

21143

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Facultad de Estudios Superiores

Acatlán

Especialización en Control de Calidad

“Análisis de la evaluación seminal en la cuantificación de cromosomas sexuales X o Y;  
empleando herramientas del Control de la Calidad”

TESINA

Que para obtener el diploma de especialista en control de calidad presenta:

**Macías Gutiérrez Mario Alberto**

Asesor: Ing. Anselmo Llanos Rivera

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

Mayo de 2005

m 345135



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**

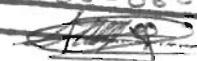


**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.  
 NOMBRE: MARÍA GUADALUPE GUTIÉRREZ  
MARÍA ALBERTO  
 FECHA: 02-06-2005  
 FIRMA: 

**Contenido.**

Introducción .....	1
Objetivo .....	4
Hipótesis .....	5
Antecedentes .....	6
Justificación .....	8
Capítulo I Marco teórico .....	11
1. Delimitación del área de estudio	
Capítulo II Metodologías .....	14
1. Descripción de las metodologías de análisis de semen, cuantificación de cromosomas X e Y, y controles positivos y negativos	
Capítulo III. Instalaciones .....	21
1. Descripción de los materiales y aparatos utilizados.	
Capítulo IV. Análisis de resultados .....	34
1. Tabla de resultados	
2. Comparación de las metodologías utilizadas y otras existentes.	
3. Análisis de los resultados obtenidos mediante la aplicación de algunas de las herramientas del Control de la Calidad	
Capítulo V. Observaciones y recomendaciones .....	57
1. Notas importantes durante el desarrollo de la investigación.	
2. Recomendaciones	
Conclusiones .....	59
Glosario .....	62
Bibliografía .....	65
Anexo .....	67

## **Introducción**

Es importante valorar el desarrollo que ha tenido el control de la calidad como una disciplina indispensable para lograr una operación exitosa en toda organización, y en personas que trabajan dentro de la industria, el comercio, los servicios, dependencias e instituciones educativas y centros de investigación.

El presente trabajo se centra en el análisis de resultados utilizando herramientas básicas del control de la calidad, específicamente a una prueba clínica que se desarrolló en el laboratorio de investigación de la especialidad en andrología, y el proyecto contempla la implementación de técnicas para biología de la reproducción en el ámbito de biología molecular y genética, principalmente enfocado en localizar, identificar y cuantificar en células sexuales masculinas, portadores de los cromosomas que determinarán el sexo de la descendencia, con el propósito de obtener información que posteriormente debe ser importante a nivel clínico en cuanto a enfermedades ligadas al sexo y porcentajes de células masculinas y femeninas.

Está en la naturaleza de las pruebas de laboratorio que existan errores cuyo origen es variado como: en los métodos de medición, equipo, medio ambiente o incluso del personal. Entendiendo que la fuente y magnitud de tales errores es un requisito previo para la apreciación correcta de los resultados de la prueba en procedimientos de diagnóstico. Para evaluar estos errores, se ha introducido el control de la calidad y ha llegado a ser una práctica rutinaria en todas las pruebas de laboratorio.

Sin embargo, en los laboratorios de andrología, hubo problemas para introducir el control de la calidad debido a que se utilizan células vivas como analitos y a la falta de métodos de referencia, por lo que la Organización Mundial de la Salud (OMS) se dió a

la tarea de crear un manual con el objetivo de estandarizar las técnicas de análisis seminal.

Ahora bien, la OMS tiene el programa de investigación en este campo más grande en el mundo y participan en él, científicos de muchos países con la finalidad de desarrollar, analizar, probar y recomendar las pruebas más importantes y las técnicas más adecuadas, así como la normalización de las mismas. El contenido de dicha investigación constituye el manual de laboratorio donde se describen y/o se recomiendan técnicas para el trabajo en el laboratorio de andrología y a su vez, es el más reconocido a nivel mundial.

Esto ha significado una base para el control de calidad. Los modelos para el control de calidad requieren evaluación extensa antes de una recomendación general, pero incluso en esta fase todos los laboratorios deben empezar usando esquemas mínimamente de control de calidad interno.

Sin embargo día con día se llevan a cabo nuevas pruebas y metodologías en este campo que materialmente quedan fuera de los valores de referencia que plantea la OMS en su manual, por lo que el investigador debe desarrollar sus propios esquemas de control de la calidad que validen el trabajo realizado y que posteriormente si la investigación es exitosa, lleven al establecimiento de valores de referencia.

En el presente trabajo se pretende implementar herramientas básicas de control de calidad en el laboratorio de andrología, y el contenido es el siguiente:

Los avances recientes en el campo de la andrología, sus aportaciones a la biología de la reproducción y otras áreas de la clínica, además de la utilización del manual de la OMS, y el papel del control de la calidad en el laboratorio. El rezago existente en México en cuanto a la adopción y aplicación de los estándares del manual.

En seguida se menciona la importancia del estudio de los cromosomas sexuales en las enfermedades de origen genético, y el enriquecimiento del manual de la OMS a través de estudios de este tipo.

Después, se analiza la situación de la andrología en México y en el extranjero, para pasar al capítulo I donde se delimita el área de estudio.

En el capítulo II se describen las metodologías utilizadas tanto para el análisis de semen como para la determinación de porcentajes de los cromosomas sexuales.

El capítulo III trata acerca de los aparatos y materiales utilizados en la investigación, donde se describen sus características y fundamentos, para pasar al capítulo IV donde se presenta la tabla de los resultados obtenidos, la aplicación de herramientas básicas del control de la calidad, así como las técnicas alternativas que están disponibles.

Por último en el capítulo V se mencionan las observaciones y aspectos relevantes del estudio que se consideran importantes para el futuro análisis de las siguientes etapas del estudio.

En base a lo anterior se propone el siguiente objetivo:

**Objetivo General.**

Utilizar herramientas básicas del control de la calidad (diagrama causa y efecto, diagrama de flujo, gráfica de control, histograma, diagrama de dispersión y correlación) en los resultados obtenidos de técnicas de evaluación seminal (características del semen), así como de la cuantificación por conteo directo, de porcentajes de cromosomas X o Y por la técnica de quinacrina, en semen humano.

**Objetivos Particulares.**

1. Mostrar las diferentes técnicas de análisis seminal (espermatobioscopia) de acuerdo a los criterios de evaluación del Manual de la Organización Mundial de la Salud.
2. Analizar un grupo de muestras y seleccionar las consideradas como normales.
3. Desarrollar la técnica de determinación del cromosoma Y por medio de fluorescencia en semen. (técnica de Quinacrina)
4. Montar las técnicas de separación de linfocitos y leucocitos polimorfonucleares como controles somáticos positivos y negativos para verificar la presencia de cromosomas X o Y en semen.
5. Identificar las proporciones de espermatozoides con cromosomas X o Y en las muestras normales.
6. Comparar las técnicas utilizadas con otras similares.
7. Analizar los resultados obtenidos mediante herramientas básicas del control de la calidad.

## Hipótesis

En el presente trabajo se busca cuantificar las proporciones de cromosomas X e Y en muestras de semen humano de pacientes clasificados como normales (normozoospermicos) según los criterios de la Organización Mundial de la Salud, por lo que al utilizar las metodologías propuestas por esta organización, se pueden clasificar las muestras de semen para poder utilizar las que sean normales en la cuantificación de cromosomas X e Y, además si se comparan las metodologías existentes con las utilizadas se tiene un mejor panorama de las ventajas y desventajas de dichas técnicas para su mejor aprovechamiento. Además, los resultados pueden ser analizados mediante la aplicación de herramientas de control de calidad como:

El diagrama de causa y efecto, a través del cual se identifican las causas principales de un problema o efecto, además de clasificar y relacionar las interacciones entre factores que afecten el resultado del proceso.

El diagrama de flujo, que permite la comprensión del proceso, con la posibilidad de rediseñarlo o utilizar un método alternativo, además de identificar problemas, oportunidades de mejora y puntos de ruptura en los métodos.

Gráfica de control, permite distinguir entre causas aleatorias y específicas de variación, y se puede monitorear el proceso a través del tiempo, observando que se comporten de manera uniforme y predecible.

Histograma, que ayuda a analizar y/o tomar decisiones cuando se tiene un amplio número de datos que es necesario organizar, además es un medio eficaz para transmitir información de forma precisa e inteligible que permite comparar los resultados con los valores esperados y hacer predicciones del método.

Diagrama de dispersión, al utilizar este método se pueden estudiar e identificar las posibles relaciones entre los cambios observados en dos conjuntos de diferentes variables y proporcionando un medio visual para probar la fuerza de esa posible relación de variables.

Análisis de correlación, en complemento al diagrama de dispersión proporciona una herramienta matemática para comprobar la posible relación de dos variables.

## **Antecedentes**

Como muchos otros campos de la medicina, la andrología se mantuvo, hasta hace poco como una rama poco conocida en nuestro país, principalmente debido a que en muchos casos estaba orientada hacia la biología de la reproducción, y específicamente en la rama que trataba de proveer alternativas a parejas que tienen problemas de infertilidad, no obstante que nuestro país padece el fenómeno de la sobrepoblación, este tipo de programas no es considerado como prioritario (WHO, 2000). De cualquier manera, existen centros de investigación que utilizan muchas de las técnicas usadas en andrología, por lo que hay lugares donde se tienen bien desarrollados dichos procedimientos, y aún en ciertos centros hospitalarios, clínicas y consultorios donde se manejan algunas de las técnicas más usuales; sin embargo, sólo en los centros de investigación y en algunos hospitales se mantiene la constante actualización requerida. En otros lugares se utilizan técnicas de hace 20 años, ya desechadas o bien estándares ya obsoletos, e incluso personal no capacitado, o habilitado en técnicas antiguas, que sólo reportan resultados confusos e ilegibles, y por otro lado, las técnicas utilizadas son sólo las más básicas, por lo que no es posible ofrecer al paciente todas las alternativas existentes para un buen diagnóstico.

En el caso de los centros de investigación, se utilizan las más modernas técnicas, sin embargo, es raro que trabajen directamente con pacientes por lo que queda restringido sólo como investigación básica (Hall, 1995)

A nivel mundial, México presenta un rezago debido a los fondos destinados a las mismas políticas de salud, y al poco interés que se tiene por las parejas que presentan algún tipo de infertilidad o bien problemas de impotencia que se consideran situaciones muy privados y no están considerados como problemas de salud pública.

En países como EE.UU. y los europeos es donde se tiene el mayor desarrollo del área, siendo en estos lugares donde se plantean los estándares a seguir, contribuyendo a crear manuales de referencia como el Manual de la Organización Mundial de la Salud que es el más reconocido en el mundo; además, debido a las condiciones económicas de estos países es donde se tienen los equipos más modernos, el personal mejor calificado y obviamente el presupuesto más elevado, en lugares como el Norfolk Medical Center en EE.UU. o el Reproductive Biology Unit en Edimburgo Escocia donde se marca la pauta en el desarrollo del área. (WHO, 2000).

Pero a pesar de que a primera vista parezca que estamos aislados de los adelantos de otros países, existen en México, centros donde se tiene constante comunicación con el extranjero con respecto a los nuevos adelantos, nuevas investigaciones y nuevas técnicas, algunas de ellas ya aplicadas en dichos centros, donde, el único problema (como se mencionó anteriormente) es que estas condiciones no llegan a los pequeños laboratorios y se sufre un rezago considerable.

Si bien los recursos tanto económicos como tecnológicos son importantes para el desarrollo de un área médica, para el trabajo rutinario existen herramientas de control que nos permiten desarrollar dicho trabajo con niveles altos de seguridad en los resultados como es la calidad en todas sus modalidades.

## **Justificación**

El presente trabajo presenta entre otras cuestiones, la técnica de identificación de cromosomas X e Y por el método de fluorescencia, y establece su importancia relativa en el potencial fértil, además de enriquecer el contenido del Manual de la OMS.

A largo plazo, puede ser la base para la caracterización del potencial reproductivo en una población determinada, ya que se ha comprobado que se comparten diversas similitudes en individuos que viven en determinadas regiones geográficas o bien de acuerdo al tipo racial, a la edad, etc. Además la cuantificación de espermatozoides con cromosomas X o Y puede ser utilizada en clínica, apoyada en programas de fertilización asistida y buenas técnicas de separación de gametos, como una herramienta en el control de enfermedades ligadas al sexo, y obviamente como la posibilidad para las parejas de seleccionar previamente el sexo de su descendencia.

Sin embargo todo esto depende de que las investigaciones, metodologías y resultados sean confiables, y que tengan un buen porcentaje de reproducibilidad. de allí la importancia de implementar un sistema de control de calidad en el proyecto que garantice un grado de seguridad de resultados aceptable.

La competencia internacional y la globalización de las actividades, hace necesaria la aplicación del control de calidad, y no sólo las empresas que ofrecen directamente al cliente un producto o un servicio, sino también los profesionales en la rama de la investigación básica que deben conocer y aplicar las herramientas de la calidad que correspondan. como por ejemplo las técnicas estadísticas para analizar adecuadamente los problemas y tomar decisiones acertadas.

Debido a que en el campo de la investigación científica en muchos casos es difícil separar lo bueno de lo malo, es necesario tener a la mano herramientas que permitan un

porcentaje razonable de seguridad en los resultados, además de que con el control de calidad se puede llevar un margen elevado de organización en las actividades.

Una de las ventajas que se observa en la investigación científica básica, es su flexibilidad para admitir procedimientos nuevos, ya sea para facilitar otros, o bien como herramientas de análisis; en el caso del control de calidad, se pueden utilizar, si no todas, sí la mayoría de las herramientas estadísticas, que obviamente dan entre otras cosas un panorama de la efectividad de las técnicas y procedimientos, incluso del planteamiento inicial de la investigación y lo que se puede esperar de ella.

Para el presente estudio, la propuesta de trabajo pretende, ante todo utilizar las herramientas que permitan tomar el control de la investigación desde la planeación del proyecto de investigación hasta el análisis de los resultados; las herramientas son:

-Diagrama de causa y efecto, que nos da un esquema general de todos los elementos que intervienen en el proyecto de investigación, sus causas y posibles efectos, organizados por orden de importancia.

-Diagrama de flujo, el cual se utiliza para tener un panorama de los diferentes procesos que comprenden la investigación, y aún para su planeación.

-Gráfica de control, a partir de datos estadísticos como la media y la desviación estándar se calculan límites superiores e inferiores con el propósito de saber si los resultados obtenidos están dentro o fuera de un rango de confiabilidad.

-Histograma, esta herramienta, permite identificar la frecuencia con que se presentan los datos, lo que permite ubicarlos en su distribución alrededor de una media aritmética y que además, observar qué tipo de distribución de datos se presenta (estadísticamente hablando).

-Diagrama de dispersión, específicamente sirve para saber **cuan dispersos** están los datos, esto alrededor de una media aritmética y de la desviación estándar.

