



Spermac Stain

Kit voor de kleuring van humane spermatozoa



Doc. ref.: FP09 I21 R01 D.2

Update: 31/01/2024

MATERIAAL INBEGREPEN

Catalogusnummer

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

KLANTEN-TECHNISCHE ONDERSTEUNING

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

Voor *in vitro* diagnostisch gebruik

Reagentia enkel voor professioneel gebruik

ALGEMENE INFORMATIE

Het evalueren van de morfologie van spermatozoa is een van de standaard onderzoeken die worden gebruikt voor de diagnose en behandeling van mannelijke infertiliteit. Spermac Stain is een *in vitro* diagnostische kit bestaande uit een fixatief en 3 kleuringsoplossingen voor humane spermatozoa. Kleuring maakt het gemakkelijker om een onderscheid te maken tussen morfologische normale en abnormale spermatozoa en vereenvoudigt de evaluatie van de verschillende onderdelen van de spermacel (hoofd, acrosoom, equatoriale regio, middenstuk, staart)^(1,2).

BEOOGD GEBRUIK

Spermac Stain is een kwalitatieve, niet-geautomatiseerde, diagnostische kit voor professioneel gebruik voor de kleuring van humane spermatozoa. Het doel van het kleuren van spermatozoa is om een onderscheid te kunnen maken tussen morfologisch normale en abnormale spermacellen. De uitkomst van deze evaluatie kan helpen tijdens de diagnose en de behandeling van mannelijke onvruchtbaarheid.

MATERIAAL AANWEZIG IN DE KIT

Spermac Stain

Product code:	SPS050	SPS250
Stain A: Rode kleuring	50 ml	250 ml
Stain B: Lichtgroene kleuring	50 ml	250 ml
Stain C: Donkergroene kleuring	50 ml	250 ml
Fix: fixatief	50 ml	250 ml

Het certificaat van analyse en de MSDS zijn beschikbaar op verzoek of kunnen gedownload worden van onze website (www.fertipro.com).

MATERIAAL VEREIST, MAAR NIET AANWEZIG IN DE KIT

- Microscopglaasjes (glazen slides)
- 5 Coplin kleurbakjes
- Microscop (1000x vergroting)
- Immersie olie
- Warmteplaat (37°C)
- Kraantjes- of gedistilleerd water

METHODE

Scan de barcode (of volg de link op www.fertipro.com) om de demonstratievideo te bekijken.



Verzamelen en voorbereiden van specimen

Wanneer het sperma door masturbatie wordt verkregen, moeten standaard spermacontainers worden gebruikt, meestal vervaardigd uit polypropyleen, die getest zijn op de overleving/bewegelijkheid van het sperma. Wanneer de afname van sperma door masturbatie niet mogelijk is, moeten niet-sequentoxische plastic condooms worden gebruikt. Bewaar de spermacontainer op kamertemperatuur voordat het spermastaal wordt toegevoegd om grote temperatuurschommelingen te voorkomen die de spermatozoa kunnen beïnvloeden.

De onthoudingsperiode zou 2-7 dagen moeten bedragen. Vermijd het verlies van de eerste semenfractie aangezien deze proportioneel meer normale spermatozoa bevat. Wacht niet langer dan 4 uur na de ejaculatie om de test te starten.

Voorbereiden van reagentia

1. Giet Stain A, B en C in aparte Coplin kleurbakjes, zorg ervoor dat het vloeistofniveau hoog genoeg is om het te kleuren gebied in onder te dompelen.
2. Vul een Coplin kleurbakje of een ander recipiënt met kraantjeswater voor de stappen waarin de slides moeten worden gewassen (zie Opmerking 1).
3. Bereid de glazen slides voor: maak schoon, was in alcohol en laat drogen.
4. Houd de fles die het Fixatief bevat gesloten! (zie opmerking 2).

Opmerking 1: gebruik gedistilleerd water als het kraantjeswater alkalisch (pH>7) is. Als een recipiënt wordt gebruikt waarin meerdere slides tegelijk kunnen worden gewassen, zorg dan dat deze groot genoeg is om alle slides volledig te kunnen wassen.

Opmerking 2: de damp van het Fixatief interfereert met de kleuring, zelfs in kleine hoeveelheden.

