

Spermac Stain



Kit de tinción para espermatozoides humanos

Ref. doc.: FP09 I21 R01 D.1 - Actualización: 20/04/2022

Para uso en diagnóstico in vitro - Reactivos solo para uso profesional

INFORMACIÓN GENERAL

El análisis de la morfología espermática es uno de los análisis seminales básicos realizados en el diagnóstico y tratamiento de la infertilidad masculina. Spermac Stain es un kit de tinción de diagnóstico in vitro compuesto por una solución fijadora y tres soluciones de tinción para espermatozoides humanos. La tinción facilita la distinción entre espermatozoides morfológicamente normales y anormales y mejora la visualización de las diferentes partes de la célula espermática (cabeza, acrosoma, región ecuatorial, segmento intermedio, cola)^{1,2}.

USO PREVISTO

Spermac Stain es un kit de diagnóstico cualitativo no automatizado para el uso profesional para la tinción de espermatozoides humanos. El objetivo de la tinción de los espermatozoides es facilitar la diferenciación entre espermatozoides morfológicamente normales y anormales. El resultado de esta evaluación puede ser útil para valorar el diagnóstico y el tratamiento de la infertilidad masculina.

MATERIAL INCLUIDO EN EL KIT

Spermac Stain

Código de producto:	SPS050	SPS250
Solución de tinción A: tinción roja	50 ml	250 ml
Solución de tinción B: tinción verde claro	50 ml	250 ml
Solución de tinción C: tinción verde oscuro	50 ml	250 ml
Fijación; solución fijadora	50 ml	250 ml

Certificado de análisis y fichas de datos de seguridad (FDS) disponibles previa solicitud o descargables desde el sitio web (www.fertipro.com).

MATERIAL NECESARIO, PERO NO SUMINISTRADO

- Portaobjetos
- 5 cubetas de Coplin
- Microscopio (1000 aumentos)
- Aceite de inmersión
- Placa caliente (37 °C)
- Agua del grifo o destilada

MÉTODO

Escanee el código de barras (o siga el enlace en www.fertipro.com) para ver el video de demostración.



RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

El periodo de abstinencia debe ser de 2 a 7 días. Evite la pérdida de la primera fracción de semen, ya que esta contiene proporcionalmente más espermatozoides normales. No espere más de 4 horas tras la eyaculación para iniciar la prueba.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

1. Vierta las soluciones de tinción A, B y C en cubetas de Coplin diferentes, asegurándose de que el nivel de líquido sea suficiente para cubrir la zona que se va a teñir.
2. Rellene una cubeta de Coplin o un soporte con agua del grifo para los pasos de lavado (consulte la nota 1).
3. Prepare los portaobjetos de vidrio: límpielos, lávelos con alcohol y déjelos secar.
4. Mantenga cerrado el frasco del reactivo fijador (consulte la nota 2).

Nota 1: utilice agua destilada si el agua del grifo es alcalina (pH > 7). Si utiliza un soporte que permita la combinación de varios portaobjetos, asegúrese de que sea lo suficientemente grande para garantizar el lavado completo.

Nota 2: el vapor del fijador interfiere en la tinción, incluso en cantidades muy pequeñas.

PROCEDIMIENTO DE TINCIÓN

1. Mezcle bien el semen hasta obtener una muestra homogénea y prepare un frotis fino con bordes biselados, sin diluir, de semen, preferiblemente licuado, en un portaobjetos de vidrio (p. ej., 10 µl de semen). Deje que el frotis se seque al aire libre durante unos 5 minutos en una placa caliente a 37 °C.
2. Cuando el frotis se haya secado, vierta la solución fijadora en una cubeta. Realice cada manipulación con la solución fijadora **bajo una campana extractora**.

- a. Fije el frotis sumergiendo el portaobjetos durante un mínimo de 5 minutos en la cubeta con solución fijadora. La fijación puede prolongarse durante más tiempo, pero no es necesario.
- b. Retire el portaobjetos de la cubeta con solución fijadora y colóquelo brevemente en posición vertical sobre papel absorbente para escurrir el exceso de fluido. No toque la muestra con el papel.
- c. Deje que el portaobjetos se seque colocándolo en una placa caliente a 37 °C durante 15 minutos. Mientras tanto, retire la cubeta de Coplin con la solución fijadora de la zona de trabajo.

