

НАБОР ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИСПЕРМАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ МЕТОДОМ ЛАТЕКС- АГГЛЮТИНАЦИИ В СЕМИНАЛЬНОЙ ПЛАЗМЕ И СЫВОРОТКЕ

BS-10-10, Anti-Spermatozoa Antibody Latex Agglutination Test

Каталог. № : **BS-10-10**
Количество : **96**
Производитель: **Bioserv**
Diagnostics, (Германия)

Методика от **01-08-2012**



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

НАЗНАЧЕНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Данный набор предназначен в качестве быстрого, надёжного полуколичественного скрининг-теста для определения антител к антигенам сперматозоидов человека. Тест может применяться для образцов семенной плазмы и сыворотки. Замечание: термины «антитела к антигенам сперматозоидов» и «антиспермальные антитела» являются эквивалентами. В этой инструкции используется громоздкий, но корректный термин «антитела к антигенам сперматозоидов».

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Многими исследованиями показано, что антитела, направленные против антигенов сперматозоидов (АСА), присутствующих в цервикальной слизи, жидкости из полости матки и семенной плазме, могут быть причиной бесплодия у мужчин и женщин. Данный набор рекомендуется для диагностики иммунологических причин бесплодия. Нежеланное бесплодие - растущая проблема, с которой сталкиваются до 20% всех пар репродуктивного возраста временно или постоянно. В 20% этих случаев обнаруживают АСА как у мужчин так и у женщин (Lahteenmaki A et al: Hum Reprod (1995) 10, 2824-28; Nagy ZP et al: Hum Reprod (1995) 10, 1775-80).

Определение бесплодия согласно ВОЗ (Лабораторное руководство ВОЗ по оценке человеческой спермы и взаимодействия спермы с цервикальным секретом, 1999) - отсутствие беременности в течение 12 месяцев без использования контрацепции при регулярной половой жизни. Основная причина иммунологических нарушений фертильности - формирование антител, направленных против антигенов сперматозоидов. АСА оказывают гетерогенное влияние на способность сперматозоидов к оплодотворению. Хорошо известен ингибирующий эффект АСА на подвижность сперматозоидов, которые, связываясь с их поверхностью, приводят к агглютинации (Zouari R и al: Fertii sierii (1993) 59,606-12). Проникновению сперматозоидов в цервикальную слизь мешает присутствие АСА в семенной плазме и/или в цервикальной слизи (Eggert-xruse w et al: Hum Reprod (1993) 8, 1025-31) АСА отрицательно влияют на капацитацию и акросомальную реакцию и, таким образом, препятствуют взаимодействию сперматозоидов с ооцитом (Francavilla F et al: Front Biosci (1999): 1; 4:9-25; Bohngg с ега.: Hum Reprod (2001) 7:113-8). Взаимодействие сперматозоидов с ооцитом и последующее закрепление u1080 и проникновение через zona pellucida может блокироваться АСА. На следующий этап: слияние ооцита и сперматозоида, присутствие АСА может также оказывать отрицательное влияние (Mazumdar s и al.: Fertii Sterii (Mazumdar s et al.: Fertii Sterii (1998) 70, 799-810; Kutteh WH: Hum Reprod, (1999) 14, 2426-9). Согласно Crosignani et al. (Crosignani et al.: PG e (al.: Hum Reprod (1998) i3, 2025-32) количество зачатий у пар с АСА у мужчины/женщины на 38%, ниже по сравнению с группами контроля. Кроме того, подтверждено влияние АСА на имплантацию и раннюю стадию развития эмбриона. Обсуждается ассоциация АСА и невынашивания беременности. Частота АСА в бесплодных парах составляет до 20% (Lahteenmaki A et al.: Hum Reprod (1995) 10, 2824-28; Nagy ZP et al.: Hum Reprod (1995) 10, 1775-80). АСА могут находиться в эякуляте или быть связанными с поверхностью сперматозоидов. АСА могут быть найдены у мужчин и женщин (Clarke GN et al.: Am J Reprod immunoI Microbiol (1985) 7,143-7). У женщин АСА могут обнаруживаться в цервикальной слизи, секрете фаллопиевых труб и фолликулярной жидкости. У людей,

имеющих более 50% сперматозоидов, покрытых АСА, заметно меньше процент зачатий (Abshagen K и al.: Fertii Steril (1998) 70, 355-6).

