



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN**

**“CAPACITACIÓN ESPERMÁTICA PARA
INSEMINACIÓN ARTIFICIAL EN
HUMANOS”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA

P R E S E N T A :

GEORGINA MARTINEZ OLIVARES

ASESORA: QFB. MA. ESTHER REVUELTA MIRANDA



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.



ESTADOS UNIDOS MEXICANOS

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

C. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLAN



DEPARTAMENTO DE
EXAMENES PROFESIONALES

DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
P R E S E N T E

ATN: Q. Ma. de Carmen García Mijares
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

"Capacitación Espermática para Inseminación Artificial en Humanos"

que presenta la pasante: Georgina Martínez Olivares
con número de cuenta: 8612091-1 para obtener el título de :
Química Farmacéutica Bióloga

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 21 de noviembre de 2005.

PRESIDENTE	M. en C. Idalia Avila Miyazawa	
VOCAL	QFB. Ma. Esther Revuelta Miranda	
SECRETARIO	MC. Francisco López Mejía	
PRIMER SUPLENTE	QFB. Juan Chiu Chan	
SEGUNDO SUPLENTE	QFB. Martha Patricia Campos Peón	

Con mucho esfuerzo, por fin llegue al final de una meta que me propuse terminar, esa meta fue la de enriquecer mis conocimientos.

Este logro estuvo lleno de contratiempos, esfuerzos y sacrificios. Fueron bastantes los obstáculos, pero fueron muchas las personas que estuvieron siempre ahí, para darme la mano y apoyarme, alientos y motivaciones para seguir adelante.

A mis Padres, les dedico este trabajo principalmente, que con sus sacrificios me han llevado hasta donde estoy ahora, por todo el apoyo y amor incondicional durante toda mi vida.

“Mi triunfo es de ustedes”

A mi Esposo, que me brinda el amor, estímulo y apoyo constante.

A mi Hija, que me presto el tiempo que le pertenecía para terminar, y me motivo para dejarte este ejemplo.

A cada uno de mis hermanos, que siempre me apoyan y han estado cerca de mí.

A mis Suegros, que con sus sabios consejos me han ayudado.

A Dios, por todas las satisfacciones que ha brindado.

Con especial afecto y cariño, agradezco a la Profesora, ***QFB MARÍA ESTHER REVUELTA MIRANDA***, porque además de ser excelente maestra, ha sido una muy buena amiga.

Gracias por su apoyo, dedicación, orientación, consejos y por su desinteresada misión de transmitir sus conocimientos, no solo en el presente trabajo, sino a lo largo de mi carrera. **MUCHAS GRACIAS.**

ÍNDICE

INTRODUCCION -----	3
1. FERTILIDAD -----	4
1.1 Fragilidad De la fertilidad humana -----	4
1.2 Evaluación de la infertilidad -----	4
1.3 Sistema reproductor masculino -----	5
1.4 Sistema reproductor femenino -----	10
1.5 Pruebas masculinas -----	23
2. INSEMINACION ARTIFICIAL -----	26
2.1 Finalidades -----	26
2.2 Indicaciones -----	26
2.3 Inseminación homologa -----	27
2.4 Inseminación heterologa -----	27
2.5 Elección de la técnica de inseminación -----	29
2.6 Preselección de sexo -----	31
2.7 Técnicas de capacitación espermatoca -----	31
3. OBJETIVOS -----	33
4. METODOLOGÍA -----	34
4.1 Factor femenino -----	34
4.2 Factor masculino -----	48
5. RESULTADOS DE CASOS CLÍNICOS Y DISCUSION -----	59
6. CONCLUSIONES -----	67
7. BIBLIOGRAFIA -----	68
8. GLOSARIO -----	69

INTRODUCCION

Hoy en día, es común que las parejas planeen sus familias con mucho cuidado considerando todos los factores y esperando el momento preciso para tener un bebe. La mayoría de las parejas asumen que una vez que suspenden el uso del control de natalidad lograrán el embarazo de inmediato. Aunque esto sucede sin mucha dificultad, para la mayoría de las parejas, otras pronto descubren que concebir no es tan fácil como lo pensaron. En algún punto de sus vidas, por lo menos el 15 % de las parejas experimentan cierto grado de infertilidad con todos los sentimientos y frustraciones que la acompañan. La infertilidad se define como la incapacidad de una pareja para lograr la concepción después de un año de relaciones sexuales sin protección o la incapacidad para hacer que el embarazo resulte en un hijo vivo.

Pueden existir diversas razones para esto, incluyendo el hecho de que algunos óvulos no se fecundan, algunos espermatozoides no pueden llegar al óvulo y algunos óvulos fecundados no se desarrollan bien en las primeras etapas. Importantes avances se han hecho en el diagnóstico y tratamiento de la infertilidad. Cerca del 65% de las parejas que buscan ayuda médica logran al final tener hijos. Existen muchos procedimientos relativamente simples y costeables que se encuentran disponibles para tratar la infertilidad, dependiendo de la causa fundamental.

La infertilidad puede ser causada tanto por un factor masculino como un factor femenino. Los problemas relacionados con la mujer representan un 40% de la infertilidad y los problemas relacionados con el hombre representan también un 40%, y un 20% a causas inexplicables.

La calidad y cantidad del semen pueden tener un impacto sobre la calidad del espermatozoide para fecundar con éxito el óvulo. La motilidad del espermatozoide parece ser uno de los factores más importantes en la determinación de la capacidad para fecundar del espermatozoide. Incluso con un bajo conteo de espermatozoides.

El impacto emocional de la infertilidad, la infertilidad es más que una condición física para la mayoría de las parejas. Es una condición emocional y social también, la cual lleva consigo intensos sentimientos. Las parejas infértiles comúnmente experimentan ira y frustración, pérdida de control, aislamiento de amigos y familiares depresión y aflicción. Estas emociones en ocasiones pueden parecer agobiantes para una pareja que está luchando contra la infertilidad. Muchos centros médicos tienen enfermeras y profesionales en salud mental, tales como trabajadores sociales y psicólogos, que les ayudan a manejar estos sentimientos.

La inseminación artificial es un procedimiento utilizado en los programas de Reproducción Asistida como primera alternativa en el manejo de las parejas estériles con cuanto menos una trompa uterina permeable que no hayan logrado un embarazo tras la aplicación de tratamientos convencionales tendientes a la corrección de los factores causales de esterilidad. 1

1.- LA FERTILIDAD

1.1.- LA FRAGILIDAD DE LA FERTILIDAD HUMANA

El sistema reproductor humano funciona con tal precisión y complejidad que parece un milagro que los bebés se conciban y nazcan sin dificultad para la mayoría de las parejas. La concepción es asegurada por los excesos de la naturaleza al proporcionar más de 400 ovulaciones durante el tiempo de vida de una mujer fértil promedio, así como, de millones de espermatozoides en una sola eyaculación de un hombre fértil. Sin embargo, cualquier cambio en esta secuencia de eventos complicada puede romper con la ovulación, concepción o embarazo, dando como resultado la infertilidad.

Si una pareja no han podido concebir después de un año de tener relaciones sexuales regulares y sin protección cerca del periodo de ovulación, considere la idea de buscar ayuda médica. Ciertas condiciones o situaciones pueden obligar la visita al doctor después de tan solo 6 meses de tratar de concebir sin éxito. Estas condiciones incluyen:

- Más de 38 años en el caso de la mujer.
- Periodos irregulares o ausentes.
- Dos o más abortos.
- Uso anterior de un dispositivo intrauterino (DIU) para el control de la natalidad.
- Infecciones de la próstata.
- Una historia de enfermedades transmitidas sexualmente en cualquiera de los miembros de la pareja.
- Cirugía abdominal previa en cualquiera de los miembros de la pareja.
- Esterilización quirúrgica reversible en cualquiera de los miembros de la pareja.
- Endometriosis/ menstruación con dolor.
- Extirpación de la mama.
- Acné excesivo o hirsutismo (vello en el cuerpo).

1.2.- EVALUACIÓN DE LA INFERTILIDAD

El proceso utilizado para identificar los problemas de la fertilidad se conoce como evaluación de infertilidad. Esta incluye una variedad de pruebas realizadas para determinar exactamente donde está el problema o los problemas para ser tratados en forma adecuada. Su equipo de cuidados para la salud estará tratando de contestar cuatro preguntas básicas durante la evaluación de infertilidad. Estas preguntas incluyen:

- ¿Existe un problema de espermatozoides?
- ¿Existe un problema con la ovulación?
- ¿Pueden unirse el óvulo con el espermatozoide?
- ¿Puede realizarse la implantación y ser mantenida?

Esta es una área donde él médico tendrá una buena idea de los factores que le están afectando a la pareja y entonces podrá recomendar un tratamiento.

La secuencia y el propósito de algunas pruebas comunes, así como, que es lo que puede esperar, se describen mas adelante. La programación de estas pruebas puede variar dependiendo de su situación específica, pero, la regla general que la mayoría de los médicos siguen es la de empezar con las pruebas más simples y menos agresivas. Es posible que se requieran pruebas basándose en estas pruebas más complejas si la causa de la infertilidad no puede definirse. 1

1.3.- SISTEMA REPRODUCTOR MASCULINO

El sistema reproductor masculino también se encuentra bajo la influencia de hormonas y es responsable de la producción de los espermatozoides. El sistema reproductor masculino es tanto interno como externo.

Los testículos se encuentran dentro del saco escrotal, la bolsa de piel localizada abajo del pene del hombre. Estos son los órganos que producen tanto el espermatozoide como la testosterona, la hormona masculina que ayuda a mantener las características sexuales masculinas. En cuanto los espermatozoides son producidos, pasan de los testículos a través de canales enroscados del epidídimo, un órgano que los almacena y alimenta durante su maduración.

Una vez que los espermatozoides están completamente maduros, se mueven hacia los vasos deferentes. Esta estructura tubular conecta al epidídimo con las vesículas seminales. Las dos glándulas en forma de bolsa que ofrecen almacenamiento para los espermatozoides maduros. Todo el proceso desde la formación de espermatozoides hasta la maduración dura cerca de 72 días.

Cuando el hombre eyacula (o expulsa fluido de su pene durante el coito), los espermatozoides se combinan con un fluido espeso de la glándula próstata para crear el semen. Este fluido o eyaculación es depositado dentro de la vagina de la mujer. 1

El desarrollo de espermatozoides normales y maduros es funcional para el establecimiento de la fertilidad masculina e involucra una interacción de diversos factores:

Un intercambio de mensajes hormonales entre el cerebro y los testículos.

Una secreción de hormonas reproductoras necesarias (testosterona) por las células de Leydig y el desarrollo normal de espermatozoides dentro de las células de Sertoli.

Transportación normal de espermatozoides en desarrollo desde los testículos hasta el epidídimo y vasos deferentes.

La producción de espermatozoides esta regulada básicamente por tres hormonas: FSH, LH y Testosterona. En el hombre las hormonas hipofisiarias o pituitarias son las responsables de mantener el proceso de producción de espermatozoides. La glándula hipófisis o pituitaria, se encuentra localizada en la base del cerebro, secreta la FSH y LH, las mismas hormonas necesarias para regular las funciones reproductoras de la mujer.

1.3.1.- EL FACTOR MASCULINO EN ESTERILIDAD

El estudio del semen es el paso más importante en la investigación de un individuo que se presume estéril, pero se debe incluir en el estudio además pruebas para descartar:

- 1.-Trastornos renales crónicos que puedan deprimir la espermatogenesis.
- 2.- Síndrome de Klinefelter sexo cromatina
- 3.- Determinación de FSH y LH.
- 4.- Determinación de testosterona.
- 5.- Determinación de 17 – Cetosteroides y pregnantiol.
- 6.- Eyaculación retrograda (orina post-coital).
- 7.- Espermatobioscopia.
- 8.- Cultivos de semen (chlamydia y mycoplasma).

La ausencia de espermatozoides significa un defecto grave en los tubulos seminíferos u obstrucción en el sistema de conductos. El hallazgo de unos cuantos espermatozoides aun que muertos elimina la posibilidad de la obstrucción.

En caso de AZOOSPERMIA debe de realizarse la biopsia testicular para diferenciar entre el padecimiento intrínseco grave gónada y un bloqueo en el sistema de conductos, en este último caso la espermatogenesis es normal. 2

Causas de la infertilidad masculina:

- Falta de producción de esperma o producción deficiente. Si no hay una cantidad adecuada de espermatozoides sanos las probabilidades de fertilización disminuyen.
- Función anormal del esperma. El esperma debe contar con movilidad adecuada y capacidad de penetrar el óvulo.
- Varicocele. Esta es una condición que consiste en el desarrollo de varices alrededor de los testículos. Es una causa muy frecuente de infertilidad originada en factores masculinos, por lo general es posible tratarla y curarla por medio de cirugía.
- Estilo de vida. El uso de drogas recreacionales (por ejemplo, marihuana, el consumo abundante de alcohol, tabaco, determinados medicamentos y el calor excesivo de la zona genital durante el baño) pueden afectar la calidad y funcionamiento del esperma.
- Desordenes hormonales. El funcionamiento endocrino u hormonal masculino puede afectar a la producción de esperma y la capacidad o fertilización.
- Defectos de los cromosomas. Determinadas anomalías de los cromosomas se encuentran asociadas con la infertilidad masculina.

- Problemas inmunológicos. Es posible que existan en el hombre anticuerpos antiesperma que ataquen a su mismo semen.

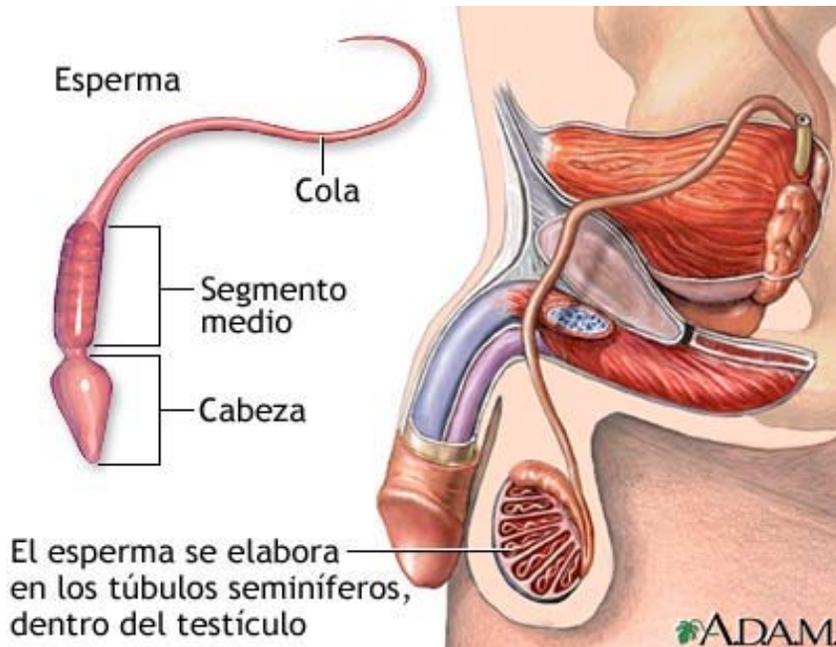


Figura 1. Aparato reproductor masculino.

1.3.2.- ESPERMATOZOIDE

Es una célula haploide, muy diferenciada, la cual está compuesta por cabeza, pieza intermedia (porción próxima de la cola) y la fracción principal de la cola.

Cabeza es elipsoide, un poco aplanada, contiene el núcleo, relativamente rígido y está relleno de cromatina muy condensada. El extremo anterior del núcleo está recubierto del capuchón cefálico acrosómico. Tiene una estructura altamente especializada que contiene enzimas hidrolíticas que sirven para el procedimiento de penetración de la corona radiada y la zona pelúcida.

Pieza intermedia contiene dos microtubulos centrales rodeados por nueve pares de tubulos periféricos formados por las proteínas tubulina y actina a esta estructura completa se le denomina axonema.

Cola está formada por cuatro secciones denominadas cuello, pieza intermedia, pieza principal y pieza terminal. La cola es considerada como un flagelo cuyo axonema central sale de un corpúsculo basa situado inmediatamente detrás del núcleo. El movimiento flagelar está impulsado por la proteína motora dineína, que utiliza la energía de hidrólisis del ATP para hacer deslizar los microtubulos.

En el flagelo los brazos de dineina son importantes para la movilidad, la ausencia de estos brazos ocasiona inmovilidad de los espermatozoides e infertilidad. Por fuera de la disposición básica de los microtubulos, se advierte un anillo externo de fibras gruesas longitudinales, más sustanciales, conocidas también como fibras densas externas, cuyo orden depende del nivel en el que se secciona a la cola. En sentido próximo, nueve de las fibras longitudinales accesorias están interconectadas con la cabeza del espermatozoide y entre ellas.

La energía que activa al axonema proviene del ATP proporcionado por la vaina mitocondrias, donde la concentración de algunos iones es esencial (k MG a.C. k.o.). El acrosoma contiene varias enzimas (hialuronidasa, proteolíticas, mucolíticas, etc.). Las enzimas liberadas ayudan al espermatozoide a atravesar la matriz del cummulus ooforus y penetrar la zona pelucida, durante su pasaje por el tracto femenino. 3

1.3.2.1.- MORFOLOGÍA

Los espermatozoides morfológicamente normales tienen un contorno regular, con una cabeza ovalada y un casquete acrosómico que cubre más de la tercera parte de la superficie de la misma, la cual tiene una longitud de 3 a 5 milimicras. El cuello tiene una longitud de 1 milimicra. La pieza intermedia, es delgada, recta y se halla alineada con el eje longitudinal de la cabeza, mide de 5 a 9 milimicras. La cola es delgada y mide por lo menos 45 milimicras de largo. Las anomalías morfológicas de los espermatozoides consisten en alteraciones en algunas o todas partes y pueden ser en forma, tamaño y/o número.

