



Spermac Stain

Комплект за оцветяване на човешки сперматозоиди

IVD

Идентификационен номер на документа:

FP09 I21 R01 D.2

Актуализация: 31/01/2024

ВКЛЮЧЕНИ МАТЕРИАЛИ

Каталожен номер

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

ТЕХНИЧЕСКА ПОДДРЪЖКА ЗА КЛИЕНТИТЕ

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

За инвитро диагностична употреба -

Реактиви само за професионална употреба

ОБЩА ИНФОРМАЦИЯ

Морфологичният анализ на сперматозоидите е едно от основните изследвания на сперматозоидите, които се извършват при диагностицирането и лечението на мъжкото безплодие. Spermac Stain е комплект за инвитро диагностика, състоящ се от фиксатор и 3 разтвора за оцветяване на човешки сперматозоиди. Оцветяването улеснява разграничаването на морфологично нормални и анормални сперматозоиди и подобрява визуализацията на различните части на сперматозоида (глава, акрозома, екваториална област, средна част, опашка) ^(1, 2).

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Spermac Stain е качествен, неавтоматизиран диагностичен комплект за професионална употреба за оцветяване на човешки сперматозоиди. Целта на оцветяването на сперматозоидите е да се улесни разграничаването на морфологично нормалните от анормалните сперматозоиди. Резултатът от тази оценка може да помогне при оценката на диагнозата и лечението на мъжкото безплодие.

МАТЕРИАЛИ, ВКЛЮЧЕНИ В КОМПЛЕКТА

Код на продукта:	SPS050	SPS250
Оцветител А: Червен оцветител	50 ml	250 ml
Оцветител В: Бледозелен оцветител	50 ml	250 ml
Оцветител С: Тъмозелен оцветител	50 ml	250 ml
Фиксиране: Фиксатор	50 ml	250 ml

Сертификатът за анализ и MSDS се предоставят при поискване или могат да бъдат изтеглени от нашия уебсайт (www.fertipro.com).

НЕОБХОДИМИ МАТЕРИАЛИ, КОИТО НЕ СЕ ПРЕДОСТАВЯТ

- Микроскопски стъкла
- 5 буркана Corlin
- Микроскоп (1000x увеличение)
- Имерсионно масло

- Отоплителна плоча (37°C)
- Чешмяна или дестилирана вода

МЕТОД

Сканирайте баркода (или последвайте връзката от www.fertipro.com), за да видите демонстрационния видеоклип.



Взимане и подготовка на пробите

Трябва да се използват стандартни контейнери за събиране на сперма, когато спермата се събира чрез мастурбация. Те обикновено се правят от полипропилен и се тества оцеляването/подвижността на сперматозоидите. Когато не е възможно събирането на сперма чрез мастурбация, трябва да се използват презервативи от синтетичен материал, които не са токсични за спермата. Съхранявайте контейнера за събиране на сперма на стайна температура, преди да добавите семенната проба, за да избегнете големи температурни промени, които могат да повлияят на сперматозоидите. Периодът на въздържание трябва да е 2–7 дни. Избягвайте загубата на първата семенна фракция, тъй като тя съдържа пропорционално повече нормални сперматозоиди. Не изчакайте повече от 4 часа след еякулацията, преди да започнете теста.

Подготовка на реактива

1. Изсипете Оцветителите А, В и С в отделни буркани Corlin, като се уверите, че нивото на течността е достатъчно високо, за да покрие зоната, която ще се оцветява.
2. Напълнете буркан или банка Corlin с чешмяна вода за етапите на промивка (вж. Забележка 1).
3. Подгответе стъклените предметни стъкла: почистете ги, измийте ги със спирт и ги оставете да изсъхнат
4. Дръжте бутилката с фиксиращия реактив затворена! (вж. Забележка 2)

Забележка 1: използвайте дестилирана вода, ако чешмяната вода е алкална (pH >7). Ако се използва банка, която позволява комбиниране на няколко предметни стъкла, уверете се, че тя е достатъчно голяма, за да осигури пълна промивка.

