



## LH - HORMONA LUTEINIZANTE

Código de producto: 675-300

**Uso previsto: Determinación cuantitativa de la concentración de Hormona Luteinizante (LH) en suero humano por prueba inmunológica de quimioluminiscencia en microplaca. (CLIA)**

### RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA:

La hormona luteinizante (LH) es una glicoproteína compuesta por dos subunidades con una masa molecular de 30.000 dalton. La subunidad  $\alpha$  es similar al de otras hormonas hipofisarias (hormona foliculo estimulante (FSH), hormona estimulante del tiroides (TSH) y gonadotropina coriónica (CG)) mientras que la subunidad  $\beta$ -es único. La subunidad  $\beta$ -confiere la actividad biológica de la molécula. La subunidad  $\alpha$  consta de 89 residuos de aminoácidos, mientras que la subunidad  $\beta$ -contiene 129 aminoácidos. El contenido de carbohidratos es entre 15% y 30%. La utilidad clínica de la medición de la hormona luteinizante (LH) en la determinación de la homeostasis de la regulación de la fecundidad a través del hipotálamo - hipófisis - gonadal ha sido bien establecida (1,2). Además, el advenimiento de la fertilización in vitro (FIV) la tecnología para superar los problemas asociados con la infertilidad ha proporcionado el impulso para una rápida mejora en la metodología de ensayo izquierdo, en el bioensayo técnicamente exigentes (3) para los ensayos inmunoenzimático de procedimiento simple y rápido. En este método, el calibrador de LH, muestra del paciente o el control primero se agrega a un pozo cubierto de streptavidin. Biotinilado anticuerpos monoclonales y etiquetados enzima (dirigidos contra epítopes distintos y diferentes de la LH) y se mezclan los reactivos. Reacción entre los anticuerpos de LH y formas diversas, nativa LH un complejo de sándwich que se une con la streptavidina recubiertos al pozo. Después de la finalización del periodo de incubación es necesario, el anticuerpo conjugado hormona luteinizante enzima-ligado se separa de la hormona del conjugado no unido a enzimas luteinizante por aspiración o decantación. La actividad de la enzima presente en la superficie del pozo es cuantificada por la reacción con un sustrato adecuado para producir luz. El empleo de varias referencias del suero de conocer

los niveles de la hormona luteinizante permisos de construcción de una curva dosis-respuesta de la actividad y la concentración. De la comparación de la curva dosis-respuesta, la actividad de un espécimen desconocido se puede correlacionar con la concentración de hormona luteinizante.

### PRINCIPIO

#### Ensayo inmunoenzimométrico

Los reactivos esenciales requeridos por un ensayo inmunoenzimático de incluir una alta afinidad y especificidad de anticuerpos (enzima e inmovilizado), con el reconocimiento epítipo diferente y distinto, en exceso, y antígeno nativo. En este procedimiento, la inmovilización se produce durante el ensayo en la superficie de una microplaca bien a través de la interacción de estreptavidina recubierta por el anticuerpo bien y exógeno agregada biotinilado monoclonal anti-LH. Mezclando el anticuerpo monoclonal biotinilado, la enzima - anticuerpo etiquetado y un suero que contiene el antígeno nativo, los resultados de la reacción entre el antígeno nativo y los anticuerpos, sin competencia o impedimento estérico, para formar un complejo soluble en sándwich. La interacción es ilustrada por la siguiente ecuación:

$a\text{EnzAb} (p) + + \text{AgLH BtnAb} (m)$   
 $\text{EnzAb} (p)\text{-AgLH-BtnAb} (m)$   
k

-Un BtnAb (m) = anticuerpo monoclonal biotinilado (Cantidad de la Franquicia)

AgLH = Antígeno Nativo (cantidad variable)

EnzAb (p) = anticuerpo marcado con (exceso de cantidad)

EnzAb (p)-AgLH-BtnAb (m) = Sandwich del Complejo antígeno-anticuerpo

k = constante de velocidad de la Asociación

ak = tasa constante de disociación

-A

Al mismo tiempo, el complejo es depositado en el pozo a través de la reacción de alta afinidad de los anticuerpos con biotina y estreptavidina. Esta interacción se ilustra a continuación:

