

НАБІР РЕАГЕНТІВ ANTI OVARIAN AB ELISA

Anti Ovarian Ab

Каталог. №: EIA-2937

Дата випуску інструкції: 2020-04-16
Версія 1.0



Основною при проведенні аналізу є оригінал інструкції англійською мовою, вкладеної в набір. Номер і дата версії оригіналу та перекладу інструкції повинні співпадати.

1. ПРИЗНАЧЕННЯ

Даний набір - це імуноферментний аналіз для кількісного **діагностичного** вимірювання **in vitro** антитіл, спрямованих проти ооцитів у сироватці людини.

1.1. Короткий опис та пояснення

Антитіла, спрямовані проти антигенів ооцитів, можуть викликати безпліддя у жінок. Застосування Anti Ovarian Ab ELISA може служити допоміжним засобом для діагностики імунологічно викликаних порушень фертильності або передчасної недостатності яєчників (1). Було показано, що аутоантитіла проти антигенів ооцитів пов'язані з поганою реакцією яєчників на контрольовану гіперстимуляцію яєчників (2). Крім того, аутоімунітет є причиною приблизно 4-30% передчасної яєчничкової недостатності (POI) (3) і асоціюється з синдромом полікістозу яєчників (СПКЯ) (4-6).

Небажана бездітність-зростаюча проблема, з якою до 20% усіх пар у репродуктивному віці стикаються тимчасово або довгостроково. Визначення безпліддя згідно з ВООЗ (Лабораторний посібник ВООЗ з дослідження людської сперми та взаємодії шийки матки та слизу сперми, 1999) - це відсутність зачаття протягом 12 місяців після незахищеного статевого акту.

2. ПРИНЦИП ТЕСТУ

Даний набір DRG - це твердофазний імуноферментний аналіз (ІФА) на основі **принципу «сендвіча»**.

Мікротитрові лунки покриті сумішшю білків ооцитів.

Під час інкубації анти-ооцитарні антитіла у зразках (стандарт, контроль, зразок пацієнта) зв'язуються з покритою поверхнею лунок.

На етапі промивання видалюються незв'язані компоненти зразка.

Доданий ферментний кон'югат зв'язується з іммобілізованими комплексами антиген-антитіло. Кон'югат містить антитіла до імуноглобуліну людини, міченого пероксидазою хрому (HRP).

Після етапу промивання для видалення всіх незв'язаних речовин твердої фази інкубують з розчином субстрату. Колориметричну реакцію припиняють додаванням стоп-розчину і вимірюють оптичну щільність (ОЩ) отриманого жовтого продукту. Інтенсивність забарвлення пропорційна концентрації аналіту у зразку.

Стандартна крива будується шляхом побудови значень ОЩ проти концентрацій стандартів, і концентрації невідомих зразків визначаються за допомогою цієї стандартної кривої.

3. ПОПЕРЕДЖЕННЯ ТА ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

1. Цей набір призначений для діагностики *in vitro*. Тільки для використання фахівцями.
2. Всі реагенти тесту, що містять сироватку або плазму людини були протестовані та є негативними до ВІЛ 1 та 2, HbsAg та HCV за процедурами FDA. Тому, з реагентами слід поводитися так, як з потенційно інфекційним матеріалом.
3. Перед початком аналізу уважно прочитайте всю інструкцію. Використовуйте дійсну версію інструкції з використання, що додається до набору. Будьте впевнені, що все зрозуміло.
4. Мікропланшет містить відірвні смужки. Невикористані лунки необхідно зберігати при температурі від 2 ° С до 8 ° С у герметичній упаковці з фольги та використовувати з рамкою, що постачається наборі.
5. Піпетування зразків і реагентів повинно проводитися якомога швидше і в тій же послідовності на кожному етапі.
6. Використовуйте резервуари тільки для окремих реагентів. Особливо це стосується резервуарів для субстрату. Використання резервуара для

дозування розчину субстрату, який раніше використовувався для розчину кон'югату, може спричинити забарвлення розчину. Не переливайте реактиви назад у флакони, оскільки це може призвести до забруднення реагентів.

