

<b>LABORATORUL CERTIFICAREA ȘI CRIOCONSERVAREA GERMOPLASMEI ANIMALE</b>		Pagina 1 din 4
		Exemplar nr.
Ediția : 1/ 05.05.2017	Revizia : 0	COD: PO 5 – CDS 11

## PROCEDURĂ OPERAȚIONALĂ DETERMINAREA MORFOLOGIEI SPERMATOZOIZILOR

<b>APROBAT:</b>
Coordonator CDS
<i>Conf.dr.Marius Zăhan</i>
Data: 05.05.2017

<b>VERIFICAT</b>
Șef Laborator
<i>Conf.dr.Marius Zăhan</i>
Data: 05.05.2017

Exemplar controlat:	
DA	NU

<b>ELABORAT:</b>
Personal executant
<i>Conf.dr.Marius Zăhan</i>
Data: 05.05.2017

Acest document este proprietatea Laboratorului *Certificarea și criostocarea germoplasmei animale (CGA)* din cadrul Compartimentului CDS 11 Biotehnologiei de reproducție

Difuzarea sau utilizarea lui în exteriorul ISV-USAMV Cluj-Napoca se face numai cu acordul Consiliului ISV.

	<b>PROCEDURA OPERAȚIONALĂ</b>	Pagina 2 din 4
	<b>DETERMINAREA MORFOLOGIEI SPERMATOZOIZILOR</b>	Exemplar nr. 1
Ediția : 1/ 05.05.2017	Revizia : 0	COD: PO 5 – CDS 11

## 1. SCOP ȘI DOMENIUL DE APLICARE

Prezenta procedură precizează regulile și responsabilitățile pentru metoda de determinare a morfologiei spermatozoizilor din probele de sperma solicitate pentru a fi expertizate.

## 2. DESCRIEREA PROCEDURII

### 2.1. PRINCIPIUL METODEI ȘI DOMENIUL DE APLICARE

Principul metodei: Efectuarea unui frotiu al probei de material seminal cu colorant intravital (Eozină) și analiza la microscopie în câmp luminos a morfologiei spermatozoizilor pentru evidențierea anomaliilor

Procedura se aplică atât materialului seminal congelat, cât și materialului seminal refrigerat, conservat la temperatura camerei sau brut de taur, berbec, țap, vier.

### 2.2. EȘANTIONARE ȘI CONSERVARE / PREGĂTIRE PROBE

Proba de laborator preluată este păstrată astfel încât să se evite alterarea sau modificarea compoziției.

Proba de laborator este pregătită pentru încercare astfel:

Pe platforma încălzitoare se pune o lamă de sticlă și se încălzește la 38°C, iar colorantul Blom se pune în baia marină la 38°C. Se pune o picătură de colorant Blom cald cu un diametru de 4-5 mm aproape de capătul mat al lamei.

Se pune o picătură de material seminal aproape de colorant. Se ia o altă lamă și cu un colț se amestecă cele două picături. Mărimea picăturii de material seminal diferă în funcție de densitatea probei de spermă. Pentru sperma diluată și congelată se pune o picătură în diametru de până la 6 mm. Pentru sperma foarte concentrată se pune o picătură cu un diametru de 2 mm.

Pentru realizarea frotiului o altă lamă ținută la un unghi de 30-40° se pune în fața picăturii de spermă colorată până la contactul cu aceasta și se trage încet de-a lungul lamei. Frotiul obținut se usucă pe platforma încălzitoare la 38°C timp de un minut.

Frotiul se vizualizează la microscop în câmp luminos la o mărire de 400 x pentru alegerea unei zone care oferă o imagine cât mai clară și relevantă. Pentru examinare, pe preparat se pune o picătură de ulei de imersie și se analizează la o mărire de 1000 x.

Se examinează 400 de spermatozoizi din diferite câmpuri microscopice, iar anomaliile observate se raportează procentual la numărul total.

### 2.3 SPECIFICITATE / INTERFERENȚE

Nu e cazul.

### 2.4 REACTIVI ȘI MATERIALE

Colorant Eozină-Nigrozină (colorantul lui Blom):

### 2.5 ECHIPAMENTE DE MĂSURARE ȘI ÎNCERCARE

Microscop Karl-Zeiss Peraval

Platformă de încălzire

	<b>PROCEDURA OPERAȚIONALĂ</b>	Pagina 3 din 4
	<b>DETERMINAREA MORFOLOGIEI SPERMATOZOIZILOR</b>	Exemplar nr.1
Ediția : 1/ 05.05.2017	Revizia : 0	Cod: PO 5 – CDS 11

## 2.6. MODUL DE LUCRU

Procedura se aplică atât materialului seminal congelat, cât și materialului seminal refrigerat, conservat la temperatura camerei sau brut de taur, berbec, țap, vier.

