

# Spermac Stain



Súprava na farbenie ľudských spermií

ID dokumentu: FP09 I21 R01 D.2

Aktualizácia: 31/01/2024

Na diagnostické použitie in vitro.

Reagencie sú určené len na profesionálne použitie.

## VŠEOBECNÉ INFORMÁCIE

Analýza morfológie spermií je jedným zo základných vyšetrení spermy, ktoré sa vykonávajú pri diagnostike a liečbe neplodnosti u mužov. Spermac Stain je diagnostická farbivá súprava in vitro, ktorá pozostáva z fixačného roztoku a troch roztokov na farbenie ľudských spermií. Farbenie umožňuje odlišiť morfológicky normálne spermie od abnormálnych spermií a zlepšuje vizualizáciu rôznych častí spermií (hlavička, akrozóm, ekvatoriálny segment, stredná časť, bičik)<sup>1,2</sup>.

## URČENÉ POUŽITIE

Spermac Stain je kvalitatívna, neautomatizovaná diagnostická súprava na profesionálne použitie, ktorá je určená na farbenie ľudských spermií. Účelom farbenia spermií je uľahčiť odlišenie morfológicky normálnych spermií od abnormálnych spermií. Výsledok tohto hodnotenia môže pomôcť pri posúdení diagnózy a liečby mužskej neplodnosti.

## MATERIÁL, KTORÝ JE SÚČASŤOU SÚPRAVY

Spermac Stain

Kód produktu:	SPS050	SPS250
Farbivo A: červené farbivo	50 ml	250 ml
Farbivo B: svetlozelené farbivo	50 ml	250 ml
Farbivo C: tmavozelené farbivo	50 ml	250 ml
Fix: fixačný roztok	50 ml	250 ml

Osvedčenie o analýze a doklad o bezpečnosti materiálu (MSDS) sú k dispozícii na požiadanie alebo si ich môžete stiahnuť z našej webovej stránky ([www.fertipro.com](http://www.fertipro.com)).

## POTREBNÝ MATERIÁL, KTORÝ NIE JE SÚČASŤOU DODÁVKY

- mikroskopické sklíčka
- 5 farbivých nádobiek typu Coplin
- Mikroskop (zväčšenie 1000x)
- olejová imerzia
- ohrievacia platňa (37 °C)
- voda z vodovodu alebo destilovaná voda

## METÓDA

Naskenujte čiarový kód (alebo použite odkaz na stránke [www.fertipro.com](http://www.fertipro.com)) a pozrite si video s ukázkou:



## ODBER A PRÍPRAVA VZORIEK

Pri odbere spermií masturbáciou je potrebné používať štandardné nádoby na odber spermií, zvyčajne polypropylénové, a zároveň by sa mal vykonať test prežitia/motility spermií. Ak odber spermy masturbáciou nie je možný, je potrebné používať plastové kondómy, ktoré nie sú pre spermium toxické. Pred odberom vzorky spermy temperujte nádobu na odber spermií pri izbovej teplote s cieľom zamedziť veľkým teplotným zmenám, ktoré by mohli ovplyvniť spermie.

Obdobie abstinencie by malo trvať 2 až 7 dní. Zabráňte strate prvej frakcie spermy, pretože obsahuje proporcionálne väčšie množstvo normálnych spermií. Test by sa mal vykonať najneskôr do štyroch hodín od ejakulácie.

## PRÍPRAVA REAGENCIÍ

1. Farbivá A, B a C nalejte do samostatných nádobiek typu Coplin a uistite sa, že hladina tekutiny je dostatočne vysoko, aby pokryla oblasť, ktorá sa má zafarbiť.
2. Nádobku typu Coplin alebo kolísku naplňte vodou z vodovodu na premývanie (pozrite Poznámku č. 1)
3. Pripravte si podložné sklíčka: očistite a umyte ich v alkohole a nechajte uschnúť
4. Flaštičku s fixačným činidlom zatvárajte! (pozrite Poznámku č. 2)

**Poznámka 1:** Ak je voda z vodovodu zásaditá (pH >7), použite destilovanú vodu. Ak používate kolísku, ktorá umožňuje použiť viacero sklíčok, uistite sa, že jej veľkosť postačuje na úplné premýtie.

**Poznámka 2:** Výpary fixačného roztoku ovplyvňujú proces farbenia aj pri veľmi malých množstvách.

## POSTUP FARBENIA

1. Spermium dobre premiešajte, aby vznikla homogénna vzorka. Na podložné sklíčko naneste dostratená tenký náter čerstvej, nezriedenej

a podľa možnosti skvapalnenej spermy (napr. 10 µl spermy). Náter nechajte schnúť na vzduchu asi 5 minút na ohrievacej platni pri 37°C.

