

## НАБОР ИФА

# ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИСПЕРМАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ

### BS-10-20, Anti-Spermatozoa Antibody ELISA

Каталог. № : BS-10-20

Методика от 01-08-2012

Количество : 96

Производитель: Bioserv Diagnostics,  
(Германия)



Основой при проведении анализа является оригинал инструкции на английском языке, вложенной в набор. Номер и дата версии оригинала и перевода инструкции должны совпадать.

**Данный набор основан на методе непрямого твердофазного иммуноферментного анализа и предназначен для определения антител к спермальным антигенам в сыворотке крови**

**Только для использования в диагностике in vitro**

#### ПРИМЕНЕНИЕ

Данный тест предназначен для количественного определения антител к спермальным антигенам в сыворотке.

#### ПРИНЦИП МЕТОДА

Данный набор основан на методе непрямого твердофазного иммуноферментного анализа. Ячейки микропланшета покрыты смесью белков спермы, способных взаимодействовать с антителами. Образцы и стандарты пипетируются в ячейки и потом инкубируются. Во время этой инкубации антиспермальные антитела связываются с фиксированными в ячейках белками. После промывания добавляется энзимный конъюгат, что состоит из поликлональных антител направленных против эпитопов на белках спермы и ковалентно связаны с пероксидазой хрена. Несвязавшийся конъюгат удаляется промывкой. Далее в ячейки добавляется ферментный субстрат ТМБ, при этом развивается голубая окраска раствора. На заключительной стадии анализа ферментативная реакция останавливается 0,25M серной кислотой. Выделения измеряются при длине волны 450 нм микропланшетным ридером. Рекомендуется измерение при длине волны >550 нм.

#### РЕАГЕНТЫ

(на 96 определений)

- |   |                 |
|---|-----------------|
| 1. <b>Стрипы микропланшета</b> , покрытые спермальными антигенами   | <b>96 ячеек</b> |
| 2. <b>Набор стандартов</b>  | <b>0.5 мл</b>   |
| – Стандарт 1 (31 Ед/мл – бесцветная крышка)   |                 |
| – Стандарт 2 (62 Ед/мл) – белая крышка  |                 |
| – Стандарт 3 (125 Ед/мл) – желтая крышка  |                 |
| – Стандарт 4 (250 Ед/мл) – голубая крышка   |                 |
| 3. <b>Контроль</b> (зеленая крышка)   | <b>0,5 мл</b>   |
| 4. <b>Буфер для образцов/нулевой стандарт</b> (также используется как бланк / нулевой стандарт / 0 Ед/мл) | <b>50 мл</b>    |
| 5. <b>Промывающий раствор</b> , концентрат 10x 1 флакон   | <b>50 мл</b>    |
| 6. <b>Ферментный конъюгат</b> (готов к использованию) 1 флакон  | <b>8 мл</b>     |
| 7. <b>Раствор субстрата</b> (готов к использованию)   | <b>13 мл</b>    |
| 8. <b>Стоп раствор</b> (0.25 моль/л H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )                                      | <b>13 мл</b>    |
| 9. <b>Держатель стрипов</b>   | <b>1 штука</b>  |

#### ТРЕБУЕМЫЕ, НО НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

1. Микропланшетный ридер с фильтром 450 нм, желателен установленный фильтр >550 нм
2. Дозаторы с наконечниками (5, 50, 500 мкл)
3. Пробирки для разбавления образцов
4. Дистиллированная или деионизированная вода
5. Абсорбирующая бумага
6. Используйте только калиброванные пипетки и инструментарий

#### ЗАМЕЧАНИЯ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ

1. Для диагностики in vitro.
2. Избегайте контакта со стоп раствором, это может привести к ожогу.
3. Не пипетируйте реагенты ртом.
4. Обращайтесь с реагентами как с потенциально инфицированными.

5. Обращайтесь с реагентами согласно национальным стандартам.

#### ИНСТРУКЦИЯ ПРИГОТОВЛЕНИЯ РЕАГЕНТОВ

1. Компоненты набора предназначены для использования как единого целого и не следует менять компоненты других наборов.
2. Приведите все реагенты к комнатной температуре перед использованием.
3. Все реагенты следует смешать, избегая образования пены.
4. После начала процедуры, все шаги следует продолжать без перерывов.
5. Пипетируйте все реагенты и образцы на дно ячеек. Нет необходимости смешивать или встряхивать после пипетирования.
6. Используйте новые наконечники для каждого образца.
7. Перед началом теста все реагенты должны быть приготовлены и готовы к использованию, все необходимые стрипы следует поместить в держатель. Это даст возможность проводить тест без перерывов.
8. Для оптимальных результатов важно тщательно промывать ячейки после инкубации и удалять капли воды промокаем планшета абсорбирующей бумагой.
9. Поскольку кинетика ферментной реакции зависит от окружающей среды, оптимальной лабораторной температурой является 20-22°C.
10. Рекомендуется проводить все тесты в дубле для минимизации ошибки пипетирования.

#### ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

1. Храните реагенты при 2-8°C.
2. Реагенты стабильны до окончания срока пригодности.
3. Разведенный раствор для промывки стабилен 4 недели при температуре 4-8 °C.
4. Закрывайте флаконы немедленно после использования.
5. Храните микропланшетные стрипы в сухом пакете с осушителем. Оставшиеся стрипы должны храниться в закрытом пакете с осушителем. При этих условиях они стабильны 4 недели после вскрытия.

