

VIDAS® FSH (FSH)

IVD

VIDAS FSH es una prueba cuantitativa automatizada en los instrumentos de la familia VIDAS que permite la valoración de la hormona folículo estimulante humana en suero o plasma humano (heparina de litio) con la técnica ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay).

INTRODUCCIÓN Y OBJETO DE LA PRUEBA

La FSH (hormona folículo-estimulante o foliculina) es una glicoproteína de peso molecular cercano a los 30.000 daltons. La estructura de la FSH muestra la existencia de 2 sub-unidades polipeptídicas α y β conectadas mediante uniones no covalentes. La cadena α , de 92 amino ácidos es similar a la de la LH, a la TSH, y a la hCG. La cadena β constituida por 111 aminoácidos, confiere a la hormona su especificidad biológica e inmunológica. A estas sub-unidades se añaden hidratos de carbono que representan el 20% del peso molecular de la hormona (1, 2).

La FSH se produce de forma pulsátil por las células gonadotropas de la hipófisis anterior, bajo el control del hipotálamo. La inhibina cuya producción se ve estimulada por la FSH, asegura una regulación negativa. En el hombre, la FSH ejerce su acción sobre ciertas células del canal seminífero, las células de Sertoli, que determinan la producción de ABP (Androgen Binding Protein), y de la hormona inhibina.

En la mujer en actividad genital, la FSH, en sinergia con la LH, interviene directamente sobre el desarrollo de los folículos ováricos, aumentando su producción de esteroides, y determina la ovulación.

Además, la FSH estimula ciertas células foliculares (células de la granulosa) que provocan la producción de inhibina. Durante el establecimiento de la menopausia, se desploma la producción de inhibina produciéndose la elevación de los niveles séricos de FSH (3, 4).

La determinación de FSH, asociada o no a la de la LH, constituye un parámetro esencial de la exploración de la función reproductora.

De esta forma tanto en el hombre como en la mujer amenorréica, los valores elevados nos indican un hipogonadismo primario y las tasas bajas deberán hacernos sospechar de un hipogonadismo secundario (5, 6).

PRINCIPIO

El principio de determinación, asocia el método inmunoenzimático sandwich con una detección final en fluorescencia (ELFA).

El cono desechable sirve a su vez de fase sólida y de sistema de pipeteo. Los otros reactivos inmunológicos están listos para su empleo y previamente repartidos en el cartucho. El instrumento realiza de forma automática todas las etapas de la prueba. Constituyen una sucesión de ciclos de aspiración/expulsión del medio reactivo.

Se toma la muestra y luego se transfiere al pocillo que contiene los anticuerpos anti-LH marcado con fosfatasa alcalina (conjugado). La mezcla muestra/conjugado se aspira y luego se expulsa varias veces a través del cono con el fin de aumentar la velocidad de reacción. Esta operación permite, al antígeno unirse, por una parte a las inmunoglobulinas fijadas sobre el cono y por otra al conjugado, formando así un "sandwich".

Las etapas de lavado eliminan los compuestos no fijados. En la etapa final de detección, el sustrato (4-Metil-umbeliferil-fosfato) se aspira y después de expulsa a través del cono; la enzima del conjugado cataliza la reacción de hidrólisis del sustrato en un producto fluorescente (4-Metil-umbeliferona). La intensidad de la fluorescencia se mide a 450 nm. El valor de la fluorescencia es proporcional a la concentración del antígeno presente en la muestra.

Al terminar la prueba, los resultados se analizan automáticamente por el instrumento, con relación a una curva de calibración memorizada, y después, se imprimen.

