



LIAISON® FSH (312251)
Фолликулостимулирующий гормон

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Количественное определение фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) в человеческой сыворотке и плазме с цитратом методом хемилюминесцентного иммуноанализа (CLIA) с помощью анализаторов линейки LIAISON® для диагностики нарушений репродуктивной функции мужчин и женщин. Анализ выполняется на анализаторах серии LIAISON.

2. ВВЕДЕНИЕ

Гонадотропные гормоны, лютеинизирующий (ЛГ) и фолликулостимулирующий (ФСГ), – это гликопротеины молекулярной массой около 30 кД, которые секретируются базофильными клетками гипофиза. Их пульсирующая секреция регулируется гонадотропин-рилизинг гормоном гипоталамуса (ГРГ).

У женщин гонадотропины стимулируют рост фолликулов яичников во время фолликулярной фазы. Во время лютеиновой фазы их секреция ингибируется под действием прогестерона и эстрадиола. У женщин в менопаузе концентрация ФСГ резко возрастает, тогда как концентрация ЛГ не превышает максимального значения, характерного для середины менструального цикла. В отсутствии прогестерон/эстрадиоловой регуляции в постменопаузе концентрация ФСГ и ЛГ резко повышается.

У мужчин ЛГ стимулирует синтез тестостерона клетками Лейдига. В комбинации с ФСГ и тестостероном он также стимулирует сперматогенез. Секреция ЛГ регулируется с помощью тестостерона по механизму отрицательной обратной связи; в регуляции секреции ФСГ участвует ингибин.

У детей в норме концентрация ЛГ и ФСГ настолько мала, что не поддается определению. С началом пубертатного периода ФСГ первым из гонадотропинов достигает определяемого уровня. Определение ЛГ и ФСГ играет существенную роль в определении дисфункций гипофизарно-яичниковой оси, клинически выражающихся в аменорее, олигоменорее, ановуляторных циклах и меноррагии. Для дифференциальной диагностики нарушений функций гипоталамуса и гипофиза широко используются определение ГРГ и кломифеновый тест. Определение концентрации сывороточного ЛГ также используется как показатель овуляции при оплодотворении *in vitro*.

У мужчин определение гонадотропинов, главным образом, используется для дифференциации первичного и вторичного гипогонадизмом. У детей и подростков определение ЛГ и ФСГ показано в случае преждевременного или запоздалого полового созревания.

3. ПРИНЦИП МЕТОДА

Метод количественного определения ФСГ представляет собой хемилюминесцентный иммуноанализ (CLIA) по принципу сэндвича. Мышинные моноклональные антитела к ФСГ связаны с магнитными микрочастицами (твердая фаза) и мечены производным изолюминола (конъюгат антител с красителем). Во время инкубации молекулы ФСГ, присутствующие в калибраторах, контролях и пробах, связываются с антителами твердой фазы и, затем, с антителами, мечеными изолюминолом. Сэндвич образуется только при наличии в пробе молекул ФСГ. После инкубации не связавшиеся молекулы удаляются во время цикла промывки. Затем к реакционной смеси добавляются реактивы для активации, индуцирующие хемилюминесцентную реакцию. Интенсивность люминесценции, измеряемая с помощью фотоумножителя в относительных единицах интенсивности, отражает концентрацию ФСГ в калибраторах, контролях и пробах пациентов.

4. СОСТАВ НАБОРА

Магнитные частицы (2,3 мл)	Магнитные частицы, покрытые мышиными моноклональными антителами к ФСГ; БСА; 0,09% азид натрия.
Калибратор 1 (1,0 мл)	ФСГ в лошадиной сыворотке; 0,09% азид натрия.
Калибратор 2 (1,0 мл)	ФСГ в лошадиной сыворотке; 0,09% азид натрия.
Конъюгат (16 мл)	Мышинные моноклональные антитела к ФСГ, меченные производным изолюминола (аминобутилэтилизолуминолом); БСА; 0,09% азид натрия.
Количество определений	100

Все реактивы готовы к использованию.

