



**UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NUCLEO DE BOLIVAR
ESCUELA DE CIENCIAS DE LA SALUD
"Dr. Francisco Virgilio Battistini Casalta"
DEPARTAMENTO DE BIOANALISIS**

**VALORES SERICOS DE PROGESTERONA Y GONADOTROPINA
CORIONICA HUMANA COMO PREDICTORES DE INSUFICIENCIA
DE CUERPO LUTEO EN EL PRIMER TRIMESTRE DE EMBARAZO**

Asesores:

Lcda. Mercedes Romero H.

Lcdo. Iván Amaya R.

Trabajo de Grado presentado por:

Br. Arias González Jonathan Enrique

C.I. 15.469.852

Br. Delgadillo Guerra Hecelit

C.I. 5.635.182

Como Requisito Parcial para optar al

Título de Licenciado en Bioanálisis.

Ciudad Bolivar, Febrero de 2009



INDICE

INDICE	ii
AGRADECIMIENTOS	iv
RESUMEN	v
INTRODUCCION	1
JUSTIFICACION	14
OBJETIVOS	15
METODOLOGIA	16
Tipo De Estudio.....	16
Universo	16
Muestra	16
Criterios De Inclusion.....	16
Criterios De Exclusion	16
Materiales	17
Equipos	17
Reactivos	18
Toma De Muestra Sanguinea	18
Preparacion De Las Muestras.....	18
Pruebas Bioquimicas	19
Determinacion De Progesterona:.....	19
Determinacion De Gonadotropina Corionica Humana	19
Analisis Estadisticos	20
RESULTADOS	22
Tabla 1:.....	22
Tabla 2:.....	23
Tabla 3:.....	23
Tabla 4:.....	25
DISCUSIÓN	26



CONCLUSIONES	29
RECOMENDACIONES	30
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	31
APENDICE A	36
APENDICE B.....	37
ANEXO A.....	39
ANEXO B	43



AGRADECIMIENTOS

- A Dios Todopoderoso, por haber derramado sobre mí su poder divino, permitiéndome alcanzar esta meta.
- A mi madre, por haberme dado la vida y por haber hecho suyos muchos de mis momentos difíciles.
- A la Universidad de Oriente, la casa más alta, por haberme dado la oportunidad y el honor de formar parte de la inmensa familia Udista.
- A todo el personal docente, técnico, bibliotecario, de comedor y obrero de la Escuela de Ciencias de la Salud “Dr. Francisco Virgilio Battistini Casalta”, quienes con su diaria labor hicieron su aporte al logro de esta meta.
- A mi tutora, Licenciada Mercedes Romero, por toda su paciencia, comprensión y enseñanzas con las cuales se logró culminar este trabajo.
- A la Dra. Gloria Neda por toda la paciencia que me tuvo y por sus peculiares saludos, con los cuales me alegraba el día.
- Al Dr. Elis Romero y al personal del Servicio de Laboratorio del Hospital “Dr. Américo Babó”, por la valiosa y desinteresada colaboración brindada durante la realización de este trabajo.
- A mi hermana, Oliana, a mi cachetón, Edgar, y a mi amiga, Vanessa, por haberme estimulado a no rendirme sin haber culminado esta etapa de aprendizaje.
- A todas las personas que de una u otra manera brindaron su colaboración para que este, mi sueño, hoy se materializara.

GRACIAS...
Hecelit Delgadillo Guerra



VALORES SERICOS DE PROGESTERONA Y GONADOTROPINA CORIONICA HUMANA COMO PREDICTORES DE INSUFICIENCIA DE CUERPO LUTEO EN EL PRIMER TRIMESTRE DE EMBARAZO

Jonathan Arias, Hecelit Delgadillo, Mercedes Romero; Iván Amaya.

Universidad de Oriente. Núcleo Bolívar.

Escuela de Ciencias de la Salud.

Departamento de Bioanálisis.

RESUMEN

El cuerpo lúteo es una glándula endocrina transitoria y reproductiva sumamente importante que influencia numerosos procesos fisiológicos. Una deficiencia de ésta glándula es una disfunción ovulatoria que puede acompañarse de embarazos ectópicos o abortos espontáneos. La relación progesterona/cuerpo lúteo se ha utilizado desde hace algún tiempo debido a que niveles bajos de progesterona y los signos clínicos de la paciente podrían demostrar que dicha disminución indica un curso anormal del embarazo con mayor exactitud que los niveles bajos de gonadotropina coriónica humana (hCG). Algunos estudios realizados indican que existe una relación directa entre la edad de la gestante y un resultado anormal del embarazo. Con la finalidad de relacionar las concentraciones séricas de progesterona y hCG con la insuficiencia de cuerpo lúteo, se realizó un estudio en 72 gestantes, que cursaban el primer trimestre de embarazo, a las cuales se les cuantificaron ambos parámetros hormonales. Los resultados mostraron valores de progesterona y hCG por debajo de los rangos referenciales. Las concentraciones de progesterona sérica son predictivas de insuficiencia de cuerpo lúteo, independientemente del valor de la hCG. Con resultados estadísticos altamente significativos ($p < 0,001$) se determinó que el rango de edad de las pacientes que presentaron un cuerpo lúteo deficiente fue de 32 a 37 años.

PALABRAS CLAVES: Cuerpo lúteo, Progesterona, Gonadotropina coriónica humana, Aborto.



INTRODUCCION

La fecundación es el proceso biológico en el cual ocurre la unión de un gameto femenino con un gameto masculino originando una nueva célula, la cual está dotada de una gran capacidad de multiplicación. Este proceso biológico está precedido de una serie de fenómenos bien definidos: gametogénesis, ovulación, captación del ovocito, transporte del óvulo y transporte de los espermatozoides (1).

La gametogénesis ocurre de manera diferente en el sexo masculino y en el femenino. En el sexo masculino se denomina espermatogénesis a esta formación, desarrollo y maduración del gameto (espermatozoide), mientras que en el sexo femenino se designa ovogénesis a la transformación de las ovogonias primitivas en gametos (óvulos u oótidés) (1,2).

En las mujeres, posterior al fenómeno de ovogénesis, y una vez que se inicia la pubertad, ocurre de forma cíclica la ovulación; de ésta no se conoce con certeza el mecanismo que la produce, sin embargo, para explicarla, se han definido fundamentalmente tres teorías: la teoría mecánica que sostiene que la ruptura del folículo maduro se da por un aumento de la presión intrafolicular aunque en la actualidad se ha demostrado que dicha ruptura ocurre de forma lenta, la teoría enzimática que supone una ruptura de la pared del folículo producida por acción local proteolítica, y la teoría vascular que postula una modificación en la vascularización del folículo maduro con cambios en la concentración de prostaglandinas que conllevan a una necrobiosis de su pared (1).

Una vez que el ovocito sale del folículo maduro es recogido por la trompa y llevado hasta su porción ampular. Mientras que en el eyaculado masculino los espermatozoides son depositados en la vagina, éstos han de ascender hasta la trompa para allí encontrarse con el óvulo y finalmente realizar la fecundación en dicha porción ampular de la trompa. El óvulo



ya fecundado es transportado hasta su lugar de implantación, que de preferencia se da en la parte superior de la cara posterior y cerca del plano sagital del útero el día 6 después de la ovulación. Este fenómeno de la implantación se completa en un período relativamente corto de unos 5 días (1,2,3).

Durante la emigración del óvulo fecundado éste experimenta un proceso de desarrollo y segmentación hasta llegar al estado de blastocito (bajo el cual queda incorporado al endometrio) y como debe existir una estrecha correlación entre el huevo y el medio que ha de recibirle, el endometrio experimenta una serie de cambios morfológicos en la fase de progestación que se engloban bajo el término de hiperplasia endometrial gravídica. Mientras que el cuerpo lúteo con su secreción endocrina regula el proceso de la nidación el trofoblasto, a su vez, secreta hormona gonadotropina coriónica humana (hCG), que mantiene la función del cuerpo lúteo, prolongando su vida. Sin una implantación efectiva y producción subsecuente de hCG el cuerpo lúteo sobrevive sólo alrededor de 14 días después de la ovulación que es el día 28 del ciclo (1,2).

En otros términos, el establecimiento y la conservación del embarazo en seres humanos requieren una serie de sucesos altamente regulados que implican características dinámicas de la fisiología materna, placentaria y embrionaria. Son bien reconocidas las indispensables participaciones de las hormonas esteroideas en la producción de muchas de esas adaptaciones. Las intensas consecuencias de los defectos en las vías metabólicas de esteroides son testimonio de la importancia de dichas sustancias en el establecimiento y desarrollo de embarazos normales (2).

Las hormonas esteroideas participan en procesos reproductivos esenciales como la maduración del ovocito y la ovulación; la función y preparación del cuello uterino, las trompas de Falopio y el endometrio para la interacción del ovocito y espermatozoide durante su transporte, la fecundación y la implantación del huevo como blastocisto recién formado; los amplios cambios en la fisiología materna necesarios para hacer óptimos la



nutrición y la eliminación de desechos del producto en desarrollo; la protección del feto de la vigilancia inmunitaria materna; el desarrollo apropiado del feto en crecimiento y la maduración de sus sistemas endocrinos cerca del término, y el momento correcto del parto (2,3).

Las hormonas esteroideas se sintetizan a partir del colesterol, el cual se encuentra en el ovario, tanto en su forma libre como esterificada con ácidos grasos (ésteres de colesterol). El colesterol que deriva ya sea de lipoproteínas de baja densidad circulantes (LDL) o de ésteres del colesterol en la glándula (ovario) se convierte en pregnenolona por medio de la acción de enzima P450_{scc}, la cual elimina un fragmento de 6 carbonos, el ácido hipocaproico. Esta reacción, o grupo de reacciones es el paso limitante del índice en el proceso biosintético y está controlado por la hormona luteinizante (LH) de la adenohipófisis (3,4).

La oxidación de pregnenolona a progesterona es catalizada por la enzima 3-beta-hidroxiesteroide-deshidrogenasa, que está presente en las células tecales, granulosas y lúteas. Tanto la pregnenolona como la progesterona son transformadas a andrógenos (dehidroepiandrosterona, androstenediona y testosterona), por hidroxilación en la posición C-17 seguida de la escisión de la cadena lateral. Esta transformación de esteroides de 21 carbonos a 19 carbonos tiene lugar de forma muy especial en las células de la teca (3).

La progesterona es secretada en grandes cantidades por el cuerpo lúteo después de la ovulación. El cuerpo lúteo es una glándula endocrina transitoria y reproductiva sumamente importante que influencia numerosos procesos fisiológicos y es por consiguiente quizá la estructura endocrina reproductiva más ampliamente estudiada hasta la fecha (1,5,6,7).

Los efectos importantes de la progesterona son alistar al endometrio para la implantación, la regulación de la respuesta inmunitaria materna para tolerar el aloinjerto



fetal, la conservación de la quietud miometrial y la preparación de las mamas para la lactancia. Los estrógenos parecen influir en el flujo sanguíneo uterino y la neovascularización, el aumento en la expresión de proteínas críticas involucradas en la producción de progesterona y el metabolismo de esteroides (esto es, el receptor para las lipoproteínas de baja densidad ricas en colesterol y la enzima de desdoblamiento de su cadena lateral P450) (2,3,8).

En varias especies de mamíferos, entre ellas el humano, se ha demostrado que la formación del cuerpo lúteo, después de la ovulación, está acompañada de un incremento notable del número de células endoteliales del folículo roto. Se ha estimado que más del 85% de las células proliferativas presentes durante el desarrollo del cuerpo lúteo son células endoteliales. Estudios morfométricos han confirmado que las células endoteliales constituyen aproximadamente 50% de las células del cuerpo lúteo maduro. El cuerpo lúteo maduro requiere recibir, para su funcionamiento normal, un aporte creciente de sangre ovárica y se ha propuesto que la secreción de progesterona está altamente correlacionada con el flujo sanguíneo del ovario (9,10,11,12).

Las hormonas producidas por el cuerpo lúteo incluyen progesterona, 17-hidroxiprogesterona y estradiol. La importancia del cuerpo lúteo al inicio del embarazo, se ha determinado mediante estudios de eliminación, en los cuales la lutectomía u ooforectomía antes de 42 días de gestación ocasionan disminuciones precipitadas de los valores de progesterona y estradiol séricos, seguidas de aborto (3).

En ausencia de implantación y, por lo tanto de la producción de hCG por el trofoblasto, el cuerpo lúteo transitorio sufre regresión que causa un decremento súbito de la concentración de estrógenos y progesterona, con descamación subsiguiente de la capa funcional. En 1949, se describió el defecto de la fase luteínica; el cual se caracteriza por la imposibilidad de una paciente de desarrollar un endometrio secretor totalmente maduro. Se le define como una imposibilidad del cuerpo lúteo para la secreción de progesterona en



cantidades suficientemente altas, o que es de duración muy breve. Esto causa una transformación inadecuada o fuera de fase del endometrio, que impide la implantación del blastocito. Por lo tanto, se cree que el defecto de la fase luteínica es causa de infecundidad y aborto espontáneo. Se han encontrado anomalías de la fase luteínica en 3 a 10% de la población femenina con infecundidad primaria o secundaria, y se presenta hasta en 35% de quienes sufren pérdidas gestacionales recurrentes (2).

Cunningham, (1998), (citado por Amarista, 2003), afirmó que cuando el aporte endocrino sobre el endometrio disminuye, la mucosa uterina sangra. La hemorragia por lo general es escasa, de color marrón oscuro y puede ser intermitente o continua. Estas alteraciones endocrinas constituyen un factor etiológico importante en la pérdida fetal recurrente en etapas precoces porque repercuten de manera importante en la ovulación, nidación, implantación y estadios tempranos post-implantación. En la valoración endocrina se deben descartar desórdenes metabólicos maternos, alteraciones de la fase luteal y anomalías de los niveles de progesterona post-concepcionales, porque de éstos dependen una serie de procesos endocrinos que conllevan a una implantación exitosa con evolución satisfactoria del embarazo (13).

