

11775863 122

100 testes

Português**Função**

Imunoensaio para a determinação quantitativa in vitro da hormona folículoestimulante em soro e plasma humanos.

O imunoensaio de electroquimioluminescência (electrochemiluminescence immunoassay ou "ECLIA") foi concebido para ser utilizado nos analisadores de imunoensaios Elecsys 1010/2010 e MODULAR ANALYTICS E170 (Módulo Elecsys) da Roche.

Características

Tal como a LH (hormona luteinizante), a FSH (hormona folículoestimulante), pertence à família das gonadotropinas. A FSH e a LH regulam e estimulam o crescimento e o funcionamento das gónadas (ovários e testículos) de modo sinérgico.¹

Tal como a LH, a TSH e a hCG, a FSH é uma glicoproteína constituída por duas subunidades (cadeias α e β). O seu peso molecular é de, aproximadamente, 32.000 daltons.

Nas mulheres, as gonadotropinas actuam dentro do circuito regulador hipotálamo-hipófise-ovários para controlar o ciclo menstrual.^{2,3,4}

A FSH e a LH são libertadas de forma pulsátil pelas células gonadotrópicas da hipófise anterior. Os níveis das hormonas em circulação são controlados pelas hormonas esteróides, através de um feedback negativo para o hipotálamo. Nos ovários, a FSH, juntamente com a LH, estimula o crescimento e amadurecimento do folículo e, por conseguinte, a biosíntese dos estrogénios nos folículos.

A concentração de FSH apresenta um pico a meio do ciclo, embora menos marcado do que o que é obtido com a LH. Devido a alterações na função ovária e a uma redução da secreção de estrogénios, verifica-se a ocorrência de concentrações elevadas de FSH durante a menopausa.^{3,4}

Nos homens, a FSH serve para induzir o desenvolvimento de espermatogónios.

A determinação da FSH serve para reconhecer perturbações funcionais no interior do sistema hipotálamo-hipófise-gónadas.

A determinação da FSH em conjunto com a LH é utilizada nas seguintes indicações: doenças congénitas com anomalias cromossómicas, amenorreia (causas), ovários poliquísticos (PCO) e síndrome de menopausa. Observam-se valores reduzidos de gonadotropina nos homens com azoospermia.^{1,3,5,6}

O teste Elecsys FSH utiliza dois anticorpos monoclonais diferentes, especificamente dirigidos contra a FSH humana. As reacções cruzadas com LH, TSH, hCG, hGH e hPL são insignificantes.

Princípio do teste

Técnica de sandwich. Duração total do ensaio: 18 minutos.

- 1ª incubação: 40 μ l de amostra, um anticorpo monoclonal biotinilado específico anti-FSH e um anticorpo monoclonal específico anti-FSH marcado com complexo de ruténio^a reagem entre si e formam um complexo sandwich.
- 2ª incubação: Após a incorporação das micropartículas revestidas de estreptavidina, o complexo formado liga-se à fase sólida pela interacção da biotina e da estreptavidina.
- A mistura de reacção é aspirada para a célula de leitura, onde as micropartículas são fixadas magneticamente à superfície do eléctrodo. Os elementos não ligados são então removidos com ProCell. A aplicação de uma corrente eléctrica ao eléctrodo induz uma emissão quimioluminescente que é medida por um fotomultiplicador.
- Os resultados são determinados com base numa curva de calibração, que é gerada especificamente pelo analisador por uma calibração de 2 pontos, e uma curva principal incluída no código de barras do reagente.

a) Complexo Tris(2,2'-bipiridil)ruténio(II) (Ru(bpy)₃²⁺)

Reagentes - soluções de trabalho

Dispositivo de reagentes Elecsys FSH, Ref. 11775863 - 100 testes

- M Micropartículas revestidas de estreptavidina (tampa transparente), 1 frasco, 6,5 ml:
Micropartículas revestidas de estreptavidina, 0,72 mg/ml; capacidade de ligação: 470 ng biotina/mg micropartículas; conservante.
- R1 Anticorpo anti-FSH-biotina (tampa cinzenta), 1 frasco, 10 ml:
Anticorpo monoclonal biotinilado anti-FSH (ratinho) 0,5 mg/l;
tampão MES 50 mmol/l, pH 6,0; conservante.

