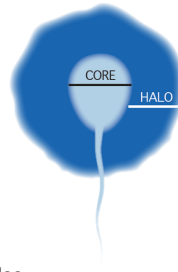


Clasificación de los espermatozoides

Contar un mínimo de 300 espermatozoides por muestra, de acuerdo con los siguientes criterios:

- Espermatozoides sin fragmentación del ADN:**
 - Espermatozoides con halo grande: aquellos cuya anchura del halo de cromatina es similar o mayor que el diámetro del núcleo (Fig. 1).
 - Espermatozoides con halo de tamaño medio: el tamaño de su halo se encuentra entre los de halo grande y los de halo pequeño (Fig. 2).
- Espermatozoides con ADN fragmentado:**
 - Espermatozoides con halo pequeño: la anchura del halo de cromatina es similar o inferior a 1/3 del diámetro del núcleo (Fig. 3).
 - Espermatozoides sin halo: (Fig. 4).
 - Espermatozoides sin halo y degradados: aquellos que no presentan halo y presentan un núcleo irregular o débilmente teñido (Fig. 5).
- “Otros”:** núcleos celulares que no corresponden a los espermatozoides. Una de las características morfológicas que los distinguen es la ausencia de flagelo. Estas células no deben incluirse en la estimación de la frecuencia de espermatozoides con ADN fragmentado.



Control positivo

Todos los espermatozoides presentan halo excepto los espermatozoides degradados. Para llevar a cabo el control positivo utilice el pocillo 'C' y siga las instrucciones de uso omitiendo el paso 7.

Advertencias, medioambiente y precauciones

Todas las muestras de pacientes y reactivos deben tratarse como potencialmente infecciosos y el usuario debe usar guantes, protección ocular y bata de laboratorio al realizar la prueba.

Se debe tener cuidado para evitar el contacto con la piel o los ojos, así como evitar la inhalación. La solución ácida (DA) contiene ácido clorhídrico y la solución de lisis (LS) contiene ditiotretol y ECOSURF™. Trabaje en un entorno ventilado y siga la hoja de datos de seguridad del fabricante con respecto a un manejo seguro.

El producto sobrante debe desecharse en un recipiente de riesgo biológico adecuado después de su utilización. No lo vierta en alcantarillas o vías fluviales. No libere los productos utilizados en el medio ambiente. Siga las normas de seguridad específicas de las instalaciones de su laboratorio con respecto al almacenamiento de productos químicos y la eliminación de productos tóxicos, así como la exposición a ellos.

No coma, beba ni fume en el área donde se manipulan las muestras y los reactivos del kit.

No lo use más allá de la fecha de caducidad, que aparece en la etiqueta del producto.

La hoja de datos de seguridad del material está disponible bajo pedido.

Condiciones de almacenamiento

Tras recibir el kit, guárdelo a 2-8 °C. La fecha de caducidad se encuentra en la etiqueta. Una vez abierto, el kit es estable durante 9 meses.



halosperm® es una marca registrada por halotech DNA, S.L.
C/FARADAY 7, 1º PLANTA CAMPUS DE CANTOBLANCO – 28049 MADRID SPAIN
Tel: + 34 91 279 69 50 / www.halotechdna.com / info@halotechdna.com



halosperm® G2 PRO

Kit **REF** HT- HSG2P
para 10 determinaciones

halosperm® G2 PRO es la nueva alternativa ofrecida por Halotech DNA para abordar la necesidad de un test de SCD (Dispersión de Cromatina Espermática) más rápido para evaluar la fragmentación del ADN espermático en humanos.

IVD solo para uso profesional.

Principio del método

Las muestras de semen (recién obtenidas, diluidas o descongeladas) se embeben en un microgel inerte de agarosa sobre un portaobjetos pretratado. Un tratamiento ácido inicial desnaturaliza el ADN en las células espermáticas con ADN fragmentado. A continuación, la solución de lisis elimina la mayoría de las proteínas nucleares. Si los espermatozoides presentan una rotura extensa del ADN, no mostrarán un halo de dispersión de la cromatina o este será mínimo. Esta prueba es una ayuda en el diagnóstico. La interpretación de los resultados se debe basar en criterios médicos.

Características de funcionamiento

Sensibilidad	93.0%
Especificidad	93.0%
Repetibilidad	93.4%
Reproducibilidad	94.0%
Veracidad	91.6%
Exactitud	97.1%
Sustancias interferentes	-
Valor de corte ^[1]	IIU: SDF ≤ 20% ; FIV/ICSI: SDF ≤ 25%

[1] Esteves SC et al., Andrologia 2021 53(2):e13874. doi: 10.1111/and.13874.