Después de alrededor de la decima semana de gestación, el cuerpo lúteo puede eliminarse sin aborto subsecuente, debido a una producción aumentada de progesterona por parte de la placenta. El cuerpo lúteo deficiente es una disfunción ovulatoria poco precisa pero real, que puede acompañarse de embarazos ectópicos o abortos espontáneos. Se menciona que su frecuencia oscila entre el 3 y 10% de las parejas estériles y de 30 a 40% de los abortos habituales (3,14,15).

Algunos investigadores han demostrado que en general, solo el 57% de todas las concepciones continúan más allá de la vigésima semana de gestación. De los fracasos ocurridos antes de la vigésima semana, el 75% se produce previo a la implantación y solo se reconocen clínicamente el 25%. Recientes investigaciones han observado una frecuencia



total de abortos del 31%, con un 22% antes de que ocurra la implantación. Aunque el número de embarazos perdidos antes de la implantación es muy elevado, la mayoría no se reconocen clínicamente, y el problema de la pérdida precoz del embarazo se limita en la práctica a los abortos después de la implantación. El riesgo de aborto espontáneo en una mujer sin antecedentes de errores en la reproducción es de aproximadamente un 15%. El estudio de Gabbe *et al.*, (2004), indica que la probabilidad de un aborto repetido después de un aborto espontáneo en una mujer sin hijos vivos es del 19% (16).

La amenaza de aborto se asocia a sangrado y/o dolores uterinos mientras el cérvix está cerrado. En esta etapa puede ocurrir un progreso y producirse un aborto espontáneo incompleto o completo. Mientras este acontecimiento puede ser considerado una parte del control de calidad en el proceso de la reproducción humana, es importante conocer las etiologías posibles y cuándo la terapia podría impedir la pérdida del embarazo. Con la excepción de los factores fetales, varios factores maternos y probablemente paternos contribuyen a las causas de un aborto espontáneo. Entre los factores maternos que pueden ser responsables de aborto se incluyen tanto condiciones locales y sistemáticas como infecciones, estados de enfermedad maternos anormalidades del tracto genital, factores endocrinos y causas misceláneas (17).

Un aborto espontáneo se define y se reconoce como la pérdida involuntaria del embarazo antes de que el feto sea viable, a las 20 semanas. Aproximadamente el 80% de todos los abortos espontáneos ocurren antes de las 12 semanas y se denominan abortos precoces. El resto se producen entre las 13 y 20 semanas y se les llaman abortos tardíos (2,16).

Aproximadamente el 1% de las mujeres experimentan tres pérdidas consecutivas en el primer trimestre, que responden a la definición clásica de aborto habitual. Sin embargo, hoy en día la mayoría de las mujeres solicita ayuda después de haber sufrido dos abortos consecutivos. Desafortunadamente, el asesoramiento y tratamiento de pacientes con



pérdidas de embarazos precoces se ven muchas veces afectados por una información inadecuada sobre los acontecimientos clínicos que rodean a cada aborto y por una información deficiente sobre las pérdidas (16).

Botero *et al.*, (2001), señalan que ha surgido la inquietud en los grupos de discusión de si el número de abortos previos influye en el diagnóstico y en el resultado del tratamiento del aborto recurrente espontáneo. Esta polémica se basa particularmente en que la definición convencional de aborto recurrente es la pérdida de tres o más productos de la gestación antes de la vigésima semana, pero, desde hace aproximadamente 15 años algunos grupos de investigación alrededor del mundo han manejado la definición de aborto recurrente como la pérdida de dos o más abortos y, en consecuencia, inician el estudio de las parejas a partir del segundo embarazo (2,18).

El aborto recurrente es una condición heterogénea que tiene muchas causas posibles. Idealmente, las parejas con este problema deberían ser tratadas bajo condiciones especiales, con investigaciones cabales según un protocolo y con una historia clínica bien estructurada que las contengan. Tales condiciones especiales abarcan un asesoramiento que debería incluir una explicación de las posibles causas subyacentes de la misma, y de la prognosis de cada una de ellas. No hay causa definitiva de aborto en aproximadamente la mitad de las pacientes (19).

El nivel de progesterona sérica refleja la producción de progesterona por el cuerpo lúteo que es estimulada por un embarazo viable. Durante las primeras 8 a 10 semanas de gestación, las concentraciones de progesterona sérica cambian poco; cuando el embarazo se interrumpe, los niveles disminuyen (13,20).

El Centers for Disease Control and Prevention, (1995), (citado por Amarista, 2003), afirmó que la medición de progesterona contribuye al diagnóstico de tres formas, primero, es una prueba de detección barata que puede identificar a las pacientes que requieren



pruebas diagnósticas adicionales, las cuales puede reducir en un 50% la prevalencia de embarazo ectópico en salas de urgencias. Segundo, excluyen a pacientes con niveles séricos bajos de progesterona con un embarazo ectópico con una sensibilidad de 97,5% cuando las concentraciones son mayores a 25 ng/mL (mayor de 79,5 nmol/L) obviando la necesidad de exámenes posteriores. Tercero, identifica los embarazos no viables con 100% de sensibilidad cuando las concentraciones son menores de 5 ng/mL (menos de 15,9 nmol/L) (13, 21).

En consecuencia, un solo valor de progesterona menor de 5 ng/mL permite una evaluación uterina diagnóstica cuando no puede distinguirse un embarazo ectópico de un aborto intrauterino espontáneo. El Centers for Disease Control and Prevention, (1995), (citado por Amarista, 2003), indicó que con valores de progesterona mayores a 5 ng/mL pero menores a 25 ng/mL, la viabilidad debe ser establecida por ultrasonografía. La medición del nivel de progesterona es particularmente útil en mujeres en quienes no se conozca con exactitud la fecha de su última menstruación, cuando ellas van al servicio de emergencia o a la atención médica primaria. Por ello se ha usado una sola cuantificación de progesterona sérica para distinguir un embarazo normal de uno no viable o ectópico. La cifra de progesterona establecida como índice de un embarazo intrauterino normal en mujeres con ovulación y embarazo espontáneos es de 25 ng/mL (2,13).

Dart *et al.*, (1998), estudiando la capacidad que posee la determinación de un valor único de progesterona sérica para identificar embarazos anormales, encontraron que de las 88 pacientes analizadas, 76 de ellas fueron diagnosticadas con embarazos anormales (9 ectópicos, 72 intrauterinos anormales y 5 intrauterinos anormales/ectópicos), 71 de estos mostraron concentraciones de progesterona menores a 5 ng/ml, lo que indica una sensibilidad del 94%; los embarazos restantes, diagnosticados como normales mostraron concentraciones de progesterona mayores a 5 ng/ml, indicando una especificidad del 100% (21).



Perkins *et al.*, (2000), concluyeron que la especificidad y la sensibilidad de las concentraciones de progesterona sérica menores a 5 ng/mL para la predicción de embarazos poco viables es de 88,6% y 87,5% respectivamente para concepciones espontáneas, y de 58,8% y 100% respectivamente para concepciones logradas a través de estimulación ovárica (22).

Rodríguez *et al.*, (1994), analizando el valor de la progesterona sérica para la exclusión de embarazos de alto riesgo que culminan en neoplasia trofoblástica, aseguran que, en aquellas embarazadas que presentan neoplasia trofoblástica gestacional, las concentraciones de progesterona sérica menores a 2,5 ng/mL pueden predecir este diagnóstico neoplásico con una sensibilidad del 83% y una especificidad del 95%. La concentración de progesterona mayor a 10 ng/mL se asocia con embarazos viables en el 97% de los casos (23).

La estimulación de cantidades crecientes de progesterona por parte de las células del cuerpo lúteo, está determinada por concentraciones aumentadas de hCG. En las primeras semanas del embarazo, la concentración de hCG se duplica cada lapso de 1,7 a 2 días, y las mediciones seriadas proporcionan un índice sensible de la función trofoblástica temprana. La hCG del plasma materno llega a un máximo alrededor de 100.000 mUI/mL durante la décima semana gestacional, y después declina gradualmente hasta cerca de 10.000 mUI/mL en el tercer trimestre (3).

Las indicaciones para una relación progesterona/cuerpo lúteo y la tasa de abortos se han venido usando desde hace algún tiempo. Los niveles bajos de progesterona y los signos clínicos de la paciente podrían demostrar que esta disminución indica un curso anormal del embarazo con mayor exactitud que los niveles de hCG (24).

Algunos investigadores señalan que a partir de una cuantificación solo de progesterona se estima un aproximado de los niveles de hCG pero a partir de estos



resultados se diagnostican pocas pérdidas de embarazos debidas al fracaso del cuerpo lúteo (14).

Aunque los hallazgos ecográficos en el embarazo ectópico pueden ser útiles, es posible un diagnóstico definitivo de esta entidad cuando estos hallazgos se combinan con los resultados de análisis simples o seriados de la fracción β de la molécula de hCG, para la cual, además, es importante saber el tipo de prueba utilizada y su sensibilidad respectiva (25).

Los inmunoensayos enzimáticos que detectan hCG en muestras de orina no son cuantitativos pero si muy sensibles por lo que son útiles para determinar la presencia o ausencia de un embarazo, y cuando los niveles séricos de hCG son de al menos 50 mUI/mL (8 – 10 días tras concepción) generalmente son positivos. Los ensayos de inmunoabsorbancia asociados a enzimas (ELISA) que detectan la subunidad β de la molécula sérica de la hCG son cuantitativamente más útiles en aquellos casos en los que el problema se inicia en una etapa precoz del embarazo, cuando se sospecha la presencia de un embarazo ectópico o amenaza de aborto (25).

Todos los equipos disponibles comercialmente que miden la fracción β de la molécula de hCG sérica utilizan en la actualidad los ensayos de inmunoabsorbancia asociados a enzimas (ELISA) y han reemplazado los antiguos radioinmunoanálisis (RIA), además que ahora todos los equipos utilizan el mismo estándar (25).

Gracias a la cuantificación sérica de β -hCG el clínico puede estimar la edad gestacional del embarazo, determinando si el mismo es normal o no. Así, el nivel de β -hCG puede entonces correlacionarse con los hallazgos ecográficos para la búsqueda de ciertos hitos del desarrollo (25).



Ecografía transvaginal e hitos embriológicos

Edad gestacional (semanas)	Dimensiones medias del saco coriónico (mm)	Longitud del embrión	β -hCG media (mUI/mL)
4	1.5 x 2.8	0.5	28
5	8 – 15	1.5 – 3	300
6	15 – 40	4 – 8	3000
7	40 - 100	9 - 16	50000

Fuente: Fleischer, Diamond y Cartwright. 2002.

En pacientes clínicamente estables en las que persiste ambigüedad tras correlacionar los hallazgos ecográficos con una única cuantificación de β -hCG han resultado muy útiles las determinaciones seriadas de β -hCG séricas (25).

O' Leary *et al.*, (1990), sobre las medidas de las concentraciones de progesterona y hCG séricas, concluyeron que los valores de hCG menores a 3000 UI/L, conjuntamente con una progesterona menor a 12,6 ng/mL (40 nmol/L) predicen resultados anormales en el 97% de las mujeres embarazadas el valor de hCG sérico mayor a 3000 UI/L o de progesterona sérica mayor a 12,6 ng/mL (40 nmol/L) predicen resultados normales de los embarazos en curso. Estos resultados le permiten sugerir que una combinación de las concentraciones de progesterona y hCG séricas proveen de información bioquímica clínicamente útil en la predicción del resultado de un embarazo (26).

La disminución de la función del cuerpo lúteo puede ocurrir a pesar de la producción continuada de hCG; de hecho, la producción de 17-hidroxiprogesterona por parte del cuerpo lúteo declina, mientras que la hCG aún aumenta hasta concentraciones



máximas. El diagnóstico de insuficiencia luteínica, también puede establecerse efectuando un examen histológico del endometrio y detectando una discrepancia de tres o más días entre el patrón de datado endometrial previsible y el real en, al menos, dos ciclos menstruales. (3).

Garza *et al.*, (1992), en 30 casos de cuerpo lúteo deficiente analizados a través de los valores de progesterona sérica y biopsia del endometrio, hallaron que el 86,67% de los embarazos llegaron a término, y de éstos, el 26,92% lo lograron con la administración de progesterona exógena durante las primeras semanas. Concluyeron que a través de un solo estudio completo de esterilidad que revele concentraciones bajas de progesterona sérica y/o endometrio en desfase o irregular se diagnostica un cuerpo lúteo deficiente y que además estas pacientes deben ser tratadas de inmediato (15).

En presencia de un cuerpo lúteo deficiente, aplicar un tratamiento con progesterona exógena puede mejorar las expectativas de la continuidad del embarazo en aquellas pacientes con un alto riesgo de aborto espontáneo durante el primer trimestre de la gestación (3,27,28).

Las diferentes vías de administración de progesterona han sido estudiadas como soporte de la fase luteal en los tratamientos de esterilidad. La progesterona administrada por vía oral es rápidamente metabolizada, en más de un 90%, en el tracto gastrointestinal y durante el primer paso hepático; esto en gran medida limita su eficacia. Al contrario, la progesterona suministrada intramuscularmente logra valores de progesterona sérica dentro de los rangos normales de la fase luteal, lo cual conlleva a una tasa satisfactoria para mantener el endometrio (29,30).

El aborto espontáneo aumenta en proporción directa a la edad materna y es mucho más frecuente a partir de los 40 años, cuando el número de abortos con un número de cromosomas normal es de aproximadamente el doble que el de la mujer de 20 años; así, en



otras palabras, la edad materna avanzada se ha considerado que acarrea mayor riesgo para el resultado del embarazo. Afirmando esto, Garza *et al.* (1992) determinaron que el promedio de edad de las pacientes que presentaron cuerpo lúteo deficiente en su estudio, fue de 36 años (15,31).

