



LeucoScreen Plus

Félkvantitatív hisztokémiai készlet a peroxidáz-pozitív fehérvérsejtek meghatározására emberi ondóban.

IVD

Dokumentum azonosító: FP09 I111 R01 B.2
Frissítés: 14/05/2024

TARTALMAZOTT ANYAG

Katalógusszám

LeucoScreen Plus

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

ÜGYFÉL-MŰSZAKI TÁMOGATÁS

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

In vitro diagnosztikai felhasználásra.
Kizárólag professzionális használatra szánt reagensek.

ÁLTALÁNOS INFORMÁCIÓK

A legtöbb emberi ejakulátum leukocitákat tartalmaz, és a leukociták túlnyomórészt peroxidáz-pozitív granulociták formájában jelennek meg az emberi ondóban⁽¹⁻⁴⁾. E sejtek nagymértékű jelenléte (leukocitospermia) utalhat a szaporítószervekben fennálló fertőzésre. A leukocitospermia összefügghet az ondóprofil rendellenességeivel is (a spermium-motilitás és a DNS épségének romlása, a spermiumok viszkozitásának növekedése, valamint a spermiumok működési zavarai oxidatív stressz miatt, és/vagy a citotoxikus citokinek kiválasztása miatt az említett fehérvérsejtek által)^(5, 6). Bár a leukocitospermia nem abszolút markere a meddőségnek, ez az állapot a terméketlen férfiak átlagosan 10-20%-ánál figyelhető meg⁽⁷⁾.

Az Egészségügyi Világszervezet (WHO) szerint az 1 ml ejakulátumra eső több mint egymillió peroxidáz pozitív fehérvérsejt (WBC) kórosnak számít, és ezt „leukocitospermiának” nevezik⁽⁴⁾. Ez a küszöbérték azonban vita tárgyát képezi, mivel egyesek túl alacsonynak, mások túl magasnak találják. Számoltak már be 0.2×10^6 – 2×10^6 közötti küszöbértékekről is⁽⁷⁻⁹⁾.

Ha az érték meghaladja az egymillió peroxidáz pozitív WBC/ml ejakulátum küszöbértéket, mikrobiológiai vizsgálatokat kell végezni annak kivizsgálására, hogy nem áll-e fenn a járulékos nemi mirigyek fertőzése. A járulékos nemi mirigyek markereinek vizsgálata további hasznos információkkal szolgálhat a mellékhere (EpiScreen Plus, FertiPro NV), az ondóhólyagok (Fructose Test, FertiPro NV) vagy a prosztatata megfelelő működéséről. Fontos, hogy a leukociták hiánya nem zárja ki a járulékos nemi mirigyek fertőzésének a lehetőségét.

RENDELTETTESZERŰ HASZNÁLAT

A LeucoScreen Plus félkvantitatív, nem automatizált diagnosztikai teszt, hisztokémiai és diagnosztikai készlet a peroxidáz-pozitív fehérvérsejtek meghatározására emberi ondóban.

A LeucoScreen Plus készlettel elvégezhető tesztek száma nincs megszabva, a készletet 40 napnyi - a készlet élettartama alatt elvégzendő - elemzésre tervezték (20 munkaoldat készíthető, amelyek 2 egymást követő napon keresztül stabilak).

A TESZTHEZ MELLÉKELT ANYAGOK

Reagens 1 – 6 ml szubsztrátoldat (4-CN metanolban)

Reagens 2 – 300 µl 30%-os hidrogén-peroxid

Reagens 3 – 22 ml pufferoldat

Reagens 4 – 1.2 ml kontrasztfesték-oldat

Az analitikai tanúsítvány és az MSDS kérésre rendelkezésre áll, vagy letölthető a weboldalunkról (www.fertipro.com).

SZÜKSÉGES, DE NEM BIZTOSÍTOTT ANYAGOK

Mikroszkóp-tárgylemezek, fedőlemezek, kémcsövek (Eppendorf), pipetták, fénymikroszkóp.