$\text{EnzAb} (p)\text{-AgLH-BtnAb} (m) + \text{StreptavidinC.W.} \Rightarrow$

$\text{StreptavidinC.W.} \text{-} \text{EnzAb} (p)\text{-AgLH-BtnAb} (m)$

Una vez se alcanza el equilibrio, la fracción de anticuerpo unido se separa de antígeno desatado por la decantación o aspiración. La actividad de la enzima, determinada por la reacción con un sustrato que genera luz, en la fracción de anticuerpo-limite es directamente proporcional a la concentración de antígeno nativo. Al utilizar varias referencias distintas de suero de los valores de antígeno conocido, una curva dosis-respuesta se pueden generar a partir de la

cual la concentración del antígeno de un desconocido puede ser comprobada.

### REACTIVOS

#### Materiales Provistos:

- Calibradores de LH** 1.0 ml/vial - Iconos A-F Seis (6) viales de referencia de Antígeno FSH en niveles de 0(A), 5(B), 25(C), 50(D), 100(E) y 200(F) mIU/ml. Almacenar de 2 - 8° C Se agregó preservativo.
- Reactivo trazador de LH** - 13 ml/vial Icon Un (1) vial conteniendo anticuerpo, IgG monoclonal de ratón con biotina en buffer, colorante y preservativo. Almacenar de 2 - 8° C
- Placa de 96 pocillos** de reacción cubiertos con Streptavidin y empacada en bolsa de aluminio con un agente desecante. Almacenar de 2 - 8° C
- Solución de lavado concentrado** - 20 ml Un (1) vial conteniendo surfactante en buffer salino. Se agregó preservativo. Almacenar de 2 - 30° C
- Reactivo A** - 7 ml/vial Una (1) botella conteniendo luminol en buffer. Almacenar de 2 - 8° C
- Reactivo B** - 7 ml/vial Una (1) botella conteniendo Peróxido de Hidrógeno (H2O2) en buffer. Almacenar de 2 - 8° C
- Inserto de instrucciones.

**Nota 1:** No usar los reactivos después de su fecha de expiración.

**Nota 2:** Los reactivos abiertos son estables por sesenta (60) días cuando se almacenan de 2 a 8° C

**Nota 3:** Los reactivos del presente kit son para una sola microplaca de 96 pocillos.

#### Materiales adicionales (no Provistos):

- Pipeta capaz de dispensar 50 ul con precisión de 1.5 %.
- Dispensador de capacidad: 0.100 ml y a 0.350 ml con precisión de 1.5 % (opcional)
- Lavador de microplacas o una pipeta (opcional).
- Luminómetro de microplacas.
- Papel absorbente para secar los pocillos de la microplacas.
- Cubierta plástica para tapar las microplacas durante las incubaciones.
- Aspirador al vacío (opcional) para los procesos de lavado.
- Reloj cronómetro.
- Materiales de control de calidad.

#### PRECAUCIONES:

*Para uso de diagnóstico in Vitro.*

*No es para usar externa o internamente en humanos o animales.*

Todos los productos que contienen suero humano se han encontrado para ser no reactivos para antígeno de superficie de hepatitis B, VIH 1 y 2 y de HCV por los reactivos con licencia del FDA. Puesto que ninguna prueba puede ofrecer completa seguridad de que los agentes infecciosos, todos los productos de suero humano deben ser tratados como potencialmente peligrosos y capaces de transmitir la enfermedad. Los buenos procedimientos de laboratorio para la manipulación de productos sanguíneos se pueden encontrar en el Centro de Control de Enfermedades / Instituto Nacional de Salud, "Bioseguridad en laboratorios microbiológicos y biomédicos," 2ª Edición, 1988, el HHS Publication No. (CDC) 88-8395.

#### RECOLECCION Y PREPARACION DE LAS MUESTRAS:

Las muestras de sangre, suero en tipo y las precauciones habituales en la toma de muestras de punciones venosas. Para la comparación exacta de los valores normales establecidos, una muestra de suero de la mañana en ayunas debe ser obtenido. La sangre debe recogerse en un Tubos al vacío tapa roja simple, sin aditivos o anticoagulantes. Deje que la sangre se coagule. Centrifugar la muestra para separar el suero de las células.

