

 IMMULITE[®]
2000

LH

DPC[®]

IMMULITE[®] 2000 LH

English

Intended Use: For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE 2000 Analyzer — for the quantitative measurement of LH in serum, as an aid in clinical diagnosis.

Catalog Number: **L2KLH2** (200 tests), **L2KLH6** (600 tests)

Test Code: **LH** Color: **Red**

CDC Analyte Identifier Code: 3713

CDC Test System Identifier Code: 10418

CLIA Complexity Category: Moderate

Summary and Explanation

Luteinizing hormone (lutropin, LH), a glycoprotein of 28,000 daltons, is secreted by the β -cells of the anterior pituitary under the control of the hypothalamic gonadotropin releasing hormone (GnRH). LH consists of two polypeptide chains, alpha and beta. The alpha chains of LH, FSH, TSH and HCG are biochemically identical, whereas the beta chains are biochemically unique, conferring bioactivity and biological and immunological specificity. In females, LH causes ovulation and steroid (estrogen and progesterone) production by the corpus luteum. Small quantities of LH are also necessary to promote estrogen production by the maturing follicle. In males, it stimulates interstitial (Leydig) cells to produce androgens and estrogens. Circulating levels of LH are controlled by a negative feedback effect on the hypothalamus by the steroid hormones. LH secretion, different for the two sexes and required for normal sexual function, occurs in pulses with rapid fluctuations over the entire reference range. Values for samples obtained in a single day from the same patient may therefore vary widely.

LH measurements are used to define the hypothalamic-pituitary-gonadal axis. Serum gonadotropin determinations permit distinguishing between primary gonadal failure and deficient gonadal stimulation. If LH and FSH levels are elevated, primary gonadal failure is present, whereas if gonadotropin levels

are low, deficient gonadal stimulation has resulted in the hypogonadal state. LH measurement is also clinically important because LH and growth hormone are frequently the first hormones to be affected by pituitary disease.

Serum LH determinations have been very useful in the diagnosis and treatment of infertility in women. A midcycle rise is a good indication that ovulation will occur approximately 24 hours later. Subfertile couples, and women being treated with gonadotropins for infertility, can be informed that ovulation is imminent.

Principle of the Procedure

IMMULITE 2000 LH is a solid-phase, two-site chemiluminescent immunometric assay.

Incubation Cycles: 1 × 30 minutes.

Specimen Collection

The use of an ultracentrifuge is recommended to clear lipemic samples.

Hemolyzed samples may indicate mistreatment of a specimen before receipt by the laboratory; hence the results should be interpreted with caution.

Centrifuging serum samples before a complete clot forms may result in the presence of fibrin. To prevent erroneous results due to the presence of fibrin, ensure that complete clot formation has taken place prior to centrifugation of samples. Some samples, particularly those from patients receiving anticoagulant therapy, may require increased clotting time.

Blood collection tubes from different manufacturers may yield differing values, depending on materials and additives, including gel or physical barriers, clot activators and/or anticoagulants. IMMULITE 2000 LH has not been tested with all possible variations of tube types.

Volume Required: 75 μ L serum.

Storage: 2 weeks at 2–8°C, or 2 months at –20°C.¹¹

Since LH is known to exhibit a small circadian rhythm, the time of collection should be noted

Warnings and Precautions

For *in vitro* diagnostic use.

Reagents: Store at 2–8°C. Dispose of in accordance with applicable laws.

Follow universal precautions, and handle all components as if capable of transmitting infectious agents. Source materials derived from human blood were tested and found nonreactive for syphilis; for antibodies to HIV 1 and 2; for hepatitis B surface antigen; and for antibodies to hepatitis C.

Sodium azide, at concentrations less than 0.1 g/dL, has been added as a preservative. On disposal, flush with large volumes of water to prevent the buildup of potentially explosive metal azides in lead and copper plumbing.

Chemiluminescent Substrate: Avoid contamination and exposure to direct sunlight. (See insert.)

Water: Use distilled or deionized water.

Materials Supplied

Components are a matched set. Labels on the inside box are needed for the assay.

LH Bead Pack (L2LH12)

With barcode. 200 beads, coated with monoclonal murine anti-LH. Stable at 2–8°C until expiration date.

L2KLH2: 1 pack. **L2KLH6:** 3 packs.

LH Reagent Wedge (L2LHA2)

With barcode. 11.5 mL alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to polyclonal goat anti-LH in buffer. Stable at 2–8°C until expiration date.

L2KLH2: 1 wedge. **L2KLH6:** 3 wedges.

Before use, tear off the top of the label at the perforations, without damaging the barcode. Remove the foil seal from the top of wedge; snap the sliding cover down into the ramps on the reagent lid.

LH Adjustors (LLHL, LLHH)

Two vials (Low and High) of lyophilized LH in a nonhuman serum matrix. Reconstitute each vial with **4.0 mL** distilled or deionized

water. Stable at 2–8°C for 30 days after reconstitution, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.

L2KLH2: 1 set. **L2KLH6:** 2 sets.

Before making an adjustment, place the appropriate Aliquot Labels (supplied with the kit) on test tubes so that the barcodes can be read by the on-board reader.

Kit Components Supplied Separately

L2SUBM: Chemiluminescent Substrate

L2PWSM: Probe Wash

L2KPM: Probe Cleaning Kit

LRXT: Reaction Tubes (disposable)

CON6: Tri-level, multi-constituent control

Also Required

Distilled or deionized water; test tubes; controls.

Assay Procedure

Note that for optimal performance, it is important to perform all routine maintenance procedures as defined in the IMMULITE 2000 Operator's Manual.

See the IMMULITE 2000 Operator's Manual for: preparation, setup, dilutions, adjustment, assay and quality control procedures.

Recommended Adjustment Interval: 4 weeks.

Quality Control Samples: Use controls or serum pools with at least two levels (low and high) of LH.

Expected Values

Based on its relationship to DPC's IMMULITE LH (see Method Comparison), the assay can be expected to have essentially the same reference ranges.

Reference ranges were generated using IMMULITE LH in a multi-national study involving women in apparent good health (age: 16 – 44 years), who volunteered to have blood samples drawn, on a daily basis, throughout one complete ovulatory cycle.

Ovulatory Cycles	n*	LH, mIU/mL	
		Median	Central 95%
Follicular Phase	54 (762)	4.6	1.1 – 11.6
Midcycle	54 (54)	39	17 – 77
Luteal Phase	54 (658)	4.3	ND – 14.7
Perimenstrual, ± 8 days	54 (959)	3.9	ND – 12.0

*Number of subjects (total number of results)

Group	n	LH, mIU/mL	
		Median	Central 95%
Adult Males	135	2.4	0.8 – 7.6
Adult Females:			
Postmenopausal*	75	24.9	11.3 – 39.8
Oral Contraceptives	104	3.1	ND – 8.0

*Preliminary
ND: Not detectable

See Menstrual Cycle Graph (Tables and Graphs section).

A cross-sectional study of pediatric fertility values performed with IMMULITE LH at a "wellness" clinic in the southwestern United States yielded the following results.

Group	Age (yr)	n	LH, mIU/mL	
			Median	Central 95%
Females	Cord	31	ND	
	0.1 – 1.5	46	0.7	ND – 2.3
	1.6 – 9	38	ND	ND – 1.3
Males	Cord	36	ND	ND – 3.6
	0.1 – 1.5	54	1.0	ND – 4.1
	1.6 – 9	46	ND	ND – 3.8
Combined	Cord	67	ND	ND – 3.5
	0.1 – 1.5	100	0.7	ND – 3.7
	1.6 – 9	84	ND	ND – 3.2

ND: Not detectable.

Consider these limits as *guidelines* only. Each laboratory should establish its own reference ranges.

Limitations

Because of pulsatile secretion, samples obtained within the same day from the same patient may fluctuate widely within the reference range, reflecting physiological variation rather than errors in technique or methodology.

The assay's crossreactivity to HCG is low and will not have impact under normal circumstances. However, for samples with very high levels of HCG, such as pregnancy samples, samples from trophoblastic disease or testicular cancer patients, LH may be falsely elevated due to crossreactivity to HCG.

Heterophilic antibodies in human serum can react with the immunoglobulins included in the assay components causing interference with *in vitro* immunoassays. [See Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Samples from patients routinely exposed to animals or animal serum products can demonstrate this type of interference potentially causing an anomalous result. These reagents have been formulated to minimize the risk of interference; however, potential interactions between rare sera and test components can occur. For diagnostic purposes, the results obtained from this assay should always be used in combination with the clinical examination, patient medical history, and other findings.

Performance Data

See Tables and Graphs for data *representative* of the assay's performance. Results are expressed in mIU/mL. (Unless otherwise noted, all were generated on serum samples collected in tubes without gel barriers or clot-promoting additives.)

Calibration Range: up to 200 mIU/mL (WHO 1st IRP 68/40 and 2nd IS 80/552)

Analytical Sensitivity: 0.05 mIU/mL.

High-dose Hook Effect:
None up to 85,000 mIU/mL.

Precision: Samples were assayed in duplicate over the course of 20 days, two runs per day, for a total of 40 runs and 80 replicates. (See "Precision" table.)

Linearity: Samples were assayed under various dilutions. (See "Linearity" table for representative data.)

Recovery: Samples spiked 1 to 19 with four LH solutions (200, 400, 1,000 and 2,000 mIU/mL) were assayed. (See "Recovery" table for representative data.)

Specificity: The antibody is highly specific for LH. (See "Specificity" table.)

Bilirubin: Presence of bilirubin in concentrations up to 200 mg/L has no effect on results, within the precision of the assay.

Hemolysis: Presence of hemoglobin in concentrations up to 188 mg/dL has no effect on results, within the precision of the assay.

Lipemia: Presence of triglycerides in concentrations up to 3,000 mg/dL has no effect on results, within the precision of the assay.

