	MANUAL DEL LABORATORIO DE ANDROLOGIA	Código	
		PS-DC-037	
	Fecha de Vigencia	11/03/2022	Versión 1
			Página 1 de 5

1. INTRODUCCIÓN

El Laboratorio de Andrología de FERTILITY CARE SAS será el encargado del estudio e investigación de múltiples aspectos relacionados con la reproducción masculina; Los procedimientos más habituales son el análisis completo de semen, la preparación de los espermatozoides para los procedimientos de inseminación intrauterina y/o de FIV; con el fin de asegurar resultados 100% fiables y las máximas probabilidades de éxito, es manejado bajo estrictos controles de calidad y de metodología. El propósito fundamental de este análisis radica en evaluar los parámetros descriptivos clásicos de un eyaculado producido por masturbación, lo que proporciona información esencial del estado clínico del varón y ser de ayuda en la investigación de las posibles causas de la infertilidad.

Este manual será usado por el personal del laboratorio de Andrología en todos los procedimientos, el cual se revisará y actualizará según los cambios sugeridos por la Organización Mundial de la Salud.

2. OBJETIVO

Establecer los lineamientos para el procesamiento de las muestras de semen con el fin de prestar un servicio oportuno y confiable al determinar el estado de normalidad o anormalidad de las muestras de los pacientes con base en los parámetros establecidos por la OMS (Organización Mundial de la Salud) y ayudar así al tratamiento de las parejas con problemas de fertilidad.

3. PROPOSITO

Parejas con problemas de fertilidad en tratamiento, pacientes con factor masculino alterado o normal, hombres que se han realizado la vasectomía u otros procedimientos urológicos para realizar diagnóstico pre y posquirúrgico.


4. ALCANCE

Desde la toma de muestra de semen hasta el ingreso de resultados a la historia clínica y su entrega al paciente en estudio.

Aplicado a todas las muestras de semen procesadas en el Laboratorio de Andrología de la Clínica Fertility care, con fines diagnósticos y para procedimientos de Reproducción Asistida.

5. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS

- ✓ **Laboratorio de Andrología:** área de la clínica de fertilidad destinada para el manejo de las muestras seminales para el diagnóstico y tratamientos de baja y alta complejidad.
- ✓ **Semen:** Fluido espeso y de color blanquecino que está compuesto por un líquido en el que se encuentran en suspensión los espermatozoides; se produce por las secreciones de distintas glándulas del aparato reproductor masculino, principalmente la próstata y los testículos, y se expulsa en el momento de la eyaculación.

	MANUAL DEL LABORATORIO DE ANDROLOGIA		Código	
			PS-DC-037	
	Fecha de Vigencia	11/03/2022	Versión 1	Página 2 de 25


- ✓ **Espermograma:** es un examen que busca determinar las características del espermatozoide tales como su movilidad, morfología y concentración, así como algunas características físicas del semen.
- ✓ **Espermatozoides:** gameto masculino o célula reproductora masculina destinada a la fecundación del óvulo.
- ✓ **Capacitación Espermática:** conjunto de cambios fisiológicos que sufre el espermatozoide de forma natural para adquirir la capacidad de fecundar al óvulo.
- ✓ **Swim up:** técnica para capacitar a los espermatozoides in vitro, mediante la cual los de mejor movilidad colonizaran la parte superior del medio.
- ✓ **Gradientes de Concentración:** técnica para capacitar espermatozoides basada en la diferencia de concentración de dos medios en la cual los espermatozoides con mejor movilidad migraran a la superficie del medio de menor concentración.
- ✓ **Morfología Espermática:** es uno de los parámetros que se determinan en el espermograma en la cual se valora el porcentaje de espermatozoides con morfología normal.
- ✓ **Movilidad Espermática:** parámetro del espermograma en la cual se determina la velocidad a la cual los espermatozoides se desplazan libremente.
- ✓ **Concentración Espermática:** número de espermatozoides contenidos en el eyaculado.
- ✓ **Vitalidad Espermática:** porcentaje de espermatozoides vivos en el eyaculado.
- ✓ **Técnicas de Baja Complejidad:** La inseminación artificial en la cual se introducen los espermatozoides dentro del útero de la mujer durante la ovulación para que se produzca la fecundación en su medio natural se considera de baja complejidad, así como se incluyen los métodos para la capacitación espermática y congelación de semen.
- ✓ **Reproducción Asistida:** la reproducción asistida consiste en la manipulación del óvulo con el espermatozoide para conseguir un embarazo, independientemente de la causa de la infertilidad.
- ✓ **Astenozoospermia:** es la disminución del porcentaje de espermatozoides móviles en una muestra de semen.
- ✓ **Teratozoospermia:** alteración espermática que consiste en una morfología anormal de los espermatozoides lo cual dificulta la fecundación.
- ✓ **Oligozoospermia:** se relaciona con un semen de baja calidad con baja cantidad de espermatozoides.
- ✓ **Azoospermia:** ausencia de espermatozoides en el semen puede ser debida a una falta de producción de espermatozoides por parte de los testículos (secretora) o a una obstrucción a nivel de los conductos durante la eyaculación (excretora u obstructiva).

6. PERSONAL RESPONSABLE

Personal del laboratorio de Embriología y Andrología.

7. ASPECTOS LEGALES

Manual de la OMS para Procesamiento de Líquido Seminal V Edición, Año 2010.
Decreto 1546 de 1998
Resolución 3199 de 1998

	MANUAL DEL LABORATORIO DE ANDROLOGIA		Código	
			PS-DC-037	
	Fecha de Vigencia	11/03/2022	Versión 1	Página 3 de 25

8. CONDICIONES O RECURSOS NECESARIOS

El laboratorio de andrología debe estar ubicado en un área aislada del paso del personal no autorizado, en un ambiente limpio y será utilizado exclusivamente para el procesamiento de muestras de eyaculado. Debe estar bien iluminado y estar contiguo a la zona de toma de muestra.


8.1. EQUIPOS Y MATERIALES

- Cámara de recuento de Espermatozoides MAKLER Sefi-medical
- Centrifuga
- Contador de células digital
- Frascos estériles boca ancha para toma de muestra
- Gradillas
- Guantes de nitrilo sin talco
- Incubadora de temperatura (Thermo Heratherm)
- Jeringa de 1 ml
- Láminas porta objetos
- Laminillas 22 x 22 mm
- Microscopio Biológico
- Nevera
- Pañuelos desechables
- Pipeta estéril 1 ml
- Pipeta estéril de 2 ml
- Pipeta estéril 10 ml
- Pipetas automáticas ajustables
- Pipetas Pasteur 9 pulgadas
- Puntas para pipeta automáticas
- Termómetro
- Tirilla PH
- Tubos cónicos de 15 ml
- Tubo fondo redondo

6.2 REACTIVOS Y MEDIOS DE CULTIVO

En el laboratorio de andrología, la calidad de los procedimientos y de los resultados depende en gran medida de la calidad y la inocuidad de los reactivos utilizados, y para lograr esto se deben tener en cuenta las indicaciones para la adecuada conservación de estos, a continuación, se enumeran los reactivos necesarios y las condiciones para su mantenimiento:

- Aceite de Inmersión: permanecer a temperaturas entre 25-37°C
- Eosina 5%: mantener protegida de la luz y a temperaturas entre 25-37°C
- Kit de coloración de morfología espermática: debe conservarse de 2-8°C

	MANUAL DEL LABORATORIO DE ANDROLOGIA		Código	
			PS-DC-037	
	Fecha de Vigencia	11/03/2022	Versión 1	Página 4 de 25

- Medio de fertilización: debe conservarse de 2-8°C.
- Medios de Gradientes de alta y baja densidad: debe conservarse de 2-8°C
- Medio de lavado de semen: debe conservarse de 2-8°C.