Las muestras se pueden refrigerar en 2-8° C durante un período máximo de cinco (5) días. Si la muestra (s) no se puede probar en este plazo, la muestra (s) puede ser almacenado a temperaturas de -20° C durante un máximo de 30 días. Evitar la repetición de congelación y descongelación. Cuando se analizaron por duplicado, 0.100 ml de la muestra se requiere.

#### PREPARACION DE LOS REACTIVOS:

##### 1.- Bufer de lavado:

Diluir el contenido de la solución de lavado concentrada en 1,000 ml de agua destilada o desionizada en un depósito adecuado. Almacenar a temperatura ambiente de + 20° a + 27° C

##### 2.- Solución de reactivo de trabajo:

Almacenar de + 2° a + 8° C. Determinar la cantidad de reactivo necesario y preparar mezclando en proporciones iguales el reactivo A y reactivo B en un depósito limpio. Por ejemplo, agregar 1 ml de A y 1 ml de B para 2 tiras de 8 pocillos.

#### PROCEDIMIENTO DE ENSAYO:

Antes de proceder con el ensayo llevar todos los reactivos, sueros de referencia y controles a temperatura ambiente (20 a + 27° C)

- Marcar los micropocillos para cada suero de referencia, control y muestra de paciente a ser ensayada en duplicado.

NOTA: Cubrir los pocillos sin usar con el sellador de placas, sellar en la bolsa de plástico con desecante, y almacenar a 2-8 °C

- Pipetear 0.050 ml (50 ul) del apropiado suero de referencia, control o muestra en los pocillos asignados.
- Agregar 0.100 ml (100 ul) de reactivo de LH a cada pocillo. Es muy importante dispensar todos los reactivos cerca del fondo del pocillo recubierto.
- Mover suavemente la placa por 20 a 30 segundos para mezclar y cubrir.
- Incubar 45 minutos a temperatura ambiente.
- Descartar el contenido de las microplacas por decantación o aspiración. Si se decanta dar un golpecito y secar con papel absorbente.
- Agregar 350 ul de bufer de lavado (ver preparación de reactivos) decantar (golpear y secar) o aspirar. Repetir 4 veces adicionales para un total de 5 lavados. Se puede usar un lavador manual o automático. Seguir las instrucciones del fabricante para el uso apropiado. Si se emplea una pizeta, llenar cada pocillo por inclinación del depósito (evitando formar burbujas) para dispensar la solución de lavado. Decantar la sol. De lavado y repetir el procedimiento 4 veces adicionales.
- Agregar 0.100 ml (100 ul) de reactivo de trabajo a todos los pocillos (ver Preparación de reactivos). Siempre agregar los reactivos en el mismo orden para minimizar las diferencias en el tiempo de reacción de cada pocillo.
- Incubar a temperatura ambiente por 5 minutos en oscuridad.
- Leer las unidades relativas de luz en cada pocillo, por lo menos de 0.5 a 1.0 segundos / pocillo, usando un luminómetro de microplacas. Los resultados deberán ser leídos entre los 30 minutos después e agregar la solución de sustrato.

#### CONTROL DE CALIDAD

Cada laboratorio debe tener controles en los niveles en el rango bajo, medio y alto para el seguimiento de los resultados del ensayo. Estos controles deben ser tratados como desconocidos y valores determinados en cada procedimiento de prueba realizada. listas de control de calidad debe mantenerse para seguir el funcionamiento de los reactivos suministrados. Los métodos estadísticos pertinentes deben ser empleados para determinar las tendencias. desviaciones significativas del funcionamiento establecido pueden indicar cambios inadvertidos en condiciones experimentales o la degradación de los reactivos del kit. reactivos frescos deben ser usados para determinar la razón de las variaciones.

#### RESULTADOS:

Se usa una curva de respuesta para determinar la concentración de hormona LH en la muestra del paciente.