-Análisis estadístico, que permite, entre otras cosas analizar los datos obtenidos, y obtener valiosos datos acerca de la confiabilidad de los mismos, detectar diferencias significativas entre ellos, y tener así una interpretación matemática de la validez de la investigación.

Además se puede mencionar que dada la muy particular área de investigación, no existen riesgos de interferencia por otros proyectos de investigación como la clonación o los estudios acerca de nuevos medicamentos para la planificación familiar, pues los objetivos de ambos estudios son completamente independientes del presente estudio.

# Capítulo I

Marco teórico

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## **Marco teórico**

La búsqueda de los factores que determinan el sexo de la descendencia ha sido un tema muy importante a lo largo del desarrollo de la civilización, al cual se le ha relacionado con causas diversas, desde religiosas hasta climáticas y muy recientemente con factores genéticos y hormonales. (Carles, 1973; Clayton, 1991; Marshall, 2000).

Con el avance de la genética y la embriología, además de la caracterización de diversas enfermedades ligadas al sexo, se ha hecho aún más importante saber qué factores intervienen en la determinación del sexo.

Se sabe que el acervo genético de la mayoría de los seres vivos incluye cromosomas sexuales denominados (X e Y en el humano), que son los que, durante la fecundación determinan el sexo del producto (Mathews, 1993; McCoshen, 1994). También se sabe que es el espermatozoide del varón el que porta uno u otro cromosoma, por lo que es el determinante para definir el sexo. Sin embargo los factores que determinan por qué fecunda un espermatozoide con cromosoma X y no uno con cromosoma Y o viceversa, aún no está bien definido.

Diversos investigadores han realizado variados trabajos que tratan de aportar un conocimiento mayor en este campo, manejando diferentes variables como ciclos hormonales, fármacos, tipos raciales y aún regiones geográficas (Hyttén, 1982; Pernoll, 1993).

Con el interés por resolver estas incógnitas se han desarrollado diferentes técnicas que han permitido diferenciar los espermatozoides que portan el cromosoma X de los que tienen el cromosoma Y (Batzofin, 1987; Roelof, 1992).

Además, se han implementado una gran variedad de metodologías que permiten analizar otras características de los espermatozoides y del semen en si, como la movilidad y la concentración de este tipo celular, a las que se han denominado análisis seminal.

Las técnicas de análisis seminal han traspasado el plano de la investigación básica y se utilizan actualmente en clínica para detectar anomalías en el semen de pacientes que presentan problemas de infertilidad (Matzuoka, 1995).

Las pruebas más importantes están contenidas en un manual elaborado por la Organización Mundial de la Salud, que tiene el programa más completo sobre este tema y cuenta con investigadores de varios países y actualmente es la referencia en el tema.

Algo importante que se menciona en el manual es minimizar errores que se presenten durante el desarrollo de las metodologías que puedan llevar a resultados dudosos, aunque también menciona la problemática de utilizar células vivas como analitos, por lo que sugiere implementar un sistema de control de calidad mínimo que permita un menor margen de error (Ciisa, 2003; Aguado, 2004).

Sin embargo, con el gran desarrollo que ha tenido la cultura de la calidad, se tiene una gran variedad de procedimientos que permiten llevar un control más seguro del trabajo con resultados más confiables. Las herramientas que están disponibles van desde las básicas como las gráficas de control, y el diagrama causa y efecto hasta sistemas de calidad muy complejos como los desarrollados en las grandes empresas de productos y servicios (Castillo, 2003; Escalante, 2003).

Debido a que la implementación del sistema de control de la calidad está en una fase inicial en el presente trabajo se utilizan las siguientes herramientas básicas:

- Diagrama de causa y efecto
- Diagrama de flujo

- Gráfica de control
- Histograma
- Diagramas de dispersión
- Análisis de correlación

Y se pretende que con su aplicación, se logre un conocimiento más completo de los procesos realizados y que puedan ser analizados para detectar anomalías (Chang, 1999; Kume, 1992).

# Capítulo III

Metodología

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## Metodologías

Las técnicas utilizadas están encaminadas a obtener resultados más confiables, así como reproducibles. En primer lugar, para el procesamiento de las muestras de semen se deben tomar en cuenta ciertas características de los pacientes, por lo que se analizan las muestras antes de ser consideradas para la investigación. Los pacientes resuelven un cuestionario que permite distinguir aquellos pacientes que cumplen los siguientes criterios de selección:

1. Los pacientes deben ser varones
2. Edad entre 20 y 45 años
3. Que asistan a la clínica por infertilidad primaria
4. Que califiquen como normozoospermicos\*
5. Que reporten negativo para:

Chlamydia

Micoplasma

Espermocultivo

Hepatitis y

Cualquier otra enfermedad de transmisión sexual.

\* De acuerdo a los criterios de la OMS del año 2000

Inmediatamente después, la muestra es obtenida por masturbación y depositada en un recipiente adecuado, esto con el objeto de evitar la contaminación, o bien que el material de dicho recipiente tenga alguna reacción química con el semen y corra el riesgo de inactivarse, incluso se evita la posibilidad de choque térmico. Una vez

obtenida la muestra, se toman 500  $\mu$ l para realizar la espermatobioscopia que confirma la calidad de la muestra y se evalúan los siguientes parámetros que son los básicos para la Organización Mundial de la Salud, que es el principal organismo regulador:

-Parámetros macroscópicos (según OMS 2000)

\* Nombre del paciente

\* Hora de toma de la muestra; se toma para tener un registro y evitar dejar pasar menos o más tiempo entre la toma y el examen y que los resultados puedan ser malinterpretados.

\* Hora del examen de la muestra

\* Coagulación, consistencia característica que toma el semen al ser eyaculado.

\* Licuefacción, consistencia del semen después de aproximadamente media hora de haber sido eyaculado.

\* Volumen, cantidad en mililitros del semen, se considera normal entre 2 y 5 ml.

\* Color, que indica en cierta forma la concentración celular, mientras más traslúcido es menor la concentración.

\* pH. Se considera normal un pH de entre 7 y 8, siendo neutro.

\* Viscosidad, consistencia del semen, al principio debe ser alta (coagulación) y transcurrida media hora después, debe tomarse baja (licuefacción).

- Parámetros microscópicos

\*Presencia de aglutinaciones, puntos de aglomeraciones de espermatozoides, pueden considerarse normales cuando son azarosas o inespecíficas, o bien pueden ser cabeza-cabeza, cabeza-cola, cola-cola, que son consideradas anormales, relacionadas a factores de inmunidad.

\*Concentración, cantidad de espermatozoides presentes en la muestra. la concentración normal se considera mayor de 20 millones de células por mililitro.

\*Viabilidad.- Es la cantidad de espermatozoides vivos que se encuentran en el eyaculado.

\*Movilidad y tipo de movilidad, es la cantidad de células que presentan movilidad, que puede ser de cuatro tipos:

- a) movilidad progresiva rápida
- b) movilidad progresiva lenta
- c) movilidad no progresiva
- d) inmovilidad

\*Concentración de otros tipos celulares. En el eyaculado se encuentran además de los espermatozoides, elementos como células del epitelio, detritus celulares, células espermáticas inmaduras y leucocitos, estos últimos indicadores de la presencia de infecciones.

-Si es normozoospermica, el resto de la muestra es separada del semen y de los otros elementos celulares presentes en la muestra, y a continuación se resuspende en reactivo de Carnoy; posteriormente se realizan 3 preparaciones de cada muestra, con el objeto de revisar la homogeneidad de la muestra y como control de calidad, A continuación se elimina el exceso de reactivo de cada preparación, y se deja secar a temperatura ambiente por una noche. En seguida se observan al microscopio para revisar homogeneidad y se tiñen con reactivo de quinacrina, dando una tonalidad fluorescente al cromosoma Y cuando está presente, una vez teñidas, se realiza un conteo de 100 células, y se registran las proporciones de células que contienen el punto fluorescente del cromosoma Y, o aquellas que no lo tienen, son reconocidas como cromosoma X como se observa en la siguiente figura.

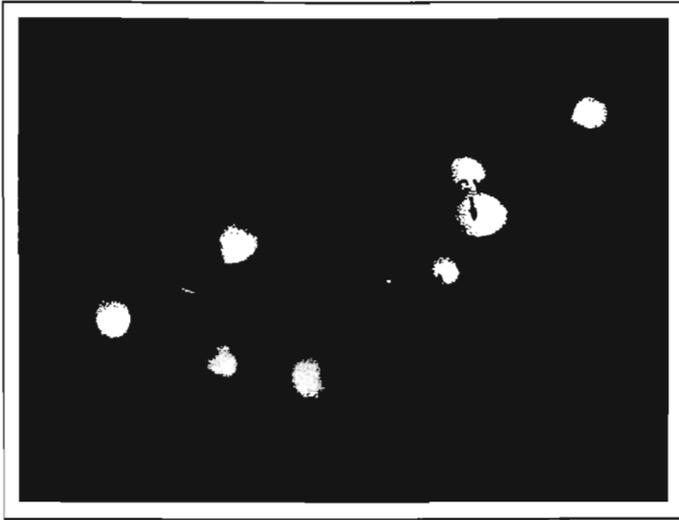


Figura 2.1 Microfotografía de una preparación de quinacrina donde se muestran los espermatozoides con cromosoma Y (punto central fluorescente) y los cromosomas X. Microscopía de fluorescencia 40X

Por último, se registran estas proporciones para su posterior análisis.

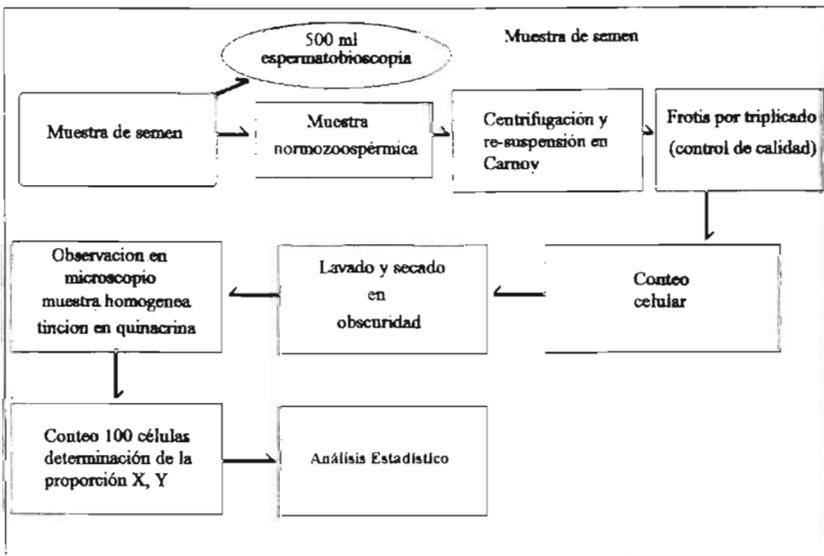


Figura 2.2 Diagrama de flujo que muestra el proceso de preparación identificación y conteo de los espermatozoides X o Y

Debido a posibles fallas en el desarrollo de las técnicas, tanto en la metodología, en los reactivos, y aún los errores de los técnicos que las implementan, se debe tener siempre el respaldo de alguna herramienta que permita monitorear el desarrollo de la técnica principal. En este caso particular se basa en un tipo celular que presenta los cromosomas sexuales y que son fáciles de manipular, dado que las células sanguíneas presentan varias ventajas sobre otras células que se podrían utilizar, la más importante es que existen numerosos estudios que demuestran su fiabilidad para responder a la técnica utilizada. En este caso la aplicación de la técnica sobre las células sanguíneas tiene dos propósitos principales. Primero se utilizaron como control positivo y negativo; y segundo, como control de calidad para los reactivos y la técnica. El procedimiento para controles positivos y negativos inicia con la extracción de sangre periférica a voluntarios masculinos y femeninos, se toman 5 ml de sangre y se le adiciona EDTA (anticoagulante) y 5 ml de buffer de lisis con el objeto de eliminar los tipos celulares que no son de utilidad. A continuación, son separados por medio de la técnica de monogradiante Ficoll-Histopaque, se centrifuga la muestra y el precipitado se resuspende y fija con reactivo de Carnoy. los siguientes pasos son los mismos que en la técnica utilizada en los espermatozoides.

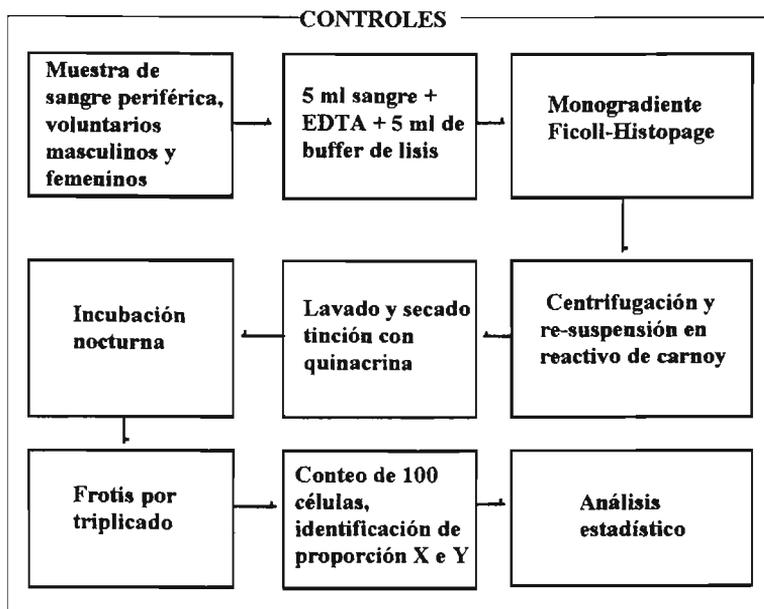


Figura 2.3 Diagrama que muestra el orden seguido en la metodología para la preparación, identificación y conteo de las células sanguíneas utilizadas como controles positivos y negativos

#### Aspectos organizativos

Con respecto al personal presente en el laboratorio se debe considerar que en cierta forma la organización puede parecer un poco diferente, sin embargo en general cumple con las metas y objetivos para la que está planeada: El jefe o encargado de la investigación es por lo general un investigador con doctorado (Ph D.) con uno o varios posdoctorales, y bajo su responsabilidad, se encuentran tanto estudiantes de maestría o bien de doctorado. Estudiantes, tesistas y prestadores de servicio social se encuentran bajo la dirección de los estudiantes de maestría y doctorado, como apoyo se encuentran los técnicos académicos, y personal asociado como posdoctorales o bien estudiantes invitados, ya sea como colaboración o bien como intercambio académico. Además se

tiene al personal secretarial y el de intendencia, en el caso del presente trabajo se cuenta con la siguiente organización:

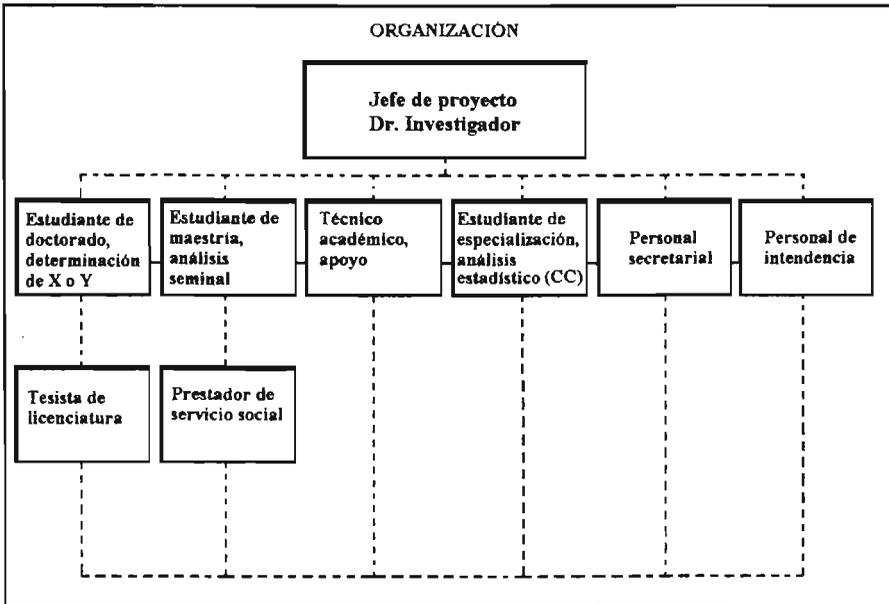


Figura 2.4 Muestra la estructura organizacional del laboratorio de andrología.