6.3 DOTACION PARA LIMPIEZA Y DESINFECCION DE EQUIPOS


- Agua estéril
- Desinfectante de Amonio cuaternario adecuado para incubadoras y cabinas de flujo laminar.

9. PROCEDIMIENTOS

9.1 ESPERMOGRAMA

9.1.1 Toma de muestra

- El proceso comienza con acompañamiento al paciente (después de que este ya ha sido recepcionado y ha cancelado su examen) por parte del personal de enfermería, quienes le entregaran al paciente el consentimiento informado CONSENTIMIENTO INFORMADO ESPERMOGRAMA, el formato ANALISIS DE MUESTRAS SEMINALES (Figura No.1) y el CONTROL MUESTRA ESPERMOGRAMA para que los lea con detenimiento y diligencie los datos básicos y las respectivas firmas solicitadas, así como algunas preguntas de interés para la prueba.
 - Se le indica al paciente el lugar destinado para la toma de la muestra, y se le proporcionara un recipiente estéril de boca ancha previamente identificado con la fecha de la prueba, nombres y apellidos completos, número de identificación, procedimiento y nombre de la pareja con su número de identificación, para la recolección de la muestra. Esto se realiza con la ayuda de un etiquetador que arroja dos stiker: uno para que sirve de verificador identidad de la muestra al realizar el análisis y el otro para identificar la placa de morfología).
 - Se deben dar instrucciones claras, orales y por escrito sobre la técnica de recolección, y entrega de la muestra.
 - El paciente debe cumplir con unos requerimientos para garantizar la calidad y la inocuidad de la muestra de semen; estos requerimientos se encuentran descritos en INSTRUCTIVO PARA LA TOMA DE MUESTRA Y ANALISIS SEMINALES; en este instructivo también describen las condiciones que se deben tener en cuenta para la recolección de las muestras para el análisis de Eyaculación retrograda.
1. Se debe respetar un periodo de abstinencia sexual de 2 – 7 días. Una abstinencia menor a 2 días puede dar lugar a una muestra con baja concentración de espermatozoides y, si se exceden los días recomendados la muestra puede tener un alto contenido de espermatozoides inmóviles.

	MANUAL DEL LABORATORIO DE ANDROLOGÍA		Código	
			PS-DC-037	
	Fecha de Vigencia	11/03/2022	Versión 1	Página 5 de 25


- No haber presentado
- No ingerir alcohol ni medicamentos antibióticos, antimicóticos y/o antiparasitarios los días previos al examen (15 días).
- Tomar la muestra por masturbación preferiblemente, ya que es la técnica recomendada en el manual para el procesamiento de las muestras de semen de la OMS en su actualización 2010, se debe depositar todo el eyaculado en un recipiente para toma de muestra de semen no tóxico, el cual será proporcionada por el laboratorio del centro.
- La muestra puede ser tomada en las instalaciones de FERTILITY CARE clínica de Reproducción Humana y Fertilidad preferiblemente, en un espacio cómodo y acogedor dispuesto para tal fin, el cual se encuentra contiguo al laboratorio de andrología.
- En caso de que los pacientes sientan algún tipo de incomodidad para tomar las muestras en las instalaciones del centro, podrán tomar la muestra en su casa, teniendo en cuenta todas las indicaciones dadas previamente y no sobrepasar una hora desde el momento de la obtención y la llegada al centro de fertilidad. Es importante saber que durante el transporte de la muestra hacia el laboratorio se debe evitar la exposición a temperaturas extremas (<20°C y >37°C).
- En caso de no ser posible recoger la muestra por masturbación, hay condones especialmente diseñados para la recolección de las muestras de semen (Miles products Inc., Chicago, Illinois 60631, USA; Male Factor Pack, Hygiene, FertiPro NV., Belgium). Es muy importante enfatizar que la toma de la muestra debe de ser completa.

Figura No.1 Formato de Análisis de muestras seminales.

ANÁLISIS DESCRIPTIVO / CAPACITACIÓN									
PACIENTE:						EDAD:			
FECHA:						IDENTIFICACIÓN			
Nº Historia:						TELÉFONO			
Abstinencia (3-5 días)				Espermograma				Método de Recolección	
Muestra: Parcial o Total				Lavado				Masturbación	
Hora de Recolección				Congelación				Coito	
Hora de estudio				Inseminación				Otros	
CARACTERÍSTICAS FÍSICAS:									
Volumen (≥ 1,5)									
Licuefacción		Completa							
		Incompleta							
Viscosidad		Normal							
		Aumentada							
pH (≥ 7,2)									
EVALUACIÓN MICROSCÓPICA					MORFOLOGÍA ESPERMÁTICA				
Concentración (≥ 15 M/ml)					Normales (≥4%)				
Total Moviles TMS					Cabeza				
Movilidad					Pieza Media				
Aglutinaciones					Cola				
Agregaciones					Índice Teratozoospermia				
Células Redondas (≤ 1M/ml)					(Total anomalías/Nº de espermatozoides)				
Leucocitos (≤ 1M/ml)									
Vitalidad (≥ 58%)									
RECUPERACIÓN ESPERMÁTICA									
Volumen Inicial		ml		Concentración inicial		ml		Normales (≥ 4%)	
Volumen Final		ml		Concentración final		ml		Cabeza	
Técnica		Swim-up		Tiempo				Pieza Media	
		Gradientes						Cola	
		Otros						Índice Teratozoospermia	
Movilidad		A		B		C		D	
								PR (≥ 32%)	
Medio								Total Moviles TMS	
OBSERVACIONES									

Este espermograma se realizó según los criterios de la Organización Mundial de la Salud - OMS de 2010

Responsable:


	MANUAL DEL LABORATORIO DE ANDROLOGÍA		Código	
			PS-DC-037	
	Fecha de Vigencia	11/03/2022	Versión 1	Página 6 de 25

Fuente: FERTILITY CARE

9.2 EYACULACION RETROGRADA

9.2.1 Toma de muestra

- ✓ El personal de enfermería entrega el frasco recolector estéril de boca ancha rotulado al paciente.
- ✓ Se le explica al paciente que debe abstenerse de tener relaciones sexuales entre 2 y 7 días antes de la recolección de la muestra.
- ✓ No debe tener alguna actividad que provoque eyaculación en los días previos indicados para la toma de la muestra.
- ✓ Se debe indicar al paciente que deberá alcalinizar la orina tomando bicarbonato de sodio, una cucharada grande (aprox. 25Gms.) diluida en agua, dos noches anteriores a la obtención de la muestra.
- ✓ Se le explica al paciente que la mañana de la recogida de la muestra, debe tomar otra cucharada de bicarbonato de sodio diluida en agua dos horas antes de la toma de la muestra; esta debe ser recolectada en un frasco estéril y entregado al laboratorio para confirmar el pH alcalino y que la dosis de bicarbonato fue suficiente.
- ✓ Posterior a la confirmación del pH de la muestra, el paciente se masturba y recoge el eyaculado, si lo hubiera, en un recipiente estéril y rotulado.
- ✓ A continuación, el paciente volverá a orinar en un recipiente estéril, conservando esta orina para su análisis en el laboratorio.
- ✓ Llevar al laboratorio ambas muestras para su análisis en caso de haber sido tomada por fuera de la clínica.
- ✓ Se recibe las muestras en el laboratorio de andrología ubicado en las instalaciones FERTILITY CARE clínica de Reproducción Humana y Fertilidad. Se debe comprobar que el recipiente este marcado con el nombre completo del paciente cedula y fecha; se le elaboran los sticker de verificación y se le indica al paciente diligenciar además los formatos ANALISIS DE MUESTRAS SEMINALES y el CONTROL MUESTRA ESPERMOGRAMA y el consentimiento CONSENTIMIENTO INFORMADO ESPERMOGRAMA.

