



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

**Universidad del Perú. Decana de América**

**Facultad de Medicina**

**Escuela Profesional de Tecnología Médica**

**Criterios analíticos del espermatograma y su nivel de  
cumplimiento en laboratorios clínicos de Lima  
Metropolitana, 2016**

**TESIS**

Para optar el Título Profesional de Licenciada en Tecnología  
Médica en el área de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica

**AUTOR**

Christa Margot RIMARI CHÁVEZ

**ASESOR**

Miguel Hernán SANDOVAL VEGAS

Lima, Perú

2018



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

## Referencia bibliográfica

---

Rimari Ch. Criterios analíticos del espermatoograma y su nivel de cumplimiento en laboratorios clínicos de Lima Metropolitana, 2016 [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina, Escuela Profesional de Tecnología Médica; 2018.

---



**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**  
 (Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)  
**FACULTAD DE MEDICINA**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE TECNOLOGÍA MÉDICA**



**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS**

Conforme a lo estipulado en el Art. 45.2 y, Art. 100.13 de la Ley 30220. El Jurado de Sustentación de Tesis nombrado por la Directora de la Escuela Profesional de Tecnología Médica, conformado por los siguientes docentes:

Presidente: Mg. Heli Jaime Barrón Pastor  
 Miembro : Lic. Ricardo Mafalky Rodriguez Torres  
 Lic. Carlos Ortega Tumay

(062)  
65

Se reunieron en la ciudad de Lima, el día 05 de enero de 2018, procediendo a evaluar la Sustentación de Tesis, titulado **"CRITERIOS ANALÍTICOS DEL ESPERMATOGRAMA Y SU NIVEL DE CUMPLIMIENTO EN LABORATORIOS CLINICOS DE LIMA METROPOLITANA, 2016"**, para optar el Título Profesional de Licenciada en Tecnología Médica en el Área de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica de la Bachiller:

**CHRISTA MARGOT RIMARI CHÁVEZ**

Habiendo obtenido el calificativo de:

.....17.....  
 (en números)

.....Diecisiete.....  
 (en letras)

Que corresponde a la mención de: Muy Bueno

Quedando conforme con lo antes expuesto, se disponen a firmar la presente Acta.

.....  
 Presidente  
 Mg. Heli Jaime Barrón Pastor

.....  
 Miembro  
 Lic. Ricardo Mafalky Rodriguez Torres

.....  
 Miembro  
 Lic. Carlos Ortega Tumay

.....  
 Asesor (a) de Tesis  
 Mg. Miguel Hernán Sandoval Vegas



**``CRITERIOS ANALÍTICOS DEL ESPERMATOGRAMA  
Y SU NIVEL DE CUMPLIMIENTO EN  
LABORATORIOS CLÍNICOS DE LIMA  
METROPOLITANA, 2016 ``**

**AUTOR: Bach. RIMARI CHÁVEZ, CHRISTA MARGOT**

**ASESOR: Mg. MIGUEL HERNÁN SANDOVAL VEGAS**

## **DEDICATORIA**

Agradezco a Dios por permitirme llegar a la meta, a mi madre por su incondicional apoyo siempre, a mi familia y amigos por confiar en mí; y a todos y cada uno de los que hicieron posible este trabajo.

## **AGRADECIMIENTOS**

- Al Mg. Miguel Hernán Sandoval Vegas, por su confianza y guía en este proyecto.
- A la Lic. TM Melba Lucy Bernal Escobar, por sus enseñanzas en este interesante campo.
- También al personal del área de bioquímica manual del Hospital Nacional Dos de Mayo por compartir sus conocimientos.
- Y al Lic. Pedro Mengolé Arroyo, por su apoyo constante y consejos.

# ÍNDICE

<b>CAPÍTULO I: EL PROBLEMA</b>	Pág. 1
1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.	Pág. 1
1.2 DELIMITACIÓN.	Pág. 2
1.3 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.	Pág. 2
1.4 OBJETIVOS.	Pág. 2
1.4.1 Objetivo general.	Pág. 2
1.4.2 Objetivos específicos.	Pág. 2
1.5 JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	Pág. 3
1.6 LIMITACIONES DEL ESTUDIO.	Pág. 4
<b>CAPÍTULO II: BASE TEÓRICA Y METODOLÓGICA.</b>	Pág. 5
2.1. MARCO TEÓRICO.	Pág. 5
2.1.1 Antecedentes.	Pág. 5
2.1.2 Base teórica.	Pág. 7
2.1.3 Definición de términos.	Pág. 18
2.1.4 Formulación de la hipótesis.	Pág. 18
2.2.5 Variables.	Pág. 19
2.2. DISEÑO METODOLOGICO.	Pág. 20
2.2.1 Tipo de investigación.	Pág. 20
2.2.2 Población.	Pág. 20
2.2.3 Muestra y muestreo.	Pág. 20
2.2.4 Criterio de inclusión.	Pág. 20
2.2.5 Criterio de exclusión.	Pág. 20
2.2.6 Técnicas e instrumentos de recolección de datos.	Pág. 20
2.2.7 Plan de recolección.	Pág. 21
2.2.8 Análisis estadístico de los datos.	Pág. 22
2.2.9 Validez y confiabilidad.	Pág. 22
2.2.10 Consideraciones éticas.	Pág. 23
<b>CAPÍTULO III: RESULTADOS Y DISCUSION.</b>	Pág. 24
3.1. RESULTADOS	Pág. 24
3.2. DISCUSIÓN.	Pág. 39
<b>CAPÍTULO IV: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.</b>	Pág. 44
4.1 CONCLUSIONES.	Pág. 44
4.2. RECOMENDACIONES.	Pág. 45
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.</b>	Pág. 46
<b>ANEXOS.</b>	Pág. 51



## **LISTA DE TABLAS**

**Tabla N°01** Porcentaje de profesionales de laboratorio que interrogan al paciente sobre sus antecedentes.

**Tabla N°02** Porcentaje de profesionales de laboratorio que da instrucciones adecuadas para la recolección de muestra.

**Tabla N°03** Porcentaje de profesionales de laboratorio que pregunta acerca del tiempo de abstinencia, si tiene medicación o dificultad en la recolección.

**Tabla N°04** Porcentaje de profesionales de laboratorio que rotula correctamente las muestras.

**Tabla N°05** Porcentaje de profesionales de laboratorio que solicita muestras sucesivas para análisis y verificación de resultados.

**Tabla N°06** Porcentaje de profesionales de laboratorio que verifica el tiempo entre la toma de muestra y la llegada al laboratorio sea menor a 1 hora.

**Tabla N°07** Porcentaje de profesionales de laboratorio que cumple con las medidas de bioseguridad en todo momento.

**Tabla N°08** Porcentaje de profesionales de laboratorio que procesa la muestra de inmediato.

**Tabla N°09** Porcentaje de profesionales de laboratorio que toman el tiempo de licuefacción.

**Tabla N°10** Porcentaje de profesionales de laboratorio que mide el volumen de muestra adecuadamente.

**Tabla N°11** Porcentaje de profesionales de laboratorio que evalúa la aglutinación espermática.

**Tabla N°12** Porcentaje de profesionales de laboratorio que evalúa Vitalidad con Eosina.

**Tabla N°13** Porcentaje de profesionales de laboratorio que evalúa Vitalidad con Test hipoosmótico.

**Tabla N°14** Porcentaje de profesionales de laboratorio que clasifica la Movilidad total (3 categorías).

**Tabla N°15** Porcentaje de profesionales de laboratorio que clasifica la Movilidad espermática total (4 categorías).

**Tabla N°16** Porcentaje de profesionales de laboratorio que evalúa morfología utilizando la coloración de Papanicolaou.

**Tabla N°17** Porcentaje de profesionales de laboratorio que realiza otros test.

**Tabla N°18** Porcentaje de profesionales de laboratorio que procesan la muestra dentro de las 2 horas.

**Tabla N°19** Porcentaje de profesionales de laboratorio que trabajan con reporte de resultados adecuados según las recomendaciones de la OMS-2010.

**Tabla N°20** Porcentaje total de cumplimiento e incumplimiento en el procesamiento del Espermatograma por total de profesionales de laboratorio.

**Tabla N°21** Porcentaje de cumplimiento en el procesamiento del Espermatograma por laboratorio clínico.

## **LISTA DE GRÁFICOS**

**Gráfico N°1** Porcentaje de cumplimiento en el procesamiento del espermatograma por laboratorio.

**Gráfico N°2** Porcentaje de cumplimiento por protocolo de laboratorio comparado con OMS 2010.

**Gráfico N°3** Porcentaje de cumplimiento del protocolo de trabajo para Tecnólogos Médicos de laboratorio clínico.

**Gráfico N°4** Porcentaje de cumplimiento del protocolo de trabajo para Técnicos de laboratorio clínico.

**Gráfico N°5** Porcentaje de cumplimiento del protocolo de trabajo por profesión.

## **RESUMEN**

**Objetivo:** Evaluar los criterios analíticos del espermatograma y cuál es su nivel de cumplimiento en laboratorios clínicos de Lima Metropolitana, 2016.

**Material y métodos:** Es un estudio descriptivo de tipo transversal. Se trabajo con listas de chequeo para la recolección de información, participaron técnicos de laboratorio y tecnólogos médicos que realizan la prueba de espermatograma; procedentes de laboratorios clínicos de Lima Metropolitana. La lista de chequeo fue validada mediante el método de juicio de expertos y completada por un observador mientras el profesional de laboratorio procesaba la muestra. Se usaron los programas Microsoft Excel 2003 y IBM SPSS Statistics Visor versión 23 para el análisis estadístico.

**Resultados:** Se obtuvieron 31 listas de chequeo; 21 tecnólogos médicos y 10 técnicos de laboratorio clínicos; en 11 laboratorios de Lima Metropolitana. Se encontró que el mayor nivel de cumplimiento en el procesamiento del espermatograma por laboratorio fue de 64% y por total de profesionales de laboratorio fue del 51%; clasifican la movilidad total en tres categorías, utilización de la coloración de Papanicolau y evaluación de la concentración espermática fueron del 36%, 9% y 100% respectivamente por laboratorio. El porcentaje de cumplimiento del protocolo de trabajo es del 63.4% para tecnólogos médicos y 56.1% para técnicos de laboratorio clínico.

**Conclusiones:** El nivel de cumplimiento del espermatograma de los laboratorios clínicos no fue del cien por ciento, asimismo, se estableció que los criterios analíticos empleados son los recomendados por la OMS; pero algunos criterios analíticos son excluidos de su protocolo de trabajo según lo crea conveniente el laboratorio. Estos hallazgos sugieren una necesidad urgente de estandarizar el análisis de semen con controles de calidad aceptables para cada parámetro, y desarrollar un programa de control de calidad nacional para que los resultados sean repetibles y significativos.

**Palabras clave:** Espermatograma, cumplimiento, recomendaciones, espermatozoide, laboratorio, protocolo.

## **ABSTRACT**

**Objective:** To evaluate the analytical criteria of spermiogram and its level of compliance in clinical laboratories of Metropolitan Lima, 2016.

**Material and methods:** A descriptive, transversal, retrospective study was conducted. Work was carried out with checklists for the collection of information, involving laboratory technicians and medical technologists who perform spermiogram test; from clinical laboratories in Metropolitan Lima. The checklist was validated using expert judgment and filled by an observer while the laboratory professional processed the sample. Microsoft Excel 2003 and IBM SPSS Statistics Viewer 23 software were used for statistical analysis.

**Results:** 31 checklists were obtained; 21 of medical technologists and 10 of clinical laboratory technicians; on 11 laboratories in Metropolitan Lima. The highest level of compliance in the processing of spermiogram by laboratory was 64% and by total laboratory professionals was 51%; classified total mobility into three categories, use of PAP smear and evaluation of sperm concentration were 36%, 9% and 100% respectively by laboratory. The percentage of compliance with the work protocol is 63.4% for medical technologists and 56.1% for clinical laboratory technicians.

**Conclusions:** The level of compliance of the spermiogram of the clinical laboratories was not one hundred percent, also, it was established that the analytical criteria used are those recommended by the WHO; but some analytical criteria are excluded from their work protocol as the laboratory deems appropriate. These findings suggest an urgent need to standardize semen analysis with acceptable quality controls for each parameter, and develop a national quality control program so that results are repeatable and meaningful.

**Keywords:** spermiogram, compliance, recommendations, spermatozoon, laboratory, protocol.

# **CAPÍTULO I: EL PROBLEMA**

## **1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:**

El análisis de semen es el primer paso para evaluar el potencial reproductivo masculino. El estudio de los parámetros seminales provee información clínica importante sobre la espermatogénesis, la competencia funcional del espermatozoide y también sobre el patrón secretorio de las glándulas genitales accesorias (1). Es un examen de bajo costo que permite obtener una primera impresión diagnóstica y evaluar los logros de los tratamientos médicos y quirúrgicos que se llevan a cabo durante el tratamiento (2). Entidades como la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Sociedad Europea de Embriología y Reproducción Humana (3,4) dan recomendaciones para el análisis de semen. Las recomendaciones de la OSM (2010) son tomadas en cuenta por cada institución, en algunos casos no desarrollan un protocolo estandarizado ni uniformizan criterios analíticos (5).

El Control de calidad en el laboratorio de andrología es a menudo visto como algo problemático, y muchos laboratorios no emplean rutinariamente los procedimientos de control de calidad en las pruebas de semen (6,7). El aseguramiento de la calidad es un aspecto a menudo pasado por alto y poco apreciado de los resultados globales. Los programas de ensayos de aptitud externa en andrología no son universalmente aceptados, y los resultados de los pocos programas disponibles en la actualidad demuestran enormes variaciones entre laboratorios (8,9).

El laboratorio clínico no especializado en fertilidad realiza gran variedad de pruebas agrupadas en diferentes áreas, siendo una de ellas la prueba de espermatograma. Dependiendo del volumen de pacientes que maneja el laboratorio clínico y si el centro de salud al cual pertenece cuenta con áreas de hospitalización y emergencia; el número de pacientes aumenta. Teniendo en cuenta lo anterior, se divide el tiempo de trabajo para realizar todas las pruebas requeridas de la manera más eficiente y considerando su urgencia, afluyendo el desarrollo de la prueba de espermatograma. Muchas veces, la prueba de espermatograma se agrupa en distintas áreas como microbiología, hematología o bioquímica manual; áreas que en ocasiones están recargadas de trabajo por lo cual la prueba a veces no se le procesa dentro del tiempo

estipulado que según la OMS (5ta Edición, 2010) la muestra de semen debe ser examinada dentro de las dos horas de emitida.

El presente trabajo muestra en qué medida los diferentes laboratorios cumplen con los criterios establecidos para el procesamiento del espermatograma, lo cual es parte importante del aseguramiento de la calidad; aunque hay debates sobre este tema el espermatograma sigue siendo una prueba accesible y de bajo costo que brinda información importante para el diagnóstico del paciente.

## **1.2 DELIMITACIÓN:**

La ejecución del presente trabajo se desarrolló en 11 laboratorios clínicos no especializados en fertilidad, que realicen la prueba de espermatograma, distribuidos en siete distritos de Lima Metropolitana, durante el tercer trimestre del año 2016.

## **1.3 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA:**

¿Cuáles son los criterios analíticos del espermatograma y cuál es su nivel de cumplimiento en laboratorios clínicos de Lima Metropolitana, 2016?

## **1.4 OBJETIVOS.**

### **1.4.1 Objetivo general.**

- Evaluar los criterios analíticos del espermatograma y su nivel de cumplimiento en laboratorios clínicos de Lima Metropolitana, 2016.

### **1.4.2 Objetivos específicos.**

- Analizar los protocolos de espermatograma que se emplean en los diferentes laboratorios de Lima, así como describir las principales semejanzas y diferencias.
- Comparar los protocolos de espermatograma de los diferentes laboratorios de Lima Metropolitana con el protocolo estándar de la OMS (5ta Edición, 2010).

- Determinar el nivel de cumplimiento de los diferentes protocolos según grupo ocupacional (personal técnico, Biólogos, Tecnólogos Médicos y Médicos).
- Hallar el nivel de cumplimiento del protocolo de trabajo de espermatograma por laboratorio de acuerdo con los lineamientos del Manual de espermatograma OMS (5ta Edición, 2010).