# Capítulo III

Instalaciones

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## **Instalaciones**

Las características de un laboratorio de investigación, obligan a considerar los variados objetivos que presenta, como son el generar conocimiento, y brindar servicios a la sociedad como lugar de aprendizaje.

Existe un gran número de áreas en la investigación, por lo que cada una debe tener su estructura particular. En el laboratorio de Andrología se deben tener instalaciones en donde, ante todo se debe mantener la bioseguridad, ya que se trabaja con materiales potencialmente infecciosos y de fácil contaminación, por lo que la esterilidad es de suma importancia así como cuidar que los desechos generados sean canalizados de manera adecuada de acuerdo a la norma NOM-087-ECOL-1995, “Separación, envasado, almacenamiento, recolección, transporte, tratamiento y disposición final de los residuos peligrosos biológico-infecciosos.”

Para mantener los requerimientos de esterilidad se utiliza una campana de flujo laminar que permite trabajar en un ambiente libre de contaminantes, donde se pueden manipular tanto medios de cultivo, como células y es donde se realiza la manipulación de la muestra, tanto la espermatobioscopia inicial como posteriormente la separación de los espermatozoides del semen.

Campana de flujo laminar.

Son utilizadas en técnicas que requieren controlar la contaminación microbiológica proporcionando aire estéril y un flujo que permite el trabajo sin perturbaciones.

Características:

Cuerpo de acero inoxidable, base de acero esmaltado, lámpara UV (luz ultravioleta), luz fluorescente y filtro absoluto (HEPA pureza 99.97 a 99.999%) utilizado, que garantiza la retención de partículas de 0-3  $\mu\text{m}$  en adelante.

Cumple su función a través de dos mecanismos:

1. Retención de partículas mediante filtración.
2. Emisión de un flujo de aire moderado y uniforme de tal manera que adquiere la forma de los objetos colocados en el área de trabajo, evitando el contacto con otras corrientes de aire.

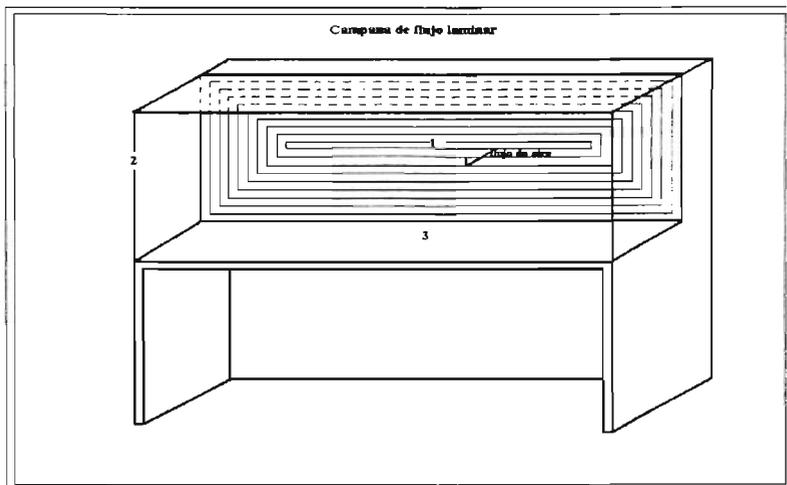


Figura 3.1 Vista esquemática de una campana de flujo laminar: 1) Rejilla y elemento filtrante; 2) Pantalla de acrílico; 3) Área de trabajo.

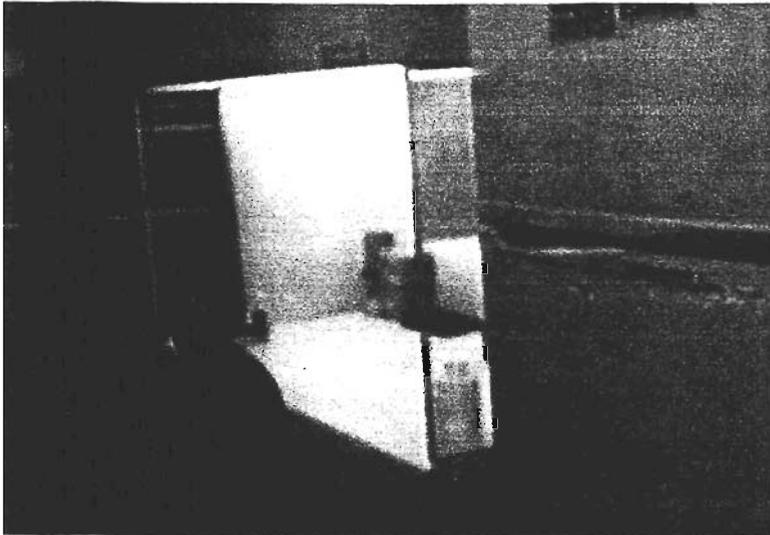


Figura 3.2 Campana de Flujo Laminar Novatec modelo CFLH180

### Microscópio óptico

El segundo aparato en importancia es el microscopio óptico que permite evaluar la muestra durante la espermatobioscopia para diagnosticar si la muestra es viable para el estudio.

El microscopio es básicamente un tubo cilíndrico que aloja el sistema óptico ocular/objetivo. Una platina de original diseño permite observar las preparaciones, que son iluminadas por un espejo cóncavo que concentra la luz sobre el objeto a estudiar.

Una barra-guía, solidaria con un limbo dentado, permite que tubo, portaobjetos y espejo puedan deslizarse a lo largo de ella con el fin de facilitar los ajustes ópticos necesarios.

El enfoque se realiza desplazando el tubo mediante un mecanismo de cremallera. La inclinación del microscopio se logra mediante un mecanismo de piñón que hace girar el limbo.

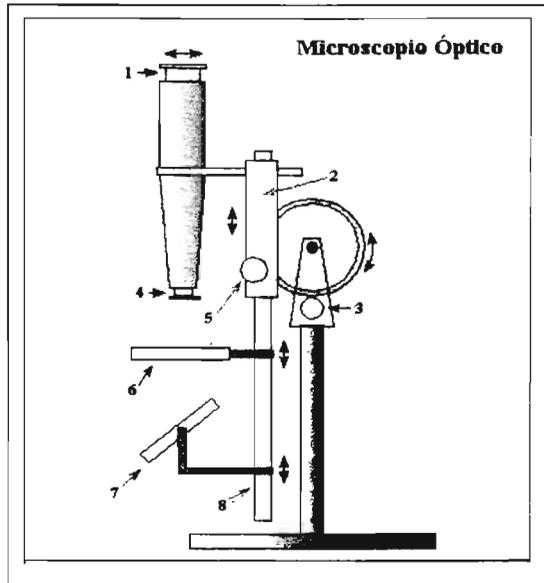


Figura 3.3 Vista esquemática de un microscopio óptico con sus principales componentes: 1) ocular; 2) mecanismo de cremallera; 3) piñón de mando de inclinación; 4) objetivo; 5) mando de enfoque; 6) platina; 7) fuente de luz; 8) barra guía.

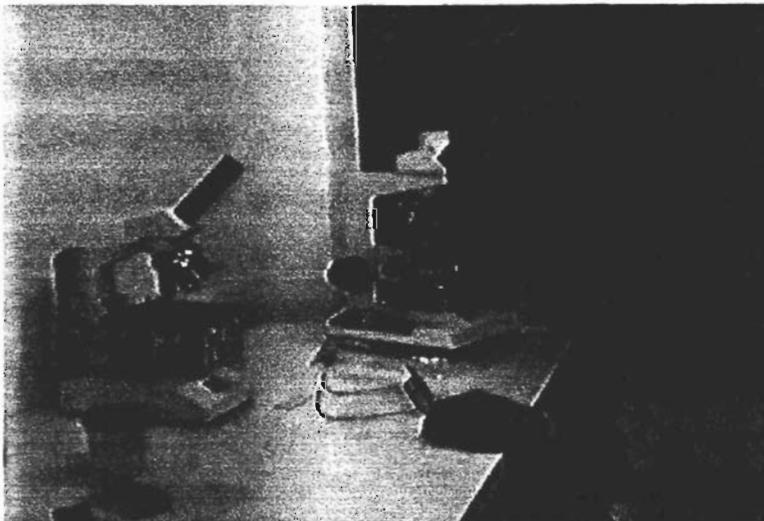


Figura 3.4 Microscopios ópticos UNICO modelos 9460 y 9600.

### Centrífuga clínica

La centrífuga clínica se usa para separar las células espermáticas del fluido seminal y de los otros elementos presentes en el semen. El aparato consiste de un motor que al girar transmite el movimiento a un carrusel que a su vez hace girar los tubos de ensaye y separa las fases a través de la fuerza centrífuga generada.

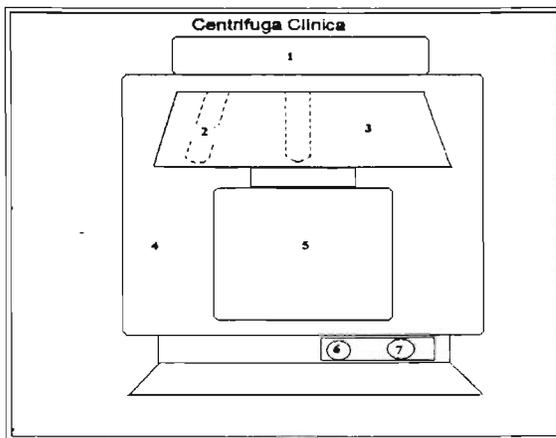


Figura 3.5 Vista esquemática de una centrífuga clínica con sus principales partes:

1) tapa protectora; 2) camisa; 3) carrousel; 4) cuerpo de la centrífuga; 5) motor; 6) control de velocidad; 7) control de tiempo.



Fig. 3.6 Centrifuga refrigerada Beckman JA.21

#### Incubadora de bióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ )

La incubadora de  $\text{CO}_2$ , permite trabajar, almacenar y mantener las muestras y los medios de cultivo bajo condiciones controladas de temperatura y flujo de gases.

El aparato funciona por medio de resistencias que generan calor y un sistema de administración de  $\text{CO}_2$  y agua, una computadora regula la temperatura, el flujo del gas y agua programados previamente de acuerdo al tipo de cultivo específico.

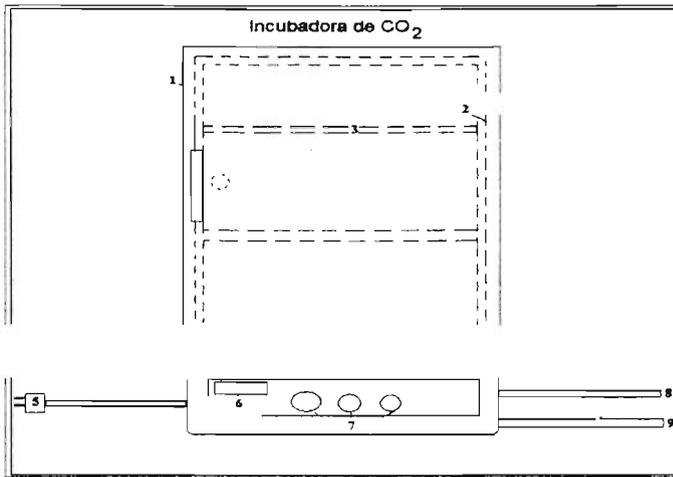


Figura 3.7 Vista esquemática de una incubadora de CO<sub>2</sub> que muestra sus principales partes: 1) puerta principal; 2) puerta de cristal de seguridad; 3) entrepaños interiores; 4) resistencia; 5) toma de corriente; 6) display digital; 7) controles; 8) toma de CO<sub>2</sub>; 9) toma de agua (H<sub>2</sub>O).

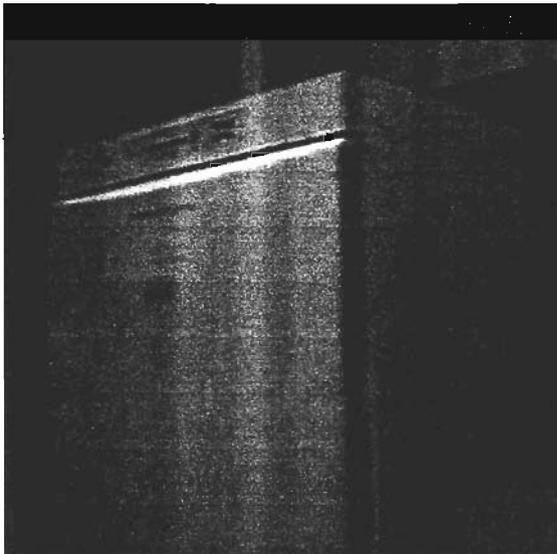


Fig. 3.8 Incubadora de CO<sub>2</sub> marca Therm 06056 mod. I-53325 utilizada en la investigación.

### Microscopio de fluorescencia.

El microscopio es utilizado para, una vez realizado el procedimiento de tinción, identificar los espermatozoides X de los Y en la muestra.

El microscopio de fluorescencia mantiene el fundamento de un microscopio óptico, sin embargo la luz generada es específica pues la muestra es tratada con reactivos que al contacto con este tipo específico de luz, fluorescen.