2. Keď je náter zaschnutý, nalejte do nádoby fixačný roztok. Pri každej manipulácii s fixačným roztokom pracujte v digestore!

a. Zafixujte náter ponorením sklíčka do nádoby s fixačným roztokom na 5 minút. Fixácia môže trvať aj dlhšie, ale nie je to nevyhnutné.

b. Sklíčko vyberte z nádoby s fixačným roztokom, krátko ho priložte vo zvislej polohe k savému papieru a nechajte prebytočnú tekutinu odtiecť. Papier sa nesmie dotknúť vzorky.

c. Podložné sklíčko nechajte vyschnúť tak, že ho položíte na 15 minút na ohrievaciu platňu pri teplote 37 °C. Medzitým presuňte nádobku typu Coplin s fixačným roztokom mimo pracovnej oblasti.

3. Sedemkrát jemne ponorte do nádoby s vodou na premytie (pozrite Poznámku č. 1 vyššie). V prípade potreby (napr. pri použití malej nádoby typu Coplin) zopakujte premývacie postupy s čerstvou vodou, aby ste dosiahli úplné premytie. Prebytočnú vodu nechajte odtiecť tak, že koniec sklíčka priložíte na savý papier.

4. Pomalým pohybom sklíčko sedemkrát ponorte a vytiahnite z farbiva A (pozrite Poznámku č. 3). Potom nechajte nerušené 2 minúty stáť v nádobe. Následne priložte vo vertikálnej polohe k savému papieru. Premytie zopakujte v čerstvej vode. **Po farbive A je dôležité dvojité premytie.**

5. Sklíčko sedemkrát ponorte a vytiahnite z farbiva B. Potom nechajte nerušené stáť 1 minútu v nádobe. Následne priložte vo vertikálnej polohe k savému papieru. Premytie v čerstvej vode a nechajte odtiecť, ako sa uvádza v kroku č. 3.

6. Sklíčko sedemkrát ponorte a vytiahnite z farbiva C. Potom nechajte nerušené stáť 1 minútu v nádobe. Následne priložte vo vertikálnej polohe k savému papieru. Premytie v čerstvej vode a nechajte odtiecť, ako sa uvádza v kroku č. 3.

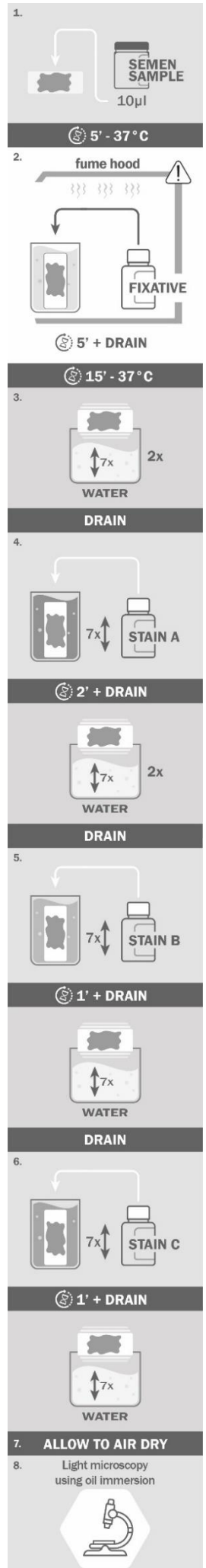
7. Nechajte sklíčko vyschnúť na vzduchu.
8. Sklíčko pozorujte pod svetelným mikroskopom (1000 x) s použitím olejovej imerzie.

**Poznámka č. 3:** „pomaly“ znamená približne jeden ponor za sekundu. Ponorenie je dôležité, pretože zabezpečuje úplný kontakt vzorky s farbivom.

## INTERPRETÁCIA

- akrozóm = tmavozelená
- jadro = škvrnitá červená
- ekvatoriálny segment = svetlozelená
- stredná časť a bičik = zelená

- Spočítajte aspoň 100 a podľa možnosti až 200 spermií a klasifikujte ich z hľadiska normálnosti alebo abnormálnosti, pričom špecifikujte, ktoré defekty sa vyskytujú najčastejšie.
- Do počtu zahrňte len identifikovateľné spermie.
- Podľa kritérií WHO z roku 2021 sa vzorka považuje za normálnu, ak



aspoň 4 % spermíí vykazujú normálne formy<sup>3</sup>.

Striktnou aplikáciou určitých kritérií morfológie spermíí boli stanovené vzťahy medzi percentami normálnych foriem a rôznymi sledovanými parametrami plodnosti (čas do otehotnenia, frekvencia gravidity in vivo a in vitro), čo môže byť užitočné pre prognózovanie plodnosti<sup>3</sup>.

#### POZNÁMKY K POUŽÍVANIU

- Bielkovinové alebo rôsolovité vzorky a zmrazené vzorky sa musia pred náterom zriediť v pomere 1:1 s 3 % citranom sodným.
- Zafarbené sklíčko by malo byť priehľadné s veľmi jemným zeleným nádychom. Ak je sklíčko tmavozelené, muselo byť pred fixáciou vystavené pôsobeniu výparov z fixačného roztoku.
- V prípade prepravy pred farbením možno sklíčka pripraviť, fixovať, umyť a vysušiť. Počas prepravy chráňte pred odozvom. Ak je všetko pripravené na proces farbenia, začnite s fixačným roztokom (krok č. 2), t. j. sklíčka budú fixované dvakrát. Tento aspekt je dôležitý, pretože fixačný roztok obsahuje pufre, ktoré zabezpečia správny priebeh farbenia.