1.3.2.1.1.- ANORMALIDADES

- A) Defectos de tamaño y forma de la cabeza puede ser grande, pequeña, piriforme, amorfa, vacuolada, doble y toda combinación entre estos.
- B) Defectos del cuello y pieza media incluyen la ausencia de cola, cola mal insertada o doblada, pieza media distendida, irregular o doblada, pieza media anormalmente fina, y toda la combinación de estos.
- C) Defectos de la cola pueden ser corta, múltiple, en horquilla, rota, de espesor irregular, arrollada, con gota citoplasmática terminal toda la combinación entre estos.
- D) Las gotas citoplasmáticas mayores de 1 a 3 de la superficie de la cabeza normal. Las gotas citoplasmáticas se encuentran habitualmente, en el cuello y pieza intermedia pero algunas células inmaduras pueden tenerla en algún lugar de la cola. 2

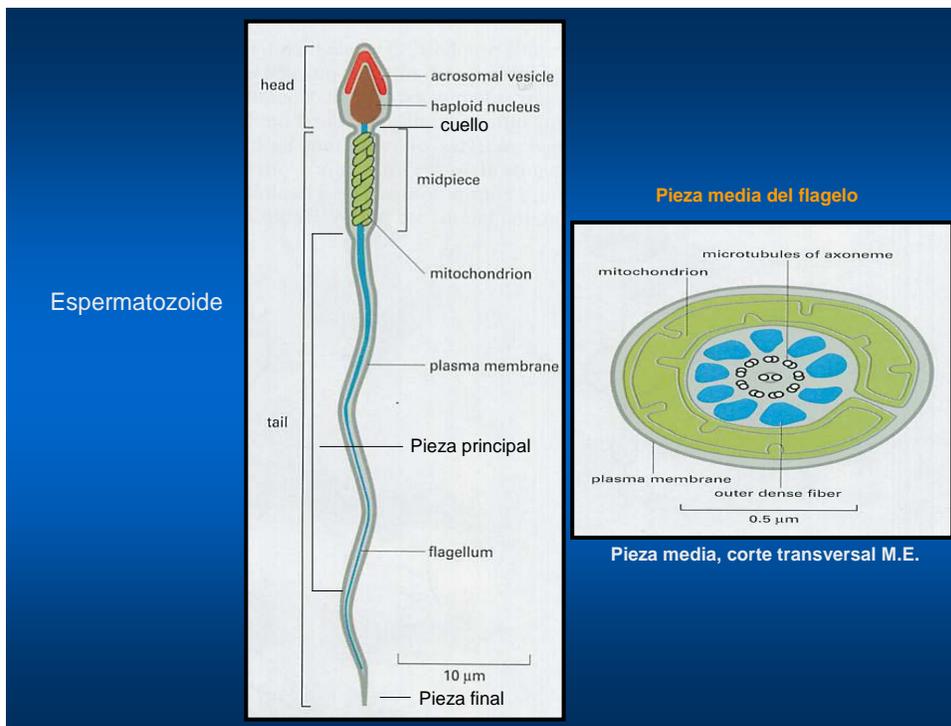


Figura 2. ESPERMATOZOIDE

1.3.2.2.- SEMEN

El semen es una solución compuesta formada por los testículos, axial como por los órganos reproductores masculinos accesorios, consta básicamente de los espermatozoides suspendidos en el plasma seminal. Su función consiste en facilitar un medio nutritivo de osmolalidad y volumen adecuados para vehicular los espermatozoos hacia el moco endocervical, donde termina su contribución al proceso de fertilización. El plasma seminal podría servir para activarlos espermatozoos para su mayor movilidad aunque esto no se sabe con certeza. Es viscoso, blanco opalescente y contiene agua, mucina, proteínas, sales y los espermatozoides.

Los componentes del semen se derivan de los siguientes órganos:

1.3.2.2.1.- TESTÍCULOS

Los espermatozoos, que comprenden menos del 5% del volumen del semen, son el único tipo de células presentes en número apreciable en el semen normal. Los espermatozoos se depositan abundantemente en las porciones ampollares de los conductores deferentes hasta el momento de la eyaculación. Los espermatozoides depositados en las ampollas son bastante inactivos metabólicamente, debido al medio ácido

y a la disminución de oxígeno. Se ha estimado que los espermatozoos pueden sobrevivir durante periodos de hasta un mes en esta localización.

1.3.2.2.2.- VESÍCULAS SEMINALES

Aproximadamente el 60% del volumen del semen se deriva de las vesículas seminales. Este líquido viscoso, neutro o ligeramente alcalino es a menudo amarillo o incluso muy pigmentado, como resultado de su elevado contenido en flavina, que es responsable de la fluorescencia del semen a la luz ultravioleta. Las vesículas seminales son la fuente principal del alto contenido en fructuosa del semen, que es el principal elemento nutritivo de los espermatozoos. La secreción de las vesículas seminales es también importante para proporcionar el sustrato que permite la coagulación del semen después de la eyaculación.

1.3.2.2.3.- PRÓSTATA

La próstata contribuye en aproximadamente el 20% del volumen total del semen. Su líquido lechoso es ligeramente ácido con un pH aproximado de 6.5. Resultante fundamentalmente de su elevado contenido en ácido cítrico. La secreción prostática es también rica en enzimas proteolíticas y en fosfatasa ácida. Al parecer, dichas enzimas son las que influyen más en la coagulación y licuefacción del semen.

1.3.2.3.- EPIDÍDIMOS CONDUCTOS DEFERENTES GLÁNDULAS BULBO URETRAL (G. DE KOPER) Y GLÁNDULAS URETRALES (G. DE LITRE)

Estas estructuras contribuyen en menos de 10% al 15 % del volumen del semen. 4

El **líquido seminal** es el medio de transporte para los espermatozoides. Además, el líquido seminal contiene sustancias básicas que ayudan a neutralizar las condiciones ácidas del tracto reproductor femenino. El líquido seminal también contiene fructuosa. El líquido seminal y los espermatozoides forman el semen.

Durante las relaciones sexuales, el semen se libera a través de la uretra del hombre y se deposita en el aparato reproductor femenino. En este momento se liberan alrededor de 300 millones, de espermatozoides. Un solo espermatozoide fecundará el óvulo. 5

1.4.- SISTEMA REPRODUCTOR FEMENINO

El sistema reproductor de una mujer es totalmente interno. La vagina es el órgano que va de la parte exterior del cuerpo femenino hasta el cervix, el cual es la abertura hacia el útero. El útero es un órgano muscular donde un óvulo fecundado se adhiere y se

desarrolla. El tamaño y forma es casi como el de una pera, y esta revestido de una membrana mucosa rica y nutritiva llamada endometrio.

Desde la parte superior del útero se extienden las trompas de Falopio, las cuales van hacia atrás y hacia debajo de los ovarios. Estos son las dos glándulas endocrinas en forma de sacos pequeños que contienen los óvulos. 1

La gónada de la mujer es el **ovario**. Los dos ovarios se encuentran en la cavidad pélvica. La temperatura normal del cuerpo no afecta la producción de gametos en la mujer, como ocurre en el hombre. Los ovarios producen **óvulos**, que son los gametos femeninos, y secretan hormonas sexuales femeninas. Cada ovario tiene muchos folículos. Un **folículo** es una estructura que contiene un óvulo (comúnmente huevo) Además de producir gametos. Los ovarios también producen dos hormonas femeninas: el *estrógeno* y la *progesterona*.

Empezando a la pubertad, la mujer libera un óvulo de uno de sus ovarios, aproximadamente, una vez al mes. La liberación de un óvulo se llama **ovulación**. La menopausia es el momento en que la mujer deja de liberar óvulos. Usualmente, esto ocurre entre los 40 y 50 años.

Después de la ovulación, el óvulo es arrastrado hasta los oviductos o trompas de Falopio, por la acción de las células ciliadas que revisten la abertura del oviducto que es como un embudo. A pesar de que no están unidas directamente al ovario, las trompas de Falopio proveen un trayecto desde el ovario hasta el útero. El **útero**, o matriz, es un órgano muscular fuerte donde se desarrollara el embrión, si ocurre la fecundación. El cuello es la parte inferior, o **cervix**, del útero y que conecta con la vagina. La vagina es un tubo muscular que recibe el semen mediante la copulación y sirve como canal de nacimiento. 5

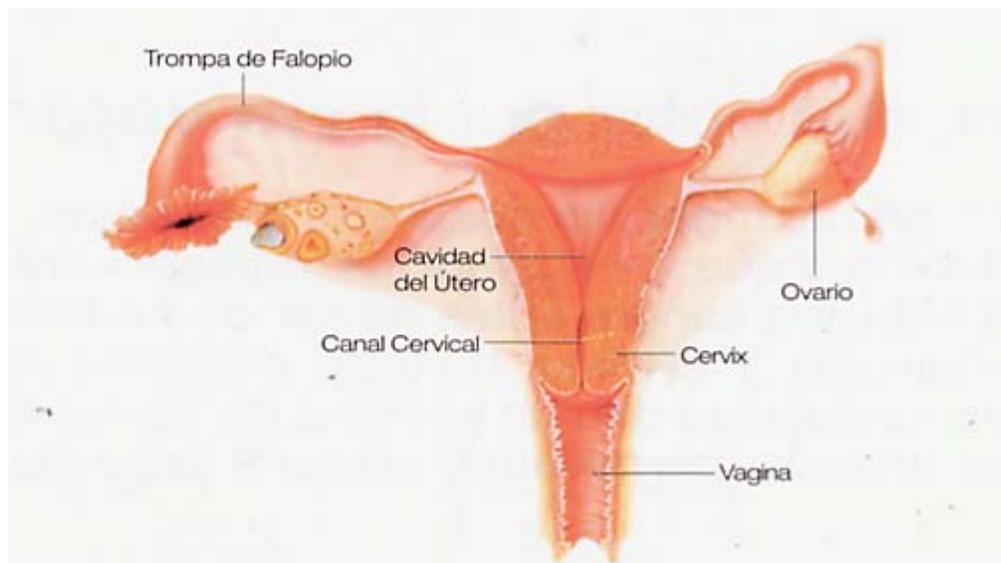


Figura 3. APARATO REPRODUCTOR FEMENINO

1.4.1.- EL PAPEL DEL CICLO MENSTRUAL

El ciclo regular de la menstruación es fundamental para la fertilidad de una mujer y ocurre en tres fases:

- fase folicular
- fase ovulatoria
- fase luteinica

El ciclo es manejado por dos hormonas:

- Hormona folículo estimulante (FSH)
- Hormona luteinizante (LH)

Durante la fase folicular del ciclo, La FSH estimula el desarrollo de un folículo dentro de los ovarios, el cual produce después un óvulo maduro. El folículo en desarrollo también secreta estrógeno, el cual tiene muchas funciones. Uno de los papeles del estrógeno es el de producir cambios a mitad del ciclo en el moco cervical, preparándolo para recibir y alimentar el espermatozoide del hombre. La fase ovulatoria ocurre cuando el nivel de la LH aumenta o se excede drásticamente, causando la liberación de un ovulo del ovario. Esto suele ocurrir a la mitad del ciclo, o casi 14 días después del primer día del periodo menstrual de una mujer, en un ciclo típico de 28 días.

La fase luteinica ocurre después de la ovulación. El folículo ovárico que alimento al óvulo antes de la ovulación ahora es conocido como el cuerpo amarillo luteinico. El cuerpo amarillo luteinico. Empieza a producir estrógeno y progesterona, las dos hormonas necesarias para el desarrollo y mantenimiento del endometrio para que un óvulo fecundado pueda implantarse y desarrollarse.1

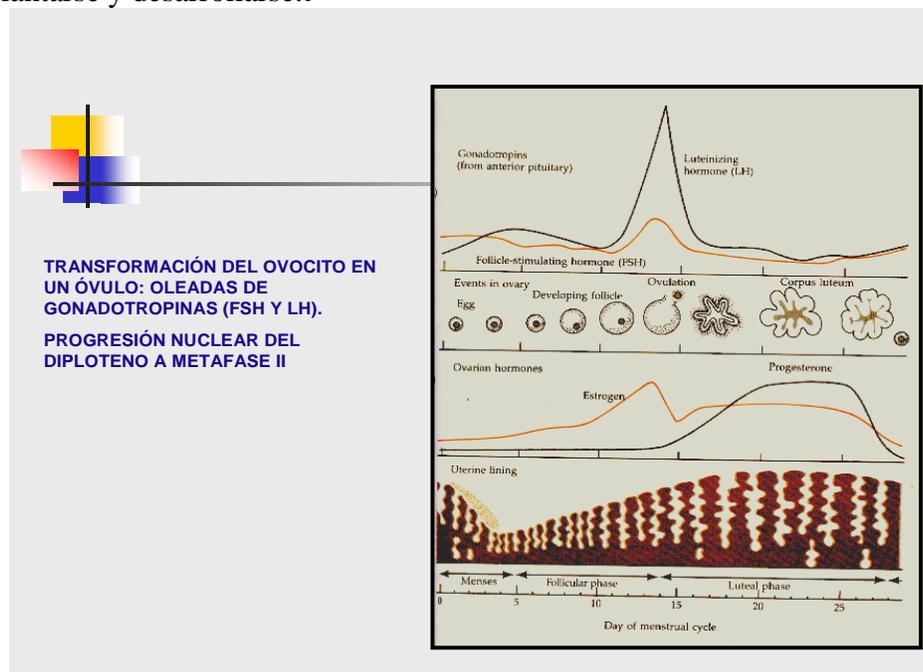


Figura 4. CICLO OVULATORIO indicando hormonas adenohipofisarias que se liberan, esquema de desarrollo del folículo, hormonas producidas en el ovario durante este ciclo y esquema del desarrollo del endometrio intrauterino durante el ciclo menstrual. Referencia: Atlas de fisiología médica. Despopoulos.

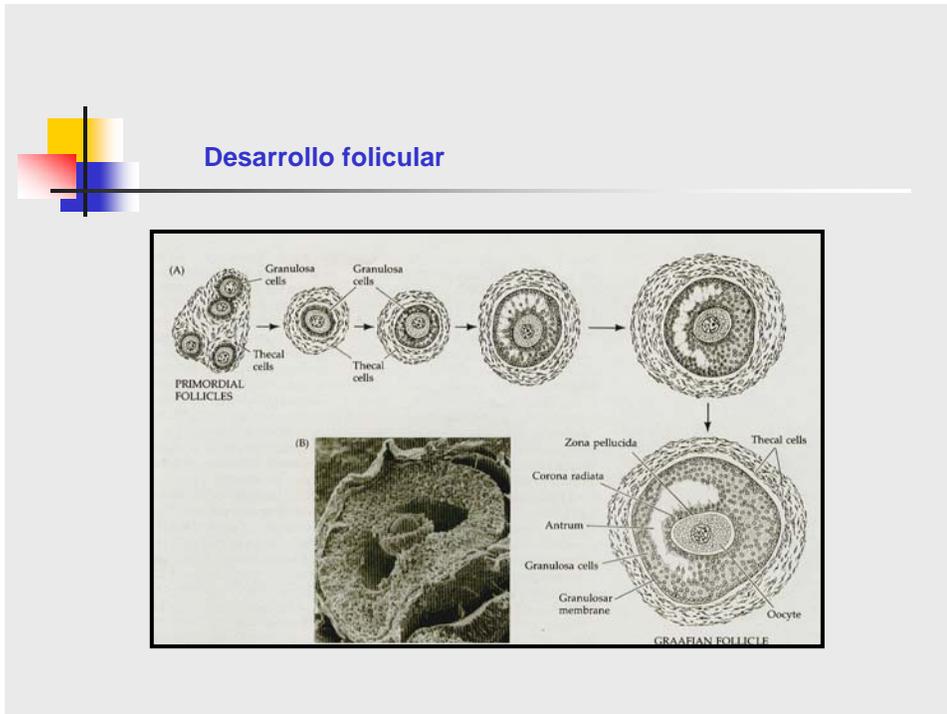


Figura 5



Figura 6.

1.4.2.- FACTOR FEMENINO

Dentro de los problemas de fertilidad por causa femenina destacan la infección por chlamydia lo que produce, deformación y obstrucción en las trampas de Falopio, la

endometriosis (presencia irregular de las células que revisten el interior del útero en la región pélvica, ovarios, trompas, parte externa del útero, etc.) y que impiden un normal desarrollo del ciclo reproductivo femenino, obstrucción tubaria que produce bloqueo del paso del óvulo desde las trompas hasta la cavidad uterina, moco cervical poco receptivo, etc.

Estos problemas son solo una pequeña recopilación de las condiciones fisiológicas, patológicas o físicas que pueden provocar en una mujer problemas de fertilidad.

1.4.2.1.- FACTOR CERVICAL EN ESTERILIDAD

En sentido se entiende por factor cervical en esterilidad cualquier alteración anatómica o funcional del cervix que puede impedir o dificultar el ascenso espermático hacia el lugar de la fecundación. Sin embargo el mejor conocimiento del papel que desempeñan el cuello uterino y el moco cervical en el proceso reproductivo y el estudio de la frecuencia real de la patología cervical en esterilidad han permitido centrar la etiología del factor cervical en el moco u no en el cuello, ya que es a través de las modificaciones del moco cervical que las distintas alteraciones del cuello pueden producir esterilidad. 6

Causas de la esterilidad:

Factores femeninos.

-Disfunción ovulatoria. Cuando existe esta condición, el sistema reproductor de la mujer produce las cantidades adecuadas de hormonas necesarias para desarrollar, madurar y liberar un óvulo sano.

-Problemas anatómicos. El desarrollo o funcionamiento anormal de la anatomía femenina puede impedir que el óvulo y el espermatozoide se encuentren.

-Endometriosis.

-Defectos congénitos.

-Infección.

-Problemas inmunológicos.

