UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO

Métodos de laboratorio en la cuantificación de perfiles hormonales para el diagnóstico de hipopituitarismo

Autores:
Guamán Placencio, Paola Mishel
Naranjo Haro, Victoria Almudena

Tutor:
MSc. Iván Marcelo Cantuña Vallejo

Riobamba, Ecuador.
2026

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE SALUD

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

TRABAJO DE TITULACIÓN - MODALIDAD TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:

LICENCIADA EN LABORATORIO CLÍNICO

TÍTULO:

Métodos de laboratorio en la cuantificación de perfiles hormonales para el diagnóstico de hipopituitarismo

AUTOR:

Guamán Placencio, Paola Mishel

Naranjo Haro, Victoria Almudena

TUTOR:

MSc. Iván Marcelo Cantuña Vallejo

Riobamba, Ecuador

2026

© DECLARATORIA DE AUTORÍA

Nosotras, Paola Mishel Guamán Placencio, con cédula de ciudadanía 0550142335 y Victoria Almudena Naranjo Haro, con cédula de ciudadanía 0650188469, autoras del trabajo de titulación: Métodos de laboratorio en la cuantificación de perfiles hormonales para el diagnóstico de hipopituitarismo, certifico que la producción, ideas, opiniones, criterios, contenidos y conclusiones expuestas son de nuestra exclusiva responsabilidad.

Asimismo, cedemos a la Universidad Nacional de Chimborazo, en forma no exclusiva, los derechos para su uso, comunicación pública, distribución, divulgación y/o reproducción total o parcial, por medio físico o digital; en esta cesión se entiende que el cesionario no podrá obtener beneficios económicos. La posible reclamación de terceros respecto de los derechos de autor de la obra referida, será de nuestra entera responsabilidad; librando a la Universidad Nacional de Chimborazo de posibles obligaciones.

En Riobamba, 11 de noviembre de 2026.



PAOLA MISHEL GUAMÁN PLACENCIO

NUI: 0550142335



VICTORIA ALMUDENA NARANJO HARO

NUI: 0650188469

DECLARATORIA SOBRE EL USO DE HERRAMIENTAS DE IA

Nosotras, Paola Mishel Guamán Placencio, con cédula de ciudadanía 0550142335 y Victoria Almudena Naranjo Haro, con cédula de ciudadanía 0650188469, autoras del presente trabajo de titulación, declaro que el uso de herramientas de inteligencia artificial en la elaboración del presente trabajo de titulación se limitó exclusivamente al apoyo en la organización de ideas y a la mejora de la redacción y claridad expositiva, en los apartados de introducción, marco teórico y marco metodológico, sin implicar la generación autónoma de contenidos académicos, análisis, resultados, conclusiones ni aportes propios del proceso investigativo.

Asimismo, dejo constancia de que las decisiones académicas, el desarrollo conceptual, el enfoque metodológico, el análisis de fuentes y la interpretación de resultados son de nuestra exclusiva responsabilidad.

Finalmente, declaro que el uso de dichas herramientas no sustituyó mi criterio académico, ni vulneró las disposiciones institucionales sobre plagio, propiedad intelectual y autoría, manteniéndose el cumplimiento de las normas de citación y referenciación, con el fin de garantizar la transparencia académica y el uso ético y responsable de tecnologías emergentes en la elaboración del trabajo de titulación.

En Riobamba, 11 de noviembre de 2026.



PAOLA MISHEL GUAMÁN PLACENCIO

NUI: 0550142335



VICTORIA ALMUDENA NARANJO HARO

NUI: 0650188469

DEDICATORIA

Dedico el presente trabajo de investigación, en primer lugar, a Dios por bendecirme, ser mi fortaleza y ayudarme a cumplir esta meta. A mis amados padres Dolores y José, por su amor incondicional, sacrificio y apoyo constante, gracias por dedicar su vida a cuidarme, y por ser mi ejemplo de humildad, esfuerzo y perseverancia. A mis hermanos, Edgar, que, desde algún lugar lleno de paz, ha cuidado de mí y ha iluminado mi camino en cada paso de esta etapa, a Mónica y Edison por ser una inspiración para alcanzar mis sueños, por confiar en mí y brindarme palabras de ánimo cuando quería rendirme, a mis queridos sobrinos Dani, Eddy y Monse, quienes llena mi vida de alegría y representan una motivación constante para ser una mejor persona. Todo lo que soy y todo lo que he logrado es gracias a ustedes.

Guamán Placencio Paola Mishel

Dedico este trabajo en primer lugar a Dios, quien ha sido mi guía, sustento y fortaleza en cada etapa de mi vida. Gracias a su amor y misericordia he podido levantarme en los momentos difíciles y continuar adelante.

También de manera muy especial, dedico este logro a Silvia, mi mami, por su amor incondicional, apoyo constante y por acompañarme en cada paso de mi camino. Gracias por creer en mí incluso cuando yo dudaba de mis propias capacidades.

También a mi abuelita Victoria, quien ha sido una de las personas más importantes en mi vida, quien con paciencia, dedicación y amor me ha brindado valiosas enseñanzas y me ha impulsado a seguir adelante en aquellos momentos en los que sentía que quería rendirme.

Sé que ambas se sienten orgullosas de mí, porque nunca han dejado de brindarme su confianza, cariño y apoyo incondicional.

Este logro también les pertenece a ustedes.

Naranjo Haro Victoria Almudena

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por bendecirme y permitirme culminar con éxito esta importante etapa de mi vida, a mis padres por darme la vida y ayudarme a cumplir mis sueños. De la misma manera a la Universidad Nacional de Chimborazo y a sus docentes por compartir sus conocimientos aportando a mi desarrollo profesional y personal. Expreso mi sincero agradecimiento a mi tutor MSc. Iván Marcelo Cantuña Vallejo, por su tiempo, paciencia y orientación que fueron fundamentales para el desarrollo y culminación de este proyecto. Finalmente agradezco a mi familia por todo su apoyo y a mis amigas Rosita, Oda, Liz y Mela, quienes se convirtieron en mi segunda familia durante esta etapa universitaria.

Guamán Placencio Paola Mishel

Expreso mi más sincero agradecimiento a Dios por brindarme la fortaleza, sabiduría y perseverancia necesarias para culminar esta etapa académica y el presente trabajo de investigación. De igual manera a la Universidad Nacional de Chimborazo y a sus docentes por los conocimientos, valores y experiencias compartidas durante mi formación profesional.

De forma especial, agradezco a mi tutor, MSc. Iván Marcelo Cantuña Vallejo, por su orientación, apoyo constante y valiosos aportes en el desarrollo de esta investigación.

Finalmente, agradezco a mi familia por su amor, confianza y apoyo incondicional, fundamentales para alcanzar mis metas académicas y personales.

Naranjo Haro Victoria Almudena

INDICE

RESUMEN 8
ABSTRACT 9
INTRODUCCIÓN 10
OBJETIVOS 13
MARCO REFERENCIAL 14
Hipófisis 14
Hipopituitarismo (HP) 14
Perfil hormonal del hipopituitarismo 15
3.1.1 Hormona de crecimiento (GH) 15
3.1.2 Hormona luteinizante (LH) 16
3.1.3 Hormona folículo estimulante (FSH) 16
3.1.4 Hormona estimulante de la Tiroides (TSH) 16
3.1.5 Hormona adrenocorticotropa (ACTH) 16
3.1.6 Prolactina (PRL) 17
Diagnóstico de Hipopituitarismo 17
Inmunoensayos 18
METODOLOGÍA 23
RESULTADOS Y DISCUSIÓN 27
CONCLUSIONES 43
BIBLIOGRÁFIA 44
ANEXOS 52

RESUMEN

El hipopituitarismo es una patología compleja caracterizada por la disminución progresiva de una o varias hormonas hipofisiarias, cuya sintomatología inespecífica suele retrasar el diagnóstico oportuno. En este contexto, el objetivo de la investigación fue argumentar sobre los métodos de laboratorio en la cuantificación de perfiles hormonales para el diagnóstico de hipopituitarismo; mediante una revisión comparativa de estudios basados en inmunoensayos, con el propósito de fortalecer la comprensión diagnóstica y terapéutica en endocrinología. En cuanto a la metodología, es una investigación de tipo descriptiva, documental, retrospectiva y de corte transversal. La población estuvo constituida por 78 artículos, sin embargo, se trabajó con una muestra de 30 que cumplieron con los criterios de inclusión y exclusión. Los resultados demuestran que las metodologías basadas en la emisión de luz presentan un desempeño analítico superior frente a las técnicas manuales. El método ECLIA se identificó como la técnica con mejor correlación, robustez analítica y concordancia con los métodos de referencia; debido a los fundamentos de su fase sólida que minimizan el ruido óptico de fondo, lo que permite superar las limitaciones históricas del RIA y ELISA manual, los cuales exhiben rangos dinámicos estrechos y vulnerabilidad en los límites de detección. En cambio, CLIA destaca por su alta reproducibilidad y eficiencia para la gestión masiva de perfiles hormonales. No obstante, la automatización a gran escala introduce desafíos como sesgos interplataforma, el efecto prozona e interferencias por factores extra-analíticos, concluyéndose que se requiere un control de calidad estricto y modelos multivariantes para garantizar la seguridad diagnóstica.

Palabras clave: *Hipopituitarismo, análisis clínico, inmunoensayo, hormonas de la adenohipófisis, endócrino.*

ABSTRACT

Hypopituitarism is a complex disorder characterized by the progressive reduction of one or more pituitary hormones, and its nonspecific symptoms often delay timely diagnosis. In this context, the objective of this research was to discuss laboratory methods used to quantify hormonal profiles for the diagnosis of hypopituitarism through a comparative review of immunoassay-based studies, with the aim of enhancing diagnostic and therapeutic understanding in endocrinology. Methodologically, this was a descriptive, documentary, retrospective, and cross-sectional study. The population consisted of 78 articles; however, a sample of 30 articles that met the inclusion and exclusion criteria was selected. The results demonstrate that light-emission-based methodologies exhibit superior analytical performance compared with manual techniques. ECLIA was identified as the technique with the strongest correlation, analytical robustness, and agreement with reference methods. This performance is associated with the principles underlying its solid phase, which minimize optical background noise and allow the method to overcome the historical limitations of RIA and manual ELISA, including narrow dynamic ranges and vulnerability near the limits of detection. In contrast, CLIA stands out for its high reproducibility and efficiency in the large-scale processing of hormonal profiles. Nevertheless, large-scale automation introduces challenges such as inter-platform bias, the prozone effect, and interference from extra-analytical factors. It is therefore concluded that strict quality control and multivariate models are required to ensure diagnostic safety.

Keywords: *Hypopituitarism, clinical analysis, immunoassay, anterior pituitary hormones, endocrine.*

Validar únicamente en FirmaEC.
Firmado electrónicamente por:

EDISON
RAMIRO DAMIAN
ESCUDERO

Reviewed by:
MsC. Edison Damian Escudero
ENGLISH PROFESSOR
C.C.0601890593

INTRODUCCIÓN

El equilibrio hormonal del organismo humano depende de la interacción precisa del eje hipotálamo-hipófisis con sus glándulas diana. La hipófisis regula funciones esenciales como el crecimiento, la reproducción, el metabolismo y la respuesta al estrés. Cuando su actividad se ve comprometida, como en el hipopituitarismo, se produce una disminución progresiva de las hormonas total o parcial. Este descenso suele manifestarse con síntomas inespecíficos, lo que dificulta su reconocimiento clínico y retrasa el diagnóstico[1].

Históricamente, el análisis hormonal ha experimentado una transición tecnológica significativa, evolucionando desde los fundamentos del radioinmunoensayo hasta la sofisticación de los sistemas de quimioluminiscencia automatizados. No obstante, el avance técnico no ha logrado erradicar desafíos críticos como la falta de conmutabilidad en los materiales de referencia y la marcada variabilidad entre técnicas analíticas. A nivel global, el hipopituitarismo presenta una prevalencia de 45 casos y una incidencia de 4 nuevos diagnósticos por cada 100 000 habitantes anualmente, destacando que casi la mitad de los afectados padece deficiencias en múltiples ejes hormonales[1].

Según Ebrahimi F, et al[2], los datos epidemiológicos sobre el hipopituitarismo son limitados, debido a que es una enfermedad poco frecuente, la prevalencia estadounidense en adultos se estimó entre 0.2 por 100 000. Entre 268 individuos adultos con deficiencia de la Hormona del Crecimiento confirmada y 54 310 en riesgo, la edad media fue de 50 años y la mayoría eran mujeres. Por otra parte, se ha mencionado una incidencia de HP de entre 4 y 5/100 000 personas/año, con una distribución similar en mujeres y hombres[2]. Su prevalencia ha mostrado un incremento, atribuible principalmente a las secuelas de traumatismo craneoencefálico y al mayor uso de herramientas diagnósticas, como la evaluación hormonal y las técnicas de imagen[3].

En cuanto a Latinoamérica, según Guerrero F, et al[4], para México, no hay registros nacionales sino una revisión sistemática publicada, que incluye investigaciones con un total de 5 614 pacientes, reportando una proporción de HP del 49.1% pero sujetos a cambios debido al tipo de tumor. Las prevalencias varían de acuerdo con la enfermedad, de esta manera, los valores más altos, se observan en germinomas que constituyen el 67.3 %, seguido por las metástasis hipofisarias con un 61.4%, mientras que cifras intermedias de 49.1%, pertenecen a craneofaringiomas, finalmente los valores más bajos se muestran en meningiomas con 11.5%[4].

La edad media en el momento del diagnóstico es de aproximadamente 47 años mientras que numerosos estudios han comparado el desempeño de métodos como ELISA y CLIA para el análisis del perfil hormonal. Los resultados coinciden en que las técnicas basadas en quimioluminiscencia tienden a ofrecer mayor sensibilidad y precisión, especialmente para hormonas como la TSH, no obstante, también se han identificado limitaciones, entre ellas interferencias analíticas, falta de estandarización y variaciones en los anticuerpos que emplea cada fabricante[5].

Por otra parte, aunque la evidencia en la región es aún limitada, según Baca M[6], se estima que en Brasil existen aproximadamente 100 000 pacientes con hipopituitarismo, con cerca de 8 500 nuevos casos anuales. En Chile, se ha estudiado el hipopituitarismo secundario a traumatismo craneoencefálico, abordando tanto su diagnóstico como su manejo terapéutico. En cuanto a los métodos de diagnóstico, la disponibilidad y estandarización de los inmunoensayos varía entre países y centros de salud. Los informes regionales señalan la necesidad de fortalecer las capacidades diagnósticas, ya que la heterogeneidad en equipos, reactivos y procedimientos limita la comparabilidad de los resultados[6].

Respecto a Ecuador según Barahona W, et al[7], no existen registros nacionales de incidencia/prevalencia de hipopituitarismo a gran escala publicados en revistas indexadas, sin embargo, sí hay estudios universitarios de serie descriptiva donde se analizaron 250 casos de adenomas hipofisarios[7]. La mayor parte de estudios sobre trastornos hipofisarios se ha enfocado en adenomas funcionales, como las prolactinomas, allí se han descrito diagnósticos tardíos y limitaciones en el acceso a pruebas hormonales estandarizadas. En provincias como Chimborazo, estas dificultades se intensifican por la limitada oferta de pruebas avanzadas y la variabilidad entre laboratorios[8].

La cuantificación de perfiles hormonales para el diagnóstico de hipopituitarismo continúa presentando dificultades derivadas de la variabilidad entre los métodos de inmunoensayo, como ELISA, CLIA, ECLIA y RIA por diferencias en sus principios analíticos, sensibilidad y calibradores, lo que puede generar discrepancias en los resultados hormonales, dificultando la comparabilidad interlaboratorial y la correcta interpretación clínica de los valores obtenidos[9].

Aunque la OMS promueve estándares internacionales como el Cuarto Estándar de TSH para mejorar la trazabilidad, su implementación sigue siendo limitada en la región, y en Ecuador persiste una aplicación incompleta del Acuerdo Ministerial N.º 2 393, que exige validación de procedimientos y controles de calidad. Esta situación puede ocasionar errores diagnósticos, limitaciones asociadas a la variabilidad entre los métodos de inmunoensayo, retraso en el tratamiento y afectación clínica significativa en los pacientes con sospecha de hipopituitarismo[7].

La problemática planteada conduce a la siguiente interrogante de investigación: ¿de qué manera la variabilidad analítica entre los métodos de inmunoensayo ELISA, CLIA y ECLIA inciden en la precisión y confiabilidad de la cuantificación de perfiles hormonales para el diagnóstico del hipopituitarismo en el ámbito de los laboratorios clínicos?

En este contexto, el presente proyecto adquiere relevancia científica, clínica y académica al proponer la comparación sistemática de los métodos de inmunoensayo mencionados frente al método de referencia establecido, reconocido gold estándar. La investigación está dirigida a profesionales de laboratorio clínico, médicos endocrinólogos, personal en formación y estudiantes del área de la salud, quienes requieren herramientas analíticas confiables para la adecuada interpretación de resultados hormonales.

Su importancia radica en que una cuantificación precisa de estos perfiles es determinante para el diagnóstico oportuno del hipopituitarismo, evitando errores diagnósticos y optimizando la conducta terapéutica. En consecuencia, los hallazgos permitirán generar evidencia técnica que contribuya a la optimización en la selección de metodologías analíticas, al fortalecimiento de la confiabilidad diagnóstica y al respaldo de una toma de decisiones clínicas más precisas.

