



# LeucoScreen Plus

**Полуколичествен хистохимичен комплект за определяне на положителни на пероксидаза бели кръвни клетки в човешка сперма**

**IVD**

Идентификационен номер на документа:  
FP09 I111 R01 B.2  
Актуализация: 14/05/2024

## ВКЛЮЧЕНИ МАТЕРИАЛИ

### Каталожен номер

#### LeucoScreen Plus

LEUCO_PLUS	LeucoScreen Plus – 40 days of analysis
------------	--

## ТЕХНИЧЕСКА ПОДДРЪЖКА ЗА КЛИЕНТИТЕ

FertiPro NV  
Industriepark Noord 32  
8730 Veernem / Belgium  
Tel +32 (0)50 79 18 05  
Fax +32 (0)50 79 17 99  
URL: www.fertipro.com  
E-mail: info@fertipro.com



## LeucoScreen Plus

Само за инвитро диагностична употреба.  
Реактив само за професионална употреба.

## ОБЩА ИНФОРМАЦИЯ

Повечето човешки еякулати съдържат левкоцити, а преобладаващата форма на левкоцити в човешката сперма са положителните на пероксидаза гранулоцити<sup>(1-4)</sup>. Прекомерното наличие на тези клетки (левкоцитоспермия) може да показва наличие на инфекция на репродуктивния тракт. Левкоцитоспермията може да бъде свързана и с дефекти в профила на спермата (намаляване на подвижността на сперматозоидите и целостта на ДНК, повишаване на вискозитета на спермата, както и загуба на функцията на сперматозоидите в резултат на оксидативен стрес и/или секреция на цитотоксични цитокини от тези бели кръвни клетки)<sup>(5, 6)</sup>. Въпреки че левкоцитоспермията не е абсолютен признак за безплодие, това състояние се наблюдава средно при 10 до 20 % от всички безплодни мъже<sup>(7)</sup>. Според Световната здравна организация (WHO) наличието на повече от един милион положителни на пероксидаза бели кръвни клетки (WBC) на милилитър еякулат се счита за аномално и се обозначава като „левкоцитоспермия“<sup>(4)</sup>. Този праг обаче е предмет на дискусии, тъй като някои смятат, че тази стойност е твърде ниска, а други – твърде висока. Действително, докладвани са прагови нива от  $0,2 \times 10^6$  до  $2 \times 10^6$ <sup>(7-9)</sup>. Когато се превиши прагът от един милион положителни на пероксидаза WBC на милилитър еякулат, трябва да се направят микробиологични изследвания, за да се установи дали има инфекция на аксесорната жлеза. Оценката на маркерите на аксесорната жлеза може да предостави допълнителна полезна информация за правилното функциониране на епидидимиса (EpiScreen Plus, FertiPro NV), семенните мехурчета (Fructose Test, FertiPro NV) или простатата. Важно е да се отбележи, че отсъствието на левкоцити не изключва възможността за инфекция на аксесорната жлеза.

## ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

LeucoScreen Plus е полуколичествен, неавтоматизиран, хистохимичен и диагностичен комплект за определяне на положителни на пероксидаза бели кръвни клетки в човешка сперма.

Броят на тестовете, които могат да бъдат извършени с комплекта LeucoScreen Plus, не е посочен, а вместо това комплектът е проектиран за 40 дни анализ по време на експлоатационния период на комплекта (могат да бъдат направени 20 работни разтвора, които са стабилни в продължение на 2 последователни дни).

## МАТЕРИАЛИ, ВКЛЮЧЕНИ В ТЕСТА

Реактив 1 – 6 ml субстратен разтвор (4-CN в метанол)  
Реактив 2 – 300 µl 30 % водороден пероксид  
Реактив 3 – 22 ml буферен разтвор  
Реактив 4 – 1.2 ml разтвор на контраоцветител  
Сертификат за анализ и MSDS се предоставят при поискване или могат да бъдат изтеглени от нашия уебсайт(www.fertipro.com).

## НЕОБХОДИМИ МАТЕРИАЛИ, КОИТО НЕ СЕ ПРЕДОСТАВЯТ

Микроскопски предметни стъкла, покривни стъкла, епруветки (Eppendorf), пипети, микроскоп за светло поле.

**Забележка:** Препоръчва се да се използва светлинен, а не фазово-контрастен микроскоп, тъй като последният може да доведе до трудности при тълкуването.

