

LH

Luteinizing Hormone (CLIA)

Order information

Catalog No.	Package Size
LH111	2×50 tests
LH112	2×100 tests
LH113	2×30 tests

Intended Use

The CL-series LH assay is a Chemiluminescent Immunoassay (CLIA) for the quantitative determination of luteinizing hormone (LH) in human serum or plasma.

Summary

Human luteinizing hormone (hLH) is a glycoprotein consisting of two subunits (α - and β -chains), with 219 amino acids in total.^{1,2} Besides of pituitary, there are LH-like materials in rat hypothalamus, which exert a negative feedback on the release of LH. There are also materials similar with HCG-LH in 6~8d rabbit blastocyst and 18d cattle conceptus, which stimulate corpus luteum cells to synthesize progesterone.³ The α -subunit of LH is essentially identical to the α -subunits of follicle stimulating hormone (FSH, follitropin), thyroid stimulating hormone (TSH, thyrotropin), and human chorionic gonadotropin (HCG) in molecular structure. The β -subunit is considerably different from that of FSH and TSH. However, the β -subunits of LH and HCG are similar. The different β -subunits determine their immune and physiological specificities.⁴ LH, together with FSH, is secreted by the gonadotroph cells in the pituitary in response to the secretion of the gonadotropin releasing hormone (GnRH) from the medial basal hypothalamus.^{3,5}

LH and FSH regulate and stimulate the growth and function of the gonads (ovaries and testes) synergistically. LH regulate the menstrual cycle in females with FSH synergistically, causing the release of ovum and the formation of corpus luteum, which secretes progesterone and estradiol. The biosynthesis of LH was controlled by the hypothalamus gonadotropin releasing hormone (GnRH). Meanwhile, the ovarian steroids, exert an either a positive or negative feedback on the release of LH. The determination of LH in conjunction with FSH is utilized for clarifying the causes of amenorrhea (primary amenorrhea or secondary amenorrhea) in women and clarifying the causes of testicular failure in men. The surge of LH has a compact relation with the ovulation in menstrual cycle. The Ovulation is always occurred in 24~36 hours after the surge of LH. So the determination and monitoring of the concentration of serum LH in menstrual cycle can define the optimal period of fertility. Series detections of LH for 6-8 days in mid-cycle of women with regular menstrual cycles can make out the release surge. Determination of LH is useful in the diagnosis and treatment of

infertility and pituitary and gonadal disorders.⁶

Assay Principle

The CL-series LH assay is a two-site sandwich assay to determine the level of LH.

In the first step, sample and paramagnetic microparticles coated with mouse monoclonal anti-LH antibody are added into a reaction vessel. After incubation, LH present in the sample binds to the mouse monoclonal anti-LH antibody coated microparticles. Microparticles are magnetically captured while other unbound substances are removed by washing.

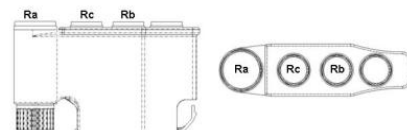
In the second step, mouse monoclonal anti-LH antibody alkaline phosphatase labeled conjugate was added to the reaction vessel. The mouse monoclonal anti-LH antibody alkaline phosphatase labeled conjugate binds to another reaction site of the LH that has bound to the paramagnetic microparticles coated with LH antibody to form a sandwich complex. Microparticles are magnetically captured while other unbound substances are removed by washing.

In the third step, the substrate solution is added to the reaction vessel. It is catalyzed by mouse monoclonal anti-LH antibody-alkaline phosphatase conjugate in the immunocomplex retained on the microparticle. The resulting chemiluminescent reaction is measured as relative light units (RLUs) by a photomultiplier built into the system. The amount of LH present in the sample is proportional to relative light units (RLUs) generated during the reaction. The LH concentration can be determined via a calibration curve.

Reagent Components

Ra	Paramagnetic microparticles coated with monoclonal anti-LH antibody (mouse) in TRIS buffer with preservative
Rb	Monoclonal anti-LH antibody (mouse)-alkaline phosphatase conjugate in MES buffer with preservative.
Rc	MES Buffer with preservative.

The position of each reagent component is shown in the figure below (front view on the left



and top view on the right):

Storage and Stability

The unopened LH (CLIA) reagent kit is stable up to the stated expiration date when stored at 2-8°C.

The LH (CLIA) reagent kit can be stored onboard and used for a maximum of 28 days after opening at 2-8°C.

Reagent Preparation

Ra: Ready to use

Rb: Ready to use

Rc: Ready to use

Materials Required But Not Provided

Mindray CL-series Chemiluminescence Immunoassay Analyzer

Cat.No.LH211: Mindray LH Calibrators, 1×2.0 mL for each of calibrator C0, C1 and C2.

Cat.No.LH212: Mindray LH Calibrators, 1×1.2 mL C0, 1×1.0 mL C1 and 1×1.0 mL C2.

Cat.No.RHL311: Mindray Reproductive Multi Control (L), 6×5.0 mL.

Cat.No.RHH311: Mindray Reproductive Multi Control (H), 6×5.0 mL.

Cat.No.RHL312: Mindray Reproductive Multi Control (L), 12×5.0 mL.

Cat.No.RHH312: Mindray Reproductive Multi Control (H), 12×5.0 mL

Cat.No.RHL313: Mindray Reproductive Multi Control (L), 1×5.0 mL.

Cat.No.RHH313: Mindray Reproductive Multi Control (H), 1×5.0 mL.

Cat.No.RHL314: Mindray Reproductive Multi Control (L), 3×5.0 mL.

Cat.No.RHH314: Mindray Reproductive Multi Control (H), 3×5.0 mL

Cat.No.WB411: Mindray Wash Buffer, 1×10 L.

Cat.No.CS511: Mindray Substrate Solution, 4×115 mL.

Cat.No.CS512: Mindray Substrate Solution, 4×75 mL.

Mindray Reaction Vessels.

Applicable Instrument

Mindray CL-series Chemiluminescence Immunoassay Analyzer

Specimen Collection and Preparation

Human serum or plasma collected in EDTA, sodium heparin and lithium heparin are recommended for this assay.

Centrifuge the specimens after clot formation is complete. Transfer the supernatants into tubes for storage or test within two hours after centrifugation.

Specimens should be tested as soon as possible after sample collection. If testing is not completed within 8 hours, specimens should be tightly capped and refrigerated at 2-8°C. If testing will be delayed for more than 72 hours, specimens should be frozen at -20°C or below.

Avoid repeated freeze and thaw cycles.

Assay Procedure

For optimal performance of this assay, operators should read the related system operation manual carefully, to get sufficient information such as operation instructions, sample preservation and management, safety precaution, and maintenance. Prepare all

required materials for the assay as well.

Before loading the LH (CLIA) reagent kit on the machine for the first time, unopened reagent bottle should be inverted gently for at least 30 times to resuspend the microparticles that have settled during shipment or storage. Visually inspect the bottle to ensure the microparticles have been resuspended. If the microparticles remain adhered to the bottle, continue inverting until the microparticles have been completely resuspended. If the microparticles cannot be resuspended, it is recommended not to use this bottle of reagent. Contact Mindray Customer Service for help. Do not invert opened reagent bottle.

This assay requires 15 μ L of sample for a single test. This volume does not include the dead volume of the sample container. Additional volume is required when performing additional tests from the same sample. Operators should refer to the system operation manual and specific requirement of the assay to determine the minimum sample volume.

Calibration

CL-series LH (CLIA) has been standardized against the WHO International Standard Luteinizing Hormone, Human, Pituitary (NIBSC code: 80/552).

The specific information of master calibration curve of LH (CLIA) reagent kit is stored in the two-dimensional barcode attached in the reagent pack. It's used together with calibrators for the calibration of the specific reagent lot. When performing the calibration, scan the information of master calibration curve from the barcode into the system first, and then use the calibrators at three levels. Valid calibration curve is required before any LH test. Recalibration is recommended every 4 weeks, or when a new reagent lot is used, or the quality controls are out of specified range. For detailed instruction of calibration, refer to the system operation manual.

Quality control

It is recommended that quality controls should be run once every 24 hours if the tests are in use, or after every calibration. The quality control frequency should be adapted to each laboratory's individual requirements. The recommended two levels of quality controls for this assay are Mindray Reproductive Multi Control (L) and Reproductive Multi Control (H).

Quality control results should be within the acceptable ranges. If a control is out of its specified range, the associated test results are invalid and the samples must be retested. Recalibration may be required. Examine the assay system referring to the system operation manual. If the quality control results are still out of the specified range, please contact Mindray Customer Service for help.

Calculation

The analyzer automatically calculates the analyte concentration of each sample on the

master calibration curve read from the barcode, and a 4-Parameter Logistic Curve Fitting (4PLC) with the relative light units (RLUs) generated from three level calibrators of defined concentration values. The results are shown in the unit of mIU/mL.

Conversion factors: mIU/mL x 1 = IU/L

Dilution

Samples with LH concentrations above the upper limit can be diluted with Mindray Sample Diluent. The recommended dilution is 1:4 (either automatically by the analyzer or manually). The concentration of the diluted sample must be > 2 mIU/mL. After manual dilution, multiply the result by the dilution factor. After automated dilution by the analyzers, the system automatically multiply the result by the dilution factor when calculating the sample concentration.

Expected values

An extended study on a cohort of 565 healthy individuals (135 males and 430 females) has determined the reference range of CL-series LH assay.

Category		N	5-95 th Percentile
Male		135	1.4-7.7 mIU/mL
Female	follicular phase	125	1.9-11.6 mIU/mL
	ovulation period	43	12.9-105.2 mIU/mL
	luteal phase	128	0.8-10.5 mIU/mL
	post-menopause	134	6.6-66.4 mIU/mL

Due to the variation in geography, race, sex, and age, it is highly recommended that each laboratory should establish its own reference range.

Limitation

The upper limit of this assay is 250 mIU/mL.

A specimen with a LH concentration lower than the upper limit can be quantitatively determined, while specimen with a concentration higher than the upper limit will be reported as >250 mIU/mL or diluting the samples with Mindray Sample Diluent.

The concentration of LH in a given specimen, determined with assays from different manufacturers, can vary due to differences in assay methods, calibration, and reagent specificity. The assay results should be used in conjunction with other data, such as symptoms, results of other tests, clinical history, etc.

Specimen from individuals who have been exposed to mouse monoclonal antibodies may contain human anti-mouse antibodies (HAMA). Such specimens may show either falsely elevated or depressed values with assay kits employing mouse monoclonal antibodies. However, no obvious interference of HAMA was observed in this assay.

Performance Characteristics

Analytical Sensitivity/Limit of Detection

The LH (CLIA) reagent kit has an analytical

sensitivity of ≤ 0.2 mIU/mL. Analytical sensitivity is defined as the lowest concentration of analyte that can be differentiated from a sample that contains no analyte. It is defined as the LH concentration at two standard deviations above the mean RLU from 20 measurements of an analyte-free sample.

Reportable Range

Reportable range is defined by the analytical sensitivity and the upper limit of the master calibration curve. The reportable range of LH (CLIA) reagent kit is 0.2-250 mIU/mL (or the upper limit is up to 1000 mIU/mL for 4-fold diluted samples).

Specificity

Hemoglobin up to 500 mg/dL, bilirubin up to 10 mg/dL, triglycerides up to 1800 mg/dL, and total protein up to 10.0 g/dL will not interfere with the CL-series LH assay. These substances show less than 10% interferences at indicated concentration.

No obvious interference was observed from rheumatoid factor up to 1500 IU/mL or antinuclear antibody up to 4000 U/L.

No significant cross-reactivity was observed when human chorionic gonadotropin (HCG), follicle stimulating hormone (FSH), and thyroid stimulating hormone (TSH) were added to the LH Calibrator C0, at specific levels indicated in the table below. The results showed no more than 2.0 mIU/mL in the CL-series LH assay at the levels indicated below.

Substance	Interference Substance Concentration
HCG	1000 mIU/mL
FSH	200 mIU/mL
TSH	100 μ IU/mL

Accuracy

A sample of WHO International Standard Luteinizing Hormone, Human, Pituitary (NIBSC code: 80/552) with traceable and defined value was used to verify the accuracy of this assay. The results showed that the relative deviation was less than $\pm 10\%$. The results are listed in the following table.

Sample	Measured LH Value (mIU/mL)	Defined LH Value (mIU/mL)	Relative Deviation
WHO LH	50.32	50.89	-1.13%

Precision

The CL-series LH assay is designed to have a precision of $\leq 10\%$ (within-device CV). Precision was determined by following National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) Protocol EP5-A2. 7 Two levels of quality controls were tested in duplicate in two separate runs per day, for a total of 20 days, using a single lot of reagents and a single calibration curve. The precision data are summarized in the table below.

Sample	Mean LH (mIU/mL)	Within-run CV	Between-run CV	Within-Device CV
--------	------------------	---------------	----------------	------------------

1	10,21	3,29%	7,51%	8,20%
2	50,37	3,56%	5,20%	7,00%

Linearity

A high concentration LH sample (approximately 100 mIU/mL) was mixed with a low concentration sample (< 0.4 mIU/mL) at different ratios, generating a series of dilutions. The LH of each dilution was determined using the Mindray CL-Series LH Assay. Linearity was demonstrated in the range of 0.4 mIU/mL to 100 mIU/mL. The correlation coefficient r is ≥ 0.990 . The linearity data are summarized in the table below.

Concentration (mIU/mL)	1	2	3	4	5	6
Expected LH	0.31	27.38	54.45	81.52	108.59	135.66
Measured LH	0.31	27.64	54.91	82.82	107.68	135.66

Method Comparison

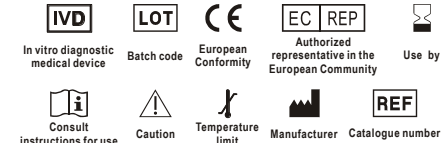
The Mindray CL-Series LH Assay was compared to a commercially available diagnostic kit in a correlation study with about 422 specimens. The statistical data obtained by Deming computing mode are shown in the table below.

Concentration Range (mIU/mL)	Slope	Intercept	Correlation Coefficient
0.15-210.85	1.1719	-0.9300	0.997

Warnings and Precautions

- For in vitro diagnostic use only.
- Follow all the rules in handling laboratory reagents and take necessary safety precautions.
- Due to the differences in methodology and antibody specificity, test results of the same sample may be different when using reagent kits from different manufacturers on Mindray system, or using Mindray reagent kits on other systems.
- Do not use reagent kits beyond the expiration date.
- Do not use reagents mixed from different reagent lots.
- Always keep the reagent pack in the upright position to ensure no microparticle has been lost prior to use.
- Reagent pack opened for more than 28 days is not recommended for use.
- Reliability of assay results cannot be guaranteed if the instructions in this package insert are not followed.
- All the specimen and reaction wastes should be considered potentially biohazard. The handling of specimens and reaction wastes should be in accordance with the local regulations and guidelines.
- The Material Safety Data Sheet (MSDS) is available upon request.

Graphical symbols



References

- Bishop WH, Nureddin A, Ryan RJ. Pituitary Luteinizing and Follicle Stimulating Hormones. In: Parsons 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. In Gonadotropins. Edited by Saxena BB, Gandy HM, Beling CG. 1972; New 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. In: Wilson JD and Foster DW, editors. 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.

© 2013 Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

All rights Reserved

Manufacturer: Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

Address: Mindray Building, Keji 12th Road South, Hi-tech Industrial Park, Nanshan, Shenzhen, 518057 P.R.China

E-mail Address: service@mindray.com

Website: www.mindray.com

Tel: +86-755-26582888

Fax: +86-755-26582680

EC-Representative: Shanghai International Holding Corp. GmbH(Europe)

Address: Eiffestraße 80, Hamburg 20537, Germany

Tel: 0049-40-2513175

Fax: 0049-40-255726

ЛГ

Лютеинизирующий гормон(ХЛИА)

Информация для заказа

№ по каталогу	Фасовка
LH111	2×50 тестов
LH112	2×100 тестов
LH113	2×30 тестов

Назначение

Анализ ЛГ серии CL является хемилюминесцентным иммунологическим анализом (ХЛИА) для количественного определения лютеинизирующего гормона (ЛГ) в человеческой сыворотке или плазме.

