



# LeucoScreen Plus

**Ημιποσοτικό ιστοχημικό κιτ για τον προσδιορισμό των θετικών στην υπεροξειδάση λευκών αιμοσφαιρίων σε ανθρώπινο σπέρμα**

IVD

Ταυτότητα εγγράφου: FP09 I111 R01 B.2  
Ενημέρωση: 14/05/2024

## ΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΟΜΕΝΟ ΥΛΙΚΟ

### Αριθμός καταλόγου

#### LeucoScreen Plus

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

### ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΠΕΛΑΤΩΝ-ΤΕΧΝΙΚΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ

FertiPro NV  
Industriepark Noord 32  
8730 Beernem / 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

Μόνο για διαγνωστική χρήση *in vitro*  
Αντιδραστήριο μόνο για επαγγελματική χρήση

### ΓΕΝΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

Η πλειοψηφία του ανθρώπινου σπέρματος περιέχει λευκοκύτταρα και η κύρια μορφή λευκοκυττάρων στο ανθρώπινο σπέρμα είναι τα θετικά στην υπεροξειδάση κοκκιόκυτταρα<sup>(1-4)</sup>. Η υπερβολική παρουσία των κυττάρων αυτών (λευκοκυτταροσπερμία) μπορεί να υποδηλώνει την παρουσία λοίμωξης του αναπαραγωγικού συστήματος. Η λευκοκυτταροσπερμία μπορεί επίσης να συσχετίζεται με ελαττώματα στο σπερματικό προφίλ (μείωση της κινητικότητας του σπέρματος και της ακεραιότητας του DNA, αύξηση του ιξώδους του σπέρματος καθώς και μειωμένη λειτουργία του σπέρματος ως αποτέλεσμα οξειδωτικού στρες, ή/και έκκριση κυτταροτοξικών κυτταροκινών από αυτά τα λευκά αιμοσφαίρια)<sup>(5,6)</sup>. Παρόλο που η λευκοκυτταροσπερμία δεν αποτελεί απόλυτη ένδειξη υπογονιμότητας, η πάθηση αυτή παρατηρείται κατά μέσο όρο στο 10 με 20% των υπογόνιμων ανδρών<sup>(7)</sup>. Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας, η παρουσία περισσότερων από ενός εκατομμυρίου θετικών στην υπεροξειδάση λευκών αιμοσφαιρίων (WBC) ανά ml σπερματικού υγρού θεωρείται μη φυσιολογική και επισημαίνεται ως «λευκοκυτταροσπερμία»<sup>(4)</sup>. Ωστόσο, το κατώτερο όριο αυτό είναι υπό συζήτηση, καθώς ορισμένοι έχουν υποστηρίξει ότι η τιμή αυτή είναι πολύ χαμηλή και άλλοι ότι είναι πολύ υψηλή. Πράγματι, έχουν αναφερθεί και οριακά επίπεδα από<sup>(7-9)</sup> 0.2 x10<sup>6</sup> – 2x10<sup>6</sup>. Όταν υπερβαίνεται το όριο του ενός εκατομμυρίου θετικών στην υπεροξειδάση WBC ανά ml σπερματικού υγρού, θα πρέπει να εκτελούνται μικροβιολογικές εξετάσεις για τη διερεύνηση ύπαρξης λοίμωξης σε κάποιον βοηθητικό αδένα. Η αξιολόγηση δεικτών για τους βοηθητικούς αδένες μπορεί να προσφέρει πρόσθετες χρήσιμες πληροφορίες για τη σωστή λειτουργία της επιδιδυμίδας, (EpiScreen Plus, FertiPro NV), των σπερματοδόχων κύστεων (Fructose Test, FertiPro NV) ή του προστάτη. Σημαντικό σημείο είναι ότι η απουσία λευκοκυττάρων δεν αποκλείει την πιθανότητα λοίμωξης σε βοηθητικού αδένες.

### ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Το LeucoScreen Plus είναι ένα ημι-ποσοτικό, μη αυτοματοποιημένο, ιστοχημικό και διαγνωστικό κιτ για τον προσδιορισμό των θετικών στην υπεροξειδάση λευκών αιμοσφαιρίων σε ανθρώπινο σπέρμα. Ο αριθμός των εξετάσεων που μπορούν να διενεργηθούν με το κιτ LeucoScreen δεν προσδιορίζεται. Αντ' αυτού, το κιτ είναι σχεδιασμένο για 40 ημέρες αναλύσεων κατά τη

διάρκεια του κύκλου ζωής του κιτ (δυνατότητα παρασκευής 20 διαλυμάτων εργασίας, τα οποία παραμένουν σταθερά για 2 συνεχόμενες ημέρες).

