

IBL International
TECAN
GmbH Flughafenstraße 52
а 22335 Гамбург,
Німеччина

Тел. +49 (0) 40 53 28 91-0
Факс +49 (0) 40 53 28 91-11

IBL@tecan.com
www.tecan.com/ibl

Інструкція з використання

Антиспермальні антитіла ІФА

Імуноферментний аналіз для кількісного визначення
аутоантитіл проти поверхневих антигенів
сперматозоїдів у сироватці крові людини.

REF **RE52029**



96



2°C **8°C**

EU: **IVD** **CE** **€**

Уповноважений представник: ТОВ «АЙ ВІ СЕТ», 01010, м. Київ, вул. Омеляновича-Павленка, буд. 19 А,
оф. 1,
тел. (044) 223-83-18, info@ivset.ua, www.ivset.ua



IBL International GmbH
Flughafenstrasse 52a
22335 Гамбург, Німеччина

Always there for you



1. ВИКОРИСТАННЯ ЗА ПРИЗНАЧЕННЯМ

Імуноферментний аналіз для кількісного визначення аутоантитіл проти поверхневих антигенів сперматозоїдів у сироватці крові людини.

2. ПІДСУМКИ ТА ПОЯСНЕННЯ

У західному суспільстві захворюваність безплідних пар оцінюється в 10-15% населення. Роль антиспермальних антитіл у безплідді залишається суперечливою через різні методи визначення. Серед класичних методів виявлення антиспермальних антитіл широке застосування набули реакція аглютинації сперматозоїдів та реакція іммобілізації сперматозоїдів. Ці тести та інші варіанти реакцій аглютинації займають багато часу та непостійні за виконанням.

ІФА-тести на антиспермальні антитіла мають багато переваг перед звичайними методами. ІФА на антитіла до сперматозоїдів від IBL поєднує ці переваги з високою чутливістю та специфічністю. Тест простий у виконанні та дозволяє проводити скринінг великої кількості сироваток на імунологічне безпліддя.

3. ПРИНЦИП АНАЛІЗУ

Тест базується на неконкурентному ІФА. Поверхневі антигени сперматозоїдів витягуються з пулу за методом, подібним до методу Alexander (1984), і наносяться на лунки мікротитраційних стріпів. Усі зразки інкубують у двох примірниках як у покритих, так і в непокритих лунках (жовта пластина).

Стріпи інкубують із розведеними сироватками крові пацієнтів, а після етапу промивання знову інкубують із кон'югованим пероксидазою анти-імуноглобуліном людини (IgA, IgG та IgM). Після останнього етапу промивання додається ферментний субстрат (ТМБ) і визначається забарвлення за допомогою рідера ІФА. Інтенсивність забарвлення лунок пропорційна зв'язаним імуноглобулінам. Неспецифічне зв'язування визначається індивідуально для кожної сироватки та віднімається від загального зв'язування.

Результати зчитуються зі стандартної кривої та виражаються в одиницях/мл (МОД/100 мкл).

4. ПОПЕРЕДЖЕННЯ ТА ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

1. Тільки для діагностики in vitro. Тільки для професійного використання.
2. Перед початком аналізу уважно прочитайте інструкцію. Використовуйте дійсну версію вкладиша, що надається в комплекті. Переконайтеся, що все зрозуміло.
3. У разі серйозного пошкодження упаковки набору, будь ласка, зв'яжіться з IBL або своїм постачальником у письмовій формі не пізніше ніж через тиждень після отримання набору. Не використовуйте пошкоджені компоненти під час тестування, але зберігайте їх у безпечному місці для вирішення проблем, пов'язаних зі скаргами.
4. Дотримуйтеся номера партії та терміну придатності. Не змішуйте реагенти різних партій. Не використовуйте прострочені реагенти.
5. Дотримуйтеся належної лабораторної практики та правил безпеки. Одягайте лабораторні халати, одноразові латексні рукавички та захисні окуляри, якщо це необхідно.
6. Реагенти цього набору, що містять небезпечний матеріал, можуть викликати подразнення очей і шкіри. Додаткову інформацію див. у МАТЕРІАЛАХ, ЩО ПОСТАЧАЮТЬСЯ, і на етикетках. Паспорти безпеки матеріалу для цього продукту доступні на домашній сторінці IBL або за запитом безпосередньо від IBL.
7. Хімікати та підготовлені або використані реагенти слід обробляти як небезпечні відходи відповідно до національних інструкцій чи правил щодо біологічної небезпеки та безпеки.
8. Персонал з прибирання повинен керуватися професіоналами щодо потенційної небезпеки та поводження.
9. Уникайте контакту зі стоп-розчином. Це може спричинити подразнення шкіри та опіки.
10. Усі реагенти цього набору, що містять сироватку або плазму крові людини, були протестовані та виявилися негативними на анти-ВІЛ I/II, HBsAg та анти-HCV. Однак не можна повністю виключити наявність тих чи інших інфекційних агентів. З цієї причини під час використання та утилізації реагенти слід розглядати як потенційні біологічно небезпечні.