	MANUAL DEL LABORATORIO DE ANDROLOGIA	Código	
		PS-DC-037	
	Fecha de Vigencia	11/03/2022	Versión 1
			Página 7 de 25


9.2 PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA DE ESPERMOGRAMA

- Se vacía la muestra en un tubo conico de 15 ml, previamente marcado con nombres y apellidos del paciente, (todo el material que se va a utilizar debe ser marcado con el nombre completo del paciente: tubo, portaobjetos, pipeta pasteur, y debe descartarse según correspondan, inmediatamente después de usarse).
- A continuación, se evalúan las siguientes características de la muestra en el siguiente orden, de acuerdo con los parámetros establecidos por la OMS 2010 (Anexo No. 1)
 - Ph:** se realiza con el uso de tiras para pH con patrón para comparar y el valor de referencia es mayor o igual a 7,3.
 - Aspecto** Se valora según su color y opacidad/transparencia. El semen humano es normalmente un líquido homogéneo opalescente de color blanquecino-amarillento.
 - Color:** el color del semen en condiciones normales es blanco grisáceo. Según el color que presenta, es posible diagnosticar la alteración que entraña.
Rosáceo: hemospermia o hemospermia.
Amarillento: Bilirrubinemia o hipervitaminosis.
Claro: oligozoospermia.
 - Volumen** se mide el volumen de la muestra con la numeración en mililitros que trae el tubo cónico de 15ml, el valor normal es > de 1,5 ml.
 - Viscosidad** la viscosidad se refiere a la fluidez de la muestra, se define agitando la muestra con una pipeta Pasteur y midiendo el hilo de moco que se forma entre la punta de la pipeta y el borde del tubo. Se considera la viscosidad aumentada si el hilo tiene una longitud de 2cm o más. Una muestra con viscosidad normal forma un hilo que se suelta con facilidad.

- **Licuefacción** se refiere a que una vez que la muestra es eyaculada esta se presenta de manera coagulada, pero luego de 30 a 60 minutos debe estar líquida lo que se reporta como licuefacción completa o total, en caso contrario se reporta como incompleta.

5.1.2.2 Examen microscópico del semen

- Concentración espermática:** La determinación de la concentración de espermatozoides es muy importante para evaluar la calidad del eyaculado; la concentración de espermatozoides se mide y se expresa directamente en términos de millones por mililitro, mientras que el número total de espermatozoides es un valor calculado basado en el volumen de semen y la concentración. El valor normal es de 15 millones por cada ml de eyaculado o 39 millones en la totalidad de la muestra. Si no se alcanzan esos valores hablamos de Oligozoospermia. (WHO, 2010).

	MANUAL DEL LABORATORIO DE ANDROLOGIA	Código	
		PS-DC-037	
	Fecha de Vigencia	11/03/2022	Versión 1
			Página 8 de 25

La cámara de Makler (Figura No. 1), está diseñada especialmente para analizar la concentración de espermatozoides por mililitro y su movilidad. Consta de una cámara propiamente dicha y un cubre objetos con una cuadrícula grabada. La cámara dispone de 4 pilares, de forma que, poniendo una gota de semen de cualquier volumen en la cámara, el cubre objetos se apoya sobre los pilares haciendo que todo el volumen que exceda 10 μ l se desborde a un canal circundante. De esta manera quedan los espermatozoides dispuestos en un solo plano, conservando su movilidad (Figura No. 2). La observación se realiza bajo microscopio óptico o de contraste de fase con objetivo de 10X o 20X. Puede ser utilizado el de 10X para el recuento (Figura 3).

Figura No.1 La cámara de Makler




Fuente: Manual práctico de esterilidad y reproducción humana 4° edición

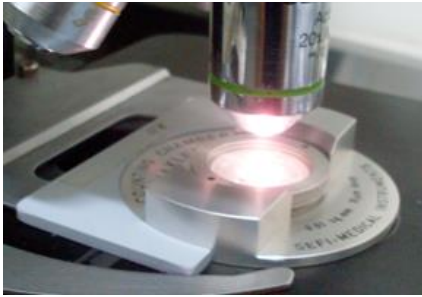
Figura No.2



Fuente: Manual práctico de esterilidad y reproducción humana 4° edición

Figura No.3 Gota puesta en cámara de Makler

	MANUAL DEL LABORATORIO DE ANDROLOGIA	Código	
		PS-DC-037	
	Fecha de Vigencia	11/03/2022	Versión 1
			Página 9 de 25



Fuente : Manual práctico de esterilidad y reproducción humana 4° edición

El recuento se hace de la siguiente manera:

- Se agita bien la muestra seminal para su homogenización.
- Se coloca una gota de la muestra en la cámara de Makler® (figura 3) y se cubre con su tapa que es donde se encuentra la cuadrícula.
- Se espera unos segundos a que se estabilice la muestra.
- Se cuentan los espermatozoides en 10 cuadros, por duplicado y se calcula la media. Los espermatozoides contados en 10 de estos cuadros corresponden a una concentración de millones por mililitro (Figuras No. 4 y 5).

Si la muestra tiene una concentración baja, se cuenta toda la cuadrícula y se divide entre 10.


Si en la observación inicial no se encuentra ningún espermatozoide, se debe centrifugar la muestra en un tubo cónico de 15 ml y observar el sedimento entre lámina y laminilla.

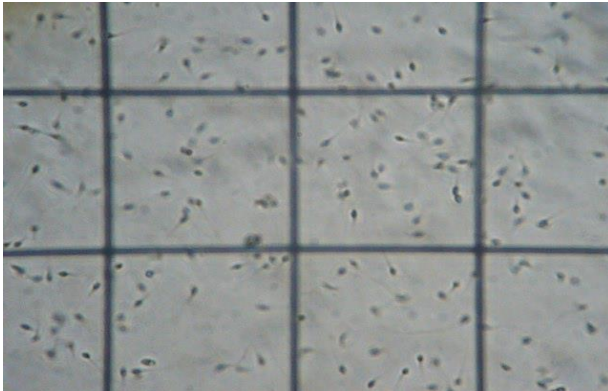
Figura No. 4 Cuadrícula de cámara de Makler



Fuente: Manual práctico de esterilidad y reproducción humana 4° edición

Figura No.5 Cuadrícula conteo espermático cámara de Makler.

	MANUAL DEL LABORATORIO DE ANDROLOGIA		Código	
			PS-DC-037	
	Fecha de Vigencia	11/03/2022	Versión 1	Página 10 de 25



Fuente: Manual práctico de esterilidad y reproducción humana 4° edición

Movilidad Espermática

La motilidad espermática se debe evaluar tan pronto como sea posible después de la licuefacción de la muestra, preferiblemente antes de 1 hora después de la eyaculación, para limitar los efectos perjudiciales de la deshidratación, el pH o los cambios en la temperatura, sobre la motilidad espermática. (WHO, 2010)

El conteo se debe realizar colocando 10 ul de muestra entre lamina y laminilla y observando en objetivo de 40X, contando solamente los espermatozoides libres. Se evalúan al menos 100 espermatozoides por replica con la ayuda de un contador de células, se cuentan espermatozoides móviles e inmóviles en diferentes campos seleccionados al azar.


Los tipos de movilidad a evaluar son:

- **Móviles progresivos (lineales y/o no lineales):** los espermatozoides se mueven activamente de manera lineal o en grandes círculos.
- **Móviles no progresivos (In situ):** incluye todos los patrones de movimiento, pero con ausencia de progresión. Por ejemplo, moverse en pequeños círculos.
- **Inmóviles:** sin movimiento

Los móviles progresivos deben superar el 32%, de lo contrario se denomina Astenozoospermia.

