



## Spermastain



Контрастний метод для визначення морфології сперматозоїдів людини

Документ : FP09 I21 R01 C.8

Оновлено: 07/01/2019

*Для діагностики in vitro - Реагент тільки для професійного використання*

### ПРИЗНАЧЕННЯ

Набір Spermastain - це якісний діагностичний набір для контрастування сперматозоїдів людини. Мета контрастування сперматозоїдів – це можливість відрізнити морфологічно нормальні від ненормальних клітин сперми.

### ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ

Визначення та критерії норми в основному базуються на дослідженнях, проведених стосовно сперми, винятої з жіночого репродуктивного тракту (особливо з посткоїтального цервікального слизу), що вважається за норму. Однак, пропонуються різноманітні критерії, найважливіші з яких критерії ВОЗ<sup>1</sup> та Тигерберг (більш суворі) критерії<sup>2,3</sup>. Контрастування Spermastain - це допомога в оцінюванні морфології, бо воно допомагає визначити різноманітні частини сперматозоїду (голову, акросому<sup>4,5</sup>, екваторіальний регіон, середню частину, хвостик), полегшуючи тим самим знайти різницю між нормальним та відхиленим від норми сперматозоїдом. Spermastain може допомогти поставити діагноз та боротися з чоловічим безпліддям.

### Матеріал у комплекті

Реагент А: червоний барвник – 50мл чи 250 мл

Реагент В: блідо зелений – 50 мл чи 250 мл

Реагент С: темно зелений – 50 мл чи 250 мл

Фіксатор: фіксуючий – 50мл чи 250 мл

Сертифікат аналізу і паспорт безпеки доступні за запитом або можна завантажити з нашого веб-сайту ([www.fertipro.com](http://www.fertipro.com)).

### Матеріал поза комплектом

Скляний посуд

Судина Копліна

Мікроскоп (1000x збільшення)

Імерсійна олія

Нагріта пластина з температурою 37°C

Кран чи дистильована вода

### Зберігання та стабільність

Контрастуючий реагент Spermastain необхідно зберігати в закритій судині Копліна, чи в оригінальній пляшці, при температурі 2-25°C. Реагенти залишаються незмінними протягом 36 місяців після дати вироблення, якщо ними не користувалися. Однак, контрастуючий реагент містить складові елементи, які провокують зараження, таким чином контрастні елементи повинні бути замінені, якщо вони не достатньо якісні. Профільтруйте контрастні елементи, якщо є наявний осад.

### Метод

Ми рекомендуємо переглянути демонстраційне відео (завантажити через посилання на нашому веб-сайті або сканувати штрих-код):



### Приготування

Налити реагенти до судини Копліна, налити достатньо, щоб рівень рідини був достатньо високим, так щоб покривав площу, яку потрібно контрастувати. Заповнити фіксаційну судину тільки після того, як слайди будуть приготовані. Після висушування вони готові до контрастування. Заповнити п'яту судину Копліна, чи будь-який інший контейнер з об'єктивом, з проточною водою (для промивання слайдів між різними фарбами). Якщо проточна вода є лужною (pH >7), використовувати дистильовану воду для промивання. Відчистити, промити в спирті та висушити слайди перед використанням.

### Особливості

Період абстиненції повинен становити 2-7 днів. Уникайте втрати першої фракції сперми, оскільки вона містить пропорційно більше нормальної сперми. Не чекати більше 4 годин після еякуляції перед початком тесту.

### Процедура фарбування

1. Залишити тонкий мазок свіжої нерозбавленої сперми, нанесений стрілою, для висушування на повітрі протягом 5 хвилин на теплій пластині при 37°C.

Примітка: Не робити та не сушити мазки близько до відкритих пляшок з фіксатором, тому що фіксаційне випаровування (навіть у незначних кількостях) завадить контрастуванню. Тримати фіксатор як можна далі.

2. Закріпити мазок шляхом занурення слайду мінімум на 5 хілін до судини Копліна, яка містить фіксатор. Більш тривала фіксація є припустимою, але не потрібною.

3. Вийняти слайд з фіксатору, швидко поставити у вертикальне положення на абсорбуючий папір, щоб висушити зайвий фіксуючий елемент. Не торкайтесь зразка папером. Дати слайду висохнути, поклавши його на теплу плату при температурі 37°C протягом 15 хвилин. Прибрати ємкості з фіксатором з робочого місця.

4. Промити шляхом обережних 7 занурень до проточної (pH<7) чи дистильованої води. Якщо слайди для контрастування знаходяться на тримачах, в яких 5 та більше слайдів, взяти контейнер, якого буде достатньо для повного змивання фіксуючого елементу зі слайдів. Якщо контейнер для промивання маленький (наприклад, судина Копліна), тоді провести додаткові процедури промивання прісною водою. Швидко видалити зайву воду, доторкнувшись кінцем слайду до абсорбуючого паперу.

