-wikipedia-de-todos-es.html>. (19)
10. Orellana Sáenz C. El cáncer de tiroides. [Online].; 2012 [cited 2015 Junio 19. Available from: <http://www.eldiario.ec/noticias-manabi-ecuador/238872-el-cancer-de-tiroides/>. (7)
11. Reyes O. Hipotiroidismo. [Online].; 2009 [cited 2015 Julio 8. Available from: [http://www2.paho.org/hq/dmdocuments/2009/final\\_intervenciones\\_evidencia.pdf](http://www2.paho.org/hq/dmdocuments/2009/final_intervenciones_evidencia.pdf) (18)
12. Rivas Espinoza J. Prolactina. [Online].; 2007 [cited 2015 Julio 13. Available from: <http://www.monografias.com/trabajos11/laprolac/laprolac2.shtml>. (12)
13. Taringa. Hipotiroidismo. [Online].; 2014 [cited 2015 Agosto 5. Available from: <http://www.taringa.net/posts/info/18039714/Hipotiroidismo---Info.html>. (28)

## CITAS BIBLIOGRÁFICAS-BASES DE DATOS UTA

**EBRARY:** Cuéllar, Martínez Sibaja C, Guzmán Blanno. Endocrinología Clínica. (Edición) Editorial: Fecha de publicación: 2011: Recuperado el 03/08/2015. <http://site.ebrary.com/lib/utasp/reader.action?docID=10820486>.

**EBRARY:** Diéguez González C, Yturriaga Matarranz. Actualizaciones en Endocrinología: Tiroides. (Edición) Editorial: Fecha de publicación: 2007. Recuperado el 03/08/2015. <http://site.ebrary.com/lib/utasp/reader.action?docID=10491282>.

**EBRARY:** García Sáez, Carvajal F, González Fernández. Hipotiroidismo Subclínico. (Edición) Editorial: Fecha de publicación: 2007: Recuperado el 03/08/2015. <http://site.ebrary.com/lib/utasp/reader.action?docID=10175001>.

**EBRARY:** Pallardo Sánchez LF, Morante T, Marazuela M. Endocrinología Clínica. (Edición) Editorial: Fecha de publicación: 2010: Recuperado el 03/08/2015. <http://site.ebrary.com/lib/utasp/reader.action?docID=10390300>.

**EBRARY:** Pallardo Sánchez LF, Alcañiz Ferrando, Alvarez Escola. Endocrinología clínica. (Edición) Editorial: Fecha de publicación: 2006: Recuperado el 04/08/2015. <http://site.ebrary.com/lib/utasp/reader.action?docID=10149823>.

# ANEXOS

## ANEXO N° 1: AVAL DEL TEMA



CONSEJO  
DIRECTIVO

# UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

## Facultad de Ciencias de la Salud

Calles Salvador y México – Ingahurco Telefax: 2521134 Ext. 103 E-mail: fcs@uta.edu.ec  
Ambato - Ecuador

Resolución: CD-P-1761  
Ambato, 29 de junio de 2015

Señorita  
Nancy Maricela Saquina Galora  
**ESTUDIANTE**  
Carrera de Laboratorio Clínico  
Facultad de Ciencias de la Salud  
Presente

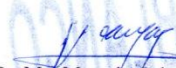
De mi consideración:

El H. Consejo Directivo de la Facultad de Ciencias de la Salud, en Sesión Ordinaria del 29 de junio de 2015, en conocimiento del oficio FCS-CLC-447-2015, suscrito por el Doctor Vicente Noriega Puga, Coordinador de la Carrera de Laboratorio Clínico., indicando que se ha procedido con los cambios solicitados por parte de consejo directivo, en lo pertinente a la aprobación del tema de la señorita **NANCY MARICELA SAQUINGA GALORA**, estudiante de la Carrera en mención, al respecto.

CONSEJO DIRECTIVO, RESUELVE:

- **AUTORIZAR A LA SEÑORITA NANCY MARICELA SAQUINGA GALORA, ESTUDIANTE DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO, CICLO ACADÉMICO ABRIL – SEPTIEMBRE 2015, OPTAR POR LA MODALIDAD DE GRADUACIÓN PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.**
- **APROBAR EL PLAN DE TRABAJO DE GRADUACIÓN O TITULACIÓN CON EL TEMA “DETERMINACIÓN DE PROLACTINA Y SU RELACIÓN CON EL PERFIL TIROIDEO EN PACIENTES DE SEXO FEMENINO” PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE LICENCIADA EN LABORATORIO CLÍNICO.**
- **DESIGNAR COMO TUTOR DEL TRABAJO DE GRADUACIÓN O TITULACIÓN, A LA LICENCIADA MG. LOURDES TABARES, QUIEN DEBERÁ PRESENTAR UN INFORME BIMENSUAL DE SU AVANCE Y UNO AL FINAL, DE CONFORMIDAD CON EL ART. 14 DEL REGLAMENTO DE GRADUACIÓN PARA OBTENER EL TÍTULO TERMINAL DE TERCER NIVEL DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO.**
- **AUTORIZAR A LA EGRESADA NANCY MARICELA SAQUINGA GALORA, LA ELABORACIÓN DEL TRABAJO DE GRADUACIÓN O TITULACIÓN EN EL PLAZO ESTABLECIDO EN LA DISPOSICIÓN GENRAL TERCERA DEL REGLAMENTO DEL REGIMEN ACADÉMICO.**

Atentamente,

  
Dr. Mg. Marcelo Ochoa Egas  
Presidente



C.c. *Lcda. Mg. Lourdes Tabares, TUTORA*  
*Carpeta Estudiantil*

ELABORADO POR:	SV	03/07/2015
AUTORIZADO POR:	MO	

03 JUL 2015



## ANEXO N° 2: AUTORIZACIÓN DE LA EJECUCIÓN

# HOSPITAL BÁSICO EDGAR ARCOS



LABORATORIO DE ANÁLISIS CLÍNICO

Dirección: Calle Sucre 1548 y Clavijo  
Telfs: 2875067 Cel: 098517821

Píllaro, 20 de Julio de 2016

### CERTIFICADO

A petición verbal de la parte interesada, certifico que:

La señorita **SAQUINGA GALORA NANCY MARICELA** con C.I. 180486517-6, realizó la ejecución de su Proyecto de Investigación bajo el tema **"DETERMINACIÓN DE PROLACTINA Y SU RELACIÓN CON EL PERFIL TIROIDEO EN PACIENTES DE SEXO FEMENINO"** en el Laboratorio Clínico del Hospital Básico EDGAR ARCOS, siendo la población intervenida, mujeres con sintomatología de problemas tiroideos durante los meses: Agosto, Septiembre, Octubre y Noviembre del 2015.

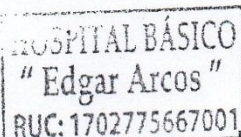
Es todo cuanto podemos certificar en honor a la verdad, pudiendo la interesada hacer uso del mismo como bien creyere conveniente.

Atentamente

Dr. Edgar Arcos A  
C.I. 180486517-6  
Médico Generalista  
INT. 098517821

Dr. Edgar. Oswaldo Arcos

DIRECTOR



Lda. Verónica Yanchatipán Ch.

LABORATORISTA CLINICA

### ANEXO N° 3: CONSENTIMIENTO INFORMADO



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**  
**CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO**



#### **Hoja de Consentimiento para participación en estudio de Investigación**

He leído y comprendido la información proporcionada o me ha sido leída, acerca de la investigación denominada “Determinación de prolactina y su relación con el perfil tiroideo en pacientes de sexo femenino.” He tenido la oportunidad de preguntar sobre ella y se ha contestado satisfactoriamente las preguntas que he realizado. Consiento voluntariamente participar en esta investigación y entiendo que tengo el derecho de retirarme de la investigación en cualquier momento sin que me afecte de ninguna manera.

Yo..... otorgo la respectiva autorización para participar en dicha investigación.

Firma del participante: .....

Fecha:.....



**Laboraciones del Producto**

1. Preparación de la muestra para la prueba de la leche de estero  
 Nota 2. Las muestras deben ser estables por 60 días cuando son almacenadas a 2-8°C.

**Requisitos para no proporcionar:**

1. Puntos(A) de 25, 50 y 100µl con una precisión superior al 1.5%.
2. Dependencia para las distribuciones repetidas de 0.300ml con una precisión superior al 1.5%.
3. Dependencia para la medida de la muestra (ver continuación)
4. Laminación de microplaca
5. Recipientes para la mezcla de los reactivos (ver continuación)
6. Papel absorbente para secar los pozos de la microplaca.
7. Cubetas plásticas o de microplaca para los pozos de incubación.
8. Aspirador al vacío o vacío (opcional) para los pozos del lavado.
9. Cronómetro
10. Recipientes de almacenamiento para guardar el buffer de lavado.
11. Agua destilada o desionada.

**PRECAUCIONES**

**Para el uso Diagnóstico in Vivo**

**No para el Uso Interno en Exámo en Humanos o Animales**  
 Todas las prácticas que conlleven a uso humano se encuentran no reactivas para el Análisis de Superficie de la Reacción B. VH 1 y 2 y anticuerpos para el estudio de reactividad para la FCSA. Se debe evitar el contacto directo con la muestra para evitar la contaminación. El uso de recipientes para el almacenamiento de muestras, todos los productos estériles de muestra, agua, manipulador como procedimientos peligrosos y cápsulas de transferir estériles. Los procedimientos de laboratorio se encuentran en el Centro de Control de Enfermedades Infecciosas y Salud, Biología en el Laboratorio Microbiología y Bacterias, José Esteban, 0988, HFS.

**PREPARACIÓN Y RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA**

Para las muestras de suero o soro se deben obtener las precauciones de recolección de muestras por punto venoso. La sangre será recogida en un tubo de parón venoso en adición de agua roja. Permitir que la sangre coagule. Centrifugar la muestra para separar el suero de las células.  
 Las muestras pueden ser refrigeradas a 2-8°C por un periodo máximo de 5 días. Si la muestra no puede ser enfriada debe ser enviada a los 15 minutos. Las muestras pueden ser almacenadas a -20°C por un periodo máximo de 3 meses. Cuando las muestras se congelan, se recomienda congelarlas a -20°C por un periodo máximo de 3 meses. Cuando las muestras se congelan a -20°C, se recomienda almacenarlas en el congelador a 0.100ml muestra LH y FSH. Para la producción y NC6 se necesitan 0.050ml de muestra.

**PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS**

**1. Buffer para lavado**

Diluir los contenidos del Concentrado de Lavado a 1000 ml con agua destilada o control o muestra dentro del pozo asignado. Añadir el agua destilada o control a temperatura ambiente hasta la marca en el recipiente de concentración.

**2. Selección de Sistema de Trabajo**

Verificar el contenido del vial antes marcado como solución 'X', dentro del vial como máximo como solución 'S'. Después de la preparación de la solución para el análisis, verificar la temperatura y el pH. El pH debe ser 7.2-7.4. Nota: No usar el subproducto de tiempo si se va azul.

**PROCEDIMIENTO DE PRUEBA (NC6, LH y FSH)**

Atención del procedimiento con el ensayo, permita que todos los reactivos, sueros de referencia y controles adquieran temperatura ambiente (20-27°C).

1. Formar los pozos de la microplaca para cada suero de referencia, control y muestra del paciente para que sean asignados por duplicado.
- Dividir a la bota de aluminio, cualquier tira del microplaca sin lavar, estéril y almacenamiento de 2-8°C.**
- 2A. Para NC6: Pipetear 0.0250 ml (25µl) del suero de referencia apropiado, control o muestra dentro del pozo asignado.
- 2B. Para LH y FSH: Pipetear 0.100 ml (100µl) del suero de referencia apropiado, control o muestra dentro del pozo asignado.
3. Añadir 100µl de Reactivo de Enzima específico a cada pozo. **Es muy importante dispensar el reactivo de enzima control para cada ensayo de prueba y así obtener resultados de ensayo correctos.**
4. Revolver la microplaca ligeramente por 20-30 segundos para mezclar y cubrir.
5. Incubar 60 minutos a temperatura ambiente para LH y FSH o 20 minutos para NC6.

6. Decantar los contenidos de la microplaca por decantación o aspirador. Si se decantó pipetear y secar la placa con paño absorbente.

7. Añadir 300µl de buffer de lavado (ver Sección Preparación de Reactivos) a cada pozo y aspirar. Repetir 2 veces. **Es muy importante aspirar y secar el pozo de la muestra para cada suero de referencia, control y muestra del paciente para que sean asignados por duplicado.**

8. Añadir 100µl de solución de sustrato de sustrato a todos los pozos. **NO ADICTE LA PLACA DESPUÉS DE APLICAR EL SUBSTRATO.**

9. Incubar a temperatura ambiente por 15 minutos.

10. Añadir 50µl de solución de parada para cada pozo y mezclar por rotación de 180 grados que sea homogéneo. (por 15-20 segundos).

11. Leer la absorbancia en cada pozo a 450 nm usando una longitud de onda de referencia de 620-650 nm para asegurar las referencias del pozo en un lugar de referencia. Los resultados deben ser vistos dentro de los 30 minutos de adicionar la solución de parada.

**PROCEDIMIENTO DE PRUEBA (PROLACTINA)**

1. Mezclar los pozos de la microplaca para cada suero de referencia, control y muestra del paciente a ser analizados por duplicado.
2. Pipetear 0.025 ml (25µl) del suero de referencia apropiado, control o muestra dentro del pozo asignado.
3. Añadir 0.100ml (100µl) de Reactivo de Beta PRL a cada pozo. **Es muy importante dispensar el reactivo de suero control para cada ensayo de prueba y así obtener resultados de ensayo correctos.**
4. Mezclar la microplaca ligeramente por 20-30 segundos para mezclar y cubrir.
5. Incubar 30 minutos a temperatura ambiente.
6. Decantar los contenidos de la microplaca por decantación o aspirador. Si se decantó pipetear y secar la placa sobre un paño absorbente.
7. Añadir 300µl de buffer de lavado (ver Sección Preparación de Reactivos) a cada pozo y aspirar. Repetir dos veces. **Es muy importante aspirar y secar el pozo de la muestra para cada suero de referencia, control y muestra del paciente para que sean asignados por duplicado.**
8. Añadir 100 µl (100µl) del conjugado de suero de referencia a cada pozo.
9. Incubar a temperatura ambiente por 30 minutos.
10. Siguiendo la misma rutina que en el procedimiento para NC6, LH y FSH.

**PARÁMETROS DE CONTROL DE CALIDAD**

Control de calidad: Los resultados de los ensayos deben ser vistos dentro de los siguientes rangos:  
 1. La absorbancia (AO) del calibrator más alto de cualquier ensayo debe ser mayor o igual a 1.3 unidades de absorbancia.  
 2. Cuatro de seis grupos de sueros de control de calidad deben encontrarse dentro de los rangos establecidos.

**RESULTADOS**

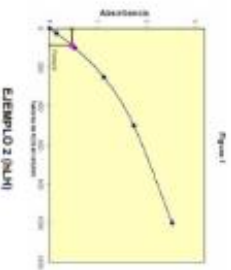
Una curva debe prepararse en un día para usar en la concentración de cada hormona correspondiente en muestras desconocidas.  
 1. Registrar la absorbancia obtenida del lavado del lector de microplaca como sea detallado en el Formato 1.  
 2. Trazar la absorbancia para cada aplicación del suero de referencia versus la concentración de ensayo correspondiente en unidades apropiadas, en el papel de gráfico lineal (no promediar las aplicaciones de las referencias del suero en las gráficas).  
 3. Dibujar el mejor ajuste de la curva a través de los puntos trazados.  
 4. Determinar la concentración de la hormona correspondiente para un valor desconocido, usar el promedio de la absorbancia de las aplicaciones para cada valor desconocido en el eje vertical del gráfico, encontrar el punto de

intersección sobre la curva y leer la concentración en unidades relativas correspondientes a la hormona.  
 Nota: El software de validación de datos para el computador, diseñado para los ensayos de ELISA puede ser usado.

**Ejemplo 1 (NC6)**

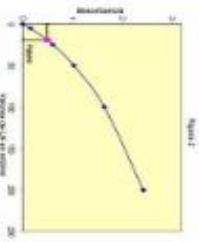
ID	Muestra	Fuente	Abn (A)	Abn (B)	Valor (mU/ml)
Cal A	A1	0.801	0.002	0	
Cal A	B1	0.002			
Cal B	C1	0.144	0.148	26	
Cal B	D1	0.147			
Cal C	E1	0.148	0.523	100	
Cal C	F1	0.500			
Cal D	G1	1.150	1.122	250	
Cal D	H1	1.136			
Cal E	A2	1.281	1.245	500	
Cal E	B2	1.226			
Cal F	C2	2.530	2.536	1000	
Cal F	D2	2.542			
Cal 1	E2	0.035	0.034	5.7	
Cal 1	F2	0.033			
Cal 2	G2	0.037	0.033	728.8	
Cal 2	H2	0.030			
Cal 3	A3	0.455			
Cal 3	B3	0.460	0.451	85.4	

Los datos presentados en el ejemplo 1 y figura 1, son para ilustración solamente, y no deben ser usados en lugar de la curva de datos respalda, preparada con cada ensayo.