Необходимые материалы, не входящие в набор

Анализаторы LIAISON® XL	Анализаторы LIAISON®
юветы (каталожный номер X0016). Одноразовые наконечники (каталожный номер X0015). Набор запускающих реактивов XL (каталожный номер 319200). Системная / промывочная жидкость (каталожный номер 319100). Мешки для отходов XL (каталожный номер X0025) Набор растворов для обслуживания игл дозаторов и моющей станции (каталожный номер 310995).	Реакционные модули (каталожный номер 319130). Набор запускающих реактивов (каталожный номер 319102) или набор запускающих реактивов XL (каталожный номер 319200). Реактив для ежедневной проверки анализатора (каталожный номер 319101). Системная / промывочная жидкость (каталожный номер 319100). Мешки для отходов (каталожный номер 450003). Набор растворов для обслуживания анализатора (каталожный номер 310990).

5. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

ТОЛЬКО ДЛЯ *IN VITRO* ДИАГНОСТИКИ – Не для внутреннего или внешнего использования в организме людей и животных. Все образцы человеческой сыворотки/плазмы, использованные для производства набора, были протестированы на наличие антител к вирусу гепатита С, ВИЧ 1 и ВИЧ 2, а также HBs-антигена и были признаны отрицательно реагирующими в вышеуказанных тестах. Но, поскольку не существует метода исследований, который бы гарантировал полную инфекционную безопасность биоматериалов человеческого происхождения, рекомендуется обращаться с набором, как с потенциально инфекционным.

6. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Не употребляйте пищу, напитки, не курите и не наносите косметику в лаборатории, где проводятся анализы.

Не пипетируйте растворы ртом.

Избегайте прямого контакта со всеми потенциально инфекционными материалами, надевая защитную одежду, такую как лабораторные халаты, защитные очки и одноразовые перчатки. В конце каждого анализа тщательно мойте руки.

Избегайте всплесков или образования аэрозолей. Любую утечку биологического реагента следует смыть с помощью раствора гипохлорита натрия с 5%-ным активным хлором и утилизировать как инфекционные отходы.

Все образцы и реагенты, содержащие биологические материалы, используемые в анализе, должны считаться потенциально способными передавать инфекционные агенты. С отходами следует обращаться с осторожностью и утилизировать их в соответствии с лабораторными нормами и нормами законов, действующими в стране. Любые материалы, подлежащие повторному использованию, должны быть надлежащим образом стерилизованы в соответствии с местными законами и нормами.

Проверяйте эффективность цикла стерилизации/обеззараживания.

Реагенты, содержащие азид натрия (<0,1 %) [EC №247-852-1]:

DIRECTIVE	EC No. 1272/2008
HAZARD / RISK STATEMENTS	EUH 210 - Safety data sheet available on request

7. ПОДГОТОВКА ИНТЕГРАЛЬНОГО КАРТРИДЖА РЕАКТИВОВ

7.1 Интегральный картридж реактивов.

Пожалуйста, обратите внимание на следующие важные меры предосторожности при работе с реагентами:

Ресуспендирование магнитных частиц

Магнитные частицы должны быть полностью ресуспендированы до того, как интеграл будет помещен в прибор. Чтобы обеспечить полное ресуспендирование частиц, выполните следующие действия:

Перед удалением алюминиевых мембран с флаконов, проверните колесо флакона с магнитными частицами, пока цвет суспензии не станет равномерно коричневым. Аккуратно перемешайте их содержимое, держа интеграл горизонтально, чтобы избежать пенообразования. Осмотрите нижнюю часть флакона, чтобы убедиться, что все магнитные частицы были ресуспендированы.

При необходимости повторите процедуру до полного ресуспендирования магнитных частиц.

После удаления алюминиевой мембраны тщательно протрите поверхность каждого флакона для удаления остатков жидкости, если необходимо.

Вспенивание реагентов

Чтобы обеспечить оптимальные рабочие характеристики интеграла, следует избегать пенообразования реагентов.

Придерживайтесь приведенных ниже рекомендаций по предотвращению вспенивания:

Перед использованием интеграла осмотрите реагенты, чтобы убедиться в отсутствии пены. Если после ресуспендирования магнитных частиц пена появилась, поместите интеграл в анализатор и подождите, пока пена исчезнет. Интеграл готов к использованию только тогда, когда пена исчезла, а интеграл с ресуспендированными частицами находится на борту.