Method Comparison: The assay was compared to DPC's IMMULITE LH on 105 samples. (Concentration range: approximately 1 to 140 mIU/mL.) By linear regression:

$$(IML\ 2000) = 1.04 (IML) - 0.25\ mIU/mL$$

$$r = 0.972$$

Means:

26 mIU/mL (IMMULITE 2000)
26 mIU/mL (IMMULITE)

References

- 1) Beitens I, et al. Gonadotropin determinations in timed 3-hour urine collections during the menstrual cycle and lhrh testing. *J Clin Endo Metab* 1976;43:46-55.
- 2) Chipman J, et al. Interrelationship of plasma and urinary gonadotropins: correlations for 24 hours, for sleep/wake periods, and for 3 hours after luteinizing hormone-releasing hormone stimulation. *Clin Endo Metab* 1981;52:225-30.
- 3) Davidsohn I, Henry J, editors. *Clinical diagnosis by laboratory methods*. 15th ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1974:704.
- 4) Kulin H, et al. Integration of pulsatile gonadotropin secretion by timed urinary measurements: an accurate and sensitive 3-hour test. *J Clin Endo Metab* 1975;40:783-9.
- 5) Kulin H, Santner S. Timed urinary gonadotropin measurements in normal infants, children, and adults, and in patients with disorders of sexual maturation. *J Pediatrics* 1977;90:760-5.
- 6) Nankin H, et al. Repetitive luteinizing hormone elevations in serum of normal men. *J Clin Endo Metab* 1972;33:558-60.
- 7) Odell W, et al. Radioimmunoassay for luteinizing hormone in human plasma or serum. *J Clin Invest* 1967;46:248.
- 8) Rebar R, Yen S. In: Dorothy Krieger, editor. *Endocrine rhythms*. New York: Raven Press, 1979.
- 9) Santner S, Santen R, Kulin H, Demers L. A model for validation of radioimmunoassay kit reagents: measurement of follitropin and lutropin in blood and urine. *Clin Chem* 1981;27:1892-5.
- 10) Urban M, et al. Comparison of estimates of gonadotropin levels by isolated blood samples, integrated blood concentrations, and timed urinary fractions. *J Clin Endo Metab* 1979;48:732-5.
- 11) Burtis CA,

Ashwood ER, editors. *Tietz textbook of clinical chemistry*. 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1994: 920

Technical Assistance

In the United States, contact DPC's Technical Services department.
Tel: 800.372.1782 or 973.927.2828
Fax: 973.927.4101. Outside the United States, contact your National Distributor.

Manufactured by EURO/DPC Ltd. under a Quality System registered to ISO 13485:2003.

Tables and Graphs

Linearity (mIU/mL)

	Dilution ¹	Observed ²	Expected ³	%O/E ⁴
1	8 in 8 ⁵	1.9	—	—
	4 in 8	0.81	0.95	85%
	2 in 8	0.62	0.48	88%
	1 in 8	0.18	0.24	75%
2	8 in 8	14	—	—
	4 in 8	6.8	7.0	97%
	2 in 8	3.3	3.5	94%
	1 in 8	1.5	1.8	83%
3	8 in 8	24	—	—
	4 in 8	12	12	100%
	2 in 8	6.3	6.0	105%
	1 in 8	2.9	3.0	97%
4	8 in 8	54	—	—
	4 in 8	26	27	96%
	2 in 8	14	14	100%
	1 in 8	6.7	6.8	99%
5	8 in 8	105	—	—
	4 in 8	55	53	104%
	2 in 8	28	26	108%
	1 in 8	12	13	92%
6	8 in 8	154	—	—
	4 in 8	77	77	100%
	2 in 8	37	39	95%
	1 in 8	19	19	100%

Precision (mIU/mL)

	Mean ³	Within-Run ¹		Total ²	
		SD ⁴	CV ⁵	SD	CV
1	0.15	0.02	13.1	0.036	23.9%
2	0.29	0.015	5.11	0.075	26.3%
3	1.04	0.032	3.04	0.069	6.6%
4	1.89	0.07	3.71	0.118	6.2%
5	8.7	0.31	3.6%	0.58	6.7%
6	20	0.68	3.4%	1.4	7.0%
7	28	1.1	3.9%	1.7	6.1%
8	96	3.7	3.9%	6.4	6.7%
9	170	6.0	3.5%	12	7.1%

Recovery (mIU/mL)

	Solution ¹	Observed ²	Expected ³	%O/E ⁴
1	—	1.9	—	—
	A	13	12	108%
	B	23	22	105%
	C	55	52	106%
	D	108	102	106%
2	—	14	—	—
	A	23	23	100%
	B	34	33	103%
	C	69	63	110%
	D	128	113	113%
3	—	26	—	—
	A	37	35	106%
	B	51	45	113%
	C	84	75	112%
	D	144	125	115%
4	—	54	—	—
	A	62	61	102%
	B	79	71	111%
	C	105	101	104%
	D	166	151	110%
5	—	105	—	—
	A	108	110	98%
	B	128	120	107%
	C	157	150	105%
	D	220	200	110%

Specificity

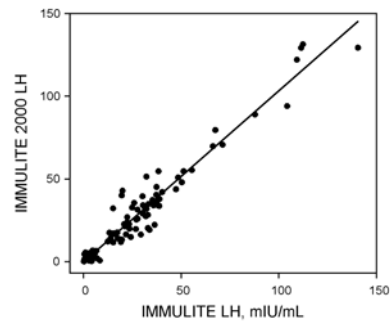
Compound ¹	Amount Added ²	Apparent LH ³	% Cross reactivity ⁴
TSH	32 ng/mL (158 µIU/mL)	ND	ND
FSH	18 ng/mL (345 mIU/mL)	ND	ND
HCG	104 ng/mL (970 mIU/mL)	0.213 ng/mL (2.44 mIU/mL)*	0.20%

* The crossreactivity to multiple levels of HCG is shown below.⁵

Compound	mIU/mL Added	Apparent LH mIU/mL	% Cross reactivity ⁴
	230	0.76	0.33%
HCG	970	2.44	0.25%
	2631	6.1	0.23%

ND: Not detectable.⁶

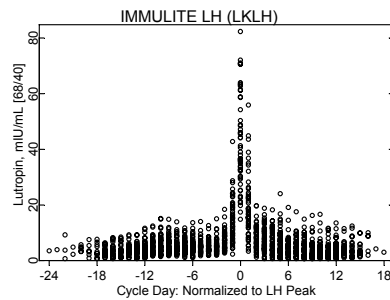
Method Comparison



$$(IML\ 2000) = 1.04 (IML) - 0.25\ mIU/mL$$

$$r = 0.972$$

Menstrual Cycle Graph



Deutsch. Precision: ¹Intra-Assay, ²Gesamt, ³Mittelwert, ⁴SD (Standardbereich), ⁵CV (Variationskoeffizient). **Linearity:** ¹Verdünnung,

²Beobachten (B), ³Erwarten (E), ⁴% B/E, ⁵8 in 8.
Recovery: ¹Lösung, ²Beobachten (B), ³Erwarten (E), ⁴% B/E. **Specificity:** ¹Verbindung, ²zugesezte Menge, ³gemessenes LH, ⁴% Kreuzreaktivität, ⁵Die Kreuzreaktivität bei verschiedenen HCG-Konzentrationen wurde in der folgenden Tabelle dargestellt. ⁶NN: Nicht nachweisbar. **Menstrual Cycle Graph.** Cycle Day: Normalized to LH Peak: Zyklustag: bezogen auf LH-Peak

Español. Precision: ¹Intraensayo, ²Total, ³Media, ⁴DS, ⁵CV. **Linearity:** ¹Dilución, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E, ⁵8 en 8. **Recovery:** ¹Solución, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E. **Specificity:** ¹Compuesto, ²Cantidad añadida, ³LH aparente, ⁴% Reacción cruzada, ⁵La reactividad cruzada a múltiples niveles de HCG se muestran abajo ⁶ND: no detectable. **Menstrual Cycle Graph.** Cycle Day: Normalized to LH Peak: Día del Ciclo: referido al pico de LH

Français. Precision: ¹Intraessai, ²Total, ³Moyenne, ⁴SD, ⁵CV. **Linearity:** ¹Dilution, ²Observé (O), ³Attendu (A), ⁴%O/A, ⁵8 dans 8. **Recovery:** ¹Solution, ²Observé (O), ³Attendu (A), ⁴%O/A. **Specificity:** ¹Composé, ²ajouté, ³LH apparente, ⁴Réaction croisée %, ⁵La réaction croisée avec différentes concentrations d'hCG est présentée ci-dessous, ⁶ND: non détectable.

Italiano. Precision: ¹Intra-serie, ²Totale, ³Media, ⁴SD (Deviazione Standard), ⁵CV (Coefficiente di Variazione). **Linearity:** ¹Diluizione, ²Osservato (O), ³Atteso (A), ⁴%O/A, ⁵8 in 8. **Recovery:** ¹Soluzione, ²Osservato (O), ³Atteso (A), ⁴%O/A. **Specificity:** ¹Composto, ²quantità aggiunta, ³LH apparente, ⁴Percentuale di Crossreattività, ⁵Di seguito è descritta la crossreattività verso livelli multipli di HCG, ⁶ND: non determinabile. **Menstrual Cycle Graph.** Cycle Day: Normalized to LH Peak: Ciclo Giornaliero: Normalizzato/í al Picco di LH

Português. Precisão ¹Entre-ensaios, ²Total, ³Média, ⁴Desvio padrão, ⁵Coefficiente de variação. **Linearidade:** ¹Diluição, ²Observado (O),esperado (E), ⁴%O/E, ⁵8 em 8. **Recuperação:** ¹Solução, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E. **Especificidade:** ¹Composto, ²Quantidade adicionada, ³LH aparente, ⁴Percentagem de reação cruzada, ⁵A reação cruzada para vários níveis de HCG é referida abaixo, ⁶ND: não detectável. Gráfico de ciclo **Menstrual.** Ciclo diário: Normalizado para o pico de LH: Dia do Ciclo: Normalizado até ao Pico de LH.

Deutsch

LH

Anwendung: Für in-vitro-diagnostische Tests mit dem Analysegerät IMMULITE 2000 – zur quantitativen Messung von LH im Serum, als Hilfestellung in der klinischen Diagnose.

Artikelnummern: **L2KLH2** (200 Tests), **L2KLH6** (600 Tests)

Testcode: **LH** Farbe: **rot**

Klinische Relevanz

Luteinisierendes Hormon (Lutropin, LH) ist ein Glycoprotein mit einem Molekulargewicht von 28 000 Dalton. Es wird durch die B-Zellen der vorderen Hypophyse sezerniert. Die Kontrolle der Ausschüttung erfolgt durch das Gonadotropin Releasing Hormon (GnRH) des Hypothalamus. LH besteht aus zwei Polypeptidketten, die Alpha- und die Beta-Kette. Die Alpha-Ketten von LH, FSH, TSH und HCG sind biochemisch identisch. Die jeweiligen Beta-Ketten sind hormonspezifisch und sind verantwortlich für die Bioaktivität sowie die biologische und immunologische Spezifität der Hormone. In Frauen verursacht das LH die Ovulation und die Produktion der Steroide Östrogen und Progesteron durch den Corpus luteum. Kleine Mengen an LH sind zusätzlich noch nötig um die Östrogenproduktion im heranreifenden Follikel zu fördern. Im Mann stimuliert das LH die Leydig-Zellen zur Produktion von Androgenen und Östrogenen. Die zirkulierenden LH-Spiegel unterliegen der Kontrolle durch einen, von Steroidhormonen gesteuerten, negativen Rückkopplungseffekt auf den Hypothalamus. Die LH-Ausschüttung, unterschiedlich in beiden Geschlechtern und notwendig zur normalen sexuellen Funktion, erfolgt pulsartig mit schnellen Fluktuationen über den gesamten Referenzwertbereich. Werte, die für mehrere am selben Tag entnommene Proben gewonnen wurden, können deshalb beträchtlich variieren.