Muestra	Fuente	Alta (A)	Baja (B)	Valor (Yrel/m6)
CaIA	A1	0,015	0,012	0
	B1	0,010	0,012	0
CaIB	C1	0,161	0,158	5
	D1	0,155	0,158	5
CaIC	E1	0,395	0,615	25
	F1	0,515	0,615	25
CaID	G1	1,001	1,025	50
	H1	1,051	1,025	50
CaIE	A2	1,627	1,543	100
	B2	1,580	1,543	100
CaIF	C2	2,394	2,427	200
	D2	2,480	2,427	200
CaI1	E2	0,385	0,080	2,11
	F2	0,075	0,080	2,11
CaI2	G2	0,590	0,591	23,7
	H2	0,572	0,591	23,7
Pacients	A3	0,454	0,495	19,3
	B3	0,465	0,495	19,3

Los datos presentados en el ejemplo 1 y figura 1, son para ilustración solamente, y no deben ser usados en lugar de la curva de datos respuesta, preparada con cada ensayo.

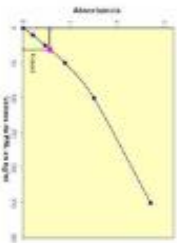


Muestra	Fuente	Alta (A)	Baja (B)	Valor (Yrel/m6)
CaIA	A1	0,012	0,010	0
	B1	0,007	0,010	0

Ejemplo 3 (Producción)

Muestra	Fuente	Alta (A)	Baja (B)	Valor (Yrel/m6)
CaIB	A1	0,027	0,027	0
	B1	0,028	0,027	0
CaIC	C1	0,243	0,244	5
	D1	0,245	0,244	5
CaID	E1	0,430	0,448	10
	F1	0,448	0,448	10
CaIE	G1	0,967	0,983	25
	H1	0,959	0,983	25

Los datos presentados en el ejemplo 3 y figura 3, son para ilustración solamente, y no deben ser usados en lugar de la curva de datos respuesta, preparada con cada ensayo.



Ejemplo 4 (PSM)

Muestra	Fuente	Alta (A)	Baja (B)	Valor (Yrel/m6)
CaIA	A1	0,027	0,027	0
	B1	0,028	0,027	0
CaIB	C1	0,243	0,244	5
	D1	0,245	0,244	5
CaIC	E1	0,430	0,448	10
	F1	0,448	0,448	10
CaID	G1	0,967	0,983	25
	H1	0,959	0,983	25

Muestra	Fuente	Alta (A)	Baja (B)	Valor (Yrel/m6)
CaIE	A2	1,704	0,734	50
	B2	1,783	0,734	50
CaIF	C2	2,786	2,768	100
	D2	2,791	2,768	100
CaI1	E2	0,171	0,172	3,37
	F2	0,173	0,172	3,37
CaI2	G2	0,812	0,581	13,91
	H2	0,591	0,581	13,91
Pacients	A3	1,487	1,440	38,91
	B3	1,423	1,440	38,91

Los datos presentados en el ejemplo 4 y figura 4, son para ilustración solamente, y no deben ser usados en lugar de la curva de datos respuesta, preparada con cada ensayo.



#### ANÁLISIS DE RIESGOS

- Ejemplo de la prueba**
  - El operador debe preparar el reactivo en cada poco sea necesario en forma constante para resultados reproducibles.
  - El tiempo de las muestras no se sobrepasa más de 10 minutos para evitar desviaciones.
  - No se deben emplear muestras almacenadas (frías, hervidas o congeladas).
  - Si más de 1 placa es usada, se recomienda repetir la curva de calibración.
  - La sección de la subcélula utilizada para reacción química, la cual es usada para la calibración, debe ser la misma para todas las pruebas. La calibración de las subcélulas y la solución de obtención deben almacenarse en la misma secuencia para eliminar cualquier desviación durante la reacción.
  - Las lecturas de placa deben verificarse. No tocar el fondo de las placas.
  - La tala en remover la solución adherente debe ser uniforme en las placas de aplicación o lavado por desecación puede resultar en una pobre aplicación y resultados falsos.
  - Usar componentes del mismo lote. No mezclar las reacciones de diferentes lotes.
  - Establecer un tiempo preciso y sereno así como medir el tiempo exacto y la temperatura requerida. Cualquier desviación de las indicaciones de uso puede afectar resultados precisos.
  - Se deben seguir las normas prácticas de laboratorio todas las unidades accesorias aplicadas, regulaciones y leyes de manera estricta para asegurar el cumplimiento y uso adecuado del dispositivo.
  - Es importante calibrar todos los equipos, por ejemplo pipetas, balanzas, lavadoras por ultrasonido automatizadas con esta reacción y realizar un mantenimiento preventivo rutinario.
  - El operador debe verificar la temperatura ambiente y la humedad relativa de la muestra (C<sub>1</sub> para estas y otros dispositivos, indicados por Merckelint) pueden ser solicitada vía e-mail: [Merckelint@merckelint.com](mailto:Merckelint@merckelint.com).
- Interpretación**
  - Los resultados de laboratorio por sí solos son únicamente un aspecto para determinar el estado del paciente y no deben ser la única base para una terapia, particularmente si los resultados están en conflicto con otros datos clínicos, de pruebas físicas, las pruebas laboratoriales y otros parámetros. Se debe estar atento de las reglas lógicas y requerimientos del ensayo.

- Si se ha de probar están abandonados, ya sea por muerte de parto de referencia, lo cual puede producir resultados de prueba falsos o si los resultados son interpretados incorrectamente. Monitoreo no hecho inapropiado.
- Si se utiliza el sistema de reducción de datos controlado por Computarizar para preparar los resultados del ensayo, se necesitan que los datos de producción para los cálculos se abogan dentro del 10% de las concentraciones asignadas.
- Pueden ocurrir resultados falsos positivos en presencia de una gama de variaciones de la muestra biológica y no biológica que afectan a HCG. Por lo tanto, deberá eliminarse la posibilidad de una HCG que sea de naturaleza tan antinatural al diagnóstico de embarazo.
- Generalmente, los resultados falsos positivos pueden observarse como se ensayan muestras tomadas de personas que consumen los medicamentos "Opoides", "Anestésicos", el "piragol" está "seguro" frecuentemente de una reacción de HCG.
- Los medicamentos antidiabéticos y los anticonceptivos también pueden producir valores incorrectos y lo separado durante el embarazo normal, un valor que con mucha frecuencia se observan valores un tanto más elevados en embarazos múltiples (4, 5, 6).
- Después de un aborto temprano, el HCG detectable puede persistir hasta por 3 a 4 semanas. El promedio de desaparición de HCG, después de un aborto espontáneo, varía de acuerdo con la cantidad de trofoblastos medidos (valores 4, 5, 6, 7).
- La FSH-H en suero por el diagnóstico para un embarazo que tiene anticoncepción oral el nivel puede ser mayor o normal. La sola reacción y la falta de peso pueden conducir a bajas concentraciones de gonadotropina.
- La hormona Feticlo Etimabimab-H se detecta bajo otros diversos factores que la hormona humana. Así, la determinación sistemática no es adecuada para evaluar el estado clínico.

#### RANGOS ESPERADOS DE VALORES (NOI)

Se han establecido los rangos esperados de valores para determinar los valores esperados utilizando el sistema de prueba de HCG ELISA. En la tabla uno se presenta valores de la media (X), desviación estándar (s) y tiempo esperado (ca SO), presentados en la tabla 1.

**TABLA 1**  
Valores Esperados para el sistema de prueba HCG ELISA

Número 125  
Media (X) 2.9  
Desviación estándar (s) 1.4  
Rangos esperados (ca) 0.1 a 7

Los niveles esperados para HCG durante el embarazo normal (2) se encuentran enumerados en la tabla 2.

**TABLA 2**  
Valores Esperados para los niveles HCG (mIU/ml) durante el embarazo normal (en mIU/ml)

1ra semana 10-30  
2da semana 20-100  
3da semana 100-3000  
4da semana 1.000-10.000  
2do y 3er mes 20.000-100.000  
2 trimestres 10.000-20.000  
3 trimestres 2.000-15.000

#### RANGOS DE VALORES ESPERADOS (LH, FSH Y PRL)

Los niveles de una producción normal son los mismos para determinar los valores esperados para el sistema de prueba de microscopía FSH y LH VAST ELISA. Los valores esperados son presentados en la tabla 3.

	LH	FSH	FSH
Mujeres	10-25	2-10	3.0-10.0
Hombres	18-40	2-10	8.0-20.0
Child natal	0.5-10.5	0.1-0.2	2.0-12.0
Femenino	8.2-40.8	35-151	35-151
Hombres	0.7-7.4	1.5-17.0	1.0-14.0

Es importante guardar en mente que el establecimiento de un rango de valores de una muestra, sea asociado por un método, como por ejemplo un problema de precisión "normal", se determinará bajo una metodología de referencia. La especificidad del método, la población probada y la precisión del método en las áreas de estudio. Por esta razón, cada laboratorio depende bajo el rango de valores esperados establecidos por el fabricante. Siempre un rango local puede establecerse por el fabricante usando el método con una población indígena de área en la cual el laboratorio está localizada.

#### CARACTERÍSTICAS DEL REMOIMIENTO

##### A. Precisión

La precisión dentro y entre las ensayos de Sistemas de Prueba de microscopía LH ELISA ELISA ha sido determinada por ensayos en 3 diferentes niveles de suero de control. El número, valor promedio, la desviación estándar y el coeficiente de variación para cada uno de estos sueros controlados son presentados en la Tabla 5 y Tabla 5.

**TABLA 4**  
Precisión dentro del Ensayo-Valeores en mIU/ml) HCG-LH-FSH Valores en ng/ml PRL

(X) repeticiones por nivel

Nivel 1	HCG	LH	FSH	PRL
Media	1.5	2.8	10.8	5.9
s	0.54	0.18	0.35	0.25
C.V.	3.02%	5.4%	3.3%	5.4%

Nivel 2	HCG	LH	FSH	PRL
Media	4.0	15.2	28.8	18
s	2.4	0.85	0.84	0.85
C.V.	6.0%	4.2%	3.0%	4.3%

Nivel 3	HCG	LH	FSH	PRL
Media	178	44.5	77.5	41.3
s	8.7	1.02	1.33	1.15
C.V.	5.3%	2.5%	2.3%	2.8%

**TABLA 5**  
Precisión Entre-Estado-Valeores en mIU/ml) HCG-LH-FSH Valores en ng/ml PRL

Nivel 1	HCG	LH	FSH	PRL
Media	8.2	3.1	11.5	5.9
s	0.73	0.17	0.19	0.41
C.V.	8.9%	5.5%	1.7%	6.9%

Nivel 2	HCG	LH	FSH	PRL
Media	41.4	15.4	27.8	15.5
s	3.7	0.81	0.50	0.48
C.V.	9.0%	5.5%	2.3%	3.0%

**B. Especificidad**  
El Sistema de prueba de microscopía LH ELISA fue comparado con un método de referencia de referencia. Las muestras biológicas de las concentraciones bajas, normales o elevadas fueron usadas. El número total de falsas muestras fue de 110. La última ecuación de regresión cuadrada y el coeficiente de correlación fueron computados para el LH ELISA en comparación con el método de referencia. Los datos obtenidos son descritos en la tabla 6.

**TABLA 6(LH)**

Medio Media (X) Última Cuadrada Correlación  
Ejemplo 14.8 Y = 0.81(X+0.059) 0.989  
Referencia 15.1

Se usaron pequeñas cantidades de pruebas entre el sistema LH VAST y el método de referencia son indicados por la probabilidad de los valores promedio. La ecuación de regresión cuadrada última y el coeficiente de correlación indican el coeficiente de correlación del método.

El sistema de prueba ELISA de microscopía FSH VAST fue comparado con un método de referencia de referencia. Las muestras biológicas de las concentraciones bajas, normales o elevadas (rango de valores de 0.1 mIU/ml-130 mIU/ml). Valores por fuera del valor del calibrador más alto fueron usados mediante dilución cuidadosa y multiplicando por el factor de dilución. El número total de estas muestras fue de 128. La ecuación de regresión cuadrada y el coeficiente de correlación fueron computados por FSH ELISA VAST en comparación el método de referencia. Los datos obtenidos se muestran en la tabla 7.

**TABLA 7(FSH)**

Medio Medio (X) Última Cuadrada Correlación  
Ejemplo 18.0 Y = 0.95(X+1.5) 0.994  
Referencia 21.0

Este sistema de ensayo HCG ELISA VAST se comparó con un método de referencia de referencia. Se utilizaron pequeñas muestras biológicas provenientes de poblaciones normales y de mujeres embarazadas. El número total de estas muestras fue de 110. La ecuación de regresión de mínimos cuadrados y el coeficiente de correlación se calcularon para el HCG ELISA en comparación con el método de referencia. Los datos obtenidos se muestran a continuación.

**TABLA 8(HCG)**

Medio Medio (X) Última Cuadrada Correlación  
Ejemplo 14.8 Y = 0.81(X+0.059) 0.989  
Referencia 15.1

Se usaron las solo valores pequeños de ensayo entre esta procedimiento HCG ELISA y el método de referencia por la probabilidad de los valores medios. La ecuación de regresión de mínimos cuadrados y el coeficiente de correlación indican un excelente acuerdo entre los métodos.

El procedimiento de microscopía PRL ELISA VAST fue comparado con un método de referencia de referencia (ICMA). Se ensayaron muestras biológicas a partir de poblaciones con valores normales y mujeres embarazadas. El número total de estas muestras fue de 86. La ecuación de regresión de mínimos cuadrados y el coeficiente de correlación fueron computados por PRL ELISA en comparación con el método de referencia. Los datos obtenidos se muestran en la tabla 8.

**TABLA 9(PRL)**

Medio Medio (X) Última Cuadrada Correlación  
Ejemplo 19.0 Y = 1.65(X+0.10) 0.973  
Referencia 17.3

Se usaron las solo valores pequeños de ensayo entre esta procedimiento PRL VAST y el método de referencia, por la probabilidad de los valores medios. La ecuación de regresión de mínimos cuadrados y el coeficiente de correlación indican un excelente acuerdo entre los métodos.

#### C. Sensibilidad

El procedimiento de la Hormona LH VAST tiene una sensibilidad de 0.025 mIU. Es equivalente a una muestra que contiene 0.5 mIU/ml de concentración de LH. El procedimiento de FSH VAST tiene una sensibilidad de 0.02 mIU. Es equivalente a una muestra que contiene 0.4 mIU/ml de concentración de FSH. La sensibilidad fue establecida determinando la variabilidad del suero calibrator (mIU/ml) y usando la estadística de la segunda derivación (95%) para calcular la dosis mínima.

El procedimiento HCG VAST tiene una sensibilidad de 0.075 mIU. Es equivalente a una muestra que contiene 3 mIU/ml de concentración de HCG. El procedimiento PRL VAST tiene una sensibilidad de 0.04 ng. Es equivalente a una muestra que contiene 16 ng/ml de concentración de PRL. La sensibilidad fue establecida determinando la variabilidad del suero calibrator (mIU/ml) y usando la estadística de la segunda derivación (95%) para calcular la dosis mínima.

#### D. Especificidad

La reactividad cruzada del método LH ELISA VAST para sustancias seleccionadas fue evaluada por la acción de sustancias interferentes al suero matar en varias concentraciones. La reactividad cruzada fue calculada por la división de un tubo entre la dosis de la sustancia que interfiere a la dosis de la hormona biológica para producir la misma absorbancia.

Sustancia	Reacción cruzada	Concentración
LH	1.000%	-
Substancia P-LH	<0.0001	1000ng/ml
FSH	<0.0001	2000ng/ml
HCG	<0.0001	4000ng/ml
(TRH)	<0.0001	1000ng/ml

La reactividad cruzada del método FSH ELISA VAST para sustancias seleccionadas fue evaluada por la acción de sustancias interferentes al suero matar en varias concentraciones. La reactividad cruzada fue calculada por la

denunciado de un radio entre la dosis de la sustancia que transfieren a la dosis de hormonas FSH para producir la misma abstracción.

Sustancia	Reacción cruzada	Concentración
FSH	1,000	1000 <sup>g/ml</sup>
LH	<0.0001	1000 <sup>g/ml</sup>
HCG	<0.0001	1000 <sup>g/ml</sup>
TSH	<0.0001	1000 <sup>g/ml</sup>

La reactividad cruzada del método HCG-ELISA VAST para sustancias seleccionadas fue evaluada por la acción de sustancias interferentes al mismo nivel en varias concentraciones. La reactividad cruzada fue calculada por la detección de un radio entre la dosis de la sustancia que transfieren a la dosis de hormona HCG para producir la misma abstracción.