Viabilidad o Vitalidad:

Se estima mediante la evaluación de la integridad de la membrana de las células, puede determinarse de forma rutinaria en todas las muestras, pero es especialmente importante para las muestras con menos del 40% de espermatozoides con motilidad progresiva. Esta prueba puede proporcionar un control sobre la evaluación de la motilidad, ya que el porcentaje de células muertas no debe exceder el porcentaje de espermatozoides

	MANUAL DEL LABORATORIO DE ANDROLOGIA	Código	
		PS-DC-037	
	Fecha de Vigencia	11/03/2022	Versión 1
			Página 11 de 25


inmóviles. El porcentaje de células viables normalmente supera al de células móviles. (WHO, 2010).

Procedimiento:

- En una laminilla portaobjetos se coloca una gota de 10 µl de semen y otra de 10 µl de eosina al 5%, se mezclan con la ayuda de una laminilla cubreobjetos y se cubren con otra y se observa al microscopio en un aumento de 40X.
- Los espermatozoides viables no son permeables a la eosina y se observan transparentes. La cabeza de los espermatozoides no viables toma el color rosado de la eosina debido al daño de la membrana plasmática. Esta valoración se hace contando 100 células espermáticas en un microscopio de luz o de contraste de fase en 400x diferenciando los espermatozoides vivos de las células muertas (teñidas).

Morfología

- ✓ Se realiza colocando 30 um de semen en el extremo superior de un portaobjetos y luego con ayuda de un portaobjetos de punta roma o un cubreobjetos se hace el extendido y se deja secar al ambiente de un día para otro.
- ✓ En nuestro laboratorio utilizamos el Kit de coloración para morfología espermática Diff-Quik Rapid Staining Method. En este después de secada la lámina, esta se fija con la Solución de fijación por 15 segundos, no se enjuaga y se decanta el restante; paso siguiente se agrega la solución A por 10 segundos, no se enjuaga y se decanta el restante; después se agrega la solución B y dejar por 15 segundos y enjuagar con agua del chorro. Dejar secar al ambiente.
- ✓ Se observa bajo inmersión en objetivo de 100X, se cuentan 100 espermatozoides y se hace una réplica; se determina por medio de conteo en contador de células, el porcentaje de alteraciones en cabeza, pieza intermedia y cola.
- ✓ Se anotan las siguientes categorías de defectos:
 - Cabeza:** grande, pequeña, periforme, alargada, redonda, amorfa, vacuolada (>20% del área), región acrosómica pequeña (<40%). (Figura 6)
 - Pieza media:** doblada (la pieza media y la cola están en ángulo de 90° con respecto al eje longitudinal de la cabeza), inserción asimétrica de la pieza media en la cabeza, engrosamiento, irregularidad o adelgazamiento de la pieza media (Figura 7).
 - Cola:** corta, múltiple, en alfiler, quebrada, doblada (>90°), grosor irregular, enrollada (Figura 9).
 - Exceso de Retículo Endoplásmico:** mayor que $\frac{1}{3}$ a $\frac{1}{2}$ del tamaño de una cabeza normal (figuras 7 y 8)
- ✓ Con esta coloración se observarán las cabezas del espermatozoide coloreadas de un morado intenso y una cola un poco más clara y hasta rosada.
- ✓ Solo se tienen en cuenta para el conteo diferencial de la morfología los espermatozoides con cola. Las cabezas solas no se cuentan como espermatozoides, aun cuando se registran separadamente.
- ✓ El método recomendado aquí es una clasificación normal / anormal simple, con el conteo opcional de la ubicación de anomalías en los espermatozoides anormales.

	MANUAL DEL LABORATORIO DE ANDROLOGIA	Código	
		PS-DC-037	
	Fecha de Vigencia	11/03/2022	Versión 1
			Página 12 de 25

Nosotros nos basamos en la clasificación según el criterio estricto de Kruger donde el límite inferior de referencia es mayor o igual a 4% de formas normales.

Elementos celulares diferentes a los espermatozoides:

- Estas células se conocen como células redondas e incluyen a las células epiteliales del tracto genitourinario, células prostáticas, células espermáticas y leucocitos. Un eyaculado normal no debe de contener más de 5×10^6 células redondas por ml (Figura 11).
- Los leucocitos, están presentes en la mayoría de los eyaculados. Un número exagerado de estas células (leucocitospermia) puede estar asociado a procesos infecciosos y pobre calidad espermática. El número de leucocitos no debe de exceder 1×10^6 (figura 12).
- Las células germinales inmaduras incluyen los espermátides redondos, espermátocitos y espermatogonia (figuras 10 y 12). La presencia de células inmaduras usualmente indica desórdenes en la espermatogénesis. Se distinguen de los leucocitos por sus características citológicas, ausencia de peroxidasa intracelular y ausencia de antígenos específicos para los leucocitos. Los Espermátides redondos se pueden identificar mediante la tinción del acrosoma (tinción con ácido peryódico de Schiff).
- El conteo de las células diferentes a los espermatozoides se realiza por campo, al hacer uso de la cámara de makler el resultado de este conteo equivaldrá a su concentración en millón

Figura No.6 Región acrosomica pequeña

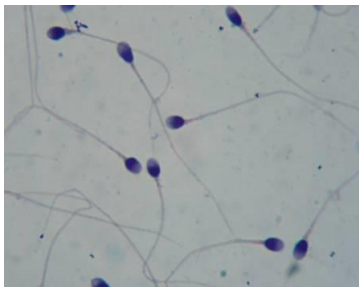



Figura No.7 Pieza media

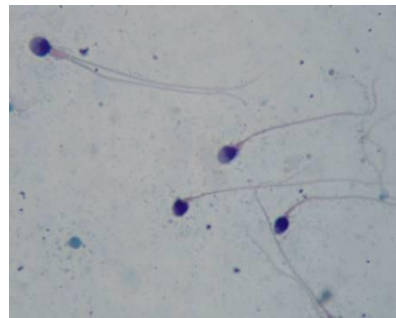


Fuente: Manual práctico de esterilidad y reproducción humana 4° edición

Figura No.8 Exceso de Retículo Endoplásmico

Figura No.9 Cabeza de alfiler

	MANUAL DEL LABORATORIO DE ANDROLOGIA	Código	
		PS-DC-037	
	Fecha de Vigencia	11/03/2022	Versión 1
			Página 13 de 25



Fuente: Manual práctico de esterilidad y reproducción humana 4° edición

Figura No.10 cabeza de alfiler

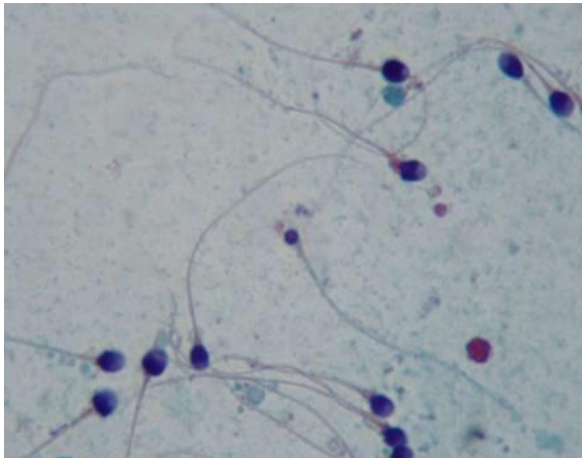
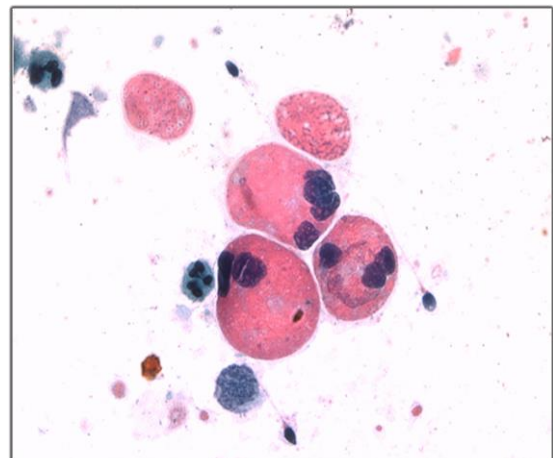