OBJETIVOS

La presente investigación tiene como principal objetivo: Argumentar sobre los métodos de laboratorio en la cuantificación de perfiles hormonales para el diagnóstico de hipopituitarismo, mediante la revisión comparativa de estudios basados en inmunoensayos, con el propósito de fortalecer la comprensión diagnóstica y terapéutica en endocrinología. Para alcanzar este propósito, se definieron los siguientes objetivos:

- Contrastar los fundamentos técnicos de los inmunoensayos ELISA, quimioluminiscencia (CLIA) y electroquimioluminiscencia (ECLIA) a través de una revisión bibliográfica sistematizada, con el fin de determinar sus ventajas y limitaciones operativas.
- Inferir la aplicabilidad de los métodos de inmunoensayo para la medición de hormonas hipofisiarias mediante el análisis comparativo en revisiones bibliográficas, con el fin de determinar su idoneidad para el uso rutinario en la detección de niveles asociados al hipopituitarismo.
- Comparar la sensibilidad y especificidad de los métodos de inmunoensayo mediante la revisión de resultados reportados en estudios endocrinológicos, distinguiendo cuál técnica presenta la mejor correlación con el método gold estándar.

MARCO REFERENCIAL

Hipófisis

Se ubica en la fosa hipofisiaria, en la depresión ósea del hueso esfenoides denominada silla turca, rodea las caras inferior, anterior y posterior de la glándula. Posee forma ovalada y peso 500 mg, mide aproximadamente 12 mm transversalmente y 8 mm de diámetro anteroposterior. El diafragma de la silla turca, los senos esfenoidales inferiores y los senos cavernosos laterales se localizan de forma superior a la hipófisis, además un pliegue de duramadre cubre la misma y tiene una abertura que permite el paso del infundíbulo, lo que permite su conexión con el hipotálamo[10].

Se divide principalmente en dos lóbulos con distintas funciones y orígenes embrionarios, primero, la adenohipófisis se sitúa en la porción distal del infundíbulo, su conexión con el hipotálamo en su mayoría es vascular mediante el sistema porta hipofisario, en este lugar se forman varias hormonas que ejecutan su acción directa sobre el tejido diana como lo son: la hormona estimulante de la tiroides (TSH), la hormona adrenocorticotrópica (ACTH), la gonadotropina, la hormona del crecimiento (GH) y la prolactina (PRL)[11,12].

Por su parte, la neurohipófisis se localiza en la base del cerebro, está formada por terminaciones nerviosas de las células que residen en el hipotálamo, anatómicamente se divide en dos regiones: la pars nervosa y el tallo infundibular, su función principal es liberar los distintos productos sintetizados a nivel del hipotálamo, especialmente la hormona antidiurética y oxitocina, ya que previene la diuresis[12] (Anexo 1).

Hipopituitarismo (HP)

Es una enfermedad caracterizada por la disminución total o parcial en la secreción de una o varias hormonas de la hipófisis; su origen puede atribuirse a alteraciones propias de la glándula pituitaria y trastornos del hipotálamo. Respecto a sus síntomas suelen ser crónicos e inespecíficos; no obstante, el HP suele presentarse de manera aguda y aumentar el riesgo de morbilidad y mortalidad cardiovascular sobre todo entre mujeres e individuos diagnosticados a una edad temprana, aunque esto ocurre en casos muy raros[13].

La valoración de la función hormonal en pacientes con sospecha de HP abarca todas las hormonas hipofisarias anteriores y sus hormonas periféricas como ACTH, cortisol, TSH y T4 libre, FSH, LH, testosterona en hombres y estradiol en mujeres, PRL, GH, en la mayoría de los casos, estas determinaciones basales suelen ser suficientes para valorar los ejes tiroideos, gonadal y lactotrópico, sin embargo, para una valoración más exhaustiva de los ejes corticotrópico y somatotrópico se realizan pruebas dinámicas de estimulación de la reserva hipofisaria[13] (Anexo 2).

Etiología

El hipopituitarismo puede tener dos orígenes principales: una enfermedad directa de la hipófisis o una patología del hipotálamo, que afecta la producción de hormonas trópicas que actúan sobre esta. Es así como, puede asociarse con tumores como meningiomas supraselares, gliomas y craneofaringiomas, asimismo diversas lesiones iatrogénicas durante cirugías, traumatismos craneoencefálicos, o irradiación craneal, constituyen una causa importante[14].

De igual manera, el síndrome de la silla turca vacía es un trastorno que se caracteriza por el agrandamiento o la malformación de dicha silla, esto genera una hernia de la aracnoides hacia la fosa pituitaria, por consiguiente este desplazamiento empuja la hipófisis hacia el suelo de la fosa, dando como resultado una hipófisis menor o ausente, por otro lado, la hipofisectomía puede dañar o remover tejido hipofisario, resultando en la falta de hormonas necesarias para el cuerpo ya que este es un procedimiento quirúrgico que consiste en la extirpación parcial o total de la hipófisis[14].

Déficits aislados y combinados

Los déficits aislados son hallazgos habituales donde el elemento principal se caracteriza por una anomalía en la secreción de una sola hormona, mientras que las demás pueden mantenerse conservadas, esto provoca un cuadro clínico de difícil interpretación debido a los síntomas vagos y signos poco claros que dificulta el diagnóstico. Por otra parte, la deficiencia combinada es la pérdida de la secreción de más de dos hormonas pituitarias, produciendo un compromiso estructural extenso de la glándula hipófisis, este presenta un cuadro sintomático mucho más claro, entre las principales causas se reportan, tumores hipofisiarios, enfermedades infiltrativas, irradiación, traumatismos craneoencefálicos y daño vascular[15].

Perfil hormonal del hipopituitarismo

3.1.1 Hormona de crecimiento (GH)

Es generada por la glándula pituitaria anterior en células somatotróficas acidófilas, su liberación está regulada principalmente por distintos mecanismos de retroalimentación en respuesta a factores como el sueño, ejercicio y estrés. Opera mediante dos vías: una directa, al unirse a células diana, y otra indirecta a través del factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 (IGF-1)[16,17].

Su función principal es estimular el crecimiento de la mayoría de los órganos y tejidos, principalmente el cartílago y el hueso durante la adolescencia a través de la proliferación de condrocitos y osteoblastos mediante la activación de vías celulares. Su deficiencia está asociada principalmente a la población infantil, y es causada por traumatismo craneoencefálico, irradiación craneal y tumores hipotálamo-hipofisarios benignos o malignos[16,17] (Anexo 3).

3.1.2 Hormona luteinizante (LH)

Es una glicoproteína que se secreta junto con la hormona foliculoestimulante mediante las células gonadotropas de la hipófisis anterior, su liberación es estimulada por la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) y regulada negativamente por el estrógeno en mujeres y la testosterona en hombre. Sus funciones en la mujer son desencadenar la creación de hormonas esteroides en los ovarios y regular la ovulación e implantación, mientras que en el hombre son estimular a las células de Leydig para la producción de testosterona, sin embargo, en ambos casos participa en la maduración de las células germinales. Su deficiencia se presenta junto con la deficiencia de la hormona folículo estimulante provocando hipogonadismo[18,19] (Anexo 4).

3.1.3 Hormona folículo estimulante (FSH)

La FSH, LH y la gonadotropina coriónica humana, se agrupan como gonadotropinas; esta suele unirse al receptor de la hormona estimulante del folículo (FSHR) ubicada en la membrana plasmática de las células de la granulosa en el ovario y estimula el crecimiento folicular. La función de esta hormona en el testículo es estimular la espermatogénesis mediante la unión a FSHR en las células de Sertoli, también está implicada en la disgenesia ovárica hipergonadotrópica. El deterioro de la producción de las gonadotropinas causa la deficiencia de LH y FSH que compromete la gametogénesis y la producción de esteroides gonadales[20,21].

3.1.4 Hormona estimulante de la Tiroides (TSH)

Es una hormona glicoproteica que se encarga del estímulo principal para la producción de hormona tiroidea por la glándula tiroides, esta puede ejercer efectos de crecimiento en las células foliculares tiroideas, lo que lleva al agrandamiento de la tiroides. Su liberación está regulada por el eje hipotálamo-hipofisario donde las neuronas en el hipotálamo liberan hormona liberadora de tirotropina (TRH) u hormona liberadora de tiroides, que estimula a los tirotrofos de la hipófisis anterior para que secreten TSH, asimismo estimula a las células foliculares tiroideas para que liberen T3 o T4. Su déficit a nivel central es el marcador bioquímico del hipotiroidismo secundario[22,23].

3.1.5 Hormona adrenocorticotropa (ACTH)

La importancia clínica de esta hormona radica en que se encarga de regular la producción de cortisol desde la corteza suprarrenal a través del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal (HPA), además esta tiene la función suprimir la inflamación, la estimulación de la actividad metabólica y la elevación de la glucosa en sangre, componentes críticos de la respuesta al estrés. La deficiencia adquirida de ACTH se asocia principalmente con traumatismos, síndrome de Sheehan, hipofisitis linfocítica, silla turca vacía, post-radioterapia, y en algunos casos puede existir una etiología autoinmune[24,25].

3.1.6 Prolactina (PRL)

Es una hormona polipeptídica, su síntesis, almacenamiento y secreción están reguladas por las células lactotropas del lóbulo anterior de la hipófisis. Su principal función en las mujeres es la producción de leche materna después del parto y desarrollo de glándulas mamarias mientras que en los hombres va a influir en la función de los testículos, cabe destacar que su secreción se va a dar mediante los estímulos fisiológicos como succión del pezón durante la lactancia, estrés, aumento de esteroides ováricos, etc. Su déficit se ha asociado con el deterioro de la homeostasis metabólica, la hipoprolactinemia se relaciona con la incapacidad de lactar[26,27].

Diagnóstico de Hipopituitarismo

El diagnóstico se basa en la cuantificación de las seis hormonas hipofisarias anteriores y sus hormonas diana obtenidas en ayuno matutino mediante inmunoensayos sensibles, en algunos casos se realizan pruebas dinámicas de estimulación. En la mayoría de los casos, excepto en los de sospecha de deficiencia de GH o ACTH, la valoración basal es suficiente para establecer el diagnóstico, sin embargo, el uso de pruebas combinadas de función hipofisaria (pruebas "cóctel"), se emplean únicamente para situaciones clínicas muy específicas[28].

Errores en el diagnóstico de laboratorio para hipopituitarismo

El diagnóstico de hipopituitarismo se basa principalmente en pruebas de laboratorio, aunque estas presentan desafíos y limitaciones que deben comprenderse y abordarse adecuadamente, lo que hace esencial un enfoque multidisciplinario.

Se pueden considerar tres fases en el proceso diagnóstico de dicha patología: preanalítica, analítica y postanalítica[3].

5.1.1 Fase preanalítica:

Engloba los factores biológicos que pueden afectar la medición hormonal, como la edad, el sexo, el ciclo menstrual, la presencia de hemólisis, la hora del día de la toma de muestra (ritmos circadianos hormonales), el estrés durante la toma de muestra de sangre, la preparación, almacenamiento y condiciones de trabajo adecuados[3].

Modificantes presentes en las hormonas:

- **ACTH:** Muestra un ritmo diurno pronunciado, además de este patrón fisiológico, factores como el estrés agudo y emocional constituyen una de las principales causas de variación en sus niveles[3].
- **PRL:** Sigue un patrón similar al del cortisol, sin un aumento significativo por la tarde sin estimulación específica[3].

- **GH:** Se secreta en pulsos y se ve significativamente afectada por el ciclo sueño-vigilia, con la mayor amplitud de secreción durante las primeras horas de sueño[3].
- **TSH:** Aumenta al final de la tarde, alcanza su pico máximo por la mañana y disminuye a lo largo del día; por lo tanto, las determinaciones de TSH deberían realizarse idealmente después de una noche de sueño normal[3].

5.1.2 Fase analítica:

Es importante utilizar métodos apropiados y considerar la variabilidad biológica al interpretar los resultados. La cuantificación en los laboratorios clínicos se realiza principalmente mediante inmunoensayos, mientras que la espectrometría de masas rara vez se utiliza debido a su complejidad y coste[3].

5.1.3 Fase post-analítica:

Es fundamental comparar los resultados con intervalos de referencia apropiados y considerar las variables biológicas como la edad, el sexo y otras enfermedades endocrinas o metabólicas concomitantes[3].

Inmunoensayos

Son herramientas analíticas que se utilizan para cuantificar analitos de interés biológico, como bacterias y proteínas, mediante la unión específica entre anticuerpos y antígenos, es de vital importancia destacar que estos poseen una alta selectividad, lo que permite que el reconocimiento anticuerpo-antígeno puede realizarse con éxito incluso en matrices complejas que contienen otros compuestos. La interacción bioquímica entre anticuerpos y antígenos puede observarse monitorizando la variación de las propiedades de un compuesto específico ("trazador") que interactúa selectivamente con el anticuerpo o con el antígeno[28,29].

Este trazador es un analito o un anticuerpo con una etiqueta unida covalentemente, que genera una señal ante un estímulo específico, como un pulso eléctrico, la acción enzimática o la luz. Registrando esta señal en diferentes condiciones, además, es posible generar una curva de calibración que represente la lectura medida en función de la concentración del analito no marcado presente en la muestra. A continuación, combinando los datos con la curva de calibración, se puede determinar la concentración del compuesto investigado[28].

Clasificación de los inmunoensayos

Muchos inmunoensayos pueden clasificarse en dos tipos, basándose en el procedimiento experimental utilizado para preparar dicho ensayo, el homogéneo evita un pase de separación debido a que los análisis se realizan en ausencia de soporte sólido y los procedimientos operativos adoptados no requieren la separación del trazador no unido de la

muestra investigada, el compuesto marcado es capaz de generar la señal deseada solo cuando se une al analito o al anticuerpo[29].

Los ensayos heterogéneos incluyen pasos de lavado, lo que permite la separación de la forma unida del anticuerpo marcado libre, a diferencia del anterior, la presencia de un soporte sólido es importante para realizar procesos automáticos. Esta característica, junto con la mayor versatilidad, mayor especificidad y sensibilidad, permite que los inmunoensayos heterogéneos se conviertan en el formato de ensayo más popular[29].

Los inmunoensayos inmunométricos, también conocidos como inmunoensayos sándwich, son el ejemplo más sencillo para comprender su funcionamiento. Los anticuerpos inmovilizados sobre un soporte sólido se unen al analito seleccionado de la muestra, y un segundo anticuerpo marcado, capaz de reconocer otra parte del analito, se utiliza para la generación de la señal. De hecho, este último anticuerpo lleva un trazador unido covalentemente, capaz de producir una lectura específica, como la radiactividad o la emisión de luz. Los inmunoensayos sándwich se utilizan comúnmente para analitos con alta masa molecular, por lo tanto, con suficiente área superficial para localizar dos anticuerpos[29] (Anexo 5).

6.1.1 Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA)

En este tipo de ensayo, uno de los componentes de la reacción se adsorbe de forma inespecífica o se une de manera covalentemente a la superficie de una fase sólida, como un pocillo de microtitulación, una partícula magnética o una esfera de plástico. Esta unión facilita la separación de los reactivos marcados, tanto los unidos como los libres. En el método más común para usar la técnica ELISA, se añade una alícuota de muestra o calibrador que contiene el antígeno (Ag) a cuantificar y se deja que se una a un anticuerpo (Ab) en fase sólida[30].

Tras el lavado, se añade un anticuerpo marcado con enzima, formando un complejo sándwich de enzima Ab-Ag-Ab en fase sólida. El anticuerpo no unido se elimina por lavado y se añade el sustrato enzimático, la cantidad de producto generado es proporcional a la cantidad de antígeno en la muestra, los anticuerpos específicos en una muestra también pueden cuantificarse mediante un procedimiento ELISA, en el que el antígeno, en lugar del anticuerpo, se une a una fase sólida. El segundo reactivo es un anticuerpo marcado con enzima específico para el anticuerpo analito[30]. (Anexo 6)

Ventajas de ELISA

- Procedimientos sencillos, directos, y su alta especificidad y sensibilidad capaz de detectar niveles tan bajos como 1 pg/ml.
- Bajo costo, fácil accesibilidad y vida útil de los reactivos.
- Su capacidad para medir hormonas, péptidos y una amplia gama de otras moléculas en fluidos biológicos como suero, plasma, saliva y extractos celulares[31].

Limitaciones de ELISA

Su principal inconveniente es el efecto gancho también denominado exceso de anticuerpos o fenómeno de prozona, que se genera cuando existe una disminución inesperada de la señal o resultados bajos e imprecisos, incluso con una concentración alta de analito (Anexo 7). Para mitigar el efecto gancho, se pueden considerar dos enfoques[31].

- Dilución de la muestra para garantizar que se encuentre dentro del rango lineal del ensayo.
- Protocolo de ensayo de dos pasos: Al separar las etapas de captura y detección, se pueden minimizar las reacciones competitivas[31].

6.1.2 Quimioluminiscencia (CLIA)

Se refiere al proceso en el cual la luminiscencia se genera a través de reacciones químicas sin una fuente de luz externa u otra energía, es decir, las sustancias químicas se oxidan en intermediarios inestables de alta energía, que posteriormente se desintegran para emitir luz o transferir energía a los fluoróforos circundante. (Anexo 8). La quimioluminiscencia se puede clasificar en dos tipos basándose en el principio de conversión de energía de la luminiscencia[32]:

Ventajas de CLIA

- Presenta alta sensibilidad.
- Ausencia de necesidad de fuente de luz externa y alta relación señal-ruido[32].

Limitaciones de CLIA

- La aplicación de sustratos quimioluminiscentes en campos biomédicos aún es limitada en comparación con la fluorescencia debido a su hidrofobicidad, señal débil y rápida desintegración[32].

6.1.3 Electroquimioluminiscencia (ECLIA)

Se basa en la interacción entre un anticuerpo y su antígeno correspondiente, utiliza reactivos especializados, incluyendo un anticuerpo de captura contra el antígeno, generalmente una biomolécula, y un anticuerpo marcado para detectar la interacción. El anticuerpo de captura se inmoviliza en un soporte sólido, como una microplaca o una microesfera magnética, en cambio, el anticuerpo marcado se conjuga con un marcador luminiscente y una molécula electroquímicamente activa[33] (Anexo 9).

Ventajas de ECLIA

- Detección, separación y cuantificación de proteínas, enzimas, hormonas, metabolitos y ácidos nucleicos.

