



Revista Internacional de
Andrología

www.elsevier.es/andrologia



ORIGINAL

Estandarización en la técnica de pretratamiento y tinción para la realización de la morfología espermática humana automatizada tipo asma (*assisted sperm morphometry analysis*)

Clara Ramírez^a, José Ramón Alonso^b, Pedro Jiménez^b, Rocío Reyes^a,
Jordi Ramis^a, Josep Maria Gris^b y Carlos Aulesa^{a,*}

^a Unidad de Andrología, Laboratorios Clínicos, Hospital Universitario de la Vall d'Hebron, Barcelona, España

^b Unidad de Reproducción Asistida, Hospital Universitario de la Vall d'Hebron, Barcelona, España

Recibido el 6 de junio de 2015; aceptado el 19 de mayo de 2016

PALABRAS CLAVE

Semen;
Morfología;
Automatización;
Tinción

Resumen

Objetivo: Estandarización de la técnica de pretratamiento y tinción para la automatización de la morfología espermática con metodología tipo *computer-assisted sperm morphometry analysis*, con el analizador de sémenes SCA 5.4 (*Sperm Class Analyzer*, Microptic).

Material y métodos: La automatización de la morfología se ha realizado con el analizador de semen SCA 5.4 (Microptic S.L., Barcelona, España). El método de tinción ha sido una modificación del equipo Hemacolor (Merck). Se procesan entre 69 y 125 sémenes, los cuales han sido muestras escogidas aleatoriamente de nuestro laboratorio.

Resultados: El pretratamiento de la muestra de semen escogido, debido a los resultados obtenidos, fue una centrifugación suave durante 5 min a 300g, se descarta el plasma seminal y se homogeneiza suavemente el sedimento con 0,2 ml del propio plasma seminal. Este pretratamiento ya se comprobó que no artefactaba los espermatozoides. La tinción que se ha escogido es el kit Hemacolor (Merck), pero con modificaciones. Se tampona el fijador con buffer fosfato pH 7,2 al 10%, se reduce los tiempos aconsejados por el fabricante a fijación durante 5 seg, tinción con eosina 30 seg y tinción con azul 2 seg. Finalmente se lava 30 seg con tampón fosfato pH 7,2, como indica el fabricante. Tras dicho pretratamiento y tinción estandarizadas se hallan los coeficientes de variación del pretratamiento y valores de referencia para nuestra metodología.

Conclusiones: La automatización de la morfología espermática reduce los coeficientes de variación de la determinación, aumentando su fiabilidad técnica y eliminando la subjetividad que

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: caulesa@vhebron.net (C. Aulesa).

KEYWORDS

Semen;
Morphology;
Automation;
Staining

conllevar un análisis manual. Esta estandarización constituye el primer paso para el estudio del valor diagnóstico de la morfología avanzada en la infertilidad y en enfermedades urológicas.

© 2016 Asociación Española de Andrología, Medicina Sexual y Reproductiva. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

Standardization of pretreatment and staining technique to perform automatic human sperm morphology with asma (assisted sperm morphometry analyses)

Abstract

Objective: Standardization of pretreatment and staining technique to realize morphological semen evaluation with computer-assisted sperm morphometry analysis system, with semen system analyzer SCA 5.4 (Sperm Class Analyzer, Microptic).

Material and methods: Morphological analysis was performed with semen system analyzer SCA 5.4 (Microptic SL, Barcelona, Spain). The staining method was a modification of Hemacolor kit (Merck). Between 60 and 125 semen samples were chosen randomly from our laboratory.

Results: Pretreatment of semen samples was a centrifugation for 5 minutes at 300 g, seminal plasma was rejected and the pellet was homogenized with .2 mL of the seminal plasma itself. No change in sperm morphology has been found with this pretreatment. Staining was performed with Hemacolor kit (Merck) but with some modifications. Fixer has been buffered with phosphate buffer pH 7.2 at 10%, time recommended by the manufacturer has been reduced. Fixation for 5 seconds, 30 seconds with Eosin staining and 2 seconds with staining Azur. Finally it was washed for 30 seconds with pH 7.2 phosphate buffer, as indicated by the manufacturer. After the pretreatment and staining we have got reference values for our methodology.

Conclusions: An automation methodology to perform sperm morphology reduces coefficient variations of determination thereby we can increase its technical reliability and remove the subjectivity of the manual analysis. This standardization can be the first step to study the diagnostic value of advanced morphology in infertility and urological diseases.

© 2016 Asociación Española de Andrología, Medicina Sexual y Reproductiva. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Introducción

La estandarización para realizar la morfología espermática con sistemas de análisis de semen automatizados tipo *computer-assisted sperm morphometry analysis* (CASMA/ASMA), todavía no ha conseguido la implantación deseada en nuestros laboratorios de andrología. Se han señalado varias causas que explicarían este retraso histórico, como son la falta de una estandarización consensuada por los diferentes fabricantes del mercado de estos métodos¹⁻⁴, y otras como que la realización de la morfología espermática presenta un gran número de variables a estandarizar^{4,5}. Por ejemplo, las diferentes modalidades de pretratamiento a las que se puede someter el semen, los diversos tipos de tinciones no específicas tipo panóptica⁶, como Hemacolor (Merck), Diff-Quick (Siemens), Shorr, Spermac, o específicas como Spermbblue⁷. Sin embargo, nosotros creemos que la causa principal de este retraso es la falta de consenso en la unificación de criterios válidos que definan las alteraciones en la morfología del espermatozoide. Algunos profesionales siguen los criterios de la OMS⁸, otros los criterios estrictos de Kruger⁹, y otros, que es la predominante en Europa, siguen los de la Sociedad Europea de Reproducción Humana y Embriología ESHRE (¹⁰). Por todo ello no existe aún un protocolo de consenso a seguir.

La importancia del parámetro morfología es una constante que se repite en todos los estudios clínicos actuales de fertilidad^{9,11-15}, relacionándose específicamente tasa de fertilidad con porcentaje de morfología normal^{9,12,16-19}. La morfología realizada manualmente presenta altos coeficientes de variación técnica²⁰ y requiere una prolongada formación de técnicos de laboratorio para asumir unos mínimos de fiabilidad aceptable. Además existe un gran costo de tiempo para realizar cada morfología manual. Ante el aumento de la presión asistencial al Laboratorio de Andrología que ha generado el incremento de las técnicas de reproducción asistida en nuestros hospitales, y dada la dificultad de asumir esta rutina con métodos manuales, en este trabajo se plantea una primera aproximación a la estandarización en la morfología espermática automatizada. Los métodos utilizados son tipo CASMA/ASMA, siguiendo el modelo David, de gran implantación en Francia²¹, dada la falta de consenso a seguir que deberían establecer las sociedades científicas tipo Sociedad Europea de Reproducción Humana y Embriología y NAFA en Europa.

Material y métodos

Para la realización de la morfología espermática de forma automatizada se ha empleado el analizador de semen SCA

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/7271479>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/7271479>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)