LH-Messungen werden genutzt um die Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse zu definieren.

Gonadotropinbestimmungen aus dem Serum erlauben die Unterscheidung zwischen einer primären Gonadenstörung und einer unzulänglichen Stimulation der Gonaden. Erhöhte LH- und FSH-Konzentrationen verweisen auf einen primären Schaden der Gonaden, wohingegen bei niedrigen Gonadotropin-Konzentrationen eine unzureichende gonadale Stimulation zum Hypogonadismus führt. LH-Messungen sind von großer klinischer Wichtigkeit, da LH und Wachstumshormone häufig die ersten Hormone sind, die von Erkrankungen der Hypophyse beeinflusst werden.

LH-Bestimmungen im Serum haben sich als sehr nützlich in der Diagnose und Therapie von Infertilität bei der Frau erwiesen. Ein Anstieg in der mittleren Zyklusphase läßt den Einsprung innerhalb der nächsten 24 Stunden erwarten. Subfertile Paare und Frauen, die mit Gonadotropinen gegen Infertilität behandelt werden, können somit über den bevorstehenden Eisprung informiert werden.

Methodik

Der IMMULITE 2000-LH ist ein Festphasen, Zwei-phasen Chemilumineszenz immunometrischer Assay.

Inkubationszyklen: 1 × 30 Minuten.

Probengewinnung

Der Einsatz einer Ultrazentrifuge wird zur Klärung von lipämischen Proben empfohlen.

Bei hämolysierten Proben besteht die Möglichkeit einer unsachgemäßen Handhabung vor Eintreffen im Labor, daher sind die Ergebnisse zurückhaltend zu interpretieren.

Die Zentrifugation der Serumproben vor dem völligen Abschluss der Gerinnung kann zu Fibringerinnseln führen. Um fehlerhaften Analyseergebnissen infolge von Gerinnseln vorzubeugen, ist sicherzustellen, dass die Gerinnung vor der Zentrifugation der Proben vollständig abgeschlossen ist. Insbesondere Proben von Patienten unter Antikoagulantien-therapie können eine verlängerte Gerinnungszeit aufweisen.

Blutentnahmeröhrchen von verschiedenen Herstellern können differierende Werte verursachen. Dies hängt von den verwendeten Materialien und Additiven (Gel oder physische Trennbarrieren, Gerinnungsaktivatoren und /oder Antikoagulantien) ab. IMMULITE 2000 LH sind nicht mit allen möglichen Röhrchenvariationen ausgetestet worden.

Erforderliche Menge: 75 µl Serum.

Lagerung: 2 Wochen bei 2–8°C oder 2 Monate bei –20°C (aliquotiert).¹¹

Wegen möglicher tageszeitlichen Schwankungen empfiehlt es sich, die Blutproben immer zum selben Zeitpunkt zu entnehmen.

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Zur In-vitro-Diagnostik.

Reagenzien: Bei 2–8°C lagern. Unter Einhaltung der geltenden gesetzlichen Vorschriften entsorgen.

Die generell geltenden Vorsichtsmaßnahmen sind einzuhalten und alle Komponenten als potenziell infektiös zu behandeln. Alle aus menschlichem Blut gewonnenen Materialien wurden auf Syphilis, Antikörper gegen HIV-1 und HIV-2, Hepatitis-B-Oberflächenantigen und Hepatitis-C-Antikörper untersucht und negativ befundet.

Bestimmten Komponenten wurde Natriumazid (<0,1 g/dl) hinzugefügt. Um die Bildung von explosiven Metallaziden in Blei- und Kupferrohren zu verhindern, sollten die Reagenzien nur zusammen mit großen Wassermengen in die Kanalisation gespült werden.

Chemilumineszenz-Substrat:

Kontamination und direkte Sonneneinstrahlung vermeiden (Siehe Packungsbeilage).

Wasser: Destilliertes oder deionisiertes Wasser verwenden.

Im Lieferumfang enthalten

Die Bestandteile der Testpackung sind aufeinander abgestimmt. Die Barcode-Aufkleber auf der Innenverpackung werden zur Testdurchführung gebraucht.

LH Kugel-Container (L2LH12)

Der barcodierte Kugel-Container enthält 200 Kugel, beschichtet mit monoklonalem LH-Antikörper (Maus). Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.

L2KLH2: 1 Container

L2KLH6: 3 Container

Reagenzbehälter LH (L2LHA2)

Mit Barcode. 11,5 ml alkalische Phosphatase (Kalb) konjugiert mit polyklonalem LH-Antikörper in einem Puffer (Ziege). Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.

L2KLH2: 1 Behälter **L2KLH6:** 3 Behälter

Vor Gebrauch den Aufkleber an der Perforation abreißen, ohne dabei die Barcodierung zu beschädigen. Die Folie von der Oberseite des Containers entfernen. Den Schiebedeckel nach unten in die Führung des Reagenziendeckels einrasten lassen.

LH Kalibratoren (LLHL, LLHH)

Zwei Fläschchen (niedrig und hoch) mit lyophilisiertem LH in einer nichthumaner Serum-Matrix. Fläschchen mit je 4,0 ml destilliertem oder deionisiertem Wasser rekonstituieren. Nach Rekonstituierung 30 Tage bei 2–8°C, sonst 6 Monate (aliquotiert) bei –20°C haltbar.

L2KLH2: 1 Set.

L2KLH6: 2 Sets.

Vor der Kalibrierung die entsprechenden Aufkleber (dem Kit beiliegend) auf Röhrchen kleben, so dass die Barcodes vom Barcode Reader des Systems gelesen werden können.

Separat erhältliche Testsystem-Komponenten

L2SUBM: Chemilumineszenz-Substratmodul

L2PWSM: Waschmodul

L2KPM: Reinigungsmodul

LRXT: (Wegwerf-) Reaktionsgefäße

CON6: 3 Konzentrationen, Multikontrolle

Ebenfalls benötigt:

Destilliertes bzw. deionisiertes Wasser; Röhrchen; Kontrollen

Testdurchführung

Für eine optimale Funktion des Gerätes ist unbedingt zu beachten, dass die Wartungen, wie im IMMULITE 2000-

Handbuch beschrieben, regelmäßig durchgeführt werden.

Die Angaben zur Vorbereitung, Einrichtung, Verdünnung, Kalibration, Test- und Qualitätskontrollverfahren entnehmen Sie bitte dem IMMULITE 2000-Handbuch.

Empfohlenes Kalibrationsintervall:

4 Wochen.

Qualitätskontrollproben: Kontrollen oder Poolseren mit LH in mindestens zwei Konzentrationen (niedrig und hoch) verwenden.

Referenzwerte

Basierend auf der Korrelation zum DPC IMMULITE-LH (siehe Methodenvergleich), wurden folgende Referenzwerte ermittelt:

Die Referenzbereiche wurden in einer internationalen Multicenter-Studie mit dem IMMULITE-LH Assay bestimmt. Es wurden täglich während des gesamten Ovulationszykluses Proben von offensichtlich gesunden Frauen (Alter 16 – 44 Jahre) entnommen.

Ovulationszyklen	n*	LH, mIU/ml	
		Median	95%-Bereich
Follikelphase	54 (762)	4,6	1,1 – 11,6
Mittelzyklus	54 (54)	39	17 – 77
Lutealphase	54 (658)	4,3	NN – 14,7
Perimenstruell, ± 8 Tage	54 (959)	3,9	NN – 12,0

*Anzahl der Versuchspersonen (Gesamtzahl der Ergebnisse)

NN: Nicht nachweisbar

Gruppe	n	LH, mIU/ml	
		Median	95%-Bereich
Männer	135	2,4	0,8 – 7,6
Frauen			
Postmenopause*	75	24,9	11,3 – 39,8
Orale Kontrazeptiva	104	3,1	NN – 8,0

*Vorläufig

NN: Nicht nachweisbar.

Siehe "Menstrual Cycle Graph" (Graphik des Menstruationszykluses) in Siehe "Tables and Graphs" (Tabellen und graphischen).

Für eine altersabhängige Studie wurde in einer "Wellness"-Klinik im Südwesten der

USA mit Hilfe des IMMULITE LH folgende Werte ermittelt.

Gruppe	Alter (Jahre)	n	LH, mIU/ml	
			Median	95%-Bereich
Frauen	Schnur	31	NN	
	0,1 – 1,5	46	0,7	NN – 2,3
	1,6 – 9	38	NN	NN – 1,3
Männer	Schnur	36	NN	NN – 3,6
	0,1 – 1,5	54	1,0	NN – 4,1
	1,6 – 9	46	NN	NN – 3,8
Kombiniert	Schnur	67	NN	NN – 3,5
	0,1 – 1,5	100	0,7	NN – 3,7
	1,6 – 9	84	NN	NN – 3,2

NN: Nicht nachweisbar.

Betrachten Sie diese Grenzwerte nur als *Richtlinien*. Jedes Labor sollte eigene Referenzbereiche ermitteln.

Grenzen der Methode

Wegen der pulsatilem Sekretion des LH können Proben, die am gleichen Tag vom gleichen Patienten kommen, weit innerhalb des Referenzbereiches schwanken. Dies entspricht der physiologischen Variabilität des LH.

Die Kreuzreaktivität des Assays zum HCG ist niedrig und hat daher unter normalen Bedingungen keine Auswirkungen. Wenn Proben mit sehr hohen HCG-Konzentrationen wie von schwangeren Frauen, Patienten mit trophoblastischen Erkrankungen oder Hodenkrebs untersucht werden, können die LH-Werte aufgrund der Kreuzreaktivität zu HCG falsch erhöht sein.

Heterophile Antikörper in Humansenen können mit Immunglobulinen aus den Assaykomponenten reagieren und Interferenzerscheinungen innerhalb des in vitro Immunoassays verursachen. (Clin. Chem. 1998;34:27-33) Proben von Patienten, die häufig mit Tier- bzw. Tierserumprodukten zu tun haben, können die erwähnten Interferenzen verursachen und zu anomalen Resultaten führen. Die verwendeten Reagenzien sind so konzipiert, dass das Risiko einer Interferenz mit den zu messenden Proben minimiert ist. Dennoch können potentiell Interaktionen zwischen seltenen Seren und den Testkomponenten auftreten. Zu

diagnostischen Zwecken sollten die mit dem Assay erhaltenen Ergebnisse immer in Kombination mit der klinischen Untersuchung, der Patientenanamnese und anderen Befunden gesehen werden.

Leistungsdaten

Siehe Tabellen und Grafiken mit repräsentativen Daten für den Assay. Die Ergebnisse sind als mIU/ml ausgedrückt. (Alle Daten wurden – sofern nicht anders angegeben – aus Serumproben in Röhrchen ohne Gelbarrieren oder gerinnungsfördernde Zusätze gewonnen.)

Messbereich: Bis 200 mIU/ml [WHO 1st IRP 68/40 und 2nd IS 80/552]

Analytische Sensitivität: 0,05 mIU/ml.