5. ЗБЕРІГАННЯ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ

Набір транспортується при температурі навколишнього середовища і повинен зберігатися при 2-8 °С. Тримайте подалі від тепла або прямих сонячних променів. Зберігання та стабільність зразків і підготовлених реагентів викладено у відповідних розділах.

Стріпи мікропланшета стабільні до 6 Вт у розбитому, але щільно закритому пакеті при зберіганні при 2-8°C.

6. ЗБІР І ЗБЕРІГАННЯ ЗРАЗКІВ**Сироватка**

Необхідно дотримуватися звичайних запобіжних заходів при венепункції. Важливо зберегти хімічну цілісність зразка крові з моменту його збору до аналізу. Не використовуйте сильно гемолітичні, жовтяничні або сильно липемічні зразки. Зразки, які виглядають каламутними, слід центрифугувати перед тестуванням, щоб видалити будь-які частинки.

Зберігання:	2-8°C	≤ -20°C (Аліквоти)	Тримайте подалі від тепла або прямих сонячних променів. Уникайте повторних циклів заморожування-розморожування.
Стабільність:	24 години	6 місяців	

7. МАТЕРІАЛИ НАДАНІ

Кількість	СИМВОЛ	КОМПОНЕНТ
1 x 12 x 8	MTP	Мікротитраційний планшет Розірвати стріпи. Покриті поверхневим антигеном сперми .
1 x 100 мкл	ENZCONJ CONC	ферментний кон'югат, Концентрат (601x) Містить: антилюдські IgG, IgA, IgM, кон'юговані з пероксидазою.
3 x 1 мл	CAL LYO	Стандарт, ліофілізований Точні концентрації дивіться на етикетках або сертифікаті якості. Для підготовки стандартного набору.
3 x 1 мл	CONTROL LYO	КОНТРОЛЬ, ліофілізований Концентрації/допустимі діапазони див. сертифікат контролю якості.
3 x 20 мл	DILBUF LYO	Буфер-розріджувач, ліофілізований
2 x 50 мл	WASHBUF CONC	Промивний буфер, Концентрат (20x) Містить: фосфатний буфер, Твін, стабілізатори.
2 x 15 мл	TMB SUBS	Розчин субстрату ТМБ Готовий до використання. Містить: ТМБ, буфер, стабілізатори.
1 x 15 мл	TMB STOP	ТМБ Стоп розчин Готовий до використання. 1 MН ₂ ТАК ₄ .
1 x 12 x 8	MTP NSB	Мікропланшет (NSB) Жовтого кольору. Розірвати стріпи. Для визначення неспецифічного зв'язування. Заблоковано з неспецифічними антигенами. в пакеті з фольги з осушувачем.
5 x	FOIL	Клейка фольга

8. МАТЕРІАЛИ, НЕОБХІДНІ, АЛЕ НЕ ПОСТАЧАЮТЬСЯ

- Мікропіпетки (Multipette Eppendorf або аналогічні пристрої, < 3 % CV). Об'єм: 0-20 мкл; 10-100 мкл; 100-1000 мкл
- Одноразові скляні пробірки (12 x 75 мм)
- Інкубатор, 37 °C
- 8-канальна мікропіпетка з резервуарами для реагентів
- Пляшка для промивання, автоматизована або напівавтоматична система промивання мікропланшетів
- Зчитувач мікропланшетів, здатний зчитувати поглинання при 450 нм (еталонна довжина хвилі 600-650 нм)
- Бідистильована або дейонізована вода
- Паперові рушники, наконечники піпеток і таймер

