

PATHOZYME® FOLLICLE STIMULATING HORMONE Ref OD337

Immuno análisis (EIA) de enzima para la determinación cuantitativa

de FSH en el suero humano.

Almacenar entre 2 °C y 8 °C. No congelar.

Para uso exclusivo en diagnostico in vitro.

INTRODUCCION

La hormona estimulante folicular (FSH) y la hormona LUTEINIZING (LH) están íntimamente involucradas en el control del crecimiento y las actividades de reproducción de los tejidos gonadales los cuales sintetizan y segregan las hormonas sexuales tanto masculinas como femeninas. Los niveles circulatorios FSH y LH son controlados por las hormonas sexuales a través del bucle negativo de retroalimentación.

La FSH es una glicoproteína segregada por la pituitaria anterior. La hormona soltada por la Gonadotropina (GnRH) producida en el hipotálamo, controla la producción de FSH de la pituitaria anterior. Tal como otras glicoproteínas, como el LH y la Hormona estimulante de la tiroides y la Gonadotropina Coriónica humana (hCG), la FSH consiste en unidades alfa y beta. Ya que las subunidades alfa son estructuralmente similares, las propiedades biológicas e inmunológicas de cada una, son dependientes de la única subunidad beta.

En las mujeres, la FSH estimula el crecimiento y la maduración de los folículos del ovario al actuar directamente en los receptores localizados en las células granulosa. El esteroidogénesis folicular es promovido y estimula la producción del LH. Luego el LH producido se une a estas células y estimula la esteroidogénesis. La producción aumentada del estradiol intraovario sucede como un avance de la maduración folicular y a la vez aumenta la actividad receptora del FSH y la unión folicular del FSH. Por consiguiente el FSH, el LH y el estradiol están relacionados en soportar la maduración del ovario en las mujeres. Los niveles del FSH se aumentan después de la menopausia, la castración y el malfuncionamiento prematuro del ovario. Pueden normalizarse los niveles del FSH administrando estrógeno el cual demuestra un mecanismo negativo de retroalimentación. Las relaciones anormales entre el FSH, el LH y entre el FSH y el estrógeno, han estado ligados a la anorexia nervosa y la enfermedad del ovario poliquística.

Aunque hay excepciones, la falla del ovario normalmente es indicada cuando las concentraciones aleatorias del FSH exceden 40mIU/ml.

El FSH regula el crecimiento de los TUBULOS SEMINIFEROSOS y mantiene la espermatogénesis en el hombre. Sin embargo, los andrógenos, al contrario del estrógeno, no bajan los niveles del FSH demostrando así por consiguiente, una relación de retroalimentación únicamente con el suero LH.

Por razones no totalmente entendidas, los hombres azospermicos y oligospermicos tienen generalmente niveles elevados del FSH. Los tumores de los testículos generalmente deprimen las concentraciones del suero FSH. Se pueden hallar altos niveles de FSH en hombres con fallo testicular primario y con el síndrome de Klinefelter. Las concentraciones elevadas también están presentes en casos de hambre, falla renal, hipertiroidismo y cirrosis.

Las siguientes preparaciones se probaron como negativas: HCG (WHO 1a. Preparación de referencia internacional (75/539) a 100,000 mIU/ml, TSH (WHO 2da. Preparación de referencia internacional (80/558) at 100mIU/ml, LH (WHO 1a. Preparación de referencia internacional. 68/40) at 500 mIU/ml, Prolactina (WHO 1a. Preparación de referencia Internacional (75/504) a 500ng/ml y GHG (WHO 1a. Preparación de referencia Internacional 65/217) a 200ng/ml.

USO PRETENDIDO

El PATHOZYME FSH es un inmunoanálisis de enzima (EIA) para la determinación cuantitativa de la hormona estimulante folicular (FSH) en el suero humano. Es para uso profesional únicamente

PRINCIPIO DEL ENSAYO

Se preparan los anticuerpos monoclonales anti-FSH, se purifican y se cubren en los pozos de microtitulación. Luego se añade el suero de prueba y se añade otro monoclonal anti-FSH etiquetado con enzima HORSERADISH peroxidasa. Si el FSH humano está presente en la muestra, se combinará con el anticuerpo al pozo y la enzima conjugada dando como resultado que las moléculas FSH se coloquen entre la fase sólida y los anticuerpos de enzima ligados. Después de la incubación se lavan los pozos con agua destilada para retirar los cuerpos etiquetados no ligados. Al añadir el sustrato (TMB) se desarrollará un color solamente en los pozos en los cuales está presente la enzima indicando así la presencia del FSH. Se para la reacción añadiendo ácido clorhídrico diluido y se mide enseguida la absorción a 450 nm. La concentración del FSH es directamente proporcional a la intensidad del color de la muestra de la prueba. Esta prueba se ha calibrado contra el WHO, 2^{na} IRP 78/549.

