EN ISO 13485

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФОЛЛИКУЛОСТИМУЛИРУЮЩЕГО ГОРМОНА В СЫВОРОТКЕ ИЛИ ПЛАЗМЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА МЕТОДОМ ИММУНОРАДИОМЕТРИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ИРМА-ФСГ-СТ

Согласована Министерством здравоохранения Республики Беларусь_____

1 НАЗНАЧЕНИЕ НАБОРА

1.1 Набор ИРМА-ФСГ-СТ предназначен для определения концентрации фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) в сыворотке или плазме крови человека методом иммунорадиометрического анализа. Набор предназначен для применения только in vitro.

1.2 ФСГ является гликопротеином с молекулярной массой 30 кДа, который секретируется передней долей гипофиза. Он состоит из двух нековалентно связанных субъединиц - альфа и бета. Альфа-субъединица ФСГ является общей и для других гликопротеидных гормонов гипофиза: тиреотропного гормона (ТТГ), лютеинизирующего гормона (ЛГ). Бета-субъединица определяет биологическую и иммунологическую специфичность гормона, что позволяет отличить ФСГ от других гликопротеидных гормонов. У женщин ФСГ совместно с ЛГ стимулирует овуляцию и образование желтого тела. Уровень ФСГ регулирует циклические изменения секреции половых стероидов, концентрация которых постепенно увеличивается во время созревания фолликула в первой части цикла, а также отвечает за пик секреции и овуляцию. У мужчин ФСГ совместно с ЛГ и тестостероном стимулирует сперматогенез. Во время пубертатного периода под воздействием ФСГ клетки Лейдига приобретают способность отвечать на ЛГ продукцией тестостерона.

Изменение концентрации ФСГ в сыворотке (плазме) крови пациентов могут быть использованы при исследовании аномалий полового развития, причин бесплодия и нарушений менструального цикла.

2 ХАРАКТЕРИСТИКА И ПРИНЦИП РАБОТЫ НАБОРА

2.1 Состав набора:

- [^{125}I]-моноклональные антитела к ФСГ, жидкий препарат, готов к использованию, 1 флакон; 5,5 мл, общая активность менее 500 кБк;
- пробирки полистирольные с иммобилизованными моноклональными антителами к ФСГ, готовы к использованию, 100 шт.;
- калибровочные пробы ФСГ, в диапазоне концентраций (0-200) МЕ/л (точные значения концентраций ФСГ указываются на этикетках флаконов), жидкие препараты, 7 флаконов по 1 мл. Калибровочные пробы ФСГ откалиброваны относительно международного стандарта WHO NIBSC 94/632;
- концентрат промывочного раствора (КПР), 1 флакон, 25 мл;

КОПИЯ ВЕРНА
Директор
Симирский В.В.
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

- контрольная сыворотка (КС) - жидкий препарат, содержащий известное количество ФСГ, 1 мл, 1 флакон.

2.2 Набор рассчитан на проведение анализа в дубликатах 42 неизвестных проб, 7 калибровочных проб и 1 пробы контрольной сыворотки, всего 100 определений.

2.3 Продолжительность анализа 3 ч.

2.4 Диапазон определяемых концентраций ФСГ – (0,5-200) МЕ/л.

2.5 Принцип работы набора заключается в следующем. Иммунорадиометрическое определение ФСГ относится к анализам типа "сэндвич". В наборе используется два вида мышиных моноклональных антител к различным эпитопам его молекулы. Исследуемые образцы, контрольные и калибровочные пробы инкубируют в пробирках, покрытых одним видом моноклональных антител, совместно с раствором других моноклональных антител, меченных [^{125}I]. После окончания инкубации удаляют жидкое содержимое, промывают пробирки и измеряют связанную активность [^{125}I]. Концентрацию ФСГ, прямо пропорциональную связанной активности, определяют методом интерполяции по калибровочной кривой.

3 МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ

3.1 [^{125}I]-моноклональные антитела к ФСГ являются источником мягкого гамма-излучения. Период полураспада изотопа [^{125}I] – 60,1 сут.

3.2 При работе с набором следует соблюдать правила работы с радиоактивными веществами (далее - РВ) согласно требованиям Санитарных норм и правил «Требования к обеспечению радиационной безопасности персонала и населения при осуществлении деятельности по использованию атомной энергии и источников ионизирующего излучения», утверждённых Постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь № 137 от 31.12.2013 г.