Figura No.11 células redondas

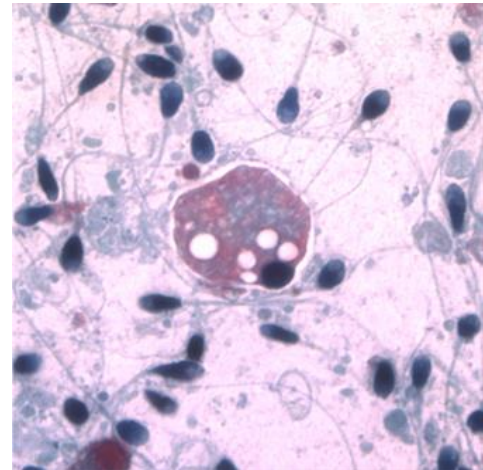
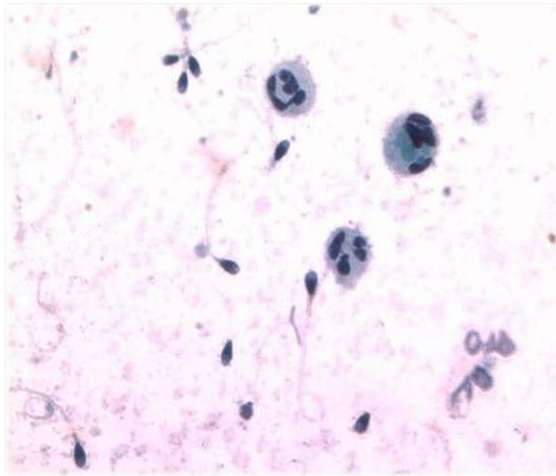


Fuente: Manual práctico de esterilidad y reproducción humana 4° edición

Figura No.12 leucocitos

Figura No.13 leucocitos

	MANUAL DEL LABORATORIO DE ANDROLOGÍA		Código	
			PS-DC-037	
	Fecha de Vigencia	11/03/2022	Versión 1	Página 14 de 25




Fuente: Manual práctico de esterilidad y reproducción humana 4° edición

Todos estos resultados se registran en el ANALISIS DE MUESTRAS SEMINALES y posteriormente deben ser diligenciados en la historia clínica, factor masculino y en el episodio correspondiente al estudio.

9.3 PROCEDIMIENTO PARA TOMA DE MUESTRA DE PACIENTES CON EYACULACIÓN RETROGRADA

1. El paciente debe de tomar 2 cucharadas de bicarbonato de sodio disueltas en un vaso de agua la noche anterior a la toma de la muestra y otro vaso de agua bicarbonatada el mismo día de la recolección de la muestra de orina (puede reemplazar cada vaso de agua bicarbonatada por una botella de soda).
2. Se realiza la medición del pH en una muestra de orina previa a la muestra definitiva. El pH debe oscilar entre 7.3 – 7.5. En el caso que el pH de la muestra de orina sea inferior a este rango, el paciente debe tomar otro vaso de agua bicarbonatada. Se espera una hora y se evalúa el pH en una nueva muestra de orina.
3. Una vez se alcance el pH deseado en la orina, se procede a recolectar una nueva muestra de orina post masturbación. Esta se alícuota en tubos cónicos de 15 ml y se centrifuga a 600 gravedades durante 10 minutos. Se descarta el sobrenadante recogiendo los botones con una pipeta Pasteur y se llevan todos a un solo tubo cónico de 15 ml y luego se resuspende en 5 ml de medio de lavado (Pure sperm wash) homogenizando bien todo.
4. Se centrifuga nuevamente 5 minutos a 600 gravedades y nuevamente se descarta el sobrenadante con una pipeta pasteur y se agrega 0,5 ml de Pure sperm wash al botón.
5. Se homogeniza la muestra y se coloca una gota en un porta objetos, se le coloca una laminilla y se revisa toda la placa en busca de espermatozoides.
6. Si se encuentran espermatozoides se le realiza a esta muestra un lavado por gradientes.

	MANUAL DEL LABORATORIO DE ANDROLOGIA		Código	
			PS-DC-037	
	Fecha de Vigencia	11/03/2022	Versión 1	Página 15 de 25

7. El recuperado se lleva nuevamente al microscopio en cámara de Makler y se realiza el conteo correspondiente.
8. El eyaculado en caso de presentarlo también se procesa como un espermograma y en caso de encontrar espermatozoides se realiza un lavado por gradientes a la muestra.
9. Si se obtienen espermatozoides en el eyaculado y de la orina estos se pueden juntar para realizar el procedimiento asignado.

Todos estos resultados se registran en el ANALISIS DE MUESTRAS SEMINALES y posteriormente deben ser diligenciados en la historia clínica, factor masculino y en el episodio correspondiente al estudio.

9.4 CAPACITACION DE SEMEN

9.4.1 TECNICA DE SWIM UP. (Figura No. 14)

INSUMOS

- Marcador punta delgado Sharpie
- Pipetas Pasteur plásticas de 3 ml
- Tubos cónicos 15 ml
- Pipetas de 1m estériles
- Puntas de pipetas: volumen de 10 ul y 1000 ul


REACTIVOS O MEDIOS

- Gradiente de densidad 40% (Puresperm Grad 40) debe conservarse de 2-8°C.
- Gradiente de densidad 80% (Puresperm Grad 80) debe conservarse de 2-8°C.
- Medio de Lavado de semen (Puresperm Wash) debe conservarse de 2-8°C.

EQUIPOS

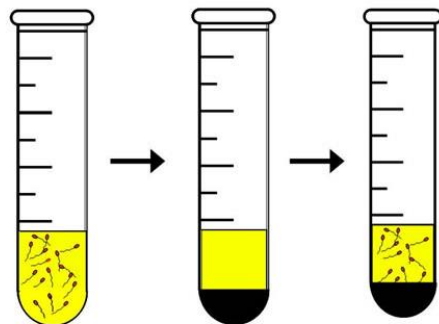
- Cámara de recuento de Espermatozoides MAKLER
- Centrífuga
- Contador de células digital
- Incubadora Thermo Heratherm
- Pipetas automaticas de 10 ul y de 1000 ul
- Microscopio Nikon Eclipse E100

- ✓ La muestra de semen se coloca en tubos Falcón y se mezclan en un volumen 1:1 con el medio lavado.
- ✓ Las muestras se centrifugan a 3000 rpm durante 10 minutos, posteriormente se elimina el sobrenadante y se reconstituye el pellet en 500 uL de medio de lavado.

	MANUAL DEL LABORATORIO DE ANDROLOGIA		Código	
			PS-DC-037	
	Fecha de Vigencia	11/03/2022	Versión 1	Página 16 de 25

- ✓ Se incuba durante 20 minutos a una hora a 37 °C, pasado ese tiempo se evalúa la capa superficial para evaluar morfología, concentración y movilidad progresiva de acuerdo con lo establecido en el Manual de la OMS 2010 para el procesamiento de semen.

Figura No.14. Swin up



Swim-up Technik

Fuente: Manual práctico de esterilidad y reproducción humana 4° edición

Todos estos resultados se registran en el ANALISIS DE MUESTRAS SEMINALES y posteriormente deben ser diligenciados en la historia clínica, factor masculino y en el episodio correspondiente al estudio.


