

BIOLISA FSH

[REF] **K258**

INSTRUÇÕES DE USO

FINALIDADE

Teste para determinação quantitativa de Hormônio Foliculo Estimulante (FSH) em amostras biológicas de soro ou plasma, através de teste de enzimaímunoensaio. Somente para uso de diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Enzimaímunoensaio ou imunoenzimático
O kit BIOLISA FSH é um ensaio imunoenzimático em fase sólida baseado no princípio "sanduíche" para a detecção quantitativa do Hormônio Foliculo Estimulante (FSH) em amostras humanas de soro ou plasma. A microplaca é revestida com Anticorpos específicos contra um sítio antigênico presente exclusivamente nas moléculas de FSH. No primeiro momento, a amostra é incubada junto ao Conjugado, constituído também de Anticorpos Anti-FSH específicos, conjugados à Peroxidase. As moléculas de FSH presentes na amostra se ligam aos Anticorpos Anti-FSH imobilizados na placa e nos Anticorpos Anti-FSH presentes no Conjugado, formando imunocomplexos. Após a incubação inicial, a microplaca é lavada para remover os materiais não ligados. Em seguida, o Substrato é adicionado e incubado, produzindo uma cor azul que indica a detecção do Hormônio Foliculo Estimulante na amostra. A Solução de Parada é adicionada para interromper a reação, havendo uma mudança de cor de azul para amarelo, medido em um leitor de microplaca.

REAGENTES

1- Padrões Referência (A – F) - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Seis (6) frascos de Padrões Referência (A - F), contendo Hormônio Foliculo Estimulante (FSH) em diferentes concentrações, Solução Tampão, estabilizantes e conservantes. As concentrações variam a cada lote (de 0 a 70 mUI/mL), vide rótulo dos frascos. **Potencialmente infectante.**
2- Conjugado - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Solução Tampão contendo Anticorpos específicos Anti-FSH conjugados à Peroxidase, estabilizantes, conservantes, surfactante e corante.
3- Placa Sensibilizada - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Placa sensibilizada com Anticorpos específicos Anti-FSH.
4 - Lavagem Concentrada - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Solução Tampão (Fosfato < 0,5 mol/L, Cloreto de Potássio < 100 mmol/L, Cloreto de Sódio < 5 mol/L), surfactante e conservante.
5- Substrato - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Solução Tampão contendo Peróxido de Ureia, Tetrametilbenzidina (TMB) e conservante.
6- Solução de Parada - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Ácido Clorídrico 1M.

APRESENTAÇÃO

REAGENTES	1	2	3
	96 Cavidades	192 Cavidades	480 Cavidades
1- Padrões Referência (A-F)	6 Frascos x 1 mL	6 Frascos x 1 mL	6 Frascos x 2 mL
2- Conjugado	1 Frasco x 12 mL	1 Frasco x 24 mL	1 Frasco x 60 mL
3- Placa Sensibilizada	1 Unidade	2 Unidades	5 Unidades
4- Lavagem Concentrada	1 Frasco x 50 mL	1 Frasco x 100 mL	1 Frasco x 250 mL
5- Substrato	1 Frasco x 12 mL	1 Frasco x 24 mL	1 Frasco x 60 mL
6- Solução de Parada	1 Frasco x 12 mL	1 Frasco x 24 mL	1 Frasco x 60 mL

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Materiais contidos no kit:

- Reagentes descritos no quadro anterior.

Materiais necessários não contidos no kit:

1- Pipetas capazes de dispensar volumes de 5 a 500 µL com coeficiente de variação menor que 1,5%.
2- Repipetador para pipetagens repetitivas de volumes de 300 µL com coeficiente de variação menor que 1,5% ou pipeta multicanal (opcional).
3- Lavadora de microplaca.
4- Leitora de ELISA com capacidade de absorbância em 450 e 630 nm de comprimento de onda.
5- Papel absorvente para secar as microcavidades.
6- Cronômetro ou relógio.
7- Água destilada ou deionizada.
8- Ferramentas de Controle de Qualidade.
9- Incubadora de 37 °C ± 2 °C.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

A temperatura de armazenamento deverá ser de 2 a 8 °C. O transporte em temperaturas até 30 °C não deverá exceder 5 dias. Manter ao abrigo da luz e evitar umidade. **Não congelar.**

CUIDADOS ESPECIAIS

1- Somente para uso diagnóstico *in vitro* profissional.

2- Seguir com rigor a metodologia proposta para a obtenção de resultados exatos.
3- O sachê contendo a microplaca deve ser aberto somente após atingir a temperatura ambiente. Recolocar as tiras de microcavidades não utilizadas no sachê, vedar e conservar entre 2 e 8 °C.
4- A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de contaminantes.
5- Colunas deionizadoras saturadas liberam água alcalina, íons diversos, e agentes oxidantes e redutores que podem alterar de forma significativa os resultados.
6- A Solução de Parada contém Ácido Sulfúrico que é um ácido forte. Portanto, manuseá-lo com devido cuidado.
7- Toda matéria-prima do produto é testada e deve ser não reagente para HBsAg, Anti-HIV 1&2 e Anti-HCV. Entretanto, esses testes não oferecem total segurança da ausência de agentes infecciosos. A manipulação de todo produto que contém soro é potencialmente capaz de transmitir doenças. Portanto, é preciso tomar os devidos cuidados de biossegurança na manipulação desses produtos.
8- Pipetar os reagentes sempre na mesma ordem para minimizar a diferença de tempo de reação entre as microcavidades.
9- Por medida de proteção, deve-se cobrir a placa durante a reação.
10- Deve-se assegurar que o fundo da cavidade esteja limpo e seco e que não haja bolhas na superfície do líquido antes de ler a placa. Não permitir que as cavidades sequem durante o ensaio.
11- Não exponha os reagentes, especialmente o Substrato, à luz forte ou vapores de Hipoclorito durante o armazenamento ou etapas de incubação.
12- Recomendamos aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente.
13- Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FISPQ (Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos) disponibilizadas no site www.bioclin.com.br ou através de solicitação pelo SAC (Serviço de Assessoria ao Cliente) da Quibasa.
14- Não utilizar o produto em caso de danos na embalagem.
15- É imprescindível que os instrumentos e equipamentos utilizados estejam devidamente calibrados e submetidos às manutenções periódicas.

AMOSTRAS

Soro ou Plasma (EDTA ou Heparina)

Amostras hemolisadas e altamente lipêmicas não devem ser usadas. As amostras podem ser conservadas sob refrigeração, entre 2 e 8 °C, pelo período máximo de 5 dias. Se as amostras não puderem ser analisadas dentro de 5 dias, podem ser estocadas por até 30 dias a temperatura de -20 °C. Amostras de plasma armazenadas por períodos superiores ao preconizado e amostras coletadas com outros anticoagulantes diferentes dos citados, não devem ser utilizadas.

DESCRIÇÃO DO PROCESSO

Estabilidade Após Aberto

Os resultados do teste de estabilidade comprovam que o kit BIOLISA FSH é estável após aberto por até 30 dias. Esta estabilidade pode variar de acordo com as condições do teste e do ambiente. Portanto, sugere-se acompanhar o desempenho do produto utilizando controles internos do kit e os critérios de validação da técnica.

PREPARO DOS REAGENTES DE TRABALHO

Solução de Lavagem

Diluir 50 mL da Lavagem Concentrada (frasco Nº 4) em 1000 mL de água destilada ou deionizada. Após o preparo, a solução pode ser estocada entre 2 a 30 °C por até 30 dias. Caso ocorra cristalização, aquecer a 37 °C até dissolução.

Todos os demais reagentes são prontos pra uso.