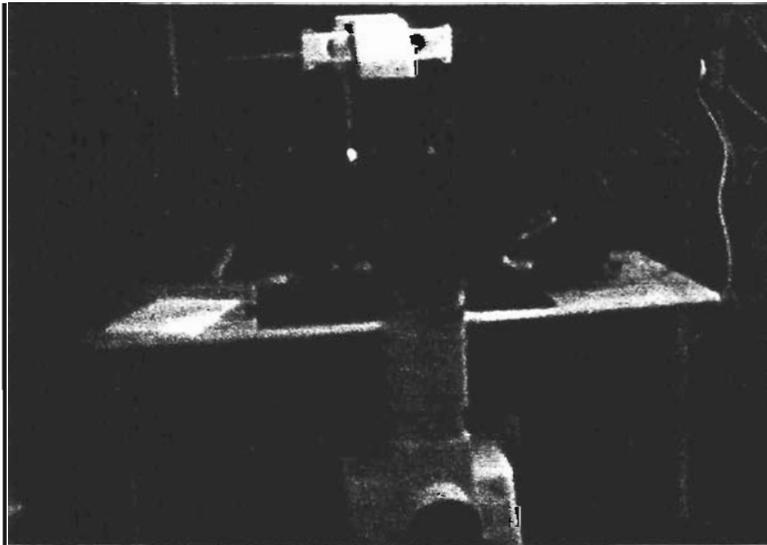


Fig. 3.9 Microscopio de fluorescencia Nikon modelo Eclipse-600 utilizado en la investigación.

### Campana de extracción.

Durante la tinción de la muestra, por lo general se utilizan reactivos volátiles y potencialmente tóxicos, por lo que se necesita una campana que extrae los vapores y olores y los neutraliza, evitando cualquier tipo de intoxicación al personal, o bien de mezclas de vapores que puedan representar algún tipo de peligro.

La campana de extracción de humos y vapores tóxicos sirve para manejar en un ambiente aislado y controlado, aquellos productos volátiles peligrosos.

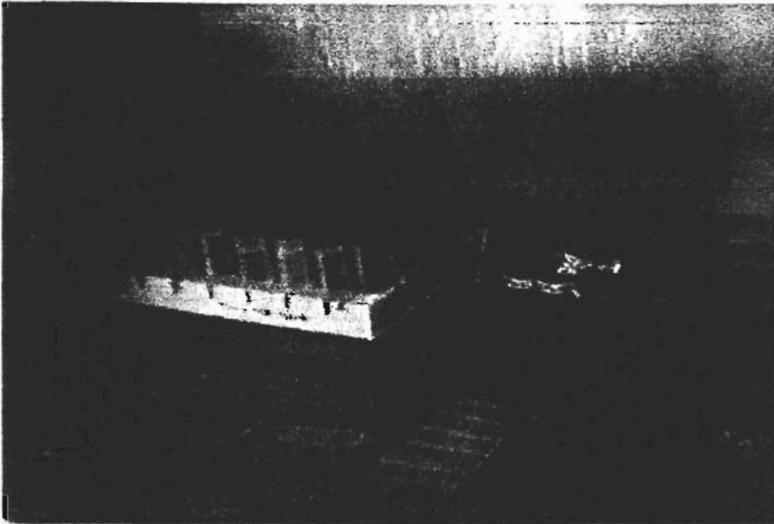


Fig. 3.10 Campana de extracción de vapores Novatec mod. CE 180-BA

El sistema de extracción provoca un vacío, ya que se coloca al final de un tubo conductor, permitiendo un flujo positivo y evitando al máximo las turbulencias, los sistemas de gases que empujan en lugar de succionar los gases. Su operación debe ser fácil y silenciosa.

- Construida totalmente de acero inoxidable y puerta de tipo guillotina con vidrio de seguridad.

Consta de: gabinete base, campana (la cual puede sustituirse sola para colocarse en otro mueble).

Fabricada con medidas exteriores de 180 x 120 x 65 cm, en acero inoxidable calibre 22 en su cuerpo y calibre 18 en el fondo de trabajo, ambos en aleación 304, debe tener turbina de tiro forzado para efficientizar la extracción y cristal a prueba de impactos que cumple con la norma **2.2** NOM-009-STPS-1993, "Condiciones de seguridad e higiene

para el almacenamiento, transporte y manejo de sustancias corrosivas, irritantes y tóxicas en los centros de trabajo”.

Especificaciones:

- Nivel de ruido mínimo de 30 a 42 db
- Vibración: imperceptible
- Voltaje: 120 volts
- Intensidad de corriente: 2 amperes
- Potencia: 200 watts

Potenciómetro.

El medidor de pH permite controlar la acidez de los reactivos y además registra la acidez o basicidad de la muestra seminal, que en muchos casos es indicativo de anormalidades.

El aparato determina el pH, midiendo el voltaje generado ( en milivolts ) por un electrodo de vidrio que es sensible a la actividad del ión  $H^+$ , y es comparado contra un electrodo de referencia, que genera un voltaje constante e independiente del pH. El electrodo de referencia que se utiliza es el de calomel saturado con cloruro de potasio, el cual sirve como puente salino que permite el paso de los milivolts generados hacia al circuito de medición.

La cadena electroquímica de este sistema de medición es :

$Hg / Hg_2Cl_2 - Sol\ Sat\ KCl // Vidrio / HCl\ 0.1N / Ag - AgCl$

## Potenciómetro

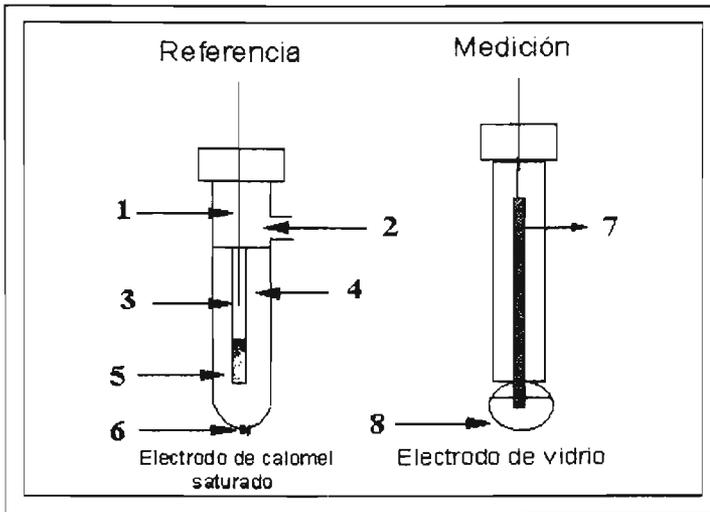


Fig. 3.11 Vista esquemática de los electrodos de un potenciómetro y las partes que los componen. Electrodo de referencia: 1) alambre de platino; 2) tubo de relleno; 3) mezcla Hg-Hg<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; 4) solución saturada de KCl; 5) lamina de vidrio; 6) fibra de asbesto; Electrodo de medición: 7) Ag-AgCl; 8) membrana de vidrio.



Fig. 3.12 Medidor de pH EUTEC Cyberscan pH 500

Características principales:

Escala normal: 0-14 unidades de pH

División de escala: 0.1 unidades de pH

Exactitud: +/- 0.05 unidades de pH

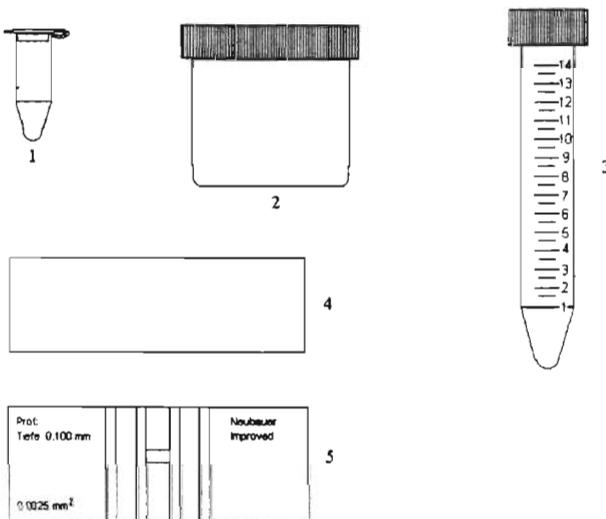
Intervalo en ° C: 0-100

División de escala ° C: 2

Material de rutina

Entre el material de uso cotidiano se considera a las pipetas estériles desechables, cubre-objetos, porta-objetos, lámparas de alcohol o gas, tubos de ensaye, tubos de transferencia, los frascos de toma de muestra, jeringas desechables, tubos para micro-centrífuga, cámaras especiales de conteo, como la de Neubauer o Mackler, guantes estériles desechables, para evitar contaminación, así como cubrebocas, batas, y los medios de cultivo, entre ellos el Medio Ham F-10 y Chang, o bien los reactivos utilizados en las técnicas como la solución salina fisiológica, el reactivo de Quinacrina y Carnoy.

Material de laboratorio de rutina



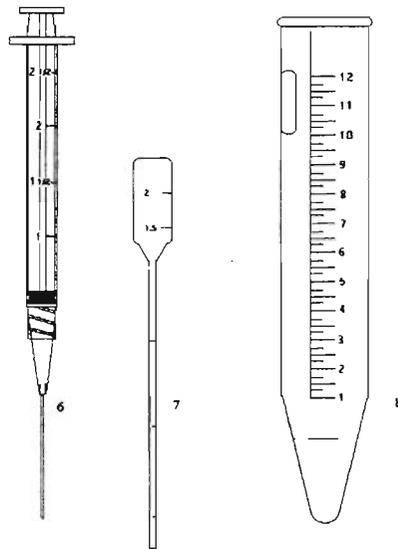


Fig. 3.13 Vistas esquemáticas de algunos de los materiales usados en la rutina del laboratorio: 1) tubo Eppendorf para micro-centrifuga; 2) Frasco para toma de muestra; 3) Tubo para manejo de muestra desechable; 4) Portaobjetos; 5) Cámara de Neubauer; 6) Jeringa desechable; 7) Pipeta Pasteur desechable; 8) Tubo de transferencia de cristal.

# Capítulo I /

Resultados y análisis

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

## Análisis de resultados.

**Tabla de resultados** de las principales características del análisis seminal, así como de los porcentajes de espermatozoides portadores de cromosomas X e Y de los 100 pacientes voluntarios seleccionados para el estudio, en las columnas se observa progresivamente: el número del paciente, la concentración de espermatozoides en millones de células por mililitro de muestra, el porcentaje de células vivas, el porcentaje de la movilidad general, y el porcentaje de la movilidad tipo A o progresiva rápida, así como cada una de las tres repeticiones realizadas para cuantificar el porcentaje de células con cromosomas X o Y.

## RESULTADOS

Paciente	Concen- tración	Viabilidad	Movilidad Gral.	M. Tipo A	Lectura 1		Lectura 2		Lectura 3		Morfolo- gía
número	Millones/ ml	(%)	(%)	(%)	Cromoso ma. X1	Crom. Y1	Com. X2	Crom. Y2	Crom X3	Crom. Y3	Normal
1	260	85	90	85	56	44	53	47	50	50	35
2	63	90	60	50	54	46	49	51	50	50	40
3	734	85	40	20	57	43	53	47	49	51	44
4	49.5	93	78	70	57	43	50	50	50	50	35
5	236.25	94	70	53	55	45	53	47	52	48	33
6	1190.8	85	85	80	55	45	54	46	50	50	42
7	307	95	95	93	50	50	49	51	52	48	50
8	468	95	75	60	52	48	50	50	49	51	42
9	293.95	70	50	15	43	57	46	54	49	51	38
10	142	90	80	75	50	50	48	52	53	47	35
11	57	96	95	80	52	48	50	50	47	53	36
12	600	95	60	45	56	44	50	50	45	55	41
13	219	80	80	70	52	48	56	44	50	50	43
14	844.25	90	95	90	48	52	50	50	49	51	32
15	305.25	95	95	90	53	47	56	44	50	50	33
16	96	95	85	70	52	48	50	50	47	53	40
17	105.6	93	70	35	58	42	53	47	55	45	41
18	62	95	90	85	52	48	50	50	51	49	44
19	873.6	85	95	93	50	50	49	51	51	49	53
20	300.8	95	85	70	57	43	56	44	55	45	51
21	132.5	95	80	55	49	51	51	49	47	53	33
22	423.9	95	95	93	50	50	49	51	53	47	32
23	110.75	95	70	60	48	52	53	47	49	51	33
24	89.5	90	85	80	57	43	53	47	51	49	36
25	350	90	90	75	57	43	54	46	53	47	39
26	45	95	75	70	57	43	53	47	52	48	38

27 *											
28	30	90	70	70	50	50	53	47	49	51	35
29	416.5	90	95	80	52	48	49	51	50	50	38
30 *											
31 *											
32	143	90	85	38	47	53	48	52	50	50	32
33	222	90	95	90	52	48	50	50	49	51	36
34	82	95	95	90	54	46	50	50	52	48	38
35	152	80	80	50	48	52	50	50	49	51	42
36	95.7	93	95	90	56	44	53	47	51	49	33
37	50	85	43	38	58	42	54	46	50	50	52
38	250	95	10	8	54	46	50	50	52	48	36
39	350	95	95	93	48	52	49	51	48	52	38
40	382.5	90	95	92	58	42	50	50	54	46	36
41	307.45	80	70	50	44	56	49	51	51	49	39
42	233.4	85	85	80	52	48	50	50	56	44	52
43	418	80	70	65	54	46	50	50	55	45	33
44	152.25	85	85	82	46	54	48	52	47	53	39
45	143	80	40	50	50	50	53	47	51	49	34
46	98.5	80	70	50	47	53	48	52	50	50	37
47	295	95	85	80	44	56	46	54	49	51	38
48	241.5	85	85	80	52	48	50	50	49	51	31
49	517.7	85	90	80	56	44	55	45	53	47	33
50	435	80	95	90	53	47	50	50	51	49	53
51	63	90	60	50	48	54	44	58	50	50	51
52	49.5	93	78	70	84	16	83	17	80	20	50
53	142	90	80	75	86	14	89	11	85	15	46
54	57	96	95	80	72	28	77	23	75	25	35
55	96	95	85	70	84	16	80	20	86	14	37
56	105.6	93	70	35	74	26	71	29	77	23	50
57	62	95	90	85	72	28	70	30	74	26	47
58	132.5	95	80	55	96	4	90	10	93	7	45
59	110.75	95	70	60	68	32	74	26	70	30	40
60	89.5	90	85	80	83	37	65	35	66	34	46
61	45	95	75	70	61	39	65	35	63	37	35
62	30	90	70	70	66	34	65	35	63	37	36
63	143	90	85	38	60	40	63	37	68	32	30
64	82	95	95	90	60	40	64	36	66	34	33
65	152	80	80	50	71	29	73	27	75	25	40
66	95.7	93	95	90	69	31	70	30	73	27	41
67	50	85	43	38	79	21	80	20	76	24	36
68	152.25	85	85	82	61	39	63	37	65	35	50
69	143	80	40	50	70	30	70	30	73	27	39
70	98.5	80	70	50	78	22	79	21	75	25	43
71	193.2	90	95	93	86	14	83	17	80	20	46
72	116	80	85	80	74	26	70	30	75	25	44
73	119.43	85	95	90	72	28	70	30	73	27	46
74	182	85	90	85	65	35	66	34	70	30	44
75	117	85	97	95	72	28	70	30	74	26	45
76	146	95	95	90	70	30	65	35	72	28	49
77	68	92	83	78	80	40	68	34	63	37	48
78	116.6	98	95	93	72	28	70	30	79	21	33
79	27	90	80	70	69	31	70	30	74	26	37

80	169.28	85	85	75	78	22	76	24	72	28	38
81	155.5	85	90	85	88	12	80	20	83	17	31
82	67	90	90	85	12	88	11	89	15	85	34
83	100	90	70	50	37	63	35	65	40	60	40
84	93	95	78	65	22	78	21	79	25	75	41
85	88.5	75	90	80	30	70	31	69	32	68	46
88	160	95	95	90	5	95	7	93	10	90	33
87	168	85	68	53	14	86	11	89	15	85	39
88	91.8	96	85	80	30	70	31	69	27	73	40
89	91.2	90	45	33	96	4	80	20	93	7	50
90	147.5	90	90	85	90	10	89	11	95	5	53
91	166	95	95	93	10	90	15	85	8	92	52
92	68.4	97	46	35	55	45	53	47	47	53	39
93	58.3	90	56	60	97	3	95	5	90	10	34
94	79.6	88	68	60	56	44	46	54	45	55	54
95	56	75	70	56	55	45	53	47	50	50	50
96	69	78	60	50	56	44	49	51	57	43	38
97	44.9	80	65	60	55	45	42	58	50	50	44
98	66.93	78	70	56	44	56	51	49	48	52	46
99	56.8	90	80	73	68	32	70	30	72	28	30
100	58.7	78	70	50	22	78	20	80	30	70	45

Figura 4.1 Tabla de resultados. Los valores mostrados fueron seleccionados en base a los criterios de la Organización Mundial de Salud para evaluación seminal (WTIO, 2000).