## **1.5 JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN:**

Son escasos los estudios nacionales realizados a cerca de este tema, desde el punto de vista del laboratorio clínico, se encontró escasa evidencia literaria. Realizar este estudio permitió conocer aquellos criterios analíticos usados en los laboratorios de Lima Metropolitana y compararlos con los de entidades internacionales como la OMS (2010) para determinar el porcentaje de cumplimiento de la norma de referencia para poder llevar a cabo un plan de mejoramiento y capacitación en los laboratorios, reforzando los puntos en los cuales se observa menor nivel de cumplimiento.

- Por ser uno de los primeros estudios nacionales dedicado exclusivamente al examen de espermatograma, abre nuevos caminos para estudios sucesivos que presenten situaciones similares a las que se plantea en el presente trabajo, pero en otras poblaciones o con otras variables que aporten nueva y más información.
- El estudio, además muestra aspectos poco conocidos y documentados acerca del trabajo de espermatograma como el nivel de cumplimiento de los protocolos del laboratorista clínico o su problemática ya que al ser el espermatograma una prueba de rutina muchas veces no se le presta la atención adecuada, no por desinterés sino por carga laboral propia de la profesión y más en instituciones no especializadas. La información recabada ayuda a que cada laboratorio participante conozca su estado actual con respecto al cumplimiento de los lineamientos de la OMS (5ta Edición, 2010) y sirve como referencia para el ciclo de la mejora continua.



## **1.6 LIMITACIONES DEL ESTUDIO:**

- Al usar un tipo de muestreo por conveniencia ya que los sujetos serán seleccionados dada la conveniente accesibilidad y proximidad para el investigador; los resultados del estudio no pueden ser generalizados a la población. Sin embargo, en el futuro y con el presente estudio como investigación base se puede ampliar la investigación tomando una mayor población para conseguir mejores resultados y más detallados.
- El profesional de laboratorio puede no mostrarse interesado en ser parte de la investigación, dado que ésta se llevará a cabo en su horario de trabajo y sienta que pueda entorpecer o retrasar su labor; y no se podrá evitar que omita algunos detalles de su rutina al investigador o que tome ciertas medidas o precauciones que en la rutina no se realicen, no obstante, se podría sensibilizar al personal de laboratorio antes de realizar la investigación.

## **CAPÍTULO II: BASE TEÓRICA Y METODOLÓGICA.**

### **2.1. MARCO TEÓRICO.**

#### **2.1.1 ANTECEDENTES.**

Tanto a nivel nacional como internacional existen diversos trabajos sobre el análisis del semen enfocándose a los diferentes factores que influyen en los resultados, como estilo de vida, ocupación, condiciones médicas y otros (10). Sin embargo, los estudios enfocados al proceso analítico de la prueba son más bien limitados, se ha encontrado escasa evidencia en la literatura científica.

Copper TG y Col (1992) viendo la necesidad e importancia del control de calidad aplicado a los laboratorios de fertilidad de Alemania, decidieron probar un esquema para el control de calidad del análisis de semen; se evaluó la reproducibilidad de los resultados de morfología, motilidad y concentración espermática entre técnicos con una misma muestra y de cada técnico con diferentes muestras a lo largo de cuatro años y medio, el porcentaje de variación intra-técnico fue de 5,0%, 8,4% y 2,8% para la concentración espermática, la motilidad y morfología, respectivamente, y para las variaciones entre técnicos fueron respectivamente, 6,1%, 5,6% y 5,6%. Estos resultados de la investigación fueron publicados en su trabajo “El control interno de la calidad del análisis de semen” mostrando que el control de calidad es necesario y posible en una clínica de andrología (11).

Mas adelante; Copper Tg y Col (2002) insidido en el tema; con el trabajo “El análisis de semen y los esquemas de control de calidad externo para el análisis de semen estandarización global” nos muestra como un laboratorio de análisis de semen [Instituto de Medicina Reproductiva (IRM), Münster, Alemania] fue inscrito en tres programas de garantía externa de calidad en Europa (Garantía de Calidad Esquema Reino Unido, Academia Europea de Andrología, la Sociedad Europea de Reproducción Humana) que controlan para la evaluación de la concentración de espermatozoides, la motilidad y morfología de los espermatozoides. Se mostró una concordancia del laboratorio participante en los resultados de las concentraciones de espermatozoides designados por los tres programas. El desacuerdo entre los dos programas de control de calidad (QC) que proporcionan la evaluación de la motilidad

fue particularmente notable en la distinción entre los grados de la motilidad a y b. Para la identificación de la morfología de los espermatozoides normales, hubo marcadas diferencias entre las normas establecidas por los diferentes programas de control de calidad. Un programa era más estricto en su categorización de las formas normales, de tal manera que una sobreestimación de las formas normales fue diagnosticada a IRM, mientras que no se llegue a un acuerdo con los otros programas. La variación de los resultados de los técnicos en el programa de control de calidad interno IRM era <13%. Las discrepancias entre el control de calidad externo (EQC) son problemas difíciles que hay que superar en parte por los laboratorios de andrología y en parte por los proveedores de servicios de EQC. La introducción de la evaluación objetiva de esperma, asistido por ordenador para proporcionar valores designados puede ayudar a corregir esta situación. Hasta que esto no se logre los programas EQC deben desarrollar un programa interno para monitorear sus materiales y métodos para la evaluación (12).

Cipak, A y Col. (2009) obtuvieron muestras de semen de 49 pacientes varones que asistieron al Laboratorio de Andrología del Centro Hospitalario de la Universidad de Zagreb en Croacia para la evaluación de la fertilidad. Se compararon dos criterios de evaluación, uno realizando un frotis preparado con Giemsa, evaluado según criterios de la OMS; y el segundo frotis preparado por Spermac y evaluado por los criterios estrictos de Kruger. Se evaluó la morfología y se hizo una comparación intra-laboratorios dando una concordancia de 45 de los 49 casos alcanzados después de una serie de capacitaciones prácticas sobre espermatograma, examen de frotis y cumplimiento con los sistemas de clasificación (13).

Chancay R., E. y Col. (2012) realizaron un estudio descriptivo de espermatoграмas obtenidos desde marzo hasta agosto del mismo año en el Laboratorio Clínico AROLAB en Manta, Ecuador, con el objetivo de mejorar los procedimientos analíticos en el área de bioquímica, mediante el uso de técnicas analíticas adecuadas con el fin de lograr resultados confiables en un contexto de calidad. Utilizando un muestreo aleatorio mediante entrevistas y encuesta se halló que el 70% de los pacientes se encontraban en el rango de edades de 30-40 años, y no se halló esterilidad aparente en los pacientes, así como el 100% de cumplimiento en el

laboratorio para el cumplimiento de medidas de bioseguridad y peligrosidad de la muestra con que se trabaja, pero más del 80% desconocía si su paciente había ingerido algo indebido antes del análisis o si estaba en algún tratamiento. De acuerdo con la investigación realizada se encontró ciertas falencias en los procesos del espermatograma, en los distintos laboratorios encuestados. Bajo estas observaciones se elaboró una propuesta de estandarización del espermatograma según la Organización Mundial de la Salud (14).

Franken, D y Col. (2012) en Asian J. Androl publicaron su estudio “Análisis de semen y pruebas de función espermática” en Ciudad del Cabo-África del Sur y Virginia-E.E.U.U. donde realizan una revisión del análisis de semen según el manual de la OMS (2010) enfocándose en los cambios realizados como el uso de las publicaciones basadas en evidencia como referencia para determinar los valores de corte, así como la importancia del control de calidad externo, programas de formación realizados por la OMS y aplicación de nuevas técnicas. Mediante cursos de actualización y capacitación se logra la mejora de las capacidades de los tecnólogos, adquisición de nuevos conocimientos y mejora continua de los procesos (15).

Hay un énfasis notorio en la implementación de cursos y actualización constante por parte de las organizaciones líderes en el tema para realizar mejoras y estandarizar criterios, pero no hay muchos estudios nacionales que contrasten esta necesidad, enfocándose en específico al lado analítico más que a la parte clínica para mostrar las necesidades y de qué forma se puede mejorar los procesos analíticos, que es uno de los objetivos de este trabajo.

### **2.1.2 BASE TEÓRICA.**

La infertilidad masculina participa en casi 50% de los casos como factor de infertilidad en la pareja. El abordaje clínico y de laboratorio, en especial el análisis de semen aporta una base para integrar un estudio complementario y llegar a un diagnóstico etiológico preciso que permitirá tratar a los pacientes exitosamente (16). El espermatograma es una prueba de bajo costo y relativamente fácil de realizar, una prueba básica de rutina que permite evaluar la calidad reproductiva del varón. El

estudio morfológico del espermatozoide humano; incluyendo sus características numéricas y bioquímicas; ha sido parte del análisis de pareja que consultan por infertilidad desde hace mucho tiempo atrás (17).

En la determinación de los parámetros seminales, existe un grado de error analítico donde el espermatograma reduce su utilidad clínica si no se realiza bajo estrictas normas de control (14). En respuesta a la gran necesidad de estandarizar o sistematizar los procedimientos asociados al análisis seminal, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha publicado sucesivas ediciones del “Manual para el Examen del Semen Humano y la Interacción Moco Semen (1980, 1987, 1992, 1999 y 2010)”, las cuales han servido de guía para los diferentes laboratorios de andrología clínica. Sumando esfuerzos para unificar conceptos, la Sociedad Europea de Reproducción Humana y Embriología (ESHRE) y su Grupo de Interés en Andrología (SIGA) junto con la Asociación Nórdica de Andrología (NAFA), organizan desde 1994 un Curso de Análisis Básico de Semen, el cual se ha reproducido en distintos países (18). Son estas convenciones y publicaciones de entidades avaladas que ayudan a crear uniformidad de criterios y que haya un control de calidad en el análisis de semen.

Siguiendo las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS 2010), el análisis de semen se divide en tres partes: recolección de la muestra (fase preanalítica), examen macroscópico, examen microscópico (fase-analítica) y reporte de resultados (fase post-analítica) cuyo formato de reporte de resultados también se considera en el manual (ANEXO A). Cada una tiene importancia para dar un resultado de calidad que aporte información idónea para el diagnóstico y posterior tratamiento.

#### **APARATOR REPRODUCTOR MASCULINO:**

El aparato reproductor masculino está compuesto por un sistema glandular, las vías espermáticas, el órgano de cópula y las glándulas anexas. El sistema glandular está representado por los testículos, cada uno se aloja en el escroto y está compuesto por una estructura lobulillar donde se encuentran los túbulos seminíferos y el epidídimo. Los túbulos seminíferos están formados por un epitelio complejo, correspondiendo a

ese epitelio las espermatogonias, los espermatocitos, las células de Sertoli y las espermátides. En el intersticio se encuentran las células de Leydig. A partir de la cola del epidídimo se inicia el conducto deferente, el cual se continúa con las vesículas seminales y éstas se continúan con cada conducto eyaculador, desembocando éstos en la uretra prostática (19).

El órgano de cópula, el pene, es una estructura que está formado por dos cuerpos cavernosos, uno esponjoso y la uretra peneana; siendo los cuerpos cavernosos los responsables de la erección del pene. Para que el testículo cumpla con su función de producir espermatozoides es indispensable que exista una integridad del eje hipotálamo-hipófisis-testículo. La hormona que se produce en el testículo responsable de las características sexuales secundarias del hombre y de la espermatogénesis, juntamente con las funciones que cumplen las células de Sertoli es la testosterona, la cual circula en forma libre y unida a la proteína transportadora (20).

El espermatozoide una vez que se transporta a lo largo de las vías espermáticas y aún en el aparato sexual femenino, sufre un proceso de capacitación para poder cumplir con su función de fertilidad. Para poder saber si un hombre es fértil o no, se debe tener bien claro el concepto de fertilidad, el cual se define como “El hombre que durante un año ha tenido relaciones sexuales, sin usar métodos anticonceptivos y no ha logrado embarazar a una mujer”; en ese momento se hace indispensable hacer una buena historia clínica, con un interrogatorio que evalúe antecedentes importantes con la fertilidad, un examen físico detallado para conocer las características andrológicas del paciente, un espermatograma y todos los exámenes de laboratorio indispensables que permitan conocer el estado funcional de ese paciente (20).

## **ANÁLISIS DEL SEMEN:**

### **A. Recolección de la muestra de semen:**

El semen normal es un conjunto de espermatozoides y sustancias fluidas que se producen en el aparato genital masculino (21), sus más de 50 compuestos, entre los

cuales se encuentran hormonas, endorfinas, neurotransmisores e inmunosupresores (22) están suspendidos en las secreciones que provienen del testículo y epidídimo, se combinan al momento de la eyaculación con las secreciones de la próstata, vesículas seminales y glándulas bulbouretrales. El análisis de semen provee información sobre la producción de espermatozoides en los túbulos seminíferos y condición fisiológica de estos tejidos.

Las indicaciones se deben entregar al paciente en forma escrita y oral, de forma clara para la recolección y transporte de la muestra. El manejo de la muestra debe ser muy cuidadoso en el laboratorio, ya que toda muestra biológica debe ser considerada potencialmente peligrosa por la presencia de virus y bacterias patógenas (VIH, hepatitis, herpes, gonorrea, sífilis, etc.), siendo el uso de implementos de seguridad indispensables para la labor diaria del profesional de laboratorio (23) (Anexo B).

**B. Aspectos físicos del semen:**

El análisis debe ser hecho mediante inspección simple inmediatamente después de la licuefacción, preferiblemente antes de los 30 minutos y no más de una hora (3), para prevenir la deshidratación o cambios en la temperatura que afectan la calidad del líquido seminal.

**LICUEFACCIÓN:** Es conocido que la secreción de la próstata facilita la mucólisis o licuefacción del líquido seminal coagulado por la acción de las secreciones de las vesículas seminales. Al momento de la eyaculación, el plasma seminal proveniente de la próstata es líquido, pero una vez entra en contacto con las secreciones de las vesículas seminales se coagula. Por lo tanto, la coagulación del plasma seminal es una de las características de la función de las vesículas seminales (3). En 30 minutos se da la licuefacción del coágulo (se convierte en líquido) (24). Toda manipulación inadecuada de la muestra puede afectar la bioquímica del plasma seminal; producido por las glándulas accesorias del aparato reproductor masculino; alterando la motilidad y la morfología de los espermatozoides (3).

**VISCOSIDAD:** Es una medida del flujo de los fluidos, dependiendo si el fluido tiene baja viscosidad formara pequeñas gotas al ser pipeteados y cuando tienen alta viscosidad forman pequeños hilos al ser pipeteados (24).

Algunos pacientes muestran una consistencia aumentada en el semen o la presencia de bridas mucosas, lo cual puede aumentar la viscosidad. Otras condiciones que se asocian con el aumento de la viscosidad incluyen la producción de anticuerpos antiesperma y oligoastenoespermia (24).

La importancia de este hallazgo es que el médico debe saber que esta alteración puede interferir con la medición de otros indicadores como la concentración y la movilidad de los espermatozoides; por tanto, cuando se informa esto y hay alteraciones de esos indicadores es necesario repetir el espermograma antes de dar conclusiones al paciente. (25)

**APARIENCIA, COLOR, OLOR:** Una muestra normal tiene una apariencia homogénea, un color blanco opalescente a gris amarillento y un olor característico. **Un aspecto** translucido se relaciona con una baja concentración espermática y con ausencia de células de la espermatogénesis, leucocitos hematíes o gérmenes y un aspecto heterogéneo se observa cuando queda material sin licuar. **Un Color** amarillo intenso en los casos que hay leucocitos (piospermia), herrumbre indica presencia de sangre hemolizada y rojo indica presencia de sangre. **Olor:** Un olor fecal indica la presencia de *E. coli* (26).

