

# Spermac Stain



Набір для фарбування сперматозоїдів людини

Довідковий номер документа: FP09 I21 R01 D.1 - Оновлення: 20.04.2022

Для діагностичного застосування *in vitro* — реагенти лише для професійного використання

## ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ

Аналіз морфології сперматозоїдів є одним з основних методів дослідження сперми, що проводяться при діагностиці та лікуванні чоловічого безпліддя. Spermac Stain — це діагностичний набір для фарбування *in vitro*, що складається з фіксатора та 3 розчинів барвників для фарбування сперматозоїдів людини. Фарбування допомагає розпізнавати відмінності між морфологічно нормальними і аномальними сперматозоїдами, а також покращує візуалізацію різних частин сперматозоїдів (головка, акросома, екваторіальний сегмент, середня частина, хвіст) <sup>1,2</sup>.

## ПРИЗНАЧЕННЯ

Spermac Stain — це якісний, неавтоматизований діагностичний набір для професійного використання для фарбування сперматозоїдів людини. Метою фарбування сперматозоїдів є забезпечення більш ефективного розпізнавання відмінностей між морфологічно нормальними і аномальними сперматозоїдами. Результати такої оцінки можуть допомогти в оцінці ефективності діагностики та лікування чоловічого безпліддя.

## МАТЕРІАЛИ, ЩО ВХОДЯТЬ ДО НАБОРУ

Набір Spermac Stain

Код продукту:	SPS050	SPS250
Барвник А: червоний барвник	50 мл	250 мл
Барвник В: блідо-зелений барвник	50 мл	250 мл
Барвник С: темно-зелений барвник	50 мл	250 мл
Фіксатор: фіксуюча речовина	50 мл	250 мл

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

## НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ, ЯКІ НЕ ВХОДЯТЬ ДО НАБОРУ:

- предметне скло мікроскопа;
- 5 ємностей Копліна;
- мікроскоп (1000-кратне збільшення);
- імерсійне масло;
- нагрівальна панель (37 °C);
- водопровідна або дистильована вода.

## МЕТОД

Відскануйте штрих-код (або перейдіть за посиланням на [www.fertipro.com](http://www.fertipro.com)), щоб переглянути демонстраційне відео.



## ЗБІР І ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

Період утримання повинен становити 2-7 днів. Уникайте втрати першої фракції сперми, оскільки вона містить пропорційно більшу кількість нормальних сперматозоїдів. Перед початком тесту не чекайте більше 4 годин після еякуляції.

## ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ

1. Налийте барвник А, В і С в окремі ємності Копліна, переконайтеся, що рівень рідини є досить високим, щоб покривати область, яку потрібно пофарбувати.
2. Наповніть ємність Копліна або лоток водопровідною водою для етапів промивання (див. примітку 1).
3. Підготуйте предметні стекла: очистіть, вимийте в спирті і дайте їм висохнути.
4. Зберігайте флакон із фіксуючим реагентом! (див. примітку 2).

*Примітка 1: використовуйте дистильовану воду, якщо водопровідна вода є лужною (pH > 7). Якщо використовується лоток, в який може поміститися кілька предметних стекол, переконайтеся, що він є досить великим для забезпечення повного промивання стекол.*

*Примітка 2. Пари фіксатора заважають фарбуванню навіть у дуже малих кількостях.*

## ПРОЦЕДУРА ФАРБУВАННЯ

1. Добре перемішайте сперму, щоб отримати однорідний зразок, і підготуйте тонкий мазок свіжої, нерозбавленої, переважно рідкої сперми на склі (наприклад, 10 мкл сперми). Дайте мазку висохнути на повітрі протягом 5 хвилин на нагрівальній панелі при температурі 37 °C.

2. Коли мазок висохне, налейте фіксуючий розчин в ємність. Кожну обробку з використанням фіксатора виконуйте **під витяжкою!**

- a. Зафіксуйте мазок, зануривши предметне скло щонайменше на 5 хвилин у ємність із фіксатором. Більш тривала фіксація прийнятна, але не обов'язкова.
- b. Вийміть предметне скло з ємності із фіксатором, ненадовго помістіть вертикально на поглинаючий папір, щоб видалити надлишок рідини. Не допускайте контакту зразка з папером.
- c. Дайте предметному склу висохнути, помістивши його на нагрівальну панель, що нагрівається до температури 37 °C, на 15 хвилин. Тим часом приберіть ємність Копліна із фіксатором з робочої зони.