COMPOSICIÓN Y RECONSTITUCIÓN DE LOS REACTIVOS DEL ENVASE (60 PRUEBAS):

60 cartuchos FSH	STR	Listos para su empleo.
60 conos FSH 2 x 30	SPR	Listos para su empleo. Conos sensibilizados con inmunoglobulinas monoclonales de ratón anti-FSH.
Control FSH 1 x 3 ml (lío-filizado)	C1	Reconstituir con 3 ml de agua destilada. Esperar 5 a 10 minutos y después homogeneizar. Después de reconstituir, es estable 14 días a 2-8°C o hasta la fecha de caducidad del envase a -25 ± 6°C. Admite 5 ciclos de congelación/descongelación. Suero humano* + FSH humana + conservantes. Los datos MLE indican el intervalo de confianza en "mIU/ml" (miliunidad internacional por mililitro) ("Control C1 Dose Value Range").
Calibrador FSH 3 x 2 ml (lío-filizado)	S1	Reconstituir con 2 ml de agua destilada. Esperar 5 a 10 minutos y después homogeneizar. Después de reconstituir, es estable 14 días a 2-8°C o hasta la fecha de caducidad del envase a -25 ± 6°C. Admite 5 ciclos de congelación/descongelación. Suero de buey + FSH humana + conservantes. Los datos MLE indican la concentración en mIU/ml ("Calibrador (S1) Dose Value") y el intervalo de confianza en "Relative Fluorescence Value" (Calibrador (S1) RFV Range)".
Diluyente FSH 1 x 3 ml (líquido)	R1	Listo para su empleo. Suero de buey + nitrato sódico 1 g/l.

Especificaciones de los datos de fabricación necesarias para la calibración de la prueba:

- Datos MLE (Master Lot Entry) suministrados en el equipo,
- Código de barras MLE impreso en la etiqueta del envase.

1 Ficha técnica suministrada en el equipo o a descargar en www.biomerieux.com/techlib.

* Se ha verificado la ausencia de antígeno HBs, de anticuerpos anti-VIH1, VIH2 y de anticuerpos anti-VHC. Sin embargo, dado que ningún análisis puede aportar una garantía absoluta, este producto debe manipularse con las precauciones de uso relativas a los productos potencialmente infecciosos.

El cono

El cono se sensibiliza en el momento de su fabricación mediante inmunoglobulinas monoclonales de ratón anti-FSH. Cada cono se identifica por su código FSH. Utilizar únicamente el número de conos necesarios, dejando los que no se usen en su bolsa. **Luego cerrar bien la bolsa.**

El cartucho

El cartucho está compuesto por 10 pocillos cerrados mediante un sello consistente en una lámina de aluminio impresa. Dicha impresión incluye un código de barras que contiene el tipo de análisis realizado, el número de lote y la fecha de caducidad del envase. El primer pocillo está perforado para facilitar la introducción de la muestra. El último pocillo es una cubeta que permite la lectura por fluorimetría. Los pocillos intermedios contienen diferentes reactivos necesarios para el análisis.

Descripción del cartucho VIDAS FSH

Pocillo	Reactivos
1	Pocillo de muestra.
2 - 3 - 4 - 5	Pocillos vacíos.
6	Conjugado: inmunoglobulinas monoclonales de ratón anti-FSH conjugadas con fosfatasa alcalina + nitrato sódico 1 g/l (400 µl).
7 - 8	Tampón de lavado: fosfato sódico (0,01 mol/l, pH 7,4) + nitrato sódico 1 g/l (600 µl).
9	Tampón de lavado: dietanolamina* (1,1 mol/l es decir 11,5%, pH 9,8) + nitrato sódico 1 g/l (600 µl).
10	Cubeta de lectura con sustrato: 4-Metil-umbeliferil fosfato (0,6 mmol/l) + dietanolamina (DEA**) (0,62 mol/l es decir 6,6% pH 9,2) + nitrato sódico 1 g/l (300 µl).

* Palabra de advertencia : **PELIGRO**

**Indicación de peligro**

H318 : Provoca lesiones oculares graves.

H373 : Puede provocar daños en los órganos tras exposiciones prolongadas o repetidas.

H315 : Provoca irritación cutánea.

H302 : Nocivo en caso de ingestión.

Consejo de prudencia

P280 : Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.

P305 + P351 + P338: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.

P309 + P311 : EN CASO DE exposición o si se encuentra mal: Llamar a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico.

** Palabra de advertencia : **PELIGRO**

Indicación de peligro

H318 : Provoca lesiones oculares graves.

