

Процедура для сыворотки при анализе Indirect MarScreen®:

1. Добавьте пипеткой в пробирку 20 мкл сыворотки, инактивированной нагреванием.
2. Добавьте в эту же пробирку 130 мкл среды для промывки спермы.
3. Добавьте в эту же пробирку 50 мкл суспензии донорских сперматозоидов. Аккуратно перемешайте. Закройте каждую пробирку и инкубируйте 60 мин. при 37°C.
3. Нанесите пипеткой 10 мкл смеси спермы и сыворотки на предметное стекло.
4. Добавьте 10 мкл **IgM Beads** на смесь сыворотки и спермы. С помощью наконечника пипетки тщательно все перемешайте.
5. Добавьте 10 мкл **Anti-IgM Serum** на смесь сыворотки/спермы и шариков. С помощью наконечника пипетки аккуратно перемешайте .
6. Сверху накройте смесь покровным стеклом.
7. Через 2-3 минуты исследуйте стекло под микроскопом.
8. Отсчитайте 100 подвижных сперматозоидов и определите, связались ли шарики с поверхностью сперматозоидов.

Ссылки на источники:

1. World Health Organization. 1999. *WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction*. Cambridge University Press. Fourth Edition.
2. Lombardo F, Gandini L, Dondero F, Lenzi A. 2001. Antisperm immunity in natural and assisted reproduction. *Hum Reprod Update*. 7:450-6.
3. Chamley LW, Clarke GN. 2007. Antisperm antibodies and conception. *Semin Immunopathol*. 29:129-184.

Расчет процента общего связывания:

Подсчитайте только количество подвижных сперматозоидов и вычислите как указано ниже:

- несвязанные = шарики не прикрепились
- связанные = шарики прикрепились к сперматозоидам

Рассчитайте процент общего связывания:

$$\% \text{ общ. связывания} = \frac{\text{Кол-во сперматозоидов с прикрепившимися шариками}}{\text{Общее кол-во сперматозоидов}} \times 100\%$$

Пример: При увеличении 400X были получены следующие данные для анонимного образца спермы :

- несвязанные подвижные сперматозоиды = 60
- связанные подвижные сперматозоиды = 40

Применяем формулу:

$$\frac{40}{100} \times 100\% = 40\% \text{ общ. связывания}$$