## ПРИНЦИП НА ТЕСТА

Когато се прави типичен анализ на спермата, е много трудно да се разграничат белите кръвни клетки от други видове кръгли клетки в пробата от сперма (например сперматогенни прогениторни клетки<sup>(10)</sup>).

LeucoScreen Plus използва присъщата пероксидазна активност на някои бели кръвни клетки и следователно може да се използва за разграничаване на пероксидазоположителните бели кръвни клетки (напр. полиморфонуклеарни (PMN) гранулоцити и макрофаги) в проба от човешка сперма от други видове кръгли клетки.

В присъствието на Реактив 2 ( $H_2O_2$ ), миелопероксидазата в левкоцитните гранули окислява Реактив 1 (4-CN) до синьо-лилава утайка (4-хлоро-1-нафтон). Реактив 4 съдържа разтвор на контраоцветител, за да се улесни разграничаването на положителните от отрицателните на пероксидаза кръгли клетки.

## МЕТОД

Преди да използвате за първи път комплекта LeucoScreen Plus, силно препоръчваме да следвате програмата за обучение и да изгледате демонстрационния видеоклип, който е достъпен на нашия уебсайт. Видеоклипът може да бъде изтеглен и чрез сканиране на този QR-код:



## Видове проби

Тестът трябва да се извършва върху пресни проби от човешка сперма, съдържащи повече от  $1 \times 10^6$  кръгли клетки на ml.

## Взимане на проби

Трябва да се използват стандартни контейнери за събиране на сперма, когато спермата се събира чрез мастурбация. Те обикновено се правят от полипропилен и се тества оцеляването/подвижността на сперматозоидите. Когато не се препоръчва събирането на сперма чрез мастурбация, трябва да се използват презервативи от синтетичен материал, които не са токсични за спермата. Съхранявайте контейнера за събиране на сперма на стайна температура, преди да добавите семенната проба, за да избегнете големи температурни промени, които могат да повлияят на сперматозоидите. Тестът трябва да се извърши в рамките на същия ден след вземането на спермата.

## Предупреждение преди употреба

Не използвайте продукта, ако уплътнението на бутилките е отворено или повредено при доставката на комплекта.

## Подготовка на реактива

Реактив 1 трябва да съдържа бистра течност, не използвайте комплекта, ако течността е пожълтяла.

## МЕТОД

1. Запишете броя на кръглите клетки, докато определяте концентрацията на сперматозоидите по време на рутинен семенен анализ. Изчислете и запишете общата концентрация на кръгли клетки в ml/ml, тъй като тя ще бъде необходима за изчисляване на концентрацията на положителните на пероксидаза бели кръвни клетки. Когато концентрацията на кръгли клетки надхвърля  $1 \times 10^6$  на ml, е показан тестът LeucoScreen Plus.

- Пригответе работен разтвор: Добавете следните обеми в епруветка Eppendorf и разбъркайте добре
  - 200 µl Реактив 1
  - 5 µl Реактив 2
  - 1 ml Реактив 3

Този работен разтвор е стабилен в продължение на 48 часа, когато се съхранява при температура 2-8°C, защитен от (слънчева) светлина.

- Вземете 10 µl от семенната проба и добавете 20 µl от работния разтвор. Разбъркайте добре.
- Инкубирайте за две минути на тъмно при стайна температура.
- Прехвърлете 10 µl от сместа в средата на микроскопско стъкло и добавете 10 µl от Реактив 4. Разбъркайте добре, като използвате ръба на покривното стъкло.
- Покрийте с покривното стъкло.
- Пребройте и класифицирайте общо 200 кръгли клетки, като използвате увеличение 400x. Сканирайте различни микроскопски полета (за предпочитане 20).
- След всеки отделен тест изхвърлете всички използвани реактиви и материали.

