

Foglietto illustrativo del sistema

Per l'uso con l'analizzatore MIOXSYS® (Catalogo n. 100229) e i sensori MIOXSYS® (Catalogo n. 100283)

Per la misurazione qualitativa del potenziale di ossidoriduzione statica (sORP) come supporto per la valutazione della qualità dei campioni di sperma umano.

Descrizione

La misurazione del potenziale di ossidoriduzione statica (sORP) di un campione di sperma umano tramite il sistema MIOXSYS viene eseguita applicando un campione di sperma su un sensore MIOXSYS e inserendolo nell'analizzatore MIOXSYS. Il sistema MIOXSYS fornisce una rapida analisi diagnostica dello sperma *in vitro* utilizzando una tecnologia elettrochimica per la misurazione qualitativa (millivolt [mV]) del potenziale di ossidoriduzione statica (sORP) nello sperma umano.

Uso previsto

Il sistema MIOXSYS è un rapido test di diagnostica e analisi qualitativa dello sperma *in vitro* per uso professionale, che consente di valutare la qualità dello sperma in maschi di età compresa tra 21-45 anni che si stanno sottoponendo ad analisi di fertilità, come supporto in congiunzione con i parametri di analisi dello sperma WHO (volume di eiaculazione, concentrazione dello sperma, numero totale di spermatozoi, motilità totale, motilità progressiva e morfologia) in ambito accademico, ospedaliero, clinico e in laboratori di riferimento. Il sistema MIOXSYS non è stato progettato per l'uso presso punti di assistenza.

Riepilogo e spiegazione

La misurazione dello stress ossidativo è indicativo di uno sbilanciamento tra la manifestazione sistematica di specie reattive dell'ossigeno (ROS) e altri ossidanti, e della capacità biologica del sistema di disintossicare questi ossidanti o di riparare i danni che ne possono risultare. I disturbi del normale stato di riduzione-ossidazione (redox) delle cell possono provocare effetti sulle celle stesse, quali ad esempio l'ossidazione delle proteine, la perossidazione dei lipidi e la frammentazione del DNA.

Il potenziale di ossidoriduzione (ORP) è stato descritto come una misura integrata di bilanciamento tra l'attività ossidante totale (vale a dire le specie reattive dell'ossigeno [ROS], i tioli ossidati, i radicali superossidi, i radicali ossidrilici, i perossidi di idrogeno, gli ossidi di azoto, i perossinitriti, gli ioni metallo di transizione, ecc.) e l'attività riducente totale (vale a dire, i tioli liberi, gli ascorbati, gli alfa-tocoferoili, i beta-carotene, gli acidi urici, ecc.).¹

Il sistema MIOXSYS fornisce una misurazione conveniente e rapida dello stress ossidativo tramite la misurazione del potenziale di ossidoriduzione statica (sORP). La quantità di stress ossidativo confrontata con la quantità di stress riduttivo (bilanciamento redox) presente nel campione di sperma umano può essere misurata con un elettrodo sORP utilizzando il sistema MIOXSYS. I risultati del test MIOXSYS sono destinati ad essere utilizzati in congiunzione con i parametri standard di analisi dello sperma (volume di eiaculazione, concentrazione dello sperma, numero totale di spermatozoi, motilità totale, motilità progressiva e morfologia) come supporto per la valutazione della qualità dello sperma.

Gli studi hanno dimostrato una relazione inversa tra le specie reattive dell'ossigeno (ROS) e la concentrazione, la motilità e il volume dello sperma²⁻³; tuttavia, il ROS è solo uno dei fattori che contribuiscono allo stress ossidativo e può essere difficile da misurare. L'analisi del proteoma dello sperma umano può rilevare le modifiche presenti negli antiossidanti e negli ossidanti.⁴ Il vantaggio dei risultati del test MIOXSYS consiste nel fatto che prendono in considerazione sia l'attività degli ossidanti che quella degli antiossidanti, fornendo una misurazione totale dello stress ossidativo, senza la preparazione del campione.