**VOLUMEN:** El líquido seminal se forma de la secreción de las vesículas seminales (60%), la próstata (30%), del epidídimo y las glándulas bulbouretrales (Cowper y Littre) (10%). La eyaculación ocurre de manera secuencial y sincronizada y la fracción prostática predomina en las primeras gotas y la secreción de vesículas seminales en las restantes. Ambas glándulas accesorias son dependientes en su función de la acción de los andrógenos tanto en su diferenciación como en su crecimiento, desarrollo y mantenimiento. Las glándulas seminales y la próstata son dos órganos importantes que complementan la espermatogénesis al aportar el vehículo de transporte y manutención del espermatozoide que como célula flagelar requiere de una sustancia líquida para su desplazamiento (10).



El volumen normal para un mínimo de dos días de abstinencia es 1.5 cc. Cuando hay menos de este valor se habla de hipospermia, y una causa de la baja producción de líquido seminal está relacionada con niveles de testosterona bajos. Cuando habiendo orgasmo no hay líquido seminal externo se habla de aspermia, y esto ocurre generalmente en pacientes diabéticos o en aquellos que tienen alguna lesión medular (3).

**pH:** El pH del semen debe ser 7.2 y refleja el balance entre diferentes valores de pH de diferentes secreciones de las glándulas accesorias, principalmente alcalino de las vesículas seminales y acida de la próstata. El pH puede ser más alcalino y no necesariamente significa anormalidad, pocos son los trastornos capaces de alterarlo. A medida que transcurre el tiempo la muestra se va alcalinizando por pérdida de anhídrido carbónico (27,28).

### **C. Aspectos microscópicos del semen:**

Como en otras áreas de laboratorio, la estandarización de las técnicas y procedimientos es necesaria para favorecer la precisión y reproducibilidad del análisis de semen. Lograda la estandarización, se permite comparar datos intra e inter laboratorios. Se tienen que tomar medidas de control de calidad apropiadas cuando puedan ser aplicadas. La publicación de la OMS (2010), Manual de laboratorio para el examen y procesamiento del semen humano es una excelente referencia para cualquier laboratorio que realice el análisis de semen (3). El examen microscópico incluye la determinación de la motilidad espermática, concentración, morfología y vitalidad; la concentración de otras células presentes; y la presencia de aglutinación de espermatozoides. En algunos laboratorios se utiliza una sola tinción para evaluar varios parámetros, como la tinción de eosina- Nigrosina para viabilidad del espermatozoide, morfología y la identificación de otras células, mientras que otros usan diferentes tinciones, específicas para cada parámetro (24).

**AGREGACIÓN:** Es la adherencia entre espermatozoides inmóviles con hilos de mucus, células no espermáticas, células inmaduras o debris, se considera agregación no específica y debe reportarse como tal (28).

**AGLUTINACION ESPERMATICA:** La aglutinación se refiere, específicamente, a la adherencia de espermatozoides móviles entre sí, cabeza a cabeza, cola a cola o en forma mixta. La movilidad es a menudo vigorosa con un movimiento frenético agitado, sin embargo, a veces los espermatozoides están tan aglutinados que su movimiento es limitado (20). La aglutinación sugiere la presencia de anticuerpos en el eyaculado. Estas moléculas reconocen las membranas de los espermatozoides y se unen a ellos formando los agregados. Esto puede dar lugar a la llamada esterilidad inmunológica. A pesar de que ésta suele ser la causa más común existen otras posibilidades (29):

- Concentración muy elevada de espermatozoides en el eyaculado.
- Cambios en el pH del semen por problemas en las glándulas accesorias debido a procesos inflamatorios o infecciosos).
- Aumento de la temperatura corporal durante procesos febriles.
- Presencia de gran cantidad de células epiteliales o escamosas.
- Determinados tipos de bacterias pueden producir la aglutinación en el semen.

La aglutinación severa puede afectar la evaluación de la motilidad y concentración espermática (29).

**MOTILIDAD ESPERMÁTICA:** El espermatozoide tiene una estructura flagelar que le permite su desplazamiento en el líquido seminal, en la cavidad vaginal, útero y trompas uterinas. En la evaluación de la capacidad reproductiva o fértil del espermatozoide, la motilidad es un criterio determinante para su normalidad (10).

La motilidad en el semen se debe evaluar lo antes posible después de la licuefacción de la muestra como refiere el protocolo de trabajo (ANEXO C), de preferencia a los 30 min, en cualquier caso, dentro de una hora, después de la eyaculación, para limitar los efectos nocivos de la deshidratación, el pH o los cambios de temperatura sobre la motilidad (20).

**VITALIDAD:** Como evaluador de la integridad de la membrana de las células, puede determinarse rutinariamente en todas las muestras de semen que lleguen al laboratorio, no obstante, es especialmente importante para muestras con menos de un 40% de espermatozoides progresivamente móviles. Este examen puede proporcionar un chequeo de la evaluación de la motilidad, ya que el porcentaje de células muertas no debe exceder (dentro de error de muestreo) el porcentaje de espermatozoides inmóviles. El porcentaje de células viables, normalmente, es superior al de las células móviles. La presencia de una gran proporción de células vivas, pero inmóviles puede ser indicativo de defectos estructurales en el flagelo del espermatozoide; un alto porcentaje de células inmóviles y no viables (necrozoospermia) puede indicar patología del epidídimo. (20)

El porcentaje de espermatozoides vivos se evalúa identificando aquellos con una membrana celular intacta, por exclusión de colorantes o por hinchamiento hipotónico. El método de exclusión del colorante se basa en el principio de que las membranas citoplasmáticas dañadas, como las que se encuentran en las células muertas, permite la entrada del colorante a través de la membrana impermeable. La prueba de hinchamiento hipoosmótico supone que sólo las células con membranas intactas (células vivas) aumentarán en soluciones hipotónicas. (20).

**RECuento DE ESPERMATOZOIDES:** El número total de espermatozoides por eyaculado y la concentración de espermatozoides están relacionados tanto con el tiempo de embarazo como con las tasas de embarazo y son predictores de la concepción. Más datos correlacionados con el número total de espermatozoides con resultados reproductivos están garantizados (10).

El número de espermatozoides en el eyaculado se calcula a partir de la concentración de espermatozoides, que se mide durante la evaluación del semen (ANEXO D). En el eyaculado normal, cuando el sistema de conductos en el hombre no está obstruido y el tiempo de abstinencia es corto, el número total de espermatozoides en el eyaculado se correlaciona con el volumen testicular, por lo tanto, es una medida de la capacidad de los testículos para producir espermatozoides y de la permeabilidad del sistema de conductos del hombre. La concentración de

espermatozoides en el semen, mientras se relaciona con tasas de fecundación y embarazo, es influida por el volumen de las secreciones de las vesículas seminales y la próstata y no es una medida específica de la función testicular (20).

Cuando se realizan tratamientos y se espera que el número de espermatozoides aumente es importante solicitar siempre los mismos días de abstinencia para poder comparar los resultados. El número de espermatozoides aumenta con el número de días de abstinencia, y la movilidad mejora cuando hay menos días de abstinencia; son factores que deben considerarse para realizar el reporte de resultados (3).

**RECuento DE OTRAS CELULAS DIFERENTES A LOS ESPERMATOZOIDEOS:** El semen eyaculado contiene otras células además de los espermatozoides, entre ellas se incluyen células epiteliales de la uretra, leucocitos, células germinales (Ej., espermátidas, espermatoцитos y espermatoгонios), así como partículas de materia desechos celulares (4).

Las células espermatogénicas pueden ser difíciles de diferenciar de los leucocitos porque tienen tamaños y patrones nucleares similares. Los leucocitos pueden dañar la movilidad y el DNA espermático a través de un ataque oxidativo, sin embargo, este daño dependerá de varios factores entre ellos, el lugar de infiltración leucocitaria, naturaleza de los leucocitos encontrados (Macrófagos, Neutrófilos y excepcionalmente Linfocitos) y el estado de activación leucocitaria.

La tinción con peroxidasa puede ayudar en esta evaluación porque los neutrófilos son células peroxidasa- positivos, mientras que los linfocitos y las células espermatogénicas son células peroxidasa- negativas. Sin embargo, es preferible emplear la tinción Wright, ya que muchos químicos usados en las tinciones con peroxidasa son cancerígenos. Se presentan en el semen cuando son desprendidas prematuramente del epitelio germinal de los túbulos seminíferos. Es necesario distinguir entre un aumento de linfocitos o células inmaduras para evaluar infección e infertilidad (24)

**MORFOLOGIA ESPERMATICA:** Por la aplicación de un criterio estricto de la morfología, la relación entre el % de formas normales y varios puntos de fertilidad

(tiempo de embarazo, tasa de embarazo in vitro e in vivo) se ha establecido, el cual puede ser muy útil para el diagnóstico de fertilidad (30).

Una vez que el frotis de la lámina ha secado, debe ser fijado y coloreado para identificar detalladamente los espermatozoides, se debe evitar durante el procesamiento la formación de artefactos (ANEXO E).

#### **D. Pruebas Complementarias**

**ANTICUERPOS ANTIESPERMÁTICOS:** Las células espermáticas no están presentes en los testículos hasta la pubertad y el sistema inmunológico puede reconocer a los espermatozoides del varón como células extrañas ocasionando la secreción de anticuerpos antiespermatozoides por parte de las células plasmáticas. Normalmente el sistema reproductor masculino presenta diferentes estrategias para proteger a los espermatozoides del sistema inmunológico durante su desarrollo, maduración y estadía en el plasma seminal (31).

En los testículos los espermatozoides están protegidos del sistema inmunológico por la barrera hemato-testicular conformada por las células de Sertoli que rodean al espermatozoide; en el epidídimo y en el semen existen sustancias que actúan como inmunosupresores. Cualquier tipo de lesión en el sistema reproductor masculino o alguna deficiencia de las estrategias de protección podrían ocasionar la formación de anticuerpos antiespermatozoides. Los espermatozoides también pueden ser reconocidos el sistema inmunológico de la mujer y generar anticuerpos antiespermatozoides. Los anticuerpos antiespermatozoides pueden estar presentes en el moco cervical de la mujer, en el plasma seminal, en la superficie de los espermatozoides y en el suero sanguíneo tanto de varones como en mujeres sexualmente activas (32).

Para determinar la presencia de anticuerpos antiespermáticos se usa el test de penetración de espermatozoides en moco. Los anticuerpos antiespermáticos en semen pertenecen casi exclusivamente a dos clases de inmunoglobulinas: IgA y IgG (33).

### **Test Directo: Test para detectar anticuerpos sobre los espermatozoides.**

- **MAR Test (mixed antiglobulina reaction):** El MAR test se basa en la incubación de hematíes (o partículas de látex) tratados con IgG y espermatozoides en cuya superficie se encuentran AAE tipo IgG. Al añadir un exceso de inmunoglobulina específica anti-IgG se forman aglutinaciones mixtas que implican a los espermatozoides con anticuerpos antiespermatozoides (31).
- **Los inmunobead (IB) o inmunoperlas:** Utiliza microesferas de poliacrilamida en las que se han fijado moléculas de anti-inmunoglobulinas específicas (anti-IgA, -IgG, – IgM) fijadas por su región Fc, y que se incuban con espermatozoides vivos libres de plasma seminal (para evitar el bloque de las Anti-Ig). Las inmunobeads se unen a los espermatozoides cuya superficie contiene Ig del tipo estudiado (31).

**Test Indirecto: Test para detectar anticuerpos antiespermáticos en fluidos libres de espermatozoides.** Detectan anticuerpos en el suero sanguíneo, fluido testicular, plasma seminal y en el moco cervical (33,34).

### **E. Análisis Espermático Asistido por Computadora**

**Computer-assisted semen analysis (CASA):** Los actuales avances en la tecnología nos han permitido contar eficientemente espermatozoides marcando el DNA y algoritmo que detectan la cola del espermatozoide, de esta manera se descarta el detritus o células redondas propias del líquido seminal (35).

La esencia de un sistema CASA es proyectar imágenes sucesivas de células espermáticas en un arreglo detector, que detecta objetos basado en la intensidad de los pixeles y usar un software especial para extraer la información deseada y proveer determinados resultados. La sensibilidad y la precisión de dichos resultados dependen del software utilizado. A pesar de ser ampliamente usadas, las herramientas CASA tienen varias limitaciones como la falta de una definición adecuada de valores de referencia para los parámetros del sistema o cómo determinar

la proporción adecuada de células con morfología y movilidad normales en una muestra (36).

### 2.1.3 DEFINICIÓN DE TÉRMINOS.

- **Espermatograma:** Consiste en el estudio de las características cualitativas y cuantitativas del semen. Siempre debe ser solicitado entre los primeros estudios de la pareja infértil.
- **Esterilidad:** Es un trastorno por el cual un individuo o una pareja no pueden concebir en ninguna circunstancia.
- **Eyaculación:** Expulsión súbita del semen a través de la uretra que se produce habitualmente con el orgasmo masculino durante la cópula, la masturbación o la emisión nocturna.
- **Fecundación:** Fusión del óvulo y el espermatozoide. In vivo ocurre en la trompa de Falopio. In vitro ocurre en medios de cultivo de laboratorios.
- **Infertilidad:** Es una condición que imposibilita la capacidad de concebir un hijo naturalmente o de llevar un embarazo a término después de un año de vida sexual activa.
- **Infertilidad primaria:** Incapacidad de lograr el embarazo luego de un año de relaciones sin protección anticonceptiva.
- **Infertilidad secundaria:** Incapacidad para concebir o llegar a término un nuevo embarazo luego de haber tenido uno o más hijos.
- **Semen:** Secreción expulsada durante el orgasmo masculino, compuesto por la secreción de glándulas anexas y espermatozoides.

### 2.1.4 FORMULACIÓN DE LA HIPÓTESIS.

Los criterios analíticos del espermatograma aplicados en la fase preanalítica, analítica y post-analítica de los laboratorios clínicos de Lima Metropolitana son los recomendados por la OMS (2010) y su nivel de cumplimiento es del cien por ciento.

### **2.1.5 VARIABLES.**

- **Variable 1:** Criterios analíticos.
- **Variables 2:** Nivel de Cumplimiento.



## **2.2. DISEÑO METODOLOGICO.**

### **2.2.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN.**

- Observacional y descriptivo de tipo transversal.

### **2.2.2 POBLACIÓN.**

- Laboratorios clínicos de Lima Metropolitana, que realicen la prueba de espermatograma.

### **2.2.3 MUESTRA Y MUESTREO.**

- La muestra está conformada por 11 laboratorios clínicos que realizan la prueba de espermatograma; en los cuales hubo 31 profesionales de laboratorio que decidieron participar de la investigación, 10 técnicos de laboratorio y 21 tecnólogos médicos de laboratorio clínico, en 7 distritos de Lima Metropolitana.
- El diseño de muestra es no probabilístico, de tipo por conveniencia.

### **2.2.4 CRITERIOS DE INCLUSIÓN.**

- Laboratorios clínicos que realizan la prueba de espermatograma.
- Laboratorios clínicos cuyos profesionales de laboratorio acepten el consentimiento informado.

### **2.2.5 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.**

#### **A. Técnicas**

- **Observación:** Se explicó al jefe encargado del laboratorio y a cada profesional de laboratorio clínico que realice la prueba de espermatograma, en que consiste el estudio, la importancia de su sinceridad y participación. Se espero que venga un petitorio para realizar la prueba de espermatograma, se procedió a observar como el profesional de laboratorio brinda las indicaciones para toma y recolección de muestra al paciente, así como el procesamiento de la muestra y reporte de resultado sin intervenir. Durante todo el proceso de trabajo, el observador llenó la lista de chequeo, concluyendo la visita.

## **B. Instrumentos**

- Al profesional de laboratorio que realice la prueba de espermograma, que acceda a ser parte del estudio se le entregó un formato de Consentimiento Informado (Anexo F) como instrumento que atestigüe su voluntad de participar, garantice su anonimato y la del centro de salud, y que fue informado de los detalles de la investigación. Así mismo se solicitó permiso al jefe del laboratorio para realizar el estudio y tener acceso a documentos relacionados con el desarrollo de la prueba de espermograma.
- También se empleó una lista de chequeo (ANEXO G) que permitió la verificación del cumplimiento respecto a las indicaciones y recomendaciones que da la Organización Mundial de la Salud (OMS) en el “Manual de Laboratorio de la OMS para el examen del semen humano y la interacción espermatozoides y el moco cervical “WHO (5th Ed.)” publicado el 2010 respecto a la realización de esta prueba. Los incumplimientos detectados y observaciones fueron anotados.