Установка интеграла в область загрузки реактивов

Анализатор LIAISON®

- Установите интеграл в область загрузки реактивов анализатора так, чтобы штрих-код был расположен слева, и оставьте для перемешивания магнитных частиц в течение 30 минут. Анализатор автоматически перемешает и полностью ресуспендирует магнитные частицы за это время.
- Следуйте инструкции по эксплуатации анализатора для загрузки проб и начала исследования

Анализатор LIAISON® XL

- Анализатор LIAISON® XL оснащен встроенным твердотельным магнитным устройством, которое помогает ресуспендировать микрочастицы до размещения интеграла с реагентами в области загрузки реактивов анализатора. Для уточнения деталей обратитесь к руководству по эксплуатации анализатора.
 - а. Вставьте интеграл с реагентами в специальный разъем.
 - б. Оставьте интеграл с реагентами в твердотельном магнитном устройстве, по крайней мере, на 30 секунд (допускается до нескольких минут). Повторите по мере необходимости.
- Установите интеграл в область загрузки реактивов анализатора так, чтобы штрих-код был расположен слева, и оставьте для перемешивания магнитных частиц в течение 15 минут. Анализатор автоматически перемешает и полностью ресуспендирует магнитные частицы за это время.
- Следуйте инструкции по эксплуатации анализатора для загрузки проб и начала исследования

8. ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ ИНТЕГРАЛЬНОГО КАРТРИДЖА РЕАКТИВОВ

Всегда храните интегралы в вертикальном положении, в противном случае последующее перемешивание магнитных частиц будет затруднено. Избегайте попадания прямых солнечных лучей.

Невскрытые реактивы стабильны до окончания срока годности при условии их хранения в вертикальном положении при температуре 2-8°C. Запрещается замораживать реактивы, входящие в состав картриджа. Запрещается использовать интеграл после окончания срока годности, указанного на этикетке интеграла. После вскрытия интеграла (удаления алюминиевых мембран) его содержимое стабильно в течение не менее **4 недель** при условии хранения при температуре 2-8°C в холодильнике или на борту анализатора. После окончания этого периода использование интеграла возможно при условии, если результаты исследования контрольных сывороток лежат в допустимых пределах.

9. ПОДГОТОВКА ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

Сыворотка или плазма. Цитрат может быть использован в качестве антикоагулянта. Сыворотка/плазма должна быть отделена от клеток после забора крови как можно скорее. Для поддержания цельности пробы добавление дополнительных консервантов не требуется. Мутные, липемичные пробы, а также пробы с твердыми частицами и дебрисом эритроцитов перед исследованием могут потребовать дополнительной очистки путем фильтрации или центрифугирования. Не рекомендуется исследовать сильно гемолизированные и липемичные пробы, а также пробы с признаками бактериальной контаминации. Перед установкой пробы в анализатор необходимо удалить все пузыри с ее поверхности.

Стабильность: 24 часа при температуре 2-8°C. Для более длительного хранения пробы должны быть заморожены при температуре -20°C или ниже. После разморозки пробу необходимо аккуратно перемешать. Избегайте повторного замораживания пробы.

Минимально необходимый объем 175 µл (25 µл на исследование + 150 µл мертвый объем).

10. КАЛИБРОВКА

Исследование калибраторов, входящих в состав интеграла, позволяет перекалибровать мастер-кривую, хранящуюся в памяти анализатора, с использованием значений концентрации калибраторов, зашифрованных в штрих-коде этикетки интеграла. Калибраторы рассчитаны на проведение **7 калибровок**.

Калибровка должна быть проведена в двух повторах в следующих случаях:

- Используется новая серия набора реактивов или набора запускающих реактивов.
- Прошло более 14 дней с момента последней калибровки.
- Было проведено обслуживание анализатора.
- Результаты исследования контрольных сывороток выходят за пределы допустимого диапазона.

Анализатор LIAISON®: значения концентраций калибратора содержатся в штрих-коде интеграла.

Анализатор LIAISON® XL: значения концентраций калибратора содержатся в радиочастотной метке.

11. ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

Строгое следование рекомендациям инструкции пользователя гарантирует получение корректных результатов.

Анализатор LIAISON®. Для идентификации каждой методики используется информация, зашифрованная в штрих-коде этикетки интеграла. Если информации с штрих-кода не читается, то картридж является негодным к использованию и должен быть утилизирован (см. Инструкцию пользователя).

Процедура анализа, выполняемого анализатором, состоит из следующих стадий:

1. Раскапывание калибраторов, контролей или проб в кюветы реакционного модуля.
2. Добавление магнитных частиц и конъюгата.
3. Инкубация.
4. Промывка Системной/промывочной жидкостью.
5. Добавление запускающих реактивов и измерение интенсивности флуоресценции.

