

FSH (IRMA)

کیت تشخیصی رادیوایمونوتریک اسبی FSH

مقدمه:

هورمون *FSH* همانند هورمون های *LH, TSH* و *BHCG* دارای ساختار گلیکوپروتئینی می باشد که از سلولهای بازوفیلیک غده هیپوفیز قدامی تحت تأثیر محرک این هورمون *GnRH* آزاد می شود. هورمون های استروئیدی گنادوتروپها مانند: استروژن، آندروژن و پروژسترون دارای قیدیک منفی و مثبت در میزان ترشح *FSH* هستند. دارای دو زیر واحد α و β می باشد که زیر واحد α در همه آنها مشترک بوده ولی زیر واحد β در آنها مسئول فرآیندهای بیولوژیکی و خواص ایمنولوژیکی می باشد که بصورت اختصاصی عمل می کند. میزان این هورمون در دوران بارداری افزایش می یابد تا زمانیکه در اواسط بارداری باعث بلوغ کیسه زرده یا اولاسیون یا تخمک گذاری انجام می شود و در دوران یائسگی به سبب عدم فعالیت مهاری هورمون های استروئیدی میزان این هورمون افزایش نشان می دهد. *FSH* در آقایان در فرآیند اسپرماتوزن دخالت دارد که در بررسی اختلالات نابرووری و یا هایپوگنادیسم و تومورهای گنادها، بهم ریختن سیستم ماهیانه در خانم ها و دوران یائسگی حائز اهمیت می باشد.

اساس روش اندازه گیری:

کیت رادیوایمونواسی سنجش *FSH* بر اساس واکنش غیر رقابتی تک مرحله ای می باشد. در این آزمایش از دو آنتی بادی *FSH* مونوکلونال بسیار اختصاصی با توانایی تشخیص دو ملکول اپیتوپ متفاوت استفاده می شود. یک آنتی بادی بصورت فاز جامد کوت شده در لوله و دیگری بعنوان *125 TRACER I* استفاده می شود. هر دوی این آنتی بادی ها همزمان با آنتی ژنهای *FSH* موجود در استاندارد، سرم کنترل و نمونه واکنش می دهند. مواد غیر اختصاصی در مرحله شستشو از واکنش خارج می شوند میزان فرم اکتیویته موجود در لوله با غلظت *FSH* نمونه رابطه مستقیم دارد. استانداردهای *FSH* با غلظت مشخص همراه با نمونه های مجهول آزمایش می شوند که براساس منحنی استاندارد مقدار شمارش در مقابل غلظت *FSH*، غلظت نمونه های مجهول بدست می آید.

محتویات کیت:

Kit Contents	Quantity (100T)
1. Coated Tubes Main: Anti - FSH monoclonal antibody	100 Tubes (50EA/Rack×2)
2. I 125 Tracer Main: Anti - FSH monoclonal antibody Labelled with I 125 Diluent solution : BSA - PBS Preservative : Sodium Azide	10ml×Ivial Radioactivity 592 KBq (Ready to use)
3. Standards : Main: FSH of each concentration (Range: 0, 2.5, 5, 25, 50, 100, 200 mIU/ml) Diluent solution : BSA - PBS Preservative : Sodium Azide	0.5 ml × 7 vials (Ready to use)
4. Control Serum Main : FSH of 8 - 12 mIU/ml Diluent solution : BSA - PBS Preservative : Sodium Azide	0.5 ml × 1 vials (Ready to use)

نکات قابل توجه:

- در این کیت از سرم انسانی استفاده شده است که از نظر *HBS AG* و *HIV* منفی می باشند.
- از استفاده مواد بعد از تاریخ انقضاء خود داری فرمائید.
- از مخلوط کردن با کیت های تاریخ گذشته اجتناب ورزید.
- درب ظروف را بدرستی بر روی ویال خود ببندید.
- از لباس و دستکش یکبار مصرف برای کار با مواد رادیو اکتیو استفاده کنید.

۶-

لوازم آزمایشگاهی آلوده به مواد رادیو اکتیویته را بوسیله روش های مراقبت در برابر اشعه و روش های ایمن شستشو و پسماند نمایید.

۷-

معرف ها باید قبل از مصرف به دمای اتاق یا محیط برسند.

۸-

هرگز محلول کیت هایی که دارای *LOT* متفاوتی هستند با هم مخلوط نکنید.

تهیه و جمع آوری نمونه:

این تست را می توان مستقیم بر روی نمونه های سرم انسانی یا پلاسما انجام داد ولی تأکید می شود که از انجام آزمایش بر روی نمونه های سرمی همولیز و لیپمیک و ایکتریک خود داری فرمائید. اگر قرار است آزمایش در طی ۳-۲ روز بعد انجام شود بهتر است در یخچال در دماهای ۸-۲ درجه سانتیگراد و برای اهداف طولانی مدت ۱۵-۱۰ روز می باشد باید در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شود. از انجام و ذوب مکرر خودداری شود. برای جلوگیری از ایجاد واکنش های تداخل گر برای هر تست از یک سمپلر استفاده کنید. معرف ها باید قبل از آزمایش به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط قرار بگیرند. نمونه هایی که فریز شده بودند باید بعد از ذوب شدن در دمای محیط توسط شیکر به صورت هموزن و یکنواخت درآیند.

