



Spermac Stain

Kit di colorazione per spermatozoi umani

IVD

Rif.doc.: FP09 I21 R01 D.2

Aggiornamento: 31/01/2024

MATERIALE INCLUSO

Numero di catalogo

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

ASSISTENZA CLIENTI-SUPPORTO TECNICO

 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
 E-mail: info@fertipro.com



Spermac Stain

Per uso diagnostico in vitro

Reagenti per uso esclusivamente professionale

INFORMAZIONI GENERALI

L'analisi della morfologia degli spermatozoi è uno degli esami di base del liquido seminale eseguiti nella diagnosi e nella gestione dell'infertilità maschile. Spermac Stain è un kit di colorazione diagnostica in vitro composto da un fissativo e 3 soluzioni coloranti per spermatozoi umani. La colorazione facilita la distinzione tra spermatozoi morfologicamente normali e anormali, e migliora la visualizzazione delle diverse parti della cellula spermatica (testa, acrosoma, regione equatoriale, parte centrale, coda)^(1,2).

USO PREVISTO

Spermac Stain è un kit diagnostico qualitativo, non automatizzato, ad uso professionale per la colorazione degli spermatozoi umani. Lo scopo della colorazione degli spermatozoi è facilitare la differenziazione tra spermatozoi morfologicamente normali e anormali. Il risultato di questa valutazione può aiutare a valutare la diagnosi e la gestione dell'infertilità maschile.

MATERIALE INCLUSO NEL KIT

Spermac Stain

Codice prodotto:	SPS050	SPS250
Colorante A: colorante rosso	50 ml	250 ml
Colorante B: colorante verde pallido	50 ml	250 ml
Colorante C: colorante verde scuro	50 ml	250 ml
Fissazione: fissativo	50 ml	250 ml

Il certificato di analisi e la MSDS sono disponibili su richiesta o possono essere scaricati dal nostro sito web (www.fertipro.com).

MATERIALE RICHIESTO, MA NON FORNITO

- Vetrini per microscopio
- 5 vaschette di Coplin
- Microscopio (ingrandimento 1000x)
- Olio per immersione
- Piastra calda (37° C)
- Acqua del rubinetto o distillata

METODO

Scansionare il codice a barre (o seguire il link su www.fertipro.com) per vedere il video dimostrativo.



Raccolta e preparazione dei campioni

Dovrebbero essere utilizzati contenitori standard per la raccolta del liquido seminale, tipicamente in polipropilene e testati per la sopravvivenza/motilità degli spermatozoi, quando il liquido seminale viene raccolto mediante masturbazione. I preservativi in plastica non tossica per gli spermatozoi devono essere usati quando non sia possibile la raccolta del liquido seminale mediante masturbazione. Mantenere il contenitore di raccolta del liquido seminale a temperatura ambiente prima di aggiungere il campione di liquido seminale per evitare significative variazioni di temperatura che potrebbero influire sugli spermatozoi.

Il periodo di astinenza dovrebbe essere di 2-7 giorni. Evitare la dispersione della prima frazione di sperma poiché questa contiene proporzionalmente più spermatozoi normali. Per iniziare il test, non aspettare più di 4 ore dopo l'eiaculazione.

Procedura di colorazione

1. Versare i coloranti A, B e C in vaschette di Coplin separate, assicurarsi che il livello del liquido sia abbastanza alto da coprire l'area da colorare.
2. Riempire una vaschetta di Coplin o una ciotola con acqua del rubinetto per le fasi di lavaggio (vedere nota 1)
3. Preparare i vetrini: pulirli, lavarli con alcool e lasciarli asciugare
4. Tenere chiuso il flacone del reagente fissativo! (Vedere nota 2)

Nota 1: utilizzare acqua distillata se l'acqua del rubinetto è alcalina (pH > 7). Se si usa una ciotola che permette la combinazione di più vetrini, assicurarsi che sia abbastanza grande da garantire un lavaggio completo.

Nota 2: il vapore del fissativo interferisce con la colorazione, anche in quantità molto esigue.

