

СР	7041/2007
	11.10.2012

**Перший заступник
Голови Державної служби України
з лікарських засобів
І.Б.Демченко
11 жовтня 2012 р.**

**Інструкція
з використання тест-системи для визначення
фолікулостимулюючого гормону в сироватці крові
ФСГ - ІФА**

IN VITRO

Зберігати при 2-10°C

Принцип методу

У наданій тест-системі використовується принцип двосайтового імуноферментного аналізу (сендвіч-метод). У лунку планшета з іммобілізованим антигеном (специфічні анти-ФСГ-антитіла) вносять досліджуваний зразок і кон'югат (другі анти-ФСГ-антитіла, мічені пероксидазою). ФСГ із зразка зв'язується з антигеном на поверхні лунки та кон'югатом. Незв'язаний матеріал видаляється відмивкою. Після відмивки активність ферменту, зв'язаного на поверхні лунки планшета, проявляється додаванням субстрату та вимірюється при довжині хвилі 450 нм.

Інтенсивність кольорової реакції прямо пропорційна кількості ФСГ у зразку.

Клінічне значення

ФСГ (фолікулостимулюючий гормон, фолітропін) – глікопротеїдний гонадотропний гормон, що синтезується базофільними клітинами передньої долі гіпофіза. Регулятор розвитку оваріальних фолікулів в жіночому організмі і сперматогенезу у чоловіків. До настання статевої зрілості рівень ФСГ в крові низький. Під час статевого дозрівання починається циклічна секреція гонадотропнів, яка запускає розвиток статевих залоз і секрецію статевих гормонів. Виділення гормону носить пульсуючий характер. У жінок ФСГ потенціє утворення фолікулів і, в комплексі з лютеїнізуючим гормоном, стимулює біосинтез естрадіолу. Зростання концентрації естрадіолу, що синтезується в розвиваючихся фолікулах, знижує секрецію ФСГ за механізмом негативного зворотного зв'язку. Пік концентрації ФСГ спостерігається в середині менструального циклу, одночасно з овуляторним піком ЛГ. Абсолютні концентрації ФСГ при цьому значно нижчі, ніж ЛГ. Досягнення критичного рівня ФСГ призводить до овуляції. Під час менопаузи зменшення концентрації естрадіола викликає підвищення рівня ФСГ. У чоловічому організмі ФСГ контролює розвиток і функцію сім'яних каналців, особливо сперматогенез. У процесі стимуляції ФСГ і функціонування клітин Сертолі секретується інгібін, який гальмує синтез ФСГ гіпофізом, замикаючи петлю зворотного зв'язку. Важливе співвідношення ЛГ/ФСГ, яке в нормі у жінок до менархе дорівнює 1; через рік після менархе - від 1 до 1.5; в періоді від двох років після настання менархе і до менопаузи - від 1.5 до 2.

Підвищення рівня відбувається при первинному гіпогонадізмі (синдром Шершевського-Тернера, синдром Клайнфельтера), синдромі виснаження яєчників, тестикулярній фемінізації, менопаузі, кастрації, орхіті, ендометріюїдних кістах яєчників, дисфункціональній матковій кровотечі, алкоголізмі, гіпогонадізмі внаслідок впливу рентгеновських променів і хіміотерапії, базофільній аденомі гіпофіза, прийом таких препаратів, як гонадотропінрелізінг-гормон, кетоконазол та ін.

Зниження концентрації відбувається при гіпоталамічній аменореї, гіпогонадотропному гіпогонадізмі, гіпофізарному нанізмі, синдромі Шихана, вагітності, гіперпролактинемії, синдромі полікістозних яєчників, голодуванні, ожирінні, хірургічних втручаннях, прийомі таких препаратів:

E-mail: granum@granum.com.ua

Безкоштовна гаряча лінія: 0-800-500-561 (для стаціонарних телефонів)

анаболічні стероїди, пероральні контрацептиви, тамоксифен (у жінок в менопаузі) та ін.