Sustancia	Reacción cruzada	Concentración
HCG	1,000	1000 <sup>g/ml</sup>
Sustancia β-HCG	<0.0001	1000 <sup>g/ml</sup>
FSH	<0.0001	1000 <sup>g/ml</sup>
LH	<0.0001	1000 <sup>g/ml</sup>
TSH	<0.0001	1000 <sup>g/ml</sup>

La reactividad cruzada del método PRL-ELISA VAST para sustancias seleccionadas fue evaluada por la acción de sustancias interferentes al mismo nivel en varias concentraciones. La reactividad cruzada fue calculada por la detección de un radio entre la dosis de la sustancia que transfieren a la dosis de hormona PRL para producir la misma abstracción.

Sustancia	Reacción cruzada	Concentración
PRL	1,000	1000 <sup>g/ml</sup>
LH	<0.0001	1000 <sup>g/ml</sup>
FSH	<0.0001	1000 <sup>g/ml</sup>
HCG	<0.0001	1000 <sup>g/ml</sup>
TSH	<0.0001	1000 <sup>g/ml</sup>
GH	<0.0001	1000 <sup>g/ml</sup>

La baja reactividad cruzada de las antígenos empleados en este sistema permite el uso de calibradores VAST debido a la selectividad cruzada 0 esencialmente.

**REFERENCIAS**

1. Kozma S.J. *et al* *Experimental Medicine*, 26:313(1981)
2. Dunbar H, Khandekar S.G. *et al* *Endocrinology* 14 (1986) 34, 336
3. Dunbar H, Khandekar S.G. *et al*, *Annals of the New York Academy of Sciences* 486 (1978) 49-67
4. Godefridi D, A. *Journal of Clinical Endocrinology* 44:1075 (1978)
5. Godefridi D, A. *Journal of Clinical Endocrinology* 44:1075 (1978)
6. Dunbar H, Khandekar S.G. *et al*, *Annals of the New York Academy of Sciences* 486 (1978) 49-67
7. Lerner R, Swadlow H, *et al*, *Journal of Clinical Endocrinology* 57:1192(1978)
8. Chalk W.D, Pinsky A.R. *et al*, *Journal of Clinical Endocrinology* 47:2201(1973)
9. Dunbar H, Khandekar S.G. *et al*, *Journal of Clinical Endocrinology* 48:281 (1974)
10. Dunbar H, Khandekar S.G. *et al*, *Journal of Clinical Endocrinology* 48:281 (1974)
11. Godefridi D, A. *Journal of Clinical Endocrinology* 44:1075 (1978)
12. Dunbar H, Khandekar S.G. *et al*, *Annals of the New York Academy of Sciences* 486 (1978) 49-67
13. Pinsky A.R, *et al*, *Journal of Clinical Endocrinology* 47:2201 (1973)
14. Pinsky A.R, *et al*, *Journal of Clinical Endocrinology* 47:2201 (1973)
15. Dunbar H, Khandekar S.G. *et al*, *Annals of the New York Academy of Sciences* 486 (1978) 49-67
16. Dunbar H, Khandekar S.G. *et al*, *Annals of the New York Academy of Sciences* 486 (1978) 49-67
17. Dunbar H, Khandekar S.G. *et al*, *Annals of the New York Academy of Sciences* 486 (1978) 49-67
18. Dunbar H, Khandekar S.G. *et al*, *Annals of the New York Academy of Sciences* 486 (1978) 49-67
19. Dunbar H, Khandekar S.G. *et al*, *Annals of the New York Academy of Sciences* 486 (1978) 49-67
20. Dunbar H, Khandekar S.G. *et al*, *Annals of the New York Academy of Sciences* 486 (1978) 49-67
21. Dunbar H, Khandekar S.G. *et al*, *Annals of the New York Academy of Sciences* 486 (1978) 49-67
22. Dunbar H, Khandekar S.G. *et al*, *Annals of the New York Academy of Sciences* 486 (1978) 49-67
23. Dunbar H, Khandekar S.G. *et al*, *Annals of the New York Academy of Sciences* 486 (1978) 49-67
24. Dunbar H, Khandekar S.G. *et al*, *Annals of the New York Academy of Sciences* 486 (1978) 49-67
25. Dunbar H, Khandekar S.G. *et al*, *Annals of the New York Academy of Sciences* 486 (1978) 49-67

REVISION: 2 DATE: 11/22/10 DCO: 0383

Cat # 8325-300

For Orders and Inquiries, please contact

**Monobind Inc.**  
109 North Pointe Drive  
Lake Forest, CA 92553 USA

Tel: 949-951-2665  
Fax: 949-951-3539  
Email: [info@monobind.com](mailto:info@monobind.com)  
On the Web: [www.monobind.com](http://www.monobind.com)

Please visit our website to learn more about our other interesting products and services.





CEpart#EU 3501.DR-13.NL  
Tel: +31 (0) 6 518 538 28

**APLICACIONES E INSTRUMENTOS**

Los productos de Monobind Inmunoensayos, son diseñados para trabajar en reactores de laboratorio automatizados y manual Acudis y Acculib, son compatibles con cualquier equipo de flujo, incluyendo analizadores de química, lectores de microplacas y lectores de microplacas. Puede que sea o no sea una aplicación deseada para un equipo en particular, por favor visite la sección de equipo de nuestra página web o contacte [info@monobind.com](mailto:info@monobind.com)

Monobind ofrece varios equipos incluyendo el lector de placas CIA Inmunómetro Inplaca 2, diseñado mano a mano con nuestros productos y capaz de realizar calibraciones de dos puntos. Para mayor información visite nuestra página web.

# ANEXO N° 5: INSERTO DE TSH



## Tirotophina (TSH) Código 325-300

**Propósito:** La Determinación cuantitativa de la Concentración de Tirotophina en suero humano por ensayo Inmunoenzimométrico con microplacas.

### RESUMEN Y EXPLICACION DE LA PRUEBA

La medición de la concentración de tirotophina (TSH) en suero, urea, glicoproteína con un peso molecular de 28.000 átomos y secretada de la hipófisis anterior, es generalmente reconocida como el indicador más sensible disponible para el diagnóstico de hipotiroidismo primario y secundario (patológico). El incremento en las concentraciones séricas de TSH que es primariamente responsable de la sintomatología y liberación de hormonas tiroideas. Es un marcador sensible y temprano de la disminución de la reserva tiroidea y en conjunto con la disminución de las concentraciones de tiroxina (T4) diagnóstica hipotiroidismo primario. El incremento esperado en las concentraciones de TSH demuestra el sistema de retroalimentación negativo clásico entre las glándulas pituitarias y tiroideas. Esto es, principalmente a que el dano en la glándula tiroidea reduce la secreción de las hormonas tiroideas, las cuales a su vez estimula la liberación de TSH de la pituitaria. Adicionalmente, las mediciones de TSH son igualmente útiles en la diferenciación del hipotiroidismo secundario y terciario (hipotiroidismo) de la enfermedad tiroidea primaria. La liberación de TSH es regulada por el factor liberador de tirotophina (TRH), a cual es secretada por el hipotálamo y por acción directa de T4 y tiroxodrona (T3), las hormonas tiroideas, en la pituitaria. El incremento de las niveles de T3 y T4 reduce la respuesta de la hipófisis a los efectos estimuladores de TRH. En el hipotiroidismo secundario y terciario, las concentraciones de T4 son usualmente bajas y los niveles de TSH son generalmente altos o normales. Ya sea en la deficiencia de TSH hipofisiaria (hipotiroidismo secundario) o insuficiencia de la estimulación de la hipófisis por la TRH (hipotiroidismo terciario) causa esto. La prueba de estimulación de TRH diferencia estas condiciones. En el hipotiroidismo secundario, la respuesta de TSH a TRH es seguida desde una respuesta normal o retrasada es obtenida en hipotiroidismo terciario.

Además, la llegada del ensayo de inmunoenzimático ha proporcionado al laboratorio el método más sensible para la diferenciación del hipotiroidismo de la población euthyroides y extendiendo la utilidad de la medición de TSH. Este método es un ensayo de segunda generación, el cual proporciona los métodos para la discriminación en el rango hipotiroideo- eutiroideo. La sensibilidad funcional (<20% entre ensayo CVI) del procedimiento de 1 hora es de 0,185  $\mu$ U/ml mientras que el procedimiento de 2 horas tiene una sensibilidad funcional de 0,295  $\mu$ U/ml.

En este método, el calibrador de TSH, el espécimen del paciente o control es adicionado al pozo recubierto de antiestrepavidina. Los anticuerpos monoclonal marcado con biotina y marcado con enzima son adicionados y las reacciones TSH nativos toman un complejo tipo sandwich que se une con la estrepavidina que reduce el color.

Después de completar el período de incubación requiera el anticuerpo unido al conjugado de enzima-tirotophina por la separación del conjugado no unido enzima-tirotophina por la

aspiración o decantación. La actividad de la enzima presente en la superficie del pozo es cuantificada mediante la reacción con un sustrato adecuado para producir color.

El empleo de varias curvas de referencia de niveles conocidos de Tirotophina permite la construcción de una curva de respuesta de actividad y concentración. Debido la comparación a la curva de respuesta, una actividad del espécimen desconocida puede estar corroborada con la concentración de tirotophina.

### PRINCIPIO

#### Ensayo Inmunoenzimométrico (Tipo 3)

Los reactivos esenciales requeridos para un ensayo inmunoenzimático incluyen mayor afinidad y especificidad de los anticuerpos (enzima conjugada e inmunizada), con diferentes y distintos reconocimientos de epítopos, en exceso un antígeno nativo. En esta procedimiento, la inmunización toma lugar durante el ensayo a la superficie de una microplaca bien a través de la liberación de estrepavidina que cubre las pocas y con el anticuerpo anti-TSH monoclonal marcado con biotina agregado posteriormente. Después de la mezcla del anticuerpo monoclonal marcado con biotina, el anticuerpo marcado con enzima y un suero que contiene antígeno nativo, la reacción resulta entre el antígeno nativo y los anticuerpos, sin competencia u obstáculo estérico, para formar un complejo soluble de sandwich. La interacción es listada por la siguiente ecuación:



$\text{En-Ac} \theta$  = Anticuerpo Monoclonal Marcado con biotina (Cantidad en exceso)

$\text{Ag}$  = Antígeno nativo (Cantidad Variable)

$\text{En-Ac} \theta \text{m}$  = Anticuerpo polivalente marcado con la enzima (Cantidad en exceso)

$\text{En-Ac} \theta - \text{Ag} + \text{En-Ac} \theta \text{m}$  = complejo de sandwich Ag-Anticuerpos

$K_1$  = Tasa Constante de Asociación

$K_2$  = Tasa Constante de Disociación

Simultáneamente, el corriplo es depositado en el pozo a través de la mayor reacción de afinidad de la estrepavidina y el anticuerpo marcado con biotina. Esta reacción es listada como sigue:



Estrepavidina es Estrepavidina inmovilizada en el pozo. Complejo Inmovilizado = Complejo sandwich unido al pozo.

Después que el equilibrio se mantiene, la reacción unida al anticuerpo se separada del antígeno no unido por decantación o aspiración. La actividad de la enzima en la reacción unida al anticuerpo es directamente proporcional a la concentración nativa del antígeno. Para utilizar varias referencias séricas diferentes de valores de antígenos conocidos, una curva de respuesta puede ser generada en la cual la concentración del antígeno de un desconocido puede ser acertada.

### REACTIVOS

#### A. Calibradores de Tirotophina - 1 mU/ml - Icono A-6

7 viales de referencias para el Antígeno TSH a niveles de 0 (A), 0.5 (B), 2.5 (C), 5.0 (D), 10 (E), 20 (F) y 40 (G)  $\mu$ U/ml. Almacenar a 2-8°C. Un preservative ha sido adicionado.

#### B. Reactivo de Enzima - TSH-13 mU/ml - Icono B

Un (1) vial que contiene anticuerpo polivalente de cabra purificado con afinidad a la enzima marcada, IgG de ratón monoclonal marcado con biotina en buffer, secado y preservado. Almacenar a 2-8°C.

#### C. Microplaca cubierta de estrepavidina- 96 pocos - Icono C

Una microplaca de 96 pocos cubiertas con estrepavidina y

empaquetada en una bolsa de aluminio con un agente de secado. Almacenar a 2-8°C.

#### D. Concentrado de Solución de Lavado- 20 ml - Icono D

Un vial que contiene un surfactante en suero salino tamponado. Un preservative ha sido adicionado. Almacenar a 2-8°C.

#### E. Sustrato A - 7 mU/ml - Icono A

Una (1) botella que contiene tetraetilbenzidrina (TEB) en buffer. Almacenar a 2-8°C.

#### F. Sustrato B - 1 mU/ml - Icono B

Una (1) botella que contiene peróxido de hidrogeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en buffer. Almacenar a 2-8°C.

#### G. Solución sfp - 5mU/ml - Icono G

Una (1) botella que contiene un ácido fuerte (HCl 1N). Almacenar a 2-8°C.

### H. Instrucciones del Producto

**Nota 1:** No usar reactivos más allá de la fecha de expiración

**Nota 2:** Los reactivos almacenados son sensibles por 60 días cuando son almacenados a 2-8°C.

**Nota 3:** Consultar la sección final del manual de este producto donde se encuentran diversas configuraciones de reactivos por tamaño de dil.

### Materiales Requeridos pero no proporcionados:

1. Pipetas (vaseas) de distribuir 50  $\mu$ l y 100 $\mu$ l con una precisión superior al 1.5%
2. Dispensadores para las distribuciones repetidas de 0, 100 ml y 0.350ml con una precisión superior al 1.5% (opcional).
3. Lavador de microplaca o una botella de lavado (opcional).
4. Lector de microplaca con capacidad de absorbancia de longitud de onda de 450nm a 620nm (El filtro de 620 nm es opcional).
5. Papel absorbente para borrar los pocos de la microplaca.
6. Cubetas plásticas o de microplaca para los pasos de incubación.
7. Aspirador al Vacío o Vacuo (opcional) para los pasos del lavado.
8. Contenedor
9. Contenedor de almacenamiento para almacenar el buffer de lavado.
10. Agua destilada o desionada.
11. Materiales de control de calidad.

### PRECAUCIONES

#### Para uso Diagnóstico In Vitro

**No para el Uso Interno ni Externo en Humanos o Animales**  
Todos los productos, que contienen suero humano, se encuentran no reactivos para el Antígeno de Suerite de la Hepatitis B, VIH 1 y 2 y anticuerpos para VIH por los reactivos liberados por la FDA. Incluso no se ha conocido prueba que pueda ofrecer seguridad a pesar que los agentes infecciosos están ausentes, todos los productos séricos de humanos serán manejarlos como potencialmente peligrosos y zapagos de transferir enfermedades. Los procedimientos de buenas prácticas de laboratorio para el manejo de productos sanguíneos pueden ser encontrados en el Comité de Control de Enfermedades Infecciosas, Instituto Nacional de Salud, "Seguridad en Laboratorios Microbiológicos y Biomédicos", 2da Edición, 1998, HHS.

### RECOLECCIÓN DEL ESPÉCIMEN Y PREPARACIÓN

Se deben emplear las precauciones en la recolección de muestras. Para la preparación exacta de las muestras, nombradas estándares, una muestra de suero por la tratara en suero, esada obtenida. La sangre sera recogida en un tubo de recolección para jugo en los adultos o anticoagulantes. Permitir que la sangre coagule. Centrifugar el espécimen para separar el suero de las células. Las muestras pueden ser refrigeradas a 2-8°C por un período máximo de 5 días. Si el espécimen no puede ser ensayado dentro de este tiempo, la muestra puede ser almacenada a temperatura de -20°C por más de 30 días. Evitar el congelamiento rápido y el descongelamiento. Cuando se realiza por duplicado, se requiere 0,100ml de la muestra.

**PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS**

#### 1. Buffer para Lavado

Diluir las componentes del Concentrado de Lavado a 1000 ml con agua destilada o desionada en un contenedor de almacenamiento adecuado. Almacenar a temperatura ambiente de 20-27°C hasta 60 días.

#### 2. Solución de Sustrato de Trabajo

Verter las componentes del vial A/B en una jarra marcada con 'A' dentro del vial claro marcado como solución 'B'. Colocar la tapa amarrada al vial claro para fácil identificación. Mezclar e identificar según corresponda. Almacenar a 2-8°C.

**Nota:** No usar el sustrato de trabajo si se ve azul.

### PROCEDIMIENTO DE PRUEBA

Antes del procedimiento, permitir que todos los reactivos, los calibradores y las curvas alcancen temperatura ambiente (20-27°C).