Megjegyzés: Javasolt fénymikroszkóp használata, nem pedig fáziskontraszt-mikroszkópé, mivel ez utóbbi értelmezési nehézségekhez vezethet.

A VIZSGÁLATI MÓDSZER ELVE

Egy átlagos ondóelemzés során nagyon nehéz megkülönböztetni a fehérvérsejteket a ondómintában lévő más típusú kerek sejtektől (például a spermatozón progenerátor sejtektől⁽¹⁰⁾). A LeucoScreen Plus használja bizonyos fehérvérsejtek saját peroxidáz-aktivitását, és ezért alkalmas a peroxidáz-pozitív fehérvérsejtek (pl. polimorfonukleáris (PMN) granulociták és makrofágok) megkülönböztetésére az emberi ondómintában található más típusú kerek sejtektől.

A 2. Reagens (H₂O₂) jelenlétében a leukocita granulátumokban lévő myeloperoxidáz kékeslila csapadékká oxidálja az 1. reagenst (4-klór-1-nafton). A 4. reagens tartalmaz egy kontrasztfesték-oldatot, amely megkönnyíti a peroxidáz pozitív kerek sejtek és a peroxidáz negatív kerek sejtek megkülönböztetését.

MÓDSZER

A LeucoScreen Plus készlet első használata előtt kifejezetten javasoljuk, hogy kövesse a weboldalunkon elérhető oktatóprogramot és nézze meg szemléltető videókat. A videó letölthető a QR-kód beolvasásával is:



Mintatípusok

A vizsgálatot olyan frissen levett emberi ondómintákon kell elvégezni, amelyek több mint 1×10^6 kerek sejtet tartalmaznak milliliterenként.

Mintavétel

A szabványos spermagyűjtő tartályoknak kell használni, ha a spermát maszturbációval gyűjtik. Ezek jellemzően polipropilénből készülnek, és a sperma túlélési/spermamotilitási vizsgálatot végeznek. Ha a maszturbációval történő ondó-mintavétel nem

lehetséges, nem spermicid műanyag óvszereket kell használni. Mielőtt az ondómintát beletenné, tartsa az ondó-mintavételi edényt szobahőmérsékleten; ezzel elkerülhető a nagy hőingadozás, ami befolyással lehet a spermiumokra. A vizsgálatot az ondó-mintavétel napján kell elvégezni.

Figyelmeztetések a használatra

Ne használja fel a terméket, ha a kiszállítást során az üvegek lezárása felnyílt vagy megsérült

A reagens előkészítése

Az 1. reagensnek tiszta folyadékot kell tartalmaznia, ne használja a készletet, ha a folyadék sárgára színeződött.

Módszer

- Határozza meg a kerek sejtek számát a spermiumkoncentráció meghatározása közben a rutin ondóvizsgálat során. Számítsa ki és jegyezze le a kerek sejtek össz-koncentrációját millió/ml-ben, mivel erre szükség lesz a peroxidáz-pozitív fehérvérsejtek koncentrációjának kiszámításához. Ha a kerek sejtek koncentrációja meghaladja az 1×10^6 /ml értéket, akkor javasolt a LeucoScreen Plus teszt elvégzése.
- Készítse el a munkaoldatot. Töltse a következő mennyiségeket egy Eppendorf csőbe, és alaposan keverje össze:
 - 200 µl Reagens 1
 - 5 µl Reagens 2
 - 1 ml Reagens 3