ВНИМАНИЕ! Химическая посуда и оборудование, которые используются при работе с РВ, должны быть соответствующим образом маркированы и храниться отдельно.

Запрещается при работе с РВ иметь на рабочем месте постороннее оборудование и личные вещи.

Категорически запрещается прием пищи, использование косметических принадлежностей и курение в помещениях, предназначенных для работы с РВ.

3.3 При работе с набором следует надевать спецодежду (халаты) и одноразовые резиновые перчатки, т.к. образцы человеческой крови следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные сохранять и передавать гемоконтактные инфекции.

3.4 Работы проводить с соблюдением мер предосторожности в соответствии с требованиями [2], [3]. В случае пролива сыворотки крови на рабочие поверхности, необходимо проводить дезинфекцию в соответствии с требованиями [4].

3.5 При работе с набором рабочие места должны быть обеспечены приточно-вытяжной вентиляцией.

КОПИЯ ВЕРНА

Директор
Симирский В.В.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

4 ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

4.1. Гамма-счетчик колодезного типа;

- прибор для встряхивания пробирок вибрационного типа;
- водоструйный насос;
- магнитная мешалка;
- пипетки полуавтоматические одноканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкостей 0,1 и 2,0 мл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования (погрешность не более 3%);
- штатив для пробирок;
- цилиндр мерный вместимостью 500 мл;
- колба плоскодонная вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- перчатки хирургические резиновые.

5 ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

5.1 Компоненты набора перед использованием необходимо выдержать при температуре (18-25) °С в течение 30 мин.

5.2 Хранение реагентов после вскрытия упаковки

Флаконы с реагентами закрывать колпачками сразу после использования, предупреждая их контаминацию.

В ходе анализа допускается хранение реагентов в течение 8 ч при температуре (18-25) °С в защищенном от света месте.

Все неиспользованные компоненты набора хранить в плотно закрытой первичной упаковке при температуре (2-8) °С в защищенном от света месте в течение всего срока годности набора.

ВНИМАНИЕ! Все реагенты стабильны при (2-8) °С до окончания срока годности набора, указанного на этикетке. Сроки годности, указанные на этикетках флаконов с реагентами, относятся только к их хранению в производственных условиях вплоть до момента комплектации набора и не распространяются на полученную заказчиком продукцию.

5.3 Приготовление промывочного раствора (разведение в 20 раз).

Внести в колбу плоскодонную вместимостью 1000 мл с помощью цилиндра мерного 475 мл дистиллированной воды, добавить содержимое флакона с концентратом промывочного раствора и тщательно перемешать на магнитной мешалке.

Приготовленный промывочный раствор может храниться при температуре (2-8) °С в течение всего срока годности набора.

6 ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

6.1 Пробирки с иммобилизованными моноклональными антителами к ФСГ маркируют следующим образом (в дубликатах): B_0-B_6 – калибровочные пробы ФСГ; $B_{КС}$ – контрольная сыворотка; B_X – исследуемые пробы сыворотки или плазмы крови;

6.2 В пробирки B_0-B_6 внести по 0,1 мл (100 мкл) соответствующих калибровочных проб. В пробирки $B_{КС}$ внести по 0,1 мл (100 мкл) КС. В пробирки B_X внести по 0,1 мл (100 мкл) исследуемых сывороток или плазмы крови.

КОПИЯ ВЕРНА
Директор
Симирский В.В.
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

6.3 Во все пробирки внести по 0,05 мл (50 мкл) [^{125}I]-моноклональных антител к ФСГ.

6.4 Инкубировать все пробирки в течение 1,5 ч при температуре (18-25) °С и постоянном встряхивании на приборе для встряхивания пробирок (не менее 350 встряхиваний в мин).

6.5 После окончания инкубации аккуратно удалить из всех пробирок жидкость с помощью водоструйного насоса.

6.6 Во все пробирки внести по 2 мл промывочного раствора (см. п.5.3). Сразу после внесения удалить промывочный раствор из всех пробирок с помощью водоструйного насоса. Повторить стадию промывки. После промывки в пробирках не должно оставаться следов окрашенной жидкости.