3. Промийте, акуратно зануривши 7 разів у ємність з водою (див. примітку 1 вище). За потреби (наприклад, при використанні невеликої ємності Копліна) повторіть процедуру промивання прісною водою, щоб забезпечити повне промивання. Швидко злийте надлишкову воду, доторкнувшись кінцем предметного скла до поглинаючого паперу.

4. Повільно занурте предметне скло 7 разів у ємність з барвником А (див. примітку 3). Потім залиште його в ємності на 2 хвилини. Після цього помістіть вертикально на поглинаючий папір. Промийте в прісній воді і злийте її, як зазначено в кроці 3. Повторіть процедуру промивки в прісній воді. **Дуже важливо двічі промити після фарбування барвником А.**

5. Занурте предметне скло 7 разів у ємність з барвником В. Потім залиште його в ємності на 1 хвилину. Після цього помістіть вертикально на поглинаючий папір. Промийте в прісній воді і злийте її, як зазначено в кроці 3.

6. Занурте предметне скло 7 разів у ємність з барвником С. Потім залиште його в ємності на 1 хвилину. Після цього помістіть вертикально на поглинаючий папір. Промийте в прісній воді і злийте її, як зазначено в кроці 3.

7. Дайте предметному склу висохнути.

8. Розгляньте предметне скло під світловим мікроскопом (1000x), використовуючи імерсійне масло.

*Примітка 3. «Повільно» означає: приблизно 1 занурення в секунду. Занурення важливе, оскільки воно забезпечує повний контакт зразка з барвником.*

## ІНТЕРПРЕТАЦІЯ

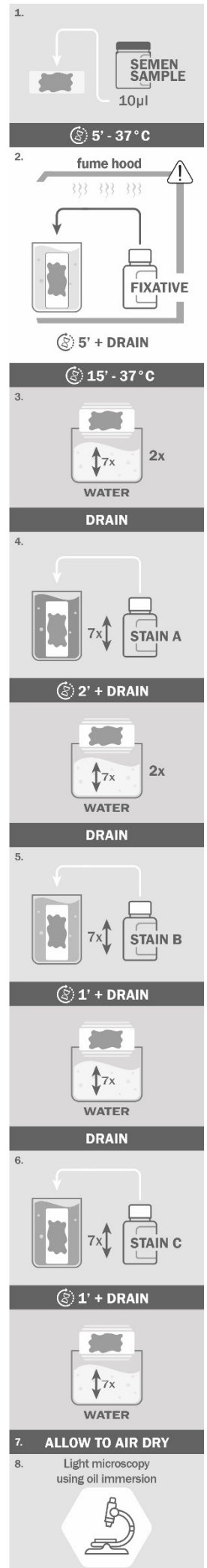
- акросома = темно-зелений
- ядро = має червоне забарвлення
- екваторіальний сегмент = блідо-зелений
- середня частина та хвіст = зелений

- Підрахуйте принаймні 100, а краще 200 сперматозоїдів і класифікуйте їх як нормальні або аномальні, вказуючи, які дефекти є найбільш поширеними.

- Включіть до підрахунку лише ідентифіковані сперматозоїди.

- За критеріями ВООЗ 2021 року зразок вважається нормальним, якщо принаймні 4% сперматозоїдів мають нормальну форму<sup>3</sup>.

При суворому застосуванні певних критеріїв морфології сперматозоїдів було встановлено, що є взаємозв'язки між



відсотком нормальних форм і різними кінцевими точками фертильності (час до вагітності, коефіцієнти вагітності in vivo та in vitro), які можуть бути корисні для прогнозування фертильності<sup>3</sup>.

#### ЗАУВАЖЕННЯ ЩОДО ВИКОРИСТАННЯ

- Перед взяттям мазка білкової або желеподібної зразки, а також заморожені зразки необхідно розвести 1:1 3%-ним розчином цитрату натрію.
- Забарвлене предметне скло має бути прозорим і повинно мати лише легкий зелений відтінок. Якщо предметне скло темно-зелене, то перед фіксацією воно піддалося впливу парів фіксатора.
- Для транспортування перед фарбуванням предметне скло можна підготувати, виконати його фіксацію, промити і висушити. Захищайте предметне скло від стирання під час транспортування. Коли все готово до фарбування, починайте процес із застосування фіксатора (крок 2), таким чином забезпечується подвійна фіксація предметних стекол. Це важливо, оскільки фіксатор містить буфери, які забезпечують належне подальше фарбування.

