



# KIT IRMA FSH

REF 20 240250

Σ 125

ITALIANO



## GARANZIA

Il fabbricante garantisce per il suo prodotto esclusivamente la sua capacità di misurare l'analita specificato, quando usato conformemente alle istruzioni scritte fornite dal fabbricante stesso. L'uso del kit diagnostico per qualunque altro scopo esula dall'impiego previsto per il prodotto ed avviene a rischio esclusivo dell'utilizzatore. Il fabbricante declina ogni tipo di garanzia implicita di commerciabilità, convenienza d'uso o utilità presunta a qualsiasi altro titolo. Qualsiasi indennizzo dovuto a un mancato funzionamento o errore del kit diagnostico usato conformemente alle istruzioni si limita al valore di sostituzione del kit. La sola responsabilità di Bioclone Australia Pty Limited e dei propri distributori si limita alla sostituzione del prodotto oppure al rimborso della spesa d'acquisto. Bioclone Australia Pty Limited non è responsabile per danni materiali, lesioni personali o perdite di natura economica causati dai suoi prodotti.

Prodotto da Bioclone Australia Pty Limited

(società affiliata a Hitachi Chemical Co., Ltd) ABN 14 002 036 071

71-73 Railway Parade Marrickville NSW AUSTRALIA 2204

Tel +61 (0) 2 9517 1966 Fax +61 (0) 2 9517 2990 Numero verde 1800 251 138

Email sales@bioclone.com.au Web [www.bioclone.com.au](http://www.bioclone.com.au)



Hitachi Chemical Diagnostics Inc.

Hitachi Europe Limited, Whitebrook Park, Lower Cookham Road  
Maidenhead, Berkshire, SL6 8YA, UK. Phone: +44 1628 585 591

## FINALITA' D'USO

Il kit IRMA FSH è stato sviluppato per la determinazione quantitativa diagnostica in vitro dell'ormone follicolo stimolante umano (FSH) presente nel siero e nel plasma.

## PRINCIPIO DEL KIT IRMA

L'IRMA è un sistema immunoradiometrico basato sulla tecnica del doppio anticorpo. L'antigene presente nel campione, come in un sandwich, si lega sia all'anticorpo marcato con il tracciante <sup>125</sup>I sia all'anticorpo legato a particelle di polistirene magnetizzate (fase solida). Dopo l'incubazione la risultante struttura a "sandwich" è fatta sedimentare, decantata e lavata al fine di rimuovere gli anticorpi marcati con <sup>125</sup>I non legati. Le provette contenenti il complesso sandwich sedimentato sono poi analizzate usando un contatore gamma. La concentrazione dell'analita è direttamente proporzionale alla radioattività rimasta legata nella struttura a sandwich. Si traccia il grafico dell'attività dei calibratori e da tale curva si desume la concentrazione dei campioni.

## REATTIVI FORNITI, STABILITA' E CONSERVAZIONE

Composizione del kit- 250 test  
Il kit e tutti i suoi componenti, nuovi o già avviati, devono essere conservati ad una temperatura compresa tra i 2-8°C sino alla data di scadenza riportata sulla confezione.

## FSH: Tracciante

**1 fialone Cod. # FSH1**  
65 mL contenenti anti-FSH marcati con <sup>125</sup>I (19.3μCi) in tampone BSA PBS, addizionati di siero animale non immune e di un colorante arancione. Contiene azide sodica, 0.1% p/v. Pronto all'uso.

## FSH: Fase solida

**1 fialone Cod. # FSA1**  
65 mL contenenti anticorpi anti-FSH complessati con particelle di polistirene magnetizzabile in tampone BSA PBS e addizionati di un colorante blu. Contiene azide sodica, 0.1% p/v. Risospendere delicatamente prima dell'uso.

## Soluzione di lavaggio concentrata

**1 fialone Cod. # CGW1**  
10 mL di soluzione di lavaggio concentrata 15 volte. Contiene azide sodica, 1.5% p/v. Diluire prima dell'uso.

## FSH: Calibratori

**9 flaconi Cod. # FSS1-9**  
2.0 mL ciascuno in siero di provenienza umana. Contiene azide sodica, 0.1% p/v. Pronti all'uso.