Краткая справка

Человеческий лютеинизирующий гормон (ЛГ) является гликопротеином состоящим из двух субъединиц (α - и β -цепи), суммарно из 219 аминокислот^{1,2}. ЛГ-подобное вещество, которое действует по принципу отрицательной обратной связи на выделение ЛГ, содержится, кроме гипофиза в гипоталамусе крыс. Вещества, сходные с ХГЧ-ЛГ, способные стимулировать клетки желтого тела синтезировать прогестерон также обнаружены у 6–8-дневных бластоцист кроликов и 18-дневных зародышей крупного рогатого скота.³ α -субъединица ЛГ практически идентична α -субъединице фолликулостимулирующего гормона (ФСГ, фолитропин), тиреотропного гормона (ТТГ, тиреотропин) и хорионическому гормону человека (ХГЧ) по молекулярной структуре. β -субъединица значительно отличается от ФСГ и ТСГ. Тем не менее, β -субъединицы ЛГ и ХГЧ являются одинаковыми. Разность β -субъединицы определяет их иммунную и физиологическую специфичность.⁴ ЛГ, совместно с ФСГ, секретируется гонадотропными клетками гипофиза в ответ на секрецию гонадотропного релизинг-гормона (ГРГ) в медиальных и базальных ядрах гипоталамуса.^{3,5}

ЛГ и ФСГ синергично регулируют и стимулируют рост и функционирование гонад (яичников и яичек). ЛГ регулирует менструальный цикл у женщин синергично с ФСГ, вызывает овуляцию и формирование желтого тела, которое секретирует прогестерон и эстрадиол. Биосинтез ЛГ контролируется гипоталамусом посредством гонадотропин релизинг-гормона (ГРГ). Стероиды яичника угнетают или стимулируют выработку ЛГ, действуя по принципу позитивной или негативной обратной связи. Определение ЛГ и ФСГ показано для диагностики причин аменореи (первичная или вторичная аменорея) у женщин и диагностики причин тестикулярной недостаточности у мужчин. Повышение уровня ЛГ связано с овуляцией в течение менструального цикла. Овуляция всегда происходит через 24~36 часа после повышения уровня ЛГ. Поэтому определение и мониторинг концентрации сывороточного ЛГ помогает определить оптимальный период для зачатия. Серийное определение ЛГ в течение 6–8 дней в середине менструального цикла помогает выявить пик концентрации. Определение ЛГ показано для диагностики и лечения бесплодия, а также для выявления заболеваний гипофиза и гонад.⁶

Принципы анализа

Анализ ЛГ серии CL является иммуноферментным двухсайтовым сэндвич-анализом для определения уровня ЛГ.

На первой стадии образец и парамагнитные микрочастицы, покрытые моноклональными мышиными антителами к ЛГ, добавляются в реакционную ячейку. При инкубации, ЛГ, который присутствует в образце, связывается с микрочастицами покрытыми анти-ЛГ-антителами. Микрочастицы захватываются магнитом, в то время как другие несвязанные вещества удаляются промывкой.

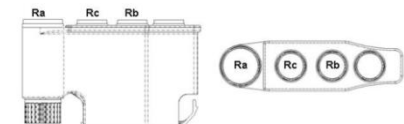
На второй стадии раствор конъюгата мышиных моноклональных анти-ЛГ-антител с щелочной фосфатазой добавляется в реакционную ячейку. Конъюгат мышиных моноклональных анти-ЛГ-антител с щелочной фосфатазой связывается с другим реакционным участком ЛГ, связанного с парамагнитными микрочастицами покрытыми антителами к ЛГ, формируя сэндвич-комплекс. Микрочастицы захватываются магнитом, в то время как несвязанные вещества удаляются промывкой.

На третьей стадии в реакционную ячейку добавляется раствор субстрата. Разложение субстрата катализируется конъюгатом мышиных антител к ЛГ меченых щелочной фосфатазой иммунокомплекса, оставшегося на микрочастицах. Полученная хемилюминесцентная реакция измеряется в относительных световых единицах (ОСЕ) при помощи встроенного в систему фотомножителя. Количество ЛГ в образце пропорционально количеству относительных световых единиц (ОСЕ) образованных в ходе реакции. Концентрация ЛГ определяется по калибровочной кривой.

Компоненты реагента

Ra	Парамагнитные микрочастицы покрытые моноклональными мышиными анти-ЛГ-антителами в ТРИС-буфере с консервантами.
Rb	Моноклональные анти-ЛГ антитела (мышинные) конъюгированные с щелочной фосфатазой в MES буфере с консервантами.
Rc	MES буфер с консервантами.

Расположение каждого компонента реагента показано на рисунке ниже (вид спереди слева и вид сверху справа):



Хранение и устойчивость

Невскрытый набор реактивов ЛГ (ХЛИА) является стабильным до даты окончания срока действия при температуре хранения 2–8 °С.

После вскрытия набора реактивов ЛГ (ХЛИА) он может храниться в холодильнике до истечения 28 дней после вскрытия при температуре 2–8 °С.

Приготовление реагента

Ra: Готов к использованию

Rb: Готов к использованию

Rc: Готов к использованию

Необходимые материалы не входящие в комплект поставки

Анализатор Mindray серии CL для хемилюминесцентного иммунологического анализа

Каталожный номер LH211: Mindray ЛГ калибровочные стандарты, 1×2,0 мл для каждого калибровочного стандарта СО, С1 и С2.

Каталожный номер LH212: Mindray ЛГ калибровочные стандарты, 1×1,2 мл СО, 1×1,0 мл С1 и 1×1,0 мл С2.

Каталожный номер RHL311/RHL312/RHL313/RHL314: Mindray Репродуктивный мультиконтроль (L), 6×5,0 мл/12×5,0 мл/1×5,0 мл/3×5,0 мл.

Каталожный номер RHN311/RHN312/RHN313/RHN314: Mindray Репродуктивный мультиконтроль (H), 6×5,0 мл/12×5,0 мл/1×5,0 мл/3×5,0 мл.

№ по каталогу WB411: Mindray промывочный буфер, 1×10 л.

Каталожный номер CS511/CS512: Mindray субстратный раствор, 4×115 мл/4×75 мл. Mindray реакционные ячейки.

Используемая аппаратура

Анализатор Mindray серии CL для хемилюминесцентного иммунологического анализа.

Сбор и подготовка образцов.

Для данного теста используется сыворотка или плазма крови человека с ЭДТА, гепарином натрия или гепарином лития.

Сыворотку следует центрифугировать после завершения процесса образования густка. Анализ должен быть проведен как можно скорее после подготовки проб. Храните сыворотку, отделив её от густка, или проведите анализ в течение двух часов после центрифугирования.

Если анализ не проведен в течение 8 часов, образцы должны быть плотно закупорены с последующим хранением в холодильнике при температуре 2–8 °С. Если анализ не проведен в течение 72 часов, образцы должны быть заморожены при температуре -20 °С или ниже.

Повторное размораживание и замораживание образцов не допускается.

Методика выполнения анализа

Для качественного выполнения анализа, пользователь должен внимательно ознакомиться с руководством пользователя системы, а также с инструкциями пользователя, инструкциями по подготовке и хранению образцов, инструкциями по технике безопасности и обслуживанию устройства. Также необходимо приготовить все материалы для проведения исследования.

Перед загрузкой в анализатор набора реагентов ЛГ (ХЛИА) закрытые флаконы с реагентом следует осторожно перевернуть не менее 30 раз для размешивания микрочастиц, осевших в течение транспортировки или хранения. Визуально осмотрите нижнюю часть флакона, чтобы убедиться, что микрочастицы ресуспендированы. Если микрочастицы остаются на стенках флакона, следует продолжить переворачивать флакон до получения однородного реагента. Если микрочастицы не могут быть ресуспендированы, рекомендуется не использовать данный флакон реагента. За помощью обращайтесь в отдел обслуживания

клиентов Mindray. Не переворачивайте открытые флаконы с реагентами.

Для проведения исследования требуется 15 мл образца на каждый тест. Данный объем не включает мертвое пространство контейнера с образцом. Для проведения других тестов потребуются дополнительные объемы образца. Для определения минимального объема образца рекомендуется ознакомиться с руководством пользователя системы и особыми требованиями к анализу.

Калибровка

Тест ЛГ (ХЛИА) серии CL стандартизирован по международному стандарту ВОЗ человеческого лютеинизирующего гормона гипофиза (код NIBSC: 80/552).

Калибровочная кривая набора реагентов ЛГ (ХЛИА) закодирована в двухмерном штрих-коде на упаковке реагента. Она используется совместно с калибраторами для калибровки конкретной партии реактивов. При выполнении калибровки вначале отсканируйте информацию о калибровочной кривой со штрих-кода, а затем используйте три уровня калибратора. Правильная калибровочная кривая необходима перед проведением каждого исследования ЛГ. Повторную калибровку рекомендуется проводить каждые 4 недели, для каждой новой партии реактивов, а также, если результат контроля качества находится вне допустимого диапазона. Подробные инструкции по калибровке изложены в руководстве пользователя анализатора.

Контроль качества

Рекомендуется выполнять процедуру контроля качества не реже одного раза в сутки в случае выполнения тестов или после каждой калибровки. Частота выполнения процедур контроля качества должна устанавливаться в соответствии с индивидуальными требованиями каждой лаборатории. Для контроля качества данной системы используется контрольный материал Mindray двух уровней: репродуктивный мультиконтроль (L) и репродуктивный мультиконтроль (H).

Результаты контроля качества должны находиться в пределах допустимых значений. Если показатели контроля качества выходят за рамки допустимых значений, результаты тестов считаются недостоверными. Необходимо устранить причину погрешности и повторить тестирование всей недостоверной серии измерений. Возможно, придется провести калибровку заново. Проверьте систему в соответствии с указаниями в руководстве пользователя. Если результаты контроля качества по-прежнему выходят за пределы указанного диапазона, обратитесь за помощью в службу поддержки клиентов Mindray.

Вычисления

Анализатор автоматически вычисляет концентрацию аналита в каждом образце на основании заводской калибровки, считанной с штрих-кода, и 4-параметровой логарифмической кривой со значениями относительных световых единиц, полученными для трех уровней калибраторов с установленными значениями концентрации. Единицей измерения является мМЕ/мл.

Коэффициенты преобразования:

мМЕ/мл x 1 = МЕ/л

Разведение

Образцы с концентрацией ЛГ выше верхнего предела можно развести с помощью разбавителя образцов компании Mindray. Рекомендуемая пропорция разведения — 1:4 (разводится вручную или автоматически в анализаторе). Концентрация разведенного образца должна быть >2 мМЕ/мл. После разведения вручную нужно умножить результат на коэффициент разведения. После автоматического разведения в анализаторе результат будет автоматически умножен системой на коэффициент разведения при расчете концентрации образца.

Ожидаемые значения

Референсный диапазон для теста свободный ЛГ серии CL был определен по результатам обследования группы из 565 здоровых людей (135 мужчин и 430 женщин).

Категория		Число	95% диапазон
Мужчины		135	1,4–7,7 мМЕ/мл
Женщины	фолликулярная фаза	125	1,9–11,6 мМЕ/мл
	период овуляции	43	12,9–105,2 мМЕ/мл
	фаза желтого тела	128	0,8–10,5 мМЕ/мл
	пост-менопауза	134	6,6–66,4 мМЕ/мл

Учитывая разницу в географии, национальности, поле и возрасте рекомендуется определять референсный диапазон для каждой лаборатории индивидуально.

Ограничения метода

Верхним пределом измерения для данного метода является 250 мМЕ/мл. Образцы с концентрацией ЛГ ниже верхнего предела могут быть определены количественно, в то время как образцы с концентрацией выше верхнего предела определяются как > 250 мМЕ/мл или разведение образцов с помощью разбавителя образцов компании Mindray.

Концентрация ЛГ в образце, определенная методиками различных производителей может отличаться вследствие разницы методик, калибровки и специфичности реактивов. Результаты измерений должны сопоставляться с другими данными, такими как симптомы, результаты других тестов, клиническими данными и др.

Образцы, полученные у пациентов, которые получали препараты на основе мышинных моноклональных антител, могут содержать человеческие антимышинные антитела (НАМА). В этих образцах могут обнаруживаться ложно увеличенные или ложно сниженные уровни, при использовании наборов реактивов содержащих мышинные моноклональные антитела. Однако, не было обнаружено видимого взаимодействия с человеческими анти-мышинными антителами (НАМА) у данного набора реактивов.

Характеристики**Аналитическая чувствительность/ предел обнаружения**

Аналитическая чувствительность набора

реактивов ЛГ (ХЛИА) составляет $\leq 0,2$ мМЕ/мл. Аналитическая чувствительность определяется как минимальная концентрация анализируемого вещества, которая может выявляться в сравнении с образцом, не содержащим анализируемого вещества. Определяется как концентрация ФСГ соответствующая ОСЕ в двух стандартных отклонениях над средним значением ОСЕ в серии из 20 измерений образца, не содержащего анализируемого вещества.

Диапазон измерения

Диапазон измерения определяется аналитической чувствительностью и верхним пределом заводской калибровочной кривой. Диапазон измерения набора реактивов ЛГ (ХЛИА) составляет 0,2–250 мМЕ/мл (или верхний предел достигает 1000 мМЕ/мл для образцов, разведенных 4 раза).

Специфичность

Гемоглобин до 500 мг/дл, билирубин до 10 мг/дл, триглицериды до 1800 мг/дл и общий белок до 10,0 г/дл не влияют на результаты анализа ЛГ серии CL. При наличии этих веществ в указанных концентрациях, интерференция составила менее 10%.

Также не было выявлено значимой интерференции при концентрации ревматоидного фактора до 1500 МЕ/мл и антикулаевых антител в концентрации до 4000 Ед/л.

Для проверки перекрестной реактивности к калибратору СО ЛГ Mindray добавлялись потенциально перекрестно реагирующие вещества, такие как хорионический гонадотропин человека (ХГЧ), фолликулостимулирующий гормон (ФСГ) и тиреотропный гормон (ТТГ) в концентрациях, указанных в таблице ниже. Перекрестной реакции не отмечалось при результатах $\leq 2,0$ мМЕ/мл при использовании анализа ЛГ серии CL.

Вещество	Концентрация
ХГЧ	1000 мМЕ/мл
ФСГ	200 мМЕ/мл
ТТГ	100 мкМЕ/мл

Правильность результатов

Для проверки правильности использовался референсный материал человеческого лютеинизирующего гормона (ЛГ) гипофиза ВОЗ (код NIBSC: 80/552). Относительное отклонение составило менее ± 10 %. Результаты представлены в таблице ниже.

Проба	Измеренное значение ЛГ Значение (мМЕ/мл)	Установленное значение ЛГ Значение (мМЕ/мл)	Относительное Птклонение
ЛГ ВОЗ	50,32	50,89	-1,13 %

Воспроизводимость

Погрешность анализа серии CL составляет ≤ 10 % (коэффициент вариации для одного анализатора). Воспроизводимость определялась в соответствии с Протоколом Национального комитета клинических и лабораторных стандартов (NCCLS) EP5-A27. Два уровня контрольного материала анализировались по две серии в два повтора ежедневно, всего в течение 20 дней, с использованием одной партии

реагентов и одной калибровочной кривой. Значения погрешности приведены в таблице ниже.

Образец	Среднее значение ЛГ (мМЕ/мл)	Внутрисерийный Коэффициент вариации	Межсерийный Коэффициент вариации	Коэффициент вариации для одного анализа тора
1	10,21	3,29%	7,51%	8,20%
2	50,37	3,56%	5,20%	7,00%

Линейность

Образец с высокой концентрацией ЛГ (примерно 100 мМЕ/мл) был смешан с образцом с низкой концентрацией ЛГ (< 0,4 мМЕ/мл) в различных пропорциях, в серии разведений. Концентрация ЛГ в каждом разведении определялась с использованием анализа ЛГ Mindray серии CL. Диапазон линейности составил от 0,4 мМЕ/мл до 100 мМЕ/мл, коэффициент корреляции r составляет $\geq 0,9900$. Значения линейности приведены в таблице ниже.

Концентрация (мМЕ/мл)	1	2	3	4	5	6
Ожидаемое значение ЛГ	0,31	27,38	54,45	81,52	108,59	135,66
Измеренное значение ЛГ	0,31	27,64	54,91	82,82	107,68	135,66

Сравнение методов

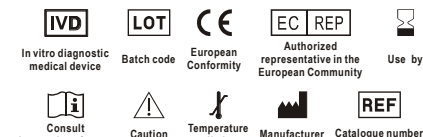
Тест ЛГ серии CL Mindray сравнивался с имеющимися на рынке диагностическим набором в корреляционном анализе с использованием около 422 образцов. Статистические данные регрессии Деминга представлены в таблице ниже.

Диапазон концентрации (мМЕ/мл)	Наклон	Смещение	Коэффициент корреляции
0,15–210,85	1,1719	-0,9300	0,997

Предупреждения и меры предосторожности

- Только для диагностики in vitro.
- Соблюдайте правила обращения с лабораторными реактивами и правила техники безопасности.
- Результаты тестов могут различаться в соответствии с разностью применяемых методик и специфичностью антител, также результаты тестов могут различаться при использовании диагностических реактивов других производителей при использовании диагностических устройств Mindray, или использовании диагностических наборов Mindray в других диагностических устройствах.
- Не используйте наборы реагентов после окончания срока годности.
- Не смешивайте реактивы из разных партий реактивов.
- Упаковка с реактивами должна храниться в вертикальном положении, чтобы предотвратить потерю микрочастиц.
- Не рекомендуется использовать упаковку реактивов, вскрытую более 28 суток назад.
- Не гарантируется точность результатов при несоблюдении инструкции по использованию.