High-Dose-Hook-Effect:

Bis 85 000 mIU/ml keiner.

Präzision: Proben wurden innerhalb von 20 Tagen mit jeweils zwei Testansätzen in Doppelbestimmung gemessen (insgesamt 40 Bestimmungen und 80 Einzelmessungen). (Siehe Tabelle "Precision".)

Linearität: Proben wurden getestet, und zwar nachdem sie verschiedenweise verdünnt wurden. (Siehe Tabelle "Linearity".)

Wiederfindung: Proben wurden mit vier Lösungen (200, 400, 1 000 und 2 000 mIU/ml) im Verhältnis von 1:19 versetzt. (Siehe Tabelle "Recovery")

Spezifität: Der Assay ist hochspezifisch für LH. (Siehe Tabelle "Specificity".)

Bilirubin: Bilirubin hat in Konzentrationen bis zu 200 mg/l keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Hämolyse: Hämoglobin hat in Konzentrationen bis zu 188 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Lipämie: Triglyceride haben in Konzentrationen bis zu 3 000 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Methodenvergleich: Der Assay wurde auf der Basis von 105 Patientenproben mit dem IMMULITE LH Assay der DPC verglichen (Konzentrationsbereich: ca. 1

bis 140 mIU/ml). Siehe Grafik. Durch lineare Regression:

(IML 2000) = 1,04 (IML) – 0,25 mIU/ml
 $r = 0,972$

Mittelwert:
26 mIU/ml (IMMULITE 2000)
26 mIU/ml (IMMULITE)

Anwendungsberatung

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihre DPC Niederlassung.

Hergestellt von Euro/DPC Ltd. unter dem Qualitätssystem ISO 13485:2003.

Español

LH

Utilidad del análisis: Para el diagnóstico *in vitro* usado con el Analizador IMMULITE 2000, para la determinación cuantitativa de LH en suero, como una ayuda en el diagnóstico clínico.

Números de Catálogo:
L2KLH2 (200 tests), **L2KLH6** (600 tests)

Código del Test: **LH** Color: **Rojo**

Resumen y Explicación del Test

La hormona luteinizante (luteotropina, LH), una glicoproteína de 28 000 daltons, es secretada por las células B de la hipófisis anterior bajo el control de la hormona liberadora de gonadotropinas (Gn-RH) producida en el hipotálamo. La LH consiste en dos cadenas polipeptídicas, alfa y beta. Las cadenas alfa de LH, FSH, TSH and HCG son bioquímicamente idénticas, mientras que difieren en la composición bioquímica de las cadenas beta, lo que les confiere la bioactividad y especificidad biológica e inmunológica. En las mujeres, la LH induce la ovulación y la producción de estroides (estrógenos y progesterona) en el cuerpo lúteo. También, son necesarias pequeñas cantidades de LH para inducir la producción de estrógenos en el folículo en maduración. En los hombres, estimula las células intersticiales de Leydig para producir andrógenos y estrógenos. Los niveles séricos de LH están controlados en el hipotálamo por un mecanismo de

retroacción negativa de las hormonas esteroideas. La secreción de LH, diferente para los dos sexos, se necesita para una función sexual normal, y tiene lugar mediante pulsos con fluctuaciones rápidas. Los valores obtenidos en muestras de un paciente en el mismo día pueden diferir considerablemente.

La determinación de LH es usada para estudiar el eje hipotálamo-hipófisis-gonadal. Las determinaciones de gonadotropinas séricas permiten distinguir entre fallo gonadal primario y deficiencia en la estimulación gonadal. Si los niveles de LH y FSH están elevados, está presente un fallo gonadal primario, mientras que si los niveles de gonadotropinas son bajos, hay una deficiente estimulación gonadal. La determinación de LH también tiene su importancia clínica debido a que la LH y la hormona de crecimiento son, frecuentemente, las primeras hormonas en verse afectadas en caso de enfermedad hipofisiaria.

Las determinaciones de LH sérica han sido muy útiles en el diagnóstico y tratamiento de la infertilidad en las mujeres. Un pico a mitad del ciclo ovárico es una buena indicación de que la ovulación va a tener lugar en, aproximadamente, las 24 horas siguientes, lo que permite informar a las pacientes de que la ovulación es inminente.

Principio del análisis

IMMULITE 2000 LH es un ensayo inmunométrico con dos sitios de unión, quimioluminiscente en fase sólida.

Ciclos de incubación: 1 × 30 minutos.

Recogida de la muestra

Se recomienda el uso de una ultracentrífuga para aclarar las muestras lipémicas.

Las muestras hemolizadas podrían indicar una mala manipulación de la muestra antes de ser recibida por el laboratorio; en este caso, los resultados deben interpretarse con precaución.

La centrifugación de las muestras de suero antes de que se forme el coágulo puede ocasionar la presencia de fibrina. Para evitar resultados erróneos debidos a

la presencia de fibrina, asegurarse que se ha formado el coagulo completamente antes de centrifugar las muestras. Algunas muestras, particularmente aquellas de pacientes sometidos a terapia anticoagulante, pueden requerir mayor tiempo de coagulacion.

Los tubos para recoger sangre de distintos fabricantes pueden producir valores diferentes, dependiendo del material del tubo y de los aditivos, incluyendo barreras de gel o barreras físicas, activadores de la coagulación y/o anticoagulantes. El LH IMMULITE 2000 no ha sido analizado con todos los distintos tipos de tubos.

Volumen Requerido: 75 µl de suero.

Conservación: 2 semanas a 2–8°C, o 2 meses a –20°C.¹¹

Debido a que se sabe que la LH está sometida a un pequeño ritmo circadiano, debería tenerse en cuenta la hora de la extracción de muestra.

Advertencias y Precauciones

Para uso diagnóstico in vitro.

Reactivos: Mantener a 2–8°C. Desechar de acuerdo con las normas aplicables.

Siga las precauciones universales y manipule todos los componentes como si fueran capaces de transmitir agentes infecciosos. Los materiales derivados de sangre humana han sido analizados y son negativos para sífilis; para anticuerpos frente al HIV 1 y 2; para el antígeno de superficie de hepatitis B y para los anticuerpos de hepatitis C.

Se ha usado Azida sodica, en concentraciones menores de 0,1 g/dl, como conservante. Para su eliminacion, lavar con grandes cantidades de agua para evitar la formación de residuos de azidas metalicas, potencialmente explosivas, en las cañerías de cobre y plomo.

Sustrato quimioluminiscente: evite la contaminación y exposición a la luz directa del sol. (Ver el prospecto.)

Agua: Use agua destilada o desionizada.

Materiales Suministrados

Los componentes representan un juego completo. Las etiquetas incluidas en la caja son necesarias para el ensayo.

Cartucho de bolas de LH (L2LH12)

Con códigos de barras. 200 bolas, recubiertas con anticuerpo monoclonal murino anti-LH. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.

L2KLH2: 1 cartucho.

L2KLH6: 3 cartuchos.

Vial de reactivo de LH (L2LHA2)

Con códigos de barras. 11,5 ml de fosfatasa alcalina (de intestino de ternera) conjugada con anticuerpos policlonales de cabra anti-LH en solución tampón. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.

L2KLH2: 1 vial. **L2KLH6:** 3 viales.

Antes de usar, cortar la parte superior de la etiqueta en la perforación, sin dañar el código de barras. Quitar el precinto del orificio del vial; encajar la cubierta deslizante en las rampas de la tapa del reactivo.

Ajustadores de LH (LLHL, LLHH)

Dos viales (bajo y alto) de LH liofilizada en una matriz de suero no humano.

Reconstituya cada vial con **4,0 ml** de agua destilada o desionizada. Estable a 2–8°C durante 30 días después de la reconstitución o hasta 6 meses (alícuotados) a –20°C.

L2KLH2: 1 juego. **L2KLH6:** 2 juegos.

Antes de hacer un ajuste, colocar las etiquetas a las alícuotas apropiadas (suministradas con el kit) sobre tubos de ensayo, de forma tal que los códigos de barras puedan ser leídos por el lector.

Componentes del kit que se suministran por separado

L2SUBM: Sustrato quimioluminiscente

L2PWSM: Lavado de sonda

L2KPM: Kit de limpieza de sonda

LRXT: Tubos de reacción (desechables)

CON6: control multiconstituyente de tres niveles

También necesarios

Agua destilada o desionizada; tubos de ensayo; controles.

Ensayo

Aviso: para obtener el funcionamiento óptimo, es importante realizar todos los procedimientos del mantenimiento general según lo definido en el manual del operador de IMMULITE 2000.

Ver el Manual del Operador IMMULITE 2000 para : preparación, inicialización, diluciones, ajuste, ensayo y procedimientos de control de calidad.

Intervalo de ajuste recomendado:
4 semanas.

Muestras de Control de Calidad: Utilizar controles o pools de sueros con al menos dos niveles diferentes de LH (bajo y alto).

Valores Esperados

Basado en su relación con el IMMULITE LH de DPC (ver Comparación del Método), se puede esperar que el ensayo tenga esencialmente los mismos rangos de referencia.

Los valores de normalidad de la LH IMMULITE fueron obtenidos en un estudio multinacional, con mujeres voluntarias en aparente buen estado de salud, edades comprendidas entre 16 y 44 años y con tomas de sangre diarias hasta completar un ciclo ovulatorio completo.

Ciclos ovulatorios	n*	LH, mIU/ml	
		Mediana	Central 95%
Fase folicular	54 (762)	4,6	1,1 – 11,6
Ciclo medio	54 (54)	39	17 – 77
Fase lútea	54 (658)	4,3	ND – 14,7
Perimenstrual, ± 8 días	54 (959)	3,9	ND – 12,0

*Número de individuos (número total de resultados)

Grupo	n	LH, mIU/ml	
		Mediana	Central 95%
Hombres	135	2,4	0,8 – 7,6
Mujeres			
Post menopáusicas*	75	24,9	11,3 – 39,8
Anticonceptivos orales	104	3,1	ND – 8,0

*Preliminar

ND: No detectable.

Ver "Menstrual Cycle Graph" (Curva del ciclo menstrual) en "Tables and Graphs" (Tablas y gráficos)

Un estudio sectorial sobre los valores normales de población pediátrica llevados a cabo con la LH IMMULITE en individuos aparentemente sanos en el suroeste de los Estados Unidos dió lugar a los siguientes resultados.

Grupo	Edad (años)	n	LH, mIU/ml	
			Mediana	Central 95%
Mujeres	Cordón	31	ND	
	0,1 – 1,5	46	0,7	ND – 2,3
	1,6 – 9	38	ND	ND – 1,3
Hombres	Cordón	36	ND	ND – 3,6
	0,1 – 1,5	54	1,0	ND – 4,1
	1,6 – 9	46	ND	ND – 3,8
Combinado	Cordón	67	ND	ND – 3,5
	0,1 – 1,5	100	0,7	ND – 3,7
	1,6 – 9	84	ND	ND – 3,2

ND: No detectable.