## PRECAUZIONI ED AVVERTENZE PER L'USO

Manipolazione, impiego, conservazione e smaltimento dei campioni e dei componenti del kit devono avvenire in accordo con le linee guida e i regolamenti di sicurezza nazionali o locali.

## Campioni e calibratori

I componenti costitutivi dei calibratori sono stati testati con metodi approvati ed accreditati al fine di stabilire la presenza di antigeni di superficie per l'epatite B, anticorpi per l'epatite C ed anticorpi contro HIV-1/2 (AIDS) e sono risultati non reattivi a tutte le indagini sopra elencate. Si raccomanda comunque di manipolare tutti i campioni con le precauzioni d'uso relative ai prodotti potenzialmente infettivi.

## Conservanti

Il kit contiene azide sodica come conservante. La presenza di tale conservante nei reattivi rende gli stessi potenzialmente tossici ed è pertanto consigliabile maneggiare i vari componenti del kit con attenzione, evitando l'ingestione o il contatto con la cute. L'azide sodica potrebbe reagire con le tubature in piombo o rame dei lavelli formando azoturi metallici potenzialmente esplosivi.

## Materiale Radioattivo

Il tracciante contiene materiale radioattivo.

## RACCOLTA E MANIPOLAZIONE DEI CAMPIONI

I pazienti non richiedono una preparazione specifica. Si possono utilizzare campioni sia di siero che plasma, raccolti in modo appropriato per le analisi di laboratorio. E' preferibile l'utilizzo di siero ma anche l'impiego di anticoagulanti quali eparina o EDTA non altera l'accuratezza dell'analisi.

Evitare i campioni visibilmente emolizzati, lipemici e torbidi. I campioni sono stabili fino a 48 ore in frigorifero, per tempi più lunghi congelare ad almeno -20°C. Evitare di congelare e scongelare più volte i campioni. A scongelamento avvenuto, verificare l'assenza di flocculazioni, e mescolare per inversione immediatamente prima dell'analisi. Campioni torbidi o flocculati vanno centrifugati prima dell'uso.

## MATERIALE RICHIESTO MA NON COMPRESO NEL KIT

- Acqua distillata o deionizzata
- Pipette di precisione
- Provette in plastica monouso 12x75 mm
- Pipette a ripetizione
- Contaminuti
- Agitatore vortex
- Bagno termostatico (37°C ± 2°C)
- Portaprovette magnetici o centrifuga refrigerata 1500 g
- Carta assorbente
- Contatore gamma

## NOTE PROCEDURALI

Portare tutti i reagenti ed i campioni a temperatura ambiente (20-25°C) e mescolare dolcemente per inversione prima dell'uso. **Non usare ancorette magnetiche per risospendere il reagente della fase solida.**

L'eventuale contaminazione dei reattivi potrebbe determinare una riduzione delle performance del metodo. Si raccomanda di operare in duplicato. La curva di calibrazione deve essere ripetuta ad ogni determinazione. I campioni

per i quali si sospettano concentrazioni superiori al valore del calibratore più alto, devono essere diluiti prima dell'analisi con il calibratore zero.

I vari passaggi della metodica devono essere eseguiti in successione evitando interruzioni. E' consigliabile non mescolare reattivi provenienti da lotti diversi. Il contatore gamma e le pipette devono essere opportunamente tarate prima dell'utilizzo.

## LAVAGGI

L'efficienza della fase di lavaggio e' cruciale per garantire una buona precisione del metodo.

## CONTROLLO DI QUALITA'

In ogni sessione analitica vanno inseriti campioni di controllo che devono risultare entro le specifiche fissate dal laboratorio per poter validare l'analisi.

## PROCEDURA OPERATIVA

### Preparazione dei Reagenti

#### Soluzione di lavaggio

Diluire 1 a 15 la soluzione di lavaggio concentrata con acqua deionizzata. La soluzione di lavaggio può essere conservata a temperatura ambiente (20-25°C) per 6 mesi.

### Calibratori

Miscelare delicatamente i flaconi per inversione. L'esatta concentrazione dei calibratori è riportata sull'etichetta di ciascun flacone. I calibratori vanno conservati a 2-8 °C.