9. ПРИМІТКИ ПРО ПРОЦЕДУРУ

- Будь-яке неналежне поводження зі зразками або модифікація процедури тестування може вплинути на результати. Зазначені об'єми піпетування, час інкубації, температури та етапи попередньої обробки повинні виконуватися суворо відповідно до інструкцій. Використовуйте лише калібровані піпетки та пристрої.
- Після початку тесту всі кроки повинні бути завершені без перерви. Переконайтеся, що необхідні реагенти, матеріали та пристрої підготовлені в належний час. Дайте всім реагентам і зразкам досягти кімнатної температури (18-25 °C) і обережно покрутіть кожен флакон з рідким реагентом і зразком перед використанням. Змішуйте реагенти без утворення піни.
- Уникайте забруднення реагентів, піпеток і лунок/пробірок. Використовуйте нові одноразові пластикові наконечники піпеток для кожного компонента та зразка. Не міняйте кришки місцями. Завжди закривайте невикористані флакони. Не використовуйте повторно лунки/пробірки або реагенти.

Антиспермальні антитіла ІФА (RE52029)

- Деякі компоненти містять ≤ 250 мкл розчину. Перед відкриттям переконайтеся, що розчин повністю опиниться на дні флакона.
- Рекомендується визначати зразки в двох примірниках, щоб мати можливість ідентифікувати потенційні помилки піпетування.
- Використовуйте схему піпетування, щоб перевірити відповідне розташування планшета.
- Час інкубації впливає на результати. Усі лунки слід обробляти в однаковому порядку та часовій послідовності. Рекомендується використовувати 8-канальну мікропіпетку для піпетування розчинів
- Миття мікропланшета є важливим. Неправильно промиті лунки дадуть помилкові результати. Рекомендується використовувати багатоканальну піпетку або автоматичну систему промивання мікропланшетів. Не допускайте висихання лунок між інкубаціями. Не дряпайте покриті лунки під час промивання та аспірації. Обережно промийте та заповніть усі реагенти. Під час промивання переконайтеся, що всі лунки точно заповнені промивним буфером і що в лунках немає залишків.
- Вологість впливає на покриті лунки/пробірки. Не відкривайте пакет, поки він не досягне кімнатної температури. Невикористані лунки/пробірки слід негайно повернути в повторно запечатаний пакет разом із осушувачем.

10. ІНСТРУКЦІЇ З НАЛАШТУВАННЯ ПЕРЕД АНАЛІЗОМ

10.1. Приготування ліофілізованих або концентрованих компонентів .Об'ємів, зазначених нижче, достатньо для однієї процедури тестування з використанням 4 покритих і 4 непокритих стріпів (32 визначення).

Розбавити / розчинити	компонент		Розрід жувач	Відношення	Зауваження	Зберігання	Стабільність
30 мл	WASHBUF CONC	додати 600 мл	бідист. вода	1:20	Розчинити фосфат випадає в осад при 18-25°C.	2-8°C	4 тижні
15 мкл	ENZCONJ CONC	3 9 мл	DILBUF (розбавлений)	1:601	Готувати свіже і використовувати лише один раз.	18-25°C	2 години
	DILBUF LYO	3 20 мл	WASHBUF (розбавлений)			2-8°C $\leq -20^\circ\text{C}$	2 дні 2 місяці
	CONTROL LYO	3 1 мл	WASHBUF (розбавлений)			2-8°C $\leq -20^\circ\text{C}$	2 тижні 4 тижні
	CAL LYO	3 1 мл	WASHBUF (розбавлений)			2-8°C $\leq -20^\circ\text{C}$	2 тижні 4 тижні

10.2. Підготовка стандартів

Розчиніть вміст однієї ампули ліофілізованого стандарту 1 мл підготовленого промивного буфера, щоб отримати основний стандартний розчин (S5). Розведіть S5 послідовно буфером-розчинником за схемою:

S5 = 500 мкл свіжорозчиненого стандарту = Точну концентрацію див. у сертифікаті/ на етикетці флакона.