1.4.2.1.1.- LAS PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DEL MOCO CERVICAL

El pH en la fase preovulatoria es de 7.3 a 8.0, Los espermatozoides son susceptibles a los cambios de pH del moco cervical. El moco ácido inmoviliza a los espermatozoides, en tanto el alcalino acentúa su movilidad. La alcalinidad excesiva del moco cervical pH mayor de 8.5 también puede atentar contra la viabilidad de los espermatozoides. 7

-La cristalización es la consecuencia de la organización de los cristales de cloruro sódico y potásico alrededor de un eje orgánico, la mucina durante la desecación. En condiciones fisiológicas, la arborización característica en hojas de helecho es proporcional a la concentración de estradiol circulante y por tanto máxima en fase preovulatoria.

-La viscosidad es inversamente proporcional a la impregnación estrogénica mínima en la fase preovulatoria y va aumentando a medida que lo hace la progesterona.

- La filancia es la capacidad del moco cervical para estirarse formando filamentos que aumentan con la impregnación estrogénica. Es máxima en la fase preovulatoria en la que sobrepasa los 20 cm.
- La celularidad en la fase preovulatoria no se observan polimorfonucleares salvo en caso de inflamación o anomalías del medio ambiente hormonal. Por el contrario en la fase lútea existen normalmente polimorfonucleares. 6

1.4.2.1.2.- FUNCIONES FISIOLÓGICAS DEL MOCO CERVICAL

- Función de reserva, la alcalinidad del moco cervical preovulatorio representa un refugio vital para los espermatozoides. No sobrevivirán más que los espermatozoides que penetren rápidamente el moco cervical. En el moco cervical la duración media de la supervivencia es de 3 días.
- Mantenimiento y capacitación de los espermatozoides: la fase líquida proporciona aportes energéticos: hidratos de carbono, hexosaminas y oxígeno.
- Limpieza: a mitad del ciclo, la gravedad y el movimiento de los cilios crean un flujo descendente que drenan hacia la vagina las bacterias, los leucocitos y los espermatozoides muertos.
- Protección de los espermatozoides frente a la fagocitosis por los leucocitos: drenados por el flujo descendente y empujados por el movimiento de los cilios, los leucocitos se alejan de las paredes y forman una columna en el centro del conducto endocervical. Por el contrario, los espermatozoides de movilidad normal ascienden a lo largo de las paredes hacia donde son atraídas por la mayor presión parcial de oxígeno.
- Barrera química contra la infección: es a mitad de ciclo cuando la actividad antibacteriana es más eficaz, tanto la de la lisozima como de la lactoferrina y la de la peroxidasa. 6

1.4.3.- PRUEBAS FEMENINAS

1.4.3.1.- Estudio hormonal para conocer la capacidad ovulatoria

Con un simple análisis de sangre se analizan una serie de hormonas y se comprueba si hay capacidad de producir óvulos y si las condiciones normales para la implantación son adecuadas. Existen unas hormonas que, cuando sus niveles son muy altos no podríamos encontrar con una disfunción ovárica y este podría concordar con una menopausia precoz.

1.4.3.1.1.- Fundamentos de las pruebas

Principios del **ELFA** (Enzyme Linked Fluorescence Assay) es la técnica inmunoenzimática que se lleva cabo en el sistema automatizado VIDAS. Se trata de una ELISA con lectura final de fluorescencia. La prueba de VIDAS consta de dos partes: el cono y el cartucho. El cono, de un solo uso, se utiliza a la vez de fase sólida y de sistema de pipeteo para la prueba. El interior del cono se encuentra recubierto por anticuerpos monoclonales dirigidos contra la hormona problema a detectar, absorbidos sobre su

superficie interna. Los reactivos para la técnica se encuentran listos al empleo en el cartucho. Todas las etapas se realizan automáticamente mediante el módulo analítico VIDAS.

1.4.3.1.1.1.- Sandwich

Este inmunoensayo se lleva a cabo en dos etapas. Durante la primera etapa la muestra entra en contacto con la fase sólida, y es sometida a un ciclo de aspiración – expulsión, cuya duración ha sido específicamente calculada para activar la reacción y permitir que la hormona problema se una a los anticuerpos en el interior del cono. Los elementos que quedan libres son eliminados por lavado. Durante la segunda etapa, los anticuerpos contra la hormona problema que están unidos a fosfatasa alcalina (conjugado), van a saturar los sitios de unión libres sobre la hormona. De esta manera la hormona problema queda unida a los anticuerpos del cono y al conjugado formando un sándwich.

Durante la etapa final, el sustrato (4- metil-umbelifosfato) es sometido a un ciclo de aspiración – expulsión. La enzima que subsiste en las paredes del cono cataliza en ese momento la transformación del sustrato en un producto fluorescente, la 4- metil-umberilferona.

La intensidad de la fluorescencia es medida a través del sistema óptico a 450 nm. Al finalizar la prueba, los resultados son automáticamente analizados por el ordenador, que proporciona un valor de prueba para cada muestra. La fluorescencia medida es directamente proporcional a la cantidad de la hormona problema en la muestra.

1.4.3.1.1.2.- Competición

La muestra es transferida al pocillo que contiene un derivado de la hormona problema unida a la fosfatasa alcalina (conjugado). La hormona problema presente en el suero y el derivado de la hormona compiten por los anticuerpos presentes en el cono. Los elementos que quedan libres son eliminados por lavado.

Durante la etapa final, el sustrato (4- metil-umbelifosfato) es sometido a un ciclo de aspiración-expulsión. La enzima que subsiste en las paredes del cono cataliza en ese momento la transformación del sustrato en un producto fluorescente, la 4-metil-umberilferona.

La intensidad de la fluorescencia es medida a través del sistema óptico a 450 nm. Al finalizar la prueba, los resultados son automáticamente analizados por el ordenador, que proporciona un valor de prueba para cada muestra. La fluorescencia medida es inversamente proporcional a la cantidad de la hormona problema en la muestra.

Hormona Folículo Estimulante (FSH)

FSH es un test automatizado en el sistema VIDAS que permite medir cuantitativamente la FSH humana en el suero o el plasma (heparina). El principio de la prueba asocia al método inmunoenzimático una lectura final por fluorescencia. (ELFA).

Hormona Luteinizante (LH):

La LH (hormona luteinizante) es una glicoproteína de peso molecular cercano a los 30 000 daltons. La estructura de la LH muestra la existencia de 2 sub-unidades polipeptídicas alfa y beta unidas mediante enlaces no covalentes. La cadena alfa de 89 amino ácidos es muy similar a las de la FSH, la TSH y la GCH. La cadena beta constituida por 115 amino ácidos confiere a la hormona su especificidad biológica e inmunológica. En la mujer en actividad genital, la LH de forma sinérgica con la FSH interviene directamente en el desarrollo de los folículos ováricos aumentando su producción esteroidea y estimulando la ovulación. El principio de determinación asocia el método inmunoenzimático sándwich con una detección final por fluorescencia (ELFA). El cono de uso único sirve a la vez de fase sólida y de sistema de pipeteo. Los otros reactivos están listos al empleo y distribuidos en el cartucho.

Todas las etapas del test se realizan automáticamente en el aparato. Están constituidas por una sucesión de ciclos de aspiración expulsión del medio de reacción. La muestra es aspirada y después al pocillo que contiene los anticuerpos anti LH marcados con fosfatasa alcalina (conjugado). La mezcla – conjugado es aspirada y expulsada varias veces del cono a fin de aumentar la velocidad de reacción. Esta reacción permite al antígeno unirse a una parte a las inmunoglobulinas fijadas en el cono y de otra al conjugado, formando así un sándwich.

Etapas de lavado eliminan los componentes no fijados. Durante la etapa final de revelado, el sustrato (4 metil umbeliferil fosfato) es aspirado y después expulsado del cono; el enzima del conjugado cataliza la reacción de hidrólisis de este sustrato en un producto (4 metil umbeliferona), cuya fluorescencia emitida es medida a 450 nm. Esta fluorescencia es proporcional a la concentración de antígeno presente en la muestra.

Al final del test, los resultados se calculan automáticamente por el equipo VIDAS respecto a una curva de calibración memorizada, y después se imprimen.

ESTRADIOL

El estradiol es secretado principalmente por los folículos ováricos durante el ciclo menstrual de la mujer, por la placenta en el curso del embarazo. En menor grado la producción esta asegurada por las glándulas suprarrenales, testículos y por la conversión periférica de los andrógenos.

En los casos de sospecha de infertilidad tanto en el hombre como en la mujer la evaluación de los niveles de estradiol asociado a las determinaciones de LH, FSH Y

PROGESTERONA, permite apreciar el fundamento de eje hipotálamo-hipofisisgonadal y determinar el grado de integridad. Una vez se ha producido la estimulación ovarica en protocolos de reproducción asistida, la cuantificación del estradiol permite su seguimiento y apreciar la maduración folicular. El principio de la determinación asocia el método inmunoenzimático sándwich en dos etapas con una detección final en fluorescencia.

El cono desechable sirve tanto de fase sólida como de sistema de pipeteo. Los otros reactivos se encuentran listos al empleo y han sido previamente repartidos en el cartucho de reactivos. Todas las etapas del test son realizadas automáticamente por el aparato, consistentes en que la muestra es aspirada y expelida varias veces del interior del cono.

La muestra se transfiere al pocillo que contiene el conjugado que es un derivado de estradiol marcado con fosfatasa alcalina. Se produce una competición entre el estradiol presente en el suero y el derivado de estradiol del conjugado en función de los anticuerpos específicos anti-estradiol fijados en el cono.

Etapas de lavado eliminan los componentes no fijados. Durante la etapa final de revelado. El sustrato (4 metilumbeliferil fosfato) es aspirado y luego expelido del cono el enzima del conjugado cataliza este sustrato y lo transforma en un producto (4 -metilumbeliferona) cuya fluorescencia es medida a 450 nm. La intensidad de la fluorescencia emitida es inversamente proporcional a la cantidad de antígeno presente en la muestra. Al final de test los resultados son calculados automáticamente por el VIDAS (EQUIPO) comparados con una curva de calibración memorizada y posteriormente se imprimen.

PROLACTINA

La prolactina es una hormona polipeptídica de masa molecular 23 000 daltons aproximadamente y esta compuesta de 198 aminoácidos. Sintetizada por el lóbulo anterior de la hipótesis la prolactina es secretada de manera pulsátil (cada 20 minutos) y sigue un ritmo circadiano, los niveles más elevados se desarrollan durante el sueño. Se puede presentar bajo diferentes formas: forma monomera o prolactina little, dímeros o prolactina big y big-big prolactina. Varios factores controlan la secreción de la prolactina. Fisiológicamente la secreción de prolactina esta controlada por el hipotálamo. La Dopamina y GABA son los principales inhibidores. Los factores exógenos como el ejercicio físico, el estrés, la dieta, la hipoglucemia, pueden ser responsables de un incremento en los niveles de prolactina. El papel fisiológico mayor de la prolactina en la mujer es la iniciación y el mantenimiento de la lactancia. Esta también implicado en la maduración folicular y el desarrollo de los ovocitos. En el hombre afecta a las funciones gonadales. La hiperprolactinemia se ha reconocido como una causa de infertilidad en el hombre y en la mujer. La determinación VIDAS Prolactina es una ayuda al diagnóstico de hiperprolactinemias.

El principio de determinación asocia el método inmunoenzimático sándwich con una detección final por fluorescencia (ELFA). El cono de un solo uso sirve a la vez de fase sólida y de sistema de pipeteo. El resto de los reactivos de la reacción inmunológica están

listos de empleo y distribuidos en el cartucho. Todas las etapas de la determinación se realizan automáticamente por el sistema. Están constituidas por una sucesión de ciclos de aspirado y expulsión del medio reaccional.

La muestra es tomada después transferida al pocillo con los anticuerpos anti-prolactina marcados con fosfatasa alcalina (conjugado). La mezcla muestra –conjugado es aspirada y expulsada varias veces por el cono con el fin de aumentar la velocidad de reacción. Esta operación permite al antígeno ligarse por una parte a las inmunoglobulinas fijadas sobre el cono y por otra parte al conjugado formando así un sandwich. Las etapas de lavado eliminan los componentes no fijados.

Durante la etapa final de revelado, el sustrato (4-metil umbeliferil fosfato) es aspirado después expulsado del cono, el enzima del conjugado cataliza la reacción de hidrólisis de este sustrato en un producto (4 metil-umbeliferona) cuya fluorescencia es proporcional a la concentración de prolactina en la muestra.

Al finalizar la prueba, los resultados se calculan automáticamente por el sistema respecto a una curva de calibración memorizada, después se imprimen.

PROGESTERONA

La progesterona es una de las principales hormonas esteroides secretadas en la mujer por el ovario. Su nivel aumenta en el momento de la ovulación, hasta alcanzar su máximo en la fase luteínica. De esta forma prepara al útero para la implantación de un óvulo fecundado. En aquellos en los que sospecha infertilidad en la mujer o en caso de abortos repetidos, la evaluación de la progesterona asociada a la cuantificación de estradiol, LH y FSH permiten evaluar la ovulación y la calidad de la fase lútea. Pueden observarse, en efecto concentraciones anormalmente bajas de progesterona en casos de funcionamiento anómalo del cuerpo amarillo, de ausencia de ovulación o de ciclo corto.

El principio de dosificación asocia el método inmunoenzimático con una detección final por fluorescencia (ELFA). Todas las etapas del test se realizan automáticamente en el aparato. Constituidas por una sucesión de ciclos de aspiración expulsión del medio reactivo. En el primer momento, después de diluir la muestra, la progesterona contenida en la muestra se une al anticuerpo monoclonal específico fijado en el cono. Las etapas de lavado eliminan los componentes no fijados. En una segunda etapa el cono aspira el conjugado. Se produce una saturación de los sitios que han quedado libres de anticuerpos. La progesterona retenida es revelada por el conjugado, que es un derivado de progesterona marcado con fosfatasa alcalina. El conjugado no fijado es eliminado por el lavado. Durante la etapa final del revelado, el sustrato (4- metilumbeliferil fosfato) es aspirado por el cono y luego expulsado; la enzima del conjugado cataliza la reacción de hidrólisis de este sustrato en un producto (4 – metilumbeliferona), del cual se mide la fluorescencia emitida a 450 nm. Esta fluorescencia es inversamente proporcional a la concentración de antígeno presente en la muestra. Al terminar el test, los resultados son calculados automáticamente por las vidas con relación a una curva de calibración memorizada, y después son impresos. 8

1.4.3.2.- OVULACIÓN

La ovulación se refiere a la ruptura del folículo de De Graaf, con la consecuente liberación del óvulo. Tiene lugar hacia la mitad del ciclo ovárico día 14. Los estrógenos producidos por el folículo durante la maduración, inducen indirectamente la producción de la hormona luteinizante (LH) por parte de la adenohipofisis. La ovulación ocurre cuando las hormonas LH y FSH llegan a su mayor nivel de concentración en la sangre, condición conocida como pico ovulatorio. El óvulo expulsado sale rodeado por células de la capa del tejido folicular. Usualmente la ovulación tiene lugar 40 hrs después del comienzo de este aumento repentino. Es importante saber que el aumento de la LH y la ovulación podrían no ocurrir en todos los ciclos.

Después de la ovulación, el folículo de De Graaf se colapsa y se inicia la formación de una glándula endocrina conocida como cuerpo luteo o amarillo, que produce por estimulación de la FSH y la LH una hormona llamada progesterona esta ayuda a mantener la gestación en caso de que tenga éxito la implantación del embrión.

1.4.3.2.1.- PROCEDIMIENTOS CLÍNICOS PARA PREDECIR OVULACIÓN

1.4.3.2.1.1.- OvuQuick es una prueba rápida y sencilla que le ayudara a predecir el día de la ovulación. Durante este periodo la mujer tendrá la máxima probabilidad de lograr un embarazo

1.4.3.2.1.2.- **Ecografía.** La ecografía nos aporta información muy valiosa, sobre el útero, su posición y posibles anomalías, así como sobre los ovarios y las trompas, nos permite analizar su morfología y realizar el diagnostico de una posible endometriosis o de una gestación. Fig.7.

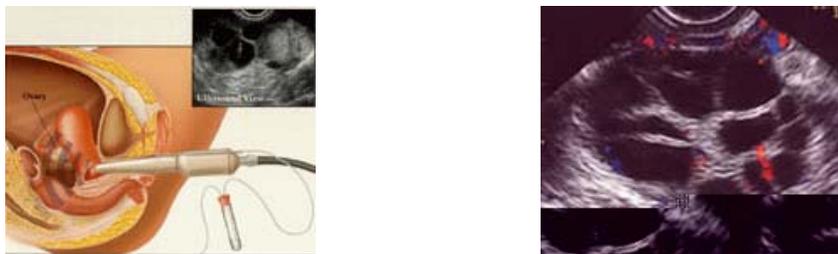


Figura 7.

1.4.3.2.1.3.- Estudio del cuerpo uterino y de las trompas de Falopio. Esta prueba es la **Histerosalpingografía (HSG)** y es similar a la radiografía, se aplica un contraste para ver no solo la morfología, sino también la permeabilidad de útero, de las trompas. La HSG se realiza a partir del tercer día después de haber terminado el

sangrado menstrual y no después del décimo día del ciclo, para descartar la existencia de un embarazo, y debe estar contraindicada si existe inflamación pélvica, metrorragia (sangrado entre regla), o si se ha ingerido contraste para el estudio radiológico del aparato digestivo.

1.4.3.2.1.4.- **Estudio del endometrio.** Capa que tapiza al útero y sirve para que se pueda implantarse el embrión en el futuro. Se realiza un análisis hormonal en la segunda fase del ciclo (en la que potencialmente se producirá la implantación).

1.4.3.2.1.5.- **Laparoscopia.** Apertura quirúrgica de la pared abdominal, que se utiliza también en la mujer estéril para determinar el aspecto del útero, su movilidad, su forma, posición y anomalías.