Estos límites han de considerarse sólo como una guía. Cada Laboratorio deberá establecer sus propios rangos de referencia.

Limitaciones

Debido a la secreción pulsátil, las muestras obtenidas el mismo día del mismo paciente pueden fluctuar ampliamente dentro del rango de referencia, reflejando una variación fisiológica más que errores en la técnica o la metodología.

La reacción cruzada para el ensayo de HCG es baja y sin efectos significativos en circunstancias normales. De todas formas, cuando son procesadas muestras con niveles muy altos para HCG procedentes de embarazadas, pacientes con enfermedades trofoblásticas o cáncer testicular, pueden aparecer niveles falsamente elevados para LH debido a la reacción cruzada con HCG.

Los anticuerpos heterofílicos en el suero humano pueden reaccionar con las inmunoglobulinas de los componentes del ensayo provocando interferencias con los inmunoanálisis in vitro. [Ver Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a

problem for all immunoassays. Clin Chem 1998;34:27-33.] Las muestras de los pacientes que frecuentemente están expuestos a animales o a productos séricos animales pueden presentar este tipo de interferencia que potencialmente ocasione un resultado anómalo. Estos reactivos han sido formulados para minimizar el riesgo de interferencia, no obstante, pueden darse interacciones anómalas entre sueros `conflictivos y los componentes del ensayo. Con fines de diagnóstico, los resultados obtenidos con este ensayo siempre deben ser usados en combinación con el examen clínico, la historia médica del paciente y cualquier otro dato clínico relevante.

Características Analíticas

Para ver resultados *representativos* de las cualidades del ensayo ver las tablas y los gráficos. Los resultados se expresan en mIU/ml. (A no ser que se indique lo contrario, todos los resultados fueron generados en muestras de suero recogidas en tubos sin geles o activadores de la coagulación).

Rango de Calibración: hasta 200 mIU/ml. Estandarizado en términos de la WHO 1° IRP 68/40 y del 2° IS 80/552.

Sensibilidad: 0,05 mIU/ml.

Efecto de gancho a altas dosis: Ninguno hasta 85 000 mIU/ml.

Precisión: Las muestras fueron analizadas por duplicado durante 20 días, en dos tandas de trabajo por día, para un total de 40 tandas y 80 replicados. (Ver la tabla de "Precision".)

Linealidad: Las muestras fueron analizadas en varias diluciones. (Ver la tabla de "Linearity" para resultados representativos.)

Recuperación: Se analizaron muestras sobrecargadas 1 en 19 con cuatro soluciones (200, 400, 1 000 y 2 000 mIU/ml). (Ver la tabla de "Recovery" para resultados representativos.)

Especificidad: El ensayo es altamente específico para LH (Ver la tabla de "Specificity".)

Bilirrubina: La presencia de bilirrubina en concentraciones hasta 200 mg/l, no tienen

ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Hemolisis: La presencia de hemoglobina, en concentraciones hasta 188 mg/dl, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Lipemia: La presencia de triglicéridos, en concentraciones hasta 3 000 mg/dl, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Comparación del Método: El ensayo fue comparado con el IMMULITE LH de DPC en 105 muestras de pacientes. (Rango de Concentración: aproximadamente 1 a 140 mIU/ml. Ver el gráfico). Por regresión lineal:

(IML 2000) = 1,04 (IML) – 0,25 mIU/ml
r = 0,972

Medias:
26 mIU/ml (IMMULITE 2000)
26 mIU/ml (IMMULITE)

Asistencia técnica

Contáctese con su Distribuidor Nacional.

Fabricado por EURO/DPC Ltd. bajo un Sistema de Calidad acorde con la ISO 13485:2003.

Français

IMMULITE 2000 LH

Domaine d'utilisation : Pour le dosage quantitatif de LH dans le sérum. Ce test est réservé à un usage diagnostic *in vitro* avec l'Analyseur IMMULITE 2000 et constitue une aide au diagnostic clinique.

Référence catalogue : **L2KLH2** (200 tests), **L2KLH6** (600 tests).

Code produit : **LH**. Code couleur : **rouge**.

Introduction

L'hormone lutéotrope (LH), glycoprotéine de poids moléculaire de 28 000 D, est sécrétée par les cellules β de l'antéhypophyse sous le contrôle de la gonadotrophine releasing hormone (GnRH) produite par l'hypothalamus. LH est constituée de deux chaînes polypeptidiques : α et β . Les chaînes α de la FSH, LH, TSH et HCG sont biochimiquement identiques, alors que les chaînes β sont biochimiquement

différentes, leur conférant la spécificité immunologique et leur rôle biologique. Chez la femme, la LH est à l'origine de l'ovulation et de la sécrétion d'hormones stéroïdiennes telles que la progestérone et les œstrogènes par le corps jaune. De faibles quantités de LH sont également nécessaires à la production d'œstrogènes par le follicule en phase de maturation. Chez l'homme, la LH en stimulant les cellules interstitielles de Leydig est à l'origine de la sécrétion d'androgènes et d'œstrogènes par ces cellules. Les taux de LH circulantes sont régulés par un rétrocontrôle négatif déclenché par les hormones stéroïdiennes qui agissent sur l'hypothalamus. La LH est sécrétée chez l'homme ou chez la femme de façon pulsatile avec des fluctuations rapides sur toute l'étendue du domaine de normalité. Par conséquent, les concentrations trouvées le même jour chez le même patient peuvent varier de façon considérable.

Le dosage de la LH a pour intérêt clinique l'exploration de l'axe hypothalamo-hypophysaire gonadique. Le dosage des gonadotrophines sériques permet de différencier une insuffisance gonadique primaire et une déficience de stimulation gonadique. Si les taux de LH et FSH sont élevés, il s'agit d'une insuffisance gonadique primaire. Par contre, si les taux de LH et FSH sont bas, on est en présence d'une déficience de stimulation gonadique. Le dosage de la LH a également une importance clinique dans le cas de maladies hypophysaires où la LH et l'hormone de croissance sont les premières à être touchées.

Le dosage de la LH sérique est aussi très utile dans le diagnostic et le traitement de la stérilité féminine. En effet, une augmentation de LH en milieu de cycle est un bon indicateur d'ovulation qui aura lieu au plus tard dans les 24 heures. Ainsi, les femmes stériles traitées par des gonadotrophines sauront à quel moment aura lieu leur ovulation grâce au dosage de la LH.

Principe du test

IMMULITE 2000 LH est un dosage chimiluminescent immunométrique, en double site, en phase solide.

Cycles d'incubation : 1 × 30 minutes.

Recueil des échantillons

Il est recommandé de clarifier les échantillons hyperlipémiqes par ultracentrifugation.

Des échantillons hémolysés peuvent être révélateurs d'une préparation inadéquate du prélèvement avant son envoi au laboratoire ; il faudra donc interpréter les résultats avec prudence.

La centrifugation des échantillons sériques avant la formation complète du caillot peut entraîner la présence de fibrine. Pour éviter les résultats erronés dus à la présence de fibrine, s'assurer de la formation complète du caillot avant de centrifuger les échantillons. Certains échantillons, en particulier ceux provenant de patients sous anti-coagulants, peuvent nécessiter un temps plus long pour la formation du caillot.

Des tubes pour prélèvements sanguins provenant de fabricants différents peuvent donner des résultats différents, selon les matériaux et additifs utilisés, y compris gels ou barrières physiques, activateurs de la coagulation et/ou anticoagulants. Le coffret LH IMMULITE 2000 n'a pas été testé sur tous les types de tubes possibles.

Volume nécessaire : 75 µL de sérum.

Conservation : 2 semaines à +2°C/+8°C ou 2 mois à -20°C.¹¹

Comme la LH suit un léger rythme circadien, l'heure du prélèvement doit être notée.

Précautions d'emploi

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*.

Réactifs : conserver les réactifs à +2/+8°C. Eliminer les déchets conformément à la réglementation en vigueur.

Respecter les précautions d'emploi et manipuler tous les composants du coffret comme des produits potentiellement infectieux. Les réactifs dérivés de produits humains et utilisés dans ce coffret ont subi un test sérologique pour la Syphilis et des tests de dépistage pour les anticorps anti-VIH1 et 2, anti-HCV et pour l'antigène de surface de l'hépatite B, qui se sont tous avérés négatifs.

De l'azide de sodium à des concentrations inférieures à 0,1 g/dl a été ajouté comme

conservateur ; lors de l'élimination, l'évacuer avec de grandes quantités d'eau pour éviter une accumulation d'azides métalliques explosifs dans les canalisations.

Substrat chimiluminescent : éviter les contaminations et l'exposition directe à la lumière solaire (voir la fiche technique).

Eau : utiliser uniquement de l'eau distillée ou désionisée.

Matériel fourni

Les composants de la trousse ne peuvent être utilisés que conjointement. Les étiquettes à l'intérieur du coffret sont nécessaires au dosage.

Cartouche de billes LH (L2LH12)

Avec code-barres. 200 billes revêtues d'un anticorps monoclonal murin anti-LH. Stable à +2°C/+8°C jusqu'à la date de péremption.

L2KLH2 : 1 cartouche.

L2KLH6 : 3 cartouches.

Cartouche à réactif LH (L2LHA2)

Avec code-barres. 11,5 ml d'un réactif composé d'anticorps polyclonal de chèvre anti-LH marqué à la phosphatase alcaline (intestins de veau) dans un tampon. Stable à +2°C/+8°C jusqu'à la date de péremption.

L2KLH2 : 1 cartouche.

L2KLH6 : 3 cartouches.

Avant l'emploi, retirer la partie supérieure de l'étiquette au niveau des perforations en ayant soin de ne pas endommager le code-barres. Retirer le film protecteur situé sur la partie supérieure de la cartouche-réactif ; insérer le couvercle coulissant entre les glissières sur le dessus de la cartouche-réactif.

Ajusteurs LH (LLHL, LLHH)

2 flacons d'ajusteurs (« haut » et « bas ») lyophilisés contenant de la LH dans une matrice de sérum non-humain.

Reconstituer chaque flacon avec **4,0 ml** d'eau distillée ou désionisée. Stable à +2/+8 °C pendant 30 jours après reconstitution, ou 6 mois (aliquotés) à -20 °C.

L2KLH2 : 1 jeu. **L2KLH6** : 2 jeux.

Avant de procéder à un ajustement, placer les étiquettes correspondant à l'aliquot (fournies avec le coffret) sur des tubes en

verre de sorte que les code-barres soient lisibles par le lecteur.

Composants du coffret fournis séparément

L2SUBM : Substrat chimiluminescent

L2PWSM : Solution de lavage

L2KPM : Coffret de décontamination de l'aiguille de prélèvement

LRXT : Godets réactionnels (jetables)

CON6 : Contrôle multiparamétrique à trois niveaux,

Egalement requis

Eau distillée ou désionisée ; tubes ; contrôles

Protocole de dosage

Noter que pour des performances optimales, il est important de réaliser toutes les procédures de maintenance de routine selon les instructions du Manuel d'Utilisation IMMULITE 2000.