Procedura di colorazione

1. Mescolare bene lo sperma per avere un campione omogeneo e preparare un sottile striscio a bordo sfumato di sperma fresco, non diluito e preferibilmente liquefatto su un vetrino (ad es. 10 µl di sperma). Lasciare asciugare all'aria lo striscio per circa 5 minuti su una piastra calda a 37 °C.

2. Quando lo striscio è asciutto, versare il fissativo in una vaschetta. Eseguire ogni manipolazione con il fissativo **sotto una cappa chimica!**

- a. Fissare lo striscio immergendo il vetrino per almeno 5 minuti nella vaschetta del fissativo. Una fissazione prolungata è accettabile ma non necessaria.
- b. Rimuovere il vetrino dalla vaschetta del fissativo, posizionarlo brevemente in verticale su carta assorbente per drenare il fluido in eccesso. Non toccare il campione con la carta.
- c. Lasciare asciugare il vetrino posizionandolo su una piastra calda a 37 °C per 15 minuti. Nel frattempo, rimuovere la vaschetta di Coplin con il fissativo dall'area di lavoro.

3. Lavare immergendo delicatamente 7x nella vaschetta dell'acqua (vedere nota 1 sopra). Se necessario (ad es. quando si utilizza una vaschetta di Coplin piccola), ripetere la procedura di lavaggio con acqua fresca per garantire un lavaggio completo. Drenare brevemente l'acqua in eccesso toccando con l'estremità del vetrino della carta assorbente.

4. Immergere ed estrarre lentamente il vetrino per 7 volte dal colorante A (vedere nota 3). Quindi lasciare indisturbato per 2 minuti nella vaschetta. In seguito, posizionare verticalmente su carta assorbente. Lavare in acqua fresca e drenare come specificato nella fase 3. Ripetere il lavaggio in acqua fresca. **È importante effettuare un doppio lavaggio dopo il colorante A.**

5. Immergere ed estrarre il vetrino per 7 volte dal colorante B. Quindi lasciare indisturbato per 1 minuto nella vaschetta. In seguito, posizionare verticalmente su carta assorbente. Lavare in acqua fresca e drenare come specificato nella fase 3.

6. Immergere ed estrarre il vetrino per 7 volte dal colorante C. Quindi lasciare indisturbato per 1 minuto nella vaschetta. In seguito, posizionare verticalmente su carta assorbente. Lavare in acqua fresca e drenare come specificato nella fase 3.

7. Lasciare asciugare il vetrino all'aria.
8. Osservare il vetrino al microscopio ottico (1000x) usando l'immersione in olio.

Nota 3: "lentamente" significa circa 1 immersione al secondo. L'immersione è importante perché assicura il contatto completo del campione con il colorante.

INTERPRETAZIONE

- acrosoma = verde scuro
 - nucleo = colorato di rosso
 - regione equatoriale = verde chiaro
 - parte centrale e coda = verde
- Contare almeno 100 spermatozoi (preferibilmente 200) e classificarli come normali o anormali, specificando quali difetti sono più comuni.
- Includere nel conteggio solo le cellule spermatiche identificabili.
- Utilizzando i criteri dell'OMS del 2021, un campione è considerato normale se almeno il 4% degli spermatozoi mostra forme normali⁽³⁾.
- Con l'applicazione rigorosa di determinati criteri di morfologia degli spermatozoi, sono state stabilite relazioni tra la percentuale di forme normali e vari endpoint di fertilità (Time To Pregnancy, tassi di gravidanza in vivo e in vitro), che possono essere utili per la prognosi della fertilità⁽³⁾.