TÉCNICA

Para uso em equipamentos automáticos, consulte ao SAC (Serviço de Assessoria de Cliente).
Antes de iniciar o ensaio, colocar todos os reagentes, amostras e padrões referência para estabilizarem em temperatura ambiente (15 – 30 °C) por, no mínimo, 40 minutos.
1- Separar as cavidades a serem utilizadas considerando: Padrões Referência (de A até F) e amostras. Recomenda-se testar em duplicata. Retornar as tiras não utilizadas da microplaca para a embalagem original selada.
2- Separar a primeira cavidade para o Branco (opcional).
3- Pipetar 50 µL de cada um dos Padrões Referência (A-F) e das amostras nas cavidades previamente determinadas.
4- Pipetar 100 µL do Conjugado em todas as cavidades, **inclusive na cavidade do Branco.**
5- Homogeneizar gentilmente durante ± 10 segundos. Cobrir as cavidades com selador de placas.
6- Incubar por 30 minutos ± 2 minutos a 37 °C.
7- Retirar o selador das cavidades.
8- Descartar o conteúdo das cavidades por aspiração em uma Lavadora de Microplacas. Usar 300 µL aproximadamente de Solução de Lavagem, previamente preparada, e efetuar um total de cinco (5) ciclos de lavagem com agitação (shake) de 3 segundos. Para a garantia da secagem da placa, ao final da lavagem, bater a placa por alguns segundos em papel absorvente.
Nota: Lavagem/secagem deficiente pode causar resultados inadequados.
9- Pipetar 100 µL de Substrato em todas as cavidades, **inclusive na cavidade do Branco.**
10- Homogeneizar gentilmente durante ± 10 segundos. Cobrir as cavidades com o selador de placa.
11- Incubar por 10 minutos ± 2 minutos a 37°C.
12- Retirar o selador das cavidades.
13- Pipetar 100 µL de Solução de Parada em todas as cavidades, **inclusive na cavidade do Branco.**
14- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos.
15- Ler utilizando filtro duplo: 450 nm / 630 nm em até 10 minutos (no máximo).

VERIFICAÇÃO DA TÉCNICA

Verifique se os resultados obtidos para leitura do Branco e dos Padrões de Referência estão compatíveis com os valores apresentados abaixo:

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Branco	< 0,100
Padrão Referência A	< 0,100
Padrão Referência B	> A e < C
Padrão Referência C	> B e < D
Padrão Referência D	> C e < E
Padrão Referência E	> D e < F
Padrão Referência F	> E

Caso os valores se encontrem fora dos valores esperados, deve-se repetir a técnica.

CÁLCULOS

Uma curva de calibração é usada para determinar a concentração de FSH em amostras desconhecidas.

Preparo da Curva de Calibração

Caso tenham sido realizadas em duplicata, calcular as médias das absorvâncias obtidas na leitora de microplaca de cada um dos Padrões Referência (A-F), como no exemplo:

Padrão Referência	Concentração (Vide Rótulo)	Absorbância	Absorbância Média
A	0	0,007	0,006
		0,006	
B	5	0,166	0,163
		0,159	
C	8	0,314	0,325
		0,336	
D	15	0,637	0,641
		0,645	
E	30	1,204	1,186
		1,168	
F	70	2,343	2,325
		2,307	

Plotar as absorvâncias médias de cada Padrão Referência (A-F) versus a concentração correspondente em mUI/mL em papel milimetrado ou através de programas de computador. Traçar a curva ponto a ponto.

Cálculo da Concentração de FSH das Amostras

Calcular a concentração de cada amostra analisada a partir da Curva de Calibração feita no papel milimetrado, interpolando o valor de absorbância obtida na leitura da amostra com o valor em concentração (mUI/mL) correspondente. O cálculo da concentração das amostras testadas também pode ser realizado utilizando programas adequados de computador, através de regressão linear.

O intervalo de medição do kit situa-se entre 0,08 e 70 mUI/mL (sensibilidade analítica e ponto máximo da curva, respectivamente). Resultados situados abaixo do limite inferior de detecção devem ser expressas como <0,08 mUI/mL. Resultados situados acima do limite superior de detecção devem ser expressas como >70 mUI/mL. Amostras que apresentarem valores maiores do que o último ponto da curva podem ser diluídas e reanalisadas, conforme descrito abaixo.

Diluição de Amostras

Amostras com concentração >70,0 mUI/mL podem ser diluídas e reanalisadas. Para tanto, adicione 10 µL de amostra em 90 µL de solução de cloreto de sódio 0,9% (diluição 1:10). A concentração obtida da amostra diluída deve ser multiplicada pelo fator de diluição (se diluída 1:10, multiplicar por 10). Se a concentração da amostra ainda for maior que 70 mUI/mL, uma diluição maior deve ser realizada.

Nota: Os dados apresentados são apenas para ilustração e não podem ser usados em substituição à curva de calibração, que deve ser construída no laboratório. Os Padrões Referência devem ser sempre testados a cada novo ensaio.

VALORES DE REFERÊNCIA

Sexo	Valor de Referência (IC 95%) mUI/mL
Homens	1,0 a 14,0
Mulheres	
Fase Folicular	3,0 a 12,0
Meio do Ciclo	8,0 a 22,0
Fase Lútea	2,0 a 12,0
Pós-Menopausa	35,0 a 151,0

Estes valores devem ser usados como orientação, sendo que cada laboratório deverá criar sua faixa de valores de referência, de acordo com a população atendida. Os resultados fornecidos por este kit devem ser interpretados pelo profissional médico responsável, não sendo o único critério para a determinação do diagnóstico e/ou tratamento do paciente.

LIMITAÇÕES DO PROCESSO

A interpretação de um teste diagnostico, não deve ser estabelecida com base em um único ensaio. Todos os resultados devem ser interpretados em conjunto com outras informações clínicas disponíveis antes do diagnóstico definitivo.

INTERFERENTES

Nenhuma interferência foi observada por Triglicérides 1500 mg/dL, Ácido Acetilsalicílico 20 mg/dL, Ácido Ascórbico 2 g/dL, Creatina 200 mg/dL, Bilirrubina 1 g/dL, Albumina 2 g/dL, Hemoglobina 1000 mg/dL, Ácido Oxálico 60 mg/dL, Proteína C Reativa 41,2 mg/dL, anti-Estreptolisina O 1023 UI/mL e Fator Reumatoide 1080 UI/mL. Amostras de plasma colhidas em EDTA e Heparina podem ser utilizadas para a quantificação de FSH. Amostras coletadas com outros anticoagulantes diferentes dos citados não podem ser utilizadas. Amostras de plasma armazenadas por períodos superiores ao preconizado (30 dias) podem apresentar fibrina e precipitação de fibronectina que podem interferir no teste.

REATIVIDADE CRUZADA

Um estudo de reatividade cruzada foi realizado, avaliando 50 amostras de soro e plasma com baixas concentrações de FSH, mas com altas concentrações conhecidas de outros analitos. Dentre elas, 10 amostras com Gonadotrofina Coriônica Humana (hCG) até 50.000 mUI/mL, 10 amostras com Hormônio Tireostimulante (TSH) até 1.000 µUI/mL, 10 amostras com Hormônio Luteinizante (LH) até 1.000 mUI/mL, 10 amostras com Prolactina até 1.000 ng/mL e 10 amostras com Antígeno Prostático Específico (PSA) até 1.000 ng/mL. Não foram observados resultados falsos positivos para os analitos listados. Apesar dos resultados encontrados, não se pode descartar completamente a possibilidade de reatividades cruzadas com outros analitos ou com concentrações maiores. O diagnóstico final deve considerar os dados clínicos do paciente juntamente com outros dados laboratoriais.

CONTROLE INTERNO DE QUALIDADE

O Laboratório Clínico deve possuir um programa interno de controle da qualidade, onde procedimentos, normas, limites e tolerância para variações sejam claramente estabelecidos. É importante ressaltar que todos os sistemas de medição apresentam uma variabilidade analítica característica, que deve ser monitorada pelos próprios laboratórios. Para tanto, é recomendável a utilização de controles, que permitem avaliar a precisão e a exatidão das dosagens.

DESEMPENHO DO PRODUTO

PRECISÃO

Repetibilidade

A repetibilidade foi calculada a partir de 10 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com valores diferentes, obtendo-se os seguintes resultados de absorbância:

Repetibilidade	Amostra		
	1	2	3
Média	0,763	0,133	2,310
Desvio Padrão	0,056	0,008	0,227
Coefficiente de Variação (%)	7,37	5,79	9,81

Reprodutibilidade

A reprodutibilidade foi calculada a partir de 10 determinações sucessivas durante 3 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com valores diferentes, obtendo-se os seguintes resultados de absorbância:

Reprodutibilidade	Amostra		
	1	2	3
Média	0,624	0,115	2,008
Desvio Padrão	0,105	0,021	0,358
Coefficiente de Variação (%)	17	18	18

SENSIBILIDADE ANALÍTICA

A sensibilidade analítica do kit BIOLISA FSH é 0,08 mUI/mL.