### ΥΛΙΚΟ ΠΟΥ ΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΕΤΑΙ ΣΤΗΝ ΕΞΕΤΑΣΗ

Αντιδραστήριο 1 – 6 ml διαλύματος υποστρώματος (4-CN σε μεθανόλη)  
Αντιδραστήριο 2 – 300 μl 30% υπεροξειδίου υδρογόνου  
Αντιδραστήριο 3 – 22 ml ρυθμιστικού διαλύματος  
Αντιδραστήριο 4 – 1.2 ml of διαλύματος αντιχρώσης  
Το πιστοποιητικό ανάλυσης και τα ΔΔΑΥ είναι διαθέσιμα κατόπιν αιτήματος ή μπορούν να μεταφορτωθούν από τον ιστότοπο (www.fertipro.com).

### ΕΞΕΤΑΣΗ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΟ ΥΛΙΚΟ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΕΤΑΙ

Πλακίδια μικροσκοπίου, καλυπτρίδες, σωληνάρια (erpendorf), πιπέτες, μικροσκόπιο φωτεινού πεδίου.  
**Σημείωση:** Συνιστάται η χρήση φωτονικού μικροσκοπίου, αλλά όχι μικροσκοπίου αντίθεσης φάσεων καθώς αυτό θα μπορούσε να οδηγήσει σε ερμηνευτικές δυσχέρειες.

### ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΗΣ

Όταν εκτελείται μια τυπική ανάλυση σπέρματος, είναι πολύ δύσκολη η διάκριση μεταξύ λευκών αιμοσφαιρίων και άλλων ειδών στρογγυλών κυττάρων στο δείγμα σπέρματος (για παράδειγμα πρόδρομων σπερματογόνων κυττάρων<sup>(10)</sup>). Το LeucoScreen Plus χρησιμοποιεί την εγγενή δραστηριότητα υπεροξειδάσης ορισμένων λευκών αιμοσφαιρίων και επομένως μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη διαφοροποίηση των θετικών στην υπεροξειδάση λευκών αιμοσφαιρίων (π.χ. πολυμορφοπύρρηνα (PMN) κοκκιόκυτταρα και μακροφάγα) σε ένα δείγμα ανθρώπινου σπέρματος από άλλους τύπους στρογγυλών κυττάρων. Παρουσία αντιδραστηρίου Reagent 2 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), η μυελοπεροξειδάση στα κοκκία των λευκοκυττάρων θα οξειδώσει το αντιδραστήριο Reagent 1 (4-CN) σε ένα γαλαζωπό-μωβ ίζημα (4-χλωρο-1-ναφτόν). Το Reagent 4 περιέχει διάλυμα αντιχρώσης για τη διευκόλυνση της διάκρισης μεταξύ των θετικών στην υπεροξειδάση στρογγυλών κυττάρων και των αρνητικών στην υπεροξειδάση στρογγυλών κυττάρων.

### ΜΕΘΟΔΟΣ

Πριν από την πρώτη χρήση του κιτ LeucoScreen Plus, συνιστούμε ιδιαίτερα να ακολουθήσετε το πρόγραμμα εκπαίδευσης και να παρακολουθήσετε το βίντεο επίδειξης. Και τα δύο είναι διαθέσιμα στον ιστότοπό μας. Το βίντεο

μπορεί επίσης να μεταφορτωθεί σαρώνοντας τον ακόλουθο κωδικό QR:



### Είδος δειγμάτων

Η εξέταση αυτή θα πρέπει να διενεργείται σε φρέσκα δείγματα ανθρώπινου σπέρματος που περιέχουν περισσότερα από 1x10<sup>6</sup> στρογγυλά κύτταρα ανά ml.

### Συλλογή & προετοιμασία δειγμάτων

Θα πρέπει να χρησιμοποιούνται τυπικά δοχεία συλλογής σπέρματος, συνήθως από πολυπροπυλένιο και ελεγμένα ως προς την επιβίωση/κινητικότητα του σπέρματος, όταν το σπέρμα συλλέγεται με αντανισμό. Μη τοξικά για το σπέρμα πλαστικά προφυλακτικά θα πρέπει να χρησιμοποιούνται όταν δεν είναι δυνατή η συλλογή σπέρματος με αντανισμό. Διατηρήστε το δοχείο συλλογής σπέρματος σε θερμοκρασία δωματίου πριν προσθέσετε το δείγμα σπέρματος, ώστε να αποφύγετε τις μεγάλες μεταβολές της θερμοκρασίας που μπορεί να επηρεάσουν τα σπερματοζωάρια. Η εξέταση θα πρέπει να διενεργείται εντός της ίδιας ημέρας από τη συλλογή του σπέρματος.

