

Spermac Stain

Färbekit für menschliche Spermien

Dok.ref.: FP09 I21 R01 D.2 - Aktualisierungsdatum: 31/01/2024
Zur *In-vitro-Diagnostik – Reagenzien nur für den professionellen Gebrauch*



FÄRBEVERFAHREN

- Mischen Sie das Sperma gut, um eine homogene Probe zu erhalten, und bereiten Sie einen dünnen Ausstrich mit gefiedertem Rand von frischem, unverdünntem, vorzugsweise verflüssigtem Sperma auf einem Glasobjektträger (z. B. 10 µl Sperma) vor. Lassen Sie den Ausstrich ca. 5 Minuten auf einer Wärmeplatte bei 37 °C lufttrocknen.
- Wenn der Ausstrich getrocknet ist, gießen Sie Fixiermittel in ein Gefäß. Führen Sie jeden Schritt, der ein Fixiermittel beinhaltet, **unter einem Dunstabzug** durch!
 - Fixieren Sie den Ausstrich, indem Sie den Objektträger für mindestens 5 Minuten in das Fixiermittelgefäß eintauchen. Eine längere Fixierung ist akzeptabel, aber nicht notwendig.
 - Objektträger aus dem Fixiermittelgefäß nehmen, kurz senkrecht auf saugfähiges Papier stellen, um überschüssige Flüssigkeit ablaufen zu lassen. Berühren Sie die Probe nicht mit dem Papier.
 - Lassen Sie den Objektträger trocknen, indem Sie ihn 15 Minuten lang bei 37 °C auf eine Wärmeplatte legen. Entfernen Sie in der Zwischenzeit das Coplin-Gefäß mit Fixiermittel aus dem Arbeitsbereich.
- Waschen durch 7-maliges vorsichtiges Eintauchen in das Wassergefäß (siehe Hinweis 1 oben). Den Waschvorgang bei Bedarf (z. B. bei Verwendung eines kleinen Coplin-Glases) mit frischem Wasser wiederholen, um eine vollständige Waschung sicherzustellen. Lassen Sie überschüssiges Wasser kurz ab, indem Sie das Ende des Objektträgers mit saugfähigem Papier berühren.
- Tauchen Sie den Objektträger 7x langsam in Stain A ein und wieder heraus (siehe Hinweis 3). Anschließend 2 Minuten ungestört im Gefäß stehen lassen. Danach senkrecht auf saugfähiges Papier stellen. In frischem Wasser waschen und wie in Schritt 3 beschrieben abtropfen lassen. Die Reinigung in frischem Wasser wiederholen. **Nach Stain A ist doppeltes Waschen wichtig.**
- Objektträger 7x in Stain B eintauchen und herausnehmen. Anschließend 1 Minute ungestört im Gefäß belassen. Danach senkrecht auf saugfähiges Papier stellen. In frischem Wasser waschen und wie in Schritt 3 beschrieben abtropfen lassen.
- Objektträger 7x in Stain C eintauchen und herausnehmen. Anschließend 1 Minute ungestört im Gefäß belassen. Danach senkrecht auf saugfähiges Papier stellen. In frischem Wasser waschen und wie in Schritt 3 beschrieben abtropfen lassen.
- Objektträger lufttrocknen lassen.
- Betrachten Sie den Objektträger unter einem Lichtmikroskop (1000fach) mit Ölimmersion.

Hinweis 3: „langsam“ bedeutet: etwa 1 Eintauchen pro Sekunde. Das Eintauchen ist wichtig, da es einen vollständigen Kontakt der Probe mit dem Färbemittel sicherstellt.

INTERPRETATION

- Akrosom = dunkelgrün
- Kern = rot gefärbt
- Äquatorialer Bereich = hellgrün
- Mittelstück und Schwanz = grün

ALLGEMEINE INFORMATIONEN

Die Analyse der Spermienmorphologie ist eine der grundlegenden Samenuntersuchungen, die bei der Diagnose und Behandlung männlicher Unfruchtbarkeit durchgeführt wird. Spermac Stain ist ein Färbekit für die In-vitro-Diagnostik, bestehend aus einem Fixiermittel und 3 Färbelösungen für menschliche Spermien. Die Färbung erleichtert die Unterscheidung zwischen morphologisch normalen und abnormalen Spermien und verbessert die Visualisierung verschiedener Teile der Samenzelle (Kopf, Akrosom, äquatoriale Region, Mittelstück, Schwanz) ^{1,2}.

BESTIMMUNGSGEMÄßE VERWENDUNG

Spermac Stain ist ein qualitatives, nicht automatisiertes, diagnostisches Kit für den professionellen Einsatz zur Färbung menschlicher Spermien. Der Zweck der Färbung von Spermien besteht darin, die Unterscheidung zwischen morphologisch normalen und abnormalen Spermien zu erleichtern. Das Ergebnis dieser Beurteilung kann unter Umständen bei der Diagnose und Behandlung der männlichen Unfruchtbarkeit helfen.

IM KIT ENTHALTENE MATERIALIEN

Spermac Stain

Produktcode:	SPS050	SPS250
Stain A: Rote Färbung	50 ml	250 ml
Stain B: Hellgrüne Färbung	50 ml	250 ml
Stain C: Dunkelgrüne Färbung	50 ml	250 ml
Fix: Fixiermittel	50 ml	250 ml

Ein Analysezertifikat und ein Sicherheitsdatenblatt sind auf Anfrage erhältlich oder können von unserer Website (www.fertipro.com) heruntergeladen werden.

ERFORDERLICHES MATERIAL, DAS NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTEN IST

- Mikroskop-Objektträger
- 5 Coplin-Gläser
- Mikroskop (1000-fache Vergrößerung)
- Immersionsöl
- Wärmeplatte (37 °C)
- Leitungswasser oder destilliertes Wasser

METHODE

Scannen Sie den Barcode (oder folgen Sie dem Link auf www.fertipro.com), um das Demonstrationsvideo anzusehen.



PROBENENTNAHME UND -VORBEREITUNG

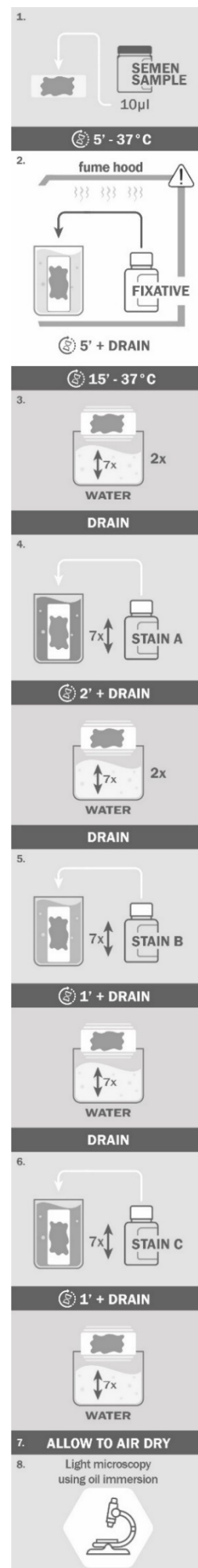
Bei der Spermagewinnung durch Masturbation sollten standardmäßige Spermaprobebehälter verwendet werden, in der Regel aus Polypropylen, die auf das Überleben der Spermien bzw. auf Spermienmotilität getestet wurden. Wenn die Spermagewinnung durch Masturbation nicht möglich ist, sollten nicht spermatoxische Kunststoffkondome verwendet werden. Lassen Sie den Spermaprobebehälter auf Raumtemperatur kommen, bevor Sie die Spermprobe hinzufügen, um große Temperaturänderungen zu vermeiden, die sich auf die Spermatozoen auswirken können. Die Abstinenzzeit sollte 2-7 Tage betragen. Vermeiden Sie den Verlust der ersten Samenfraktion, da diese proportional mehr normale Spermien enthält. Warten Sie nicht länger als 4 Stunden nach der Ejakulation, bevor Sie mit dem Test beginnen.

VORBEREITUNG VON REAGENZIEN

- Gießen Sie Stain A, B und C in separate Coplin-Gläser. Stellen Sie sicher, dass der Flüssigkeitsstand hoch genug ist, um den zu färbenden Bereich zu bedecken.
- Füllen Sie ein Coplin-Glas oder Gefäß für die Waschschritte mit Leitungswasser (siehe Hinweis 1).
- Objektträger vorbereiten: reinigen, in Alkohol waschen und trocknen lassen.
- Fixiermittelflasche geschlossen halten! (siehe Hinweis 2)

Hinweis 1: Verwenden Sie destilliertes Wasser, wenn das Leitungswasser alkalisch ist (pH > 7). Wenn ein Gefäß verwendet wird, das eine Kombination mehrerer Objektträger ermöglicht, stellen Sie sicher, dass es groß genug ist, um eine vollständige Waschung zu gewährleisten.

Hinweis 2: Fixiermitteldämpfe stören die Färbung schon in sehr geringen Mengen.



- Zählen Sie mindestens 100 oder besser noch 200 Spermien und klassifizieren Sie sie entweder als normal oder abnormal und geben Sie an, welche Defekte am häufigsten vorkommen.
- Beziehen Sie nur identifizierbare Spermien in die Zählung ein.
- Gemäß den WHO-Kriterien von 2021 gilt eine Probe als normal, wenn mindestens 4 % der Spermien normale Formen aufweisen³.

Durch die strenge Anwendung bestimmter Kriterien der Spermienmorphologie wurden Beziehungen zwischen dem Prozentsatz an Normalformen und verschiedenen Fertilitätsendpunkten (Zeit bis zur Schwangerschaft, Schwangerschaftsraten in vivo und in vitro) hergestellt, die für die Prognose der Fertilität nützlich sein können³.