LINEARIDADE

A reação é linear até a concentração do ponto mais alto da curva de calibração. Para amostras com valores superiores, deve-se diluir a amostras conforme descrito em "Diluição de Amostras", repetir a dosagem e multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição.

EFEITO PRÓ-ZONA DE ALTA DOSE

Não foi observado efeito pró-zona de alta dose até a concentração de 1.000 mUI/mL de FSH.

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

O Hormônio Folículo Estimulante (FSH) e o Hormônio Luteinizante (LH) estão intimamente envolvidos no controle das atividades reprodutivas das gônadas, que sintetizam e secretam hormônios sexuais masculinos e femininos. O FSH é uma glicoproteína secretada pelas células basófilas da hipófise anterior, estimuladas pelo hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH), produzido no hipotálamo. Assim como outras glicoproteínas (LH, TSH e hCG), o FSH consiste em subunidades designadas como alfa e beta. Estes hormônios possuem subunidades alfa muito semelhantes estruturalmente; portanto, as propriedades biológicas e imunológicas de cada um são dependentes da sua respectiva subunidade beta. Na mulher, o FSH possui como principal função o estímulo ao crescimento e maturação dos folículos com aumento na produção de estrogênio, enquanto o LH possui função importante na ovulação, com aumento na produção de estrogênio e progesterona. Esse dois últimos hormônios possuem papel de feedback negativo, ou seja, inibem a secreção de FSH e LH até o final do ciclo menstrual e início do próximo. Os níveis de FSH variam dentro dos limites de referência durante o ciclo menstrual das mulheres. Entretanto, níveis de FSH estão elevados após a menopausa, castração e falência ovariana prematura. Nos homens, o FSH possui papel no crescimento dos túbulos seminíferos e a manutenção da espermatogênese. No entanto, os andrógenos (testosterona), ao contrário dos hormônios femininos, não diminuem os níveis de FSH. Por razões não totalmente compreendidas, homens azospérmicos e oligospérmicos geralmente apresentam níveis elevados de FSH. Níveis elevados de FSH também podem ser encontrados na insuficiência testicular primária e na síndrome de Klinefelter. Concentrações elevadas também estão presentes em casos de inanição, insuficiência renal, hipertireoidismo e cirrose.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- WHO. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and sérum samples. WHO/DIL/LAB/99.1 rev. 2, 2002:31.
- 2- Marshall, J. C.: Clinic in Endocrinol. Metab., 4, 545 (1975).
- 3- Jeffcoate, S. L.: Clinic. in Endocrinol. Metab. 4, 521 (1975).
- 4- Cohen, K. L.: Metabolism, 26, 1165 (1977).
- 5- Shome, B. and Parlow, A. F.: J. Clin. Endocrinol. Metab., 39, 199 (1974).
- 6- Lundy, L. E., Lee, S. G., Levy, W., et al.: Obstet. Gynecol., 44, 14 (1974).
- 7- Ross, F. T., Vande Wiele, R. L. and Franty, A. G.: Text of Endocrinol., Chapter 7, Ed.: R. H.
- 8- Williams, W.B. Saunders, Philadelphia (1981).
- 9- Speroff, L.: Clinic. Gynecol. Endocrinol. and Infert., Chapter 3, Ed: L. Speroff, R. H. Glass and
- 10- M. G. Kase, Williams & Wilkins Baltimore (1978).
- 11- Rebar, R. W., Erickson, G. F. and Yen, S.S.C.: Fertil. Steril., 37, 35 (1982).
- 12- Catt, K. J. and Pierce, J.G.: Reprod. Endocrinol., Chapter 2, Ed: S.S.C. Yen and R. B. Jaffe, Philadelphia (1978).
- 13- Leonard, J. M., Leach, R. B., Couture, M. and Paulsen, C.A.: J. Clinic. Endocrinol., 34, 209 (1972).
- 14- Reiter, E. O. and Lulin, H. E.: J. Clinic. Endocrinol., 33, 957 (1971).
- 15- Abraham, G. E., Ed.: Radioassay Systems in Clinic. Endocrinol., Marcel Dekker, Inc., New York (1981).

16- Engvall, E., Methods in Enzymology, Volume 70, VanVunakis, H. and Langone, J.J., (eds.), Academic Press, New York, 419 (1980).

17- Uotila, M., Ruoslahti, E. and Engvall, E., J.Immunol. Methods, 42, 11 (1981).

18- QUIBASA: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

GARANTIA DA QUALIDADE

Antes de serem liberados para consumo, todos os reagentes **Bioclin** são testados pelo Departamento de Controle de Qualidade. A qualidade dos reagentes é assegurada até a data de validade mencionada na embalagem de apresentação, desde que armazenados e transportados nas condições adequadas.

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda

Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Tel.: (31) 3439.5454 | E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR

Serviço de Assessoria ao Cliente
Tel.: 0800 0315454 | E-mail: sac@bioclin.com.br

Número de Registro do kit BIOLISA FSH na ANVISA: 10269360351

Revisão: Março/2023

SIMBOLOGIA UNIVERSAL

	NÚMERO DE CATÁLOGO		FABRICADO POR
	NÚMERO DO LOTE		CONTROLE
	DATA DE FABRICAÇÃO		CONTROLE POSITIVO
	DATA DE VALIDADE (último dia do mês)		CONTROLE NEGATIVO
	LIMITE DE TEMPERATURA (conservar a)		RISCO BIOLÓGICO
	O CONTEÚDO É SUFICIENTE PARA <N> TESTE		INFLÂMABEL
	CONSULTAR INSTRUÇÕES DE USO		CORROSIVO
	PRODUTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO		TÓXICO
	PROTEGER DA LUZ E CALOR		NÃO UTILIZAR SE A EMBALAGEM ESTIVER DANIFICADA
	NÃO REUTILIZE		PRODUTO ESTERILIZADO
	CUIDADO		PERIGO

BIOLISA FSH

REF K258

INSTRUCCIONES DE USO

FINALIDAD
Prueba para la determinación cuantitativa de Hormona Folículo Estimulante (FSH) en muestras biológicas de suero o plasma, mediante una prueba de inmunoensayo enzimático. Sólo para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCIPIO DE ACCIÓN
Metodología: Inmunoensayo enzimático o inmunoenzimático
El kit BIOLISA FSH es un inmunoensayo enzimático en fase sólida basado en el principio de “sándwich” para la detección cuantitativa de la Hormona Estimulante del Folículo (FSH) en muestras de suero o plasma humano. La microplaca está recubierta de Anticuerpos específicos contra un sitio antigénico presente exclusivamente en las moléculas de FSH. En un primer momento, la muestra se incuba con el Conjugado, también formado por Anticuerpos específicos Anti-FSH, conjugados con Peroxidasa. Las moléculas de FSH presentes en la muestra se unen a los Anticuerpos Anti-FSH inmovilizados en la placa ya los Anticuerpos Anti-FSH presentes en el Conjugado, formando inmunocomplejos. Después de la incubación inicial, la microplaca se lava para eliminar los materiales no unidos. Luego se agrega el Sustrato y se incuba, produciendo un color azul que indica la detección de la Hormona Estimulante del Folículo en la muestra. Se agrega Solución de Parada para detener la reacción, con un cambio de color de azul a amarillo, medido en un lector de microplacas.

REACTIVOS
1- Estándares de Referencia (A – F) - Conservar entre 2 y 8 °C. Contiene: Seis (6) viales de Estándares de Referencia (A - F), que contienen Hormona Folículo Estimulante (FSH) en diferentes concentraciones, Solución Tampón, estabilizadores y conservantes. Las concentraciones varían para cada lote (de 0 a 70 mUI/mL), consulte las etiquetas de los viales. **Potencialmente infeccioso.**
2- Conjugado - Conservar entre 2 y 8 °C. Contiene: Solución Tampón que contiene Anticuerpos específicos Anti-FSH conjugados con Peroxidasa, estabilizadores, conservantes, tensioactivo y colorante.
3- Placa Sensibilizada - Conservar entre 2 y 8 °C. Contiene: Placa sensibilizada con Anticuerpos específicos Anti-FSH.
4- Lavado Concentrado - Conservar entre 2 y 8 °C. Contiene: Solución Tampón (Fosfato < 0,5 mol/L, Cloruro de Potasio < 100 mmol/L, Cloruro de Sodio < 5 mol/L), tensioactivo y conservante.
5- Sustrato - Conservar entre 2 y 8 °C. Contiene: Solución Tampón que contiene Peróxido de Urea, Tetrametilbencidina (TMB) y conservante.
6- Solución de Parada - Conservar entre 2 y 8 °C. Contiene: Ácido Clorhídrico 1M.