- Registrar el URL (Unidad de Luz Relativa) obtenido en el impreso del lector de microplaca como se indica en el ejemplo 1.
- Plotear las URL para cada suero de referencia versus la concentración de LH correspondiente en mUI/ml en un papel lineal gráfico (no promediar los duplicados de los sueros de referencia antes de plotearlos)
- Dibujar la curva que mejor se ajusta a través de los puntos ploteados.
- Para determinar la concentración de la hLH para un desconocido, localice la media RLU de lo desconocido en el eje vertical de la gráfica, encontrar el punto de intersección de la curva, y leer la concentración (en mUI / ml) en el eje horizontal de la gráfica (los duplicados de lo desconocido puede ser un promedio, como se indica). En el siguiente ejemplo, el promedio de RLU's (39442) de la intersección con desconocidos en la curva de calibración (57.5 mUI/ml) la concentración de LH (Ver Figura 1).

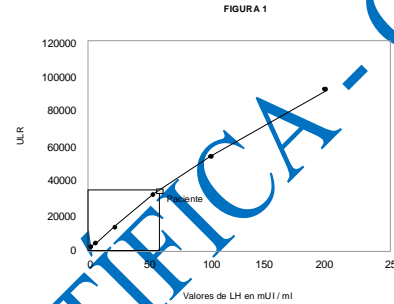
**NOTA 1** El software de reducción de datos de computadora designado para las pruebas de quimioluminiscencia también se puede usar para la reducción de datos. Los duplicados del desconocido deben ser promediados como se indica (ver figura 1)

**NOTA 2** Monobind puede asistir al laboratorio en la compra e implementación de equipo / software para medir e interpretar datos de quimioluminiscencia.

#### EJEMPLO 1

| Sample ID | Well # | URL (A) | URL (B) | Valor (mUI/ml) |
|-----------|--------|---------|---------|----------------|
| Cal A     | A1     | 136     | 133     | 0              |
|           | B1     | 129     |         |                |
| Cal B     | C1     | 2011    | 2035    | 5              |
|           | D1     | 2050    |         |                |
| Cal C     | E1     | 17289   | 17072   | 25             |
|           | F1     | 16855   |         |                |
| Cal D     | G1     | 35680   | 35228   | 50             |
|           | H1     | 35376   |         |                |
| Cal E     | A2     | 58911   | 58986   | 100            |
|           | B2     | 59062   |         |                |
| Cal F     | C2     | 99818   | 100000  | 200            |
|           | D2     | 100182  |         |                |
| Ctrl. 1   | E2     | 403     | 380     | 1.0            |
|           | F2     | 356     |         |                |
| Ctrl. 2   | G2     | 9852    | 9808    | 16.2           |
|           | H2     | 9764    |         |                |
| Patient   | A2     | 38017   | 39442   | 57.5           |
|           | B2     | 40867   |         |                |

Los datos presentados en el Ejemplo 1 y Figura 1 es sólo para ilustración y no debe ser utilizado en lugar de una curva dosis-respuesta preparada con cada ensayo. Además, los RLU de los calibradores han sido normalizados a 100,000 RLU's para el calibrador F (mayor salida de luz). Esta conversión minimiza las diferencias causadas por la eficiencia de los distintos instrumentos que se pueden utilizar para medir la producción de luz



#### PARAMETROS DE CONTROL DE CALIDAD

Para considerar válidos los resultados de los ensayos se deben considerar los siguientes criterios:

- La curva de respuesta debe estar entre los parámetros establecidos.
- Cuatro de seis controles de calidad deben estar dentro de los rangos establecidos

#### ANÁLISIS DE RIESGO

##### A. Performance de la prueba

- Es importante que el tiempo de reacción en cada pozo se mantiene constante para obtener resultados reproducibles.
- Pipeteo de muestras no debe extenderse más allá de diez (10) minutos para evitar la deriva del análisis.
- altamente lipémicas, hemolizadas o muy contaminación de la muestra (s) no debe utilizarse.
- Si más de un (1) placa se utiliza, se recomienda repetir la curva dosis-respuesta.
- La adición de reactivos de la señal inicia una reacción cinética, por lo tanto el reactivo de la señal (s) se debe agregar en la misma secuencia para eliminar cualquier desviación de tiempo durante la reacción.
- Si no se retira la solución adecuadamente en la aspiración o la decantación (s) puede dar lugar a la réplica pobre ya resultados falsos.
- Utilizar los componentes del mismo lote. No

mezcle los reactivos de diferentes lotes.