Склад набору

1. Планшет з іммобілізованим антигеном, 8x12 лунок (1 шт.)
2. Стрічка для заклеювання планшет (1 шт.)
3. Набір калібраторів та контролю по 0.5 мл, нульовий калібратор – 2 мл (всього 5 калібраторів: 0, 5, 25, 50, 100 МОд/л; 1 контроль)
4. Відмиваючий розчин концентрат 20x, 22 мл (1 фл.)
5. Кон'югат, 11 мл (1фл.)
6. Субстрат, 11 мл (1 фл.)
7. Зупиняючий розчин, 11 мл (1 фл.)

Аналітичні характеристики

Чутливість методу: 0.3 МОд/л.

Очікуванні коливання контролю: 9-12 МОд/л.

Коефіцієнт варіації результатів визначень не більш 10%.

Матеріал для дослідження

Використовуйте свіжу, вільну від домішок сироватку крові. Зберігайте зразки не більше 48 годин при 2-10°C. Довгострокове зберігання допускається в замороженому вигляді при температурі -20°C. Повторне заморожування-відтавання не допускається. Не використовуйте мутні, хильозні та гемолітичні зразки.

Перелік необхідного устаткування

Автоматичні одно- та багатоканальні дозатори фіксованого або варіабельного об'єму 5-1000 мкл.

Загальне лабораторне устаткування.

Аналізатор імуноферментний з довжиною хвилі 450 нм.

Підготовка реагентів

1. Перед використанням набір витримайте при кімнатній температурі протягом 30 хвилин. До цього не знімайте стрічку для заклеювання з планшету, щоб не утворювався конденсат.
2. Приготуйте відмиваючий розчин. Для цього концентрат розбавте 20-кратним об'ємом дистильованої води в чистому посуді. Отриманий розчин стабільний протягом 5-ти діб при кімнатній температурі або 30 діб у холодильнику 2-10°C.
3. **УВАГА!** Якщо припустима концентрація у зразку вище, ніж верхня крапка калібрувальної кривої, розбавте наданий зразок, використовуючи калібратор 0.

Проведення аналізу

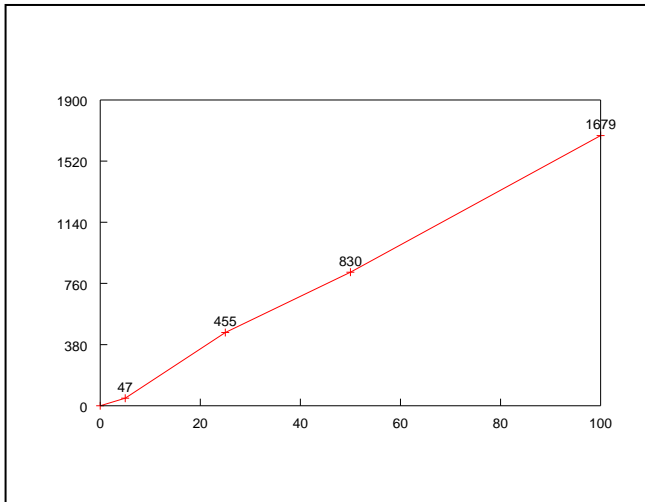
1. Помістіть у рамку потрібну кількість стрипів - 12 лунок для калібраторів, контролю та зразків в 2 повторах.
2. Внесіть у лунки 100 мкл кон'югату.
3. Внесіть у лунки 50 мкл калібраторів, контролю та досліджуваних зразків.
4. Інкубуйте 60 хвилин при температурі 37°C.
5. Відмийте стрипи 5 разів відмиваючим розчином.
6. Внесіть у лунки 100 мкл субстрату.
7. Інкубуйте **20-25** хвилин при температурі 20-25°C в темному місці.
8. Внесіть у лунки 100 мкл зупиняючого розчину.
9. Виміряйте оптичну щільність (ОЩ) у лунках на аналізаторі імуноферментному при довжині хвилі 450 нм. Бланк фотометра виставляйте проти нульового калібратора.
10. Використовуйте кусково-лінійний метод обчислювання значень.
11. Визначте концентрацію ФСГ в досліджуваних зразках за допомогою калібрувальної кривої.

Примітки

1. Не змішуйте та не використовуйте в одній постановці реагенти різних серій.
2. Після використання реагенту негайно закривайте кожен флакон **СВОЮ** кришкою.
3. Усі проби і стандарти бажано ставити в двох паралелях (повторах).
4. Відмивання планшета може проводитися як вручну, так і з використанням автоматичних пристроїв. Вносити по 250 мкл відмиваючого розчину в лунки при кожному відмиванні. Затримка при відмиванні

(«замочування») не потрібна. Після закінчення ручного відмивання різко переверніть мікропланшет на фільтрувальний папір для видалення залишків буферу.

Приклад калібрувальної кривої (вісь X – концентрація, МОд/л; вісь Y – ОЩ)
 Не використовувати для обчислювання!



Референтні величини

Грунтуючись на результатах досліджень, проведених лабораторіями, рекомендуємо користуватися нормами, приведеними нижче. Разом з тим, відповідно до правил GLP (Гарної лабораторної практики), кожна лабораторія повинна сама визначити для себе параметри норми, характерні для обстежуваної популяції.

Стать, вік	Одиниці, МОд/л	
	Нижня межа	Верхня межа
Діти до 11 років		4
Чоловіки	0.8	13
Жінки: фолікулярна фаза	3	12
овуляція	6	25
лютеїнова	2	12
менопауза	10	150

Вимоги безпеки

1. Категорично забороняється піпетування ротом.
2. Засобами індивідуального захисту при роботі з наборами є марлеві пов'язки та гумові рукавички.
3. Знезараження сироваток, тестових слайдів чи скляних пластин проводити згідно з наказом МОЗ СРСР №408 від 29.12.89 р. «О мерах по снижению заболеваемости вирусными гепатитами в стране».

Умови зберігання

Набір повинен зберігатися при температурі від 2-10°C. Не допускається замороження!

Після розкриття пакета **ретельно заклейте** лунки, що залишилися, стрічкою для заклеювання, щоб запобігти впливу вологи під час зберігання.

Усі компоненти набору стабільні до закінчення терміну придатності, якщо зберігати його щільно закритим, в захищеному від світла місці та запобігати забруднення під час його використання.

Гарантії виробника

1. Виробник гарантує відповідність якості наборів вимогам ТУ при додержанні споживачем умов зберігання.
2. Гарантійний термін зберігання становить 6 міс. з дня виготовлення набору.

СР	7041/2007
	11.10.2012

ТОВ НВЛ "Гранум"
61001, м. Харків
вул. Юр'ївська, 17
т/ф (057) 768-07-14

Паспорт
Тест-система для визначення
фолікулоstimулюючого гормону в сироватці крові
ФСГ - ІФА

IN VITRO

Серія **684-3**
Дата виготовлення **12.11.2012**
Термін придатності **12.05.2013**

Зберігати при 2-10°C

№/п	Показник	Вимоги ТУ У 24.4-31557962-002-2002		Результати контролю
1. Показники правильності визначення				
1.1	Чутливість не менш, МОд/л	0.3		відповідає
1.2	Очікуванні коливання контролю, МОд/л	9-12		відповідає
1.3	Коефіцієнт варіації результатів визначень не більш, %	10		відповідає
2. Зовнішній вигляд, комплектація				
2.1	Планшет з іммобілізованим антигеном	полістирол	8x12	відповідає
2.2	Стрічка для заклеювання планшет		1 шт.	відповідає
2.3	Набір калібраторів та контролю (всього 5 калібраторів: 0, 5, 25, 50, 100 МОд/л; 1 контроль)	жовто-зелений	1 фл. х 2 мл 5 фл. х 0.5 мл	відповідає
2.4	Відмиваючий розчин концентрат 20x	прозорий	1 фл. х 22 мл	відповідає
2.5	Кон'югат	зелений	1 фл. х 11 мл	відповідає
2.6	Субстрат	прозорий	1 фл. х 11 мл	відповідає
2.7	Зупиняючий розчин	прозорий	1 фл. х 11 мл	відповідає

Термін зберігання – 6 місяців з дня виготовлення.

Висновок ВТК: відповідає ТУ У 24.4-31557962-002-2002

E-mail: granum@granum.com.ua
Безкоштовна гаряча лінія: 0-800-500-561 (для стаціонарних телефонів)