

Spermac Stain

Kit para coloração de espermatozoides humanos

IVD

Referência do documento: FP09 I21 R01 D.2
Atualização: 31/01/2024

MATERIAL INCLUSO

Número do catálogo

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

APOIO AO CLIENTE-TÉCNICO

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

Para uso diagnóstico in vitro
Reagentes apenas para uso profissional

INFORMAÇÕES GERAIS

A análise da morfologia dos espermatozoides é um dos procedimentos básicos de análise do sêmen realizados no diagnóstico e tratamento da infertilidade masculina. O Spermac Stain é um kit de coloração de diagnóstico in vitro que consiste de um fixador e 3 soluções corantes para espermatozoides humanos. A coloração facilita a distinção entre espermatozoides morfologicamente normais e anormais, melhorando a visualização de diferentes partes da célula espermática (cabeça, acrossoma, segmento equatorial, peça intermediária, cauda) ^(1, 2).

USO PRETENDIDO

O Spermac Stain é um kit de diagnóstico qualitativo não automatizado de uso profissional para a coloração de espermatozoides humanos. A finalidade da coloração dos espermatozoides é facilitar a diferenciação entre espermatozoides morfologicamente normais e anormais. O resultado desta análise pode ajudar na avaliação do diagnóstico e do tratamento da infertilidade masculina.

MATERIAL INCLUSO NO KIT

Spermac Stain		SPS050	SPS250
Código do produto:			
Corante A: Corante vermelho	50 ml	250 ml	
Corante B: Corante verde claro	50 ml	250 ml	
Corante C: Corante verde escuro	50 ml	250 ml	
Fixador	50 ml	250 ml	

Um certificado de análise e uma FISPQ estão disponíveis mediante solicitação ou podem ser baixados em nosso site (www.fertipro.com).

MATERIALS REQUIRED, BUT NOT PROVIDED

- Lâminas para microscópio
- 5 cubas de coplin
- Microscópio (magnificação de 1000x)
- Óleo de imersão
- Chapa aquecedora (37 °C)
- Água da torneira ou destilada

MÉTODO

Faça a leitura do código de barras (ou siga o link em www.fertipro.com) para ver o vídeo de demonstração.



Coleta e preparação das amostras

Recipientes padrão de coleta de sêmen devem ser usados, tipicamente em polipropileno e sobrevivência/motilidade espermática testada, quando o sêmen é coletado por masturbação. Preservativos de plástico não tóxicos para o sêmen devem ser usados quando a coleta de sêmen por masturbação não for possível. Mantenha o recipiente de coleta de sêmen em temperatura ambiente antes de adicionar a amostra de sêmen para evitar grandes mudanças de temperatura que possam afetar os espermatozoides.

O período de abstinência deve ser de 2 a 7 dias. Evite a perda da primeira fração do sêmen, pois contém proporcionalmente mais espermatozoides normais. Não espere mais de 4 horas após a ejaculação para iniciar o teste.

Preparação dos reagentes

1. Coloque os Corantes A, B e C em diferentes cubas de coplin. O nível do líquido deve ser suficientemente alto para cobrir a área a ser corada.
2. Encha uma cuba de coplin ou berço com água da torneira para as etapas de lavagem (ver Nota 1)
3. Prepare as lâminas: limpe, lave com álcool e deixe secar
4. Mantenha o frasco do reagente fixador fechado! (ver Nota 2)

Nota 1: utilize água destilada se a água da torneira for alcalina (pH > 7). Se for utilizado um berço que permita a combinação de várias lâminas, ele deve ser suficientemente grande para garantir a lavagem completa.

Nota 2: O vapor do fixador interfere na coloração, mesmo em quantidades muito pequenas.

Procedimento de coloração

1. Misture bem o sêmen para obter uma amostra homogênea e prepare um esfregão fino de sêmen fresco, não diluído, de preferência liquefeito, em uma lâmina (por exemplo, 10 µl de sêmen). Deixe o esfregão secar por aproximadamente 5 minutos sobre uma chapa aquecedora a 37 °C.
2. Quando o esfregão estiver seco, coloque o fixador em uma cuba. A manipulação do fixador deve ser feita **sob uma capela de exaustão!**

- a. Deixe a lâmina imersa por pelo menos 5 minutos na cuba com o fixador para fixar o esfregaço. Um tempo de fixação mais longo é aceitável, mas não é necessário.
 - b. Retire a lâmina da cuba com o fixador, coloque-a por um instante na vertical sobre papel absorvente para drenar o excesso de líquido. Não deixe a amostra tocar no papel.
 - c. Deixe a lâmina secar sobre uma chapa aquecedora a 37 °C por 15 minutos. Enquanto isso, retire a cuba de coplin com o fixador da área de trabalho.
3. Lave com cuidado, mergulhando 7 vezes na cuba com água (ver Nota 1 acima). Se necessário (por exemplo, ao utilizar uma cuba de coplin pequena), repita o procedimento de lavagem com água limpa para garantir uma lavagem completa. Drene o excesso de água tocando por um instante a extremidade da lâmina em papel absorvente.
 4. Mergulhe lentamente 7 vezes no Corante A (ver Nota 3). Depois, deixe por 2 minutos na cuba, sem mexer. Em seguida, coloque na vertical sobre papel absorvente. Lave com água limpa e drene conforme especificado na etapa 3. Repita a lavagem com água limpa. **É importante lavar duas vezes depois do Corante A.**
 5. Mergulhe a lâmina 7 vezes no Corante B. Depois, deixe por 1 minuto na cuba, sem mexer. Em seguida, coloque na vertical sobre papel absorvente. Lave com água limpa e drene conforme especificado na etapa 3.
 6. Mergulhe a lâmina 7 vezes no Corante C. Depois, deixe por 1 minuto na cuba, sem mexer. Em seguida, coloque na vertical sobre papel absorvente. Lave com água limpa e drene conforme especificado na etapa 3.
 7. Deixe a lâmina secar ao ar livre.
 8. Observe a lâmina sob um microscópio de luz (1000x) usando imersão em óleo.

Nota 3: 'lentamente' significa: cerca de 1 mergulho por segundo. A imersão é importante porque garante o contato total da amostra com o corante.

INTERPRETATION

- acrossoma = verde escuro
 - núcleo = corado de vermelho
 - segmento equatorial = verde claro
 - peça intermediária e cauda = verde
- Conte pelo menos 100 e de preferência 200 espermatozoides. Classifique os espermatozoides como normais ou anormais, especificando quais são os defeitos mais comuns.

- Inclua apenas espermatozoides que possam ser identificados na contagem.
- Utilizando os critérios da OMS de 2021, uma amostra é considerada normal se pelo menos 4% dos espermatozoides apresentarem formas normais⁽³⁾.

Pela aplicação rigorosa de certos critérios de morfologia espermática, foram estabelecidas relações entre as formas percentuais normais e vários parâmetros de fertilidade (tempo para engravidar, taxas de gravidez in vivo e in vitro), que podem ser úteis para o prognóstico da fertilidade⁽³⁾.

OBSERVAÇÕES SOBRE O USO

- Amostras proteínicas ou gelatinosas e amostras congeladas devem ser diluídas na proporção 1:1 com 3% de citrato de sódio antes do esfregaço.
- Uma lâmina corada deve ser transparente com uma tonalidade ligeiramente verde. Se a lâmina estiver verde escura, então a lâmina foi exposta a vapores do fixador antes da fixação.
- Para o transporte antes da coloração, as lâminas podem ser preparadas, fixadas, lavadas e secas. Proteja contra a abrasão durante o transporte. Quando estiver pronta para a coloração, inicie o processo no fixador (Etapa 2), ou seja, as lâminas recebem uma dupla fixação. Isso é importante porque o fixador contém tampões que asseguram que a coloração subsequente ocorra corretamente.

MONTAGEM DAS LÂMINAS

A coloração desbotará sob o meio de montagem (após algumas semanas). Portanto, não monte as lâminas se você quiser usá-las como referência mais tarde. Seque delicadamente o óleo de imersão, que também provoca desbotamento. É preferível fazer lâminas em duplicata para futura referência, se necessário, ou registros fotográficos e/ou de vídeo.

LIMITAÇÕES DO MÉTODO

Os espermatozoides corados com Spermac Stain não podem ser usados para qualquer outro procedimento.

ARMAZENAMENTO/DESCARTE E ESTABILIDADE

- O Spermac Stain deve ser armazenado em cubas de coplin fechadas ou nos frascos originais, entre 2 °C e 25 °C.

- Adequado para transporte ou curto período de armazenamento em temperaturas elevadas (até 5 dias a 37 °C).
- Os reagentes são estáveis até a data de validade especificada no rótulo. Não use após a data de validade.
- Entretanto, a coloração remove componentes e introduz contaminantes, devendo portanto ocorrer a substituição dos corantes quando não for mais possível obter uma coloração adequada.
- Filtre os corantes caso seja observada a existência de depósito.
- Os reagentes devem ser descartados de acordo com a legislação local para o descarte de dispositivos médicos.
- É difícil determinar o número de testes que podem ser realizados com um único kit Spermac Stain, já que os corantes podem ser reutilizados.

AVISOS E PRECAUÇÕES

- Todo material orgânico humano deve ser considerado potencialmente infeccioso. Manuseie todas as amostras como se fossem capazes de transmitir HIV ou hepatite. Use sempre roupas de proteção ao manusear amostras e reagentes (luvas, jaleco, proteção dos olhos/face).
- Fixador: contém paraformaldeído; pode causar uma reação alérgica na pele; causa irritação ocular grave; suspeita de causar câncer.
- Devido à toxicidade ao inalar o paraformaldeído, as etapas de utilização do fixador devem ser realizadas sob uma capela de exaustão.
- Corante A e Corante B: líquido e vapor altamente inflamáveis
- Os corantes contêm substâncias que são identificadas como mutagênicas. Entretanto, como a concentração dessas substâncias no reagente final é baixa, os corantes em si não são identificados como mutagênicos.
- O kit não contém quaisquer substâncias desreguladoras do sistema endócrino.

REFERÊNCIAS

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.

IMPORTADOR BRASIL:

INTERMEDICAL EQUIPAMENTOS UROLÓGICOS LTDA
RUA PAISSANDU 288 – LARANJEIRAS
RIO DE JANEIRO-RJ
CEP: 22210-080
01.856.395/0001-91

Se ocorrer problemas usando este produto, favor entrar em contato com nosso Atendimento ao Consumidor – (021) 2196-6100.












REGISTRO ANVISA N.º:

80308320060 (Classe I – corantes citológicos)

RESPONSÁVEL TÉCNICO no Brasil:

Ronaldo Reis Fontoura - CRM 5251022-5

GLOSSÁRIO DE SÍMBOLOS

Símbolos conforme definido pela norma ISO 15223	
	Número de catálogo
	Código de lote
	Consulte as instruções de uso
	Fabricante
	Diagnóstico in vitro
	Limite de temperatura
	Data de validade
Símbolo conforme definido pela norma IVDR 2017/746	
	Marcação CE
Símbolo definido conforme a Norma (EC) No. 1272/2008 [CLP]	
	GHS07: Perigo à saúde: pode causar uma reação alérgica na pele
	GHS02: Inflamável: líquido e vapor altamente inflamáveis
	GHS08: Perigo à saúde: suspeita de causar defeitos genéticos, pode causar câncer