- Precisa y una dosificación precisa, así como después de la hora exacta y los requisitos de temperatura prescrita son esenciales. Cualquier desviación de las instrucciones de uso Monobind los resultados pueden ser inexactos.
- Todas las normas nacionales aplicables, reglamentos y leyes, incluyendo pero no limitado a, los procedimientos de laboratorio adecuadas, deben ser estrictamente seguidas para asegurar el cumplimiento y el uso adecuado del dispositivo.
- Es importante para calibrar todo el equipo por ejemplo, Pipetas, lectores, lavadoras y / o los instrumentos automatizados utilizados con este dispositivo, y para realizar el mantenimiento preventivo de rutina.
- Análisis de riesgos-como exige el marcado CE IVD Directiva 98/79/CE - para este y otros dispositivos, mediante Monobind, se puede solicitar a través de correo electrónico de Monobind@monobind.com..

#### B. Interpretación

- Los resultados de laboratorio sólo son sólo un aspecto para la determinación de la atención al paciente y no debe ser la única base para la terapia, particularmente si el conflicto resultados con otros determinantes.
- Para los resultados de pruebas válidas, los controles adecuados y otros parámetros deben estar dentro de los rangos de la lista y los requisitos de ensayo.
- Si los estuches de pruebas se alteran, por ejemplo, partes de mezcla de diferentes kits, lo que podría producir resultados falsos de las pruebas, o si los resultados son mal interpretados, Monobind no tendrá ninguna responsabilidad.
- Si la reducción de datos de la computadora controlada se utiliza para interpretar los resultados de la prueba, es imperativo que los valores previstos para los calibradores comprendidos dentro del 10% de las concentraciones asignadas.
- LH es suprimida por los estrógenos en la mujer, sino que toman anticonceptivos orales el nivel puede ser bajo o normal. una dieta excesiva y pérdida de peso puede conducir a concentraciones bajas de gonadotropinas.
- hormona luteinizante depende de diversos factores distintos de la homeostasis de la hipófisis. Por lo tanto, la determinación por sí sola no es suficiente para evaluar el estado clínico.

#### RANGO DE VALORES ESPERADO

Un estudio de una población adulta normal aparente se llevó a cabo para determinar los valores esperados para la prueba de FSH AccuLite microplaca™ CLIA. Los valores esperados se presentan en la Tabla

**TABLA I**  
**Los valores esperados para la CLIA AccuLite™**  
**FSH**  
**(En mUI / ml (2nd IRP 78/549)**  
**Mujeres**

|                  |      |      |
|------------------|------|------|
| Fase folicular:  | 0.5  | 10.5 |
| Ciclo medio:     | 18.4 | 61.2 |
| Fase luteal:     | 0.5  | 10.5 |
| Postmenopausico: | 8.2  | 40.8 |

**Hombres**

0.7      7.4

Es importante tener en cuenta que el establecimiento de rangos de valores los cuales pueden ser esperados por un método determinado para una población de "personas normales" depende de una multiplicidad de factores : la especificidad del método ,la población examinada y la precisión del método en las manos del analista. Por estas razones cada laboratorio debe establecer sus propios rangos de valores esperados.

**CARACTERISTICAS DE PERFORMANCE**

**A. Precisión:**

La precisión de las pruebas de PSAt Monobind Acculite CLIA fueron determinados por análisis en tres diferentes niveles de control de suero. El número, valor medio, desviación estandar y coeficiente de variación de cada uno de estos controles de suero se presentan en las tabla 2 y tabla 3.

**TABLA 2**

**Prueba de precisión interno( mUI/ml)**

| Muestra | N  | X    | S.D. | C.V. |
|---------|----|------|------|------|
| Nivel 1 | 20 | 1.0  | 0.08 | 8.0% |
| Nivel 2 | 20 | 25.7 | 1.67 | 6.5% |
| Nivel 3 | 20 | 63.5 | 2.55 | 4.0% |

**TABLA 3**

**Prueba de precisión externo (mUI/ml)**

| Muestra | N  | X    | S.D. | C.V. |
|---------|----|------|------|------|
| Nivel 1 | 10 | 4.5  | 0.35 | 7.7% |
| Nivel 2 | 10 | 13.3 | 1.0  | 7.5% |
| Nivel 3 | 10 | 52.3 | 4.5  | 8.6% |

\* Medido en 10 experimentos por duplicado.