1. Marcar los pocos de la microplaca para cada calibrador, controles y muestras para que sean ensayadas por duplicado. Colocar los pocos no utilizados dentro de la bolsa de aluminio, sellarla y almacenamiento de 2-8°C.
2. Pipetear 0,050 ml (50 $\mu$ l) del calibrador, control o espécimen dentro del pozo asignado.
3. Adicionar 0,100ml (100 $\mu$ l) de Reactivo de Enzima-TSH a cada pozo. Es muy importante dispensar todos los reactivos cercanos al fondo del pozo caliente.
4. Mezclar la microplaca ligeramente por 20-30 segundos y cubrir.
5. Incubar 60 minutos a temperatura ambiente\*\*
5. Decantar los contenidos de la microplaca por decantación o aspiración. Si se decanta, se debe aspirar la placa sobre un papel absorbente.
7. Adicionar 350 $\mu$ l de buffer de lavado (Ver Sección Preparación de Reactivos), decantar (golpear y aspirar) o aspirar. Repetir dos veces más para un total de 3 lavados. Se puede utilizar un lavador de platos automatizado o manual. Seguir las instrucciones del fabricante para un uso apropiado. Si se usa una botella lavadora, llenar cada pozo (evitar la formación de burbujas) para dispensar el lavado. Decantar el lavado y repetir 2 veces más.
8. Adicionar 0,100 ml (100 $\mu$ l) de solución de sustrato de trabajo a todos los pocos (Ver Sección de Preparación del Reactivo). Siempre adicione reactivos en el mismo orden para minimizar las diferencias del tiempo de reacción en los pocos.
- NO MEZCLAR LA MICROPLACA DESPUES ADICIONAR DE SUSTRATO.
9. Incubar a temperatura ambiente por 15 minutos.
10. Adicionar 0,050 ml (50 $\mu$ l) de solución de parada a cada pozo y mezclar ligeramente (por 15-20 segundos). Siempre adicione reactivos en el mismo orden para minimizar las diferencias del tiempo de reacción en los pocos.
11. Leer la absorbancia de cada pozo a 450 nm (usando una longitud de referencia de 620-630 nm para minimizar las interferencias del pozo) en un lector de microplaca. Los resultados deben ser lidos dentro de los 30 minutos siguientes a la adición de la solución de parada.

\*\* Para mejorar la sensibilidad (< 0,5  $\mu$ U/ml), incubar 120 minutos a temperatura ambiente. El calibrador de 40  $\mu$ U/ml será evaluado desde que la absorbancia está sobre 3.0 unidades donde será experimental. Seguir los pasos restantes.

### CONTROL DE CALIDAD

Cada laboratorio ensayará los controles a niveles de inferior, medio y mayor nivel para el monitoreo del rendimiento del ensayo. Estos controles serán tratados como desconocidos y los valores determinados en cada procedimiento de prueba serán realizados. Las tarjetas de control de calidad serán mantenidas en seguir el rendimiento de los reactivos suministrados. Los métodos estadísticos pertinentes serán empleados para evaluar en las tendencias. El laboratorio individual asignará los límites de rendimiento de ensayo aceptable. Otros parámetros que



serán monitoreados incluso en las recepciones de 80, 50 y 20% de la curva dosis respuesta para la reproducibilidad de la experiencia pasada. La desviación significativa del rendimiento establecido puede indicar cambio no notificado en las condiciones experimentales o degradación de los reactivos del kit. Los reactivos frescos serán usados para determinar la razón para las variaciones.

**CALCULO DE RESULTADOS**

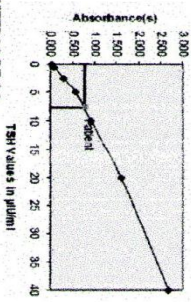
Una curva dosis respuesta es usada para hallar en la concentración de Trioprotropina en muestras desconocidas.

- Registrar la absorbancia obtenida del lector del vector de microplacas como se define en el Ejemplo 1
- Gráficoar la absorbancia para cada suero duplicado de referencia versus la concentración de TSH correspondiente en  $\mu\text{UI/ml}$  en el papel de gráfica lineal
- Sacar la mejor curva fija a través de los puntos de trazo.
- Determinar la concentración de TSH para un desconocido, localizar la absorbancia promedio de los duplicados para cada desconocido en el eje vertical del gráfico, encontrar el punto de intersección de la curva y leer la concentración (en  $\mu\text{UI/ml}$ ) del eje horizontal del gráfico. En el siguiente ejemplo, la absorbancia promedio (0.775) intercepta la curva respuesta a (7.85  $\mu\text{UI/ml}$ ) concentración de TSH (Ver Figura 1).

Muestra	LD	Numero	Abs (A)	Abs (B)	Valores
Cal A	A1	0.018		0.018	0
	B1	0.021			
Cal B	C1	0.076		0.078	0.5
	D1	0.082			
Cal C	E1	0.302		0.298	2.5
	F1	0.283			
Cal D	G1	0.556		0.557	5.0
	H1	0.577			
Cal E	A2	0.936		0.921	10
	B2	0.916			
Cal F	C2	1.610		1.618	20
	D2	1.629			
Cal G	E2	2.684		2.671	40
	F2	2.647			
Control	G2	0.800		0.775	7.88
	H2	0.781			
Paciente	A3	1.381		1.383	16.88
	B3	1.375			

\*Los datos presentados en el ejemplo 1 de la figura 1 son solo para ilustración y no deben ser usados en lugar de una curva dosis - respuesta preparada con cada ensayo.

Figura 1)



**PARAMETROS DE QC**

Para que los resultados del ensayo sean considerados válidos deben cumplirse los siguientes criterios:

- La absorbancia (OD) del calibrador (3) 40  $\mu\text{UI/ml}$  debe ser  $\geq 1.3$
- 4 de 6 grupos de control de calidad deben estar dentro de los rangos establecidos

**ANÁLISIS DE RIESGOS**

**A. Desempeño de la prueba**

- Es importante que el tiempo de reacción en cada pozo sea sostenido en forma constante para resultados reproducibles.
- El pipeteo de las muestras no se extenderá más de 10 minutos para evitar desviaciones.
- No se deben emplear muestras altamente lipémicas, hemolizadas o contaminadas
- Si más de 1 pipeteo es usado, se recomienda repetir la curva dosis respuesta.
- La adición de la solución tustrato inicia una reacción química, la cual es terminada por la adición de la solución de paralización. Por tanto, la adición de los substratos y la solución de detección serán adicionados en la misma secuencia para eliminar cualquier desviación durante la reacción.
- Los factores de placa deben verificarse. No tocar el fondo de los pozos.
- La falta en remover la solución adherente adecuadamente a los pasos de aspiración o lavado por decantador puede resultar en una sobre-replicación y resultados falsos.
- Usar componentes del mismo lote. No mezclar los reactivos de diferentes lotes.
- Es esencial un pipeteo preciso y exacto así como seguir el tiempo exacto y la temperatura requerida. Cualquier desviación de las instrucciones de uso puede arrojar resultados inexactos.
- Se deben seguir las buenas prácticas de laboratorio, todos los estándares nacionales aplicables, regulaciones y leyes de manera estricta para asegurar el cumplimiento y uso adecuado del dispositivo.
- Es importante calibrar todos los equipos, por ejemplo: pipetas, lectores, lavadores y/o instrumentos automatizados con este reactivo y realizar un mantenimiento preventivo rutinario.
- El análisis de riesgo - como lo requiere la directiva MD 86/79/EEC de la marca CE- para estos y otros dispositivos elaborados por Monobind, pueden ser solicitados vía E-mail: [Monobind@monobind.com](mailto:Monobind@monobind.com)

**B. Interpretación**

- Los resultados de laboratorio por sí solos son únicamente un aspecto para determinar el cuidado del paciente y no deben ser la única base para una terapia, particularmente si los resultados están en conflicto con otros diagnósticos.
- Para resultados de pruebas válidas, los controles adecuados y otros parámetros deben estar dentro de los rangos listados y requerimientos del ensayo.
- Si los kits de prueba están alterados, ya sea por mezcla de partes de diferente kits, lo cual puede producir resultados de prueba falsos o si los resultados son interpretados incorrectamente. Monobind no tendrá responsabilidad.
- Se utiliza el sistema de reducción de datos controlados por computador para interpretar los resultados del ensayo, es necesario que los valores de medición para los calibradores se indiquen dentro del 10% de las concentraciones asignadas.
- La concentración de TSH sérico total es dependiente bajo una multiplicidad de factores: función de glándula hipotálamo, función de la glándula hipófisis, y la respuesta de la hipófisis a TRH. Así, la concentración de tirotrópina solamente no es suficiente para evaluar el estado clínico.
- Los valores de TSH pueden estar elevados por la hipertiroidismo tirotoxicosis. La tirotoxicosis, amiodarona, yodo, fenobarbital y fenitoína han sido reportados por aumentar el nivel de TSH.
- Una disminución de los valores de tirotrópina han sido reportada con la administración de propranolol, metirazina, dopamina y deloroxina.
- Las variaciones genéticas o degradación de TSH iniciado dentro de subunidades pueden alterar las características de unión de los anticuerpos e influir en el resultado final. Tales muestras exhiben normalmente resultados entre varios sistemas de ensayos debido a la reactividad de los anticuerpos implicados.

**"NO APTO PARA TANZANIE EN NEONATOS"**

**RANGOS ESPERADOS DE VALORES**

Un estudio de una población adulta eurofideña fue tomado para determinar los valores esperados para el Sistema de prueba de microplaca TSH-ELISA. El número y rango determinados están dados en la tabla 1. Un método no paramétrico (95% de percentil estimado) fue usado.

TABLA 1

Valores Esperados para el Sistema de Prueba TSH-ELISA (En $\mu\text{UI/ml}$ )	
Número	139
Rango Normal Inferior	0.39
Rango Normal Superior	6.16
70% de Intervalo de confianza para 2.5 Percentil	0.28 - 0.53
Rango Inferior	0.28 - 0.53
Rango Superior	5.60 - 6.82

Es importante guardar en mente que el establecimiento de un rango de valores el cual puede ser separado sea encontrado por un método dado para una población de personas normales es dependiente bajo una multiplicidad de factores. La especificidad del método, la población procesada y la precisión del método en las manos del analista. Por estos razones cada laboratorio dependiente bajo el rango de valores esperados establecidos por el fabricante solamente hasta un rango local pueden ser determinados por los análisis usando el método calibrado.

**CARACTERÍSTICAS DEL DESEMPEÑO**

La precisión dentro y entre los ensayos del Sistema de Prueba de microplaca TSH-ELISA fue determinada por análisis en 3 diferentes niveles de suero de control. El número, valor promedio, la desviación estándar y el coeficiente de variación para cada uno de estos sueros controles son presentados en la Tabla 2 y Tabla 3.

TABLA 2

Precisión dentro del Ensayo (Valores en $\mu\text{UI/ml}$ )				
Muestra	N	X	$\sigma$	C.V.
Grupo 1	24	0.37	0.03	8.1%
Grupo 2	24	6.75	0.43	6.4%
Grupo 3	24	28.30	1.94	6.8%

TABLA 3

Precisión Entre Ensayos* (Valores en $\mu\text{UI/ml}$ )				
Muestra	N	X	$\sigma$	C.V.
Grupo 1	10	0.43	0.04	9.3%
Grupo 2	10	6.80	0.54	7.9%
Grupo 3	10	28.40	1.67	5.9%

\*Medido en 16 experimentos en duplicado durante 7 días.

**B. Exactitud**

El Sistema de prueba de microplaca Acclivity™ TSH-ELISA fue comparado con un ensayo de inmunoenjudo inmunométrico de referencia. Las muestras biológicas de las poblaciones eurofideñas, hipotiroideas e hipertiroides fueron usadas (Los valores van del rango de 0.01  $\mu\text{UI/ml}$  - 51  $\mu\text{UI/ml}$ ). El número total de las muestras fue de 241. La última ecuación de regresión cuadrada y el coeficiente de correlación fueron computados para la TSH-ELISA en comparación con el método de referencia. Los datos obtenidos son descritos en la Tabla 4

TABLA 4

Método	Medida (X) de mínimo Cuadrado	Coefficiente de Correlación
Este Método	4.34	0.985
Referencia	4.21	$Y = 0.47 + 0.989(X)$

Solamente pequeñas cantidades de muestras entre el sistema TSH-ELISA y el método de referencia son indicadas por la proximidad de los valores promedio. La ecuación de regresión cuadrada última y el coeficiente de correlación indican excelente acuerdo entre los métodos.

**C. Sensibilidad**

La sensibilidad (límite de detección) fue hallada determinando la variabilidad del calibrador sérico 0  $\mu\text{UI/ml}$  y usando la estadística  $3\sigma$  (95% de certeza) se calculó la dosis mínima. Para 1 hora incubación = 0.07  $\mu\text{UI/ml}$   
Para 2 horas de incubación = 0.027  $\mu\text{UI/ml}$

**D. Especificidad**

La reactividad cruzada del antígeno a tirotrópina ELISA, a sustancias seleccionadas fue evaluada por la adición de cantidades masivas de la interferencia de la sustancia a una matriz del suero en varias concentraciones. La reactividad cruzada fue calculada por la derivación de un radio entre la dosis de la sustancia que interfiere a la dosis de tirotrópina necesaria para producir la misma absorbancia.

**E. Correlación entre 1 hora y 2 horas de incubación**

Los procedimientos de 1 hora y 2 horas de incubación fueron comparados. Se emplearon 30 muestras biológicas (que van de 0.1 - 18  $\mu\text{UI/ml}$ ). La ecuación de regresión de mínimos cuadrados y el coeficiente de correlación fueron computados para el procedimiento de 2 horas (Y) en comparación con el método de 1 hora (X). La excelente concordancia es interceptada por el coeficiente de correlación, pendiente e interceptación.  
 $Y = 0.985(X) + 0.118$   
Correlación de regresión = 0.998

**REFERENCIAS**

- Yoshida, H., & Hwang, J.L. "Immunofluorescent assay of thyrotropin as a sensitive thyroid function test in the rodent laboratory". *Clinical Chemistry* 7:2 691 (1961)
- Chabwell, G. et al. "A new strategy for thyroid function testing". *Lancet* 1, 1117 (1989)
- Young, D.S., Pasternak, L.C., and Eisenman, U. "Effect of Drug on Clinical Laboratory Tests". *Clinical Chemistry* 21: 366 (1975)
- Shewell, C.A. et al. "Thyrotoxic/hyperthyroidism: differences in Functional Sensitivity of Immunometric Assay of Thyrotropin (TSH) and Impact on Reliability of Measurement of Subnormal Concentrations of TSH". *Clinical Chemistry* 41: 367 (1995)
- Becker-DeGroot-Pedersen, L. "A reliable biological assay of thyroid stimulating hormone". *Endocrinology* 131: 331-340 (1994)
- Brewer, L.E. "Evaluation of thyroid status in patients with thyrotoxicosis". *Clin. Chem.* 42: 174-181 (1996)
- Fisher, D.K. "Physiological variations in thyroid hormones: Physiological and pathophysiological considerations". *Clin. Chem.* 42: 135-153 (1996)

Revisión: 2 Date: 11/22/10 DCO: 0183

Cat # 325-300

Lot	Material	Material	Material	Material
1	10000	10000	10000	10000
2	10000	10000	10000	10000
3	10000	10000	10000	10000
4	10000	10000	10000	10000
5	10000	10000	10000	10000
6	10000	10000	10000	10000
7	10000	10000	10000	10000
8	10000	10000	10000	10000
9	10000	10000	10000	10000
10	10000	10000	10000	10000

For Order and Inquiries, please contact:

**Monobind Inc.**  
160 North Park Ave.  
Foster City, CA 95438 USA  
Tel: 650-325-3000 Email: [info@monobind.com](mailto:info@monobind.com)  
Fax: 650-325-3001 Email: [orders@monobind.com](mailto:orders@monobind.com)  
Please visit our website at [www.monobind.com](http://www.monobind.com)  
or contact your distributor for more information.

CE, ISO 9001, ISO 13485, ISO 14971, ISO 15189

**Instrumentos y Aplicaciones**

Los productos de Instrumentos de Monobind están diseñados para que sean fáciles de usar. Los kits incluyen el instrumento, el reactivo, el lector y el software. El software incluye el programa de adquisición de datos, el software de análisis de datos y el software de reportes. El software de reportes puede ser usado para generar reportes de resultados de ensayos. El software de reportes puede ser usado para generar reportes de resultados de ensayos. El software de reportes puede ser usado para generar reportes de resultados de ensayos.

Monobind ofrece diversos instrumentos, incluyendo el lector de placa microplaca, el luminómetro CIA diseñado para ser utilizado simultáneamente con nuestros productos y capaz de una calibración de dos puntos. Visite nuestro sitio en la web para obtener mayor información.

# ANEXO N° 6: INSERTO DE T4 TOTAL



## 1.0 INTRODUCCIÓN

Usar Previsto: Determinación cuantitativa de Concentración total de Troloxina en Suero o Plasma mediante un Inmunoensayo enzimático en micropelotas.

## 2.0 RESUMEN Y EXPLICACIÓN DEL ENSAYO

La medición de la concentración de Troloxina en suero es generalmente considerada como una prueba importante para diagnóstico *in-vitro* utilizada en la función Troloxina. La anterior ofrece el método necesario para la medición significativa de la metodología de ensayo que se ha venido registrando en las últimas tres décadas. Esta evolución del procedimiento se remonta a la prueba enzimática de Troloxina y a proteína (P5) puede (1) que corresponde a la prueba radio-inmune biológicamente sustituida (2).

La metodología de ensayo inmuno enzimático por micropelotas proporciona una alta sensibilidad y especificidad, ya que se requiere poca cantidad de muestra. De acuerdo con esta metodología, la referencia ofrece la muestra del suero o al control se primero adicionado a un pozo de micropelotas. El conjugado de enzima T4 es adicionado y luego los reactivos son mezclados. El resultado es una reacción de competencia entre el conjugado de enzima y la Troloxina nativa para un número limitado de anticuerpos que combinan sitios inmovilizados en el pozo.

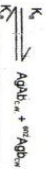
Después de completar el período de incubación requerida, el antígeno unido al conjugado de enzima de Troloxina es separado del conjugado no unido enzima de Troloxina mediante aspiración o decantación. La actividad de la enzima presente en la superficie del pozo se cuantifica mediante reacción con un sustrato adecuado para producir color.

El uso de varias referencias séricas de concentraciones conocidas de Troloxina permite la construcción de una curva de actividad y concentración. Desde la comparación a la curva de respuesta, una actividad del espécimen desconocida puede estar correlacionada con la concentración de Troloxina.

## 3.0 PRINCIPIO

**Inmunoensayo competitivo de Enzima (TIPO 5)**  
Los métodos especiales requeridos para un inmunoensayo enzimático de fase sólida incluyen anticuerpos inmovilizados, conjugado de enzima-antígeno y el antígeno nativo.

Después de la mezcla del antígeno inmovilizado, el conjugado enzima-antígeno y el suero que contiene el antígeno nativo, se obtiene una reacción de competencia entre el antígeno nativo y el conjugado enzima-antígeno para un número limitado de sitios de unión inmovilizados. La interacción es ilustrada mediante la ecuación que aparece más adelante:



$\text{Ac}_{10}$  = Anticuerpo Inmovilizado Monoespecífico (Cantidad constante)  
 $\text{Ag}$  = Antígeno Nativo (Cantidad variable)  
 $\text{Ag}K_1$  = Conjugado Enzima-Antígeno (Cantidad constante)  
 $\text{Ag}K_2$  = Complejo Antígeno-Anticuerpo  
 $\text{Ag}K_3$  = Conjugado enzima-antígeno - Complejo Anticuerpo

$K_1$  = Tasa Constante de Asociación  
 $K_2 = K_3 / K_1$  = Constante de Equilibrio

Después que el equilibrio se mantiene, la fracción unida al anticuerpo es separada del antígeno no unido mediante decantación o aspiración. La actividad enzimática determinada con un sustrato que genera luz en la reacción unida al anticuerpo será inversamente proporcional a la concentración nativa del antígeno. Al utilizar varias referencias séricas diferentes de valores de antígenos conocidos, se puede generar una curva de respuesta de cosas a partir de a cual se establece la concentración de antígeno de una sustancia desconocida.

## 4.0 REACTIVOS

**A. Referencias de Suero Humano - 1 ml/ml - Iconos A-F**  
6 vialos de suero de referencia Troloxina a concentraciones aproximadas de (0.0A) 2.0 (B) 5.0 (C) 10.0 (D) 15.0 (E) 25.0 (F)  $\mu\text{g/dl}$  Almacenar a 2-8°C. Un preservante ha sido adicionado. Para unidades SI:  $\mu\text{g/dl} \times 1.32 = \text{nmol/l}$ .

**B. Reactivo T4 enzima - 1.5 ml/vial - Icono E**  
Un (1) vial de conjugado de Troloxina peroxidasa de rábano pajar (HRP) en una matriz estabilizada de albúmina de bovina. Un preservante ha sido adicionado. Almacenamiento a 2-8°C.

**C. Buffer conjugado T3/T4 - 13 ml - Icono B**  
Un (1) reactivo en frasco que contiene buffer, tita roja, preservante e inhibidores de unión proteínica. Almacenar a 2-8°C.

**D. Placa incubada con anticuerpo T4 - 96 pozos - Icono F**  
Una micropelota de 96 pozos cubierta con suero anti-Troloxina de suero de vaca y empacada en una bolsa de aluminio con un agente de secado. Almacenar a 2-8°C.

**E. Solución de Luvado - 20 ml - Icono G**  
Un (1) vial que contiene un agente estabilizante en solución salina bufferada. Un preservante ha sido adicionado. Almacenar a 2-8°C.

**F. Sustrato A - 7 ml/vial - Icono S**  
Un (1) frasco que contiene Tetrametil benzidina (TMB) en buffer. Almacenamiento a 2-8°C.

**G. Sustrato B - 7 ml/vial - Icono S**  
Un (1) frasco que contiene peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{SO}_2$ ) en buffer. Almacenamiento a 2-8°C.

**H. Solución stop - 5 ml/vial - Icono T**  
Un (1) frasco que contiene un ácido fuerte (10N HCl). Almacenamiento a 2-8°C.

**I. Inserto del producto**  
**Nota 1:** No usar referencias más allá de la fecha de expiración.  
**Nota 2:** Evite la exposición prolongada al calor y a la luz. Los reactivos abiertos no establezcan por 90 días cuando son almacenados a 2-8°C. La estabilidad del kit y sus componentes están identificados en la etiqueta.

**Nota 3:** Todos los reactivos vienen para una micropelota de 96 pozos.

**4.1. Materiales requeridos que no se suministran:**  
1. Pipeta  $\mu\text{l}$  para distribuir 25  $\mu\text{l}$  y 50  $\mu\text{l}$  con una precisión superior a 1.5%.  
2. Dispensador(s) para distribuciones repetidas de 0.1 (0ml) y 0.350 ml con una precisión superior 1.5%.  
3. Dispensador (s) de Volumen graduable (20-200  $\mu\text{l}$ ) y (200-1000  $\mu\text{l}$ ) para conjugados y diluciones de sustratos.  
4. Lavador de micropelotas o botella oprimible (opcional) de capacidad de aspiración.  
5. Lector de micropelotas con longitud de onda de 450nm y 620nm de capacidad de absorbancia.  
6. Tubos de ensayo para dilución de conjugados de enzimas.  
7. Papel absorbente para secar los pozos de micropelotas.  
8. Envoltura plástica o sobres para micropelotas para los procesos de incubación.  
9. Aspiradora al vacío, opcional para los procedimientos de lavado.  
10. Cronómetro.  
11. Materiales para control de calidad.

**5.0 PRECAUCIONES**  
**Para uso Diagnóstico *In-Vitro***  
No usar en humanos o animales en forma intravenosa o externa.

Todos los productos que combinan suero humano han demostrado ser sensibles para antígenos de superficie de hepatitis B, VIH 1 y 2 y HCV según pruebas dirigidas por la FDA. Debido a que ninguna prueba controlada hasta ahora puede ofrecer una garantía total de ausencia de agentes infecciosos, los productos de suero humano deben manejarse como potencialmente peligrosos y en condiciones

de transmitir enfermedades. Los buenos procedimientos de laboratorio para el manejo de productos sanguíneos pueden ser encontrados en el Centro de Control de Enfermedades/ Instituto Nacional de Salud, "Seguridad en Laboratorios Microbiológicos y Biomédicos", 28th Edición, 1988, HHS Publication (N° CDC) 88-3395. La Eliminación Segura de los Componentes del CCU debe realizarse de acuerdo a la regulación local y a los requerimientos establecidos.

**6.0 RECOLECCIÓN DEL ESPÉCIMEN Y PREPARACIÓN**  
Las muestras deben ser sangre, suero y se deben emplear las precauciones en el manejo de suero. Para evitar cualquier posible contaminación de las muestras se debe tomar una muestra de suero en un vial. La sangre se mezcla en tubo para pipetear y luego se centrifuga en el rotor superior sin aditivos ni anti-coagulantes para el suero o tubo (s) evacuado que contiene EDTA o heparina. Dejar que la sangre se coagule para extraer las muestras de suero. Centrifugar la muestra para separar el suero o plasma de las células.

Las muestras pueden ser refrigeradas a 2-8°C por un período máximo de 5 días. Si la muestra(s) no puede ser analizada dentro de este tiempo, la muestra(s) puede ser almacenada a temperatura de -20°C por más de 30 días. Evitar la congelación y descongelación repetida. Si el ensayo se hace en duplicado, se requiere 0.350 de la muestra.

**7.0 CONTROL DE CALIDAD**  
Cada laboratorio ensayar los controles a niveles de interior medio y mayor nivel para el promedio de coeficiente de variación. Estos controles serán tratados como desconocidos y los valores determinados en cada procedimiento de prueba realizado. Las tarjetas de control de calidad serán mantenidas y se seguirán describiendo de los reactivos durante el uso. La estabilidad de los reactivos se evaluará en los lotes de producción. La estabilidad de los reactivos se evaluará en los lotes de producción. La estabilidad de los reactivos se evaluará en los lotes de producción. La estabilidad de los reactivos se evaluará en los lotes de producción.

**8.0 PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS**  
**1. Reactivo A de trabajo = solución de conjugado T4-enzima**  
Diluir el conjugado T4-enzima en una relación de 1:11 con buffer de conjugado total T3/T4 en un recipiente adecuado. Por ejemplo, diluir 180  $\mu\text{l}$  de conjugado con 1.6 ml de buffer para 16 pozos (se forma un exceso ligero de la solución). Este reactivo debe ser usado dentro de las 24 horas para el rendimiento máximo del ensayo. Almacenar a 2-8°C.

**2. Buffer para Lavado**  
Diluir los componentes del Concentrado de Lavado a 1000 ml con agua destilada y 2 desintegrados en un contenedor de almacenamiento adecuado. Almacenar de 2-8°C hasta 60 días.

**3. Solución de Sustrato de Trabajo**  
Verificar el contenido del vial color ámbar marcado como "Solución A", dentro del vial transparente "Solución B", colocar la tapa amarilla en el vial transparente para una fácil identificación. Mezclar y retirar según corresponda. Almacenar de 2-8°C.

**Nota 1:** No use el sustrato de trabajo si este es de color azul.  
**Nota 2:** No use los reactivos que estén contaminados o que tengan crecimiento bacteriano.

**9.0 PROCEDIMIENTO DE PRUEBA**  
**Antes de proceder con el análisis:** Verifique los reactivos, las referencias séricas y los controles a temperatura ambiente (20-25°C). "El procedimiento de la prueba debe ser desarrollado por personal experimentado y profesionalmente entrenado."

1. Formar los pocillos de a micropelota para cada suero de referencia, control y espécimen de paciente que debe ensayarse en duplicado. Colocar las tirs no utilizadas de micro pozos nuevamente en la bolsa de aluminio, sellar y almacenar a 2-8°C.  
2. Pipetear 0.025 ml (25  $\mu\text{l}$ ) del suero de referencia apropiado, control o espécimen dentro del pocillo etiquetado.  
3. Adicionar 0.100ml (100  $\mu\text{l}$ ) del suero de trabajo A, Reactivo de enzima T4 en todas las pozos (Consultar la sección de preparación de reactivos).

4. Agitar suavemente la micropelota durante 20-30 segundos para mezclar y lavar.  
5. Incubar durante 60 minutos a temperatura ambiente.  
6. Eliminar el contenido de la micropelota mediante decantación o aspiración. Si por el método de decantación, secar la placa con papel absorbente.  
7. Adicionar 350  $\mu\text{l}$  de buffer de lavado (ver Sección Preparación de Reactivos), decantar, secar o aspirar. Repetir dos (2) veces más para obtener un total de tres (3) lavados. Se puede utilizar un lavador automático para lavar la placa. Si se utiliza un lavador automático, asegure de que el agua utilizada para el lavado esté desionizada. Si se utiliza un frasco de lavado, lavar cada pozo continuando el recipiente, frotar las burbujas de aire para distribuir el lavado. Decantar el lavado y repetir dos (2) veces adicionales.  
8. Adicionar 0.100 ml (100  $\mu\text{l}$ ) de solución sustrato (ver Reactivo) a todos los pozos (Ver Sección de Preparación del Reactivo). Siempre adicione reactivos en el mismo orden para minimizar las diferencias del tiempo de reacción entre los pocillos.  
**NO AGITAR LA PLACA DESPUÉS DE LA ADICIÓN DEL SUSTRATO**  
9. Incubar a temperatura ambiente durante 15 minutos.  
10. Adicionar 0.050ml (50  $\mu\text{l}$ ) de solución de parada de reacción a cada pozo y mezclar suavemente durante 15-20 segundos. Adicionar siempre los reactivos en el mismo orden para minimizar las diferencias de tiempo de reacción entre los pozos.  
11. Leer la absorbancia en cada pozo a 450nm (utilizando una longitud de onda de referencia de 620-630 nm para minimizar las interferencias de los pozos) en un lector de micropelotas. Los resultados deberán leerse dentro de los siguientes 30 minutos después de la lectura con una concentración de referencia a 25  $\mu\text{g/dl}$  dentro del pozo de la muestra. (Lea el procedimiento manual para concentración uniforme de proteínas). Multiplicar el valor de lectura por 2 para obtener la concentración de Troloxina.

**16.0 CÁLCULO DE RESULTADOS**  
Una curva dosis respuesta es usada para determinar la concentración de Troloxina en especímenes desconocidos.

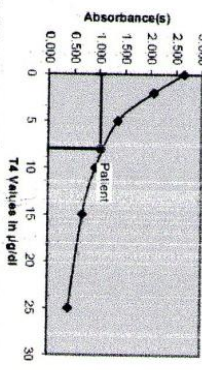
1. Registrar la absorbancia obtenida a partir de la impresión de la lectura de micropelotas como se señala en el Ejemplo 1.  
2. Graficar la absorbancia para cada referencia de suero en duplicado vs. la concentración T4 correspondiente en  $\mu\text{g/ml}$  en el papel de gráfica lineal. (No promediar los duplicados de las referencias de suero antes de hacer el trazado).  
3. Corregir los puntos mediante una curva de mejor ajuste.  
4. Para determinar la concentración de T4 de una muestra desconocida, usar la absorbancia promedio de los duplicados para cada muestra desconocida en el eje vertical del gráfico, determinar el punto de intersección en el eje horizontal del gráfico (los duplicados de las muestras desconocidas pueden promediarse según se indica). En el siguiente ejemplo, la absorbancia promedio (1.022) intercepta la curva estándar en (8  $\mu\text{g/dl}$ ) de la concentración T4 (ver figura 1).

**Nota 1:** El software de reducción de datos diseñado para análisis ELISA puede ser usado para la reducción de datos. Si se utiliza un software, la validación del software debe ser realizada.

ID. Muestra	Pozo Nombre	Abs (A)	Abs (B)	Valor ( $\mu\text{g/ml}$ )
CdA A	A1	2.848	2.650	0
	B1	2.652		
CdA B	C1	2.050	2.080	2
	D1	2.081		
CdA C	E1	1.344	1.365	5
	F1	1.366		
CdA D	G1	0.887	0.918	10
	H1	0.919		
CdA E	A2	0.678	0.688	15
	B2	0.659		
CdA F	C2	0.408	0.406	25
	D2	0.404		

CHI 1	E2	1.425	1.435	4.6
	F2	1.393		
	G2	0.81		
CHI 2	H2	0.808	0.613	16.3
	A3	0.384		
Paciente	B3	1.060	1.022	8.0

Figura 1



Los datos que se presentan en el ejemplo 1, figura 1 tienen el propósito de ilustrar solamente, por lo tanto no deben ser utilizados en lugar de la curva estándar elaborada con cada ensayo.

11.4. PARÁMETROS DE C.C.

En orden para que los resultados del ensayo sean considerados válidos, se deben cumplir las siguientes condiciones:

1. La absorbancia óptica de la muestra debe ser de 0.1 a 1.0.
2. Cuanto de más el control de calidad deben ubicarse dentro de los rangos establecidos.

12. ANÁLISIS DE RIESGOS

Las Actas de Seguridad (MSDS) y el Análisis de Riesgos de este producto están disponibles por requerimiento a Monobind Inc.

12.1. Desempeño del ensayo

1. Es importante que el tiempo de reacción en cada pozo sea mantenido en forma consistente para obtener resultados reproducibles.
2. El pipeteo de las muestras no se extenderá más de 10 minutos para evitar derivar el análisis.
3. No se deben emplear pipetas altamente ligéricas, hemostáticas o contaminadas.
4. Si más de una (1) pipeta se usará, se recomienda repetir la curva de respuestas a la obra.
5. La adición de la solución sustrato inicia una reacción química, la cual es terminada mediante la adición de la solución de parada. Por lo tanto el sustrato y solución de parada deben ser adicionados en la misma secuencia para eliminar cualquier derivación de tiempo durante la reacción.
6. Los lectores de placa realizan mediciones verticalmente. No tocar el fondo de los pozos.
7. La falta al renovar solución adherida en los pozos de aspiración 5 decimales puede resultar en imprecisión baja y resultados incorrectos.
8. Usar las componentes del mismo grupo no hacerlos los reactivos de diferentes conjuntos.
9. Las muestras de pacientes con concentraciones mayores a 35 µg/dl de suero se diluirán 1:5 con el suero de referencia T4 dentro del pozo de muestra, pipeteo 12.5 µl de muestra y 12.5 µl del suero de referencia de proteína anti-T4. La concentración de la muestra se obtiene multiplicando el resultado por el dilución de factor 2.