Kleuring procedure

1. Meng het spermastaal goed om een homogeen staal te verkrijgen en maak een dun uitstrijkje met gevederde rand van vers, onverdund, bij voorkeur vloeibaar sperma op een glazen slide (e.g. 10µl sperma). Laat het uitstrijkje aan de lucht drogen voor ongeveer 5 minuten op een warmteplaat bij 37°C.
2. Wanneer het uitstrijkje gedroogd is, giet het Fixatief in een kleurbakje. Voer elke handeling met het Fixatief uit in een **trekkast!**

- a. Fixeer het uitstrijkje door de slide onder te dompelen in het kleurbakje dat Fixatief bevat voor minimum 5 minuten. Langere fixatie is aanvaardbaar, maar niet noodzakelijk.
- b. Verwijder de slide uit het kleurbakje met Fixatief en plaats de slide kortstondig, verticaal, op absorberend papier om de overmaat aan vloeistof te laten wegvloeien. Raak het specimen niet aan met het papier.
- c. Laat de slide drogen door deze gedurende 15 minuten op een warmteplaat te plaatsen bij 37°C. Verwijder ondertussen het kleurbakje met Fixatief van de werkplaats.

3. Was de slide door deze voorzichtig 7 keer in het bakje met water (zie Opmerking 1 hierboven) onder te dompelen. Herhaal indien nodig (bv. bij gebruik van een klein Coplin bakje) de wasprocedure met vers water zodat de slide zeker volledig is gewassen. Laat de overmaat aan water kortstondig afvloeien door het uiteinde van de slide op absorberend papier te plaatsen.

4. Dompel de slide 7 keer traag onder in Stain A (zie Opmerking 3). Laat de slide vervolgens onaangeroerd in het kleurbakje voor 2 minuten. Plaats nadien verticaal op absorberend papier. Was in vers water en laat uitlekken zoals gespecificeerd in stap 3. Herhaal de wasprocedure in vers water. **Deze dubbele wasstap na kleuring in Stain A is belangrijk.**

5. Dompel de slide 7 keer onder in Stain B. Laat vervolgens onaangeroerd in het kleurbakje voor 1 minuut. Plaats nadien verticaal op absorberend papier. Was in vers water en laat uitlekken zoals gespecificeerd in stap 3.

6. Dompel de slide 7 keer onder in Stain C. Laat vervolgens onaangeroerd in het kleurbakje voor 1 minuut. Plaats nadien verticaal op absorberend papier. Was in vers water en laat uitlekken zoals gespecificeerd in stap 3.

7. Laat de slide drogen aan de lucht.

8. Analyseer de slide onder een lichtmicroscop (1000x) gebruikmakend van een olie immersie.

Opmerking 3: 'traag' betekent: ongeveer 1 onderdompeling per seconde. Onderdompelen is belangrijk omdat het zorgt voor volledig contact van het staal met de Stain.

INTERPRETATION

- acrosoom = donkergroen
- nucleus = rood
- equatoriale regio = lichtgroen
- middenstuk en staart = groen

- Tel minstens 100 en bij voorkeur 200 spermatozoa en classificeer ze als normaal of abnormaal, met vermelding van de meest voorkomende afwijkingen.
- Neem enkel de identificeerbare spermacellen in de telling op.
- Volgens de WHO criteria van 2021, wordt een staal beschouwd als normaal als minstens 4% van de spermatozoa als normaal kan worden geclassificeerd⁽³⁾.

Door een strikte toepassing van bepaalde criteria inzake spermamorfologie zijn verbanden vastgesteld tussen het percentage normale vormen en diverse fertiliteitseindpunten (tijd tot de zwangerschap, zwangerschapspercentages in vivo en in vitro), die nuttig kunnen zijn voor de prognose van de fertiliteit⁽³⁾.

OPMERKINGEN BIJ GEBRUIK

- Proteïneachtige of gelatineuze stalen en bevroren stalen moeten 1:1 verdund worden met 3% natriumcitraat voor het uitstrijken.
- Een gekleurde slide zou transparant moeten zijn met enkel een zeer lichte groene tint. Als de slide donkergroen is, dan was de slide blootgesteld aan fixatieve dampen voor fixering.
- Slides kunnen al voorbereid, gefixeerd, gewassen en gedroogd worden wanneer ze nog getransporteerd moeten worden voor de kleuring. Bescherm tegen slijtage tijdens transport. Wanneer de slides gekleurd kunnen worden, start dan met het Fixatief (Stap 2) zodanig dat de slides een dubbele fixatie krijgen. Dit is belangrijk aangezien het Fixatief buffers bevat die ervoor zorgen dat de daaropvolgende kleuring correct verloopt.