- Все образцы и отходы при реакциях должны считаться материалами, представляющими потенциальную биологическую опасность. Обращаться с образцами и отходами при реакциях следует в соответствии с местными нормами и руководствами.
- Паспорт безопасной эксплуатации материалов (MSDS) предоставляются по запросу.

Графические символы**Список литературы**

- Bishop WH, Nureddin A, Ryan RJ. Pituitary Luteinizing and Follicle Stimulating Hormones. In: 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. In: Gonadotropins. Edited by Saxena BB, Gandy HM, Beling CG. 1972; New 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. In: Wilson JD and Foster DW, editors. 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.

© 2013 Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

Изготовитель: Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

Адрес: Mindray Building, Keji 12th Road South, Hi-tech Industrial Park, Nanshan, Shenzhen, 518057 P.R.China

Адрес электронной почты: service@mindray.com

Веб-сайт: www.mindray.com

Тел: +86-755-26582888

Факс: +86-755-26582680

Представитель в ЕС: Shanghai International Holding Corp. GmbH (Europe)

Адрес: Eiffestraße 80, Hamburg 20537, Germany (Гамбург, Германия)

Тел: 0049-40-2513175

Факс: 0049-40-255726

LH

Hormônio luteinizante (CLIA)

Informações do pedido

Número do catálogo	Tamanho da embalagem
LH111	Testes 2x50
LH112	Testes 2x100
LH113	Testes 2x30

Uso pretendido

O ensaio LH da série CL é um Imunoensaio quimioluminescente (CLIA) para determinação quantitativa de hormônio luteinizante (LH) em soro humano ou plasma.

Resumo

O hormônio luteinizante humano (hLH) é uma glicoproteína composta por duas subunidades (cadeias α e β), com 219 aminoácidos no total.^{1,2} Além da pituitária, existem materiais semelhantes ao LH no hipotálamo de ratos que exercem um feedback negativo sobre a liberação de LH. Há também materiais similares ao HCG-LH no blastocisto 6~8d do coelho e no conceito 18d do gado que estimulam as células do corpo lúteo a sintetizar progesterona.³ A subunidade α do LH é essencialmente idêntica à subunidade α do hormônio folículo estimulante (FSH, folitropina), hormônio estimulante da tireoide (TSH, tirotrófina), e gonadotropina coriônica humana (HCG) na estrutura molecular. O subunidade β é consideravelmente diferente do FSH e TSH. No entanto, as subunidades β do LH e HCG são semelhantes. As diferentes subunidades β determinam suas especificidades imunológica e fisiológica.⁴ O LH, em conjunto com o FSH, é secretado pelas células gonadotróficas na pituitária em resposta à secreção do hormônio liberador de gonadotropina (GnRH) a partir do hipotálamo medial basal.^{3,5}

O LH e o FSH regulam e estimulam o crescimento e a função das gônadas (ovários e testículos) sinergicamente. O LH regula o ciclo menstrual em mulheres com o FSH sinergicamente, causando a liberação do óvulo e a formação do corpo lúteo, que secreta progesterona e estradiol. A biossíntese do LH é controlada pelo hormônio liberador de gonadotropina no hipotálamo (GnRH). Enquanto isso, os esteróides ovarianos, exercem um feedback positivo ou negativo sobre a liberação de LH. A determinação do LH em conjunto com o FSH é utilizada para esclarecer as causas da amenorréia (amenorréia primária ou amenorréia secundária) em mulheres e esclarecer as causas da falha testicular em homens. A onda de LH tem uma relação compacta com a ovulação no ciclo menstrual. A ovulação sempre ocorre em 24~36 horas após a onda de LH. Assim, a determinação e monitorização da concentração de LH no soro no ciclo menstrual pode definir o período ideal de fertilidade. Detecções em série de LH por 6-8 dias no meio do ciclo de mulheres com

ciclos menstruais regulares podem provocar a onda de liberação. A determinação de LH é útil no diagnóstico e no tratamento de infertilidade e da pituitária e de distúrbios gonadais.⁶

Princípio do ensaio

O ensaio de LH da série CL é um ensaio sanduíche de dois locais para determinar o nível de LH.

No primeiro passo, a amostra, as micropartículas paramagnéticas revestidas com anticorpo monoclonal anti-LH são adicionadas em um recipiente de reação. Após a incubação, o LH presente na amostra liga-se às micropartículas revestidas de anticorpos anti-LH monoclonais do rato. As micropartículas são fixadas magneticamente enquanto outras substâncias não ligadas são removidas por lavagem.

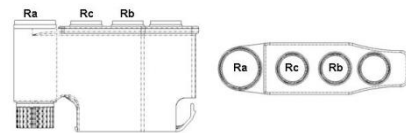
No segundo passo, a fosfatase alcalina de anticorpo monoclonal de rato anti-LH conjugado marcado foi adicionado ao recipiente de reação. A fosfatase alcalina de anticorpo monoclonal de rato anti-LH conjugado marcado liga-se a um outro local da reação do LH que se tenha ligado às micropartículas paramagnéticas revestidas com anticorpos LH de modo a formar um complexo de sanduíche. As micropartículas são fixadas magneticamente enquanto outras substâncias não ligadas são removidas por lavagem.

No terceiro passo, a solução de substrato é adicionada ao recipiente de reação. Ela é catalisada por anticorpo anti-LH do rato conjugado de fosfatase alcalina no imunocomplexo retido na micropartícula. A reação de quimioluminescência resultante é medida como unidades relativas de luz (RLU) por um fotomultiplicador incorporado no sistema. A quantidade de LH presente na amostra é proporcional às unidades relativas de luz (RLUs) geradas durante a reação. A concentração de LH pode ser determinada através de uma curva de calibração.

Componentes do reagente

Ra	micropartícula paramagnética revestida com anticorpo monoclonal anti-LH (rato) em tampão de TRIS com conservante.
Rb	Monoclonal anti-LH anticorpo (rato)-alcalina conjugado em tampão de MES com conservantes.
Rc	Tampão de MES com conservante.

A posição de cada componente do reagente é mostrada na figura anexo (vista frontal à esquerda e vista de cima à direita):



Armazenamento e estabilidade

O kit de reagentes de LH fechado (CLIA) é estável até a data de validade indicada, quando armazenados a 2-8°C.

O kit de reagentes de LH (CLIA) pode ser armazenado em uso e utilizado por no máximo 28 dias após a abertura a 2-8°C.

Preparação do reagente

Ra: Pronto para usar

Rb: Pronto para usar

Rc: Pronto para usar

Materiais necessários, mas não fornecidos

Analizador de Imunoensaio por Quimioluminescência Série CL Mindray N.º do cat. LH211: Calibradores de LH Mindray, 1x2,0 mL para cada calibrador C0, C1 e C2.

N.º do cat. LH212: Calibradores de LH Mindray, 1x1,2 mL C0, 1x1,0 mL C1 e 1x1,0 mL C2.

N.º do cat. RHL311/RHL312: Multicontrol Reprodutivo Mindray (L), 6x5,0 mL/12x5,0 mL.

N.º do cat. RHH311/RHH312: Multicontrol Reprodutivo Mindray (H), 6x5,0 mL/12x5,0 mL.

N.º do cat. RHL313/RHL314: Multicontrol Reprodutivo Mindray (L), 1x5,0 mL/3x5,0 mL.

N.º do cat. RHH313/RHH314: Multicontrol Reprodutivo Mindray (H), 1x5,0 mL/3x5,0 mL.

N.º do cat. WB411: Tampão de Lavagem Mindray, 1x10 L.

N.º do cat. CS511/CS512: Solução de Substrato Mindray, 4 x 115 mL/4 x 75 mL.

Recipientes de Reação Mindray

Instrumento aplicável

Analizador de Imunoensaio de Quimioluminescência Mindray Série CL.

Coleta e Preparação do Espécime

O soro ou plasma humano colhido em EDTA, heparina lítica ou sódica são recomendados para este ensaio.

Centrifugue as amostras após a formação do coágulo ser finalizada. Transfira os sobrenadantes para dentro de tubos para armazenamento ou teste dentro de duas horas após a centrifugação. As amostras devem ser testadas o mais rápido possível após sua coleta. Se o teste não for concluído dentro de 8 horas, as amostras devem ser bem fechada e refrigerada a 2-8°C. Se o teste atrasar mais de 72 horas, as amostras devem ser congeladas a -20°C ou menos.

Evite ciclos de congelamento e descongelamento repetidos.

Procedimento do ensaio

Para um melhor desempenho deste ensaio, os operadores devem ler o manual de operação do sistema relacionado com cuidado, para obter informações suficientes, tais como instruções de operação, manutenção e gerenciamento de amostras, medidas de segurança e manutenção. Prepare todo o material necessário para esse ensaio também.

Antes de carregar o kit de reagentes de LH (CLIA) na máquina pela primeira vez, o frasco de reagente fechado deve ser invertido suavemente por pelo menos 30 vezes para ressuspender as micropartículas que se assentaram durante o transporte ou armazenamento. Inspeção visualmente o frasco para assegurar que as micropartículas

foram novamente suspensas. Se as micropartículas permanecerem aderidas ao frasco, continue invertendo até que as micropartículas sejam completamente ressuspensas. Se as micropartículas não puderem ser novamente suspensas, recomenda-se não usar este frasco de reagente. Entre em contato com o Serviço ao Cliente Mindray. Não inverta o frasco de reagente aberto.

Este ensaio necessita de 15 µL de amostra para um único teste. Esse volume não inclui o volume morto do recipiente da amostra. Volume adicional é necessário para a realização de testes adicionais da mesma amostra. Os operadores devem consultar o manual de operação do sistema e requisitos específicos do ensaio para determinar o volume mínimo da amostra.

Calibração

O LH da série CL (CLIA) foi padronizado em conformidade com o Padrão Internacional da OMS para Hormônio Luteinizante, Humano, Pituitário (código NIBSC: 80/552).

A informação específica de curva de calibração principal do kit de reagentes de LH (CLIA) é armazenada no código de barras bidimensional anexado à embalagem do reagente. É usado em conjunto com os calibradores para a calibração do lote de reagentes específico. Ao realizar a calibração, primeiro digitalize a informação da curva de calibração principal a partir do código de barras no sistema, e, em seguida, use os calibradores em três níveis. Curva de calibração válida é necessária antes de qualquer teste de LH. A recalibração é recomendada a cada quatro semanas, ou quando um novo lote de reagentes for usado, ou quando os controles de qualidade estiverem fora do intervalo especificado. Para instruções detalhadas de calibração, consulte o manual de operações do sistema.

Controle de qualidade

Recomenda-se que os controles de qualidade sejam executados uma vez a cada 24 horas, se os testes estiverem em uso, ou após cada calibração. A frequência de controle de qualidade deve ser adaptada às necessidades individuais de cada laboratório. Os níveis recomendados de controle de qualidade para este ensaio são Multicontrol Reprodutivo Mindray (L) e Multicontrol Reprodutivo Mindray (H).

Os resultados do controle de qualidade devem estar dentro dos intervalos aceitáveis. Se um controle estiver fora de seu intervalo especificado, os resultados do teste associado serão inválidos e as amostras deverão ser testadas novamente. A recalibração pode ser necessária. Examine o sistema de ensaio observando o manual de operação do sistema. Se os resultados do controle de qualidade continuarem fora do intervalo especificado, entre em contato com o Atendimento ao Cliente Mindray para obter ajuda.

Cálculo

O analisador calcula automaticamente a concentração do analito de cada amostra na

curva de calibração principal lida a partir do código de barras, e um Conjunto de Curva Logística de 4 Parâmetros (4PLC) com as unidades relativas de luz (RLUs) geradas a partir dos valores de concentração dos três níveis calibradores definidos. Os resultados são mostrados em mIU/mL.

Fatores de conversão: mIU/mL x 1 = IU/L

Diluição

Amostras com concentrações de LH acima do limite superior podem ser diluídas com o Diluente da Amostra da Mindray. A diluição recomendada é 1:4 (realizada manualmente ou automaticamente pelo analisador). A concentração da amostra diluída deve ser > 2 mIU/mL. Após a diluição manual, multiplique o resultado pelo fator de diluição. Após a diluição automática realizada pelo analisador, o sistema multiplica automaticamente o resultado pelo fator de diluição ao calcular a concentração da amostra.

Valores esperados

Um extenso estudo sobre um corte de 565 indivíduos saudáveis (135 homens e 430 mulheres) determinou o intervalo de referência do ensaio de LH da série CL.

Categoria		N	5-95º percentil
Masculino		135	1,4-7,7 mIU/mL
Feminino	fase folicular	125	1,9-11,6 mIU/mL
	período de ovulação	43	12,9-105,2 mIU/mL
	fase lútea	128	0,8-10,5 mIU/mL
	pós-menopausa	134	6,6-66,4 mIU/mL

Devido à variação de geografia, raça, sexo e idade, é altamente recomendável que cada laboratório estabeleça seu próprio intervalo de referência.

Limitações

O limite superior deste ensaio é 250 mIU/mL. Uma amostra com uma concentração de LH menor do que o limite superior pode ser determinada quantitativamente, enquanto que uma amostra com uma concentração maior do que o limite superior será avaliada como >250 mIU/mL ou diluindo as amostras com o Diluente da Amostra da Mindray. A concentração de LH livre numa dada amostra, determinada com ensaios de diferentes fabricantes, pode variar devido a diferenças nos métodos de ensaio, calibração e especificidade dos reagentes. Os resultados do ensaio devem ser utilizados em conjunto com outros dados, tais como sintomas, resultados de outros testes, história clínica, etc

Espécime de indivíduos que foram expostos a anticorpos monoclonais de camundongo podem conter anticorpos anti-rato humano (HAMA). Estas amostras podem apresentar valores falsamente elevados ou baixos com kits de ensaio empregando anticorpos monoclonais de rato. No entanto, nenhuma interferência óbvia de HAMA foi observada neste ensaio.

Características de desempenho

Sensibilidade analítica/Limite de detecção

O kit reagente de LH (CLIA) tem uma sensibilidade analítica de ≤0,2 mIU/mL. A sensibilidade analítica é definida como a menor concentração de analito que pode ser diferenciado de uma amostra que não contém nenhum analito. É definida como a concentração de LH em dois desvios padrão acima da média de 20 medições de RLU de uma amostra isenta de analito.

Intervalo para relatório

O intervalo para relatório é definido pela sensibilidade analítica e o limite superior da curva de calibração principal. O intervalo para relatório do kit reagente de LH (CLIA) é 0,2-250 mIU/mL (ou se o limite superior estiver acima de 1000 mIU/mL para amostras diluídas 4 vezes).

Especificidade

Hemoglobina até 500 mg/dL, bilirrubina até 10 mg/dL, triglicérides até 1800 mg/dL e proteína total até 10,0 g/dL não vão interferir no ensaio de LH da série CL. Estas substâncias mostraram menos de 10% de interferências na concentração indicada.

Nenhuma interferência óbvia foi observada a partir de fator reumatóide até 1500 UI/mL ou anticorpo antinuclear até 4000 U/L.

Nenhuma reação cruzada significativa foi observada quando gonadotrofina coriônica humana (HCG), hormônio foliculo estimulante (FSH) e hormônio estimulante da tireoide (TSH) foram adicionados ao calibrador de LH CO, em níveis específicos indicados na tabela abaixo. Os resultados mostraram não haver mais do que 2,0 mIU/mL no ensaio de LH da série CL nos níveis indicados abaixo.

Substância	Reagentes cruzados Concentração
HCG	1000 mIU/mL
FSH	200 mIU/mL
TSH	100 µIU/mL

Exatidão

Uma amostra de Hormônio Luteinizante, Humano, Pituitário do Padrão Internacional da OMS (código NIBSC: 80/552) com valor rastreável e definido foi utilizado para verificar a precisão deste ensaio. Os resultados mostraram que o desvio relativo foi inferior a ±10%. Os resultados são mostrados na tabela abaixo

Amostra	LH medido Valor (mIU/mL)	LH definido Valor (mIU/mL)	Relativo Desvio
OMS LH	50,32	50,89	-1,13%

Precisão

O ensaio de LH da série CL é projetado para ter uma precisão de ≤10% (CV no dispositivo). A precisão foi determinada de acordo com o Protocolo EP5-A27 do Comitê Nacional para Padrões de Laboratório Clínico (NCCLS). Dois níveis de controles de qualidade foram testados em duplicado em duas experiências separadas por dia, por um total de 20 dias, utilizando-se um único lote de reagentes e uma única curva

de calibração. Os dados de linearidade estão resumidos na tabela abaixo.

Amostra	LH médio (mIU/mL)	No CV em execuções	Entre CV em execuções	No CV no dispositivo
1	10,21	3,29%	7,51%	8,20%
2	50,37	3,56%	5,20%	7,00%

Linearidade

Uma alta concentração de amostra de LH (aproximadamente 100 mIU/mL) foi misturada com uma amostra de concentração baixa (<0,4 mIU/mL) em diferentes proporções, gerando uma série de diluições. O LH de cada diluição foi determinado utilizando o ensaio de LH da série CL da Mindray. A linearidade foi demonstrada na gama de 0,4 mIU/mL a 100 mIU/mL, o coeficiente de correlação r é ≥0,990. Os dados de linearidade são resumidos na tabela abaixo.