#### FIXÁCIA SKLÍČOK

Pri použití fixačného média sfarbenie vybledne (po niekoľkých týždňoch). Preto sklíčka nefixujte, ak ich plánujete použiť neskôr ako referenčný vzor. Jemne zotrite imerzný olej, ktorý takisto spôsobuje vyblednutie. Pre budúce potreby je preto vhodnejšie vytvoriť duplikáty sklíčok alebo fotografie resp. videozáznamy.

#### OBMEDZENIA METÓDY

- Spermie zafarbené pomocou súpravy Spermac Stain nemožno použiť na žiadny iný postup.

#### SKLADOVANIE/LIKVIDÁCIA A STABILITA

- Spermac Stain je potrebné skladovať v uzavretých nádobách typu Coplin alebo pôvodných fľašiach pri teplote 2 – 25 °C.
- Vhodné na prepravu alebo krátkodobé uskladnenie pri zvýšenej teplote (do 5 dní pri 37 °C).
- Reagencie sú stabilné do dátumu expirácie uvedeného na štítku. Nepoužívajte po uplynutí dátumu expirácie.
- Pri farbení dochádza k úbytku zložiek a ku kontaminácii, a preto by sa farbivá mali nahradiť v prípade, ak nie je možné dosiahnuť dostatočné zafarbenie.
- Ak sa objavili usadeniny, farbivá prefiltrujte.
- Reagencie sa musia zlikvidovať v súlade s miestnymi predpismi na likvidáciu zdravotníckych pomôcok.
- Počet testov, ktoré možno vykonať pomocou jednej súpravy Spermac Stain, sa nedá spoľahlivo určiť vzhľadom na opakované použitie farbív.

#### VAROVANIA A BEZPEČNOSTNÉ OPATRENIA

- Všetok ľudský organický materiál by sa mal považovať za potenciálne infekčný. So všetkými vzorkami zaobchádzajte, ako keby mohli prenášať HIV alebo hepatitídu. Pri manipulácii so vzorkami a reagentami nosíte vždy ochranný odev (rukavice, laboratórnu vestu, ochranu očí/tváre)
- Fix: obsahuje paraformaldehyd; môže spôsobiť alergickú kožnú reakciu; spôsobuje vážne podráždenie očí; vyvoláva podozrenie, že spôsobuje rakovinu.
- Vzhľadom na toxicitu pri inhalácii paraformaldehydu by sa tie kroky postupu, pri ktorých sa používa fixačný roztok, mali vykonávať v digestore.
- Farbivo A a farbivo B: vysoko horľavá kvapalina a výpary
- Farbivo obsahuje látky, ktoré sú identifikované ako mutagénne. Samotné farbivá však nie sú vzhľadom na nízku koncentráciu týchto látok vo finálnej reagentii identifikované ako mutagénne.
- Súprava neobsahuje žiadne endokrinné disruptory.

#### LITERATÚRA

- <sup>1</sup> Oettlé EE(1986). An improved staining technique which facilitates sequential monitoring of the acrosome state, Development, Growth and Differentiation (Suppl.): 28
- <sup>2</sup> Chan PJ, Corselli JU, Jacobson JD, Patton WC, King A (1999). Sperm stain analysis of human sperm acrosomes. Fertility and Sterility 72 (1): 124-128.
- <sup>3</sup> Geneva: World Health Organization. 2021. 'WHO Laboratory manual for the examination and processing of human semen', sixth edition.

#### TECHNICKÁ PODPORA PRE ZÁKAZNÍKOV



FertiPro NV  
 Industriepark Noord 32  
 8730 Beernem – Belgie  
 Tel. + 32 (0)50 79 18 05  
 Fax. + 32 (0)50 79 17 99  
 E-mail : info@fertipro.com  
 URL : <http://www.fertipro.com>

#### SLOVNÍK SYMBOLOV

Symbol vymedzený v norme ISO 15223			
	Katalógové číslo		Kód šarže
	Teplotný limit		Výrobca
	Prečítajte si návod na použitie		Dátum spotreby
	Diagnostika in vitro		
Symbol vymedzený v nariadení 2017/746			
	Označenie CE		
Symbol vymedzený v nariadení (ES) č. 1272/2008 [CLP]			
	GHS07: Ohrozenie zdravia: môže vyvolať alergickú kožnú reakciu		GHS08: Ohrozenie zdravia: podozrenie, že spôsobuje genetické poškodenie, Môže spôsobiť rakovinu
	GHS02: Horľavá látka: veľmi horľavá kvapalina a výpary		