Nota: Los resultados de los sujetos marcados \* fueron excluidos del estudio por no cumplir con las características para muestras normales.

## Metodologías Alternativas

Las metodologías desarrolladas para el presente trabajo fueron seleccionadas en base al material y reactivos disponibles, la confiabilidad al implementar las técnicas y la necesidad de personal especializado. Sin embargo, existen otras metodologías disponibles: En el caso del análisis de semen, en la actualidad se utilizan principalmente métodos automatizados como los sistemas CASA (Computer Aided Semen Assesment) de Hamilton-Thorne que consiste en un analizador de imágenes conectado a una computadora, que analiza las imágenes y nos da los principales parámetros del semen. Esto significa un proceso rápido y totalmente automático, sin embargo existe la posibilidad de error debido principalmente a que puede haber “falsos positivos” al ser tomadas como espermatozoides células que no lo son pero que tienen las mismas medidas o la misma forma que las células seminales; además de su alto costo y lo que significa la dependencia tecnológica de las computadoras (tabla 4.2).

### Análisis seminal

Técnica alternativa 1	Técnica alternativa 2	Propuesta
Análisis de semen		
Análisis de semen de manera manual por criterios no de OMS.	Análisis automatizado, por medio de un sistema computerizado y un analizador de imágenes (sistema CASA).	Análisis de semen de manera manual por criterios de la OMS.
Ventajas: se toman en cuenta pocos criterios, es rápido de realizar, se necesitan pocos recursos y equipo y personal.	Ventajas: Apegado a los estándares fijados por la OMS, rápido, fácil de usar, y con un buen porcentaje de confiabilidad.	Ventajas: Apegado a los estándares fijados por la OMS, utilizando un sistema de calidad, accesible con respecto a instalaciones, equipo y presupuesto.
Desventajas: En algunos casos los resultados son subjetivos, las técnicas están fuera de uso o bien han sido modificadas.	Desventajas: Equipo de precio muy elevado, dependiente de mantenimiento y calibración adecuado	Desventajas: Es en algunas técnicas lento, y la confiabilidad depende de la preparación y experiencia del personal.

Tabla 4.2 Comparativo de las técnicas utilizadas en el análisis seminal y otras metodologías existentes, sus ventajas y desventajas.

En el caso de la identificación y cuantificación de los cromosomas X e Y existen dos tipos principales de metodologías desarrolladas o bien modificadas. A saber, la Citometría de Flujo y la Hibridación *in situ* Fluorescente (FISH).

La citometría de flujo consiste en el análisis de células en suspensión que interfieren de forma individual con una fuente de luz. La intersección de cada célula con una luz láser provoca la emisión de una serie de señales luminosas que permite diferenciar poblaciones celulares dentro de una muestra analizada por su tamaño relativo, por sus granulaciones o bien por su reactividad con fluorocromos.

La técnica de FISH es de alguna manera el perfeccionamiento de la técnica de microscopía de fluorescencia, y es el resultado de la combinación tecnológica de fluorocromos altamente eficientes, microscopía láser confocal (un sistema por el cual los objetos microscópicos son explorados en sucesivos planos bidimensionales mediante un láser, los cuales después se recomponen en forma digital gráfica tridimensional) y procesamiento digital de imágenes. Este conjunto permite observar al mismo tiempo diferentes segmentos cromosómicos en distintos colores.

Estas metodologías son altamente eficientes, sin embargo por su tecnología, alto costo y la necesidad de tener personal especializado, es en pocos lugares donde se puede tener acceso a ellos.

Para realizar el presente estudio e identificar las estructuras cromosómicas y compararlas entre las que tienen el cromosoma X del Y, la técnica de fluorescencia por Quinacrina resultó ser un método confiable, sencillo, eficiente y comparativamente de bajo costo; además de no requerir de tecnología tan elevada ni de personal tan especializado como las otras técnicas (tabla 4.3).

## Determinación y cuantificación de X o Y

Técnica alternativa 1	Técnica alternativa 2	Propuesta
<b>Determinación y cuantificación de X o Y</b>		
Hibridación in situ Fluorescente (FISH)	Citometría de flujo	Método de Fluorescencia para la identificación de los cromosomas sexuales X o Y.
Ventajas: Es la evolución y perfeccionamiento de la técnica de fluorescencia, pero asistida por equipo altamente especializado y complejo, realizado de manera automática y eficiente.	Ventajas: Técnica altamente eficiente debido principalmente al equipo utilizado, el cual trabaja por medio de rayo láser.	Ventajas: Relativamente económico, confiable y fácil de implementar.
Desventajas: Equipo de costo muy elevado, además de la necesidad de personal altamente calificado.	Desventajas: Al igual que al FISH, tiene un alto costo y se necesita personal entrenado específicamente.	Desventajas: Dependiente de la buena preparación de los reactivos y de la capacidad del técnico que analiza. Necesidad de monitor también controles positivos y negativos para evaluar la efectividad de los reactivos.

Tabla 4.3 Comparativo de las técnicas utilizadas en la determinación y cuantificación de cromosomas X o Y, y otras metodologías existentes, sus ventajas y desventajas

Con respecto al análisis de semen, los procedimientos realizados por la computadora están basados en los métodos realizados por un técnico, por lo que la única diferencia podría radicar en la interpretación de los resultados, es decir en los conteos y en las cuantificaciones de viabilidad de las movilidades espermáticas, sin embargo en estudios realizados no se han encontrado diferencias significativas entre la computadora y un técnico bien capacitado con un sistema de control.

### **Aplicación de las herramientas del control de la calidad.**

Las diferentes facetas de un mismo proceso generan una gran cantidad de datos, y cuando éste, es un proceso productivo, estos datos se vuelven importantes, debido a que cuando ocurren desviaciones, o bien, el producto final presenta defectos o está fuera de especificaciones, los datos de los procesos parciales pueden ser de utilidad para descubrir y obviamente corregir las fallas.

El control de calidad es el más importante sistema para controlar los procesos de producción, y a su vez el control estadístico de procesos más importante que nos permite analizar esos datos, y presentarlos de manera que podamos observar claramente el proceso y aún predecir a futuro, con la consabida posibilidad de solucionar los problemas que se puedan presentar.

Los métodos estadísticos ayudan a comprender los procesos, a controlarlos y luego mejorarlos, y así evitar que se pierda tiempo solucionando problemas en vez de mejorar el sistema. Lo que los métodos estadísticos hacen es señalar la presencia de causas especiales.

En el control de calidad existen en principio siete herramientas estadísticas útiles para resolver problemas de calidad en los procesos productivos y son:

**Diagrama de causa y efecto:** También conocido como espina de pescado por su forma, o diagrama de Ishikawa, en honor a Kaoru Ishikawa, se usan junto con una tempestad de ideas a fin de evaluar los factores que puedan influir en determinada situación. Es una situación, condición, o evento deseable o no deseable producido por un sistema de causas.

Las causas menores con frecuencia están agrupadas alrededor de cuatro categorías básicas: materiales, métodos, mano de obra y maquinaria.

- 1.- El proceso mismo de creación es educativo. Pone en marcha una discusión y los unos aprenden de los otros.
- 2.- Le ayuda al grupo a concentrarse en el tema que está en discusión, reduciendo las quejas y las discusiones que no vienen al caso.
- 3.- Da por resultado una búsqueda activa de la causa.
- 4.- Con frecuencia deben recopilarse datos.
- 5.- Pone de manifiesto el nivel de entendimiento. Cuanto más complejo sea el diagrama, tanto más especializados serán los trabajadores con respecto al proceso.

Cómo elaborar un diagrama de causa y efecto:

1. Definir claramente el efecto o sintoma cuyas causas han de identificarse.
2. Encuadrar el efecto a la derecha y dibujar una línea gruesa central apuntándole.
3. Usar lluvia de ideas (Brainstorming) o un enfoque racional para identificar las posibles causas.
4. Distribuir y unir las causas principales a la recta central mediante líneas de 70°.
5. Añadir subcausas a las causas principales a lo largo de las líneas inclinadas.
6. Descender de nivel hasta llegar a las causas raíz (fuente original del problema)
7. Comprobar la validez lógica de la cadena causal.
8. Comprobación de integridad: ramas principales con, ostensiblemente, más o menos causas que las demás o con menor detalle.

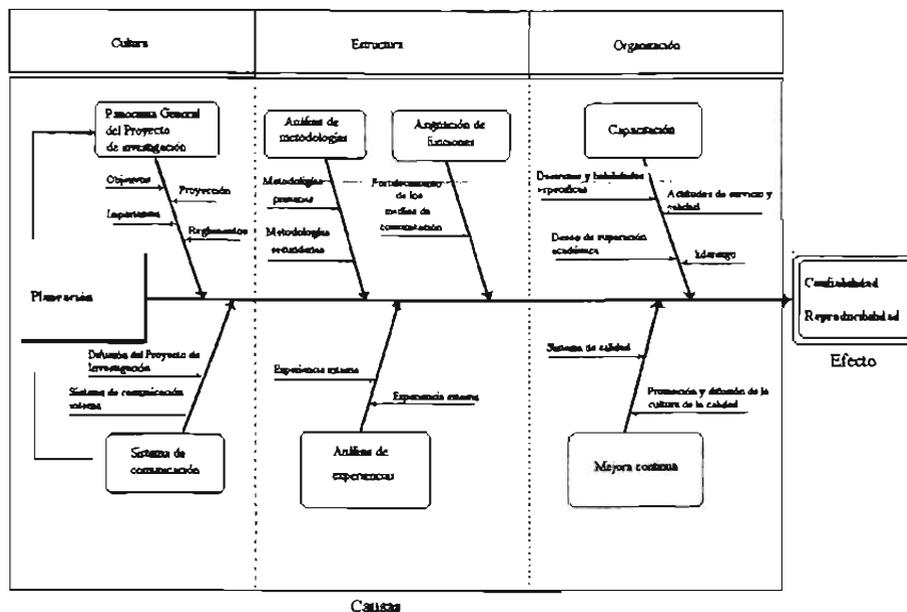


Figura 4.4 Diagrama causa y efecto para analizar la confiabilidad y reproducibilidad de resultados

El diagrama de causa y efecto, como se mencionó anteriormente, nos ayuda a identificar y categorizar las situaciones que pudieran afectar el objetivo final de una actividad; específicamente, los objetivos finales son la confiabilidad y reproducibilidad de los resultados a obtener y que para lograr dichos objetivos, existen tres aspectos principales que engloban las posibles variables que se deberán controlar: el cultural de la investigación, el estructural y el de organización.

El aspecto cultural, es el que contempla el panorama general del proyecto, esto es, los objetivos de la investigación, la importancia y proyección además de la reglamentación a seguir, parámetros éticos e institucionales que se deben acatar; por otra parte el sistema de comunicación que se adopte debe incluir la difusión del propio proyecto de

investigación entre los miembros del equipo, así como formas de comunicación internas eficientes.

Aspecto estructural: el cual contiene el análisis de las metodologías a seguir, así como la asignación de las funciones y un análisis de las experiencias que enriquezcan el proceso. Con respecto al análisis de las técnicas, se deben analizar las más adecuadas de acuerdo a los factores determinantes como son objetivos, presupuesto, instalaciones, equipo y personal de que se dispone. La asignación de funciones adecuada, permite la eficiencia del proceso, además se deben fortalecer los sistemas de comunicación para que no exista atraso o pérdida de información. Además se tiene que contemplar un análisis de experiencias tanto internas como externas que enriquezcan y retroalimenten al proyecto de investigación.

El aspecto de organización implica la capacitación y mejora continua a través de variables como el desarrollo de habilidades, conciencia del papel en el proceso de cada miembro del equipo, liderazgo, así como la motivación hacia la superación personal, sin olvidar que todo esto se orienta hacia la calidad a través de un sistema de calidad, que debe ser difundido entre todos los integrantes del equipo.

Todos los aspectos anteriores son los que se consideran más importantes para obtener buenos niveles de confiabilidad y reproducibilidad en los resultados de la investigación.

Diagrama de flujo: El diagrama de flujo constituye un método extremadamente útil para delinear el orden de las etapas del proceso, para luego trazar en forma gráfica cómo está sucediendo en la realidad. Al proceder de esta manera se pueden descubrir de inmediato fallas tales como la redundancia, la ineficiencia o las malas interpretaciones.

El diagrama muestra cada uno de los pasos principales de la técnica de manera secuencial para poder seguir paso a paso el método.

El tener la seguridad de que los resultados son reales motiva para implementar técnicas que muestran la efectividad de la metodología a través de controles positivos y negativos, esto es, una célula o tejido que reaccione específicamente a la técnica y que presente un resultado ya previsto, igual que en el anterior diagrama, muestra paso a paso la metodología utilizada.

