



Triyodotironina Libre (fT3)
Código de producto: 1325-300

Uso: Determinación cuantitativa de la concentración de Triyodotironina Libre en Suero humano por medio de un inmunoensayo enzimático en microplaca. Se considera que los niveles de fT3 reflejan la cantidad de T3 disponible para las células pudiéndose determinar por consiguiente el estado metabólico clínico de T3.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DEL ENSAYO

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

Por ejemplo, el incremento de los niveles totales de Triyodotironina asociados con el embarazo, anticonceptivos orales y terapia con estrógenos, hace que los niveles de T3 total se encuentren mas elevados, mientras que la concentración del T3 libre permanece básicamente sin modificaciones.

El método de inmuno-ensayo enzimático en microplaca, proporciona una técnica con una óptima sensibilidad con bajos requerimientos de manipulación para la determinación directa del T3 Libre. En este método, el suero de referencia, la muestra del paciente o control es primero adicionada al pozo de la micropilaca. El conjugado enzima-T3 (método análogo), se adiciona, y luego los reactivos seguidos de una mezcla suave. Una reacción competitiva resulta entre el conjugado enzimático y la Triyodotironina Libre por un número limitado de anticuerpos inmovilizados en el pozo.

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

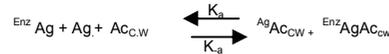
PRINCIPIO

**Inmunoensayo enzimático competitivo TIPO 5
Método análogo para T3 libre**

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

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

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



Ac_{C.W} = Anticuerpo Inmovilizado mono-especifico (cantidad constante)

Ag = Antígeno nativo (cantidad variable)

Enz_{Ag} = Conjugado de enzima - Antígeno (Cantidad constante)

Ag_{Ac_{C.W}} = Complejo antígeno - anticuerpo

Enz_{Ag}Ac_{C.W} = Conjugado enzima - antígeno - complejo de anticuerpos.

k_a = Tasa Constante de asociación

k_{-a} = Tasa Constante de Disociación

K = k_a/k_{-a} = Constante Equilibrio

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

REACTIVOS

Materiales suministrados

A. Calibradores Suero Humano - 1 ml/vial- Iconos A-F

6 viales de calibradores de suero para Triyodotironina libre a concentraciones aproximadas de 0(A), 1.0(B), 3.0(C), 5.0(D), 8.0(E) y 16.0 (F) pg/ml. Almacenar de 2-8°C. Un preservante ha sido adicionado. Se obtienen niveles exactos en las etiquetas de acuerdo con datos específicos del lote. Para unidades S1: 1pg/ml x 1.536 = pmol/L

B. Reactivo enzimático fT3- 13 ml/ vial - icono E

Un (1) vial de conjugado de peroxidasa de rábano (HRP) - Triyodotironina en una matriz estabilizadora de albúmina Bovina. Un preservante ha sido adicionado. Almacenar de 2-8°C.

C. Placa recubierta de anticuerpo T3 - 96 pozos - icono E

Una microplaca de 96 pozos recubiertos con suero de anti-Triyodotironina de oveja y empacada dentro de una bolsa de aluminio con agente desecante. Almacenar de 2-8°C.

D. Concentrado de solución de lavado - 20 ml- Icono E

Un (1) vial que contiene un surfactante en solución salina amortiguada. Un preservante fue adicionado. Almacenar de 2-30°C.

E. Sustrato A- 7 ml/vial- Icono S^A

Una (1) botella que contiene tetrametil benzidina (TMB) en solución amortiguadora. Almacenar de 2-8°C.

F. Sustrato B - 7 ml/vial- Icono S^B

Una (1) botella que contiene Peroxido de Hidrógeno (H₂O₂) en solución amortiguadora. Almacenar de 2-8°C.

G. Solución de parada - 8ml/vial - Icono STOP

Una (1) botella que contiene un ácido fuerte (HCL 1N). Almacenar de 2-30°C.

H. Instrucciones del producto

Elementos requeridos que no se suministran:

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

6. Envoltura plástica o cubiertas de microplacas para los procesos de incubación
7. Aspiradora al vacío (opcional) para los procedimientos de lavado
8. Cronometro
9. Materiales para control de calidad

Nota 1: No utilizar los reactivos después de la fecha de vencimiento del kit.

Nota 2: Los reactivos abiertos son estables por 60 días cuando son almacenados de 2-8°C.