9.4.2 TECNICA DE SEPARACION POR GRADIENTES DE DENSIDAD. (Figura No. 15)

INSUMOS

- Marcador punta delgado Sharpie
- Pipetas Pasteur plásticas de 3 ml
- Tubos cónicos 15 ml
- Tubos transparentes fondo redondo de 6 ml
- Pipetas de 1m estériles
- Puntas de pipetas: volumen de 10 ul y 1000 ul

REACTIVOS O MEDIOS

- Gradiente de densidad 40% (Puresperm Grad 40) debe conservarse de 2-8°C.
- Gradiente de densidad 80% (Puresperm Grad 80) debe conservarse de 2-8°C.
- Medio de Lavado de semen (Puresperm Wash) debe conservarse de 2-8°C.

	MANUAL DEL LABORATORIO DE ANDROLOGIA		Código	
			PS-DC-037	
	Fecha de Vigencia	11/03/2022	Versión 1	Página 17 de 25

EQUIPOS

- Cámara de recuento de Espermatozoides MAKLER Sefi-medical
- Centrífuga
- Contador de células digital
- Incubadora Thermo Heratherm
- Pipetas automaticas de 10 ul y de 1000 ul
- Microscopio Nikon Eclipse E100

PROCEDIMIENTO:

- Luego de haber realizado todo el estudio de espermograma del semen, se prepara el material para realizar la capacitación y se sacan los medios de la nevera para que se vayan atemperando.
- Se marcan dos tubos cónicos de 15 ml, uno con la letra “G” de Gradientes y otro con las iniciales “REM” que es el tubo de lavado.
- Al tubo G, con ayuda de una pipeta de 1m estéril, se agregan 1m de gradiente 80 al fondo del tubo; luego, se depositan 1 ml de gradiente 40 muy suavemente por las paredes del tubo y cuidando que quede por encima del gradiente de alta de densidad y no revolverlos.
- Al tubo REM se le agrega de 2 a 5 ml de medio de lavado de semen.
- Se llevan los tubos a la incubadora de calefacción a 36°C por 10 minutos para que se calienten.
- Se deposita la totalidad de la muestra sobre los gradientes en el tubo G, muy lentamente por las paredes, con cuidado de no mezclar la muestra con los gradientes.
- Se lleva a centrifugar a 1800 rpm por 20 minutos.
- Se extrae el pellet con ayuda de la pipeta automática de 1000 ul y se lleva al tubo REM con el medio de lavado, y se mezcla aspirando y soltando un par de veces con la pipeta hasta lograr homogenizar.
- Se lleva el tubo REM a centrifugar a 1700 rpm por 10 minuto; se decanta el sobrenadante, se reconstituye el pellet con 500 ul de medio de lavado.
- Se toma 10 ul de la muestra homogenizada con el medio de lavado y se carga la cámara de Makler para la lectura de la concentración del post capacitado.
- Se toman 10 ul también para hacer el análisis de movilidad entre lamina y laminilla.
- La concentración y movilidad del postcapitado se registran en el FERT-BR-F-068 ANALISIS DE MUESTRAS SEMINALES y posteriormente deben ser diligenciados en la historia clínica, factor masculino y en el episodio correspondiente al estudio.


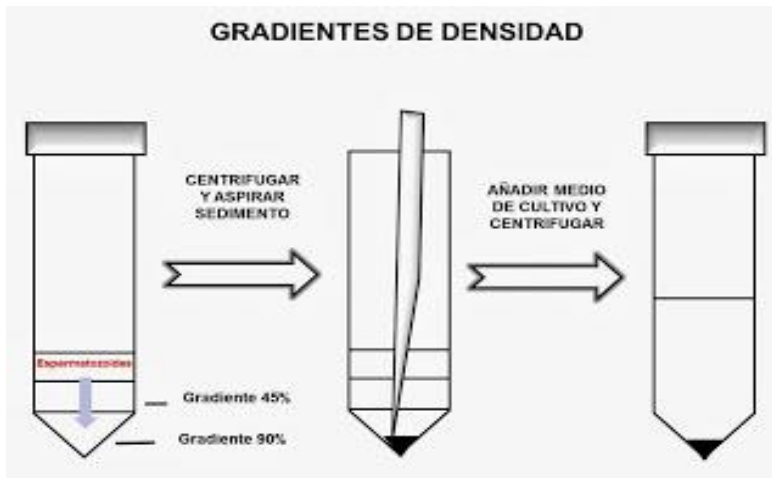
	MANUAL DEL LABORATORIO DE ANDROLOGIA	Código	
		PS-DC-037	
	Fecha de Vigencia	11/03/2022	Versión 1 Página 18 de 25

Figura No.15 Gradientes de densidad.



Fuente: Manual práctico de esterilidad y reproducción humana 4° edición

9.5 CAPACITACION DE SEMEN PARA INSEMINACION ARTIFICIAL

Para los procedimientos de Inseminación Artificial (IA), se realiza la técnica de separación por gradientes de densidad.

INSUMOS


- Jeringa de 1 ml
- Jeringa de 5 ml
- Cánula intrauterina
- Marcador punta delgado Sharpie
- Pipetas Pasteur plásticas de 3 ml
- Tubos cónicos 15 ml
- Tubos transparentes fondo redondo de 6 ml
- Pipetas de 1m estériles
- Puntas de pipetas: volumen de 10 ul y 1000 ul

REACTIVOS O MEDIOS

- Gradiente de densidad 40% (Puresperm Grad 40) debe conservarse de 2-8°C.
- Gradiente de densidad 80% (Puresperm Grad 80) debe conservarse de 2-8°C.
- Medio de Lavado de semen (Puresperm Wash) debe conservarse de 2-8°C.

EQUIPOS


- Cámara de recuento de Espermatozoides MAKLER Sefi-medical
- Centrífuga
- Contador de células digital
- Incubadora Thermo Heratherm
- Pipetas automaticas de 10 ul y de 1000 ul

	MANUAL DEL LABORATORIO DE ANDROLOGIA		Código	
			PS-DC-037	
	Fecha de Vigencia	11/03/2022	Versión 1	Página 19 de 25

- Microscopio Nikon Eclipse E100

PROCEDIMIENTO:

- Se diligencia el capacitación espermática para inseminación interna con los datos de los pacientes a inseminar y en donde reposaran los resultados de la pre y post capacitación del semen, así como de algunos de datos sobre la calidad del procedimiento.
- Sacar los medios de separación y lavado de la nevera para que se atemperen a temperatura ambiente durante aprox. 30 minutos antes del proceso.
- Luego de haber realizado el conteo de espermatozoides, su movilidad, vitalidad y morfología, se registra en el CAPACITACION ESPERMATICA PARA INSEMINACION INTERNA, y se prepara el material que se va a utilizar; se marcan dos tubos cónicos de 15 ml, uno con la letra "G" de Gradientes y otro con las iniciales "REM" que es el tubo de lavado, y además se marcan con nombre y apellido de la paciente a inseminar.
- Al tubo G, con ayuda de una pipeta de 1m estéril, se agregan 1m de gradiente 80 al fondo del tubo; luego, se depositan 1 ml de gradiente 40 muy suavemente por las paredes del tubo y cuidando que quede por encima del gradiente de alta de densidad y no revolverlos.
- Al tubo REM se le agrega de 2 a 5 ml de medio de lavado de semen.
- Se llevan los tubos a la incubadora de calefacción a 36°C por 10 minutos para que se calienten.
- Se deposita la totalidad de la muestra sobre los gradientes en el tubo G, muy lentamente por las paredes, con cuidado de no mezclar la muestra con los gradientes.
- Se lleva a centrifugar a 1800 rpm por 20 minutos.
- Se extrae el pellet con ayuda de la pipeta automática de 1000 ul y se lleva al tubo REM con el medio de lavado, y se mezcla aspirando y soltando un par de veces con la pipeta hasta lograr homogenizar.
- Se lleva el tubo REM a centrifugar a 1700 rpm por 10 minuto; se decanta el sobrenadante, se reconstituye el pellet con 500 ul de medio de lavado.
- Se toma 10 ul de la muestra homogenizada con el medio de lavado y se carga la cámara de Makler para la lectura de la concentración del post capacitado.
- Se toman 10 ul también para hacer el análisis de movilidad entre lamina y laminilla.
- La muestra ya lista se guarda en la incubadora térmica hasta el momento en que enfermería la carga de la cánula para realizar la inseminación.
- La concentración, movilidad y vitalidad del postcapacitado se registra en el SEGUIMIENTO FOLICULAR INSEMINACION y en el CAPACITACION ESPERMATICA PARA INSEMINACION INTERNA; posteriormente es diligenciado en la historia clínica del paciente en el episodio correspondiente por medio del software institucional.
- Para realizar el procedimiento de IA, el Embriólogo u Andrólogo debe realizar el proceso de carga de la cánula intrauterina. Esta se realiza de la siguiente manera:
 - Cambiar la aguja de la jeringa de 1 cc por una aguja de una jeringa de 5 cc, esto para poder alcanzar el fondo del tubo conico.
 - Conectar una jeringa de 1 ml a la cánula intrauterina