- No son afectados por sustancias interferentes endógenas, como la bilirrubina sérica hasta 64 mg/dL, la lipemia hasta 1 900 mg/dL y la hemoglobina sérica hasta 1 g/dL no interfieren con este inmunoensayo[33].
- Presenta alta sensibilidad, amplio rango dinámico, precisión y el análisis de alto rendimiento la convierten en una herramienta óptima para la detección y seguimiento de trastornos hormonales.
- Superior al radioinmunoensayo convencional y ELISA[33].

Limitaciones de ECLIA

- Presenta afección por fugas de luz externas y por luminiscencia de fondo generada por algunos reactivos, incrementando el ruido analítico, lo que lleva a la alteración de la precisión en los resultados.
- Utiliza reactivos y disolventes de alta pureza, ya pequeñas impurezas o contaminantes pueden interferir en la señal emitida y comprometer la exactitud del análisis[33].

6.1.4 Radioinmunoensayo

Es una técnica inmunológica en la que se utilizan radioisótopos para detectar antígenos o anticuerpos en líquidos biológicos. En este ensayo se incorpora una reacción de enlace competitivo, en la que una cantidad fija de antígeno marcado radiactivamente y antígeno de la muestra compiten por un número limitado de sitios de enlaces específicos con el anticuerpo. La unión de los dos antígenos con el anticuerpo forma un complejo precipitable, el porcentaje de antígeno marcado que se precipita disminuye a medida que la concentración de antígeno no marcado en la muestra aumenta[34].

Por tanto, la concentración de antígeno en la muestra problema es inversamente proporcional a la cantidad de radioactividad de la fracción enlazada. Si se incuba una muestra que contenga Ag, Ag* y Ac, los dos Ag y Ag* compiten por su unión con Ac. Tras producirse la reacción, se separan los antígenos unidos (Ag-Ac, Ag*- Ac) de los libres Ag*, Ac· Una vez separados se mide la radioactividad de las fracciones unida y libre. Utilizando curvas de calibración obtenidas con patrones de los que se conoce la concentración de Ag, es posible mediante la relación entre el Ag libre y unido calcular la concentración de Ag en la muestra problema[34].

Ventajas de RIA

- Alta sensibilidad permitiendo la detección y cuantificación incluso en cantidades muy bajas[35].
- Gran especificidad gracias al uso de Ac que reconocen y se unen específicamente al analito de interés[35].
- Continúa siendo una técnica de referencia en determinadas aplicaciones, especialmente en la medición de hormonas, fármacos y biomarcadores de baja abundancia, debido a su precisión y reproducibilidad[35].

Limitaciones de RIA

- Los isótopos radiactivos utilizados en RIA tienen vidas medias relativamente cortas limitando la disponibilidad de reactivos listos para usar.
- Es necesario reponer con frecuencia los materiales radiactivos, lo que incrementa el costo y la complejidad logística de la implementación del RIA[34].

METODOLOGÍA

Tipo de investigación

Según el enfoque: La presente investigación tuvo un enfoque cualitativo y empleó un análisis comparativo documental, dado que no se realizaron mediciones experimentales ni se generaron datos primarios, sino que se realizó una revisión bibliográfica basada en evidencia científica. Este enfoque permitió comprender en profundidad los fundamentos analíticos, principios metodológicos, ventajas, limitaciones, desempeño diagnóstico y aplicabilidad clínica de los diferentes métodos empleados en la cuantificación de perfiles hormonales utilizados para el diagnóstico del hipopituitarismo.

Según el nivel: Correspondió a un nivel descriptivo, puesto que se centró en la recopilación y análisis crítico de evidencia contenida en artículos científicos, revistas, informes y trabajos de investigación. Esta información permitió comparar los distintos métodos de cuantificación de perfiles hormonales empleados para el diagnóstico del hipopituitarismo.

Según el diseño: Su diseño fue no experimental, debido a que no se manipularon variables ni se realizaron procedimientos de laboratorio, sino que se enfocó exclusivamente en la búsqueda, análisis y comparación de información contenida en estudios científicos sobre inmunoensayos, examinando sus principios metodológicos, ventajas, limitaciones, sensibilidad y especificidad diagnóstica, para la valoración hormonal y el diagnóstico de hipopituitarismo.

Según la secuencia temporal: Se adoptó un estudio transversal, ya que la recopilación y el análisis de la evidencia científica se realizó en un único momento, a partir de información proveniente de estudios científicos publicados durante un periodo específico, sin seguimiento longitudinal. Este diseño permitió comparar y sintetizar el estado actual sobre el desempeño analítico y la capacidad diagnóstica de los métodos de cuantificación hormonal.

Según la cronología de los hechos: El estudio fue de tipo retrospectivo, puesto que se basó en el análisis de publicaciones e investigaciones previamente realizadas, como artículos científicos, revisiones sistemáticas y reportes analíticos de laboratorio. No se generaron datos primarios ni se manipularon variables experimentales, sino que se evaluó la evidencia disponible con el objetivo de comparar los métodos de cuantificación hormonal en el diagnóstico del hipopituitarismo.

Población y Muestra

Población: La población de estudio quedó constituida por 78 documentos bibliográficos relacionados con la temática de investigación y publicados en bases de datos científicos como: Scopus (10), PubMed (20), Elsevier (8), Scielo (7), Wiley (8), Springer (6), ProQuest (5), Redalyc (4), ResearchGate (4), NCBI Bookshelf (3), Libros académicos

(3); igualmente se emplearon operadores booleanos: AND, OR y NOT, mismos que favorecieron a una búsqueda de información más específica.

Muestra: Finalmente se obtuvieron 30 documentos científicos que cumplieron con los criterios de selección y que se hallaron disponibles en las bases de datos recopiladas con relación al tema en estudio, donde se tomaron revistas, casos clínicos, artículos científicos, libros, entre otros, ubicados en las siguientes bases de datos científicas: PubMed (5), Scopus (2), Elsevier (2), Scielo (3), Springer (4), NCBI Bookshelf (3), ProQuest (3), ResearchGate (6), Wiley (2).

Criterios de inclusión y exclusión

Criterios de inclusión

La literatura que se consideró en la presente investigación incluyó:

- Artículos científicos y guías de práctica clínica publicados en el periodo 2021-2026.
- Estudios que describieron específicamente métodos de laboratorio inmunológicos aplicados al diagnóstico de hipopituitarismo.
- Documentos de acceso completo provenientes de revistas indexadas y organismos internacionales de salud con alta relevancia académica.

Criterios de exclusión

Se excluyó de la investigación aquellos documentos que presentaron las siguientes características:

- Publicaciones que, a pesar de abordar el tema, no presentaron información de manera contundente.
- Se excluyeron los artículos que repetían datos ya presentes en otras fuentes seleccionadas.
- Informes técnicos incompletos, literatura gris sin respaldo editorial o artículos con metodologías poco claras que comprometieran la validez de la información.

Método de estudio

En el presente trabajo se aplicó el método teórico, ya que se realizó un análisis y síntesis de la información obtenida de artículos científicos, libros, manuales técnicos y páginas oficiales de organizaciones nacionales e internacionales relacionadas con el tema.

Técnicas y procedimientos

Técnica: Observación

Procedimiento: El procedimiento consistió en la búsqueda, selección, revisión y análisis de la información obtenida de diversas bases de datos bibliográficas, para la recolección y tratamiento de la información mediante un análisis descriptivo.

Procesamiento estadístico

Fue realizado mediante el análisis de los contenidos e interpretados los resultados obtenidos de las búsquedas bibliográficas, lo cual proporcionó datos cualitativos.

Consideraciones éticas

Al ser un trabajo de revisión bibliográfica no se presentaron conflictos bioéticos ya que la muestra no fue de tipo biológica, por lo que se respetaron las normas éticas de la investigación científica. Los resultados científicos no fueron empleados con fines maleficentes.

En el siguiente diagrama de flujo se detalla el proceso llevado a cabo para la búsqueda bibliográfica y la selección de los artículos más relevantes.

DIAGRAMA DE FLUJO PARA BÚSQUEDA

¿Cuáles son los métodos de laboratorio más eficaces para la cuantificación de perfiles hormonales en el diagnóstico de hipopituitarismo?

Argumentar sobre los métodos de laboratorio en la cuantificación de perfiles hormonales para el diagnóstico de hipopituitarismo mediante revisión comparativa.

Búsquedas de fuentes de información

Identificación de conceptos: *hipopituitarismo, perfiles hormonales, inmunoensayos, ELISA, CLIA, ECLIA, radioinmunoensayos, hormonas hipofisiarias.*

Base de datos científicos:

Medigraphic, Scielo, Central American Journals Online, Elsevier, ResearchGate, PubMed, Repositorio Universidad Central, Revista Guatemala de Cirugía, Biblat, Dialnet, Lilacs, Wiley Online Library, Portal Regional da BVS, ProQuest, Acces Medicina, Redalyc, Scopus.

Elección de Idioma: español, inglés.

Revisadas: 78

Scopus (10), PubMed (20), Elsevier (8), Scielo (7), Wiley (8), Springer (6), ProQuest (5), Redalyc (4), ResearchGate (4), NCBI Bookshelf (3), Libros académicos (3).

Cumple con los criterios de inclusión:

Contiene información relevante, cumple con las fechas de publicación de fuentes bibliográficas publicadas hasta 5 años, para artículos científicos, base de datos reconocidas.

Aplicar criterios de selección

No cumple con los criterios de inclusión: 48

No contiene información útil para el desarrollo del proyecto, más de 10 años los artículos científicos y no incluyen métodos de inmunoensayo.

Artículos seleccionados: 30

PubMed (5), Scopus (2), Elsevier (2), Scielo (3), Springer (4), NCBI Bookshelf (3), ProQuest (3), ResearchGate (6), Wiley (2).

Base de datos excluidos:

Google Académico, Manuales del MSP, Biblat, Lilacs, Central American journals online.

Análisis, parafraseo de información y cita con normas Vancouver.

Descartar Artículos: 48

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este capítulo se presenta los hallazgos obtenidos a partir de los artículos científicos seleccionados, los cuales fueron fundamentales para el progreso de la investigación. La revisión de estos artículos proporcionó datos significativos e información relevante que facilitaron la comprensión del tema en estudio, lo que permitió tener una perspectiva más clara sobre los elementos clave y organizar los resultados de forma más exhaustiva.

Cuando se presenta una alteración funcional o estructural de la glándula hipofisaria se empieza un proceso de evaluación clínica, utilizando un protocolo analítico localizado evolucionando a un estadio de sospecha y derivándose el requerimiento hacia el laboratorio mediante inmunoensayos, los cuales presentan diferencias entre las metodologías en términos de sensibilidad, especificidad y correlación con el método gold estándar; información importante para obtener un diagnóstico temprano que permita consolidar una disfunción endocrina tardía o persistente. Estas variables metodológicas y de rendimiento analítico se presentan en la tabla 1.

Tabla 1. Comparación de las ventajas y limitaciones de los fundamentos técnicos de los inmunoensayos ELISA, CLIA y ECLIA según evidencia científica indexada.

N°	Autor(es) y año	Muestra de estudio	Analito evaluado	Métodos	Ventajas técnicas reportadas	Limitaciones técnicas reportadas
1	Alavi et al [36], 2021.	198	TSH	ELISA vs. CLIA	**CLIA:** • Disminuye el tiempo de respuesta. • Mayor sensibilidad.	**ELISA:** • Rango funcional más estrecho. • Baja resolución en casos límite en comparación con CLIA.
2	Li et al[37], 2025.	Colección 1: 602 muestras. Colección 2: 100 muestras.	ACTH	ECLIA vs. CLIA	**ECLIA/CLIA:** • Automatización a gran escala. • Alta sensibilidad general.	• Presencia de error y sesgo sistemático. • Estricto control de calidad.
3	Raverot et al[38], 2022.	16	PRL	ECLIA vs. CLIA	• Expansión del límite superior de linealidad técnica. • Alta especificidad analítica.	• Riesgo crítico de falsos negativos en muestras extremadamente elevadas, conocido como efecto gancho.

4	Lei et al[39], 2026.	Artículo científico	TSH	ECLIA basado en microesferas magnéticas de estreptovidina.	• Ausencia de ruido óptico. • Límite de detección ultra bajo (0.016 a 120 µIU/mL). • Las microesferas incrementan la intensidad de luminiscencia en un 26.32%, aumentando la especificidad.	• Riesgo de atenuación si hay deposición irregular *(efecto tallo).*
5	Liu et al[40], 2024.	Artículo científico	Biomarcadores inmunológicos (Ultratrazas moleculares)	ECLIA	• Estabilidad sobresaliente de los reactivos por marcadores no enzimáticos. • Máxima sensibilidad optimizada mediante Tubos Fotomultiplicadores.	• Elevada complejidad e instrumentación.
6	Subbiah et al[41], 2025.	55	GH mediante pruebas de estimulación con Clonidina (CST) y Glucagón (GST).	ECLIA	• Límite de detección bajo (0.030 ug/L) lo que reduce falsos positivos.	• Variabilidad biológica inherente en la secreción de GH, produce resultados discordantes individuales.
7	Dávila et al[42], 2025.	211	Hormonas tiroideas	ELISA vs. CLIA	**CLIA:** • Superioridad analítica.	**ELISA:** • Reporta fallas de exactitud diagnóstica en un 2% de falsos positivos

						y un 13% de falsos negativos.
8	Mallick et al[43], 2023.	1 200	TSH	ELISA vs. CLIA	**CLIA:** • Superior en precisión y sensibilidad para reportar niveles de TSH. • Más sensible para la detección de TSH.	**ELISA:** • Menor rendimiento analítico global.
9	Chisako et al[44], 2026.	124 615	Hormonas tiroideas	ECLIA vs. CLIA.	**ECLIA:** • Completamente automatizada. • Corto tiempo de respuesta. • Alta especificidad y sensibilidad general.	**ECLIA:** • Susceptibilidad a interferencias por autoanticuerpos e ingesta excesiva de biotina.
10	Sabogal et al[45], 2024.	30	PRL	CLIA vs. ECLIA	• CLIA es superior en robustez analítica y exactitud clínica**.**	• ECLIA genera sobreestimación de 1.75, provocando falsos positivos.

***ELISA:** Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas. ***CLIA:** Inmunoensayo quimioluminiscente. ***ECLIA:** Inmunoensayo electroquimioluminiscente. ***TSH:** Hormona estimulante de la Tiroides. ***ACTH:** Hormona adrenocorticótropa. ***PRL:** Prolactina. ***GH:** Hormona del crecimiento.

Análisis e Interpretación

La recopilación y evaluación sistemática de la evidencia científica orientada al contraste de los fundamentos técnicos de los inmunoensayos ELISA, CLIA y ECLIA permitieron consolidar una población analítica de 127 027 muestras y registros de pacientes, logrando responder al primer objetivo. Este análisis metodológico exhaustivo se enfoca en determinar la idoneidad, las ventajas analíticas y las limitaciones operativas de cada técnica en la cuantificación de los perfiles hormonales críticos para el diagnóstico de hipopituitarismo, evaluando analitos clave como la Hormona Estimulante de la Tiroides, la Hormona Adrenocorticotropa, Prolactina y la Hormona de Crecimiento.

Discusión

Al evaluar la cuantificación de la Hormona Estimulante de la Tiroides mediante ensayos enzimáticos y luminiscentes, Alavi, et al[36] (n = 198) expone de forma clara la superioridad analítica de la quimioluminiscencia frente al ensayo inmunoenzimático. Su estudio demuestra que CLIA incrementa significativamente la sensibilidad analítica y disminuye el tiempo de respuesta; por el contrario, la técnica ELISA exhibe un rango funcional notablemente más estrecho y una baja resolución diagnóstica al enfrentarse a casos límite.

Esta desventaja intrínseca del ELISA es respaldada ampliamente por Mallick et al[43] en un robusto tamizaje de 1 200 muestras para TSH, donde se ratifica que ELISA posee un menor rendimiento analítico global en comparación con el inmunoensayo CLIA automatizado, posicionando a este último como la metodología de elección por su alta precisión y sensibilidad diagnóstica.

Dávila, et al[42] en un análisis que incluyó 211 muestras de hormonas tiroideas, reportó que el método ELISA genera fallas de exactitud reflejadas en un 2% de falsos positivos y hasta un 13% de falsos negativos. Frente a esto, la implementación de la técnica CLIA permitió identificar patologías tiroideas con una compatibilidad clínica directa del 32% con respecto al estado real del paciente, consolidando su superioridad analítica en la rutina diaria.

Por otra parte, la transición hacia el inmunoensayo por ECLIA representa un salto cualitativo hacia la automatización a gran escala, aunque no queda exento de desafíos operativos. Al analizar el comportamiento analítico de la Hormona Adrenocorticotropa, un analito de alta complejidad molecular y preanalítica, Li, et al[37] evaluó dos colecciones biológicas (602 y 100 muestras, respectivamente) contrastando la técnica ECLIA frente a CLIA; si bien ambos sistemas demostraron una excelente automatización y alta sensibilidad general, los autores identificaron la persistencia de errores y sesgos sistemáticos interplataforma que obligan a mantener un estricto control de calidad.

Lei et al[39] destaca que el uso de un sistema ECLIA basado en microesferas magnéticas de estreptavidina para la medición de TSH logra la ausencia completa de ruido óptico y alcanza un límite de detección ultra bajo (0.016 a 120 µIU/mL). Esta innovación radica en que las microesferas incrementan la intensidad de la luminiscencia en un 26.32%, optimizando de esta manera la especificidad analítica; no obstante, la investigación advierte sobre el riesgo de atenuación de la señal lumínica si ocurre una deposición irregular de las esferas, fenómeno conocido como efecto tallo.