PRESENTACIÓN

REACTIVOS	1	2	3
	96 Cavidades	192 Cavidades	480 Cavidades
1- Estándares de Referência (A-F)	6 Viales x 1 mL	6 Viales x 1 mL	6 Viales x 2 mL
2- Conjugado	1 Vial x 12 mL	1 Vial x 24 mL	1 Vial x 60 mL
3- Placa Sensibilizada	1 Unidad	2 Unidades	5 Unidades
4- Lavado Concentrado	1 Vial x 50 mL	1 Vial x 100 mL	1 Vial x 250 mL
5- Sustrato	1 Vial x 12 mL	1 Vial x 24 mL	1 Vial x 60 mL
6- Solución de Parada	1 Vial x 12 mL	1 Vial x 24 mL	1 Vial x 60 mL

EQUIPOS Y INSUMOS OPERACIONALES

Materiales contenidos en el kit:
- Reactivos descritos en el ítem anterior.

Materiales necesarios, no contenidos en el kit:
1- Pipetas capaces de dispensar volúmenes de 5 a 500 µL con un coeficiente de variación inferior al 1,5%.
2- Repetidor para pipeteo repetitivo de volúmenes de 300 µL con coeficiente de variación inferior al 1,5% o pipeta multicanal (opcional).
3- Lavadora de microplacas.
4- Lector de ELISA con capacidad de absorbancia a 450 y 630 nm de longitud de onda.
5- Papel absorbente para secar las microcavidades.
6- Cronómetro o reloj.
7- Agua destilada o desionizada.
8- Herramientas de Control de Calidad.
9- Incubadora de 37 °C ± 2 °C.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE
La temperatura de almacenamiento debe ser de 2 y 8 °C. El transporte a temperaturas de hasta 30 °C no debe exceder los 5 días. Mantener alejado de la luz y evitar la humedad. **No congelar.**

CUIDADOS ESPECIALES
1- Solamente para el uso de diagnóstico *in vitro*.
2- Seguir estrictamente la metodología propuesta para obtener resultados exactos.
3- El sobre que contiene la microplaca debe abrirse solo después de alcanzar la temperatura ambiente. Vuelva a colocar las tiras de micropocillos no utilizadas en el sobre, ciérrelo y guárdelo entre 2 y 8 °C.
4- El agua utilizada para limpiar el material debe ser fresca y libre de contaminantes.
5- Las columnas desionizantes saturadas liberan agua alcalina, varios iones y agentes oxidantes y reductores que pueden alterar significativamente los resultados.
6- La Solución de Parada contiene Ácido Clorhídrico, que es un ácido fuerte. Por lo tanto, manipúlelo con el debido cuidado.
7- Toda la materia prima del producto está probada y debe ser no reactiva para HBsAg, Anti-HIV 1&2 y Anti-HCV. Sin embargo, estas pruebas no ofrecen una seguridad completa en ausencia de agentes infecciosos. La manipulación de cualquier producto que contenga suero es potencialmente capaz de transmitir enfermedades. Por tanto, es necesario cuidar la bioseguridad en el manejo de estos productos.
8- Pipetear los reactivos siempre en el mismo orden para minimizar la diferencia en el tiempo de reacción entre los pocillos.
9- Como medida de protección, la placa debe cubrirse durante la reacción.
10- Asegúrese de que el fondo de la cavidad esté limpio y seco y que no haya burbujas en la superficie del líquido antes de leer la placa. No permita que los pocillos se sequen durante la prueba.
11- No exponga los reactivos, especialmente el sustrato, a luz fuerte o vapores de hipoclorito durante los pasos de almacenamiento o incubación.
12- Recomendamos aplicar las normas de protección ambiental locales, estatales y federales para que la eliminación de reactivos y material biológico se realice de acuerdo con la legislación vigente.
13- Para obtener información relacionada con la bioseguridad o en caso de accidentes con el producto, consultar la FISPQ (Ficha de Información de Seguridad de Productos Químicos) disponible en el sitio web www.bioclin.com.br o a solicitud del Cliente SAC (Servicio de Asistencia al Cliente) de Quibasa.
14- No utilice el producto en caso de daños en el embalaje.
15- Es fundamental que los instrumentos y equipos utilizados estén debidamente calibrados y sometidos a un mantenimiento periódico.

MUESTRAS
Suero o Plasma (EDTA o Heparina)
No se deben utilizar muestras hemolizadas y altamente lipémicas. Las muestras se pueden almacenar en refrigeración, entre 2 y 8 °C, por un período máximo de 5 días. Si las muestras no se pueden analizar en 5 días, se pueden almacenar hasta 30 días a -20 °C. No se deben utilizar muestras de plasma almacenadas durante períodos más largos de los recomendados ni muestras recogidas con otros anticoagulantes distintos de los mencionados anteriormente.

DESCRIPCIÓN DEL PROCESO
Estabilidad Después de Abierto
Los resultados de la prueba de estabilidad demuestran que el kit BIOLISA FSH es estable después de haber sido abierto durante 30 días. Esta estabilidad puede variar según la prueba y las condiciones ambientales. Por lo tanto, se sugiere monitorear el desempeño del producto utilizando los controles internos del kit y los criterios de validación de la técnica.

PREPARO DE LOS REACTIVOS DE TRABAJO
Solución de Lavado
Diluir 50 mL de Lavado Concentrado (vial N° 4) en 1000 mL de agua destilada o desionizada. Después de la preparación, la solución puede almacenarse entre 2 y 30 °C durante un máximo de 30 días. Si ocurre cristalización, calentar a 37 °C hasta disolución.

Todos los demás reactivos están listos para usar.

TÉCNICA
Para uso en equipos automáticos contactar con el SAC (Servicio de Atención al Cliente).
Antes de comenzar el ensayo, coloque todos los reactivos, Estándares de Referencia y Muestras para que se estabilicen a temperatura ambiente (15 – 30 °C) durante al menos 40 minutos.
1- Separar las cavidades a utilizar considerando: Estándares de Referencia (de A a F) y Muestras. Se recomienda probar por duplicado. Devuelva las tiras de microplacas no utilizadas al sobre sellado original.
2- Separar la primera cavidad para el Blanco (opcional).
3- Pipetear 50 µL de cada uno de los Estándares de Referencia (A-F) y las Muestras en los pocillos previamente determinados.
4- Pipetear 100 µL de Conjugado en todos los pocillos, **incluido el pocillo en Blanco.**
5- Homogeneizar suavemente durante ± 10 segundos. Cubra los pocillos con el sellador de placas.
6- Incubar durante 30 minutos ± 2 minutos a 37°C.
7- Retire el sellador de las cavidades.
8- Desechar el contenido de los pocillos por aspiración en un Lavador de Microplacas. Use aproximadamente 300 µL de Solución de Lavado previamente preparada y realice un total de cinco (5) ciclos de lavado con agitación de 3 segundos. Para garantizar el secado de la placa, al final del lavado, golpee la placa durante unos segundos sobre papel absorbente.
Nota: Un lavado/secado deficiente puede causar malos resultados.
9- Pipetear 100 µL de Sustrato en todos los pozos, **incluido el pocillo en Blanco.**
10- Homogeneizar suavemente durante ± 10 segundos. Cubra los pocillos con el sellador de placas.
11- Incubar durante 10 minutos ± 2 minutos a 37°C.
12- Retire el sellador de las cavidades.
13- Pipetee 100 µL de Solución de Parada en todos los pocillos, **incluido el pocillo en Blanco.**
14- Homogeneizar suavemente durante ± 30 segundos.
15- Lectura con doble filtro: 450 nm / 630 nm en hasta 10 minutos (máximo).