- R2 Anticorpo anti-FSH-Ru(bpy)₃²⁺ (tampa preta), 1 frasco, 10 ml:
Anticorpo monoclonal anti-FSH (ratinho) marcado com complexo de ruténio 0,8 mg/l; tampão MES 50 mmol/l, pH 6,0; conservante.

Precauções e advertências

Para utilização em diagnóstico in vitro.

Respeite as precauções normais de manuseamento de reagentes laboratoriais. Elimine todos os resíduos de acordo com os regulamentos locais.

Ficha de segurança fornecida a pedido, para uso profissional.

Evite a formação de espuma com todos os reagentes e com todo o tipo de amostras (amostras de pacientes, calibradores e controlos).

Preparação dos reagentes

Os reagentes do dispositivo foram incluídos numa unidade pronta a ser utilizada que não pode ser separada.

Toda a informação necessária ao correcto funcionamento é introduzida no analisador através dos respectivos códigos de barras do reagente.

Conservação e estabilidade

Conservar a 2-8°C.

Coloque o dispositivo de reagentes Elecsys FSH **na vertical** para assegurar a total disponibilidade das micropartículas durante a mistura automática, antes da utilização.

Estabilidade:

em frasco fechado a 2-8°C:	até ao fim do prazo de validade indicado
após abertura a 2-8°C:	12 semanas
no analisador	8 semanas
MODULAR ANALYTICS E170:	
no analisador Elecsys 2010:	8 semanas
no analisador Elecsys 1010:	4 semanas (guardado alternadamente no frigorífico e no analisador - temperatura ambiente 20-25°C; até 20 horas no total quando aberto)

Colheita e preparação das amostras

Apenas as amostras indicadas em seguida foram testadas.

O soro é colhido em tubos de amostra padrão ou com gel separador.

Plasma tratado com heparina-Li, -Na, -NH₄⁺ e EDTA-K₃. Se utilizar citrato de sódio, os resultados obtidos são aprox. 20% inferiores do que os valores encontrados no soro, no caso do fluoreto de sódio/oxalato de potássio, os valores são 14% inferiores.

Critério: Recuperação dentro de 90-110% do valor sérico ou declive 0,9-1,1 + intercepção dentro de $< \pm 2 \times$ sensibilidade analítica + coeficiente de correlação $> 0,95$.

Estabilidade: 14 dias a 2-8°C, 6 meses a -20°C.⁷ Congelar apenas uma vez.

Estabilidade do soro colhido em tubos com gel separador: 48 horas a 2-8°C (conforme os dados fornecidos pelo fabricante).

Os diferentes tipos de amostras incluídos na lista foram testados com base numa selecção de tubos de colheita de amostras comercialmente disponíveis na altura em que o teste foi realizado, i.e. nem todos os tubos dos diferentes fabricantes disponíveis no mercado foram testados. Os sistemas de colheita de amostras de diferentes fabricantes podem, por sua vez, conter materiais diferentes que, em alguns casos, podem afectar os resultados dos testes. Ao utilizar amostras em tubos primários (sistemas de colheita de amostras), consulte as instruções do fabricante dos tubos.

As amostras que contêm precipitado têm de ser centrifugadas antes da realização do ensaio. Não utilize amostras inactivadas por calor. Não utilize amostras e controlos estabilizados com azida.

Antes da determinação, certifique-se de que as amostras dos pacientes, os calibradores e os controlos estão à temperatura ambiente (20-25°C).

Devido a possíveis efeitos de evaporação, as amostras, os calibradores e os controlos colocados no analisador deverão ser analisados no prazo de duas horas.

Materiais fornecidos

Consulte a secção "Reagentes - soluções de trabalho".



Materiais necessários (mas não fornecidos)

- Ref. 03032680, Elecsys FSH CalSet II, para 4 x 1 ml
- Ref. 11731416, Elecsys PreciControl Universal, para 2 x 3 ml cada de PreciControl Universal 1 e 2
- Equipamento normal de laboratório
- Analisadores Elecsys 1010/2010 ou MODULAR ANALYTICS E170

Acessórios para os analisadores Elecsys 1010 e 2010:

- Ref. 11662988, Elecsys ProCell, 6 x 380 ml de tampão do sistema
- Ref. 11662970, Elecsys CleanCell, 6 x 380 ml de solução de limpeza para a célula de leitura
- Ref. 11930346, Elecsys SysWash, 1 x 500 ml de aditivo para água de lavagem
- Ref. 11933159, Adaptador para SysClean
- Ref. 11706829, Elecsys 1010 AssayCup, 12 x 32 cubetes de reacção ou Ref. 11706802, Elecsys 2010 AssayCup, 60 x 60 de cubetes de reacção
- Ref. 11706799, Elecsys 2010 AssayTip, 30 x 120 pontas de pipeta