CONTENIDO

Ref
OD337



12 x 8 pozos x 1

Microtitre Plate

Pozos rompibles cubiertos con anticuerpo específico contenidos en una bolsa resellable de hojilla metálica con desecante.

Cal A 0 mIU/ml

Referencia estándar: Suero humano libre de FSH
Liofilizado.

Cal B 5 mIU/ml

Referencia estándar: El FSH diluido en suero humano.
Liofilizado

Cal C 15 mIU/ml

Referencia estándar: El FSH diluido en suero humano.
Liofilizado

Cal D 50 mIU/ml

Referencia estándar: El FSH diluido en suero humano.
Liofilizado

Cal E 100mIU/ml 1

Referencia estándar: El FSH diluido en suero humano.
Liofilizado

Cal F 200mIU/ml 1

Referencia estándar: El FSH diluido en suero humano.
Liofilizado

Conj 11 ml

Conjugado Anti FSH HRP Conjugado Anti-FSH al HRP
Listo para su uso. (rosado).

Subs TMB 11ml

Solución de sustrato : 3,3', 5,5' Tetramethyl Benzidina en
BUFFER de citrato. Listo para su uso. (Incoloro).

Soln Stop HCl 1M 11ml

Solución de paro: Ácido Clorhídrico diluido en agua purificada.
Lista para su uso. (Incolora).

Folleto de Instrucciones y hoja de registro de datos EIA. 1 + 1

MATERIALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS

Micropipetas 100µl, 200µl y 1000µl
Puntas de pipeta desechables
Papel absorbente
Lector de micro placa con filtro 450 nm.
Papel gráfico
Cristalería de laboratorio totalmente limpia.

PRECAUCIONES

El PATHOZYME FSH contiene materiales de origen humano los cuales han sido probados como negativo para los anticuerpos HCV, HIV I y II y el HBsAg por un procedimiento aprobado a nivel de donante único. Puesto que ninguna prueba puede asegurar con absoluta certeza que los productos derivados de origen humano no transmitan agentes infecciosos, se recomienda que los reactivos incluidos en este kit sean manejados con precaución y atención extrema durante su uso y su disposición. Todos los reactivos, sin embargo, deben tratarse como biopeligrosos potenciales tanto en su uso como en su eliminación.. No se deben ingerir.

Los reactivos PATHOZYME FSH no contienen sustancias peligrosas según se define en las regulaciones actuales sobre químicos (Información sobre peligros y empaque para el suministro) en el Reino Unido Todos los reactivos deben, sin embargo, tratarse como bio peligrosos tanto en su utilización como en su eliminación. La eliminación final se debe efectuar en concordancia con la legislación local.

La solución de paro PATHOZYME FSH es ácido clorhídrico diluido y por consiguiente es corrosivo. Maneje con cuidado. En caso de contacto, lave con abundante agua.

Los reactivos del PATHOZYME FSH contienen un 1% de Proclin™ 300* como preservativo el cual puede ser tóxico si se ingiere. En caso de contacto, lave muy intensamente con agua corriente y busque atención médica.

*Proclin™ 300 es una marca registrada de ROHM & HAAS Limited.

ALMACENAMIENTO

Los reactivos deben almacenarse dentro de un rango de temperatura entre los 2°C y los 8°C. La fecha de vencimiento del kit es el último día del mes indicado en la botella y en la etiqueta del kit. Este funcionará según las especificaciones hasta la fecha de vencimiento según se determina por la fecha de fabricación del producto la cual está indicada claramente en el kit y en sus componentes. No use los reactivos después de la fecha de vencimiento.

Evite la exposición de los reactivos a temperaturas extremas y no los exponga a la luz solar directa.

NO CONGELE NINGUNO DE LOS REACTIVOS. (a excepción de los estándares de almacenamiento). Esto puede causar daño irreversible.

RECOLECCION Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Obtenga una muestra de sangre venosa del paciente y permita que se forme un coágulo y que se retraiga. Enseguida centrifugue la muestra de sangre coagulada y recolecte el suero claro. Se requieren muestras de suero frescas.

No use suero contaminado ni hemolizado ni lipémico para las pruebas, ya que estas situaciones afectan adversamente los resultados.

El suero puede almacenarse dentro de un rango de temperaturas entre 2°C y 8°C hasta por un periodo de 48 horas antes de efectuar la prueba. Si se requiere un almacenamiento de mayor duración, hágalo a -20°C hasta por un año. Las muestras derretidas deben mezclarse antes de efectuar la prueba.