7. Ретельно перемішайте вміст лунок для мікропланшетів, щоб забезпечити хороші результати випробувань. Не використовуйте повторно мікролунки.
 8. Не дайте лункам висохнути під час аналізу; додайте реагенти одразу після завершення етапів промивання.
 9. Перед початком випробування дайте реагентам досягти кімнатної температури (від 20 ° С до 26 ° С). Температура впливатиме на показники оптичної щільності аналізу. Однак це не вплине на значення для зразків пацієнтів.
 10. Ніколи не піпетуйте ротом і уникайте контакту реагентів та зразків зі шкірою та слизовими оболонками.
 11. Не паліть, не їжте, не пийте та не наносите косметику в місцях, де працюють зразки або реагенти.
 12. Одягайте одноразові латексні рукавички під час поводження зі зразками та реагентами. Мікробне забруднення реагентів або зразки можуть дати помилкові результати.
 13. Обробку слід проводити відповідно до процедур, визначених відповідною національною безпекою біологічної безпеки.
 14. Не використовуйте реагенти після закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетках набору.
 15. Усі зазначені обсяги мають бути виконані згідно протоколу. Оптимальні результати випробувань досягаються лише тоді, коли за допомогою каліброваних піпеток і зчитувачів мікропланшетів.
 16. Не змішуйте та не використовуйте компоненти з наборів з різними номерами партій. Рекоменується не обмінюватися різними лунками планшету навіть однієї партії. Можливо, набори були відвантажені або зберігалися за різних умов та характеристики зв'язування планшетів можуть дещо відрізнятися.
 17. Уникайте контакту зі стоп-розчином, що містить 0.5 М H₂SO₄. Це може викликати подразнення шкіри та опіки.
 18. Деякі реагенти містять Proclin 300, BND та/або MIT в якості консерванту. У разі контакту з очима або шкірою промити одразу з водою.
 19. Субстрат ТМБ має подразнюючу дію на шкіру та слизові оболонки. У разі можливого контакту промийте очі великою кількістю об'єму води та шкіру з милом та великою кількістю води. Перед повторним використанням вимийте забруднені предмети. У випадку вдихання, виведіть людину на відкрите повітря.
 20. Хімічні речовини та підготовлені або використані реагенти повинні поводитися як небезпечні відходи відповідно до національного законодавства або регламенту з питань біологічної безпеки.
 21. Для отримання інформації про небезпечні речовини, що входять до комплекту, зверніться до Паспортів безпеки. Паспорти безпеки цього продукту доступні за запитом безпосередньо у DRG.
- ### 4. РЕАГЕНТИ
- #### 4.1 Реагенти, які постачаються у наборі
1. **Мікротитрові лунки**, 12 x 8 (відірвні) смужки, 96 лунок; Лунки покриті сумішшю антигенів ооцитів. (вкл. 1 герметичну плівку)
 2. **Буфер для розведення/Нульовий стандарт**, 1 флакон, 50 мл, готові до використання; Концентрація: 0 О/мл Містить нертутний консервант.
 3. **Стандарти (Стандарт 1 - 4)**, 4 флакони, по 0.5 мл кожен, готові до використання; Концентрації: 6 – 25-50 – 100 О/мл Містить нертутний консервант.
 4. **Контроль якості**, 1 флакон, 0.5 мл кожен, готовий до використання; Для значень та діапазонів контролю див. етикетку або сертифікат аналізу. Містить нертутний консервант.
 5. **Ферментний кон'югат**, 1 флакон, 8 мл, готовий до використання; Антитіло проти IgG людини кон'юговане з пероксидазою хрому; Містить нертутний консервант.
 6. **Розчин субстрату** 1 флакон, 14 мл, готовий до використання; Тетраметилбензидин (ТМБ).
 7. **Стоп розчин**, 1 флакон, 14 мл, готовий до використання; Містить 0.5 М H₂SO₄ Уникайте контакту зі стоп розчином. Він може викликати подразнення шкіри та опіки.
 8. **Промивний розчин**, 1 флакон, 30 мл (40 x концентрований);

Див. «Підготовка реагентів».