HINWEISE ZUM GEBRAUCH

- Protein- oder gelartige Proben sowie gefrorene Proben müssen vor dem Ausstrich 1:1 mit 3 % Natriumcitrat verdünnt werden.
- Ein gefärbter Objektträger sollte transparent sein und nur einen sehr leichten Hauch von Grün aufweisen. Wenn der Objektträger dunkelgrün ist, wurde der Objektträger vor dem Fixieren Fixiermitteldämpfen ausgesetzt.
- Für den Transport vor dem Färben können die Objektträger vorbereitet, fixiert, gewaschen und getrocknet werden. Beim Transport vor Abrieb schützen. Wenn Sie zum Färben bereit sind, beginnen Sie mit dem Fixiermittel (Schritt 2), d. h. die Objektträger erhalten eine doppelte Fixierung. Dies ist wichtig, da das Fixiermittel Puffer enthält, die sicherstellen, dass die nachfolgende Färbung korrekt erfolgt.

OBJEKTTRÄGER AUFZIEHEN

Die Färbung verblasst unter dem Eindeckmedium (nach mehreren Wochen). Ziehen Sie daher keine Objektträger auf, wenn Sie diese später als Referenz verwenden möchten. Tupfen Sie das Immersionsöl vorsichtig ab, da es ebenfalls zum Ausbleichen führt. Es ist ggf. vorzuziehen, Duplikate von Objektträgern zur späteren Referenz oder Foto- und/oder Videoaufzeichnungen anzufertigen.












BESCHRÄNKUNGEN DER METHODE

- Mit Spermac Stain gefärbte Spermien können nicht für andere Verfahren verwendet werden.

LAGERUNG / ENTSORGUNG UND STABILITÄT

- Spermac Stain sollte in verschlossenen Coplin-Gläsern oder den Originalflaschen bei 2-25 °C gelagert werden.
- Geeignet für den Transport oder die kurzzeitige Lagerung bei erhöhten Temperaturen (bis zu 5 Tage bei 37 °C).
- Die Reagenzien sind bis zum auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum haltbar. Nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwenden.
- Durch das Färben werden jedoch Bestandteile entfernt und Verunreinigungen eingebracht, und daher sollten Färbemittel ersetzt werden, wenn keine ausreichende Färbewirkung mehr erreicht wird.
- Färbemittel filtern, wenn Ablagerungen festgestellt werden.
- Die Reagenzien müssen in Übereinstimmung mit den örtlichen Vorschriften zur Entsorgung von Medizinprodukten entsorgt werden.
- Die Anzahl der Tests, die mit einem Spermac Stain Kit durchgeführt werden können, ist schwer zu bestimmen, da die Färbemittel wiederverwendet werden können.

SYMBOLERLÄUTERUNG

Symbole gemäß der Definition in ISO 15223			
	Bestellnummer		Chargencode
	Gebrauchsanweisung beachten		Hersteller
	In-vitro-Diagnostik		Temperaturgrenze
	Verfalldatum		
Symbol gemäß der Definition in IVDR 2017/746			
	CE-Kennzeichnung		
Symbol gemäß Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 [CLP]			
	GHS07: Gesundheitsgefährdung: Kann allergische Hautreaktionen verursachen		GHS08: Gesundheitsgefährdung: Kann vermutlich genetische Defekte verursachen, kann Krebs erzeugen
	GHS02: Entzündlich: Flüssigkeit und Dampf leicht entzündbar		

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMAßNAHMEN

- Alle organischen Materialien humanen Ursprungs sind als potenziell infektiös anzusehen. Alle Proben sind so zu handhaben, als könnten sie HIV oder Hepatitis übertragen. Bei der Handhabung von Proben und Reagenzien stets Schutzkleidung (Handschuhe, Laborkittel, Augen-/Gesichtsschutz) tragen.
- Fix: enthält Paraformaldehyd; kann allergische Hautreaktionen hervorrufen; verursacht schwere Augenreizungen; im Verdacht Krebs zu erregen.
- Aufgrund der Toxizität beim Einatmen von Paraformaldehyd sollten Schritte mit dem Fixiermittel unter einem Dunstabzug durchgeführt werden.
- Stain A und Stain B: Flüssigkeit und Dampf leicht entzündbar
- Die Färbemittel enthalten Substanzen, die als mutagen identifiziert wurden. Da die Konzentration dieser Substanzen im endgültigen Reagenz jedoch gering ist, werden die Färbemittel selbst nicht als mutagen identifiziert.
- Das Kit enthält keine endokrin wirksamen Substanzen.

LITERATURHINWEISE

¹ Oettlé EE(1986). An improved staining technique which facilitates sequential monitoring of the acrosome state, Development, Growth and Differentiation (Suppl.): 28

² Chan PJ, Corselli JU, Jacobson JD, Patton WC, King A (1999). Spermac stain analysis of human sperm acrosomes. Fertility and Sterility 72 (1): 124-128.

³ Geneva: World Health Organization. 2021. 'WHO Laboratory manual for the examination and processing of human semen', sixth edition.

KUNDENDIENST-TECHNISCHER SUPPORT



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