VERIFICACIÓN DE LA TÉCNICA
Verifique si los resultados obtenidos para la lectura del Blanco y los Estándares de Referencia son compatibles con los valores que se presentan a continuación:

ITEM	ABSORBANCIAS
Blanco	< 0,100
Estándar de Referencia A	< 0,100
Estándar de Referencia B	> A y < C
Estándar de Referencia C	> B y < D
Estándar de Referencia D	> C y < E
Estándar de Referencia E	> D y < F
Estándar de Referencia F	> E

Si los valores están fuera de los valores esperados, se debe repetir la técnica.

CÁLCULOS
Se utiliza una curva de calibración para determinar la concentración de FSH en muestras desconocidas.

Preparo de la Curva de Calibración
Si se realizaron por duplicado, calcular los promedios de absorbancia obtenidos en el lector de microplacas de cada uno de los Estándares de Referencia (A-F), como en el ejemplo:

Estándares de Referencia	Concentración (Ver Etiqueta)	Absorbancia	Absorbancia Promedio
A	0	0,007	0,006
		0,006	
B	5	0,166	0,163
		0,159	
C	8	0,314	0,325
		0,336	
D	15	0,637	0,641
		0,645	
E	30	1,204	1,186
		1,168	
F	70	2,343	2,325
		2,307	

Grafique las absorbancias medias de cada Estándares de Referencia (A-F) frente a la concentración correspondiente en mUI/mL en papel cuadrículado o utilizando programas informáticos. Trace la curva de punto a punto.

Cálculo de la Concentración de FSH de las Muestras
Calcular la concentración de cada muestra analizada a partir de la Curva de Calibración realizada en el papel cuadrículado, interpolando el valor de absorbancia obtenido en la lectura de la muestra con el valor de concentración correspondiente (mUI/mL). El cálculo de la concentración de las muestras analizadas también se puede realizar utilizando programas informáticos adecuados, mediante regresión lineal.

El rango de medida del kit está entre 0,08 y 70 mIU/mL (sensibilidad analítica y punto máximo de la curva, respectivamente). Los resultados que caen por debajo del límite inferior de detección deben expresarse como <0,08 mIU/mL. Los resultados por encima del límite superior de detección deben expresarse como >70 mIU/mL. Las muestras que muestren valores mayores que el último punto de la curva se pueden diluir y volver a analizar, como se describe a continuación.

Dilución de Muestras
Las muestras con una concentración >70,0 mUI/mL se pueden diluir y volver a analizar. Para ello, añada 10 µL de muestra en 90 µL de solución de cloruro de sodio al 0,9% (dilución 1:10). La concentración obtenida de la muestra diluida debe multiplicarse por el factor de dilución (si se diluye 1:10, multiplicar por 10). Si la concentración de la muestra sigue siendo superior a 70 mUI/mL, se debe realizar una dilución adicional.

Nota: Los datos que se muestran son solo ilustrativos y no pueden utilizarse como sustituto de la curva de calibración, que debe construirse en el laboratorio. Los Estándares de Referencia siempre deben probarse con cada nuevo ensayo.

VALORES DE REFERENCIA

Sexo	Valor de Referencia (IC 95%) mUI/mL
Hombres	1,0 a 14,0
Mujeres	
Fase Folicular	3,0 a 12,0
Ciclo Medio	8,0 a 22,0
Fase Lútea	2,0 a 12,0
Postmenopausia	35,0 a 151,0

Estos valores deben ser utilizados como guía, y cada laboratorio debe crear su rango de valores de referencia, de acuerdo a la población atendida. Los resultados proporcionados por este kit deben ser interpretados por el profesional médico responsable, no siendo el único criterio para determinar el diagnóstico y/o tratamiento del paciente.

LIMITACIONES DEL PROCESO

La interpretación de una prueba diagnóstica no debe basarse en una sola prueba. Todos los resultados deben interpretarse junto con otra información clínica disponible antes del diagnóstico definitivo.

INTERFERENTES

No se observaron interferencias con Triglicéridos 1500 mg/dL, Ácido acetilsalicílico 20 mg/dL, Ácido ascórbico 2 g/dL, Creatina 200 mg/dL, Bilirrubina 1 g/dL, Albúmina 2 g/dL, Hemoglobina 1000 mg/dL, Ácido Oxálico 60 mg/dL, Proteína C Reactiva 41,2 mg/dL, Antiestreptolisina O 1023 UI/mL y Factor Reumatoide 1080 UI/mL. Las muestras de plasma recogidas en EDTA y heparina se pueden utilizar para la cuantificación de FSH. No se pueden utilizar muestras recogidas con otros anticoagulantes distintos de los mencionados anteriormente. Las muestras de plasma almacenadas durante periodos más largos de lo recomendado (30 días) pueden mostrar precipitación de fibrina y fibronectina que puede interferir con la prueba.

REACTIVIDAD CRUZADA

Se realizó un estudio de reactividad cruzada, evaluando 50 muestras de suero y plasma con bajas concentraciones de FSH pero conocidas altas concentraciones de otros analitos. Entre ellos, 10 muestras con Gonadotropina Coriónica Humana (hCG) hasta 50.000 mUI/mL, 10 muestras con Hormona Estimulante de Tiroides (TSH) hasta 1.000 µUI/mL, 10 muestras con Hormona Luteinizante (LH) hasta 1.000 mUI/mL, 10 muestras con Prolactina hasta 1.000 ng/mL y 10 muestras con Antígeno Prostático Específico (PSA) hasta 1.000 ng/mL. No se observaron resultados falsos positivos para los analitos enumerados. A pesar de los resultados encontrados, no se puede descartar por completo la posibilidad de reactividad cruzada con otros analitos o con concentraciones superiores. El diagnóstico final debe considerar los datos clínicos del paciente junto con otros datos de laboratorio.

CONTROL DE CALIDAD INTERNO

El Laboratorio Clínico debe contar con un programa interno de control de calidad, donde se establezcan claramente los procedimientos, estándares, límites y tolerancia a las variaciones. Es importante señalar que todos los sistemas de medición tienen una variabilidad analítica característica, la cual debe ser monitoreada por los propios laboratorios. Para eso, se recomienda el uso de controles, que permitan evaluar la precisión y exactitud de las dosificaciones.

DESEMPEÑO DEL PRODUCTO

PRECISIÓN

Repetibilidad

La repetibilidad se calculó a partir de 10 determinaciones sucesivas, utilizando 3 muestras con valores diferentes, obteniendo los siguientes resultados de absorbancia:

Repetibilidad	Muestra		
	1	2	3
Promedio	0,763	0,133	2,310
Desvío Patrón	0,056	0,008	0,227
Coefficiente de Variación (%)	7,37	5,79	9,81

Reproducibilidad

La reproducibilidad se calculó a partir de 10 determinaciones sucesivas durante 3 días consecutivos, utilizando 3 muestras con valores diferentes, obteniendo los siguientes resultados de absorbancia:

Reproducibilidad	Muestra		
	1	2	3
Promedio	0,624	0,115	2,008
Desvío Patrón	0,105	0,021	0,358
Coefficiente de Variación (%)	17	18	18

SENSIBILIDAD ANALÍTICA

La sensibilidad analítica del kit BIOLISA FSH es de 0,08 mIU/mL.

LINEALIDAD

La reacción es lineal hasta el punto más alto de concentración en la curva de calibración. Para muestras con valores más altos, diluya las muestras como se describe en “Dilución de muestras”, repita la dosificación y multiplique el resultado obtenido por el factor de dilución.

EFFECTO PROZONA DE ALTA DOSIS

No se observó efecto de prozona a dosis altas hasta una concentración de 1.000 mIU/mL de FSH.