Considerando todo lo antes planteado y conociendo la importancia de monitorear los inicios del embarazo, se propone la siguiente investigación con la finalidad de relacionar las concentraciones séricas de progesterona y gonadotropina coriónica humana con la insuficiencia del cuerpo lúteo durante el primer trimestre del embarazo en pacientes que acuden a la consulta de Obstetricia del Hospital “Dr. Américo Babó” de Puerto Ordaz, Estado Bolívar.



JUSTIFICACION

Se ha evidenciado científicamente que aproximadamente 1 de cada 100 mujeres experimentan tres pérdidas consecutivas en el primer trimestre del embarazo, de estos fracasos el 75% se produce antes de la implantación y solo se reconocen clínicamente el 25%. Dado que el aborto está relacionado con los niveles séricos de progesterona y gonadotropina coriónica humana, hormonas necesarias para el establecimiento y mantenimiento del embarazo, si se detectaran alteraciones en las concentraciones de estas hormonas, pudiera considerarse un hecho predictivo de una posible pérdida del embarazo (16).

En la actualidad hay muchas mujeres que cursan con esta problemática, afectando así la continuidad del embarazo, es por ello que la razón de esta investigación es relacionar las concentraciones séricas de progesterona y gonadotropina coriónica humana por ser la disminución de estas, un factor de riesgo de sufrir un aborto a futuro.



OBJETIVOS

Objetivo General

Relacionar las concentraciones séricas de progesterona y gonadotropina coriónica humana con la insuficiencia del cuerpo lúteo durante el primer trimestre del embarazo en pacientes que acuden a la consulta de Obstetricia del Hospital “Dr. Américo Babó”. Puerto Ordaz. Estado Bolívar. Abril - Mayo 2007.

Objetivos Específicos

- Determinar valores séricos de progesterona en pacientes del primer trimestre del embarazo.
- Determinar valores séricos de gonadotropina coriónica humana en pacientes del primer trimestre de embarazo.
- Identificar insuficiencia de cuerpo lúteo de acuerdo a valores de progesterona y gonadotropina coriónica humana en pacientes del primer trimestre de embarazo.
- Señalar frecuencia de insuficiencia de cuerpo lúteo según grupo etario en pacientes del primer trimestre de embarazo.



METODOLOGIA

Tipo De Estudio

La investigación realizada fue de tipo descriptiva y de corte transversal en la cual se relacionaron los niveles de progesterona y gonadotropina coriónica humana con la insuficiencia del cuerpo lúteo en un grupo de pacientes que cursaban el primer trimestre de gestación.

Universo

Estuvo representado por todas las pacientes que acudieron a la consulta de Obstetricia en el Hospital “Dr. Américo Babó”. Puerto Ordaz, Estado Bolívar.

Muestra

La conformaron las pacientes en el primer trimestre de embarazo que acudieron a la consulta de Obstetricia en el Hospital “Dr. Américo Babó”, Puerto Ordaz, Estado Bolívar durante el periodo Abril - Mayo 2007.

Criterios De Inclusion

Pacientes con una data de gestación igual o menor a 13 semanas, a las cuales no se les hubiera suministrado progesterona por vía exógena.

Criterios De Exclusion

Se excluyeron de este estudio:

- Pacientes diabéticas o con otra enfermedad de base.
- Pacientes con embarazos múltiples.



- Pacientes sometidas a terapias de fertilidad.

Materiales

- Agua destilada.
- Sistema de extracción Vacutainer.
- Alcohol.
- Algodón.
- Gasas.
- Gradillas.
- Guantes.
- Hojas de registro (Apéndice A).
- Marcadores.
- Palillos de madera.
- Papel Parafilm®.
- Torniquete.
- Tubos de ensayo de 12 x 75 mm.
- Tubos de ensayo sin anticoagulante, al vacío.
- Pipetas Pasteur con sus respectivos tapones de goma.

Equipos

- Nevera Regina 12,4 PIE³
- Centrífuga DYNAC™ de 24 puestos.
- Equipo ACS: 180 PLUS® (Automated Chemiluminescence System).
- Baño de María a 37°C.
- Silla para la toma de muestras.



Reactivos

- Kits de reactivos para la determinación cuantitativa de progesterona en suero, de ACS: 180®.
- Kits de reactivos para la determinación cuantitativa de gonadotropina coriónica humana (hCG) en suero, de ACS: 180®.
- Sueros controles comerciales ensayados.

Toma De Muestra Sanguinea

Días previos a la toma de muestra se le explicó a las pacientes, que no debían ingerir alimentos durante las 12 horas previas a la misma. Las muestras de sangre venosa fueron obtenida de forma aséptica, empleando Sistema de Extracción Vacutainer® y se depositaron en tubos sin anticoagulante, al vacío.

Preparacion De Las Muestras

Las muestras de sangre venosa una vez obtenidas fueron centrifugadas durante 10 minutos a 1.500 r.p.m. con el propósito de separar el paquete globular del suero. El suero de cada muestra fue trasvasado a tubos de 12 x 75mm, los cuales fueron identificados con el número asignado al paciente y se refrigeraron a 4°C en el laboratorio del Hospital “Dr. Américo Babó” de Puerto Ordaz. Estado Bolívar hasta su traslado al laboratorio de la Clínica Nuestra Señora de las nieves en Ciudad Bolívar, Estado Bolívar, donde fueron procesadas.



Pruebas Bioquímicas

Determinación De Progesterona:

Método: Sistema automático de quimioluminiscencia.

Fundamento: El ensayo de progesterona de ACS: 180® es un inmunoanálisis competitivo que utiliza una tecnología quimioluminiscente directa. La progesterona presente en la muestra clínica se une al anticuerpo monoclonal anti-progesterona de ratón marcado con éster de acridinio del reactivo lumínico. El anticuerpo no unido se une a un derivado de la progesterona unido covalentemente a partículas paramagnéticas de fase sólida.

El sistema se llevó a cabo automáticamente en los siguientes pasos:

- Lavado de la cánula de muestras con 225λ de reactivo de lavado 2.
- Se dispensan 20λ de muestra y 90λ de agente liberador en una cubeta.
- Se dispensan 100λ de reactivo lumínico e incuban durante 2,5 minutos a 37°C.
- Se dispensan 200λ de fase sólida e incuban durante 5 minutos a 37°C.
- Separa, aspira y lava las cubetas con agua para reactivos.
- Se dispensan 300λ de cada uno de los reactivos 1 y 2 para iniciar la reacción de quimioluminiscencia.
- Se presentaron los resultados obtenidos de acuerdo con la opción seleccionada.

Valores de Referencia en mujeres gestantes:

Primer Trimestre: 11,22 a 90,00 ng/mL

Determinación De Gonadotropina Corionica Humana

Método: Sistema automático de quimioluminiscencia.



Fundamento: El ensayo de hCG de ACS: 180® es un inmunoanálisis en sándwich de doble anticuerpo que utiliza una tecnología de medición quimioluminiscente directa con cantidades constantes de dos anticuerpos. El primer anticuerpo, presente en el reactivo lumínico, es un anticuerpo policlonal anti-hCG de cabra purificado por afinidad y marcado con éster de acridinio. El segundo anticuerpo, presente en la fase sólida, es un anticuerpo monoclonal anti-hCG de ratón purificado y unido de forma covalente a partículas paramagnéticas. Estos dos anticuerpos son específicos para epítomos distintos, presentes tanto en la subunidad β libre como en la subunidad β de la hCG intacta.

El sistema se llevó a cabo automáticamente en los siguientes pasos:

- Lavado de la cánula de muestras con 200 λ de reactivo de lavado 1.
- Se dispensan 50 λ de muestra en una cubeta.
- Se dispensan 100 λ de reactivo lumínico y 450 λ de fase sólida, e incuban durante 7 minutos y medio a 37°C.
- Separa, aspira y lava las cubetas con agua para reactivos.
- Se dispensan 300 λ de cada uno de los reactivos 1 y 2 para iniciar la reacción de quimioluminiscencia.
- Se presentaron los resultados obtenidos de acuerdo con la opción seleccionada.

Valores de Referencia en mujeres gestantes:

Primer mes: de 5 a 10000 mUI/mL

Segundo mes: de 1000 a 200000 mUI/mL

Tercer mes: de 10000 a 100000 mUI/mL

Análisis Estadísticos

Se aplicó estadística descriptiva, utilizando la hoja de análisis de datos SPSS versión 14.0 para Windows, fue calculada la significancia estadística a través de la prueba de Chi



Cuadrado (X^2) y presentaron los resultados en tablas de doble entrada expresándolos en valores absolutos y porcentuales.



RESULTADOS

Tabla 1:

Valores séricos de progesterona en pacientes del primer trimestre del embarazo que acudieron a la consulta de Obstetricia del Hospital “Dr. Américo Babó”. Puerto Ordaz. Estado Bolívar. Abril – Mayo 2007.

Tiempo de Gestación	N° de muestras	Mediana (ng/mL)	p25 (ng/mL)	p75 (ng/mL)
1er mes	18	40,75	35,40	42,75
2do mes	27	42,15	34,46	82,20
3er mes	27	58,60	37,20	63,39

La tabla 1 muestra que los rangos mensuales de progesterona sérica obtenidos a través de los valores de percentil 25 (p25) y 75 (p75) fueron de 35,40 ng/mL a 42,75 ng/mL para el primer mes de embarazo; de 34,46 ng/mL a 82,20 ng/mL para el segundo mes; y de 37,20 ng/mL a 63,39 ng/mL para el tercer mes. Estos valores mensuales de los percentiles 25 y 75 fueron tomados como referencia para determinar en este estudio los valores bajos y altos respectivamente de este parámetro por mes.



Tabla 2:

Valores séricos de gonadotropina coriónica humana (hCG) en pacientes del primer trimestre del embarazo que acudieron a la consulta de Obstetricia del Hospital “Dr. Américo Babó”. Puerto Ordaz. Estado Bolívar. Abril – Mayo 2007.

Tiempo de Gestación	N° de muestras	Mediana (mUI/mL)	p25 (mUI/mL)	p75 (mUI/mL)
1er mes	18	13620	2593	45270
2do mes	27	98720	7810	101350
3er mes	27	45270	9561	121460

En la tabla 2 se muestra que los rangos mensuales de gonadotropina coriónica humana (hCG) sérica obtenidos a través de los valores de percentil 25 (p25) y 75 (p75) fueron: para las pacientes que cursaban el primer mes de embarazo de 2593 mUI/mL a 45270 mUI/mL ; para las pacientes que cursaban el segundo mes de embarazo fue de 7810 mUI/mL a 101350 mUI/mL; y para las pacientes que cursaban el tercer mes de embarazo fue de 9561 mUI/mL a 121460 mUI/mL. Los valores mensuales de los percentiles 25 y 75 fueron tomados como referencia para determinar en este estudio los valores bajos y altos respectivamente de este parámetro por mes.

Tabla 3:

Insuficiencia del cuerpo lúteo, de acuerdo a valores séricos de progesterona y gonadotropina coriónica humana, en pacientes del primer trimestre del embarazo que



acudieron a la consulta de Obstetricia del Hospital “Dr. Américo Babó”. Puerto Ordaz. Estado Bolívar. Abril – Mayo 2007.

hCG	Progesterona				Total
	Baja	%	Normal	%	
Baja	3	14.29	18	85.71	21
Normal	3	5.88	48	94.12	51
Total	6	8.33	66	91.67	72

$$\chi^2=1,08 \text{ ns}$$

ns: no significativa; $p>0,05$

La tabla 3 asocia los valores séricos de progesterona y gonadotropina coriónica humana (hCG) mostrando que sólo un 8.33% de las pacientes cursaban el embarazo con concentraciones bajas de progesterona, la mitad de ellas presentaban concentraciones bajas de hCG y la otra mitad presentaban concentraciones normales de hCG.



Tabla 4:

Frecuencia de insuficiencia del cuerpo lúteo, según grupo etario, en pacientes del primer trimestre del embarazo que acudieron a la consulta de Obstetricia del Hospital “Dr. Américo Babó”. Puerto Ordaz. Estado Bolívar. Abril – Mayo 2007.

Grupo etario (años)	N° de muestras	Insuficiencia del cuerpo lúteo			
		Prog baja	hCG baja	Prog normal	hCG normal
20 – 25	24	0	12	24	12
26 – 31	33	0	6	33	27
32 – 37	15	6	3	9	12
Total	72	6	21	66	51

$$\chi^2=37,87$$

En la tabla 4 se observa que las 6 pacientes que cursaban su embarazo con concentraciones bajas de progesterona sérica se ubican en el grupo etario comprendido entre 32 y 37 años. El análisis de chi-cuadrado registró un resultado altamente significativo ($\chi^2=37,87$; $p<0,001$), lo cual nos hace inferir a que a mayor edad puede existir mayor probabilidad de una disfunción o insuficiencia del cuerpo lúteo.



DISCUSIÓN

El embarazo ocasiona la elevación de determinadas hormonas y la aparición de otras que, normalmente, no existen cuando la mujer no está embarazada; así la determinación cuantitativa y cualitativa de algunas de estas hormonas permiten el diagnóstico de embarazo. La cuantificación de progesterona se ha utilizado, junto con la determinación de la hCG para distinguir entre el embarazo intrauterino viable y el no viable (32). En este trabajo se analizaron los resultados obtenidos en una muestra de 72 gestantes a las cuales se les realizó determinaciones hormonales en el primer trimestre de embarazo.

Los resultados obtenidos mostraron que todos los rangos de valores séricos de progesterona obtenidos mediante el cálculo estadístico de los percentiles 25 y 75 (p25 y p75) de 35,40 a 42,75 ng/mL para el primer mes, de 34,46 a 82,20 ng/mL para el segundo mes y de 37,20 a 63,39 ng/mL para el tercer mes se ubican dentro del rango de referencia.