5. Пофарбувати протягом 2 хвилини у фарбі реагенту А. Коли поміщуєте слайд до контрастного розчину, занурюйте слайд 7 разів повільно (приблизно 1 занурення за 1 секунду) та з контрастного розчину, щоб забезпечити повний контакт

зразка з контрастним елементом. Потім залишити непорушеним до кінця контрастуючого періоду. Місце вертикальне на абсорбуючому папері. Промити, як описано вище, шляхом 7 занурень у прісній проточній воді. Швидко видалити зайву воду на абсорбуючий папір.

6. Повторити промивання в прісній воді. Цей подвійний крок промивання після контрастного елементу А є важливим. Швидко видалити зайву воду на абсорбуючий папір.

7. Контрастувати протягом 1 хвилини в контрастному розчині В. Занурювати 7 разів спочатку, щоб забезпечити повний контакт контрастного елементу зі зразком. Місце вертикальне на абсорбуючому папері. Промити, як вказано вище в прісній воді.

8. Контрастувати протягом 1 хвилини в контрастному елементі С, занурюючи 7 разів. Місце вертикальне на абсорбуючому папері. Промити, як описано вище в прісній воді.

9. Залишити висихати на повітрі.

10. Вивчити контрастування під світловим мікроскопом (1000x), використовуючи імерсійну олію :

- Акросома = темно зелений
- Нуклеус = контрастний червоний
- Екваторіальний регіон = блідий зелений
- Середня частина та хвостик = зелений

#### Тлумачення

- Порахуйте не менш ніж 100 але бажано 200 сперматозоїдів, та класифікуйте їх, як нормальні та відхилені від норми, вказуючи, які дефекти є найбільш притаманними
- Враховуйте лише упізнані сперматозоїди.
- Критерії для класифікації сперматозоїдів, як нормальних та відхилених від норми, залежать від методу класифікації, який використовується в лабораторії (ВОЗ, 2010)
- Згідно з ВОЗ, використовуючи критерії ВОЗ, зразок вважається нормальним якщо менше ніж 4% сперматозоїдів нормальної форми<sup>1</sup>.

Шляхом суворого та чіткого застосування певних критеріїв морфології сперми, відносини між процентами нормальних форм та різноманітних кінцевих результатів родючості (строк вагітності, рівень вагітності у природних та штучних умовах), як було встановлено, можна використовувати для прогнозування родючості (ВОЗ, 2010).

#### Слайди на підставці

Якщо слайди ставляться на підставку, контрастування поступово розпливається під середовищем підставки (після декількох тижнів). Тому не встановлювати слайди на підставку, якщо необхідно повернутися до них пізніше. Обережно видалити олію, яка також розмиває контрастування. За бажанням можна зробити дублікати слайдів для подальшого використання, якщо потрібно, чи сфотографувати, чи зробити відео.

#### ПОПЕРЕДЖЕННЯ ТА ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ

- Усі зразки сперми потрібно розглядати, як потенційно інфіковані. Тому потрібно поводитися з усіма зразками так, як із тими, що можуть переносити ВІЛ та гепатит.
- Фіксатор містить Формальдегід: Токсичний для вдихання, при контакті зі шкірою та при ковтанні може викликати подразнення слизових оболонок. Входить до списку канцерогенів. Можливий ризик незворотних наслідків. Може викликати підвищення чутливості при контакті зі шкірою.
- Усі інші інгредієнти не були визначені, як токсичні.

#### Примітки для використання

- Білкові та желатинові зразки та заморожені зразки повинні бути розбавлені 1:1 3% содіум цитратом перед приготуванням мазку.
- Слайд після контрастування має бути прозорим з лише маленьким відтінком зеленого кольору. Якщо слайд темно зелений, тоді слайд був під впливом випаровувань фіксатора перед фіксуванням.

Для переміщення до контрастування, слайди можуть бути приготовлені, закріплені, промиті, та висушені. Берегти від подряпин протягом транспортування. Коли вони готові до контрастування, починати процес фіксації (Крок 2), таким чином слайди отримають подвійну фіксацію. Це важливо, тому що фіксатор містить буфери, що забезпечують відповідну коректність контрастування.

<sup>1</sup> WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen, 5th edition, WHO, 2010

<sup>2</sup> Menkveld R, Kruger TF (1991). Atlas of human morphology, Williams and Wilkins, Baltimore.

<sup>3</sup> Menkveld R, Stander FSH (1990). The evaluation of morphological characteristics of human spermatozoa according to stricter criteria, Human Reproduction 5(5): 286-92

<sup>4</sup> Oettlé EE (1986). An improved staining technique which facilitates sequential monitoring of the acrosome state, Development, Growth and Differentiation (Suppl.): 28

<sup>5</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.

#### ТЕХНІЧНА ПІДТРИМКА



**FertiPro NV**  
**Industriepark Noord 32**  
**8730 Beernem**  
**Belgium**

**Уповноважений представник в Україні**  
**Фізична Особа Підприємець Валах Наталія Миколаївна**  
**Україна, 65049, м. Одеса, вул.Жаботинського,6**  
**Тел. (048) 795-67-45, (068) 254-52-66**