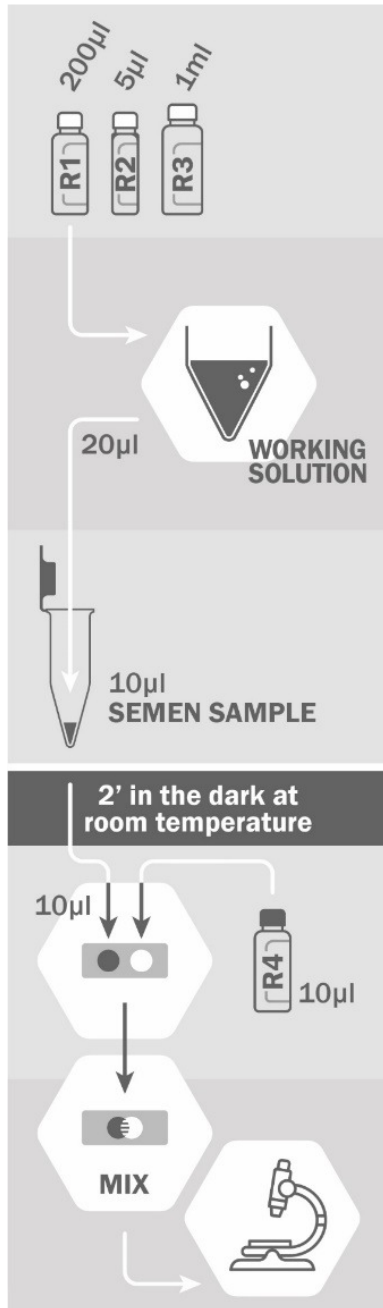
Ez a munkaoldat 48 órán át stabil, ha 2-8°C között, (nap)fénytől védve tárolva.

- Vegyen ki az ondómintából 10 µl-t, és töltsön hozzá 20 µl-t a munkaoldatból. Alaposan keverje össze.
- Két percig inkubálja szobahőmérsékleten, **sötétben**.
- Vigyen át 10 µl-t a keverékből egy mikroszkópüveg közepére, és töltsön hozzá 10 µl-t a 4. reagensből. Alaposan keverje össze a fedőlemez szélével.
- Fedje le a fedőlemezzel.
- Számláljon össze és osztályozzon összesen 200 kerek sejtet 400-szoros nagyítással. Páztázzon át több különböző mikroszkópos mezőt (lehetőleg 20-at).
- Minden egyes teszt után az összes felhasznált reagenst és anyagot ártalmatlanítani kell.

Megjegyzés: Egyes ondóminták esetében a kereksejt-koncentráció feldúsítása megkönnyíti a sejtek megszámlálhatóságát. Ezért centrifugálja a mintát 15 percig 350 g-n, távolítsa el valamennyit az ondómintából, és szuszpendálja újra az üledékszemcséket.

A nagyon magas kereksejt-koncentráció (azaz több mint 20×10^6 /ml) esetén kifejezetten javasoljuk, hogy hígítsa a mintát PBS-ben vagy FertiCult™ Flushing öblítőközegben.

A protokoll grafikus bemutatása:



ÉRTELMEZÉS

- Peroxidáz-pozitív kerek sejtek: (kékes-) fekete szemcsékkel tartalmaznak és antracitszürke citoplazmával rendelkeznek. Ez az antracitszínű terület lefedheti az egész sejtet vagy annak csak egy részét.
- Peroxidáz-negatív kerek sejtek: megfestetlenek maradnak, vagy előfordulhat, hogy rózsaszínűre színeződnek. A nem megfestett sejtekben látható szemcséket nem veszi körül a pozitív sejtekben látható tipikus antracitszín.

SZÁMOLJA KI A PEROXIDÁZ-POZITÍV SEJTEK ARÁNYÁT

- Számolja ki a peroxidáz-pozitív sejtek arányát az alábbiak szerint:

$$\text{POZITÍV kerek sejtek száma} = \frac{\text{POZITÍV kerek sejtek száma}}{(\text{POZITÍV kerek sejtek száma} + \text{NEGATÍV kerek sejtek száma})}$$

- Most számolja ki az ondóminta peroxidáz-pozitív fehérvérsejt-koncentrációját a az alábbiak szerint:

$$\text{A POZITÍV KEREK SEJTEK ÖSSZ-KONCENTRÁCIÓJA (millió /ml)} = \text{Pozitív kerek sejtek aránya} \times \text{kerek sejtek össz-koncentrációja}$$

Példa:

- A kerek sejtek össz-koncentrációja 2 millió/ml (a spermiumkoncentráció-elemzés során meghatározva)
- A LeucoScreen Plus teszttel 120 kerek sejt esetében pozitív, 80 kerek sejt esetében pedig negatív eredményt kapunk.
- Pozitív kerek sejtek száma = $120 / (120 + 80) = 0.6$
- A pozitív kerek sejtek össz-koncentrációja = $0.6 \times 2 \text{ millió /ml} = 1.2 \text{ millió/ml}$

A MÓDSZER KORLÁTAI

Ez a vizsgálat a férfi meddőség diagnosztizálása során nyújt segítséget, és mint más biológiai vizsgálatok esetében is, az eredmények értelmezését a klinikai leletek és a kórtörténeti adatok figyelembevételével kell elvégezni. A LeucoScreen Plus teszt csak a peroxidáz-pozitív fehérvérsejteket festi meg, az egyéb típusú fehérvérsejteket (pl. limfociták és monociták) nem mutatja ki.

TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK

Ismételhetőség és reprodukálhatóság: $CV_{\text{intra}} < 15\%$, $CV_{\text{inter}} < 15\%$

Pozitív egyezes százalékos aránya: 88% - negatív egyezes százalékos aránya: 96%

TÁROLÁS/ÁRTALMATLANÍTÁS

- A készlet a gyártási időponttól számított legalább 12 hónapig megőrzi stabilitását (még felbontás után is).
- Ne használja a termék címkéjén feltüntetett lejárat idő után.
- Tárolás: 2°C és 25°C között.
- Ne fagyassza le.
- Tartsa távol a (nap)fénytől.
- Az üvegeket mindig szorosan zárva kell tartani.
- A munkaidő legfeljebb 48 órán át tárolható 2-8 °C-on (sötétben tárolva).
- A reagenst az orvostechikai eszközök ártalmatlanítására vonatkozó helyi előírásoknak megfelelően kell ártalmatlanítani.

ÖVINTÉZKEDÉSEK

Kesztyű használata javasolt.

Az 1. reagens metanolt tartalmaz: könnyen gyúlékony folyadék és gőz, lenyelve, bőrrel érintkezve vagy belélegezve mérgező, szervi károsodást okoz.

A 2. reagens H₂O₂-t tartalmaz: lenyelve vagy belélegezve ártalmas; súlyos szemkárosodást okoz. Viseljen szem- és arcvédőt!

A 3. reagens ProClin 950-et tartalmaz: Súlyos bőrgérgést és szemkárosodást okoz, allergiás bőrreakciót okozhat.

Minden spermamintát potenciálisan fertőzőnek kell tekinteni. Minden mintával úgy kell bánni, mint ami alkalmas lehet a HIV vagy a hepatitis továbbadására. A keresztszennyeződés elkerülése érdekében minden lépéshez mindig használjon új pipettahegyeket. Ne dobja ki a terméket a környezetbe!

Minden bekövetkezett súlyos eseményt (a 2017/746 európai in vitro diagnosztikai orvostechikai eszközrendelet meghatározása szerint) jelenteni kell a FertiPro NV-nek és adott esetben annak az uniós tagállam illetékes hatóságának, ahol a felhasználó és/vagy a beteg lakóhelye található.

HIVATKOZÁSOK

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.

JELKÉPEK GLOSSZÁRIUM

Az ISO 15223-1 szabványban meghatározott szimbólumok



Katalógus-szám



Tételkód



Lásd a használati utasítást



Gyártó



In Vitro diagnosztika



Hőmérsékleti határérték



Felhasználhatósági idő



Napfénytől távol tartandó

Az dokumentumában meghatározott szimbólum IVDR 2017/745



CE-jelölés a bejelentett szervezet által 2797

A jelzés a Rendeletben (EK) No. 1272/2008 [CLP] meghatározottak szerint



GHS08
Súlyos egészségkárosodás



GHS02
Gyúlékony



GHS06
Akut toxicitás



GHS07
Egészségkárosító hatás



GHS05
Bőrfelmaródás/-irritáció