Примітка: *Додатковий буфер для розведення зразків доступний за запитом.*

4.2 Необхідні реагенти, які не постачаються:

- Калібрований зчитувач мікротитрових планшетів (450 нм, з референсною довжиною хвилі від 620 нм до 630 нм) (наприклад, зчитувач мікропланшетів для інструментів DRG).
- Інкубатор для 37°C.
- Пробірки для розведення зразка.
- Відкалібровані змінні прецизійні мікропіпетки
- Абсорбуючий папір
- Дистильована вода
- Таймер
- Графічний папір або програмне забезпечення для скорочення даних

4.3 Умови зберігання

При зберіганні при температурі від 2 ° C до 8 ° C закриті реактиви зберігатимуть свою реакційну здатність до закінчення терміну придатності. Не використовуйте реагенти після закінчення цієї дати. Відкриті реактиви повинні зберігатися при температурі від 2 ° C до 8 ° C. Лунки для мікротитрування повинні зберігатися при температурі від 2 ° C до 8 ° C. Після відкриття пакету з фольги слід знову щільно його закрити. Відкриті набори зберігають активність протягом 8 тижнів, якщо зберігати їх, як описано вище.

4.4 Підготовка реагентів

Довести усі реагенти та необхідну кількість смужок до кімнатної температури (від 20 до 26°C) перед використанням.

Промивний розчин

Додайте дистильовану воду до 40X концентрованого промивного розчину. Розведіть 30 мл концентрованого промивного розчину 1170 мл дистильованої води до кінцевого об'єму 1200 мл.
Розведений промивний розчин стійкий протягом 2 тижнів при кімнатній температурі.

4.5 Утилізація набору

Утилізація набору та всіх використаних матеріалів/реагентів повинна проводитися відповідно до національних норм. Спеціальна інформація про цей продукт наведена у Паспорті безпеки, розділ 13.

4.6 Пошкодження тест-наборів

У разі будь-якого пошкодження тестового набору або компонентів, DRG необхідно повідомити письмово, не пізніше одного тижня після отримання набору. Пошкоджені окремі компоненти не слід використовувати для пробного запуску. Їх потрібно зберігати, поки не буде знайдено остаточне рішення. Після цього їх слід утилізувати відповідно до офіційних правил.

5. ЗАБІР І ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

Сироватку можна використовувати у цьому аналізі.

Примітка: Зразки, що містять азид натрію не можна використовувати в аналізі.

Загалом, слід уникати використання гемолітичних, жовтяничних або ліпемічних зразків. Для отримання додаткової інформації зверніться до глави «Інтерферуючі речовини».

5.1 Забір зразка

Сироватка:

Зібрати кров шляхом венепункції (наприклад, Sarstedt Monovette для сироватки), дати згорнутися і відокремити сироватку центрифугуванням при кімнатній температурі. Не центрифугувати до повного згортання. Для зразків крові пацієнтів, які отримують антикоагулянтну терапію, може знадобитися більше часу для згортання крові.

5.2 Підготовка і зберігання зразків

Зразки повинні бути закриті кришкою і можуть зберігатися до 7 днів при температурі від 2 ° C до 8 ° C до аналізу. Зразки, що зберігаються довше (до 12 місяців), перед аналізом слід заморожувати лише один раз при -20 ° C. Розморожені зразки перед тестуванням слід кілька разів перевернути.

5.3 Розведення зразків

Перед аналізом розведіть кожен зразок пацієнта **1:100 Буфером для розведення**.

Приклад:

Розведення 1: 100: зразок 5 мкл + 495 мкл *буфер для розведення* (ретельно перемішати)

Примітка: *Контроль якості готовий до використання і не потрібно розводити!*

6 ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ

6.1 Загальні зауваження

- Перед використанням всі реагенти та зразки повинні нагрітися до кімнатної температури. Всі реактиви необхідно змішати без спінювання.
- Після початку тестування всі кроки слід виконувати без перерви.
- Використовуйте нові наконечники для одноразових пластикових піпеток для кожного стандарту, контролю або зразка, щоб уникнути перехресного забруднення.
- Оптична щільність є функцією часу інкубації та температури. Перед початком аналізу рекомендується, щоб всі реактиви були готові, ковпачки зняті, усі необхідні лунки закріплені в тримачі тощо. Це забезпечить однаковий час для кожного етапу піпетування без перерви.
- Як правило, ферментативна реакція лінійно пропорційна часу та температурі.

6.2 Процедура тесту

Кожен запуск повинен включати стандартну криву.

1. Закріпіть потрібну кількість лунок для мікротитрування в штативі.
2. Додайте по **50 мкл** кожного з **нульових стандартів, стандартів, контролю якості та розведеного зразка** з **новими одноразовими наконечниками** у відповідні лунки.
3. Накрийте фольгою іта інкубуйте **60 хвилин** при температурі **37 ° C**.
4. Промийте лунки **3 рази** з **400 мкл розведеного промивного розчину** на лунку, якщо використовуєте промивач планшетів.