Principi della procedura

Il sistema MIOXSYS si basa su una tecnologia elettrochimica che utilizza un sensore a elettrodi a base di platino con una cella di riferimento Ag/AgCl, e un analizzatore basato su un galvanostato che completa il circuito. Il campione di sperma umano viene applicato sul sensore, il quale viene poi inserito nell'analizzatore. Il campione fluisce lungo l'elettrodo e riempie la cella di riferimento, completando il circuito elettrochimico.

Una volta umidificate le superfici dell'elettrodo, viene misurata la tensione tra la cella di riferimento e il circuito elettrochimico ogni 0,5 secondo (o 2 Hz), mentre il contatore viene impostato su una tensione sufficiente a ottenere una corrente di ossidazione di 1 nA. La misurazione sORP risultante visualizzata riflette la media dei dieci (10) secondi (o venti [20] letture) finali della corsa. L'analisi del campione viene completata in circa tre (3) minuti. I valori sORP visualizzati al di sopra dell'intervallo normale implicano uno sbilanciamento tra gli ossidanti e gli antiossidanti (ossidanti elevati) e il segnale della presenza di stress ossidativo nel campione. Utilizzato in congiunzione con i parametri standard di analisi dello sperma (volume di eiaculazione, sperma totale, concentrazione dello sperma, motilità totale, motilità progressiva e morfologia), questo indicatore può essere di supporto nella valutazione della qualità dello sperma.

Materiali e attrezzatura

Materiali forniti

1. Sensori MIOXSYS (10 sensori per scatola).

Materiali o attrezzatura forniti separatamente

1. Analizzatore MIOXSYS.
2. Chiave di verifica di calibrazione (CVK) e scheda di verifica calibrazione dell'analizzatore MIOXSYS.
3. Soluzioni di controllo esterne MIOXSYS (di tipo basso e alto).

Materiali o attrezzatura necessari ma non forniti

1. Guanti in lattice senza polvere monouso o equivalenti.
2. Contenitori di raccolta sterili in grado di contenere $\geq 100\mu\text{L}$ di campione.
3. Miscelatore a vortice.
4. Puntali per micropipette sterili e in grado di fornire un volume di 30 μL .

Avvertenze e precauzioni

1. Solo per uso professionale.
2. I sensori MIOXSYS devono essere usati con l'analizzatore MIOXSYS.
3. Le caratteristiche delle prestazioni del sistema MIOXSYS sono state verificate solo su campioni di sperma umano.
4. Una raccolta, una conservazione e un trasporto appropriati dei campioni umani sono essenziali per risultati accurati.
5. Le soluzioni di controllo esterno devono essere mantenute alla temperatura ambiente di 5-30°C (41-86°F). **Non congelare.**
6. Le soluzioni di controllo esterne di tipo alto e basso devono essere usate per valutare le prestazioni del sistema MIOXSYS e non per il test dei campioni dei pazienti.
7. È necessario seguire le precauzioni universali per la manipolazione dei campioni nonché dei materiali e delle apparecchiature MIOXSYS.
8. Indossare guanti monouso durante la manipolazione dei campioni, e lavarsi accuratamente le mani dopo l'operazione.

9. Seguire il livello di biosicurezza 2 e le buone prassi da laboratorio prima e durante i test. Trattare tutti i campioni e i sensori MIOXSYS usati come oggetti potenzialmente in grado di trasmettere malattie infettive.
10. È necessario applicare i programmi di controllo della qualità per i laboratori di test moderatamente complessi CLIA (Emendamenti Clinici di Miglioramento del Laboratorio).
11. Ogni sensore MIOXSYS è sigillato in un astuccio ermetico e deve essere utilizzato una sola volta. Questo astuccio protettivo deve rimanere sigillato fino all'uso.
12. Gettare i sensori MIOXSYS immediatamente dopo l'uso, seguendo le linee guida per il corretto smaltimento dei liquidi biologici.
13. Non mangiare, bere o fumare in aree in cui vengono maneggiati campioni, sensori o soluzioni di controllo esterne.