Забележка 2: Изпаренията на фиксатора пречат на оцветяването, дори в много малки количества.

Процедура за оцветяване

1. Разбъркайте добре спермата, за да получите хомогенна проба, и пригответе тънка намазка с изпъкнал ръб от прясна, неразредена, за

предпочитане втечнена сперма върху стъклено предметно стъкло (напр. 10 µl сперма). Оставете намазката да изсъхне на въздух за около 5 минути върху отоплителна плоча при 37°C.

2. Когато намазката е изсъхнала, изсипете фиксатора в буркан. Извършвайте всяка работа с фиксатора **под аспиратор!**
 - a. Фиксирайте намазката, като потопите предметното стъкло за минимум 5 минути в бурканчето с фиксатор. По-дългата фиксация е приемлива, но не е необходима.
 - b. Извадете предметното стъкло от буркана с фиксатора и го поставете за кратко вертикално върху попивателна хартия, за да се отцеди излишната течност. Не докосвайте пробата с хартията.
 - c. Оставете предметното стъкло да изсъхне, като го поставите върху отоплителна плоча при 37°C за 15 минути. Междувременно отстранете буркана Corlin с фиксатора от работната зона.
 3. Промийте, като внимателно потопите предметното стъкло 7 пъти в буркана с вода (вж. Забележка 1 по-горе). Ако е необходимо (напр. при използване на малък буркан Corlin), повторете процедурата за промивка с прясна вода, за да се гарантира пълната промивка. За кратко изцедете излишната вода, като докоснете края на предметното стъкло върху попивателна хартия.
 4. Потопете бавно предметното стъкло 7x в Оцветител А (вж. Забележка 3). След това го оставете да престои за 2 минути в буркана. След това го поставете вертикално върху попивателна хартия. Промийте в прясна вода и отцедете, както е посочено в стъпка 3. Повторете промивката в чиста вода. **Двойната промивка след Оцветител А е важна.**
 5. Потопете предметното стъкло 7x в Оцветител В. След това го оставете да престои за 1 минута в буркана. След това го поставете вертикално върху попивателна хартия. Промийте в прясна вода и отцедете, както е посочено в стъпка 3.
 6. Потопете предметното стъкло 7x в Оцветител С. След това го оставете да престои за 1 минута в буркана. След това го поставете вертикално върху попивателна хартия. Промийте в прясна вода и отцедете, както е посочено в стъпка 3.
 7. Оставете предметното стъкло да изсъхне на въздух.
 8. Наблюдавайте предметното стъкло под светлинен микроскоп (1000x), като използвате маслена имерсия.
- Забележка 3:** „бавно“ означава: около 1 потапяне в секунда. Потапянето е важно, тъй като осигурява пълен контакт на пробата с оцветителя.

ТЪЛКУВАНЕ

- акрозома = тъмнозелено
 - ядро = оцветено в червено
 - екваториална област = бледозелено
 - средна част и опашка = зелено
- Пребройте най-малко 100, а най-добре 200 сперматозоида и ги класифицирайте като нормални или аномални, като посочите кои дефекти са най-чести.
- Включете в преброяването само разпознаваеми сперматозоиди.
- Според критериите на СЗО от 2021 г. пробата се счита за нормална, ако поне 4 % от сперматозоидите са с нормална форма⁽⁹⁾.
- Чрез стриктното прилагане на определени критерии за морфология на сперматозоидите са установени зависимости между процента с нормална форма и различни крайни показатели за фертилност (време до забременяване, процент на бременност инвиво и инвитро), които могат да бъдат полезни за прогнозиране на фертилността⁽⁹⁾.