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

La hormona estimulante del folículo (FSH) y la hormona luteinizante (LH) están íntimamente involucradas en el control de las actividades reproductivas de las gónadas, que sintetizan y secretan hormonas sexuales masculinas y femeninas. La FSH es una glicoproteína secretada por las células basófilas de la hipófisis anterior, estimulada por la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH), producida en el hipotálamo. Al igual que otras glicoproteínas (LH, TSH y hCG), la FSH consta de subunidades denominadas alfa y beta. Estas hormonas tienen subunidades alfa estructuralmente muy similares; por lo tanto, las propiedades biológicas e inmunológicas de cada uno dependen de su respectiva subunidad beta. En la mujer, la FSH tiene como función principal estimular el crecimiento y maduración de los folículos con un aumento en la producción de estrógenos, mientras que la LH tiene una función importante en la ovulación, con un aumento en la producción de estrógenos y progesterona. Estas dos últimas hormonas tienen un papel de retroalimentación negativa, es decir, inhiben la secreción de FSH y LH hasta el final del ciclo menstrual y el comienzo del siguiente. Los niveles de FSH varían dentro de los rangos de referencia durante el ciclo menstrual de una mujer. Sin embargo, los niveles de FSH se elevan después de la menopausia, la castración y la insuficiencia ovárica prematura. En los hombres, la FSH juega un papel en el crecimiento de los túbulos seminíferos y el mantenimiento de la espermatogénesis. Sin embargo, los andrógenos (testosterona), a diferencia de las hormonas femeninas, no reducen los niveles de FSH. Por razones que no se comprenden del todo, los hombres azospermicos y oligospermicos a menudo tienen niveles elevados de FSH. Los niveles elevados de FSH también se pueden encontrar en la insuficiencia testicular primaria y el síndrome de Klinefelter. Concentraciones elevadas también están presentes en casos de inanición, insuficiencia renal, hipertiroidismo y cirrosis.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- WHO. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and sérum samples. WHO/DIL/LAB/99.1 rev. 2, 2002:31.
- 2- Marshall, J. C.: Clinic in Endocrinol. Metab., 4, 545 (1975).
- 3- Jeffcoate, S. L.: Clinic. in Endocrinol. Metab. 4, 521 (1975).
- 4- Cohen, K. L.: Metabolism, 26, 1165 (1977).
- 5- Shome, B. and Parlow, A. F.: J. Clin. Endocrinol. Metab., 39, 199 (1974).
- 6- Lundy, L. E., Lee, S. G., Levy, W., et al.: Obstet. Gynecol., 44, 14 (1974).
- 7- Ross, F. T., Vande Wiele, R. L. and Franty, A. G.: Text of Endocrinol., Chapter 7, Ed.: R. H.
- 8- Williams, W.B. Saunders, Philadelphia (1981).
- 9- Speroff, L.: Clinic. Gynecol. Endocrinol. and Infert., Chapter 3, Ed: L. Speroff, R. H. Glass and
- 10- M. G. Kase, Williams & Wilkins Baltimore (1978).
- 11- Rebar, R. W., Erickson, G. F. and Yen, S.S.C.: Fertil. Steril., 37, 35 (1982).
- 12- Catt, K. J. and Pierce, J.G.: Reprod. Endocrinol., Chapter 2, Ed: S.S.C. Yen and R. B. Jaffe, Philadelphia (1978).
- 13- Leonard, J. M., Leach, R. B., Couture, M. and Paulsen, C.A.: J. Clinic. Endocrinol., 34, 209 (1972).
- 14- Reiter, E. O. and Lulin, H. E.: J. Clinic. Endocrinol., 33, 957 (1971).
- 15- Abraham, G. E., Ed.: Radioassay Systems in Clinic. Endocrinol., Marcel Dekker, Inc., New York (1981).

- 16- Engvall, E., Methods in Enzymology, Volume 70, VanVunakis, H. and Langone, J.J., (eds.), Academic Press, New York, 419 (1980).
- 17- Uotila, M., Ruoslahti, E. and Engvall, E., J.Immunol. Methods, 42, 11 (1981).

18- QUIBASA: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

GARANTÍA DE CALIDAD

Antes de ser liberados para el consumo, todos los reactivos de **Bioclin** son probados por el Departamento de Control de Calidad. La calidad de los reactivos está garantizada hasta la fecha de caducidad indicada en el envase de presentación, siempre que se almacenen y transporten en condiciones adecuadas.

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda

Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Tel.: +55 31 3439.5454 | E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

ATENDIMIENTO AL CONSUMIDOR

Servicio de Asesoría al Cliente
Tel.: 0800 0315454 | E-mail: sac@bioclin.com.br

Numero de Registro del kit BIOLISA FSH en la ANVISA: 10269360351

Revisión: Marzo/2023

SIMBOLOGÍA UNIVERSAL

	NUMERO DE CATALOGO		FABRICADO POR
	NUMERO DE LOTE		CONTROLAR
	FECHA DE FABRICACIÓN		CONTROL POSITIVO
	FECHA DE VALIDEZ (último día del mes)		CONTROL NEGATIVO
	LÍMITE DE TEMPERATURA (tienda)		RIESGO BIOLÓGICO
	EL CONTENIDO ES SUFICIENTE PARA <N> PRUEBA		INFLAMABLE
	VER INSTRUCCIONES DE USO		CORROSIVO
	PRODUCTO DE DIAGNÓSTICO IN VITRO		TÓXICO
	PROTEGER DE LUZ Y CALOR		NO UTILICE SI EL EMBALAJE ESTÁ DAÑADA
	NO REUTILIZA		PRODUCTO ESTERILIZADO
	PRECAUCIÓN		PELIGRO

BIOLISA FSH

REF

K258

INSTRUCTIONS FOR USE

FUNCTION
Test for the quantitative determination of Follicle Stimulating Hormone (FSH) in biological samples of serum or plasma, through an enzyme-immunoassay test. For *in vitro* diagnostic use only.

PRINCIPLE OF ACTION
Methodology: Enzyme immunoassay or immunoenzymatic
The BIOLISA FSH kit is a solid phase enzyme immunoassay based on the "sandwich" principle for the quantitative detection of Follicle Stimulating Hormone (FSH) in human serum or plasma samples. The microplate is coated with specific Antibodies against an antigenic site present exclusively in FSH molecules. At first, the sample is incubated with the Conjugate, also made up of specific Anti-FSH Antibodies, conjugated to Peroxidase. The FSH molecules present in the sample bind to the Anti-FSH Antibodies immobilized on the plate and to the Anti-FSH Antibodies present in the Conjugate, forming immunocomplexes. After the initial incubation, the microplate is washed to remove unbound materials. Then the Substrate is added and incubated, producing a blue color that indicates the detection of Follicle Stimulating Hormone in the sample. Stop Solution is added to stop the reaction, with a color change from blue to yellow, measured on a microplate reader.

REAGENTS
1- Reference Standards (A – F) - Store between 2 and 8 °C. Contains: Six (6) vials of Reference Standards (A - F), containing Follicle Stimulating Hormone (FSH) in different concentrations, Buffer Solution, stabilizers and preservatives. The concentrations vary for each batch (from 0 to 70 mUI/ mL), see the vial labels. **Potentially infectious.**
2- Conjugate - Store between 2 and 8 °C. Contains: Buffer Solution containing specific Anti-FSH Antibodies conjugated to Peroxidase, stabilizers, preservatives, surfactant and dye.
3- Sensitized Plate - Store between 2 and 8 °C. Contains: Plate sensitized with specific Anti-FSH Antibodies.
4- Concentrated Washing - Store between 2 and 8 °C. Contains: Buffer Solution (Phosphate < 0.5 mol/L, Potassium Chloride < 100 mmol/L, Sodium Chloride < 5 mol/L), surfactant and preservative.
5- Substrate - Store between 2 and 8 °C. Contains: Buffer Solution containing Urea Peroxide, Tetramethylbenzidine (TMB) and preservative.
6- Stop Solution - Store between 2 and 8 °C. Contains: 1M Hydrochloric Acid.

PRESENTATION			
REAGENTS	1	2	3
	96 Cavities	192 Cavities	480 Cavities
1- Reference Standards (A-F)	6 Vials x 1 mL	6 Vials x 1 mL	6 Vials x 2 mL
2- Conjugate	1 Vial x 12 mL	1 Vial x 24 mL	1 Vial x 60 mL
3- Sensitized Plate	1 Unit	2 Units	5 Units
4- Concentrated Washing	1 Vial x 50 mL	1 Vial x 100 mL	1 Vial x 250 mL
5- Substrate	1 Vial x 12 mL	1 Vial x 24 mL	1 Vial x 60 mL
6- Stop Solution	1 Vial x 12 mL	1 Vial x 24 mL	1 Vial x 60 mL

EQUIPMENT AND OPERATIONAL INPUTS
Materials contained in the kit:
- Reagents described in the table above.

Required materials not contained in the kit:
1- Pipettes capable of dispensing volumes from 5 to 500 µL with a coefficient of variation less than 1.5%.
2- Repeater for repetitive pipetting of volumes of 300 µL with coefficient of variation less than 1.5% or multichannel pipette (optional).
3- Microplate washer.
4- ELISA reader with absorbance capacity at 450 and 630 nm of wavelength.
5- Absorbent paper to dry the microcavities.
6- Stopwatch or watch.
7- Distilled or deionized water.
8- Quality Control Tools.
9- 37 °C ± 2 °C incubator.

TRANSPORTATION AND STORAGE CONDITIONS
The storage temperature should be between 2 and 8°C. Transport at temperatures up to 30°C should not exceed 5 days. Keep away from light and avoid moisture. **Do not freeze.**

SPECIAL CARES
1- For in vitro diagnostic use only.
2- Strictly follow the proposed methodology to obtain accurate results.
3- The sachet containing the microplate should only be opened after reaching room temperature. Replace the unused microwell strips in the sachet, seal and store at 2 to 8 °C.
4- The water used to clean the material must be recent and free of contaminants.
5- Saturated deionizing columns release alkaline water, various ions, and oxidizing and reducing agents that can significantly alter the results.
6- The Stop Solution contains Hydrochloric Acid which is a strong acid. Therefore, handle it with due care.
7- All product raw material is tested and must be non-reactive for HBsAg, Anti-HIV 1&2 and Anti-HCV. However, these tests do not offer complete assurance of the absence of infectious agents. Handling any product containing serum is potentially capable of transmitting diseases. Therefore, it is necessary to take the proper biosafety precautions when handling these products.
8- Always pipette the reagents in the same order to minimize the difference in reaction time between the microwells.
9- As a protection measure, the plate must be covered during the reaction.
10- It must be ensured that the bottom of the well is clean and dry and that there are no bubbles on the surface of the liquid before reading the plate. Do not allow the wells to dry out during the assay.
11- Do not expose the reagents, especially the Substrate, to strong light or hypochlorite vapors during storage or incubation steps.
12- We recommend applying the local, state and federal norms for environmental protection so that the disposal of reagents and biological material is carried out in accordance with current legislation.
13- To obtain information related to biosafety or in case of accidents with the product, consult the MSDS (Material Safety Data Sheet) available on the website www.bioclin.com.br or upon request by the SAC (Safety Service) Customer Advice) by Quibasa.
14- Do not use the product if the packaging is damaged.
15- It is imperative that the instruments and equipment used are properly calibrated and submitted to periodic maintenance.

SAMPLES
Serum or Plasma (EDTA or Heparin)
Hemolyzed and highly lipemic samples should not be used. The samples can be stored under refrigeration, between 2 and 8 °C, for a maximum period of 5 days. If samples cannot be analyzed within 5 days, they can be stored for up to 30 days at -20°C. Plasma samples stored for periods longer than recommended and samples collected with other anticoagulants other than those mentioned above should not be used.

PROCESS DESCRIPTION
Stability After Opening
The stability test results prove that the BIOLISA FSH kit is stable after opening for up to 30 days. This stability may vary according to test and environmental conditions. Therefore, it is suggested to monitor the performance of the product using the kit's internal controls and the technique validation criteria.

PREPARATION OF WORKING REAGENTS
Washing Solution
Dilute 50 mL of Concentrated Washing (vial N° 4) in 1000 mL of Distilled or Deionized Water. After preparation, the solution can be stored at 2 to 30°C for up to 30 days. If crystallization occurs, heat to 37 °C until dissolution.

All other reagents are ready to use.

TECHNIQUE
For use in automatic equipment, contact SAC (Customer Advice Service).
Before starting the assay, place all reagents, Reference Standards and Samples to stabilize at room temperature (15 – 30 °C) for at least 40 minutes.
1- Separate the cavities to be used considering: Reference Standards (from A to F) and Samples. It is recommended to test in duplicate. Return unused microplate strips to the original sealed package.
2- Separate the first cavity for the Blank (Optional).
3- Pipette 50 µL of each of the Reference Standards (A-F) and the Samples in the previously determined wells.
4- Pipette 100 µL of conjugate into all wells, **including the Blank well**.
5- Gently homogenize for ± 10 seconds. Cover the wells with the plate sealer.
6- Incubate for 30 minutes ± 2 minutes at 37°C.
7- Remove the sealer from the cavities.
8- Discard the contents of the wells by aspiration in a Microplate Washer. Use approximately 300 µL of previously prepared Washing Solution and perform a total of five (5) 3-second shake wash cycles. To guarantee the drying of the plate, at the end of the wash, tap the plate for a few seconds on absorbent paper.
Note: Poor washing/drying may cause poor results.
9- Pipette 100 µL of Substrate in all wells, **including the Blank well**.
10- Gently homogenize for ± 10 seconds. Cover the wells with the plate sealer.
11- Incubate for 10 minutes ± 2 minutes at 37°C.
12- Remove the sealer from the cavities.
13- Pipette 100 µL of Stop Solution into all wells, **including the Blank well**.
14- Gently homogenize for ± 30 seconds.
15- Read using a double filter: 450 nm / 630 nm in up to 10 minutes (maximum).

TECHNIQUE VERIFICATION
Check if the results obtained for reading the Blank and the Reference Standards are compatible with the values presented below:

ITEM	ABSORBANCE
Blank	< 0.100
Reference Standard A	< 0.100
Reference Standard B	> A and < C
Reference Standard C	> B and < D
Reference Standard D	> C and < E
Reference Standard E	> D and < F
Reference Standard F	> E

If the values are outside the expected values, the technique must be repeated.

CALCULATIONS
A calibration curve is used to determine the FSH concentration in unknown samples.

Preparation of the Calibration Curve
If they were performed in duplicate, calculate the absorbance averages obtained in the microplate reader of each of the Reference Standards (A-F), as in the example:

Reference Standard	Concentration (See Label)	Absorbance	Average Absorbance
A	0	0.007	0.006
		0.006	
B	5	0.166	0.163
		0.159	
C	8	0.314	0.325
		0.336	
D	15	0.637	0.641
		0.645	
E	30	1.204	1.186
		1.168	
F	70	2.343	2.325
		2.307	

Plot the mean absorbances of each Reference Standard (A-F) versus the corresponding concentration in mUI/mL on graph paper or using computer programs. Trace the point-to-point curve.

Calculation of the FSH Concentration of the Samples
Calculate the concentration of each analyzed sample from the Calibration Curve made on the graph paper, interpolating the absorbance value obtained in the sample reading with the corresponding concentration value (mUI/mL). The calculation of the concentration of the tested samples can also be performed using adequate computer programs, through linear regression.

The kit's measurement range is between 0.08 and 70 mIU/mL (analytical sensitivity and maximum point of the curve, respectively). Results falling below the lower limit of detection should be expressed as <0.08 mIU/mL. Results above the upper limit of detection should be expressed as >70 mIU/mL. Samples that show values greater than the last point on the curve can be diluted and reanalyzed, as described below.

Sample Dilution
Samples with concentration >70.0 mIU/mL can be diluted and reanalyzed. To do so, add 10 µL of sample in 90 µL of 0.9% sodium chloride solution (1:10 dilution). The concentration obtained from the diluted sample must be multiplied by the dilution factor (if diluted 1:10, multiply by 10). If the sample concentration is still greater than 70 mIU/mL, a further dilution must be performed.

Note: The data shown are for illustration purposes only and cannot be used as a substitute for the calibration curve, which must be constructed in the laboratory. The Reference Standards must always be tested with each new assay.

REFERENCE VALUES

Sex	Reference Value (IC 95%) mIU/mL
Men	1.0 a 14.0
Women	
Follicular Phase	3.0 a 12.0
Midcycle	8.0 a 22.0
Luteal Phase	2.0 a 12.0
Postmenopausal	35.0 a 151.0

These values should be used as guidelines, and each laboratory should create its range of reference values, according to the population served. The results provided by this kit must be interpreted by the responsible medical professional, not being the only criterion for determining the diagnosis and/or treatment of the patient.

PROCESS LIMITATIONS

The interpretation of a diagnostic test should not be based on a single test. All results must be interpreted in conjunction with other available clinical information prior to definitive diagnosis.

INTERFERENTS

No interference was observed by Triglycerides 1500 mg/dL, Acetylsalicylic Acid 20 mg/dL, Ascorbic Acid 2 g/dL, Creatine 200 mg/dL, Bilirubin 1 g/dL, Albumin 2 g/dL, Hemoglobin 1000 mg/dL, Acid Oxalic 60 mg/dL, C-Reactive Protein 41.2 mg/dL, anti-Streptolysin O 1023 IU/mL and Rheumatoid Factor 1080 IU/mL. Plasma samples collected in EDTA and Heparin can be used for FSH quantification. Samples collected with other anticoagulants other than those mentioned above cannot be used. Plasma samples stored for periods longer than recommended (30 days) may show fibrin and fibronectin precipitation that may interfere with the test.

CROSS REACTIVITY

A cross-reactivity study was performed, evaluating 50 serum and plasma samples with low concentrations of FSH but known high concentrations of other analytes. Among them, 10 samples with Human Chorionic Gonadotropin (hCG) up to 50,000 mIU/mL, 10 samples with Thyroid Stimulating Hormone (TSH) up to 1,000 μ UI/mL, 10 samples with Luteinizing Hormone (LH) up to 1,000 mIU/mL, 10 samples with Prolactin up to 1,000 ng/mL and 10 samples with Prostate Specific Antigen (PSA) up to 1,000 ng/mL. No false positive results were observed for the listed analytes. Despite the results found, the possibility of cross-reactivity with other analytes or with higher concentrations cannot be completely ruled out. The final diagnosis must consider the patient's clinical data along with other laboratory data.

INTERNAL QUALITY CONTROL

The Clinical Laboratory must have an internal quality control program, where procedures, standards, limits and tolerance for variations are clearly established. It is important to point out that all measurement systems have a characteristic analytical variability, which must be monitored by the laboratories themselves. For that, it is recommended the use of controls, which allow evaluating the precision and accuracy of the dosages.

PRODUCT PERFORMANCE

PRECISION

Repeatability

Repeatability was calculated from 10 successive determinations, using 3 samples with different values, obtaining the following absorbance results:

Repeatability	Sample		
	1	2	3
Average	0.763	0.133	2.310
Standard Deviation	0.056	0.008	0.227
Coefficient of Variation (%)	7.37	5.79	9.81

Reproducibility

The reproducibility was calculated from 10 successive determinations during 3 consecutive days, using 3 samples with different values, obtaining the following absorbance results:

Reproducibility	Sample		
	1	2	3
Average	0.624	0.115	2.008
Standard Deviation	0.105	0.021	0.358
Coefficient of Variation (%)	17	18	18

ANALYTICAL SENSITIVITY

The analytical sensitivity of the BIOLISA FSH kit is 0.08 mIU/mL.

LINEARITY

The reaction is linear up to the highest point concentration on the calibration curve. For samples with higher values, dilute the samples as described in "Sample Dilution", repeat the dosage and multiply the result obtained by the dilution factor.

HIGH DOSE HOOK EFFECT

No high-dose prozone effect was observed up to a concentration of 1,000 mIU/mL FSH.

DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE

Follicle Stimulating Hormone (FSH) and Luteinizing Hormone (LH) are intimately involved in controlling the reproductive activities of the gonads, which synthesize and secrete male and female sex hormones. FSH is a glycoprotein secreted by basophil cells of the anterior pituitary, stimulated by gonadotropin-releasing hormone (GnRH), produced in the hypothalamus. Like other glycoproteins (LH, TSH, and hCG), FSH consists of subunits designated alpha and beta. These hormones have structurally very similar alpha subunits; therefore, the biological and immunological properties of each are dependent on their respective beta subunit. In women, FSH has as its main function to stimulate the growth and maturation of follicles with an increase in estrogen production, while LH has an important function in ovulation, with an increase in estrogen and progesterone production. These last two hormones have a negative feedback role, that is, they inhibit the secretion of FSH and LH until the end of the menstrual cycle and the beginning of the next one. FSH levels vary within reference ranges during a woman's menstrual cycle. However, FSH levels are elevated after menopause, neutering, and premature ovarian failure. In men, FSH plays a role in the growth of the seminiferous tubules and the maintenance of spermatogenesis. However, androgens (testosterone), unlike female hormones, do not lower FSH levels. For reasons not fully understood, azospermic and oligospermic men often have elevated FSH levels. Elevated FSH levels can also be found in primary testicular failure and Klinefelter syndrome. Elevated concentrations are also present in cases of starvation, renal failure, hyperthyroidism and cirrhosis.

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

- 1- WHO. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and sérum samples. WHO/DIL/LAB/99.1 rev. 2, 2002:31.
- 2- Marshall, J. C.: Clinic in Endocrinol. Metab., 4, 545 (1975).
- 3- Jeffcoate, S. L.: Clinic. in Endocrinol. Metab. 4, 521 (1975).
- 4- Cohen, K. L.: Metabolism, 26, 1165 (1977).
- 5- Shome, B. and Parlow, A. F.: J. Clin. Endocrinol. Metab., 39, 199 (1974).
- 6- Lundy, L. E., Lee, S. G., Levy, W., et al.: Obstet. Gynecol., 44, 14 (1974).
- 7- Ross, F. T., Vande Wiele, R. L. and Franty, A. G.: Text of Endocrinol., Chapter 7, Ed.: R. H.
- 8- Williams, W.B. Saunders, Philadelphia (1981).
- 9- Speroff, L.: Clinic. Gynecol. Endocrinol. and Infert., Chapter 3, Ed: L. Speroff, R. H. Glass and
- 10- M. G. Kase, Williams & Wilkins Baltimore (1978).
- 11- Rebar, R. W., Erickson, G. F. and Yen, S.S.C.: Fertil. Steril., 37, 35 (1982).
- 12- Catt, K. J. and Pierce, J.G.: Reprod. Endocrinol., Chapter 2, Ed: S.S.C. Yen and R. B. Jaffe, Philadelphia (1978).
- 13- Leonard, J. M., Leach, R. B., Couture, M. and Paulsen, C.A.: J. Clinic. Endocrinol., 34, 209 (1972).
- 14- Reiter, E. O. and Lulin, H. E.: J. Clinic. Endocrinol., 33, 957 (1971).
- 15- Abraham, G. E., Ed.: Radioassay Systems in Clinic. Endocrinol., Marcel Dekker, Inc., New York (1981).

16- Engvall, E., Methods in Enzymology, Volume 70, VanVunakis, H. and Langone, J.J., (eds.), Academic Press, New York, 419 (1980).

17- Uotila, M., Ruoslahti, E. and Engvall, E., J.Immunol. Methods, 42, 11 (1981).

18- QUIBASA: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

QUALITY ASSURANCE

Before being released for consumption, all **Bioclin** reagents are tested by the Quality Control Department. The quality of the reagents is guaranteed until the expiry date mentioned on the presentation packaging, provided they are stored and transported under appropriate conditions.

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda

Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Tel.: +55 31 3439.5454 | E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Made in Brazil

CUSTOMER SERVICE

Customer Advisory Service
Phone: 0800 0315454 | E-mail: sac@bioclin.com.br

Registration number of the BIOLISA FSH kit at ANVISA: 10269360351

Review: March/2023

UNIVERSAL SYMBOLOGY

	CATALOG NUMBER		MADE BY
	LOT NUMBER		CONTROL
	MANUFACTURING DATE		POSITIVE CONTROL
	VALIDITY DATE (last day of the month)		NEGATIVE CONTROL
	TEMPERATURE LIMIT (store)		BIOLOGICAL RISK
	CONTENT IS SUFFICIENT FOR <N> TEST		FLAMMABLE
	SEE INSTRUCTIONS FOR USE		CORROSIVE
	IN VITRO DIAGNOSTIC PRODUCT		TOXIC
	KEEP AWAY FROM SUNLIGHT		DO NOT USE IF PACKAGE IS DAMAGED
	DO NOT REUSE		PRODUCT STERILIZED
	CAUTION		DANGER