

Spermac Stain

MÉTODO DE COLORAÇÃO PARA ESPERMATOZÓIDE HUMANO "USO EM DIAGNÓSTICO IN VITRO"

I - NOME TÉCNICO OU NOME COMERCIAL DO PRODUTO:

Spermac Stain

Classe I – CORANTES CITOLÓGICOS

II - RAZÃO SOCIAL E ENDEREÇO DO FABRICANTE LEGAL, JUNTO COM UM NÚMERO DE TELEFONE OU FAX OU ENDEREÇO DE SÍTIO ELETRÔNICO ONDE SEJA POSSÍVEL OBTER ASSISTÊNCIA TÉCNICA (SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR):

IMPORTADOR:

INTERMEDICAL EQUIPAMENTOS UROLÓGICOS LTDA

AV. PRESIDENTE VARGAS, Nº 590 - SALAS 2109, 2110, 2111 E 2118 – CENTRO

RIO DE JANEIRO-RJ

CEP: 20074-900

01.856.395/0001-91

FABRICANTE LEGAL:

FertiPro N.V. - Industriepark Noord 32

8730 Beernem, Belgium

URL: <http://www.fertipro.com>

E-mail: info@fertipro.com

III - FINALIDADE E MODO DE USO DO PRODUTO, INCLUINDO INDICAÇÃO DE QUE É PARA "USO EM DIAGNÓSTICO IN VITRO":

INTRODUÇÃO

A definição e critérios de normalidade foram amplamente baseados em estudos feitos com espermatozoides recuperados do trato reprodutor feminino (especialmente do muco cervical pós coito) que são considerados normais. Mesmo assim, critérios diferentes foram propostos, os principais sendo critérios¹ da WHO e critérios^{2,3} Tygerberg (ou rígidos). Spermac stain auxilia na avaliação morfológica e também na distinção das diferentes partes do espermatozóide (cabeça, acrossomo, região equatorial, parte media, cauda) deixando mais fácil diferenciar entre espermatozóide normal e anormal^{4,5}.

Spermac Stain pode ajudar a avaliar o diagnóstico e o manejo da infertilidade masculina.

IV - USUÁRIO PRETENDIDO, QUANDO APLICÁVEL:

Spermac stain é um método diagnóstico in vitro (IVD) somente para uso profissional. Os usuários pretendidos são profissionais de IVF (técnicos de laboratório, embriologistas ou médicos).

V - INDICAÇÕES DE CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO OU DE MANUSEIO APLICÁVEIS:

ARMAZENAMENTO:

1. Armazenar a 2-25 ° C
2. Manter apenas no recipiente original longe de (sol) luz direta.
3. Manter o recipiente fechado quando não estiver em uso.
4. Não congelar.
5. Não use após a data de validade.
6. extra para reagente 2: Mantenha em local à prova de fogo.

TRANSPORTE:

Adequado para transporte ou curto tempo de armazenamento a temperaturas elevadas (até 5 dias a 37°C).

VI - PRINCÍPIO DE FUNCIONAMENTO DO TESTE OU DO INSTRUMENTO:

PREPARAÇÃO

Despejar reagentes no frasco de Coplin, se certificar de que o nível de fluido é alto o suficiente para cobrir a área que deve ser corada. Somente encher o frasco de fixação quando as laminas estiverem preparadas, secas e prontas para a coloração. Encha o quinto frasco de Coplin, ou qualquer outro recipiente que pode conter uma objetiva, com água da pia (para as laminas entre as diferentes tinturas). Se a água da pia for alcalina (pH > 7), então use água destilada para lavagem. Limpe, lave em álcool e seque as lâminas antes do uso.

MÉTODOS

1. Admita uma fina borda afilada com esfregaço de sêmen fresco, não filuído, preferencialmente liquefeito para secar ao ar livre por 5 minutos em um prato quente a 37°C.

Nota: Não faça ou deixe secar esfregaços perto de frasco aberto de fixador, já que o vapor do fixador (até em quantidades muito pequenas) interfere com a coloração.

2. Fixe o esfregaço imergindo a lamina por, no mínimo, 5 minutos no frasco de Coplin contendo o fixador. Uma fixação mais longa é aceitável, mas não é necessária.

3. Remova a lamina do fixador, brevemente coloque verticalmente no papel absorvente para escoar o excesso do fixador. Não toque a amostra com o papel.