Cómo elaborar un diagrama de flujo:

1. Discutir la utilización del diagrama de flujo.
2. Decidir sobre el resultado de la sesión.
3. Definir los límites del proceso, identificando el primer y último paso necesarios.
4. Documentar cada paso en forma secuencial.
5. En puntos de decisión o bifurcación, escoger una rama.
6. Seguimiento del proceso desconocido, tomar nota y continuar.
7. Repetir los pasos 4, 5 y 6 hasta alcanzar el último paso del proceso.
8. Retroceder y trazar el diagrama de las otras ramas siguiendo el mismo proceso.
9. Revisar completamente sin omitir pequeños bucles o casos especiales.
10. Decidir cómo rellenar aquellas partes del proceso que no son bien conocidas.
11. Analizar el diagrama una vez seguros de que el diagrama está completo.

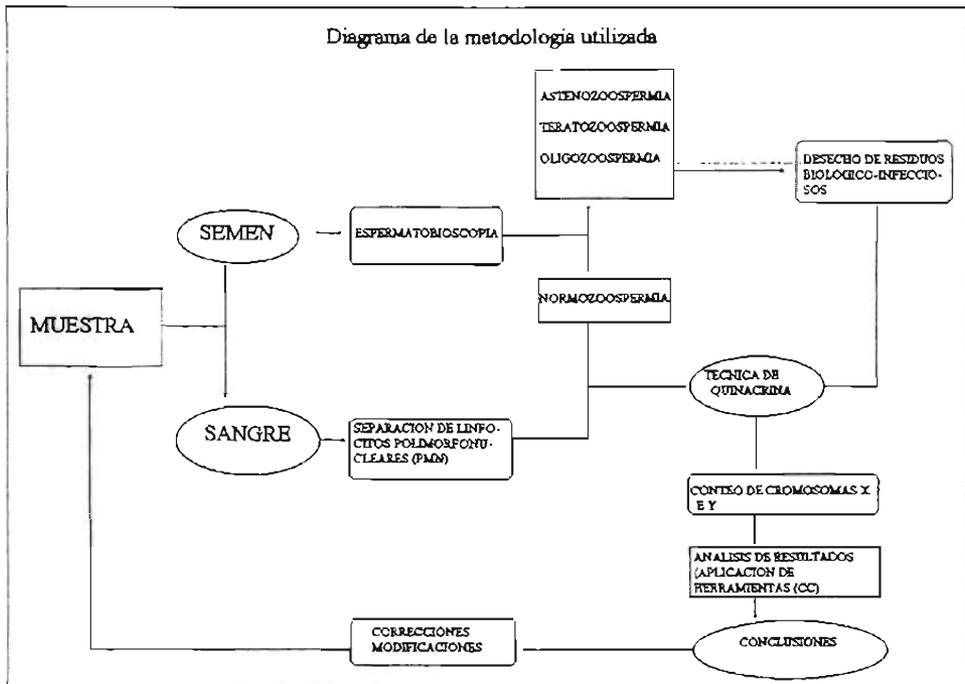


Figura 4.5 Diagrama de flujo seguido en cuanto a la metodología para la determinación de las características de la muestra, la determinación y conteo de los espermatozoides con cromosoma X o Y, así como de los controles sanguíneos.

Se puede observar que la muestra comprende la muestra sanguínea (para determinar los controles), así como la muestra de semen la cual es sometida a espermatobioscopia para saber las características seminales, si es normal sigue el proceso, si no, la muestra es desechada. En el caso de la sangre, es separada en sus componentes (precipitado y sobrenadante) por centrifugación, el sobrenadante es el que contiene los leucocitos polimorfonucleares (PMN) que son los elementos celulares que serán sometidos a la prueba. Posteriormente, el suero y el semen son sometidos a la técnica de quinacrina, de la cual se obtienen las preparaciones para ser observadas al microscopio de fluorescencia y determinar los porcentajes de células con cromosoma X o Y en el caso

del semen y el suero es utilizado como control positivo y negativo (dependiendo del sexo del donador).

Los resultados de las muestras seminales son registrados (tabla 4.1), para su posterior análisis. Una vez analizados, se plantean observaciones y recomendaciones, y si éstas incluyen la metodología, retroalimentarán el proceso.

**Histograma (diagramas de distribución de frecuencias):** Es un resumen gráfico de la variación de un conjunto de datos. La naturaleza gráfica del histograma permite ver pautas que son difíciles de observar en una simple tabla numérica. Esta herramienta se utiliza especialmente en la comprobación de teorías y pruebas de validez. El error más común consiste en no utilizar la herramienta porque se supone que los miembros del equipo conocen ya todo lo que necesitan o se piensa que un simple índice numérico puede proporcionar un resumen adecuado de los datos.

**Cómo interpretar los histogramas:**

Sabemos que los valores varían en todo conjunto de datos. Esta variación sigue cierta pauta. El propósito del análisis de un histograma es, por un lado, identificar y clasificar la pauta de variación, y por otro desarrollar una explicación razonable y relevante de la pauta. La explicación debe basarse en los conocimientos del equipo y en la observación de las situaciones específicas y debe ser confirmada mediante un análisis adicional. Las pautas habituales de variación más comunes son la distribución en campana, con dos picos, plana, en peine, sesgada, truncada, con un pico aislado, o con un pico en el extremo.

Cómo elaborar un histograma:

1. Determinar el valor máximo, el mínimo y el rango.
2. Establecer el número de intervalos.
3. Calcular la amplitud aproximada de los intervalos.
4. Redondear la amplitud de los intervalos a un número conveniente.
5. Construir los intervalos anotando sus límites.
6. Totalizar los datos que caen en cada intervalo.
7. Dibujar y rotular el eje horizontal.
8. Dibujar y rotular el eje vertical.
9. Dibujar las barras para representar el número de datos en cada intervalo.
10. Titular el gráfico; indicar el número de datos totales.
11. Identificar y clasificar la pauta de variación.
12. Desarrollar una explicación para esa pauta.

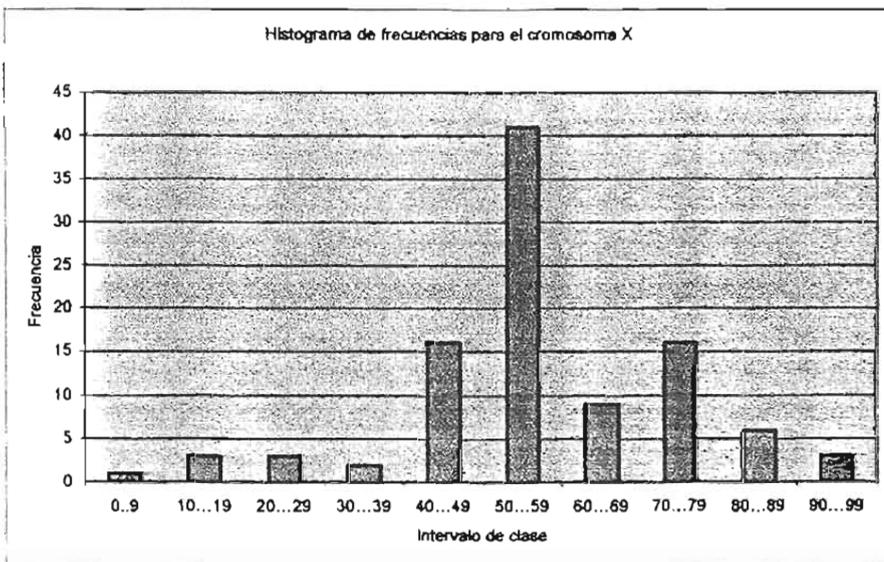


Figura 4.6

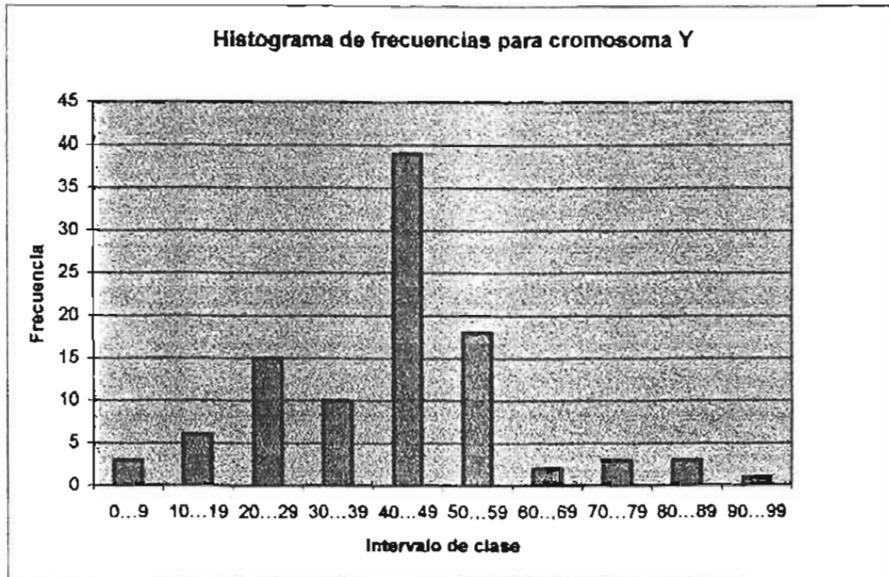


Figura 4.7 Histograma de frecuencia para el cromosoma Y

Los histogramas de frecuencias muestran con claridad (figura 4.6), de acuerdo a los resultados de las cuantificaciones de proporciones de cromosomas X (tabla 4.1) que de la población de 100 pacientes, la gran mayoría de los resultados están entre el 50 y el 60%, mientras que las proporciones de cromosoma Y están entre el 40 y el 50% (figura 4.7), lo que muestra una probabilidad mayor de concebir mujeres sobre los varones.

#### Diagrama de dispersión (correlación)

Es una representación gráfica de la relación entre dos variables, muy utilizada en las fases de comprobación de teorías e identificación de causas raíz y en el diseño de soluciones y mantenimiento de los resultados obtenidos. Tres conceptos especialmente destacables son que el descubrimiento de las verdaderas relaciones de causa y efecto es

la clave de la resolución eficaz de un problema, que las relaciones de causa y efecto casi siempre muestran variaciones, y que es más fácil ver la relación en un diagrama de dispersión que en una simple tabla de números.

Cómo interpretar un diagrama de dispersión:

El análisis de un diagrama de dispersión consta de un proceso de cuatro pasos, se elabora una teoría razonable, se obtienen los pares de valores y se dibuja el diagrama, se identifica la pauta de correlación y se estudian las posibles explicaciones. Las pautas de correlación más comunes son correlación fuerte positiva (Y aumenta claramente con X), correlación fuerte negativa (Y disminuye claramente con X), correlación débil positiva (Y aumenta algo con X), correlación débil negativa (Y disminuye algo con X), correlación compleja (Y parece relacionarse con X pero no de un modo lineal) y correlación nula (no hay relación entre X e Y). Errores comunes son no saber limitar el rango de los datos y el campo de operación del proceso, perder la visión gráfica al sintetizarlo todo en resúmenes numéricos, etc.

Cómo elaborar un diagrama de dispersión:

1. Obtener tabla de pares de valores con valores máximos y mínimos de cada variable.
2. Situar la causa sospechada en el eje horizontal.
3. Dibujar y rotular los ejes horizontales y verticales.
4. Trazar el área emparejada usando círculos concéntricos en pares de datos idénticos.
5. Titular el gráfico y rotular.
6. Identificar y clasificar el modelo de correlación.
7. Comprobar los posibles fallos en el análisis.

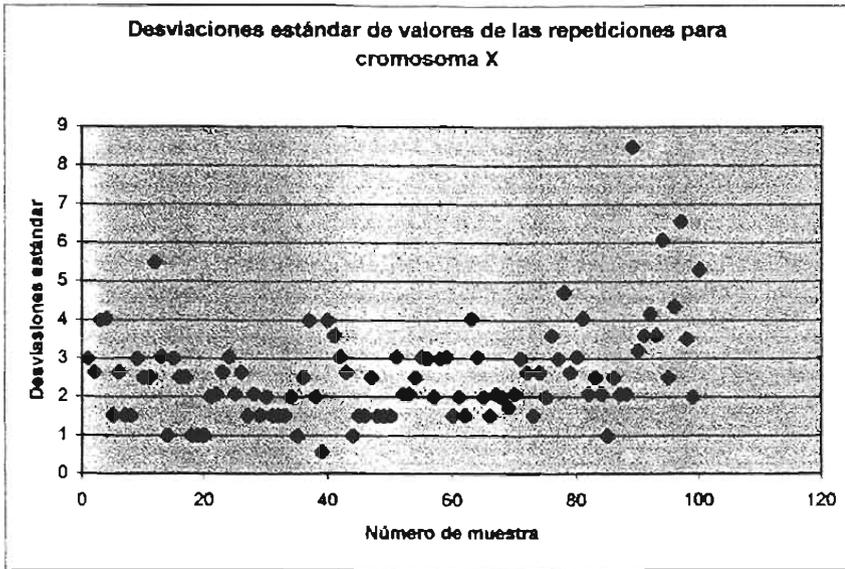


Figura 4.8 Diagrama de dispersión de las desviaciones estándar de las repeticiones de las muestras con cromosoma X, que permite observar que tan dispersos se encuentran los datos.

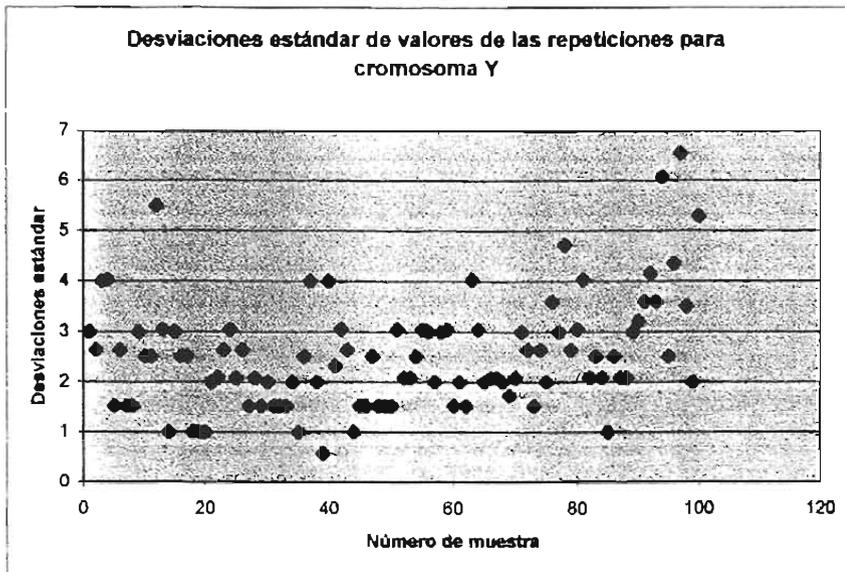


Figura 4.9 Diagrama de dispersión de las desviaciones estándar de las repeticiones de las muestras con cromosoma Y, que permite observar que tan dispersos se encuentran los datos.