Efectuarea unui frotiu al probei de material seminal cu colorant intravital (Eozină) și analiza la microscopie în câmp luminos a morfologiei spermatozoizilor pentru evidențierea anomaliilor.

## 2.7. CALCULUL ȘI INTERPRETAREA REZULTATELOR

Morfologia spermatozoizilor trebuie să fie caracteristică speciei. Orice formă, mărime, aspect atipic se consideră anomalie, sau abatere morfologică. Acestea se clasifică în primare și secundare.

### *Anomalii morfologice primare:*

- spermatozoizii fără coadă, cu alterări ale membranei acrozomale, capișonul acrozomal detașat, cu volum prea mare sau prea mic, cu vacuolizări, cu cap de mărime sau formă atipică speciei.

### *Anomalii morfologice secundare*

- spermatozoizii fără cap sau cu două capete, număr mai multe cozi, cu coda ruptă sau fără piesa intermediară, cu coada despicată, îngroșată sau cu îndoiri, răsuciri sau alte forme.

### *Spermatozoizi imaturi*

Dacă de-a lungul piesei intermediare a cozii unui spermatozoid se observă picătura citoplasmatică acesta se consideră imatur.

## RESPONSABILITĂȚI

### Șeful Laboratorului

- asigură instruirea personalului executant și aprobă procedura de lucru
- repartizează probele pe executanții din laborator și le verifică modul de lucru
- verifică calculele aferente încercărilor, prezintă interpretarea rezultatelor
- întocmește și semnează Raportul și Buletinul de analize
- instruește personalul executant privind normele SSM și PSI
- transmite clientului exemplarul 1 din Buletinul de analize. Informează clientul în cazul unor rezultate necorespunzătoare
- păstrează comanda și exemplarul 2 al Buletinului de analize

## PREȚURI

- pentru mai puțin de 5 probe: 7 lei / probă
- pentru mai mult de 5 probe: 5 lei / probă

	<b>PROCEDURA OPERAȚIONALĂ</b>	Pagina 4 din 4
	<b>DETERMINAREA MORFOLOGIEI SPERMATOZOIZILOR</b>	Exemplar nr.1
Ediția : 1/ 05.05.2017	Revizia : 0	Cod: PO 5 – CDS 11

## Anexe

### 1. Documente de Referință, Terminologie și Abrevieri

SR EN ISO/CEI 17025:2005	- Cerințe generale pentru competența laboratoarelor de încercări și etalonări.
SR EN ISO 9000:2015	- Sisteme de management al calității. Principii fundamentale și vocabular.
Directiva 2004/10/EC	Directiva Parlamentului și Consiliului European cu privire la armonizarea legilor, reglementărilor, legate de aplicarea principiilor „Good Laboratory Practice”
<i>Eurachem/CITAC Guide</i>	<i>Traceability in Chemical Measurement</i>
<i>Monitorul Oficial 173(XVIII)</i>	<i>Anexa la Ordinul președintelui Autorității Naționale Sanitar Veterinare și pentru Siguranța Alimentelor nr. 51/2005</i>
<i>SR ENV 13005</i>	<i>Ghid pentru Exprimarea Incertitudinii de măsurare</i>
Norme generale de protecția muncii, Ministerul Muncii și Solidarității Sociale	Ministerul Sănătății și Familiei, București, 2002.

### 2. Terminologie

<b>Eșantionare</b>	Preluarea unei probe reprezentative în scopul examinării diverselor caracteristici definite.
<b>Probă</b>	Eșantion reprezentativ, prelevată dintr-o masă definită, pentru a examina diverse caracteristici.
<b>Încercare</b>	Determinarea uneia sau mai multor caracteristici în conformitate cu o procedură.
<b>Soluția de analizat</b>	Probă de analizat, preparată astfel încât compusul ce trebuie să fie determinat să poată fi măsurat printr-o tehnică analitică adecvată.

### 3. Abrevieri

USAMV - Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară Cluj-Napoca  
 ISV – Institutul de Științele Vieții  
 DIR - Director  
 ȘL – Șef Laborator  
 RC – Responsabilul Calității  
 RSSM – Responsabil Siguranța și Securitatea Muncii