### Protocollo operativo

1. Allestire ed etichettare in doppio le provette in base al numero di test da eseguire (campioni, controlli, calibratori e attività totale).
2. Pipettare 100 μL di campione (calibratore, controllo) in doppio nelle rispettive provette.
3. Pipettare 250 μL di Tracciante FSH (giallo) in tutte le provette. Mettere da parte quelle dell'attività totale (TC), le quali non richiedono ulteriore trattamento.
4. Risospendere la Fase Solida dell'FSH (blu-verde) con movimenti di rotazione e inversione del flacone finché non rimangono più sedimenti sul fondo; non agitare vigorosamente questo reattivo.
5. Pipettare 250 μL di FSH Fase Solida (blu-verde) in tutte le provette ad eccezione di quelle dell'attività totale (TC).
6. Mescolare le provette su vortex con cautela ed incubare per 60 minuti a 37°C.
7. La separazione della struttura a sandwich dagli anticorpi marcati, non legati, può essere ottenuta sia mediante separazione magnetica che centrifugazione.
  - A. *Separazione magnetica*
    - a) Posizionare le provette nel rack di separazione magnetica ed assicurarsi che tutte le provette siano in contatto con la piastra magnetica, per almeno

- 15 minuti. La precisione può essere migliorata portando il tempo di sedimentazione a 20 minuti.
- b) Dopo la separazione non rimuovere i rack dalla piattaforma magnetica. Decantare il supernatante e mantenere capovolta la piattaforma magnetica per permettere alle provette di sgocciolare sulla carta assorbente per 2 minuti.
- c) Rimuovere i rack dalla loro piastra magnetica. Lavare le provette con 500 µL di soluzione di lavaggio. Agitare su vortex, sedimentare su piattaforma magnetica, decantare e lasciar scolare su carta assorbente come precedentemente indicato.

Oppure

- B. Centrifugazione**
- a) Centrifugare tutte le provette per 5 minuti a 1500 x g in una centrifuga refrigerata (4°C). Decantare il supernatante e lasciar scolare le provette sulla carta assorbente per 2 minuti.
- b) Lavare le provette aggiungendo 500 µL di soluzione di lavaggio. Agitare su vortex, centrifugare, decantare ed asciugare come sopra.
8. Contare la radioattività per la durata di un minuto in contatore gamma. Registrare i colpi per minuto per ciascuna provetta.
9. Calcolare i risultati.

### CALCOLO DEI RISULTATI

In assenza di elaborazione automatica dei risultati il calcolo può essere effettuato a mano.

- Determinare l'attività media (cpm) per ogni coppia di provette in duplicato.
- Tracciare la curva di calibrazione su carta semilogaritmica usando uno dei metodi sotto riportati.

#### Metodo 1

Usare la seguente formula per calcolare la "percentuale di attività legata sull'attività totale" (%B/T):

$$\%B/T = \frac{\text{cpm}(\text{campione})}{\text{cpm}(\text{attività totale})} \times 100$$

Graficare %B/T sull'asse y, contro le concentrazioni assegnate ai calibratori sull'asse x.

#### Metodo 2

Riportare su grafico il valore di cpm sull'asse y, contro le concentrazioni assegnate ai calibratori sull'asse x.

- Leggere i valori dei campioni direttamente dalla curva di calibrazione esprimendoli in IU/L.

### ESEMPIO DI CALCOLI

ID	cpm medi	%B/T	FSH IU/L
Attività totale	113876		
0	89	0.08	
1.0	289	0.25	
2.5	615	0.54	
5	1096	0.96	
10	2331	2.05	
25	5895	5.18	
50	12041	10.57	
100	24138	21.41	
250	50736	44.55	
campione 1	1410	1.24	6.12
campione 2	6239	5.48	26.24

### CALIBRAZIONE

I calibratori forniti nel kit sono espressi in IU/L e calibrati contro il riferimento internazionale "2<sup>nd</sup> IRP FSH/LH (2nd IRP 78/549)".

### LIMITAZIONI

Campioni di siero che presentano un'evidente emolisi, un elevato grado di lipemia e torbidità potrebbero portare ad un'alterazione dei risultati.