Voir le manuel d'utilisation de l'IMMULITE 2000 pour la préparation, le démarrage du système, les ajustements, le dosage et les procédures de contrôle de qualité.

Intervalle d'ajustement recommandé : 4 semaines.

Contrôles contrôle de qualité: Utiliser des contrôles ou des pools de sérums avec au moins deux niveaux de concentration (faible ou élevé) de LH.

Valeurs attendues

Compte tenu de sa relation avec le dosage IMMULITE LH de DPC (Voir méthode de comparaison), le test doit avoir les mêmes valeurs attendues.

Les valeurs de référence ont été déterminées en utilisant le test IMMULITE LH dans une étude internationale incluant des femmes apparemment en bonne santé (âge : 16 – 44 ans), volontaires pour un prélèvement de sang quotidien pendant un cycle ovulatoire complet.

		LH, mUI/ml		
Cycles ovulatoires	n*	Médiane	Centré	95%
Phase folliculaire	54 (762)	4,6	1,1	– 11,6
Milieu de cycle	54 (54)	39	17	– 77
Phase lutéale	54 (658)	4,3	ND	– 14,7
Péri-menstruelle, ± 8 jours	54 (959)	3,9	ND	– 12,0

*Nombre de sujets (total de résultats)

		LH, mUI/ml		
Groupe	n	Médiane	Centré	95%
Hommes	135	2,4	0,8	– 7,6
Femmes				
postménopausées*	75	24,9	11,3	– 39,8
Sous contraception orale	104	3,1	ND	– 8,0

*Préliminaires

ND: non détectable.

Voir le graphique "Menstrual Cycle" dans "Tables and Graphs".

Une étude en pédiatrie sur les valeurs de fertilité, réalisée avec le test IMMULITE LH dans une clinique du sud ouest des Etats-Unis, a donné les résultats suivants.

		LH, mUI/ml		
Groupe	Âge (année)	n	Médiane	Centré 95%
Filles	Cordon	31	ND	
	0,1 – 1,5	46	0,7	ND – 2,3
	1,6 – 9	38	ND	ND – 1,3
Garçons	Cordon	36	ND	ND – 3,6
	0,1 – 1,5	54	1,0	ND – 4,1
	1,6 – 9	46	ND	ND – 3,8
Total	Cordon	67	ND	ND – 3,5
	0,1 – 1,5	100	0,7	ND – 3,7
	1,6 – 9	84	ND	ND – 3,2

ND: non détectable.

Utiliser ces valeurs à *titre indicatif* uniquement. Chaque laboratoire devrait établir ses propres valeurs de référence.

Limites

En raison de la sécrétion pulsatile, des échantillons prélevés le même jour sur le même patient peuvent avoir des valeurs de référence extrêmement variées indicatrices de changements

physiologiques plutôt que d'erreurs dans la technique ou méthodologie.

Le test montre une faible réaction croisée avec l'hCG qui n'aura pas d'impact dans ces circonstances normales. Néanmoins, lors du dosage d'échantillons ayant un taux très élevé d'hCG, tels que ceux provenant de femmes enceintes ou de patients atteints de maladie trophoblastique ou de cancer des testicules, les résultats de LH peuvent être faussement élevés à cause de la réaction croisée avec hCG.

Les anticorps hétérophiles du sérum humain peuvent réagir avec les immunoglobulines faisant partie des composants du coffret et interférer avec les immunodosages in vitro. [Voir Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1998;34:27-33.] Les échantillons provenant de patients fréquemment exposés aux animaux ou aux produits sériques d'origine animale peuvent présenter ce type d'interférence pouvant potentiellement donner un résultat anormal. Ces réactifs ont été mis au point afin de minimiser le risque d'interférence, cependant des interactions potentielles entre des sérums rares et les composants du test peuvent se produire. Dans un but diagnostique, les résultats obtenus avec ce dosage doivent toujours être utilisés en association avec un examen clinique, l'histoire médicale du patient et d'autres résultats.

Performances du test

Consulter les tableaux et graphiques pour obtenir les données représentatives des performances de ce test. Les résultats sont donnés en mUI/ml. (En l'absence d'indication contraire, tous les résultats ont été obtenus sur des échantillons sériques recueillis en tubes, sans gel ni activateur de la coagulation).

Intervalle de linéarité : jusqu'à 200 mUI/ml. Conforme aux normes de la 1^{ère} IRP 68/40 et de la 2^{ème} IS 80/552 de l'O.M.S.

Sensibilité analytique : 0,05 mUI/ml.

Accoutumance aux doses élevées : aucune jusqu'à 85 000 mUI/ml.

Précision : les valeurs ont été établies à partir de doublets dosés dans deux séries

différentes chaque jour pendant 20 jours soit au total 40 séries et 80 résultats. (Voir le tableau " Precision ".)

Linéarité : les échantillons ont été testés avec des taux de dilution variés (Voir le tableau " Linearity ").

Récupération: les échantillons testés ont été chargés dans un rapport de 1 à 19 avec quatre solutions (200, 400, 1 000 et 2 000 mUI/ml). (Voir le tableau " Recovery ").

Spécificité : le test est hautement spécifique de la LH. (Voir tableau " Specificity ")

Bilirubine : La présence de bilirubine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 200 mg/l.

Hémolyse : La présence d'hémoglobine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 188 mg/dl.

Lipémie : La présence de triglycérides ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 3 000 mg/dl.

Comparaison de méthodes : le test a été comparé au test IMMULITE LH de DPC sur 105 échantillons de patients (dont les concentrations allaient d'environ 1 à 140 mUI/ml. Voir graphique). Par régression linéaire :

(IML 2000) = 1,04 (IML) – 0,25 mUI/ml
r = 0,972

Moyennes :
26 mUI/ml (IMMULITE 2000)
26 mUI/ml (IMMULITE)

Assistance technique

Contactez votre distributeur national. En France distribué par DPC France 90 bd National 92257 La Garenne-Colombes.

Fabriqué par EURO/DPC Ltd. dans le cadre d'un Système Qualité enregistré sous ISO 13485:2003.

Italiano

LH

Uso: Ad uso diagnostico *in vitro* con l'analizzatore IMMULITE 2000 — per la misurazione quantitativa della LH nel siero, quale ausilio nella diagnosi clinica.

Codice: **L2KLH2** (200 test), **L2KLH6** (600 test).

Codice del Test: **LH** Colore: **Rosso**

Riassunto e Spiegazione del Test

L'ormone luteinizzante (lutropina, LH), una glicoproteina di 28 000 dalton, viene secreta dalle cellule β dell'ipofisi anteriore sotto il controllo della gonadotropina prodotta dall'ipotalamo (GnRH). L'LH è formato da due catene di polipeptidi alfa e beta. Le catene alfa dell'LH, FSH, TSH e HCG sono biochimicamente identiche, mentre le catene beta sono biochimicamente uniche, conferendo in questo modo bioattività e specificità biologica ed immunologica. Nelle donne, l'LH provoca l'ovulazione e la produzione di steroidi (estrogeni e progesterone) da parte del corpo luteo. Piccole quantità di LH sono anche necessarie per promuovere la produzione di estrogeni dal follicolo in maturazione. Nell'uomo, stimola le cellule interstiziali (Leydig) a produrre androgeni ed estrogeni. I livelli circolanti di LH sono controllati da un effetto di feedback negativo sull'ipotalamo da parte degli ormoni steroidei. La secrezione di LH, differente per i due sessi e richiesta dalla normale funzionalità sessuale, avviene ad impulsi con rapide fluttuazioni sull'intero range di riferimento. Valori per campioni ottenuti in un singolo giorno dallo stesso paziente possono quindi variare in modo significativo.

Le misurazioni di LH vengono utilizzate per definire l'asse ipotalamico-ipofisario-gonadico. Le determinazioni di gonadotropina nel siero permettono di distinguere tra anomalie gonadiche primarie e stimolazione gonadica insufficiente. Se i livelli di LH ed FSH sono elevati, è presente un'anomalia gonadica primaria, mentre se i livelli di gonadotropina sono bassi, la stimolazione

gonadica insufficiente ha comportato un ipogonadismo. La misurazione dell'LH è anche clinicamente importante poiché l'LH e l'ormone della crescita sono di frequente i primi ormoni ad essere interessati da anomalie dell'ipofisi.

Le determinazioni dell'LH nel siero si sono rivelate particolarmente utili nella diagnosi e nel trattamento dell'infertilità femminile. Un innalzamento dei livelli a metà ciclo indica che l'ovulazione si verificherà circa 24 ore dopo. Coppie con problemi di infertilità e donne trattate con gonadotropine per problemi di infertilità possono essere informate dell'imminente ovulazione.

Principio del Dosaggio

Il dosaggio IMMULITE 2000 LH è un dosaggio immunometrico in chemiluminescenza in fase solida a doppio sito.

Cicli d'incubazione: 1 × 30 minuti.

Prelievo dei Campioni

Si consiglia l'utilizzo di un'ultracentrifuga per schiarire i campioni lipemici.

I campioni emolizzati possono indicare il trattamento non idoneo del campione prima dell'arrivo al laboratorio; per questo motivo, i risultati devono essere interpretati con prudenza.

La centrifugazione dei campioni del siero prima che la coagulazione sia completa può produrre fibrina. Per evitare risultati errati dovuti alla presenza di fibrina, assicurarsi che il processo di coagulazione sia completo prima di centrifugare i campioni. Alcuni campioni, in modo particolare quelli di pazienti sottoposti a terapia con anticoagulanti, possono richiedere tempi di coagulazione più lunghi.

Provette per il prelievo di sangue di produttori diversi possono dare valori differenti, a seconda dei materiali e degli additivi usati, incluso gel o barriere fisiche, attivatori di coaguli e/o anticoagulanti. L'IMMULITE 2000 LH non è stato verificato con tutte le possibili variazioni di tipi di provette.

Volume richiesto: 75 µL di siero.

Conservazione: 2 settimane a 2–8°C o 2 mesi a –20°C.¹¹

Poiché l'LH presenta un piccolo ritmo circadiano, occorre annotare il momento del prelievo.

Avvertenze e Precauzioni

Ad uso diagnostico *in vitro*.

Reagenti: Conservare a 2–8°C. Scartare in conformità alle leggi applicabili.

Seguire le precauzioni universali, e maneggiare tutti i componenti come se fossero capaci di trasmettere agenti infettivi. Sono stati analizzati i materiali di sorgente dal sangue umano e sono stati trovati non reattivi per sifilide; per anticorpi ad HIV 1 e 2; per l'antigeno superficiale dell'epatite B; e per anticorpi all'epatite C.

E' stata aggiunta Sodio Azide a concentrazioni inferiori a 0,1 g/dL come conservante. Al momento dell'eliminazione, irrorare con molta acqua per evitare la formazione di azidi metalliche potenzialmente esplosive nelle tubature di piombo e di rame.