ПРИМЕНЕНИЕ

Данный набор рекомендуется для диагностики иммунологических причин бесплодия у мужчин и женщин.

ПРИНЦИПЫ МЕТОДА

В случае наличия специфических антител в образце, направленных против спермальных антигенов, латексные частицы, сорбированные антигеном, будут агглютинировать в течение 3-4 минут.

РЕАГЕНТЫ

(Достаточное количество на 50 определений)

	Название	Кол-во
1.	Суспензия спермальных антигенов	0,55 мл
2.	Положительный контроль (зелёная крышка)	0,30 мл
3.	Отрицательный контроль (красная крышка)	0,30 мл
4.	Буфер для разведения, концентрат 3х, (смешать перед использованием с 60 мл дистиллированной воды)	30,0 мл
5.	Палочка для перемешивания	10
6.	Слайды реакционные	5

ТРЕБУЕМЫЕ, НО НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

1. Пробирки для разбавления образцов.
2. Дистиллированная или деионизированная вода.
3. Дозаторы с наконечниками на 10, 20, 100 и 500 мкл.
4. Пожалуйста, используйте только калиброванные пипетки.

ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Набор предназначен только для диагностики *in-vitro*.
2. Не пипетировать реагенты ртом.
3. Пожалуйста, обращайтесь с образцами с предосторожностями как с потенциально инфекционным материалом.
4. Утилизируйте отходы в соответствии с национальными руководствами по биологической безопасности.

ИНСТРУКЦИИ ПО ПРИГОТОВЛЕНИЮ РЕАГЕНТОВ

1. Компоненты набора разработаны для использования как единое целое. Не используйте компоненты из других наборов.
2. Все реагенты и образцы должны достигнуть комнатной температуры перед использованием.
3. Все реагенты необходимо перемешивать, не допуская образования пены.
4. Не прерывайте последовательность операций при выполнении начатого анализа, работайте без задержек.
5. Используйте новый одноразовый наконечник для каждого образца.

РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ХРАНЕНИЮ И СРОКУ ГОДНОСТИ

1. Набор храните при температуре 2-8°C (36 - 46 °F).
2. Реагенты стабильны до истечения срока годности набора.
3. Закрывайте флаконы с реагентами сразу после использования.

ОБРАЗЦЫ

Семенная плазма, сыворотка

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Сыворотка:

Соберите кровь обычной венопункцией, позвольте ей свернуться и отделите центрифугированием при комнатной температуре, избегайте гемолиза. Избегайте повторного замораживания-размораживания. Храните пробирки закрытыми для предотвращения контаминации и разрушения образца.

Семинальная плазма:

Эякулят необходимо развести Буфером и центрифугировать для получения семинальной плазмы.

1. Используйте свежие образцы. Обращайтесь с ними как с инфекционно опасными материалами.
2. Неизвестна интерференция с внешними факторами или другими веществами.
3. Образец остается стабильным при хранении:
 - до 30°C в течение 3 дней,
 - при 2-8°C в течение 7 дней,
 - при замораживании до -10 - -20°C хранится до 1 года.