1.4.3.2.1.6.- **Histeroscopia.** Visualización directa de la cavidad uterina mediante un tubo de fibra óptica que se introduce en la vagina, tiene la ventaja con respecto a la HSG de que además de visualizar la cavidad uterina para el diagnóstico de las anomalías permite en muchos casos su tratamiento, como en los pólipos, miomas, adherencias y otras malformaciones uterinas (útero tabicado, etc.)

1.4.4.- INFECCIONES MICROBIANAS QUE AFECTAN LA FERTILIDAD

1.4.4.1.- Chlamydia trachomatis.

Es la causa más común de infección venérea de transmisión sexual en el mundo, con una incidencia estimada en 3 a 4 millones de casos por año en estados unidos. Chlamydia incluye cuerpos elementales (la forma infecciosa) y cuerpos reticulares o de inclusión la forma de replicación y comprende 15 serovariantes conocidas. La chlamydia trachomatis se caracteriza por una prevalencia y un índice portador asintomático elevados, con frecuentes complicaciones de gravedad de tanto en mujeres como en neonatos. Entre las complicaciones de la infección por chlamydia en mujeres se incluyen cervicitis, uretritis, endometritis, enfermedad pélvica inflamatoria (EPI) y una mayor incidencia de embarazo ectópico e infertilidad.

Existen varios métodos para diagnosticar la infección por chlamydia. El aislamiento convencional de Chlamydia se realiza por medio de cultivos del microorganismo en una línea celular adecuada. Al cabo de entre 48 y 72 hrs, el cultivo se puede teñir con giemsa, yodo o anticuerpos conjugados con fluoresceína para su examen visual. Recientemente se han desarrollado también inmunoensayos rápidos que emplean anticuerpos contra los antígenos de la chlamydia. Estos métodos incluyen ensayos de fluorescencia directa e inmunoensayos enzimáticos.

1.4.4.1.1.- QUICKVUE CHLAMYDIA TEST

FUNDAMENTO.- Para realizar la prueba se obtiene una muestra tomada con escobilla clínica endocervical y colocado en un tubo que contiene Reactivo A (solución de extracción) después de dos minutos se añade al tubo el Reactivo B (solución de neutralización). Después de la extracción y la neutralización, se añaden 3 gotas de la muestra extraída al pocillo para la muestra en el casete de prueba.

La muestra migra a través de una almohadilla rotulada que contiene un anticuerpo monoclonal anti-Chlamydia conjugado y de un rotulo testigo coloreado de rosa y un rotulo coloreado de azul. Si la muestra contiene antígeno a Chlamydia, el antígeno se conjugara al anticuerpo acoplado al rotulo de la prueba coloreado de rosa, el cual, a su vez, se conjugara a un segundo anticuerpo lipopolisacárido anti-chlamydia localizado en la membrana. Cuando se capta el complejo de anticuerpo-antígeno a Chlamydia, se visualizara una raya de color rojo débil a oscuro. También aparecerá una línea de control azul en la ventana de resultados, indicando que se ha introducido el volumen de fluido adecuado al casete de prueba y que se ha producido flujo capilar. Si no se detecta presencia de antígeno a Chlamydia o se detecta una presencia a niveles muy bajos, se visualizara solamente una línea control azul. Si no se desarrolla la prueba es inválida. La prueba QUICKVUE para chlamydia es un inmunoensayo de flujo lateral previsto para la detección cualitativa rápida de la chlamydia, directamente de muestras tomadas con isopos endocervicales y cepillos para citología. La prueba tiene como objeto servir de ayuda en el diagnostico de una presunta infección por chlamydia.

1.4.4.2.- MICOPLASMA

Los micoplasmas pertenecen a la clase de los Molliutes de piel blanda; estos son pleomorficos, variando en su tamaño de 0.2 a 0.3 um. Los micoplasmas están contenidos únicamente por una membrana celular y la evidencia muestra una carencia de pared celular. Estas características proporcionan a los micoplasmas una resistencia intrínseca contra ciertas familias de antibióticos (beta lactamasas, rifampicina, polimixina).

De los siete micoplasmas encontrados en el tracto genitourinario, micoplasma hominis (M.h.) y Ureaplasma urealyticum (U.u.) son los que más se aíslan con mayor frecuencia. Estas dos especies pueden estar presentes como flora comensal hasta un 40% de los humanos asintomático. Bajo algunas circunstancias estos se multiplican de forma excesiva, dando lugar a un número de enfermedades que se mencionan a continuación:

Infecciones por micoplasma genital en el tracto urogenital femenino:
Vaginosis, enfermedad inflamatoria pélvica, fiebre post-parto, enfermedades neonatales, aborto y nacimiento prematuro.

Infecciones por micoplasma genital en el tracto urogenital masculino:
Uretritis no-gonococica, prostatitis y epididimitis.

*Estos microorganismos pueden ser exitosamente aislados a partir de diferentes sitios como: vagina, cervix, tomas endometriales, fluido amniótico, uretra, orina, semen y otros.

*Cuál sea el método utilizado para la recolección de los especímenes, estos requieren la recolección de células en las cuales los micoplasmas se adhieren. Debido a que los micoplasmas son muy sensibles a la deshidratación, deberá utilizarse un medio de transporte líquido.

*El cultivo deberá de iniciarse lo más pronto posible: Urea plasma urealyticum crece en medio Shepard convencional con un pH 6.0 que contenga urea; Micoplasma Hominis crece

en un medio que contenga arginina con un pH de 7.2. Dentro de un medio líquido el crecimiento es indicado mediante un indicador de cambio de coloración: Urea plasma urealyticum y Micoplasma hominis preparado en un medio alcalino desarrollándose en un tiempo entre 18 a 48 hrs.

1.4.4.2.1.- MYCOVIEW

Método para la identificación y prueba de resistencia para micoplasmas urogenitales.

El método de prueba MYCOVIEW esta basado sobre las propiedades metabólicas específicas y de resistencia natural de cada especie de micoplasma:

* Urea plasma urealyticum: hidrólisis de urea y resistencia contra lincomicina.

Micoplasma hominis: hidrólisis de arginina y resistencia contra eritromicina.

El crecimiento de ambas especies son visualizadas mediante un cambio de coloración del indicador de Ph de amarillo-anaranjado una coloración roja- rosado

1.5.- PRUEBAS MASCULINAS

El análisis de semen es la primera prueba que se realiza a la pareja, ya que siendo la más sencilla, puede orientar al medico hacia el factor masculino. ESPERMATOBIOSCOPIA DIRECTA con esta prueba se puede controlar si existe un factor responsable de infertilidad como en los casos de OLIGOSPERMIA (acudir a la CRIOPRESERVACION) o en casos de AZOOSPERMIA (acudir al BANCO DE SEMEN).

- El estudio hormonal LH, FSH, TESTOSTERONA
- Ultrasonido testicular
- Examen general de orina
- Urocultivo
- Espermocultivo
- Búsqueda de chlamydia
- Búsqueda de mycoplasma
- Citomegalovirus
- Prueba de interacción postcoital, entre el espermatozoide y el moco cervical
- Pruebas de aglutinación de espermatozoides, etc.

1.5.1.- CRIOPRESERVACION DEL SEMEN

La criopreservacion de semen en un banco es él deposito, congelamiento y almacenamiento de espermatozoides para uso futuro. Los espermatozoides mantenidos de esta manera son luego utilizados en inseminación artificial y en otros procedimientos de reproducción asistida, los cuales son métodos alternativos para lograr un embarazo.

Los procedimientos de cirugía, radioterapia, y o quimioterapia puede dañar la función reproductiva. Estos tratamientos pueden afectar severamente la fertilidad futura desmejorando la producción y calidad de los espermatozoides, conduciendo a una esterilidad temporaria o permanente. La recuperación de radioterapia y quimioterapia es variable e impredecible, la única manera de proteger la fertilidad futura es la criopreservación de semen en un banco.

Los criterios de preterapia de criopreservación de semen existentes son revisados continuamente dado el éxito observado en los embarazos con menos de un millón de espermatozoides móviles. (El criterio de normalidad para un individuo sano joven es de al menos 20 millones de espermatozoides). La utilización exitosa de los procedimientos de fertilización in vitro y la experiencia actual con nuevas tecnologías de reproducción asistida han llevado a la conclusión de que solo individuos azoospermicos deberán ser disuadidos de criopreservar su semen.

Por lo tanto, a todos los hombres que vayan a ser sometidos a una terapia que perjudique su función reproductiva y que deseen tener hijos en el futuro se les debe ofrecer la opción de evaluar su semen para tener la posibilidad de almacenarla.

El número de muestras a ser guardadas en el banco varía de un paciente a otro, dependiendo del volumen, densidad, morfología y calidad del semen luego del descongelamiento. Por esta razón se le ofrece a los pacientes, luego de la realización del procedimiento con el primer espécimen, un asesoramiento en el que los resultados de la evaluación del semen son analizados, y se realizan las recomendaciones pertinentes.

Los espermatozoides pueden ser almacenados de manera indefinida. Los espermatozoides han sido criopreservados en bancos de semen desde los años 60. Se han documentado embarazos que han resultado de muestras de semen almacenadas por 15 años.

9

1.5.2.- ANTICUERPOS ANTI-ESPERMA

En algunos casos, los factores inmunológicos pueden jugar un papel muy importante en la infertilidad. Los anticuerpos antiespermáticos pueden ser producidos por el hombre o por la mujer. El hombre puede desarrollar anticuerpos antiespermáticos contra sus propios espermatozoides, y la mujer puede generar anticuerpos contra los espermatozoides de su pareja.

Los anticuerpos antiespermáticos pueden contribuir a la infertilidad de varias maneras:

- 1.- Los anticuerpos antiespermáticos pueden inmovilizar los espermatozoides antes de que estos alcancen el moco cervical.

2.- Si se hallan localizados en el moco cervical, los anticuerpos antiespermáticos pueden atrapar las células espermáticas en la estructura del moco, impidiendo su migración al útero.

3.- Los anticuerpos antiespermáticos pueden interferir de manera directa durante el proceso de interacción entre el ovocito y el espermatozoide, impidiendo la fertilización.

El ensayo de evaluación de anticuerpos antiespermáticos se utiliza para detectar anticuerpos en semen, suero y moco cervical. 9

2.- INSEMINACION ARTIFICIAL

La inseminación artificial es un procedimiento utilizado en los programas de Reproducción asistida como primera alternativa en el manejo de las parejas estériles en cuanto menos una trompa uterina permeable que no hayan logrado un embarazo tras la aplicación de tratamientos convencionales tendientes a la corrección de los factores causales de la esterilidad.

2.1.- FINALIDADES

Los objetivos principales de la inseminación artificial son:

- Asegurar la existencia de óvulos disponibles
- Acercar los espermatozoides al óvulo en el aparato genital femenino.
- Mejorar e incrementar el potencial de fertilidad de los espermatozoides realizando una serie de procedimiento de laboratorio al eyaculado, llamados en conjunto **CAPACITACION ESPERMATICA.**

2.2.- INDICACIONES

La inseminación artificial se realiza en aquellas parejas que no se han podido embarazar debido a que:

La mujer tiene algún problema a nivel del cuello del útero como: alteración en el moco cervical. Presencia de anticuerpos antiesperma, estenosis (estrechez).

El hombre muestra alteraciones en el semen como es disminución del número de espermatozoides y/o de su movilidad, disminución en el volumen del eyaculado, aumento excesivo en el número de espermatozoides, malformaciones anatómicas de su aparato reproductor o alteraciones funcionales de la eyaculación.

La pareja presenta una esterilidad inexplicable (aquella en que todos los estudios demuestran normalidad pero no se logra la fecundación).

La inseminación artificial puede ser **HOMOLOGA** o **HETEROLOGA**

La **inseminación artificial homologa** es aquella donde se utiliza el **semen de la pareja.**

La **inseminación artificial heterologa** es cuando se utiliza **semen de un donador**. (Semen congelado de banco), y se indica cuando el varón no tiene espermatozoides o cuando es portador de alguna enfermedad hereditaria.

No se recomienda usar semen fresco de donador por el riesgo de contraer SIDA. 10

2.3.- INSEMINACION HOMOLOGA

En la inseminación homóloga, la muestra de semen se obtiene por masturbación el mismo día en que se va a realizar la inseminación. Se recomienda a la pareja una abstinencia sexual en los 3 días previos con el objetivo de maximizar la calidad de la muestra seminal en número y calidad de los espermatozoides. La técnica de capacitación espermática se selecciona según la calidad de la muestra de semen. Tiene una duración hasta de 2 hrs. Y debe iniciarse a los 30 minutos después de ser obtenida la muestra. Cuando la muestra esta lista para la inseminación se deposita es un catéter especial conectado a una jeringa; la paciente se coloca en posición ginecológica, se aplica un espejo vaginal estéril para localizar el cervix igual que en una exploración de rutina y por el orificio se introduce el catéter hacia el interior del útero y se deposita el semen capacitado. (Inseminación intrauterina). Si el caso lo amerita, se puede depositar semen capacitado en el interior del cervix (inseminación cervical).

2.4.- INSEMINACION HETEROLOGA

2.4.1.- Programa de Donadores Anónimos

Existen centros donde se lleva acabo la criopreservacion de semen de donantes de alta calidad, es utilizado en procedimientos de reproducción asistida. Todos los donadores son reclutados en las universidades, y sus edades son de 18 a 40 años. La mayoría son estudiantes de pregrado, grado o profesionales.

Los donadores de semen son sometidos a una evaluación intensiva, que incluye una examinacion física, pruebas de enfermedades contagiosas, evaluación genética y análisis de semen.

1.-Evaluación del estado de salud previo a la aceptación en el programa de donantes de semen, se requiere una examinacion física que incluye un análisis completo de la historia clínica y del estado de salud. Una vez aceptados, el estado de salud de los donantes es reevaluado continuamente.

2.- Los donantes enrolados en el programa son periódicamente evaluados para detectar evidencias de infección con el virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 y 2, virus T – linfotropico humano tipo 1, virus de la hepatitis B, incluyendo determinación de antígeno de superficie de hepatitis B y anticuerpos contra core antigen de hepatitis B y virus de la hepatitis C.

Conjuntamente todos los donantes son evaluados por evidencia de sífilis, Neisseria Gonorrhea, Mycoplasma y Chlamydia Trachomatis. Periódicamente, se realiza un análisis completo de sangre incluyendo una evaluación de enzima hepáticas. Todos los estudios descritos son realizados cada 6 meses, con excepción de HIV-1 HIV-2, antígeno de superficie de virus de hepatitis B y hepatitis C, los que se realizan cada uno a tres meses.

3.- Evaluación genética. Todos los donantes son sometidos a una evaluación genética, que incluye una historia clínica individual y familiar, y evaluación del estatus de portador de algunas enfermedades genéticas. En aquellos casos en que se ha establecido el origen étnico, los donadores son evaluados para las enfermedades de Tay-Sachs, Fibrosis quística (análisis de 32 mutaciones), Anemia de glóbulos falciformes, y Talasemia. Adicionalmente, se puede solicitar cariotipo cromosómico.

4.- Evaluación del semen. Los donantes son sometidos a un análisis completo de semen que evalúa cuenta, con motilidad y morfología espermática. Todos los parámetros evaluados deben ser normales y la concentración debe de exceder 50 millones de espermatozoides por mililitro. También se realizan estudios especializados para evaluar la capacidad fertilizante, con el ensayo de penetración de huevos de hámster y anticuerpos antiespermáticos. Con el objeto de analizar la supervivencia de los espermatozoides luego del proceso de congelamiento, en cada caso se realiza un análisis de semen luego del descongelamiento. Se garantiza que cada vial de muestra de semen de donante posee al menos 20 millones de espermatozoides móviles.

2.4.2.- Cuarentena del semen

Una vez que los donantes han sido evaluados exhaustivamente y han probado cumplieron los estándares requeridos, las muestras de semen son guardadas por un lapso mínimo de seis meses.

Luego de completado el periodo de cuarentena, los donantes son reevaluados para HIV y otras enfermedades infecciosas. Las muestras son utilizadas solo si el donante subsecuente resulta negativo para los estudios realizados.

2.4.3.- Selección de Donantes

Los donantes de semen son sometidos a una extensa selección y evaluación, de manera de asegurar un muestreo de donantes de alta calidad a ser usados en procedimientos de reproducción asistida. En los bancos de semen constan de listas detalladas y variadas de donantes de semen cuidadosamente seleccionados. Tanto médicos como pacientes pueden elegir un donante cuyas características cumplan mejor con las deseadas. Si el paciente lo desea, en los bancos de semen ofrecen un servicio de asesoramiento ya sea por el médico o la persona asignada para esa tarea, puede analizar todos los aspectos de la selección y evaluación del donante, se provee toda la información posible sobre el donador y esta disponible para consulta luego del nacimiento del niño. Una vez que se obtiene un embarazo, existen muestras adicionales de semen de un donante en particular pueden ser

adquiridas para la realización de inseminaciones posteriores. En este caso se realizan los arreglos necesarios para su almacenamiento.

En los bancos de semen solicita a los médicos y sitios de inseminación que documenten todos los embarazos, e información sobre los niños nacidos resultante de las inseminaciones con semen de donadores. Estas medidas han sido establecidas para minimizar el problema de consanguinidad. 9

2.5.- ELECCIÓN DE LA TÉCNICA DE INSEMINACION

2.5.1.- Clasificación

Dependiendo del sitio de donde se deposite el semen la inseminación artificial puede ser: INTRAVAGINAL, INTRACERVICAL, INTRAUTERINA, INTRAPERITONEAL o INTRATUBARIA.¹⁰

2.5.1.1.- Inseminación Intravaginal

Este método es empleado fundamentalmente en los casos de incapacidad de depósito del semen en la vagina. Ya que sea por un vaginismo severo o por una alteración física en el varón, como una disfunción eréctil.

El procedimiento es muy sencillo y no es necesaria la capacitación de la muestra, Con la paciente en decúbito supino y en trendelemburg, se deposita la muestra de semen en el fondo de la vagina con la ayuda de una jeringa, este procedimiento lo puede realizar la pareja sin ayuda médica. Esta posición debe mantenerse durante, aproximadamente, 20 minutos tras la inseminación es recomendable utilizar la muestra lo antes posible.

