



Protocolo Morphology slides SCA

PORTAOBJETOS PRETEÑIDOS PARA ANALIZAR LA MORFOLOGÍA DE ESPERMATOZOIDES

Principio:

Los portaobjetos preteñidos para morfología combinan los portaobjetos de microscopio convencionales con una tinción isoosmótica, SpermBlue, en un aparato listo para usar para la evaluación de la morfología de muestras de semen. Estos portaobjetos preteñidos han sido diseñados para ser usados con sistemas automatizados como el Sperm Class Analyzer® (SCA®) o el SCA SCOPE.

Características del Producto:

1 caja contiene: 50 portaobjetos/ 50 test

Material necesario:

Agua destilada

Medio de montaje

Micropipeta y puntas

Cubreobjetos de 0,13-0,16 de grosor, preferiblemente de 24x50 / 24x60mm

Conservación y estabilidad:

Los portaobjetos deben ser protegidos de la luz y conservados a temperatura ambiente (15 – 25°C). Pueden permanecer estables al menos un año desde la fecha de fabricación.

Preparación de la muestra /Procedimiento de tinción:

1. Haga un lavado simple de semen con PBS.

Este paso se recomienda para eliminar restos de cadenas de moco en el plasma seminal que podrían dificultar el análisis automático de los espermatozoides. Asimismo, permite adecuar la concentración para optimizar el tiempo gastado en cada evaluación de morfología:

- Coja una alícuota de muestra de semen de unos 400µl* y añada 800µl de PBS (el doble de la alícuota). Homogenícelo.

**El volumen de muestra usado puede depender de la cantidad disponible. El mínimo volumen de muestra para obtener un pellet después de la centrifugación es de 100µL. Es importante que el de PBS sea el doble que el volumen de muestra usada. Para muestras oligozoospermicas la extensión puede prepararse directamente con el pellet para obtener una concentración aceptable.*

- Centrifugue la alícuota a 300g durante 10 min.
- Deseche el sobrenadante.
- Rompa el pellet (golpeando suavemente el tubo con el dedo) y añada el volumen necesario de PBS para conseguir una concentración de espermatozoides final de unos 50 M espermatozoides/ml. Use la fórmula:

$$V_{spz \text{ lavados}} = \frac{C_{semen} \times V_{semen}}{50}$$

(Donde C_{semen} corresponde a la concentración de espermatozoides del semen original (M/mL), V_{semen} el volumen de semen usado para el lavado (antes de añadir el PBS) y V_{spz} lavados el volumen de PBS a añadir tras el centrifugado).

- Resuspenda el pellet con el volumen de PBS calculado.

2. Prepare una muestra siguiendo la guía de la OMS 6ª ed.:

Pipetee 10µl de muestra de semen en el borde del portaobjetos y extienda la gota con un segundo portaobjetos siguiendo un ángulo de 45° (ver figura 1).

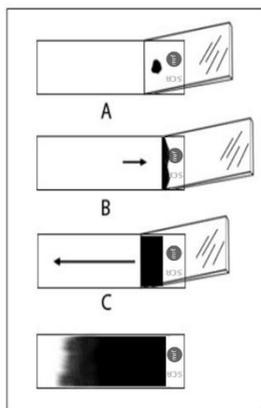


Figura 1: Preparación de muestra

3. Espere unos 20-30 segundos a temperatura ambiente.

4. Sumerja el portaobjetos en agua destilada 2 veces (1 segundo/inmersión).

5. Coloque el portaobjetos en posición vertical y déjelo secar al aire a temperatura ambiente.

6. Una vez esté totalmente seco, monte el portaobjetos con Eukitt (o medio sintético equivalente) y un cubreobjetos (véase figura 2). Montar las preparaciones facilita el enfoque correcto de algunas características de los espermatozoides (ej. Vacuolas) que son omitidas a grandes magnificaciones del microscopio si no están montadas. Los pasos a seguir son:

1. Poner unas gotas de Eukitt en el cubreobjetos.
2. Colocar el portaobjetos, con el frotis hacia abajo, sobre el cubreobjetos.
3. Presionar sobre el portaobjetos para extender el Eukitt.
4. Colocar el portaobjetos hacia arriba y en horizontal, y dejar secar.

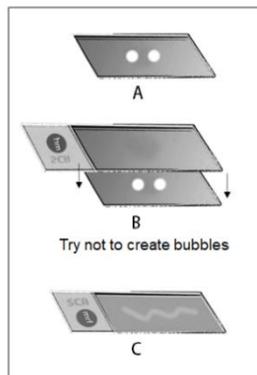


Figura 2: Montaje con Eukitt.

Manufactured by:

Microptic S.L.

Av. Josep Tarradellas, 8, 1º 6ª - 08029 Barcelona (Spain)

Phone: +34 93 419 29 10 Fax +34 93 419 94 26

www.micropticsl.com