4. Lave, gentilmente mergulhando 7 vezes em água da pia ou destilada. Se o corante cair em um berço contendo 5 ou mais laminas, se assegure de que o recipiente de lavagem é grande o suficiente para garantir a lavagem perfeita do fixador fora das laminas. Se o recipiente de lavagem for pequeno (ex: frasco de Coplin), repita o procedimento de lavagem com água fresca. Brevemente escoe o excesso de água encostando a borda da lamina em papel absorvente.

5. Deixe corar 1 minuto no corante A. Quando mergulhar a lâmina na solução corante, o faça 7 vezes lentamente (mais ou menos 1 imersão por segundo) dentro e fora do corante, para garantir o completo contato da amostra com o corante. Então deixe intocável para o descanso do período de coloração.

Lave como descrito acima, imergindo 7 vezes em água da pia fresca. Deixe escoar o excesso de água rapidamente em um papel absorvente.

6. Repita o procedimento de lavagem em água fresca. Essa etapa de lavagem dupla após o corante A é importante. Deixe escoar o excesso de água brevemente no papel absorvente.

7. Deixe corar 1 minuto no corante B. Mergulhe 7 vezes inicialmente para garantir completo contato do corante com a amostra. Lave como descrito acima com água fresca.

8. Deixe corar 1 minuto no corante C, imergindo 7 vezes inicialmente. Lave como descrito acima com água fresca.

9. Deixe o esfregaço secar.

10. Observe a coloração sob luz microscópica (1000x) usando óleo de imersão:

- acrossomo = verde escuro
- núcleo = vermelho
- região equatorial = verde claro
- peça intermediária e cauda = verde

FIXAÇÃO DAS LÂMINAS

Se as lâminas forem acopladas, a coloração vai desbotar na parte média (depois de semanas). Logo, não acople lâminas se quer revisá-las posteriormente. Gentilmente retire o excesso de óleo de imersão, o qual também pode desbotar a coloração. É preferível fazer lâminas duplicadas para revisão futura. Se necessário fotografe ou grave em vídeo.

VII - TIPOS DE AMOSTRAS OU MATRIZES A UTILIZAR, QUANDO APLICÁVEL:

Esperma ou líquido seminal.

VIII - CONDIÇÕES PARA COLETA, MANUSEIO, PREPARO E PRESERVAÇÃO DE AMOSTRAS:

COLETA

A coleta de sêmen deve ser feita em recipiente estéril e encaminhado ao laboratório. Deve ficar a temperatura ambiente até liquefação. Após liquefação, é iniciada a análise.

MANUSEIO

A amostra deve ser manuseada com luvas e dentro de uma cabine de fluxo laminar, pois todas as amostras devem ser consideradas como potencialmente infectantes.

PREPARO DA AMOSTRA DE SÊMEN

Após liquefação a amostra deve ser processada dentro de 1 hora, para assegurar o resultado da análise.

A amostra deve ser homogeneizada com o uso de uma pipeta estéril.

O esfregaço deve ser feito com 10 µl de amostra bruta, em uma lâmina. Esperar secar o esfregaço para iniciar a coloração.

INSTRUÇÕES DE USO

IX - DESCRIÇÃO DO PRODUTO, INCLUINDO OS ACESSÓRIOS E QUAISQUER LIMITAÇÕES PARA SEU USO, COMO UTILIZAÇÃO DE INSTRUMENTO DEDICADO, E SE APLICÁVEL, VERSÃO DO SOFTWARE:

O kit consiste nos seguintes reagentes:

Spermac Stain consiste em 4 reagentes. Corantes A, B e C são corantes e a solução fixadora é utilizada para fixar o espermatozóide na lâmina de vidro.

SPS050 Spermac stain – 4 x 50mL

Código do produto	Componente do produto
SPS050A	Corante A – Corante vermelho – 50ml
SPS050B	Corante B – Corante verde claro – 50ml
SPS050C	Corante C – Corante verde escuro – 50ml
SPS050F	Fixador – Fixador – 50ml

SPS250 Spermac stain – 4 x 250mL

Código do produto	Componente do produto
SPS250A	Corante A – Corante vermelho – 250ml
SPS250B	Corante B – Corante verde claro – 250ml
SPS250C	Corante C – Corante verde escuro – 250ml
SPS250F	Fixador – Fixador – 250ml