**B. Exactitud:**

La LH AccuLite™ CLIA fue comparado con un inmunoensayo enzimático de referencia. Las muestras biológicas de poblaciones normales y las mujeres

embarazadas fueron analizadas. El número total de dichos especímenes fue de 80. La ecuación de regresión del cuadrado y el coeficiente de correlación se calcularon para este método en comparación con el método de referencia. Los datos obtenidos se muestran en la Tabla 4.

**TABLA 4**  
**Análisis de regresión cuadrada**

| Método          | Media | Coef. Co. |
|-----------------|-------|-----------|
| Este método (X) | 13.1  | 0.991     |
| Referencia (Y)  | 13.8  |           |

$Y = 0.081 + 0.975 (x)$

Sólo cantidades ligero sesgo entre este procedimiento y el método de referencia se indican por la cercanía de los valores medios. La ecuación de regresión del cuadrado y el coeficiente de correlación indica el acuerdo excelente método.

**C. Sensibilidad**

La sensibilidad (límite de detección) fue comprobada por la determinación de la variabilidad de los 0 mUI / ml de suero calibrador y el uso de la 2σ (95% de certeza) estadística para el cálculo de la dosis mínima. Se determinó que se 0.8 mIU/ml.

**D. Especificidad**

La reactividad cruzada de la LH AccuLite™ CLIA a las sustancias seleccionadas se evaluó mediante la adición de la sustancia que interfería a una matriz de suero en varias concentraciones. La reactividad cruzada fue calculada derivando un cociente entre la dosis de la sustancia interfiere con la dosis de hormona luteinizante necesaria para producir la intensidad de la luz misma

**REFERENCIAS:**

1. Kosasa TS, "Medición de la hormona luteinizante humana, Revista de Medicina Reproductiva, 26, 201-6. (1981)
2. Danzer H, Braunstein GD, et al. "Suero materno Humanos concentraciones coriónica gonadotropinas y predicciones sexo del feto, la fertilidad y STERILIT, 34, 336-40. (1980)
3. Braunstein GD, et al. "Suero humano a través de los niveles de hormona luteinizante normal del embarazo", American Journal of Obstetrics and Gynecology, 126, 678-81. (1976)
4. DP Goldstein, y el TS Kosasa, "La Subunidad Radioinmunoanálisis para la aplicación clínica de LH", Ginecología, 6, 145-84. (1975)
5. Batzer F., "Evaluación hormonal del embarazo precoz", Fertilidad y Esterilidad 34, 1-12. (1980)

6. Braunstein, GD, et al. "Primer trimestre la hormona luteinizante medidas como una ayuda para el diagnóstico de los trastornos del embarazo precoz", Revista Americana de Obstetricia y Ginecología 131, 25-32. (1978)
7. Lenton E., L. y R. Neal Sulaimán, "plasma las concentraciones de gonadotropina desde el momento de la implantación hasta la segunda semana de embarazo", Fertilidad y Esterilidad 37, 773-78. (1982)

Versión: 2 Fecha: 112.210 ACA: 0383 Gato # 675-300

**INSTRUMENTOS Y APLICACIONES**

Los inmunoensayos de Monobind son productos diseñados para trabajar en ambos ambientes de laboratorio Manual y Automatizado. AccuBind y AccuLite son compatibles con cualquier equipo abierto incluyendo analizadores químicos, lectores y lavadores de microplaca. Podemos tener la aplicación desarrollada para su equipo en particular, visite nuestra página en Internet.

Monobind ofrece varios instrumentos el Impuls 2 Luminómetro CLIA Lector de placa, diseñado mano a mano con nuestros productos y capacidad de 2 puntos de calibración. Visite nuestro sitio en Internet para mayor información.



Tel 949-951-2665  
 Fax: 949-951-3539  
 Email: info@monobind.com  
 En la web: www.monobind.com