AANBEVELINGEN VOOR LANGDURIG BEWAREN VAN SLIDES

De kleuring zal onder een insluitmiddel vervagen (na enkele weken). Bedek het staal daarom niet met objectglaasjes als deze later nog als referentie wordt gebruikt. Dep de immersieolie, die ook verbleking veroorzaakt, voorzichtig weg. Het is aangeraden om duplicaten van de slides te maken voor latere referenties indien nodig, of om foto- en/of video-opnames te maken.

BEPERKINGEN VAN DE METHODE

Spermatozoa gekleurd met Spermac Stain kunnen niet voor andere procedures worden gebruikt.

OPSLAG/AFVALINSTRUCTIES EN STABILITEIT

- Bewaar Spermac Stain bij 2-25°C in gesloten Coplin kleurbakjes of in de originele flessen.
- Geschikt voor transport of korte termijn opslag bij verhoogde temperatuur (tot 5 dagen bij 37°C).
- De reagentia zijn stabiel tot de vervaldatum gespecificeerd op het label. Niet gebruiken na vervaldatum.
- Tijdens kleuringen worden echter bestanddelen verwijderd en kunnen er zich verontreinigingen voordoen. Vervang bijgevolg de Stains wanneer een correct kleuring niet langer bekomen wordt
- Filter de Stains wanneer bezinking opgemerkt wordt.
- De reagentia moeten als afval behandeld worden in overeenstemming met de plaatselijke voorschriften voor afvalverwerking van medische hulpmiddelen.
- Het aantal testen die kunnen worden uitgevoerd met 1 Spermac Stain kit is moeilijk te bepalen aangezien de Stains kunnen worden hergebruikt.












WAARSCHUWINGEN EN VOORZORGEN

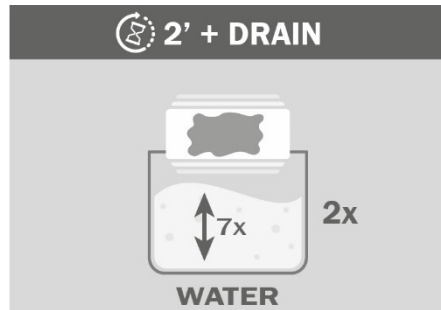
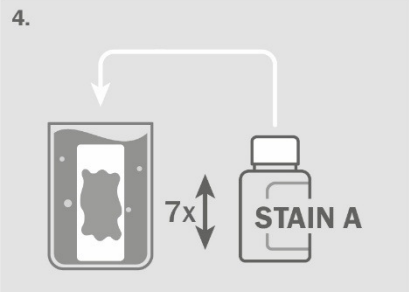
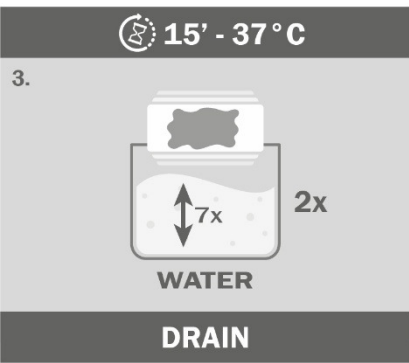
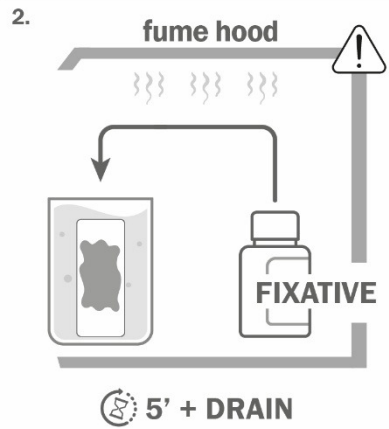
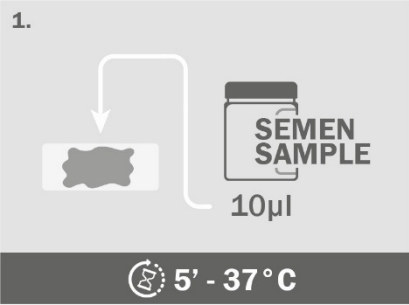
- Al het humaan, organisch materiaal zou als mogelijks infectieus moeten worden beschouwd. Behandel specimen alsof ze HIV of Hepatitis kunnen overdragen. Draag altijd beschermende kledij wanneer specimen en reagentia worden behandeld (handschoenen, labo's, oog-/gezichtsbescherming).
- Fix: bevat paraformaldehyde; kan een allergische huidreactie veroorzaken; veroorzaakt ernstige oogirritatie; veroorzaakt vermoedelijk kanker.
- Vanwege toxiciteit bij het inhaleren van paraformaldehyde, moeten de stappen die gebruik maken van het Fixatief in de trekkast worden uitgevoerd.
- Stain A en Stain B: licht ontvlambare vloeistof en damp.
- De Stains bevatten stoffen die worden geïdentificeerd als mutageen. Echter, de concentratie van deze stoffen in de finale reagentia is laag, waardoor de Stains zelfs niet worden geïdentificeerd als mutageen.
- De kit bevat geen stoffen met endocriene versturende eigenschappen.