10. Es esencial un pipeteo preciso y exacto así como seguir el tiempo de reacción y la temperatura requerida. Cualquier desviación de las instrucciones de uso pueden afectar los resultados reactivos.

11. Se deben seguir las buenas prácticas de laboratorio, todos los estándares nacionales aplicables, regulaciones y leyes de manera estricta para asegurar el cumplimiento y uso adecuado del dispositivo.

12. Es importante calibrar todos los equipos, por ejemplo: pipetas, lectores, lavadores y/o instrumentos automatizados con este reactivo y realizar un mantenimiento preventivo rutinario.

13. El análisis de riesgo - como lo requiere la directiva MD 98/79/EC de la marca CE- para estos y otros dispositivos elaborados por Monobind, pueden ser solicitados vía Email: [monobind@monobind.com](mailto:monobind@monobind.com)

12.2 Interpretación

1. Las mediciones y la interpretación de los resultados deben ser desarrollados por personas expertas o profesionales entrenados.
2. Los resultados de laboratorio por sí solos son únicamente un dispositivo para determinar el cuidado del paciente y no deben ser la única evidencia en un diagnóstico particularmente si los resultados están en conflicto con pruebas clínicas, controles adecuados y otros parámetros de laboratorio.
3. Para resultados de pruebas válidas, los controles adecuados y otros parámetros de laboratorio deben estar dentro de los rangos establecidos y requerimientos del ensayo.
4. Si los kits de prueba están alterados, ya sea por rango de parámetros de diferente kits, lo cual puede producir resultados de prueba falsos o si los resultados son interpretados incorrectamente, Monobind no garantiza su estabilidad.
5. Si se utiliza el sistema de reducción de datos controlados por computador para interpretar los resultados del ensayo, es necesario que los valores de predicción para los cálculos se usen dentro del 10% de las concentraciones asignadas.
6. La concentración total de tiroxina será dependiente de una serie de factores, como el momento de la glándula tiroides, y su unión de tiroxina a TBG (5.4). De esta unión a la tiroxina (T3G), y total de tiroxina por sí sola no es suficiente para evaluar la condición clínica.
7. Los valores totales de tiroxina en suero se pueden elevar bajo condiciones tales como embarazo o administración de anticonceptivos orales. Un ensayo de captación T3G se puede realizar para calibrar la concentración relativa TBG con el propósito de determinar si el aumento T4 es causado por la liberación en el TEG.
8. Se encuentra una disminución de los valores totales de tiroxina en enfermedades de eliminación de proteínas, en ciertas deficiencias renales y en la administración de metformina, y condiciones de pérdida de peso. Consulte con los valores de referencia de tiroxina total en el Journal of the American Association of Clinical Chemists "NO USARLO EN TROMBAZOLE DE NEOMATOS".

13.0 RANGOS ESPERADOS DE VALORES

Se realizó un estudio de población de adultos eutiroideos para determinar los valores esperados en el sistema de prueba T4 AcubiD™ ELISA. Los valores (medios (X), de la desviación estándar (σ) y rangos esperados (2σ) son separados en Tabla 1.

Tabla 1. Valores Esperados para el sistema de prueba T4 ELISA (en µg/dl)

	Hombres	Mujeres*
Número de muestras	42	36
Promedio (X)	7.2	17
Desviación estándar (σ)	1.6	1.7
Rangos esperados (2σ)	4.4-10.8	4.8-11.6

\* Pacientes normales con altos niveles de TBG no fueron excluidos excepto si se trataba de mujeres embarazadas.

Es importante tener en cuenta que el establecimiento de una serie de valores que puedan esperarse mediante la aplicación de un método dado para una población de personas "normales" dependiente de una serie de factores como: sexo, la especificidad del método, la población probada y precisión del método según criterio del analista. Por estas razones cada laboratorio deberá utilizar el rango de valores esperados establecidos por el fabricante solamente hasta cuando los análisis pueden establecer un rango propio utilizando el método con una población homogénea al área en el laboratorio esta ubicada.

14.0 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO

14.1 Precisión

Las precisiones intra e inter ensayo del sistema de pruebas T4 AcubiD™ ELISA se determinaron mediante análisis de tres niveles de suero de control en poel. El número, (n) valor medio (X), desviación estándar (σ) y el coeficiente de variación (CV%), para cada uno de estos sueros controlados son presentados en la Tabla 2 y Tabla 3.

Tabla 2. Precisión Intra-Ensayo (Valores en µg/dl)

Muestra	N	X	σ	CV, %
Bajo	20	6.87	0.16	2.3
Normal	20	9.96	0.41	4.6
Alto	20	13.13	0.17	1.3

Tabla 3. Precisión Inter-Ensayo (Valores en µg/dl)

Muestra	N	X	σ	CV, %
Bajo	20	5.78	0.37	6.3
Normal	20	9.41	0.57	6.3
Alto	20	16.18	1.21	7.2

\* Medido en 10 experimentos en duplicado durante un periodo de 10 días.

14.2 Sensibilidad

El sistema de prueba T4 AcubiD™ ELISA ELISA tiene una sensibilidad de 3.2 µg/dl. Este valor es equivalente a una muestra que contenga una concentración de 0.128 µg/dl. La sensibilidad se evaluó determinando la variabilidad del calibrador de suero (µg/dl) y utilizando un valor estándar de 2σ (95% de confianza) para calcular la dosis mínima.

14.3 Especificidad

El método ELISA AcubiD™ ELISA se comparó con un método de radioinmunoensayo de los reactivos. Se utilizaron muestras de reactivos formados de anticuerpos hipodermos, anticuerpos e hipodermos. (Los valores estándar en el rango de 0.8 a 1.8 µg/ml (-2.5 µg/ml). El número total de estas muestras fue de 13. La ecuación de regresión de mínimos cuadrados y el coeficiente de correlación se calcularon para el uso del método. El método T4 AcubiD™ ELISA se comparó con el método de referencia. Los datos obtenidos se observan en la tabla 4.

Tabla 4. Matriz de Análisis de la Calidad de la Última Regresión de Correlación

Método	Medida	Análisis de la Última Regresión Cuadrática	Coefficiente de Correlación
Este Método	3.07	Y = 0.39 - 0.952(X)	0.934

Solamente se indican cantidades mínimas de sesgos entre este método y el método de referencia son indicados por la proximidad de los coeficientes. La ecuación de regresión mínimos cuadrados y el coeficiente de correlación indican excelente ordenamiento del método.

14.4 Especificidad

La reactividad cruzada (especificidad) del anticuerpo de Tiroxina a sustancias seleccionadas fue evaluada por la adición de la sustancia de interferencia a una matriz sérica a distintas concentraciones. La reactividad cruzada fue calculada dividiendo la dosis de la sustancia interferente y la dosis de tiroxina necesaria para desplazar la misma cantidad de conjugado.

Sustancia	Reacción cruzada	Concentración
Tiroxina	1.0000	10 µg/dl
d-Tiroxina	0.8800	100 µg/dl
r-Tiroxina	0.0750	100 µg/dl
Yodoacetona	0.0300	100 µg/dl
Yodopropil	0.0001	100 µg/dl
Dipodotoniol	0.0001	100 µg/dl
Dipodotoniol	0.0001	100 µg/dl

15.0 REFERENCIAS

1. Barker S.B., H. "determination of protein bound iodine". Journal Biological Chemistry, 173, 175 (1948).
2. Chopra, I.J., Sobornoff, D.H., Ho R.S. "A Radioimmunoassay of Thyroxine". J Clinical Endocrinol 33, 865 (1971).
3. Young D.S., Peschler, L.C., and Cushman, U. "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests". Clinical Chemistry 21, 3690, (1975).
4. Sterling, L. "Diagnosis and Treatment of Thyroid Disease, Cleveland CRC Press, p. 9-51, (1975).
5. Reay P., Farrer, J., Becker G. Tor, A. "Assessment of thyroid status in pregnancy". British Med. Jour. 307, 117-180 (1983).
6. Chatterjee, S. "Thyroid 6, 38, 1306 (1989).
7. Chou F.F., Wang P.W., Hsiang S.C. "Result of subclinical hypothyroidism for Graves' disease". Thyroid 3, 253-256 (1993).
8. Muzzafarri, E.L., Ghazib H. "Thyrotoxic supraventricular therapy in patients with nodular thyroid disease". Ann Intern Med 123, 386-394 (1996).
9. Atwood EC, Seddon RM, Probert DE. "The T4/T3B ratio and the investigation of thyroid function". Clin Biochem, 11, 218 (1978).

10. Jain R, Isaac RM, Gotchaik M.E et al. "Transient central hypothyroidism as a cause of failure to drive in newsmen and infants". U. En Endocrinology Invest, 17, 531-537 (1984).

Revision: 3

Fecha: 06/11/12 DCO-0640  
Cdl. # 225-390

Reactivos (llenos)	1 ml set	1 ml set	2 ml set	2 ml set x 2
A) 1 (1.5 ml)	2 (1.5 ml)	1 (8)	2 (6 ml)	
B) 1 (1.5 ml)	2 (1.5 ml)	1 (6 ml)	2 (6 ml)	
C) 1 (1.5 ml)	2 (1.5 ml)	1 (6 ml)	2 (6 ml)	
D) 1 (1.5 ml)	2 (1.5 ml)	1 (6 ml)	2 (6 ml)	
E) 1 (20 ml)	2 (20 ml)	5 (6 ml)	10 (6 ml)	
F) 1 (7 ml)	2 (7 ml)	1 (30 ml)	2 (30 ml)	
G) 1 (7 ml)	2 (7 ml)	1 (30 ml)	2 (30 ml)	
H) 1 (6 ml)	2 (6 ml)	1 (30 ml)	2 (30 ml)	

Para Órdenes y Consultas, por favor contáctese

Monobind Inc.  
100 North Pointe Drive  
Lake Forest, CA 92530 USA

Tel: +1 949 951 2665 Email: [info@monobind.com](mailto:info@monobind.com)  
Fax: +1 949 951 3539 Web: [www.monobind.com](http://www.monobind.com)

Por favor visite nuestra página web para conocer más acerca de nuestros interesantes productos y servicios



CE 2008  
3951 DB Muisen, The Netherlands  
[www.ceps.com](http://www.ceps.com)

# ANEXO N° 7: INSERTO DE T3 TOTAL



**Sistema de Prueba Triyodotironina Total (T3)**  
**Código del Producto: 125-300**

## 1.0 INTRODUCCION

Propósito: La Determinación cuantitativa de la Concentración de Triyodotironina Total en Suero o Plasma Humano por Inmunoensayo de sustrato con microplacas.

## 2.0 RESUMEN Y EXPLICACION DE LA PRUEBA

La medición de la concentración de triyodotironina sérica es generalmente considerada como una herramienta valiosa en el diagnóstico de la disfunción tiroidea. Su importancia ha proporcionado el impulso para la mejora significativa de la metodología del ensayo que ha ocurrido en las últimas 2 décadas. La llegada del ensayo microplaca y el descubrimiento de agentes bloqueadores a las proteínas séricas que se unen a T3 han desarrollado en la evolución del radioinmunoensayo (RIA) en forma simple.

El principio de inmunoensayo con enzima en microplacas proporciona la prueba con sensibilidad óptima donde se requiere suero, muestra del paciente o el estándar. El primer paso es la unión de la microplaca. El conjugado enzima T3 es adicionado entre el conjugado de enzima y la triyodotironina nativa para un híbrido limitado de anticuerpos que se combinan a los sitios inmovilizados en el pozo. Después de completar el periodo de incubación requerida, el antígeno unido al conjugado de enzima-T3 es separado del conjugado no unido enzima-T3 por aspiración o decantación. La actividad de la enzima presente en la solución del pozo es detectada por reacción con un sustrato adecuado para producir un color.

El empleo de varios sueros referencia en concentraciones de triyodotironina conocidas permite la construcción de una gran curva de dosis respuesta, la actividad de una muestra desconocida puede ser correlacionada a la concentración de T3.

## 3.0 PRINCIPIO

### Inmunoensayo enzima competitivo (TPO 5)

Los reactivos esenciales requeridos para un inmunoensayo competitivo en fase sólida incluyen el anticuerpo inmovilizado, el conjugado enzima-antígeno y el antígeno nativo. Después de completar el antígeno inmovilizado, el conjugado enzima-antígeno y un suero de antígeno nativo, una reacción de competencia resulta entre el antígeno nativo y el conjugado enzima-antígeno para un número limitado de sitios de unión disponibles.

La interacción es ilustrada por la siguiente ecuación:



$Ac_{12}$  = Anticuerpo Inmovilizado Microespecífico (Cantidad constante)  
 $Ag$  = Antígeno Nativo (Cantidad variable)  
 $Ag + Ac_{12}$  = Conjugado Enzima-Antígeno (Cantidad constante)  
 $Ag_{12}$  = Complejo Antígeno-Anticuerpo  
 $Ag_{12}$  = Complejo Anticuerpo-Conjugado enzima-antígeno  
 $K_1 =$  Tasa Constante de Asociación  
 $K_2 =$  Tasa Constante de Desasociación

K<sub>1</sub> = Tasa Constante de Asociación  
 K<sub>2</sub> = Tasa Constante de Desasociación

Después que el equilibrio se mantiene, la reacción unida al anticuerpo de antígeno nativo y unido al anticuerpo inmovilizado en la microplaca es inmensamente mayor que la reacción unida al anticuerpo inmovilizado en la microplaca. Los valores de antígenos conocidos, una curva de dosis respuesta puede ser generada en la cual la concentración del antígeno o de un valor desconocido puede ser hallado.

## 4.0 REACTIVOS

### Materiales Proporcionados:

- A. Suero Humano de Referencia - 1ml/vial - Iconos A-F
- B. 6 vales de suero de referencia para la triyodotironina a concentraciones de 0. A, 0.5 (B), 1.0 (C), 2.5 (D), 5.0 (E) y 7.5 (F) ng/ml. Almacenar de 2-8°C. Un preservante ha sido adicionado. Para Unidades SI: ng/ml x 1.356 = nmol/L.
- B. Reactivo de Enzima - T3, 1ml/vial - Icono (E)
- C. Reactivo de Enzima - T3, 1ml/vial - Icono (E)
- D. Una (1) vial que contiene el conjugado de triyodotironina-proteína de albúmina (HP) en una matriz estabilizada con albúmina. Un preservante ha sido adicionado. Almacenar de 2-8°C.
- C. Conjugado T3/T4 Tampón - 13 ml - Icono (B)
- D. Una (1) botella de reactivo que contiene empuñador, colorante rojo, preservante y antibiótico de unión a proteínas. Almacenar de 2-8°C.
- D. Placa recubierta con Anticuerpo T3, 96 pozos - Icono (F)
- E. Una microplaca de 96 pozos (microplaca) en suero anti-T3 y empacada en una bolsa de aluminio con un agente de secado. Almacenar de 2-8°C.
- E. Concentrado de solución de Lavado - 20 ml - Icono (A)
- F. Una (1) vial que contiene un surfactante en una solución salina tamponada. Un preservante ha sido adicionado. Almacenar de 2-8°C.
- F. Sustrato A - 7 ml/vial - Icono S<sup>1</sup>
- G. Sustrato B - 7 ml/vial - Icono S<sup>2</sup>
- G. Una (1) botella que contiene peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en buffer. Almacenar de 2-8°C.
- H. Solución de parada - 5ml/vial - Icono (D)
- H. Una (1) botella que contiene un ácido fuerte (1N HCl). Almacenar a 2-8°C.

**Nota 1:** No usar reactivos más allá de la fecha de expiración indicada de 2 años. Los reactivos son estables por 60 días cuando son almacenados en su estado de 2 años de estabilidad del kit y los componentes son identificados en la etiqueta del kit y Nota 3. Los reactivos son para cada uno de los 96 pozos de la microplaca.