Campioni che contengono una radioattività di fondo significativa devono essere scartati. Misurare preliminarmente la radioattività di fondo nei campioni sospetti, ed in caso di positività sosporre l'analisi finché sia decaduta, o ripetere il prelievo.

### VALORI ATTESI

Si raccomanda che ciascun laboratorio stabilisca i propri valori di riferimento su un campione rappresentativo della popolazione. Il range di riferimento che segue è stato ottenuto dall'analisi di campioni di siero provenienti da individui sani e viene fornito unicamente come guida:

Maschio		1 - 7	IU/L
Donna	fase follicolare/luteinica	2 - 12	IU/L
	fase ovulatoria	8 - 22	IU/L
	Postmenopausa	20 - 90	IU/L

### PRESTAZIONI CARATTERISTICHE

#### Precisione entro la serie

Campione	n	media ± 2SD(IU/L)	%CV
A	10	6.9 ± 0.24	3.5
B	10	15.8 ± 0.53	3.4
C	10	43.4 ± 0.36	0.8

#### Precisione fra le serie

Campione	n*	media ± 2SD(IU/L)	% CV
A	10	7.2 ± 0.41	5.7
B	10	16.6 ± 0.64	3.8
C	10	42.8 ± 1.74	4.1

\* in duplicato

#### SPECIFICITA'

Analiti	concentrazione misurata	risultati apparenti FSH (IU/L)	non determinabile
hCG	45000 IU/L		
LH	1000 IU/L		0.40
TSH	1000 mIU/L		0.50

#### ACCURATEZZA

Il recupero è stato calcolato dosando i valori prima e dopo l'aggiunta di un analita esogeno (x). Si aggiungevano 50 µL di campione X a 50 µL di ciascun calibratore.

Campioni	FSH (IU/L) Osservati	FSH (IU/L) attesi	recupero %
Siero x (100 µL)	6.2		
x (50 µL)+ 50 µL	0	3.1	100
	2.5	4.5	102
	25	14.8	95
	250	118.5	93

#### DILUIZIONI

Un campione è stato diluito con il calibratore zero, analizzato e se ne è calcolato il recupero.

Campioni	FSH (IU/L) Osservati	FSH (IU/L) attesi	recupero %
Tal quale	21.3		
1/2	10.7	10.6	100.9
1/4	5.3	5.3	100.0
1/8	2.7	2.7	100.0
1/16	1.4	1.3	107.6

#### Effetto gancio ad alte dosi

Per le caratteristiche del test, che rendono possibile la presenza di effetto "gancio" (hook) alle dosi più alte, si possono determinare risultati aberranti in campioni con valori superiori a 1000 IU/L. Questi campioni devono essere diluiti con il calibratore zero e ritestati.

#### SENSIBILITÀ

La sensibilità del test è tipicamente < 0.5 IU/L.

La sensibilità è definita come quella concentrazione di analita che corrisponde a un segnale strumentale (cpm) il quale dista due deviazioni standard dalla media del segnale strumentale ottenuto misurando in tre diverse serie 10 replicati del calibratore zero.

#### INTERFERENZE

Non è stata osservata interferenza col recupero analitico per concentrazioni di emoglobina fino a 250 mg/dl, bilirubina fino a 10 mg/dl, trigliceridi fino a 970 mg/dl.

#### INFORMAZIONI PER GLI ORDINI

Il kit FSH IRMA è prodotto da :

Bioclone Australia Pty Limited  
71-73 Railway Parade, Marrickville  
NSW 2204, AUSTRALIA

Telefono +61 (0) 2 9517 1966 numero verde 1800 251 138

Fax +61 (0) 2 9517 2990

Email [sales@bioclone.com.au](mailto:sales@bioclone.com.au) Web [www.bioclone.com.au](http://www.bioclone.com.au)

#### ASSISTENZA TECNICA

Bioclone fornisce un completo servizio di assistenza tecnica al numero +61 (0) 2 9517 1966 o al numero verde 1800 251 138.

PART No.: KBFS2501 Ed.5 Data di Revisione 27 gennaio 2004