3. Lave el frotis sumergiéndolo suavemente 7 veces en la cubeta con agua (consulte la nota 1 anterior). En caso necesario (p. ej., cuando use una cubeta de Coplin pequeña), repita el procedimiento de lavado con agua limpia para garantizar el lavado completo. Escurra brevemente el exceso de agua tocando el extremo del portaobjetos con papel absorbente.

4. Lentamente, sumerja y saque el portaobjetos 7 veces de la Solución de tinción A (consulte la nota 3). A continuación, déjelo reposar durante 2 minutos en la cubeta. Después, colóquelo en posición vertical sobre papel absorbente. Lávelo con agua limpia y escúrralo según lo descrito en el paso 3. Repita el lavado con agua limpia. **El lavado doble tras la Solución de tinción A es importante.**

5. Sumerja y saque el portaobjetos 7 veces de la Solución de tinción B. Déjelo reposar durante 1 minuto en la cubeta. Después, colóquelo en posición vertical sobre papel absorbente. Lávelo con agua limpia y escúrralo según lo descrito en el paso 3.

6. Sumerja y saque el portaobjetos 7 veces de la Solución de tinción C. Déjelo reposar durante 1 minuto en la cubeta. Después, colóquelo en posición vertical sobre papel absorbente. Lávelo con agua limpia y escúrralo según lo descrito en el paso 3.

7. Deje que el portaobjetos se seque al aire libre.

8. Observe el portaobjetos en un microscopio óptico (1000x) utilizando aceite de inmersión.

Nota 3: «lentamente» significa aproximadamente 1 inmersión por segundo. La inmersión es importante porque garantiza el contacto completo de la muestra con la tinción.

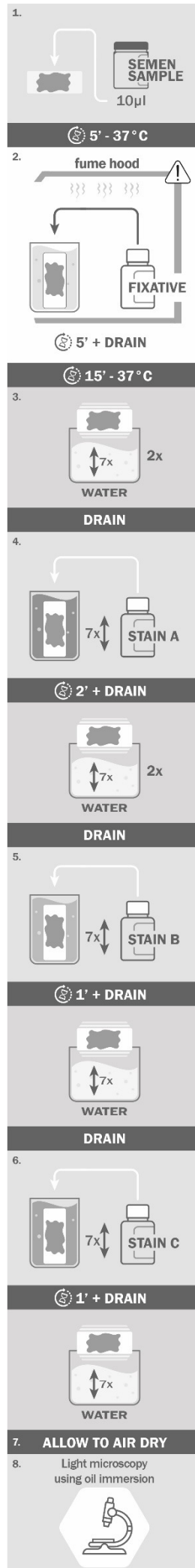
INTERPRETACIÓN

- acrosoma = verde oscuro
 - núcleo = teñido de rojo
 - región ecuatorial = verde claro
 - segmento intermedio y cola = verde
- Cuente al menos 100, o preferiblemente 200, espermatozoides y clasifíquelos como normales o anormales, indicando qué defectos son los más comunes.
 - Incluya en el recuento solo las células espermáticas identificables.
 - Según los criterios de la OMS de 2021, una muestra se considera normal si, al menos, el 4% de los espermatozoides muestran formas normales³.

Se han establecido relaciones, mediante la aplicación estricta de determinados criterios de morfología espermática, entre el porcentaje de formas normales y varios criterios de valoración de fertilidad (tiempo hasta el embarazo, índices de embarazos *in vivo* e *in vitro*), que pueden resultar útiles en el pronóstico de la fertilidad³.

OBSERVACIONES SOBRE EL USO

- Las muestras proteínicas o gelatinosas y las muestras congeladas deben diluirse en una



proporción 1:1 con citrato sódico al 3 % antes de la preparación del frotis.