Consejo de prudencia

P280 : Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.

P305 + P351 + P338 : EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.

Para más información, consulte la ficha de seguridad.

MATERIALES Y DESECHABLES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

- Pipeta de punta desechable de 2 ml, 3 ml y 200 µl.
- Guantes desechables sin talco.
- Para otros materiales y desechables específicos, consultar el Manual de Utilización del instrumento.
- Instrumento de la familia VIDAS.

PRECAUCIONES DE UTILIZACIÓN

- **Únicamente para diagnóstico *in vitro*.**
- **Exclusivamente para uso profesional.**
- **Este envase contiene componentes de origen humano. Dado que ninguno de los métodos de análisis actualmente conocidos puede garantizar la ausencia de agentes patógenos transmisibles, se recomienda manipularlos con las precauciones de utilización relativas a los productos potencialmente infecciosos (consultar el Manual de bioseguridad en el laboratorio – OMS - Ginebra - última edición).**
- Este envase contiene compuestos de origen animal. La falta de control sobre el origen y/o el estado sanitario de los animales, no nos permite garantizar de forma absoluta que estos productos no contengan algún agente patógeno transmisible, por lo que se recomienda manipularlos mediante las precauciones de utilización relativas a los productos potencialmente infecciosos: (no ingerir, ni inhalar).
- No utilizar los conos cuya bolsa esté dañada.
- No utilizar los cartuchos visiblemente alterados (lámina de aluminio o plástico dañados).
- No emplear los reactivos pasada su fecha de caducidad indicada en la etiqueta del envase.
- No mezclar reactivos (o consumibles) de lotes diferentes.
- No utilizar **guantes con talco**, ya que este producto puede motivar falsos resultados en ciertas pruebas inmunoenzimáticas.
- Los reactivos del envase contienen un conservante (nitrato sódico), susceptible de reaccionar con las tuberías de plomo o de cobre formando nitratos metálicos explosivos. Se recomienda enjuagar con chorro de agua abundante.
- El tampón de lavado (pocillo 9 del cartucho) contiene un agente nocivo (dietanolamina al 11,5%). Referirse a las indicaciones de peligro "H" y a las medidas de precaución "P" indicadas anteriormente.

- El substrato (pocillo 10 del cartucho), contiene un agente irritante (dietanolamina al 6,6%). Referirse a las indicaciones de peligro "H" y a las medidas de precaución "P" indicadas anteriormente.
- Las salpicaduras deben limpiarse con un líquido detergente o una solución de lejía, que contenga al menos un 0,5% de hipoclorito sódico. Consultar en el Manual de Utilización para eliminar los derramamientos producidos sobre o en el interior del instrumento. No procesar en autoclave el objeto tratado con lejía.
- El instrumento debe limpiarse y desinfectarse con regularidad (consultar el Manual de Utilización).

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

- Conservar el envase VIDAS FSH a 2-8°C.
- **No congelar los conos, los cartuchos ni el tampón de dilución.**
- **Mantener los reactivos no utilizados a 2-8°C.**
- Al abrir el envase, verificar su integridad y el buen cierre de la o las bolsas de conos, y en caso contrario, no utilizar los mismos.
- **Después de cada utilización, volver a cerrar cuidadosamente la bolsa con su deshidratante, para mantener la estabilidad de los conos, y volver a guardar el envase a 2-8°C.**
- Todos los componentes son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del envase, si se conservan en las condiciones indicadas. Consultar la tabla de composición del envase para los modos de conservación particulares.

MUESTRAS

Naturaleza y toma de las muestras

Suero o plasma humano (heparinato de litio). **El plasma recogido sobre EDTA no debe utilizarse.**

No se ha observado que ninguno de los siguientes factores tenga influencia significativa en esta prueba:

- hemolisis (después de sobrecargar las muestras con hemoglobina: de 0 a 300 µmol/l [monómero]),
- la lipemia, (después de sobrecargar las muestras de lípidos hasta 2 g/l de un equivalente en triglicéridos),
- la bilirrubinemia (después de sobrecargar las muestras de bilirrubina hasta 513 µmol/l).