	MANUAL DEL LABORATORIO DE ANDROLOGIA		Código	
			PS-DC-037	
	Fecha de Vigencia	11/03/2022	Versión 1	Página 20 de 25

Se debe dejar un espacio de aire en la jeringa de 2 cc previo a la carga de la muestra en la jeringa y se toma el volumen de la muestra capacitada, equivalente entre 0,3 a 1.0 ml (no colocar más de esta cantidad para evitar reflujo, contracciones y riesgo de embarazos ectópicos) y se le entrega la cánula cargada y los formatos donde se registro los datos de la capacitación del semen, al personal de enfermería que los recoge en la puerta de entrada de la zona estéril para llevarla hasta el consultorio donde se realizara el procedimiento; se le indica a la enfermera que la paciente debe firmar la verificación de la identidad en los formatos en donde corresponda y una vez terminado el procedimiento deben devolver el CAPACITACION ESPERMATICA PARA INSEMINACION INTERNA a él embriólogo, mientras que el SEGUIMIENTO FOLICULAR INSEMINACION se guardara en la historia clínica física de los pacientes.

* En caso de realizarse dos inseminaciones por ciclo, se realiza una morfología estricta solo a la primera de las dos muestras consecutivas.

9.6 CAPACITACION DE SEMEN PARA PROCEDIMIENTOS IN VITRO

Para los procedimientos de FIV/ICSI, se realiza la técnica de separación por gradientes de densidad y posterior Swin-up.

INSUMOS

- Marcador punta delgado Sharpie
- Tubos cónicos 15 ml
- Pipetas de 1m estériles
- Puntas de pipetas: volumen de 10 ul y 1000 ul

REACTIVOS O MEDIOS


- Gradiente de densidad 40% (Puresperm Grad 40) debe conservarse de 2-8°C.
- Gradiente de densidad 80% (Puresperm Grad 80) debe conservarse de 2-8°C.
- Medio de Lavado de semen (Puresperm Wash) debe conservarse de 2-8°C.
- Medio de cultivo gaseado desde el día anterior bajo atmosfera de 7.2% CO₂/37°C

EQUIPOS

- Cámara de recuento de Espermatozoides MAKLER Sefi-medical
- Centrífuga
- Contador de células digital
- Incubadora Thermo Heratherm
- Pipetas automaticas de 10 ul y de 1000 ul
- Microscopio Nikon Eclipse E100

PROCEDIMIENTO:

- Sacar los medios de separación, lavado y reconstitución de la nevera para que se atemperen a temperatura ambiente durante aprox. 30 minutos antes del proceso.
- Luego de haber realizado el conteo de espermatozoides, su movilidad, vitalidad y

	MANUAL DEL LABORATORIO DE ANDROLOGIA		Código	
			PS-DC-037	
	Fecha de Vigencia	11/03/2022	Versión 1	Página 21 de 25

morfología, se registra en el, y se prepara el material que se va a utilizar; se marcan dos tubos cónicos de 15 ml SEGUIMIENTO EMBRIONARIO FIV/ICSI, uno con la letra “G” de Gradientes y otro con las iniciales “FIV” que es el tubo de lavado, y además se marcan con nombre y apellido de la paciente a inseminar.

- Al tubo G, con ayuda de una pipeta de 1m estéril, se agregan 1m de gradiente 80 al fondo del tubo; luego, se depositan 1 ml de gradiente 40 muy suavemente por las paredes del tubo y cuidando que quede por encima del gradiente de alta de densidad y no revolverlos.
- Al tubo FIV se le agrega 5 ml de medio de lavado de semen.
- Se llevan los tubos a la incubadora de calefacción a 36°C por 10 minutos para que se calienten.
- Se deposita la totalidad de la muestra sobre los gradientes en el tubo G, muy lentamente por las paredes, con cuidado de no mezclar la muestra con los gradientes.
- Se lleva a centrifugar a 1800 rpm por 20 minutos.
- Se extrae el pellet con ayuda de la pipeta automática de 1000 ul y se lleva al tubo FIV con el medio de lavado, y se mezcla aspirando y soltando un par de veces con la pipeta hasta lograr homogenizar y se vuelve centrifugar a 1700 rpm por 10 minuto.
- Se decanta el sobrenadante, se reconstituye el pellet con 500 ul de medio de cultivo gaseado, adicionandolo con suavidad por las paredes del tubo inclinado con un angulo aprox 30°, cuidando de no revolver el pellet para si crear el SWIN UP y que los espermatozoides de mejor movilidad naden hasta la superficie del medio de cultivo. Guardar por 30 minutos en la incubadora de CO2.
- Pasado este tiempo, se toman 10 ul de la superficie del SWIN UP y se carga la cámara de Makler para la lectura de la concentración del post capacitado, y adicionalmente se toman 10 ul también para hacer el análisis de movilidad entre lamina y laminilla; e inmediatamente se procede a guardar el capacitado con mucho cuidado sin revolver, dentro de la incubadora de CO2 hasta el procedimiento de fertilización.
- La concentración, movilidad y vitalidad del postcapacitado se registra en el SEGUIMIENTO EMBRIONARIO FIV/ICSI; posteriormente al terminar el ciclo, es diligenciado en la historia clínica del paciente en el episodio correspondiente por medio del software institucional.


* En caso de realizarse dos inseminaciones por ciclo, se realiza una morfología estricta solo a la primera de las dos muestras consecutivas.

9.7 MANEJO DE MUESTRAS DE SEMEN DE PACIENTES SEROPOSITIVOS

Para el procesamiento de muestras de semen de pacientes Seropositivos para virus como HIV, VHB, VHC entre otros, se realizará una técnica de lavado especial con la utilización de un dispositivo llamado PROINSERT®, el cual reduce la posibilidad de recontaminación de la muestra con el plasma seminal, el procedimiento es el que se describe a continuación:

9.7.1 MATERIALES:

- Dispositivo PROINSERT®
- Pure Sperm de 40

	MANUAL DEL LABORATORIO DE ANDROLOGIA	Código	
		PS-DC-037	
	Fecha de Vigencia	11/03/2022	Versión 1
			Página 22 de 25

- Pure Sperm de 90
- Pure Sperm Wash
- Tubos cónicos de 14ml
- Pipetas estériles de vidrio
- Centrífuga
- Microscopio
- Cuenta células


9.7.2 PROCEDIMIENTO:

- Atemperar los reactivos a utilizar en la incubadora a 37°C Por lo menos 1Hra antes del procedimiento.
- Una vez obtenida la muestra de Semen, esperar que se licue incubándola a 37°C por aproximadamente 30-45 min
- Pasado los tiempos de incubación, se procede a retirar el dispositivo Proinsert de su empaque y se montan los gradientes de concentración en el mismo, procediendo así: agregar primero 2ml del Pure Sperm de 80, luego 2ml del Pure Sperm de 40 y por último 1.5ml de la muestra de semen que se va a lavar, cuidando de no tocar en ningún momento el orificio central del dispositivo que es por donde se va a recuperar el botón del semen una vez lavado. (Figura 16)