اثر هوک:

زمانیکه نمونه های حاوی غلظت های بالای آنتی ژن *FSH* بصورت رقیق نشده با این روش آزمایش می شوند در اثر پدیده هوک مقادیر پائین تر از غلظت حقیقی بدست می آید. در این کیت پدیده هوک تا میزان 2500 mIU/ml دیده نشد.

محاسبه نتایج:

- با استفاده از میانگین شمارش استانداردها (محور *Y*) و غلظت مشخص آنها (محور *X*) بر روی کاغذ میلیمتری، منحنی استاندارد رسم کنید.
- میانگین شمارش برای هر نمونه را بدست آورید و روی محور *Y* جای آنرا پیدا کنید. سپس نقطه مذکور را توسط خطی به منحنی استاندارد وصل کنید. از نقطه بدست آمده خطی عمود بر محور *X* ها ایجاد می شود که بیانگر میزان غلظت نمونه است.

مقادیر طبیعی:

مقادیر طبیعی در سرم افراد نرمال که توسط آزمایش های مکرر به روش رادیوایمونوتریک اسبی بدست آمده است به قرار زیر است:

FSH	Median(mIU/ml)	Central 95% range(mIU/ml)	No.
Adult male	4.3	1.1 - 13	106
Adult female			
Follicular phase	6.1	2.5 - 13.2	126
Midcycle	12.3	5.4 - 22	10
Luteal phase	5.5	1.5 - 11.5	119
Oral contraceptive	1.6	Nondelectable(ND) - 4.5	35
Postmenopausal(>50yr)	70.1	32 - 126	35
Prepubertal (1-3 yr)	1.4	0.1 - 3.4	29

حساسیت:

حداقل غلظت سرمی قابل اندازه گیری با این روش در مقایسه با استاندارد 0 میزان 0.09 mIU/ml است.

اختصاصی بودن:

در این تست علامت مشخصی از واکنش متقاطع بین میزان بالای *LH - HCG - PRL* و *TSH* مشاهده نشده است.

دقت:

برای ارزیابی دقت تست اعم از تکرارپذیری و تولید دوباره (inter and intra Assay) روی ۳ سرم با غلظت مشخص *FSH* انجام می شود.

Sample	Intra assay		Inter assay		n
	Mean \pm SD(mIU/ml)	C.V.(%)	Mean \pm SD(mIU/ml)	C.V.(%)	
1	5.24 \pm 0.33	6.35	5.35 \pm 0.45	8.34	5
2	28.37 \pm 1.48	5.23	29.36 \pm 1.22	4.14	
3	114.21 \pm 1.48	1.30	114.47 \pm 1.69	1.48	

$$*C.V = S.D \text{ of Sample (mIU/ml) / Mean of sample (mIU/ml)} \times 100$$

ریکاروری:

برای انجام ریکاروری دو نمونه سرم با غلظت مشخص را به سه استاندارد مختلف (50 - 5 mIU/ml) اضافه می کنیم.

دو نمونه سرم: حداقل غلظت 11.3 mIU/ml و حداکثر غلظت 85.7 mIU/ml

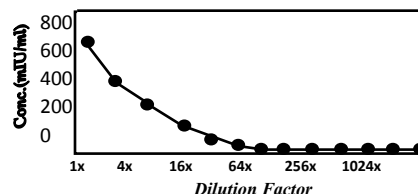
Sample (mIU/ml)	Added (mIU/ml)	Expected Value (mIU/ml)	Calculated Value (mIU/ml)	Recovery (%)
11.3	5	8.14	8.84	106.6
	50	30.64	28.87	94.2
	100	55.64	53.04	95.3
85.7	5	45.4	45.9	101.2
	50	67.9	70.0	103.1
	100	92.9	91.3	98.4

$$*Recovery(\%) = \text{Calculated value (mIU/ml) / Expected value (mIU/ml)} \times 100$$

آزمایش خطی بودن:

با رقیق سازی یک نمونه سرم با محلول *BSA* به میزان ۱٪ نتایج زیر بدست آمده است:

Dilution Factor	Conc. (mIU/ml)
Undiluted	674.8
1:2	337.4
1:4	168.1
1:8	83.7
1:16	43.0
1:32	21.6
1:64	10.6
1:128	5.3
1:256	2.9
1:512	1.4
1:1024	0.7
1:2048	0.4



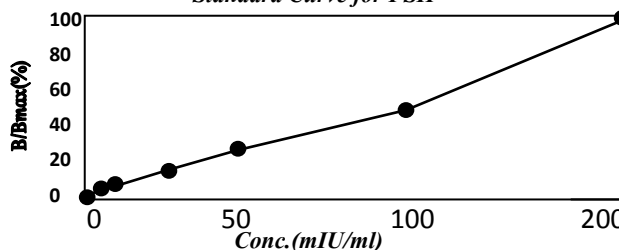
نمودار استاندارد:

برای محاسبه درصد اتصال رادیو اکتیویته کنترل، استاندارد و نمونه ها از فرمول زیر محاسبه می شوند:

DESCRIPTION	CPM	B/Bmax(%)	Conc. (mIU/ml)
Total Activity	212478		
Std 1	0 mIU/ml	212	0.7
Std 2	2.5 mIU/ml	825	2.8
Std 3	5 mIU/ml	1200	4.0
Std 4	25 mIU/ml	4713	15.8
Std 5	50 mIU/ml	8082	27.1
Std 6	100 mIU/ml	14405	48.3
Std 7	200 mIU/ml	29804	100
Control Serum	2236	7.5	10.9

$$*B/Bmax(\%) = \text{Solid phase cpm / Standard 200(mIU/ml) cpm} \times 100$$

Standard Curve for FSH












References :

DEMOULIN A., DUBOIS M., GERDAY C., GILLAIN D., LAMBOTTE R., FRANCHIMONT P. (1991)
Variation of luteinizing hormone serum concentration after exogenous human chorionic gonadotropin administration during ovarian stimulation.
Fertil. and Steril., 55:796

MASSA G., de ZECHER F., VANDERSCHUREN-LODEWYK K. (1992)
Serum levels of immunoreactive Inhibin, FSH and LH in human infants at Preterm and Term Birth.
Biol. of the Neonat., 61:150

DE HERTOIGH R., VANKRIEKEN L., THOMAS K. de GASPARO M. (1992)
Circchoral fluctuations of serum total renin, inhibin and related hormones around the mid-cycle in normal human females.
Hum. Reprod., 7:337

	Used by	<input type="checkbox"/> LOT	Batch code
	Temperature limitation	<input type="checkbox"/> CONTROL	Control
	Store between 2-8 °C		
	Caution, consult accompanying documents	<input type="checkbox"/> GAL	Standard
	Biological risk	<input type="checkbox"/> CT	Coated Tube:
	Consult instructions for use	<input type="checkbox"/> TRAC	Tracer
	In vitro diagnostic medical device	<input type="checkbox"/> WASHB	Wash Buffer:
	Manufacturer		Radioactive material
REF	Catalogue number		

آدرس کارخانه :

شهرک صنعتی اشتهارد - بلوار ابوریحان بیرونی - بلوار غزالی غربی - لادن ۲ - شرکت پادیاپ طب

تلفن : ۰۲۶ - ۳۷۷۷۵۵۳۲ - ۹

فکس : 026 - 37775529

پشتیبانی فنی : ۰۹۱۲۸۹۳۰۰۴۸

دفتر مرکزی: تهران - ۲۴ متری سعادت آباد - خیابان یکم شرقی - خیابان شب بو شرقی - پلاک ۱۷ - طبقه ۲

آدرس اینترنتی : www.padyabteb.com

ایمیل شرکت : info@padyabteb.com



شرکت پادیاپ طب
تلفن سوالات فنی : ۰۹۱۲۸۹۳۰۰۴۸



تخلیه محتویات لوله ها

⑤ محتویات لوله ها را از طریق وارونه کردن یا مکش تخلیه کنید.

(غیر از لوله توتال)



تخلیه محتویات لوله ها

⑥ ابتدا محتویات لوله ها تخلیه و سپس با 2cc آب مقطر به جز لوله توتال، ۲ مرتبه شستشو می دهیم و با مکنده یا معکوس کردن و ثابت نگهداشتن به مدت ۲ دقیقه محتویات خالی می شوند. (غیر از لوله توتال)

⑦ با استفاده از دستگاه گاماکانتر ظرف مدت ۱ دقیقه اکتیویته موجود در لوله ها خوانده می شود.



روش کار :

① تعداد لوله های کوت شده را برای استاندارد، کنترل و نمونه دابل یا دوتایی قرار دهید. برای شمارش تام از لوله های معمولی استفاده می شود.



لوله توتال

② 25λ از استاندارد، کنترل و نمونه و نمونه بیمار را به داخل هر لوله اضافه می کنیم. (به جز لوله توتال).



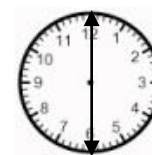
③ 100λ از ردیاب یا Tracer را به تمام لوله ها اضافه می کنیم.



لوله توتال



④ حبابگیری : لوله ها را به آرامی به مدت ۱۵ ثانیه تکان داده تا محتویات به خوبی مخلوط شوند و سپس لوله ها را به مدت ۳۰ دقیقه در حرارت اتاق بر روی شیکر rpm200 انکوبه نمایید.



۳۰ دقیقه روی شیکر 200 RPM