2.5.1.2.- Inseminación Intracervical.

La inseminación intracervical sé a compañía a su vez de un deposito paracervical de semen. Para su realización es requisito imprescindible la presencia del moco cervical adecuado. Un volumen de 0.2 a 0.5 ml de eyaculado es introducido en el tercio externo del canal cervical mediante una fina cánula acoplada a una jeringa. El resto de la muestra de semen es depositado en la parte externa del cuello uterino y en el fondo del saco posterior de la vagina.

2.5.1.3.- Inseminación Intrauterina

Esta técnica es la más recomendable en los casos de infertilidad de causa masculina, cervical o inmunologica, y requiere de una preparación previa del eyaculado.

2.5.1.4.- Inseminación Intraperitoneal

Algunos autores han comunicado una tasa de gestación de un 10 a un 18 % en casos de esterilidad de tipo cervical, masculina o idiopática, depositando los espermatozoides, previamente separados del líquido seminal directamente en el fondo de saco, a través de la vagina. Existen muchas controversias respecto a este procedimiento puesto que, además de la técnica, se ha demostrado que en algunos casos el líquido peritoneal puede resultar tóxico para los embriones y empeorar la movilidad de los espermatozoides.

A lo largo de la tesis nos referiremos exclusivamente a la inseminación intrauterina, ya que es la más utilizada en la mayoría de los centros de fertilidad. 10

2.5.2.- INSEMINACION INTRAUTERINA

La inseminación intrauterina es un método de Reproducción Asistida para ayudar a parejas infértiles. Consiste en colocar espermatozoides dentro de la cavidad intrauterina y su finalidad es que los espermatozoides fecunden óvulos dentro del cuerpo de la mujer. Con este tratamiento se pueden resolver problemas de fertilidad en:

- Parejas con infertilidad inexplicada
- Parejas en donde fracasaron cuatro a seis ciclos de relaciones dirigidas
- Mujeres con factor cervical.
- Parejas con factor inmunológico.

Los requisitos son que el conteo de espermatozoides móviles en la preparación de la muestra de semen sea normal y que las trompas de la mujer se encuentren permeables libres de obstrucciones que impidan a los espermatozoides pasar hasta donde están los óvulos en la trompa. 11

Las etapas de la INSEMINACION INTRAUTERINA son:

- 1.- Estimulación de la ovulación
- 2.- Selección de espermatozoides móviles (CAPACITACION)
- 3.- Inseminación intrauterina



Figura 8.

Es importante señalar que de estas los puntos 1 y 3 los realizan el medico y en la etapa dos participamos profesionalmente los QFB en la capacitación del semen. Fig.7

Cuando la pretensión de la pareja radica en definir el sexo de su futuro hijo, es posible preseleccionar el sexo considerando la carga genética del espermatozoide, ya que el define el sexo del hijo tomando en cuenta la presencia del gonosoma X o Y.

2.6.- RESELECCIÓN DE SEXO

La preselección de sexo puede ser realizada previa a una inseminación, con el objetivo de incrementar la probabilidad de tener un niño de un sexo u otro.

Fundamento

La técnica de Ericsson se basa en el principio por el cual espermatozoides que llevan al cromosoma Y (hombre) se desplazan mas rápidamente que aquellos que lleva el cromosoma X (mujer).

2.7.- TÉCNICAS DE CAPACITACION ESPERMATICA

La preparación de la muestra de semen, además de la eliminación del plasma seminal va a consistir principalmente en la concentración de los espermatozoides y la selección de aquellos que presenten una buena movilidad. Los procedimientos de preparación del semen varían entre uno u otro laboratorio. Se utilizan tres técnicas diferentes en el laboratorio de reproducción, seleccionando cada una de ellas según las características del semen.

La técnica de lavado de espermatozoides se lleva a cabo previo a una inseminación intrauterina debido a que remueve las sustancias químicas que pueden producir reacciones adversas en el útero. Conjuntamente el lavado de espermatozoides aumenta la capacidad fertilizante de los espermatozoides y por lo tanto es recomendado en casos de infertilidad de tipo inmunológico, infertilidad masculina o infertilidad sin causa aparente.

La técnica de lavado de espermatozoides remueve el plasma seminal así como crioprotectores de las muestras previo a una inseminación intrauterina.

La capacitación espermática emplea una serie de técnicas de lavado con soluciones especiales o con gradientes de diferentes densidades que eliminan del eyaculado restos celulares, bacterias, leucocitos, espermatozoides muertos y lentos, secreciones seminales, al mismo tiempo se selecciona y concentra la población de espermatozoides más fértiles en un volumen aproximado de 0.5 ml que se introduce al útero aumentando con ello las posibilidades de fecundación. Las técnicas mas empleadas son las de lavado y centrifugación, swim-up y filtración en Isolate.

2.7.1.- Lavado Básico

Esta técnica utiliza dilución y centrifugación. Una solución para lavado de espermatozoides que contiene antibióticos y suplementos proteínicos es agregados al eyaculado. Luego de repetidas centrifugaciones, el fluido seminal es eliminado de las muestras y las células espermáticas son concentradas para la realización de la inseminación.

2.7.2.- Lavado Swim-Up

Esta técnica utiliza la migración de los espermatozoides para obtener una fracción de la muestra de espermatozoides con un mínimo de 90% de movilidad. La muestra de semen es mezclada con un medio de lavado de espermatozoides, y centrifugada para obtener un pellet de espermatozoides. Por encima del pellet se coloca un medio aséptico, de manera que los espermatozoides más móviles pasen, y se concentran en el medio. Los espermatozoides recuperados en el medio son posteriormente utilizados para llevar a cabo la inseminación.

2.7.3.- Lavado con Isolate

Es un procedimiento de separación para espermatozoides, a través de gradientes, designado para separar la fracción móvil (esperma) del fluido seminal. Un sistema de gradiente de dos capas es efectivo para reducir las contaminaciones celulares como espermatozoides muertos, células sanguíneas y de más. Al final del procedimiento la muestra contiene y predominan espermatozoides móviles con progresión dirigida rápida. El ISOLATE es un filtrado estéril, suspensión coloidal de partículas de silica sensibilizadas con uniones covalentes hidrofílicas en HEPES-buffer HTF.

El procedimiento del gradiente de percoll es excelente para cualquier tipo de muestra fresca o congelada, y puede ayudar en la evaluación del potencial la fertilidad en casos de factor masculino.

3.- OBJETIVOS

3.1.- OBJETIVO GENERAL

Desarrollar un texto en el cual se presenten los aspectos bioquímico, fisiológicos, morfológicos y microbiológicos mas importantes, involucrados y relacionados con la fertilidad humana, a través de mejorar e incrementar el potencial de fertilidad de los espermatozoides realizando una serie de procedimientos de laboratorio al eyaculado, llamados en conjunto CAPACITACION ESPERMATICA para que estas células sean capaces de fecundar un óvulo y por tanto lograr el embarazo.

3.2.- OBJETIVOS PARTICULARES

3.2.1.- Compilar y analizar la información documental existente, que permita conocer y establecer los procedimientos básicos a utilizarse en un laboratorio clínico con el fin de apoyar al área médica en el área de reproducción asistida.

3.2.2.- Establecer los factores masculinos y femeninos involucrados en la reproducción humana, a través de la descripción de la metodología y procedimientos clínicos empleados para favorecer la fecundación.

3.2.3.- Aplicar en dos casos clínicos en los que se asiste la reproducción humana a través de la descripción de los procedimientos desarrollados en el laboratorio L.V., apoyando como Q.F.B. al ginecólogo para lograr la reproducción.

4.- METODOLOGÍA

4.1.- FACTOR FEMENINO

4.1.1.- Cristalografía

INDICACIONES DE LA PACIENTE PARA PRESENTARSE AL LABORATORIO:

- Encontrarse entre los días 10, 11,12,13 correspondientes al ciclo ovulatorio.
- Haberse efectuado la prueba de LH (hormona luteinizante)
- No es necesario el ayuno
- Con su higiene personal
- No estar en tratamientos de medicamentos vía vaginal
- No tener relaciones sexuales
- Si hay muestra de escurrimiento, recolectarla en un recipiente estéril y mantener a 37 grados, entregarla al laboratorio.

MATERIAL:

- Espejo vaginal
- Guantes
- Laminillas
- Pipetas de plástico estériles
- Tubos cónicos graduados
- Papel pH
- Microscopio
- Hisopos estériles

PROCEDIMIENTO:

- 1.- Colocar a la paciente en posición ginecológica.*
- 2.- Se expone el cuello con un espejulo y se pasa con suavidad un hisopo de algodón por el orificio externo para retirar la acumulación externa de contaminantes vaginales.
- 3.- Se localiza el cervix, y se obtiene con pipeta todo el moco cervical que se pueda.
- 4.- Hacer un extendido sobre una laminilla, dejarla secar posteriormente observar en el microscopio.
- 5.- Depositar un poco sobre otra laminilla medir el pH.

6.- Colocar un poco de moco en un portaobjeto y colocarle un cubreobjeto se levanta este con suavidad ver la filantez. (Elasticidad del moco).

* La posición ginecológica es aquella en la que la paciente con la ayuda de la enfermera se coloca sobre la mesa de exploración acostada con la cadera al borde de esta y las piernas dobladas y apoyarlas sobre las pierneras.

INTERPRETACIÓN Y VALORES NORMALES:

La evaluación de las propiedades del moco cervical comprende estimación del grado de filantez (spinnbarkeit), helecchos (cristalización), consistencia y Ph. El puntaje máximo para el moco cervical es 15. Todo puntaje mayor de 10 suele significar un buen moco cervical que favorece la penetración de los espermatozoides y el menor de 10 puede representar un moco cervical desfavorable. El puntaje se obtiene por el volumen de moco cervical recolectado y por su aspecto, el pH del moco no se incluye en el puntaje total del moco cervical.

VOLUMEN

0 = 0 ml

1 = 0.1 ml

2 = 0.2 ml

3 = 0.3 ml

CONSISTENCIA

La consistencia del moco cervical es la principal barrera que se opone a la penetración de los espermatozoides. No hay resistencia a la migración de los espermatozoides a través del moco cervical en la mitad del ciclo, pero el moco viscoso como el que se observa en la lutea, forma una barrera impenetrable. Los detritos celulares y los leucocitos que existen en el moco cervical impiden a la migración de los espermatozoides.

- 0 = Moco premenstrual denso y muy viscosa
- 1 = Tipo intermedio viscoso
- 2 = Poco viscoso
- 3 = Moco de la mitad del ciclo normal preovulatorio, acuso y de mínima viscosidad

HELECHOS

Para determinar el puntaje de los helechos se deben examinar varios campos microscópicos y se expresa como el más alto grado de ramificación que resulta típico para esa muestra según las siguientes definiciones.

- 0 = Ausencia de la cristalización
- 1 = Formación de helechos atípicos
- 2 = Tallos de helechos primarios y secundarios
- 3 = Tallos de helechos terciarios y cuaternarios

FILANTEZ

Se estima en centímetros de longitud del filamento de moco cervical estirado entre medio y se asignan los puntos.

- 0 = menor a 1 cm
- 1 = 1 a 4 cm
- 2 = 5 a 8 cm
- 3 = mayor o igual a 9 cm

pH. El pH del moco cervical debe obtenerse con panel pH, rango 6.4 a 8, ya sea in situ o inmediatamente después de la recolección. Si el pH se determina in situ tómese la precaución de medir el pH del moco cervical correctamente porque el pH de moco exocervical siempre es más bajo que el del conducto endocervical también es necesario tomar la precaución de evitar la contaminación con secreciones de la vagina, cuyo pH es más bajo que la del conducto exocervical.

El pH óptimo para la migración de los espermatozoides y su supervivencia en el moco cervical esta entre 7 y 8.5 y representa el rango del pH del moco endocervical normal de la mitad del ciclo. Sin embargo, un pH de 6 a 7 no es incompatible con la penetración de los espermatozoides. 7

4.1.2.- Prueba de Sims-Huhner (prueba POST-COITAL)

INDICACIONES DE LA PACIENTE PARA PRESENTARSE AL LABORATORIO:

- Presentarse al laboratorio el día que correspondiente a los días próximos a la ovulación, días 10, 11, 12, 13, o si es que se está induciendo ovulación el día que el médico indique.
- La pareja debe de mantener abstinencia sexual por 2 a 5 días antes de la fecha de realización de la prueba.
- Una vez el día de la realización del estudio, la pareja tiene relaciones sexuales dos horas antes de presentarse al laboratorio.
- No usar lubricantes ni fluidos de otra índole.
- La mujer debe permanecer acostada una vez que se halla concluido con la relación sexual.
- Si se tiene muestra de escurrimiento vaginal, recolectarla en un recipiente estéril y mantenerla a temperatura de 37 grados (cerca del cuerpo) para entregarla al laboratorio.
- La paciente no debe asearse o bañarse ya que se le van a tomar muestras en el laboratorio.
- La paciente debe de presentarse al laboratorio después de dos horas de haber terminado la relación sexual.
- En el laboratorio la paciente dará los siguientes datos:
 - Nombres y edades de ambos.
 - Día del ciclo en que se encuentra.
 - Días de abstinencia sexual de su pareja.
 - Hora en que se realizó la relación sexual.
 - El químico anotará la hora en que se está tomando las otras muestras.

MATERIAL :

- Espejo vaginal
- Guantes
- Pipetas de bulbo estériles
- Tubos cónicos graduados
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Papel pH

PROCEDIMIENTO :

- 1.- Colocar a la paciente en posición ginecológica.
- 2.- Colocar el espejo vaginal localizando el cervix.

- 3.- Recolectar la muestra de fondo de saco con una pipeta de bulbo y colocarla en un tubo cónico.
- 4.- De esta muestra medirle el pH, volumen y hacer un extendido colocarle un cubreobjeto y reservar.
- 5.- Recolectar la muestra de endocervix con una pipeta de bulbo y vaciarla en un tubo cónico, si no hay mucha muestra vaciarla sobre un portaobjetos y colocarle un cubreobjetos, medir el ph, reservar.
- 6.- La muestra de escurrimiento colocarla en el baño maria para su valoración posterior.

INTERPRETACIÓN :

La prueba postcoital no solo se hace para determinar la cantidad de espermatozoides activos en el moco cervical, sino también para evaluar la supervivencia de los espermatozoides y su comportamiento horas después del coito. Se observan las laminillas al microscopio lo más pronto posible para evitar que sé sequen.7.

Muestra **ENDOCERVICAL** se le valora lo siguiente:

- Volumen
- Viscosidad
- Filantez en cm
- Celularidad x campo
- Cuenta espermática total x campo
- Espermatozoides móviles x campo
- Porcentaje de movilidad en %
- Progresión
- Ph

Después de esta valoración retirarle el cubreobjeto y dejar secar. Esto para observar la cristalización.

Muestra de **EXOCERVICAL**

- Volumen
- Viscosidad
- Filantez (elasticidad)
- Celularidad
- Cuenta espermática total x campo
- Espermatozoides móviles x campo
- Porcentaje de movilidad
- Progresión
- PH

Muestra de **ESCURRIMIENTO** vaginal

- Volumen
- Cuenta espermática total x campo
- Espermatozoides móviles x campo
- Porcentaje de movilidad %
- Progresión
- PH

4.1.3.- Búsqueda de Chlamydia

INDICACIONES DE LA PACIENTE PARA LA REALIZACIÓN DE ESTA PRUEBA:

- No estar menstruando.
- No haber tenido relaciones sexuales por lo menos es tres días.
- No estar en tratamientos con antibióticos u óvulos vaginales.
- Presentarse con su higiene habitual.

MATERIAL:

- Espejo vaginal
- Cepillo para citología o hisopo estéril
- Tubo de transporte
- Equipo QUICKVUE CHLAMYDIA TEST APÉNDICE DE REACTIVOS DE TEST

PROCEDIMIENTO :

- 1.- Todos los reactivos, cassettes de ensayo y muestras clínicas deben estar a temperatura ambiente antes de iniciar el ensayo.
- 2.- Colocar a la paciente en posición ginecológica.
- 3.- Colocar el espejo vaginal y localizar el cervix.
- 4.- Retirar con una gasa estéril todas las secreciones y desechar.
- 5.- Con el cepillo o hisopo hacer un raspado del endocervix y exocervix, pasarlo al medio de transporte. Si se va a procesar inmediatamente colocar este hisopo o cepillo directamente al tubo del equipo.

Procedimiento de extracción:

- 1.- Añadir cinco gotas de reactivo A (hidróxido de sodio 0.2 N) en un tubo que viene en el equipo.
- 2.- Introducir el cepillo o hisopo del paciente en el tubo contiene reactivo A.
- 3.- Comprimir la base del tubo entre el pulgar y el índice, y girar el cepillo 10 veces.
- 4.- Esperar 2 minutos.
- 5.- Comprimir la base del tubo entre el pulgar y el índice, y girar el cepillo 10 veces.
- 6.- Llenar con reactivo B (ácido clorhídrico 0.1N) un gotero desechable limpio hasta el fondo del bulbo. Con el bastago del cepillo a un lado añadir el reactivo B al tubo. Desechar el gotero.
- 7.- Comprimir la base del tubo entre el pulgar y el índice, y girar el cepillo 10 veces.
- 8.- Exprimir el líquido de la torunda, comprimiendo el tubo a la mitad y pasando el cepillo a través de esa zona. Desechar el cepillo.
- 9.- Insertar una punta en el tubo.

Procedimiento del ensayo:

- 1.- Extraer el cassette de ensayo de la envoltura de aluminio, colocarlo en una superficie limpia, seca y a nivel. (Anticuerpos a Chlamydia monoclonales línea de prueba y un anticuerpo policlonal de conejo control capaz de conjugarse al rotulo de control coloreado de azul línea control.
- 2.- Añadir 3 gotas de la muestra extraída del tubo al pocillo de la muestra redondo del cassette de ensayo.
- 3.- Leer los resultados a los diez minutos. Algunos resultados positivos pueden aparecer más temprano.