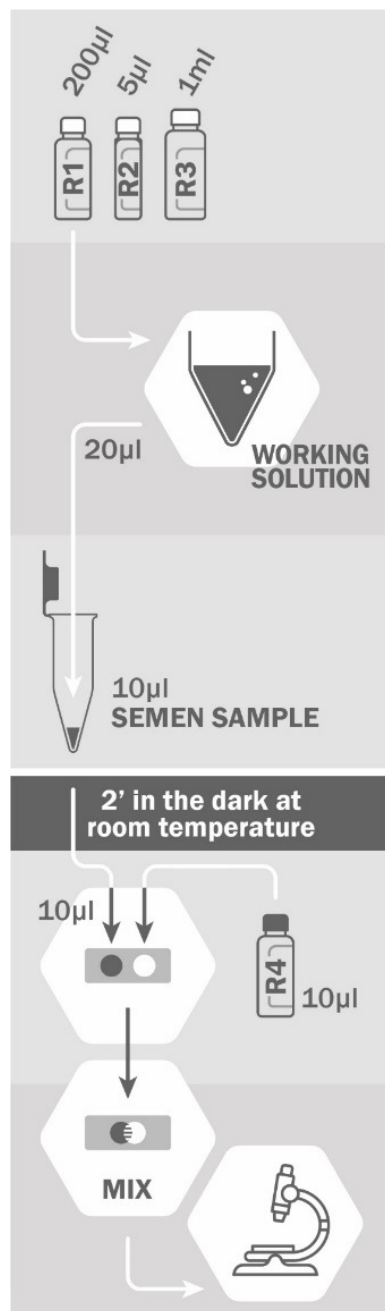
**Забележка:** При някои семенни проби може да предпочетете да обогатите концентрацията на кръгли клетки, за да улесните преброяването им. Затова центрофугирайте пробата за 15 минути при 350 g, отделете част от спермата и ресуспендирайте пелетата.

В случай на много висока концентрация на кръгли клетки (т.е. над  $20 \times 10^6$  на ml), силно се препоръчва пробата да се разрежи в PBS или във FertiCult™ Flushing medium.

## ТЪЛКУВАНЕ

- Положителни на пероксидаза кръгли клетки: съдържат (синкаво-) черни гранули и имат антрацитно-сива цитоплазма. Тази антрацитна зона може да обхваща цялата клетка или само част от нея.
- Отрицателни на пероксидаза кръгли клетки: остават неочветени или могат да бъдат розови. Гранулите, наблюдавани в неочветени клетки, не са заобиколени от типичния антрацитен цвят, който се наблюдава в положителните клетки.

## Графично представяне на протокола:



## ИЗЧИСЛЯВАНЕ НА КОНЦЕНТРАЦИЯТА НА ПОЛОЖИТЕЛНИТЕ НА ПЕРОКСИДАЗА БЕЛИ КРЪВНИ КЛЕТКИ

- Изчислява се делът на положителните на пероксидаза клетки, както следва:

$$\text{ДЯЛ ПОЛОЖИТЕЛНИ КРЪГЛИ КЛЕТКИ} = \frac{\text{ПОЛОЖИТЕЛНИ КРЪГЛИ КЛЕТКИ}}{\text{Брой ПОЛОЖИТЕЛНИ КРЪГЛИ КЛЕТКИ + Брой ОТРИЦАТЕЛНИ КРЪГЛИ КЛЕТКИ}}$$

- Сега изчислете концентрацията на положителните на пероксидаза бели кръвни клетки в семенната проба, както следва:

$$\text{КОНЦЕНТРАЦИЯ (mill/mL)} = \text{Дял положителни кръгли клетки} \times \text{обща концентрация на кръгли клетки}$$

Пример:

- Общата концентрация на кръгли клетки е 2 mill/ml (определя се по време на анализа на концентрацията на сперматозоидите)
- Тестът LeucoScreen Plus показва 120 положителни кръгли клетки и 80 отрицателни кръгли клетки
- Дял положителни кръгли клетки =  $\frac{120}{(120+80)} = 0.6$
- Концентрация на положителни на пероксидаза бели кръвни клетки =  $0.6 \times 2 \text{ mill/ml} = 1.2 \text{ mill/ml}$

## ОГРАНИЧЕНИЯ НА МЕТОДА

Този тест е помощно средство при диагностицирането на мъжкото безплодие и, както и при другите биологични тестове, тълкуването на резултатите трябва да се извършва в рамките на клиничните данни и данните от анамнезата. Тестът LeucoScreen Plus оцветява само положителни на пероксидаза WBC, други видове WBC (напр. лимфоцити и моноцити) не се откриват.

## PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Повторяемост и възпроизводимост:  $CV_{\text{intra}} < 15\%$ ,  $CV_{\text{inter}} < 15\%$

Процент на положително съгласие: 88 %, процент на отрицателно съгласие: 96 %

## STORAGE/DISPOSAL

- Комплектът е стабилен в продължение на поне 12 месеца след датата на производство (дори след отваряне).
- Не използвайте след изтичане на срока на годност, посочен на етикета на продукта.
- Съхранявайте реактивите при температура между 2°C и 25°C.
- Не замразявайте.
- Пазете от (слънчева) светлина
- Бутилките трябва да се държат плътно затворени през цялото време.
- Работният разтвор може да се съхранява до 48 часа при 2—8°C, защитен от (слънчева) светлина.
- Реактивите трябва да се обезвредят в съответствие с местните разпоредби за обезвреждане на медицински изделия.

## ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

Препоръчва се използването на ръкавици.

**Реактив 1** съдържа метанол: силно запалима течност и пари, токсичен при поглъщане, контакт с кожата или вдишване, причинява увреждане на органите.

**Реактив 2** съдържа H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: вреден при поглъщане или вдишване; причинява сериозно увреждане на очите. Носете защита за очите/лицето.

**Реактив 3** съдържа ProClin 950: Причинява тежки изгаряния на кожата и увреждане на очите, може да предизвика алергична кожна реакция.

Всички семенни проби трябва да се считат за потенциално инфекциозни. С всички проби трябва да се работи както с такива, които могат да предадат ХИВ или хепатит. Винаги използвайте нови накрайници за пипети за всяка стъпка, за да избегнете кръстосано замърсяване. Не изхвърляйте продукта в околната среда.

Всеки възникнал сериозен инцидент (както е дефиниран в Европейския Регламент 2017/746 за медицинските изделия за инвитро диагностика) следва да се докладва на FertiPro NV и, ако е приложимо, на компетентния орган на държавата членка на ЕС, в която е установен потребителят и/или пациентът.

## ИЗПОЛЗВАНА ЛИТЕРАТУРА


1. Wolff H, Anderson DJ. Immunohistologic characterization and quantitation of leukocyte subpopulations in human semen. Fertil Steril. 1988;49(3):497-504.
2. Aitken RJ, West KM. Analysis of the relationship between reactive oxygen species production and leucocyte infiltration in fractions of human semen separated on Percoll gradients. Int J Androl. 1990;13(6):433-51.
3. Barratt CL, Bolton AE, Cooke ID. Functional significance of white blood cells in the male and female reproductive tract. Hum Reprod. 1990;5(6):639-48.
4. Geneva: World Health Organization. WHO Laboratory manual for the examination and processing of human semen. 2021;sixth edition.
5. Aitken RJ, Clarkson JS, Fishel S. Generation of reactive oxygen species, lipid peroxidation, and human sperm function. Biol Reprod. 1989;41(1):183-97.
6. Hill JA, Haimovici F, Politch JA, Anderson DJ. Effects of soluble products of activated lymphocytes and macrophages (lymphokines and monokines) on human sperm motion parameters. Fertil Steril. 1987;47(3):460-5.
7. Wolff H. The biologic significance of white blood cells in semen. Fertil Steril. 1995;63(6):1143-57.
8. Sharma RK, Pasqualotto AE, Nelson DR, Thomas AJ, Jr., Agarwal A. Relationship between seminal white blood cell counts and oxidative stress in men treated at an infertility clinic. J Androl. 2001;22(4):575-83.
9. Punab M, Loivukene K, Kermes K, Mandar R. The limit of leucocytospermia from the microbiological viewpoint. Andrologia. 2003;35(5):271-8.
10. Johansson E, Campana A, Luthi R, de Agostini A. Evaluation of 'round cells' in semen analysis: a comparative study. Hum Reprod Update. 2000;6(4):404-12.

## РЕЧНИК НА СИМВОЛИТЕ

### Символи, както са определени в ISO 15223

	Каталожен номер
	Код на партидата
	Вижте инструкциите за употреба
	Производител
	Инвитро диагностика
	Температурна граница
	Срок на годност
	Да се пази от слънчева светлина

### Символ, както е определен в Регламент 2017/746 (IVDR)

	Маркировка CE от нотифициран орган 2797
---	---

### Символ, както е определен в Регламент (ЕО) № 1272/2008 [CLP]

	GHS08 Сериозна опасност за здравето
	GHS02 Запалима течност
	GHS06 Остра токсичност
	GHS07 Опасност за здравето
	GHS05: Корозия/дразнене на кожата