Descripción de los componentes del kit

Cada kit contiene lo necesario para realizar 10 test. Los componentes son:

- (ACS) Soporte celular de agarosa; 1 tubo con tapón de rosca
- (SCS) Portaobjetos pretratados; 10 unidades
- (ET) Tubos Eppendorf; 10 unidades
- Solución 1 (DA) Agente Desnaturalizante; 10 mL
- Solución 2 (LS) Solución de Lisis; 10 mL
- Solución 3 (SSA) Solución de tinción A; 10 mL
- Solución 4 (SSB) Solución de tinción B; 10 mL
- (HSF) Flotador; 1 unidades
- Instrucciones de uso

Material y equipo necesario no proporcionado con el kit

Microscopio de campo claro, nevera a 2-8 °C, baño(s) de agua a 37 °C y 95-100 °C, guantes de PVC (cloruro de polivinilo), cubreobjetos de vidrio (24 x 24 mm). Micropipetas, placas de Petri o bandeja similar, pipetas desechables, agua destilada, solución salina tamponada con fosfato (PBS), microondas, papel filtro o similar, etanol al 96% a 2-8 °C.

Asegúrese de que todos los equipos estén calibrados.

Muestra de semen

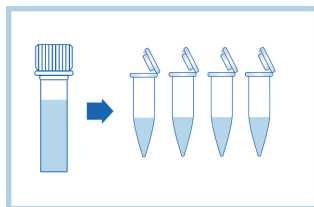
Las muestras de semen recién obtenidas se deben recoger en un recipiente estéril. El ensayo de fragmentación del ADN espermático se debe realizar inmediatamente tras la obtención o descongelación de la muestra de esperma criopreservada.

	consultar instrucciones de uso
	referencia del producto (número de catálogo)
	número de lote
	número de serie
	fecha de caducidad
	fabricante
	fecha de fabricación
	producto sanitario para diagnóstico in vitro
	contiene suficiente para "n" pruebas
	límite de temperatura
	mantener seco
	atención
	peligro



Instrucciones de uso

Tenga en cuenta: el etanol al 96% debe mantenerse a una temperatura de 2-8 °C hasta su uso.

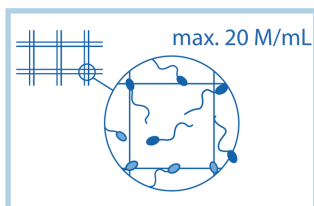


1.

- 1.1 Deje que las Soluciones 1 y 2 alcancen la temperatura ambiente (aprox. 22-25 °C).
- 1.2 Coloque el Soporte Celular de Agarosa (ACS) en el flotador y funda el contenido utilizando un baño de agua a 95-100 °C durante 5 minutos o hasta que esté completamente fundido. Si se prefiere, la agarosa puede fundirse en un microondas. Para ello, llene un vaso de precipitados con 100 mL de agua, coloque el ACS con el flotador dentro y caliéntelo a máxima potencia durante 1.5 minutos. Supervise constantemente y detenga el proceso tan pronto como el agua comience a hervir. **No mantenga el ACS en el agua hirviendo.** Alicuote 10 tubos Eppendorf (ET) con 50 µL de la agarosa fundida. Inmediatamente después, mantenga los ET que vaya a utilizar a 37 °C para evitar la gelificación.
- 1.3 Los ET restantes que no se vayan a utilizar en ese momento deben almacenarse en la nevera junto con el kit.
- 1.4 Prepare los portaobjetos pretratados (SCS) que se vayan a utilizar.

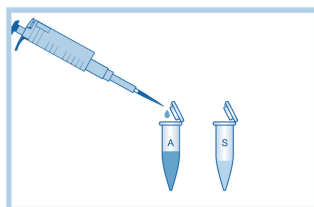
2.

Diluya la muestra de esperma en un diluyente adecuado de esperma humano o PBS a una concentración máxima de 20 millones de espermatozoides por mL.



3.

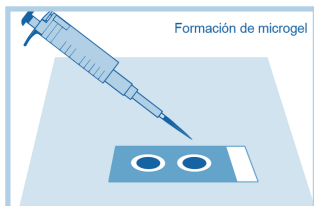
Inmediatamente después, transfiera 25 µL de la muestra de semen al ET y mezcle suavemente con una micropipeta. Evite la formación de burbujas.



Procesamiento de muestra seminal

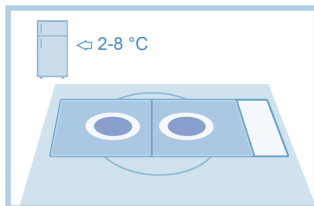
4.

A continuación, coloque 8 µL de la mezcla en el centro del pocillo 'S'. Cubra con un cubreobjetos y presione suavemente. Repita el procedimiento usando el pocillo 'C' para realizar el control positivo. Los portaobjetos deben mantenerse en posición horizontal durante todo el proceso.