Conservazione e stabilità

La stabilità dei sensori MIOXSYS è stata fissata su 15-30°C (59-86°F). I sensori MIOXSYS devono essere gettati dopo la data di scadenza indicata sull'etichetta.

Controllo della qualità

1. Le buone prassi da laboratorio raccomandano l'uso di verifiche di controllo della qualità esterne. Seguire le linee guida federali, statali e locali appropriate riguardanti l'esecuzione di controlli esterni.
2. Le soluzioni di controllo esterne MIOXSYS sono fornite separatamente (cat. n. 100279) ed è necessario individuarne nuovi lotti prima dell'uso.
3. Le soluzioni di controllo esterne MIOXSYS contengono valori sORP noti e sono utilizzate per confermare che il sensore MIOXSYS e l'analizzatore MIOXSYS funzionino correttamente insieme.
4. Sono disponibili due livelli, controllo di tipo basso e controllo di tipo alto. Il controllo di tipo basso produce un valore rappresentativo di un risultato normale, mentre il controllo di tipo alto produce un valore rappresentativo di un risultato anomalo.
5. È necessario utilizzare un sensore MIOXSYS diverso per ogni test di controllo della qualità.
6. Non si deve fare affidamento sui risultati del test del sistema MIOXSYS se i controlli esterni non producono risultati accurati.

I controlli dovrebbero essere eseguiti:

- Per il primo utilizzo dell'analizzatore oppure a fini formativi.
- Se il funzionamento dell'analizzatore è sospetto.
- Se il sensore è sospetto.
- Se i risultati del test non rientrano nell'intervallo previsto.
- Come parte delle verifiche di controllo della qualità della metrologia pianificata.
- Per conformarsi ai requisiti di controllo e accreditamento della qualità interna dei laboratori.
- Quando il test viene eseguito da un nuovo utente.
- Quando viene utilizzato un nuovo lotto di sensori.
- Quando la conservazione e la manipolazione dei sensori si scostano dalle condizioni specificate dal produttore (temperatura ambiente di 5-30°C [41-86°F]).

Quando si ottengono valori di controllo della qualità inaccettabili, tutti i risultati dei test devono essere considerati non validi.

Per ulteriori istruzioni, fare riferimento al foglietto illustrativo delle soluzioni di controllo esterne MIOXSYS.

Raccolta e manipolazione di campioni

I campioni di sperma devono essere raccolti in accordo con le linee guida pubblicate per la raccolta e la liquefazione per l'analisi dello sperma, e devono essere testati entro una (1) ora dalla liquefazione.

I campioni che non vengono testati entro una (1) ora dalla liquefazione devono essere congelati immediatamente dopo la liquefazione e conservati a -80° C fino al momento del test. I campioni possono essere congelati e scongelati una sola volta.

Procedura del test

A. Configurazione dell'analizzatore MIOXSYS

1. Posizionare analizzatore MIOXSYS su una superficie piana e piatta.
2. Prima di eseguire il test, è necessario portare i campioni di sperma alla temperatura ambiente di 5-30°C (41-86°F).
3. Premere il pulsante di accensione sull'analizzatore MIOXSYS. Il LED di alimentazione verde sul pulsante di alimentazione si illuminerà ad indicare che l'unità è accesa. Se si utilizza l'alimentazione CA, la schermata del display sarà retroilluminata.
4. "MIOXSYS", la data e l'ora appariranno sulla schermata del display per 3 secondi.
5. Quando l'analizzatore MIOXSYS è pronto, apparirà il messaggio "Inserire sensore" sulla schermata del display (Figura 1).



Figura 1. Analizzatore MIOXSYS

Test del campione

A. Inserimento del sensore

1. Dissigillare un sensore MIOXSYS.
2. Tenendo il sensore per i bordi del lato anteriore (Figura 2), inserire il sensore MIOXSYS verso l'alto, con gli elettrodi rivolti verso l'analizzatore MIOXSYS. Allineare l'estremità di inserimento della cavità con la cavità per il sensore sull'analizzatore MIOXSYS. Assicurarsi che il sensore sia completamente inserito prima di continuare la procedura di test.