OSSERVAZIONI SULL'UTILIZZO

- I campioni proteici o gelatinosi e i campioni congelati devono essere diluiti 1:1 con citrato di sodio al 3% prima dello striscio.
- Un vetrino colorato dovrebbe essere trasparente mostrando solo un leggerissimo accenno di tonalità verde. Se il vetrino è verde scuro, significa che è stato esposto ai vapori del fissativo prima del fissaggio.
- Per il trasporto prima della colorazione, i vetrini possono essere preparati, fissati, lavati e asciugati. Proteggere dall'abrasione durante il trasporto. Quando si è pronti alla colorazione, iniziare il processo dal fissativo (fase 2), ossia i vetrini ricevono una doppia fissazione. Questo è importante poiché il fissativo contiene tamponi che assicurano che la successiva colorazione avvenga correttamente.

MONTAGGIO DEI VETRINI

La colorazione svanirà sotto il mezzo di montaggio (dopo diverse settimane). Pertanto, non montare i vetrini se si intende usarli come riferimento in seguito. Rimuovere delicatamente l'olio per immersione, che causa anch'esso decolorazione. Ove necessario, è preferibile fare duplicati dei vetrini per riferimenti futuri o registrazioni fotografiche e/o video.

LIMITI DEL METODO

Gli spermatozoi colorati con Spermac Stain non possono essere utilizzati per altre procedure.

STORAGE/DISPOSAL AND STABILITY

- Spermac Stain deve essere conservato in vaschette di Coplin chiuse o nei flaconi originali, a 2-25 °C.
- Adatto al trasporto o alla conservazione a breve termine a temperature elevate (fino a 5 giorni a 37 °C).
- I reagenti sono stabili fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta. Non usare dopo la data di scadenza.
- Tuttavia, la colorazione rimuove i costituenti e introduce contaminanti, pertanto i coloranti devono essere sostituiti quando non si ottiene più una colorazione adeguata.
- Filtrare i coloranti in caso si noti la presenza di deposito.
- I reagenti devono essere smaltiti in conformità alle norme locali per lo smaltimento dei dispositivi medici.
- Il numero di test che possono essere eseguiti con un singolo kit Spermac Stain è difficile da determinare in quanto i coloranti possono essere riutilizzati.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

- Tutto il materiale organico umano deve essere considerato potenzialmente infettivo. Maneggiare tutti i campioni come se fossero in grado di trasmettere HIV o epatite. Indossare sempre indumenti protettivi quando si maneggiano campioni e reagenti (guanti, camice, protezione per occhi/viso).
- Fissativo: contiene paraformaldeide; può provocare una reazione allergica cutanea; provoca grave irritazione oculare; sospettato di provocare il cancro.
- A causa della tossicità per inalazione della paraformaldeide, le fasi che utilizzano il fissativo dovrebbero essere eseguite sotto una cappa chimica.
- Colorante A e Colorante B: liquido e vapori altamente infiammabili
- I coloranti contengono sostanze che sono identificate come mutagene. Tuttavia, poiché la concentrazione di tali sostanze nel reagente finale è bassa, i coloranti stessi non vengono identificati come mutageni.






- Il kit non contiene sostanze che alterano il sistema endocrino.