Corante A – Corante vermelho

NOME	CAS	QUANTIDADE (%)
Água Ultrapura	(CAS No) 7732-18-5	70 - 90
Ethyl alcohol	(CAS No) 925-93-9	5 - 10
Rose Bengal	(CAS No) 632-69-9	0,1 - 1
Neutral Red	(CAS No) 553-24-2	0,1 - 1

Corante B – Corante verde claro

NOME	CAS	QUANTIDADE (%)
Água Ultrapura	(CAS No) 7732-18-5	70 - 90
Ethyl alcohol	(CAS No) 925-93-9	5 - 10
Pyronin Y	(CAS No) 92-32-0	0,1 - 1
Orange G	(CAS No) 1936-15-8	0,1 - 1
Phophomolybdic Acid	(CAS No) 51429-74-4	0,1 - 1

Corante C – Corante verde escuro

NOME	CAS	QUANTIDADE (%)
Água Ultrapura	(CAS No) 7732-18-5	90 - 99
Janus Green	(CAS No) 2869-83-2	1 - 5
Fast Green FCF	(CAS No) 2353-45-9	1 - 5

INSTRUÇÕES DE USO

Fixador		
NOME	CAS	QUANTIDADE (%)
Água Ultrapura	(CAS No) 7732-18-5	90 - 99
Formaldehyde	(CAS No) 50-00-0	1 - 5

X - ESTABILIDADE EM USO DO PRODUTO, EXCETO PARA INSTRUMENTOS, INCLUINDO CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO APÓS ABERTURA DE EMBALAGENS PRIMÁRIAS, BEM COMO CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DE SOLUÇÕES DE TRABALHO, QUANDO RELEVANTE:

ARMAZENAMENTO:

1. Armazenar a 2-25 ° C / 2. Manter apenas no recipiente original longe de (sol) luz direta. / 3. Manter o recipiente fechado quando não estiver em uso. / 4. Não congelar. / 5. Não use após a data de validade. / 6. extra para reagente 2: Mantenha em local à prova de fogo.

TRANSPORTE:

Adequado para transporte ou curto tempo de armazenamento a temperaturas elevadas (até 5 dias a 37°C). Armazene reagentes entre 2°C-25°C.

NOTAS DE USO

- Amostras proteináceas ou gelatinosas e amostras congeladas devem ser diluídas 1:1 com citrato de sódio a 3% antes de ser feito o esfregão.
- Uma lâmina corada deve ser transparente com um leve toque de tonalidade verde. Se a lâmina for verde escuro, então a mesma foi exposta ao vapor do fixador antes de fixada.
- Para transporte antes de corar, as lâminas tem que ser preparadas, fixadas, lavadas e secas. Proteja as lâminas contra abrasão durante o transporte. Quando prontas para a coloração, inicie o processo na fixação (Passo 2) ex: a lâmina recebe uma fixação dupla. Isso é importante, já que o fixador contém tampões que asseguram que a coloração subsequente ocorra corretamente

XI - DETALHES DE QUALQUER TRATAMENTO OU MANUSEIO DOS PRODUTOS ANTES DE ESTAREM PRONTOS PARA USO, COMO INSTALAÇÃO, RECONSTITUIÇÃO, CALIBRAÇÃO, ENTRE OUTROS:

Não se aplica.

XII - QUANDO APLICÁVEL, RECOMENDAÇÕES PARA PROCEDIMENTOS DE CONTROLE DE QUALIDADE:

Não se aplica.

XIII - PROCEDIMENTO DE ENSAIO, INCLUINDO CÁLCULOS E INTERPRETAÇÃO DE RESULTADOS:

INTERPRETAÇÃO

- Conte, pelo menos, 100 e preferencialmente 200 espermatozóides e classifique os mesmos como normal ou anormal especificando quais defeitos são os mais comuns.
- Somente inclua espermatozóides identificáveis na contagem.
- O critério para classificar os espermatozóides como normal ou anormal depende do método de classificação utilizado no laboratório (WHO, 2010).
- De acordo com a WHO, usando o critério de 2010, uma amostra é considerada normal se, pelo menos, 4% dos espermatozóides têm formato normal¹.

Pela aplicação rígida de alguns critérios da morfologia do espermatozóide, a relação entre o percentual de forma normal e variados objetivos de fertilidade (tempo para a gravidez, índices de gravidez in vivo e in vitro) foi estabelecida, o que pode ser útil para o prognóstico da fertilização (WHO, 2010).