### Προειδοποιήσεις πριν από τη χρήση

Μη χρησιμοποιείτε το προϊόν εάν η σφράγιση των φιαλών είναι ανοιχτή ή είναι ελαττωματική κατά την παράδοση του κιτ.

### Προετοιμασία αντιδραστηρίων

Το Reagent 1 θα πρέπει να περιέχει ένα διαυγές υγρό, μη χρησιμοποιήσετε το κιτ εάν το υγρό αποκτήσει κίτρινη όψη.

### Μέθοδος

- Μετρήστε τον αριθμό στρογγυλών κυττάρων. Παράλληλα προσδιορίστε τη συγκέντρωση σπερματοζωαρίων κατά τη διάρκεια της ανάλυσης σπέρματος ρουτίνας. Υπολογίστε και σημειώστε τη συνολική συγκέντρωση στρογγυλών κυττάρων σε εκ./ml, καθώς αυτή θα χρειαστεί για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης των θετικών στην υπεροξειδάση λευκών αιμοσφαιρίων. Όταν η συγκέντρωση των στρογγυλών κυττάρων υπερβαίνει τα 1x10<sup>6</sup> ανά ml, ενδείκνυται η εξέταση LeucoScreen Plus.
- Προετοιμάστε το διάλυμα εργασίας: Προσθέστε τους ακόλουθους όγκους σε ένα σωληνάριο Erpendorf και αναμείξτε καλά.
  - 200 μl Αντιδραστηρίου 1
  - 5 μl Αντιδραστηρίου 2
  - 1 ml Αντιδραστηρίου 3.

Το διάλυμα εργασίας αυτό είναι σταθερό για 48 ώρες όταν φυλάσσεται μεταξύ 2-8°C, προστατευμένο από το (ηλιακό) φως.

3. Πάρτε 10 μl από το δείγμα σπέρματος και προσθέστε 20 μl από το διάλυμα εργασίας. Αναμείξτε καλά.
4. Επωάστε για δύο λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου **στο σκοτάδι**.
5. Μεταφέρετε 10 μl από το μείγμα στο κέντρο ενός πλακιδίου μικροσκοπίας και προσθέστε 10 μl Reagent 4. Αναμείξτε καλά χρησιμοποιώντας την άκρη της καλυπτρίδας.
6. Καλύψτε με την καλυπτρίδα.
7. Μετρήστε και κατηγοριοποιήστε συνολικά 200 στρογγυλά κύτταρα χρησιμοποιώντας μεγέθυνση 400x. Παρατηρήστε διαφορετικά πεδία στο μικροσκόπιο (κατά προτίμηση 20).
8. Μετά από κάθε μεμονωμένη εξέταση, απορρίψτε όλα τα χρησιμοποιημένα αντιδραστήρια και υλικά.

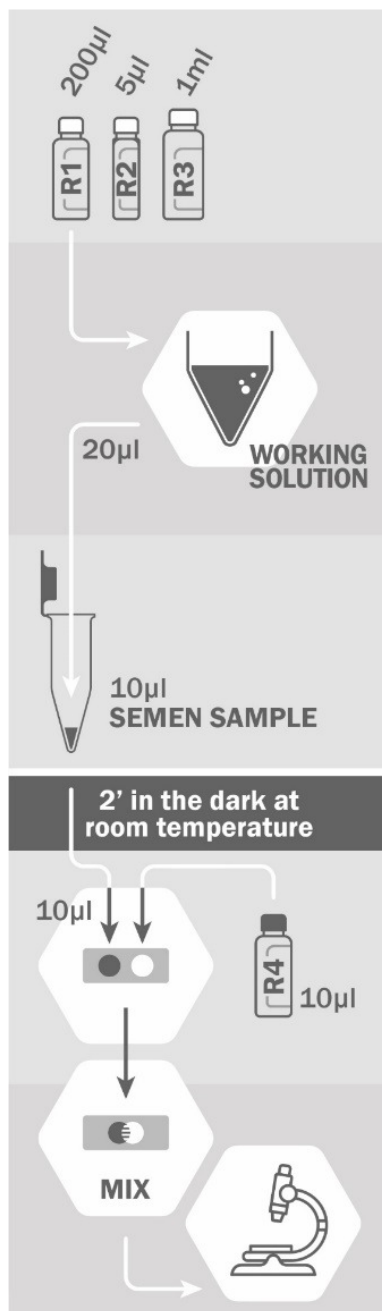
**Σημείωση:** Σε ορισμένα δείγματα σπέρματος, μπορεί να προτιμήσετε να εμπλουτίσετε τη συγκέντρωση των στρογγυλών κυττάρων για τη διευκόλυνση της μέτρησης των κυττάρων. Για το λόγο αυτό, φυγοκεντρήστε το δείγμα για 15 λεπτά στα 350g, αφαιρέστε ποσότητα από το δείγμα και επαναιωρήστε το ίζημα.