INTERPRETACIÓN :

Resultado positivo: La aparición de cualquier línea de ensayo de color rojo, sea tenue e intensa, junto con una línea de color azul, indica un resultado positivo. Esto nos indica que es positivo a la presencia de antígenos de chlamydia.

Resultado negativo: La aparición de solo la línea azul de control indica un resultado negativo. Esto nos indica la ausencia de antígenos de chlamydia.

Resultado no valido: el resultado de la prueba no se considera valido si no aparece la línea de control azul en un plazo de 10 minutos. Si así sucede volver a realizar la prueba usando tres gotas de la solución restante del extracto y un nuevo cassette de ensayo.

4.1.4.- Búsqueda de Mycoplasma

INDICACIONES EN LAS QUE LA PACIENTE DEBE PRESENTARSE PARA LA REALIZACIÓN DEL ESTUDIO:

- No haber tenido relaciones sexuales por lo menos en 4 días.
- No estar menstruando.
- No estar en tratamientos de antibióticos ni óvulos vaginales.
- Presentarse con su higiene habitual.

MATERIAL:

- Espejo vaginal.
- Hisopos estériles.
- Tubo con medio de transporte.
- Equipo de MYCOVIEW.

Toma de muestras endocervicales vaginales.

- 1.- Colocar el espejo vaginal y localizar el cervix.
- 2.- Con el hisopo de DACRON recolectar la muestra del endocervix, exocervical y tallar las paredes vaginales. Los mycoplasmas tienen una gran afinidad con las células mucosas sobre las que se adhieren **es esencial raspar bien la mucosa para obtener un buen rendimiento.**
- 3.- Colocar el tubo en el medio de transporte.

Toma de muestras uretrales.

- 1.- Limpiar el meato y recoger con el hisopo o por raspado de las células.

Muestras de semen y orina

- 1.- Se recolecta la muestra en un recipiente estéril.

PROCEDIMIENTO:

Preparación de los reactivos:

Prepare tantos medios de cultivo, tiras de prueba de MYCOVIEW, viales de transporte inoculados como sean requeridos para su análisis. Permita que los reactivos se equilibren a la temperatura ambiente antes de comenzar el análisis.

Inoculación del medio de cultivo: Regenera un vial del medio de cultivo con un vial inoculado del medio de transporte. El color de un medio completo regenerado deberá tener una apariencia amarillo anaranjado, mezclar suavemente 4 a 5 veces el medio inoculado con la ayuda de una pipeta antes de su transferencia a la tira de prueba MICOVIEW.

Inoculación e incubación de la tira de prueba:

- 1.- A una de las tiras retire el adhesivo no por completo.
- 2.- Adicione 100 microlitos del medio de cultivo regenerado en cada uno de los doce pozos de la tira de prueba.
- 3.- Adicione un agota de aceite de parafina en cada uno de los pozos de la tira de prueba.
- 4.- Cierre la línea de 12 pozos con el adhesivo, asegúrese de coincidir con la posición original.
- 5.- Incuba la tira a 37 grados centígrados por 72 hrs.

DESCRIPCIÓN DE LA TIRA:

Pozo	No	Abr.	Descripción de la prueba
1		C	Control interno de crecimiento
2		U.u.	Identificación de especie U.u. de un espécimen a xx 10 a la 4 CCU/ml
3		M.h.	Identificación de especie M.h. de un espécimen a xx 10 a la 4 CCU/ml
4		L	Prueba de resistencia contra lincomicina; sirve también como prueba de detección de U.u. en niveles bajos 10 a la 3 CCU/ml
5		E	Prueba de resistencia contra eritromicina; sirve también como prueba de detección de M.h. en niveles bajos 10 a la 3 CCU/ml
6		ROX	Prueba de resistencia contra roxitromicina
7		AZM	Prueba de resistencia contra azitromicina
8		JM	Prueba de resistencia contra josamicina
9		MNO	Prueba de resistencia contra minociclina
10		DO	Prueba de resistencia contra doxiciclina
11		OFX	Prueba de resistencia contra ofloxacina
12		NOR	Prueba de resistencia contra norfloxacina

Componentes:

Transporte de crecimiento: volumen de 2 ml de reactivo líquido para transporte líquido de micoplasma urogenital. Medio de cultivo: medio liofilizado conteniendo plo-en caldo-extracto de levadura-cisteína-sustratos (urea y arginina), mezcla de enriquecimiento-suero equino, mezcla de antibióticos selectivos, y rojo de fenol. Tira de prueba MYCOVIEW: tiras de prueba fraccionable con 12 pozos de prueba, sellados dentro de empaque.

INTERPRETACIÓN:

Para la identificación de *Ureaplasma urealyticum*, los pocillos 2 y 4 son positivos.

Para la identificación de *Mycoplasma hominis*, los pocillos 3 y 5 son positivos.

Prueba de resistencia: Cuando el medio permanece con una coloración amarillo anaranjado, el crecimiento de la cepa a sido inhibido por la presencia de drogas antimicrobianas contenidas en los pozos. Del 4 al 12.

4.1.5.- DETERMINACIÓN HORMONAL (FSH, LH, ESTRADIOL, PROGESTERONA Y PROLACTINA)

INDICACIONES EN LAS QUE SE DEBE PRESENTAR LA PACIENTE:

- El día que él medico le halla indicado de acuerdo al ciclo ovulatorio.
- Ayuno.

MATERIAL :

- Agujas
- Ligadura
- Tubos vacutainer para suero
- Torundas con alcohol
- Centrifuga
- Equipo VIDAS
- Un kit para cada determinación FSH, LH, ESTRADIOL, PROGESTERONA Y PROLACTINA.
- Pipeta automatizada para distribuir 200 microlitros
- Pipetas pasteur

PROCEDIMIENTO :

Para todas las pruebas:

- 1.- Hacer la toma de muestra de sangre.
- 2.- Extraer el suero y reservar.
- 3.- Encender el equipo, sacar los reactivos del refrigerador y dejar atemperarse.
- 4.- Meter la curva de calibración para cada una de las pruebas.
- 5.- Colocar los cartuchos y conos para cada prueba en el equipo.
- 6.- En el pocillo 1 colocar 200 microlitros de la muestra y correr muestra.
- 7.- Correr control junto con las muestras.

4.1.5.1.- Descripción del Cartucho FSH

POCILLO	REACTIVO
1	Muestra
2-3-4-5	Pocillos vacíos
6	Conjugado: inmunoglobulinas monoclonales de ratón anti- azida sódica FSH marcadas con fosfatasa alcalina más azida sódica.
7-8	Tampón de lavado: fosfato sódico
9	Tampón de lavado: DEA más azida sodica
10	Cubeta de lectura: substrato 4 metil-umbelifenil fosfato + azida sodica.

8.- Seguir el protocolo según las instrucciones del manual de utilización VIDAS. La duración del test es aproximadamente 40 minutos.

MODO OPERATIVO:

- 1.- Sacar el kit del refrigerador. Dejar a temperatura del laboratorio por lo menos 30 min.
- 2.- Sacar del kit un cartucho de FSH y un cono FSH para cada muestra control y calibrador.
- 3.- Depositar en el primer pocillo del cartucho 200 microlitros de muestra, calibrador FSH o control.
- 4.- Colocar en el vidas el cono de FSH y el cartucho FSH en la posición marcada en la pantalla.
- 5.- Iniciar el análisis. Todas las etapas pasan a ser controladas automáticamente por el aparato.
- 6.- Los resultados se obtienen en aproximadamente 40 min.

INTERPRETACIÓN:

Al terminar al análisis, los resultados son calculados automáticamente por el VIDAS con relación a una curva de calibración memorizada, y después se imprimen; las concentraciones de FSH son expresadas en mUL.

Por ml las muestras que presentan concentraciones en FSH superiores a 110 unidades deben ser redosificadas después de una dilucion con el tampón de dilucion para obtener la concentración de la muestra.

Valores de referencia

Pico ovulatorio	6.3 a 24.0 mUI/ml
Fase folicular	3.9 a 12.0 mUI/ml
	2.9 a 9.0
Fase luteal	1.5 a 7.0 mUI/ml

4.1.5.2.- Descripción del Cartucho LH

POCILLO	REACTIVO
1	Muestra.
2 – 3 – 4 – 5	Pocillos vacíos.
6	Conjugado: inmunoglobulinas monoclonales de ratón anti – LH.
	Marcadas con fosfatasa alcalina.
7 – 8	Tampón de lavado: fosfato sódico.
9	Tampón de lavado: dietanolamina.
10	Cubeta de lectura con sustrato:4-metil-umbeliferi fosfato+ azida sodica.

MODO OPERATIVO:

1.- Los pasos 1 al 6 de la FSH se repiten. Solo que se sacan los conos y cartuchos para LH.

INTERPRETACIÓN:

Una vez terminado el test, los resultados se analizan automáticamente por el sistema informático. El aparato efectúa dos medidas de fluorescencia en la cubeta de lectura para cada test. La primera lectura tiene en cuenta el ruido de fondo debido a la cubeta de sustrato antes de ponerse en contacto el sustrato con el cono. La segunda lectura se efectúa después de la incubación del sustrato en el enzima presente en el cono. El calculo del RFV (relative FLUORESCENT VALUE) es el resultado de la diferencia entra las dos lecturas. Aparece sobre la hoja de resultados. Las concentraciones de LH son expresadas en mUI/ml.

Valores de referencia

Pico ovulatorio	9.6 – 80.0 mUI/ml
Fase folicular	1.5 – 8.0 mUI/ml
	2.0 – 8.0
Fase luteal	0.2 – 6.0 mUI/ml

4.1.5.3.- Descripción del Cartucho de la Progesterona

POCILLO	REACTIVO
1	Muestra
2- 3 – 4	Pocillos vacíos
5	Conjugado: derivado de la progesterona marcado con Fosfatasa alcalina.
6	Tampón de lavado: Tris- Na Cl
7	Tampón de lavado: Fosfato de sodio
8	Diluyente: fosfato de sodio
9	Tampón de lavado: DEA
10	Cubeta óptica: sustrato; 4-metil-umbelifenil fosfato, Azida sodica.

MODO OPERATIVO:

1. Los pasos del 1 al 6 se repiten solo que se sacan conos y cartuchos para progesterona.

INTERPRETACIÓN:

Una vez terminado el test, los resultados son analizados automáticamente por el sistema informático. El aparato realiza dos mediciones de fluorescencia en la cubeta óptica para cada test. La primera lectura toma en consideración el ruido de fondo de la cubeta óptica y el sustrato. La segunda lectura se realiza después de la incubación del sustrato en el cono. El cálculo del RFV es el resultado de la diferencia entre ambas mediciones y aparece en la hoja de resultados. El RFV es interpretado por el sistema VIDAS. Los resultados son expresados en ng/ml.

Valores de referencia

Fase folicular	0.1 – 0.54	ng/ ml
Fase luteinica	1.5 – 20.0	ng / ml
Ovulación	0.12- 6.22	ng / ml

4.1.5.4.- Descripción del Cartucho de Estradiol

POCILLO	REACTIVO
1	Muestra
2 – 3 – 4	Pocillos vacíos
5	Conjugado derivado del estradiol marcado con fosfatasa alcalina
6	Pocillo vacío
7 – 8	Tampón de lavado: Tris – NaCl
9	Tampón de lavado: DEA
10	Cubeta de lectura: 4-metil-umbeliferil-fosfato + azida sodica.

MODO OPERATIVO:

1.- Los pasos 1 al 6 se repiten, solo que se sacan conos y cartuchos para estradiol.

INTERPRETACIÓN:

Al finalizar el análisis, los resultados se calculan automáticamente por el equipo VIDAS respecto a la curva de calibración memorizada y después se imprimen las concentraciones en estradiol se expresan en pg/ml.

Valores de referencia

Fase folicular	18 – 147 pg/ml
Pico preovulatorio	93 – 573 pg/ml
Fase luteal	43 – 214 pg /ml

4.1.5.5.- Descripción del Cartucho para Prolactina

POCILLO	REACTIVO
1	Pocillo de muestra
2-3-4-5	Pocillos vacíos
6	Conjugado inmunoglobulinas monoclonales de ratón anti-Prolactina
	Marcadas con fosfatasa alcalina más azida sódica.
7-8	Tampón de lavado fosfato sódico más azida sódica
9	Tampón de lavado dietanolamina

MODO OPERATIVO:

1.- Los pasos del 1 al 6 se repiten colocar pocillos y conos para esta prueba.

INTERPRETACIÓN:

Una vez finalizada la prueba, los resultados se analizan automáticamente por el sistema informático. El sistema efectúa dos medidas de fluorescencia en al cubeta de lectura para cada prueba. La primera lectura tiene en cuenta el ruido de fondo a la cubeta de sustrato antes de ponerse en contacto el sustrato con el cono. La segunda lectura se efectúa después de la incubación del sustrato con el enzima presente en el cono. El calculo de RFV valor de fluorescencia relativo es el resultado de la diferencia de las dos lecturas. Aparece sobre la hoja de resultados.

Valores de referencia

Mujer	1.9	a	25.0	ng/ml
Hombre	2.5	a	17.0	ng/ml

4.1.5.6.- Determinación de LH en Orina**INDICACIONES PARA EL PACIENTE:**

1.- No es necesario que la paciente se encuentra en ayunas, para la prueba se necesita la orina de cualquier hora.

MATERIAL:

El kit para la determinación de ovulación trae todo su material como lo es:

- 1.- Recipientes desechables para la recolección de orina.
- 2.- Pipeta con bulbo.
- 3.- El cartucho para realizar la prueba.

PROCEDIMIENTO:

- 1.- Recolectar la orina en el recipiente.
- 2.- Tomar una prueba para la determinación.
- 3.- Tomar con la pipeta un poco de orina.
- 4.- Vaciar tres gotas en el orificio del cartucho y dejar que trascorra el tiempo de tres minutos y después leer.

INTERPRETACIÓN

RESULTADO POSITIVO: El resultado se considera positivo si se obtiene una línea de color rosado a morada al lado de la letra T más oscura que la línea de referencia al lado de la letra R. como se observa en la figura.

RESULTADO NEGATIVO: El resultado se considera negativo si se obtiene una línea de prueba más clara que la línea de referencia o si no se obtiene línea de prueba o del mismo color que la línea de referencia.

RESULTADO NO VALIDO: Es indispensable ver una línea de referencia rosada a morada dentro de un intervalo de tres minutos después de haber agregado la orina si la línea de referencia no aparece la prueba se considera no valida y no puede utilizarse el resultado.

4.2.- FACTOR MASCULINO

4.2.1.- Espermatobioscopia Directa

INDICACIONES PARA OBTENER LA MUESTRA:

- 1.- Tener de 2 a 5 días de abstinencia sexual.
- 2.- Recolectar la muestra por masturbación solamente, en un recipiente estéril y no tóxico.
NO SE DEBE OBTENER LA MUESTRA POR NINGÚN OTRO MÉTODO.
- 3.- Enviar al laboratorio antes de transcurrida una hora de la recolección
- 4.- La muestra debe de protegerse de temperaturas extremas durante el traslado al laboratorio.
- 5.- Es importante que se recolecte todo el eyaculado.
- 6.- La muestra debe ser rotulada con los datos del paciente, con hora que se obtuvo la muestra, días de abstinencia sexual.

MATERIAL:

- 1.- Cámara de MAKLER*
- 2.- Papel pH
- 3.- Pipetas Pasteur
- 4.- Baño María
- 5.- Microscopio
- 6.- Pipetas graduadas o tubos cónicos graduados
- 7.- Laminillas
- 8.- Tensión para espermatozoides DICIPA.

*CÁMARA DE MAKLER
makler para SCA

Descripción de la cámara. La cámara de makler para SCA solo tiene 10 micras de profundidad, siendo la cámara de conteo menos profunda. Fabricada a partir de dos piezas de vidrio ópticamente plano, la pieza superior sirve como cubierta de vidrio. La cámara queda firmemente sujeta con cuatro sujeciones de cuarzo. También esta disponible un cubre de vidrio con rejilla (una rejilla en el centro subdividida en 100 cuadros de 0.1 x 0.1 mm cada uno). 13

VENTAJAS

- Los espermatozoides se distribuyen de forma uniforme y en una única capa, y se observan en un único plano focal.
- No necesita dilución incluso con muestras concentradas. El análisis se realiza directamente de la muestra original en su entorno natural.
- Todos los espermatozoides adquieren un movimiento horizontal y siempre serán examinados bajo condiciones constantes.
- El hecho de que la movilidad siempre se examine bajo idénticas condiciones incrementa más la precisión. Además se evita cualquier error producido por un exceso de presión sobre el cubre.
- La profundidad de 10 micras de la cámara de Makler es ideal para capturar imágenes con vídeo cámara, ya que aproximadamente coincide con la profundidad del campo de un objetivo utilizado en análisis de semen. 13

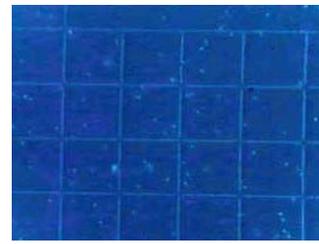


Figura 9.

PROCEDIMIENTO

Valoración macroscópica

- 1.- Dejar la muestra en el baño maria durante media hora.
- 2.- Una vez transcurrido ese tiempo medir el pH de la muestra.
- 3.- Observar si presento licuefacción.
- 4.- Medir el volumen.
- 5.- Observar el color.