Concentração (mIU/mL)	1	2	3	4	5	6
LH esperado	0,31	27,38	54,45	81,52	108,59	135,66
LH medido	0,31	27,64	54,91	82,82	107,68	135,66

Comparação de métodos

O ensaio de LH da série CL da Mindray foi comparado com um kit de diagnóstico disponível no mercado em um estudo de correlação com cerca de 422 espécimes. Os dados estatísticos obtidos pelo modo de computação de Deming são mostrados na tabela abaixo.

Intervalo de concentração (mIU/mL)	Queda	Intercepto	Correlação Coeficiente
0,15-210,85	1,1719	-0,9300	0,997

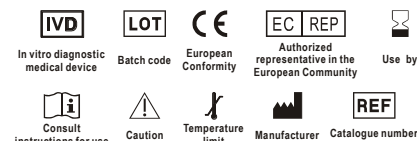
Avisos e precauções

1. Apenas para diagnóstico in vitro.
2. Siga todas as regras de manipulação de reagentes laboratoriais e tome as precauções de segurança necessárias.
3. Devido às diferenças na metodologia e especificidade do anticorpo, os resultados do teste de uma mesma amostra podem ser diferentes ao usar kits de reagentes a partir de diferentes fabricantes, no sistema Mindray, ou usando kits de reagentes Mindray em outros sistemas.
4. Não utilize kits de reagentes vencidos.
5. Não utilize reagentes misturados de diferentes lotes
6. Sempre mantenha a embalagem do reagente na posição vertical, para garantir que não haja micropartícula perdida antes da utilização.
7. Pacote de reagente aberto por mais de 28 dias não é recomendado para uso.
8. A confiabilidade dos resultados do ensaio não pode ser garantida se as instruções deste folheto não forem seguidas.
9. Todos os resíduos de amostras e de reação deverão ser considerados potencialmente de risco biológico. A manipulação das amostras e resíduos de reação deve

estar de acordo com os regulamentos e orientações locais.

10. A Folha de Dados de Segurança de Material (MSDS) está disponível mediante solicitação.

Símbolos gráficos



Referências

1. 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.
2. 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.
3. 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.
4. Vaitukaitis JL, Ross GT. Antigenic similarities among the human glycoprotein hormones and their subunits. Em Gonadotropins. Editado por Saxena BB, Gandy HM, Belling CG. 1972; Nova York: John Wiley and Sons, 435-443.
5. 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.
6. 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.
7. NCCLS. EP5-A2 Evaluation of precision performance of quantitative measurement method; approved guideline-second edition. 2004.

© 2013 Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

Todos os direitos reservados

Fabricante: Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

Endereço: Mindray Building, Keji 12th Road South, Hi-tech Industrial Park, Nanshan, ShenZhen 518057, P.R. China.

E-mail: service@mindray.com

Website: www.mindray.com

Tel: +86-755-26582888

Fax: +86-755-26582680

Representantes da UE: Shanghai International Holding Corp. GmbH (Europa)
Endereço: Eiffestraße 80, Hamburgo 20537, Alemanha

Tel: 0049-40-2513175

Fax: 0049-40-255726

LH

Lutropina (CLIA)

Información para pedidos

Número de catálogo	Tamaño de envase
LH111	2 × 50 pruebas
LH112	2 × 100 pruebas
LH113	2 × 30 pruebas

Uso previsto

El ensayo de LH de la serie CL es un inmunoensayo por quimioluminiscencia (CLIA) para la determinación cuantitativa de lutropina (LH) en plasma o suero humano.

Resumen

La lutropina humana (HLH) es una glicoproteína que consta de dos subunidades (cadenas α y β) con 219 aminoácidos en total.^{1,2} Además de en la hipófisis, existen materiales parecidos a la LH en el hipotálamo de las ratas, que ejerce una autorregulación negativa en la secreción de LH. También existen otros materiales similares a la HCG-LH en los blastocitos de conejos 6~8d y el cigoto de vacas 18d, que estimulan las células del cuerpo lúteo para sintetizar progesterona.³ La subunidad α de la LH tiene una estructura molecular idéntica a las subunidades α de la folitropina (FSH), tiotropina (TSH) y gonadotropina 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.⁴ La LH, junto con la FSH, se secreta mediante las células gonadotropas de la hipófisis en respuesta a la secreción de la gonadolibarina (GnRH) del hipotálamo basal medio.^{3,5}

La LH y la FSH regulan y estimulan de forma sinérgica el crecimiento y la función de las gónadas (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 biosíntesis de la LH se controla mediante la gonadolibarina (GnRH) del hipotálamo. Mientras tanto, los esteroides ováricos ejercen una autorregulación positiva o negativa en la secreción de LH. 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 supervisión de la concentración de LH en suero en el ciclo menstrual puede definir el periodo óptimo de fertilidad. Las detecciones en serie de la LH durante 6-8 días en el periodo intermenstrual de 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.⁶

Principio del ensayo

El ensayo de LH de la serie CL es un ensayo de tipo sándwich con dos anticuerpos para determinar el nivel de LH.

En el primer paso se añaden a un recipiente de reacción la muestra y micropartículas paramagnéticas recubiertas con anticuerpo anti-LH monoclonal de ratón. Tras la incubación, la LH presente en la muestra se fija a las micropartículas recubiertas con anticuerpo anti-LH monoclonal de ratón. Las micropartículas se capturan magnéticamente. Las sustancias no fijadas se eliminan mediante el lavado.

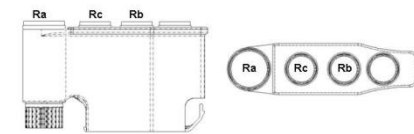
En el segundo paso, se añadió el conjugado marcado de anticuerpos anti-LH monoclonales de ratón y fosfatasa alcalina al recipiente de reacción. El conjugado marcado de anticuerpos anti-LH monoclonales de ratón y fosfatasa alcalina se fija a otro sitio de reacción de la LH que se ha fijado a las micropartículas recubiertas con anticuerpo anti-LH para formar un complejo de sándwich. Las micropartículas se capturan magnéticamente. Las sustancias no fijadas se eliminan mediante el lavado.

En el tercer paso se añade la solución de sustrato al recipiente de reacción. Se cataliza mediante el conjugado de anticuerpos anti-LH monoclonales de ratón y fosfatasa alcalina en el inmunocomplejo retenido en la micropartícula. La reacción quimioluminiscente resultante se mide como unidades de luz relativa (RLU) mediante un fotomultiplicador integrado en el sistema. La cantidad de LH presente en la muestra es proporcional a las unidades de luz relativa (RLU) generadas durante la reacción. La concentración de LH se puede determinar mediante una curva de calibración.

Componentes del reactivo

Ra	Micropartículas paramagnéticas recubiertas con anticuerpo anti-LH monoclonal (ratón) en tampón de TRIS con conservador.
Rb	Conjugado de anticuerpos anti-LH (ratón) y fosfatasa alcalina en tampón de MES con conservador.
Rc	Tampón de MES con conservador.

La posición de los componentes del reactivo se muestra en la siguiente figura (vista frontal a la izquierda y vista superior a la derecha):



Almacenamiento y estabilidad

El kit de reactivos de LH (CLIA) sin abrir se mantiene estable hasta la fecha de caducidad indicada si se almacena a una temperatura de entre 2 y 8 °C.

El kit de reactivos de LH (CLIA) se puede almacenar en el dispositivo y utilizar durante un máximo de 28 días después de la apertura a una temperatura de entre 2 y 8 °C.

Preparación del reactivo

Ra: Listo para su utilización

Rb: Listo para su utilización

Rc: Listo para su utilización

Materiales necesarios pero no incluidos

Analizador de inmunoensayos por quimioluminiscencia de la serie CL de Mindray

N.º cat. LH211: calibradores de LH de Mindray, 1 × 2,0 ml por cada calibrador C0, C1 y C2.

N.º cat. LH212: calibradores de LH de Mindray, 1 × 1,2 ml C0, 1 × 1,0 ml C1 y 1 × 1,0 ml C2.

N.º cat. RHL311: multicontrol reproductivo (L) de Mindray, 6 × 5,0 ml.

N.º cat. RHH311: multicontrol reproductivo (H) de Mindray, 6 × 5,0 ml.

N.º cat. RHL312: multicontrol reproductivo (L) de Mindray, 12 × 5,0 ml.

N.º cat. RHH312: multicontrol reproductivo (H) de Mindray, 12 × 5,0 ml.

N.º cat. RHL313: multicontrol reproductivo (L) de Mindray, 1 × 5,0 ml.

N.º cat. RHH313: multicontrol reproductivo (H) de Mindray, 1 × 5,0 ml.

N.º cat. RHL314: multicontrol reproductivo (L) de Mindray, 3 × 5,0 ml.

N.º cat. RHH314: multicontrol reproductivo (H) de Mindray, 3 × 5,0 ml.

N.º cat. WB411: tampón de lavado de Mindray, 1 × 10 l.

N.º cat. CS511/CS512: solución de sustrato de Mindray, 4 × 115 ml/4 × 75 ml.

Recipientes de reacción de Mindray.

Instrumento aplicable

Analizador de inmunoensayos por quimioluminiscencia de la serie CL de Mindray.

Recogida y preparación de muestras

Para este ensayo se recomienda el uso de plasma o suero humano recogido en etilendiaminotetraacético (EDTA), heparina sódica y heparina de litio.

Centrifugue las muestras después de que se complete la formación de coágulos. Transfiera los sobrenadantes a tubos para el almacenamiento o pruebas en un plazo de dos horas posteriores a la centrifugación.

Las muestras se deben probar tan pronto como sea posible tras la recogida de muestras. Si las pruebas no se completan en un plazo de 8 horas, las muestras se deben cerrar de forma hermética y refrigerar a entre 2 y 8 °C. Si las pruebas se van a posponer más de 72 horas, las muestras se deben congelar a un mínimo de -20 °C.

Evite los ciclos de congelado y descongelado.

Procedimiento del ensayo

Para un rendimiento óptimo del ensayo, los operadores deben leer detenidamente el manual de funcionamiento del sistema para obtener suficiente información, como instrucciones de funcionamiento, manejo y conservación de muestras, precauciones de seguridad y mantenimiento. Prepare también todos los materiales necesarios para el ensayo.

Antes de cargar el kit de reactivos de LH (CLIA) en la

máquina por primera vez, el frasco sin abrir del reactivo se debe invertir con cuidado un mínimo de 30 veces para volver a suspender las micropartículas asentadas durante el envío o el almacenamiento. Realice una inspección visual del frasco para garantizar que las micropartículas se han vuelto a suspender. Si las micropartículas siguen adheridas al frasco, siga invirtiéndolo hasta que se vuelvan a suspender por completo. Si las micropartículas no se pueden volver a suspender, no se recomienda el uso del frasco de reactivos. Póngase en contacto con Atención al cliente de Mindray para obtener ayuda. No invierta un frasco de reactivos abierto.

El ensayo requiere 15 µl de muestra para una sola prueba. En este volumen no se incluye el volumen muerto del contenedor de muestras. A la hora de realizar pruebas adicionales de la misma muestra, es necesario un volumen adicional. Los operadores deben consultar el manual de funcionamiento del sistema y los requisitos específicos del ensayo para determinar el volumen mínimo de la muestra.

Calibración

El ensayo de LH de la serie CL (CLIA) se ha estandarizado de acuerdo con el estándar internacional de la OMS de lutropina pituitaria humana (código NIBSC: 80/552).

La información específica de la curva de calibración principal del kit de reactivos de LH (CLIA) está almacenada en el código de barras bidimensional adherido al paquete de reactivos. Se utiliza con calibradores para la calibración del lote de reactivo específico. Al realizar la calibración, escanee primero la información de la curva de calibración principal del código de barras en el sistema. A continuación, utilice los calibradores a tres niveles. La curva de calibración válida es necesaria antes de realizar las pruebas 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 sistema.

Control de calidad

Se recomienda que los controles de calidad se ejecuten cada 24 horas si las pruebas están en uso o después de cada calibración. La frecuencia del control de calidad se debe adaptar a los requisitos individuales de cada laboratorio. Los controles de calidad de dos niveles recomendados para este ensayo son multicontrol reproductivo (L) y multicontrol reproductivo (H) de Mindray.

Los resultados del control de calidad deben estar dentro de los intervalos aceptables. Si un control no se encuentra dentro del intervalo especificado, los resultados de la prueba asociados no son válidos y las muestras se deben probar de nuevo. Es posible que sea necesaria una recalibración. Examine el sistema de ensayo. Para ello, consulte el manual de funcionamiento del sistema. Si los resultados del control de calidad aún no se encuentran dentro del intervalo especificado, póngase en contacto con Atención al cliente de Mindray para obtener ayuda.

Cálculo

El analizador calcula automáticamente la concentración de análisis de cada muestra en la

curva de calibración principal leída del código de barras y un ajuste de la curva logística de 4 parámetros (4PLC) con las unidades de luz relativa (RLU) generadas por calibradores de tres niveles de valores de concentración definidos. Los resultados se muestran en mUI/ml.

Factores de conversión: mUI/ml x 1 = UI/L

Dilución

Las muestras con concentraciones LH que sobrepasan el límite superior se pueden diluir con el diluyente de muestra Mindray. El diluyente recomendado es 1:4 (ya sea manualmente o de forma automática mediante el analizador). La concentración de la muestra diluida debe ser >2 mUI/ml. Después de la dilución manual, multiplique el resultado por el factor de dilución. Después de que los analizadores realizan la dilución automática, el sistema automáticamente multiplica el resultado por el factor de dilución cuando calcula la concentración de la muestra.

Valores esperados

Un estudio exhaustivo de una población de 565 individuos sanos (135 hombres y 430 mujeres) ha determinado el intervalo de referencia del ensayo de LH de la serie CL.

Categoría	N	Percentil 5 a 95
Varón	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

Debido a la variación de geografía, etnia, sexo y edad, se recomienda que cada laboratorio establezca su propio intervalo de referencia.

Limitación

El límite superior del ensayo es 250 mUI/ml. Se puede determinar cuantitativamente una muestra con una concentración de LH inferior al límite superior, mientras que una muestra con una concentración mayor que el límite superior se notificará como >250 mUI/ml o diluir las muestras con el diluyente de muestras de Mindray.

La concentración de LH en una muestra concreta, determinada mediante ensayos de distintos fabricantes, puede variar debido a diferencias de la calibración y métodos del ensayo, así como de la especificidad del reactivo. Los resultados del ensayo se deben utilizar junto con otros datos, como síntomas, resultados de otras pruebas, historia clínica, etc.

Las muestras de personas expuestas a anticuerpos monoclonales de ratones pueden contener anticuerpos humanos anti-ratón (HAMA). Estas muestras pueden mostrar valores falsamente elevados o bajos con kits de ensayo que utilicen anticuerpos de ratones monoclonales. Sin embargo, no se observaron interferencias evidentes de HAMA en este ensayo.

Características de desempeño

Sensibilidad analítica y límite de detección

El kit de reactivos de LH (CLIA) tiene una

sensibilidad analítica de $\leq 0,2$ mUI/ml. La sensibilidad analítica se define como la menor concentración de analitos que se puede diferenciar de una muestra que no contiene analitos. Se define como la concentración de LH con dos desviaciones estándar por encima de la RLU media de 20 mediciones de una muestra sin analitos.

Intervalo posible

El intervalo posible se define mediante la sensibilidad analítica y el límite superior de la curva de calibración principal. El intervalo posible del kit de reactivos de LH (CLIA) es 0,2-250 mUI/ml (o el límite superior llega hasta los 1000 mUI/ml para las muestras diluidas de 4 dimensiones).

Especificidad

Los niveles de hemoglobina de hasta 500 mg/dl, bilirrubina de hasta 10 mg/dl, triglicéridos de hasta 1 800 mg/dl y proteínas totales de hasta 10,0 g/dl no interferirán con el ensayo de LH de la serie CL. Estas sustancias muestran menos del 10% de interferencias con la concentración indicada.

No se observaron interferencias evidentes del factor reumatoide de hasta 1500 UI/ml ni del anticuerpo antinuclear de hasta 4000 U/l.

No se observó reactividad cruzada significativa cuando se añadió gonadotropina coriónica humana (HCG), folitropina (FSH) y tirotropina (TSH) al calibrador C0 de LH a los niveles específicos mostrados en la siguiente tabla. Los resultados no mostraron más de 2,0 mUI/ml en el ensayo de LH de la serie CL a los niveles indicados a continuación.

Sustancia	de sustancia de interferencia Concentración
HCG	1000 mUI/ml
FSH	200 mUI/ml
TSH	100 μ UI/ml

Precisión

Se utilizó una muestra del estándar internacional de la OMS de lutropina pituitaria humana (código NIBSC: 80/552) con un valor definido y rastreado para comprobar la precisión del ensayo. Los resultados mostraron que la desviación relativa era inferior a $\pm 10\%$. Los resultados se muestran en la siguiente tabla.

