



Spermac Stain

İnsan spermatozoası için boyama kit

IVD

Belge Kimliği: FP09 I21 R01 D.2
Güncelleme: 31/01/2024

DAHİL OLAN MALZEME

Katalog numarası

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

MÜŞTERİ-TEKNIK DESTEK

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

İn vitro teşhiste kullanım için

Yalnızca profesyonel kullanım için reaktifler

GENEL BİLGİLER

Sperm morfolojisi analizi, erkek infertilitesinin teşhis ve yönetiminde yapılan temel semen incelemelerinden biridir. Spermac Stain, insan spermatozoası için bir fiksatif ve 3 boyama çözeltisinden oluşan bir *in vitro* teşhis boyama kitidir. Boyama, morfolojik olarak normal ve anormal spermatozoa arasındaki ayrımın yapılmasını kolaylaştırır ve sperm hücrelerinin farklı bölümlerinin (baş, akrozom, ekvatorial bölge, orta parça, kuyruk) görselleştirilmesini artırır^(1, 2).

KULLANIM AMACI

Spermac Stain, insan spermatozoasının boyanması için profesyonel kullanıma yönelik kalitatif, otomatik olmayan bir teşhis kitidir. Spermatozoanın boyanmasının amacı, morfolojik olarak normal ve anormal spermatozoa arasındaki ayrımı kolaylaştırmaktır. Bu değerlendirmenin sonucu, erkek infertilitesinin teşhis ve yönetiminin değerlendirilmesinde yardımcı olabilir.

KITE DAHİL OLAN MALZEME

Spermac Stain

Ürün kodu:	SPS050	SPS250
Boya A: Kırmızı boya	50 ml	250 ml
Boya B: Soluk yeşil boya	50 ml	250 ml
Boya C: Koyu yeşil boya	50 ml	250 ml
Düzeltilme: Fiksatif	50 ml	250 ml

Analiz sertifikası ve MSDS talep üzerine temin edilebilir veya web sitemizden (www.fertipro.com) indirilebilir.

GEREKLİ OLAN ANCAK SAĞLANMAYAN MALZEME

- Mikroskop lamları
- 5 Coplin kavanozu
- Mikroskop (1000x büyütme)
- Daldırma yağı
- Sıcak plaka (37°C)
- Mustuk suyu veya damıtılmış su

YÖNTEM

Tanıtım videosunu görüntülemek için barkodu tarayın (veya www.fertipro.com üzerindeki linki kullanın).



Numune toplama ve hazırlama

Semen masturbasyon yoluyla toplandığında, tipik olarak polipropilen ve sperm sağkalımı/sperm hareketliliği test edilmiş standart semen toplama kapları kullanılmalıdır. Masturbasyon yoluyla semen toplanması mümkün olmadığında, semen-toksik olmayan plastik prezervatifler kullanılmalıdır. Spermatozoayı etkileyebilecek büyük sıcaklık değişikliklerini önlemek için semen örneğini eklemeyen önce semen toplama kabını oda sıcaklığında tutun.

Yoksunluk süresi 2-7 gün olmalıdır. Oransal olarak daha fazla normal spermatozoa içerdiğinden ilk semen fraksiyonunun kaybindan kaçınınız. Teste başlamadan önce boşalmadan sonra 4 saatten fazla beklemeyin.

Reaktif hazırlama

- Boya A, B ve C'yi ayrı Coplin kavanozlarına dökün, sıvı seviyesinin boyanacak alanı kaplayacak kadar yüksek olduğundan emin olun.
- Yıkama adımları için bir Coplin kavanozunu veya beşiği musluk suyu ile doldurun (bkz. Not 1)
- Cam lamları hazırlayın: temizleyin, alkolle yıkayın ve kurumaya bırakın
- Fiksatif reaktif şişesini kapalı tutun! (bkz. Not 2)

Not 1: musluk suyu alkali ise (pH > 7) damıtılmış su kullanın. Birden fazla lamin birleştirilmesine izin veren bir beşik kullanılıyorsa, tam yıkamayı sağlamak için yeterince büyük olduğundan emin olun.

Not 2: Fiksatif buhar çok küçük miktarlarda dahi boyamayı engeller.