### **2.2.6 PLAN DE RECOLECCIÓN:**

La recolección de datos para este trabajo se llevó a cabo en centros de salud no especializados en fertilidad de Lima Metropolitana y dependió del número de profesional de laboratorio clínico que realice la prueba de espermograma con que este cuente.

Se realizó y entregó la documentación pertinente al jefe del laboratorio de cada establecimiento de salud de Lima Metropolitana para su aceptación y apoyo. Luego se procedió a informar y entregar la ficha de consentimiento informado al profesional de laboratorio que realice la prueba de espermograma explicándole en qué consistía la investigación y viendo su rutina de trabajo, así como cuál es la frecuencia con la que se lleva a cabo esta prueba para coordinar el día de la intervención.

Coordinado el día se le indicó al profesional que procese la muestra como suele realizarlo y el investigador completó la lista de chequeo, concluyendo así la visita, agradeciendo su apoyo. Este proceso se realizó en varios centros de salud hasta conseguir un mínimo de 31 formatos de lista de chequeo.

### **2.2.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS.**

Los resultados fueron ingresados y graficados mediante el uso del programa Microsoft Excel 2003 y el programa IBM SPSS Statistics Visor versión 23. Se realizó las siguientes pruebas estadísticas: cálculo del porcentaje de nivel de cumplimiento, distribución de frecuencia, cuadros comparativos y gráficos.

### **2.2.8 VALIDEZ Y CONFIABILIDAD.**

La validez del contenido del instrumento que se utilizó en esta investigación se obtuvo a través del Juicio de Expertos; que se basó en solicitar a un grupo de profesionales expertos en el tema, la demanda de un juicio hacia un objeto, un instrumento, un material de enseñanza, o su opinión respecto a un aspecto concreto. El método de Agregados Individuales se usó para la obtención de juicio de expertos, que consistió en formar un grupo impar de expertos que evaluaron y certificaron, efectivamente, que las preguntas seleccionadas son claras y tienen coherencia con el trabajo desarrollado (ANEXO H) (37).

La confiabilidad está referida a la precisión y consistencia con que el instrumento de recolección de datos puede medir los rasgos a considerar. El cálculo de confiabilidad del cuestionario se realizó a través de una prueba piloto a catorce laboratoristas con las mismas características requeridas para la ejecución de la investigación. Luego se elaboró la base de datos utilizando el programa IBM SPSS Statistics Visor versión 23, con la cual se determinó la confiabilidad mediante el método de las dos mitades.

El método de las dos mitades, en este caso los participantes responden una sola vez a la prueba y se le asignan dos puntuaciones a cada participante, para lograr esto la prueba se divide en dos mitades. Las dos puntuaciones se pueden calcular dividiendo la prueba a la mitad dependiendo del número de ítems pares o impares. Se obtiene la correlación entre las dos puntuaciones resultantes y se utiliza la fórmula de Spearman-Brown para estimar la confiabilidad del instrumento. La cual tuvo como resultado 0,83 siendo aceptable (ANEXO I).

### **2.2.9 CONSIDERACIONES ÉTICAS.**

El consentimiento informado es el procedimiento médico formal cuyo objetivo es aplicar el principio de libre autonomía de la persona en aceptar su participación voluntaria o no en el estudio, además brindará información general comprensible sobre el estudio que se desea realizar, métodos que se emplean para el estudio, riesgos e incomodidades que impliquen así como el dato completo del investigador y del comité de ética del instituto de Ética de la UNMSM a los cuales se dirigirán en caso de dudas, quejas o denuncias.(ANEXO F)

Se informo a todos los participantes en la investigación mediante una hoja de consentimiento informado. El documento incluyo una breve descripción del estudio, su finalidad y de cómo es su participación.

## CAPÍTULO III: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.3. RESULTADOS.

Teniendo como base el manual de la OMS (2010); se estructuró una lista de chequeo compuesta por 28 ítems que resumen los criterios analíticos y procedimientos de la prueba de espermograma.

Se obtuvo un total de 31 listas de chequeo (Anexo G); 10 técnicos de laboratorio clínico y 21 tecnólogos médicos con o sin experiencia en el procesamiento de espermograma; en 11 laboratorios clínicos.

#### 3.3.1 FASE PREANALÍTICA:

- **Recolección de datos clínicos del paciente:** Se halló que el 81% de profesionales de laboratorio si interroga al paciente sobre sus antecedentes familiares e historia clínica de forma detallada y un 19% lo hace de forma breve, limitándose a la información que se solicita en el reporte de resultados.

**Tabla N°01** Porcentaje de profesionales de laboratorio que interrogan al paciente sobre sus antecedentes.

Pregunta	Cantidad	Porcentaje
Si	25	81%
No	6	19%
Total	31	100%

- **Instrucciones para recolección de muestra:** De acuerdo con los datos obtenidos se halló que el 94% de profesionales de laboratorio brinda instrucciones claras y precisas al paciente para una adecuada recolección de muestra y un 6% las da inapropiadamente, no son claras u omiten alguna recomendación necesaria. En algunos laboratorios se observó la entrega de un folleto con las indicaciones para la toma y recolección de muestra, así el profesional de laboratorio prescindía de esta labor.

**Tabla N°02** Porcentaje de profesionales de laboratorio que da instrucciones adecuadas para la recolección de muestra.

Pregunta	Cantidad	Porcentaje
Si	29	94%
No	2	6%
Total	31	100%

- **Recepción de muestras adecuadas:** El 90% de profesionales de laboratorio indaga acerca del tiempo de abstinencia, si tiene medicación, si la muestra es completa o tuvo alguna dificultad en la recolección de la muestra; esta información es importante para recibir o no la muestra en el laboratorio y un 10% obvia estas preguntas o lo hace a groso modo.

**Tabla N°03** Porcentaje de profesionales de laboratorio que pregunta acerca del tiempo de abstinencia, si tiene medicación o dificultad en la recolección.

Pregunta	Cantidad	Porcentaje
Si	28	90%
No	3	10%
Total	31	100%

- **Verificación de rotulado de muestra:** Según la forma de trabajar del laboratorio la muestra puede venir rotulada por el mismo paciente y se coteja los datos al recibir la muestra; el mismo profesional de laboratorio rótula el frasco de forma legible con toda la información requerida al recibir la muestra, también pueden venir muestras de referencia en cuyo caso la información del paciente es limitada y solo se verifica la orden de llegada esta acción se observó en el 90% de participantes, mientras un 10% rotula inadecuadamente la muestra, no coloca todos los datos del paciente o no verifica que la información concuerde.

**Tabla N°04** Porcentaje de profesionales de laboratorio que rotula correctamente las muestras.

Pregunta	Cantidad	Porcentaje
Si	28	90%
No	3	10%
Total	31	100%

- **Solicitud de muestras sucesivas:** El 16% de profesionales de laboratorio solicitan muestras sucesivas como parte de su protocolo de trabajo o para revisar alguna alteración y un 84% trabaja con muestra única.

**Tabla N°05** Porcentaje de profesionales de laboratorio que solicita muestras sucesivas para análisis y verificación de resultados.

Pregunta	Cantidad	Porcentaje
Si	5	16%
No	26	84%
Total	31	100%

- **Verificación del tiempo de llegada de la muestra:** Un 81% de profesionales de laboratorio revisa que el tiempo entre la toma de muestra y la llegada al laboratorio sea menor a 1 hora para que la muestra sea aceptada, mientras un 19% no indaga.

**Tabla N°06** Porcentaje de profesionales de laboratorio que verifica el tiempo entre la toma de muestra y la llegada al laboratorio sea menor a 1 hora.

Pregunta	Cantidad	Porcentaje
Si	25	81%
No	6	19%
Total	31	100%

### 3.3.2 FASE ANALÍTICA:

- **Medidas de bioseguridad:** Toda muestra del laboratorio es considerada patológica y de alto riesgo sin importar su naturaleza, bajo esa premisa las medidas de seguridad para el procesamiento del espermatograma son importantes tanto para la seguridad del laboratorista como para no alterar la muestra. El 52% de profesionales de laboratorio cumple con las medidas de bioseguridad en todo momento, sin embargo, un 48% no procesa el espermatograma con los implementos de seguridad adecuados por la limitada cantidad guantes, mascarillas, etc.; o falta de costumbre de usarlos.

**Tabla N°07** Porcentaje de profesionales de laboratorio que cumple con las medidas de bioseguridad en todo momento.

Pregunta	Cantidad	Porcentaje
Si	16	52%
No	15	48%
Total	31	100%

- **Celeridad de procesamiento de muestra:** El 71% de profesionales de laboratorio que procesa la muestra de inmediato, sin embargo, un 29% no lo hace por diversos motivos: carga laboral, destreza, inadecuada distribución del trabajo, no es una prueba de urgencia, etc.

**Tabla N°08** Porcentaje de profesionales de laboratorio que procesa la muestra de inmediato.

Pregunta	Cantidad	Porcentaje
Si	22	71%
No	9	29%
Total	31	100%



- **Tiempo de licuefacción:** Un 90% de profesionales de laboratorio evaluados toma el tiempo de licuefacción, mezclando continuamente en el frasco original y un 10% de participantes da un estimado del tiempo.

**Tabla N°09** Porcentaje de profesionales de laboratorio que toman el tiempo de licuefacción.

Pregunta	Cantidad	Porcentaje
Si	28	90%
No	3	10%
Total	31	100%

- **Medición del volumen:** El 87% de profesionales de laboratorio mide el volumen de la muestra mediante la comparación de pesos de un contenedor estándar con y sin muestra, y el 13% no lo hace por falta de tiempo o material, registrando un valor estimado del volumen real.

**Tabla N°10** Porcentaje de profesionales de laboratorio que mide el volumen de muestra adecuadamente.

Pregunta	Cantidad	Porcentaje
Si	27	87%
No	4	13%
Total	40	100%

- **Viscosidad:** Se observó que el 100% de profesionales de laboratorio evalúa la viscosidad correctamente utilizando una varilla de vidrio o una pipeta de 5 ml. como lo recomienda la OMS (2010).
- **Color:** El 100% evalúa el color de la muestra de semen por simple inspección visual a temperatura ambiente, siendo un ítem común en todos los protocolos de trabajo observados.

- **La evaluación del pH:** En el 100% de casos fue correcta con lectura de cambio de color a los 30 segundos y al igual que el anterior ítem todos los profesionales de laboratorio cumplen. No hubo información que los laboratorios controlen el papel de pH con estándares de pH conocidos cada cierto tiempo, como se recomienda.
- **Reporte de aglutinación de espermatozoides:** Se observó que el 71% de profesionales de laboratorio si evaluó la aglutinación de espermatozoides, pero un 29% no determino la aglutinación espermática porque no estaba considerado dentro de su reporte de resultados o no lo consideraron como parte de su análisis.

**Tabla N°11** Porcentaje de profesionales de laboratorio que evalúa la aglutinación espermática.

Pregunta	Cantidad	Porcentaje
Si	22	71%
No	9	29%
Total	31	100%

- **Recuento total de Espermatozoides:** El 100% si realiza el recuento total de espermatozoides en cámara de Neubauer como parte de su protocolo de trabajo sin omisión, se observó que en algunos laboratorios no se realizaba el recuento de espermatozoides por duplicado para corroborar el resultado.
- **Concentración espermática:** El 100% de profesionales de laboratorio determina la concentración espermática en cámara de Neubauer siguiendo los criterios de la OMS (2010); no se evaluó la reproducibilidad del resultado; también depende de la experiencia del profesional de laboratorio.
- **Vitalidad espermática por exclusión de colorante:** El 90% de profesionales de laboratorio evalúa la vitalidad con el colorante Eosina; se observó que el 85% prefería realizar la mezcla colorante-muestra directo en la lámina y no en tubo, siendo ambas formas validas; mientras el 10% evalúa la vitalidad espermática por medio del Test Hipoosmótico.

**Tabla N°12** Porcentaje de profesionales de laboratorio que evalúa Vitalidad con Eosina.

Pregunta	Cantidad	Porcentaje
Si	28	90%
No	3	10%
Total	31	100%

- **Vitalidad espermática mediante la Prueba de hinchazón hipoosmótico:** El 35% de profesionales de laboratorio evalúa la vitalidad espermática con el reactivo Hipoosmótico y el 65% omite esta prueba.

**Tabla N°13** Porcentaje de profesionales de laboratorio que evalúa la vitalidad espermática mediante el uso del Test Hipoosmótico.

Pregunta	Cantidad	Porcentaje
Si	11	35%
No	20	65%
Total	31	100%

- **Movilidad espermática total (3 categorías):** El 39% de los profesionales de laboratorio reporta la movilidad espermática total en tres categorías según las recomendaciones actuales de la OMS y un 61% aun lo reporta en 4 categorías.

**Tabla N°14** Porcentaje de profesionales de laboratorio que clasifica la Movilidad total.  
(3 categorías)

Pregunta	Cantidad	Porcentaje
Si	19	39%
No	12	61%
Total	31	100%

- **Movilidad espermática total (4 categorías):** Un 61% de participantes clasifica la movilidad total en cuatro categorías, no aplica las recomendaciones del manual de espermatoograma de la OMS del 2010 o también debido a que no han actualizado el formato de reporte de resultados de su centro de trabajo y el 39% si realiza el reporte de movilidad espermática en tres categorías.

**Tabla N°15** Porcentaje de profesionales de laboratorio que clasifica la Movilidad espermática total. (4 categorías)

Pregunta	Cantidad	Porcentaje
Si	19	61%
No	12	39%
Total	31	100%

- **Utilización del Colorante de Papanicolaou:** El 10% de profesionales de laboratorio evalúa morfología utilizando la coloración de Papanicolaou, pero el 90% la evalúa por medio de otras coloraciones que dispone el laboratorio o también en escasos laboratorios no se evalúa.

**Tabla N°16** Porcentaje de profesionales de laboratorio que evalúa morfología utilizando la coloración de Papanicolaou.

Pregunta	Cantidad	Porcentaje
Si	3	10%
No	28	90%
Total	31	100%

- **Uso de Pruebas de apoyo:** Se observo que el uso de otras pruebas de apoyo como el test de Fructosa, Zinc y Peroxidasa es mínimo o nulo en los laboratorios participantes; si requieren de las pruebas mencionadas las referencian a otros laboratorios.

El 10% profesionales de laboratorio lleva a cabo una prueba que evalúa la movilidad en intervalos de tiempo prolongados que se consideró como otros test y el 90% no realiza pruebas extras. Cabe mencionar que esta prueba no se menciona en el manual de la OMS (2010) y debido al tiempo prolongado de realización de la prueba; el deterioro de la muestra; no se recomienda su práctica.

**Tabla N°17** Porcentaje de profesionales de laboratorio que realiza otros test.

Pregunta	Cantidad	Porcentaje
Si	3	10%
No	28	90%
Total	31	100%

- **Tiempo de procesamiento de muestra:** Del total de profesionales de laboratorio observados, el 71% logra procesar la muestra dentro de las dos horas recomendadas; aunque en algunos casos no se considere el reporte final del resultado; y el 29% pasa el tiempo estimado por revisiones, falta de experiencia o desarrollo de otras pruebas que competen al área donde se realiza el espermatograma.

**Tabla N°18** Porcentaje de profesionales de laboratorio que procesan la muestra dentro de las 2 horas.

Pregunta	Cantidad	Porcentaje
Si	22	71%
No	9	29%
Total	31	100%

### 3.3.3 FASE POST-ANALÍTICA:

- **Formato de reporte de resultados actualizado:** El 45% de profesionales de laboratorio trabaja con el formato de reporte de resultados según el modelo dado por la

OMS (2010) en el respectivo manual (ANEXO A), y el 55% trabaja con un formato desactualizado.

**Tabla N°19** Porcentaje de profesionales de laboratorio que trabajan con un reporte de resultados adecuados según las recomendaciones de la OMS-2010.

Pregunta	Cantidad	Porcentaje
Si	14	45%
No	17	55%
Total	31	100%

- **Efectuar observaciones o sugerencias:** El 26% de profesionales de laboratorio realiza alguna observación, así como sugerencia que considera pertinente para una mejor interpretación de los resultados y el 74% no realizó alguna observación o sugerencia.

