



# Spermac Stain

Souprava pro barvení lidských spermií

IVD

ID dokumentu: FP09 I21 R01 D.2

Aktualizace: 31/01/2024

## MATERIÁL SOUČÁSTÍ BALENÍ

### Katalogové číslo

SPS050	Spermac Stain – 4x50mL
SPS250	Spermac Stain – 4x250mL

## ZÁKAZNICKÁ TECHNICKÁ PODPORA

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](http://www.fertipro.com)  
 E-mail: [info@fertipro.com](mailto:info@fertipro.com)



## Spermac Stain

Pro diagnostické použití in vitro -

Reagencie pouze pro profesionální použití

## OBECNÉ INFORMACE

Morfologická analýza spermatu je jedním ze základních vyšetření spermatu prováděných při diagnostice a léčbě mužské neplodnosti. Spermac Stain je diagnostická barvicí souprava in vitro, která se skládá z fixativa a 3 barvicích roztoků pro lidské spermie. Barvení usnadňuje rozlišení morfologicky normálních a abnormálních spermií a zlepšuje vizualizaci různých částí spermatické buňky (hlavička, akrozom, ekvatoriální oblast, střední část, ocásek)<sup>(1), (2)</sup>.

## URČENÉ POUŽITÍ

Spermac Stain je kvalitativní, neautomatizovaná diagnostická souprava pro profesionální použití k barvení lidských spermií. Účelem barvení spermií je usnadnit rozlišení morfologicky normálních a abnormálních spermií. Výsledek tohoto hodnocení může pomoci při posuzování diagnózy a léčby mužské neplodnosti.

## MATERIÁL OBSAŽENÝ V SADĚ

Spermac Stain

Kód výrobku:	SPS050	SPS250
Barvivo A: Červené barvivo	50 ml	250 ml
Barvivo B: Bledě zelené barvivo	50 ml	250 ml
Barvivo C: Tmavě zelené barvivo	50 ml	250 ml
Fix: Fixační prostředek	50 ml	250 ml

Certifikát o analýze a bezpečnostní list jsou k dispozici na vyžádání nebo je lze stáhnout z našich webových stránek ([www.fertipro.com](http://www.fertipro.com)).

## POTŘEBNÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ DODÁVKY

- Mikroskopická sklička
- 5 sklenic Coplin
- Mikroskop (zvětšení 1000x)
- Ponorový olej
- Zahřívací plotna (37 °C)
- Voda z vodovodu nebo destilovaná voda

## METODA

Naskenujte čárový kód (nebo odkaz ke stažení na [www.fertipro.com](http://www.fertipro.com)) a podívejte se na ukázkové video.



## Sběr a příprava vzorků

Při odběru spermatu masturbací by se měly používat standardní nádoby na odběr spermatu, typicky z polypropylenu a testovány na přežití/motilitu spermií. Pokud se odběr spermatu masturbací nedoporučuje, měly by se používat plastové kondomy netoxické pro spermie. Před přidáním vzorku spermatu uchovávejte nádobku na odběr spermatu při pokojové teplotě, aby se zabránilo velkým změnám teploty, které mohou ovlivnit spermie.

Doba abstinence by měla trvat 2–7 dní. Zabraňte ztrátě první frakce spermatu, protože ta obsahuje úměrně více normálních spermií. Před zahájením testu nečekejte déle než 4 hodiny po ejakulaci.

## Příprava reagensí

1. Nalijte barviva A, B a C do oddělených Coplinových sklenic a ujistěte se, že hladina tekutiny je dostatečně vysoká, aby pokryla oblast, která má být barvena.
2. Naplňte Coplinovu sklenici nebo kolébku vodou z vodovodu pro kroky proplachování (viz poznámka 1).
3. Připravte skleněná sklička: očistěte je, omyjte v alkoholu a nechte uschnout.
4. Uchovávejte lahvičku s fixačním činidlem uzavřenou! (viz poznámka 2).

**Poznámka 1:** pokud je voda z vodovodu zásaditá (pH > 7), použijte destilovanou vodu. Pokud se používá kolébka, která umožňuje kombinaci více sklíček, ujistěte se, že je dostatečně velká, aby bylo zajištěno úplné umytí.