Figura 16. Montaje de gradientes en dispositivo Pro- insert

- Una vez montado el gradiente, se lleva a centrifugación a 1400RPM por 20 minutos.
- Posterior a esto se retira el tubo de la centrífuga y se procede a recuperar el botón de semen utilizando la pipeta que viene en el kit del dispositivo, a esta se le adapta una jeringa de insulina con la cual se va a aspirar el botón, se debe tener cuidado ya que la pipeta solo debe ser introducida por el canal central del dispositivo Proinsert, ya que este paso es el que permite eliminar la recontaminación del semen con el plasma seminal. (Figura 17)

	MANUAL DEL LABORATORIO DE ANDROLOGIA	Código PS-DC-037	
		Fecha de Vigencia 11/03/2022	Versión 1
			Página 23 de 25

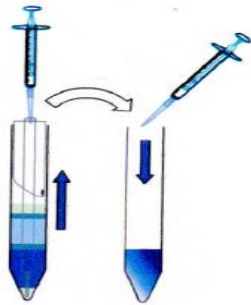


Figura 17. Forma correcta de recuperar el botón espermático con el dispositivo Pro- insert

f. Una vez recuperado el Botón, se debe agregar en otro tubo cónico que contiene 5 ml de Pure Sperm Wash y se procede a realizar un segundo lavado, centrifugando a 1600RPM durante 10 minutos.

g. Después de este tiempo se retira el sobrenadante con una pipeta Pasteur y se vuelve a re suspender el botón en 0.6 a 1ml de Pure Sperm dependiendo del uso que se le vaya a destinar a la muestra de semen. Luego de este lavado el semen será enviado a analizar al laboratorio clínico, en donde se le harán las pruebas correspondientes para determinar si fue efectiva la eliminación del material vírico de la muestra. (Figura 18)

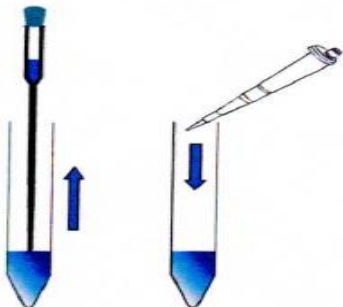



Figura 18. Obtención final de la muestra posterior al lavado con el dispositivo Pro-Insert.

NOTA: Para el procesamiento de muestras de Semen de pacientes Seropositivos, el laboratorio de andrología, coordina el día en que se puede realizar el procedimiento, ya que los equipos solo deben estar disponibles para procesar la muestra seropositiva, es por tal motivo que ese día no se realiza ningún otro procedimiento en el laboratorio., con el fin de garantizar que no se realizará la manipulación alterna de muestras de pacientes sanos, lo cual permite evitar cualquier tipo de contaminación cruzada. Cabe resaltar que una vez se procesan estas muestras al laboratorio y a todo el equipamiento utilizado se le realiza limpieza terminal para eliminar cualquier rastro de virus que pudo haber quedado durante el procedimiento.

	MANUAL DEL LABORATORIO DE ANDROLOGIA		Código	
			PS-DC-037	
	Fecha de Vigencia	11/03/2022	Versión 1	Página 24 de 25

9.8 PROCESAMIENTO DE MUESTRAS SEMINALES PROVENIENTES DE ASPIRADO DE EPIDÍDIMO Y/O BIÓPSIA TESTICULAR

9.8.1 MATERIALES

- Microscopio óptico binocular
- Láminas y laminillas
- Hojas de bisturí
- Pipetas Pasteur plásticas
- 15 ml de medio para lavado espermático (Pure Sperm Wash)
- Jeringas de insulina
- Cajas de Hyaluro de 60mm
- Bloque térmico
- Elementos de protección personal (gorro, guantes, tapabocas, gafas)

9.8.2 PROCEDIMIENTO

9.8.2.1 DÍA PREVIO AL PROCEDIMIENTO

- El día previo al procedimiento se debe dejar todo el material que se va a utilizar listo, los 15 ml del medio de lavado se deben dejar en el bloque térmico por 24hrs para que se atempere.
- El embriólogo debe revisar que el paciente tenga todas la pruebas infecciosas, negativas y vigentes (fecha de realización menor a 6 meses).
- Debemos dejar marcados 2 tubos cónicos, uno que diga muestra con espermatozoides y otro sin espermatozoides. (Figura 19)




Con espermatozoides



Sin espermatozoides

9.8.2.2 DÍA DEL PROCEDIMIENTO

- Se le debe pasar 5 ml del medio de lavado espermático al urólogo en un recipiente estéril y de fácil manipulación.
- El urólogo aspirará 1 cc del medio con una jeringa de insulina y procederá acceder al epidídimo y a extraer muestra seminal aspirando con la jeringa de insulina y el medio de lavado.
- Una vez el urólogo haya extraído muestra suficiente le pasará el contenido de la

	MANUAL DEL LABORATORIO DE ANDROLOGIA		Código	
			PS-DC-037	
	Fecha de Vigencia	11/03/2022	Versión 1	Página 25 de 25

jeringa al embriólogo depositándolo en un tubo falcon de 5 ml, inmediatamente el embriólogo tomará una gota de la muestra y la montará entre lámina y laminilla y la observará al microscopio en objetivo de 10x para verificar si la muestra contiene espermatozoides y si estos son móviles o inmóviles, de ser así todo el volumen recolectado se pasará al tubo cónico que está marcado como “Con espermatozoides”. Si no se evidencia presencia de espermatozoides la muestra se depositará en el tubo marcado como “Sin espermatozoides”

- El urólogo continuará con el aspirado hasta que se obtengan aproximadamente 5 a 7 ml de muestra con espermatozoides.
- Si el urólogo aspira varias zonas del epidídimo en ambos testículos y no se obtiene muestra con espermatozoides, este procederá a realizar una biopsia.
- En la biopsia el urólogo toma pequeñas muestras del tejido testicular y se las pasa al embriólogo, depositándola en una caja de Hyaluro de 60mm, a esta muestra de tejido se le agregaran 1 cc de medio de lavado y se procede a macerar la muestra de tejido con la ayuda de dos hojas de bisturí, luego se toma una gota del medio donde se maceró el tejido y se observa al microscopio entre lámina y laminilla y en objetivo de 10 y 40x, si se observan espermatozoides la muestra se deposita en el tubo marcado como “con espermatozoides”, si no se observan espermatozoides la muestra se deposita en el tubo marcado como “sin espermatozoides”.
- El urólogo continuará con el aspirado hasta que se obtengan aproximadamente 5 a 7 ml de muestra con espermatozoides.
- Los tubos con muestra deben permanecer en el bloque térmico hasta que se termine el procedimiento de aspiración o biopsia.

9.8.2.3 LAVADO DE MUESTRAS DE ASPIRADO DE ESPIDÍDIMO O BIOPSIA

- La muestra se lleva al laboratorio de andrología en donde se hace un recuento en cámara de makler y se evalúan la concentración y la movilidad y se reportan en el ANALISIS DE MUESTRAS SEMINALES.
- Se procede a realizar un lavado sencillo a la muestra, agregando 2 ml medio de lavado espermático al tubo que contiene la muestra con espermatozoides, se centrifuga a 1000 rpm durante 10 min.
- Posterior a esto se descarta el sobrenadante y se resuspende el botón que contiene espermatozoides con 0.6 ml de medio de lavado espermático.
- Se procederá a usar la muestra según sea su destino (ciclo ICSI o criopreservación)