Con respecto a los rangos de hCG obtenidos mediante el cálculo estadístico de los percentiles 25 y 75 (p25 y p75) para el primer mes de embarazo se obtuvo un valor mínimo (p25) de 2593 mUI/mL y un valor máximo (p75) de 45270 mUI/mL estando solo el valor máximo por encima del rango de referencia. Para el segundo mes de embarazo se obtuvo un valor mínimo (p25) de 7810 mUI/mL y un valor máximo (p75) de 101350 mUI/mL ubicándose ambos dentro del rango de referencia. En las pacientes que cursaban el tercer mes de embarazo se obtuvo un valor mínimo (p25) de 9561 mUI/mL el cual está por debajo del valor mínimo de referencia, mientras que el valor máximo (p75) obtenido fue de 121460 mUI/mL, encontrándose por encima del valor máximo de referencia; así, para el tercer mes de gestación el rango de referencia de gonadotropina coriónica humana sérica obtenido en este estudio fue más amplio que el aportado por el ensayo utilizado para dicha cuantificación.



Del Vecchio, en 1997, afirmó que la progesterona es secretada en grandes cantidades por el cuerpo lúteo después de la ovulación y hasta aproximadamente la decimotercera semana de gestación (5) y Greenspan, en 1998, aseguró que dicha secreción se debe a la estimulación por parte de las concentraciones aumentadas de hCG (3). Aunque Schindler, en 1997, contrariando esta última afirmación, manifestó que las indicaciones para una relación progesterona/cuerpo lúteo y la tasa de abortos se han venido usando desde hace algún tiempo pues indican un curso normal o anormal del embarazo con mayor exactitud que los niveles de hCG (24), en este estudio los casos de concentraciones séricas bajas de progesterona se presentaron en la mitad de los casos con concentraciones séricas bajas de hCG y la otra mitad se presentaron con concentraciones normales de hCG, coincidiendo dichos resultados con la afirmación de Schindler; con las de Braird, en 2003; y con las de Garza *et al.*, en 1992. Braird en su estudio sobre el mantenimiento del cuerpo lúteo en embarazos humanos, realizado en 2003, concluyó que a partir de una sola cuantificación de los niveles séricos de gonadotropina coriónica humana se diagnosticaban pocas pérdidas de embarazos debidas al fracaso del cuerpo lúteo (14), mientras que Garza *et al.*, en 1992, en su estudio donde analizaron 30 casos de cuerpo lúteo deficiente en embarazos clínicos, concluyeron que a través de un solo estudio que revele concentraciones bajas de progesterona sérica se diagnostica un cuerpo lúteo deficiente y que, además, estas pacientes deben ser tratadas de inmediato (15).

O'Leary *et al.*, en 1996, realizaron un estudio sobre la cuantificación sérica de progesterona y gonadotropina coriónica humana en la evaluación de embarazos ectópicos de 110 pacientes y concluyeron que los valores bajos hCG, conjuntamente con valores bajos de progesterona, predicen resultados anormales en el 97% de las mujeres embarazadas (26), éstos resultados contradicen a los obtenidos en este estudio los cuales expresan que las concentraciones bajas tanto de progesterona como de gonadotropina coriónica humana predicen resultados solo en un 14.29% de las mujeres embarazadas.



Según el estudio de Romero, López, Arroyo y Quezada, realizado en México en el año 2002, sobre el efecto de riesgo en el hijo de madre con edad avanzada, indican que la edad materna avanzada se ha considerado que acarrea mayor riesgo para el resultado del embarazo (31). Esto lo corrobora la investigación realizada por Garza *et al*, en el mismo país una década antes, sobre el cuerpo lúteo deficiente en la cual se determinó que el promedio de edad de las pacientes que presentaron cuerpo lúteo deficiente fue de 36 años (15), cifra similar a la obtenida en este estudio donde los casos de insuficiencia el cuerpo lúteo se presentó en paciente cuyas edades se comprendían entre los 32 y 37 años, registrando un resultado estadístico altamente significativo ($p < 0,001$).



CONCLUSIONES

Después de analizar los resultados obtenidos en la muestra estudiada, se concluye que:

- Se obtuvieron concentraciones séricas de progesterona y hCG inferiores a los rangos de referencia.
- Concentraciones bajas de progesterona (<25 ng/mL) son predictivas de insuficiencia de cuerpo lúteo, independientemente del valor de la hCG.
- A una edad materna mayor de 32 años hay mayor probabilidad de padecer de insuficiencia de cuerpo lúteo.



RECOMENDACIONES

- Promover en el personal de salud la utilización de valores séricos de progesterona y hCG como predictores de insuficiencia de cuerpo lúteo en el primer trimestre de embarazo.
- Concienciar a la población en edad reproductiva sobre los riesgos para el resultado del embarazo que acarrea una edad materna avanzada (más de 32 años).



REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Botella, L. y Clavero, J. 1993. Tratado de Ginecología. Ediciones Díaz De Santos. Madrid, España. 14^a ed. pp 1072.
2. Kodaman, P., Taylor, H. 2004. Regulación Hormonal de la Implantación. Clínicas de Ginecología y Obstetricia. Temas Actuales. Endocrinología del Embarazo. Edit. Mc Graw – Hill. vol 4. 707 – 726.
3. Greenspan, F., Strewler, G. 1998. Endocrinología Básica y Clínica. Edit Manual Moderno. D.F., México. 4^a ed. pp 679.
4. Enk, L., Crona, N., Olsson, J. y Hillensjö, T. 1986. Lipids, apolipoproteins and steroids in serum and in fluid from stimulates and non-stimulateshuman ovarian follicles. Acta Endocrinológica. 111:558-562.
5. Del Vecchio, R. 1997. The role of steroidogenic and nonsteroidogenic luteal cell interactions in regulating progesterona production. Seminars in Reproductive Endocrinology. 15(4): 409 – 420.
6. Liu, K., Feng, Q., Gao, H., Hu, Z., Zou, R., Li, Y., *et al.* 2003. Expresion and regulation of plasminoge activators, plasminogen activator inhibitor type – 1, and steroidogenic acute regulatory protein in the rhesus monkey corpus luteum. J Endocrin. 144(8): 3611 – 3617.



7. Kohen, P., Castro, O., Palomino, A., Muñoz, A., Chistenson, L., Sierralta, W., *et al.* 2003. The steroidogenic response and corpus luteum expression of the steroidogenic acute regulatory protein after human chorionic gonadotropin administration at different times in the human luteal phase. *J Endocrin Clin Metanol.* 88(7): 3421 – 3430.
8. Castañeda, G., 1998. *Endocrinología del Embarazo. Fundamento de Endocrinología Ginecológica.* [En línea]: Disponible: <http://www.encolombia.com/fundegine.htm>. (Marzo 2006).
9. Niswender, G., Juengel, J., Silva, P., Rollyson, M., McIntush, E. 2002. Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. *Rev Physiological.* 80(1): 1 – 29.
10. Reynolds, L., Killilea, S., Grazul-Bilska, A., Redmer, D. 1994. Mitogenic factors of corpora lutea. *Prog Growth Factor Res.* 5: 159 – 175.
11. Lee, H., Kang, T. 1999. Angiogenin is involved in morphological changes and angiogenesis in the ovary. *Biochem Biophys Res Comm.* 257: 182 – 186.
12. Wulff, C., Wilson, H., Lague, p., Colin-Duncan, W., Armstrong, D., Fraser, H. 2000. Angiogenesis in the human corpus luteum: Localization and changes in angiopoietinas, Tie-2, and VEGF messenger RNA. *J Clin Endocrin.* 85: 4302 – 4309.
13. Amarista, M., Escalona, Y. 2003. Incidencia de embarazo ectópico. Hospital Docente Asistencial Raúl Leoni. San Félix. 1.992-2.002. Trabajo de Grado. Dpto de Ginecología y Obstetricia. Esc. Cs. de la Salud. Bolívar. U.D.O. pp 79. (Multígrafo).



14. Braird, D., Weinberg, C., McConnaughey, R. Wilcox, A. 2003. Rescue of the Corpus Luteum in Human Pregnancy. *Biol. of Rpction*. 68:448-456.
15. Garza, P., Kably, A., Serviere, C. 1992. Cuerpo lúteo deficiente. Análisis de 30 casos con embarazo clínico. *Ginecol Obstet Mex*. 60(5): 136 – 140.
16. Gabbe, S., Niebyl, J. y Simpson, J. 2004. *Obstetricia*. Tomo 1. Edit MARBAN. Madrid, España. pp 469.
17. Szabo, I., Szilagyi, A. 1996. Management of threatened abortion. *Early Pregnancy*. 2(4): 233 - 240.
18. Botero, J., Cadavi, A., Peña, R. 2001. Perfil inmunológico y resultado gestacional de pacientes con aborto recurrente de primer trimestre comparado con abortos de diferentes trimestres. *Rev Coloma Obstet Ginecol*. 52(1): 51 - 56.
19. Li, T. 1998. Recurrent miscarriage: principles of management. *Hum Reprod*. 13(2): 478 - 482.
20. Augustin, H. 2000. Vascular morphogenesis in the ovary. *Bailliere's Clinic Obstet Gynecol*. 14: 867 – 882.
21. Dart, R., Dart, L., Segal, M., Page, C. y Brancato, J. 1998. The ability of a single serum progesterone value to identify abnormal pregnancies in patients with beta – human chorionic gonadotropin values less than 1.000 mUI/mL. *Adm emerg med*. 5(4): 304-309.



22. Perkins, S., Al-Ramahi, M. y Claman, P. 2000. La comparación de progesterona sérica como señalizador de la poca viabilidad del embarazo en embarazadas espontáneamente que acuden a la emergencia y en las pacientes de la clínica de esterilidad. Ottawa. La fertilidad y esterilidad. 73(3): 499-504.
23. Rodríguez, G., Soper, J., Berchuck, U., Clarke-Pearson, D. Hammond, C. 1994. Serum progesterone for the exclusion of early pregnancy in women at risk for recurrent gestational trophoblastic neoplasia. Ginecol. Obstet [serie en línea]84:794797.Disponible:<http://www.greenjournal.org/cgi/content/abstract/84/5/794>. [Noviembre 2005].
24. Schindler, A. 1997. Immunologie und Gestagene bei der Schwangerschaft. Zeatt fur Gynakol Suppl. 119(2): 75 – 77.
25. Fleischer, A., Diamond, M. y Cartwright, P. 2002. Ecografía transvaginal en el embarazo ectópico. In: Fleischer, A., Manning, F., Jeanty, P. y Romero, R. 2002. Ecografía en Obstetricia y Ginecología. 6^{ta} ed. Edit. Marbán. Madrid. 6:113 - 138.
26. O' Leary, P., Nichols, C., Feddema, P., Lam, T. y Aitken, M. 1996. Serum progesterone and human chorionic gonadotropin measurements in the evaluation of ectopic pregnancy. J Obstet Gync. 36(3):319-323.
27. Vignali, M., Centinaio, G. 2000. Studio dell'efficacia Della somministrazione di progesterona naturale per via vaginale nella paziente affetta da poliabortivita da causa ormonale. Minerva Ginecol. 52(9): 367 – 374.



28. Herman, A., Raziel, A., Strassburger, D., Soffer, V., Bukovsky, I., Ron-El, R. 1996. The benefits of mid-luteal addition of human chorionic gonadotrophin in – vitro fertilization using a down – regulation protocol and luteal support with progesterone. *Hum Reprod.* 11(7): 1552 – 1557.
29. Waren, M., Shantha, S. 1999. Uses of progesterone in clinical practice. *International Journal of Fertility and Women's Medicine.* 44(2): 96 – 103.
30. Tavaniotou, A., Smitz, J., Bourgain, C., Devroey, P. 2000. Comparison between different routes of progesterone administration as luteal phase support in infertility treatments. *Hum Reprod.* 6(2): 139 – 148.
31. Romero, S., López, M., Arroyo, L., Quezada, C. 2002. Efecto de riesgo en el hijo de madre con edad avanzada. Estudio de casos y controles. *Ginecol Obstet Mex.* 70(6): 295 – 302.
32. Aller, J. y Pagés, G. 1999. *Obstetricia Moderna.* Edit. McGraw – Hill Interamericana. Caracas, Venezuela. pp. 615.

**APENDICE A****MODELO DE FICHA DE REGISTRO****UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NUCLEO DE BOLIVAR
ESCUELA DE CIENCIAS DE LA SALUD
“Dr. Francisco Virgilio Battistini Casalta”
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS**

Fecha: _____

Código de Paciente: _____

Nombre y Apellido: _____

Edad: _____ años

Tiempo de Gestación: _____ semanas.