**Poznámka 2:** Výpary fixačního prostředku narušují barvení i ve velmi malém množství.

## Postup barvení

1. Dobře promíchejte sperma, abyste získali homogenní vzorek, a připravte tenký nátěr čerstvého, neředěného, nejlépe zkvalitněného spermatu na skleněné skličko (např. 10 µl spermatu). Nechte nátěr asi 5 minut zaschnout na teplé desce při teplotě 37 °C.
2. Po zaschnutí stěru nalijte fixační prostředek do nádoby. Každou manipulaci s fixativem provádějte **pod digestoři!**
  - a. Fixujte nátěr ponořením sklička na minimálně 5 minut do nádoby s fixativem. Delší fixace je přijatelná, ale není nutná.
  - b. Vyjměte skličko z nádoby s fixativem a krátce jej položte ve svislé poloze na savý papír, aby

se odsál přebytek tekutiny. Nedotýkejte se vzorku papírem.

- c. Skličko nechte 15 minut zaschnout na teplé desce při 37 °C. Mezitím odstraňte z pracovní plochy nádobu Coplin s fixativem.
3. Omyjte 7x jemným ponořením do nádoby s vodou (viz poznámka 1 výše). V případě potřeby (např. při použití malé Coplinovy nádoby) zopakujte promývací postup s čerstvou vodou, abyste zajistili úplné promytí. Krátce odsajte přebytečnou vodu dotykem konce sklička o savý papír.
  4. Pomalu ponořte skličko 7x do barviva A a vytáhněte (viz poznámka 3). Poté je nechte 2 minuty nerušeně ležet ve sklenici. Poté je položte ve svislé poloze na savý papír. Omyjte je v čisté vodě a odsajte podle pokynů v kroku 3. Mytí opakujte v čisté vodě. **Důležité je dvojitě mytí po barviva A**
  5. Skličko 7x ponořte do barviva B a vyjměte z něj, poté jej nechte 1 minutu ve sklenici bez zásahu. Poté je položte ve svislé poloze na savý papír. Omyjte je v čisté vodě a odsajte podle pokynů v kroku 3.
  6. Skličko 7x ponořte do barviva C a vyjměte z něj, poté jej nechte 1 minutu ve sklenici bez zásahu. Poté je položte ve svislé poloze na savý papír. Omyjte je v čisté vodě a odsajte podle pokynů v kroku 3.
  7. Nechte skličko oschnout na vzduchu.
  8. Skličko pozorujte pod světelným mikroskopem (1000x) ponořené do oleje.

**Poznámka 3:** „pomalu“ znamená: přibližně 1 ponor za sekundu. Namáčení je důležité, protože zajišťuje úplný kontakt vzorku s barvivem.

## INTERPRETATION

- acrooom = tmavě zelená
- jádro = obarvené na červeno
- rovníková oblast = světle zelená
- střední část a ocásek = zelená

- Spočítejte nejméně 100 a nejlépe 200 spermií a klasifikujte je jako normální nebo abnormální a uveďte, které vady jsou nejčastější.
- Do počtu zahrňte pouze identifikovatelné spermie.
- Podle kritérií WHO z roku 2021 se vzorek považuje za normální, pokud alespoň 4 % spermií vykazují normální formy<sup>(3)</sup>.

Prísny uplatňováním určitých morfologických kritérií spermií byly stanoveny vztahy mezi procentem normálních forem a různými konečnými body plodnosti (doba do otěhotnění, počet těhotenství in vivo a in vitro), které mohou být užitečné pro prognózu plodnosti<sup>(3)</sup>.

## POZNÁMKY K POUŽITÍ

- Vzorky obsahující bílkoviny nebo želatinu a zmrazené vzorky musí být před rozetřením zředěny 1:1 3% citrátem sodným.
- Obarvené sklíčko by mělo být průhledné, pouze s velmi slabým nádechem zelené barvy. Pokud je sklíčko tmavě zelené, bylo před fixací vystaveno fixačním parám.
- Pro transport před barvením lze preparáty připravit, fixovat, omýt a vysušit. Chraňte před odřením při přepravě. Jakmile budu vzorky připraveny k barvení, zahajte proces η fixačního prostředku (krok 2), tj. preparáty se dvakrát fixují. To je důležité, protože fixační činidlo obsahuje pufr, které zajišťují správné následné barvení.