No use la azida de sodio como preservativo ya que esto puede inhibir el sistema de enzima peroxidasa

No repita el ciclo de congelar/descongelar de los especímenes ya que esto causará resultados falsos.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Todos los reactivos deben estar a temperatura ambiente (20°C a 25°C) y deben mezclarse suavemente antes de su uso. No induzca la formación de espuma.

Añada 1ml de agua destilada a cada ampolla estándar para reconstituir los estándares liofilizados. Deje quieto al menos por 20 minutos. Los estándares rehidratados son estables hasta por 30 días en un rango de temperaturas de 2°C a 8°C. Para almacenamiento a largo plazo, forme partes alícuotas y congele a -20°C. Congele y descongele sólo una vez. Los estándares derretidos deben mezclarse antes de la prueba.

LIMITACIONES PARA EL USO

No se ha validado para esta prueba el uso de muestras diferentes al suero. Tampoco existe un protocolo de re-utilización para este producto. Al efectuar una interpretación de esta prueba se aconseja vehementemente tener en cuenta todos los datos clínicos. El diagnóstico no debe efectuarse basados únicamente en los resultados de un solo análisis clínico.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

- Permita que todos los componentes del kit así como el suero de la prueba lleguen a la temperatura ambiente de 20°C a 25°C.
- Se debe usar un juego de estándares con cada grupo de suero de prueba. Asegure el número deseado de pozos cubiertos en el recipiente. Registre la posición de los estándares y del suero de prueba en la hoja de registro de datos EIA suministrada.
- Las tiras no utilizadas deben resellarse en la bolsa de hojilla metálica con disecante y usando el sello zip-lock antes de volverse a colocar a 2°C hasta 8°C.
- Distribuya 50µl del suero de prueba y de estándares en los pozos asignados.
- Dispense 100µl del conjugado anti-FSH HRP a cada pozo y mezcle por 30 segundos. Es muy importante mezclar totalmente en este momento.
- Incube la placa por 30 minutos a temperatura ambiente (20°C a 25°C).
- Al final del periodo de incubación descarte el contenido de los pozos sacudiendo las placas a un contenedor bio-peligroso. Enseguida golpee los pozos con firmeza contra papel absorbente. Asegure que haya suficiente desinfectante en el contenedor bio-peligroso.
- Lavada manual: Llene los pozos con un mínimo de 300µl de agua destilada en cada uno. Pase el contenido de la placa a un contenedor bio-peligroso. Luego golpee los pozos firmemente contra papel absorbente. Luego lave los pozos desocupados 5 veces. Golpee los pozos firmemente contra papel absorbente o contra una toalla de papel para retirar todas las gotitas de agua residual.
- Lavado a máquina: Asegúrese de que haya 300µl de agua destilada por cada pozo y que se añada un desinfectante apropiado a la botella recolectora de desperdicio. Lave los pozos desocupados 5 veces. Después de lavar, retire el exceso de fluido golpeando los pozos firmemente contra papel absorbente o contra una toalla de papel para retirar toda el agua residual en gotitas.
- Distribuya 150µl de solución de sustrato a cada pozo y mezcle suavemente por cinco segundos.
- Incube en la oscuridad por 20 minutos a temperatura ambiente (20°C a 25°C).
- Pare la reacción añadiendo 100µl de solución de paro a cada pozo.
- Mezcle suavemente por 30 segundos para asegurar que el color azul cambia completamente a color amarillo.
- Lea la densidad óptica de forma inmediata (no mas tarde de 10 minutos) usando un lector de microplaca con un filtro 450nm.

PREVENCIÓN DE INCONVENIENTES

Para ser usado por operarios con un mínimo de entrenamiento básico de laboratorio.

No use los componentes del kit que estén dañados ni contaminados.

Use una punta desechable y separada para cada muestra para prevenir contaminación cruzada.

Se recomienda, aunque no es absolutamente necesario, duplicar todos los estándares y especímenes.

Deben correrse los especímenes y los estándares al mismo tiempo para mantener las condiciones de la prueba iguales.

Se recomienda que no se usen mas de 32 pozos para cada tiraje de análisis si se usa una medición manual, ya que toda la medición de los estándares y los especímenes debe ser completada dentro de tres minutos. Si se usa una medición automática, puede usarse una placa completa de 96 pozos.

Tape todos los reactivos inmediatamente después de usarse.

Evite la medición con pipeta repetida desde los reactivos guardados ya que esto puede causar contaminación.

No mezcle los reactivos ni las tiras cubiertas de anticuerpo de diferentes kits. Al eliminar, hay que tener cuidado de no tocar la superficie del pozo.

No permita que los reactivos se escurran a los lados del pozo. Antes de comenzar el análisis los reactivos deben estar a temperatura ambiente (20°C a 25°C). Mezcle suavemente los reactivos por inversión o por giro.