Debido a que cada cuantificación de las proporciones de cromosomas X e Y son eventos independientes se obtuvo la desviación estándar de las tres repeticiones de los conteos y así se obtuvieron los valores de los ejemplos de las gráficas de dispersión. Como se mencionó anteriormente, el diagrama de dispersión nos permite expresar en forma gráfica la relación entre dos variables. En el presente caso, se graficaron las desviaciones estándar de las repeticiones para cada lectura, con el objeto de observar de acuerdo al número de muestra qué tanta homogeneidad existe entre todas las mediciones, y como se puede observar en las gráficas 4.8 y 4.9 los valores de las mediciones en las muestras de cromosoma X y cromosoma Y no se observa una gran dispersión de los valores por lo que se puede mencionar que las repeticiones de cada muestra presentan poca variación entre si.

Gráfica de control: La gráfica de control es un método estadístico usado para el estudio y control de procesos repetitivos. En general las gráficas de control son fáciles de emplear, y ciertamente no están más allá de la capacidad de la mayoría de los trabajadores, aunque en ocasiones aún los expertos encuentran que son extremadamente difíciles de interpretar.

Una gráfica de control es simplemente una gráfica de proceso con límites superiores e inferiores estadísticamente determinados, trazados a uno u otro lado del promedio del proceso. El límite superior de control y el límite inferior de control quedan determinados al permitir que un proceso estable siga su marcha sin que se presenten causas asignables de variación.

Las gráficas de control vienen en dos amplias categorías, y su empleo depende de la naturaleza de los datos. La una es para datos que pueden ser medidos: longitud, temperatura, volumen, presión, voltaje y son las gráficas de control por variables. La otra es para datos que no son medibles, y que en muchos casos pueden contarse: componentes defectuosos, errores tipográficos, artículos mal rotulados y son las gráficas de control por atributos. Las gráficas de control muestran cómo es la variabilidad en todo el proceso.

Se tiene, con frecuencia la necesidad de usar gráficas de control para analizar los procesos, y de acuerdo a los resultados obtenidos, se procedió a analizar (como en el caso de los diagramas de dispersión) qué tanto están dispersos los resultados, pero además y en base a una media y desviación estándar general, la distribución de los datos con límites superior e inferior determinados por dos desviaciones estándar (gráfica de Levy-Jennings) que es el tipo de gráfica más utilizado en laboratorio clínico. En los gráficos 4.10 y 4.11 se obtuvieron la media aritmética y la desviación estándar del promedio de las tres repeticiones para cada una de las cuantificaciones, ya sea de células con cromosoma X o de cromosoma Y, valores que fueron indicados en el gráfico, posteriormente se marcaron 2 desviaciones estándar tanto hacia arriba como hacia debajo de la media aritmética, y la segunda desviación estándar se marco como límite superior o inferior de acuerdo a si está arriba o debajo de la media, y por último se indican todos los valores de las desviaciones estándar de las repeticiones de los datos. Se observa que para el gráfico del cromosoma X todos los resultados, a excepción de 5 valores, están dentro de los límites, y que de éstos, la gran mayoría está dentro de una desviación estándar. (gráfico 4.10).

En el caso del cromosoma Y, también hay 5 valores fuera de límites, y de los restantes, y al igual que el caso del cromosoma X, la gran mayoría se encuentran dentro del valor de una desviación estándar, (gráfico 4.11).

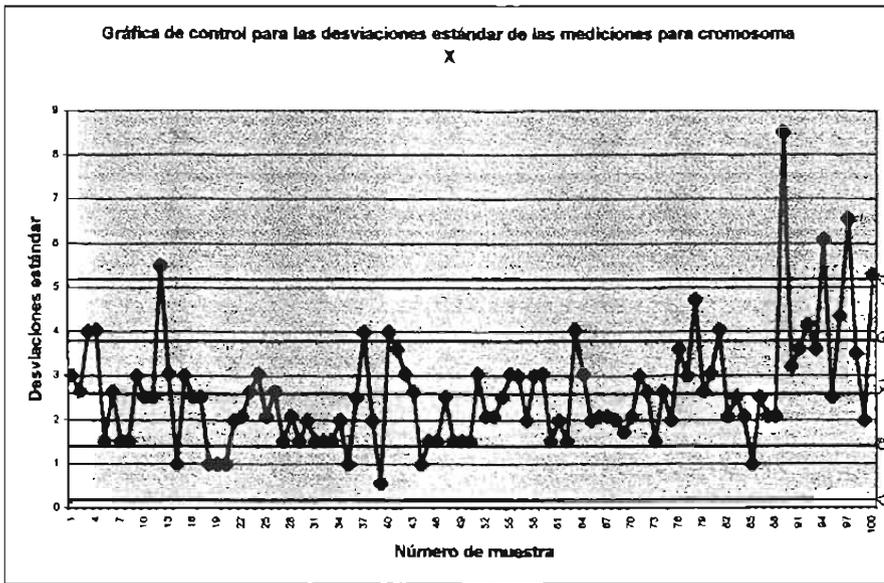


Figura 4.10 Gráfica de control de las desviaciones estándar para las repeticiones de las muestras con cromosoma X, que nos muestra que la gran mayoría de dichos valores se encuentran por debajo de las tres desviaciones estándar.

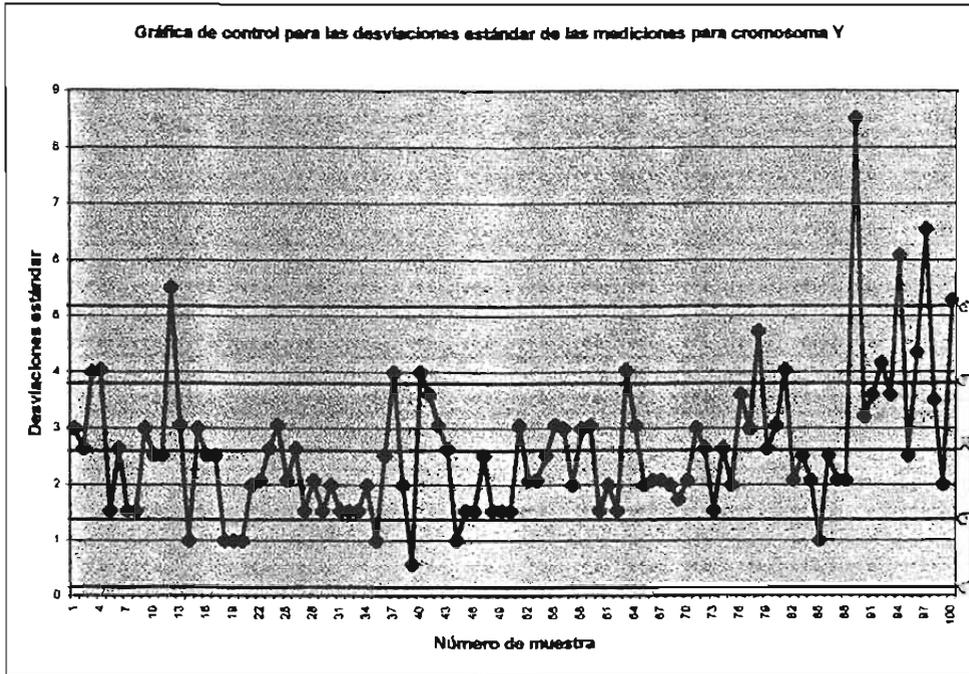


Figura 4.11 Gráfica de dispersión de las desviaciones estándar para las repeticiones de las muestras con cromosoma Y, que nos muestra que la gran mayoría de dichos valores se encuentran por debajo de las tres desviaciones estándar.

El análisis estadístico es aplicable en una gran parte del conocimiento humano, cuestiones demográficas, industriales, biológicas entre muchas otras; la investigación científica no es la excepción, pues se necesita saber qué tan confiables son los resultados, cuáles pueden ser los problemas y si las conclusiones son relativamente válidas.

En el estudio realizado, se obtuvieron una serie de observaciones o conteos de proporciones X e Y, sin embargo se deseaba saber si estas proporciones eran realmente concluyentes con respecto a saber si había diferencias significativas con respecto a dichas proporciones en la población estudiada, o en otras palabras si había más o menos

cromosomas X o Y en la población de estudio y la confiabilidad de cualquiera de estas aseveraciones.

En ciertos casos es necesario investigar el grado de relación que existe entre dos variables en una investigación, y además de la dirección de la asociación lineal, para lo cual se utiliza principalmente el análisis de correlación como un complemento matemático de la gráfica de dispersión, en el cual los valores del coeficiente de correlación ( $r$ ) siempre están entre  $-1$  y  $1$ . El grado, o sea la magnitud de la asociación está dado por el valor de  $r$ . Se considera que cuanto más cercano se encuentre a cero, menor será la asociación lineal, y cuanto más cercano se encuentre a  $1$  o  $-1$ , mayor será la asociación lineal de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$r = \frac{\sum (xy) - \frac{\sum x (\sum y)}{n}}{\sqrt{\left[ \sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n} \right] \left[ \sum y^2 - \frac{(\sum y)^2}{n} \right]}}$$

donde:

$r$  = coeficiente de correlación

$x, y$  = las variables cuya correlación se desea determinar

$n$  = número de pares de valores de  $x$  e  $y$

Tratando de saber si existe relación entre la movilidad espermática y la viabilidad, se aplicó el análisis de correlación, a los datos de ambas variables, y además se representaron los datos en forma de gráfica de dispersión para poder tener un panorama de cómo se distribuyen los datos y saber la tendencia de los mismos:

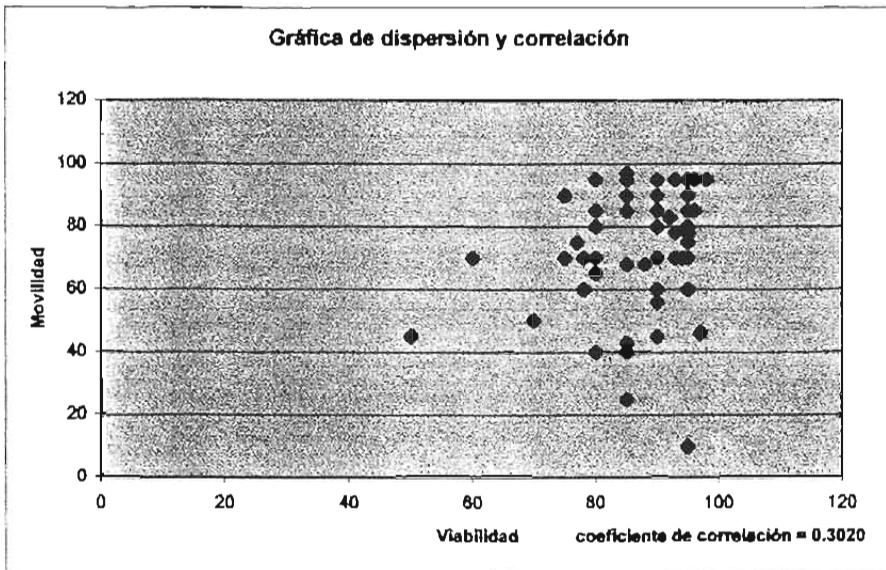


Figura 4.12 Gráfica de dispersión y correlación que muestra la posible relación entre la viabilidad espermática y la movilidad, la tendencia de los datos y además se observa el resultado del coeficiente de correlación.

En la gráfica 4.12 se observa que es muy baja o nula la relación existente entre la viabilidad espermática y la movilidad, por lo que podemos encontrar muestras con movilidad alta pero con baja viabilidad o bien alta viabilidad y baja movilidad, si bien los datos no se encuentran tan dispersos, se puede atribuir a que las muestras eran de pacientes normales, es decir con alta viabilidad y movilidad, sin embargo el resultado del análisis matemático ( $r = 0.3020$ ) queda más cercano a cero que a  $1$  o  $-1$ .

# Capítulo V

Observaciones y recomendaciones

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

### **Observaciones y recomendaciones.**

De los sucesos más relevantes de la investigación, se puede mencionar que si bien el manual de la OMS es una guía en las pruebas básicas del análisis de semen humano, en el caso de la cuantificación de porcentajes de X o Y, las metodologías fueron tomadas de investigaciones anteriores que no las considera el manual, y para las cuales se realizaron adecuaciones pertinentes, con el fin de adaptarlas a las condiciones específicas del laboratorio, como son las instalaciones, presentación de los reactivos y aún la situación geográfica del laboratorio, pero que sin embargo no alteran en forma importante el resultado final.

Lo anterior se observa al aplicar las herramientas básicas, que mostraron primeramente que, si bien no todas son aplicables (debido a la naturaleza del trabajo) sí son de invaluable ayuda en la interpretación de los resultados dando confiabilidad a los mismos, a los procesos, materiales e incluso a la planeación del proyecto de investigación.

En esta etapa inicial del proyecto se observaron ciertas situaciones muy específicas que habrán de considerarse en cuanto al desarrollo de un sistema de calidad futuro, como son el hecho de que la investigación se lleva a cabo en una institución de educación superior, por lo que ciertas partes importantes como presupuestos, materiales, proveedores e incluso el personal, no están a cargo directamente del jefe de proyecto y esto limita un poco la planeación y el desarrollo del trabajo. Por lo que el programa de calidad se debe centrar principalmente dentro del laboratorio, hacia la planeación, la ejecución y la confiabilidad de resultados, en un proyecto de investigación.

Tomando en cuenta lo anterior, se deben comprender y aplicar las herramientas de calidad con el propósito de extender el análisis a otras áreas, analizar las ventajas que puedan

aportar y si su aplicación es determinante, adicionarlas para ampliar el rango de confiabilidad, todo esto como un paso previo hacia un sistema de calidad más completo.

## Conclusiones

Debido a los avances que ha tenido la Andrología en medicina y principalmente en biología de la reproducción, es importante estandarizar las técnicas que frecuentemente utiliza, y para esto se ha creado el manual de la Organización Mundial de la Salud, pero que con el desarrollo de nuevas pruebas y técnicas que aún no han sido consideradas por el manual, es imprescindible desarrollar e implementar sistemas de control de calidad que permitan mantener la confiabilidad en niveles razonables, a pesar de que el objeto de la investigación (los espermatozoides), como analitos, presentan problemas de estudio.

Además, a pesar de que existe el manual de la OMS, todavía hay laboratorios que no lo han adoptado como guía, por lo que se observa cierta dispersión de estándares, que originan confusión, y aún una mala interpretación de los resultados.

Es importante el estudio de los espermatozoides como portadores de los cromosomas que determinan el sexo, principalmente desde el punto de vista médico, específicamente relacionado a enfermedades ligadas al sexo, aunque también tienen importancia en biología de la reproducción por la posibilidad de los padres para seleccionar el sexo de su descendencia.

Si bien en México no es un tema de prioridad, en otros países existe un alto conocimiento en el tema, y es donde se marca la pauta en investigación y desarrollo del área.

En cuanto a la investigación en sí, se obtuvieron muestras de 100 pacientes de los cuales se concluyó que 2 muestras no cumplían con los requisitos del manual de la OMS para el análisis seminal en pacientes normales, de los resultados de los restantes, se obtuvieron valores que indican que la mayoría de las muestras analizadas (75%) presentan más del 50% de espermatozoides con cromosoma X, aunque la diferencia es relativamente baja

pues la mayoría estaban en el rango entre 50-59%, por lo que los espermatozoides con cromosoma Y caen en el rango de 40-49%.