Muestra	Valor de LH medido (mUI/ml)	Valor de LH medido (mUI/ml)	Desviación relativa
LH de la OMS	50,32	50,89	-1,13%

Precisión

El ensayo de LH de la serie CL se ha diseñado para una precisión de $\leq 10\%$ (CV dentro del dispositivo). La precisión se determinó mediante el protocolo EP5-A2 del Comité Nacional de Estándares de Laboratorio Clínico (NCCLS).⁷ Se probaron dos niveles de controles de calidad por duplicado en dos series independientes por día, durante un total de 20 días. Se utilizó un lote de reactivos y una curva de calibración. Los datos de precisión se resumen en la siguiente tabla.

Muestra	Media de LH (mUI/ml)	CV de la serie	CV entre series	CV del Dispositivo
1	10,21	3,29%	7,51%	8,20%
2	50,37	3,56%	5,20%	7,00%

Linealidad

Se mezcló una muestra con alta concentración de LH (roximadamente 100 mUI/ml) con una muestra con baja concentración (<0,4 mUI/ml) con distintas proporciones, generando una serie de diluciones. El nivel de LH de cada dilución se determinó mediante el ensayo de LH de la serie CL de Mindray. La linealidad se demostró en el intervalo de 0,4 mUI/ml a 100 mUI/ml. El coeficiente de correlación r es $\geq 0,990$. Los datos de linealidad se resumen en la siguiente tabla.

Concentración (mUI/ml)	1	2	3	4	5	6
Valor de LH esperado	0,31	27,38	54,45	81,52	108,59	135,66
Valor de LH medido	0,31	27,64	54,91	82,82	107,68	135,66

Comparación de métodos

El ensayo de LH de la serie CL de Mindray se comparó con un kit de diagnóstico disponible en el mercado en un estudio de correlación con unas 422 muestras. Los datos estadísticos obtenidos mediante el modo informático de Deming se muestran en la siguiente tabla.

Intervalo de concentración (mUI/ml)	Pendiente	Intercepto	Coefficiente de Correlación
0,15-210,85	1,1719	-0,9300	0,997

Advertencias y precauciones

- Exclusivo para uso diagnóstico in vitro.
- Respete las normas de utilización de reactivos de laboratorio y tome las medidas de seguridad necesarias.
- Debido a las diferencias de metodología y especificidad de anticuerpos, los resultados de las pruebas de la misma muestra pueden diferir al utilizar kits de reactivos de distintos fabricantes en el sistema de Mindray o al utilizar kits de reactivos de Mindray en otros sistemas.
- No utilice kits de reactivos después de la fecha de caducidad.
- No utilice reactivos mezclados de distintos lotes de reactivos.
- Mantenga el kit de reactivos en posición vertical para garantizar que no se pierdan micropartículas antes del uso.
- No se recomienda el uso de un kit de reactivos que haya estado abierto durante más de 28 días.
- La confiabilidad de los resultados del ensayo no se puede garantizar si no se siguen las instrucciones del prospecto.
- Todas las muestras y residuos de reacción se deben considerar como potencialmente infecciosos. La manipulación de muestras y residuos de reactivos deben realizarse de

acuerdo con las normativas y directrices

- La hoja de datos de seguridad de los materiales (MSDS) está disponible bajo petición.

Símbolos gráficos



Referencias

- Bishop WH, Nureddin A, Ryan RJ. Pituitary Luteinizing and Follicle Stimulating Hormones. In: Parsons 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. In Gonadotropins. Edited by Saxena BB, Gandhi HM, Belling CG. 1972; New 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. En: Wilson JD and Foster DW, editors. 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.

© 2013 Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

Reservados todos los derechos.

Fabricante: Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

Dirección: Mindray Building, Keji 12th Road South, Hi-tech Industrial Park, Nanshan, Shenzhen, 518057 R.P. China

Dirección de correo electrónico: service@mindray.com

Sitio web: www.mindray.com

Tel.: +86-755-26582888

Fax: +86-755-26582680

Representante de la CE: Shanghai International Holding Corp. GmbH (Europa)

Dirección: Eiffeustraße 80, Hamburg 20537, Alemania

Tel.: 0049-40-2513175

Fax: 0049-40-255726

LH

Ormone luteinizzante (CLIA)

Informazioni per gli ordini

Numero di catalogo	Confezione
LH111	Testes 2x50
LH112	Testes 2x100
LH113	Testes 2x30

Uso previsto

Il kit MINDRAY LH (CLIA) è un immunodosaggio chemiluminescente (CLIA) per la determinazione quantitativa dell'ormone follicolo-stimolante (LH) nel plasma o nel siero umani.

Riassunto e Spiegazione del Test

L'ormone luteinizzante umano (hLH) è una glicoproteina composta da due subunità (catene α e β), con 219 amminoacidi in totale.^{1,2} Oltre all'ipofisi, esistono materiali simili all'LH nell'ipotalamo del ratto che emettono un feedback negativo che influisce sul rilascio di LH. Esistono anche materiali simili all'HCG-LH nella blastocisti del coniglio di 6~8 giorni e nel prodotto del concepimento del bestiame di 18 giorni che stimolano le cellule del corpo luteo per sintetizzare il progesterone.³ La subunità α dell'LH ha una struttura molecolare essenzialmente identica alle subunità α dell'ormone follicolo-stimolante (FSH, follitropina), dell'ormone tireotropo (TSH, tireotropina) e della gonadotropina corionica umana (HCG). La subunità β è notevolmente diversa da quelle di FSH e TSH. Tuttavia, le subunità β di LH e di HCG sono simili. Le varie subunità β determinano le rispettive specificità immunologiche e fisiologiche.⁴ LH, insieme a FSH, è secreta dalle cellule gonadotrope dell'ipofisi in risposta alla secrezione dell'ormone di rilascio delle gonadotropine (GnRH) da parte dell'ipotalamo basale mediale.^{3,5}

LH e FSH regolano e stimolano in modo sinergico la crescita e la funzione delle gonadi (ovaie e testicoli). LH in sinergia con FSH regola il ciclo mestruale delle donne, provocando il rilascio dell'ovulo e la formazione del corpo luteo che secreta il progesterone e l'estradiolo. La biosintesi di LH è stata controllata dall'ormone di rilascio di gonadotropine (GnRH) dell'ipotalamo. Nel frattempo, gli steroidi ovarici emettono un feedback negativo o positivo che influisce sul rilascio di LH. La determinazione di LH insieme a FSH è utilizzata per chiarire le cause dell'amenorrea (amenorrea primaria) nelle donne e per chiarire le cause di disfunzioni testicolari negli uomini. L'aumento improvviso di LH è strettamente legato all'ovulazione nel ciclo mestruale. L'ovulazione si verifica sempre 24~36 ore dopo l'aumento improvviso di LH. Quindi la determinazione e il monitoraggio della concentrazione di LH nel siero durante il ciclo mestruale può stabilire il periodo ottimale di fertilità. I rilevamenti di serie di LH per 6-8 giorni a metà ciclo in donne con cicli mestruali regolari possono individuare l'aumento improvviso di rilascio. La determinazione di LH è utile nella diagnosi e nella cura dell'infertilità e nei disturbi all'ipofisi e alle gonadi.⁶

Principio del dosaggio

Il kit MINDRAY LH (CLIA) è un dosaggio sandwich a due siti per stabilire il livello dell'ormone follicolo-stimolante.

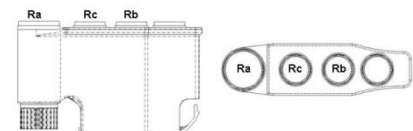
Nella prima fase, il campione, la microparticella paramagnetica rivestita con anticorpo monoclonale anti-LH (topo) e l'anticorpo monoclonale anti-ormone follicolo-stimolante (topo) coniugato con fosfatasi alcalina vengono aggiunti in una cuvetta di reazione. Dopo l'incubazione, l'LH presente nel campione si lega sia alla microparticella rivestita con anticorpo anti-LH sia all'anticorpo anti-LH coniugato con fosfatasi alcalina per formare un complesso sandwich. La microparticella viene catturata magneticamente, mentre le altre sostanze non legate sono rimosse mediante lavaggio.

Nella seconda fase, nella cuvetta di reazione viene aggiunta la soluzione substrato. Questa viene catalizzata da un anticorpo anti-LH (topo) coniugato con fosfatasi alcalina nell'immunocomplesso trattenuto sulla microparticella. La reazione chemiluminescente risultante viene misurata come unità relative di luce (RLU) da un fotomoltiplicatore integrato nel sistema. La quantità di LH presente nel campione è proporzionale alle unità di luce (RLU) generata durante la reazione. La concentrazione di LH può essere determinata tramite una curva di calibrazione.

Componenti del kit

Ra	Microparticelle paramagnetiche rivestite di anticorpo monoclonale anti-LH (topo) nel tampone TRIS con conservante.
Rb	Anticorpo anti-LH monoclonale (topo) coniugato con fosfatasi alcalina in tampone MES con conservante.
Rc	Tampone MES con conservante.

La posizione di ciascun componente del reagente è illustrata nella figura di seguito (vista frontale a



sinistra e vista dall'alto a destra):

Conservazione e stabilità

Il kit di reagenti sigillato LH (CLIA) rimane stabile fino alla data di scadenza indicata, se conservato a 2-8 °C.

Il kit di reagenti LH (CLIA) può essere conservato a bordo e utilizzato per un massimo di 28 giorni dopo l'apertura se conservato a 2-8 °C.

Preparazione del reagente

Ra: Pronto all'uso
Rb: Pronto all'uso
Rc: Pronto all'uso

Materiali necessari ma non forniti

Analizzatore per immunodosaggi chemiluminescenti Mindray serie CL.
Mindray LH Calibrators N. cat. LH211: 1x2,0 ml per ciascun calibratore C0, C1 e C2.
Mindray LH Calibrators N. cat. LH212: 1x1,2ml C0, 1x1,0 ml C1 e 1x1,0 ml C2.

-Mindray Reproductive Multi Control (L), 6x5,0 mL N. cat. RHL311
12x5,0 mL N. cat. RHL312
1x5,0 mL N. cat. RHL313
3x5,0 mL N. cat. RHL314
-Mindray Reproductive Multi Control (H), 6x5,0 mL N. cat. RHH311
12x5,0 mL N. cat. RHH312
1x5,0 mL N. cat. RHH313
3x5,0 mL N. cat. RHH314
-Tampone di lavaggio Mindray, 1x10 L N. cat. WB411
-Soluzione substrato Mindray, 4x115 mL N. cat. CS511, 4x75 mL N. cat. CS512
-Mindray Reaction Vessels

Strumento applicabile

Analizzatore per immunodosaggi chemiluminescenti Mindray serie CL

Prelievo e preparazione del campione

DISTINGUERE MODALITÀ DI PRELIEVO PER SIERO E PLASMA (es. Siero)

_ Raccogliere 5,0 ml di sangue venoso in una provetta. Lasciar riposare a temperatura ambiente, centrifugare e separare il siero.

_ Il campione di siero è stabile per 12 ore a 2-8°C. Per periodi prolungati sigillare e congelare a -20°C per max 3 0 giorni.

_ Evitare cicli ripetuti di congelamento e scongelamento

Plasma

_ Raccogliere 5 mL di sangue venoso in una provetta, quindi aggiungere l'anticoagulante EDTA (50ul 0.3M EDTA per 5 ml di sangue), centrifugare e separare il plasma, e conservare a 2-8 °C.

_ (Nota: come anticoagulante è consigliato EDTA ed eparina).

_ Il plasma è stabile a 2-8 °C per 24 ore. Per periodi prolungati sigillare e congelare a -20 °C, per un massimo di 30 giorni.

_ Evitare cicli ripetuti di congelamento e scongelamento.)

Procedura del dosaggio

Per garantire le prestazioni ottimali di questo dosaggio, gli operatori sono tenuti a leggere attentamente il relativo manuale operativo del sistema per ottenere informazioni sufficienti riguardanti istruzioni d'uso, trattamento e conservazione del campione, precauzioni di sicurezza e manutenzione. Preparare inoltre tutti i materiali necessari per il dosaggio.

Prima di caricare per la prima volta il kit MINDRAY LH (CLIA) sull'analizzatore, è necessario capovolgere delicatamente la confezione del reagente per almeno 30 volte, in modo da rispendere le microparticelle depositatesi durante la spedizione o la conservazione. Ispezionare visivamente il flacone per assicurarsi che le particelle siano nuovamente in sospensione. Se le microparticelle rimangono attaccate al flacone, continuare a capovolgerlo finché le microparticelle non sono di nuovo completamente in sospensione. Se non è possibile rispendere le microparticelle, si

consiglia di non utilizzare questo flacone di reagente. Contattare il servizio clienti Medical Systems per ricevere assistenza. Non capovolgere la confezione una volta aperta.

Questo dosaggio richiede 25 µl di campione per un singolo test. Tale volume non comprende il volume morto della provetta. Quando si eseguono ulteriori test sullo stesso campione, è necessario un volume supplementare. Gli operatori sono tenuti a fare riferimento al manuale operativo del sistema e ai requisiti specifici del dosaggio per stabilire il volume minimo di campione necessario.

Calibrazione

Il kit MINDRAY LH (CLIA) è stato standardizzato a fronte dello standard internazionale dell'OMS per l'ormone luteinizzante umano, ipofisi (codice NIBSC: 80/552).

Le informazioni specifiche relative alla curva master di calibrazione del kit MINDRAY LH (CLIA) sono memorizzate nel codice a barre bidimensionale sulla confezione. Viene utilizzata insieme ai calibratori per la calibrazione del lotto di reagenti specifico. Prima di eseguire la calibrazione, effettuare una scansione delle informazioni relative alla curva master contenute nel codice a barre e successivamente utilizzare i tre livelli di calibratori. Prima di eseguire i test LH sui campioni è richiesta una curva di calibrazione valida. Si consiglia la ricalibrazione ogni 4 settimane, oppure quando si utilizza un nuovo lotto di reagenti o quando i controlli di qualità non rientrano nell'intervallo atteso. Per istruzioni dettagliate sulla calibrazione, consultare il manuale operativo del sistema.

Controllo di qualità

È consigliabile che i controlli qualità vengano effettuati almeno una volta ogni 24 ore se i test sono in uso o a seguito di ogni calibrazione. La frequenza dei controlli qualità deve essere adattata alle esigenze specifiche di ciascun laboratorio. I due livelli consigliati di controlli qualitativi per questo dosaggio sono Mindray Reproductive Multi Control (L) e Mindray Reproductive Multi Control (H).

I risultati del controllo qualità devono rientrare negli intervalli di accettabilità. Se un controllo non rientra nel suo intervallo atteso, i risultati dei test associati non sono validi e il campione deve essere nuovamente testato. Può essere richiesta la ricalibrazione. Esaminare i risultati facendo riferimento al manuale operativo del sistema. Se i risultati del controllo qualità non rientrano ancora nell'intervallo specificato, contattare il Customer Service Medical Systems per ricevere assistenza.

Calcolo dei Risultati

L'analizzatore calcola automaticamente la concentrazione di analita di ciascun campione sulla curva master di calibrazione letta dal codice a barre; la master curve è adattata utilizzando un modello logistico a 4 parametri (4PLC) con le Relative Light Unit (RLU) generate dai calibratori a tre livelli dai valori di concentrazione definiti. I risultati sono riportati in mIU/ml.

Fattori di conversione: mIU/ml x 1 = IU/l

Diluizione

I campioni con concentrazioni di LH al di sopra del limite superiore possono essere diluiti con il diluente campione Mindray. La diluizione consigliata è di 1:4 (eseguita automaticamente dall'analizzatore o

manualmente). La concentrazione del campione diluito deve essere >2 mIU/ml. Al termine della diluizione manuale, moltiplicare il risultato per il fattore di diluizione. Al termine della diluizione eseguita automaticamente dall'analizzatore, il sistema moltiplica automaticamente il risultato per il fattore di diluizione durante il calcolo della concentrazione del campione.

Valori attesi

Uno studio esteso su una popolazione di 565 soggetti sani (135 soggetti maschili e 430 soggetti femminili) ha determinato l'intervallo di riferimento del dosaggio di LH serie CL.

Gruppo di riferimento	N	5-95 th Percentile	
Maschi	135	1,4-7,7 mIU/ml	
Femmine	fase follicolare	125	1,9-11,6 mIU/ml
	Periodo di ovulazione	43	12,9-105,2 mIU/ml
	fase luteale	128	0,8-10,5 mIU/ml
	post-menopausa	134	6,6-66,4 mIU/ml

A causa della variazione in termini di area geografica, razza, sesso ed età, si consiglia vivamente a ciascun laboratorio di stabilire il proprio intervallo di riferimento.