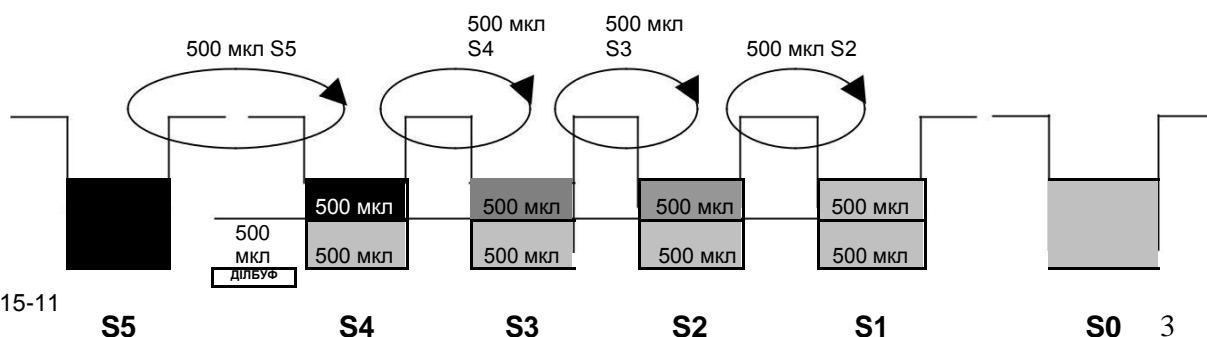
S4 = 500 мкл S5 + 500 мкл DILBUF (розбавлений) = Концентрація S5 / 2

S3 = 500 мкл S4 + 500 мкл DILBUF (розбавлений) = Концентрація S5 / 4

S2 = 500 мкл S3 + 500 мкл DILBUF (розбавлений) = Концентрація S5 / 8

S1 = 500 мкл S2 + 500 мкл DILBUF (розбавлений) = Концентрація S5 / 16

S0 = 500 мкл DILBUF (розбавлений) = 0 МОД/100 мкл



10.3. Розведення зразків

Зразок	До розведення	Відношенн з	я	Зауваження	Зберігання	Стабільні сть
Сироватка	загалом	DILBUF (розбав лений)	1:51	наприклад, 10 мкл + 500 мкл Перемішайте без утворення піни.	2-8°C	24 години

Зразки, що містять концентрації вище найвищого стандарту, необхідно додатково розбавити.

11. ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ

1.	По черзі закріпіть покриті та непокриті (NSB, жовті) стріпи для мікротитрування у тримачі. Для кожного стандарту, контролю та зразка візьміть 2 лунки з покриттям і 2 лунки без покриття (жовті).
2.	Внесіть 100 мкл кожного стандарту, контролю та розведеного зразка у відповідні лунки.
3.	Накрийте планшет клейкою плівкою. Інкубуйте 1 годину при 37°C.
4.	Зніміть клейку плівку. Викиньте інкубаційний розчин. Промийте планшет 3 рази 250 мкл розведеної промивки Буфер. Видаліть надлишки розчину, постукавши перевернутим планшетом по паперовому рушнику.
5.	Прокачайте 100 мкл свіжоприготованого кон'югату ферменту в кожен лунку.
6.	Накрийте планшет новою клейкою плівкою. Інкубуйте 1 годину при 37°C.
7.	Зніміть клейку плівку. Викиньте інкубаційний розчин. Промийте планшет 3 рази 250 мкл розведеної промивки Буфер. Видаліть надлишки розчину, постукавши перевернутим планшетом по паперовому рушнику.
8.	Для додавання субстрату та стоп-розчину використовуйте, якщо є, 8-канальну мікропіпетку. Піпетування слід проводити в однакові проміжки часу для субстрату та стоп-розчину. Використовуйте позитивне зміщення та уникайте утворення повітряних бульбашок.
9.	Внесіть 100 мкл розчину субстрату ТМБ у кожен лунку.
10.	Витримати 10-15 хвилин при 18 - 25°C (кімнатна температура).
11.	Зупиніть реакцію субстрату, додавши 50 мкл стоп-розчину ТМБ у кожен лунку. Коротко перемішайте вміст, обережно струшуючи тарілку.
12.	Виміряти оптичну густину фотометром при 450 нм (еталонна довжина хвилі: 600-650 нм) протягом 30 хвилин після піпетування стоп-розчину.

12. КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Результати тесту дійсні, лише якщо тест було виконано відповідно до інструкцій. Крім того, користувач повинен суворо дотримуватися правил НЛП (належної лабораторної практики) або аналогічних стандартів/законів. Користувач і/або лабораторія повинні мати перевірену систему, щоб отримати діагноз відповідно до НЛП. Усі контролю набору повинні знаходитися в допустимих діапазонах, як зазначено на етикетках і сертифікаті контролю якості. Якщо критерії не відповідають, прогін недійсний і його слід повторити. Кожна лабораторія повинна використовувати відомі зразки як подальший контроль. Рекомендується брати участь у відповідних випробуваннях оцінки якості.

