



LeucoScreen Plus

Комплект для напівкількісного визначення пероксидазо-позитивних лейкоцитів у спермі людини гістохімічним методом.



IVD

Документ: FP09 I111 R01 B.2
Оновлено: 14/05/2024

МАТЕРІАЛИ В КОМПЛЕКТІ

Каталожний номер
LeucoScreen Plus

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

ТЕХНІЧНА ПІДТРИМКА

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

Діагностичний набір для *in vitro*
тільки для професійного використання

ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ

Лейкоцити містяться в еякуляті більшості чоловіків, здебільше з яких пероксидазо-позитивні гранулоцити⁽¹⁻⁴⁾. Надмірна їх кількість (лейкоцитоспермія) свідчить про наявність інфекції статевих шляхів. Крім того, лейкоцитоспермія може бути пов'язана з патологіями сім'яної рідини (зниження рухливості сперматозоїдів та цілісності ДНК, підвищення в'язкості сперми, а також зниження фертильності сперми за рахунок «окисного» стресу і / або секреції цитотоксичних сполук – цитокінів білими кров'яними клітинами)^(5, 6). Незважаючи на те, що лейкоцитоспермія не є абсолютний індикатор безпліддя, ця умова спостерігається в середньому у 10 - 20% всіх безплідних чоловіків⁽⁷⁾.

За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я, присутність більш ніж одного мільйона пероксидазо-позитивних білих клітин крові (ПБК) на мл еякуляту виявляється ненормальною та маркується як лейкоцитоспермія⁽⁴⁾. Однак цей поріг знаходиться під дискусією, оскільки деякі знайшли це значення занадто низьким, а інші занадто високим. Дійсними, зареєстрованими пороговими рівнями⁽⁷⁻⁹⁾ є від 0.2×10^6 - 2×10^6 .

При перевищенні порогу в один мільйон лейкоцитів, позитивних до пероксидази, на мл еякуляту слід провести мікробіологічне дослідження, щоб з'ясувати, чи є інфекція придатків придаткових залоз. Оцінка маркерів придаткових залоз може надати корисну інформацію про належне функціонування епідідімісу (EpiScreen Plus, FertiPro NV), семенних пухирців (тест на фруктозу, FertiPro NV) або простати. Важливо, що відсутність лейкоцитів не виключає можливості інфекції залоз.

НАЛЕЖНЕ ВИКОРИСТАННЯ

LeucoScreen Plus - це напівкількісний, неавтоматизований гістохімічний та діагностичний набір для визначення пероксидазо-позитивних білих клітин крові в спермі людини.

Число випробувань, які можуть бути виконані за допомогою набору LeucoScreen Plus не вказано, замість того, набір був розроблений на 40 днів аналізу протягом терміну придатності набору (може бути виготовлено 20 робочих розчинів, які є стабільними 2 дні поспіль).

МАТЕРІАЛИ, ВКЛЮЧЕНІ ДО НАБОРУ

Реагент 1 – 6 мл розчин субстрату (4-CN в метанолі).

Реагент 2 – 300 µl 30% пероксиду водню.

Реагент 3 – 22мл буферного розчину

Реагент 4 – 1.2мл розчину контурної краски

Сертифікат аналізу та MSDS (паспорт безпеки речовини (матеріалу)) надаються за запитом або їх можна завантажити з нашого веб-сайту (www.fertipro.com).

НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ, ЩО НЕ ВКЛЮЧЕНІ ДО НАБОРУ

Предметне скло, Покривне скло, пробірки (еппандорф), Піпетки, світловий мікроскоп

Примітка: *Рекомендується використовувати світловий мікроскоп, а не фазовоконтрастний, оскільки останній може призвести до труднощів при інтерпретації.*

ПРИНЦИП ТЕСТА

Коли проводиться типовий аналіз сперми, дуже важко диференціювати білі кров'яні клітини від інших типів круглих клітин у зразку сперми (Наприклад, сперматогенні клітини-попередники⁽¹⁰⁾). LeucoScreen Plus використовує внутрішню пероксидазну активність певних білих кров'яних клітин і, отже, може бути використаний для диференціації пероксидазо-позитивних білих кров'яних клітин у зразку спермі людини (наприклад, поліморфно-ядерних (ПМН) гранулоцитів та макрофагів) від інших типів круглих клітин.

У присутності реагенту 2 (H₂O₂) мієлопероксидаза в гранулах лейкоцитів окислює реагент 1 (4-CN) до синювато-фіолетового осаду (4-хлор-1-нафтон). Реагент 4 містить розчину контурної краски для відмінності пероксидазо-позитивних круглих клітин від пероксидазо-негативних круглих клітин.