Nº de gestas _____

Gestación múltiple _____ (si o no)

Nº de abortos _____

Terapia de fertilidad _____ (si o no)

RESULTADOS

HORMONALES		Valores de Referencia
<i>Progesterona:</i>		
<i>hCG:</i>		



APENDICE B
VALORES SERICOS DE PROGESTERONA Y GONADOTROPINA
CORIONICA HUMANA OBTENIDOS DE LAS MUESTRAS RECOLECTADAS
DE PACIENTES DEL PRIMER TRIMESTRE DE EMBARAZO

Edad (años)	Semanas de Gestación	Progesterona (ng/mL)	hCG (mUI/mL)
20	6	80.22	164.809
20	9	85.18	170.006
20	8	83.20	165.004
21	4	38.74	14.345
21	3	64.35	5.068
21	4	38.00	14.005
21	3	64.15	3.868
21	5	39.48	14.685
21	4	64.55	4.468
23	12	59.20	46.301
23	6	36.05	7.354
23	12	61.20	45.003
23	6	46.05	8.435
23	11	60.20	47.601
24	7	41.05	7.894
25	12	36.30	8.550
25	10	30.00	6.164
25	6	70.43	97.500
25	12	56.10	10.572
25	9	29.02	7.164
25	7	72.22	89.250
25	12	45.90	9.561
25	10	28.01	6.664
26	6	71.64	93.010
26	3	81.46	2.492
26	6	42.15	98.140
26	3	61.06	2.684
26	7	42.19	99.200
26	2	69.66	2.593
26	6	40.14	98.720
27	10	60.60	102.258
27	12	67.00	36.453
27	9	76.65	140.629
27	11	63.78	45.005
27	10	92.70	122.015
27	12	59.39	57.901



**VALORES SERICOS DE PROGESTERONA Y GONADOTROPINA
CORIONICA HUMANA OBTENIDOS DE LAS MUESTRAS RECOLECTADAS
DE PACIENTES DEL PRIMER TRIMESTRE DE EMBARAZO (Cont.)**

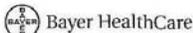
Edad (años)	Semanas de Gestación	Progesterona (ng/mL)	hCG (mUI/mL)
28	12	55.60	43.260
28	12	74.13	37.032
28	8	91.00	175.711
28	12	61.60	45.478
28	11	94.66	45.240
28	9	92.40	137.841
28	12	58.60	47.069
28	12	85.09	41.436
28	8	91.70	81.611
29	9	31.80	100.340
29	8	37.20	121.600
29	9	42.60	142.460
30	6	31.79	7.220
30	7	33.01	7.410
30	6	35.40	6.800
31	4	35.11	12.009
31	6	37.46	106.903
31	5	36.40	10.996
31	6	34.01	112.343
31	4	31.51	14.766
31	5	34.88	116.900
32	3	59.00	43.050
32	5	23.75	7.700
32	3	45.50	53.500
33	8	63.00	155.420
33	6	83.48	101.258
33	7	93.24	91.372
34	7	22.02	15.620
34	10	25.94	120.620
34	5	24.20	5.505
34	9	27.33	35.560
34	8	25.50	65.740
34	9	27.35	94.500
36	4	13.80	236.610
37	3	19.30	2.390
37	4	21.50	210.009



ANEXO A

ACS:180®

Automated Chemiluminescence System



hCG total (ThCG)

S

+B

Contenido

REF	Contenido	Número de pruebas
04096817 (672310)	6 viales de reactivo luminico para ThCG de ACS:180® LR 6 viales de fase sólida para ThCG de ACS:180 SP Tarjeta de la curva patrón de ThCG de ACS:180	300
09157776 (672311)	1 vial de reactivo luminico para ThCG de ACS:180 LR 1 vial de fase sólida para ThCG de ACS:180 SP Tarjeta de la curva patrón de ThCG de ACS:180	50

02120389 Rev. B, 2003-09

Uso previsto

Método de diagnóstico *in vitro* para la determinación cuantitativa de la gonadotropina coriónica humana (hCG) en suero utilizando los sistemas automáticos de quimioluminiscencia ACS:180®. Los resultados obtenidos a partir de las muestras de hCG se utilizan como complemento para determinar el estado de gestación. Este ensayo detecta tanto la molécula de hCG intacta como las subunidades beta libres de la misma.

Material necesario pero no suministrado

REF	Descripción	Contenido
00061644 (672181)	Calibrador B	6 viales de calibrador bajo CAL (L) 6 viales de calibrador alto CAL (H)
04582738 (672171)	Calibrador B	2 viales de calibrador bajo CAL (L) 2 viales de calibrador alto CAL (H)
01321119 (672191)	Reactivo de lavado 1 WASH	100 ml/vial
06274321 (672013)	Tapas con septo	100/paquete

Reactivos opcionales

REF	Descripción
05111259 (115249)	Diluyente de ThCG (50 ml/vial) DIL
119808	Material para la curva patrón de ThCG
07642456 (986000)	Ligand Plus 1, 2, 3 CONTROL 1, 2, 3
07377973 (986400)	Etiquetas de código de barras Ligand Plus 1, 2 y 3

Resumen y explicación de la prueba

La gonadotropina coriónica humana (hCG) es una glicoproteína compuesta por dos subunidades unidas mediante enlaces no covalentes. La subunidad alfa es similar a las de la hormona luteinizante (LH), la hormona estimulante del folículo (FSH) y la tirotrópica (TSH).^{1,2}

La subunidad beta de la hCG, sin embargo, es distinta de las de otras hormonas glicoproteicas hipofisarias, y es la que le confiere propiedades bioquímicas e inmunológicas específicas. La hCG es sintetizada por las células de la placenta, y participa en el mantenimiento del cuerpo lúteo durante la gestación. Comienza a detectarse una semana después de la concepción.¹

En el embarazo, los niveles de hCG aumentan de manera exponencial durante las 8 ó 10 semanas posteriores al último ciclo menstrual. En fases más avanzadas de gestación, aproximadamente a las 12 semanas de la concepción, la concentración de hCG comienza a disminuir a medida que la placenta empieza a producir hormonas esteroideas.

Otras posibles causas de un aumento de los niveles de hCG son el embarazo ectópico, la amenaza de aborto, el microaborto y la terminación reciente de la gestación.

Principio del ensayo

El ensayo de hCG total (ThCG) de ACS:180 es un inmunoanálisis en sándwich de doble anticuerpo que utiliza una tecnología de medición quimioluminiscente directa con cantidades constantes de dos anticuerpos. El primer anticuerpo, presente en el reactivo luminico, es un anticuerpo policlonal anti-hCG de cabra purificado por afinidad y marcado con éster de acridinio. El segundo anticuerpo, presente en la fase sólida, es un anticuerpo monoclonal anti-hCG de ratón

purificado y unido de forma covalente a partículas paramagnéticas. Estos dos anticuerpos son específicos para epitopos distintos, presentes tanto en la subunidad β libre como en la subunidad β de la hCG intacta.

El sistema lleva a cabo automáticamente los siguientes pasos:

- lava la cánula de muestras con 200 μl de reactivo de lavado 1
- dispensa 50 μl de muestra en una cubeta
- dispensa 100 μl de reactivo luminico y 450 μl de fase sólida, e incuba durante 7 minutos y medio a 37 °C
- separa, aspira y lava las cubetas con agua para reactivos³
- dispensa 300 μl de cada uno de los reactivos 1 y 2 para iniciar la reacción de quimioluminiscencia
- presenta los resultados obtenidos de acuerdo con la opción seleccionada, tal y como se describe en las instrucciones de uso del sistema o en la ayuda en pantalla

Existe una relación directa entre la cantidad de hCG presente en la muestra clínica y la cantidad de unidades relativas de luz (RLU) detectadas por el sistema.

Recogida y manipulación de muestras

Para este ensayo se recomienda utilizar muestras de suero.

Las siguientes recomendaciones para la manipulación y el almacenamiento de muestras de sangre provienen del National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS):⁴

- Extraiga todas las muestras de sangre tomando las precauciones generales para la venopunción.
 - Deje coagular bien las muestras antes de centrifugarlas.
 - Mantenga los tubos tapados y en posición vertical en todo momento.
 - No utilice muestras que hayan estado a temperatura ambiente durante más de 8 horas.
 - Tape bien las muestras y manténgalas a una temperatura de 2 a 8 °C si no se van a analizar en las 8 horas siguientes.
 - Congele las muestras a una temperatura de -20 °C o inferior si no se van a analizar en las 48 horas siguientes.
 - No congele las muestras más de una vez y mézclelas bien una vez descongeladas.
- Antes de colocarlas en el sistema compruebe que:
- las muestras no contengan fibrina ni ningún otro tipo de materia sólida.
 - las muestras no tengan burbujas.

Reactivos

Almacene los reactivos en posición vertical a una temperatura de 2 °C a 8 °C.

Para conseguir buenos resultados, mezcle bien la fase sólida invirtiendo varias veces el vial antes de usarlo. Inspeccione el fondo del vial para comprobar que todas las partículas se han dispersado y están en suspensión.

PRECAUCIÓN:

- Deseche los reactivos analíticos abiertos que hayan estado a temperatura ambiente (entre 20 y 30 °C) durante un tiempo total de 40 horas. No utilice estos reactivos para calibrar el sistema o analizar muestras.
- No utilice los componentes del kit pasada la fecha de caducidad.
- No mezcle reactivos de lotes diferentes.

Reactivo	Volumen	Componentes	Almacenamiento	Estabilidad
ThCG de ACS:180 LR	5 ml/vial	Anticuerpo policlonal anti-hCG de cabra (~0,5 μg/vial) marcado con éster de acridinio en solución salina tamponada, con azida sódica (0,11%) y conservantes	2-8 °C	hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial o 40 horas en total a temperatura ambiente
ThCG de ACS:180 SP	22,5 ml/vial	Anticuerpo monoclonal anti-hCG de ratón (~0,45 mg/vial) unido covalentemente a partículas paramagnéticas en solución salina tamponada, con azida sódica (0,11%) y conservantes	2-8 °C	hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial o 40 horas en total a temperatura ambiente
ThCG DIL	50 ml/vial	Suero equino tamponado termotratado, con EDTA, azida sódica (< 0,1%) y conservantes	2-8 °C	hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial o 24 horas en total cargado
WASH 1	100 ml/vial	Hidróxido de sodio 0,1N	2-8 °C	hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial

PRECAUCIÓN: La azida sódica puede reaccionar con las tuberías de cobre y plomo y formar azidas metálicas explosivas. Cuando se eliminen los reactivos, enjuagar con agua abundante para evitar la acumulación de azidas, si la eliminación es a través de los desagües sanitarios de acuerdo con la normativa vigente.

X R22 S28 **¡Noivo!** Nocivo por ingestión. En caso de contacto con la piel, lávese inmediata y abundantemente con agua y jabón. **Contenido:** azida sódica; reactivo luminico, fase sólida

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Preparación de los reactivos

Para conseguir buenos resultados, mezcle bien la fase sólida invirtiendo varias veces el vial antes de usarlo. Inspeccione el fondo del vial para comprobar que todas las partículas se han dispersado y están en suspensión. Si se forma espuma, retirela enrasando el borde superior del vial con una varilla para aplicaciones.



- No es necesario dejar que los reactivos alcancen la temperatura ambiente (entre 20 y 30 °C) antes de utilizarlos.
- Coloque tapas con septo a los viales de reactivo lumínico y fase sólida.
- No mezcle reactivos de lotes diferentes.

Calibración del ensayo

Para obtener información detallada sobre cómo introducir los valores de calibración, consulte las instrucciones de uso del sistema o la ayuda en pantalla.

Calibración de la curva patrón

El ensayo de hCG total de ACS:180 precisa una calibración de la curva patrón siempre que se utilice un nuevo número de lote de reactivo lumínico y fase sólida. Introduzca los valores de la curva patrón para cada nuevo número de lote de reactivo lumínico y fase sólida utilizando el lector de código de barras o el teclado. Los valores de la curva patrón figuran en la tarjeta correspondiente.

Frecuencia de calibración

El ensayo de hCG total de ACS:180 precisa una calibración de dos puntos:

- cada 28 días
- cuando se cambien los números de lote de los reactivos analíticos
- cuando se sustituya algún componente del sistema
- cuando los resultados del control de calidad estén fuera del rango repetidas veces

Control de calidad

Para obtener información detallada sobre cómo introducir los valores de control de calidad, consulte las instrucciones de uso del sistema o la ayuda en pantalla.

Para verificar el rendimiento y la evolución de los gráficos del sistema, como requisito mínimo deben analizarse dos niveles de material de control de calidad cada día que se analicen muestras. También deben analizarse muestras de control de calidad cuando se lleve a cabo una calibración de dos puntos. Trate todas las muestras de control de calidad exactamente igual que las muestras clínicas.

Para el control de calidad del ensayo de hCG total de ACS:180, utilice Ligand Plus o un material de control de calidad equivalente. Consulte los valores previstos recomendados en el prospecto del control de calidad. Si los resultados del control de calidad no están dentro de los valores previstos recomendados o de los valores establecidos por el laboratorio, haga lo siguiente:

- Revise estas instrucciones para verificar que el ensayo se llevó a cabo siguiendo los procedimientos recomendados por Bayer HealthCare
- Compruebe que los materiales no están caducados
- Compruebe que se han efectuado las tareas de mantenimiento necesarias
- Si es preciso, vuelva a analizar las muestras de control de calidad o contacte con Bayer HealthCare para solicitar asistencia técnica

Volumen de la muestra

En este ensayo se necesitan 50 µl de muestra para cada determinación individual. En dicho volumen no se incluye el volumen inutilizable de la copa de muestras, ni tampoco el volumen adicional que se precisaría para hacer duplicados o someter a la muestra a otras pruebas.

Procedimiento del ensayo

Para obtener información detallada sobre el manejo de los sistemas, consulte las instrucciones de uso del sistema o la ayuda en pantalla.

NOTA:

- Si la asignación automática de bandeja y copa está activada, utilice la lista de trabajo impresa como guía para cargar los calibradores, el material de control de calidad y las muestras clínicas en las posiciones correctas en la bandeja y en las copas.
 - Si la asignación automática de bandeja y copa está desactivada, y todas las muestras clínicas y de control de calidad están etiquetadas con códigos de barras, cargue las muestras en cualquier posición.
1. Programe las pruebas o los perfiles solicitados para cada muestra.
 2. Si es necesario, prepare y cargue el calibrador B:
 - a. Prepare los calibradores bajo y alto de acuerdo con las instrucciones del prospecto del calibrador B.
 - b. Dispense los calibradores bajo y alto en copas de muestras etiquetadas con los códigos de barras correspondientes.
 - c. Cargue las copas en la bandeja de muestras. Asegúrese de que el calibrador bajo preceda al calibrador alto en la bandeja de muestras.
 3. Prepare y cargue las muestras de control de calidad:
 - a. Prepare el material de control de calidad de acuerdo con las instrucciones del prospecto del mismo.
 - b. Dispense las muestras de control de calidad en copas de muestras convenientemente etiquetadas.
 - c. Cargue las copas de muestras en las posiciones correspondientes de la bandeja de muestras.
 4. Prepare los tubos primarios o las copas de muestras y cárguelos en la bandeja de muestras.
 5. Si es necesario diluir, añada diluyente de ThCG a una copa de muestras etiquetada con el código de barras correspondiente y cárguela en la bandeja de muestras.
 6. Llene una copa de muestras con reactivo de lavado 1, etiquétela con el código de barras correspondiente y cárguela en la bandeja de muestras. Cada prueba requiere 200 µl de reactivo de lavado 1.
 7. Cargue el reactivo lumínico y la fase sólida en posiciones adyacentes de la bandeja de reactivos.
 8. Ponga en marcha el sistema.

