TESTS RAPIDOS PARA LA EVALUACION CUANTITATIVA Y SEMICUANTITATIVA DE LA CALIDAD DEL SEMEN

Juan G. Alvarez y Mario Ollero
Department de Obstetrics and Gynecology
Beth Israel Deaconess Medical Center
Harvard Medical School, Boston, MA 02215

INTRODUCCIÓN

La mayoría de los tests que se utilizan en la actualidad para la evaluación de la calidad del semen en las distintas especies de mamíferos, incluida la humana, requieren un instrumental mínimo (microscopio, CASA) y se caracterizan por una complejidad relativamente alta, son economicamente costosos, exigen una puesta a punto de los métodos, un entrenamiento previo de los operarios y su precisión es relativa en algunos casos (el coeficiente de variación para el microscopio se considera entre un 15 y un 35%) (1, 2). En la mayoría de los casos estas características no permiten su empleo como pruebas rápidas en campo. Los tests basados en el método MARQ™ (MAle Reproductive Quality) han sido desarrollados recientemente para la evaluación de la calidad espermática en humano (3). Su concepto se basa en la filtración de una alícuota de la muestra seminal completa a través de un filtro especial montado en un cassette. Los espermatozoides quedan retenidos en el filtro y a continuación son tratados con una serie de reactivos específicos. La señal producida se puede medir con un instrumento electrónico-óptico portátil (método cuantitativo) o comparar visualmente con un patrón de color (método semicuantitativo). Los distintos tests basados en el método MARQ™ desarrollados hasta el momento incluyen:

1. Cuantitativos: requieren el uso de un instrumento portátil (AutoMARQer).

- LeukoMARQ PLUS™ (4) (para la determinación de la concentración de leucocitos en semen),
- VitalMARQ PLUS ™ (concentración espermática y viabilidad) (5)
- FertilMARQ PLUS™ (concentración) (3)

2. Semicuantitativos: los mismos tests citados en el apartado anterior; sin requerir instrumental específico. Unicamente son necesarios un cassette, los reactivos específicos para cada test y un patrón de color.

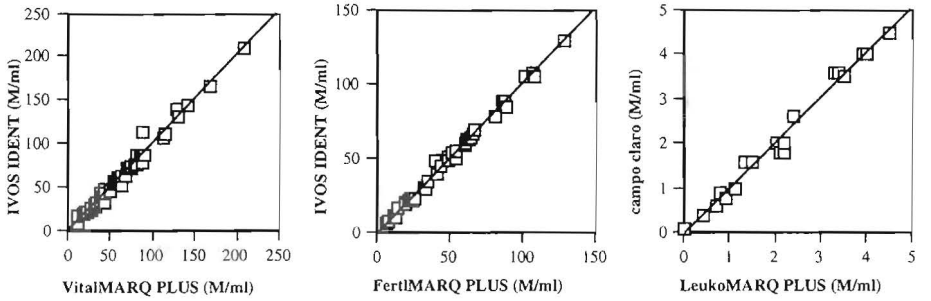
MATERIAL Y MÉTODOS

Tests cuantitativos: exigen el uso del instrumento electrónico-óptico AutoMARQer (Hamilton Thorne Research, Beverly, MA). FertilMARQ PLUS™ incluye un control positivo (micro esferas de color), azul de tiazina (colorante de DNA permeable a la membrana plasmática) y solución de lavado (poli-L-lisina). LeukoMARQ PLUS™ requiere control positivo, tetrametilnbenzidina-H_2O_2 (sustrato para mieloperoxidasa) y "stop solution" (poli-L-lisina). VitalMARQ PLUS™ requiere control positivo, y bromuro de etidio (colorante de DNA impermeable a la membrana plasmática). Los mismos métodos descritos se pueden aplicar a los tests semicuantitativos

reemplazando el control positivo por un patrón de color. Todos los tests de la serie MARQ™ requieren la licuefacción previa del semen en un vaso de plástico recubierto con quimotripsina. Este paso no sólo acelera la licuefacción del semen sino también sirve para estandarizar la viscosidad. Los resultados que se presentan fueron obtenidos a partir de un total de 120 muestras de semen humano. La concentración de las mismas se determinó mediante VitalMARQ PLUS™, FertilMARQ PLUS™ y LeukoMARQ PLUS™ y se comparó con los datos obtenidos mediante el sistema computarizado IVOS IDENT (Hamilton Thorne Research, Beverly, MA) para los dos primeros y microscopía de campo claro para el LeukoMARQ PLUS™.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos se presentan en las siguientes gráficas. Cada punto corresponde a la media de tres mediciones. El coeficiente de correlación para el VitalMARQ PLUS™ fue r= 0.992; r = 0.997 para el FertilMARQ PLUS™ y r = 0.990 para el LeukoMARQ PLUS™. El coeficiente de variación para los distintos tests osciló entre de 2.5 y el 7%.



CONCLUSIONES

Los resultados presentados muestran la alta precisión y reproducibilidad del método MARQ™. Se trata de pruebas rápidas y sencillas y los tests semicuantitativos no requieren ningún tipo de instrumental, por lo cual pueden utilizarse como prueba de campo y a un coste bajo. Si bien los tests descritos se han desarrollado hasta ahora con éxito para la especie humana, actualmente se están realizando pruebas con muestras de otras especies de mamíferos, con resultados hasta el momento satisfactorios. El hecho de que se trate de pruebas simples y de bajo coste, les confiere una alta versatilidad, ya que sería posible realizarlas no solo en el centro de recogida de semen inmediatamente después de la extracción, sino en cualquier tipo de explotación ganadera, tanto sobre muestras frescas como refrigeradas o descongeladas, para obtener una rápida aproximación a la calidad seminal previa a la inseminación. Otros tests de la serie MARQ™ que se están desarrollando en la actualidad incluyen el AcroMARQ PLUS™ para la determinación del porcentaje de

espermatozoides con acrosoma intacto y el MotilMARQ PLUS™ para la determinación de la concentración, motilidad, y velocidad espermáticas.

REFERENCIAS

1. Mortimer, D. Practical Laboratory Andrology. Oxford University Press, (1994).
2. Mortimer, D, Shu, MA y Tan, R. Human Reproduction, 1: 299-303 (1986).
3. Alvarez, JG. American Society of Andrology, Minneapolis (1996).
4. Alvarez, JG, Balgobin S, Powers D y Davis G. American Society of Andrology, Baltimore (1997 a)
5. Alvarez, JG, Balgobin S, Powers D y Davis G. American Society of Andrology, Baltimore (1997b)