RIFERIMENTI


1. Oettlé 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.


GLOSSARIO DEI SIMBOLI

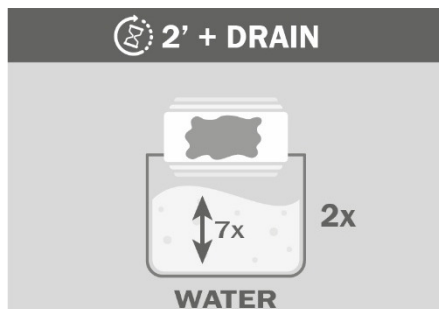
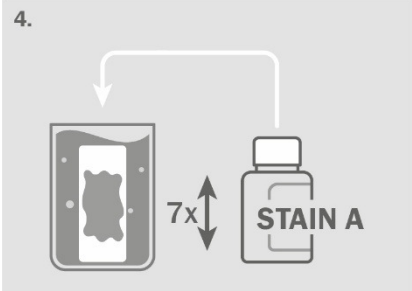
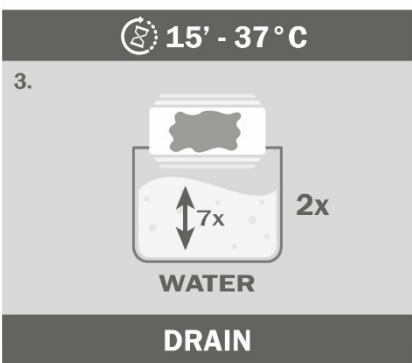
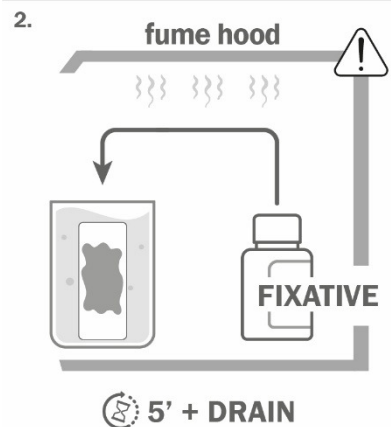
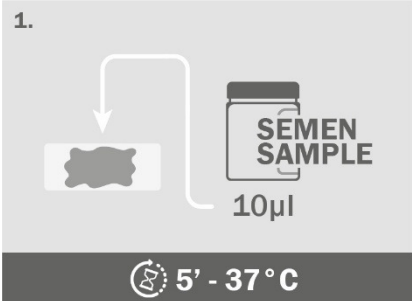
Simboli definiti in ISO 15223

	Numero di catalogo
	Codice del lotto
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Produttore
	Diagnostica in vitro
	Limite di temperatura
	Data di scadenza

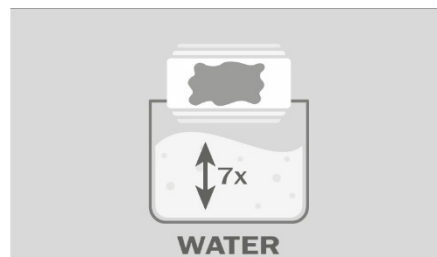
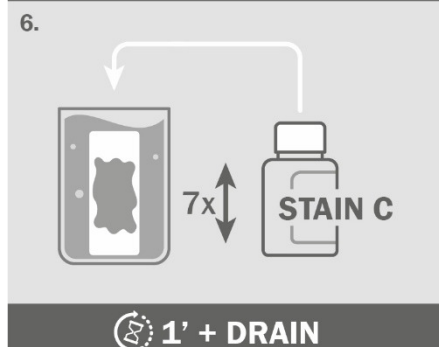
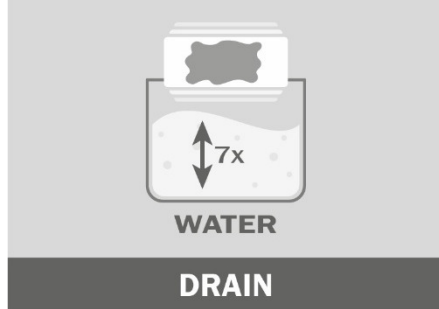
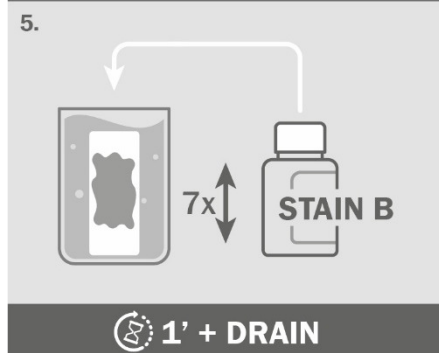
Simbolo definito in IVDR 2017/746

	Marchio CE
Simbolo definito nel regolamento (CE) n. 1272/2008 [CLP]	

	GHS07: Pericolo per la salute: può provocare una reazione allergica cutanea
	GHS02: Infiammabile: liquido e vapori altamente infiammabili
	GHS08: Pericolo per la salute: sospettato di provocare alterazioni genetiche, può provocare il cancro



DRAIN



7. ALLOW TO AIR DRY

8. Light microscopy using oil immersion