Acessórios para o analisador MODULAR ANALYTICS E170:

- Ref. 12135019, ProCell M, 1 x 2 l de tampão do sistema
- Ref. 12135027, CleanCell M, 1 x 2 l de solução de limpeza para a célula de leitura
- Ref. 03023141, PC/CC-Cups, 50 cubetes para pré-aquecimento do ProCell M e do CleanCell M antes de usar
- Ref. 03005712, ProbeWash M, 12 x 70 ml de solução de limpeza para finalização da análise e lavagem durante a mudança de reagentes
- Ref. 03004899, PreClean M, 5 x 600 ml de solução de limpeza de detecção
- Ref. 12102137, AssayTip/AssayCup Combimagazine M, 48 tabuleiros x 84 cubetes de reacção ou pontas de pipeta, sacos para lixo
- Ref. 03023150, Wasteliner, sacos para lixo
- Ref. 03027651, SysClean Adapter M

Acessórios para todos os analisadores:

- Ref. 11298500, Elecsys SysClean, 5 x 100 ml de solução de limpeza do sistema

Apenas disponível nos EUA:

- Ref. 11776827 Elecsys FSH CalCheck, 3 intervalos de concentração

Realização do ensaio

Para assegurar a correcta execução do ensaio, é importante cumprir as instruções fornecidas neste documento para o analisador utilizado. Consulte o manual do operador apropriado para obter informações mais específicas sobre o ensaio feito no analisador.

A ressuspensão das micropartículas é efectuada automaticamente antes de usar. Introduza os parâmetros específicos do teste através dos códigos de barras dos reagentes. Se, em algum caso excepcional, não for possível ler o código de barras, o código numérico de 15 dígitos deverá ser introduzido manualmente.

Analisadores MODULAR ANALYTICS E170 e Elecsys 2010: Eleve a temperatura dos reagentes refrigerados até aprox. 20°C e coloque-os no disco dos reagentes (20°C) do analisador. Evite a formação de espuma. O sistema regula **automaticamente** a temperatura dos reagentes e a abertura/fecho dos frascos.

Analisador Elecsys 1010: Eleve a temperatura dos reagentes refrigerados até aprox. 20-25°C e coloque-os no disco dos reagentes/amostras do analisador (temperatura ambiente a 20-25°C). Evite a formação de espuma. **Abra** as tampas dos frascos **manualmente** antes de usar e **feche manualmente** depois de usar. Conserve a 2-8°C depois de usar.

Calibração

Rastreabilidade: Este método foi padronizado contra o método Enzymun-Test FSH. Por sua vez, este método foi padronizado contra o "2nd IRP Reference Standard 78/549" da OMS.

Cada dispositivo de reagentes do teste Elecsys FSH contém um código de barras com informações específicas para a calibração do lote de reagentes em questão. A curva principal previamente definida é adaptada ao analisador através do Elecsys FSH CalSet II.

Frequência das calibrações: Uma calibração por lote de reagentes utilizando reagente recém-colocado (i.e., dentro de um máximo de 24 horas após ter sido registado no analisador). Devem ser feitas as seguintes recalibrações:

Analisadores MODULAR ANALYTICS E170 e Elecsys 2010:

- passado 1 mês (28 dias) quando se utiliza o mesmo lote de reagentes
- passados 7 dias (quando se utiliza o mesmo dispositivo de reagentes no analisador)

Analisador Elecsys 1010:

- com cada dispositivo de reagentes
- passados 7 dias (temperatura ambiente de 20-25°C)
- passados 3 dias (temperatura ambiente de 25-32°C)

Para todos os analisadores:

- conforme necessário: p. ex., em resultados de ensaios de controlo de qualidade fora dos limites especificados.

Controlo de qualidade

Para o controlo de qualidade, utilize o Elecsys PreciControl Universal 1 e 2. Adicionalmente pode ser utilizado outro material de controlo adequado. Efectue os controlos dos diversos intervalos de concentração como determinações simples, pelo menos uma vez em cada 24 horas, quando o teste estiver a ser utilizado, uma vez por dispositivo de reagentes e a seguir a cada calibração. Os intervalos e limites de controlo devem ser adaptados às exigências específicas de cada laboratório. Os valores obtidos devem situar-se dentro dos limites definidos. Cada laboratório deve estabelecer as medidas correctivas a tomar no caso de os valores se situarem fora dos limites.