Limitazioni

Il limite superiore di questo dosaggio è 250 mIU/ml. Un campione con una concentrazione di LH inferiore al limite superiore può essere determinato in maniera quantitativa, mentre un campione con una concentrazione superiore al limite superiore sarà segnalato come >200 mIU/ml oppure diluendo i campioni con il diluente campione Mindray.

La concentrazione di LH in un dato campione, determinata mediante dosaggi di diversi produttori, può variare a causa delle differenze a livello di metodi di dosaggio, calibrazione e specificità del reagente. I risultati del dosaggio vanno utilizzati insieme ad altri dati, quali sintomi, risultati di altri test, anamnesi clinica, ecc.

I campioni derivati da individui esposti ad anticorpi monoclonali di topo possono contenere anticorpi umani anti-topo (HAMA). Tali campioni possono fornire valori falsamente elevati o bassi con kit di dosaggio che utilizzano anticorpi monoclonali di topo. Tuttavia, non è stata osservata alcuna interferenza evidente di HAMA nel presente dosaggio.

Prestazioni del dosaggio

Sensibilità analitica/Limite di rilevazione

Il kit MINDRAY LH (CLIA) ha una sensibilità analitica $\leq 0,2$ mIU/ml. La sensibilità analitica è definita come la concentrazione minima di analita che può essere distinta da un campione che non contiene analita. È definita come la concentrazione di LH a due deviazioni standard superiori al valore RLU medio da 20 misurazioni di campione privo di analita.

Range di calibrazione

Il range di calibrazione è definito dalla sensibilità analitica e dal limite superiore della curva di

calibrazione master. Il range di calibrazione del kit MINDRAY LH (CLIA) è 0,2-250 mIU/ml (oppure il limite superiore arriva fino a 1000 mIU/ml per campioni diluiti 4 volte).

Specificità

Il kit MINDRAY LH (CLIA) non subirà interferenze per valori di emoglobina fino a 500 mg/dl, bilirubina fino a 10 mg/dl, trigliceridi fino a 1800 mg/dl e proteine totali fino a 10 g/dl. Tali sostanze mostrano interferenze inferiori al 10% alla concentrazione indicata.

Non è stata osservata alcuna interferenza evidente per concentrazioni di fattore reumatoide fino a 1500 IU/ml o di anticorpo antinucleare fino a 4000 U/l.

Per il calibratore CO del kit MINDRAY LH (CLIA) addizionato con gonadotropina corionica umana (HCG), ormone tireotropo (TSH) o ormone follicolo-stimolante (FSH), ai livelli specifici indicati nella tabella seguente non è stata osservata alcuna reattività crociata evidente, visto che tutti i risultati sono stati $\leq 2,0$ mIU/ml. I risultati sono riportati nella tabella di seguito.

Sostanza cross-reagente	Concentrazione
hCG	1000 mIU/ml
TSH	100 μ IU/ml
FSH	200 mIU/ml

Accuratezza

Per verificare l'accuratezza di questo dosaggio, è stato utilizzato un campione ormone luteinizzante, umano, ipofisi conforme allo standard internazionale dell'OMS (codice NIBSC: 80/552) con un valore tracciabile e definito. I risultati hanno dimostrato che la deviazione relativa era inferiore a $\pm 10\%$. I risultati sono elencati nella tabella di seguito.

Campione	LH Valore osservato (mIU/ml)	LH Valore atteso (mIU/ml)	Deviazione relativa
LH OMS	50,32	50,89	-1,13%

Precisione

Per il kit MINDRAY LH (CLIA), è studiato per garantire una precisione $\leq 10\%$ (CV inter-dispositivo). La precisione è stata determinata seguendo il protocollo EP5-A2 del National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). I due livelli di controlli di qualità sono stati testati in triplicato in due cicli separati al giorno, per un totale di 20 giorni, utilizzando un singolo lotto di reagenti e una singola curva di calibrazione. I dati sulla precisione sono riepilogati nella tabella di seguito.

Campione	LH Valore medio (mIU/ml)	CV Intra-serie	CV Inter-serie	CV inter-dispositivo
1	10,21	3,29%	7,51%	8,20%
2	50,37	3,56%	5,20%	7,00%

Linearità

Un campione di LH ad alta concentrazione (circa 200 mIU/ml) è stato miscelato con un campione a bassa concentrazione ($< 1,0$ mIU/ml) con rapporti diversi per generare una serie di diluizioni. L'LH di ogni

diluizione è stato determinato utilizzando il kit MINDRAY LH (CLIA). La linearità è stata dimostrata nell'intervallo di 0,4 mIU/ml e 100 mIU/ml, il coefficiente di correlazione r è $\geq 0,990$. I dati relativi alla linearità sono riepilogati nella tabella riportata di seguito.

Concentrazione (mIU/ml)	1	2	3	4	5	6
LH atteso	0,31	27,38	54,45	81,52	108,59	135,66
LH osservato	0,31	27,64	54,91	82,82	107,68	135,66

Confronto tra metodi diversi

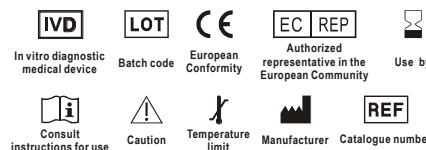
Il kit MINDRAY LH (CLIA) è stato confrontato con un kit diagnostico disponibile in commercio durante uno studio di correlazione con circa 422 campioni. I dati statistici ottenuti tramite il metodo di elaborazione Deming sono riportati nella tabella di seguito.

Intervallo di concentrazione (mIU/ml)	Pendenza	Inter-cetta	Coefficiente di correlazione
0,15~210,85	1,1719	-0,9300	0,997

Precauzioni e avvertenze

- Solo per uso diagnostico in vitro.
- Seguire tutte le regole riguardanti la manipolazione dei reagenti di laboratorio e adottare le necessarie precauzioni di sicurezza.
- A causa delle differenze nella metodologia e nella specificità dell'anticorpo, i risultati del test dello stesso campione possono essere differenti quando si utilizzano kit di reagenti di produttori diversi sul sistema Mindray, oppure quando si usano i kit di reagenti Mindray su altri sistemi.
- Non utilizzare i kit di reagenti dopo la data di scadenza.
- Non miscelare reagenti di lotti diversi.
- Mantenere sempre la confezione del reagente in posizione eretta per evitare la perdita di microparticelle prima dell'uso.
- Si consiglia di non utilizzare la confezione di reagente aperta oltre i 28 giorni.
- L'affidabilità dei risultati del dosaggio non può essere garantita se non si seguono le istruzioni del presente foglietto illustrativo.
- Tutti i campioni e i rifiuti della reazione sono da considerarsi come potenzialmente a rischio biologico. La manipolazione dei campioni e dei rifiuti della reazione deve avvenire in conformità alle normative e linee guida locali.
- La scheda di sicurezza dei materiali (MSDS) è disponibile su richiesta.

Simboli



IVD - Dispositivo diagnostico in vitro Direttiva 98/79/CE

LOT - N. di Lotto

CE - Marcatura CE

EC-REP - Rappresentante Autorizzato

Use By - Scadenza

Consult Instructions for Use - Leggere le istruzioni per l'uso

Caution - Attenzione

Temperature Limit - Temperatura di conservazione

Manufacturer - Fabbricante

Catalogue Number - Codice Prodotto

Riferimenti Bibliografici

- Bishop WH, Nureddin A, Ryan RJ. Pituitary Luteinizing and Follicle Stimulating Hormones. In: 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. In: Gonadotropins. Edited by Saxena BB, Gandy HM, Belling CG. 1972; New 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. In: Wilson JD and Foster DW, editors. 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

© 2013 Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

Tutti i diritti riservati

Produttore: Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

Indirizzo: Mindray Building, Keji 12th Road South, Hi-tech Industrial Park, Nanshan, ShenZhen 518057, Cina.

Indirizzo e-mail: service@mindray.com

Sito Web: www.mindray.com

Tel.: +86-755-26582888

Fax: +86-755-26582680

Rappresentante CE: Shanghai International Holding Corp. GmbH (Europe)

Indirizzo: Eiffestraße 80, Amburgo 20537, Germania

Tel.: 0049-40-2513175

Fax: 0049-40-255726

LH

Lüteinize Edici Hormon (CLIA)

Sipariş Bilgileri

Katalog No.	Ambalaj Boyutu
LH111	2x50 test
LH112	2x100 test
LH113	2x30 test

Kullanım Amacı

CL Serisi LH tayini, insan serumunda veya plazmasında kantitatif lüteinize edici hormon (LH) tayinine yönelik bir Kemilüminesans İmmünokimya Tayinidir (CLIA).

Özet

İnsan lüteinize edici hormonu (hLH), toplamda 219 amino asit ile iki alt birimden (α ve β zincirleri) oluşan bir glikoproteindir.^{1,2} Pitüiterin yani sıra sırasına hipotalamusunda LH'nin serbest bırakılması üzerinde negatif geri bildirim oluşurken LH benzeri maddeler vardır. Ayrıca, 6~8d tavşan blastosist ve 18d siğir konseptusunda, korpus luteum hücrelerini progesteron sentezlemeleri için uyararak, HCG-LH ile benzer maddeler vardır.³ LH'nin α alt birimi moleküler yapı bakımından folikül uyarıcı hormon (FSH, follitropin), tiroid uyarıcı hormon (TSH, tirotropin) ve insan koryonik gonadotropin (HCG) α alt birimleriyle esasen aynıdır. β alt birimi FSH ve TSH'den büyük ölçüde farklıdır. Bununla birlikte, LH ve HCG'nin alt birimleri benzerdir. Farklı β alt birimleri immün ve fizyolojik özgünlüklerini belirler.⁴ LH, FSH ile birlikte, medyal bazal hipotalamustan gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) sekresyonuna yanıt olarak hipofiz bezindeki gonadotrop hücreleri tarafından salgılanır.^{3,5}

LH ve FSH cinsiyet bezlerinin (yumurtalıklar ve testisler) büyümesini ve fonksiyonlarını bir sinerji içerisinde düzenler. LH kadınlarda menstruel döngüyü FSH ile birlikte sinerji içerisinde düzenleyerek, yumurtanın serbest bırakılmasına ve progesteron ve estradiol salgılayan korpus luteumun oluşmasına sebep olur. LH biyosentezi, hipotalamus gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) tarafından kontrol edilir. Bu sırada, ovaryan steroidler LH'nin serbest bırakılması üzerinde pozitif ya da negatif bir geri bildirim ortaya koyarlar. LH tayini, FSH ile birlikte kullanılarak, kadınlarda amenore (primer amenore veya primer amenore) ve erkeklerde testiküler yetmezliğin nedenlerine açıklık getirebilir. Ani LH artışının, menstruel döngüde ovülasyonu ile kompakt bir ilişkisi vardır. Ovülasyonu her zaman, ani LH artışından 24~36 saat sonra meydana gelir. Bu nedenle, menstruel döngüde serum LH konsantrasyonunu belirlemek ve izlemek optimal fertilitte dönemini tanımlayabilir. Menstruel döngüsü düzenli kadınların

döngülerinin ortasında 6-8 gün boyunca seri halde LH saptamaları anlamlı saldı artışını ortaya çıkarabilir. LH tayini, infertilitenin ve pitüiter ile gonadal bozuklukların tanı ve tedavisinde yarar sağlar.⁶

Tayin Prensipli

CL Serisi LH tayini, LH seviyesini belirlemeye yönelik iki bölgeli bir sandviç tayindir.

İlk adımda numune ve fare monoklonal anti-LH antikoruna ile kaplı paramanyetik mikro partiküller bir reaksiyon kabına eklenir. İnkübasyondan sonra numune bulunan LH fare monoklonal anti-LH antikoruna kaplı mikro partiküllere bağlanır. Mikro partiküller manyetik olarak yakalanırken, diğer bağlı olmayan maddeler yıkamayla uzaklaştırılır.

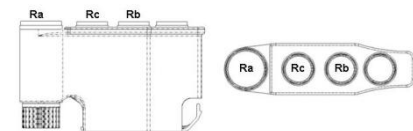
İkinci adımda, fare monoklonal anti-LH antikoruna alkanin fosfatase etiketli konjüгат reaksiyon kabına ilave edilir. Fare monoklonal anti-LH antikoruna alkanin fosfatase etiketli konjüгат, LH antikoruna ile kaplı paramanyetik mikro partiküllere bağlanmış LH'nin başka bir reaksiyon bölgesine bağlanarak bir sandviç kompleks oluşturur. Mikro partiküller manyetik olarak yakalanırken, diğer bağlı olmayan maddeler yıkamayla uzaklaştırılır.

Üçüncü adımda, substrat çözeltisi reaksiyon kabına ilave edilir. Mikro partikülde tutulan immünokomplekste fare monoklonal anti-LH antikoruna - alkanin fosfatase konjügatu ile katalize edilir. Ortaya çıkan kemilüminesans reaksiyonu, sisteme entegre edilmiş bir fotomultiplikator ile bağlı ışık birimleri (RLU) olarak ölçülür. Numune içinde bulunan LH miktarı, reaksiyon sırasında üretilen bağlı ışık birimleri (RLU) ile orantılıdır. LH konsantrasyonu bir kalibrasyon eğrisi aracılığıyla belirlenebilir.

Reaktif Bileşenleri

Ra	Paramanyetik mikro partiküller, monoklonal anti-LH antikoruna (fare) ile kaplı; koruyucu içeren TRIS tamponu içinde
Rb	Monoklonal anti-LH antikoruna (fare) - alkanin fosfatase konjügatu; koruyucu içeren MES tamponu içinde.
Rc	Koruyucu içeren MES tamponu.

Her bir reaktif bileşenin pozisyonu aşağıdaki şekilde gösterilmektedir (solda önden görünüm ve sağda üstten görünüm):



Saklama ve Stabilite

Açılmamış LH (CLIA) reaktif kiti, 2-8°C'de saklandığında belirtilen süre kullanma tarihine kadar stabildir.

LH (CLIA) reaktif kiti cihaz üzerinde saklanabilir

ve açıldıktan sonra 2-8°C'de en fazla 28 gün süreyle kullanılabilir.

Reaktiflerin Hazırlanması

Ra: Kullanıma hazır

Rb: Kullanıma hazır

Rc: Kullanıma hazır

Gerekli Fakat Temin Edilmeyen Malzemeler

Mindray CL Serisi Kemilüminesans İmmünokimya Tayin Analizörü

Kat. No. LH211: Mindray LH Kalibratörleri, her bir kalibratör C0, C1 ve C2 için 1x2,0 mL.

Kat. No. LH212: Mindray LH Kalibratörleri, C0 1x1,2 mL, C1 1x1,0 mL ve C2 1x1,0 mL.

Kat. No. RHL311: Mindray Reprodüktif Çoklu Analit Kontrolü (L), 6x5,0 mL.

Kat. No. RHH311: Mindray Reprodüktif Çoklu Analit Kontrolü (H), 6x5,0 mL.

Kat. No. RHL312: Mindray Reprodüktif Çoklu Analit Kontrolü (L), 12x5,0 mL.

Kat. No. RHH312: Mindray Reprodüktif Çoklu Analit Kontrolü (H), 12x5,0 mL.

Kat. No. RHL313: Mindray Reprodüktif Çoklu Analit Kontrolü (L), 1x5,0 mL.

Kat. No. RHH313: Mindray Reprodüktif Çoklu Analit Kontrolü (H), 1x5,0 mL.

Kat. No. RHL314: Mindray Reprodüktif Çoklu Analit Kontrolü (L), 3x5,0 mL.

Kat. No. RHH314: Mindray Reprodüktif Çoklu Analit Kontrolü (H), 3x5,0 mL.

Kat. No. WB411: Mindray Yıkama Tamponu, 1x10 L.

Kat. No. CS511: Mindray Substrat Solusyonu, 4x115 mL.

Kat. No. CS512: Mindray Substrat Solusyonu, 4x75 mL.

Mindray Reaksiyon Kapları.

Uygulanabilir Cihaz

Mindray CL Serisi Kemilüminesans İmmünokimya Tayin Analizörü

Numune Alma ve Hazırlama

Bu tayin için Serum, EDTA'lı plazma, sodyum heparin ve lityum heparinli plazma önerilir.

Pihti oluşumu tamamlandıktan sonra numuneleri santrifüje tabi tutun. Üst fazları saklamak üzere tüplere aktarın veya santrifüjden sonra iki saat içinde test edin. Örnekler, numune alındıktan sonra en kısa sürede test edilmelidir. Test işlemi 8 saat içinde tamamlanmazsa, numunelerin kapağı sıkıca kapatılmalı ve 2-8°C'de soğutulmalıdır. Test 72 saatten uzun süreyle ertelenemezse, numuneler -20°C veya daha düşük bir sıcaklıkta dondurulmalıdır.

Tekrarlı dondurma ve çözündürme döngülerinden kaçınınız.