Sin embargo se recomienda no utilizar muestras visiblemente hemolizadas, lipémicas o ictericas y llevar a cabo, caso de ser posible, una nueva toma de muestras.

Estabilidad de las muestras

Las muestras pueden conservarse 48 horas como máximo a 2-8 °C en tubos con tapón; si se requiere una conservación más larga, congelar el suero o plasma a -25 ± 6 °C. Evitar las congelaciones y descongelaciones sucesivas.

INSTRUCCIONES DE USO

Para instrucciones completas, consultar el Manual de Utilización.

Lectura de los datos MLE

Antes de usar un nuevo lote de reactivos, las especificaciones (o datos de fábrica) deben introducirse en el equipo con ayuda de los datos MLE.

Si esta operación no se efectúa **antes de comenzar los tests**, el equipo no podrá imprimir resultados.

Es posible introducir los datos MLE de forma manual o de forma automática dependiendo del equipo (consulte el Manual de Usuario).

Nota: Las especificaciones (o datos de fábrica) se introducen solo una vez por cada lote.

Calibración

La calibración debe realizarse con el calibrador suministrado en el equipo, siempre que se abra un lote nuevo de reactivos, tras haber introducido los datos del lote. Esta operación permite ajustar la calibración a cada aparato y a la evolución eventual del reactivo en el tiempo. Analizar un control después de cada calibración.

El calibrador, identificado por S1, debe analizarse **en doble** (ver Manual de Utilización). El valor del calibrador debe estar comprendido en los límites de RFV ("Relative Fluorescence Value") fijados. Si no es así, la media no será memorizada: repetir una calibración.

Realización de la prueba

1. **Sacar únicamente los reactivos que se vayan a usar, y dejarlos atemperar 30 minutos a temperatura ambiente antes de su empleo.**
2. Utilice un cartucho "FSH" y un cono "FSH" para cada muestra, control o calibrador que se haya de evaluar. **Verificar que la bolsa de los conos está bien cerrada después de cada utilización.**
3. El test se identifica con el código "FSH" en el instrumento. El calibrador se identificará obligatoriamente como "S1", y debe analizarse **en doble**. Si se analiza el control, será identificado como "C1".
4. Si fuera necesario, clarificar las muestras mediante centrifugación.
5. Mezcle el calibrador, los controles y las muestras con un mezclador de tipo Vortex (para suero o plasma separado de pellet).
6. **Para este test, la cantidad de muestra, control y calibrador es 200 µL.**
7. Introduzca los cartuchos "FSH" y conos "FSH" en el sistema. Verificar bien la concordancia de los códigos (colores y letras) entre el cono y el cartucho.
8. Iniciar el análisis como se indica en el Manual de Utilización. Todas las etapas son controladas automáticamente por el aparato.
9. Vuelva a cerrar los viales y retórnalos a la temperatura adecuada tras pipetear.

10. La prueba finaliza en 40 minutos aproximadamente. Al final del análisis, retirar los conos y los cartuchos del instrumento.

11. Eliminar los conos y los cartuchos usados en un recipiente apropiado.

RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

Una vez finalizado el análisis, el sistema informático calcula automáticamente los resultados. El aparato realiza dos medidas de fluorescencia en el pocillo de lectura para cada análisis. La primera lectura tiene en cuenta el ruido de fondo debido a la cubeta de sustrato antes de que se ponga en contacto el sustrato con el cono. La segunda lectura se efectúa después de la incubación del sustrato con la enzima presente en el cono. El cálculo del RFV (Relative Fluorescence Value) es el resultado de la diferencia de las dos lecturas. Aparece sobre la hoja de resultados.

Los resultados se calculan automáticamente por el instrumento con relación a una curva de calibración memorizada (modelo matemático: modelo logístico de 4 parámetros) y se expresan en mIU/ml (2nd IRP 78/549).