Cálculo

O analisador calcula automaticamente a concentração de analito de cada amostra (em mUI/ml ou em UI/l).

Limitações – interferências

O ensaio não é afectado pela icterícia (bilirrubina < 64 mg/dl ou < 1.094 µmol/l), hemólise (Hb < 1,0 g/dl ou < 0,621 mmol/l), lipemia (Intralipid < 1.900 mg/dl) e biotina < 246 nmol/l ou < 60 ng/ml.

Critério: recuperação dentro de ± 10% do valor inicial.

Nos doentes em tratamento com doses elevadas de biotina (i.e. > 5 mg/dia), as amostras só deverão ser colhidas no mínimo 8 horas após a última administração de biotina.

Não foi observada interferência do factor reumatóide até uma concentração de 2.250 UI/ml.

Não foi observado qualquer efeito "high-dose hook" em concentrações de FSH até 2.000 mUI/ml.

Foram efectuados testes in vitro com 17 fármacos frequentemente utilizados.

Não se encontrou qualquer interferência com o ensaio.

Tal como acontece com todos os testes que contêm anticorpos monoclonais de rato, este teste pode produzir resultados errados em amostras colhidas em pacientes tratados com este tipo de anticorpos ou que os receberam para fins de diagnóstico.

Em casos isolados, podem ocorrer interferências devido a títulos extremamente elevados de anticorpos para o ruténio.

O teste contém aditivos que minimizam estes efeitos.

Em casos isolados, podem ocorrer interferências devido a títulos extremamente elevados de anticorpos para a estreptavidina.

Quando o objectivo é o diagnóstico, os resultados devem ser sempre interpretados em conjunto com a anamnese do paciente, o exame clínico e outros resultados.

Intervalo de medição

0,100-200,0 mUI/ml (definido pelo limite de detecção inferior e pelo máximo da curva principal). Os valores inferiores ao limite de detecção são indicados como < 0,100 mUI/ml, e os valores acima do intervalo de medição como > 200,0 mUI/ml.

Diluição

Não necessária devido à grande amplitude do intervalo de medição.



Valores teóricos

Obtiveram-se os seguintes valores de FSH nos estudos com o teste Elecsys FSH:

Indivíduos analisados ^b	N	FSH (mUI/ml)		
		Percentis		
		50 ^o	5 ^o	95 ^o
Homens	319	4,6	1,5	12,4
Mulheres				
• Fase folicular	376	6,9	3,5	12,5
• Fase ovulatória	56	12,3	4,7	21,5
• Fase lútea	349	3,6	1,7	7,7
• Pós-menopausa	181	67,0	25,8	134,8

b) Os valores de referência para as crianças podem obter-se a pedido ou consultar-se na informação de produto do Elecsys FSH.

Quociente LH/FSH: Os quocientes foram calculados a partir dos resultados dos testes Elecsys LH e Elecsys FSH em amostras de mulheres saudáveis em idade fértil. Obtiveram-se as seguintes medianas:

Fase folicular: 0,82 (n = 315)

Fase lútea: 1,12 (n = 279)

Cada laboratório deve verificar a transferibilidade dos valores teóricos para a sua própria população de pacientes e, se necessário, determinar os seus próprios intervalos de referência.

Dados específicos sobre o desempenho

São apresentados a seguir dados representativos do desempenho nos analisadores. Os resultados podem diferir de laboratório para laboratório.

Precisão

A reprodutibilidade foi determinada com reagentes Elecsys, uma pool de soros humanos e controles de acordo com um protocolo modificado (EP5-A) do NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards): 6 vezes por dia durante 10 dias (n = 60), precisão intra-ensaio no analisador MODULAR ANALYTICS E170, n = 21. Obtiveram-se os seguintes resultados:

Elecsys 1010/2010	Precisão intra-ensaio			Precisão total	
	Média	DP	CV	DP	CV
Amostra	mUI/ml	mUI/ml	%	mUI/ml	%
Soro humano 1	1,2	0,02	1,8	0,06	5,3
Soro humano 2	50,4	0,74	1,5	1,90	3,8
Soro humano 3	103	1,85	1,8	5,24	5,1
PreciControl Universal 1	11,1	0,22	2,0	0,41	3,7
PreciControl Universal 2	28,9	0,40	1,4	0,85	2,9

