

Návod k použití

Protilátky proti ovariu ELISA

Kat.č.: BS-40-20

Počet testů: 96

Skladování: 2°C – 8°C (36°F – 46°F)

Na enzymy vázané imunosorbentní stanovení (ELISA) ke zjištění protilátek působících proti antigenu ovarí v séru, děložní tekutině a folikulárních lavážích

Pouze pro diagnostické použití *in vitro*

CE EU Registrační číslo: DE/CA80/IVD1696

Řídicí systém certifikované kvality podle

DIN EN ISO 9001:2000

Číslo registru: IC 373 038, certifikováno ifta-CERT

DIN EN ISO 13485

Číslo registru: CE 0483-0215, certifikováno mdc

**BIOSERV
DIAGNOSTICS**
www.bioserv-diagnostics.com

BIOSERV Diagnostics GmbH
Dr.Lorenz Weg 1, 18059 Rostock, Německo
Telefon.: +49 381 40 587-6
Fax: +49 381 40 587-77
E-mail: info@bioservdiagnostics.com

Nabídka diagnostických souprav BIOSERV Diagnostics GmbH:

Gastroenterologie	Objednací kód	Počet testů
Lidská pankreatická Elastáza ELISA (nedostatečnost pankreatu)	BS-86-01	96
Pankrin TM ELISA (akutní pankreatitida)	BS-86-02	96
Infertilita		
Latex-aglutinační test na Protilátky proti spermiím	BS-10-10	50
ELISA test na Protilátky proti spermiím v krevním séru	BS-10-20	96
ELISA test na Protilátky proti spermiím v semenné plazmě	BS-10-21	96
Hemaglutinační test na Protilátky proti spermiím	BS-10-30	40
ELISA test na Protilátky proti spermiím – Ig klasifikace v séru	BS-10-50	96
Latex-aglutinační test na Protilátky proti Zona Pellucida	BS-20-10	50
ELISA test na Protilátky proti Zona Pellucida	BS-20-20	96
Hemaglutinační test na Protilátky proti Zona Pellucida	BS-20-30	40
ELISA test na Protilátky proti Zona Pellucida - Ig klasifikace	BS-20-50	96
Latex-aglutinační test na Protilátky proti ovariu	BS-40-10	50
ELISA test na Protilátky proti ovariu	BS-40-20	96
Hemaglutinační test na Protilátky proti ovariu	BS-40-30	40
ELISA test na Protilátky proti ovariu - Ig klasifikace	BS-40-50	96
Monitorování rizikových těhotenství		
IGF-BP1 ELISA (PP12)	BS-30-10	96
Glykodelin ELISA (PP14)	BS-30-20	96
Hormony, Tumorové Markery		
AFP ELISA	BS-90-21	96
FSH ELISA	BS-85-21	96
HCG ELISA kompletní molekula	BS-85-22	96
HPL ELISA	BS-85-24	96
LH ELISA	BS-85-23	96
Prolaktin ELISA	BS-85-25	96

Účel použití

ELISA test na protilátky proti ovariu firmy BIOSERV Diagnostics, je spolehlivý a kvantitativní test sloužící ke zjišťování protilátek proti lidské tkáni ovarií. Tento test je určen k použití se sérem, děložní tekutinou a folikulárními lavážemi.

Klinický význam

Protilátky působící proti antigenům ovarií mohou u žen způsobit neplodnost. Test na Protilátky proti ovariu ELISA od BIOSERV Diagnostics se doporučuje použít k diagnostikování imunologicky zapříčiněných poruch plodnosti.

Oblast použití soupravy

ELISA test na protilátky proti ovarii firmy BIOSERV Diagnostics může být v klinické praxi použit k potvrzení nebo vyloučení přítomnosti protilátek proti ovariální tkáni, možné příčině poruch plodnosti.

Princip metody

ELISA test na protilátky proti ovarii firmy BIOSERV Diagnostics je enzymatická imunoanalýza sendvičového typu sloužící ke kvantitativnímu zjištění protilátek proti ovarii v lidském krevním séru. Jamky mikrotitrační destičky jsou potaženy směsí ovariálních proteinů. Vzorky a standardy jsou pipetovány do jamek a následně inkubovány. Během inkubace se protilátky proti ovarii váží k ovariálním proteinům a díky tomu jsou pak imobilizovány na destičce. Po promytí je přidán enzymatický konjugát skládající se z polyklonálních protilátek proti Fc epitopu lidských imunoglobulinů značených křenovou peroxidázou. Promytím je z jamek odstraněn nevázaný konjugát, přidán substrát TMB (3,3',5,5'-tetramethylbenzidin) oxiduje křenovou peroxidázu a přitom vyvolává barevnou reakci. Ta je zastavena přidáním 0.25 M kyseliny sírové (H₂SO₄). Extinkce je měřena při vlnové délce 450 nm pomocí ELISA readeru. Doporučuje se referenční měření při vlnové délce ≥ 550 nm.

Reagencie obsažené v soupravě (dostačuje pro 96 stanovení)

1. Mikrotitrační stripy potažené antigenem ovarií	96 jamek
2. Sada standardů - v 1 lahvičce	0.5 ml
- Standard 1 (6 U/ml - bezbarvé šroubovací víčko)	
- Standard 2 (25 U/ml - bílé šroubovací víčko)	
- Standard 3 (50 U/ml - žluté šroubovací víčko)	
- Standard 4 (100 U/ml - modré šroubovací víčko)	
3. Kontrola (zelené šroubovací víčko) rozmezí 15-50 U/ml	0.5 ml
4. Ředící pufr (používaný též jako blank / nulový standard / 0 U/ml)	50 ml
5. Promývací roztok (10x koncentrovaný)	50 ml
6. Enzymový konjugát (k přímému použití)	5 ml
7. Substrátový roztok (TMB roztok, k přímému použití)	13 ml
8. Stop roztok (0.25 mol/l H ₂ SO ₄)	12 ml
9. Držák na mikrotitrační stripy	1 ks

Další potřebné materiály, které nejsou součástí dodávky:

1. ELISA reader s filtrem 450 nm, popřípadě s referenčním filtrem ≥ 550 nm
2. Automatické pipety s jednorázovými špičkami objemů 5 μ l, 50 μ l, 100 μ l a 1000 μ l
3. Zkumavky pro ředění vzorků
4. Destilovaná nebo deionizovaná voda
5. Absorpční papír
6. Používejte pouze kalibrované pipety a nástroje

Upozornění a bezpečnostní opatření

1. Souprava je určena pouze pro *in vitro* použití
2. Vyvarujte se kontaktu se Stop roztokem, může způsobit na kůži podráždění a popálení.
3. Reagencie nepipetujte ústy.
4. Považujte všechny vzorky za potencionálně infekční a zacházejte s nimi proto s nejvyšší opatrností.
5. Manipulace a likvidace by měly být v souladu s postupy, které jsou v souvislosti s biologickými rizikovými látkami definovány příslušnými národními bezpečnostními předpisy či regulacemi.

Příprava reagensí

1. Komponenty v této soupravě jsou určeny k použití jako jeden celek a neměly by být vzájemně vyměňovány s komponenty jiných souprav.
2. Všechny reagensie a vzorky musí před použitím dosáhnout laboratorní teploty.
3. Všechny reagensie je třeba promíchat bez vytvoření pěny.
4. Jakmile započne testovací proces, všechny další kroky musí být prováděny bez přerušení.
5. Pipetujte všechny reagensie a vzorky na dno jamek. Nemíchejte nebo netřepejte po pipetování.
6. Pro každý vzorek použijte novou jednorázovou špičku.
7. Před započtením testu musí být všechny potřebné reagensie připraveny k okamžitému použití, všechny potřebné stripy musí být vloženy do rámečku atd. Toto zaručí stejný časový interval pro každý pipetovací krok, a to bez přerušování.
8. Pro optimální výsledek je nezbytné důkladně umýt jamky po inkubaci a odstranit i tu poslední kapku vody tím, že destičkou obrácenou dnem vzhůru jemně klepnete na absorpční papír nebo tkaninu.
9. Vzhledem k tomu, že kinetika enzymatické reakce závisí na okolní teplotě, mohou být pozorovány rozdílné extinkce korelující s příslušnou teplotou místnosti. Optimální teplota laboratorní místnosti je 20-22°C (68-72°F).
10. Doporučuje se provádět všechny testy v duplikátu, aby byly minimalizovány důsledky chyb při pipetování či manipulaci.

Skladování a doba použitelnosti

1. Reagensie uchovávejte při teplotě 2-8°C (36-46°F)
2. Uzavřené reagensie jsou stabilní až do doby použitelnosti uvedené na štítku soupravy.
3. Lahvičky po použití okamžitě uzavřete, nezaměňujte uzávěry.
4. Uchovávejte mikrotitrační stripy v suchém sáčku s vysoušedlem. Zbývající stripy musí být skladovány v dobře uzavřeném sáčku. Takto uchovávané jsou stabilní 4 týdny od otevření sáčku.

POZOR! Jednou otevřené reagensie jsou stabilní maximálně po dobu 4 týdnů od jejich otevření.

Vzorky

Souprava je určena pro vyšetření krevního séra, děložní tekutiny a folikulárních lavází.

Odběr a příprava vzorků

Odeberte žilní krev, nechte ji srazit, a při laboratorní teplotě oddělte centrifugací sérum; vyvarujte se hemolýzy. Vyvarujte se rovněž opakovanému zmrazování a rozmrazování. Uchovávejte zkumavky uzavřené, abyste se předešli možné kontaminaci nebo změně koncentrace.

1. Manipulujte se všemi vzorky s nejvyšší opatrností, mohou být infekční.
2. Nejsou známy žádné interference s vnějšími faktory či jinými substancemi.
3. Vzorky mohou být skladovány za různých teplot v následujících časových rozmezích:
 - Teplota okolního prostředí až do 30°C (86°F): t ři dny
 - Teplota v lednici (2-8°C / 36°F – 46°F): jeden týden
 - Teplota domácí mrazničky (-10°C až -20°C/14°F až -4°F): jeden rok

Chcete-li stanovovat protilátky v cervikálním hlenu, děložní tekutině nebo ve folikulárních lavážích, informujte se prosím o platném postupu.

POZOR! Neexistují žádné testovací metody, které by 100% zaručily, že v reagensích v této soupravě není přítomen virus Hepatitidy B, virus HIV (HIV/HTLV-III/LAV), či jiné infekční substance. Z tohoto důvodu by měly být všechny produkty z lidské krve, včetně patientských vzorků, považovány za potenciálně infekční.

Postup stanovení

1. Nechejte všechny reagensy vytemperovat na laboratorní teplotu a před použitím důkladně promíchejte.
2. Příprava promývacího roztoku (10x): Naředte koncentrovaný promývací roztok (50 ml) přidáním 450 ml deionizované vody. Zředěný promývací roztok zůstává stabilní po 4 týdny při teplotách 2-8°C / 39-46°F.
Pozor: Nepoužívejte nečištěnou vodu z vodovodního kohoutku!
3. Sérum zředte v poměru 1:100 ředícím pufrům (ředění 1:100 -> 5 µl séra + 495 µl ředícího pufru).
4. Vložte požadovaný počet jamek nebo proužků do rámečku.
5. Pipetujte 50 µl standardů do příslušných jamek.
6. Vždy novou jednorázovou špičkou pipetujte 50 µl naředěného séra do příslušných jamek.
7. Inkubujte 60 minut při teplotě 37°C.
8. Rázně vytřepte obsah jamek a 3x je promyjte 200 µl pracovního ředění promývacího roztoku.
9. Odstraňte zbývající vodu z jamek tím, že jimi jemně klepnete (v držáku) na absorpční papír nebo tkaninu.
10. Do všech jamek pipetujte 50 µl konjugátu.
11. Inkubujte 60 minut při teplotě 37°C.
12. Rázně vytřepte obsah jamek a jamky 5x promyjte 200 µl naředěného promývacího roztoku.
13. Odstraňte zbývající vodu z jamek tím, že jimi jemně klepnete (v držáku) na absorpční papír nebo tkaninu.
14. Po promytí ihned do každé jamky napipetujte 50 µl roztoku substrátu.
15. Inkubujte 30 minut při laboratorní teplotě.
16. Zastavte enzymovou reakci přidáním 50 µl Stop roztoku do každé jamky, v tom samém pořadí a času jako u substrátového roztoku.
17. Měřte extinkci vzorků při 450 nm. Doporučuje se provést měření extinkce během 10ti minut od zastavení reakce.

Všeobecně platí, že enzymatická reakce je přímo úměrná času a teplotě. Interpolace je tak možná v pevně stanovených fyzikálně chemických podmínkách.

Vzhledem k tomu, že kalibrátory jsou stanovovány v každém běhu, výkyvy absorbance neovlivňují absolutní výsledky.

Pokud je naměřená absorbance standardu 100 U/ml nižší než 1.5, prodlužte inkubační dobu enzymové reakce.

Na druhé straně, pokud je naměřená absorbance standardu 100 U/ml vyšší než je detekční limit ELISA readeru, inkubační doba musí být zkrácena.

Doporučené schéma pipetování

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
BLANK	BLANK	P	3	P	11	P	19	P	27	P	35	A
S	1	P	4	P	12	P	20	P	28	P	36	B
S	2	P	5	P	13	P	21	P	29	P	37	C
S	3	P	6	P	14	P	22	P	30	P	38	D
S	4	P	7	P	15	P	23	P	31	P	39	E
P	C	P	8	P	16	P	24	P	32	P	40	F
P	1	P	9	P	17	P	25	P	33	P	41	G
P	2	P	10	P	18	P	26	P	34	P	42	H

V tomto schématu jsou znázorněny doporučené pozice pro BLANK (použijte prosím ředící pufr obsažený v této soupravě), standardy (S1-S4), pozitivní kontrolu (PK) a pro testované vzorky (P1-P42), doporučujeme stanovovat vše v duplikátu.

Výpočet výsledků

1. Vypočítejte průměrné hodnoty absorbance standardů, kontrol a testovaných vzorků.
2. Naměřenou absorbanci každého standardu zanepte na osu y, odpovídající hodnotu koncentrace anti-ovariálních protilátek pak na osu x. Výslednou kalibrační křivku použijte k určení hodnoty koncentrace protilátek v testovaných vzorcích. Hodnoty OD vzorků séra korelují s odpovídající hodnotou koncentrace anti-ovariálních protilátek.
3. Ze sestrojené kalibrační křivky odečtěte adekvátní koncentrace anti-ovariálních protilátek v U/ml odpovídající naměřeným průměrným hodnotám absorbance každého vzorku.

Limitace stanovení

- Při teplotách vyšších než 30°C (86°F) by měly být vzorky transportovány chlazené nebo zmrazené. Čas zastavení enzymatické reakce (doba poslední inkubace) může být přizpůsoben (zkrácen).
- Silně hemolytická nebo lipemická séra nebo séra od pacientů s jaterními chorobami by neměla být používána. Výsledky mohou být nepříznivě ovlivněny určitými patologickými stavy jako například polyklonální nebo monoklonální gamapatií, autoimunní chorobou nebo změněným stavem imunity.

Předpokládané hodnoty

Normální hodnoty: 0-10 U/ml

Zvýšené hodnoty: nad 10 U/ml

Charakteristiky stanovení

1. *Variační koeficient intra-stanovení: 6.88% (5.90-7.81%)*

Pro určení variačního koeficientu intra-stanovení bylo použito 6 souprav z různých výrobních šarží. Jeden vzorek pacienta (optická hustota přibližně 1.0) byl použit v testovací proceduře 96x.

2. *Variační koeficient inter-stanovení: 6.51% (5.40-8.70%)*

Pro určení variačního koeficientu inter-stanovení byl použit vždy jeden proužek z celkem 12ti souprav pocházejících z 6ti různých výrobních šarží. Jeden vzorek pacienta (optická hustota přibližně 1.0) byl použit v testovací proceduře 72x.

Kontakt na dodavatele:

LABOSERV s.r.o.

Hudcova 532/78b, 612 00 Brno

T: 541 243 113, F: 541 243 114,

E: laboserv@laboserv.cz, objednavky@laboserv.cz

www.laboserv.cz

www.lshop.cz