#### ВСТАНОВЛЕННЯ ПРЕДМЕТНИХ СТЕКОЛ

Під місцем для встановлення забарвлення зникне (через кілька тижнів). Тому, не встановлюйте предметне скло, якщо ви хочете використовувати його в майбутньому. Акуратно видаліть імерсійне масло, що також викликає знебарвлення. Бажано зробити дублікати предметних стекол для подальшого використання, якщо це необхідно, або зробити їх копії на фото- та/або відео.

#### ОБМЕЖЕННЯ МЕТОДУ

- Сперматозоїди, пофарбовані барвником Spermac Stain, не можна використовувати для будь-якої іншої процедури.

#### ЗБЕРІГАННЯ / УТИЛІЗАЦІЯ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ

- Spermac Stain слід зберігати в закритих ємностях Копліна або оригінальних флаконах при температурі 2-25 °C.
- Підходить для транспортування або короткочасного зберігання при підвищеній температурі (не довше 5 днів при температурі 37 °C).
- Реагенти стабільні до закінчення терміну придатності, вказаного на етикетці. Не використовуйте після закінчення терміну придатності.
- Однак при фарбуванні видаляються компоненти та вводяться забруднюючі речовини, тому барвники слід замінювати, коли належне фарбування більше не забезпечується.
- При виявленні відкладень барвники необхідно відфільтрувати.

- Реагенти необхідно утилізувати відповідно до місцевих правил утилізації медичних виробів.
- Кількість тестів, які можна здійснити за допомогою одного набору Spermac Stain, визначити складно, оскільки барвники можна використовувати повторно.

#### ПОПЕРЕДЖЕННЯ ТА ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ

- Усі людські органічні матеріали слід розглядати як потенційно інфекційні. Поводьтеся з усіма зразками як з такими, що здатні передавати ВІЛ або гепатит. Під час роботи зі зразками та реагентами завжди надягайте захисний одяг (рукавички, лабораторний жилет, засоби захисту очей/обличчя).
- Фіксатор: містить пара-формальдегід; може спричиняти алергічну реакцію шкіри; викликає серйозне роздратування очей; потенційно канцерогенний.
- Через токсичність при вдиханні пара-формальдегіду дії з фіксатором слід виконувати під витяжкою.
- Барвник А і барвник В: легкозаймиста рідина і пара
- Барвники містять речовини, що ідентифікуються як мутагенні. Однак, оскільки концентрація цих речовин у кінцевому реагенті низька, самі барвники не ідентифікуються як мутагенні.
- Набір не містить речовин, що порушують роботу ендокринної системи.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

<sup>1</sup> Oettlé EE (1986). An improved staining technique which facilitates sequential monitoring of the acrosome state, Development, Growth and Differentiation (Suppl.): 28

<sup>2</sup> Chan PJ, Corselli JU, Jacobson JD, Patton WC, King A (1999). Spermac stain analysis of human sperm acrosomes. Fertility and Sterility 72 (1): 124-128.

<sup>3</sup> Geneva: World Health Organization. 2021. 'WHO Laboratory manual for the examination and processing of human semen', sixth edition.

#### КЛІЄНТО-ТЕХНІЧНА ПІДТРИМКА



FertiPro NV  
 Industriepark Noord 32  
 8730 Veerhem – Belgium (Бельгія)  
 Тел.: +32 (0)50 79 18 05  
 Факс.: +32 (0)50 79 17 99  
 Електронна пошта: info@fertipro.com  
 URL-адреса: <http://www.fertipro.com>

#### ГЛОСАРІЙ СИМВОЛІВ

Символи, визначені стандартом ISO 15223.			
	Номер за каталогом		Код партії
	Див. інструкцію із застосування		Виробник
	Діагностика in vitro		Температурні обмеження
	Термін придатності		
Символ, визначений стандартом ISO 2017/746.			
	Маркування CE		
Символ, визначений Регламентом (ЄС) № 1272/2008 [CLP]			
	GHS07. Небезпека для здоров'я: може спричинити алергічну реакцію шкіри		GHS08. Небезпека для здоров'я: імовірно, викликає генетичні дефекти; може викликати рак
	GHS02. Легкозаймистість: легкозаймиста рідина і пара		