De acuerdo al análisis de las metodologías existentes, las técnicas utilizadas fueron seleccionadas en base a su efectividad, pero específicamente a la disponibilidad de recursos existentes, tanto de materiales, como de personal calificado. Y se observa que en general las diferencias principales radican en la tecnología aplicada, que en otras metodologías más avanzadas pero inaccesible por su alto costo, aunado a que las técnicas utilizadas son la base de las más avanzadas, por lo que la efectividad no decae y sólo se consume más tiempo y está sujeta a la capacidad del personal.

Las herramientas básicas del control de la calidad utilizadas dieron un panorama general del control que se lleva del proceso, si bien en esta etapa se utilizaron principalmente en el análisis de resultados, es necesario aplicar otras herramientas en otras partes del proceso para monitorear más eficientemente la investigación, pero que en esta etapa demostraron que el proceso está dentro de límites de confiabilidad aceptables de la siguiente forma: El diagrama de causa y efecto es una herramienta que ayuda a identificar, clasificar y poner de manifiesto posibles causas, tanto de problemas específicos como de características de calidad. Ilustra gráficamente las relaciones existentes entre un resultado dado (confiabilidad y reproducibilidad) y los factores (cultural, estructural y de organización) que influyen en él.

El diagrama de flujo, facilita la comprensión del proceso, promueve acuerdos, mejoras o bien sirve como base para plantear cualquier proceso alternativo, además de identificar problemas.

El histograma es una herramienta útil cuando se tiene un gran número de datos que se deben organizar, para su posterior análisis y toma de decisiones, además permite la

comparación de datos y puede ser un punto de partida para generar hipótesis acerca del proceso.

El diagrama de dispersión, es una herramienta muy útil para estudiar e identificar las posibles relaciones entre los cambios observados en dos o más conjuntos de variables, y además hay la posibilidad de profundizar en el resultado mediante análisis matemático, entre otros, a través del coeficiente de correlación.

Las gráficas de control permiten evaluar la estabilidad del proceso y distinguir las causas de variación (específicas o aleatorias), además se pueden manipular datos ya sea por variables o atributos, que en este caso son datos por variables (desviaciones estándar) mostrando que están dentro de los límites permitidos.

## Glosario

**Aglutinación.** Característica del semen en la cual los espermatozoides tienden a reunirse formando cúmulos celulares, puede ser de origen normal o debido a problemas inmunológicos o bioquímicos.

**Andrología.** Rama de la medicina orientada al estudio del varón principalmente en aspectos reproductivos.

**Astenozoospermia.** Característica del semen en la que hay menos del 50% de espermatozoides con movilidad progresiva rápida y lenta, o bien con menos del 25% de células con movilidad progresiva rápida.

**Biología de la Reproducción.** Rama de la medicina orientada al estudio de los procesos reproductivos en la pareja.

**Biología molecular.** Rama de la biología encargada del estudio de las células a nivel molecular y su interacción bioquímica.

**CASA.** (Computer aided semen assay). Análisis de semen asistido por computadora o método computarizado para el análisis de semen.

**Células epiteliales.** Células que forman el epitelio o capa externa de un tejido, en este caso del epitelio de los conductos por donde viajan los espermatozoides en el aparato reproductor masculino.

**Células espermáticas inmaduras.** Células espermáticas aún no diferenciadas, que algunas veces se observan en la muestra de semen.

**Citometría.** Grupo de técnicas empleadas en caracterizar una célula o un grupo de ellas en cuanto a presencia, cantidad y tamaño.

**Clonación.** En biología, es el grupo de técnicas que permiten a partir de una célula de un organismo obtener una copia exacta bien de la célula como del organismo completo.

**Coagulación.** Característica normal del semen, que una vez eyaculado y en los primeros segundos tiende a tomar una consistencia espesa.

**Color.** Característica del semen en la cual se observa un color definido y que sus variantes pueden indicar algunas anormalidades.

**Concentración espermática.** Cantidad específica de espermatozoides en el eyaculado.

**Control negativo.** Testigo negativo a una prueba realizado con el fin de evitar errores en las mediciones.

**Control positivo.** Testigo positivo a una prueba con el fin de evitar errores en las mediciones y evaluar los reactivos y las metodologías.

**Cromosoma sexual.** Uno de los 2 cromosomas determinantes del sexo contenidos en el acervo genético de cualquier individuo.

**Detritus celulares.** Elementos en el semen que no entran en la categoría de los elementos celulares normales como espermatozoides, células inmaduras, células epiteliales, o leucocitos.

**EDTA.** Compuesto químico utilizado como anticoagulante sanguíneo

**Enfermedades ligadas al sexo.** Tipo de patologías hereditarias que se manifiestan de acuerdo al cromosoma sexual que lo porta y al sexo del producto, por ejemplo, la hemofilia, que se hereda a través del cromosoma X y solo se manifiesta en los hijos varones.

**Espermatozoide.** Célula sexual masculina, se caracteriza por tener una región anterior o cabeza, una pieza media y una cola que le permite desplazarse.

**Farmacología.** Estudio de la acción dinámica y fisiológica de los fármacos.

**Fertilización asistida.** Conjunto de técnicas no-naturales que permiten a una pareja con problemas de infertilidad lograr tener descendencia.

**FISH.** Hibridación in situ fluorescente, técnica que permite la detección y el estudio de células específicas o bien algún organelo celular.

**Fluorescencia.** Técnica de microscopía utilizada principalmente para identificar una célula en específico o bien un organelo celular por medio de colorantes específicos que son absorbidos y que al incidir una luz determinada brillan o fluorescen.

**Gametos.** Cada una de las 2 células que, en la reproducción sexual se fusionan para formar el cigoto.

**Genética.** Término utilizado para mencionar todas las características de un organismo determinadas por su acervo genético.

**Hemofilia.** Hemopatía debida a la deficiencia de un factor de coagulación de la sangre. Es hereditaria y se transmite como un carácter recesivo ligado al sexo (cromosoma X) de manera que las mujeres no la padecen pero la transmiten a sus hijos varones.

**Investigación básica.** Tipo de investigación que sólo busca el conocimiento en si, de un fenómeno.

**Leucocitos.** Son células sanguíneas, ameboides, incoloras capaces de abandonar los vasos sanguíneos y de realizar su función fuera de estos. Poseen enzimas proteolíticas capaces de desintegrar células muertas y formaciones de fibrina, por quimiotaxis pueden desplazarse hacia focos de infección donde fagocitan a las bacterias.

**Licuefacción.** Característica normal del semen que sigue a la coagulación, en la cual una vez coagulado y en un término promedio de 20 minutos a una hora, toma una consistencia acuosa.

**Líquido seminal.** Nombre que recibe el eyaculado y comprende al semen y a los espermatozoides.

**Movilidad.** Característica de los espermatozoides, los cuales por medio del flagelo presentan desplazamiento y es dividido para su análisis en varias categorías, que van del progresivo rápido, lento, no progresivo e inmóvil, cada uno de ellos abreviado por una letra que va de la "a" a la "d".

**Normozoospermico,** Condición normal del semen de acuerdo a los criterios de la OMS,

**Oligozoospermico.** Anormalidad del semen caracterizado por una concentración menor de 20 millones de células en el eyaculado.

**Patología.** Anormalidad, enfermedad o proceso patológico.

**pH.** Potencial de hidrógeno, concentración de iones hidronio presentes en una solución.

**Potencial fértil.** Capacidad de fertilizar por parte del varón.

**Semen.** Líquido producido por las glándulas genitales masculinas cuando se une a la secreción propia de la próstata.

**Subcelular.** Se refiere a las partes de una célula también denominados organelos, o bien a alguna parte de éstos.

**Reactivo de Quinacrina.** Reactivo utilizado específicamente para que en el espermatozoide y bajo microscopía adecuada se haga evidente y sea observable el cromosoma Y.

**Viabilidad.** Característica del semen y se refiere a la proporción de espermatozoides "vivos" en la muestra.

**Viscosidad.** La viscosidad se define como la resistencia de un líquido a fluir. Esta resistencia es provocada por las fuerzas de atracción entre las moléculas del líquido.

## Bibliografía

- 1.- Aiteco consultores- Métodos y herramientas.  
<http://www.aiteco.com/herramie.htm> (2002)
- 2.- Alejandro Castillo González, Seis sigma.  
[http://www.calidad.org/public/arti2001/0997293597\\_alejan.htm](http://www.calidad.org/public/arti2001/0997293597_alejan.htm) (2003)
- 3.- Batzofin, J.H. "XY sperm separation for sex selection". *Male infertility*. 1987. 14(3): 609-618.
- 4.- Chang, Richard Y. (1999). "Las herramientas para la mejora continua de la calidad" Vol. I. Ediciones Granica, Argentina
- 5.- Ciisa R.H. Excelencia, técnicas o métodos para lograr la calidad total:  
<http://www.ciisa.com/internet/vertema1.aspx?tema=51> (2003)
- 6.- Clayton, G. S., Newton, J. R. (1991). "Manual de obstetricia y ginecología". Editorial El Manual Moderno. México.
- 7.- Demasiado.com, Control de calidad  
<http://webs.demasiado.cm/ing-industrial/ingenieria/control> (2002)
- 8.- Escalante, V. Edgardo, "Seis Sigma. (Metodología y Técnicas)". 1ª. Ed. LIMUSA México 2003, pp 57-77.
- 9.- Hall, J.A. y col. "Human sperm morphology evaluation pre- and post-Percoll gradient centrifugation". *Human reproduction*. 1995. 10(2): 342-346.
- 10.- Hannapel E. y col. "Demonstration of 2n spermatids in carriers of the "sex reversed" factor in the mouse by Feulgen cytophotometry." *Histochemistry* 1995;156(4):358-376
- 11.- Johnson, L.A. y col. "Gender preselection in humans. Flow cytometric separation of X and Y spermatozoa for the prevention of X-linked diseases". *Human reproduction*. 1993. 8(10):1733-1739
- 12.- Lu K H y col. "In vitro fertilization with fluor-cytometrically-sorted bovine sperm" *Histochemistry* 1980;69(3):299-306
- 13.- Marshall G.J.A. "Human Y chromosome, sex determination, and spermatogenesis: a feminist view". *Biology of reproduction*. 2000. 63: 667-676.
- 14.-Martínez-Pasarell y col. "Análisis of human sperm-derived pronuclei by three-colour fluorescent in-situ hybridization". *Human Reproduction* 1997 12(4):641-5
- 15.- Matsuoka, I. Y col. "Comparison of sperm preparation methods". *Journal of reproductive medicine*. 1995. 40 (5): 342-346.
- 16.- Matthews, C.D. "X larger than Y". *Nature*. 1993. 336(11): 117 y 118.

- 17.- McCoshen, J.A., Chen, J., y col. "Y body association with morphologic heterogeneity of human sperm". *International journal of fertility*. 1994. 39(2): 114-119.
- 18.- Méndez, R.I. (2001) *El protocolo de Investigación*. Ed. Trillas, México.
- 19.- Mora, L.M. (2003) *Seminario de Investigación*. Ed. LIMUSA México.
- 20.- Pernoll, M. L. (1993). "Diagnóstico y tratamiento ginecoobstétricos". *El Manual Moderno*. México.
- 21.- R.G. Barca, *Las 7 herramientas de la calidad*.  
<http://www.calidad.com.ar> (2001)
- 22.- R. J. Aguado, *Evolución del concepto de calidad*.  
<http://www.avantel.net/~rjaguado/evolu.pdf> documento pdf (2004)
- 23.- Roelof, J., Bernard, A. "Determination of sex ratio of spermatozoa with a deoxyribonucleic acid-probe and quinacrine staining: a comparison". *Fertility and sterility*. 1992. 58(2): 384-386.
- 24.- Sapienza, C. (1990). "Parental imprinting of genes". *Scientific American*. U.S.A.
- 25.- Seis sigma .com *Historia de seis sigma*.  
<http://www.seissigma.com/generic.html?pid=0%20http> (2004)
- 26.- Sumner, A.T., Robinson, J.A. "A difference in dry mass between the heads of X- and Y- bearing human spermatozoa". *Journal of reproduction and fertility*. 1976. 48:9-15.
- 27.- Sumner, A.T."Mechanisms of quinacrine binding and fluorescence in nuclei and chromosomes". *Histochemistry*. 1986. 84:566-574.
- 28.- Thomsen, J.L., Niebuhr, E. "The frequency of false-positive and false-negative results in the detection of Y-chromosomes in interphase nuclei". *Human genetics*. 1986. 73:27-30.
- 29.- Universidad Católica de Honduras, *Gestión de la calidad-Herramientas estadísticas de la calidad*. <http://www.lideresdecalidad.hn/herramientas.html> (2003)
- 30.- World Health Organization. (2000). *WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction*. 4<sup>th</sup> edition. Cambridge University Press.
- 31.- Wyrobek, A.J. y col. "Fluorescence in situ hybridization to Y chromosomes in decondensed human sperm nuclei". *Molecular reproduction and development*. 1990. 27:200-208.
- 32.- Zipper, J. Y col. "Quinacrine revised". *Human reproduction*. 1995. 1(4): 324-342

**Anexo**

Valores de referencia para espermatobioscopia directa de acuerdo con los criterios WHO 1999.

<b>Volumen</b>	2.0 ml o más
<b>.pH</b>	7.2-8.0
<b>Concentración espermática</b>	20.0 X 10 <sup>6</sup> /ml
<b>Concentración espermática Total</b>	40.0 X 10 <sup>6</sup> /ml
<b>Movilidad</b>	50% o más con las categorías: a) progresiva rápida 50% b) progresiva lenta 25% o Progresiva rápida 25 % Nota: medición que se realiza después del Periodo de licuefacción (aprox. 60min)
<b>Morfología</b> (Técnica P.A.P) criterios de evaluación WHO 1999	30% o más con formas normales
<b>Viabilidad</b> (Técnicas: Tinción eosina eosina-nigrosina, tinción triple)	75% o más
<b>Leucocitos</b> (Técnicas: tinción positiva a la peroxidasa, inmunohistoquímica Ac-CD 45).	menos de 1.0 X 10 <sup>6</sup> /ml
<b>Agglutinación celular</b> (determinación del tipo de aglutinación)	menor a 20%
<b>Test Hipo osmótico (HOST)</b>	mayor a 65%
<b>Fructuosa en plasma seminal</b> (Técnica espectrofotométrica)	13 mmol
<b>Inmunobead test</b> (Técnica semi-cuantitativa)	menos de 20% d espermatozoides con partículas Adherentes.
<b>MAR test</b> (técnica semi-cuantitativa)	menos de 10% de esperatozides con partículas Adherentes
<b>Acrosomas integros</b> (Técnicas: triple tinción ac- anti acrosoma lectina marcada)	mas del 40%