Notas sobre procedimientos

Cálculos

Para obtener información detallada sobre cómo calcula el sistema los resultados, consulte las instrucciones de uso del sistema o la ayuda en pantalla.

El sistema indica los valores de hCG en suero en mIU/ml.

Diluciones

- Las muestras de suero con niveles de hCG superiores a 1000 mIU/ml deben diluirse y volverse a analizar para obtener resultados más precisos. Diluya las muestras con diluyente de ThCG.
- Las muestras clínicas pueden diluirse de manera manual o automática. Para las diluciones automáticas, compruebe que el diluyente de ThCG está cargado y configure los parámetros del sistema con los siguientes valores:

Punto de dilución: ≤ 1000 mIU/ml

Factor de dilución: 2, 5, 10, 50, 100, 200

Para obtener información detallada sobre las diluciones automáticas, consulte las instrucciones de uso del sistema o la ayuda en pantalla.

- Diluya manualmente las muestras clínicas si al utilizar la dilución automática los resultados del paciente exceden la linealidad del ensayo, o cuando el protocolo de laboratorio así lo requiera.
- Utilice diluyente de ThCG para la dilución manual de las muestras clínicas y, a continuación, cargue la muestra diluida en la bandeja de muestras en sustitución de la muestra no diluida.
- No olvide corregir matemáticamente los resultados en función de la dilución. Si al programar la prueba se introduce un factor de dilución previa, el sistema calculará automáticamente el resultado.

Efecto prozona a dosis elevadas (efecto hook)

Las muestras clínicas con niveles muy altos de hCG pueden producir una disminución paradójica de las RLU (efecto prozona a altas concentraciones). En esta ensayo, las muestras de pacientes con niveles de hCG de hasta 400.000 mIU/ml darán resultados superiores a 1000 mIU/ml.

Análisis por lotes

Bayer HealthCare recomienda repetir las muestras clínicas analizadas inmediatamente detrás de muestras con valores de hCG superiores a 300.000 mIU/ml (consulte la sección *Limitaciones*).

Eliminación

Elimine los materiales peligrosos o con contaminación biológica siguiendo las normas de su centro. Deseche todos los materiales de forma segura y adecuada, y de acuerdo con la normativa vigente.

Limitaciones

No se han observado interferencias clínicamente significativas (menos del 0,0013%) en muestras analizadas inmediatamente después de muestras con valores de hCG de hasta 300.000 mIU/ml. Si el resultado no concuerda con la evaluación clínica, la muestra puede volver a analizarse en modo de lotes para eliminar la posible interferencia de una muestra con un valor de hCG superior a 300.000 mIU/ml.

Esta prueba puede utilizarse para detectar el embarazo el primer día de falta del periodo menstrual. Todos los ensayos *in vitro* pueden dar resultados erróneos, tanto falsos positivos (resultados que sugieren la existencia de un trastorno inexistente) como falsos negativos (resultados que no logran identificar un trastorno existente).

Las causas de estos tipos de resultados discordantes pueden ser muy variadas. Pueden aparecer resultados erróneos debido a la interferencia de componentes identificables del suero o de componentes del suero específicos de pacientes.

Los resultados erróneos producidos por una interferencia se repiten a lo largo del tiempo.

La persistencia de niveles de hCG en suero del orden de 10 a 100 mIU/ml (o más comúnmente de 10 a 50 mIU/ml) durante varios meses indica la posible presencia de un interferente analítico en la sangre del paciente que produce resultados erróneos.

Entre las fuentes de interferencia identificadas susceptibles de unirse a algún componente del ensayo y producir una interferencia se incluyen:

- componentes del plasma (factores de coagulación)
- proteínas séricas (p. ej., el factor reumatoide)
- anticuerpos anti-animales (anti-ratón, anti-conejo, anti-cabra, etc.) y heterófilos
- anticuerpos anti-idiotipo

Las interferencias también pueden estar producidas por:

- fármacos y metabolitos de fármacos
- sustancias con reactividad cruzada

Si aparece un resultado aberrante o anómalo, tal como se define en el protocolo del laboratorio, lo primero que debe hacer el personal del laboratorio es comprobar que el sistema funciona correctamente, y que el manejo y mantenimiento del mismo es conforme a lo dispuesto en la etiqueta del producto. A continuación, el usuario debe seguir el protocolo del laboratorio para advertir al médico de la existencia de un resultado que parece desviarse de las normas establecidas por el laboratorio.

Los resultados de la prueba no pueden utilizarse por sí solos para establecer un diagnóstico. Por ejemplo, las mujeres sanas no embarazadas podrían presentar un aumento de los límites inferiores de hCG. Un diagnóstico médico implica evaluar el resultado de la prueba en el contexto de la anamnesis y la exploración física de la paciente, así como de los resultados de otras pruebas, a veces consultando a otros especialistas.

Este kit se utiliza exclusivamente para determinar si hay un embarazo.

Las muestras de suero...	Tienen un efecto mínimo sobre el ensayo hasta...
hemolizadas	500 mg/dl de hemoglobina
lipémicas	1000 mg/dl de triglicéridos
ictéricas	20 mg/dl de bilirrubina

Resultados esperados

Para confirmar el rango de referencia en suero del ensayo de hCG total de ACS:180, se analizaron 143 muestras de suero de 47 mujeres no embarazadas aparentemente sanas, 48 varones aparentemente sanos y 48 mujeres posmenopáusicas. En el 100% de estas muestras se obtuvieron valores de hCG inferiores a 10 mIU/ml.



Los niveles de hCG durante el embarazo normal están bien documentados, y se presentan en la tabla siguiente. La producción de hCG es extremadamente rápida después de la concepción, y varía de una persona a otra. Un resultado negativo no excluye la posibilidad de embarazo. Si una paciente presenta un resultado negativo, conviene extraer una nueva muestra 2 días después y repetir el análisis, ya que durante una gestación normal los valores de hCG se duplican cada 48 horas.

Tiempo de gestación	Valores esperados de hCG (mUI/ml)
0,2-1 semana	5-50
1-2 semanas	50-500
2-3 semanas	100-5000
3-4 semanas	500-10.000
4-5 semanas	1000-50.000
5-6 semanas	10.000-100.000
6-8 semanas	15.000-200.000
2-3 meses	10.000-100.000

Al igual que con cualquier otro ensayo de diagnóstico *in vitro*, cada laboratorio debe determinar sus propios rangos de referencia para la evaluación diagnóstica de los resultados clínicos.⁵

Características de la prueba

Especificidad

Para determinar la reactividad cruzada del ensayo de hCG total de ACS:180 con TSH, LH, FSH, prolactina y hGH, se añadieron estas hormonas a muestras de suero con hCG. A continuación se determinó el nivel de hCG de las muestras.

Reactivo cruzado	Valor de hCG sin reactivo cruzado (mUI/ml)	Valor de hCG con reactivo cruzado (mUI/ml)
TSH, 2000 µUI/ml	12,9	12,1
	214,7	208,3
	556,9	520,2
LH, 200 mUI/ml	12,9	12,0
	214,7	197,6
	556,9	505,0
FSH, 200 mUI/ml	12,9	12,4
	214,7	213,1
	556,9	555,2
Prolactina, 1000 ng/ml	12,9	12,5
	214,7	217,2
	556,9	561,0
hGH, 500 ng/ml	12,9	12,5
	214,7	212,5
	556,9	555,4

Las pruebas de interferencia se determinaron de acuerdo con el documento EP7-P del NCCLS.⁶

Sensibilidad y rango del ensayo

El ensayo de hCG total de ACS:180 mide concentraciones de hCG de hasta 1000 mUI/ml, con una concentración mínima detectable de 2,0 mUI/ml.

Comparación de métodos

Para 190 muestras en el rango de 0 a 980 mUI/ml, se describe la relación entre el ensayo de hCG total de ACS:180 y el ensayo de hCG de ACS:180 mediante la ecuación:

$$hCG \text{ total de ACS:190} = 1,23 (hCG \text{ de ACS:180}) - 0,38 \text{ mUI/ml}$$

Coefficiente de correlación (r) = 0,99

Recuperación con dilución

Para determinar la recuperación y el grado de paralelismo, se analizaron siete muestras de suero humano con concentraciones de hCG comprendidas entre 515,8 y 867,7 mUI/ml, previamente diluidas con diluyente de ThCG en proporciones 1:2, 1:4, 1:8 y 1:16. Los porcentajes de recuperación oscilaron entre el 89,7 y el 111,9%, con una media del 99,2%.

Muestra	Dilución	Observado (mUI/ml)	Esperado (mUI/ml)	% de recuperación
1	—	515,8		
	1:2	271,5	257,8	105,3
	1:4	139,5	128,9	108,2
	1:8	70,3	64,5	109,0
	1:16	36,1	32,2	111,9
	Media			108,6
2	—	682,4		
	1:2	330,8	341,2	96,9
	1:4	173,4	170,6	101,6
	1:8	88,4	85,3	103,7
	1:16	45,7	42,7	107,1
	Media			102,3
3	—	683,9		
	1:2	338,0	342,0	98,8
	1:4	173,6	171,0	101,6
	1:8	85,8	85,5	100,4
	1:16	40,4	42,7	94,5
	Media			98,6

Muestra	Dilución	Observado (mUI/ml)	Esperado (mUI/ml)	% de recuperación
4	—	705,2		
	1:2	342,8	352,6	97,2
	1:4	182,3	176,3	103,4
	1:8	92,8	88,2	105,3
	1:16	45,1	44,1	102,3
	Media			102,1
5	—	741,0		
	1:2	341,0	370,5	92,0
	1:4	179,4	185,3	96,8
	1:8	89,1	92,6	96,2
	1:16	43,3	46,3	93,6
	Media			94,7
6	—	838,3		
	1:2	400,7	419,2	95,6
	1:4	204,7	209,6	97,7
	1:8	105,4	104,8	100,6
	1:16	49,1	52,4	93,7
	Media			96,9
7	—	867,7		
	1:2	391,4	433,9	90,2
	1:4	197,6	216,9	91,1
	1:8	98,5	108,5	91,7
	1:16	48,7	54,2	89,7
	Media			90,7
Media			99,2	

Recuperación del analito suplementado

Se añadieron cantidades variables de hCG a cinco muestras con niveles endógenos de hCG de 4,9 a 13,1 mUI/ml. Los porcentajes de recuperación oscilaron entre el 95,2 y el 105,0%, con una media del 99,0%.

Muestra	Cantidad añadida (mUI/ml)	Observada (mUI/ml)	% de recuperación
1	—	12,8	
	57,5	70,5	100,4
	112,1	124,9	100,0
	223,9	236,8	100,0
	423,5	426,0	97,6
	818,4	821,9	98,9
Media			99,4
2	—	4,9	
	57,5	61,8	99,0
	112,1	118,7	101,5
	223,9	220,9	96,5
	423,5	427,6	99,8
	818,4	810,0	98,4
Media			99,0
3	—	13,1	
	51,7	63,9	98,3
	98,8	112,2	100,3
	206,8	211,2	95,8
	380,0	379,7	96,2
	798,3	790,8	97,4
Media			97,6
4	—	11,3	
	51,7	63,1	100,2
	98,8	115,0	105,0
	206,8	223,9	102,8
	380,0	403,1	103,1
	798,3	795,2	98,2
Media			101,9
5	—	5,7	
	51,7	58,0	95,4
	98,8	111,4	98,2
	206,8	216,5	98,7
	380,0	387,3	95,2
	798,3	776,2	96,8
Media			96,9
Media			99,0

Precisión

Se analizaron seis muestras seis veces consecutivas en 48 ensayos y seis sistemas distintos, y conservando la misma calibración durante 28 días. Se obtuvieron los siguientes resultados:

Media (mUI/ml)	% de CV intraanálisis	% de CV total
8,8	4,9	9,1
11,9	3,5	6,5
23,7	2,4	6,4
51,5	2,0	5,8
69,1	1,9	6,1
197,9	1,8	5,7



Normalización

La normalización del ensayo de hCG total de ACS:180 está referida al 3er estándar internacional para la hCG humana (IS 75/537) de la Organización Mundial de la Salud (OMS). Los valores asignados a los calibradores y los rangos de los controles Ligand Plus provienen de esta normalización.

Asistencia técnica

Para obtener servicio al cliente, contactar con el proveedor local de servicio técnico.

Referencias

1. Russell PT. Pregnancy and fetal function. In: Kaplan LA, Pesce AJ, Clinical Chemistry: theory, analysis, and correlation. St. Louis, CV Mosby, 1989:572.
2. Kaplan LA. Human chorionic gonadotropin. In: Kaplan LA, Pesce AJ, Clinical Chemistry: theory, analysis, and correlation. St. Louis, CV Mosby, 1989:938-944.
3. Reagent Water Technical Bulletin. Bayer Corporation, 107060.
4. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Procedures for the handling and processing of blood specimens; second edition; approved guideline. NCCLS Document H18-A2; Wayne (PA): NCCLS; 1999 Oct. 40p.
5. National Committee for Clinical Laboratory Standards. How to define, determine, and utilize reference intervals in the clinical laboratory. Approved Guideline. NCCLS publication C25-A. Wayne, PA: NCCLS. 1995.
6. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Interference testing in clinical chemistry. Proposed Guideline. NCCLS document EP7-P. Wayne (PA): NCCLS; 1986.

ACS:180 es una marca comercial de Bayer HealthCare LLC.

© 2000 Bayer HealthCare LLC. Reservados todos los derechos.