- El portaobjetos teñido debe ser transparente con una ligera tonalidad verde. Si el portaobjetos es verde oscuro significa que el portaobjetos ha sido expuesto a los vapores de la solución fijadora antes de la fijación.
- Los portaobjetos pueden prepararse, fijarse, lavarse y secarse para el transporte previo a la tinción. Protéjalos frente a la abrasión durante el transporte. Cuando esté preparado para la tinción, comience el proceso con la solución fijadora (paso 2), es decir, los portaobjetos se someten a una doble fijación. Esto es importante porque la solución fijadora contiene tampones que garantizan que la tinción posterior se produzca correctamente.

MONTAJE DE PORTAOBJETOS

La tinción se decolorará con el medio de montaje (tras varias semanas). Por tanto, no monte los portaobjetos si desea utilizarlos como referencia más tarde. Retire suavemente el aceite de inmersión, que también causa decoloración. En caso de necesitar futuras referencias, es preferible la realización de portaobjetos por duplicado o de fotografías o grabaciones en vídeo.












LIMITACIONES DEL MÉTODO

- Los espermatozoides teñidos con Spermac Stain no pueden utilizarse para ningún otro procedimiento.

ALMACENAMIENTO/ELIMACIÓN Y ESTABILIDAD

- Spermac Stain debe almacenarse en cubetas de Coplin o en los frascos originales, a 2-25 °C.
- Es adecuado para el transporte o el almacenamiento a corto plazo a temperaturas elevadas (hasta 5 días a 37 °C).
- Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. No utilizar después de la fecha de caducidad.
- Sin embargo, el proceso de tinción elimina constituyentes e introduce contaminantes y, por ello, las disoluciones de tinción deben sustituirse cuando ya no se logre una tinción adecuada.
- Filtre las soluciones de tinción si observa depósitos.
- Los reactivos deben eliminarse de conformidad con la normativa local para la eliminación de productos sanitarios.
- Resulta difícil determinar el número de pruebas que pueden realizarse con un solo kit de Spermac Stain, puesto que las soluciones de tinción pueden reutilizarse.

GLOSARIO DE SÍMBOLOS

Símbolos definidos en la norma ISO 15223			
	Número de catálogo		Número de lote
	Consulte las instrucciones de uso		Fabricante
	Diagnóstico <i>in vitro</i>		Límite de temperatura
	Fecha de caducidad		
Símbolo definido en Reglamento 2017/746 sobre los productos sanitarios para diagnóstico <i>in vitro</i>			
	Marcado CE		
Símbolo definido en el Reglamento (CE) n.º 1272/2008 [CLP]			
	GHS07: Irritante: puede provocar una reacción alérgica en la piel		GHS08: Peligro para la salud: se sospecha que provoca defectos genéticos; puede provocar cáncer
	GHS02: Inflamable: vapor y líquido muy inflamables		

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- Todo el material orgánico humano debe considerarse como potencialmente infeccioso. Manipular todas las muestras como si fueran posibles transmisoras del VIH o la hepatitis. Utilizar siempre ropa de protección al manipular las muestras y los reactivos (guantes, bata de laboratorio, protección facial/ocular).
- Solución fijadora: contiene paraformaldehído; puede provocar una reacción alérgica en la piel; provoca irritación ocular grave; se sospecha que provoca cáncer.
- Debido a la toxicidad por inhalación de paraformaldehído, los pasos en los que se utiliza la solución fijadora deben realizarse en una campana extractora.
- Soluciones de tinción A y B: vapor y líquido muy inflamables
- Las soluciones de tinción contienen sustancias identificadas como mutagénicas. Sin embargo, dada la baja concentración de estas sustancias en el reactivo final, las propias soluciones de tinción no están identificadas como mutagénicas.
- El kit no contiene ninguna sustancia que altere el sistema endocrino.

REFERENCIAS

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.

ATENCIÓN AL CLIENTE-ASISTENCIA TÉCNICA



FertiPro NV
 Industriepark Noord 32
 8730 Beernem (Bélgica)
 Tel.: +32 (0)50 79 18 05
 Fax: +32 (0)50 79 17 99
 Correo electrónico: info@fertipro.com
 URL: <http://www.fertipro.com>