Valoración microscópica

- 1.- Colocar una gota en la cámara de MAKLER.
- 2.- Hacer la lectura de la concentración de espermatozoides.
- 3.- Contar espermatozoides móviles e inmóviles.
- 4.- Con estos datos sacar el porcentaje de movilidad.
- 5.- Observar en la cámara de MAKLER el grado de progresión.
- 6.- Hacer un extendido con una gota de semen como se maneja los extendidos en sangre.
- 7.- Dejar secar 24 hrs.
- 8.- Transcurrido este tiempo realizar la tinción para observar la morfología se anotan todas las anomalías y se leen 100 células y se anotan cuantas se encuentran de cada una.
- 9.- Observar si hay aglutinación
- 10.- Observar la celularidad leucocitos, eritrocitos etc.

INTERPRETACIÓN

En los formatos para espermatobioscopia, se llenan los datos de la pareja, edad, nombre del medico, hora de recolección de la muestra, días de abstinencia sexual, preguntarle al paciente si la muestra fue completa, o solo la primera fracción o segunda fracción.

Dentro de la evaluación microscópica, el volumen se mide en mililitros, el color puede valorarse desde amarillo, blanco o transparente. El ph con las tiras para la determinación de este.

La evaluación microscópica al colocar una gota en esta cámara es totalmente mejor que la gota en el porta objetos ya que para fines de fertilidad esta cámara nos permite valorar mejor la movilidad pues la base de esta cámara es cóncava y se desplazan mejor los espermatozoides ya que es uno de los factores importantes para valoración del semen, en

esta cámara ya no es necesario realizar dilución cuando se hace el conteo espermático, antes de que saliera al mercado esta cámara se realizaba en la cámara de NUBAWER, haciendo una dilución, y así realizar el conteo.

Esa es la concentración por millón, y se multiplica por el volumen para calcular el número de espermatozoides por mililitro.

VALORES DE REFERENCIA

Por lo común se usan estos criterios de normalidad para una muestra de semen.

- Volumen 2.0 ml o más
- Viscosidad normal formación de filamento de 2.0 aprox.
- Aspecto opalescente y homogéneo
- Aglutinación negativa.
- PH 6.0 a 8.0
- Vitalidad mayor a 60 % de vivos
- Concentración mas de 20×10^6 espermatozoides x ml
- Total de espermatozoides por eyaculado mas de 40×10^6 espermatozoides x eyaculado
- Morfología mas del 70% de espermatozoides normales
- Fructuosa 12.1 a 29.3 mol x litro
- Fosfatasa ácida 55 a 138 UI x L.

4.2.2.- Determinación de anticuerpos- antiesperma

INDICACIONES DEL PACIENTE PARA OBTENER LA MUESTRA:

- 1.- En caso de buscar anticuerpos en la esposa se obtiene sangre completa para separar el suero ella debe de presentarse en ayunas.
- 2.- Recolectar la muestra de semen por masturbación solamente, en un recipiente estéril y no toxico. NO SE DEBE OBTENER LA MUESTRA POR NINGÚN OTRO MÉTODO.
- 3.- Enviar al laboratorio antes de transcurrida una hora de la recolección
- 4.- La muestra debe de protegerse de temperaturas extremas durante el traslado al laboratorio.
- 5.- Es importante que se recolecte todo el eyaculado.
- 6.- La muestra debe ser rotulada con los datos del paciente, con hora que se obtuvo la muestra, días de abstinencia sexual.

MATERIAL BIOLÓGICO

- 1.- Semen
- 2.- Suero
- 3.- Moco cervical.

Esto dependiendo de cómo se requiera.

MATERIAL

- 1.- Microscopio
- 2.- Incluido en el kit.

PROCEDIMIENTO

Los anticuerpos antiespermáticos son detectados microscópicamente usando inmunobeads, pequeñas esferas de resina a las que se acoplan anticuerpos. Si los anticuerpos antiespermáticos se hallan unidos a la superficie los espermatozoides, las células espermáticas se unirán a las inmunobeads. Los espermatozoides negativos por este método son mezclados con el suero o moco cervical a evaluar, y luego se examina la unión a inmunobeads.

INTERPRETACIÓN

Esta prueba es empleada en pacientes en el que se ha observado que en la prueba de Sims-Hunter hay inmovilidad inexplicada, cuando al realizar espermatozobioscopia se observa la inmovilidad sin causa aparente y aglutinación.

4.2.3.- CRIOPRESERVACION

INDICACIONES PARA EL PACIENTE PARA LA OBTENCIÓN DE LA MUESTRA

- 1.- Tener de 2 a 5 días de abstinencia sexual.
- 2.- Recolectar la muestra por masturbación solamente, en un recipiente estéril y no tóxico. **NO SE DEBE OBTENER LA MUESTRA POR NINGÚN OTRO MÉTODO.**
- 3.- Enviar al laboratorio antes de transcurrida una hora de la recolección.

- 4.- La muestra debe de protegerse de temperaturas extremas durante el traslado al laboratorio.
- 5.- Es importante que se recolecte todo el eyaculado.
- 6.- La muestra debe ser rotulada con los datos del paciente, con hora que se obtuvo la muestra, días de abstinencia sexual.

MATERIAL BIOLÓGICO

- 1.- Semen.

MATERIAL

- 1.- Pipetas estériles
- 2.- Viales
- 3.- Solución crioprotectora
- 4.- Tanque de nitrógeno líquido
- 5.- Bastones para criopreservación
- 6.- Microscopio
- 7.- Papel pH
- 8.- Cámara de MAKLER
- 9.- Pipetas graduadas estériles
- 10.- Tubos cónicos estériles
- 11.- Baño María.

PROCEDIMIENTO

La muestra es examinada realizándole una espermato-bioscopia sin realizar morfología. Luego de la examinación, la muestra es mezclada con una solución crioprotectora, de manera de ayudar a la supervivencia de los espermatozoides durante el procedimiento de congelamiento. Se vacía en los viales para criopreservación, rotulados con un código específico asignado individualmente y fecha, estos mismos datos están en el reporte. Y expediente con la finalidad de tener su registro e identificadas las muestras, si se tienen varios viales se enumeran y en el reporte se coloca el número de viales que se llenaron, otras de las cosas importantes es la localización de los viales dentro del tanque de nitrógeno líquido este tiene una temperatura de -196 grados centígrados, este tanque tienen seis canastillas dentro de estas hay unos bastones donde se colocan los viales, se va sumergiendo poco a poco. A uno de los viales se le agrega poca muestra para que con esta se realice la prueba de descongelamiento esto es para ver si el espermatozoide aguanta la

congelación y la descongelación esta se deja separada de las demás para que a las 24 hrs se saque del tanque y se le realice el conteo de espermatozoides, porcentaje de movilidad, nivel de progresión.

INTERPRETACIÓN

Las condiciones y duración del almacenamiento se determinan en el convenio de criopreservación y almacenamiento completo el día de la obtención de la última muestra. No se entregan las muestras ni se envían a nadie, a menos que se tenga la autorización firmada por el paciente.

Estas muestras son empleadas para inseminación intrauterina posteriormente.

4.2.4.- LAVADO BÁSICO

INDICACIONES PARA EL PACIENTE PARA LA OBTENCIÓN DE LA MUESTRA:

- 1.- Tener de 2 a 5 días de abstinencia sexual.
- 2.- Recolectar la muestra por masturbación solamente, en un recipiente estéril y no tóxico.
NO SE DEBE OBTENER LA MUESTRA POR NINGÚN OTRO MÉTODO.
- 3.- Enviar al laboratorio antes de transcurrida una hora de la recolección
- 4.- La muestra debe de protegerse de temperaturas extremas durante el traslado al laboratorio.
- 5.- Es importante que se recolecte todo el eyaculado.
- 6.- La muestra debe ser rotulada con los datos del paciente, con hora que se obtuvo la muestra, días de abstinencia sexual.

MATERIAL BIOLÓGICO

- 1.- Semen.

MATERIAL

- 1.- Pipetas estériles de bulbo
- 2.- Cámara de MAKLER
- 3.- Tubos cónicos graduados
- 4.- Microscopio
- 5.- Centrifuga

6.- Baño María.

REACTIVOS

1.- Solución de lavado.

PROCEDIMIENTO:

Se realiza una pre-evaluación del semen, posteriormente se le agrega una solución de lavado mezclando y se centrifuga, después de repetidas centrifugaciones, el fluido seminal es eliminado. Las células espermáticas quedan en un pellet y estas son resuspendidas con el medio, se le realiza una segunda evaluación para observar que las características de la lectura anterior se mejoren con el lavado. Y se le entrega la muestra al médico para ser depositada en la cavidad intrauterina.

INTERPRETACIÓN

Este lavado se emplea en muestras de semen que no tengan ningún problema en cuenta espermática, movilidad y progresión.

4.2.5.- LAVADO SWIM-UP

INDICACIONES PARA EL PACIENTE PARA OBTENER LA MUESTRA

- 1.- Tener de 2 a 5 días de abstinencia sexual.
- 2.- Recolectar la muestra por masturbación solamente, en un recipiente estéril y no tóxico.
NO SE DEBE OBTENER LA MUESTRA POR NINGÚN OTRO MÉTODO.
- 3.- Enviar al laboratorio antes de transcurrida una hora de la recolección.
- 4.- La muestra debe de protegerse de temperaturas extremas durante el traslado al laboratorio.
- 5.- Es importante que se recolecte todo el eyaculado.
- 6.- La muestra debe ser rotulada con los datos del paciente, con hora que se obtuvo la muestra, días de abstinencia sexual.

MATERIAL BIOLÓGICO

- 1.- Semen.

MATERIAL

- 1.- Pipetas de bulbo estériles
- 2.- Microscopio
- 3.- Cámara de MAKLER
- 4.- Solución de lavado
- 5.- Baño María
- 6.- Tubos cónicos graduados
- 7.- Centrifuga.

REACTIVOS

- 1.- Solución de lavado.

PROCEDIMIENTO

Se realiza la pre evaluación del semen, posteriormente se efectúa un lavado básico una vez terminado este, al pellet se le agrega una cantidad de solución de lavado sin resuspender el pellet, se inclina y se coloca en el baño maria con el cuidado de no caer al agua, se deja por 1 hora 45 mins. Una vez transcurrido el tiempo se saca del baño y todo el sobrenadante se separa, el pellet se desecha. Al sobrenadante se le realiza un segundo lavado y se prepara la muestra para el momento de la inseminación.

INTERPRETACIÓN

Este lavado se emplea para muestras de individuos con oligospermia (individuos con cuenta espermática anormalmente baja), con bajo porcentaje de movilidad, los individuos diagnosticados con fertilidad de factor masculino, no son procesadas con esta técnica, ya que los espermatozoides tendrían dificultad de nadar desde el pellet hasta el medio.

4.2.6.- LAVADO ISOLATE

INDICACIONES DEL PACIENTE PARA OBTENER LA MUESTRA

- 1.- Tener de 2 a 5 días de abstinencia sexual.
- 2.- Recolectar la muestra por masturbación solamente, en un recipiente estéril y no tóxico.
NO SE DEBE OBTENER LA MUESTRA POR NINGÚN OTRO MÉTODO.
- 3.- Enviar al laboratorio antes de transcurrida una hora de la recolección.
- 4.- La muestra debe de protegerse de temperaturas extremas durante el traslado al laboratorio.
- 5.- Es importante que se recolecte todo el eyaculado.
- 6.- La muestra debe ser rotulada con los datos del paciente, con hora que se obtuvo la muestra, días de abstinencia sexual.

MATERIAL BIOLÓGICO

- 1.- Semen.

MATERIAL

- 1.- Pipetas de bulbo estériles
- 2.- Microscopio
- 3.- Soluciones para ISOLATE
- 4.- Tubos cónicos graduados
- 5.- Baño María
- 6.- Cámara de MAKLER
- 7.- Centrifuga.

PROCEDIMIENTO

Previo a este estudio se realiza la evaluación a la muestra, concentración espermática, movilidad, porcentaje de movilidad y nivel de progresión. Para este tipo de lavado se emplean soluciones con gradientes de concentración, la muestra se coloca en la parte superior y se somete a centrifugaciones, posteriormente a estas se desecha el sobrenadante y al pellet se le aplica un lavado básico. Después de este la muestra está lista para el proceso de inseminación.

INTERPRETACIÓN

El procedimiento de gradiente con isolate es excelente para cualquier tipo de muestra (fresca o congelada) y puede ayudar en la evaluación del potencial de fertilidad en casos de factor masculino.

4.2.7.- PRESELECCIÓN DE SEXO

INDICACIONES DEL PACIENTE PARA RECOLECTAR LA MUESTRA

- 1.- Tener de 2 a 5 días de abstinencia sexual.
- 2.- Recolectar la muestra por masturbación solamente, en un recipiente estéril y no tóxico.
NO SE DEBE OBTENER LA MUESTRA POR NINGÚN OTRO MÉTODO.
- 3.- Enviar al laboratorio antes de transcurrida una hora de la recolección
- 4.- La muestra debe de protegerse de temperaturas extremas durante el traslado al laboratorio.
- 5.- Es importante que se recolecte todo el eyaculado.
- 6.- La muestra debe ser rotulada con los datos del paciente, con hora que se obtuvo la muestra, días de abstinencia sexual.
- 7.- Para esta prueba el paciente debe tener por lo menos tres muestras crío preservadas.

MATERIAL BIOLÓGICO

- 1.- Semen.

MATERIAL

- 1.- Baño María
- 2.- Microscopio
- 3.- Cámara de Makler
- 4.- Pipetas de bulbo estériles
- 5.- Columnas de vidrio para la preselección.

PROCEDIMIENTO

- 1.- Realizar la evaluación del semen
 - Volumen
 - Concentración
 - Movilidad
 - Porcentaje de movilidad
 - Grado de progresión.
- 2.- Llevar a cabo el procedimiento para descongelación de las muestras, y realizar la evaluación de las muestras congeladas como en el paso anterior.
- 3.- Realizar un pull de todas las muestra.
- 4.- Se le realiza un lavado básico.
- 5.- Preparar las columnas necesarias según concentración, cuando esta es menor a 68 millones se divide entre 15 y si es mayor de 70 millones se divide entre 20 esto nos dará el numero de columnas que se van a emplear.
- 6.- Colocar 1 ml de albúmina perica humana a cada columna y después agregar la suspensión que contiene los espermatozoides distribuida en todos los tubos.
- 7.- Tapar los tubos con parafilm e incubar por una hora a 37 grados centígrados.
- 8.- Después de este tiempo retirar la capa superior.
- 9.- A la capa inferior realizarle una evaluación.
- 10.- Se le procesa un lavado básico y se repiten los pasos anteriores.
- 11.- En este paso se le agrega dos concentraciones diferentes de albúmina al 20 % y 12.5 %, por ultimo se le agrega la muestra.
- 12.- Se incuba dos horas, después de este tiempo ya se tienen los espermatozoides divididos X o Y según lo que se necesite se desechan las capas realizándoles previamente un conteo.
- 13.- Según el sexo elegido se le procesa un lavado básico final y esta listo para inseminación.

INTERPRETACIÓN

El proceso garantiza una confiabilidad del 85% en la separación para ambos sexos.

5.- RESULTADOS DE CASOS CLÍNICOS Y DISCUSIÓN

5.1.- CASO 1

Pareja joven con problemas de infertilidad se somete al protocolo, estudiando por separado a cada uno de ellos.

FACTOR FEMENINO

Paciente de 29 años, se le realizan los cultivos específicos, la determinación de mycoplasma vaginal, determinación de chlamydia y cultivo cervico vaginal. El resultado del mycoplasma es positivo para ureaplasma urealyticum esta infección es tratada con vibramicina una cápsula cada 12 horas durante 10 días, después del tratamiento dejar pasar 10 días y repetir cultivo control. El resultado de la chlamydia es negativo. En el cultivo cervico vaginal reporta una infección por candida albicans la cual es tratada con óvulos de nistatina por 10 noches seguidas una vez terminado el tratamiento dejar pasar 10 días y repetir para el control. Este último se reporta solo con flora normal.

Se le realiza a la paciente un perfil hormonal ginecológico completo (FSH, LH, ESTRADIOL, PROGESTERONA Y PROLACTINA) todas estas se encuentran en valores normales excepto la prolactina. El resultado fue de 80.0 ng/ml esto nos habla de una hiperprolactinemia, se dan indicaciones a la paciente para tomar un tratamiento con bromoergocriptina siguiendo la dosis de 2.5 mg 1 cada 8 horas por 3 meses (PARLODEL). Con esto se logra la disminución de esta hormona. Se repite la determinación de la hormona dando como resultado un valor normal 17.0 ng/ml. (cuando la prolactina esta alta es difícil conseguir el embarazo debido a que la prolactina va a inhibir las hormonas sexuales como lo son la progesterona y los estrogenos por lo que no se lleva acabo la ovulación.

Posteriormente se valora el factor de la ovulación ya sea en forma cualitativa en orina o cuantitativa en sangre, esto es la determinación de la hormona LH, es muy importante que la paciente al presentarse en el laboratorio de reproducción conteste ciertas preguntas indicar el día de inicio de su menstruación a partir de esa fecha contar diez días y a partir de ese día se realizara la determinación de la prueba, siguiendo la s indicaciones del kit para la determinación de LH en orina. En la paciente a partir del día 10 de su ciclo se empezó a determinar la prueba dándonos una prueba positiva hasta el día 14. Al mismo tiempo se le realizo la determinación de la LH en sangre para observar la concentración del día de ovulación (EQUIPO DE VIDAS) los resultados fueron:

DÍA DEL CICLO	LH ng/ml
10	5.0
11	16.0
12	22.0
13	82.0
14	103.0
15	78.0

En esta tabla se observa el pico máximo de la determinación de la LH, de esta manera podemos saber que día se realizara la inseminación. Esto nos indica que la paciente esta ovulando correctamente. Ya se descartaron los problemas hormonales en ella.

Posteriormente se evalúa el factor uterino y tubarico por medio de la histerosalpingografía para descartar algún problema de obstrucción, el resultado es bueno ya que no existe ningún problema las trompas son permeables útero normal y el ultrasonido de los ovarios son normales OI 28x17 OD 25x18.