Внимание! Не существует методов, гарантирующих отсутствие любых инфекционных агентов, включая вирус гепатита В, ВИЧ (HIV/HTLV-III/LAV) в реагентах этого набора. Следовательно, все

биологические образцы человеческого происхождения, в том числе образцы крови и спермы, необходимо считать потенциально инфекционно опасными.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА СЕМИНАЛЬНОЙ ПЛАЗМЫ

1. Приготовление буфера для разведения: концентрат буфера для разведения (30 мл) необходимо разбавить 60 мл дистиллированной воды.
2. Разведите образцы 1:50 буфером для образцов (10 мкл образца + 490 мкл буфера). Тщательно перемешайте разведённый буфером образец и отцентрифугируйте при 1000 г в течение 10 минут.
3. Приготовьте серийные разведения супернатанта (1:50), разводя каждый раз очередное разведение в 2 раза (1:100, 1:200, 1:400, 1:800).
4. **Положительный и отрицательный контроли используются неразведёнными.**
5. **Перед использованием флакон с суспензией антигена сильно встряхивать на вортексе не менее 1 минуты!**
6. Внесите по 10 мкл суспензии антигена (в виде круга) в промаркированные сектора на слайдах. Добавьте 20 мкл контролей и разведённых образцов (1:100, 1:200, 1:400, 1:800).
7. Интенсивно перемешайте суспензию антигена и образцы на слайдах палочками для перемешивания.
8. Медленно покачивайте слайд в руках в течение 2-х минут.
9. Отметьте агглютинацию на слайде визуально через 3-4 минуты.

Пожалуйста, учтите, что тест считается положительным на присутствие антиспермальных антител только в случае, если агглютинация присутствует при разведении образца, начиная с 1:100 и выше. Следовательно, если есть агглютинация, реакцию следует проводить до разведения, при котором агглютинация уже не проявляется.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА СЫВОРОТКИ

1. Приготовление буфера для разведения: концентрат буфера для разведения (30 мл) необходимо разбавить 60 мл дистиллированной воды.
2. Разведите образцы 1:200 буфером для образцов (5 мкл образца + 995 мкл буфера).
3. Приготовьте серийные разведения супернатанта, разводя каждый раз очередное разведение в 2 раза (1:400, 1:800, 1:1600).
4. Положительный и отрицательный контроль используются неразведёнными.
5. **Перед использованием флакон с суспензией антигена сильно встряхивать на вортексе не менее 1 минуты!**
6. Внесите по 10 мкл суспензии антигена (в виде круга) в промаркированные сектора на слайдах. Добавьте 20 мкл контролей и разведённых образцов (1:200, 1:400, 1:800, 1:1600).
7. Интенсивно перемешайте суспензию антигена и образцы на слайдах палочками для перемешивания.
8. Медленно покачивайте слайд в руках в течение 2-х минут.
9. Отметьте агглютинацию на слайде визуально через 3-4 минуты.

Пожалуйста, учтите, что тест считается положительным на присутствие антиспермальных антител только в случае, если агглютинация присутствует при разведении образца, начиная с 1:200 и выше. Следовательно, если есть агглютинация, реакцию следует проводить до разведения, при котором агглютинация уже не проявляется.

ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ

1. **Положительная реакция:** После 3-4 минут определяется агглютинация по более или менее выраженной грануляции. Для сыворотки положительная реакция с разведением 1:200 эквивалентна результату 60 Ед в анализе образца с помощью набора BIOSERV-ELISA BS-10-20.
2. **Отрицательный результат:** Если не определяется агглютинация, и смешанные реактивы остаются жидкой суспензией без грануляции и1087 по виду напоминающей молоко.

Внимание: Не считывайте результаты позднее 7 минут после начала реакции агглютинации, в противном случае результаты могут стать нечёткими из-за эффекта испарения.

ОГРАНИЧЕНИЯ

- При температуре выше 30°C (86 °F) образцы необходимо транспортировать охлажденными.
- Не следует использовать сыворотки гемолитические или липемические или от пациентов с заболеваниями печени. Результаты могут быть недостоверными в некоторых клинических ситуациях: поли- и моноклональные гаммапатии, аутоиммунные заболевания или патология иммунной системы.



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
www.diameb.com