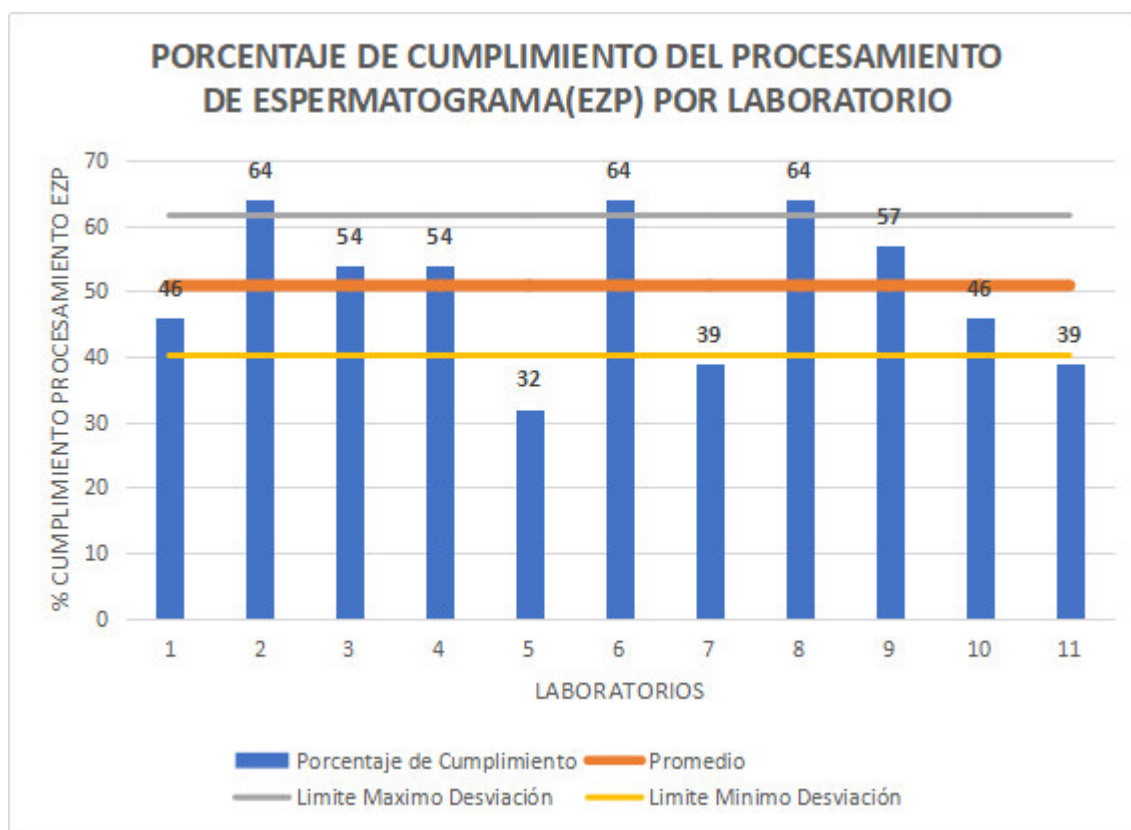
Del total de profesionales de laboratorio participantes, el 51% cumple con las recomendaciones dadas en el manual de la OMS 2010 y un 49% prescinde de ellas o lo hace inapropiadamente.

**Tabla N°20** Porcentaje total de cumplimiento e incumplimiento en el procesamiento del Espermatograma por total de profesionales de laboratorio.

	Porcentaje
Cumplimiento total	51%
Incumplimiento total	49%
Total	100%

Por laboratorio; el mayor porcentaje de cumplimiento del protocolo de espermatograma considerando las recomendaciones dadas en el Manual OMS (2010) es de 64%, y el menor porcentaje de cumplimiento es de 32%.

Gráfico N°1



Promedio	Desviación Estándar	Límite Máximo Desviación	Límite Mínimo Desviación
50.82	10.7	61.52	40.12

El mayor porcentaje de incumplimiento aplicando las recomendaciones dadas en el Manual OMS (2010) por laboratorio es de 68%, y el menor porcentaje de incumplimiento es de 36% por laboratorio.

Del total de laboratorios participantes se observó un incumplimiento del 100% en las preguntas sobre uso de muestras sucesivas, realización del test de peroxidasa, Zinc y fructuosa que son pruebas complementarias o de apoyo según la OMS. En la fase post analítica se observa menor cumplimiento con 18% en el reporte de resultados y sugerencias.

De la lista de chequeo realizada se desprende que las preguntas con mayor número de resultados afirmativos fueron la pregunta número 12 que evalúa el color de la muestra, la pregunta 15 que se trata de la realización del recuento total de espermatozoides, y concentración espermática tienen 100% de cumplimiento.

El 36% de laboratorios clasifica la movilidad total en tres categorías, el 27% realiza el test hipoosmótico, un 9% utiliza la coloración de Papanicolau. Estos ítems señalan si el laboratorio se orienta a seguir las recomendaciones de la OMS (2010).

**Tabla N°21** Porcentaje de cumplimiento en el procesamiento del Espermatograma por laboratorio clínico.

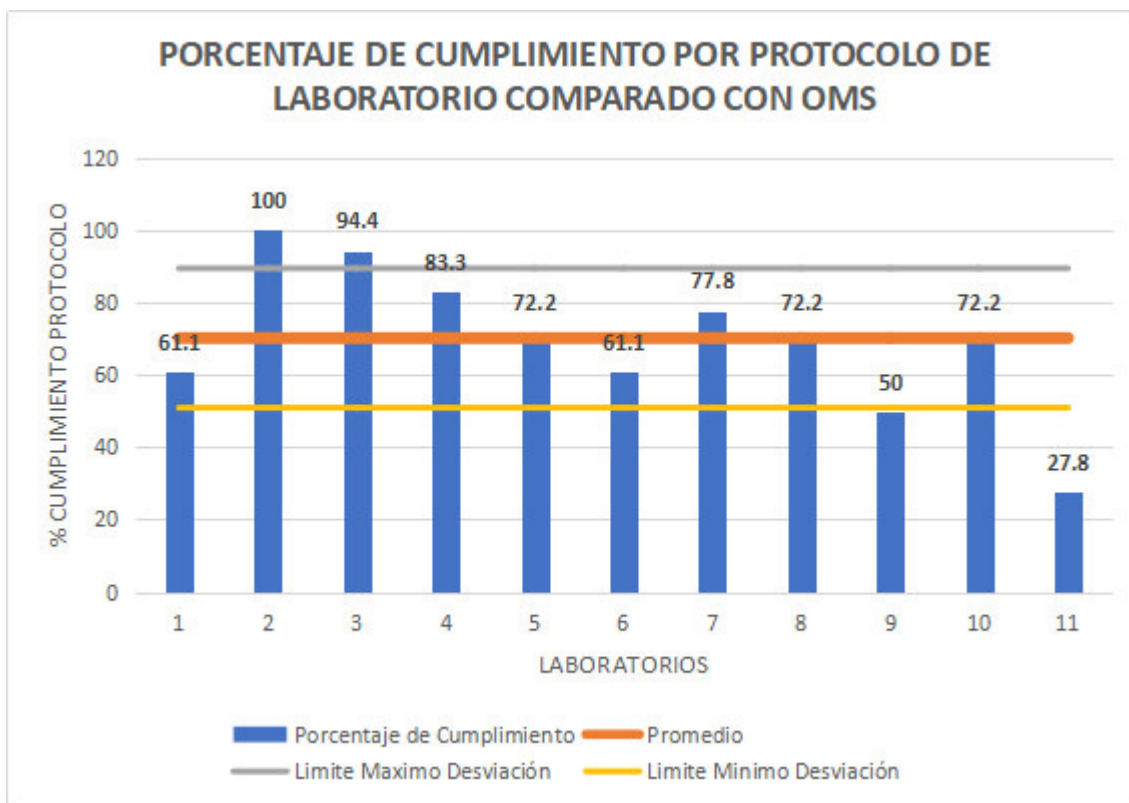
Ítems de la lista de chequeo	Número de laboratorios clínicos		Porcentaje de cumplimiento por laboratorio clínico	
	SI	NO	% SI	% NO
Da instrucciones adecuadas para la recolección de la muestra.	9	2	82%	18%
Interroga al paciente sobre sus antecedentes	6	5	55%	45%
El personal pregunta acerca del tiempo de abstinencia, si tiene medicación o dificultad en la recolección.	8	3	73%	27%
El laboratorio rotula adecuadamente las muestras	9	2	82%	18%
El laboratorio solicita muestras sucesivas para análisis	0	11	0%	100%
Verifica que el tiempo entre la toma de muestra y la llegada al laboratorio sea menor a 1 hora	6	5	55%	45%
Cumple con las medidas de bioseguridad en todo momento	1	10	9%	91%
Procesa la muestra de inmediato	4	7	36%	64%
Toma el tiempo de licuefacción.	10	1	91%	9%
Mide el volumen adecuadamente	9	2	82%	18%
Evalúa Viscosidad	11	0	100%	0%
Evalúa Color	11	0	100%	0%
Evalúa pH	11	0	100%	0%
Evalúa Aglutinación	5	6	45%	55%
Realiza el recuento total de espermatozoides	11	0	100%	0%
Halla la concentración espermática	11	0	100%	0%
Evalúa vitalidad con Eosina	10	1	91%	9%
Evalúa vitalidad con test hipoosmótico	3	8	27%	73%
Clasifica la Movilidad total (3 categorías)	4	7	36%	64%
Clasifica la Movilidad total (4 categorías)	7	4	64%	36%
Evalúa Morfología utilizando coloración de Papanicolau	1	10	9%	91%
Realiza Test de fructosa	0	11	0%	100%
Realiza Test de zinc	0	11	0%	100%
Realiza Test de peroxidasa	0	11	0%	100%
Realiza Otros tests (indicar)	1	10	9%	91%
Procesa la muestra dentro de las 2 horas	5	6	45%	55%
Trabaja con un reporte de resultados adecuado según las recomendaciones de la OMS-2010	2	9	18%	82%
Realiza sugerencias u observaciones en el reporte de resultados	2	9	18%	82%

También se comparó los 11 protocolos de trabajo, de los cuales dos laboratorios contaban con POE para la prueba de espermatograma, uno era POE completo y propio mientras que el otro laboratorio contaba con una copia de POE que no era propia del laboratorio (ANEXO J). De los protocolos de trabajo a los cuales se pudo tener acceso, algunas comparaciones fueron obtenidas de la lista de chequeo y observaciones realiza



debido a que no todos los participantes facilitaron el acceso a dicho documento, determinándose que el laboratorio N° 2 presento un 100% de similitud de su protocolo de trabajo con el de la OMS (2010) mientras el laboratorio N° 11 solo un 27.8%.

**Gráfico N°2**



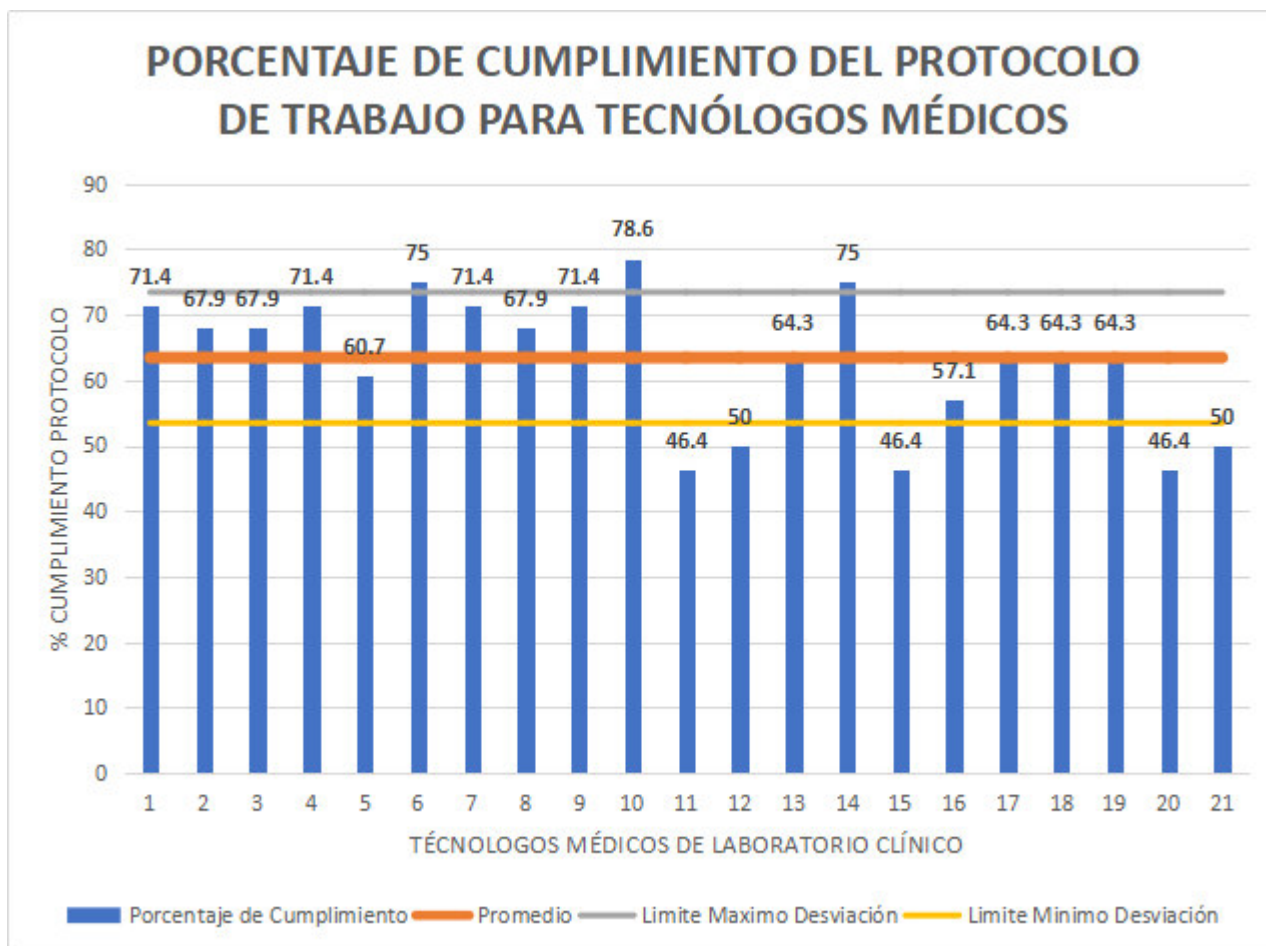
Promedio	Desviación Estándar	Límite Máximo Desviación	Límite Mínimo Desviación
70.19	19.27	89.47	50.92

A los participantes de los diferentes laboratorios se le solicitó el POE (procedimiento operativo estándar) que cuenta con todas las especificaciones para el desarrollo de la prueba; pero la mayoría de los laboratorios particulares que accedieron a mostrar su protocolo, más no necesariamente dejar sacar copia, solo contaba con un manual básico replica de algún hospital nacional.

También se preguntó a los profesionales de laboratorio si contaban con algún programa de control de calidad para la prueba de espermatograma, a lo cual el 100% respondió que desconocía si el laboratorio contaba con dicho programa.

Se trabajo con 21 Tecnólogos médicos de laboratorio clínico y 10 técnicos de laboratorio. Para el grupo de Tecnólogos médicos de laboratorio clínico se halló un 78% de cumplimiento del procesamiento del espermatoograma y el mayor porcentaje de incumpliendo hallado fue de 53.6%.