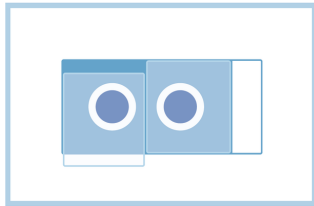
5.

Coloque el portaobjetos sobre una superficie fría (por ejemplo, una placa de metal o vidrio preenfriada a 2-8 °C) y luego colóquelo en la nevera a 2-8 °C durante 2 minutos.



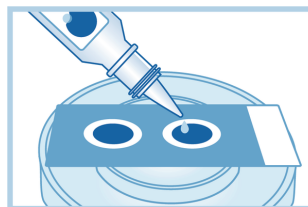
6.

Extraiga el portaobjetos de la nevera y retire el cubreobjetos deslizándolo suavemente. Todo el procesamiento debe realizarse a temperatura ambiente (aprox. 22-25 °C).



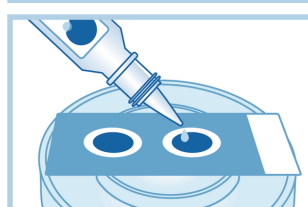
7.

Coloque el portaobjetos horizontalmente en una posición elevada como se muestra en la figura y aplique la Solución 1 (DA) en el pocillo 'S', asegurándose de que esté completamente cubierto por el reactivo. Incube durante 1 minuto. Luego, retire el reactivo inclinando el portaobjetos y permitiendo que se deslice; no lo retire agiténdolo.



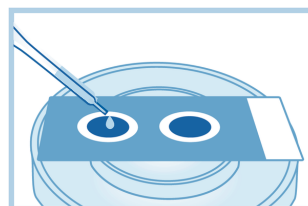
8.

Aplique la Solución 2 (LS) en ambos pocillos, asegurándose de que estén completamente cubiertos. Incube durante 2 minutos. Luego, retire el reactivo inclinando el portaobjetos y permitiendo que se deslice.



9.

Usando una pipeta desechable, aplique agua destilada para cubrir completamente el portaobjetos. Luego, retire el agua inclinando el portaobjetos y permitiendo que se deslice.



10.

Aplique etanol al 96% a 2-8 °C en los pocillos, asegurándose de que estén completamente cubiertos. Incube durante 2 minutos. Retire el reactivo y deje secar totalmente el portaobjetos sobre papel de filtro o una superficie similar. Una vez secos, los portaobjetos procesados pueden almacenarse en cajas apropiadas a temperatura ambiente durante varios meses antes de teñir.

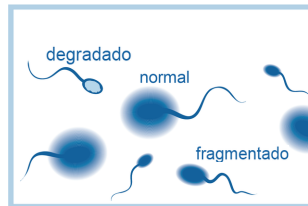


11.

Coloque el portaobjetos horizontalmente en una posición elevada como se muestra en la figura. Aplique la Solución 3 (SSA) en los pocillos, asegurándose de que estén completamente sumergidos. Incube durante 1.5 minutos. Drene inclinando el portaobjetos.

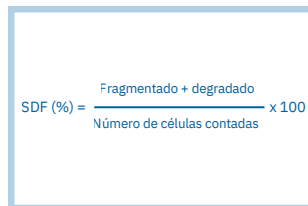
12.

Aplique la Solución 4 (SSB) en los pocillos, asegurándose de que estén completamente cubiertos. Incube durante 1.5 minutos. Retire la tinción inclinando y lave el portaobjetos bajo agua corriente del grifo, asegurándose de que el agua fluya por el reverso del portaobjetos hasta que salga clara. Deje secar el portaobjetos a temperatura ambiente sobre papel filtro o una superficie similar.



13.

Visualice al microscopio de campo claro.



14.

Calcule el porcentaje de espermatozoides con fragmentación del ADN. Los resultados deben evaluarse considerando todos los hallazgos clínicos y de laboratorio relacionados con la muestra de semen.

Para ensayos futuros

Utilice tantos tubos Eppendorf (ET) con agarosa alicuotada como muestras de semen vayan a evaluarse. Coloque los ET en el flotador y funda la agarosa utilizando un baño de agua a 95-100 °C hasta que esté completamente fundida. De lo contrario, si prefiere fundir la agarosa utilizando un microondas, llene 100 mL de agua en un vaso de precipitados. Luego, coloque los ET con el flotador dentro del vaso y caliéntelo a máxima potencia. Observe constantemente y detenga el proceso tan pronto como el agua comience a hervir. **¡Por favor, no mantenga el ACS hirviendo dentro del microondas!** Siga el protocolo omitiendo los pasos 1.2 y 1.3.