Sottostrato chemiluminescente: Evitare la contaminazione e l'esposizione alla luce del sole diretta. (Vedere l'inserimento).

Acqua: Utilizzare acqua distillata o deionizzata.

Materiali Forniti

I componenti costituiscono un unico set. Le etichette all'interno della confezione sono necessarie per eseguire i dosaggi.

Contenitore di Sferette LH (L2LH12)

Con codice a barre. 200 biglie coattate con un anticorpo monoclonale di ratto anti-LH. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.

L2KLH2: 1 Confezione

L2KLH6: 3 Confezioni

Porta Reagente LH (L2LHA2)

Con codice a barre. 11,5 mL di fosfatasi alcalina (intestino di vitello) coniugata con un anticorpo policlonale di capra anti-LH in soluzione tampone. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.

L2KLH2: 1 Porta Reagente

L2KLH6: 3 Porta Reagenti

Prima dell'utilizzo rimuovere la parte superiore dell'etichetta lungo la perforazione senza danneggiare il codice a barre. Togliere il foglio protettivo dalla

parte superiore del flacone. Far scattare nella corretta posizione il coperchio scorrevole lungo le guide del coperchio del reagente.

Calibratori LH (LLHL, LLHH)

Due fiale (bassa ed alta) del LH liofilizzato in una matrice di siero non umano. Ricostituire ogni fiala con **4,0 mL** di acqua distillata o deionizzata. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo la riscostituzione, o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.

L2KLH2: 1 set. **L2KLH6:** 2 set.

Prima di ricalibrare collocare le etichette giuste (fornite col kit) sulle provette delle aliquote cosicché i codici a barre possano essere registrati dal lettore.

Componenti del Kit Forniti Separatamente

L2SUBM: Substrato Chemiluminescente

L2PWSM: Tampone di lavaggio dell'Ago

L2KPM: Kit di Pulizia dell'Ago

LRXT: Tubi di Reazione (monouso)

CON6: 3 livelli, controllo multicostituito

Materiali richiesti

Acqua distillata o deionizzata; provette di vetro; controlli.

Procedura del Dosaggio

Attenzione: per avere prestazioni ottimali, è importante effettuare le procedure di manutenzione di routine cosiccome definito nel Manuale dell'Operatore dell'IMMULITE 2000.

Consultare il Manuale d'Uso IMMULITE 2000 per: preparazione, sistemazione, diluizioni, calibrazione, dosaggi e procedure di controllo di qualità.

Intervallo di Calibrazione Consigliato:
4 settimane.

Campioni per il Controllo di Qualità:

Usare i controlli o campioni di siero con almento due livelli (basso ed alto) del LH.

Valori Attesi

Data l'affinità con l'LH IMMULITE della DPC (vedi "Confronto di Metodi") ci si attende che il dosaggio abbia gli stessi range di riferimento espressi in mIU/mL.

I range di riferimento sono stati generati utilizzando il kit LH IMMULITE all'interno di uno studio multi-nazionale che ha coinvolto donne in apparente stato di

buona salute (età: 16 – 44 anni), che volontariamente hanno collaborato sottoponendosi ad un prelievo giornaliero di sangue per un ciclo ovulatorio completo.

Cicli Ovulatori	n*	LH, mIU/mL	
		Mediana	Centrale 95%
Fase follicolare	54 (762)	4,6	1,1 – 11,6
Ciclo centrale	54 (54)	39	17 – 77
Fase luteinica	54 (658)	4,3	ND – 14,7
Perimenzstruale, ± 8 giorni	54 (959)	3,9	ND – 12,0

*Numero di pazienti (numero totale di risultati)

Gruppo	n	LH, mIU/mL	
		Mediana	Centrale 95%
Uomini	135	2,4	0,8 – 7,6
Donne			
post menopausale*	75	24,9	11,3 – 39,8
Contraccettivi orali	104	3,1	ND – 8,0

*Preliminare

ND: non determinabile.

Vedi "Menstrual Cycle Graph" (Diagramma del Ciclo Mestruale) in "Tables and Graphs" (tavole e grafici).

Uno studio inter-disciplinare su valori di fertilità pediatrica effettuato con il kit LH IMMULITE presso una Clinica nel Sud-Ovest degli Stati Uniti ha prodotto i seguenti risultati.

Gruppo	Età (anni)	n	LH, mIU/mL	
			Mediana	Centrale 95%
Donne	Cordone	31	ND	
	0,1 – 1,5	46	0,7	ND – 2,3
	1,6 – 9	38	ND	ND – 1,3
Uomini	Cordone	36	ND	ND – 3,6
	0,1 – 1,5	54	1,0	ND – 4,1
	1,6 – 9	46	ND	ND – 3,8
Combinato	Cordone	67	ND	ND – 3,5
	0,1 – 1,5	100	0,7	ND – 3,7
	1,6 – 9	84	ND	ND – 3,2

ND: non determinabile.

Detti valori dovrebbero essere considerati solo come *suggerimento*. Ogni laboratorio

dovrebbe stabilire i propri range di riferimento.

Limiti

A causa della secrezione intermittente, i campioni ottenuti nello stesso giorno dallo stesso paziente potrebbero presentare oscillazioni estese nell'ambito del range di riferimento, indicanti variazioni fisiologiche piuttosto che errori di procedimento o di metodologia.

La crossreattività dell'analisi all'hCG e' bassa e non avra' effetto in circostanze normali. Tuttavia quando sono esaminati campioni con livelli molto elevati di hCG, come ad esempio quelli di donne incinte o pazienti affetti da trofoblastica o da cancro testicolare, a causa della crossreattività all'hCG il livello dell'LH puo' essere falsamente elevato.

Gli anticorpi eterofili presenti nel siero umano possono reagire con le immunoglobuline presenti nelle componenti del dosaggio provocando un'interferenza con i dosaggi in vitro. [Vedi Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1998;34:27-33.] Campioni di pazienti routinariamente esposti agli animali o a prodotti derivati da siero di animali possono presentare questo tipo di interferenza causa potenziale di risultati anomali. Questi reagenti sono stati formulati per minimizzare il rischio di interferenze, tuttavia, possono verificarsi interazioni potenziali tra sieri rari e componenti del test. A scopo diagnostico, i risultati ottenuti da questo dosaggio devono sempre essere utilizzati unitamente all'esame clinico, all'anamnesi del paziente e ad altre indagini di laboratorio.

Prestazioni del Dosaggio

Vedi tavole e grafici per dati *rappresentativi*. I risultati sono indicati in mIU/mL. (Laddove non diversamente specificato, tutti i dati sono stati generati su campioni di siero raccolti in provette senza gel separatore o additivi che favoriscano la formazione di coaguli.)

Range di Calibrazione: fino a 200 mIU/mL. Standardizzata in termini di WHO primo IRP 68/40 e secondo IS 80/552

Sensibilità Analitica: 0,05 mIU/mL.

Effetto Gancio a Dosi Elevate: Nessun effetto fino a 85 000 mIU/mL.

Precisione: Sono stati dosati campioni in doppio in 20 giorni, due sedute al giorno, per un totale di 40 sedute ed 80 replicati. (Vedi la Tabella "Precision".)

Linearità: Sono stati dosati campioni a varie diluizioni. (Vedi la Tabella "Linearity" per dati rappresentativi.)

Recupero: Sono stati dosati campioni 1:19 ai quali sono state aggiunte quattro soluzioni (200, 400, 1 000 e 2 000 mIU/mL) (Vedi la Tabella "Recovery" per dati rappresentativi.)

Specificità: Il dosaggio è estremamente specifico per l'LH (Consultare la tabella "Specificity".)

Bilirubina: La presenza di bilirubina in concentrazioni fino a 200 mg/L non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Emolisi: La presenza di emoglobina in concentrazioni fino a 188 mg/dL non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Lipemia: La presenza di trigliceridi in concentrazioni fino a 3 000 mg/dL non ha nessun Effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Paragone dei Metodi: Il dosaggio è stato comparato all'LH IMMULITE della DPC su 105 campioni di pazienti. (Range di concentrazione: da 1 fino a 140 mIU/mL. Vedi grafico.) Con regressione lineare:

$(IML\ 2000) = 1,04 (IML) - 0,25\ mIU/mL$
 $r = 0,972$

Valore medio:
26 mIU/mL (IMMULITE 2000)
26 mIU/mL (IMMULITE)

Assistenza Tecnica

All'estero: Si prega di contattare il proprio Distributore DPC Nazionale.

Prodotto dalla EURO/DPC Ltd. nell'ambito di un Sistema di Qualità Certificato ISO 13485:2003.

Português

LH

Utilização: Doseamento quantitativo do LH no soro, em conjunto com o Analisador IMMULITE 2000, para o diagnóstico clínico *in vitro*, como auxiliar no diagnóstico clínico

Números de catálogo:

L2KLH2 (200 testes),

L2KLH6 (600 testes).

Código do teste: **LH** Cor: **Vermelho**

Sumário e explicação do teste

A luteotrofina (LH-hormona luteinizante), glicoproteína com P.M. de 28 000 D, é segregada pelas células β da pituitária anterior, sob controlo da hormona hipotalâmica libertadora da gonadotropina (GnRH – hormona libertadora da gonadotropina). A LH consiste em duas cadeias polipeptídicas, alfa e beta. As cadeias alfa das LH, FSH, TSH e HCG são idênticas, enquanto que as cadeias beta são diferentes para cada uma das hormonas, conferindo-lhes especificidade funcional, biológica e imunológica. Nas mulheres, a LH induz a ovulação e a produção de esteróides (estrógeno e progesterona) pelo corpus luteum. São também necessárias pequenas quantidades de LH promotoras de produção de estrógeno pelo folículo maduro. Nos homens, estimula as células intersticiais (Leydig) a produzir andrógenos e estrógenos. Os valores da LH circulante são controlados por “feed-back” negativo, no hipotálamo, pelas hormonas esteróides. A secreção de LH, diferente para os dois sexos e indispensável para o funcionamento sexual normal, ocorre pulsátil com flutuações rápidas dentro dos níveis de referência. Os valores obtidos em diferentes amostras do mesmo paciente ao longo do dia poderão, portanto, variar largamente.

Os doseamentos de LH são usados para definir o eixo hipotalâmico – pituitário – gonadal. Determinações serológicas das gonadotropinas permitem distinguir uma deficiência gonadal primária de uma deficiência na estimulação gonadal. Se os

níveis de LH e FSH forem elevados, estamos perante uma deficiência gonadal primária, ao passo que, se os níveis das gonadotropinas estiverem baixos, a estimulação gonadal deficiente resultou num estado hipogonadal. O doseamento da LH tem também importância clínica no diagnóstico de disfunções na pituitária, uma vez que a LH e a hormona de crescimento (GH-growth hormone) são frequentemente as primeiras hormonas a serem afectadas.