US Pats 4,745,181; 4,918,192; 5,110,932; D330,429; 6,074,615



ANEXO B

ACS:180®

Automated Chemiluminescence System



Progesterona (PRGE)

+E

Contenido

REF	Contenido	Número de pruebas
09315932 (118529)	6 viales de reactivo lumínico para PRGE de ACS:180® LR 6 viales de fase sólida para PRGE de ACS:180 SP 6 viales de agente liberador de PRGE de ACS:180 REL Tarjeta de la curva patrón de PRGE de ACS:180	300
03789304 (118528)	1 vial de reactivo lumínico para PRGE de ACS:180 LR 1 vial de fase sólida para PRGE de ACS:180 SP 1 vial de agente liberador de PRGE de ACS:180 REL Tarjeta de la curva patrón de PRGE de ACS:180	50

02119585 Rev. A, 2003-06

Uso previsto

Método de diagnóstico *in vitro* para la determinación cuantitativa de la progesterona en suero utilizando los sistemas automáticos de quimioluminiscencia ACS:180®.

Material necesario pero no suministrado

REF	Descripción	Contenido
03283109 (672184)	Calibrador E	6 viales de calibrador bajo CAL ES 6 viales de calibrador alto CAL H
09689166 (672169)	Calibrador E	2 viales de calibrador bajo CAL ES 2 viales de calibrador alto CAL H
06274321 (672013)	Tapas con septo	100/paquete
08704935 (672302)	Reactivo de lavado 2 WASH	100 ml/vial

Reactivos opcionales

REF	Descripción
06223468 (672192)	Multidiluyente 3 (50 ml/vial) M-DIL
118675	Material para la curva patrón de PRGE
07642456 (986000)	Ligand Plus 1, 2, 3 CONTROL 1, 2, 3
07377973 (986400)	Etiquetas de código de barras Ligand Plus 1, 2 y 3

Resumen y explicación de la prueba

La progesterona, en combinación con los estrógenos, regula las funciones del aparato reproductor durante el ciclo menstrual. La progesterona es fundamental para preparar el endometrio para la implantación del blastocisto y para el mantenimiento de la gestación. Las fuentes más importantes de progesterona en la mujer son el cuerpo lúteo y la placenta. La corteza adrenal de hombres y mujeres, y los testículos del varón son fuentes secundarias de progesterona.

Los niveles de progesterona son bajos durante la fase folicular del ciclo menstrual. Después de la ovulación, la producción de progesterona por el cuerpo lúteo aumenta rápidamente, alcanzando una concentración máxima entre 4 y 7 días más tarde. Estos niveles se mantienen durante unos 4 a 6 días y a continuación desciende a los niveles basales, induciendo la menstruación^{1,2}. Durante la gestación, los niveles de progesterona aumentan progresivamente hasta alcanzar niveles máximos en el tercer trimestre. La evaluación clínica de la progesterona confirma la ovulación y normalidad de la función lútea en las mujeres no embarazadas. La producción insuficiente de progesterona por el cuerpo lúteo puede indicar una deficiencia de la fase lútea (DFL), lo cual se asocia a infertilidad y aborto precoz^{3,4}.

En las mujeres que utilizan anticonceptivos orales se observa una supresión de los niveles de progesterona⁵.

Principio del ensayo

El ensayo de progesterona de ACS:180 es un inmunoanálisis competitivo que utiliza una tecnología quimioluminiscente directa. La progesterona presente en la muestra clínica se une al anticuerpo monoclonal anti-progesterona de ratón marcado con éster de acridinio del reactivo lumínico. El anticuerpo no unido se une a un derivado de la progesterona unido covalentemente a partículas paramagnéticas de la fase sólida.

El sistema lleva a cabo automáticamente los siguientes pasos:

- Lava la cánula de muestras con 225 µl de reactivo de lavado 2.
- Dispensa 20 µl de muestra y 90 µl de agente liberador en una cubeta.
- Dispensa 100 µl de reactivo lumínico e incuba durante 2,5 minutos a 37 °C.
- Dispensa 200 µl de fase sólida e incuba durante 5,0 minutos a 37 °C.
- Separa, aspira y lava las cubetas con agua para reactivos⁶.
- Dispensa 300 µl de cada uno de los reactivos 1 y 2 para iniciar la reacción de quimioluminiscencia.
- Presenta los resultados obtenidos de acuerdo con la opción seleccionada, tal y como se describe en las instrucciones de uso del sistema o en la ayuda en pantalla.

Existe una relación inversa entre la cantidad de progesterona presente en la muestra clínica y la cantidad de unidades relativas de luz (RLU) detectadas por el sistema.

Recogida y manipulación de muestras

Para este ensayo se recomienda utilizar muestras de suero.

NOTA: los estudios sugieren que el almacenamiento de las muestras en tubos separadores (SST) puede afectar a los resultados de progesterona⁷. Si se utiliza el ensayo de progesterona de ACS:180, las muestras recogidas en tubos SST deben analizarse antes de 24 horas.

Las siguientes recomendaciones para la manipulación y el almacenamiento de muestras de sangre provienen del National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)⁸:

- Extraiga todas las muestras de sangre tomando las precauciones generales para la venopunción.
- Deje coagular bien las muestras antes de centrifugarlas.
- Mantenga los tubos tapados y en posición vertical en todo momento.
- No utilice muestras que hayan estado a temperatura ambiente durante más de 8 horas.
- Tape bien las muestras y manténgalas a una temperatura de 2 a 8 °C si no se van a analizar en las 8 horas siguientes.
- Congele las muestras a una temperatura de -20 °C o inferior si no se van a analizar en las 48 horas siguientes.
- No congele las muestras más de una vez y mézclelas bien una vez descongeladas.

Antes de colocarlas en el sistema compruebe que:

- Las muestras no contengan fibrina ni ningún otro tipo de materia sólida.
- Las muestras no tengan burbujas.

Reactivos

Almacenar los reactivos en posición vertical a una temperatura de 2 °C a 8 °C.

Para conseguir buenos resultados, mezclar bien la fase sólida invirtiendo varias veces el vial antes de usarlo. Inspeccionar visualmente el fondo del vial para asegurarse de que todas las partículas se han dispersado y se encuentran en suspensión.

PRECAUCIÓN:

- Deseche los reactivos analíticos abiertos que hayan estado a temperatura ambiente (entre 20 y 30 °C) durante un tiempo total de 40 horas. No utilice estos reactivos para calibrar el sistema o analizar muestras.
- No utilice los componentes del kit pasada la fecha de caducidad.
- No mezcle reactivos de lotes diferentes.

Reactivo	Volumen	Componentes	Almacenamiento	Estabilidad
PRGE de ACS:180 LR	5,0 ml/vial	Anticuerpo monoclonal anti-progesterona de ratón (~100 ng/vial) marcado con éster de acridinio en solución salina tamponada, con azida sódica (0,1%) y conservantes	2-8 °C	hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial o 40 horas en total a temperatura ambiente.
PRGE de ACS:180 SP	10,0 ml/vial	Derivado de progesterona (~600 ng/vial) unido covalentemente a partículas paramagnéticas en tampón fosfato con azida sódica (0,11%) y conservantes	2-8 °C	hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial o 40 horas en total a temperatura ambiente.
PRGE de ACS:180 REL	9,0 ml/vial	Agente liberador de esteroides (~20 µg/vial) en solución salina tamponada, con azida sódica (0,1%) y conservantes	2-8 °C	hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial o 40 horas en total a temperatura ambiente.
ACS:180 WASH 2	100 ml/vial	Hidrato de carbono (~0,9 g/vial) en solución tampón con azida sódica (0,11%) y conservantes	2-8 °C	hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial o 40 horas en total a temperatura ambiente.
M-DIL 3	50 ml/vial	Plasma humano con azida sódica (0,1%)	2-8 °C	hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial



PRECAUCIÓN: La azida sódica puede reaccionar con las tuberías de cobre y plomo y formar azidas metálicas explosivas. Cuando se eliminen los reactivos, enjuagar con agua abundante para evitar la acumulación de azidas, si la eliminación es a través de los desagües sanitarios de acuerdo con la normativa vigente.



R22 Nocivo/ Nocivo por ingestión. En caso de contacto con la piel, lávese inmediatamente y abundantemente con agua y jabón. **Contenido:** azida sódica; reactivo luminico; fase sólida



PRECAUCIÓN! PELIGRO BIOLÓGICO POTENCIAL: Contiene material de origen humano. Aunque cada unidad donante de suero o plasma humano utilizada en la fabricación de este producto ha sido probada y ha resultado no reactiva para el antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg), el anticuerpo del virus de la hepatitis C (VHC) y el anticuerpo del VIH-1/2 por métodos aprobados por la FDA, todos los productos fabricados utilizando material de origen humano deben ser manipulados como si fueran potencialmente infecciosos. Debido a que ningún método de análisis puede ofrecer una garantía completa de la ausencia de los virus de la hepatitis B o C, VIH u otros agentes infecciosos, estos productos deben manejarse de acuerdo con las buenas prácticas de laboratorio establecidas⁹⁻¹¹.

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Preparación de los reactivos

Para conseguir buenos resultados, mezcle bien la fase sólida invirtiendo varias veces el vial antes de usarlo. Inspeccione visualmente el fondo del vial para asegurarse de que todas las partículas se han dispersado y se encuentran en suspensión. Si se forma espuma, retirela enrasando el borde superior del vial con una varilla para aplicaciones.

- No es necesario dejar que los reactivos alcancen la temperatura ambiente (entre 20 y 30 °C) antes de utilizarlos.
- Coloque tapas con septo a los viales de reactivo luminico y fase sólida.
- No mezcle reactivos de lotes diferentes.

Calibración del ensayo

Para obtener información detallada sobre cómo introducir los valores de calibración, consulte las instrucciones de uso del sistema o la ayuda en pantalla.

Calibración de la curva patrón

El ensayo de progesterona de ACS:180 precisa una calibración de la curva patrón siempre que se utilice un nuevo número de lote de reactivo luminico y fase sólida. Introduzca los valores de la curva patrón para cada nuevo número de lote de reactivo luminico y fase sólida utilizando el lector de código de barras o el teclado. Los valores de la curva patrón figuran en la tarjeta correspondiente.

Frecuencia de calibración

El ensayo de progesterona de ACS:180 precisa una calibración de dos puntos:

- Cada 7 días
- Cuando se cambian los números de lote de los reactivos analíticos
- Cuando se sustituya algún componente del sistema
- Cuando los resultados del control de calidad están fuera del rango repetidas veces

Control de calidad

Para obtener información detallada sobre cómo introducir los valores de control de calidad, consulte las instrucciones de uso del sistema o la ayuda en pantalla.

Para verificar el rendimiento y la evolución de los gráficos del sistema, como requisito mínimo deben analizarse dos niveles de material de control de calidad cada día que se analicen muestras. También deben analizarse muestras de control de calidad cuando se lleve a cabo una calibración de dos puntos. Trate todas las muestras de control de calidad exactamente igual que las muestras clínicas.

Para el control de calidad del ensayo de progesterona de ACS:180, utilice Ligand Plus o un material de control de calidad equivalente. Consulte los valores previstos recomendados en los prospectos de los productos. Si los resultados del control de calidad no están dentro de los valores previstos recomendados o de los valores establecidos por el laboratorio, haga lo siguiente:

- Revise estas instrucciones para verificar que el ensayo se llevó a cabo siguiendo los procedimientos recomendados por Bayer HealthCare.
- Compruebe que los materiales no están caducados.
- Compruebe que se han efectuado las tareas de mantenimiento necesarias.
- Si es preciso, vuelva a analizar las muestras de control de calidad o contacte con Bayer HealthCare para solicitar asistencia técnica.

Volumen de la muestra

En este ensayo se necesitan 20 µl de muestra para cada determinación individual. En dicho volumen no se incluye el volumen inutilizable de la copa de muestras, ni tampoco el volumen adicional que se precisaría para hacer duplicados o someter a la muestra a otras pruebas.

Procedimiento del ensayo

Para obtener información detallada sobre el funcionamiento del sistema, consulte las instrucciones de uso del sistema o la ayuda en pantalla.

NOTA:

- Si la asignación automática de bandeja y copa está activada, utilice la lista de trabajo impresa como guía para cargar los calibradores, el material de control de calidad y las muestras clínicas en las posiciones correctas en la bandeja y en las copas.
 - Si la asignación automática de bandeja y copa está desactivada, y todas las muestras clínicas y de control de calidad están etiquetadas con códigos de barras, cargue las muestras en cualquier posición.
- Programa las pruebas o los perfiles solicitados para cada muestra.
 - Si es necesario, prepare y cargue el calibrador E:
 - Prepare los calibradores bajo y alto de acuerdo con las instrucciones del prospecto del calibrador E.
 - Dispense los calibradores bajo y alto en copas de muestras etiquetadas con los códigos de barra correspondientes.

- Cargue las copas en la bandeja de muestras. Asegúrese de que el calibrador bajo preceda al calibrador alto en la bandeja de muestras.
- Prepare y cargue las muestras de control de calidad:
 - Prepare el material de control de calidad de acuerdo con las instrucciones del prospecto del mismo.
 - Dispense las muestras de control de calidad en copas de muestras convenientemente etiquetadas.
 - Cargue las copas de muestras en las posiciones correspondientes de la bandeja de muestras.
 - Prepare los tubos primarios o las copas de muestras y cárguelos en la bandeja de muestras.
 - Si es necesario diluir, añada multidiluyente 3 a una copa de muestras etiquetada con el código de barras correspondiente y cárguela en la bandeja de muestras.
 - Llene una copa de muestras con reactivo de lavado 2, etiquétela con el código de barras correspondiente y seguidamente cargue la copa en la bandeja de muestras. Cada prueba requiere 225 µl de reactivo de lavado 2.
 - Llene una copa de muestras con agente liberador de progesterona, etiquétela con el código de barras correspondiente y cárguela en la bandeja de muestras. Cada prueba requiere 90 µl de agente liberador de progesterona.
 - Cargue el reactivo luminico y la fase sólida en posiciones adyacentes de la bandeja de reactivos.
 - Ponga en marcha el sistema.

