

精液白细胞过氧化物酶染色试剂盒(正甲苯胺法)

货号: G3410

规格: 20T

保存: 室温, 避光保存, 有效期 6 个月。

产品组成:

名称	20T	保存
试剂(A): 缓冲液I	2ml	2-8°C
试剂(B): 显色液	18ml	-20°C, 避光
试剂(C): 缓冲液II	2ml	2-8°C
试剂(D): 染色液	20ul	室温, 避光
将试剂A,B,C,D按照100ul:900ul:100ul:1ul,比例混匀即为工作液。		

产品介绍:

本产品是一种性能稳定、操作简单、易于临床推广应用、能开展质量控制工作的精液白细胞过氧化物酶染色试剂盒, 本发明过氧化物酶染色法的检验原理是: 多形核粒细胞特有的过氧化物酶分解过氧化氢, 产生新生态氧, 后者氧化正甲苯胺生成正甲苯胺蓝、形成棕色物使细胞着色。过氧化物酶阳性细胞被染棕色, 而过氧化物酶阴性细胞不着色, 在显微镜下计数精液标本内染棕色细胞的数量, 可计算精液标本内白细胞浓度, 精液中白细胞数量 $\geq 1 \times 10^6/\text{ml}$, 即为白细胞精子症, 提示男性生殖道附属性腺感染, 并可能因此影响精液质量。白细胞数量 $< 1 \times 10^6/\text{ml}$ 也不能排除附性腺感染的可能性, 需要用其它方法进一步确认。确认的方法包括精液标本微生物培养, 或采用灵敏度和特异性较好的检测指标。

自备材料:

精子计数池、1ml 比色皿, 分光光度计、显微镜

操作步骤: (仅供参考)

- 获取新鲜精液样本。
- 等待样本在体外自然液化(一般液化时间不超过 60min), 样本必须新鲜, 不可低温保存, 以免冻融后造成白细胞内过氧化物酶裂解释放至胞外, 造成棕染白细胞数量减少或碎片增多。
- 将试剂 A,B,C,D 按照 A:B:C:D=100ul: 900ul:100ul:1ul,比例混匀, 配置成工作液, 建议先用现配, 配好的溶液可保存 24h。
- 取完全液化后的样本 100ul,加入 900ul 的工作液, 精液和工作液的比例为 1:9。
- 室温反应 30min。
- 振荡混匀后将反应液充入常用的 100um 深度一次性计数池, 置于高倍镜下观察, 显微镜下观察到的棕色细胞即为过氧化物酶阳性的白细胞, 记录每个高倍镜视野下的阳性细胞数, 计算平均值。结果观察时, 即使在细胞内仅见少量棕色颗粒, 也应将此细胞计数为过氧化物酶阳性细胞。
- 计算结果, 精液标本白细胞的浓度=每高倍视野棕色细胞个数 \times 换算系数 \times 标本稀释倍数 (标本稀释倍数: 10 倍, 100ul 精液加入 900ul 工作液中, 稀释了 10 倍)。

注意事项:

- 若新鲜精液超过 60min 还不能完全液化, 这时加入与精液体积相同的培养液或洗涤液并以吸管反复吹打促进完全液化(最终的计算结果需乘以稀释倍数 2)。
- 可用含有 HPR 的溶液来检测试剂盒是否有效, 具体操作如下:
 - 用 PH 值 6.0, 0.01M 的 PBS 溶解辣根过氧化物酶, 配置浓度为 0.1mg/ml 的 HRP 溶液。
 - 取 900ul 配好的工作液加入 0.1ml HRP 溶液。
 - 室温下放置 30 分钟进行反应。
 - 将反应液在分光光度计上比色, 用纯化水调零, 波长 520nm, 比色光径为 1cm; 测定 520nm 处的吸光值, $OD_{520\text{nm}}, 1\text{cm} \geq 1.0$ 表明试剂有效。