Doseamentos serológicos da LH têm sido muito úteis para o diagnóstico e tratamento da infertilidade na mulher. Um pico de LH no meio do ciclo é um bom indicador de que a ovulação irá ocorrer aproximadamente 24h depois. Casais pouco férteis bem como mulheres sob terapia com gonadotropinas para a infertilidade podem ser devidamente informados que a ovulação está iminente.

Princípio do procedimento

A LH IMMULITE 2000 é um ensaio imunométrico em fase sólida quimioluminescente de duas voltas.

Ciclos de incubação: 1 x 30 minutos.

Colheita

Recomenda-se o uso de uma ultra centrífuga para clarear amostras lipémicas.

Amostras hemolisadas podem indicar tratamento incorrecto de uma amostra antes do envio para o laboratório; portanto os resultados devem ser interpretados com cuidado.

A centrifugação de amostras de soro antes da formação completa do coágulo pode resultar na presença de fibrina. Para prevenir resultados errados devido à presença de fibrina, certifique-se que a formação do coágulo foi completa antes da centrifugação das amostras. Algumas amostras, em especial as de doentes que recebem terapia anticoagulante podem requerer um maior tempo de formação do coágulo.

Os tubos para colheita sanguínea de diferentes fabricantes, podem originar diferentes valores, dependendo dos materiais e aditivos, incluindo gel ou barreiras físicas, activadores do coágulo e/ou anti coagulantes. IMMULITE 2000 LH

não foram ainda testados com todas as possíveis variações originadas pelos tipos de tubos.

Volume de amostra: 75 µL de soro

Estabilidade: 2 semanas a 2–8°C, ou 2 meses a –20°C.¹¹

Dado que o LH é conhecido por apresentar um pequeno ritmo circadiano o tempo de colheita deve ser anotado.

Precauções

Para uso de diagnóstico in vitro.

Reagentes: Manter a 2–8°C. Elimine de acordo com normas aplicadas.

Manipule com as devidas precauções todos os materiais capazes de transmitir doenças infecciosas. As matérias primas, obtidas de soro humano, foram testadas, revelando resultados negativos para a sífilis, para os anticorpos do vírus da imunodeficiência humana (HIV) 1 e 2; para o antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) e para os anticorpos do vírus da hepatite C.

Azida de sódio foi adicionada como conservante; para evitar acumulações de azidas metálicas explosivas em canalizações de cobre e alumínio, os reagentes devem ser rejeitados no esgoto apenas se estiverem diluídos e forem lavados com grandes volumes de água.

Substrato quimioluminescente: Evite contaminação e exposição à luz directa (ver bula do substrato).

Água: Utilize água destilada ou desionizada.

Materiais fornecidos

Os componentes formam um conjunto uno e indivisível. Os códigos de barras no interior das caixas são necessárias para o ensaio.

Embalagem de pérolas de LH (L2LH12)

Com código de barras. Contém 200 esferas revestidas com anticorpo monoclonal de rato anti-LH. Estável até a data de validade a 2–8°C.

L2KLH2: 1 embalagem.

L2KLH6: 3 embalagens.

Embalagem de Reagente de LH (L2LHA2)

Com código de barras. Contém 11,5 mL de fosfatase alcalina (de intestino de vitela) conjugado com anticorpo policlonal de cabra anti-LH em tampão. Estável até a data de validade a 2–8°C.

L2KLH2: 1 embalagem.

L2KLH6: 3 embalagens.

Antes de utilizar, retire a etiqueta de protecção da tampa deslizante; levante a tampa, remova o remanescente da etiqueta com o cuidado de não danificar o código de barras. Remova o selo de alumínio do topo da embalagem, encaixe a tampa deslizante nas ranhuras e verifique se a tampa desliza.

Ajustes de LH (LLHL, LLHH)

Dois fracos (nível alto e baixo) de LH liofilizada em matriz de soro de origem não humano. Reconstitua cada frasco com **4,0 ml** de água destilada ou deionizada. Estável a 2–8 °C por 30 dias após reconstituição, ou por 6 meses (aliquotado) a –20 °C.

L2KLH2: 1 conjunto

L2KLH6: 2 conjuntos

Antes de realizar qualquer ajuste, coloque as etiquetas de alíquota apropriadas (fornecidas com o "kit") em tubos de amostra de forma que os códigos de barras possam ser lidos pelo dispositivo de leitura do aparelho.

Componentes do kit fornecidos separadamente

L2SUBM: Substrato quimioluminescente

L2PWSM: Solução de lavagem

L2KPM: Kit de limpeza do pipetador

LRXT: Tubos de reacção (descartáveis)

CON6: Controlo multiparamétrico de três níveis.

Também necessário

Água destilada ou desionizada; tubos de amostra; controlos.

Procedimento de doseamento

Têr em atenção que para obter um desempenho óptimo, é importante efectuar todos os procedimentos de manutenção de rotina conforme definido no Manual de Operador do IMMULITE 2000.

Ver o manual do operador do Sistema IMMULITE 2000 para instruções sobre preparação, ajuste, doseamento e procedimentos de controlo de qualidade.

Intervalo entre ajustes aconselhável:
4 semanas.

Amostras de Controlo de Qualidade:
utilize controlos ou "pools" com, pelo menos, dois níveis (alto e baixo) de LH.

Valores de Referência

Baseado na sua relação com a LH IMMULITE da DPC (ver compara ção de métodos), pode esperar-se que o doseamento tenha valores de referência indênticos, em termos de mIU/mL.

Os seguintes valores de referência foram obtidos, utilizando o LH IMMULITE, através de um estudo multi-nacional, com mulheres saudáveis (16-44 anos de idade), as quais se voluntarizaram a uma análise sanguínea diária durante um ciclo ovulatório completo.

Ciclos Ovulatórios	n*	LH, mIU/mL	
		Mediana	Central 95%
Fase folicular	54 (762)	4,6	1,1 – 11,6
Meio ciclo	54 (54)	39	17 – 77
Fase luteal	54 (658)	4,3	ND – 14,7
Perimestruar, ± 8 dias	54 (959)	3,9	ND – 12,0

*Número de indivíduos (número total de resultados)

Grupo	n	LH, mIU/mL	
		Mediano	Central 95%
Homens	135	2,4	0,8 – 7,6
Mulheres			
pós-menopausa*	75	24,9	11,3 – 39,8
Anticoncepcionais orais	104	3,1	ND – 8,0

*Preliminar

ND: não é detectável.

Ver "Gráfico de ciclo menstrual (em Tabelas e gráficos).

Um estudo cruzado de valores de fertilidade pediátricos realizado com o LH IMMULITE numa clínica de "parto" no

sudoeste dos E.U.A., forneceu os seguintes resultados.

Grupo	Idade (anos)	n	LH, mIU/mL	
			Mediano	Central 95%
Mulheres	Cordão	31	ND	
	0,1 – 1,5	46	0,7	ND – 2,3
	1,6 – 9	38	ND	ND – 1,3
Homens	Cordão	36	ND	ND – 3,6
	0,1 – 1,5	54	1,0	ND – 4,1
	1,6 – 9	46	ND	ND – 3,8
Combinado	Cordão	67	ND	ND – 3,5
	0,1 – 1,5	100	0,7	ND – 3,7
	1,6 – 9	84	ND	ND – 3,2

ND: não é detectável.

Estes valores devem ser considerados apenas como directrizes. Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores.

Limitações

Devido à secreção pulsátil, amostras obtidas no mesmo dia de um mesmo paciente podem flutuar amplamente dentro do valor de referência, reflectindo variações fisiológicas ao invés de erros na técnica ou metodologia.

Nos ensaios de HCG a percentagem de reacção cruzada é baixa e em circunstâncias normais não tem impacto. Contudo, quando são testadas amostras com níveis elevados de HCG, como nos casos de mulheres grávidas ou de doenças trofoblásticas ou cancro do testículo, os níveis de LH podem estar falsamente elevados pela reacção cruzada com a HCG.

Os anticorpos heterófilos no soro humano podem reagir com as imunoglobulinas presentes no ensaio, causando interferência com os imunoenaios in vitro. [Ver Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1998;34:27-33.] Amostras de doentes expostas em rotina a produtos ou soros de animais podem demonstrar este tipo de interferência, potencial causador de resultados anómalos. Estes reagentes foram formulados para minimizar o risco de interferência, contudo podem ocorrer potenciais interacções entre soros (raros)

e componentes do teste. Para fins de diagnóstico, os resultados obtidos neste ensaio devem ser sempre analisados em combinação com o exame clínico, história de medicação do doente e outros achados que possam correlacionar.

Características do Ensaio

Ver tabelas e gráficos para dados representativos da performance do doseamento. Os resultados são apresentados em mIU/mL. Salvo referência em contrário, todos os dados provêm de amostras de soro colhidas em tubos sem anticoagulantes, barreiras de gel ou aditivos promotores da coagulação.

Calibração: Até 200 mIU/mL (WHO 1st IRP 68/40 e 2nd IS 80/552)

Sensibilidade Analítica: 0,05 mIU/mL.

Efeito Hook de Alta Dose: nenhum até 85 000 mIU/mL.

Precisão: As amostras foram doseadas em duplicado durante 20 dias, 2 ensaios por dia, perfazendo um total de 40 ensaios e 80 réplicas. (Ver a tabela de "Precisão".)

Linearidade: As amostras foram doseadas sob vários níveis de diluição. (Ver a tabela de "Linearidade" para dados representativos.)

Recuperação: As amostras foram adicionadas na relação de 1 para 19 com quatro soluções (200, 400, 1 000 e 2 000 mIU/mL) antes do doseamento. (Ver a tabela de "Recuperação" para dados representativos.)

Especificidade: O doseamento é específico para a LH. (Ver a tabela de "Especificidade".)

Bilirrubina: A presença de bilirrubina em concentrações até 200 mg/L não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Hemolise: A presença de hemoglobina em concentrações até 188 mg/dL não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Lipémia: A presença de triglicerídeos em concentrações até 3 000 mg/dL não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Comparação de métodos: O doseamento foi comparado ao LH

IMMULITE da DPC em 105 amostras de doentes. (Zona de trabalho: aproximadamente 1 a 140 mIU/mL. Ver gráfico.) Regressão linear:

$(IML\ 2000) = 1,04 (IML) - 0,25\ mIU/mL$
 $r = 0,972$

Médias:
26 mIU/mL (IMMULITE 2000)
26 mIU/mL (IMMULITE)

Assistência Técnica

Entre em contacto com o seu distribuidor nacional.

Fabricado pela EURO/DPC Ltd. de acordo com o Sistema de Qualidade registado segundo a norma ISO 13485:2003.

EURO/DPC LTD

Glyn Rhonwy
Llanberis, Gwynedd LL55 4EL
United Kingdom

DPC®

Diagnostic Products Corporation
Corporate Offices
5210 Pacific Concourse Drive
Los Angeles, CA 90045-6900
USA

2005-07-06

PIL2KLH – 15



EC REP DPC Biermann GmbH
61231 Bad Nauheim
Germany
+49 -6032-994-00