Notas sobre procedimientos

Cálculos

Para obtener información detallada sobre cómo calcular el sistema los resultados, consulte las instrucciones de uso del sistema o la ayuda en pantalla.

Dependiendo de las unidades especificadas al configurar el análisis, el sistema indica los valores de progesterona en suero en ng/ml (unidades de masa) o nmol/l (unidades del Sistema Internacional). La fórmula de conversión es 1 ng/ml = 3,18 nmol/l.

Diluciones

- Las muestras de suero con niveles de progesterona superiores a 60 ng/ml (190,8 nmol/l) deben diluirse y volverse a analizar para obtener resultados más precisos. Diluya las muestras con multidiluyente 3.
- Las muestras clínicas pueden diluirse de manera manual o automática. Para las diluciones automáticas, compruebe que el multidiluyente 3 está cargado y configure los parámetros del sistema con los siguientes valores:
Punto de dilución: ≤ 60 ng/ml (190,8 nmol/l)
Factor de dilución: 10
Para obtener información detallada sobre las diluciones automáticas, consulte las instrucciones de uso del sistema o la ayuda en pantalla.
- Diluya manualmente las muestras clínicas si al utilizar la dilución automática los resultados del paciente exceden la linealidad del ensayo, o cuando el protocolo de laboratorio así lo requiera.
- Diluya las muestras manualmente con multidiluyente 3 y, a continuación, cargue la muestra diluida en la bandeja de muestras en sustitución de la muestra no diluida.
- No olvide corregir matemáticamente los resultados en función de la dilución. Si al programar la prueba se introduce un factor de dilución previa, el sistema calculará automáticamente el resultado.

Eliminación

Elimine los materiales peligrosos o con contaminación biológica siguiendo las normas de su centro. Deseche todos los materiales de forma segura y adecuada, y de acuerdo con la normativa vigente.

Limitaciones

Los anticuerpos heterófilos del suero humano pueden reaccionar con las inmunoglobulinas de los reactivos e interferir con los inmunoanálisis *in vitro*®. Los pacientes que están habitualmente en contacto con animales o expuestos a productos del suero de animales pueden ser propensos a este tipo de interferencia y presentar resultados anómalos. En ocasiones, puede ser necesaria información adicional para poder establecer el diagnóstico.

Las muestras de suero...	Tienen un efecto mínimo sobre el ensayo hasta...
hemolizadas	250 mg/dl de hemoglobina
lipémicas	500 mg/dl de triglicéridos
ictéricas	20 mg/dl de bilirrubina

Resultados esperados

Los resultados esperados para el ensayo de progesterona de ACS:180 ya han sido establecido con anterioridad. Basándose en un intervalo central del 95%, se establecieron los rangos de referencia que figuran más abajo. Para confirmar el rango de referencia en suero del ensayo de progesterona de ACS:180, se analizaron muestras de suero adicionales de sujetos aparentemente sanos.

Tipo de muestra	N	Mediana	Rango	Mediana	Rango
		(ng/ml)	(ng/ml)	(nmol/l)	(nmol/l)
Várones	80	0,54	0,28–1,22	1,72	0,89–3,88
Mujeres sanas					
Fase folicular	47	0,43	0,15–1,40	1,37	0,48–4,45
Fase lútea	84	12,74	3,34–25,56	40,51	10,62–81,28
Punto medio de la fase lútea	50	14,82	4,44–28,03	47,13	14,12–88,14
Mujeres posmenopáusicas	46	0,27	ND*–0,73	0,86	ND–2,32

* ND = No detectable.



En un estudio separado se determinaron los rangos de progesterona de 118 mujeres durante los tres trimestres de gestación. Los rangos observados se muestran en la siguiente tabla:

Tipo de muestra	N	Mediana (ng/ml)	Rango (ng/ml)	Mediana (nmol/l)	Rango (nmol/l)
<i>Mujeres gestantes</i>					
primer trimestre	40	21,85	11,22–90,00	69,48	35,68–286,2
segundo trimestre	50	41,02	25,55–69,40	130,44	81,25–284,29
tercer trimestre	28	155,00	48,40–422,50	492,90	153,91–1343,55

Al igual que con cualquier otro ensayo de diagnóstico *in vitro*, cada laboratorio debe determinar sus propios rangos de referencia para la evaluación diagnóstica de los resultados clínicos¹³.

Características de la prueba

Especificidad

El ensayo de progesterona de ACS:180 es altamente específico para la progesterona. Se añadieron diversos compuestos a multidiluyente 3 y se determinó el valor aparente de la progesterona. El porcentaje de reactividad cruzada representa el resultado aparente en comparación con la cantidad añadida.

Compuesto	Cantidad añadida (ng/ml)	Reactividad cruzada (%)
Cortisol	1000	ND*
11-desoxicorticosterona	1000	0,08
Corticosterona	1000	0,95
Testosterona	1000	ND
Aldosterona	1000	ND
Pregnenolona	1000	0,46
Androstenedicil	1000	ND
17 α -hidroxiprogesterona	1000	0,31
11-desoxicortisol	1000	ND
Danazol	10.000	ND
Prednisonolona	1000	ND
17 β -Estradiol	100	ND
Estrona	100	ND
Estrilol	100	ND
Ciomifeno	100	ND
Bromocriptina	100	ND

* ND = No detectable.

Las pruebas de interferencia se determinaron de acuerdo con el documento EP7-P del NCCLS¹⁴.

Sensibilidad y rango del ensayo

El ensayo de progesterona de ACS:180 mide concentraciones de progesterona de hasta 60 ng/ml (190,8 nmol/l), con una concentración mínima detectable de 0,11 ng/ml (0,35 nmol/l). La sensibilidad analítica se define como la concentración de progesterona correspondiente al valor de RLU dos desviaciones típicas menor que la media de 20 determinaciones repetidas del estándar cero de progesterona.

Comparación de métodos

La relación entre el ensayo de progesterona de ACS:180 y un método de RIA alternativo, obtenida a partir de 244 muestras con concentraciones en el rango de 0,11 a 46,3 ng/ml (0,35 a 147,3 nmol/l), es la siguiente:

$$\text{Progesterona de ACS:180} = 0,98 (\text{método alternativo}) + 0,15 \text{ ng/ml}$$

$$\text{Coeficiente de correlación } (r) = 0,97$$

Recuperación con dilución

Para determinar la recuperación y el grado de paralelismo, se analizaron cinco muestras de suero humano con concentraciones de progesterona en el rango de 28,4 a 47,6 ng/ml (90,3 a 151,4 nmol/l), previamente diluidas con multidiluyente 3 en proporciones 1:2, 1:4, 1:8 y 1:16. Los porcentajes de recuperación oscilaron entre el 100 y el 116%, con una media del 106%.

Muestra	Dilución	Observado (ng/ml)	Esperado (ng/ml)	Observado (nmol/l)	Esperado (nmol/l)	% de recuperación
1						
—	—	28,4	—	90,3	—	—
1:2	—	14,5	14,2	46,1	45,2	102
1:4	—	7,07	7,09	22,5	22,5	100
1:8	—	3,62	3,54	11,5	11,3	102
1:16	—	1,94	1,77	6,2	5,6	110
Media	—	—	—	—	—	103
2						
—	—	38,7	—	123,1	—	—
1:2	—	21,1	19,3	67,1	61,4	109
1:4	—	10,6	9,66	33,7	30,7	110
1:8	—	5,5	4,83	17,5	15,4	114
1:16	—	2,81	2,42	8,9	7,7	116
Media	—	—	—	—	—	112
3						
—	—	38,7	—	123,1	—	—
1:2	—	19,6	19,3	62,3	61,4	101
1:4	—	9,9	9,66	31,5	30,7	102
1:8	—	4,8	4,83	15,3	15,4	100
1:16	—	2,6	2,42	8,3	7,7	109
Media	—	—	—	—	—	103

Muestra	Dilución	Observado (ng/ml)	Esperado (ng/ml)	Observado (nmol/l)	Esperado (nmol/l)	% de recuperación
4						
—	—	47,6	—	151,4	—	—
1:2	—	25,5	23,8	81,1	75,7	107
1:4	—	12,6	11,9	40,1	37,8	107
1:8	—	6,3	5,94	20,0	18,9	106
1:16	—	3,21	2,97	10,2	9,4	108
Media	—	—	—	—	—	107
5						
—	—	45,8	—	145,6	—	—
1:2	—	23,7	22,9	75,4	72,8	104
1:4	—	11,8	11,4	37,5	36,3	103
1:8	—	6,01	5,72	19,1	18,2	105
1:16	—	3,11	2,86	9,9	9,1	109
Media	—	—	—	—	—	105
Media	—	—	—	—	—	106

Recuperación del analito suplementado

Se añadieron diversas cantidades de progesterona a cinco muestras con niveles endógenos de progesterona comprendidos entre 0,53 y 3,83 ng/ml (1,69 a 12,2 nmol/l). Los porcentajes de recuperación oscilaron entre el 76 y el 109%, con una media del 94%.

Muestra	Cantidad añadida (ng/ml)	Observado (ng/ml)	Cantidad añadida (nmol/l)	Observado (nmol/l)	% de recuperación
1					
—	—	0,53	—	1,69	—
5,0	—	4,98	15,9	15,8	89
15,0	—	14,8	47,7	47,1	95
35,0	—	35,2	111,3	111,9	99
Media	—	—	—	—	94
2					
—	—	3,83	—	12,2	—
5,0	—	8,50	15,9	27,0	94
15,0	—	18,8	47,7	59,8	100
35,0	—	37,6	111,3	119,6	97
Media	—	—	—	—	97
3					
—	—	1,14	—	3,63	—
5,0	—	5,10	15,9	16,2	79
15,0	—	15,0	47,7	47,7	93
35,0	—	34,6	111,3	110,0	96
Media	—	—	—	—	89
4					
—	—	0,55	—	1,75	—
5,0	—	5,99	15,9	19,0	109
15,0	—	14,9	47,7	47,4	96
35,0	—	32,8	111,3	104,3	92
Media	—	—	—	—	99
5					
—	—	3,10	—	9,9	—
5,0	—	6,90	15,9	21,9	76
15,0	—	17,2	47,7	54,7	94
35,0	—	36,7	111,3	116,7	96
Media	—	—	—	—	89
Media	—	—	—	—	94

Precisión

Se analizaron seis muestras tres veces consecutivas en 24 ensayos, con 3 sistemas y durante un periodo de 3 días. Se obtuvieron los siguientes resultados:

Media (ng/ml)	Media (nmol/l)	% de CV intraanálisis	% de CV total
1,2	3,8	10,0	12,0
1,6	5,1	6,1	7,5
7,6	24,0	3,3	4,6
12,8	40,3	3,9	4,2
22,3	71,1	3,4	3,8
48,7	154,7	5,0	7,8

Normalización

El ensayo de progesterona de ACS:180 se normaliza con estándares de referencia internos elaborados analíticamente y contrastados mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GCMS). La ecuación que describe la relación entre los estándares de progesterona y el análisis por GCMS en todo el rango del ensayo es la siguiente:

$$\text{Progesterona de ACS:180} = 1,10 (\text{GCMS}) + 0,09 \text{ ng/ml}, r = 0,99$$

Los valores asignados a los calibradores y los rangos de los controles Ligand Plus provienen de esta normalización.

Asistencia técnica

Para obtener servicio al cliente, contactar con el proveedor local de servicio técnico.



Referencias

1. Chatteraj SC, Waits NB. Endocrinology. In: Tietz NW, editor. Fundamentals of clinical chemistry. Philadelphia: WB Saunders, 1987. p.575.
2. Filicori M, Butler JP, Crowley WF Jr. Neuroendocrine regulation of the corpus luteum in the human. *J Clin Invest* 1984;73:1638-47.
3. Goldstein D, Zuckerman H, Harpaz S, et al. Correlation between estradiol and progesterone in cycles with luteal phase deficiency. *Fertil Steril* 1982;37(3):348-54.
4. Mals V, Castel NS, Muse KN, et al. Hormonal dynamics during luteal-follicular transition. *J Clin Endocrinol Metab* 1987;64:1109-14.
5. Henzel MR. Contraceptive hormones and their clinical use. In: Yen SSC, Jaffe RB, editors. Reproductive endocrinology. Philadelphia: WB Saunders, 1991. p.814.
6. Reagent Water Technical Bulletin. Bayer Corporation, 107060.
7. Wild D. Laboratory Management, The Immunoassay Handbook, Stockton Press, 1994.
8. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Procedures for the handling and processing of blood specimens; second edition; approved guideline. NCCLS Document H18-A2; Wayne (PA): NCCLS; 1999 Oct. 40p.
9. Centers for Disease Control. Update: Universal precautions for prevention of transmission of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus and other bloodborne pathogens in healthcare settings. *MMWR*, 1988;37:377-82, 387-8.
10. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections-second edition; approved guideline. NCCLS Document M29-A2; Wayne (PA): NCCLS; 2001 Dec. 105p.
11. Federal Occupational Safety and Health Administration. Bloodborne Pathogens Standard. 29 CFR 1910.1030.
12. Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988;34:27-33.
13. National Committee for Clinical Laboratory Standards. How to define, determine, and utilize reference intervals in the clinical laboratory; approved guideline. NCCLS Document C28-A. Wayne (PA): NCCLS; 1995 June 59p.
14. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Interference testing in clinical chemistry. Proposed Guideline. NCCLS document EP7-P. Wayne (PA):NCCLS;1986.

ACS:180 es una marca comercial de Bayer HealthCare LLC.

© 2000 Bayer HealthCare LLC. Reservados todos los derechos.

US Pats 4,745,181; 4,918,192; 5,110,932; D330,429; 6,074,615