Boyama prosedürü

- Homojen bir örnek elde etmek için semeni iyice karıştırın ve bir cam lam üzerine yeni, seyreltilmemiş, tercihen sıvılaştırılmış semenden ince kenarlı bir yayma hazırlayın (örn. 10µl semen). Yaymanın 37°C'de sıcak bir plaka üzerinde yaklaşık 5 dakika kurumasını bekleyin.
- Yayma kurduğunda Fiksatif bir kavanoza dökün. Fiksatif ile her işlemi **bir çeker ocak altında** gerçekleştirin!
 - Lamin Fiksatif kavanozunda en az 5 dakika bekleterek yaymayı sabitleyin. Daha uzun sabitleme kabul edilebilir ancak gerekli değildir.
 - Lamin Fiksatif kavanozundan çıkarın, sıvının fazlasını kurutmak için kısa süreliğine emici kağıt üzerine dikey olarak yerleştirin. Numuneye kağıt ile dokunmayın.
 - Kamı 15 dakika boyunca 37°C'de sıcak bir plakaya yerleştirerek kurumasını bekleyin. Bu

arada Coplin kavanozunu Fiksatif ile birlikte çalışma alanından çıkarın.

- Su kavanozuna 7 kez hafifçe daldırarak yıkayın (yukarıdaki Not 1'e bakın). Gerekirse (örneğin küçük bir Coplin kavanozu kullanırken), tam yıkamayı sağlamak için yıkama prosedürünü tatlı suyla tekrarlayın. Lamin ucunu emici kağıda dokundurarak fazla suyu kısa süreliğine boşaltın.
- Lamin 7 kez yavaşça Boya A'nın içine daldırın ve çıkarın (bkz. Not 3). Ardından kavanozun içinde 2 dakika bekletin. Daha sonra emici kağıt üzerine dikey olarak yerleştirin. Tatlı suda yıkayın ve 3. adımda belirtilen şekilde süzün. Yıkama işlemini tatlı suda tekrarlayın. **Boya A'dan sonra iki kez yıkama önemlidir.**
- Lamin 7 kez Boya B'ye batırıp çıkarın. Ardından kavanozda 1 dakika bekletin. Daha sonra emici kağıt üzerine dikey olarak yerleştirin. Tatlı suda yıkayın ve 3. adımda belirtilen şekilde süzün.
- Lamin 7 kez Boya C'ye batırıp çıkarın. Ardından kavanozda 1 dakika bekletin. Daha sonra emici kağıt üzerine dikey olarak yerleştirin. Tatlı suda yıkayın ve 3. adımda belirtilen şekilde süzün.
- Lamin kurumasını bekleyin.
- Lamin yağa daldırarak ışık mikroskobu (1000x) altında inceleyin.

Not 3: 'yavaş' şu anlama gelir: yaklaşık saniyede 1 daldırma. Daldırma işlemi önemlidir çünkü örneğin boyayla tam olarak temas etmesini sağlar.

YORUM

- akrozom = koyu yeşil
- çekirdek = kırmızı boyalı
- ekvatorial bölge = soluk yeşil
- orta parça ve kuyruk = yeşil

- En az 100 ve tercihen 200 spermatozoa sayın ve hangi kusurların en yaygın olduğunu belirterek bunları normal veya anormal olarak sınıflandırın.
 - Sayma sadece tanımlanabilir sperm hücrelerini dahil edin.
 - 2021 WHO kriterlerini kullanarak, spermatozoanın en az %4'ü normal formlar gösteriyorsa örnek normal kabul edilir⁽³⁾.
- Sperm morfolojisinin belirli kriterlerinin sıkı bir şekilde uygulanmasıyla, normal formların yüzdesi ile çeşitli fertilité son noktaları (gebelik süresi, *in vivo* ve *in vitro* gebelik oranları) arasında, doğurganlığın prognozu için yararlı olabilecek ilişkiler kurulmuştur⁽³⁾.