- 4.1 **Materiales Requeridos pero no proporcionados:**
  - 1. Pipeta(s) capaces de distribuir volúmenes de 50µl con una precisión superior al 1.5%.
  - 2. Dispensador(es) para las distribuciones repetidas de volúmenes de 100 µl (0.550ml) con una precisión superior 1.5%.
  - 3. Pipeta(s) de volumen ajustado (20-200 µl) y (200-1000 µl) para el conjugado y las soluciones del sustrato.
  - 4. Lavar y aspirar reactivos y las soluciones del sustrato.
  - 5. Lector de microplaca con capacidad de lectura de 600nm a 620nm.
  - 6. Tubo de prueba para preparación de conjugado de enzima y sustancias A y B.
  - 7. Papel absorbente para secar los pozos de la microplaca.
  - 8. Cubierta plástica o microplaca para los pasos de incubación.
  - 9. Aspirador al vacío o vacío (opcional) para los pasos de lavado.
  - 10. Condicionero
  - 11. Materiales de control de calidad.
- 4.2 **PRECAUCIONES** Para uso Diagnóstico In Vitro  
 No para uso externo ni interno en humanos o animales

Todos los productos que contienen suero humano han sido hallados libres de antígenos para hepatitis B, VIH-1 y 2 y anticuerpos HCV según por estas exigencias por la A. Ninguna prueba puede asegurar con confiabilidad la ausencia de agentes infecciosos, potencialmente peligrosos y con capacidad de transmitir enfermedades. Las pruebas realizadas de laboratorio para el manejo de Control de Enfermedades pueden ser encontradas en el Centro de Control de Enfermedades, Instituto Nacional de Salud, "Seguridad en Laboratorios Microbiológicos y Bacteriológicos", 2da Edición, 1988, HHS Publicación Nº (CO-2) 86-3356.

Puede asegurar con confiabilidad la ausencia de agentes infecciosos, potencialmente peligrosos y con capacidad de transmitir enfermedades. Las pruebas realizadas de laboratorio para el manejo de Control de Enfermedades pueden ser encontradas en el Centro de Control de Enfermedades, Instituto Nacional de Salud, "Seguridad en Laboratorios Microbiológicos y Bacteriológicos", 2da Edición, 1988, HHS Publicación Nº (CO-2) 86-3356.

La estructura segura de los componentes del kit debe ser acorde con los requerimientos estadísticos y de regulación.

## 6.0 RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Se deben seguir las precauciones en la recolección de muestras de sangre, plasma o suero por punción venosa. Para la concentración de suero o plasma por la mañana en ayunas. La sangre será recogida en un tubo de prueba venoso con tapa roja sin aditivos o anticoagulantes para suero (o tubos que contengan EDTA o Heparina). Permitir que la sangre coagule. Centrifugar la muestra para separar el suero o plasma de las células.

Las muestras pueden ser refrigeradas de 2-8°C por un periodo máximo de 2 días. Si el suero no puede ser procesado durante este tiempo, 30 días. Etiquetar y almacenar a temperatura de 2-8°C. Complementar y descompletar el suero. Cuando se procesa en duplicado, se requieren 0.100 ml de muestra.

## 7.0 CONTROL DE CALIDAD

Cada laboratorio debe analizar controles externos a niveles en los rangos de hidrógeno sulfuro, este control externo para monitorear el desempeño de los reactivos. Estos controles externos no deben hacerse un seguimiento al desempeño de los reactivos suministrados. Se deben utilizar métodos estadísticos pertinentes para evaluar las variaciones. Los laboratorios en particular deben establecer límites aceptables de desempeño de los ensayos. Adicionalmente, la intensidad mínima de luz deberá ser consistente con lo registrado en el momento. Una desviación significa que hay cambios no permitidos en las condiciones experimentales o degradación de los reactivos en los reactivos frescos serán usados para determinar la razón para los variaciones.

## 8.0 PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

- 1. **Reactivo de Trabajo A - Solución de Conjugado T3 - Enzima**  
 Diluir el conjugado T3 solución 1:11 con el buffer del conjugado T3/T4 total en un concentrador adecuado. Por ejemplo, diluir 10µl de conjugado con 110 µl de buffer para 16 pozos (un exceso leve de solución es hecha). Este reactivo será usado dentro de las 24 horas para el rendimiento máximo del ensayo. Almacenar de 2-8°C.  
 Cantidad de buffer requerido = número de pozos x 0.1  
 Cantidad de suero T3 necesario = la reacción 20-200 µl  
 Tmpor:  $18 \times 0.01 = 0.18 \text{ ml (180 } \mu\text{l)}$  para el conjugado enzima T3.
- 2. **Tampón para Lavado**  
 Diluir los contenidos del Concentrado de Lavado a 1000 ml con agua destilada o desionizada en un concentrador de lavado por 60 días.
- 3. **Reactivo de Sustrato de Trabajo**  
 El sustrato de trabajo será preparado como solución 1% dentro del vial del suero solución B. Marque la tapa amarrilla al vial cuando para hacer el sustrato e identifique según conceptual. Almacenar de 2-8°C.

**Nota 1:** No use el sustrato de trabajo si se ve azul.  
**Nota 2:** No use reactivos que estén contaminados o que tengan crecimiento bacteriano.

## 9.0 PROCEDIMIENTO DE PRUEBA

Antes de proceder con el ensayo, permita que todos los reactivos, los estándares y las muestras de suero y los controles se equilibren a temperatura ambiente (20-27°C).  
 "La prueba puede ser procesada por personal experto o por un profesional entrenado."

1. Formar los pozos de la microplaca para cada suero de referencia, muestra del paciente y control para que sea ensayada en duplicado. Ubique nuevamente en la bolsa de

- 2. alimbrado, cualquier tira de micro pozos no usado sellado y almacenar de 2-8°C.
- 3. Control 0.050 ml (50µl) del suero de referencia apropiado, almacenar de 2-8°C.
- 3. Adicione 0.100ml (100µl) del suero de trabajo A, reactivo (reactivos).
- 4. Agite la microplaca (aproximadamente por 20-30 segundos para mezclar y colar).
- 5. Incubar 80 minutos a temperatura ambiente.
- 3. Decante los contenidos de la microplaca por decantación o aspiración. Si decanta, seque la placa con papel absorbente. Adicione 50µl de buffer de lavado (ver Sección Preparador de Reactivos), decante (golpee y seque) o aspire. Repita 2 veces este proceso para un total de 3 lavados. Un lavador de placa desechable o manual puede ser usado. Siga las instrucciones o manual para el uso apropiado. Si se emplea la botella de lavado, hacer cada pozo propiamente 2 veces adicionales.
- 3. Adicione 0.100 ml (100µl) de solución de sustrato de trabajo a todos los pozos (ver Sección de Preparación de Reactivos). Siempre adicione reactivos en el mismo orden para minimizar las diferencias del tiempo de reacción entre los pozos.
- 3. **NO AGITAR LA MICROPLACA DESPUES DE ADICIONAR EL SUSTRATO**
- 3. Incubar a temperatura ambiente por 15 minutos.
- 10. Adicione 0.050 ml (50µl) de solución de parada para cada pozo reactivo en el mismo orden para minimizar las diferencias del tiempo de reacción entre los pozos.
- 11. Leer la absorbencia en cada pozo a 450 nm usando una longitud de referencia en cada pozo a 620-650 nm para minimizar las imperfecciones del pozo en un lector de microplaca. Los resultados serán listados dentro de los (30) minutos de adicionar la solución de parada.

**Nota:** Para procesar muestras con concentraciones mayores de 7.5 ng/ml, prepare 2µl de muestra y 2µl del suero de referencia 0 dentro del pozo de la muestra (eso mantiene una proporción constante de la proteína). Mezclar el valor leído por 2 y obtener la concentración de Triyodotironina.

## 10.0 CALCULO DE RESULTADOS

- Una curva dosis respuesta es usada para hallar la concentración de Triyodotironina en muestras desconocidas.
  1. Registrar la absorbencia obtenida del listado del lector de microplacas como se indica en el Ejemplo 1.
  2. Graficar la absorbencia para cada suero de referencia por duplicado contra la concentración T3 correspondiente en ng/ml en el papel de grafía lineal (no poner los valores de los sueros de referencia por duplicado antes de trazarlo).
  3. Leer el mejor curso de ajuste a través de los puntos de la grafía.
  4. Determinar la concentración de T3 para valores desconocidos, ubicando el promedio de absorbencia de cada muestra de cada valor desconocido sobre el eje vertical y de la línea de intersección en el punto de intersección en la curva y leer la concentración (en ng/ml) del eje horizontal X de la grafía (los duplicados de valores desconocidos pueden ser promediados como está indicado). En el siguiente ejemplo, la absorbencia promedio (1.150) intercepta la curva dosis respuesta a la concentración (1.35 ng/ml) de T3. (Ver figura 1).

**NOTA:** El software reducción de datos de computadoras diseñadas para (ELISA) también puede ser utilizadas para la reducción de datos. Si el software es utilizado, la variación del software debe ser reportada.



# ANEXO N° 8: INSERTO DE T3 LIBRE



**Uso:** Determinación cuantitativa de la concentración de Tryptodorrina Libre en Suero Humano por medio de un **Inmunoensayo enzimático en microplaca**. Se considera que los niveles de T3 reflejan la cantidad de T3 disponible para las células pudiéndose determinar por consiguiente el estado metabólico clínico de T3.

### RESUMEN Y EXPLICACIÓN DEL ENSAYO

La Tryptodorrina, una hormona tiroidea, circula en el torrente sanguíneo enlazada a proteínas transportadoras (1, 2). La principal proteína de transporte es la globulina enlazada con la tiroxina (TBG). Sin embargo, un solo la proteína libre (sin enlazar) de la Tryptodorrina se considera como responsable de la acción biológica. Por otra parte, las concentraciones de las proteínas portadoras se alteran en muchas condiciones clínicas, tales como el embarazo. El uso de sondas normales de funcionamiento de la tiroxina, dadas a que las concentraciones de proteínas portadoras se alteran, el nivel total de Tryptodorrina cambia de tal forma que permanece constante la concentración de Tryptodorrina Libre. De esta forma, las mediciones de las concentraciones de Tryptodorrina Libre se correlacionan de manera más confiable con el estado clínico que con los niveles totales de Tryptodorrina.

Por ejemplo, el incremento de las proteínas portadoras de Tryptodorrina asociados con el embarazo, anticonceptivos orales y terapia con estrogénos, hace que los niveles de T3 total se encuentren más elevados, mientras que la concentración del T3 libre permanece básicamente sin modificaciones.

El método de inmuno-ensayo enzimático en microplaca, proporcióna una técnica con una alta sensibilidad con bajas cantidades de manipulación para la determinación directa del T3 Libre. En este método, el suero de referencia, la muestra del paciente o control es primero adicionada al pozo de la microplaca. El conjugado enzima-T3 (método análogo) se adiciona, y luego los reactivos siguen de una mezcla buffer. Una reacción competitiva resulta entre el conjugado enzima-T3 y la Tryptodorrina Libre por un número limitado de antígenos inmovilizados en el pozo.

Luego de completar el periodo de incubación requerido, el anticonjugado unido conjugado enzima - Tryptodorrina Libre es separado del conjugado enzima Tryptodorrina que no formó complejo, por aspiración o desahucado. La actividad de la enzima presente en la superficie del pozo se cuantifica mediante reacción con el sustrato adecuado para producir color. El uso de varias referencias de suero de concentración de tirocoides de Tryptodorrina Libre permite la construcción de un gráfico de actividad y concentración. A partir de la comparación con la curva dosis respuesta, se puede determinar la actividad de una muestra desconocida con la concentración de Tryptodorrina Libre.

### PRINCIPIO

#### Inmunoensayo enzimático competitivo Tipo 5

##### Método análogo para T3 Libre

Los reactivos esenciales requeridos para un inmuno ensayo enzimático de fase sólida incluyen el antígeno T3 inmovilizado T3, el conjugado enzima - T3 y el antígeno T3 libre nativo. El conjugado - enzima T3 Libre no debe tener ningún enlace

medible con proteínas séricas especialmente TBG y albúmina. El método logra este propósito.

Al mezclar el anticonjugado inmovilizado, el conjugado enzima -T3 y un suero que contiene el antígeno nativo libre T3, se obtiene una reacción competitiva entre el T3 libre nativo y el conjugado enzima -T3 para un número limitado de sitios de enlace de anticuerpos. La interacción se ilustra mediante la siguiente ecuación:



Ag = Antígeno nativo (cantidad variable)  
 Ag' = Conjugado de enzima - Antígeno (Cantidad constante)  
 E = Anticuerpo inmovilizado no específico (cantidad constante)  
 EAg = Complejo enzima - antígeno  
 EAg' = Conjugado enzima - antígeno - complejo de anticuerpos.

$K_1 =$  Tasa Constante de asociación  
 $K_2 =$  Tasa Constante de disociación  
 $K_3 =$   $K_4 =$  Constante Equilibrio

Después de lograr el equilibrio, la reacción ligada al anticuerpo se separa del antígeno no ligado mediante desahucado o aspiración. La actividad enzimática, determinada por la reacción con un sustrato que genera luz, dentro de la reacción de enlace de anticuerpos, será inversamente proporcional a la concentración del antígeno libre nativo. Al utilizar varias referencias de suero de valores conocidos de antígenos, se puede generar una curva dosis respuesta a partir de la cual se evalúa la concentración de antígeno de una muestra desconocida.

### REACTIVOS

#### Materiales suministrados

**A. Calibradores Suero Humano - 1 ml/vial - Iconos A-F**  
 6 viales de calibradores de suero para Tryptodorrina Libre a concentraciones aproximadas de 0.4, 1.0, 1.0, 3.0, 5.0, 8.0, 16.0 (f) pg/ml. Almacénar de 2-8°C. Un preservante ha sido adicionado. Se obtienen niveles exactos en las etiquetas de acuerdo con datos específicos del lote.  
 Para unidades SI: 1 pg/ml x 1.376 = pmol/L

**B. Reactivo enzimático T3 - 13 ml/vial - Icono E**  
 Un (1) vial de conjugado de peroxidasa de rábano (HRP) - Tryptodorrina, en una matriz estabilizadora de alúmina. Almacénar de 2-8°C. Un preservante ha sido adicionado. Almacénar de 2-8°C.

**C. Placa receptiva de anticuerpo T3 - 96 pozos - Icono G**  
 Una microplaca de 96 pozos recubierta con suero de antitryptodorrina de oveja y empacada dentro de una bolsa de aluminio con agente desecante. Almacénar de 2-8°C.

**D. Concentrado de solución de lavado - 20 ml - Icono H**  
 Un (1) vial que contiene un sufactante en solución salina amortiguada. Un preservante fue adicionado. Almacénar de 2-8°C.

**E. Sustrato A - 7 ml/vial - Icono G**  
 Un (1) botella que contiene tetranil benzidina (TMB) en solución amortiguadora. Almacénar de 2-8°C.

**F. Sustrato B - 7 ml/vial - Icono G**

Una (1) botella que contiene Peróxido de Hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en solución amortiguadora. Almacénar de 2-8°C.  
 Una (1) botella que contiene un ácido fuerte (HCl 1N). Almacénar de 2-8°C.

### H. Instrucciones del producto

#### Elementos requeridos que no se suministran:

1. Pipeta (s) útil para dispensar 50µl con una precisión superior a 1.5%.
2. Dispensador(s) para medr. 0.100ml y 0.350ml con una precisión superior de 1.5%.
3. Lavador de microplacas o frasco lavador (opcional)
4. Lavador de micro placas con 400 lilitos 450 ml 620 nm.
5. Papel absorbente para secar las placas de microplacas

6. Envoltura plástica o cubiertas de microplacas para los procesos de incubación (opcional) para los procedimientos de lavado.  
 9. Materiales para control de calidad.  
**Nota 1:** No utilizar los reactivos después de la fecha de vencimiento del kit.  
**Nota 2:** Los reactivos abiertos son estables por 60 días cuando son almacenados de 2-8°C.

### PRECAUCIONES

Para uso en *Diagnosticos in Vitro*

No usar en *nutrición o animales en forma preventiva o extrema*. Todos los productos que contienen suero humano han demostrado ser no reactivos para antígeno de superficie de hepatitis B, VIH 1 y 2 y HCV según pruebas exigidas por la FDA. Debido a que algunas pruebas controladas para VIH pueden ofrecer una gran cantidad de suero de agujas reactivos, los productos de todo humano deben manejarse como potencialmente peligrosos y capaces de transmitir enfermedades. Los buenos procedimientos de laboratorio para el manejo de productos sanguíneos pueden ser encontrados en el Centro de Control de Enfermedades, Instituto Nacional de Salud, "Biosseguridad en Laboratorios Microbiológicos y Biomédicos", 2da Edición, 1988. HHS-Publicación Nº (CDC) 88-8385.

### RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Se deben emplear las precauciones en la recolección de muestras por puncho venoso para las muestras de suero o suero. La sangre debe ser recolectada en tubo de lipa roja sin aditivos con con heparina de gel. Dejar que la sangre se coagule y centrifugar para separar el suero de las células. Las muestras deberán ser refrigeradas de 2-8°C por un tiempo máximo de 48 horas. Si la muestra no puede ser procesada dentro de las 48 horas la muestra deberá almacenarse a temperatura de -20°C hasta por 30 días. Evitar la congelación y descongelación repetitiva. Cuando el ensayo se hace en duplicado, se requieren 0.100ml muestra.

### PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

**1. Suero de lavado**  
 Diluir el contenido de concentrado de lavado en 1000 ml con agua destilada o desionizada en un recipiente adecuado de almacenamiento. Almacénar a temperatura ambiente de 20-27°C hasta por 60 días.