Desde una perspectiva de rendimiento masivo, Liu et al[40] confirma que el ECLIA automatizado de alto rendimiento para el análisis de ultratrazas moleculares (biomarcadores inmunológicos) otorga una estabilidad sobresaliente a los reactivos gracias al uso de marcadores no enzimáticos, maximizando la sensibilidad de lectura mediante el uso de Tubos Fotomultiplicadores, teniendo como única limitación operativa su elevada complejidad instrumental y de infraestructura.

En el abordaje de ejes hormonales dinámicos, como el de la GH, los límites analíticos juegan un rol fundamental. Subbiah et al[41] evaluó a 55 pacientes sometidos a pruebas de estimulación farmacológica con Clonidina (CST) y Glucagón (GST) mediante ECLIA, reportando un límite de detección sumamente bajo (0.030 ug/L), cualidad que reduce notablemente la incidencia de falsos positivos en el diagnóstico de trastornos del crecimiento; sin embargo, el autor enfatiza que la variabilidad biológica inherente a la secreción pulsátil de la GH continúa siendo una limitación que produce resultados individuales discordantes.

El análisis de la PRL introduce una discusión crítica respecto al "efecto gancho" y la sobreestimación entre marcas comerciales. Raverot et al[38] (n= 16) exploró la comparación interplataforma mediante inmunoanálisis tipo sándwich (ECLIA y CLIA), señalando que estos sistemas modernos logran una expansión del límite superior de linealidad técnica y una alta especificidad analítica que garantiza una cuantificación robusta en presencia de grandes masas hipofisarias; a pesar de esto, alerta sobre el riesgo crítico de obtener falsos negativos debido al efecto gancho en muestras con concentraciones extremadamente elevadas del analito.

Esta heterogeneidad diagnóstica es profundizada por Sabogal et al[45] en un estudio comparativo con 30 muestras, donde enfrentaron directamente el sistema CLIA contra el sistema ECLIA para la medición de prolactina. Sus hallazgos determinaron que CLIA demuestra una mayor robustez analítica y exactitud clínica, mientras que la técnica de ECLIA generó una sobreestimación sistemática de 1.75 veces el valor real, provocando falsos positivos que complican la interpretación endocrina.

Finalmente, el estudio epidemiológico y analítico a gran escala de Chisako et al[44] que abarcó una población masiva de 124 615 muestras para hormonas tiroideas, valida que la metodología ECLIA, en comparación con CLIA, ofrece un proceso completamente automatizado con un corto tiempo de respuesta y una elevada especificidad y sensibilidad general. Sin embargo, su principal aporte a las limitaciones

operativas radica en documentar la alta susceptibilidad de la muestra a sufrir interferencias por autoanticuerpos y por la ingesta excesiva de biotina en los pacientes, factores preanalíticos y analíticos que inducen errores de lectura y que, clínicamente, desencadenan el establecimiento de tratamientos erróneos con levotiroxina.

Tabla 2. Aplicabilidad de los métodos de inmunoensayo para la medición de hormonas hipofisiarias: evaluación e idoneidad para la detección de insuficiencia polihormonal mediante revisión bibliográfica.

N	Autor(es) y año	Población de estudio	Método analítico	Analito	Sensibilidad analítica	Variabilidad interensayo	Viabilidad para el uso rutinario y factores extra-analíticos.
1	Advincula R et al[46], 2025.	96	ELISA	TSH	El límite es: 0.013 ng/mL	**CV% interensayo:** 5.9%	Adecuada para laboratorios de alta complejidad.
2	Goreta, S et al[47], 2025.	Artículo científico	ELISA	LH y FSH	LH: 0.300 ng/mL FSH: 0.100 ng/mL	**CV% interensayo**: LH: 4% FSH: 4.9%	En bajas concentraciones presenta alta sensibilidad analítica, exactitud y precisión.
3	Demir, A et al[48], 2025.	1	CLIA	LH	El límite es: 0.05 ng/mL.	**CV% interensayo:** 10.8%	Evidencia una menor sensibilidad analítica y precisión del método.
4	Wang, M et al[49], 2022.	236	CLIA	TSH	El límite es: 0.00032 ng/mL	**CV interensayo:** < 5%	Superior desempeño analítico y sensibilidad.
5	Das, M et al[50], 2023.	60	CLIA	PRL	El límite es: 0.3 ng/mL	**CV interensayo:** < 6.0%	Sobreestimación de prolactina debido a estrés.
6	Mallick, R et al[43], 2023.	1200	CLIA	TSH	El límite es: 0.0167 ng/mL	**CV% interensayo:** 5%	Mayor precisión en la cuantificación de concentraciones bajas de TSH.
7	Hu, Y et al[51], 2021.	1140	ECLIA	PRL	El límite es: 0.094 ng/mL	**CV interensayo:** 3.0%	Las macroprolactina pueden generar valores falsamente elevados; por ello se debe confirmar mediante PEG.
8	Lotierzo, M et al[52], 2021.	39	ECLIA	GH	El límite es: 0.030 ng/mL	**CV% interensayo:** 1.8%	No presenta saturación de anticuerpos hasta los 2000 µg/L.
9	Agrawal , N et al[53], 2025.	47	ECLIA	ACTH Cortisol	El límite ACTH es: 0.0015 ng/mL	**CV% interensayo ACTH:** 4.2%	Mayor incidencia de falsos positivos y negativos.

					El límite Cortisol es: 0.54 ng/mL	**CV% interensayo Cortisol:** 3.2%	
10	Kalaria, T et al[54], 2021.	193	ECLIA	TSH	El límite es: 0.00083 ng/mL	**CV% interensayo:** 2.8%	Resultados afectados por inadecuada recolección y manejo de muestras.

***CV:** Coeficiente de variación. ***ELISA:** Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas. ***CLIA:** Inmunoensayo quimioluminiscente. ***ECLIA:** Inmunoensayo electroquimioluminiscente. ***TSH:** Hormona estimulante de la Tiroides. ***LH:** Hormona luteinizante. ***FSH:** Hormona Foliculoestimulante. ***GH:** Hormona del crecimiento. ***ACTH:** Hormona adrenocorticótropa. ***PRL:** Prolactina. ***PEG:** Polietilenglicol.

Análisis e Interpretación

En la tabla 2 se evidencia la aplicabilidad de los distintos métodos de inmunoensayo para la cuantificación de hormonas hipofisiarias, se observa un predominio superior de metodologías automatizadas como CLIA y ECLIA debido a su sensibilidad, precisión y reproducibilidad analítica en comparación con ELISA, que, aunque es muy útil, con el paso de los años ha sido reemplazada por estos métodos.

La evaluación de los parámetros de sensibilidad analítica permiten evidenciar la cantidad mínima de una hormona que puede detectar de forma fiable un método analítico, mientras que la reproducibilidad viene medida por el coeficiente de variación interensayo que evidencia que tan variable es el método cuando se cuantifica la misma hormona frente con distintos operadores, días o lotes de reactivo y la cuantificación puede estar sujeta a variaciones en su resultado debido a la presencia de factores extranalíticos que interfieren en el método.

Discusión

Debido a su importancia en la evaluación del HP, la TSH fue el analito más frecuentemente investigado en los estudios incluidos, de esta manera, los resultados analizados permiten identificar que la aplicabilidad de los inmunoensayos para la medición de hormonas hipofisiarias se basa principalmente en la sensibilidad analítica y reproducibilidad, los métodos automatizados CLIA y ECLIA mostraron mejor desempeño analítico en comparación con ELISA, esto gracias a los bajos niveles de detección y coeficientes de variación interensayo.

Respecto a la aplicabilidad del método de ELISA esta resulta más limitada, como lo menciona Advincula R et al[46] en su estudio de 96 pacientes para la cuantificación de TSH, se reportó un coeficiente interensayo del 5.9% y un límite de detección de 0.13 ng/mL, lo que evidencia una adecuada reproducibilidad analítica, no obstante, los autores señalan que, a pesar de su buen desempeño en laboratorios de alta complejidad, su uso puede verse limitado por los elevados costos operativos.

De igual manera Goreta, S et al[47] en un estudio realizado para cuantificar la LH y FSH reportaron un coeficiente de variación de 4% y 4.9% respectivamente, siendo valores excelentes de reproducibilidad, además establecieron límites de detección de 0.300 ng/mL para LH y 0.100 ng/mL para FSH, por lo tanto, estos datos demuestran que ELISA posee alta sensibilidad analítica, garantizando mediciones exactas y precisas, además, permite cuantificar concentraciones bajas de forma fiable, pese a limitaciones operativas frente a otros inmunoensayos.

Por otro lado, los estudios basados en CLIA realizados por Demir, A et al[48] y Wang, M et al[49] reportaron coeficientes interensayo de 10.8% y 5% respectivamente, así como límites de detección de 0.05 ng/mL para LH y 0.00032 ng/mL para TSH, estos hallazgos demuestran que el desempeño analítico puede verse influenciado por el rango

de concentración evaluado y el analito determinado, es así que, en la cuantificación de LH, el método presenta ciertas limitaciones, evidenciadas por una menor sensibilidad analítica y precisión, mientras que, para la determinación de TSH, muestra un mejor desempeño con una sensibilidad superior respecto a otros métodos.

De igual manera Mallick, R et al[43] en su estudio observaron un límite de detección de 0.0167 ng/mL y un coeficiente de variación interensayo de 5%, evidenciando una adecuada reproducibilidad del método, además estos resultados resaltan la utilidad de CLIA para diferenciar con mayor exactitud concentraciones normales y bajas de TSH, siendo es muy eficiente especialmente para pacientes hipotiroideos que acuden a seguimiento o diagnóstico de supresión de bocio o cáncer de tiroides.

Sin embargo, también puede existir modificantes para la cuantificación de hormonas como la hiperprolactinemia Das, M et al[50], menciona que, aunque CLIA presenta un bajo nivel de detección de 0.3 ng/mL y coeficiente interensayo del 5%, considerado excelente, evidencian que el estrés ya sea psicológico o inducido durante la toma de muestra conducen a un incremento fisiológico de los niveles séricos de PLR provocando resultados falsamente elevados.

Los estudios que emplean ECLIA son los que presentan mejores indicadores de sensibilidad y especificidad, sin embargo Hu, Y et al[51] en una cohorte de 1 140 pacientes evaluados para la cuantificación de prolactina, mencionan en su análisis que la presencia macroprolactina (formada por esta hormona unida a anticuerpos IgG) en las muestras séricas provoca valores falsamente elevados porque los inmunoensayos no lo detectan sin un tratamiento previo con polientilenglicol, pese a que el límite de detección es de 0.0094 ng/mL con una reproducibilidad de 3.0%, los autores mencionan que este suele ser un interferente que necesita ser identificado para evitar resultados erróneos.

De forma similar, Lotierzo, M et al[52] destacaron que el ensayo ECLIA presenta un límite de detección de 0.030 ng/mL y una reproducibilidad de 1.8%, evidenciando una excelente precisión analítica, además asegura que no se presentará un efecto gancho por la saturación de anticuerpos de detección hasta concentraciones de 2 000 ug/L, reportando un valor real que no caerá en un error de lectura por saturación del analito en el equipo.

Para Agrawal , N et al[53] en su estudio sobre la cuantificación de ACTH y Cortisol mediante ECLIA se obtuvieron un límite de detección de 0.0015 ng/mL y 0.54 ng/mL respectivamente y CV% interensayo de 4.2% para ACTH y 3.2% para Cortisol, evidenciando una alta precisión y reproducibilidad analítica, sin embargo, los autores señalan que la inestabilidad de la muestra constituye un factor crítico que puede influir en la exactitud de los resultados y favorece la aparición de falsos positivos y negativos.

Finalmente, Kalaria, T et al[54] en su estudio de 193 pacientes reportaron un límite de detección de 0.00083 ng/mL con una variabilidad de 2.8% en la cuantificación de TSH, siendo uno de los limites más bajos reportados en estos análisis, dichos resultados evidencian una excelente reproducibilidad, respaldando la confiabilidad del método para su aplicación en el laboratorio clínico, sin embargo, los resultados pueden alterarse debido a errores en la recolección y manejo de la muestra o interferencias analíticas asociadas a pacientes con mononucleosis.

Tabla 3. Evaluación comparativa de la sensibilidad y especificidad diagnóstica de los inmunoensayos frente al método de referencia o diagnóstico clínico.

N	Autor(es) y año	Población de estudio	Método comparado	Hormona Evaluada	Correlación con método de referencia o diagnóstico clínico	Sensibilidad estadística	Especificidad estadística
1	Dhananjay, N et al[55], 2023.	40	CLIA vs. FIA, ELISA	Hormonas tiroideas: T3 total, T4 total y TSH.	FIA reflejó una alta sensibilidad, mientras que ELISA un rendimiento inferior.	**FIA:** 88%.	**FIA:** 75%.
2	Andersen, S et al[56], 2022.	35	ECLIA vs Clínica	TSH	El 100% de los resultados permitieron descartar falsas clasificaciones tiroideas.	**ECLIA:** 87.1%	**ECLIA:** 100%
3	Leca, B et al[57], 2021.	114	ECLIA vs RM de hipófisis de contraste	PRL	Adecuada sensibilidad y especificidad entre microadenomas y macroadenomas, sin embargo, persiste efecto gancho.	**ECLIA:** 89.1%	**ECLIA:** 93.2%
4	Shurbaji, S et al[58], 2023.	102	ECLIA vs. FIA	TSH	Por su alta sensibilidad, especificidad y concordancia FIA es una prueba de diagnóstico rápido y fiable.	**FIA:** 90.5%	**FIA:** 96.3%
5	Wang, G et al[59], 2024.	68	ECLIA, RIA vs Seguimiento médico	TSH	ECLIA presenta un rendimiento superior frente al examen patológico y resultados de seguimiento.	**ECLIA:** 95.83% **RIA:** 79,17%	**ECLIA**: 95% **RIA:** 60%

6	Hao, Z[60], 2022.	90	CLIA, RIA vs Diagnóstico patológico	Hormonas tiroideas	CLIA demuestra una elevada sensibilidad y especificidad, favoreciendo el diagnóstico precoz de patologías tiroideas.	**CLIA:** 95.83% **RIA:** 72.22%	**CLIA:** 95.56% **RIA:** 61.11%
7	Nicolai, E et al[61], 2021.	180	CLIA vs Clínica	TSH	CLIA demostró una alta eficiencia diagnóstica y reproducibilidad analítica.	**CLIA:** 87.1%	**CLIA:** 97.2%
8	Kim, S al [62], 2023.	657	CLIA vs. RM	PRL	CLIA permite identificar con mayor exactitud a pacientes con riesgo de presentar adenomas hipofisarios al igual que la RM.	**CLIA:** 76,9%	**CLIA:** 86,1%
9	Uzun, I et al[63], 2024.	68	ECLIA vs Diagnóstico	PRL	ECLIA mostró una alta concordancia para indentificar una respuesta inadecuada a la prueba de estimulación con TRH.	**Hombres y mujeres:** 100 %	**Hombres:** 80% **Mujeres:** 70%
10	Loktionova, A et al[64], 2021.	46	CLIA vs Clínica	LH y FSH	Demostró una alta precisión diagnóstica en LH/FSH, siendo una herramienta de laboratorio fiable para el hipogonadismo central.	**LH:** 82.61% **FSH:** 73.91%	**LH:** 94.12% **FSH:** 80.88%

***FIA:** Inmunocromatografía de fluorescencia. ***RM** Resonancia magnética. ***ELISA:** Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas. ***CLIA:** Inmunoensayo quimioluminiscente. ***ECLIA:** Inmunoensayo electroquimioluminiscente. ***T3:** Triyodotironina. ***T4:** Tiroxina. ***TSH:** Hormona estimulante de la Tiroides. ***LH:** Hormona luteinizante. ***FSH:** Hormona Foliculoestimulante. ***PRL:** Prolactina

Análisis e Interpretación

La correlación entre los métodos comparados, sensibilidad y especificidad posicionan a los inmunoensayos como las técnicas de elección en la práctica clínica rutinaria, esto basándose en el rendimiento diagnóstico superior en la mayoría de las hormonas evaluadas, sino también por sus ventajas operativas como la ausencia de residuos radiactivos, mayor automatización, menor tiempo de procesamiento y mejor estabilidad de los reactivos, lo que les otorga una importancia clínica fundamental para el diagnóstico preciso de enfermedades endocrinas.

Discusión

El estudio de Dhananjay et al 55, compara CLIA frente a dos inmunoensayos, que evidencia la debilidad intrínseca de la técnica ELISA convencional para TSH, mientras que la Inmunocromatografía de Fluorescencia, posee una sensibilidad de 88% y especificidad de 75%, de esta manera, FIA demuestra una mejor capacidad para capturar verdaderos positivos, logrando una correlación estadística aceptable con la quimioluminiscencia.

Este comportamiento operativo de FIA es respaldado por Shurbaji et al58, cuyos hallazgos en 102 muestras revelaron que dicha técnica alcanzó una sensibilidad del 90.5% y una especificidad del 96.3%, estos resultados demuestran que cuando se utiliza suero para el diagnóstico de anomalías tiroideas existe una excelente concordancia y una fuerte correlación con ECLIA, posicionando a este método como una prueba de diagnóstico rápido y fiable para la detección y cuantificación de la TSH.

No obstante, cuando se evalúa la estabilidad analítica absoluta en laboratorios de alta complejidad, ECLIA revalida su jerarquía como estándar de referencia diagnóstica. Andersen et al 56 confirma el rigor instrumental de esta técnica para la medición de TSH al reportar una especificidad clínica máxima del 100%, logrando ajustar la totalidad de las muestras de su población de estudio al estado eutiroideo real de los pacientes, anulando falsas clasificaciones de disfunción.

Este rendimiento se correlaciona con la investigación de Nicolai et al61, quien utilizando la técnica CLIA validó la eficiencia diagnóstica, sustentada en una especificidad del 97.2% y una sensibilidad del 87.1%. Este estudio sostiene que la adopción de estas técnicas luminiscentes no solo garantiza la reproducibilidad analítica, sino que impacta de manera positiva en la gestión del laboratorio al mitigar la carga de trabajo diaria y reducir los tiempos de respuesta.