## MONTÁŽNÍ SKLÍČKA

Pod montážním médiem zbarvení vybledne (po několika týdnech). Proto sklíčka nepřipevňujte, pokud je chcete později použít jako referenci. Jemně odstraňte ponorný olej, který rovněž způsobuje vyblednutí, je vhodnější pořídit duplicitní sklíčka pro případné budoucí použití nebo fotografické a/nebo videozáznamy.

## OMEZENÍ METODY

Spermatozoa obarvená barvivem Spermac Stain nelze použít k žádnému jinému postupu.

## SKLADOVANI / LIKVIDACE A STABILITA

- Barvivo Spermac Stain by se mělo skladovat v uzavřených Coplinových sklenicích nebo v originálních lahvičkách při teplotě 2–25 °C.
- Vhodné pro přepravu nebo krátkodobé skladování při zvýšených teplotách (až 5 dní při teplotě 37 °C).
- Reagencie jsou stabilní do data použitelnosti uvedeného na etiketě. Nepoužívejte po uplynutí data použitelnosti.
- Barvení však odstraňuje složky a vnáší kontaminanty, a proto by se měla barviva vyměnit, pokud již není dosahováno dostatečného obarvení.
- Pokud jsou zjištěny usazeniny, barviva přefiltrujte.
- Reagencie je třeba likvidovat v souladu s místními předpisy pro likvidaci zdravotnických prostředků.
- Počet testů, které lze provést s jednou sadou Spermac Stain, je obtížné určit, protože barviva lze použít opakovaně.












## WARNINGS AND PRECAUTIONS

- Veškerý lidský, organický materiál by měl být považován za potenciálně infekční. Zacházejte se všemi vzorky, jako by byly schopné přenášet HIV nebo hepatitidu. Při manipulaci se vzorky a reagenciemi vždy používejte ochranný oděv (rukavice, laboratorní plášť, ochrana očí/obličeje).
- Fixační činidlo: obsahuje paraformaldehyd; může vyvolat alergickou kožní reakci; způsobuje vážné podráždění očí; podezření na rakovinu.
- Vzhledem k toxicitě při vdechování paraformaldehydu by se kroky s použitím fixačního činidla měly provádět v digestoři.
- Barvivo A a barvivo B: vysoce hořlavá kapalina a pára
- Barviva obsahují látky, které jsou označeny jako mutagenní. Protože je však koncentrace těchto látek v konečném činidle nízká, nejsou samotná barviva identifikována jako mutagenní.
- Souprava neobsahuje žádné látky narušující činnost endokrinního systému.

## ODKAZY

1. Oettl E. An improved staining technique which facilitates sequential monitoring of the acrosome state (abstract). Dev Growth Differentiation. 1986;28(Suppl 1):96.
2. Chan PJ, Corselli JU, Jacobson JD, Patton WC, King A. Spermac stain analysis of human sperm acrosomes. Fertil Steril. 1999;72(1):124-8.
3. Geneva: World Health Organization. WHO Laboratory manual for the examination and processing of human semen. 2021;sixth edition.

## SLOVNÍČEK SYMBOLŮ

Symboly definované v normě ISO 15223	
	Katalogové číslo
	Kód šarže
	Přečtěte si návod k použití
	Výrobce
	Přečtěte si návod k použití
	Teplotní limit
	Datum spotřeby
Symbol definovaný ve směrnici 2017/746 o diagnostických zdravotnických prostředcích in vitro	
	Označení CE
Symbol definovaný v nařízení (ES) č. 1272/2008 [CLP].	
	GHS07: Látky nebezpečné pro zdraví: může způsobit alergickou kožní reakci
	GHS02: Hořlavý: vysoce hořlavá kapalina a páry
	GHS08: Látky nebezpečné pro zdraví: podezření na genetické vady, může způsobit rakovinu