Una vez que se haya iniciado un análisis, no se debe permitir que los pozos se sequen durante el análisis.

No contamine la solución de sustrato ya que ésto tornará todo el kit inoperante.

Revise la precisión y exactitud del equipo de laboratorio utilizado durante el procedimiento para así garantizar resultados reproducibles.

Las tiras no usadas deben resellarse en la bolsa de hojilla metálica con disecante. Use el cierre zip.lock antes de almacenar a 2°C a 8°C.

CALCULO DE LOS RESULTADOS

Calcule el valor de la absorción media (A^{450}) para cada juego de estándares y suero de prueba. Construya una curva estándar plotando la absorción media de cada estándar contra su concentración en mIU/ml en papel gráfico con los valores de absorción en el eje Y y las concentraciones en el eje X. Use los valores de absorción medios para cada espécimen para determinar la correspondiente concentración del FSH en mIU/ml de la curva estándar. Si los niveles de control o las muestras conocidas de los usuarios no arrojan los resultados esperados, los resultados de prueba deben considerarse no-válidos. Si se usa el paquete de software escoja un ajuste de curva de regresión cuadrática.

VALORES ESPERADOS Y SENSIBILIDAD

La gráfica producida por los calibradores deberá ser de forma hiperbólica con el OD450 de los calibradores proporcional a su concentración. El OD del calibrador A deberá ser inferior a 0.75 y el OD del calibrador F deberá ser mayor a 1.5 para que los resultados del análisis sean válidos. Basados en muestras de laboratorio clínico de pacientes externos seleccionados aleatoriamente, los valores medios FSH en hombres (N=100) y mujeres (N=150) son de 11 y 12 mIU/ml respectivamente. Los valores medios FSH en mujeres post-menopáusicas (N=60) y mujeres embarazadas (N=60) son de 94 y de 1.0mIU/ml respectivamente. La concentración mínima detectable del **PATHOZYME FSH** se estima en 1.5mIU/ml. No se observó efecto prozono (Gancho) en este análisis a niveles de hasta 1.500 mIU/ml.

DATOS EVALUATIVOS

Calibrado contra los mas importantes competidores y contra los estándares de la casa El coeficiente de variación del **PATHOZYME FSH** es menor o equivalente a un 10%

In an evaluation between the Omega **PATHOZYME FSH** kit and the Serozone Serozyme FSH kit for samples with levels between 0.1 and 143 mIU/ml the following data was generated.

En una evaluación entre el kit Omega **PATHOZYME FSH** y el Serozone Serozyme FSH para muestras con niveles entre 0.1 y 143 mIU/ml, se generaron los siguientes datos.

Number of Samples Número de Muestras	136
Correlation Co-efficient Coeficiente de Correlación	0.99
Slope Pendiente	1.05
Interceptación	0.55
Omega Mean Medio de Omega	18.8 mIU/ml
Serono Mean Medio de Serono	18.4 mIU/ml

Estos kits mostraron Buena correlación.

REFERENCIAS

- (1) **Marshall, J. C.** *Clin. Endocrinol. Metab.* 1975;4:545.
- (2) **Cohen, K. L.** *Metabolism.* 1977;26:1165.
- (3) **Rebar, R. W., Erickson, G. F. and Yen, S. S. C.** *Fertil. Steril.* 1982;37:35.
- (4) **Abramham, G. E.** (ed.). *Radioassay Systems in the Clinic. Endocrinol.* Marcel Dekker Inc., New York: 1981.
- (5) **Uotila, M., Ruoslahti, E. and Engvall, E. J.** *Immunol. Methods.* 1981;42:11.

GUIA RAPIDA DEL PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

- Distribuya 50µl de estándares o de suero de prueba y 100µl de conjugado anti-FSH HRP a cada pozo y mezcle completamente por 30 segundos.
- Incube por 45 minutos a temperatura ambiente (20°C a 25°C).
- Descarte el contenido de los pozos y lave cinco veces con agua destilada.
- Añada 100µl de solución de sustrato a cada pozo y sacuda suavemente por 5 segundos.
- Incube en la oscuridad por 20 minutos a temperatura ambiente (20°C a 25°C)
- Añada 100µl de solución de paro a cada pozo y sacuda suavemente por 30 segundos.
- Lea las densidades ópticas de forma inmediata (no mas tarde de 10 minutos). Usando un lector de micro placa con filtro de 450 nm.

8083 ISSUE 4 Revised April 2003 SPANISH
© Omega Diagnostics Ltd. 2003



OMEGA DIAGNOSTICS LTD.
Omega House, Hillfoots Business Village
Alva FK12 5DQ, Scotland, United Kingdom
odi@omegadiagnostics.co.uk
www.omegadiagnostics.com
AN ISO 9001 AND ISO 13485 CERTIFIED COMPANY