Al cuantificar TSH, el estudio de Wang G. et al 59 evidencia una brecha diagnóstica masiva: la técnica ECLIA ofrece una sensibilidad de 95.83% y especificidad de 95% drásticamente superiores al RIA, el cual exhibió un rendimiento deficiente, frente al examen patológico y resultados de seguimiento como estándar de oro, de esta manera se corroboro que ECLIA tiene mayor sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de pacientes con enfermedades tiroideas.

Hao Z. et al60, demostraron que CLIA presentó una sensibilidad del 95,83 % y una especificidad del 95,56 %, significativamente superiores a las de RIA. Estos resultados respaldan la superioridad diagnóstica de CLIA en la evaluación bioquímica

de pacientes con patologías tiroideas, al constituir una técnica altamente sensible y específica que contribuye al diagnóstico precoz, orientando la selección del tratamiento.

Leca et al57 evidenció que la medición basal de prolactina a través de ECLIA tiene una fuerte correlación clínica con las dimensiones del tumor hipofisario que se observan en los estudios de imagen; esto se apoya en una sensibilidad del 89.1% y una especificidad del 93.2%. A pesar de que ECLIA se ha posicionado como una de las herramientas más confiables, se advierte que el "efecto gancho" puede continuar presente en niveles extremos del analito.

El estudio de Uzun, I et al63, evidencia que ECLIA es un método confiable para la cuantificación basal de prolactina, al reportar una especificidad del 100% y una sensibilidad del 80% en hombres y del 70% en mujeres, para indicar cuando existe una respuesta inadecuada a la prueba de estimulación con hormona liberadora de tirotropina (TRH). Estos resultados indican que ECLIA tiene una elevada capacidad para confirmar el estado funcional de la secreción de prolactina, con un desempeño comparable al de la resonancia magnética.

Loktionova et al64 evidenciaron un excelente desempeño de CLIA en la evaluación de LH y FSH, consolidándola como una técnica confiable para el diagnóstico del hipogonadismo central. Sin embargo, el rendimiento diagnóstico fue superior para la determinación de LH con una sensibilidad de 82.61% y especificidad de 94.12%, en comparación con FSH que presentó una sensibilidad de 73.91% y una especificidad de 80.88%, lo que sugiere una mayor utilidad clínica de la medición de LH en este contexto.

Finalmente, la investigación llevada a cabo por Kim, S et al62 reportó una sensibilidad de 76.9% y una especificidad de 86.1%, resultados que respaldan la utilidad clínica de CLIA para identificar pacientes con mayor probabilidad de presentar adenomas hipofisarios. En este contexto, la técnica constituye una herramienta eficaz para seleccionar a los pacientes que requieren estudios complementarios, como la resonancia magnética de la silla turca, al demostrar una adecuada capacidad discriminativa para diferenciar entre individuos con y sin adenoma hipofisario.

CONCLUSIONES

La ventaja principal de CLIA y ECLIA frente a ELISA radica en el uso de marcadores lumínicos y sistemas de detección fotomultiplicadores, estos mecanismos amplifican la relación señal/ruido, mejoran la sensibilidad analítica en concentraciones hormonales límite y disminuyen el tiempo de procesamiento. ECLIA destaca por anular el ruido óptico de fondo y ofrecer una mayor estabilidad en el complejo de reacción; no obstante, la presencia de factores como los sesgos entre métodos, la variabilidad en los límites de detección, el fenómeno de "efecto gancho" y complejidad instrumental representan riesgos diagnósticos latentes. En consecuencia, la máxima eficacia de estas técnicas requiere una estandarización rigurosa de reactivos y un control de calidad adaptado a la alta sensibilidad.

La cuantificación de hormonas hipofisiarias mediante inmunoensayos pueden verse modificados por factores como la inestabilidad de la muestra, incremento de analitos debido al estrés o la presencia de anticuerpos unidos a prolactina inactiva (macroprolactina); pese a ello, CLIA y ECLIA demostraron el mejor desempeño analítico debido a su capacidad cuantificar concentraciones hormonales reducidas y adecuada reproducibilidad, consolidándose así como uno de los mejores métodos de análisis y la alternativa más adecuada para el uso rutinario en el laboratorio clínico, aunque ELISA presenta resultados confiables sus limitaciones operativas reducen sus ventajas frente a los otros métodos.

La comparación de los métodos de inmunoensayo evidencia que ECLIA presenta un desempeño diagnóstico superior al de los convencionales, al mostrar una mayor concordancia con las técnicas de referencia utilizados en los estudios endocrinológicos. En contraste, ELISA y, en menor medida, FIA, demostraron un rendimiento adecuado, aunque con limitaciones frente a las metodologías luminiscentes; por otra parte, CLIA se posiciona en una jerarquía analítica paralela de alta reproducibilidad. En conjunto, se determina que las técnicas luminiscentes poseen una mejor evaluación respecto al método de referencia, lo que respalda su aplicación en la cuantificación de perfiles hormonales para el diagnóstico del hipopituitarismo.

BIBLIOGRÁFIA

1. Carmichael John, Braunstein Glenn. Hipopituitarismo generalizado - Trastornos endocrinológicos y metabólicos - Manual Merck versión para profesionales [Homepage on the Internet]. MANUAL MERCK. 2025 [cited 2026 Jan 9];Available from: https://www.merckmanuals.com/es-us/professional/trastornos-endocrinol%C3%B3gicos-y-metab%C3%B3licos/trastornos-hipofisarios/hipopituitarismo-generalizado

2. Ebrahimi F, Christ E. Why do patients with hypopituitarism still present an increased mortality? Ann Endocrinol (Paris) [homepage on the Internet] 2023 [cited 2026 Jan 9];84(2):285–290. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S000342662300032X?utm_source

3. Iglesias P. An Update on Advances in Hypopituitarism: Etiology, Diagnosis, and Current Management. Clinical Medicine [homepage on the Internet] 2024 [cited 2026 Jan 9];13(20):6161. Available from: https://www.mdpi.com/2077-0383/13/20/6161

4. Guerrero F, Vega N, Iglesias P. Hypopituitarism in non-neuroendocrine pituitary tumors: a systematic review. Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders 2025 26:4 [homepage on the Internet] 2025 [cited 2026 Jan 10];26(4):641–657. Available from: https://link.springer.com/article/10.1007/s11154-025-09969-2

5. Carmona R. C, Villanueva G. P, Huete I, et al. Hipopituitarismo postraumatismo encefalocraneano: revisión de la literatura y algoritmo de estudio y abordaje terapéutico. Rev Med Chil [homepage on the Internet] 2021 [cited 2026 Jan 9];148(12):1796–1805. Available from: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872020001201796&lng=es&nrm=iso&tlng=es

6. Baca Melany. Caracterización clínica, etiológica y terapéutica del hipopituitarismo en pacientes del Hospital de Especialidades Eugenio Espejo en el periodo enero 2016 – diciembre 2018 [Homepage on the Internet]. 2021 [cited 2026 Jan 9];Available from: https://repositorio.puce.edu.ec/handle/123456789/32534

7. Barahona WF, García JD, Jiménez MG, Sacoto AM. Adenomas hipofisarios: características sociodemográficas, clínicas y terapéuticas de 250 casos. Neurología Argentina [homepage on the Internet] 2021 [cited 2026 Jan 9];13(4):205–211. Available from: https://www.elsevier.es/es-revista-neurologia-argentina-301-articulo-adenomas-hipofisarios-caracteristicas-sociodemograficas-clinicas-S185300282100029X

8. Mendes Garmes H, Luiz Boguszewski C, Luiz Boguszewski C, et al. Management of hypopituitarism: a perspective from the Brazilian Society of Endocrinology and Metabolism. Arch Endocrinol Metab [homepage on the Internet] 2021 [cited 2026 Jan 9];65(2):212–230. Available from: https://orcid.org/0000-0001-6117-8548

9. Fleseriu M, Hashim IA, Karavitaki N, et al. Hormonal replacement in hypopituitarism in adults: An endocrine society clinical practice guideline. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism [homepage on the Internet] 2021 [cited 2026 Jan 9];101(11):3888–3921. Available from: https://ohsu.elsevierpure.com/en/publications/hormonal-replacement-in-hypopituitarism-in-adults-an-endocrine-so/

10. Ilahi S, Ilahi TB. Anatomy, Adenohypophysis (Pars Anterior, Anterior Pituitary). StatPearls [homepage on the Internet] 2022 [cited 2026 Jan 10];Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519039/

11. Tian W, Qi H, Wang Z, et al. Hormone supply to the pituitary gland: A comprehensive investigation of female-related tumors (Review). Int J Mol Med [homepage on the Internet] 2022 [cited 2026 Jan 9];50(4):1–12. Available from: http://www.spandidos-publications.com/10.3892/ijmm.2022.5178/abstract

12. Martínez Andrea. La conexión Hipotálamo - Neurohipófisis: estructura, funciones y enfermedades asociadas [Homepage on the Internet]. 2021 [cited 2026 Jan 9];Available from: https://repositorio.unican.es/xmlui/bitstream/handle/10902/23517/MARTINEZ%20RODRIGUEZ%2c%20ANDREA.pdf?sequence=1&isAllowed=y

13. Gasco V, Cuboni D, Siclari S, et al. Determinants of QTc Interval Prolongation in Patients with Hypopituitarism and Other Pituitary Disorders. Biomedicines [homepage on the Internet] 2025 [cited 2026 Jan 9];13(11):2676. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/41301770/

14. Verena G, Catherine A, Ishwarlal J. Hypopituitarism - PubMed [Homepage on the Internet]. In: StatPearls Publishing. 2023 [cited 2026 Jan 9]; Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29262053/

15. Prencipe N, Marinelli L, Varaldo E, et al. Isolated anterior pituitary dysfunction in adulthood. Front Endocrinol (Lausanne) [homepage on the Internet] 2023 [cited 2026 Jan 10];14:1100007. Available from: https://www.frontiersin.org/journals/endocrinology/articles/10.3389/fendo.2023.1100007/full

16. Joshua E. Brinkman, Muhammad Ali Tariq, Logan Leavitt, Sandeep Sharma. Fisiología, Hormona del Crecimiento [Homepage on the Internet]. In: Facultad de Medicina Osteopática DeBusk, editor. Endotext. Endotext, 2023 [cited 2026 Jul 1]; Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279056/

17. Guevara-Aguirre J, Peña G, Acosta W, et al. Cancer in growth hormone excess and growth hormone deficit. Endocr Relat Cancer [homepage on the Internet] 2023 [cited 2026 May 4];30(10). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37428642/

18. Lei T, Yang Y, Yang WX. Luteinizing Hormone Regulates Testosterone Production, Leydig Cell Proliferation, Differentiation, and Circadian Rhythm During

Spermatogenesis. International Journal of Molecular Sciences 2025, Vol 26, Page 3548 [homepage on the Internet] 2025 [cited 2026 Jan 9];26(8):3548. Available from: https://www.mdpi.com/1422-0067/26/8/3548

19. E. Bosch, C. Alviggi, M. Lispi, et al. Reduced FSH and LH action: implications for medically assisted reproduction. Human Reproduction [homepage on the Internet] 2021 [cited 2026 May 4];36:1469–1480. Available from: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8129594/

20. Ando H. Follicle-stimulating hormone. Handbook of Hormones: Comparative Endocrinology for Basic and Clinical Research [homepage on the Internet] 2021 [cited 2026 Jan 10];185–188. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/chapter/edited-volume/abs/pii/B9780128206492000498?via%3Dihub

21. Bhartiya D, Patel H. An overview of FSH-FSHR biology and explaining the existing conundrums [Homepage on the Internet]. J. Ovarian Res. 2021 [cited 2026 Jul 1];14(1). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34717708/

22. Douglas S. Ross. Tratar el hipotiroidismo no siempre es fácil: cuándo tratar el hipotiroidismo subclínico, objetivos de TSH en ancianos y alternativas a la monoterapia con levotiroxina. J Intern Med [homepage on the Internet] 2022 [cited 2026 Jul 1];291:111–251. Available from: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/joim.13410

23. Comité Nacional de Endocrinología de la Sociedad Argentina de Pediatría. Alteraciones tiroideas en la infancia y en la adolescencia. Parte 1: hipertiroidismo. Arch Argent Pediatr [homepage on the Internet] 2021 [cited 2026 May 4];119(1):S1–S7. Available from: https://www.sap.org.ar/docs/publicaciones/archivosarg/2021/v119n1a36s.pdf

24. Allen MJ, Sharma S. Physiology, Adrenocorticotropic Hormone (ACTH). StatPearls [homepage on the Internet] 2025 [cited 2026 Jan 10];Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK500031/

25. Urai S, Bando H, Nakatsuji M, et al. Acquired isolated ACTH deficiency co-occurrence with breast cancer irrespective of paraneoplastic syndrome: coincidence or inevitability. Endocrinol Diabetes Metab Case Rep [homepage on the Internet] 2024 [cited 2026 Jul 1];2024(3). Available from: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11466254/

26. Jasleen Kaur Kamal Bhusal. Hiperprolactinemia [Homepage on the Internet]. In: StatPearls Publishing. 2023 [cited 2026 Jul 1]; Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537331/

27. Mastnak L, Herman R, Ferjan S, Janež A, Jensterle M. Prolactin in Polycystic Ovary Syndrome: Metabolic Effects and Therapeutic Prospects. [homepage on the Internet]

2023 [cited 2026 Jul 1];13(11). Available from: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10672473/

28. Schilbach K, Bidlingmaier M. Pitfalls in the lab assessment of hypopituitarism. Rev Endocr Metab Disord [homepage on the Internet] 2024 [cited 2026 Jul 1];25(3):457–465. Available from: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11162359/

29. Rizzo F. Optical Immunoassays Methods in Protein Analysis: An Overview. Chemosensors [homepage on the Internet] 2022 [cited 2026 Jul 1];10(8). Available from: https://www.mdpi.com/2227-9040/10/8/326

30. Mandy Alhajj, Mahoma Zubair, Aisha Farhana. Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas [Homepage on the Internet]. In: StatPearls Publishing. 2023 [cited 2026 Jul 1]; Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK555922/

31. Aydin S, Emre E, Ugur K, et al. An overview of ELISA: a review and update on best laboratory practices for quantifying peptides and proteins in biological fluids. International Medical Research [homepage on the Internet] 2025 [cited 2026 May 4];53(2). Available from: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11808753/

32. Zhang X, Li C, Chen W, Wang G, Zou H, Liu H. Chemiluminescent polymeric nanoprobes for tumor diagnosis: A mini review [Homepage on the Internet]. Front. Chem. 2023 [cited 2026 Jul 1];10. Available from: https://www.frontiersin.org/journals/chemistry/articles/10.3389/fchem.2022.1106791/full

33. Sujatha Mahadevarao Premnath, Muhamad Zubai. Método de electroquimioluminiscencia. ScienceDirect [homepage on the Internet] 2023 [cited 2026 Jul 1];Available from: https://www.sciencedirect.com/topics/immunology-and-microbiology/electrochemiluminescence

34. Cejudo AG, Fiñana IT. Inmunoanálisis. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, [homepage on the Internet] 2021 [cited 2026 Jul 1];Available from: https://www.uco.es/dptos/bioquimica-biol-mol/pdfs/18%20INMUNOANALISIS.pdf

35. Hatem Mohamed Elsheikh, Shadia Abdel-Hamid Fathy, Nahed Hassan Ebeid, et al. Development of radioimmunoassay system for determination of human chorionic gonadotropin in human sera. Radioanalytical and Nuclear Chemistry [homepage on the Internet] 2023 [cited 2026 May 4];332:581–590. Available from: https://doi.org/10.1007/s10967-023-08797-5

36. Alavi N, Khawaja A, Asif M, Ejaz A, Arshad F. Comparison of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay and Chemiluminescence Immunoassay for Thyroid Stimulating Hormone Analysis in Tertiary Care Hospital Lahore [Homepage on the Internet]. 2021 [cited 2026 Jul 1]; Available from: https://www.researchgate.net/publication/358556529_Comparison_of_Enzyme-Linked_Immunosorbent_Assay_and_Chemiluminescence_Immunoassay_for_Thyroid_Stimulating_Hormone_Analysis_in_Tertiary_Care_Hospital_Lahore_Comparison_o

f_ELISA_CLIA_for_TSH/fulltext/638968947d9b40514e084135/Comparison-of-Enzyme-Linked-Immunosorbent-Assay-and-Chemiluminescence-Immunoassay-for-Thyroid-Stimulating-Hormone-Analysis-in-Tertiary-Care-Hospital-Lahore-Comparison-of-ELISA-CLIA-for-TSH.pdf

37. Li Y, Louie JZ, Burgess TE, Bare LA, McPhaul MJ. Large-scale comparison of two immunoassays for adrenocorticotropic hormone in human plasma. Sci Rep [homepage on the Internet] 2025 [cited 2026 Jul 1];15(1). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/41315437/

38. Raverot V, Perrin P, Chanson P, et al. immunoassay: does the high-dose hook effect still exist. Pituitary [homepage on the Internet] [cited 2026 Jul 1];2022(4). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35793045/

39. Lei H, Huang X, Cao X, Tang Y, Ge Y. An Enhanced Electrochemiluminescence Immunoassay Platform via Optimized Magnetic Bead Uniformity for Reliable Thyroid-Stimulating Hormone Monitoring. Bioengineering [homepage on the Internet] 2026 [cited 2026 Jul 1];13(3). Available from: https://www.mdpi.com/2306-5354/13/3/333

40. Liu X, Zhao S, Xu Y, et al. A Novel High-Throughput and Sensitive Electrochemiluminescence Immunoassay System. Bioengineering [homepage on the Internet] 2024 [cited 2026 Jul 1];Available from: https://www.mdpi.com/2306-5354/11/9/885