Se indica el estudio de SIMS-HUNNER, para observar el comportamiento de los espermatozoides en el moco cervical y la evaluación del mismo. Conociendo ya el día de ovulación de la paciente ese día es cuando se realiza el estudio:

Resultado

Día del ciclo 14
 Abstinencia sexual 3 días
 Relación sexual (hora) 8:00 am
 Toma de la muestra (hora) 10:00 am

Muestra cervical

Vol. 1.0 ml
 Viscosidad positiva
 Filantez positiva 6 cm
 Cristalización positiva
 Cuenta espermatica total 15 / campo
 Espermatozoides móviles 6 / campo
 Porcentaje de movilidad 40 %
 Progresión 1+,2.

Muestra saco vaginal

Vol. 2.5 ml

Cuenta espermatica total 22/campo
Espermatozoides móviles 10 /campo
Porcentaje de movilidad 45 %
Progresión 2.

Muestra de escurrimiento vaginal

Vol. 2.0 ml
Cuenta espermatica total 25/campo
Espermatozoide móviles 11/campo
Porcentaje de movilidad 44%
Progresión 1+,2.

Se observa que la cuenta espermatica como el nivel de progresión se encuentran bajos por lo que se percibe existe un problema en el factor masculino (OLIGOASTENOSPERMIA) esta es una de las razones por lo que esta indicada una inseminación. La evaluación del moco cervical es buena ya que se presenta la cristalización o formación de los helechos que indica una buena cantidad de estrogenos, y a su vez que si esta ovulando, la filantez es la correcta.

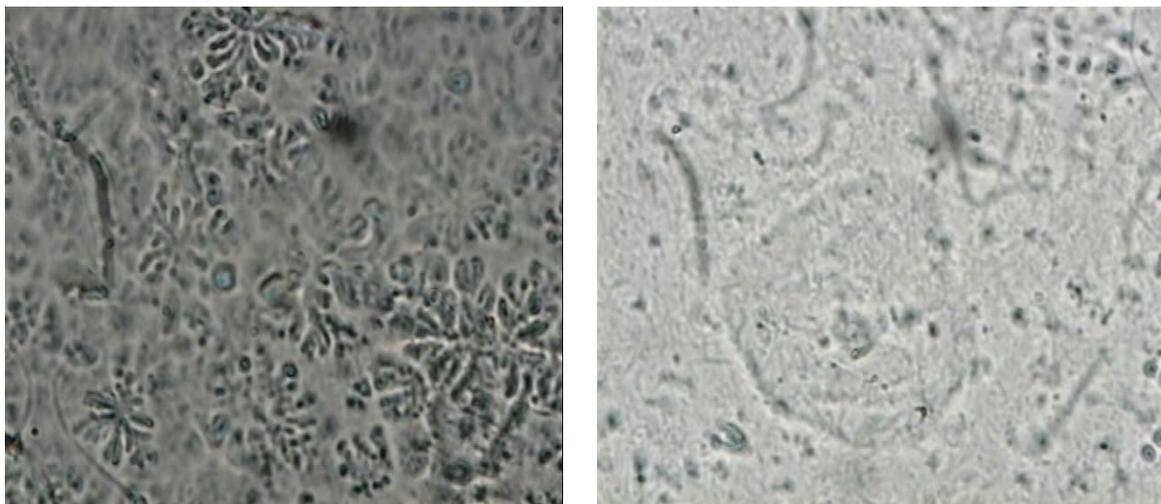


Figura 10.

En estas imágenes se puede apreciar los resultados de esta prueba post-coital (Sims-Hunner). En la figura de la izquierda pertenece a la muestra de cervical donde se obtiene la muestra de moco valorando todas sus características, después de realizar estas se deja secar la preparación al aire libre se observa la laminilla al microscopio y se aprecia la cristalización del moco cervical donde es característico la formación de helechos.

En la imagen de la derecha es la muestra de saco vaginal, era de esperarse observar una gran cantidad de espermatozoides pero lo que se aprecio fue baja cantidad de espermatozoides. Este estudio es de gran ayuda para conocer cual es el factor que se debe de estudiar a fondo.

Al mismo tiempo se encuentra evaluando el factor masculino, paciente de 34 años de edad aparentemente sano se le realizan los siguientes estudios; espermatobioscopia directa, determinación de clhamydia en semen, cultivo de mycoplasma en semen, cultivo de semen, urocultivo y examen general de orina.

RESULTADOS DE LOS ESTUDIOS:

Espermatobioscopia directa:

Colección de la muestra

Hora de la recolección: 9:00 am

Días de abstinencia sexual: 4 días

Modo de recolección: masturbación

Muestra: completa

Evaluación macroscópica

Volumen: 2.0 ml

Color: blanco opalescente

Ph: 8.0

Olor: característico

Licuefacción: completa

Evaluación microscópica

Concentración de espermatozoides: 28 millón/ml

Espermatozoides móviles: 14 millón/ml

Porcentaje de movilidad: 50%

Nivel de progresión: 1,1+,2.

Aglutinación: positiva.

Morfología de los espermatozoides

Normal: 88%

Anormalidades de la cabeza: 12%

Grandes 2%
Pequeños 1%
Alargado 2%
Redondo 1%
Amorfos 1%
Cabeza de alfiler 2%
Duplicados 3%

Anormalidades de flagelo: 3%
Doble flagelo 2%
Espirilado 1%

Otros componentes:

Leucocitos: 2-4 x campo
Células germinales inmaduras: 0-1 x campo

Se puede observar que el paciente tiene características de una oligoastenospermia, se indica la **inseminación homologa**, a esta misma muestra se le realiza un lavado con isolaten previa, para observar si la muestra responde con la capacitación o no.

Resultado para Chlamydiae en semen: Negativo
Resultado para Mycoplasma en semen: Negativo
Resultado del cultivo de semen: Sin desarrollo bacteriano a las 72hrs.
Examen general de orina normal.

ANÁLISIS DE ESPERMA PREVIO A LA INSEMINACIÓN

Muestra para el procesamiento

Paciente
Muestra en fresco
Vol.: 2.0 ml
Espermatozoides móviles 14 millón/ml
Concentración total de espermatozoides 28 millón/ml

Porcentaje de movilidad 50%
Nivel de progresión 1,1+,2.

PROCESAMIENTO

Inseminación intrauterina

Lavado con isolate.

EVALUACIÓN FINAL PARA LA INSEMINACIÓN

Volumen 0.5 ml

Espermatozoides móviles 19 millón/ml

Concentración total de espermatozoides: 23 millón/ml

Porcentaje de movilidad: 82%

Nivel de progresión: 2,2+,3.

La muestra responde a la capacitación espermática, mejorando el número de espermatozoides móviles como su porcentaje y nivel de progresión. De este modo se realiza la inseminación ya teniendo listos todos los factores como femeninos como masculinos. La paciente se presenta al laboratorio a los veinte días después de haber realizado la inseminación para realizar una prueba de embarazo la cual se reporta positiva, se le da seguimiento con el ginecólogo a su embarazo llegando a su término, dando vida a un niño de 3.200 kg portando con buena salud.

5.2 CASO 2

En esta pareja en el factor femenino no se encontró problema alguno. La paciente de 33 años se le realizaron los siguientes estudios dando los siguientes resultados, cultivos para la determinación de mycoplasma vaginal, chlamydiae vaginal y el cultivo cervicovaginal son negativos. Su perfil hormonal se encuentra normal, el médico observa que si esta ovulando por medio de las determinaciones de la hormona luteinizante. Es importante realizar una histerografía para observar si no hay obstrucción en las trompas de Falopio, el resultado fue negativo por lo que las trompas se encuentran permeables, el seguimiento folicular demuestra que los tamaños de los folículos están normales esto es que han logrado un desarrollo de 20 a 21 mm. El factor masculino al parejo se estudio y se encontraron algunos problemas, en el estudio de la espermátobioscopia directa dándonos un resultado de una oligospermia concentraciones totales de 13 millón/ml, el nivel de progresión es de 2,2+,3, esto es muy bueno pues podemos tener baja cuenta pero contar con buena movilidad y además que sea progresiva. El médico considero darle tratamiento con Andriol una tableta diaria por un mes. Los cultivos para chlamydiae, mycoplasma y cultivo seminal fueron negativos. Después de este tiempo el paciente regresa al laboratorio para realizar una espermátobioscopia directa para control y no hubo mejoría. Se hablo con el paciente y con el médico externando cual seria la mejor forma de ayudar al paciente logrando el objetivo. Al paciente se le indica que va a depositar muestras de semen en forma seriada para ser congeladas por corto tiempo mientras que se determina el día de la inseminación. Una vez teniendo todos los factores femeninos en condiciones para la inseminación, se

descongelaran todas las muestras mezclándolas para aumentar el numero de células espermáticas, a este tipo de muestras se les realiza la capacitación espermática con isolate con el fin de aumentar movilidad, cuenta y progresión de los espermatozoides. Teniendo mayor probabilidad de fecundación.

Resultados obtenidos:

MUESTRAS CRIOPRESERVADAS

Evaluación

Fecha de colección: 11 nov 2004

Hora de colección: 12:00 am

Abstinencia sexual: 4 días

Datos para la criopreservación:

Volumen: 4.0 ml

Espermatozoides móviles: 9 millón/ml

Numero total: 15 millón/ml

Porcentaje móvil: 60 %

Nivel de progresión: 2,2+,3.

Licuefacción: completa.

Se realiza una prueba de descongelamiento esto para saber si los espermatozoides pueden ser congelados y descongelados sin perder ninguna de sus propiedades y se vuelve a realizar la misma evaluación.

Prueba de descongelamiento:

Espermatozoides móviles: 6 millón/ml

Numero total: 14 millón/ml

Porcentaje móvil: 42%

Nivel de progresión: 2,2+.

Localización canastilla A

Tanque 2

Numero de ampollitas: 4

Código RHG 1-2-3-4

De esta manera como se observa la tasa de sobre vivencia es buena para este tipo de pacientes con oligospermia severa, teniendo espermatozoides y sin perder sus propiedades estuvo congelando su muestra periódicamente hasta el día de la inseminación se descongelan las muestras se juntan, se procesa el lavado final y es empleada para la inseminación intrauterina.

NÁLISIS FINAL PARA INSEMINACIÓN

Inseminación homologa
Muestras congeladas
Num de viales 4
Códigos RHG1,RHG2,RHG3,RHG4.
Inseminación intrauterina
Lavado con Isolate.

Vol. 0.7 ml
Móviles 28 millon/ml
Total de espermatozoides 55 millon/ ml
Porcentaje de movilidad 50 %
Nivel de progresión 2+,3,3+.

Con la ayuda de la criopreservacion de semen se logro aumentar y concentrar el número de espermatozoides, contando con una concentración indicada para inseminación.

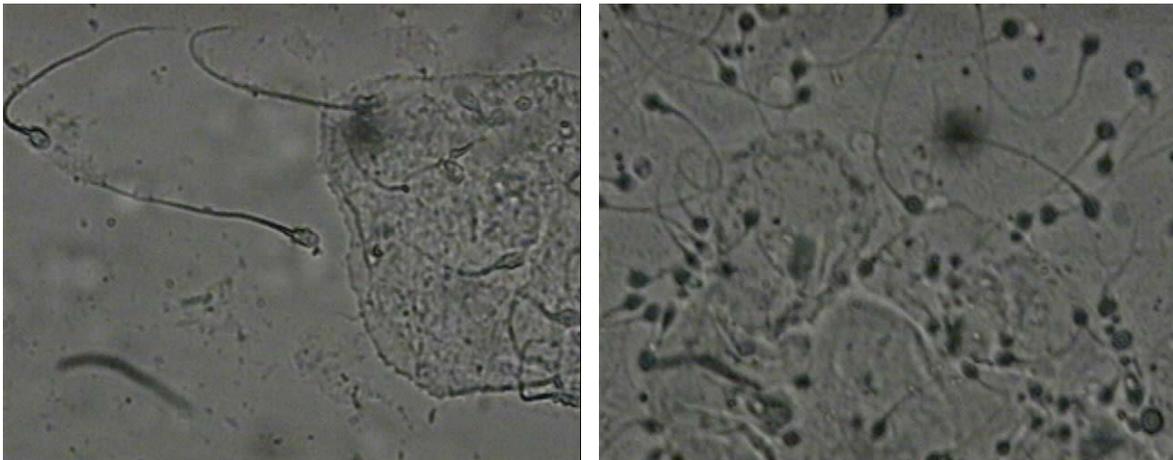


Figura 11.

Muestra antes de ser criopreservada.

Muestras concentradas después del congelamiento y de la capacitación.

En estas imágenes podemos observar que bien indicada esta la capacitación espermática, para el aumento de la concentración de espermatozoides.

Su pareja logro embarazarse sin problema alguno, a termino dando a luz a una niña de 2.900 kg, gozando de plena salud.

Los espermatozoides mantenidos de esta manera son luego utilizados en inseminación artificial, en fertilización in vitro, los cuales son métodos alternativos para lograr un embarazo.

6.- CONCLUSIONES

Existe una esperanza para parejas infértiles. Cada año miles de ellas se convierten en padres utilizando los procedimientos descritos siendo de gran ayuda al éxito en la reproducción asistida. Si existe un problema en la pareja después de determinado tiempo sin lograr un embarazo en cuanto más rápido se defina la causa mas pronto se podrá comenzar el tratamiento. En conjunto con la capacitación espermática es muy prometedor ya que el 65% de las parejas tratadas con las técnicas de reproducción finalmente logran la procreación.

En el laboratorio de reproducción como Q. F. B. es de gran satisfacción apoyar y estar integrada al conjunto de profesionales en esta área, realizando las técnicas de capacitación espermática asegurando la calidad del espermatozoide para que en optimas condiciones se lleve acabo la fecundación y por consecuencia una nueva vida.

7. - BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Catherine Garner, Bárbara Eck. Menning y Anne C.Wentz.1998 UNA MIRADA A LA INFERTILIDAD Serono de México.
- 2.- [http:// www. Ucmh.sld.cu/uv/detallesc.php](http://www.Ucmh.sld.cu/uv/detallesc.php) ¿ page N0om_ R Diapos=11&totalRowsR Diapos= 31&dcurso=22 (vi 15/11/2004).
- 3.- [http:// www.inper.edu.mx/capacitaesperm](http://www.inper.edu.mx/capacitaesperm) 4-2000.html (vi 03/11/2004).
- 4.-Bruce Alberts, Dennis Buy, Julian Lewis, Martín Raff, Keith Roberts ,James D. Watson,1996 BIOLOGIA MOLECULAR DE LA CÉLULA. Tercera Edición . Ed Omega
- 5.- Solomon Berg, Martín Villee.1998 BIOLOGIA DE VILLEE. Cuarta Edición Mc Graw Hill .México.
- 6.- <http://www.institutovida.com/articulos/médicos/FactorCervical.asp>. (vi 03/11/2004).
- 7.- Dr. R.J Aitken, Dr. A. Aribarg, Dr. K Gopa Ikrishnam;1995 MANUAL DE LABORATORIO DE LA OMS PARA EL EXAMEN DE SEMEN HUMANO Y LA INTERACCIÓN ENTRE EL SEMEN Y EL MOCO CERVICAL. Tercera Edición Editorial Médica Panamericana . Méx.
- 8.- [http:// www.biomerux.com](http://www.biomerux.com). (vi 11/01/2005).
- 9.- <http://www.centrodefertilidadhumana.com/tecnicas/inseminacion.htm>. (vi 25/10/2004).
- 10.- <http://www.reproduccion.com.mx/insem.htm> 1 (vi 27/10/2004)
- 11.- [http://www.cantv.net/Salud/resena.asp?id= 415&cat=&tresena=TRUE](http://www.cantv.net/Salud/resena.asp?id=415&cat=&tresena=TRUE). (vi 27/10/2004).
- 12.- <http://www.webdelamujer.com/02Salud/22esterilidad/01info/04pruebas.asp>. (vi 18/11/2004)
- 13.- <http://www.microptics.com/web/productos> (vi 10/dic/2004)
- 14.- <http://www.invinesci.com>. (vi 11/11/2004).
- 15.- Weidel L, prins. GS.1987 Cryosurvival of human spermatozoa frozen e eight diferent buffer systems. J androl 8,41 .

GLOSARIO

Aglutinación de espermatozoides. Agrupación de espermatozoides, a menudo a causa de una infección, inflamación o anticuerpos, que deteriora la capacidad para fecundar un óvulo.

Anticuerpos anti- espermatozoides. Presencia de anticuerpos de espermatozoide en la mujer o en el hombre que tienden a destruir la acción de los espermatozoides evitando su movimiento o haciendo que se aglutinen.

Anticuerpos producidos por el sistema inmune que confunden al el espermatozoide como una sustancia invasora y empiezan a atacarlos.

Aspermia. Ausencia de semen y espermatozoides.

Azoospermia. Ausencia de espermatozoides en la eyaculación.

Eyaculación retrograda. Descarga de espermatozoides en dirección contraria dentro de la vejiga en lugar hacia delante a través del pene.

Filancia. Capacidad de alargamiento del moco cervical. Esta es una medida preliminar para ver cuan fácil los espermias pueden entrar y penetrar las secreciones cervicales.

Necropermia. Condición en la cual los espermatozoides son producidos y encontrados en el semen pero que no están vivos y no pueden fecundar al óvulo.

Oligospermia. Numero anormalmente bajo de espermatozoides en la eyaculación del hombre.

Permeabilidad Tubarica. Trompas de Falopio no obstruidas y abiertas.

Cánula. Catéter instrumento quirúrgico flexible tubular utilizado para permitir que los líquidos pasen de o dentro de una cavidad del cuerpo.

Infertilidad inmunológica. Causa de infertilidad donde cualquiera de las partes puede estar produciendo anticuerpos. Las opciones de tratamiento dependerán del tipo de anticuerpo presente y si es la mujer o el hombre el que esta produciéndolo.

Hipospadias : falta de desarrollo de los testículos.