Figura 2. Vista del sensore MIOXSYS

3. Una volta inserito correttamente il sensore MIOXSYS, apparirà il messaggio "In attesa del campione" sulla schermata del display, e inizierà il conto alla rovescia di 2 minuti per il rilevamento del campione.

B. Applicazione del sensore

- Il campione di sperma utilizzato per l'analisi sORP può essere sia fresco che congelato, ma deve essere a una temperatura ambiente di 5-30°C (41-86°F) al momento del test, e deve essere testato entro una (1) ora dalla liquefazione.
- Per ogni test sono necessari 30ul di campione, e il campione deve essere applicato utilizzando un puntale per micropipette sterile.
- Applicare il campione sulla porta di applicazione del campione presente sul sensore MIOXSYS inserito. Assicurarsi che l'intera porta sia coperta (Figura 3).



Figura 3. Vista del sensore raffigurante la porta di applicazione per il caricamento del campione

C. Analisi del campione

- Quando il campione raggiunge la cella di riferimento del sensore, il test viene avviato automaticamente. Il corretto funzionamento del test è indicato dal lampeggiamento della spia LED di test azzurra.
- Una volta avviato il test, sulla schermata del display viene visualizzato il messaggio "Campione in elaborazione" con il tempo rimanente per l'analisi.
- NOTA IMPORTANTE:** Durante il test, non premere nessun pulsante e non rimuovere il sensore.
- In caso di errori durante il test, viene visualizzato un codice di errore sulla schermata del display e si illumina il LED rosso di avviso. Annotare la lettura dell'errore come riferimento. Seguire le istruzioni su schermo per eliminare l'errore.

D. Risultati del test

- Dei segnali acustici indicano il completamento del test.
- I risultati del test verranno visualizzati sulla schermata del display nel seguente ordine:
 - 1.) Data 2.) Ora 3.) sORP (in millivolt o mV)
- NOTA IMPORTANTE:** Registrare la data, l'ora e il valore sORP come riferimento prima di rimuovere il sensore dall'analizzatore.
- Dopo la registrazione dei dati, rimuovere il sensore dalla sua cavità.



PRECAUZIONE: Gettare il sensore MIOXSYS usato osservando le linee guida per il corretto smaltimento dei liquidi biologici.

- Una volta rimosso il sensore MIOXSYS usato, è possibile testare altri campioni ripetendo questi passaggi, dopo l'inserimento di un nuovo sensore.
- Una volta completato il test dei campioni, è possibile "spegnere" l'analizzatore MIOXSYS spingendo e tenendo premuto il pulsante di alimentazione.

NOTA: Se l'analizzatore MIOXSYS è "accesso" ma non è attivo, si spegnerà automaticamente. Sulla schermata del display apparirà un messaggio di timeout di 15 secondi, con un segnale acustico emesso ogni secondi. L'orologio del timeout può essere resettato premendo un pulsante qualsiasi.

Per verificare la calibrazione:

La verifica della calibrazione tramite la chiave di verifica di calibrazione (CVK) deve essere eseguita dall'utente all'installazione dell'analizzatore MIOXSYS, e quindi a intervalli mensili per verificare che la strumentazione sia correttamente calibrata.

Premere il pulsante di accensione sull'analizzatore MIOXSYS. Il LED di alimentazione verde sul pulsante di alimentazione si illuminerà ad indicare che l'unità è accesa. Se si utilizza l'alimentazione CA, la schermata del display sarà retroilluminata.

- "MIOXSYS", la data e l'ora appariranno sulla schermata del display per 3 secondi.
- Inserire la CVK nello slot del sensore con il lato A rivolto verso l'alto. L'analizzatore MIOXSYS indicherà che la verifica della calibrazione è in esecuzione sul lato A.