PRECAUCIONES

Para uso en Diagnóstico in Vitro

No usar en humanos o animales en forma interna o externa

Todos los productos que contienen suero humano han demostrado ser no reactivos para antígeno de superficie de hepatitis B, VIH 1 y 2 y HCV según pruebas exigidas por la FDA. Debido a que ninguna prueba conocida hasta ahora puede ofrecer una garantía total de ausencia de agentes infecciosos, los productos de suero humano deben manejarse como potencialmente peligrosos y capaces de transmitir enfermedades. Los buenos procedimientos de laboratorio para el manejo de productos sanguíneos pueden ser encontrados en el Centro de Control de Enfermedades/ Instituto Nacional de Salud, "Biosseguridad en Laboratorios Microbiológicos y Biomédicos", 2da Edición, 1988, HHS Publicación N° (CDC) 88-8395.

RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Se deben emplear las precauciones en la recolección de muestras por punción venosa para las muestras de suero o sangre. La sangre debe ser recolecta en tubo de tapa roja sin aditivos con con barrera de gel. Dejar que la sangre se coagule y centrifugar para separ el suero de las células.

Las muestras deberán ser refrigeradas de 2-8°C por un tiempo máximo de 48 Horas. Si la muestra no puede ser procesada dentro de las 48 horas la muestra debera almacenarse a temperatura de -20°C hasta por 30 días. Evitar la congelación y descongelación repetitiva. Cuando el ensayo se hace en duplicado, se requieren 0.100ml muestra.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

1. Buffer de Lavado

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

2. Solución de sustrato de trabajo

Verter el contenido del vial color ámbar marcado como solución A dentro del vial transparente marcado como solución B. Colocar la tapa amarilla en el vial transparente para fácil identificación. Mezclar y marcar según corresponda. Almacenar de 2-8°C.

Nota. No utilizar el sustrato de trabajo si tiene coloración azul.

PROCEDIMIENTO DE PRUEBA

Antes de proceder con el ensayo permita que todos los reactivos, calibradores y controles alcancen temperatura ambiente (20-27°C).

1. Marcar los pozos de microplacas para cada calibrador, control y muestra de paciente para ser procesados por duplicado. Colocar las tiras no utilizadas nuevamente en la bolsa de aluminio, sellar y almacenarlo de 2-8°C.
2. Pipetear 0.050 ml (50µl) de calibrador apropiado, control o muestra dentro del pozo asignado.
3. Adicionar 0.100ml (100µl) de solución de reactivo fT3 - enzima a todos los pozos.
4. Agitar suavemente la microplaca durante 20-30 segundos para mezclar y cubrir.
5. Incubar durante 60 minutos a temperatura ambiente.
6. Eliminar el contenido de la microplaca mediante decantación o aspiración. Si es por el método de decantación, secar la placa con papel absorbente.
7. Adicionar 350µl de buffer de lavado (ver Sección reparación de Reactivos), decantar, secar o aspirar. Repetir 2 veces más para obtener un total 3 lavados. **Se**

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

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

NO AGITAR LA PLACA DESPUÉS DE ADICIÓN DEL SUSTRATO

9. Incubar a temperatura ambiente durante 15 minutos.
10. Adicionar 0.050ml (50µl) de solución de parada a cada pozo y agitar suavemente durante 15-20 segundos. **Adicionar los reactivos siempre en el mismo orden para minimizar las diferencias en tiempos de reacción entre los pozos.**
11. Leer la absorbancia en cada pozo a 450nm (utilizando una longitud de onda de referencia de 620-630nm para minimizar imperfecciones del pozo) en un lector de microplacas. **Los resultados deben leerse dentro de los 30 minutos después de adicionar la solución de parada.**

CONTROL DE CALIDAD

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

CALCULO DE RESULTADOS

Se utiliza una curva dosis respuesta para evaluar la concentración de Triyodotironina Libre en muestras desconocidas.

