

PURESPERM® 100

SOLUTION À 100 % POUR LA PRÉPARATION DES GRADIENTS DE SPERME



COMPOSITION ///

NaCl /
K Cl /
CaCl₂ Anhydre /
K PO₄H₂ Anhydre /
MgSO₄ Anhydre /
NaOH /
EDTA /
Hepes /
Glucose /
H₂O /
Solution saline isotonique
contenant des particules
de silice colloïdale /

PURESPERM® EST UN COLLOÏDE POUR LA SÉPARATION ET LA PURIFICATION DES SPERMATOZOÏDES NORMAUX PAR CENTRIFUGATION ET GRADIENT DE DENSITÉ.

La solution, quel que soit son volume de présentation, est à 100 % de concentration. La dilution par un milieu approprié permet d'obtenir les gradients souhaités, les plus utilisés étant 40 % et 80 %.

CONSERVATION

////////////////////////////////////
2 ans à température ambiante

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

////////////////////////////////////
Osmolarité 300-310 mOsm/kg
PH 7.4-7.8
Endotoxines < 1.0 EU/ml
Survie des spermatozoïdes > 85 %
humains sans hyperactivation
18 heures après préparation sur gradient

RÉFÉRENCES ET CONDITIONNEMENT

////////////////////////////////////
Flacons de 100 ml Réf.PS0100
Flacons de 250 ml Réf.PS0250
Flacons de 1000 ml Réf.PS1000

RÉACTIFS ET MATÉRIEL À UTILISER

- PURESPERM® 100,
- Milieu tamponné à l'HEPES avec 10 mg / ml de Séralbumine humaine,
- Milieu de culture tamponné au bicarbonate contenant 10 mg / ml de séralbumine humaine,
- Une centrifugeuse avec calage évitant les vibrations avec godet obturable,
- Des tubes à centrifuger stériles et à fonds coniques,
- Pipettes stériles de 2 ml et 10 ml,
- Pipettes Pasteur stériles.

PRÉPARATION DES SOLUTIONS DE PURESPERM®

- Amener PURESPERM® 100 et le tampon à température ambiante,
- Préparer la solution gradient 80 % (v/v) en mélangeant deux volumes de tampon avec 8 volumes de PURESPERM® 100.
Exemple: 6 ml de tampon et 24 ml de PURESPERM® 100 donnent 30 ml de PURESPERM® à 80 %,
- Préparer la solution gradient 40 % (v/v) en mélangeant un volume de gradient 80 % et un volume de tampon.
Exemple: 10 ml de gradient 80 % et 10 ml de tampon donnent 20 ml de PURESPERM® à 40 %.

MODE D'UTILISATION

1. Préparer deux gradients pour chaque échantillon de sperme. Ceci présente le triple avantage de réduire le risque d'un prélèvement trop dense si un seul gradient était envisagé, de procurer une sécurité lors de la manipulation des tubes et la récupération des culots et de permettre un équilibre correct dans le rotor de la centrifugeuse.
2. Calibrer la centrifugeuse pour avoir une force centrifuge maximum de 300 g, en sachant qu'une différence existe entre la force centrifuge appliquée au rayon de rotation et au fond du tube. Un calcul simple permet d'apprécier cela par la formule.
3. PURESPERM® 100 peut être filtré dans le cadre d'une filtration stérilisante en utilisant des filtres de 0,22 µm ou 0,45 µm (Millex G V de Millipore). Ne pas utiliser de filtres contenant des substances extractibles pouvant être toxiques pour les spermatozoïdes. Le but de cette technique est d'isoler les spermatozoïdes humains, des lymphocytes, des cellules épithéliales, des spermatozoïdes anormaux ou immatures, des cellules diverses et des débris bactériens.

PRÉCAUTION DE STOCKAGE ET STABILITÉ

PURESPERM® 100 a une durée de vie de deux ans à température ambiante dans son conditionnement intégré. La date de péremption est précisée sur chaque flacon ainsi que sur l'emballage. L'ouverture du flacon ne doit être réalisée que dans un environnement aseptique. Après utilisation partielle dans des conditions d'asepsie rigoureuse le flacon sera rebouché immédiatement et aussitôt placé au réfrigérateur. Éviter les températures inférieures à 0 °C et supérieures à 40 °C dès que la quantité de PURESPERM® 100 nécessaire aux essais a été aseptiquement prélevée et transférée dans un récipient stérile adéquat. Après bouchage, amener PURESPERM® 100 à la température ambiante avant utilisation pour préparation des spermatozoïdes.

REMARQUES

- Toujours manipuler de façon aseptique.
- PURESPERM® 100 a une apparence opalescente et homogène caractéristique d'un produit colloïdal.
- En cas de contamination, un trouble réel floconneux et dense apparaît alors en suspension dans le liquide.
- On peut observer au sein du liquide de petits agrégats colloïdaux qui peuvent sédimenter après une longue période de stockage.
- Il convient d'éviter d'aspirer ces agrégats avec la pipette.
- Il est indispensable d'agiter le flacon avant usage.
- Aucun risque de précipitation des agrégats ne peut se produire lors de la centrifugation.
- Utiliser lors de la centrifugation des godets fermés afin d'éviter la formation d'aérosol.
- PURESPERM® 100 n'est pas un produit inflammable.
- Si le PURESPERM® 100 est renversé sur le sol, essayer immédiatement car celui-ci devient très glissant.

SCHÉMA DE PRÉPARATION DE GRADIENTS ET RÉCUPÉRATION DES CULOTS

SI AUCUN CULOT N'EST VISIBLE APRÈS CENTRIFUGATION, ASPIRER LA PARTIE LA PLUS BASSE, 25 % ENVIRON DE CELLE-CI SERONT RAJOUTER À PURESPERM® 80 % ET LES DIFFÉRENTES ÉTAPES SERONT RÉPÉTÉES. SI TROP PEU DE SPERMATOZOÏDES MOBILES SONT DANS L'ÉCHANTILLON, LA CONSTITUTION D'UN CULOT VISIBLE EST IMPOSSIBLE.