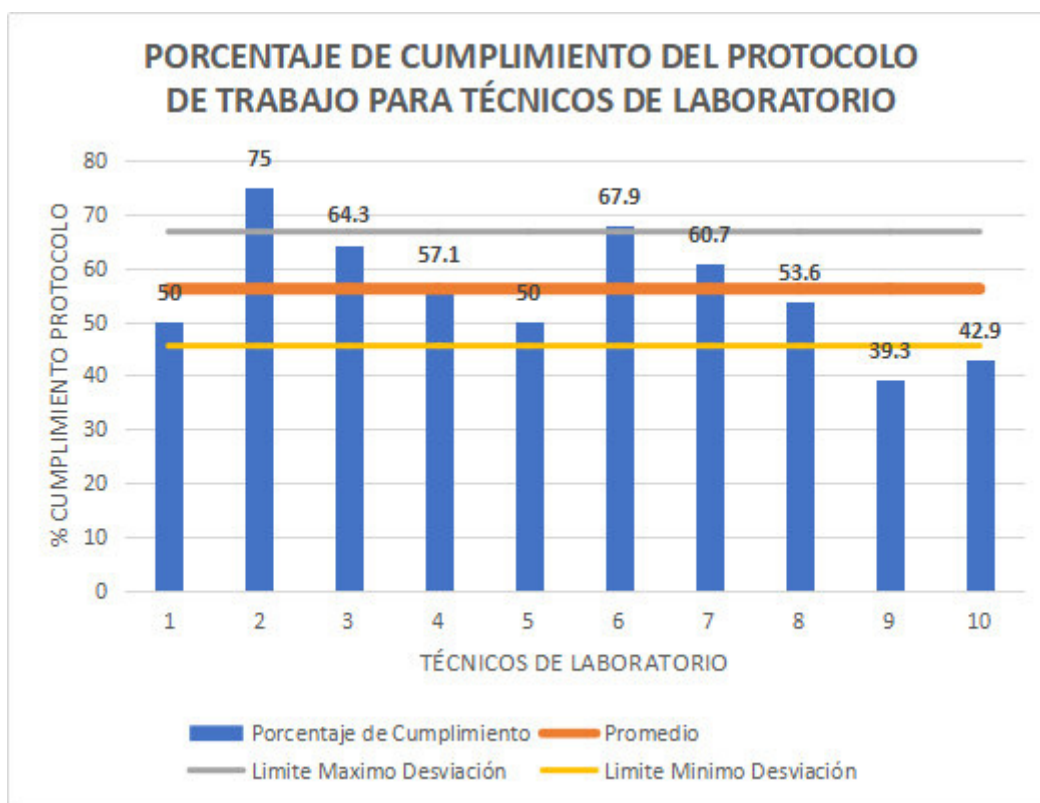
**Gráfico N°3**



Promedio	Desviación Estándar	Límite Máximo Desviación	Límite Mínimo Desviación
63.43	9.98	73.42	53.45

Para el grupo de los 10 Técnicos de laboratorio clínico, se halló un 75% de cumplimiento del procesamiento del espermatoograma considerando las recomendaciones de la OMS (2010) y el mayor porcentaje de incumpliendo hallado fue de 60.7%, cada resultado fue dado en un laboratorio.

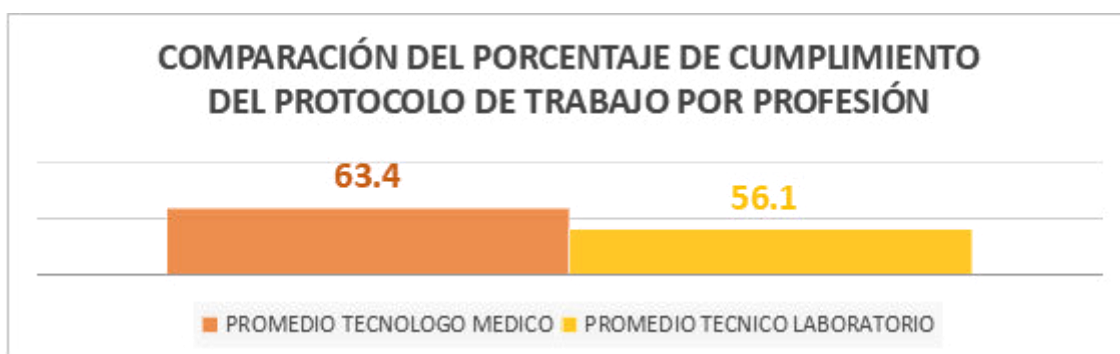
**Gráfico N°4**



Promedio	Desviación Estándar	Límite Máximo Desviación	Límite Mínimo Desviación
56.08	10.6	66.68	45.48

Se determinó que el porcentaje promedio de cumplimiento del protocolo de trabajo por profesión de los 21 Tecnólogos de médicos de laboratorio clínico fue de 63.4% y de los 10 técnicos de laboratorio clínico fue del 56.1%.

**Gráfico N°5**



### 3.4. DISCUSIÓN.

El análisis de semen es el medio más importante para identificar la infertilidad masculina y para que los resultados aporten información al diagnóstico deben ser realizados correctamente cumpliendo el protocolo de trabajo. Se esperaba un nivel de cumplimiento del 100% de los criterios analíticos del espermatograma recomendados por la OMS (2010), con la expectativa que esto condujera finalmente a la estandarización de las técnicas de laboratorio en todo el mundo, es desalentador que a más de 5 años después de la publicación de la última edición del manual, la investigación descrita aquí demuestre que el 51% de los laboratorios que decidieron participar cumplieron con las recomendaciones de la OMS. Se evidencia la necesidad urgente de un programa control de calidad pertinente y la estandarización en el laboratorio, como también lo sugiere Lu, J.C.(5).

Se identificó que el 90% de profesionales de laboratorio utilizan los criterios estándar recomendados por la OMS y solo el 10% aun hace uso del test de motilidad traslativa del cual no se encontró evidencia en la literatura para contrastar su eficiencia con la prueba de motilidad actual; también como omite el uso de la prueba de vitalidad y pruebas complementarias entre otras. Si bien usan las pruebas recomendadas por la OMS; estas no son completamente desarrolladas de acorde con el protocolo establecido por la institución.

Existe un mayor porcentaje de cumplimiento de los estándares de la fase pre-analítica y menor cumplimiento de la fase analítica debido a la omisión de algunas pruebas como el reporte de aglutinación espermática con un 29% de incumplimiento, la clasificación de la movilidad sigue con cuatro categorías según el manual de cuarta edición 61% y la evaluación de la morfología espermática por coloración de Papanicolau en 10%; mientras que el análisis macroscópico concordaba (38), su nivel de cumplimiento no necesariamente puesto que en algunos casos se hacía uso de aproximaciones y no de mediciones reales .La Organización Internacional de Normalización (ISO) define error de laboratorio como el fracaso de una acción planificada, que no se cumple como estaba previsto que ocurre en cualquier parte del proceso del laboratorio, desde la petición de las determinaciones hasta la emisión de los resultados correspondientes y su adecuada interpretación y acciones consecuentes (39), entonces al incumplir un determinado protocolo generamos errores que disminuyen la veracidad del resultado.

El mayor nivel de cumplimiento hallado por laboratorio es de 64% y el menor de 32%, lo cual se deba a una falta de estandarización (40) y una gran necesidad de control de calidad; en el presente estudio ninguno de los laboratorios participantes contaba con un programa de control de calidad aplicado a la prueba de espermograma; produciendo una variación de los resultados entre laboratorios (41). Aunque los manuales de la OMS son reconocidos mundialmente como el estándar de oro para las pruebas de semen, su aceptación ha sido menos que universal (6,8).

A continuación, se estarán discutiendo los principales hallazgos de este estudio desde la fase preanalítica en adelante según la estructura de la ficha de chequeo utilizada de acuerdo con las partes que componen la prueba de espermograma según las OMS (2010).

Entre los 31 participantes, el 90% indaga sobre el tiempo de abstinencia, si tiene medicación o dificultad en la recolección y la informa en su formato de entrega de resultados contrastándose con los resultados de Sandro C. Esteves (42) que halló sólo el 60% a pesar de que todos los participantes aceptaron tener conocimientos del manual de la OMS y la importancia de esta información. De ser necesario en caso de que el resultado salga patológico siempre solicitaban el teléfono del paciente en el registro de la clínica. El total de laboratorios que participaron en la investigación no contaba con ambientes especiales para una adecuada recolección de muestra, lo cual influye en la calidad del semen eyaculado como lo refiere Y. Yamamoto (43).

En la práctica clínica se recomienda analizar al menos dos muestras de semen para estimar la fertilidad potencial de un individuo (Organización Mundial de la Salud, 1999). Consideramos esta práctica correcta para la motilidad, morfología y vitalidad del esperma. Sin embargo, para la concentración de esperma, se deben proporcionar tres muestras de semen para estimar el perfil de un individuo (44) pero se halló que solo el 16% de participantes solicita una segunda muestra; además se mencionó que el paciente muestra falta de compromiso con el protocolo de análisis explicado lo cual concuerda con la conclusión a la que llegó Duplisea J. (45). El hecho que el laboratorio solicite una segunda muestra no asegura que se logre trabajar con esta debido al incumplimiento del paciente para llevar la muestra y poder lograr el seguimiento en caso de vasectomía o aseguramiento del resultado preliminar para futuras pruebas especializadas de fertilidad.

El cumplimiento de la verificación del tiempo entre la toma de muestra y la llegada al laboratorio menor a una hora es de 81% por participante y 55% por laboratorio puesto que al final el trabajo de espermograma es realizado por un individuo, en un mismo laboratorio no todos llegan a cumplir adecuadamente el mismo protocolo de trabajo subestimándose la información que esta brinda ya que las características del semen van cambiando conforme pasa el tiempo (46). Se observó que en algunos casos se aceptaba la muestra aun teniendo conocimiento que el paciente no cumplía con el requisito debido a que el paciente provenía de lejos y otros profesionales de laboratorio esperaban la corroboración de resultados con muestras sucesivas que luego no llegaban a realizarse.

El uso del Test Hipoosmótico para evaluar la vitalidad fue de 35% porque se utiliza generalmente como indicador adicional de la vitalidad del espermatozoide, aunque algunos estudios lo asocian con un alto nivel de resultados falsos positivos como concluye Barratt (47).

El recuento de espermatozoides a pesar de tener un nivel de cumplimiento del 100% en el desarrollo de los procesos no garantiza un resultado de calidad puesto que depende de la experiencia del analista en la prueba, siendo uno de criterios con más variabilidad junto con la motilidad y morfología, solo se mejora con las continuas capacitaciones como nos refiere E. Filimberti (48). Otra fuente importante de variabilidad está representada por la actividad de los diferentes laboratorios, que tan especializados son y cuantos espermogramas realizaban al año. Esta observación refuerza el concepto de que no sólo la experiencia del operador sino también las prácticas continuas son importantes para realizar el análisis del semen. Lo que es más importante, debe alertar sobre la fiabilidad de los resultados de los laboratorios con baja actividad.

La evaluación de la morfología utilizando la coloración de Papanicolau como lo recomienda la OMS (2010) obtuvo un nivel de cumplimiento del 10% acorde con los hallazgos de Denise Riddell (49) mientras el restante utilizaba la tinción de Wright, los laboratorios contaban con área de hematología y no eran laboratorios especializados en fertilidad lo cual puede cambiar la evaluación de la morfología de los espermatozoides según Aksoy Emine (50) a pesar que el profesional de laboratorio conozca los criterios de análisis, se evidencia la necesidad de estandarización de los procedimientos y un mayor cumplimiento de las recomendaciones de la OMS.

Los resultados por laboratorio muestran concordancia con los hallados por Lu, J.(5) acerca de: el uso del colorante Papanicolaou es bajo (9%), el uso del test hipoosmótico del 27%, la evaluación del pH fue del 100%, evaluación de la aglutinación de 45% y la medición del volumen fue del 82%; los hallados por Lu, J. fueron respectivamente: 15.4%, 4.7%, 81.4%, 55.1% y 100%. En el ítem de medir volumen Lu, J. halló que el 53.6% de los laboratorios participantes lo realizaba por examinación visual también observada en este trabajo, aunque no se realizó estadística al respecto. Solo el 27.1% de los laboratorios examinaron los marcadores bioquímicos seminales comparado con 9% hallado, ambos porcentajes bajos. La determinación de la morfología de los espermatozoides, los leucocitos y las células espermatogénicas; no realizaron los métodos de tinción recomendados por el manual de la OMS (2010); necesitan enfatizarse y estandarizarse aún más. Además, se debe establecer un método aceptable para que los resultados sean comparables entre los laboratorios (5).

Los resultados hallados por profesional de laboratorio comparado con los extrapolados por laboratorio muestran una correlación del 85.7%. Los laboratorios participantes al estar compuestos por más de un profesional de laboratorio y al extrapolar los resultados, produjeron una discordancia del 14.3% de resultados sujeto a interpretación; esto no se dio en el trabajo de Lu, J. debido a que por cada laboratorio solo había un profesional de laboratorio (5).

Según Carraro (51) en los últimos años los profesionales del laboratorio clínico se han percatado que la mayor parte de los errores se producen en las fases preanalítica y post-analítica, hay concordancia con los hallazgos encontrados con mayor proporción en la fase post-analítica. Por otra parte, también el personal debe estar bien formado y entrenado. Sería adecuado realizar de manera periódica cursos de formación que afiancen los conocimientos adquiridos y se informe acerca de las modificaciones que se hagan en los procesos (52).

La prueba de espermograma al ser manual tiende al error a pesar de los diferentes estudios que consideran se mejoraría la confiabilidad de los resultados implementando un control de calidad, estandarizando e implementando capacitaciones. Son varios los que no la consideran una prueba útil o fiable como Tomlinson MJ (53) sin embargo, como hace referencia, al ser sencilla su implementación en el laboratorio se vuelve más accesible que el sistema computarizado y otras pruebas más avanzadas como la

fragmentación del ADN espermático que no se podrían realizar de rutina un en los hospitales del país y sigue siendo una primera opción en la que solo la mejora de capacidades del laboratorista e implementación de mejores condiciones del laboratorio aseguren un resultado confiable.

Cabe mencionar que la mayoría de los estudios realizados en el país se inclinan a la parte clínica y no metodológica de la prueba; no se halló evidencia bibliográfica abundante en el sistema de bibliotecas de universidades peruanas, por ende, las comparaciones mencionadas son realizadas en su mayoría con trabajos extranjeros plasmados bajo otras condiciones y realidades. Se incentiva a profundizar el tema y hacer trabajos de investigación con una mayor población, para saber nuestras debilidades y fortalezas puesto que con el cambio climático e industrialización la calidad del semen humano se ha deteriorado como lo menciona Molina Rosa (54), los problemas de fertilidad van en aumento (55) y la demanda de laboratorios especializados de andrología también.



## **CAPÍTULO IV: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.**

### **4.1 CONCLUSIONES.**

- Los criterios analíticos usados para el espermatoograma, realizados por los laboratorios de Lima Metropolitana, son semejantes a los descritos en el Manual de laboratorio de la OMS para la examinación y procesamiento del semen humano (2010).
- Los laboratorios clínicos alcanzaron un nivel de cumplimiento de los criterios analíticos que la OMS recomienda para el espermatoograma del 64%, por ende, no existe congruencia total entre los estándares propuestos por la OMS y los descritos en los procedimientos operativos estándar. Así mismo el nivel de cumplimiento de los criterios analíticos planteados por la OMS para el espermatoograma fue menor al esperado, lo cual afecta la calidad y confiabilidad del resultado que se brinda.
- Se observó la ausencia de un sistema de control de calidad aplicado a la prueba de espermatoograma; siendo esta necesaria para mejorar el nivel de cumplimiento y estandarización de la prueba. La implementación de un programa de control de calidad para el espermatoograma mejorara la demanda de la prueba, puesto que el paciente busca un servicio de calidad que también garantice un resultado confiable.
- Hay mayor presencia de tecnólogos médicos especializados que de técnicos de laboratorio el área mostrando una relación directa con el nivel de cumplimiento de 63.4% y 56.1% respectivamente, no obstante, se enfatiza la necesidad de asegurar el dominio del analista sobre la prueba y empoderar al tecnólogo medico como administrador, orientador y supervisor del laboratorio.