Tayin Prosedürü

Bu tayinin optimal performansını için, operatörler ilgili sistem kullanım kılavuzunu dikkatle okuyarak kullanım talimatları, numunenin muhafazası ve yönetim, güvenlik tedbirleri ve bakım gibi konularda yeterli bilgi edinmelidir. Tayin için gerekli tüm malzemeleri de hazırlayınız.

LH (CLIA) reaktif kitini makineye ilk kez

yüklemeye önce, açılmamış reaktif şişesi en az 30 kez nazıke baş aşağı çevrilerek, nakliye veya saklama sırasında çıkan mikro partiküller yeniden süspansiyon haline getirilmelidir. Şişeyi görsel olarak incelemek suretiyle mikro partiküllerin yeniden süspansiyon haline getirildiğinden emin olun. Mikro partiküller şişeye yapışmış halde kalıyorsa, mikro partiküller tümüyle yeniden süspansiyon haline gelinceye kadar baş aşağı çevirmeye devam edin. Mikro partiküller yeniden süspansiyon haline getirilemezse, bu reaktif şişesinin kullanılmaması önerilir. Yardım için Mindray Müşteri Hizmetleri ile iletişime geçin. Açık bir reaktif şişesini baş aşağı çevirmeyin.

Bu tayinde, tek bir test için 15 µL numune gerekir. Bu hacim, numune kabının ölü hacmini içermez. Aynı numunedeki ek testler yaparken ilave hacim gerekir. Operatörler, minimum numune hacmini belirlemek için sistem kullanım kılavuzuna ve tayine özgü gereksinimlere başvurmalıdır.

Kalibrasyon

CL Serisi LH (CLIA), WHO Uluslararası Standardı Lüteinize Edici Hormon, İnsan, Pitüiter'e karşı standardize edilmiştir (NIBSC kodu: 80/552).

LH (CLIA) reaktif kitinin ana kalibrasyonu eğrisine ilişkin spesifik bilgiler reaktif paketine takılı iki boyutlu barkoda saklanır. Spesifik reaktif lotunun kalibrasyonu için kalibratörler ile birlikte kullanılır. Kalibrasyonu yaparken, önce barkoddaki ana kalibrasyon eğrisi bilgilerini tarayarak sisteme aktarın ve sonra kalibratörleri üç seviyede kullanın. Geçerli kalibrasyon eğrisi, herhangi bir LH testinden önce gereklidir. Her 4 haftada bir veya yeni bir reaktif lotu kullanılırken ya da kalite kontrolleri belirtilen aralık dışında olduğunda yeniden kalibrasyonu önerilir. Kalibrasyonla ilgili ayrıntılı talimatlar için sistem kullanım kılavuzuna başvurun.

Kalite Kontrolü

Testler kullanılmadıkça 24 saatte bir ya da her kalibrasyon işlemi sonrasında kalite kontrolleri yapılması önerilir. Kalite kontrol sıklığı, her laboratuvarın kendi gereksinimlerine göre uyarlanmalıdır. Bu tayin için önerilen iki kalite kontrolü seviyesi Mindray Reprodüktif Çoklu Analit Kontrolü (L) ve Reprodüktif Çoklu Analit Kontrolü (H)'dir.

Kalite kontrol sonuçları kabul edilebilir aralıklarda dahilinde olmalıdır. Bir kontrol belirtilen aralığının dışındaysa, ilişkili test sonuçları geçersiz olur ve numunelerin yeniden test edilmesi gerekir. Yeniden kalibrasyon yapılması gerekebilir. Sistem kullanım kılavuzuna başvurarak tayin sistemini muayene edin. Kalite kontrol sonuçları halen belirtilen aralık dışındaysa, yardım için lütfen Mindray Müşteri Hizmetleri ile iletişime geçin.

Hesaplama

Analizör, barkoddan okunan ana kalibrasyon eğrisi üzerinde her bir numunenin analit konsantrasyonunu ve tanımlı konsantrasyon değerlerinin üç seviye kalibratöründen

oluşturulan bağıl ışık birimleri (RLU) ile 4 Parametrelili Lojistik Eğri Uydurmayı (4PLC) otomatik olarak hesaplar. Sonuçlar mIU/mL birimi cinsinden gösterilir.

Dönüştürme faktörleri: mIU/mL x 1 = IU/L

Seyreltme

LH konsantrasyonu üst sınırı aşan numuneler, Mindray Numune Seyreltilmesi ile seyreltilir. Önerilen seyreltme oranı 1:4'dir (analizörle otomatik veya manuel olarak). Seyreltilmiş numune konsantrasyonu > 2 mIU/mL olmalıdır. Manuel seyreltme işleminden sonra sonucu seyreltme faktörüyle çarpın. Analizörlerle otomatik seyreltme yapıldıktan sonra sistem, numune konsantrasyonunu hesaplarken sonucu otomatik olarak seyreltme faktörüyle çarpır.

Beklenen değerler

565 sağlıklı bireyden oluşan (135 erkek ve 430 kadın) topluluk üzerinde yapılan genişletilmiş bir çalışma CL Serisi LH tayininin referans aralığını belirlemiştir.

Kategori	N	5-95. Persentil
Erkek	135	1,4-7,7 mIU/mL
Kadın	foliküler evre	1,9-11,6 mIU/mL
	ovülasyon dönemi	12,9-105,2 mIU/mL
	lüteal evre	0,8-10,5 mIU/mL
	menopoz sonrası	6,6-66,4 mIU/mL

Coğrafya, ırk, cinsiyet ve yaş varyasyonu nedeniyle, her laboratuvarın kendi referans aralığını belirlemesi önerilir.

Kısıtlama

Bu tayinin üst limiti 250 mIU/mL'dir. Üst limitten daha düşük bir LH konsantrasyonuna sahip numune kantitatif olarak belirlenebilirken, üst limitin üzerinde bir konsantrasyona sahip numune >250 mIU/mL olarak rapor edilir veya numunelerin Mindray Numune Seyreltilmesi ile seyreltilmesi.

Belirli bir numunenin farklı üreticilere ait tayinlerle belirlenen LH konsantrasyonu, tayin yöntemleri, kalibrasyon ve reaktif özgünlüğündeki farklılıklara bağlı olarak değişiklik gösterebilir. Tayin sonuçları diğer verilerle (semptomlar, diğer testlerin sonuçları, klinik hikaye vs.) birlikte kullanılmalıdır.

Fare monoklonal antikorlarına maruz kalan bireylerden alınan numuneler insan anti-fare antikorları (HAMA) içerebilir. Bu tür numuneler, fare monoklonal antikorlarının kullanıldığı tayin kitlerinde yanlış olarak yüksek veya baskılanmış değerler gösterebilir. Bununla birlikte, bu tayinde belirgin bir HAMA interferansı gözlenmemiştir.

Performans Özellikleri

Analitik Duyarlılık/Saptama Limiti

LH (CLIA) reaktif kitinin analitik duyarlılığı: ≤0,2

mIU/mL. Analitik duyarlılık, hiç analiz içermeyen bir numuneden ayırt edilebilen en düşük analit konsantrasyonu olarak tanımlanır. Analit içermeyen bir numunenin 20 ölçümünden elde edilen ortalama RLU değerinin üzerine çıkan iki standart sapmadaki LH konsantrasyonu olarak tanımlanır.

Rapor Edilebilir Aralık

Rapor edilebilir aralık, ana kalibrasyon eğrisinin üst limiti ve analitik duyarlılık ile tanımlanır. LH (CLIA) reaktif kitinin rapor edilebilir aralığı 0,2-250 mIU/mL'dir (veya 4 kat seyreltilen numuneler için üst sınır 1000 mIU/mL'dir).

Özgünlük

500 mg/dL'ye kadar hemoglobin, 10 mg/dL'ye kadar bilirubin, 1800 mg/dL'ye kadar trigliseridler ve total protein de 10,0 g/dL'ye kadar CL Serisi LH tayinine etki etmez. Bu maddeler, belirtilen konsantrasyonda %10'dan az interferans göstermektedir.

1500 IU/mL'ye kadar romatoid faktörden veya 4000 U/L'ye kadar antinükleer antikordan kaynaklanan belirgin bir interferans gözlenmemiştir.

Aşağıdaki tabloda belirtilen spesifik seviyelerde insan koryonik gonadotropin (HCG), folikül uyarıcı hormon (FSH) ve tiroid uyarıcı hormon (TSH) LH Kalibratör C0'a eklendiğinde hiçbir anlamlı çapraz reaktivite gözlenmemiştir. Sonuçlar, CL Serisi LH tayininde aşağıda belirtilen seviyelerde en fazla 2,0 mIU/mL göstermiştir.

Madde	İnterferans Madde Konsantrasyonu
HCG	1000 mIU/mL
FSH	200 mIU/mL
TSH	100 µIU/mL

Doğruluk

Bir WHO Uluslararası Standardı Lüteinize Edici Hormon, İnsan, Pitüiter numunesi (NIBSC kodu: 80/552) izlenebilir ve tanımlı değeriyle, bu tayinin doğruluğunu teyit etmek için kullanılmıştır. Sonuçlar, bağıl sapmanın ±%10'dan küçük olduğunu göstermiştir. Sonuçlar aşağıdaki tabloda listelenmektedir.

Numune	Ölçülen LH Değer (mIU/mL)	Tanımlı LH Değer (mIU/mL)	Bağıl Sapma
WHO LH	50,32	50,89	-1,13%

Tekrarlanabilirlik

CL Serisi LH tayini, tekrarlanabilirliği ≤10% (cihaz içi CV) olacak şekilde tasarlanmıştır. Tekrarlanabilirlik belirlenirken Klinik Laboratuvar Standartları Ulusal Komitesi (NCCLS) Protokol EP5-A2'ye uyulmuştur. 7 İki kalite kontrolü seviyesi, tek bir reaktif lotu ve tek bir kalibrasyon eğrisi kullanılarak, toplam 20 gün boyunca gün başına iki ayrı çalışmada iki kopya halinde test edilmiştir. Tekrarlanabilirlik verileri aşağıdaki tabloda özetlenmektedir.

Numune	Ortalama LH	Gün İçinde-	Günler Arası-	Cihazlar
--------	-------------	-------------	---------------	----------

	(mIU/mL)	çalışma CV	çalışma CV	İçin de-CV
1	10,21	3,29%	7,51%	8,20%
2	50,37	3,56%	5,20%	7,00%

Doğrusallık

Yüksek konsantrasyonda bir LH numunesi (yaklaşık 100 mIU/mL), düşük konsantrasyonda bir numune (<0,4 mIU/mL) ile farklı oranlarda karıştırılarak bir dizi dilüsyon üretilmiştir. Her bir dilüsyonun LH'si Mindray CL Serisi LH Tayini kullanılarak belirlenmiştir. Doğrusallık 0,4 mIU/mL ila 100 mIU/mL aralığında gösterilmiş olup, korelasyon katsayısı r ≥0,990'dır. Doğrusallık verileri aşağıdaki tabloda özetlenmektedir.

Konsantrasyon (mIU/mL)	1	2	3	4	5	6
Beklenen LH	0,31	27,38	54,45	81,52	108,59	135,66
Ölçülen LH	0,31	27,64	54,91	82,82	107,68	135,66

Yöntem Karşılaştırma

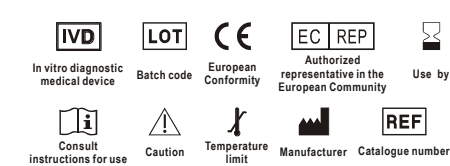
Mindray CL Serisi LH Tayini, yaklaşık 422 örneği içeren bir korelasyon çalışmasında piyasadan elde edilebilen bir tanı kitisiyle karşılaştırılmıştır. Deming hesaplaması kullanılarak elde edilen istatistiksel veriler aşağıdaki tabloda gösterilmektedir.

Konsantrasyon Aralığı (mIU/mL)	Eğim	Kesen	Korelasyon Katsayısı
0,15-210,85	1,1719	-0,9300	0,997

Uyarı ve Önemler

- Sadece in vitro diagnostik kullanım içindir.
- Laboratuvar reaktiflerinin muamelesinde tüm kurallara uyun ve gerekli güvenlik önlemlerini alın.
- Metodoloji ve antikor özgünlüğündeki farklılıklar nedeniyle, farklı üreticilerin reaktif kitleri Mindray sisteminde kullanıldığında veya Mindray reaktifleri başka sistemlerde kullanıldığında, aynı numunenin test sonuçları farklı olabilir.
- Reaktif kitlerini, son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.
- Farklı reaktif lotlarından karıştırılmış reaktifleri kullanmayın.
- Kullanım öncesi hiçbir mikro partikül kaybedilmesini sağlamak için reaktif paketini her zaman dik pozisyonda tutun.
- 28 günden fazla açık kalmış reaktif paketinin kullanılmaması önerilir.
- Bu prospektüsteki talimatlara uyulmadığı takdirde tayin sonuçlarının güvenilirliği garanti edilemez.
- Tüm numune ve reaksiyon atıkları potansiyel olarak biyolojik tehlikeli madde kabul edilmelidir. Numunelerin ve reaksiyon atıklarının muamelesi yerel düzenlemelere ve yönetmeliklere uygun olmalıdır.
- Madde Güvenliği Veri Sayfası (MSDS) istek üzerine temin edilir.

Grafiksel Semboller



Referanslar

- Bishop WH, Nureddin A, Ryan RJ. Pituitary Luteinizing and Follicle Stimulating Hormones. In: Parsons 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. In: Gonadotropins. Edited by Saxena BB, Gandy HM, Belling CG. 1972; New 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. In: Wilson JD and Foster DW, editors. 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.

© 2013 Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

Tüm hakları saklıdır

Üretici: Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

Adres: Mindray Building, Keji 12th Road South, Hi-tech Industrial Park, Nanshan, Shenzhen, 518057 Çin

E-posta Adresi: service@mindray.com

Web sitesi: www.mindray.com

Tel: +86-755-26582888

Faks: +86-755-26582680

AT Temsilcisi: Shanghai International Holding Corp. GmbH (Avrupa)

Adres: Eiffestraße 80, Hamburg 20537, Almanya

Tel: 0049-40-2513175

Faks: 0049-40-255726

LH

Hormone lutéinisante (CLIA)

Conditionnement

N° de référence	Nombre de tests
LH111	2x50 tests
LH112	2x100 tests
LH113	2x30 tests

Utilisation

Le dosage LH série CL est un dosage immunologique par chimiluminescence (CLIA) pour la détermination quantitative de l'hormone lutéinisante (LH) dans le sérum ou le plasma humain.

Résumé

L'hormone lutéinisante humaine (LH) est une glycoprotéine composée de deux sous-unités (chaînes α et β), à 219 acides aminés au total.^{1, 2} En dehors de l'hypophyse, il existe des substances comparables à la LH dans l'hypothalamus du rat, qui ont un effet négatif sur la libération de la LH. Il existe également des substances semblables à la HCG-LH dans le blastocyste de lapin 6~8d et le conceptus bovin 18d, qui stimulent les cellules du corps jaune pour synthétiser la progestérone.³ La sous-unité α de la LH est essentiellement identique aux sous-unités α de l'hormone folliculo-stimulante (FSH, follitropine), de l'hormone stimulant la thyroïde (TSH, thyroïdostimuline) et de la gonadotrophine chorionique humaine (HCG) dans la structure moléculaire. La sous-unité β est extrêmement différente de celle de la FSH et de la TSH. Toutefois, les sous-unités β de la LH et de la HCG sont similaires. Les différentes sous-unités β déterminent leurs spécificités immunitaires et physiologiques.⁴ La LH, avec la FSH, est sécrétée par les cellules gonadotropes de l'hypophyse en réponse à la sécrétion de l'hormone de libération de la gonadotrophine (GnRH) à partir de l'hypothalamus médio-basal.^{3, 5} La LH et la FSH régulent et stimulent la croissance et la fonction des glandes sexuelles (ovaires et testicules) en synergie. La LH régule le cycle menstruel chez les femmes en synergie avec la FSH, provoquant la libération de l'ovule et la formation de corps jaune, qui sécrète la progestérone et l'œstrogène. La biosynthèse de la LH a été contrôlée par l'hormone de libération de la gonadotrophine (GnRH) dans l'hypothalamus. Pendant ce temps, les stéroïdes ovariens exercent une rétroaction positive ou négative sur la libération de la LH. La détermination de la LH avec la FSH est utilisée pour préciser les causes de l'aménorrhée (aménorrhée primaire ou secondaire) chez les femmes et les causes de l'insuffisance testiculaire chez les hommes. Le pic de LH a un lien réel avec l'ovulation dans le cycle menstruel. L'ovulation survient toujours dans les 24 à 36 heures après le pic de LH. Par conséquent, la détermination et le suivi de la concentration de LH dans le sérum pendant le cycle menstruel peuvent définir la période optimale de fertilité. Les détections en série de la LH pendant 6 à 8 jours au milieu du cycle des femmes ayant un cycle menstruel régulier peuvent mettre en évidence le pic de libération. La détermination de la LH est utile dans le diagnostic et le traitement de la stérilité ainsi que des troubles de

l'hypophyse et des glandes sexuelles.⁶

Principe du dosage

Le dosage de LH série CL est un dosage immunoenzymatique selon la méthode sandwich permettant de déterminer le niveau de concentration de LH.