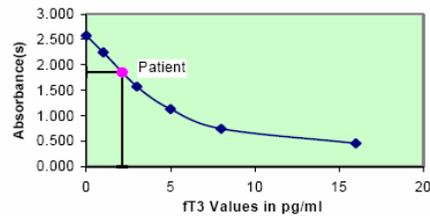
1. Tomar registro de la absorbancia que se obtengan de la impresión del lector de microplacas como se muestran en el ejemplo 1.
2. Graficar la absorbancia para cada calibrador en duplicado vs. la concentración correspondiente fT3 en pg/ml en papel lineal de gráficos (no promediar los duplicados de los calibradores antes de graficar).
3. Trazar la curva de mejor ajuste a través de los puntos señalados en la grafica.
4. Determinar la concentración de fT3 para una muestra desconocida, ubicar la absorbancia promedios de la muestra desconocida en eje vertical del grafico, encuentre el punto de intersección sobre la curva y lea la concentración (en pg/ml) a partir del eje horizontal del grafico (los duplicados de la muestra desconocida pueden promediarse según se indica). Según el siguiente ejemplo, la absorbancia promedio (1.855) intercepta con la curva estándar A (2.1 pg/ml) de concentración fT3 (ver figura 1).

Ejemplo 1

ID Muestra	Pozo Numero	Abs (A)	Media Abs (B)	Valor* (pg/ml)
Cal A	A1	2.658	2.579	0.0
	B1	2.531		
Cal B	C1	2.264	2.248	1.0
	D1	2.233		
Cal C	E1	1.570	1.578	3.0
	F1	1.585		
Cal D	G1	1.124	1.135	5.0
	H1	1.145		
Cal E	A2	0.749	0.748	8.0
	B2	0.748		
Cal F	C2	0.463	0.463	16.0
	D2	0.462		
Paciente	E2	1.860	1.855	2.1
	F2	1.849		

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

Figure 1



PARÁMETROS DE CALIDAD

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

- La absorbancia DO del calibrador A deberá ser ≥ 1.3 .
- Cuatro de cada 6 controles de calidad deben ubicarse dentro de los rangos establecidos.

ANÁLISIS DE RIESGOS

A. Desempeño de la prueba

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

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

B. Interpretación

- Los resultados de laboratorio por si solos son únicamente un aspecto para determinar el cuidado del paciente y no deben ser la única base para una terapia, particularmente si los resultados están en conflicto con otros determinantes.
- Para resultados de pruebas válidas, los controles adecuados y otros parámetros deben estar dentro de los rangos listados y requerimientos del ensayo.
- Si los kits de prueba están alterados, ya sea por mezcla de partes de diferente kits, lo cual puede producir resultados de prueba falsos o si los resultados son interpretados incorrectamente, **Monobind no tendrá responsabilidad.**
- Si se utiliza el sistema de reducción de datos controlados por Computador para interpretar los resultados del ensayo, es necesario que los valores de predicción para los calibradores se ubiquen dentro del 10% de las concentraciones asignadas.
- Si un paciente por alguna razón obtiene una lectura mas alta que el calibrador mas alto repórtelo como > 16pg/ml. No intente diluir las muestras. Las variaciones de la TBG de diferentes matrices no permitirán que la hormona libre T3 se diluya serialmente.

6. Se sabe que diversos fármacos afectan en enlace de la Triyodotironina con las proteínas portadoras de la hormona de la tiroides o su metabolismo con el T3 complicando la interpretación de los resultados del T3 libre (3).

7. Los auto anticuerpos circulantes del T3 y los inhibidores de enlace con la hormona pueden producir interferencias (4).

8. Se ha conocido que la heparina tiene efectos in vivo e in vitro sobre la concentración de T3 libre (5). Por lo tanto, no obtener muestras en las cuales se haya utilizado este anti-coagulante

9. En varias enfermedades severas no relacionadas con la tiroides (NIT), la evaluación de la condición de la tiroides se dificulta demasiado. Se recomienda medir la TSH para identificar la disfunción de la tiroides.

10. Las condiciones disalbuminemicas familiares pueden producir resultados erróneos en ensayos directos de T3 libre

“NO DEBE UTILIZARSE ESTE PROCEDIMIENTO PARA TAMIZAJE DE NEONATOS”

RANGOS Y VALORES ESPERADOS

Se realizó un estudio de la población adulta eutiroides para determinar, los valores esperados para la aplicación del sistema de prueba FT3 AccuBind ELISA. En la tabla 1 se presentan valores de media (X), desviación estándar (σ) y rangos esperados ($\pm 2\sigma$).