- АБО –

Різно струсіть вміст лунок.

Промийте лунки **3 рази розведеним промивним розчином 300 мкл** на лунку для ручного промивання. Різно витрусіть лунки на абсорбуючий папір для видалення залишків вологи.

Важлива примітка:

На чутливість та точність цього аналізу помітно впливає правильне виконання процедури промивання!

5. Додайте **50 мкл ферментного кон'югату** у кожен лунку.
6. Накрийте фольгою та інкубуйте **60 хвилин** при температурі **37 ° C**.
7. Промийте лунки **5 разів** з **400 мкл розведеного промивного розчину** на лунку, якщо використовується промивач планшетів.
- АБО –
Різно струсіть вміст лунок.
Промийте лунки **5 разів розведеним промивним розчином 300 мкл** на лунку для ручного промивання. Різно витрусіть лунки на абсорбуючий папір, щоб видалити залишки вологи.
8. Додайте **50 мкл розчину субстрату** у кожен лунку.
9. Інкубуйте протягом **30 хвилин** при кімнатній температурі.
10. Зупиніть ферментативну реакцію, додавши до кожної лунки **50 мкл стоп-розчину**.
11. Визначте оптичну щільність розчину в кожній лунці при **450 нм** (зчитування) та **при 620 нм до 630 нм (рекомендується фонове віднімання)** за допомогою зчитувача мікропланшетів. Рекомендується зчитати лунки **протягом 10 хвилин** після додавання **стоп-розчину**.

6.3 Обчислення результатів

1. Обчисліть значення середньої оптичної щільності (ОЩ) для кожного набору стандартів, контролів та зразків пацієнтів.
2. За допомогою графічного паперу побудуйте стандартну криву, позначивши середнє значення ОЩ, отримане з кожного стандарту, проти його концентрації зі значенням ОЩ на вертикальній осі (Y) та концентрацією на горизонтальній осі (X).
3. Використовуючи середнє значення ОЩ для кожного зразка, визначте відповідну концентрацію за стандартною кривою.
4. Автоматизований метод: результати в Інструкції з використання були розраховані автоматично за допомогою 4-х параметрів кривої. (4-параметричний Rodbard або 4-параметричний Marquardt є кращими методами.) Інші функції зменшення даних можуть давати дещо інші результати.
5. Концентрацію зразків можна зчитати безпосередньо з цієї стандартної кривої.

Стандарти вже попередньо розведені, тому розведення зразків 1:100 не слід враховувати для остаточного розрахунку концентрацій зразків.

6.3.1 Приклад типової стандартної кривої

Наступні дані призначені лише для демонстрації та **не можуть** бути використані замість генерації даних на момент аналізу.

Стандарт	Оптична щільність (450 нм)
Нульовий стандарт (0 О/мл)	0.03
Стандарт 1 (6 О/мл)	0.27
Стандарт 2 (25 О/мл)	0.94
Стандарт 3 (50 О/мл)	1.59
Стандарт 4 (100 О/мл)	2.50

7 ОЧІКУВАНІ ЗНАЧЕННЯ НОРМИ

Настійно рекомендується, щоб кожна лабораторія визначала свої значення норми та патології.

Нормальні значення 0 О/мл - 10 О/мл

Підвищені значення > 10 О/мл

Самі результати не повинні бути єдиною причиною для встановлення висновків. Результати слід співвідносити з іншими клінічними спостереженнями та діагностичними тестами.

8 КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Належна лабораторна практика вимагає, щоб контроль запускався з кожною калібрувальною кривою. Статистично значну кількість контролів слід проаналізувати, щоб встановити середні значення та допустимі діапазони для забезпечення належних показників. Рекомендується використовувати контрольні зразки відповідно до державних та федеральних норм. Використання контрольних зразків рекомендується для забезпечення і повсякденної достовірності результатів. Використовуйте контролі як на нормальному, так і на патологічному рівнях.

Контролі та відповідні результати лабораторії контролю якості зазначені у сертифікаті контролю якості, доданому до набору. Значення та діапазони, зазначені у сертифікаті контролю якості, завжди відносяться до поточної партії набору і повинні використовуватися для прямого порівняння результатів.