Dans la première étape, l'échantillon et des microparticules paramagnétiques recouvertes d'anticorps monoclonal anti-LH de souris sont ajoutés dans une cuvette réactionnelle. Après incubation, la LH présente dans l'échantillon se lie aux microparticules recouvertes d'anticorps monoclonal anti-LH (souris). Les microparticules sont magnétiquement capturées tandis que les autres substances non liées sont éliminées par lavage.

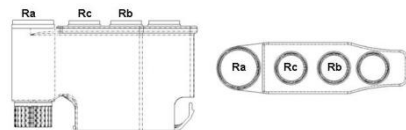
Dans la deuxième étape, un conjugué d'anticorps monoclonal anti-LH de souris-phosphatase alcaline a été ajouté dans la cuvette réactionnelle. Le conjugué d'anticorps monoclonal anti-LH de souris-phosphatase alcaline se lie à un autre site de réaction de la LH qui est liée aux microparticules paramagnétiques recouvertes d'anticorps de LH pour former un complexe en sandwich. Les microparticules sont magnétiquement capturées tandis que les autres substances non liées sont éliminées par lavage.

Dans la troisième étape, la solution de substrat est ajoutée dans la cuvette réactionnelle. Elle est catalysée par le conjugué d'anticorps monoclonal anti-LH de souris-phosphatase alcaline dans le complexe immun retenu sur la microparticule. La réaction de chimiluminescence résultante est mesurée en unités relatives de lumière (RLU) par un photomultiplicateur intégré au système. La quantité de LH présente dans l'échantillon est proportionnelle aux unités relatives de lumière (RLU) produites au cours de la réaction. La concentration de LH est déterminée au moyen d'une courbe de calibration.

Composition des réactifs

Ra	Microparticules paramagnétiques recouvertes d'anticorps monoclonal anti-LH (souris) dans un tampon TRIS avec des conservateurs.
Rb	Conjugué d'anticorps monoclonal anti-LH (souris)-phosphatase alcaline dans du tampon MES avec des conservateurs.
Rc	Tampon MES avec des conservateurs.

La position de chaque réactif est représentée sur la figure ci-dessous (vue de face sur la gauche et vue de dessus à droite) :



Stockage et stabilité

Le kit de réactif de LH non ouvert (CLIA) est stable jusqu'à la date de péremption indiquée lorsqu'il est conservé à 2-8 °C.

Le kit de réactif de LH (CLIA) peut être conservé à bord et utilisé pendant 28 jours maximum après

ouverture et conservé à 2-8 °C.

Préparation du réactif

Ra : Prêt à l'emploi

Rb : Prêt à l'emploi

Rc : Prêt à l'emploi

Matériel nécessaire mais non fourni

Analyseur de dosage immunologique par chimiluminescence Mindray série CL

N° de réf. LH211 : calibrateurs de la LH Mindray, 1x2 ml pour chaque calibrateur de C0, C1 et C2.

N° de réf. LH212 : calibrateurs de la LH Mindray, 1x1,2 ml C0, 1x1 ml C1 et 1x1 ml C2.

N° de réf. RHL311/RHL312 : contrôle Mindray multiparamétrique de la fonction de procréation (B), 6x5 ml/12x5 ml.

N° de réf. RHH311/RHH312 : contrôle Mindray multiparamétrique de la fonction de procréation (H), 6x5 ml/12x5 ml.

N° de réf. RHL313/RHL314 : contrôle Mindray multiparamétrique de la fonction de procréation (B), 1x5 ml/3x5 ml.

N° de réf. RHH313/RHH314 : contrôle Mindray multiparamétrique de la fonction de procréation (H), 1x5 ml/3x5 ml.

N° de réf. WB411 : tampon de lavage Mindray, 1x10 l.

N° de réf. CS511/CS512 : solution de substrat Mindray, 4x115 ml/4x75 ml.

Cuvettes réactionnelles Mindray.

Instrument dédié

Analyseur de dosage immunologique par chimiluminescence Mindray série CL

Prélèvement et préparation des échantillons

Le sérum ou le plasma humain prélevé sur de l'EDTA, de l'héparine sodique et de l'héparine de lithium est recommandé pour ce dosage.

Centrifugez les échantillons après la formation du caillot. Transférez les surnageants dans des tubes pour le stockage ou effectuez le test dans les deux heures après la centrifugation.

Les échantillons doivent être dosés dès que possible après le prélèvement. Si le dosage n'est pas effectué dans les 8 heures, les échantillons doivent être hermétiquement fermés et réfrigérés à 2-8 °C. Si le test doit être retardé pendant plus de 72 heures, les échantillons doivent être congelés à -20 °C ou moins.

Évitez les cycles de congélation et de décongélation.

Procédure du dosage

Pour des performances optimales de ce dosage, les opérateurs doivent lire attentivement le manuel d'utilisation du système concerné, afin d'obtenir suffisamment d'informations telles que les instructions de fonctionnement, la préservation et la gestion des échantillons, les précautions de sécurité et la maintenance. Préparez également tout le matériel requis pour le test.

Avant de charger le kit de réactif de LH (CLIA) sur la machine pour la première fois, le flacon de réactif non ouvert doit être retourné délicatement au moins 30 fois pour remettre en suspension les microparticules qui se sont déposés pendant le transport ou le stockage. Inspectez visuellement le flacon pour vous assurer que les microparticules ont été remises en suspension. Si les microparticules

restent collées au flacon, continuez à le retourner jusqu'à ce que les microparticules soient complètement remises en suspension. Si les microparticules ne peuvent pas être remises en suspension, il est recommandé de ne pas utiliser ce flacon de réactif. Contactez le service Client de Mindray pour obtenir de l'aide. Ne pas retourner un flacon de réactif ouvert.

Ce dosage nécessite un volume de 15 µl d'échantillon par test. Ce volume ne comprend pas le volume mort du contenant de l'échantillon. Un volume complémentaire est nécessaire lors de l'exécution de tests supplémentaires du même échantillon. Les opérateurs doivent se référer au manuel d'utilisation du système et aux exigences spécifiques du dosage afin de déterminer le volume d'échantillon minimal.

Calibration

La LH série CL (CLIA) a été standardisée selon la norme internationale de l'OMS sur l'hormone lutéinisante humaine de l'hypophyse (code NIBSC : 80/552).

Les informations spécifiques de la courbe de calibration principale du kit de réactif de LH (CLIA) sont enregistrées dans le code à barres à deux dimensions apposé sur la cartouche de réactif. Elles sont utilisées avec les calibrateurs pour la calibration du lot de réactif spécifique. Lors de la calibration, commencez par numériser les informations de la courbe de calibration principale sur le code à barres dans le système, puis utilisez les calibrateurs à trois niveaux. Une courbe de calibration valide est nécessaire avant tout dosage de LH. Une nouvelle calibration est recommandée toutes les 4 semaines, ou quand un nouveau lot de réactif est utilisé ou quand les contrôles de qualité sont hors des intervalles de confiance. Pour des instructions détaillées sur la calibration, reportez-vous au manuel d'utilisation du système.

Contrôle de qualité

Il est recommandé d'effectuer des contrôles qualité une fois toutes les 24 h si les tests sont en cours ou après chaque calibration. La fréquence des contrôles qualité doit être adaptée en fonction des exigences de chaque laboratoire. Les contrôles de qualité à deux niveaux recommandés pour ce dosage sont le contrôle Mindray multiparamétrique de la fonction de procréation (B) et le contrôle Mindray multiparamétrique de la fonction de procréation (H).

Les résultats du contrôle de qualité doivent être dans les intervalles de confiance. Si un contrôle est hors de cette plage, les résultats de test associés ne sont pas valides et les échantillons doivent être testés à nouveau. Une recalibration peut être nécessaire. Examinez le système de dosage en vous référant au manuel d'utilisation du système. Si les résultats du contrôle de qualité sont toujours en dehors de cette plage, veuillez contacter le service Client de Mindray pour obtenir de l'aide.

Calcul

L'analyseur calcule automatiquement la concentration en analyte de chaque échantillon sur la courbe de calibration principale lue à partir du code à barres, et un modèle mathématique à quatre paramètres (4PLC) avec les unités relatives de lumière (RLU) est généré à partir des calibrateurs

à trois niveaux des valeurs de concentration déterminées. Les résultats sont présentés dans l'unité mIU/ml.

Facteur de conversion : mIU/ml x 1 = U/I

Dilution

Les échantillons présentant une concentration en LH dépassant la limite supérieure peuvent être dilués à l'aide du diluant pour échantillons Mindray. Une dilution (automatisée par l'analyseur ou manuelle) au 1:4 est recommandée. La concentration de l'échantillon dilué doit être >2 mIU/ml. Après une dilution manuelle, multipliez le résultat par le facteur de dilution. Après une dilution automatisée par les analyseurs, le système multiplie automatiquement le résultat par le facteur de dilution lors du calcul de la concentration de l'échantillon.

Valeurs attendues

Une étude sur une cohorte de 565 personnes en bonne santé (135 hommes et 430 femmes) a déterminé la plage de référence du dosage de LH série CL.

Catégorie		N	Valeurs de référence (Intervalle central à 95%)
Homme		135	1,4-7,7 mIU/ml
Femme	phase folliculaire	125	1,9-11,6 mIU/ml
	période d'ovulation	43	12,9-105,2 mIU/ml
	phase lutéale	128	0,8-10,5 mIU/ml
	postménopause	134	6,6-66,4 mIU/ml

En raison de la variation de l'emplacement géographique, de l'origine ethnique, du sexe et de l'âge, il est fortement recommandé à chaque laboratoire d'établir sa propre plage de référence.

Limitation

La limite de linéarité de ce dosage est de 250 mIU/ml. Un échantillon avec une concentration de LH inférieure à cette limite est déterminé quantitativement, tandis qu'un échantillon avec une concentration plus élevée que cette limite supérieure sera signalé comme >250 mIU/ml ou diluer les échantillons à l'aide du diluant pour échantillons Mindray.

La concentration de LH dans un échantillon donné, déterminée par des dosages provenant de différents fabricants, peut varier en raison de différences dans les méthodes de dosage, la calibration et la spécificité du réactif. Les résultats du dosage doivent être utilisés avec d'autres données, comme les symptômes, les résultats d'autres tests, les antécédents cliniques, etc.

Un échantillon de personnes ayant été exposées à des anticorps monoclonaux de souris peut contenir des anticorps humains anti-souris (HAMA). Ces échantillons peuvent indiquer des valeurs faussement élevées ou faibles avec des kits de dosage utilisant des anticorps monoclonaux de souris. Cependant, aucune interférence significative avec des patients ayant des HAMA n'a été observée avec ce dosage.

Caractéristiques des performances

Sensibilité analytique/limite de détection

Le kit de réactif de LH (CLIA) a une sensibilité analytique de $\leq 0,2$ mIU/ml. La sensibilité analytique est définie comme la plus faible concentration d'analyte qui peut être distinguée à partir d'un échantillon qui ne contient pas d'analyte. Elle est définie comme la concentration de LH à deux écarts types en dessous du nombre moyen de RLU issu de 20 mesures d'un échantillon sans analyte.

Gamme de mesure

La gamme de mesure est définie par la sensibilité analytique et la limite supérieure de la courbe de calibration principale. La gamme de mesure du kit de réactif de LH (CLIA) est de 0,2 à 250 mIU/ml (ou la limite supérieure dépasse 1000 mIU/ml pour les échantillons soumis à une dilution de raison 4).

Spécificité

L'hémoglobine jusqu'à 500 mg/dl, la bilirubine jusqu'à 10 mg/dl, les triglycérides jusqu'à 1 800 mg/dl et la protéine totale jusqu'à 10 g/dl n'interfèrent pas avec le dosage de LH série CL. Ces substances présentent moins de 10 % d'interférences à la concentration indiquée.

Aucune interférence significative n'a été observée avec le facteur rhumatoïde jusqu'à 1500 U/ml ou des anticorps antinucléaires jusqu'à 4000 U/l.

Aucune réactivité croisée significative n'a été observée lorsque la gonadotrophine chorionique humaine (HCG), l'hormone folliculo-stimulante (FSH) et l'hormone stimulant la thyroïde (TSH) ont été ajoutées au calibrateur CO LH, à des niveaux spécifiques indiqués dans le tableau ci-dessous. Les résultats n'ont pas montré plus de 2 mIU/ml dans le dosage de LH série CL aux niveaux indiqués ci-dessous.

Substance	Concentration
HCG	1000 mIU/ml
FSH	200 mIU/ml
TSH	100 μ IU/ml

Exactitude

Échantillon	Valeur de LH mesurée (mIU/ml)	Valeur de LH définie (mIU/ml)	Écart relatif
LH OMS	50,32	50,89	-1,13%

Précision

Le dosage de LH série CL est conçu pour avoir une précision de ≤ 10 % (CV dans l'appareil). La précision a été déterminée par le protocole EP5-A2 du Comité national pour les normes de laboratoire cliniques (NCCLS). 7 Deux niveaux de contrôle qualité ont été testés en double dans deux séries distinctes par jour, pendant un total de 20 jours, en utilisant un seul lot de réactif et une courbe de calibration unique. Les données de précision sont résumées dans le tableau ci-dessous.

Échantillon	LH moyenne (mIU/ml)	CV intra-série	CV inter-séries	CV dans l'appareil
1	10,21	3,29%	7,51%	8,20%
2	50,37	3,56%	5,20%	7,00%

Linéarité

Un échantillon de LH de forte concentration (environ 100 mIU/ml) a été mélangé avec un échantillon de faible concentration (<0,4 mIU/ml) à différents rapports, générant ainsi une série de dilutions. La LH de chaque dilution a été mesurée en utilisant le dosage de LH Mindray série CL. La linéarité a été évaluée dans la plage de 0,4 mIU/ml à 100 mIU/ml. Le coefficient de corrélation r est $\geq 0,990$. Les données de linéarité sont résumées dans le tableau ci-dessous.

Concentration (mIU/ml)	1	2	3	4	5	6
LH prévue	0,31	27,38	54,45	81,52	108,59	135,66
LH mesurée	0,31	27,64	54,91	82,82	107,68	135,66

Méthode de comparaison

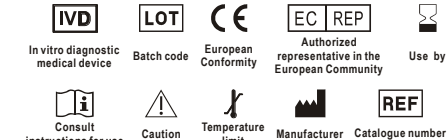
Le dosage de LH série CL Mindray a été comparé à un kit de diagnostic disponible dans le commerce dans une étude de corrélation avec 422 échantillons. Les données statistiques obtenues selon le mode de calcul Deming sont présentées dans le tableau ci-dessous.

Plage de concentration (pg/ml)	Pente	Intersection	Coefficient de corrélation
0,15-210,85	1,1719	-0,9300	0,997

Avertissements et précautions

- Pour le diagnostic in-vitro uniquement.
- Suivez toutes les règles de manipulation de réactifs de laboratoire et prenez les précautions de sécurité nécessaires.
- En raison des différences dans les méthodes et la spécificité des anticorps, les résultats de test d'un même échantillon peuvent être différents en utilisant des kits de réactif de fabricants différents sur le système Mindray, ou en utilisant des kits de réactif Mindray sur d'autres systèmes.
- Ne pas utiliser les kits de réactif au-delà de la date de péremption.
- Ne pas utiliser de réactifs provenant de différents lots de réactif.
- Maintenez toujours la cartouche de réactif en position verticale afin de vous assurer qu'aucune microparticule n'a été perdue avant utilisation.
- Il n'est pas recommandé d'utiliser une cartouche de réactif ouverte depuis plus de 28 jours.
- La fiabilité des résultats du dosage ne peut être garantie si les instructions de cette notice ne sont pas respectées.
- Tous les échantillons et déchets de réactions doivent être considérés comme présentant potentiellement un risque biologique. La manipulation des échantillons et des déchets de réactions doit être effectuée en conformité avec l'arrêté et les directives locales.
- La fiche d'information sur la sécurité du matériel (FDSM) est disponible sur demande.

Symboles graphiques



Références

- Bishop WH, Nureddin A, Ryan RJ. Pituitary Luteinizing and Follicle Stimulating Hormones. In: 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. In: Gonadotropins. Edited by Saxena BB, Gandy HM, Beling CG. 1972; New 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. In: Wilson JD and Foster DW, editors. 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.

© 2013 Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

Tous droits réservés

Fabricant : Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Ltd.

Adresse : Mindray building, Keji 12th Road South, Hi-tech Industrial Park, Nanshan, Shenzhen. 518057 Chine

Adresse électronique : service@mindray.com

Site Web : www.mindray.com

Tél. : +86-755-26582888

Fax : +86-755-26582880

Représentant EC : Shanghai International Holding Corp. GmbH (Europe)

Adresse : Eiffestraße 80, Hambourg 20537, Allemagne

Tél. : 0049-40-2513175

Fax : 0049-40-255726