KULLANIMA DAIR NOTLAR

- Proteinli veya jelatinli örnekler ve dondurulmuş örnekler yayma işleminden önce %3 sodyum sitrat ile 1:1 oranında seyreltilmelidir.
- Boyanmış bir lam şeffaf olmalı ve sadece çok hafif bir yeşil renk tonu içermelidir. Eğer lam koyu yeşilse, lam sabitlemeden önce fiksatif buharına maruz kalmış demektir.
- Boyama öncesinde taşıma için lamlar hazırlanabilir, sabitlenebilir, yıkanabilir ve kurutulabilir. Taşıma sırasında aşınmaya karşı koruyun. Boyamaya hazır olduğunuzda işleme fiksatiften başlayın (Adım 2), yani lamlara çift sabitleme uygulayın. Fiksatif, sonraki boyamanın doğru şekilde gerçekleşmesini sağlayan tamponlar içerdiğinden bu önemlidir.

LAMLARI YERLEŞTİRME

Boyama, yerleştirme besiyeri altında (birkaç hafta sonra) kaybolacaktır. Bu nedenle, daha sonra referans olarak kullanmak istiyorsanız lamları monte etmeyin. Solmaya neden olan daldırma yağını hafifçe kurulaştırın. Gerekirse ileride başvurmak üzere lamların veya fotoğraf ve/veya video kayıtlarının çoğaltılması tercih edilir.

YÖNTEMİN SINIRLARI

Spermac Stain ile boyanmış spermatozoa başka bir prosedür için kullanılamaz.

DEPOLAMA / BERTARAF VE STABİLİTE

- Spermac Stain kapalı Coplin kavanozlarında veya orijinal şişelerinde 2-25°C'de saklanmalıdır.
- Yüksek sıcaklıklarda taşıma ve kısa süreli depolama için uygundur (37°C'de 5 güne kadar).
- Reaktifler, etiket üzerinde belirtilen son kullanma tarihine kadar stabildir. Son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.
- Bununla birlikte, boyama bileşenleri ortadan kaldırır ve kirleticileri ortaya çıkarır ve bu nedenle yeterli boyama artık elde edilemediğinde boyalar değiştirilmelidir.
- Tortu fark edilirse boyaları filtreleyin.
- Reaktiflerin, tıbbi cihazların bertarafına ilişkin yerel düzenlemelere uygun olarak atılması gereklidir.
- Bir Spermac Stain kiti ile yapılabilecek test sayısını belirlemek, boyalar tekrar kullanılabilirliği için zordur.

UYARILAR VE ÖNLEMLER

- Tüm insani, organik materyaller potansiyel olarak bulaşıcı olarak kabul edilmelidir. Tüm numuneleri HIV veya hepatit bulaştırabilecekmiş gibi kullanın. Numuneleri ve reaktifleri tutarken daima koruyucu giysi giyin (eldiven, laboratuvar yeleği, göz/yüz koruması).
- Sabitleme: paraformaldehit içerir; alerjik cilt reaksiyonuna neden olabilir; gözde ciddi tahrişe neden olur; kansere neden olduğundan şüphelenilmektedir.
- Paraformaldehit solunduğundaki toksisite nedeniyle fiksatif kullanılan adımlar bir çeker ocak altında gerçekleştirilmelidir.
- Boya A ve Boya B: yüksek derecede yanıcı sıvı ve buhar
- Boyalar mutajenik olarak tanımlanan maddeler içerir. Bununla birlikte, nihai reaktifte bu maddelerin konsantrasyonu düşük olduğundan Boyaların kendisi mutajenik olarak tanımlanmaz.
- Kit herhangi bir endokrin bozucu madde içermez.

REFERANSLAR

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.

SEMOLLER SÖZLÜĞÜ

ISO 15223'te tanımlanan semboller	
	Katalog numarası
	Parti kodu
	Kullanım talimatlarına bakın
	Üretici
	In Vitro Teşhis
	Sıcaklık sınırı
	Son kullanma tarihi
IVDR 2017/746'da tanımlanan şekilde sembol	
	CE işareti
Yönetmelik No. 1272/2008 [CLP]'de (EC) tanımlanan şekilde sembol	
	GHS07: Sağlık tehlikesi: alerjik cilt reaksiyonuna neden olabilir
	GHS02: Yanıcı: yüksek derecede yanıcı sıvı ve buhar
	GHS08: Sağlık tehlikesi: genetik kusurlara neden olduğundan şüphelenilmektedir, kansere neden olabilir