У разі будь-яких відхилень слід підтвердити наступні технічні проблеми: терміни придатності (підготовлених) реагентів, умови зберігання, піпетки, пристрої, умови інкубації та методи промивання.

13. ПІДРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТІВ

Відкоригуйте ОГ лунки з покриттям для кожного стандарту, контролю та зразка за допомогою відповідної ОГ лунки NSB. Обчисліть середнє значення дублікатів.

Отримана ОГ стандартів (лінійна вісь ординат) наноситься на графік залежно від їх концентрації (вісь x, логарифмічний) або на напівлогарифмічному міліметровому папері, або за допомогою автоматизованого методу. Хороша підгонка забезпечується кубічним сплайном, логістикою 4 параметрів або Logit-Log.

Для розрахунку стандартної кривої застосуйте кожен сигнал стандартів (один очевидний викид дублікатів можна опустити та використати більш правдоподібне єдине значення).

Концентрацію зразків можна зчитати безпосередньо зі стандартної кривої.

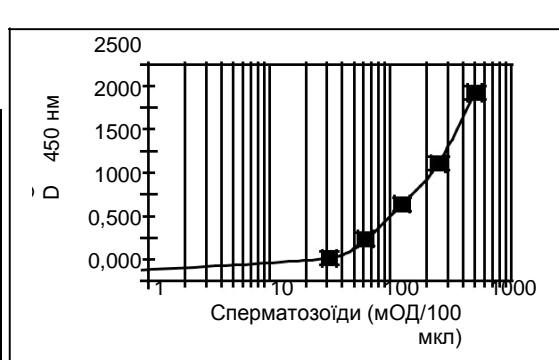
Через розведення зразків отримані значення необхідно помножити на коефіцієнт 0,5, щоб отримати концентрації в Од/мл у нерозведеному зразку.

У разі подальшого розведення зразків значення необхідно помножити на відповідний коефіцієнт розведення. Зразки, концентрації яких перевищують найвищий стандарт, необхідно розбавити, як описано в ІНСТРУКЦІЯХ З НАЛАШТУВАННЯ ПЕРЕД ТЕСТОМ, і повторно проаналізувати.

Типова калібрувальна крива

(Приклад. Не використовувати для розрахунку!)

Стандарт	Sperm-Ab. (МОД/100 мкл)	Середня ОГпокриття	Середня ОГ NSB	ОГпокриття - ОГ NSB
S0	0,0	0,066	0,009	0,057
S1	31.3	0,275	0,011	0,264
S2	62.5	0,493	0,009	0,484
S3	125	0,895	0,009	0,886
S4	250	1,371	0,018	1,353
S5	500	2,200	0,030	2,170



14. ОЧІКУВАНІ ЗНАЧЕННЯ

Самі результати не повинні бути єдиною причиною будь-яких терапевтичних наслідків. Вони повинні бути співвіднесені з іншими клінічними спостереженнями та діагностичними тестами.

Очевидно здорові суб'єкти демонструють такі значення:

< 150 МОД/100 мкл

Рекомендується, щоб кожна лабораторія встановлювала власний діапазон нормальних значень.

15. ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

Відомості про перехресну реакцію див.












16. ЕФЕКТИВНІСТЬ

Аналітична специфічність (перехресна реактивність)	Перехресної реакції з типовими досліджуваними речовинами не виявлено.		
Аналітична чутливість (Межа виявлення)	0,14 МОГ/100 мкл	Середній сигнал (нульовий стандарт) – 2СВ	
Точність	Діапазон (МОД/100 мкл)	CV (%)	
	В аналізі	47,0 – 151,0	2.7 – 11.9
	Між-Аналізами	42,0 – 130,0	7.9 – 15.4
Лінійність	Діапазон (МОД/100 мкл)	Серійне розведення до	Діапазон (%)
	31,4 – 376,9	1:8	95 - 110
Відновлення	Середнє (%)	Діапазон (%)	% Відновлення після піку
	90.7	77 - 101	
Метод порівняння проти ІФА	IBL-тест =4,0698 x ELIAS ІФА + 1,0441		r = 0,869; n = 38