МЕТОД

Перед першим використанням набору LeucoScreen Plus, наполегливо рекомендуємо дотримуватися навчальної програми та переглянути наше демонстраційне відео, що є доступними на нашому веб-сайті. Відео також можна завантажити, відсканувавши QR-код:



Тип зразку

Тест слід проводити на свіжих зразках сперми, що містять більше ніж 1×10^6 круглих клітин на мл.

Збір сперми

Стандартні контейнери для збору сперми слід використовувати, коли сперма збирається шляхом мастурбації. Вони, як правило, виготовлені з поліпропілену і перевірені на виживання/рухливість сперматозоїдів. Коли збір сперми шляхом мастурбації неможливий, слід використовувати нетоксичні для сперми пластикові презервативи. Тест необхідно виконувати в день збору сперми.

Застереження перед використанням

Не використовуйте продукт, якщо пломба флаконів розкрита або пошкоджена під час доставки набору.

Підготовка реагентів

Реагент 1 повинен бути прозорою рідиною, не використовувати набір, якщо рідина стала жовтою.

Метод

- Порахувати кількість круглих клітин під час визначення концентрації сперми під час рутинного аналізу сперми. Обчислити та записати загальну концентрацію круглих клітин у млн / мл, оскільки це може бути використано для розрахунку концентрації пероксидазо-позитивних білих кров'яних тілець. Тест LeucoScreen буде індикатором коли загальна концентрація клітин перевищує 1×10^6 на мл, зазначений.
- Приготування робочого розчину. Додати всі реагенти в пробірку Еппендорфа і ретельно перемішати
 - 200 мкл реагенту 1
 - 5 мкл реагенту 2
 - 1 мл реагенту 3Цей розчин стабільний протягом 48 годин при зберіганні при температурі від 2 °C до 8 °C, захищеному від (сонячного)світла.
- Змішайте 10 мкл зразка сперми з 20 мкл робочого розчину. Ретельно перемішати.
- Інкубуйте дві хвилини при кімнатній температурі в темряві.
- Перенести 10 мкл розчину на середину предметного скла та додати 10 мкл реагенту 4. Ретельно перемішувати, використовуючи краєчок покривного скла.

6. Накрити покривним склом.
7. Підрахуйте та класифікуйте загалом 200 круглих клітин при збільшенні 400x. Прочитайте різні мікроскопічні поля (бажано 20).
8. Після кожного окремого тесту всі використані реагенти та матеріали слід утилізувати.

Примітка: У деяких зразках сперми можна віддати перевагу збагаченню круглої клітини концентрація для полегшення підрахунку клітин. Тому слід центрифугувати зразок протягом 15 хвилин при 350g, видалити трохи зразка сперми та ресуспендувати.

У випадку дуже високої концентрації круглих клітин (тобто вище 20×10^6 на мл), наполегливо рекомендується розбавляти зразок у PBS або в середовищі для промивання FertiCult™.

ІНТЕРПРЕТАЦІЯ

- Пероксидаза-позитивні круглі клітини: містять (синювато) чорні гранули і мають антрацитово-сіру цитоплазму. Ця антрацитова зона може охоплювати всю клітину або лише її частину.
- Пероксидаза-негативні круглі клітини: залишаються незабарвленими або можуть бути рожевого кольору. Гранули, помічені в незабарвлених клітинах, не оточені типовим антрацитовим кольором як в позитивних клітинах.

РОЗРАХУНОК КОНЦЕНТРАЦІЇ ПЕРОКСИДАЗО-ПОЗИТИВНИХ БІЛИХ КРОВ'ЯНИХ КЛІТИН

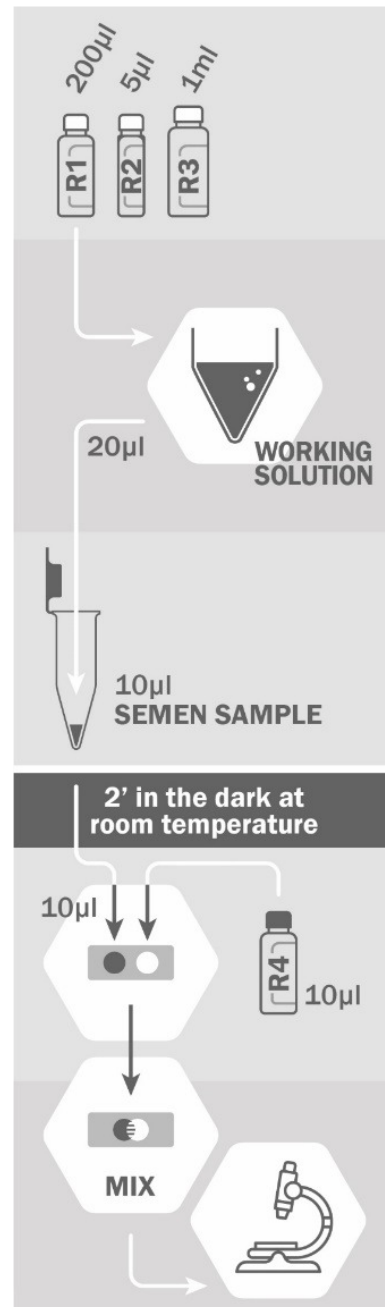
- Обчислити частку пероксидаза-позитивних клітин таким чином:

$$\text{ПРОПОРЦІЯ ПОЗИТИВНИХ КРУГЛИХ КЛІТИН} = \frac{\text{Кількість позитивних круглих клітин}}{(\text{Кількість позитивних круглих клітин} + \text{Кількість негативних круглих клітин})}$$