ЗАБЕЛЕЖКИ ЗА ИЗПОЛЗВАНЕ

- Пробите с белтъчна или желатинова структура и замразените проби трябва да се разреждат 1:1 с 3 % натриев цитрат преди намазване.
- Оцветеното предметно стъкло трябва да бъде прозрачно със съвсем лек зелен оттенък. Ако предметно стъкло е тъмнозелено, то е било изложено на изпарения от фиксатора преди фиксирането.
- За транспортиране преди оцветяване предметните стъкла могат да бъдат подготвени, фиксирани, измити и изсушени. Предпазвайте от износване по време на транспортиране. Когато сте готови за оцветяване, започнете процеса от фиксатора (Стъпка 2), т.е. предметните стъкла се фиксират два пъти. Това е важно, тъй като фиксаторът съдържа буфери, които осигуряват правилното последващо оцветяване.

МОНТИРАНЕ НА ПРЕДМЕТНИТЕ СЪГЪЛА

Оцветяването ще изглежда по-добре под средата за монтиране (след няколко седмици). Затова не монтирайте предметни стъкла, ако искате да ги използвате по-късно като справка. Внимателно изтрийте имерсионното масло, което също

причинява избледняване. За предпочитане е да се направят дубликати на предметните стъкла за бъдеща справка, ако е необходимо, или фотографски и/или видеозаписи.

ОГРАНИЧЕНИЯ НА МЕТОДА

Оцветените със Spermac Stain сперматозоиди не могат да се използват за друга процедура.

СЪХРАНЕНИЕ/ИЗХВЪРЛЯНЕ И СТАБИЛНОСТ

- Spermac Stain трябва да се съхранява в затворени буркани Corlin или в оригиналните бутилки при температура 2—25°C.
- Подходящ за транспортиране или краткосрочно съхранение при повишени температури (до 5 дни при 37°C)
- Реактивите са стабилни до датата на изтичане на срока на годност, посочена на етикета. Да не се използва след изтичане на срока на годност.
- Оцветяването обаче премахва съставките и внася замърсители, поради което оцветителите трябва да се заменят, когато вече не се постига подходящо оцветяване.
- Филтрирайте оцветителите, ако се наблюдават отлагания.
- Реактивите трябва да се обезвредят в съответствие с местните разпоредби за обезвреждане на медицински изделия.
- Трудно е да се определи броят на тестовите, които могат да се извършат с един комплект Spermac Stain, тъй като оцветителите могат да се използват повторно.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

- Всички човешки органични материали трябва да се считат за потенциално инфекциозни. С всички проби трябва да се работи както с такива, които могат да предадат ХИВ или хепатит. Винаги носете защитно облекло при работа с проби и реактиви (ръкавици, лабораторна престилка, предпазни средства за очи/лице).
- Фиксиране: съдържа параформалдехид; може да предизвика алергична кожна реакция; причинява сериозно дразнене на очите; подозира се, че причинява рак.
- Поради токсичност при вдишване на параформалдехид, действията, при които се

използва фиксаторът, трябва да се извършват под аспиратор.

- Оцветител А и Оцветител В: силно запалима течност и изпарения
- Оцветителите съдържат вещества, които са идентифицирани като мутагенни. Въпреки това, тъй като концентрацията на тези вещества в крайния реактив е ниска, самите оцветители не са идентифицирани като мутагенни.
- Комплектът не съдържа вещества, нарушаващи функциите на ендокринната система.

ЛИТЕРАТУРА


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.

РЕЧНИК НА СИМВОЛИТЕ

Символи, както са определени в ISO 15223

	Каталожен номер
	Код на партидата
	Вижте инструкциите за употреба
	Производител
	Инвитро диагностика
	Температурна граница
	Срок на годност

Символ, както е определен в Регламент 2017/746 (IVDR)

 Маркировка CE

Символ, както е определен в Регламент (ЕО) № 1272/2008 [CLP]

	GHS07 Опасност за здравето: може да предизвика алергична кожна реакция
	GHS02 Запалимо: силно запалима течност и изпарения
	GHS08: Опасност за здравето: подозира се, че причинява генетични дефекти, може да причини рак