Використовуйте відповідні статистичні методи для аналізу контрольних значень та тенденцій. Якщо результати аналізу не відповідають встановленим прийнятним діапазонам контрольних матеріалів, то результати пацієнтів слід вважати недійсними. У цьому випадку, будь ласка, перевірте наступні технічні області: Пристрої для піпетування та вимірювання часу; фотометр, термін придатності реагентів, умови зберігання та інкубації, методи аспірації та промивання.

Якщо ви перевірили вивчені пункти і не знайшли жодної помилки, зверніться безпосередньо до свого дистриб'ютора або DRG.

9 РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

9.1 В аналізі

Середнє значення КВ: 6.40% (діапазон від 5.50 % до 7.80%)

Для визначення точності в аналізі, було використано 6 наборів із 6 різних партій (виготовлених у різні дні). Один зразок пацієнта (ОЩ > 1.0) застосовували 96 разів за процедуру тестування.

9.2 Між аналізами

Середнє значення КВ: 7.80% (діапазон від 5.50% до 9.60%)

Для визначення точності між аналізами використовували одну смужку з 12 наборів, що виходять з 6 різних партій (виготовлених у різні дні). Один зразок пацієнта (ОЩ > 1.0) застосовували 72 рази за процедуру тестування.

10 ОБМЕЖЕННЯ ЩОДО ВИКОРИСТАННЯ

Надійні та відтворювані результати будуть отримані, коли процедура аналізу буде виконана з повним розумінням інструкції та з дотриманням належної лабораторної практики.

Будь-яке неналежне поводження зі зразками або модифікація цього тестування можуть вплинути на результати.

10.1 Інтерферуючі речовини

Не слід застосовувати сильні гемолітичні або ліпемічні сироватки або сироватки від пацієнтів із захворюваннями печінки.

На результати можуть негативно впливати певні патологічні стани, такі як полі- та моноклональні гаммопатії, аутоімунні захворювання або зміна імунного статусу.

11 ПРАВОВІ АСПЕКТИ

11.1 Надійність результатів

Тестування необхідно проводити точно відповідно до інструкцій виробника. Крім того, користувач повинен суворо дотримуватися правил GLP (належної лабораторної практики) або інших відповідних національних стандартів та/або законів. Це особливо актуально для використання контрольних реагентів. Важливо завжди включати в процедуру тестування достатню кількість контролів для підтвердження точності та достовірності тестування. Результати тестування є дійсними лише за умови, що всі контролі знаходяться в межах зазначених діапазонів і якщо всі інші параметри тестування, також знаходяться в межах, що вказані в технічних характеристиках аналізу. У разі будь-яких сумнівів чи занепокоєнь, зверніться до DRG.

11.2 Терапевтичні висновки

Терапевтичні висновки ніколи не повинні базуватися лише на лабораторних результатах, навіть якщо всі результати аналізів відповідають пунктам, зазначеним в пункті 11.1. Будь-який лабораторний результат - це лише частина загальної клінічної картини пацієнта. Лише у випадках, коли результати лабораторних досліджень відповідають загальній клінічній картині пацієнта, можна робити терапевтичні висновки. Сам результат тесту ніколи не повинен бути єдиним визначальним фактором для отримання будь-яких терапевтичних висновків.

11.3 Відповідальність

Будь-які модифікації тестового набору та/або обмін або змішування будь-яких компонентів різних партій від одного набору до іншого може негативно вплинути на передбачувані результати та достовірність загального тесту. Така зміна та/або обмін не дає права висувати претензії щодо заміни. Претензії, подані через неправильне тлумачення клієнтами лабораторних результатів відповідно до пункту 11.2, також є недійсними. Незважаючи на це, у разі будь-яких претензій відповідальність виробника не повинна перевищувати вартість тестового набору. Виробник не несе відповідальності за будь-яке пошкодження тест-набору під час транспортування.



ВИРОБНИК

DRG Instrumente GmbH
вул. Фраунберг 18, 35039
м. Марбург, Німеччина
Тел.: +49(0)64 21/170 00
Факс: +49(0)64 21/17 00 50
www.drq-diagnostics.de
e-mail: drq@drq-diagnostics.de



УПВНОВАЖЕНИЙ ПРЕДСТАВНИК

ТОВ «ДІАМЕБ ТРЕЙД»
вул. Симона Петлюри, 25
м. Івано-Франківськ, 76014
тел.: +38 (0342) 775 122
факс: +38 (0342) 775 123
e-mail: info@diameb.ua
www.diameb.ua