**2. Solución de sustrato de trabajo**  
 Verter el contenido del vial color amarillo marcado como solución A dentro del vial transparente marcado como solución B. Colocar la tapa arrastra en el vial transparente para fácil identificación. Mezclar y marcar según corresponda. Almacénar de 2-8°C.  
**Nota:** No utilizar el sustrato de trabajo si tiene coloración azul.

### PROCEDIMIENTO DE PRUEBA

1. Marcar los pozos de microplaca para cada calibrador, control y muestra de paciente para ser procesados por duplicado. Colocar las tiras no utilizadas nuevamente en la bolsa de aluminio sellar y almacenar de 2-8°C.
2. Pipetear 0.050 ml (50µl) de calibrador apropiado, control o muestra dentro del pozo asignado.
3. Adicionar 0.100ml (100µl) de solución de reactivo T3 - enzima a todos los pozos.
4. Agitar suavemente la microplaca durante 20-30 segundos para mezclar y cubrir.
5. Incubar durante 60 minutos a temperatura ambiente.
6. Eliminar el contenido de la microplaca mediante desahucado o aspiración. Si es por el método de desahucado, secar la placa con papel absorbente.
7. Adicionar 350µl de buffer de lavado (ver Sección Preparación de Reactivos), decantar, secar o aspirar. Repetir 2 veces más para obtener un total 3 lavados. Se

puede utilizar un lavador automático o manual de placas. Seguir las instrucciones del fabricante para asegurar el uso apropiado. Si se utiliza un trazo de lavado, llenar cada pozo oportunamente el recipiente (evitar las burbujas de aire) para dispensar la solución de lavado. Decantar la solución de lavado y repetir 2 veces adicionales.

3. Adicionar 0.100 ml (100µl) de solución de sustrato de trabajo a todos los pozos (Consultar la sección sobre Preparación de Reactivos). Siempre adicione reactivos en el mismo orden para minimizar las diferencias del tiempo de reacción entre los pozos.

### NO AGITAR LA PLACA DESPUÉS DE ADICIÓN DEL SUSTRATO

3. Incubar a temperatura ambiente durante 15 minutos.  
 10. Adicionar 0.050ml (50µl) de solución de parada a cada pozo y agitar suavemente durante 15-20 segundos. Adicionar los reactivos siempre en el mismo orden para minimizar las diferencias en tiempos de reacción entre los pozos.

### CONTROL DE CALIDAD

Cada laboratorio deberá ensayar controles a los niveles de rango de hipotirodismo, eutirodismo e hipertirodismo para controlar el desempeño del ensayo. Estos controles deberán tratarse como muestras desconocidas y los valores se determinaran en cada procedimiento de ensayo que se realice. Se mantendrán gráficos de desempeño de calidad para evaluar el cumplimiento al desempeño de los reactivos suministrados. Se utilizarán métodos estadísticos pertinentes para evaluar las tendencias. El laboratorio en particular deberá establecer límites de desempeño aceptables para el ensayo. Adicionalmente, la absorbancia máxima deberá ser consistente con las experiencias anteriores. Una desviación significativa con respecto del desempeño establecido podrá indicar que hay un cambio no detectado en las condiciones experimentales o discriminación de los reactivos. Se deben utilizar reactivos frescos para determinar la causa de las variaciones.

### CÁLCULO DE RESULTADOS

Se utilizará una curva dosis respuesta para evaluar la concentración de Tryptodorrina Libre en muestras desconocidas.

1. Tomar registro de la absorbancia que se obtengan de la impresión del lector de microplacas como se muestran en el ejemplo 1.
2. Graficar la absorbancia para cada calibrador en duplicado vs. la concentración correspondiente T3 en pg/ml en papel lineal de gráficos (no promedio) T3 en pg/ml de los calibradores antes de graficar).
3. Trazar la curva de mejor ajuste a través de los puntos estándares en la gráfica.
4. Determinar la concentración de T3 para una muestra desconocida, ubicar la absorbancia promedio de la muestra desconocida en eje vertical del gráfico, encontrar el punto de intersección sobre la curva y leer la concentración (en pg/ml) a partir del eje horizontal del gráfico (los duplicados de la muestra desconocida pueden promediarse según se indica). Según el siguiente ejemplo la absorbancia promedio (1.855) interseca con la curva estándar A (21 pg/ml) de concentración T3 (ver figura 1).

### Ejemplo 1

Muestra	ID	Pozo	Abs (A)	Abs (B)	Valor (pg/ml)
Cal A	A1	2,659	2,579	0.0	
	B1	2,631			
Cal B	C1	2,264	2,248	1.0	
	D1	2,233			
Cal C	E1	1,570	1,578	3.0	
	F1	1,585			
Cal D	G1	1,124	1,135	5.0	
	H1	1,145			
Cal E	A2	0,749	0,748	8.0	
	B2	0,748			
Cal F	C2	0,463	0,463	16.0	
	D2	0,482			
Paciente	E2	1,850	1,855	21	
	F2	1,849			

\* Los datos presentados en el ejemplo 1, Fig. 1 son únicos y exclusivamente para ilustración. No deben utilizarse en lugar de la curva estándar que se realice para cada ensayo. Los valores asignados para los calibradores son específicos para los lotes.

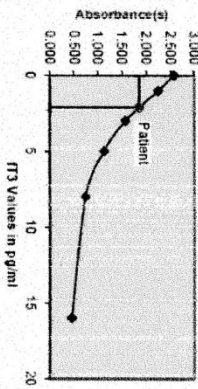


Figure 1

**PARÁMETROS DE CALIDAD**  
Con el fin de que se consideren válidos los resultados del ensayo, se deberá cumplir con los siguientes criterios:

1. La absorbancia DO del calibrador A deberá ser  $\geq 1.3$ .
  2. Cuatro de cada 6 controles de calidad deben ubicarse dentro de los rangos establecidos.
- ANÁLISIS DE RIESGOS**
- A. Desempeño de la prueba**

1. Es importante que el tiempo de reacción en cada pozo sea sostenido en forma constante para resultados reproducibles.
2. El pipeteo de las muestras no se extenderá más de 10 minutos para evitar derivaciones.
3. No se deben emplear muestras altamente lipémicas, hemolizadas o coaguladas.
4. Si más de 1 placa es usada, se recomienda repetir la curva dosis respuesta.
5. La adición de la solución sustrato inicia una reacción química la cual es terminada por la adición de la solución de paralización. Por tanto, la adición de los substratos y la solución de detención serán adicionadas en la misma secuencia para eliminar cualquier desviación durante la reacción.

6. Los botores de placa miden verticalmente. No tocar el fondo de los pozos.
7. La falta en remover la solución adherente adecuadamente en los pasos de aspiración o lavado por desecación puede resultar en una pobre replicación y resultados falsos.
8. Usar componentes del mismo lote. No mezclar los reactivos de diferentes lotes.
9. Es esencial un pipeteo preciso y exacto así como seguir el tiempo exacto y la temperatura requerida. Cualquier desviación de las instrucciones de uso puede arrojar resultados inexactos.
10. Se deben seguir las buenas prácticas de laboratorio para los estándares nacionales aplicables, regulaciones y leyes de manera estricta para asegurar el cumplimiento y uso adecuado del dispositivo.
11. Es importante calibrar todos los equipos, por ejemplo: pipetas, lectores, botores, y/o instrumentos automatizados con este reactivo y realizar un mantenimiento preventivo rutinario.
12. El análisis de riesgo - como lo requiere la directiva MD 98/79/CE de la marca CE para estos y otros dispositivos elaborados por Monobind, pueden ser solicitados vía Email: [Monobind@monobind.com](mailto:Monobind@monobind.com)

**B. Interpretación**

1. Los resultados de laboratorio por sí solos son únicamente un apéndice para determinar el cuidado del paciente y no deben ser la única base para una terapia, particularmente si los resultados están en conflicto con otros determinantes.
2. Para resultados de pruebas válidas, los controles adecuados y otros parámetros deben estar dentro de los rangos listados y requerimientos del ensayo.
3. Si los kits de prueba están almacenados, ya sea por mezcla de partes de diferente kits, lo cual puede producir resultados de pruebas falsos o si los resultados son interpretados incorrectamente, Monobind no garantiza responsabilidad.
4. Si se utiliza el sistema de reducción de datos controlados por Computador para interpretar los resultados del ensayo, es necesario que los valores de predicción para los calibradores se ubiquen dentro del 10% de las concentraciones asignadas.
5. Si un paciente por alguna razón obtiene una lectura más alta que el calibrador más alto reportado como > 16pg/ml, No intente diluir las muestras. Las variaciones de la TBG de diferentes matrices no permitirán que la hormona libre FT3 se diluya seriamente.
6. Se sabe que diversos fármacos afectan en el enlace de la Thyrotrofina con las proteínas portadoras de la hormona de la tiroidea o su metabolismo con el FT3 complicando la interpretación de los resultados del FT3 libre (3).
7. Los auto anticuerpos circulares del FT3 y los inhibidores de enlace con la hormona pueden producir interferencias (4).
8. Se ha conocido que la hepatitis leve afecta in vivo a in vitro sobre la concentración de FT3 libre (5). Por lo tanto, no obtener muestras en las cuales se haya utilizado este anti-coagulante.
9. En varias enfermedades severas no relacionadas con la tiroidea (NIT), la evaluación de la condición de la tiroidea se dificulta demasiado. Se recomienda medir la TSH para identificar la defunción de la tiroidea.
10. Las condiciones disabruptas familias pueden producir resultados erróneos en ensayos directos de FT3 libre

**NO DEBE UTILIZARSE ESTE PROCEDIMIENTO PARA TAMIZAJE DE NEUMATOS\***

**RANGOS Y VALORES ESPERADOS**

Se realizó un estudio de la población adulta eutiroidea para determinar los valores esperados para la aplicación del sistema de prueba FT3 Accubind ELISA. En la tabla 1 se presentan valores de media (X), desviación estándar (s) y rangos esperados (±2s).

Valores Esperados para T3 Libre ELISA (en pg/ml)
TABLA 1

Medio (X)	Adipos (10 muestras)	Embarazo (75 muestras)
Desviación estándar (s)	2.8	3.0
Rangos esperados (±2s)	0.7 - 4.9	0.6 - 5.4
	1.4 - 4.2	1.8 - 4.2

Es importante tener en cuenta que el establecimiento de un rango de valores que pueda separarse de un método en particular para una población de personas "normales", dependerá de una serie de factores como son: especificidad del método, población sometida a prueba y precisión del método que utilice el analista. Por estas razones, cada laboratorio deberá utilizar el rango de valores esperados establecido por el fabricante, tan solo hasta cuando se puede establecer un rango dentro de la institución por parte de los analistas que utilicen el método con la población propia del área en la cual este ubicado el laboratorio.

**CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO**

**A. Precisión**  
La precisión inter e intrajornada del sistema de prueba FT3 Accubind ELISA se determinó mediante análisis en tres niveles distintos de suero de control pool. El numerador (N), valor medio (X), desviación estándar (s) y el coeficiente de variación (C.V) para cada uno de estos sueros controlados son presentados en la Tabla 2 y Tabla 3.

TABLA 2  
Precisión dentro del Ensayo (Valores en pg/ml)

Muestra	N	X	s	C.V.
Normal	24	1.95	0.09	4.5%
Bajo	24	4.49	0.16	3.5%
Alto	24	8.0	0.025	3.1%

TABLA 3  
Precisión Inter - Ensayo (Valores en pg/ml)

Muestra	N	X	s	C.V.
Normal	12	2.16	0.29	13.1%
Bajo	12	5.09	0.40	7.8%
Alto	12	9.13	0.94	10.2%

\* De acuerdo con la medición realizada en 10 experimentos en duplicado en un período de 10 días.

**B. Precisión**

El sistema de ensayo FT3 Accubind ELISA se comparó con un método analógico de radio inmuno ensayo de tubo receptor. Se utilizaron muestras biológicas provenientes de poblaciones hipotiroideas, eutiroideas, e hipertiroideas. Los valores estuvieron en un rango de 0.1pg/ml - 14pg/ml. El número total de estas muestras fue de 151. La ecuación de regresión de mínimos cuadrados y el coeficiente de correlación se calcularon para este FT3 Accubind ELISA en comparación con el método de referencia. Los datos obtenidos se muestran en la tabla 4.

TABLA 4  
Análisis de Coeficiente

Método	Medida (X)	Análisis de regresión de mínimos cuadrados - $y = a + bxz$	Coeficiente de correlación
Este Método	3.05		0.982
Referencia	2.92		0.982

Se indican tan solo ligeras cantidades de sesgos entre el método y el de referencia mediante el acercamiento de los valores medios. La ecuación de regresión de mínimos cuadrados y el coeficiente de correlación que existe una adecuada correlación entre los métodos.

**C. Sensibilidad**

El sistema de prueba FT3 Accubind ELISA tiene una sensibilidad de 0.05 pg/ml. La sensibilidad se evaluó determinando la variabilidad del calibrador 0 pg/ml y utilizando el valor estadístico de 2  $\sigma$  (95% de certeza) para calcular la dosis mínima.

**d. Especificidad**

La reactividad cruzada del anticuerpo Thyrotrofina para sustancias seleccionadas se evaluó mediante la adición de la sustancia de referencia a una matriz de suero a diversas concentraciones. Se calculó la reactividad cruzada derivando una proporción entre la dosis de una sustancia de referencia con respecto de la dosis de Thyrotrofina necesaria para desplazar la misma cantidad del trazado.

Sustancia	Reacción cruzada	Concentración
Triyodotironina	1/10000	10 µg/ml
L-Tiroxina	<0.0002	10 µg/ml
Yodotiroxina	<0.0001	10 µg/ml
Diyodotironina	<0.0001	10 µg/ml
Fenilbutazona	<0.0001	10 µg/ml
Salicilato sódico	<0.0001	10 µg/ml

**REFERENCIAS**

1. Pederson KO. *Stand J Clin Lab Invest*; 34: 247 (1974).
2. Wild D. *Immunoassay Handbook*; Stockton Press, 339 (1994).
3. Wenzel KW. *Metabolism*; 30: 7-7 (1981).
4. Bhagat C, et al. *Clin Chem*; 29: 1324 (1983).
5. Lincenberg PR et al. *Clin Chem*; 28: 1241 (1982).
6. Weimer S, et al. *J Clin Endocrinol Metab*; 54: 300 (1982).
7. Laloz MR et al. *Clin Endocrinol*; 18: 11 (1983).

Cat # 1325-300

Reagent (fill)	50µl	100µl	200µl	300µl
A)	1ml set	1ml set	2ml set	2ml set
B)	1 (13ml)	2 (13ml)	2 (60ml)	2 (60ml)
C)	1 plate	2 plates	5 plates	10 plates
D)	1 (20ml)	1 (20ml)	1 (60ml)	2 (60ml)
E)	1 (7ml)	2 (7ml)	1 (60ml)	2 (60ml)
F)	1 (7ml)	2 (7ml)	1 (60ml)	2 (60ml)
G)	1 (6ml)	2 (6ml)	1 (60ml)	2 (60ml)

For Orders and Inquiries, please contact

**Monobind Inc.**  
100 North Pointe Drive  
Lake Forest, CA 92650 USA

Tel: 949-951-2695  
Fax: 949-951-3539  
Email: [info@monobind.com](mailto:info@monobind.com)  
On the Web: [www.monobind.com](http://www.monobind.com)

Please visit our website to learn more about our other interesting products and services.



CEP certificate 3951 DB: 13 NL  
Tel: +31 (0) 6-516 536 26

**Instrumentos y aplicaciones**

Los productos de inmunoensayo de Monobind están diseñados para que funcionen en ambientes manuales y automatizados. Accubind y Acculite™ son compatibles con cualquier instrumento abierto incluyendo analizadores químicos, lectores de microplacas y lectores de microplacas. Es posible que exista o no una aplicación desahogada para su instrumento en particular, para estos casos se recomienda visitar la sección de instrumentos de nuestro sitio en la web o comunicarse con [techhelp@monobind.com](mailto:techhelp@monobind.com)

Monobind ofrece diversos instrumentos, incluyendo el Impulse 2, el lector de placas Lumiretro CLIA diseñado para ser utilizado simultáneamente con nuestros productos y capaz de una calibración de dos puntos. Visitar nuestro sitio en la web para obtener mayor información.

## ANEXO N° 9: FOTOGRAFÍAS



**Fotografía N° 1: Lugar de investigación (Hospital Básico Edgar Arcos)**



**Fotografía N° 2: Área de Laboratorio Clínico**





**Fotografía N° 3: Verificación de pedido médico**



**Fotografía N° 4: Material requerido para la toma de muestra.**



**Fotografía N° 5: Toma de muestra sanguínea**



**Fotografía N° 6: Procesamiento de muestras  
(centrifugación para obtener suero)**



**Fotografía N° 7: Muestras de análisis**



**Fotografía N° 8: Reactivos de hormonas tiroideas – prolactina y equipo de laboratorio.**



**Fotografía N°9: Procesamiento de muestras.**