41. Subbiah S, Raja R, Shanmugam D, Palaniappan S, Shanmugam S, Aravind Kumar M. Validation of Peak Growth Hormone Levels After Clonidine and Glucagon Stimulation Tests in Children With Severe Short Stature. Cureus [homepage on the Internet] 2025 [cited 2026 Jul 1];Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/41589192/

42. Dávila-Colque IP. Comparación entre el método enzimoinmunoensayo y la quimioluminiscencia, para la cuantificación de hormonas tiroideas. Revista Peruana de Ciencias de la Salud [homepage on the Internet] 2025 [cited 2026 Jul 1];7(1):35–40. Available from: https://www.researchgate.net/publication/391254419_Comparacion_entre_el_metodo_enzimoinmunoensayo_y_la_quimioluminiscencia_para_la_cuantificacion_de_hormonas_tiroideas

43. Mallick RL, Gaire CP. Comparative analysis of ELISA, FEIA and CLIA techniques in diagnostic immunoassays for thyroid stimulating hormone: A cross-sectional study form Morang, Nepal. Biomedical Sciences [homepage on the Internet] 2023 [cited 2026 Jul 1];10(1):16–20. Available from: https://www.nepjol.info/index.php/JBS/article/view/57050

44. Imamura C, Nishihara E, Fukata S, et al. Interference in thyroid function tests using the electrochemiluminescence immunoassay. Eur Thyroid J [homepage on the Internet] 2026 [cited 2026 Jul 1];15(2). Available from: https://etj.bioscientifica.com/view/journals/etj/15/2/ETJ-25-0396.xml

45. Sabogal Piñeros YS, L Deckers MM, Bie P de, Heijboer AC, Hillebrand JJ. Confusion in the interpretation of prolactin levels caused by inappropriately low reference intervals. EndocrIine Connections [homepage on the Internet] 2023 [cited 2026 Jul 1];Available from: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11623244/

46. Advíncula-Espino R, Li J, Rosales-Rimache J. Comparison of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay and Lateral Flow Assay to Measure Thyroid-Stimulating Hormone and Free T4 in Human Serum. Clinical Laboratory Analysis [homepage on the Internet] 2025 [cited 2026 Jun 27];39(10):e70032. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40244709/

47. Goreta S, Zec I, Bokulić A, Marijančević D. Establishing LOQ for estradiol, LH, FSH and testosterone on Roche Cobas e801. Endocrine Abstracts [homepage on the Internet] 2023 [cited 2026 Jun 27];90. Available from: https://www.endocrine-abstracts.org/ea/0090/ea0090p471

48. Demir A, Anttonen M, Alfthan H, Stenman UH, Hero M. Comparative Analysis of Commercial Immunoassays for the Determination of Total, Intact, and Nonintact Luteinizing Hormone in Urine. Clinical Laboratory Analysis [homepage on the Internet] 2024 [cited 2026 Jun 27];38(17–18):e25075. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39192592/

49. Wang M, Li J, Huang Y, et al. Analytical validation of the LiCA® high-sensitivity human thyroid stimulating hormone assay. Clin Biochem [homepage on the Internet] 2022 [cited 2026 Jun 27];101:42–49. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0009912021003179

50. Das M, Gogoi C. Pool vs single sample determination of serum prolactin to explore venipuncture associated stress induced variation. Scientific Reports 2023 13:1 [homepage on the Internet] 2023 [cited 2026 Jun 27];13(1):113-. Available from: https://www.nature.com/articles/s41598-022-27051-8

51. Hu Y, Ni J, Zhang B, et al. Establishment of reference intervals of monomeric prolactin to identify macroprolactinemia in Chinese patients with increased total prolactin. BCM Endocrine Disorders [homepage on the Internet] 2021 [cited 2026 Jun 27];21. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34620143/

52. Manuela Lotierzo, Florin Olaru-Soare, Françoise Paris, Jean-Paul Cristol. Comparative study of human growth hormone measurements: impact on clinical interpretation. Clin Chem Lab Med [homepage on the Internet] 2021 [cited 2026 Jun 27];Available from: https://hal.science/hal-03470728v1/file/2021%20Lotierzo%20et%20al.%2C%20Comarative.pdf

53. Agrawal N, Sinha A, Chakraborty PP, Bhattacharjee R, Awasthi A, Maiti A. A Cross-Sectional Study on Comparison of Serum Cortisol Concentration Measured by Chemiluminescent Immunoassay in Four Different Automated Analyzers in a Variety of Adrenal Disorders. Indian J Endocrinol Metab [homepage on the Internet] 2025

[cited 2026 Jun 27];29(1):83. Available from: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11964372/

54. Kalaria T, Fenn J, Sharrod-Cole H, Sanders A, Ford C, Gama R. Samples spiked with pituitary-derived thyroid-stimulating hormone may disguise the extent of differences between thyroid-stimulating hormone assays. Ann Clin Biochem [homepage on the Internet] 2021 [cited 2026 Jun 27];58(6):638–645. Available from: https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/00045632211042560

55. Dhananjay Nandedkar P, Chitta S, Harley K, Ghangale S, Raj N. PROSPECTIVE STUDY TO COMPARE RESULTS OF THYROID FUNCTION TESTS OF FLUORESCENT IMMUNOASSAY(FIA) AND ENZYME LINKED RADIOIMMUNOASSAY(ELISA) WITH GOLD STANDARD CHEMILUMINISCENCE TEST(CLIA) TEST IN A TERTIARY CARE HOSPITAL. Int J Adv Res (Indore) [homepage on the Internet] 2023;11(12):680–682. Available from: https://www.journalijar.com/article/47221/

56. Andersen S, Karmisholt J, Bruun NH, et al. Interpretation of TSH and T4 for diagnosing minor alterations in thyroid function: a comparative analysis of two separate longitudinal cohorts. Thyroid Res [homepage on the Internet] 2022 [cited 2026 Jul 1];15(1). Available from: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9549610/

57. Leca BM, Mytilinaiou M, Tsoli M, et al. Identification of an optimal prolactin threshold to determine prolactinoma size using receiver operating characteristic analysis. Sci Rep [homepage on the Internet] 2021 [cited 2026 Jul 1];11(1). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33963239/

58. Shurbaji S, Tamimi F Al, Ghwairi MM Al, et al. High-sensitive detection and quantitation of thyroid-stimulating hormone (TSH) from capillary/fingerstick and venepuncture whole-blood using fluorescence-based rapid lateral flow immunoassay (LFIA). Heliyon [homepage on the Internet] 2023 [cited 2026 Jul 1];9(10). Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405844023077976

59. Wang Guixian, Wei Xuming, Yang Ming. Revistas de ciencia y tecnología de China. national advance platform for S&tTinformation and communication [homepage on the Internet] 2024 [cited 2026 Jun 28];32(5):24–27. Available from: https://opaj.napstic.cn/periodicalArticle/0120240501593868

60. Hao Zhenwei. Application of chemiluminescence immunoassay in biochemical immunoassay of thyroid tumor patients. China Modern Doctor [homepage on the Internet] 2022 [cited 2026 Jun 28];60(15):126–128. Available from: https://www.zgxdys.ac.cn/ch/reader/view_abstract.aspx?journal_id=zgxdys&file_no=202215034&html_url=zgxdys/article/html/202215034

61. Nicolai E, Nuccetelli M, Sarubbi S, et al. Performance evaluation of the new Chemiluminescence Immunoassay CL-1200i Thyroid Panel. J Immunoassay Immunochem [homepage on the Internet] 2022 [cited 2026 Jun 28];43(3):333–345. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34927566/

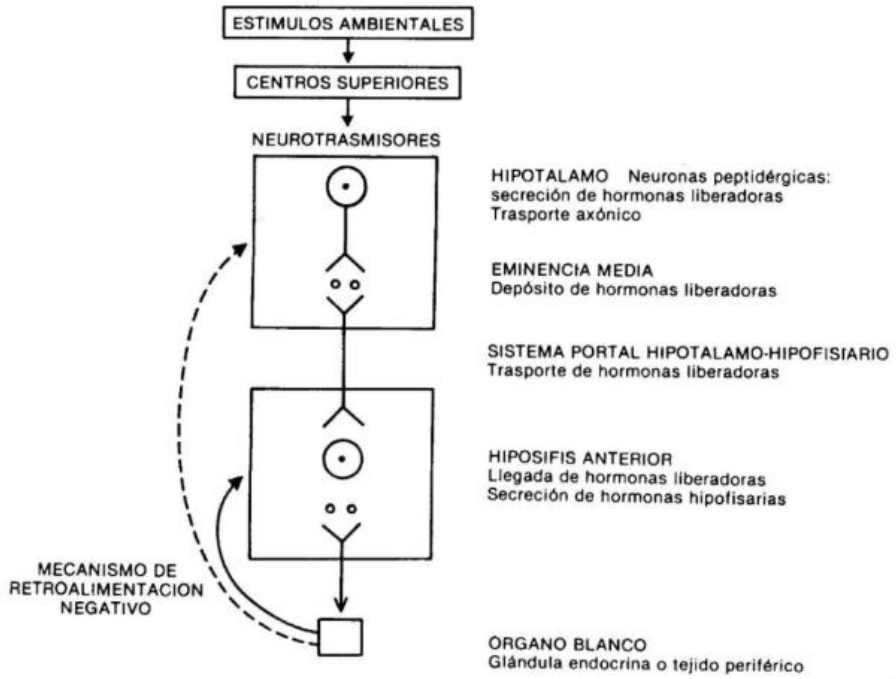
62. Kim S Il, Yoon JH, Park DC, Yang SH, Kim Y Il. What is the optimal prolactin cutoff for predicting the presence of a pituitary adenoma in patients with polycystic ovary syndrome? Int J Med Sci [homepage on the Internet] 2023 [cited 2026 Jul 6];20(4):463. Available from: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10087626/

63. Uzun I, Karaca Z, Hacioğlu A, Unluhizarci K, Kelestimur F. The diagnosis and prevalence of hypoprolactinemia in patients with panhypopituitarism and the effects on depression and sexual functions. Pituitary [homepage on the Internet] 2024 [cited 2026 Jul 6];27(3):277–286. Available from: https://link.springer.com/article/10.1007/s11102-024-01393-0

64. Loktionova A, Ilovayskaya I. Female central hypogonadism with or without organic pituitary lesions: diagnostic value of LH and FSH basal levels. Endocrine Abstracts [homepage on the Internet] 2021 [cited 2026 Jun 28];73. Available from: https://www.endocrine-abstracts.org/ea/0073/ea0073aep508

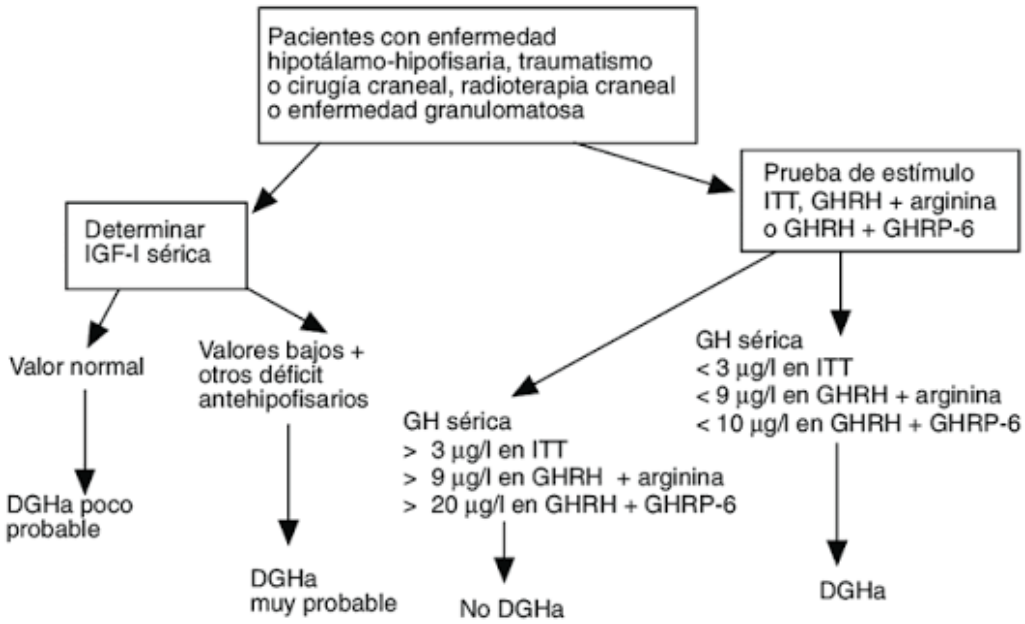
ANEXOS

Anexo 1. Regulación de la secreción de hormonas hipofisiarias



Fuente: https://semiologiaclinica.com.ar/index.php/articlecontainer/sindromes/265-hipopituitarismo

Anexo 2. Pruebas de estimulación de la hormona de crecimiento



Fuente:
https://www.researchgate.net/publication/250778131_Diagnostico_del_deficit_de_hormona_de_crecimiento_en_el_adulto/figures?lo=1

Anexo 3. Rangos de referencia para los niveles hormonales.

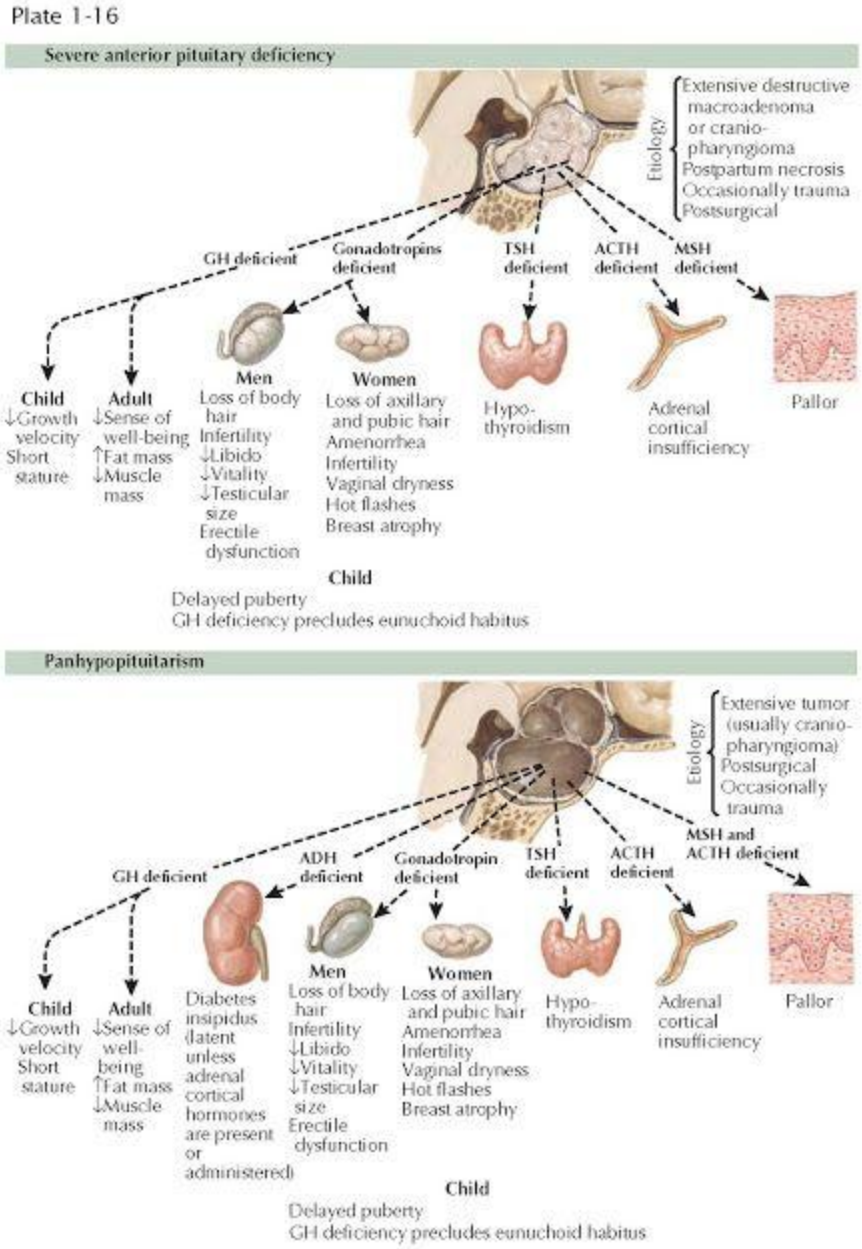
Hormona	Sexo	Fase del ciclo menstrual	Mín.	Máximo.	Unidad
PRL	F		50	800	µU/mL
	METRO		50	500	µU/mL
GH			0,2	17	µU/mL
ACTH			6	56	pg/mL
TSH			0,3	4,3	µU/mL
LH	F	Fase folicular	4	12	mU/mL
		Fase de ovulación	>20		mU/mL
		Fase lútea	5	20	mU/mL
		Menopausia	>10		mU/mL
	METRO		1	8	mU/mL
FSH	F	Fase folicular	4	12	mU/mL
		Fase de ovulación	10	20	mU/mL
		Fase lútea	2	8	mU/mL
		Menopausia	>25		mU/mL
	METRO		4	8	mU/mL

Abrir en una pestaña nueva

Abreviaturas: ACTH - Hormona adrenocorticotrópica, F - femenino, FSH - Hormona foliculoestimulante, GH - Hormona del crecimiento, LH - Hormona luteinizante, M - masculino, PRL - Prolactina, TSH - Hormona estimulante de la tiroides.

Fuente: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7535894/?utm

Anexo 4. Déficit de hormonas hipopituitarias.