- Тепер обчислити концентрацію пероксидаза-позитивних білих кров'яних тілець у зразку сперми таким чином:

$$\text{КОНЦЕНТРАЦІЯ (млн/мл)} = \text{Пропорція позитивних круглих клітин} \times \text{загальна концентрація круглих клітин}$$

Графічне представлення протоколу:



Приклад:

- Загальна концентрація круглих клітин становить 2 млн / мл (визначається при аналізі концентрації сперми)
- За допомогою тесту LeucoScreen, 120 круглих клітин виявлено позитивними, а 80 круглих клітин вважаються негативними
- Частка позитивних круглих клітин = $\frac{120}{(120+80)} = 0.6$
- Концентрація пероксидазо-позитивних лейкоцитів = $0.6 \times 2 \text{ mill/ml} = 1.2 \text{ mill/ml}$

ОБМЕЖЕННЯ МЕТОДУ

Цей тест є допоміжним інструментом для діагностики чоловічого безпліддя, і, як і для інших біологічних тестів, інтерпретація результатів повинна проводитися в рамках клінічних знахідок та даних історії. LeucoScreen лише забарвлює пероксидаза-позитивні лейкоцити, інші типи лейкоцитів (наприклад, лімфоцити та моноцити) не можуть бути виявлені.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Повторюваність і відтворюваність: $CV_{\text{intra}} < 15\%$, $CV_{\text{inter}} < 15\%$

Відсоток позитивної згоди: 88%, відсоток негативної згоди: 96%.

ЗБЕРІГАННЯ/УТИЛІЗАЦІЯ

- Набір стабільний протягом 12 місяців з дати виготовлення (навіть після відкриття).
- Не застосовуйте виріб після закінчення терміну придатності.
- Зберігайте реагенти за температури від 2°C до 25°C.
- Не заморожуйте.
- Тримайте подалі від (сонячного) світла.
- Ємності повинні бути постійно щільно закритими.
- Робочий розчин може зберігатися до 48 годин у темряві при температурі 2 °C - 8 °C, в захищеному від світла місці.
- Реагенти необхідно утилізувати відповідно до місцевих правил утилізації медичних виробів.

ПОПЕРЕДЖЕННЯ ТА ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ

Рекомендується використовувати рукавички.

Реагент 1 містить метанол: легкозаймиста рідина і пара, токсична при ковтанні, контакті зі шкірою або вдиханні, викликає пошкодження органів.

Реагент 2 містить H₂O₂: шкідливий при ковтанні або вдиханні; викликає серйозні пошкодження очей. Носити захист для очей/обличчя.

Реагент 3 містить ProClin 950: Викликає сильні опіки шкіри та пошкодження очей, може спричинити алергічну шкірну реакцію.

Усі людські органічні матеріали слід розглядати як потенційно інфекційні. Поводьтеся з усіма зразками як з такими, що здатні передавати ВІЛ або гепатит. Завжди використовуйте нові наконечники для піпеток для кожного етапу, щоб уникнути перехресного забруднення. Не викидайте продукт у навколишнє середовище.

Про будь-який серйозний інцидент, що стався (як визначено в «Європейському регламенті щодо медичних виробів для діагностики in vitro 2017/746»), слід повідомити компанію FertiPro NV та, за необхідності, компетентний орган держави-члена ЄС, в якій зареєстрований користувач та/або пацієнт.

БІБЛІОГРАФІЯ


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. Johanisson 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.

СЛОВНИК СИМВОЛІВ

Символи, визначені стандартом ISO 15223.

	Номер за каталогом
	Код партії
	Див. інструкцію із застосування
	Виробник
	Діагностика in vitro
	Температурні обмеження
	Термін придатності
	Тримайте подалі від (сонячного) світла

Символ, визначений стандартом IVDR 2017/746

	СЕ маркування
2797	Нотифікованим органом
	2797

Символ, визначений Регламентом (ЄС) № 1272/2008 [CLP]

	GHS08 Серйозна небезпека для здоров'я
	GHS02 Легкозаймиста рідина
	GHS06 Гостра токсичність
	GHS07 Небезпека для здоров'я
	GHS05: Корозія/подразнення шкіри