#### МАТЕРИАЛ ОБРАЗЦА

Сыворотка

#### СБОР И ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

Соберите кровь венопункцией, дайте возможность стучится и отделите сыворотку центрифугированием при комнатной температуре; избегайте гемолиза. Избегайте повторных циклов замораживания и размораживания. Храните пробирки закрытыми из-за возможности загрязнения или снижения концентрации.

1. Обращайтесь с образцами как с потенциально инфицированными.
2. Неизвестно влияние внешних факторов или других веществ.
3. Образцы могут храниться:
  - Окружающая температура до 30°C – до трех дней;
  - Температура 2-8°C – до одной недели;
  - Температура -10 - -20°C – до одного года.

**Внимание:** Все продукты крови, включая образцы пациентов, должны приниматься, как потенциально инфицированные.

#### ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

1. Приведите все реагенты к комнатной температуре и тщательно смешайте.
2. Приготовление промывающего раствора (10x): концентрат промывающего раствора (50 мл) необходимо разбавить 450 мл дистиллированной воды. **Внимание:** Используйте только дистиллированную воду высокой очистки.
3. Разведите сыворотки 1:100 буфером для образцов (5 мкл сыворотки + 495 мкл буфера).
4. Поместите требуемое количество стрипов в держатель.
5. Внесите по 50 мкл стандартов в соответствующие ячейки.
6. Внесите по 50 мкл разбавленных сывороток в соответствующие ячейки, меняя наконечники перед каждой новой сывороткой.
7. Инкубируйте 60 минут при 37°C. Рекомендуется использование влажной камеры.
8. Удалите раствор из ячеек и промойте ячейки 3 раза по 200 мкл разбавленного промывающего раствора.
9. Удалите оставшуюся жидкость переворачиванием на абсорбирующую бумагу.
10. Внесите по 50 мкл ферментного конъюгата в каждую ячейку.
11. Инкубируйте 60 минут при 37°C. Рекомендуется использование влажной камеры.
12. Удалите раствор из ячеек и промойте ячейки 5 раз по 200 мкл разбавленного промывающего раствора.

13. После промывки тщательно удалите остатки жидкости из ячеек (например, постукиванием перевернутого планшета по фильтровальной бумаге).
14. Внесите по 50 мкл раствора хромогенного субстрата в каждую ячейку сразу после промывки.
15. Инкубируйте стрипы 30 минут при комнатной температуре.
16. Остановите ферментативную реакцию добавлением 50 мкл стоп раствора в каждую ячейку в той же последовательности, в какой вносился раствор хромогенного субстрата.
17. Определите оптическую плотность ячеек при 450 нм на микропланшетном ридере. Рекомендуется производить измерение в течение 10 минут после внесения стоп раствора.

Энзимная реакция линейно пропорциональна времени и температуре. Это делает возможной интерполяцию через физико-химические условия.

Поскольку калибраторы анализируются в каждом тесте, колебания абсорбции не влияют на абсолютные результаты. Однако настоятельно рекомендуется использование по возможности дополнительных внутренних контролей.

#### СХЕМА ПИПЕТИРОВАНИЯ

Смотрите схему пипетирования в оригинале инструкции на англ. языке. В этой схеме рекомендуемое размещение бланка, стандартов (S1-S4), положительного контроля (PC) и образцов пациента (P1-P42) показано при дублированном определении.

#### ВЫЧИСЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

1. Вычислите значения средней абсорбции для каждого набора стандартов, контролей и образцов пациентов.
2. Оптическая плотность каждого стандарта откладывается на оси у, а соответствующие величины на оси х. Кривая, что образуется, используется для определения значений образцов пациентов. ОП образцов сыворотки изменяется с соответствующими значениями концентрации спермального антитела интерполяцией.
3. Используя среднее значение, абсорбция для каждого образца определите соответствующую концентрацию анти-спермального антитела в Е/мл из стандартной кривой.

#### ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

- При температуре выше 30°C образцы должны перевозиться охлажденными или замороженными. Время остановки реакции можно продлить или уменьшить.
- Не используйте сыворотку пациентов с заболеваниями печени или гемолизированную или липемическую сыворотку. На результаты могут влиять патологические условия: например, поли-, или моноклональная гаммапатия, аутоиммунные заболевания или повышенный иммунный статус.

#### ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

- Норма: 0-60 Ед/мл
- Повышенные значения: выше 60 Ед/мл

В случае если значения находятся в границах при величине исключения (55-65 Ед/мл), мы рекомендуем последующие определения при использовании свежей сыворотки, взятой в следующие две недели

#### ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТА

1. **Коэффициент внутри тестовой вариации: 6,88% (5,90-7,81%).**

Для определения внутри тестовой вариации были использованы 6 наборов 6 разных серий (выработанные в разные дни). Использовался один образец сыворотки (ОП около 1,0) 96 раз в диагностической процедуре.

2. **Коэффициент между тестовой вариации: 6,45% (4,84-7,52%)**

Для определения коэффициента между тестовой вариации были использованы по одному стрипу из 12 наборов 6 разных серий (выработанные в разные дни). Один образец сыворотки (ОП около 1,0) применялся 72 раза для тестовой процедуры.



#### ОФИЦИАЛЬНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР

ООО «ДИАМЕБ»  
ул. Чорновола, 97  
г. Ивано-Франковск, 76005  
тел.: +38 (0342) 775 122  
факс: +38 (0342) 775 123  
e-mail: [info@diameb.ua](mailto:info@diameb.ua)  
[www.diameb.com](http://www.diameb.com)