Las muestras que presenten concentraciones de FSH superiores a los 110 mIU/ml deben volver a analizarse después de su dilución con el diluyente FSH (R1). Multiplicar el resultado por el factor de dilución para obtener la concentración de la muestra.

La interpretación de los resultados de la prueba deben realizarse teniendo en cuenta el contexto clínico y eventualmente los resultados de otros análisis.

CONTROL DE CALIDAD

Cada envase de VIDAS FSH incluye un control.

Dicho control debe ser utilizado al abrir cada nuevo lote con el fin de comprobar la ausencia de alteraciones en los reactivos. Cada calibración debe ser igualmente verificada con la ayuda de este control.

Para que el equipo pueda verificar el valor del control, es necesario identificarle como C1.

Si el valor del control se desvía de los valores esperados, los resultados no pueden ser validados.

Nota

Es responsabilidad del usuario el comprobar que el control de calidad se haya realizado conforme a la legislación local en vigor.

LIMITACIONES DE LA VALORACIÓN

Puede producirse una interferencia entre ciertos sueros que contengan anticuerpos dirigidos contra componentes del reactivo, razón por la cual los resultados de esta prueba deben ser interpretados teniendo en cuenta el contexto clínico y eventualmente los resultados de otros análisis.

VALORES ESPERADOS

Estas cifras se facilitan a título indicativo, recomendándose a cada laboratorio el establecimiento de sus propios valores de referencia sobre una población rigurosamente seleccionada.

Hombres:	1,7- 12,0 mIU/ml
Mujeres:	
- Pico ovulatorio (J0)	6,3 - 24,0 mIU/ml
- Fase folicular:	
Primera mitad (J-15 à J-9)	3,9 – 12,0 mIU/ml
Segunda mitad (J-8 à J-2)	2,9 - 9,0 mIU/ml
- Fase lútea (J+3 à J+15)	1,5 - 7,0 mIU/ml
- Menopausia:	17,0 - 95,0 mIU/ml

PRESTACIONES

Los estudios sobre VIDAS FSH han producido los siguientes resultados:

Rango de medida

El rango de medida del reactivo VIDAS FSH se extiende desde 0,1 a 110 mIU/ml.

Límite de detección analítica

Definido como la mínima concentración en FSH significativamente diferente de la concentración cero, con una probabilidad de un 95 %: $\leq 0,1$ mIU/ml.

Efecto Hook

No se ha observado ningún efecto Hook hasta concentraciones en FSH de 3.000 mIU/ml.

PrecisiónReproducibilidad intraserie

Se han analizado cinco muestras 30 veces en una misma serie.

Muestra	1	2	3	4	5
Concentración media (mIU/ml)	4,0	10,5	53,5	82,7	90,8
CV %	4,9	3,4	3,6	4,3	4,7

Reproducibilidad interserie

Se han analizado cinco muestras en 24 series diferentes sobre un mismo instrumento VIDAS durante un periodo de 9 semanas.

Muestra	1	2	3	4	5
Concentración media (mIU/ml)	4,9	10,8	55,1	86,5	101,5
CV %	3,5	3,9	4,8	5,6	5,9

Especificidad

Compuesto analizado	% de reacción cruzada
FSH	100
LH	< 0,15
TSH	< 0,15
hCG	< 0,01
Sub-unidad α del hCG	< 0,01

Exactitud - Análisis de dilución:

Se han diluido tres muestras en el tampón de dilución FSH (R1) y se han analizado en simple en 3 series. La concentración media medida con relación a la concentración media esperada se expresa en porcentaje medio de recuperación.

Muestra n°	Factor de dilución	Concentración esperada (mIU/ml)	Concentración media medida (mIU/ml)	Porcentaje de recuperación media (%)
1	1/1	52,6	52,6	100,0
	1/2	26,3	25,0	95,1
	1/4	13,1	12,1	92,0
	1/8	6,6	6,3	95,3
	1/16	3,3	3,2	98,3
	1/32	1,6	1,7	102,1
2	1/1	83,1	83,1	100,0
	1/2	41,5	39,6	95,3
	1/4	20,8	20,0	96,2
	1/8	10,4	9,8	94,6
	1/16	5,2	5,0	96,0
	1/32	2,6	2,7	103,1
3	1/1	94,9	95,0	100,0
	1/2	47,5	45,0	94,9
	1/4	23,7	23,6	99,5
	1/8	11,9	11,1	93,4
	1/16	5,9	5,7	96,4
	1/32	3,0	3,1	103,7

Comparación con otro método de análisis

Se han analizado 183 muestras séricas con VIDAS y otro envase comercializado.

La ecuación de la recta de alometría obtenida es la siguiente:

$Y = 0,986 X - 0,09$ con un coeficiente de correlación de 0,985.



ELIMINACIÓN DE LOS DESECHOS

Eliminar tanto los reactivos usados como los no utilizados, así como los materiales desechables contaminados siguiendo los procedimientos relativos a los productos infecciosos o potencialmente infecciosos. Es responsabilidad de cada laboratorio la gestión de los desechos y efluentes que produce según su naturaleza y peligrosidad, garantizando (o haciendo garantizar) su tratamiento y eliminación, según las reglamentaciones aplicables.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BARDIN C.W. et PAULSEN C.A. *Textbook of endocrinology* - Ed WILLIAMS H.R. et SAUNDERS W.B., 6ème édition Philadelphia, 1981 - The Testes, 6, 293-354.
2. BUTT W.R. *Hormones in blood* - Ed GRAY C.H. et JAMES W.T.H., 3ème édition, Academic Press, London, 1983, Gonadotrophins - 7, 147-177.
3. LANDGREN B.M., UNDEN A.L. et DICZFALUSY E. Hormonal profile of the cycle in 68 normal menstruating women. *Acta Endocrinologica*, 1980, 94, 89-98.
4. ROSS G.T., VANDE WIELE R.L. et FRANTZ A.G. - *Textbook of endocrinology* - Ed WILLIAMS R. H. et SAUNDERS W.B. Philadelphia 1981 - The Ovaries and the Breasts - 6, 355-411.
5. WIDE L. *Hormone assays and their clinical applications* - Ed LORAINE J.A. et BELL E.T., 4ème édition, Churchill Livingstone, Edinburgh, London and New York, 1976 - Human Pituitary Gonadotrophins, 87-140.
6. SCHOLLER R., Ed. *Hormonologie de la Stérilité. Exploration et thérapeutique. Journées d'endocrinologie clinique du 21-22 novembre 1980*, Edition SEPE Paris – Taux des gonadotropines et des stéroïdes chez la femme normale – 165-193

TABLA DE SÍMBOLOS

Símbolo	Significado
	Número de catálogo
	Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Fabricante
	Límite de temperatura
	Fecha de caducidad
	Código de lote
	Consulte las instrucciones de uso
	Contenido suficiente para <n> ensayos
	Fecha de fabricación

HISTÓRICO DE REVISIONES

Categoría de tipo de cambio :

N/A

No aplica (primera modificación)

Corrección

Corrección de anomalías en la documentación

Cambio técnico

Adición, revisión y/o eliminación de información relativa al producto

Administrativo

Implementación de cambios no técnicos notables para el usuario.

Nota :

Los cambios menores de errores tipográficos, gramaticales, y de formato no aparecen incluidos en el historial de revisiones.

Fecha de publicación	Versión	Tipo de cambio	Resumen de cambios
2015/01	06268M	Administrativo	TABLA DE SÍMBOLOS HISTÓRICO DE REVISIONES
		Cambio técnico	COMPOSICIÓN Y RECONSTITUCIÓN DE LOS REACTIVOS DEL ENVASE (60 PRUEBAS) PRECAUCIONES DE UTILIZACIÓN INSTRUCCIONES DE USO

BIOMERIEUX, el logo de BIOMERIEUX, SPR y VIDAS son marcas utilizadas, depositadas y/o registradas pertenecientes a bioMérieux, o a una de sus filiales, o a cada una de sus sociedades.

El resto de marcas y nombres de productos mencionados pertenecen a sus propietarios respectivos.