MODULAR ANALYTICS E170	Precisão intra-ensaio			Precisão total		
	Média	DP	CV	Média	DP	CV
Amostra	mUI/ml	mUI/ml	%	mUI/ml	mUI/ml	%
Soro humano 1	5,97	0,15	2,6	5,33	0,19	3,6
Soro humano 2	54,4	1,55	2,8	45,9	1,70	3,7
Soro humano 3	178	4,54	2,5	229	10,3	4,5
PreciControl Universal 1	9,53	0,14	1,5	8,29	0,33	4,0
PreciControl Universal 2	24,6	0,31	1,3	21,6	0,84	3,9

Sensibilidade analítica (limite de detecção inferior)

< 0,10 mUI/ml

O limite de detecção representa o nível de analito mais baixo passível de ser distinguido de zero. É calculado como o valor situado dois desvios padrão (DP) acima do padrão mais baixo (calibrador principal, padrão 1 + 2 DP, precisão intra-ensaio, n = 21).

Comparação dos métodos

Uma comparação do método Elecsys FSH (y) com o teste Enzymun-Test FSH (x), utilizando amostras clínicas, teve como resultado as seguintes correlações (em mUI/ml):

Número de amostras medidas: 160

Passing/Bablok⁸

y = 1,093x + 0,213

T = 0,944

DP (md68) = 0,504

Regressão linear

y = 1,098x + 0,114

r = 0,998

Sy.x = 1,552

As concentrações das amostras variaram entre aprox. 0,65 e 152 mUI/ml.

Especificidade analítica

No caso dos anticorpos monoclonais utilizados, observaram-se

as seguintes reacções cruzadas:

LH, TSH, hCG, hGH e hPL < 0,1%.

Bibliografia

1. Johnson MR, Carter G, Grint C, Lightman SL. Relationship between ovarian steroids, gonadotropin and relaxin during the menstrual cycle. *Acta Endocrinol* 1983;129/2:121-125.
2. Beastall GH, Ferguson KM, O'Reilly DSJ, Seth J, Sheridan B. Assays for follicle stimulating hormone and luteinizing hormone: Guidelines for the provision of a clinical biochemistry service. *Ann Clin Biochem* 1987;24:246-262.
3. Runnebaum B, Rabe T. Gynäkologische Endokrinologie und Fortpflanzungsmedizin Springer Verlag 1994. Band 1:17,253-255, Band 2:152-154,360,348. ISBN 3-540-57345-3, ISBN 3-540-57347-X.
4. Juhl UM, Rippegather G, Weller J, Zawta B. Important Facts on Reproduction Medicine/Fertility Diagnosis, Questions and Answers. 1994; Boehringer Mannheim, Cat. No. 1322958.
5. Schmidt-Mathiesen H. Gynäkologie und Geburtshilfe. Schattauer Verlag 1992.
6. Scott MG, Ladenson JH, Green ED, Gast MJ. Hormonal evaluation of female infertility and reproductive disorders. *Clin Chem* 1989;35:620-630.
7. Tietz NW. Clinical Guide To Laboratory Tests. 3rd ed. Philadelphia, Pa: WB Saunders Co, 1995:248.
8. Bablok W, et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. *J Clin Chem Clin Biochem* 1988;26:783-790.

NOTA PARA O COMPRADOR: LIMITED LICENSE

A aquisição deste produto permite que o comprador o utilize exclusivamente para diagnóstico in vitro humano pela tecnologia ECL. Nenhuma patente geral ou outra licença de qualquer tipo, à excepção deste direito específico de uso de compra, é concedida por este meio. Este produto não pode ser usado pelo comprador na pesquisa/desenvolvimento em ciências da vida, em testes de auto-diagnóstico, na identificação/desenvolvimento de drogas ou em qualquer utilização ou teste veterinário, alimentar, de água ou ambiental.

Para mais informações, consulte o manual do operador adequado ao analisador, as folhas de aplicação respectivas, a informação do produto e os folhetos informativos de todos os componentes necessários.

As alterações ou os acréscimos significativos estão assinalados por uma barra de alteração na margem. As alterações dos parâmetros de teste do código de barras do reagente que já foram introduzidas devem ser editadas manualmente.

©2005 Roche Diagnostics



Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim

