

E2

Estradiol (CLIA)

Uso previsto

Inmunoensayo quimioluminiscente para la determinación cuantitativa de estradiol (E2) en suero.

Significación clínica

El estradiol, estrógeno más activo biológicamente, es una hormona esteroide que regula la función reproductora en las mujeres y mantiene el embarazo junto con la progesterona. El estradiol se secreta principalmente en los ovarios y cuerpo lúteo en mujeres no embarazadas. En los hombres, las glándulas suprarrenales y los testículos también pueden secretar pequeñas cantidades. Durante el embarazo, la placenta produce la mayoría del estradiol circulante. La mayor parte del estradiol se fija a las proteínas. Sólo entre el 1 y el 3% del estradiol es libre.

Durante el ciclo menstrual, el estradiol se secreta en distintas cantidades. Los niveles de estradiol son más bajos durante la menstruación y en la primera fase folicular y aumentan en la última fase folicular hasta alcanzar el máximo justo antes de la elevación de la LH (hormona luteinizante), que está al inicio de la ovulación. Los niveles de estradiol comienzan a disminuir a medida que la LH alcanza su nivel máximo. Posteriormente, en la fase lútea, vuelven a aumentar. Si no se produce la fecundación, el estradiol disminuye a los niveles mínimos. A continuación, tiene lugar la menstruación. Si se produce la fecundación, los niveles de estradiol aumentan rápidamente durante el embarazo, estimulando así el crecimiento endometrial con progesterona. Durante la menopausia, los niveles de estradiol permanecen bajos.

Los niveles de estradiol se pueden utilizar para controlar el estado de los ovarios y reflejar la maduración folicular, dado que los ovarios producen la mayor parte del estradiol en mujeres normales. Además, la medida del nivel de estradiol es importante para la evaluación del desarrollo sexual, el origen de la amenorrea y las causas de esterilidad y menopausia. Niveles anormalmente elevados en hombres pueden indicar síndromes de feminización, como ginecomastia.

Fundamentos del método

Estradiol (CLIA) es un ensayo inmunoenzimático competitivo para determinar el nivel de estradiol en suero. En el primer paso, se agregan a una cubeta de reacción: muestra, micropartículas paramagnéticas recubiertas con anticuerpo de cabra anti-IgG de conejo, buffer de

tratamiento de muestra y anticuerpo de conejo anti-estradiol. Luego de la incubación el estradiol de la muestra se une al anticuerpo anti-estradiol.

En el segundo paso, se agrega a la cubeta de reacción el conjugado anti-estradiol-fosfatasa alcalina. El estradiol de la muestra compite con el conjugado por los sitios de unión del anticuerpo anti-estradiol. El complejo resultante se une al anticuerpo de cabra anti-IgG de conejo en las micropartículas y es capturado magnéticamente. Las sustancias no fijadas se eliminan por lavado.

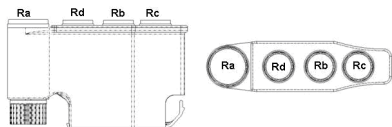
En el tercer paso, se añade la solución de sustrato (Substrate Solution) a la cubeta de reacción.

La reacción quimioluminiscente producida por el conjugado se mide como unidades de luz relativas (RLU). La cantidad de estradiol presente en la muestra es inversamente proporcional a las unidades de luz relativas (RLU) generadas durante la reacción. La concentración de estradiol puede calcularse con la curva de calibración.

Reactivos Provistos

Ra	Micropartículas paramagnéticas recubiertas con anticuerpo de cabra anti-IgG de conejo en buffer TRIS.
Rb	Conjugado de estradiol y fosfatasa alcalina en buffer MES.
Rc	Anticuerpo policlonal de conejo anti-estradiol en buffer TRIS.
Rd	Buffer de tratamiento de muestra.

La posición de cada componente reactivo se muestra en la siguiente figura:



Reactivos no provistos

- **Estradiol Calibrators**
- **Reproductive Multi Control (L)**
- **Reproductive Multi Control (H)**
- **Wash Buffer**
- **Substrate Solution**

Estos reactivos son provistos separadamente por Wiener lab.

Instrucciones para su uso

Los reactivos son listos para usar

Precauciones

- Para uso diagnóstico "in vitro".
- Mantener el kit de reactivos en posición

vertical para asegurar que no se pierdan micropartículas antes del uso.

- No utilizar reactivos de otro origen.
- No utilizar reactivos después de la fecha de vencimiento.
- No intercambiar reactivos de distintos lotes.
- Todas las muestras de pacientes deben manipularse como si fueran capaces de transmitir infección.
- Utilizar los reactivos respetando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio bioquímico.
- Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

Estabilidad e instrucciones de almacenamiento

El kit es estable a 2-8°C hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

Material requerido (no provisto)

Analizador de quimioluminiscencia Wiener lab. CLIA series

Muestra

Suero

- a) Recolección:** obtener la muestra de la manera habitual.
- b) Aditivos:** no se requieren.
- c)** Centrifugar las muestras y separar el suero antes de las dos horas.
- d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento:** las muestras deben ser preferentemente frescas. Si no se procesan dentro de las 8 horas posteriores a la recolección, deben conservarse bien tapadas y refrigeradas a 2-8°C. Si el ensayo se posterga por más de 72 horas, las muestras deben ser congeladas a -20°C o menos. Evitar los ciclos de congelado y descongelado.

Procedimiento

Antes de cargar los reactivos en el analizador se debe invertir suavemente el frasco de reactivos sin abrir por lo menos 30 veces para resuspender las micropartículas sedimentadas durante el almacenamiento. Realizar una inspección visual del frasco para asegurar la resuspensión de las micropartículas. Si las mismas continúan adheridas al frasco, seguir invirtiéndolo hasta su resuspensión completa. Si aun así las micropartículas no se resuspenden, se recomienda desechar el frasco.

El ensayo requiere 35 µL de muestra. En este volumen no se incluye el volumen muerto del contenedor de muestras.

Calibración

El kit **Estradiol (CLIA)** ha sido estandarizado de acuerdo al procedimiento de medición de referencia de IDMS (Isotope Dilution Mass Spectrometry).

La información específica de la curva maestra de calibración está contenida en el código bidimensional provisto. Se utiliza junto con los calibradores para la calibración del lote de reactivo específico. Al realizar la calibración, se debe escanear primero la información de la curva maestra de calibración del código bidimensional en el sistema. A continuación, utilizar los calibradores a tres niveles. Se requiere una curva de calibración válida antes de cualquier prueba de E2. Se recomienda una recalibración cada 2 semanas, cuando se utilice un nuevo lote de reactivos o los controles de calidad no se encuentren dentro de los intervalos especificados. Para obtener información detallada sobre la calibración, consulte el manual de funcionamiento del analizador.

Control de calidad

Reproductive Multi Control (L) y **Reproductive Multi Control (H)** de Wiener lab.

Cálculo de los resultados

El analizador calcula automáticamente la concentración de analito de cada muestra a partir de la curva maestra de calibración leída del código bidimensional y un ajuste de la curva logística de 4 parámetros (4PLC) con las RLU generadas por los calibradores. Los resultados se muestran en pg/mL.

Factores de conversión:
 $\text{pg/mL (ng/L)} \times 3,671 = \text{pmol/L}$
 $\text{pmol/L} \times 0,273 = \text{pg/mL (ng/L)}$

Valores esperados

En un estudio realizado sobre una población de 539 individuos sanos (429 mujeres y 130 hombres) se obtuvo el siguiente intervalo de referencia.

Categoría		N	Intervalo central del 95%
Hombre		130	<10-84 pg/mL
Mujer	fase folicular	125	20-138 pg/mL
	periodo de ovulación	42	100-440 pg/mL
	fase lútea	128	31-317 pg/mL
	posmenopausia	134	<10-84 pg/mL

Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio intervalo de referencia.

Limitaciones del procedimiento

El límite superior de este ensayo es 4800 pg/mL. Una muestra con una concentración de estradiol inferior al límite superior puede determinarse en términos cuantitativos,

mientras que la muestra con una concentración mayor al límite superior se registra como > 4800 pg/mL. La concentración de estradiol en una muestra ensayada, con distintos kits comerciales, puede variar debido a las diferencias en los métodos de ensayo, calibración y especificidad de los reactivos. Los resultados del ensayo se deben utilizar junto con otros datos como síntomas, resultados de otras pruebas, historia clínica, etc.