Анализатор LIAISON® XL. Для идентификации каждой методики используется информация, зашифрованная в радиочастотной метке интеграла. Если информации с радиочастотной метки не читается, то картридж является негодным к использованию и должен быть утилизирован (см. Инструкцию пользователя).

Процедура анализа, выполняемого анализатором, состоит из следующих стадий:

1. Раскапывание магнитных частиц и конъюгата в кюветы.
2. Добавление калибраторов, контролей или проб
3. Инкубация.
4. Промывка Системной/промывочной жидкостью.
5. Добавление запускающих реактивов и измерение интенсивности флуоресценции.

12. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Каждая лаборатория должна установить частоту проведения контроля качества самостоятельно.

Для контроля качества необходимо использовать контроль производства компании DiaSorin или другой коммерческий контроль:

- а. по меньшей мере 1 раз в день перед постановкой проб пациентов
- б. каждый раз при использовании нового реагентного картриджа
- в. Каждый раз после калибровки набора
- г. каждый раз при использовании нового лота Starter Kit
- д. для того, чтобы оценить адекватность работы открытого интеграла через 4 недели в соответствии с руководящими принципами или требованиями местных нормативных актов или аккредитованных организаций.

Контроли LIAISON® следует ставить в 1 повторности для контроля эффективности анализа. Контрольные значения должны лежать в пределах ожидаемого диапазона: всякий раз, когда один или оба контроля находятся за пределами ожидаемых диапазонов, следует провести калибровку и повторить тестирование контроля. Если контрольные значения, полученные после успешной калибровки, повторно выходят за пределы предварительно определенных диапазонов, тестирование следует повторить с использованием неоткрытого контрольного флакона. Если контрольные значения лежат вне ожидаемых диапазонов, результаты не должны сообщаться пациенту. Эффективность других контролей должна оцениваться на совместимость с данным анализом перед их использованием. Затем следует установить соответствующие диапазоны значений для используемых материалов контроля качества.

13. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Анализатор автоматически рассчитывает концентрацию ФСГ в мМЕ/мл. За более подробной информацией обратитесь к Инструкции пользователя. Результаты измерений калибраторов и контролей анализаторами LIAISON® и LIAISON® XL в относительных световых единицах (RLU) или концентрационных единицах могут различаться, но результаты анализов проб пациентов будут одинаковыми.

13.1 Стандартизация

Исследование откалибровано с использованием референсного материала NIBSC 94/632.

13.2 Референсные границы

До 400 мМЕ/мл ФСГ.

В соответствии с общепринятой лабораторной практикой каждая лаборатория должна установить собственные референсные значения, отражающие их типовую популяцию. В качестве ориентировочных значений можно использовать приведенные ниже данные.

С помощью набора реактивов LIAISON® FSH была исследована 251 проба здоровых доноров крови. Полученные результаты приведены ниже:

Референсная группа	Диапазон (5-95% перцентили), мМЕ/мл
Мужчины	1,3-11,8
Женщины:	
фолликулярная фаза	3,5-9,2
перивульторная фаза	4,7-25,9
лютеиновая фаза	1,7-5,6
постменопауза в отсутствии гормональной терапии	13,9-103,1
постменопауза под действием гормональной терапии	1,7-96,8

14. Ограничения

Строгое следование инструкциям к прибору и реактиву необходимо для получения достоверных результатов.

Бактериальная контаминация или нагревание пробы могут повлиять на результат исследования.

Пробы пациентов, получающих препараты мышинных моноклональных антител в целях терапии или диагностики, могут содержать анти-мышинные антитела (НАМА). Результаты исследования таких проб с помощью иммунологических методик, основанных на использовании моноклональных антител, могут быть завышены или занижены.

Полученные значения концентрации ФСГ могут быть интерпретированы только с учетом данных истории болезни и других диагностических исследований.

Исследуемые пробы крови беременных женщин могут содержать повышенную концентрацию ХГЧ, что может привести к

заниженным результатам по ФСГ. Интерпретация таких результатов должна проводиться с осторожностью. Несмотря на то, что НАМА-нейтрализующие компоненты входят в состав реактивов, слишком высокие концентрации НАМА могут случайным образом исказить результаты измерений.

Запрещается обмениваться интегралами между анализаторами LIAISON® и LIAISON® XL. Интеграл, однажды установленный на анализатор определенного типа, должен использоваться на этом анализаторе до самого конца. Запрещается оценивать динамику концентрации по результатам, полученным на разных типах анализаторов. Такие измерения должны быть выполнены на одном конкретном типе анализатора (либо LIAISON®, либо LIAISON® XL).

15. СПЕЦИФИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ

15.1 Аналитическая специфичность.

Аналитическую специфичность можно определить, как способность теста безошибочно выявлять специфический аналит в присутствии потенциально мешающих факторов в матриксе пробы (например, гемолиза, липемии или билирубинемии).

15.2 Интерференция: контролируемые исследования потенциально мешающих факторов или условий продемонстрировали, что характеристики теста не менялись в присутствии гемолиза (вплоть до концентрации гемоглобина 1000 мг/дл), липемии (вплоть до концентрации триглицеридов 30 мг/мл), билирубинемии (вплоть до концентрации билирубина 0,2 мг/мл).

15.3 Перекрестная реактивность

Перекрестная реактивность ЛГ, ТТГ, пролактина или ХГЧ в физиологически соответствующих диапазонах концентраций не обнаружена. Возможна интерференция ХГЧ до 0,1%, поэтому завышенные показатели ХГЧ могут оказывать влияние на значения ФСГ.

15.4 Точность при исследовании на анализаторе LIAISON®

Различные пробы, содержащие разные концентрации специфического аналита, были проанализированы с целью определения повторяемости и воспроизводимости теста (то есть вариабельности внутри серии и между сериями).

Вариация внутри серии			Вариация между сериями		
Среднее значение (мМЕ/л)	КВ (%)	Кол-во	Среднее значение (мМЕ/л)	КВ (%)	Кол-во
7,5	3,0	40	8,6	3,3	15
46,6	3,5	40	45,4	3,2	15
167,8	3,3	40	172,4	4,5	25
316,6	3,8	40	342,0	4,5	17

15.5 Точность при исследовании на анализаторе LIAISON® XL

Различные пробы, содержащие разные концентрации специфического аналита, были проанализированы с целью определения повторяемости и воспроизводимости теста (то есть вариабельности внутри серии и между сериями).

Вариация внутри серии			Вариация между сериями		
Среднее значение (мМЕ/л)	КВ (%)	Кол-во	Среднее значение (мМЕ/л)	КВ (%)	Кол-во
2,69	5,6	20	6,69	4,8	23
4,29	3,9	20	26,97	3,7	31
73,62	2,5	20	69,72	2,9	32
187,73	2,3	20	115,01	3,3	31

15.6 Правильность исследования

Правильность исследования была определена с помощью теста разведения и восстановления.

15.7 Тест разведения.

Пробы с высокой концентрацией ФСГ были исследованы перед и после серии разведений лошадиной сывороткой. Результаты были проанализированы с помощью метода линейной регрессии. В таблице представлены результаты линейного разведения проб. Начальная концентрация: 57,8 мМЕ/л.

Разведение	Полученные значения (мМЕ/л)	Ожидаемые значения (мМЕ/л)	Восстановление (%)
1:1,25	44,8	46,3	97
1:1,67	35,1	34,8	101
1:2,5	23,2	23,3	99
1:5	11,8	11,9	100
1:10	6,5	6,1	107

15.8 Тест восстановления.

Пробы с внесением ФСГ были исследованы с помощью LIAISON® FSH.

В таблице представлены результаты восстановления разного количества ФСГ внесением натуральной сыворотки (5 мМЕ/л).

Полученные значения (мМЕ/л)	Ожидаемые значения (мМЕ/л)	Восстановление (%)
10.0	9.8	103
13.4	14.6	92
23.6	24.2	97
33.0	33.8	98
45.0	43.4	104
53.5	53.0	101

15.9 Эффект высокой дозы

Эффекта насыщения не наблюдалось до концентрации ФСГ 55000 мМЕ/л.

При исследовании проб с крайне высокой концентрацией аналита, может наблюдаться эффект занижения результатов за счет влияния эффекта насыщения. Оценка влияния эффекта насыщения была проведена путем исследования пяти высококонцентрированных пролактин-смешанных образцов. Результат анализа, как и ожидалось, превышал верхнюю границу измеряемого диапазона и, значит, не привел к ошибочной классификации пробы.

15.10 Аналитическая и функциональная чувствительность:

Аналитическая чувствительность:

определенная как минимальная концентрация от 0 с 2 стандартными отклонениями составила менее 0,25 мМЕ/л.

Функциональная чувствительность:

определенная как концентрация внутри серии, коэффициент вариации которой <20% составила <0,75 мМЕ/л.