## 4.2. RECOMENDACIONES.

Antes de finalizar, se sugieren las siguientes recomendaciones en base a los resultados y conclusiones del presente estudio:

- Como en cualquier investigación; siempre se plantea una mejora continua del mismo; por lo tanto, se recomienda a futuros estudiantes que tengan interés en el tema, profundicen la investigación ampliando el tamaño muestral, implementando una pequeña capacitación del tema con una evaluación antes y después de dicho evento, así como agregar más variables de estudio para hacer comparaciones entre los resultados arrojados por estas.
- Difundir los criterios y recomendaciones de la OMS para un mejor procesamiento del espermograma mediante actualizaciones académicas, capacitaciones, jornadas científicas y concursos de investigación.
- De las variaciones encontradas en los distintos laboratorios clínicos se desprende la necesidad de efectuar más estudios que permitan estandarizar los procedimientos para obtener valores seminales confiables.
- Adaptar la lista de chequeo del presente trabajo a formato encuesta virtual con el uso de aplicaciones digitales de acceso libre para así poder llegar a más población, lograr que haya una mayor participación y difusión del tema.
- Es necesario desarrollar programas de normalización y evaluación de competencias profesionales; una de ellas relacionada con la prueba de espermograma según OMS 2010; que es la base para el inicio del estudio de fertilidad masculina, tal función podría ser asumida por el Colegio de Tecnólogos Médicos del Perú.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

**¡Error! No se le ha dado un nombre al marcador.**

1. Moazzam A, Inam M, Choudhary MN, Ijaz A. From Basic to Contemporary Semen Analysis: Limitations and Variability. *Journal of Animal and Plant Sciences*. 2015 April; 25(2): p. 328-336.
2. Van Waeleghen K, N. DC, Vermehulen F. Deterioraton of esperm quality in young healthy belgian men. *Human Reproduction*. 1996 Febrero; 11(2): p. 325-329.
3. World Health Organization, Department of Reproductive Health and Research. *Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen*. Quinta ed. Switzerland: WHO Press; 2010.
4. Kvist U, Bjorndahl L. *Manual de Análisis Básico de Semen*. 1st ed. Heineman MJ, editor. Barcelona: Sociedad Española de Bioquímica Clínica; 2004.
5. Lu JC, Zhang HY, Hu YA, Huang YF, Lü NQ. A survey on the status of semen analysis in 118 laboratories in China. *Asian Journal of Andrology*. 2010 Febraury; 12(1): p. 104-110.
6. Keel B, Stembridge T, Pineda G, Serafy NS. Lack of standardization in performance of the semen analysis among laboratories in the United States. *Fertility and Sterility*. 2002 September; 78(3): p. 603-308.
7. Jequier, Ukombe E. Errors inherent in the performance of a routine semen analysis. *British Journal of Urology*. 1983 August; 55(4): p. 434-436.
8. Keel B. Is the semen analysis a reliable test? *National Journal of Andrology*. 2005 February; 11(2): p. 85-90.
9. Keel BA. How reliable are results from the semen analysis? *Fertility and Sterility*. 2004 July; 82(1): p. 41-44.
10. Marroquin Lozada PA. Análisis del espermatograma según grupo etario en parejas que acuden al servicio de reproducción humana del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé 2009-2010. 2012.
11. Cooper TG, Neuwinger J, Bahrs S, Nieschlag E. Internal quality control of semen analysis. *Fertility and Sterility*. 1992 July; 58(1): p. 172-178.
12. Cooper T, Björndahl L, Vreeburg J, Nieschlag E. Semen analysis and external quality control schemes for semen analysis need global standardization. *International Journal of Andrology*. 2002 October; 25(5): p. 306-311.

13. Čipak A, Stanić P, Đurić K, Serdar T, Suchanek E. Sperm morphology assessment according to WHO and strict criteria: method comparison and intra-laboratory variability. *Biochemia Medica*. 2009 February; 19(1).
14. Chancay Reyes E, Mantuano Palma CH. Rol del laboratorio clínico en la detección de la esterilidad masculina en personas de 30 a 60 años que se atienden el laboratorio clínico AROLAB de la ciudad de Manta durante el periodo de Marzo a Agosto del 2012 (Tesis de Grado). Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabi. 2012.
15. Franken DR, Oehninger S. Semen analysis and sperm function testing. *Asian Journal of Andrology*. 2012 January; 14(1).
16. Tapia Serrano R. Una visión actual de la infertilidad masculina. *Revista Mexicana de Medicina de la Reproducción*. 2012 Enero-Marzo; 4(3).
17. Rowe PJ, Comhaire FH, Hargreave TB, Mellows HJ. WHO manual for the standardized investigation and diagnosis of the infertile couple. Primera ed. Cambridge: Cambridge University Press; 1993.
18. Sarabia L, Munuce MJ. Nuevos valores para el espermiograma OMS 2010. *Revista Médica de Chile*. 2011 Abril; 139(4).
19. Kumar AF. Patología Estructural y Funcional. Séptima ed.: Elsevier; 2005.
20. Flores Fernández EM. Curso de espermatograma. Actualización según criterios de la OMS, 2010 Cumaná: Universidad de Oriente Núcleo de Sucre; 2010.
21. Real Academia Española. Diccionario de la lengua española. [Online].; 2001 [cited 2016 Febrero 16. Available from: <http://dle.rae.es/?id=XW36fRk>.
22. Robertson Bsc S. News Medical. [Online].; 2015 [cited 2017 December 1. Available from: [https://www.news-medical.net/health/Swallowing-Semen-\(Spanish\).aspx](https://www.news-medical.net/health/Swallowing-Semen-(Spanish).aspx).
23. Organización Mundial de la Salud. Infecciones de transmisión y otras infecciones del tracto reproductivo: una guía para la práctica básica. Primera ed. Singapur: WHO Press; 2005.
24. A. Bruznel N. Fundamentos de Análisis de Orina y Fluidos Corporales. Tercera ed. Madrid: Amolca; 2014.
25. S. R, Durán, M. Fernánd G. Interpretación del análisis seminal. *Revista Cubana de Endocrinología*. 1998; 9(1): p. 81-90.

26. Villar LS. Scribd. [Online].; 2012 [cited 2016 Marzo 15. Available from: <https://es.scribd.com/doc/98228428/ESPERMIOGRAMA-Segun-los-criterios-de-la-OMS-5%C2%AA-Edicion>.
27. López García MJ, Urbano Felices, Cárdenas Povedano. Manual de Laboratorio para Análisis de Semen. Primera ed. Gutiérrez Romero JM, López Pelayo, editors. Barcelona: OmniaScience; 2012.
28. ESHRE. Manual de Análisis Básico de Semen. Primera ed. Barcelona: Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular; 2004.
29. Mestre Ferrer C. Reproducción Asistida. [Online].; 2014 [cited 2016 Marzo 13. Available from: <http://www.reproduccionasistida.org/aglutinacion-espermatoca/>.
30. Mc Donough PG. Has traditional sperm analysis lost its clinical relevance? Fertility and Sterility. 1997 March; 67(3): p. 586-587.
31. Bassas Arnau. Inmunología e infertilidad. Anticuerpos contra gametos y gónadas en el varón y en la mujer. ASEBIR. 2004 diciembre; 9(2).
32. Llanos Carrillo. El Blog de Procrear. [Online].; 2016 [cited 2017 Diciembre 1. Available from: <http://elblogdeprocrear.blogspot.pe/2016/03/anticuerpos-antiespermatozoides.html>.
33. Tissera AD, Estofán G, Kuperman N, Beltramone F, Palena C, Baez K, et al. Anticuerpos antiespermatozoides en mujeres cuya pareja masculina presenta un factor inmunológico. Reproducción. 2011; 26(3): p. 97-101.
34. Roa Guerrero, Cortés Mancera, Guerrero González N, Cardona Maya W, Morantes Guzmán. Evaluación Asistida Por Computador De La Viabilidad Espermática En Humanos. Revista Ingeniería Biomédica. 2012; 6(12).
35. Ombelet W, Pollet H, Bosmans E, Vereecken A. Results of a questionnaire on sperm morphology assessment. Human Reproduction. 1997 May; 12(5): p. 1015-1020.
36. Hernández Bretón. Modelo computacional para la identificación de células espermáticas mediante el análisis automático de micrografías digitales. 2015.
37. Corral Y. Validez y confiabilidad de los instrumentos de investigación para la recolección de datos. Revista Ciencias de la Educación. 2009 Enero-Junio; 19(33): p. 229-247.
38. Aulesa C, Mar C. Recomendaciones en la fase preanalítica para el análisis del semen. Química Clínica. 2006; 25(5): p. 416-418.

39. International Organization of Standardization. Medical Laboratories-Reduction of error through risk management and continual improvement ISO/TS 22367 Geneva: ISO; 2008.
40. Cooper T, Atkinson A, Nieschlag E. Experience with external quality control in spermatology. *Human Reproduction*. 1999; 14(3): p. 765-769.
41. Keel B, Quinn P, Schmidt CJ, Serafy NJ, Serafy NS, Schalue T. Results of the American Association of Bioanalysts national proficiency testing programme in andrology. *Human Reproduction*. 2000; 15(3): p. 680-686.
42. C. Esteves S. Clinical relevance of routine semen analysis and controversies surrounding the 2010 World Health Organization criteria for semen examination. *Brazilian journal of urology*. 2014 Julio-Agosto; 40(4).
43. Yamamoto Y, Sofikitis N, Mio Y, Miyagawa I. Influence of sexual stimulation on sperm parameters in semen samples collected via masturbation from normozoospermic men or cryptozoospermic men participating in an assisted reproduction programme. *Andrologia*. 2000 Junio; 32(3).
44. Castilla JA, Alvarez C, Aguilar J, González-Varea C, Gonzalvo MC, Martínez L. Influence of analytical and biological variation on the clinical interpretation of seminal parameters. *Human Reproduction*. 2006 April; 21(4).
45. Duplisea J, Whelan T. Compliance with semen analysis. *The Journal of Urology*. 2013 June; 189(6).
46. S E, J M, A G. Duración de la abstinencia sexual: secreciones epididimarias y accesorias de las glándulas sexuales y su relación con la motilidad de los espermatozoides. *Human Reproduction*. 2005; 20: p. 221-225.
47. Barratt CLR, Osborn JC, Harrison PE, Monks N, Dunphy BC, Lenton EA, et al. The hypo-osmotic swelling test and the sperm mucus penetration test in determining fertilization of the human oocyte. *Human Reproduction*. 1989 Mayo; 4(4).
48. Filimberti E, Degl'Innocenti, Borsotti, Quercioli, Piomboni, Natali, et al. High variability in results of semen analysis in andrology laboratories in Tuscany (Italy): the experience of an external quality control (EQC) programme. *Andrology*. 2013 January; 1(3).
49. Riddell D, Pacey A, Whittington K. Lack of compliance by UK andrology laboratories with World Health Organization recommendations for sperm morphology assessment. *Human Reproduction*. 2005 December; 20(12).

50. Aksoy E, Murad Aktan T, Duman. Assessment of Spermatozoa Morphology under Light Microscopy with Different Histologic Stains and Comparison of Morphometric Measurements. *International Journal of Morphology*. 2012 December; 30(4).
51. Carraro P, Plebani M. Errors in a stat laboratory: types and frequencies 10 years later. *Clinical Chemistry*. 2007 July; 53(7).
52. Cano Corres, Fuentes Arderiu. International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. [Online]. [cited 2017 Julio 10. Available from: <http://www.ifcc.org/media/214854/Errores%20en%20el%20laboratorio%20cl%C3%ADnico.pdf>.
53. Tomlinson M. Uncertainty of measurement and clinical value of semen analysis: has standardisation through professional guidelines helped or hindered progress? *Andrology*. 2016 September; 4(5).
54. Molina R. Envejecimiento y calidad seminal: un análisis de 9.168 casos en Córdoba, Argentina. *Archivos Españoles de Urología*. 2010; 63(3).
55. Roa-Meggo. La infertilidad como problema de salud pública en el Perú. *Revista Peruana de Ginecología y Obstetricia*. 2012; 58(2).

# ANEXOS

## ANEXO A

### MODELO TRADUCIDO DE REPORTE DE RESULTADO TOMADO DEL MANUAL DE ESPERMATOGRAMA OMS 2010

Registro de análisis de semen y moco cervical	
Nombre:	Código:
Fecha (Mes/Día/Año)	
Recolección (1, en laboratorio; 2, en casa)	
Hora de Recolección (hora: minutos)	
Entrega de muestra (hora: minutos)	
Inicio de análisis (hora: minutos)	
<b>Paciente</b>	
Tiempo de Abstinencia (días)	
Tratamiento con medicamentos	
Dificultades para la recolección	
<b>Semen</b>	
Tratamiento de muestra	
¿Muestra completa? (1, completa; 2, incompleta)	
Apariencia (1, normal; 2, anormal)	
Viscosidad (1, normal; 2, anormal)	
Licuefacción (1, normal; 2, anormal) (minutos)	
Aglutinación (1-4, A-E)	
pH [≥7.2]	
Volumen (ml) [≥1.5]	
<b>Espermatozoides</b>	
Número total (10 elevado a la sexta potencia por eyaculado) [≥39]	
Concentración (10 elevado a la sexta potencia por ml) [≥15]	
Error (%) si se cuentan menos de 400 células.	
Vitalidad (% vivos) [≥58]	
Motilidad Total PR + NP (%) [≥40]	
Progresivo PR (%) [≥32]	
No-progresivo NP (%)	
Inmóvil IM (%)	
Forma Normal (%) [≥4]	
Cabeza anormal (%)	
Pieza Intermedia Anormal (%)	
Pieza principal anormal (%)	
Exceso de citoplasma residual (%)	
MAR-test directo IgG (%) (3 o 10 minutos) [<50]	
MAR-test directo IgA (%) (3 o 10 minutos) [<50]	
IB-test directo IgG (% con esferas) [<50]	
IB-test directo IgA (% con esferas) [<50]	
<b>Células no-espermáticas</b>	
Concentración de Células peroxidasa positivas (10 elevado a la sexta potencia por ml) [<1.0]	
<b>Función de las Glándulas Accesorias</b>	
Zinc (µmol por eyaculado) [≥2.4]	
Fructosa (µmol por eyaculado) [≥13]	
α-Glucosidasa (neutral) (mU/eyaculado) [≥20]	
Analista:	



## ANEXO B

### RECOLECCIÓN Y RECEPCIÓN DE MUESTRA

- a) La muestra debe ser recolectada por masturbación. El eyaculado se recoge en un frasco limpio, estéril, de boca ancha, cerca del laboratorio para limitar el tiempo de exposición del semen a las fluctuaciones de la temperatura y mantener el control entre colección de la muestra y su análisis. Debe mantener la temperatura entre los 20 y 37° C a temperaturas inferiores a 5° C los espermatozoides experimentan el “Shock térmico” que afecta la movilidad espermática de manera irreversible. Sin embargo, excepcionalmente una muestra puede ser colectada en casa después de una demostrada inhabilidad del paciente de obtener la muestra cerca del laboratorio. (3)

#### **Instrucciones para el paciente (Se entregan por escrito)**

**1.- La muestra debe estar completa,** oralmente se le puede explicar al paciente que la primera porción del líquido seminal contiene la mayor cantidad de espermatozoides.

**2.-Deberá rotular el frasco con el nombre del paciente y hora de emisión del eyaculado.**

**3.-Deberá entregar la muestra al laboratorio máximo dentro de una hora de emitida.**

**4.-Durante el transporte de la muestra, esta debe ser mantenida entre 20 ° C y 37° C.**

- b) El laboratorio indicará la hora de recepción y análisis de la muestra junto a la especificación que la muestra fue obtenida fuera del laboratorio.
- c) Cuando la muestra no se puede recolectar por masturbación se debe utilizar un condón especial para recolección de semen. Ningún otro tipo de condón es recomendable. El coitus interruptus no es un medio adecuado para recolectar la muestra. (3)

- d) El paciente debe tener un mínimo de 2 días de abstinencia sexual, pero no más allá de los 7 días de abstinencia.
- e) Dos muestras como mínimo son necesarias para la evaluación inicial, si los resultados entre ambas muestras son marcadamente diferentes, muestras adicionales deben ser evaluadas. El intervalo entre cada toma de muestra no debe ser menor a 7 días ni mayor a 3 semanas. (20) (24)

## ANEXO C

### MOTILIDAD ESPERMÁTICA-PROCESAMIENTO

La movilidad debe ser determinada tan pronto como sea posible después de licuada la muestra y preferiblemente dentro de los primeros 30 minutos de emitida (**V.N.  $\geq 32$  %**), pero en ningún caso después de una hora de la eyaculación, para evitar el deterioro por efecto del cambio de pH, deshidratación o cambios de la temperatura. Se deben contar no menos de 200 espermatozoides y por duplicado en otra alícuota de la muestra y solo incluir en este parámetro a espermatozoides intactos. (28)

Los tipos de movilidad a evaluar son los siguientes:

**Movilidad Progresiva (MP):** Los espermatozoides se mueven activamente, ya sea de manera lineal o en un gran círculo, independiente de la velocidad.