Performance

a) Sensibilidad analítica: ≤10 pg/mL.

b) Rango de medición: 10 - 4800 pg/mL.

c) Especificidad:

- No se observan interferencias por hemoglobina hasta 500 mg/dL, bilirrubina hasta 10 mg/dL, triglicéridos hasta 1000 mg/dL, factor reumatoide hasta 100 UI/mL ni anticuerpo antinuclear hasta 500 UI/L.
- El calibrador C0 de **Estradiol Calibrators** de Wiener lab. se complementó con otros sustancias de estructura similar al estradiol a los niveles específicos mostrados en la siguiente tabla. No se observó reactividad cruzada evidente. Los resultados se indican en la siguiente tabla.

Sustancia	Concentración	Reactividad cruzada
Sulfato de estrona	400	0,11%
Estriol-3 sulfato	1,020,000	0,00%
Etinilestradiol	400	1,47%
Estradiol valerato	1,000	0,22%
17-α-estradiol	100,000	0,07%
3,17β-estradiol diglucuronida	83,000	0,00%
Testosterona	15,000	0,01%
Equilina	600	0,05%
Estradiol-3-sulfato	281,000	0,01%
Androstenediona	1,000,000	0,00%
Progesterona	500,000	0,00%

d) Exactitud:

Se usaron dos controles con valores trazables y predefinidos para verificar la exactitud de este ensayo. Los resultados demostraron que las desviaciones relativas son inferiores a ±10%.

Muestra	E2 medido (pg/mL)	E2 predefinido (pg/mL)	Desvío relativo
Nivel 1	474,35	476,82	-0,52%
Nivel 2	2617,28	2581,39	1,39%

e) Precisión:

La precisión se determinó mediante el protocolo EP5-A2 del Comité Nacional de

Estándares de Laboratorio Clínico (NCCLS). Se probaron dos niveles de controles de calidad por duplicado en dos series independientes por día, durante un total de 20 días.

Muestra	Valor medio (pg/mL)	CV intra-ensayo	CV inter-ensayo	CV total
1	148,45	4,22%	4,57%	5,96%
2	609,30	3,96%	4,58%	5,36%

f) Linealidad:

La reacción es lineal en el rango 10–1200 pg/mL

g) Correlación:

El kit **Estradiol (CLIA)** de Wiener lab. se comparó con un kit comercial de características similares, utilizando 455 muestras. Los datos estadísticos obtenidos se muestran en la siguiente tabla.

Intervalo de concentración (pg/mL)	Pendiente	Intersección	Coefficiente de correlación
10-4800	1,162	-9,486	0,991

Presentaciones

- 2 x 50 tests (cód. 1001073)
- 2 x 100 tests (cód. 1001074)

Referencias

- Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd Edition. 1994. Edited by Burtis CA and Ashwood E R, Philadelphia, PA: W. B. Saunders Co., 1857-1863.
- Yen SSC. The Human Menstrual Cycle: neuroendocrine regulation. In Reproductive Endocrinology 1991. Edited by Yen SSC and Jaffe RB, Philadelphia, PA: W. B. Saunders Co., 273-308.
- Carr BR. Disorders of the ovary and female reproductive tract. In Williams Textbook of Endocrinology 1992, 8th edition. Edited by Wilson JD and Foster DW, Philadelphia, PA: W. B. Saunders Co., 733-798.
- Hall JE, Polycystic ovarian disease as a neuroendocrine disorder of the female reproductive axis. In Endocrinology and Metabolism Clinics of North America 1993. Edited by Veldhuis JD Philadelphia, PA: W. B. Saunders Co.,

75-92.

- Reyes-Fuentes A, Veldhuis JD. Neuroendocrine physiology of the normal male gonadal axis. In Endocrinology and Metabolism Clinics of North America 1993. Edited by Veldhuis JD Philadelphia, PA: W.B. Saunders Co., 22:93-124.

SÍMBOLOS

CE Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"

EC REP Representante autorizado en la Comunidad Europea

Elaborado por

MD Uso diagnóstico "in vitro"

Consultar instrucciones de uso

Este lado arriba

Límite de temperatura (conservar a)

LOT Número de lote

Fecha de caducidad

REF Número de catálogo

Riesgo biológico

Cont. Contenido

SHENZHEN MINDRAY BIO-MEDICAL ELECTRONICS CO., LTD.
Mindray building. Keji 12th Road South. Hi-tech Industrial Park.

Fabricado para:
Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 Rosario - Argentina
http://www.wiener-lab.com
Producto Autorizado por A.N.M.A.T.
PM-1102-140
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica