

LH

Luteinizing Hormone (CLIA)

Uso previsto

Inmunoensayo quimioluminiscente (CLIA) para la determinación cuantitativa de hormona luteinizante (LH) en suero o plasma

Significación clínica

La hormona luteinizante (LH) es una glicoproteína que consta de dos subunidades (cadenas α y β) con 219 aminoácidos en total. La subunidad α de la LH tiene una estructura molecular idéntica a las subunidades α de la hormona foliculoc estimulante (FSH), tirotrofina (TSH) y gonadotrofina coriónica humana (HCG). La subunidad β difiere considerablemente de la de la FSH y TSH. Sin embargo, las subunidades β de la LH y HCG son similares. Las distintas subunidades β determinan sus especificidades fisiológicas e inmunes.

La LH y la FSH regulan y estimulan de forma sinérgica el crecimiento y la función de las gonadas (ovarios y testículos). La LH regula el ciclo menstrual en las mujeres con FSH sinérgicamente, lo que produce el óvulo y provoca la formación del cuerpo lúteo, que secreta progesterona y estradiol.

La determinación de la LH junto con la FSH se utiliza para esclarecer las causas de la amenorrea (amenorrea primaria o amenorrea secundaria) en mujeres, así como para determinar las causas de la insuficiencia testicular en hombres. El nivel máximo de LH tiene una relación directa con la ovulación durante el ciclo menstrual. La ovulación siempre se produce en un plazo de 24~36 horas tras alcanzar el nivel máximo de LH. Por tanto, la determinación y monitoreo de la concentración de LH en suero en el ciclo menstrual puede definir el periodo óptimo de fertilidad. Detecciones seriadas de la LH durante 6-8 días en la mitad del ciclo en mujeres con ciclos menstruales regulares pueden establecer el nivel máximo de secreción. La determinación de la LH resulta útil en el diagnóstico y tratamiento de la esterilidad y de trastornos gonadales e hipofisarios.

Fundamentos del método

Luteinizing Hormone (CLIA) es un ensayo sandwich para la determinación cuantitativa de hormona luteinizante (LH) en suero o plasma. En el primer paso se añaden a una cubeta de reacción, la muestra y las micropartículas paramagnéticas recubiertas con anticuerpo anti-LH. Luego de la incubación, la LH de la muestra se une a las micropartículas recubiertas de anticuerpo anti-LH. Las micropartículas se capturan magnéticamente y las sustancias sin unir se eliminan por lavado.

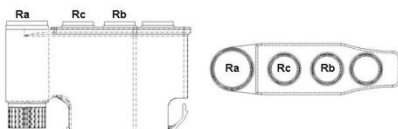
En el segundo paso se añade a la cubeta de reacción, el conjugado anti-LH-fosfatasa alcalina. El conjugado se une a la LH unida a las

micropartículas recubiertas con anticuerpo anti-LH para formar un complejo sandwich. Las micropartículas se capturan magnéticamente y las sustancias sin unir 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 relativas de luz (RLU). La cantidad de LH presente en la muestra es directamente proporcional a las RLU generadas durante la reacción. La concentración de LH se determina mediante una curva de calibración.

Reactivos provistos

Ra	Micropartículas paramagnéticas recubiertas con anticuerpo monoclonal anti-LH en buffer TRIS.
Rb	Conjugado de anticuerpo monoclonal anti-LH y fosfatasa alcalina en buffer MES.
Rc	Buffer MES.

La posición de los componentes del kit se muestra en la siguiente figura:



Reactivos no provistos

- LH 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 o plasma

- a) Recolección:** obtener la muestra de la manera habitual.
 - b) Aditivos:** en caso de utilizar plasma, se recomienda el uso de EDTA, heparina sódica o heparina de litio como anticoagulantes.
 - c) Centrifugar** las muestras y separar el suero o plasma 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 aún así las micropartículas no se resuspenden, se recomienda desechar el frasco. El ensayo requiere 15 μ L de muestra. En este volumen no se incluye el volumen muerto del contenedor de muestras.

Calibración

El kit **Luteinizing Hormone (CLIA)** ha sido estandarizado de acuerdo con el estándar internacional de la OMS de hormona luteinizante hipofisaria humana (código NIBSC: 80/552). 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 LH. Se recomienda una recalibración cada 4 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 3 niveles de calibradores. Los resultados se muestran en mUI/mL.

Factor de conversión: mUI/mL x 1 = UI/L

Valores esperados

Un estudio realizado sobre una población de 565 individuos sanos (135 hombres y 430 mujeres) se obtuvo el siguiente intervalo de referencia:

Categoría		N	Percentilo 5 a 95%
Hombre		135	1,4-7,7 mUI/mL
Mujer	fase folicular	125	1,9-11,6 mUI/ mL
	periodo de ovulación	43	12,9-105,2 mUI/ mL
	fase lútea	128	0,8-10,5 mUI/ mL
	posmenopausia	134	6,6-66,4 mUI/ mL

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

Limitaciones del procedimiento

El límite superior del ensayo es de 250 mUI/mL. Se puede determinar cuantitativamente una muestra con una concentración de LH inferior al límite superior, pero una muestra con una concentración mayor que el límite superior se informará como >250 mUI/mL.

La concentración de LH en una muestra ensayada con distintos kits comerciales, puede variar debido a 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. Muestras de individuos expuestos a anticuerpos monoclonales de ratón pueden contener anticuerpos humanos anti-ratón (HAMA). Estas muestras pueden mostrar valores falsamente elevados o bajos con kits que utilicen anticuerpos de ratones monoclonales. Sin embargo, no se observaron interferencias evidentes de HAMA en este ensayo.

Performance

a) Sensibilidad analítica: $\leq 0,2$ mUI/mL.

b) Rango de medición: 0,2 - 250 mUI/mL.

c) Especificidad:

- No se observan interferencias por hemoglobina hasta 500 mg/dL, bilirrubina hasta 10 mg/dL, triglicéridos hasta 1800 mg/dL, proteínas totales hasta 10,0 g/dL, factor reumatoide hasta 1500 UI/mL ni anticuerpo antinuclear hasta

4000 UI/L.
- No se observó reactividad cruzada significativa cuando se añadieron al calibrador C0 de **LH Calibrators** las sustancias indicadas en la tabla siguiente. Los resultados no mostraron diferencias de más de 2,0 mUI/mL en el ensayo de LH con los niveles indicados.

Sustancia	Concentración
HCG	1000 mUI/mL
FSH	200 mUI/mL
TSH	100 µUI/mL

d) Exactitud:

Se utilizó una muestra del estándar internacional de la OMS de hormona luteinizante hipofisaria humana (código NIBSC: 80/552) con un valor definido y trazable para comprobar la exactitud del ensayo. Los resultados mostraron que la desviación relativa era inferior a ±10%. Los resultados se muestran en la siguiente tabla.

Muestra	LH medida (mUI/mL)	LH definida (mUI/mL)	Desvío relativo
LH de OMS	50,32	50,89	-1,13%

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 (mUI/mL)	CV intra-ensayo	CV inter-ensayo	CV total
1	10,32	2,12%	2,48%	4,21%
2	50,29	1,70%	2,57%	3,43%

f) Linealidad: la reacción es lineal entre 0,2 y 100 mUI/mL
g) Correlación:
El kit **Luteinizing Hormone (CLIA)** de Wiener lab. se comparó con un kit comercial de características similares, utilizando 422 muestras. Los datos estadísticos obtenidos se muestran en la siguiente tabla.

Intervalo de concentración (mUI/mL)	Pendiente	Intersección	Coefficiente de correlación
0,15-210,85	1,1719	-0,9300	0,997

Presentaciones

- 2 x 50 tests (cód. 1001103)
- 2 x 100 tests (cód. 1001104)

Referencias

- Bishop WH, Nureddin A, Ryan RJ. Pituitary Luteinizing and Follicle Stimulating Hormones. Em: Parons JA, editor. Peptide Hormones. Baltimore: University Park Press, 1976; 273-98.

- Keutmann HT, Williams RM, Ryan RJ. Structure of Human Luteinizing Hormone Beta Subunit: Evidence for a Related Carboxyl-Terminal Sequence among Certain Peptide Hormones. Biochem Biophys Res Commun 1979; 90:842-8.

- Schroff RW, Foon KA, Beatty SM, Oldham RK, Morgan AC Jr. Human Anti-Murine Immunoglobulin Responses in Patients Receiving Monoclonal Antibody Therapy. Cancer Res 1985; 45:879-85.

- Vaitukaitis JL, Ross GT. Antigenic similarities among the human glycoprotein hormones and their subunits. Em Gonadotropins. Editado por Saxena BB, Gandy HM, Beling CG. 1972; Nova York: John Wiley and Sons, 435-443.

- Beastall GH, Ferguson KM, O'Reilly DSJ, Seth J, Sheridan B. Assays for follicle stimulating hormone and luteinizing hormone: Guidelines for the provision of a clinical biochemistry service. Ann Clin Biochem. 1987; 24:246-262.

- Ross GT. Disorders of the Ovary and Female Reproductive Tract. Em: Wilson JD e Foster DW, editores. Williams Textbook of Endocrinology. Philadelphia: Saunders, 1985; 206-58.

- NCCLS. EP5-A2 Evaluation of precision performance of quantitative measurement method; approved guideline-second edition. 2004.

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

IVD Uso diagnóstico "in vitro"

Consultar instrucciones de uso

Este lado arriba

Límite de temperatura (conservar a)

Número de lote

Fecha de caducidad

Número de catálogo

Riesgo biológico

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