6.7 Все пробирки поместить в гамма-счетчик и измерить скорость счета [^{125}I] в каждой пробирке в течение 1 мин.

6.8 Последовательность внесения реагентов в пробирки и проведение других операций анализа приведены в таблице 1.

Таблица 1

<table>
<tr><td rowspan="2">Пробирки (в дубликатах)</td><td colspan="4">Последовательность операций</td></tr>
<tr><td>Калибровочные пробы, контрольная и исследуемые сыворотки, мл</td><td>[^{125}I]-моноклональные антитела к ФСГ, мл</td><td colspan="2">Инкубировать в течение 1,5 ч при температуре (18-25) °С и постоянном встряхивании</td></tr>
<tr><td>B_0-B_6</td><td>0,1</td><td>0,05</td><td colspan="2" rowspan="3"></td></tr>
<tr><td>B_{KC}</td><td>0,1</td><td>0,05</td></tr>
<tr><td>B_X</td><td>0,1</td><td>0,05</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Пробирки (в дубликатах)</td><td colspan="4">Последовательность операций</td></tr>
<tr><td rowspan="4">После инкубации тщательно удалить из всех пробирок жидкость с помощью водоструйного насоса</td><td>Промывочный раствор, мл</td><td rowspan="4">Сразу удалить раствор с помощью водоструйного насоса.</td><td rowspan="4">Повторить стадию промывки.</td></tr>
<tr><td>B_0-B_6</td><td>2</td></tr>
<tr><td>B_{KC}</td><td>2</td></tr>
<tr><td>B_X</td><td>2</td></tr>
<tr><td colspan="5">Измерить скорость счета [^{125}I] в каждой пробирке в течение 1 мин</td></tr>
</table>

7 РАСЧЕТЫ И ГРАФИЧЕСКИЕ ПОСТРОЕНИЯ

7.1 Найти средние арифметические значения скоростей счета [^{125}I] для каждой пары пробирок и рассчитать величину B_i/B_{max}, в единицах относительной скорости счета, для каждой калибровочной пробы, контрольной или исследуемой сыворотки, где B_i – среднее арифметическое значение скорости счета [^{125}I] в пробирках B_1-B_6, B_{KC} или B_X.

7.2 Построить калибровочную кривую в полулогарифмических координатах, откладывая на оси ординат (линейная) значения B_i/B_{max} или B_i/T, в %, а по оси абсцисс (логарифмическая) – значения концентраций ФСГ, в МЕ/л, в соответствующих калибровочных пробах.

КОПИЯ ВЕРНА
Директор
Симирский В.В.
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Определить по калибровочной кривой концентрацию ФСГ в контрольной и исследуемых сыворотках или плазме крови.

8 АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА

8.1 Чувствительность

Минимальная концентрация ФСГ, определяемая с помощью набора, составляет 0,5 МЕ/л.

8.2 Специфичность

Антитела, используемые в данном наборе, обладают высокой специфичностью к ФСГ. Перекрёстная реакция с близкородственными структурными соединениями составляет:

ХГЧ бета-субъединица	– 0,0 %;
ХГЧ	– 0,0 %;
ЛГ	– 0,1 %;
ТТГ	– 0,1 %.

8.3 Воспроизводимость результатов

Коэффициент вариации результатов определений (n=10) концентрации ФСГ в образцах сыворотки крови с низким, средним и высоким содержанием ФСГ не превышает 8%.

8.4 Тест на "открытие"

Процент "открытия" ФСГ, добавленного в образцы сыворотки крови с известной концентрацией ФСГ, составляет (80-120) %.

8.5 Тест на «линейность»

Процент открытия ФСГ при последовательном разведении пробы с высоким содержанием ФСГ «нулевым» стандартом составляет (80-120) %.

8.6 Клиническая проверка набора

При клинических испытаниях набора получены следующие диапазоны концентраций ФСГ в сыворотке крови:

Мужчины		1,5-7	МЕ/л
Женщины:	фолликулярная фаза	1,8-10,5	МЕ/л
	предовуляторный пик	4,5-18	МЕ/л
	лютеиновая фаза	1,5-6	МЕ/л
	менопауза	> 30	МЕ/л
Дети в возрасте до 10 лет		< 1	МЕ/л

Приведённые значения являются ориентировочными. В каждой лаборатории рекомендуется установить собственные уровни ФСГ, соответствующие нормальным.