17. ПОСИЛАННЯ ЛІТЕРАТУРА ПРОДУКТУ

1. Р. Клейтон і Х. Мур: Імунологія та імунопатологія чоловічих статевих шляхів; Оновлення репродукції людини. Т.7. №5. С. 457 – 459. 2001
2. Американське товариство репродуктивної медицини: довідка про пацієнта: Діагностичне тестування на чоловічий фактор безпліддя; Переглянуто 8/2001
3. Джанні Форті та Цілла Краус: оцінка та лікування безплідної пари; Журнал клінічної ендокринології та метаболізму. Авторське право © 1998 The Endocrine Societ. Vol. 83. № 12. С. 4177– 4188
4. Ф. М. Гельмерхорст. М. Дж. Фінкен. Дж. Дж. Ервіч: Антиспермальні антитіла: аналізи виявлення антитіл: що вони тестують?; Репродукція людини. Том 14. №7. С. 1669 – 1673. 1999
5. Дона М. Лінч і Стефан Е. Хау: Порівняння прямого та непрямого ІФА для кількісного визначення антиспермальних антитіл у спермі; Journal of Andrology, липень/серпень 1987 р.; Том 8. No.4; С. 215 – 220
6. Дана А. Ол. Доктор медицини та Алан С. Менге. Ph.D.: Оцінка функції сперми та клінічні аспекти порушення функції сперми; Frontiers in Bioscience 1. e96-108. 1 вересня 1996 р.; С. 96 - 108


УМОВНІ ПОЗНАЧЕННЯ

REF	№ Кат.:
LOT	№ Партії:
	Використати до:
	Кількість тестів:
CONC	Концентрат
LYO	Ліофілізований
IVD	Медичний пристрій для діагностики in vitro
	Оціночний набір
	Прочитайте інструкцію перед використанням
	Зберігати подаль від джерел тепла і прямого сонячного світла.
	Зберігати при температурі:
	Виробник:
	Увага!
	Містить біологічний матеріал людського походження
	Містить біологічний матеріал тваринного походження
UDI	Унікальна ідентифікація пристрою
	Дистриб'ютор
Умовні позначення компонентів див. у розділі «Матеріали, що входять до набору».	

СКАРГИ: Первинно скарги можна пред'явити в письмовому вигляді або усно. Згодом необхідно подати їх, включаючи хід дослідження та отримані результати, в письмовому вигляді, з аналітичних міркувань.

ГАРАНТІЯ: Гарантується відсутність у продукті дефектних матеріалів у межах відповідного терміну придатності, а також дотримання специфікацій, поданих разом із продуктом. Продукт слід використовувати за призначенням, відповідно до всіх інструкцій, наведених в інструкції з використання та в межах відповідного терміну придатності продукту. Будь-яка модифікація процедури аналізу, або обміну, або змішування компонентів різних партій може негативно вплинути на результати. Ці випадки анулюють будь-які вимоги про заміну.

ОБМЕЖЕННЯ ВІДПОВІДАЛЬНОСТІ: ЗА БУДЬ-ЯКИХ ОБСТАВИН РІВЕНЬ ВІДПОВІДАЛЬНОСТІ ВИРОБНИКА ОБМЕЖУЄТЬСЯ ЗАКУПІВЕЛЬНОЮ ВАРТІСТЮ ВКАЗАНОВОГО (-ИХ) НАБОРУ(ІВ) . ЗА ЖОДНИХ УМОВ ВИРОБНИК НЕ МАЄ НЕСТИ ВІДПОВІДАЛЬНІСТЬ ЗА ВИПАДКОВІ ЧИ ПОБІЧНІ ЗБИТКИ, У ТОМУ ЧИСЛІ ВТРАТУ ПРИБУТКУ, ВТРАТУ ПРОДАЖ, ТРАВМИ ЛЮДЕЙ ЧИ ПОШКОДЖЕННЯ ВЛАСНОСТІ АБО ІНШІ ВИПАДКОВІ ЧИ НЕПРЯМІ ЗБИТКИ.

	IBL International GmbH	Тел. : + 49 (0) 40 532891 -0	Факс: -11
	Flughafenstr. 52A, 22335 Гамбург, Німеччина	E-MAIL: IBL@IBL-International.com	
		WEB: http://www.IBL-International.com	



Уповноважений представник: ТОВ «АЙ ВІ СЕТ», 01010, м. Київ, вул. Омеляновича-Павленка, буд. 19 А,
оф. 1, тел. (044) 223-83-18, info@ivset.ua www.ivset.ua