Fuente: https://www.pediagenosis.com/2020/10/severe-anterior-pituitary-deficiency-or.html

Anexo 5. Tipos de inmunoensayos



Fuente: https://es.slideshare.net/slideshow/conf-ria-2018/91151477

Anexo 6. Inserto de cuantificación de Prolactina mediante ELISA



Monobind Inc.
Lake Forest, CA 92630, USA

AccuBind ELISA Microwells

Prolactin Hormone (PRL) Sequential Test System

Product Code: 4425-300

1.0 INTRODUCTION

Intended Use: The Quantitative Determination of Prolactin Hormone Concentration in Human Serum by a Microplate Enzyme Immunoassay, Colorimetric

2.0 SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

Prolactin hormone (PRL), secreted from the lactotrophs of the anterior pituitary, is a protein consisting of a single polypeptide chain containing approximately 200 amino acids. The primary biological action of the hormone is on the mammary gland where it is involved in the growth of the gland and in the induction and maintenance of milk production. There is evidence to suggest that prolactin may be involved in steroidogenesis in the gonad, acting synergistically with luteinizing hormone (LH). High levels of prolactin appear to inhibit steroidogenesis as well as inhibiting LH and follicle stimulating hormone (FSH) synthesis at the pituitary gland.[1,2]

The clinical usefulness of the measurement of prolactin hormone (PRL) in ascertaining the diagnosis of hyperprolactinemia and for the subsequent monitoring the effectiveness of the treatment has been well established.[3,4]

In this method, PRL calibrator, patient specimen or control is first added to a streptavidin coated well. Biotinylated monoclonal antibody (specific for PRL) is added and the reactants mixed. Reaction between the PRL antibodies and native PRL forms complex that binds with the streptavidin coated to the well. The excess serum proteins are washed away via a wash step. An enzyme labeled monoclonal antibody specific to PRL (different epitope from the biotinylated antibody) is added to the wells. The enzyme labeled antibody binds to the PRL already immobilized on the well through its binding with the biotinylated monoclonal antibody. Excess enzyme is washed off via a wash step. A color is generated by the addition of a substrate. The intensity of the color generation is directly proportional to the concentration of the PRL in the sample.

3.0 PRINCIPLE

Immunoenzymometric sequential assay (TYPE 4):

The essential reagents required for an immunoenzymometric assay include high affinity and specificity antibodies (enzyme and immobilized), with different and distinct epitope recognition, in excess, and native antigen. In this procedure, the immobilization takes place during the assay at the surface of a microplate well through the interaction of streptavidin coated on the well and exogenously added biotinylated monoclonal anti-prolactin antibody.

Upon mixing monoclonal biotinylated antibody, and a serum containing the native antigen, reaction results between the native antigen and the antibody, forming an antibody-antigen complex. The interaction is illustrated by the following equation:

$$Ag_{PRL} + {}^{Bt}Ab_{PRL} \underset{k_d}{\overset{k_a}{\rightleftharpoons}} Ag_{PRL} - {}^{Bt}Ab_{PRL}$$

$^{Bt}Ab_{PRL}$ = Biotinylated Monoclonal Antibody (Excess Quantity)
Ag_{PRL} = Native Antigen (Variable Quantity)
$Ag_{PRL} - {}^{Bt}Ab_{PRL}$ = Antigen-Antibody complex (Variable Quantity)
k_a = Rate Constant of Association
k_d = Rate Constant of Disassociation

Simultaneously, the complex is deposited to the well through the high affinity reaction of streptavidin and biotinylated antibody. This interaction is illustrated below:

$Ag_{PRL} - {}^{Bt}Ab_{PRL}$ + Streptavidin$_{Sol}$ ⟹ Immobilized complex (IC)
Streptavidin$_{Sol}$ = Streptavidin immobilized on well
Immobilized complex (IC) = Ag-Ab bound to the well

After a suitable incubation period, the antibody-antigen bound fraction is separated from unbound antigen by decantation or aspiration. Another antibody (directed at a different epitope) labeled with an enzyme is added. Another interaction occurs to form an enzyme labeled antibody-antigen-biotinylated-antibody complex on the surface of the wells. Excess enzyme is washed off via a wash step. A suitable substrate is added to produce color measurable with the use of a microplate spectrophotometer. The enzyme activity on the well is directly proportional to the native antigen concentration. By utilizing several different serum references of known antigen concentration, a dose response curve can be generated from which the antigen concentration of an unknown can be ascertained.

$$(IC) + {}^{Enz}Ab_{PRL} \underset{k_d}{\overset{k_a}{\rightleftharpoons}} {}^{Enz}Ab_{PRL} - IC$$

$^{Enz}Ab_{PRL}$ = Enzyme labeled Antibody (Excess Quantity)
$^{Enz}Ab_{PRL}$ – IC = Antigen-Antibodies Complex
k_a = Rate Constant of Association
k_d = Rate Constant of Dissociation

4.0 REAGENTS

Materials Provided:

A. PRL-seq Calibrators –1 ml/vial - Icons A-F
Six (6) vials of references for PRL antigen in human serum at levels of 0(A), 10(B), 25(C), 50(D), 100(E) and 250(F) ng/ml*. Store at 2-8°C. A preservative has been added.
*Note: The calibrators, human serum based, were calibrated using a reference preparation, which was assayed against the WHO 3rd, IS (84/500).

B. PRLs Biotin Reagent – 13ml/vial - Icon ▽
One (1) vial containing biotinylated monoclonal mouse IgG in buffer, dye, and preservative. Store at 2-8°C.

C. PRLs Enzyme Reagent – 13ml/vial - Icon Ⓑ
One (1) vial containing enzyme (HRP) labeled antibody, in buffer, dye, and preservative. Store at 2-8°C.

D. Streptavidin Coated Microplate – 96 wells - Icon⊔
One 96-well microplate coated with streptavidin and packaged in an aluminum bag with a drying agent. Store at 2-8°C.

E. Wash Solution Concentrate – 20 ml - Icon ♦
One (1) vial containing a surfactant in buffered saline. A preservative has been added. Store at 2-8°C.

F. Substrate A – 7ml/vial - Icon S[A]
One (1) vial containing tetramethylbenzidine (TMB) in buffer. Store at 2-8°C.

G. Substrate B – 7ml/vial - Icon S[B]
One (1) vial containing hydrogen peroxide (H_2O_2) in buffer. Store at 2-8°C.

H. Stop Solution – 8ml/vial – Icon ⛔
One (1) vial containing a strong acid (1N HCl). Store at 2-8°C.

I. Product Instructions.

Note 1: Do not use reagents beyond the kit expiration date.
Note 2: Avoid extended exposure to heat and light. **Opened reagents are stable for sixty (60) days when stored at 2-8°C. Kit and component stability are identified on the label.**
Note 3: Above reagents are for a single 96-well microplate

4.1 Required But Not Provided:
1. Pipette capable of delivering 0.025ml (25µl) and 0.050ml (50µl) volumes with a precision of better than 1.5%.
2. Dispenser(s) for repetitive deliveries of 0.100ml (100µl) and 0.350ml (350µl) volumes with a precision of better than 1.5%.
3. Microplate washers or a squeeze bottle (optional).
4. Microplate reader with 450 & 620nm filters.
5. Absorbent Paper for blotting the microplate wells.
6. Plastic wrap or microplate cover for incubation steps.
7. Vacuum aspirator (optional) for wash steps.
8. Timer.
9. Quality control materials

5.0 PRECAUTIONS

For In Vitro Diagnostic Use
Not for Internal or External Use in Humans or Animals

All products that contain human serum have been found to be non-reactive for Hepatitis B Surface Antigen, HIV 1&2 and HCV Antibodies by FDA licensed reagents. Since no known test can offer complete assurance that infectious agents are absent, all human serum products should be handled as potentially hazardous and capable of transmitting disease. Good laboratory procedures for handling blood products can be found in the Center for Disease Control / National Institute of Health, "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories," 2nd Edition, 1988, HHS Publication No. (CDC) 88-8395.

Safe Disposal of kit components must be according to local regulatory and statutory requirement.

6.0 SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

The specimens shall be blood serum in type and the usual precautions in the collection of venipuncture samples should be observed. For accurate comparison to established normal values, a fasting morning serum sample should be obtained. The blood should be collected in a plain redtop venipuncture tube without additives or anti-coagulants. Allow the blood to clot. Centrifuge the specimen to separate the serum from the cells.

In patients receiving therapy with high biotin doses (i.e. >5mg/day), no sample should be taken until at least 8 hours after the last biotin administration, preferably overnight to ensure fasting sample.

Samples may be refrigerated at 2-8°C for a maximum period of five (5) days. If the specimen(s) cannot be assayed within this time, the sample(s) may be stored at temperatures of -20°C for up to 30 days. Avoid use of contaminated devices. Avoid repetitive freezing and thawing. When assayed in duplicate, 0.050ml (50µl) of the specimen is required.

7.0 QUALITY CONTROL

Each laboratory should assay controls at levels in the low, normal and elevated range for monitoring assay performance. These controls should be treated as unknowns and values determined in every test procedure performed. Quality control charts should be maintained to follow the performance of the supplied reagents. Pertinent statistical methods should be employed to ascertain trends. Significant deviation from established performance can indicate unnoticed change in experimental conditions or degradation of kit reagents. Fresh reagents should be used to determine the reason for the variations.

8.0 REAGENT PREPARATION

1. **Wash Buffer**
Dilute contents of wash solution to 1000ml with distilled or deionized water in a suitable storage container. Store diulted buffer at 2-30°C for up to 60 days.
2. **Working Substrate Solution** – Stable for one year
Pour the contents of the amber vial labeled Solution 'A' into the clear vial labeled Solution 'B'. Place the yellow cap on the clear vial for easy identification. Mix and label accordingly. Store at 2 - 8°C.

Note1: Do not use the working substrate if it looks blue.
Note 2: Do not use reagents that are contaminated or have bacteria growth.

9.0 TEST PROCEDURE

Before proceeding with the assay, bring all reagents, serum reference calibrators and controls to room temperature (20-27°C).
*****Test Procedure should be performed by a skilled individual or trained professional*****

1. Format the microplate wells for each serum reference calibrator, control and patient specimen to be assayed in duplicate. **Replace any unused microwell strips back into the aluminum bag, seal and store at 2-8°C.**
2. Pipette 0.025 ml (25µl) of the appropriate serum reference calibrator, control or specimen into the assigned well.
3. Add 0.100 ml (100µl) of Prolactin Biotin Reagent to all wells.
4. Swirl the microplate gently for 20-30 seconds to mix and cover.
5. Incubate 30 minutes at room temperature.
6. Discard the contents of the microplate by decantation or aspiration. If decanting, blot the plate dry with absorbent paper.
7. Add 0.350ml (350µl) of wash buffer (see Reagent Preparation Section), decant (tap and blot) or aspirate. Repeat two (2) additional times for a total of three (3) washes. **An automatic or manual plate washer can be used. Follow the manufacturer's instruction for proper usage. If a squeeze bottle is employed, fill each well by depressing the container (avoiding air bubbles) to dispense the wash. Decant the wash and repeat two (2) additional times.**
8. Add 0.100 ml (100µl) of Prolactin Enzyme Reagent solution to all wells.
DO NOT SHAKE THE PLATE AFTER ENZYME ADDITION
9. Incubate 30 minutes at room temperature.
10. Discard the contents of the microplate by decantation or aspiration. If decanting, blot the plate dry with absorbent paper.
11. Add 0.350ml (350µl) of wash buffer (see Reagent Preparation Section), decant (tap and blot) or aspirate. Repeat two (2) additional times for a total of three (3) washes. **An automatic or manual plate washer can be used. Follow the manufacturer's instruction for proper usage. If a squeeze bottle is employed, fill each well by depressing the container (avoiding air bubbles) to dispense the wash. Decant the wash and repeat two (2) additional times.**
12. Add 0.100 ml (100µl) of working substrate solution to all wells (see Reagent Preparation Section). **Always add reagents in the same order to minimize reaction time differences between wells.**
DO NOT SHAKE PLATE AFTER SUBSTRATE ADDITION
13. Incubate at room temperature for fifteen (15) minutes.
14. Add 0.050ml (50µl) of stop solution to each well and gently mix for 15-20 seconds). **Always add reagents in the same order to minimize reaction time differences between wells.**
15. Read the absorbance in each well at 450nm (using a reference wavelength of 620-630nm to minimize well imperfections) in a microplate reader. **The results should be read within thirty (30) minutes of adding the stop solution.**

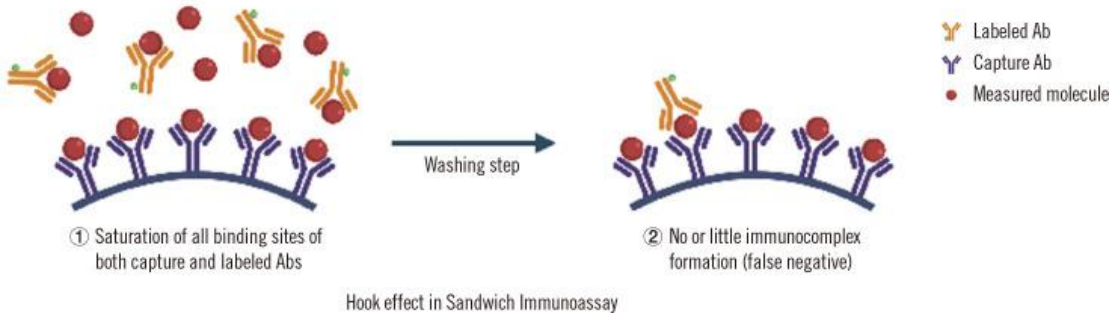
10.0 CALCULATION OF RESULTS

A dose response curve is used to ascertain the concentration of prolactin hormone (PRL) in unknown specimens.
1. Record the absorbance obtained from the printout of the microplate reader as outlined in Example 1.
2. Plot the absorbance for each duplicate serum reference versus the corresponding PRL concentration in ng/ml on linear graph paper (do not average the duplicates of the serum references before plotting).
3. Draw the best-fit curve through the plotted points.
4. To determine the concentration of PRL for an unknown, locate the average absorbance of the duplicates for each unknown on the vertical axis of the graph, find the intersecting point on the curve, and read the concentration (in ng/ml) from the horizontal axis of the graph (the duplicates of the unknown may be averaged as indicated). In the following example, the average absorbance (0.575) intersects the dose response curve at (31.1 ng/ml) PRL concentration (See Figure 1).

Note: Computer data reduction software designed for ELISA assays may also be used for the data reduction. **If such software is utilized, the validation of the software should be ascertained.**

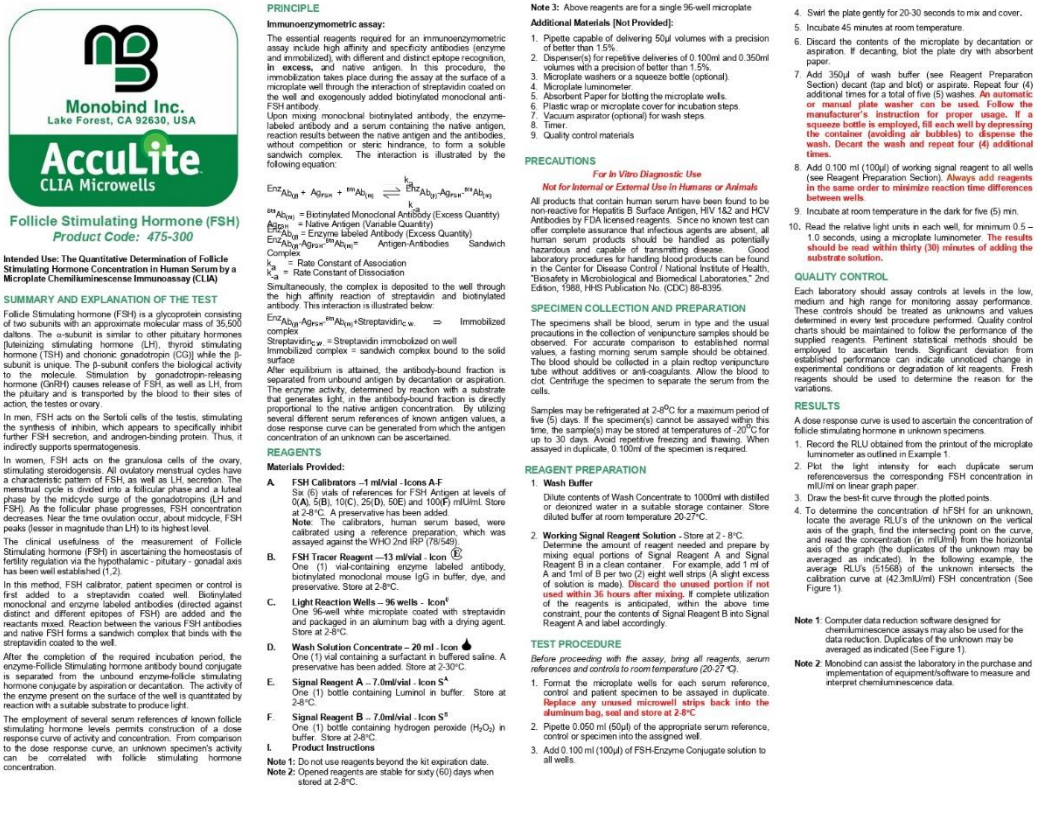
Fuente: https://reactlab.com.ec/wp-content/uploads/2020/01/Insert-PRL-Sequential-AccuBind-ELISA-4425-300.pdf

Anexo 7. Efecto prozona



Fuente: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8368230/

Anexo 8. Inserto de cuantificación de FSH mediante CLIA



Monobind Inc.
Lake Forest, CA 92630, USA

AccuLite
CLIA Microwells

Follicle Stimulating Hormone (FSH)
Product Code: 475-300

Intended Use: The Quantitative Determination of Follicle Stimulating Hormone Concentration in Human Serum by a Microplate Chemiluminescense Immunoassay (CLIA)

SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

Follicle Stimulating hormone (FSH) is a glycoprotein consisting of two subunits with an approximate molecular mass of 35,500 daltons. The α-subunit is similar to other pituitary hormones [luteinizing stimulating hormone (LH), thyroid stimulating hormone (TSH) and chorionic gonadotropin (CG)] while the β-subunit is unique. The β-subunit confers the biological activity to the molecule. Stimulation by gonadotropin-releasing hormone (GnRH) causes release of FSH, as well as LH, from the pituitary and is transported by the blood to their sites of action, the testes or ovary.

In men, FSH acts on the Sertoli cells of the testis, stimulating the synthesis of inhibin, which appears to specifically inhibit further FSH secretion, and androgen-binding protein. Thus, it indirectly supports spermatogenesis.

In women, FSH acts on the granulosa cells of the ovary, stimulating steroidogensis. All ovulatory menstrual cycles have a characteristic pattern of FSH, as well as LH, secretion. The menstrual cycle is divided into a follicular phase and a luteal phase by the midcycle surge of the gonadotropins (LH and FSH). As the follicular phase progresses, FSH concentration decreases. Near the time ovulation occur, about midcycle, FSH peaks (lesser in magnitude than LH) to its highest level.

The clinical usefulness of the measurement of Follicle Stimulating hormone (FSH) in ascertaining the homeostasis of fertility regulation via the hypothalamic - pituitary - gonadal axis has been well established (1,2).

In this method, FSH calibrator, patient specimen or control is first added to a streptavidin coated well. Biotinylated monoclonal and enzyme labeled antibodies (directed against distinct and different epitopes of FSH) are added and the reactants mixed. Reaction between the various FSH antibodies and native FSH forms a sandwich complex that binds with the streptavidin coated to the well.

After the completion of the required incubation period, the enzyme-Follicle Stimulating hormone antibody bound conjugate is separated from the unbound enzyme-follicle stimulating hormone conjugate by aspiration or decantation. The activity of the enzyme present on the surface of the well is quantitated by reaction with a suitable substrate to produce light.

The employment of several serum references of known follicle stimulating hormone levels permits construction of a dose response curve of activity and concentration. From comparison to the dose response curve, an unknown specimen's activity can be correlated with follicle stimulating hormone concentration.

PRINCIPLE

Immunoenzymometric assay:

The essential reagents required for an immunoenzymometric assay include high affinity and specificity antibodies (enzyme and immobilized), with different and distinct epitope recognition, **in excess,** and native antigen. In this procedure, the immobilization takes place during the assay at the surface of a microplate well through the interaction of streptavidin coated on the well and exogenously added biotinylated monoclonal anti-FSH antibody.

Upon mixing monoclonal biotinylated antibody, the enzyme-labeled antibody and a serum containing the native antigen, reaction results between the native antigen and the antibodies, without competition or steric hindrance, to form a soluble sandwich complex. The interaction is illustrated by the following equation:

$$Enz\text{-}Ab_{(1)} + Ag_{nat} + {}^{Bt}Ab_{(2)} \underset{k_{-a}}{\overset{k_a}{\rightleftharpoons}} {}^{Enz}Ab_{(1)}\text{-}Ag_{nat}\text{-}{}^{Bt}Ab_{(2)}$$

$^{Bt}Ab_{(2)}$ = Biotinylated Monoclonal Antibody (Excess Quantity)
Ag_{nat} = Native Antigen (Variable Quantity)
$^{Enz}Ab_{(1)}$ = Enzyme labeled Antibody (Excess Quantity)
$Enz\text{-}Ab_{(1)}\text{-}Ag_{nat}\text{-}{}^{Bt}Ab_{(2)}$ = Antigen-Antibodies Sandwich Complex
k_a = Rate Constant of Association
k_{-a} = Rate Constant of Dissociation

Simultaneously, the complex is deposited to the well through the high affinity reaction of streptavidin and biotinylated antibody. This interaction is illustrated below:

$$Enz\text{-}Ab_{(1)}\text{-}Ag_{nat}\text{-}{}^{Bt}Ab_{(2)} + Streptavidin_{C.W.} \Rightarrow \text{Immobilized complex}$$

$Streptavidin_{C.W.}$ = Streptavidin immobilized on well
Immobilized complex = sandwich complex bound to the solid surface

After equilibrium is attained, the antibody-bound fraction is separated from unbound antigen by decantation or aspiration. The enzyme activity, determined by reaction with a substrate that generates light, in the antibody-bound fraction is directly proportional to the native antigen concentration. By utilizing several different serum references of known antigen values, a dose response curve can be generated from which the antigen concentration of an unknown can be ascertained.

REAGENTS

Materials Provided:

A. **FSH Calibrators –1 ml/vial - Icons A-F**
Six (6) vials of references for FSH Antigen at levels of 0(**A**), 5(**B**), 10(C), 25(**D**), 50(**E**) and 100(**F**) mIU/mL Store at 2-8°C. A preservative has been added.
Note: The calibrators, human serum based, were calibrated using a reference preparation, which was assayed against the WHO 2nd IRP (78/549).

B. **FSH Tracer Reagent –13 ml/vial - Icon** ⓔ
One (1) vial-containing enzyme labeled antibody, biotinylated monoclonal mouse IgG in buffer, dye, and preservative. Store at 2-8°C.

C. **Light Reaction Wells – 96 wells - Icon**
One 96-well white microplate coated with streptavidin and packaged in an aluminum bag with a drying agent. Store at 2-8°C.

D. **Wash Solution Concentrate – 20 ml - Icon**
One (1) vial containing a surfactant in buffered saline. A preservative has been added. Store at 2-30°C.

E. **Signal Reagent A – 7.0ml/vial - Icon S^A**
One (1) bottle containing Luminol in buffer. Store at 2-8°C.

F. **Signal Reagent B – 7.0ml/vial - Icon S^B**
One (1) bottle containing hydrogen peroxide (H_2O_2) in buffer. Store at 2-8°C.

I. **Product Instructions**

Note 1: Do not use reagents beyond the kit expiration date.
Note 2: Opened reagents are stable for sixty (60) days when stored at 2-8°C.

Note 3: Above reagents are for a single 96-well microplate

Additional Materials [Not Provided]:

1. Pipette capable of delivering 50µl volumes with a precision of better than 1.5%.
2. Dispenser(s) for repetitive deliveries of 0.100ml and 0.350ml volumes with a precision of better than 1.5%.
3. Microplate washers or a squeeze bottle (optional).
4. Microplate luminometer.
5. Absorbent Paper for blotting the microplate wells.
6. Plastic wrap or microplate cover for incubation steps.
7. Vacuum aspirator (optional) for wash steps.
8. Timer.
9. Quality control materials

PRECAUTIONS

For In Vitro Diagnostic Use
Not for Internal or External Use in Humans or Animals

All products that contain human serum have been found to be non-reactive for Hepatitis B Surface Antigen, HIV 1&2 and HCV Antibodies by FDA licensed reagents. Since no known test can offer complete assurance that infectious agents are absent, all human serum products should be handled as potentially hazardous and capable of transmitting disease. Good laboratory procedures for handling blood products can be found in the Center for Disease Control / National Institute of Health, "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories," 2nd Edition, 1988, HHS Publication No. (CDC) 88-8395.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

The specimens shall be blood, serum in type and the usual precautions in the collection of venipuncture samples should be observed. For accurate comparison to established normal values, a fasting morning serum sample should be obtained. The blood should be collected in a plain redtop venipuncture tube without additives or anti-coagulants. Allow the blood to clot. Centrifuge the specimen to separate the serum from the cells.

Samples may be refrigerated at 2-8°C for a maximum period of five (5) days. If the specimen(s) cannot be assayed within this time, the sample(s) may be stored at temperatures of -20°C for up to 30 days. Avoid repetitive freezing and thawing. When assayed in duplicate, 0.100ml of the specimen is required.

REAGENT PREPARATION

1. **Wash Buffer**
Dilute contents of Wash Concentrate to 1000ml with distilled or deionized water in a suitable storage container. Store diluted buffer at room temperature 20-27°C.

2. **Working Signal Reagent Solution** - Store at 2 - 8°C.
Determine the amount of reagent needed and prepare by mixing equal portions of Signal Reagent A and Signal Reagent B in a clean container. For example, add 1 ml of A and 1ml of B per two (2) eight well strips (A slight excess of solution is made). **Discard the unused portion if not used within 36 hours after mixing.** If complete utilization of the reagents is anticipated, within the above time constraint, pour the contents of Signal Reagent B into Signal Reagent A and label accordingly.

TEST PROCEDURE

Before proceeding with the assay, bring all reagents, serum references and controls to room temperature (20-27 °C).

1. Format the microplate wells for each serum reference, control and patient specimen to be assayed in duplicate. **Replace any unused microwell strips back into the aluminum bag, seal and store at 2-8°C**
2. Pipette 0.050 ml (50µl) of the appropriate serum reference, control or specimen into the assigned well.
3. Add 0.100 ml (100µl) of FSH-Enzyme Conjugate solution to all wells.
4. Swirl the plate gently for 20-30 seconds to mix and cover.
5. Incubate 45 minutes at room temperature.
6. Discard the contents of the microplate by decantation or aspiration. If decanting, blot the plate dry with absorbent paper.
7. Add 350µl of wash buffer (see Reagent Preparation Section) decant (tap and blot) or aspirate. Repeat four (4) additional times for a total of five (5) washes. **An automatic or manual plate washer can be used. Follow the manufacturer's instruction for proper usage. If a squeeze bottle is employed, fill each well by depressing the container (avoiding air bubbles) to dispense the wash. Decant the wash and repeat four (4) additional times.**
8. Add 0.100 ml (100µl) of working signal reagent to all wells (see Reagent Preparation Section). **Always add reagents in the same order to minimize reaction time differences between wells.**
9. Incubate at room temperature in the dark for five (5) min.
10. Read the relative light units in each well, for minimum 0.5 – 1.0 seconds, using a microplate luminometer. **The results should be read within thirty (30) minutes of adding the substrate solution.**

QUALITY CONTROL

Each laboratory should assay controls at levels in the low, medium and high range for monitoring assay performance. These controls should be treated as unknowns and values determined in every test procedure performed. Quality control charts should be maintained to follow the performance of the supplied reagents. Pertinent statistical methods should be employed to ascertain trends. Significant deviation from established performance can indicate unnoticed change in experimental conditions or degradation of kit reagents. Fresh reagents should be used to determine the reason for the variations.

RESULTS

A dose response curve is used to ascertain the concentration of follicle stimulating hormone in unknown specimens.

1. Record the RLU obtained from the printout of the microplate luminometer as outlined in Example 1.
2. Plot the light intensity for each duplicate serum referenceversus the corresponding FSH concentration in mIU/ml on linear graph paper.
3. Draw the best-fit curve through the plotted points.
4. To determine the concentration of hFSH for an unknown, locate the average RLU's of the unknown on the vertical axis of the graph, find the intersecting point on the curve, and read the concentration (in mIU/ml) from the horizontal axis of the graph (the duplicates of the unknown may be averaged as indicated). In the following example, the average RLU's (51568) of the unknown intersects the calibration curve at (42.3mIU/ml) FSH concentration (See Figure 1).

Note 1: Computer data reduction software designed for chemiluminescence assays may also be used for the data reduction. Duplicates of the unknown may be averaged as indicated (See Figure 1).

Note 2: Monobind can assist the laboratory in the purchase and implementation of equipment/software to measure and interpret chemiluminescence data.

Fuente: https://reactlab.com.ec/wp-content/uploads/2024/01/FSH-475-300A-CLIA.pdf

Anexo 9. Inserto de cuantificación de TSH mediante ECLIA

08443432500V1.0

Elecsys TSH

cobas®

REF			SYSTEM
08443432190	08443432500	300	**cobas e** 801

Español

Información del sistema

Nombre abreviado	ACN (código de aplicación)
TSH	10172

Uso previsto

Test inmunológico in vitro para la determinación cuantitativa de la tirotropina en suero y plasma humanos.

Este inmunoensayo "ECLIA" (**ele**ctrochemiluminescence **i**mmuno**a**ssay) de electroquimioluminiscencia está concebido para ser utilizado en el inmunoanalizador **cobas e** 801.

Características

La hormona estimulante de la glándula tiroidea (TSH, tirotropina) es una glucoproteína con un peso molecular aproximado de 30000 daltons y está compuesta de dos subunidades. La subunidad β es portadora de la información inmunobiológica específica de la TSH, mientras que la cadena α contiene la información específica de la especie con una secuencia de aminoácidos idéntica a la cadena α de la LH, FSH y hCG.[1]

La TSH se produce en las células basófilas específicas de la hipófisis anterior y está sujeta a un ritmo circadiano de secreción. La liberación hipofisaria de la TSH (también denominada hormona tirotropa) constituye el principal mecanismo regulador de la acción biológica de las hormonas tiroideas. La TSH tiene un efecto estimulante sobre todas las fases de formación y secreción de las hormonas tiroideas; también ejerce un efecto proliferante.[1]

La determinación de TSH sirve como test inicial en el diagnóstico tiroideo. Incluso las más pequeñas variaciones en la concentración de la fracción libre de las hormonas tiroideas implican importantes alteraciones del nivel de TSH. Esto convierte la TSH en un parámetro altamente sensible y específico para la interpretación de la función tiroidea, idóneo para la detección precoz o la exclusión de alteraciones en el mecanismo de regulación central del hipotálamo, la hipófisis y el tiroides.[2,3,4,5,6]

El test Elecsys TSH emplea anticuerpos monoclonales dirigidos específicamente contra la TSH humana. Los anticuerpos marcados con quelato de rutenio[a)] se basan en un montaje químérico de componentes específicos de origen humano y de ratón, en el que se han eliminado ampliamente las interferencias provocadas por los anticuerpos humanos anti-ratón (HAMA).

a) Tris (2,2'-bipiridina)rutenio(II) ($Ru(bpy)_3^{2+}$)

Principio del test

Técnica sándwich. Duración total del test: 18 minutos.

- 1.ª incubación: 30 µL de muestra, un anticuerpo monoclonal biotinilado anti-TSH y un anticuerpo monoclonal anti-TSH marcado con quelato de rutenio forman un complejo sándwich.
- 2.ª incubación: después de incorporar las micropartículas recubiertas de estreptavidina, el complejo formado se fija a la fase sólida por interacción entre la biotina y la estreptavidina.
- La mezcla de reacción es trasladada a la célula de medida donde, por magnetismo, las micropartículas se fijan a la superficie del electrodo. Los elementos no fijados se eliminan posteriormente con ProCell II M. Al aplicar una corriente eléctrica controlada se produce una reacción quimioluminiscente cuya emisión de luz se mide con un fotomultiplicador.
- Los resultados se determinan mediante una curva de calibración generada específicamente para el instrumento a partir de una calibración a 2 puntos y una curva máster suministrada a través de **cobas** link.

Reactivos - Soluciones de trabajo

El **cobas e** pack está etiquetado como TSH.

M Micropartículas recubiertas de estreptavidina, 1 frasco, 14.1 mL: Micropartículas recubiertas de estreptavidina: 0.72 mg/mL, conservante.

R1 Anticuerpo anti-TSH~biotina, 1 frasco, 15.8 mL: Anticuerpo biotinilado monoclonal anti-TSH (ratón) 2.0 mg/L; tampón fosfato 100 mmol/L, pH 7.2; conservante.

R2 Anticuerpo anti-TSH~$Ru(bpy)_3^{2+}$, 1 frasco, 13.9 mL: Anticuerpo monoclonal anti-TSH (ratón/humano) marcado con quelato de rutenio 1.5 mg/L; tampón fosfato 100 mmol/L, pH 7.2; conservante.

Medidas de precaución y advertencias

Producto sanitario para diagnóstico in vitro.
Observe las medidas de precaución habituales para la manipulación de reactivos.
Elimine los residuos según las normas locales vigentes.
Ficha de datos de seguridad a la disposición del usuario profesional que la solicite.

Evite la formación de espuma en reactivos y muestras de todo tipo (especímenes, calibradores y controles).

Preparación de los reactivos

Los reactivos incluidos en el kit están listos para el uso y forman una unidad inseparable.

La información necesaria para el correcto funcionamiento está disponible a través de **cobas** link.

Conservación y estabilidad

Conservar a 2-8 °C.

No congelar.

Conservar el **cobas e** pack **en posición vertical** para garantizar la disponibilidad total de las micropartículas durante la mezcla automática antes del uso.

Estabilidad:	
sin abrir, a 2-8 °C	hasta la fecha de caducidad indicada
Analizador **cobas e** 801	16 semanas

Obtención y preparación de las muestras

Sólo se ha analizado y considerado apto el tipo de muestras aquí indicado.

Suero recogido en tubos estándar de muestra o en tubos que contienen gel de separación.

Plasma tratado con heparina de litio o con EDTA di o tripotásico.

Pueden emplearse tubos para plasma que contengan gel de separación.

Criterio: pendiente de 0.9-1.1 + coeficiente de correlación ≥ 0.95 y una desviación ≤ 10 % en los puntos de decisión médica (0.27 µUI/mL y 4.2 µUI/mL).

Estable durante 8 días a 20-25 °C, 14 días a 2-8 °C, 24 meses a -20 °C (± 5 °C). Congelar sólo una vez.

Los tipos de muestra aquí indicados fueron analizados con tubos de recogida de muestras seleccionados, comercializados en el momento de efectuar el análisis, lo cual significa que no fueron analizados todos los tubos de todos los fabricantes. Los sistemas de recogida de muestras de diversos fabricantes pueden contener diferentes materiales que, en ciertos casos, pueden llegar a afectar los resultados de los análisis. Si las muestras se procesan en tubos primarios (sistemas de recogida de muestras), seguir las instrucciones del fabricante de tubos.

Centrifugar las muestras que contienen precipitado antes de realizar el ensayo.

No emplear muestras inactivadas por calor.

No utilizar muestras ni controles estabilizados con azida.

Se debe garantizar una temperatura de 20-25 °C para la medición de muestras y calibradores.

Para evitar posibles efectos de evaporación, determinar las muestras y los calibradores que se sitúan en los analizadores dentro de un lapso de 2 horas.

Fuente: https://elabdoc-prod.roche.com/eLD/api/downloads/3316551d-1e62-e911-6595-00215a9b3428?countryIsoCode=es