9 УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

9.1 Компоненты набора должны храниться при температуре (2 – 8) °С в течение всего срока годности набора. Срок годности набора – 60 суток.

9.2 Определение концентрации ФСГ с помощью набора ИРМА-ФСГ-СТ проводят в сыворотке или плазме крови человека. Плазму крови получают с использованием в качестве антикоагулянта ЭДТА.

Образцы сыворотки или плазмы крови хранят при температуре (2-8) °С, если анализ проводят в течение 24 ч после взятия крови. Образцы сыворотки или плазмы крови можно хранить при температуре не менее

КОПИЯ ВЕРНА Директор Симирский В.В.
Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

минус 20 °С в течение более длительного времени – не более 3 месяцев (допускается только однократное замораживание и размораживание образцов). Размораживание образцов проводят при комнатной температуре.

9.3 Исследуемые образцы сыворотки или плазмы крови следует проверять на остаточную активность радионуклидов, если обследуемому лицу до отбора крови вводили радиоактивные препараты.

9.4 Для отбора и добавления компонентов рекомендуется использовать полуавтоматические пипетки со сменными наконечниками, аттестованные на точность по значению средней дозы и воспроизводимость результатов пипетирования.

9.5 Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора и квалифицированное проведение анализа.

Пояснения к символам

Графический символ	Его значение и объяснение
SN	**Серийный номер** Настоящий символ сопровождается указанием серийного номера изготовителя
	**Использовать до** Настоящий символ сопровождается датой, указывающей, что изделие рекомендуется использовать до истечения установленного срока; дата состоит из четырех цифр, указывающих год, двух цифр, указывающих месяц, и двух цифр, указывающих день
IVD	**Изделие для диагностики in vitro**
	**Ограничение температуры** Рядом с верхней и нижней горизонтальными линиями указывается верхняя и нижняя границы температурного диапазона
	**Изготовитель** Настоящий символ сопровождается информацией о наименовании и адресе изготовителя
	**Содержимого достаточно для проведения n-тестирований** Настоящий символ сопровождается указанием количества определений
	**Знак радиационной опасности** Настоящий символ сопровождается указанием общей активности изотопа [^{125}I] в наборе, кБк

 УП «ХОП ИБОХ НАН Беларуси» ул. Академика В.Ф.Купревича, д.5, корп.3, 220141, г. Минск, Республика Беларусь
Тел./факс +375-17-369-82-57 E-mail:hopmang.bel@gmail.com
http://www.hopiboh.org

Директор
Симирский В.В.

КОПИЯ ВЕРНА

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

По вопросам, касающимся качества набора, обращаться в БТК, тел. +375-17-268-87-38

Библиография

[1] Серия норм МАГАТЭ по безопасности, № ST-1.
Правила безопасной перевозки радиоактивных материалов, 1996

[2] Приказ Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 16.12.1998 № 351
О пересмотре ведомственных нормативных актов, регламентирующих вопросы по проблеме ВИЧ/СПИД.

[3] СП 17-69 РБ 98
«Общие требования по профилактике инфекционных и паразитарных заболеваний» утвержденные постановлением Главного государственного санитарного врача Республики Беларусь от 29.04.1998 г. №18

[4] Приказ №165 МЗ РБ от 25.11.2002 г.
О проведении дезинфекции и стерилизации в учреждениях здравоохранения

[5] Постановление Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 29.07.2019 № 74
О проведении обязательных и внеочередных медицинских осмотров работающих.

[6] Постановление Главного государственного санитарного врача Республики Беларусь от 30.12.2005 № 284
Об утверждении Санитарных правил и норм 2.6.1.13-60-2005 "Гигиенические требования по обеспечению радиационной безопасности персонала и населения при транспортировании радиоактивных материалов (веществ)".

Инструкция составлена сотрудниками УП «ХОП ИБОХ НАН Беларуси»:

Начальник научно-технического отдела, к.б.н. А.И.Щербань

Инженер-технолог 2 категории Н.В.Михайловская

КОПИЯ ВЕРНА

Директор
Симирский В.В.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru