

Návod k použití

Latex-aglutinační test stanovení protilátek proti spermiím

Kat.č.: BS-10-10

Množství: 50 stanovení Skladování: 2°C – 8°C
(36°F – 46°F)

Semikvantitativní test za účelem zjištění přítomnosti protilátek
proti spermiím v semenné plazmě a séru

Pouze pro diagnostické použití in vitro

CE EU Registrační číslo: DE/CA80/IVD1707

Řídící systém certifikované kvality podle DIN EN
ISO 13485 DIN EN ISO 9001:2000 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@bioserv-diagnostics.com

Nabídka diagnostických souprav BIOSERV Diagnostics GmbH:

Gastroenterologie	Objednací kód	Počet testů
Lidská pankreatická Elastáza ELISA (nedostatečnost pankreatu)	BS-86-01	96
Pankrín 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 sérum	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

Latex-aglutinační test ke stanovení protilátek proti spermiím od BIOSERV Diagnostics je rychlý, spolehlivý, semikvantitativní test sloužící ke zjišťování protilátek proti lidským spermiím. Tento test se může používat pro vzorky semenné plazmy a krevního séra.

Upozornění: výrazy „protilátky proti spermiím“, „anti-spermiové protilátky“ a „spermiové protilátky“ mají stejný význam. V těchto instrukcích je používán správný termín „protilátky proti spermiím“.

Klinický význam

Přítomnost protilátek proti antigenům spermií mohou způsobit u žen nebo u mužů neplodnost. Latex-aglutinační test ke stanovení protilátek proti spermiím od BIOSERV Diagnostics se doporučuje použít k diagnostikování imunologicky zapříčiněných poruch plodnosti.

Nechtěná bezdětnost je narůstající problém, se kterým je dočasně či dlouhodobě konfrontováno až 20% všech párů v reprodukčním věku. Ve 20% těchto případů existuje u ženských nebo mužských pacientů přítomnost protilátek proti spermiím (Lahteenmaki A et al: Hum Reprod (1955) 10, 2824-28; Nagy ZP et al: Hum Reprod (1955) 10, 1775-80).

Podle WHO (WHO Manuál pro vyšetřování lidského semena a interakce semena a hlenu děložního krčku, 1999), je neplodnost definována jako absence početí v průběhu 12ti měsíců nechráněného pohlavního styku. Hlavní příčinou poruchy imunologické plodnosti je tvorba protilátek působících proti antigenům spermií.

Protilátky proti spermiím vyvíjejí heterogenní účinky na oplodňovací schopnost spermií. Blokační efekt protilátek proti spermiím a jejich pohyblivost, vázáním se na jejich povrch a aglutinačními procesy, je velmi dobře znám. (Zoufari R et al: Fertil Steril (1993) 59, 606-12).

Pronikání spermií do hlenu děložního čípku je narušeno přítomností protilátek proti spermiím v semenné plazmě a/nebo v hlenu děložního čípku (Eggrt-Kruse W et al.: Hum Reprod (1993) 8, 1025-31). Protilátky proti spermiím negativně ovlivňují kapacitační a akrozomální reakci spermií a brání tak interakci spermie s oocytem (Francavilla F et al: Front Biosci (1999): 1; 4:9-25; Bohring C et al.: Hum Reprod (2001) 7:113-8).

Interakce spermie s oocytem a následné spojení a penetrace Zony pellucidy může být protilátkami proti spermiím potlačena. Následné spojení oocytu a spermie může být také narušeno přítomností protilátek proti spermiím (Mazumdar S et al.: Fertil Steril (1998) 70, 799-810; Kutteh WH: Hum Reprod, (1999) 14, 2426-9).

Podle Crosignani et al. (Crosignani et al.: PG et al.: Hum Reprod (1998) 13, 2025-32) počet těhotenství u párů s protilátkami proti spermiím u muže nebo ženy jsou v porovnání s kontrolními skupinami o 38% nižší. Dále pak mohl být potvrzen vliv na implantaci a časný embryologický vývoj. Spojitost mezi protilátkami proti spermiím a samovolným potratem se diskutuje. Výskyt protilátek proti spermiím u neplodných párů činí 20% (Lahteenmaki A et al: Hum Reprod (1955) 10, 2824-28; Nagy ZP et al: Hum Reprod (1955) 10, 1775-80).

Protilátky proti spermiím se mohou vyskytovat volně v ejakulátu anebo vázané na povrch spermie.

Protilátky proti spermiím mohou být nalezeny u mužů a u žen (Clarke GN et al: Am J Reprod Immunol Microbiol (1985) 7, 143-7). U žen mohou být protilátky proti spermiím nalezeny v hlenu děložního čípku, v tekutině vejcovodu a ve folikulární tekutině. Muži mající víc jak 50% svých spermií potažených protilátkami proti spermiím, vykazují zřetelně sníženou plodnost. (Abshagen K et al.: Fertil Steril (1998) 70, 355-6).

Oblasti použití

Latex-aglutinační test ke stanovení protilátek proti spermiím od BIOSERV Diagnostics může být v klinické praxi použit pro diagnostiku imunologicky zapříčiněné neplodnosti u mužů a u žen.

Princip metody stanovení

V případě přítomnosti specifických protilátek působících proti antigenům spermií ve vzorku, se antigenem potažené latexové částičky srazí během 1-2 minut.

Reagenty obsažené v soupravě

(dostačuje pro 50 stanovení)

1. Suspenze antigenu spermií (bílé šroubovací víčko)	0.55ml
2. Pozitivní kontrola (zelené šroubovací víčko)	0.3ml
3. Negativní kontrola (červené šroubovací víčko)	0.3ml
4. Pufr pro ředění, koncentrovaný 3x (před použitím smíchejte s 60ml destilované vody)	30ml
5. Míchací tyčinky	10x
6. Slidy pro aglutinaci	5x

Materiály požadované, v soupravě nedodávané

1. Zkumavky pro ředění vzorků
2. Destilovaná nebo deionizovaná voda
3. Mikrolitrové pipety s násadkami na jedno použití: 10 μ l, 20 μ l, 100 μ l a 500 μ l.
4. Prosím používejte pouze kalibrované pipety

Upozornění a bezpečnostní opatření

1. Tato sada je určena pouze pro použití in vitro.
2. Reagenty nenasávejte do pipety ústy.
3. Prosím považujte všechny vzorky za potencionálně infekční a zacházejte s nimi s nejvyšší opatrností.
4. 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.

Instrukce k přípravě reagentů

1. Komponenty v této sadě jsou určeny k použití jako jeden celek a neměly by být vzájemně vyměňovány s komponenty ostatních sad.
2. Všechny reagenty a vzorky musí před použitím dosáhnout pokojovou teplotu.
3. Všechny reagenty je třeba míchat bez vytváření pěny.
4. Jakmile započne testovací proces, všechny další kroky musí být prováděny nepřerušovaně.
5. Pro každý vzorek použijte nové násadky na jedno použití.

Instrukce ke skladování a životnosti

1. Reagenty uchovávejte při teplotě 2°C – 8°C (36°F – 46°F)
2. Reagenty zůstávají stabilní až do doby použitelnosti uvedené na sadě.
3. Lahvičky po použití okamžitě uzavřete.

Vzorek

Pro vyšetření může být použita semenná plazma, nebo krevní sérum

Odběr vzorků a jejich příprava

Sérum:

odeberte žilní krev, nechte sražit a při pokojové teplotě oddělte sérum v centrifuze; vyvarujte se hemolýzy. Vyhněte se opakovanému zmrazování a rozmrazování vzorku. Uchovávejte zkumavky uzavřené, abyste se vyvarovali nebezpečí kontaminace nebo změny koncentrace.

Semenná plazma:

Ejakulát musí být naředěn v ředícím pufru a následně odstředěn za účelem získání ředěné semenné plazmy, viz „Metoda stanovení pro semennou plazmu“ níže.

Upozornění:

1. Manipulujte se všemi vzorky s nejvyšší opatrností, neboť mohou být infekční.
2. Nejsou známy žádné interference s vnějšími faktory nebo jinými substancemi.
3. Vzorky mohou být skladovány za různých teplot v následujících časových rozmezech:

- teplota okolního prostředí až do 30°C (86°F)	t ři dny
- teplota v lednici (2-8°C / 36°F – 46°F)	jeden týde n
- teplota domácí mrazničky (-10°C - -20°C/14°F- -4°F):	jeden rok

POZOR! Neexistují žádné testovací metody, které by zaručily, že v reagentech obsažených v této sadě 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 vzorků od pacientů, považovány za potenciálně infekční.

Postup vyšetření semenné plazmy

1. Příprava pufru pro ředění: Rozředte koncentrovaný pufr (30ml) s 60ml destilované vody.
2. Naředte ejakulát 1:50 (10 µl vzorku + 490 µl pufru pro ředění); důkladně promíchejte ejakulát a pufr a pak odstřeďte přibližně 10 minut při 1000g.
3. Proveďte další sériové ředění supernatantu (který se ředí 1:50) pomocí log2 (ke konečné koncentraci 1:100, 1:200, 1:400, 1:800).
4. **Pozitivní a negativní kontroly použijte nezředěné.**
5. **Antigenní suspenzi před použitím důkladně promíchejte, například na Vortexu promíchejte alespoň 1 minutu.**
6. Dejte 10µl antigenní suspenze do označených výseků (kruhový tvar) na vyšetřovací kartě. Přidejte 20µl kontrol, 20µl naředěného vzorku (1:100, 1:200, 1:400, 1:800).
7. Intenzívně promíchejte antigenní suspenzi s přidávanými kontrolami respektive vzorky na vyšetřovací kartě, pomocí přiložené míchací tyčinky.
8. Pomalu pohybujte vyšetřovací kartou v ruce.
9. Po dvou minutách pohledem zkontrolujte aglutinaci ve výsecích na vyšetřovací kartě.

Poznámka: Prosím, vezměte na vědomí, že aglutinace je považována za pozitivní, co se přítomností protilátek proti spermiím týká, pouze ve vzorku ředěném 1:100 a výše. Dojde-li k aglutinaci, pokračujte s titrací vzorku tak dlouho, až už k žádné aglutinaci nedojde.

-

Postup vyšetření krevního séra

1. Příprava pufru pro ředění: Rozředte koncentrovaný pufr (30ml) s 60ml destilované vody.
2. Naředte vzorek 1:200 (například: 5µl séra + 995µl pufru pro ředění).
3. Proveďte sériové ředění pomocí log2 (1:400, 1:800, 1:1600).
4. **Pozitivní a negativní kontroly musí být použity nezředěné.**
5. **Antigenní suspenzi před použitím důkladně promíchejte, například na Vortexu promíchejte alespoň 1 minutu.**
6. Dejte 10µl antigenní suspenze do označeného výseku (kruhový tvar) na vyšetřovací kartě. Přidejte 20µl kontrol respektive naředěného vzorku (1:200, 1:400, 1:800, 1:1600).

7. Intenzívně smíchejte antigenní suspenzi a vzorky na vyšetřovací kartě pomocí přiložené míchací tyčinky.
8. Pomalu pohybujte vyšetřovací kartou v ruce.
9. Po dvou minutách pohledem zkontrolujte aglutinaci na vyšetřovací kartě.

Poznámka: *Prosím, vezměte na vědomí, že aglutinace je považována za pozitivní, co se přítomností protilátek proti spermiím týká, pouze ve vzorku ředěném 1:200 a výše. Dojde-li k aglutinaci, pokračujte s titrací tak dlouho až už k žádné aglutinaci nedojde.*

Vyhodnocení výsledků

1. **Pozitivní reakce:** po dvou minutách je pozitivní výsledek signalizován výraznou aglutinací charakterizovanou víceméně hrubou granulací. Pro sérum se pozitivní reakce v roztoku 1:200 rovná cca 60ti jednotkám v BIOSERV-ELISA testu (objednací kód BS-10-20).
2. **Negativní reakce:** Výsledek se považuje za negativní, pokud nedošlo ke zřejmé aglutinaci. V tomto případě zůstává reagující směs tekutá a mléčného vzhledu.

Pozor: *Prosím nečekejte déle než tři minuty od začátku aglutinační reakce, jinak budou výsledky nejasné v důsledku evaporačních efektů.*

Limitace stanovení

- Při teplotách vyšších než 30°C (86°F) by měly být vzorky transportovány chlazené nebo zmrazené.
- Silně hemolytická nebo lipemická séra nebo séra od pacientů s jaterními chorobami nesmí být používána k testu. Výsledky mohou být nepříznivě ovlivněny určitými patologickými stavy jako například poly- a monoklonální gamapatií, autoimunní chorobou nebo změněným stavem imunity.

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
www.laboserv.cz