Al termine della verifica, i risultati verranno visualizzati nel seguente ordine:

Lato A:
 ORP = Intervallo 99 mV - 101 mV
 ICell = Intervallo [-101 nA] - [-99 nA]

NOTA: Prima di rimuovere la CVK, registrare la data, l'ora e i risultati; confrontarli con gli intervalli accettabili elencati sulla scheda di verifica della calibrazione.
- Ripetere la procedura dopo aver inserito la CVK nello slot del sensore con il lato B rivolto verso l'alto.

Lato B:
 ORP = Intervallo 295,8 mV - 304,2 mV
 ICell = Intervallo [-30,4 nA] - [-29,6 nA]
- Se l'analizzatore MIOXSYS è fuori calibrazione, smettere di utilizzare la strumentazione e contattare Aytu BioScience, Inc. al numero 855.298.8246

Interpretazione dei risultati

La misurazione sORP visualizzata riflette la media dei dieci (10) secondi (o venti [20] letture) finali dell'analisi. L'analisi del campione viene completata in circa tre (3) minuti. I valori sORP oltre l'intervallo normale indicano un cambiamento nel bilanciamento tra gli ossidanti e gli antiossidanti, a favore dei primi, e la presenza di stress ossidativo nel campione.

NOTA: Di seguito è illustrato un esempio di come vengono calcolati e normalizzati i valori sORP della concentrazione di sperma.

Numero	Campione	Data	Ora	sORP (mV)
1	Paziente A	29/05/2015	10:13	76,8

Concentrazione di sperma = 626×10^6 /mL; sORP paziente = 76,8 mV; sORP normalizzato = $76,8/62,6 \times 10^6$ mL = 1,22 mV/ 10^6 mL sperma

Caratteristiche della prestazione

	Qualità anomala		Qualità normale	
	MIOXSYS/ Criteri di qualità non soddisfatti	Sensibilità (95%CI)	MIOXSYS/ Criteri di qualità soddisfatti	Specificità (95%CI)
Sito Int'l (n=365)	205/324	63,3% (57,8-68,5)	36/41	87,8% (73,8-95,9)
Sito USA (n=93)	48/74	64,9% (52,9-75,6)	17/19	89,5% (66,9-98,7)
Totale (n=458)	252/398	63,4% (58,5-68,1)	53/60	88,3% (77,4-95,2)

Il test MIOXSYS è stato progettato come test di livello uno altamente specifico, con un valore di previsione complessivo di 97,3% (CI =94,5-98,9). Ciò significa che vi è una possibilità del 97% che un campione di sperma con un valore ORP superiore a (>) $1,38 \text{mV}/10^6 \text{mL}$ presenti una qualità anomala, in base a quanto determinato dai parametri dello sperma evidenziati nella corrente edizione del manuale WHO per l'analisi dello sperma.

PRUEBAS DE SUSTANCIAS DE INTERFERENCIA

Las siguientes sustancias, a las concentraciones saturadas de disolvente / diluyente especificadas, no interfieren con los resultados del ensayo: WBC (1×10^6) saliva, sangre entera (10%). Sangre entera en concentraciones superiores al 10% interfiere con el Sistema MIOXSYS.

Se realizaron ensayos adicionales con muestras anormales y normales de semen (según los últimos criterios de la O.M.S., se inocularon hormonas corporales a una concentración final de 20 µg / ml. Las siguientes sustancias no interfieren con los resultados del ensayo: Acetato 19-noretindrona, testosterona, β-estradiol, Noregestrel. Las siguientes propiedades antioxidantes, a las concentraciones saturadas de disolventes / diluyentes indicadas, no interfieren con los resultados del ensayo: ácido ascórbico (<168 µM), folato (84 nM) y selenio (27,5 µg / ml).

REACTIVIDAD CRUZADA

Se realizaron estudios de reactividad cruzada con muestras de semen anormales y normales (según los últimos criterios de la O.M.S., inoculadas con organismos bacterianos o fúngicos hasta una concentración final de $1,2 \times 10^6$ CFU/mL y 3.1×10^4 CFU/mL. Ninguno de los siguientes organismos reaccionó con el Sistema MIOXSYS: Escherichia coli, Corynebacterium diphtheria, Neisseria gonorrhoea, y Chlamydia trachomatis.