XIV - INFORMAÇÃO SOBRE SUBSTÂNCIAS INTERFERENTES OU LIMITAÇÕES QUE PODEM AFETAR O DESEMPENHO DO ENSAIO:

Não se aplica.

XV - CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO, TAIS COMO SENSIBILIDADE, ESPECIFICIDADE, EXATIDÃO E PRECISÃO, EXCETO PARA INSTRUMENTOS:

Não se aplica.

XVI - RISCOS RESIDUAIS IDENTIFICADOS:

Não foram identificados riscos residuais.

XVII - INTERVALOS DE REFERÊNCIA, QUANDO APLICÁVEL:

Não se aplica.

XVIII - QUANDO RELEVANTE, REQUISITOS DE INSTALAÇÕES ESPECIAIS (COMO SALA LIMPA) OU TREINAMENTO ESPECIAL (COMO EM SEGURANÇA CONTRA RADIAÇÃO) OU QUALIFICAÇÕES ESPECÍFICAS DO USUÁRIO DO PRODUTO;

Não se aplica.

XIX - SE O PRODUTO É FORNECIDO ESTÉRIL, INSTRUÇÕES DE COMO AGIR SE A EMBALAGEM ESTIVER DANIFICADA ANTES DO USO:

Não se aplica.

XX - INFORMAÇÃO DE OUTROS PRODUTOS, MATERIAIS OU INSTRUMENTOS NECESSÁRIOS PARA A REALIZAÇÃO DO ENSAIO OU REAÇÃO:

Não há acessórios ou outros produtos para serem usados juntamente com o kit. Os materiais não incluídos no kit são:

- Vidraria de laboratório
 - Frasco de Coplin
 - Microscópio (magnificação de 1000x)
 - Prato quente a 37°C
 - Água da pia ou destilada
-

XXI - ALERTAS OU PRECAUÇÕES A SEREM TOMADAS COM RELAÇÃO AO DESCARTE DO PRODUTO, DE SEUS ACESSÓRIOS E DOS CONSUMÍVEIS USADOS, INCLUINDO RISCOS DE INFECÇÃO OU MICROBIOLÓGICOS, AMBIENTAIS E FÍSICOS:

Todas as amostras de sêmen devem ser consideradas potencialmente infecciosas.

Manuseie todas as amostras como se fossem capazes de transmitir HIV ou Hepatites.

Fixador contém formaldeído: tóxico por meio inalatório, em contato com a pele e se ingerido. Pode causar irritação da mucosa. É listado como carcinogênico. Possíveis riscos de efeitos irreversíveis. Pode causar sensibilidade ao contato com a pele. Nenhum dos outros ingredientes foi comprovado tóxico

XXII - PARA PRODUTOS DESTINADOS A USUÁRIOS LEIGOS, AS CIRCUNSTÂNCIAS NAS QUAIS O USUÁRIO DEVE CONSULTAR UM PROFISSIONAL DE SAÚDE:

Não se aplica.

XXIII - DATA DE EMISSÃO OU ÚLTIMA REVISÃO DAS INSTRUÇÕES DE USO E, QUANDO APROPRIADO, UMA IDENTIFICAÇÃO NUMÉRICA:

Referencia do Fornecedor: Ref. doc.: FP09 I21 R01 C.4 – Atualização: 21/01/2015

Revisão Intermedical: Ver 01: 01/03/2016.

XXIV - INDICAÇÃO DOS TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO.

Cada lote do produto é testado e os resultados são fornecidos relativos a um Certificado de Análise específico para o lote, disponível sob pedido.

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

REFERÊNCIAS

¹ WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen, 5th edition, WHO, 2010

² Menkveld R, Kruger TF (1991). Atlas of human morphology, Williams and Wilkins, Baltimore.

³ Menkveld R, Stander FSH (1990). The evaluation of morphological characteristics of human spermatozoa according to stricter criteria, Human Reproduction 5(5): 286-92

⁴ Oettlé EE(1986). An improved staining technique which facilitates sequential monitoring of the acrosome state, Development, Growth and Differentiation (Suppl.): 28

⁵ 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.

RESPONSÁVEL TÉCNICO

Ronaldo Reis Fontoura
CRM 5251022-5

REPRESENTANTE LEGAL

Marina dos Reis Fontoura