**Movilidad No Progresiva (MNP):** Incluye todos los otros patrones de movilidad, pero con ausencia de progresión como el avance en pequeños círculos, fuerza flagelar moviendo la cabeza o cuando solo el batido flagelar es observado. (3)

**Inmóviles (IM):** Sin movimiento.

Se recomienda el uso de un ocular con retícula cuadrículada para limitar el área vista, lo que permite que la misma zona de la lámina, sea evaluada en ambas fases del conteo. Evaluar en primer lugar la motilidad progresiva, a continuación, la motilidad no progresiva y los inmóviles. Limitar la zona y, por lo tanto, el número de espermatozoides evaluados asegura que varias áreas de la preparación sean examinadas para la motilidad (20).

## ANEXO D

### RECUESTO DE ESPERMATOZOIDES EN CÁMARA DE NEUBAUER

Procedimiento:

- Evaluación de la gradilla central. Si 200 espermatozoides no son contados en la quinta fila de la gradilla central, continuar contando en las filas de las gradillas adyacentes (numero 4 y 6).
- Si se encuentran menos de 200 espermatozoides en las gradillas 4, 5 y 6, no contar las otras gradillas ya que los volúmenes de las filas de las gradillas son diferentes. En este caso preparar otra dilución menor.
- Si un espermatozoide se ubica sobre la línea que divide dos cuadrículas adyacentes, debe ser contado solamente si está en la línea inferior o hacia la línea del lado izquierdo de la cuadrícula a ser evaluada, si las retículas tienen líneas triples la misma regla se conserva, pero para la línea central. (3)

Para las gradillas 4,5 y 6 (20nl):  $C=(N/n) \times (1/20) \times \text{Factor de dilución}$

Las diluciones para la cámara de Neubauer pueden ser 1:5, 1:10, 1:20, 1:50 (lo importante para evitar errores es tomar al menos 50 ml. de muestra para las diferentes diluciones). El diluyente es preparado adicionando a 1 Litro de agua destilada, 50 g de bicarbonato de sodio, 10 ml 35% (v/v) de formalina y 0.25 g de Azul Tripán o 5 ml de una solución saturada de violeta de genciana.

- Se deben transferir entre 10 a 15 ml. de la dilución hacia la cámara de recuento de Neubauer, pero lo más importante es que la cámara quede completamente llena. La muestra se debe dejar sedimentar (2 a 3 minutos), y debe ser conservada en una cámara húmeda y evaluadas dentro de 10 a 15 minutos para prevenir la evaporación, hasta el momento de realizar el recuento. El recuento debe ser de cabezas de espermatozoides y no de colas para evitar el doble recuento.

## ANEXO E

### MORFOLOGIA ESPERMATICA-PROCESAMIENTO

Se recomienda el uso del Papanicolaou.

- **Cabeza:** Azul pálido en la región acrosomal y azul oscuro en la región post acrosomal.
- **Pieza media:** De color rojo.
- **Cola:** De color rojizo.
- **Exceso de residuo de citoplasma (ERC):** Debajo de la cabeza y alrededor de la pieza media teñido de color rosado o rojo.

Clasificación de la morfología normal del espermatozoide:

- **Cabeza:** Debe ser liso, regularmente contorneado y generalmente ovalado. La región acrosomal debe comprender del 40-70% del área de la cabeza y no debe contener vacuolas grandes y no más de 2 vacuolas pequeñas. La región post acrosomal no debe contener ninguna vacuola.
- **Pieza media:** Debe ser delgado, regular y la misma longitud de la cabeza del espermatozoide. El residuo citoplasmático es considerado como anormal solo cuando hay exceso, por ejemplo, cuando excede un tercio del tamaño de la cabeza del espermatozoide.
- **Pieza principal:** Debe ser uniforme en su longitud adherido a las piezas media y aproximadamente 45um de longitud

Clasificación de las anomalías morfológicas de los espermatozoides:

- **Defectos de la cabeza:** Grande o pequeña, cónico, piriforme, redonda, amorfa, vacuolada (+ de 2 vacuolas), vacuolas en la región post acrosomal, pequeñas y grandes áreas del acrosoma (<40% o >70% del área de la cabeza), doble cabeza o cualquier combinación de estas.

- **Defectos del cuello y pieza media:** Inserción asimétrica de la pieza media en la cabeza, grueso o irregular, doblado o cualquier combinación de estos.
- **Defectos de la pieza central:** Puede ser corto, múltiple, quebrado, angulada, curvaturas cerradas, irregular o cualquier combinación de estas.
- **Exceso residual citoplasmático (ERC):** Está asociado con el espermatozoide anormal producido a partir de un defecto del proceso espermatogénico, no debe llamarse gota citoplasmática (3).

## **ANEXO F**

### **CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN EL ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN**

Si usted desea participar en el estudio de investigación titulado: “Criterios analíticos del espermatograma y su nivel de cumplimiento en laboratorios clínicos de Lima Metropolitana, 2016” el cual es realizado por la estudiante Christa M. Rimari Chávez, egresada de la carrera de Tecnología Médica, Facultad De Medicina Humana, Universidad Nacional Mayor De San Marcos.

#### **PROPÓSITO DEL ESTUDIO:**

El propósito es conocer cuáles son los criterios del espermatograma de laboratorios clínicos de Lima Metropolitana y cuál es su nivel de cumplimiento.

#### **INFORMACIÓN DEL ESTUDIO:**

El examen de espermatograma es una prueba de rutina básica para el diagnóstico de infertilidad. Provee información acerca del sistema reproductor masculino, así como de alguna posible enfermedad. La realización de un examen de espermatograma consta de varias partes que son: el examen macroscópico donde se observa el color y aspecto, el examen químico donde se detectan algunos componentes y el examen microscópico en donde se cuentan las células y otro tipo de elementos.

Debido a que aún no hay una estandarización del examen de espermatograma, cada laboratorio realiza sus propios procedimientos obtenidos de fuentes de información como libros, guías, manuales, etc.

#### **PROCEDIMIENTO DE ESTUDIO:**

Se procederá a observar el procesamiento de la muestra y luego el investigador llenará una ficha de chequeo con las observaciones, concluyendo la intervención.

#### **RIESGO Y BENEFICIOS POTENCIALES DEL ESTUDIO:**

Debe saber que no se le dará ninguna retribución económica por participar en el estudio, su participación contribuirá a conocer las posibles diferencias.

**GASTOS:**

Todos los materiales que se usarán para el procedimiento serán proporcionados y financiados gratuitamente por el investigador.

**LA PARTICIPACION EN LA INVESTIGACION ES VOLUNTARIA:**

Si usted por voluntad propia no desea participar, es libre de no hacerlo.

**CONFIDENCIALIDAD:**

El resultado obtenido de la observación será manejado con absoluta reserva, asegurando la privacidad y confidencialidad de la información. Su nombre no aparecerá en ninguna parte del informe que se realizará al terminar el estudio de investigación.

**CONTACTO PARA RESPONDER CUALQUIER DUDA O PREGUNTA:**

Investigador: Christa Rimari Chávez / Correo electrónico: maxrgot@gmail.com / Teléfono: 91846758

**CONSENTIMIENTO**

**TÍTULO DEL ESTUDIO:**

**“CRITERIOS ANALÍTICOS DEL ESPERMATOGRAMA Y SU NIVEL DE CUMPLIMIENTO EN LABORATORIOS CLÍNICOS DE LIMA METROPOLITANA, 2016”**

Yo.....identificado con D.N.I. N.º.....

Declaro que me han explicado de qué manera participare.

Declaro haber sido informado sobre algún posible inconveniente, molestia y beneficio derivado del estudio y que me han absuelto toda posible duda generada del estudio.

Presto libremente mi conformidad para ser participe en el estudio.

Le he explicado de manera sencilla sobre la finalidad del estudio, el personal de laboratorio comprende la información descrita en este documento y accede a participar en el estudio.

**NOMBRE DEL INVESTIGADOR:** .....

**FIRMA DEL INVESTIGADOR:** .....



## ANEXO G

### LISTA DE CHEQUEO PARA LA INVESTIGACIÓN

#### “CRITERIOS ANALÍTICOS DEL ESPERMATOGRAMA Y SU NIVEL DE CUMPLIMIENTO EN LABORATORIOS CLÍNICOS DE LIMA METROPOLITANA, 2016”

Establecimiento de salud: \_\_\_\_\_ Código: \_\_\_\_\_

Especialidad del personal de laboratorio clínico: \_\_\_\_\_

N°	CRITERIO	CUMPLIMIENTO		OBSERVACION/RECOMENDACION
		SI	NO	
<b>FASE PREANALÍTICA</b>				
1	Da instrucciones adecuadas para la recolección de la muestra.			
2	Interroga al paciente sobre sus antecedentes.			
3	El personal pregunta acerca del tiempo de abstinencia, si tiene medicación o dificultad en la recolección y lo reporta.			
4	El laboratorio rotula adecuadamente las muestras.			
5	El laboratorio solicita muestras sucesivas para análisis.			
6	Verifica que el tiempo entre la toma de muestra y la llegada al laboratorio sea menor a 1 hora.			
<b>FASE ANALÍTICA</b>				
7	Cumple con las medidas de bioseguridad en todo momento.			
<b>ANALISIS MACROSCOPICO</b>				
8	Procesa la muestra de inmediato.			
9	Toma el tiempo de licuefacción.			
10	Mide el volumen adecuadamente.			
11	Evalúa Viscosidad.			
12	Evalúa Color.			
13	Evalúa pH.			
<b>ANALISIS MICROSCOPICO</b>				

14	Evalúa Aglutinación.			
15	Realiza el recuento total de espermatozoides			
16	Halla la concentración espermática.			
17	Evalúa vitalidad con Eosina.			
18	Evalúa vitalidad con test hipoosmótico.			
19	Clasifica la Movilidad total. (3 categorías)			
20	Clasifica la Movilidad total. (4 categorías)			
21	Evalúa Morfología utilizando coloración de Papanicolau.			
<b>PRUEBAS COMPLEMENTARIAS</b>				
22	Realiza Test de fructosa.			
23	Realiza Test de zinc.			
24	Realiza Test de peroxidasa			
25	Realiza Otros test (indicar)			
26	Procesa la muestra dentro de las 2 horas			
<b>FASE POST ANALÍTICA</b>				
27	Trabaja con un reporte de resultados adecuado según las recomendaciones de la OMS-2010.			
28	Realiza sugerencias u observaciones en el reporte de resultados.			
<b>TOTAL</b>				

***OBSERVACIONES DEL ESTABLECIMIENTO DE SALUD:***

---



---



---

## ANEXO H

### VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO

Ítem	CRITERIOS QUE EVALUAR										Observaciones (si debe eliminarse o modificarse un ítem por favor indique)
	Claridad en la redacción		Coherencia interna		Inducción a la respuesta (Sesgo)		Lenguaje adecuado al nivel del informante		Mide lo que pretende		
	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	
1											
2											
3											
4											
5											
6											
7											
8											
9											
10											
11											
12											
13											
14											
15											
16											
17											
18											
19											
20											
21											
22											
23											
24											
25											
26											
27											
28											
29											
<b>Aspectos Generales</b>									<b>SI</b>	<b>NO</b>	*****
El instrumento contiene instrucciones claras y precisas para responder el cuestionario.											
Los ítems permiten el logro del objetivo de la investigación.											
Los ítems están distribuidos en forma lógica y secuencial.											
El número de ítems es suficiente para recoger la información. En caso de ser negativa su respuesta, sugiera los ítems a añadir.											
<b>VALIDEZ</b>											
APLICABLE					NO APLICABLE						
APLICABLE ATENDIENDO A LAS OBSERVACIONES											
Validado por:									Firma:		

# ANEXO I

## CONFIABILIDAD DEL INSTRUMENTO

- Fórmula referencial para hallar la confiabilidad por el Método de dos mitades.

Se halla el coeficiente de las dos mitades.

$$r_{p*i} = \frac{\bar{X}_p * \bar{X}_i / N - \bar{X}_p * \bar{X}_i}{S_p * S_i}$$

Donde:

$r_{p*i}$  = Coeficiente de las dos mitades.

$\bar{X}_p * \bar{X}_i / N$  = Promedio de la sumatoria del puntaje par e impar.

$\bar{X}_p * \bar{X}_i$  = Producto de la media aritmética par e impar.

$S_p * S_i$  = Producto de las desviaciones estándar par e impar.

N = Tamaño de la población.

Se calcula el índice de Correlación de Pearson

$$r = \frac{n(\sum I.P) - (\sum I)(\sum P)}{\sqrt{[n(\sum I^2) - (\sum I)^2] \cdot [n(\sum P^2) - (\sum P)^2]}}$$

Corrección de r con la ecuación de Spearman-Brown (R)

$$R = \frac{2r}{1+r}$$

- Cuadro de aplicación para hallar el coeficiente de Spearman Brown mediante el programa IBM SPSS Statistics Visor versión 23.

### Estadísticas de fiabilidad

Alfa de Cronbach	Parte 1	Valor	,638
		N de elementos	15 <sup>a</sup>
	Parte 2	Valor	,259
		N de elementos	14 <sup>b</sup>
	N total de elementos		29
Correlación entre formularios			,719
Coeficiente de Spearman-Brown	Longitud igual		,837
	Longitud desigual		,837
Coeficiente de dos mitades de Guttman			,828

## ANEXO J

### Cuadro de laboratorios indicando quienes cuentan con POE (Procedimiento Operatorio Estándar) para la prueba de Espermatograma.

LABORATORIOS											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
POE	NO	SI	SI	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO

- ❖ Los laboratorios que no cuentan con POE cuentan con un protocolo de trabajo simple.
- ❖ Se denomina Procedimiento **Operativo Estandarizado (P.O.E.)** al documento que describe (mediante un conjunto de instrucciones o pasos) la sucesión cronológica y secuencial de las operaciones que se deben seguir para la realización de determinadas rutinas de trabajo, así como los instrumentos que se necesitan.
- ❖ El laboratorio N°2 cuenta con una copia de POE, no es propio del laboratorio clínico.
- ❖ El laboratorio N°3 si cuenta con POE completo y propio.

## ANEXO K

### Operalización de variables

VARIABLE	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSION		TIPO DE VARIABLE	ESCALA DE MEDICIÓN	INDICADOR
Criterios analíticos	Es el conjunto de reglas o pautas que brinda la OMS (2010) para el correcto procesamiento del espermatograma.	Fase Pre analítica	Recolección de muestra	Cualitativa	Nominal	Lista de chequeo
						Lista de chequeo
			Recepción de muestra	Cualitativa	Nominal	Lista de chequeo
		Fase Analítica	Características organolépticas	Cualitativa	Nominal	Lista de chequeo
						Lista de chequeo
			Características Físicas	Cualitativa	Nominal	Lista de chequeo
						Lista de chequeo
						Lista de chequeo
						Lista de chequeo
			Características Químicas	Cualitativa	Nominal	Lista de chequeo
						Lista de chequeo
						Lista de chequeo
						Lista de chequeo
			Características microscópicas	Cualitativa	Nominal	Lista de chequeo
						Lista de chequeo
Lista de chequeo						
Lista de chequeo						
Lista de chequeo						
Fase Post analítica	Reporte de Resultados	Cualitativa	Nominal	Lista de chequeo		
Nivel de cumplimiento	Grado de cumplimiento de las directrices brindadas por la OMS (2010) para el correcto procesamiento del espermatograma.	Eficacia	Cuantitativa	Ordinal	Porcentaje de cumplimiento por laboratorio	
					Porcentaje de cumplimiento total	
					Porcentaje de omisiones por laboratorio	
					Porcentaje de omisiones total	
					Prueba de mayor incumplimiento	