Limitazioni

- Le caratteristiche prestazionali non sono state accertate per i campioni testate a più di una (1) ora dalla liquefazione.
- Questo test è adatto per l'uso con campioni di sperma con concentrazione superiore o uguale a (≥) a 1 milione.
- Problemi di viscosità e liquefazione del campione possono influire sul flusso del campione stesso e interferire con la sua corretta migrazione verso la cella di riferimento del sensore.
- La centrifugazione ripetuta può portare a un aumento artificiale dei valori sORP a causa delle forze di taglio generate dalla centrifugazione.
- I campioni di sperma devono essere portati alla temperatura ambiente di 5-30°C (41-86°F) prima del test.
- I valori sORP sono destinati ad essere utilizzati in congiunzione con i parametri standard di analisi dello sperma (volume di eiaculazione, concentrazione dello sperma, numero totale di spermatozoi, motilità totale, motilità progressiva e morfologia) come supporto per la valutazione della qualità dello sperma.
- Le caratteristiche prestazionali non sono state accertate per pazienti al di sotto dei 21 anni e al di sopra dei 45 anni.
- Le caratteristiche prestazionali non sono state accertate per campioni sottoposti a più di un (1) ciclo di congelamento/scongelo.
- Le caratteristiche prestazionali non sono state accertate per campioni raccolti tramite lubrificanti o conservati in crioprotettori.

Riferimenti

- Pons-Reiraj, H., et al., [Role of Reactive Oxygen Species (ROS) on Human Spermatozoa and Male Infertility/Ruolo delle specie reattive dell'ossigeno (ROS) sugli spermatozoi umani e sull'infertilità maschile]. *Gynecol Obstet Fert (Ginecologia, ostetricia e fertilità)*, 2009. 37(6): pp. 529-35.
- Agarwal, A., et al., Characterizing Semen Parameters and Their Association with Reactive Oxygen Species in Infertile Men (Caratterizzazione dei parametri dello sperma e loro associazione con le specie reattive dell'ossigeno negli uomini sterili). *Reprod Biol Endocrinol (Biologia ed endocrinologia riproduttiva)*, 2014. 12: p. 33.
- Du Plessis, S.S., et al., Contemporary evidence on the physiological role of reactive oxygen species in human sperm function (Evidenza contemporanea del ruolo psicologico delle specie reattive dell'ossigeno nella funzione dello sperma umano). *J Assist Reprod Genet (Rivista di riproduzione assistita e genetica)*, 2015. 32(4): p. 509-20.
- Intasqui, P., et al., Differences in the seminal plasma proteome are associated with oxidative stress levels in men with normal semen parameters (Le differenze nel proteoma del plasma seminale sono associate ai livelli di stress ossidativo in uomini con parametri seminali normali). *Fertil Steril*, 2015.

Per effettuare ordini, porre domande e chiedere assistenza tecnica, contattare:

Aytu BioScience, Inc.
 Tel: (720) 437-6580
 E-mail: info@aytubio.com
 Sito Web: www.aytubio.com

Glossario dei simboli

	Produttore		Consultare le istruzioni per l'uso
	Dispositivo medico per diagnostica in vitro		Marchio CE (il prodotto soddisfa i requisiti delle direttive CE applicabili)
	Marchio di certificazione degli Underwriters Laboratories		Numero del catalogo
	Numero di serie		Rischio biologico
	Riutilizzo non consentito		Usare cautela
	Rappresentante autorizzato		

mioxsys

AYTU
BioScience

Aytu BioScience
 373 Inverness Parkway
 Suite 206
 Englewood, CO 80112
 USA

Australian Sponsor
 Emergo Australia
 201 Sussex Street
 Darling Park, Tower II
 Level 20
 Sidney, NSW 2000
 Australia



Emergo Europe
 Prinsessegracht 20
 2514 AP The Hague
 Netherlands
 Tel.: +31.70.345.8570
 Fax: +31.70.346.7299
 e-mail: europa@emergogroup.com