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

	Adultos (110 muestras)	Embarazos (75 muestras)
Media (x)	2.8	3.0
Desviación estándar (σ)	0.7	0.6
rangos esperados ($\pm 2\sigma$).	1.4 – 4.2	1.8 – 4.2

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

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO

A. Precisión

La precisión inter e intraensayo del sistema de prueba FT3 AccuBind ELISA se determino mediante análisis en tres niveles distintos de suero de control pool. El número(N), valor medio(X), desviación estándar (σ) y el coeficiente de variación (C.V) para cada uno de estos sueros controles son presentados en la Tabla 2 y Tabla 3.

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

Muestra	N	X	σ	C.V.
Normal	24	1.85	0.09	4.9
Bajo	24	4.49	0.16	3.6%
Alto	24	8.0	0.025	3.1%

TABLE 3
Precisión inter – Ensayo* (Valores en pg/ml)

Muestra	N	X	σ	C.V.
Normal	12	2.16	0.29	13.1%
Bajo	12	5.09	0.40	7.9%
Alto	12	9.13	0.94	10.2%

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

B. Precisión

El sistema de ensayo FT3 AccuBind ELISA se comparo con un método análogo de radio inmuno ensayo de tubo recubierto. Se utilizaron muestras biológicas provenientes de poblaciones hipotiroideas, eutiroides, e hipertiroides. Los valores estuvieron en un rango de 0.1pg/ml –14pg/ml. El número total de estas muestras fue de 151. La ecuación de regresión de mínimos cuadrados y el coeficiente de correlación se calcularon para este FT3 AccuBind ELISA en comparación con el método de referencia. Los datos obtenidos se observan en la tabla 4.

Método	Media (x)	Análisis de regresión de mínimos cuadrados	Coeficiente de correlación
Este Método	3.05	$Y = 0.35 + 0.922(X)$	0.902
Referencia	2.92		

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

c. Sensibilidad

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

d. Especificidad

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

Sustancia	Reacción cruzada	Concentración
I-Triyodotironina	1.0000	-----
I-Tiroxina	<0.0002	10ug/ml
Yodotiroxina	<0.0001	10ug/ml
Diyodotiroxina	<0.0001	10ug/ml
Diyodotironina	<0.0001	10ug/ml
Fenilbutazona	<0.0001	10ug/ml
Salicilato sódico	<0.0001	10ug/ml

REFERENCIAS

- Pederson KO, *Scand J Clin Lab Invest*, 34, 247 (1974).
- Wild D, *Immunoassay Handbook*, Stockton Press, 339 (1994).
- Wenzel KW, *Metabolism*, 30, 717 (1981).
- Bhagat C, et al, *Clin Chem*, 29, 1324 (1983).
- Lundberg PR, et al, *Clin Chem*, 28, 1241 (1982).
- Melmed S, et al, *J Clin Endocrinol Metab*, 54, 300 (1982).
- Lalloz MR et al, *Clin Endocrinol*, 18, 11 (1983).

Revisión: 2 Fecha: 112210 DCO:0383
Cat. #: 1325-300

Cat #: 1325-300

Size	96(A)	192(B)	480(D)	960(E)
Reagent (fill)	A)	1ml set	1ml set	2ml set
	B)	1 (13ml)	2 (13ml)	2 (60ml)
	C)	1 plate	2 plates	5 plates
	D)	1 (20ml)	1 (20ml)	1 (60ml)
	E)	1 (7ml)	2 (7ml)	1 (30ml)
	F)	1 (7ml)	2 (7ml)	1 (30ml)
	G)	1 (8ml)	2 (8ml)	1 (30ml)

For Orders and Inquiries, please contact



Tel: 949-951-2665
Fax: 949-951-3539
Email: info@monobind.com
On the Web: www.monobind.com

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



EC REP CEpartner4U, 3951 DB; 13.NL
Tel: +31 (0) 6-516.536.26

Instrumentos y aplicaciones

Los productos de inmunoensayo de Monobind están diseñados para que funcionen en ambientes manuales y automatizados. AccuBind™ y AccuLite™ son compatibles con cualquier instrumento abierto incluyendo analizadores químicos, lectores de microplacas y lavadores de microplacas. Es posible que exista o no una aplicación desarrollada para su instrumento en particular, para estos casos, se recomienda visitar la sección de instrumentos de nuestro sitio en la web o comunicarse con techsupport@monobind.com

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