Σε περίπτωση πολύ υψηλής συγκέντρωσης στρογγυλών κυττάρων (δηλαδή, πάνω από 20x10<sup>6</sup> per ml), συνιστάται η αραιώση του δείγματος σε PBS ή σε μέσο FertiCult™ Flushing.

## ΕΡΜΗΝΕΙΑ

- Θετικά στην υπεροξειδάση στρογγυλά κύτταρα: περιέχουν (κυανωπά)-μαύρα κοκκία και έχουν ανθρακί-γκρι κυτταρόπλασμα. Η ανθρακί περιοχή αυτή μπορεί να καλύπτει ολόκληρο το κύτταρο ή μέρος του.
- Αρνητικά στην υπεροξειδάση στρογγυλά κύτταρα: αρνητικά στη χρώση ή χρώματος ροζ. Τα κοκκία που παρατηρούνται στα αρνητικά στη χρώση κύτταρα δεν περιβάλλονται από το τυπικό ανθρακί χρώμα που παρατηρείται στα θετικά κύτταρα.

## Γραφική παρουσίαση του πρωτοκόλλου:



## ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΘΕΤΙΚΩΝ ΣΤΗΝ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΑΣΗ ΛΕΥΚΩΝ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΩΝ

- Υπολογίστε το ποσοστό θετικών στην υπεροξειδάση κυττάρων ως εξής:

$$\text{ΠΟΣΟΣΤΟ ΘΕΤΙΚΩΝ ΣΤΡΟΓΓΥΛΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ} = \frac{\text{ΑΡΙΘΜΟΣ ΘΕΤΙΚΩΝ ΣΤΡΟΓΓΥΛΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ}}{(\text{ΑΡΙΘΜΟΣ ΘΕΤΙΚΩΝ ΣΤΡΟΓΓΥΛΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ} + \text{ΑΡΙΘΜΟΣ ΑΡΝΗΤΙΚΩΝ ΣΤΡΟΓΓΥΛΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ})}$$

- Στη συνέχεια, υπολογίστε τη συγκέντρωση των θετικών στην υπεροξειδάση λευκών αιμοσφαιρίων στο δείγμα σπέρματος ως εξής:

$$\text{ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ (εκ./mL)} = \text{Ποσοστό θετικών στρογγυλών κυττάρων} \times \text{συνολική συγκέντρωση στρογγυλών κυττάρων}$$

Παράδειγμα:

- Η συνολική συγκέντρωση στρογγυλών κυττάρων είναι 2 εκ./mL (προσδιορισμένη κατά τη διάρκεια της ανάλυσης της συγκέντρωσης του σπέρματος)
- Με την εξέταση LeucoScreen Plus, ευρέθηκαν 120 στρογγυλά θετικά κύτταρα και 80 αρνητικά στρογγυλά κύτταρα
- Ποσοστό θετικών στρογγυλών κυττάρων =  $120 / (120 + 80) = 0.6$
- Υπολογισμός θετικών στην υπεροξειδάση λευκών αιμοσφαιρίων =  $0.6 \times 2 \text{ εκ./mL} = 1.2 \text{ εκ./mL}$

## ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η εξέταση αυτή αποτελεί βοηθητικό μέσο για τη διάγνωση της ανδρικής υπογονιμότητας, όπως και άλλες βιολογικές εξετάσεις. Η ερμηνεία των αποτελεσμάτων πρέπει να γίνεται στο πλαίσιο των κλινικών ευρημάτων και δεδομένων του ιστορικού. Η εξέταση LeucoScreen Plus λειτουργεί μόνο ως χρώση των θετικών στην υπεροξειδάση WBC, άλλοι τύποι WBC (π.χ. λεμφοκύτταρα και μονοκύτταρα) δεν ανιχνεύονται.

## ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

Επαναληψιμότητα και αναπαραγωγιμότητα:  $CV_{intra} < 15\%$ ,  $CV_{inter} < 15\%$

Ποσοστιαία θετική συμφωνία: 88% - Ποσοστιαία αρνητική συμφωνία: 96%

## ΦΥΛΑΞΗ / ΑΠΟΡΡΙΨΗΣ

- Το κιτ είναι σταθερό για τουλάχιστον 12 μήνες μετά από την ημερομηνία παραγωγής (ακόμα και μετά από το άνοιγμα)
- Να μη χρησιμοποιείται μετά από την ημερομηνία λήξης που αναφέρεται στην ετικέτα προϊόντος
- Φυλάσσετε τα αντιδραστήρια μεταξύ 2°C-25°C
- Να μην καταψύχονται.
- Να προστατεύονται από το (ηλιακό) φως
- Τα φιαλίδια πρέπει να διατηρούνται πάντα ερμητικά κλειστά.
- Το διάλυμα εργασίας μπορεί να φυλαχτεί έως και 48 ώρες στους 2-8°C, προστατευμένο από το (ηλιακό) φως
- Τα αντιδραστήρια πρέπει να απορρίπτονται σύμφωνα με τους τοπικούς κανονισμούς για την απόρριψη των ιατροτεχνολογικών προϊόντων.

## ΠΡΟΦΥΛΑΞΙΣ

Συνιστάται η χρήση γαντιών.

Το *Reagent 1* περιέχει μεθανόλη: Υγρό και ατμοί πολύ εύφλεκτα, Τοξικό σε περίπτωση κατάποσης, Τοξικό σε επαφή με το δέρμα, Τοξικό σε περίπτωση εισπνοής, Προκαλεί βλάβες στα όργανα.

Το *Reagent 2* περιέχει H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: Επιβλαβές σε περίπτωση κατάποσης, Επιβλαβές σε περίπτωση εισπνοής, Προκαλεί σοβαρή οφθαλμική βλάβη. Να χρησιμοποιείτε συσκευή προστασίας ματιών/προσώπου.

Το *Reagent 3* περιέχει ProClin 950: Προκαλεί σοβαρά δερματικά εγκαύματα και οφθαλμικές βλάβες, Μπορεί να προκαλέσει αλλεργική δερματική αντίδραση.

Όλα τα δείγματα σπέρματος θα πρέπει να θεωρούνται ως δυνητικά λοιμώδη. Να χειρίζεστε όλα τα δείγματα σαν να είναι ικανά να μεταδώσουν HIV ή ηπατίτιδα. Να χρησιμοποιείτε πάντα καινούργια ρύγχη πιπιετών για κάθε βήμα προς αποφυγή διασταυρούμενης επιμόλυνσης. Να μην απορρίψετε το προϊόν στο περιβάλλον.

Κάθε σοβαρό περιστατικό (όπως ορίζεται στον ευρωπαϊκό κανονισμό περί των in vitro διαγνωστικών ιατροτεχνολογικών προϊόντων 2017/746) θα πρέπει να αναφέρεται στη FertiPro NV και, κατά περίπτωση, στην αρμόδια αρχή του Ευρωπαϊκού κράτους μέλους της ΕΕ στο οποίο είναι εγκατεστημένος ο χρήστης ή/και ο ασθενής.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ


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.

## ΓΛΩΣΣΑΡΙΟ ΣΥΜΒΟΛΩΝ

Σύμβολα όπως ορίζονται στο ISO 15223-1

	Αριθμός καταλόγου
	Κωδικός παρτίδας
	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης
	Παρασκευαστής
	Προϊόντα διάγνωσης in vitro
	Όριο θερμοκρασίας
	Ημερομηνία λήξης
	Διατηρείτε το προϊόν μακριά από το ηλιακό φως

Σύμβολο όπως ορίζεται στην ΟΙΠ 2017/746

	Σήμανση CE από τον Κοινοποιημένο Οργανισμό 2797
---	---

Σύμβολο όπως ορίζεται στον κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 1272/2008 [CLP]

	GHS08 Σοβαρός κίνδυνος για την υγεία
	GHS02 Εύφλεκτο υγρό
	GHS06 Οξεία τοξικότητα
	GHS07 Κίνδυνος για την υγεία
	GHS05: Διάβρωση/ερεθισμός του δέρματος