REFERENTIES

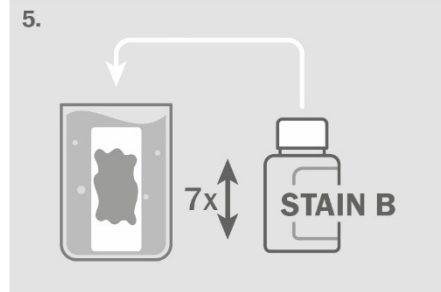
1. Oettlé E. An improved staining technique which facilitates sequential monitoring of the acrosome state (abstract). Dev Growth Differentiation. 1986;28(Suppl 1):96.
2. Chan PJ, Corselli JU, Jacobson JD, Patton WC, King A. Spermac stain analysis of human sperm acrosomes. Fertil Steril. 1999;72(1):124-8.
3. Geneva: World Health Organization. WHO Laboratory manual for the examination and processing of human semen. 2021; sixth edition.

SYMBOLEN WOORDENLIJST

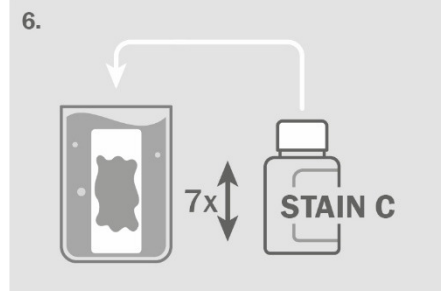
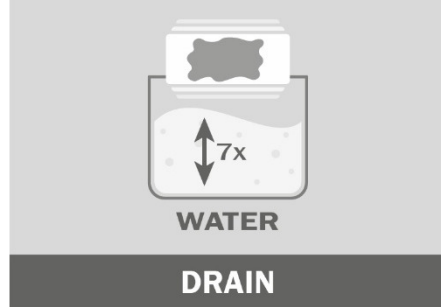
Symbolen zoals gedefinieerd in ISO 15223	
	Catalogusnummer
	Lotnummer
	Raadpleeg de gebruiksaanwijzing
	Fabrikant
	In vitro diagnostiek
	Temperatuurslimiet
	Vervaldatum
Symbool zoals gedefinieerd in de IVDR 2017/746	
	CE-markering
Symbolen zoals gedefinieerd in Verordening (EG) nr. 1272/2008 [CLP]	
	GHS07: Gevaar voor de gezondheid: kan een allergische huidreactie veroorzaken
	GHS02: Ontvlambaar: licht ontvlambare vloeistof en damp
	GHS08: Gevaar voor de gezondheid: kan vermoedelijk genetische defecten veroorzaken, kan kanker veroorzaken



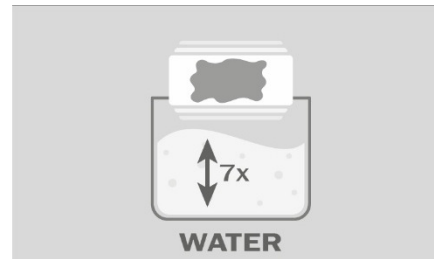
DRAIN



1' + DRAIN



1' + DRAIN



7. ALLOW TO AIR DRY

