



**INSTRUCCION DE TRABAJO PARA EL ANALISIS
BASICO DEL SEMEN HUMANO EN EL
LABORATORIO CENTRAL**

**DIVISION DE SERVICIOS AUXILIARES DE
DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO**

Código: IT-CH-LC-06

Página 1 de 14

Fecha de Revisión:
Septiembre 2019

Versión vigente: 01

INDICE

Pág.

1.0 ALCANCE.....	1
2.0 DOCUMENTOS APLICABLES.....	1
3.0 DEFINICIONES.....	2
4.0 MATERIAL Y EQUIPO	4
5.0 DESARROLLO.....	5
6.0 ANEXOS.....	8
7.0 CONTROL DE CAMBIOS	15


1. Alcance:

Aplica al personal que labora en el laboratorio central del Antiguo Hospital Civil de Guadalajara "Fray Antonio Alcalde" (AHCGFAA) que procesa la solicitud, análisis básico del semen que contribuyen al estudio en la investigación de la fertilidad masculina, informa del estado de os espermatozoides y su funcionamiento.

2. Documentos Aplicables:

- I. NOM-007- SSA-3-2011 para la Organización Funcionamiento de los laboratorios clínicos.
- I. NOM-078-SSA1-1994, que establece las especificaciones sanitarias de los estándares de calibración utilizados en las mediciones realizadas en los laboratorios de patología clínica.
- II. NOM-064-SSA1-1993 que establece las especificaciones sanitarias de los equipos de reactivos utilizados para diagnóstico.
- III. NOM-017-STPS-2008 relativa al equipo de protección personal para los trabajadores en los centros de trabajo.
- IV. NOM-018-STPS-2015, Sistema armonizado para la identificación y comunicación de peligros y riesgos por sustancias químicas peligrosas en los centros de trabajo
- V. NOM-025-STPS-2008 condiciones de iluminación en los centros de trabajo.
- VI. NOM-026-STPS-2008, colores y señales de seguridad e higiene, e identificación de riesgos por fluidos conducidos en tuberías
- VII. NOM 087 ECOL SSA1-2002 .Protección Ambiental. Salud Ambiental- Residuos peligrosos biológico-infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo.
- VIII. Manual de Bioseguridad. **(BM-CH-LC-01)**.
- X. Manual de la Organización Mundial de la Salud 2010.
- XI. Códigos de Barra de identificación de pacientes emitido por el sistema Pasteur.

	Elaboró	Revisó	Autorizó
COPIA NO CONTROLADA	Q.F.B. María Elena Hernández Rodríguez Adscrita a Laboratorio de Patología Clínica	Dr. Ramón Sigala Arellano Jefe del Laboratorio de Patología Clínica	Dr. Santiago López Venegas Jefe de la División de Servicios Auxiliares de Diagnóstico y Tratamiento

	INSTRUCCION DE TRABAJO PARA EL ANALISIS BASICO DEL SEMEN HUMANO EN EL LABORATORIO CENTRAL	Código: IT-CH-LC-06
		Página 2 de 15
		Fecha de Revisión: Agosto 2019
	DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO	Versión Vigente: 01

3. Definiciones:

SEMEN:

Semen o esperma es el conjunto de espermatozoides y sustancias fluidas que se producen en el aparato genital masculino. El semen es un líquido viscoso y blanquecino que es expulsado a través de la uretra durante la eyaculación.

ESPERATOTOZOIDE:

Célula reproductora masculina, destinada a la fecundación del óvulo; mide de diez a sesenta micras de longitud y está compuesta de una cabeza que contiene el material cromosómico y de una cola o flagelo que actúa como propulsor. "en el hombre.

Rangos de Referencias:

Cada eyaculación contiene de cien a quinientos millones de espermatozoides"

LIQUIDO SEMINAL:

Secreciones de la próstata, vesículas seminales y otras glándulas, que, junto a los espermatozoides, forman el semen.

TESTICULOS:

Los testículos son las gónadas masculinas responsables de la producción de espermatozoides y hormonas sexuales masculinas (los andrógenos). Se localizan fuera de la cavidad, abdominal suspendidos en una bolsa carnosa llamada escroto o saco escrotal.


PENE:

Órgano copulador y urinario del hombre. Órgano formado por un conducto, cuerpos cavernosos, cuerpo esponjo arterias y venas recubierto de músculos y piel conformada por 2 partes como glande y tronco etc. etc.

EXAMEN MACROSCÓPICO:

Consiste en la identificación del fluido seminal es el hallazgo del espermatozoide, compuesto por cabeza, segmento intercalar o intermedio y cola o flagelo. La cabeza presenta forma ovalada vista de frente y piriforme de perfil; mide de 4 μm a 5 μm de longitud y 2.5 μm a 3.5 μm de ancho. Mediante el microscopio que permite observar objetos que son demasiado pequeños para ser observados a simple vista.

COPIA NO CONTROLADA

	INSTRUCCION DE TRABAJO PARA EL ANALISIS BASICO DEL SEMEN HUMANO EN EL LABORATORIO CENTRAL	Código: IT-CH-LC-06
		Página 3 de 15
	DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO	Fecha de Revisión: Agosto 2019
		Versión Vigente: 01

MICROSCOPIO:

Es una herramienta que permite observar objetos que son demasiado pequeños para ser observados a simple vista. Se trata de un instrumento óptico que contiene dos lentes que permiten obtener una imagen aumentada del objeto y que funciona por refracción.

LICUEFACCIÓN:

Tiempo requerido para llegar de consistencia espesa a líquida

ASPECTO:

Aspecto del Semen es de un líquido jaspeado de color blanquecino y denso, cuya función principal es la de facilitar la llegada de los espermatozoides hasta el óvulo con el fin de fecundar.

El promedio de volumen de semen de una eyaculación es de 1,5 a 5 mililitros...

VISCOSIDAD:

Consistencia espesa y pegajosa de una cosa.

VOLUMEN:

Medidas del espacio de tres dimensiones ocupado por un cuerpo.

MASTURBACIÓN:

Acción que consiste en estimular los órganos sexuales de una persona o los propios con las manos, mediante caricias, o por otro medio, para proporcionar u obtener placer sexual.

MOTILIDAD:

Facultad de moverse que tiene la materia viva como respuesta a ciertos estímulos.

VITALIDAD:


Actividad o energía para vivir o desarrollarse.

MORFOLOGÍA:

Parte de la biología que trata de la forma de los seres vivos y de su evolución.

FROTIS:

COPIA NO CONTROLADA

	INSTRUCCION DE TRABAJO PARA EL ANALISIS BASICO DEL SEMEN HUMANO EN EL LABORATORIO CENTRAL	Código: IT-CH-LC-06
		Página 4 de 15
		Fecha de Revisión: Agosto 2019
	DIVISION DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO	Versión Vigente: 01

Un frotis consiste en la extensión de una muestra de fluido corporal (humano o animal) sobre un portaobjetos para su análisis clínico.

pH:

Coeficiente que indica el grado de acidez o basicidad de una solución acuosa.

"el pH neutro es 7: si el número es mayor, la solución, es básica, y si es menor, es ácida"

Material y Equipo:

Microscopio óptico

Muestra

KIT que contiene diluyente para realizar la cuantificación.

Kit que contiene diluyente para determinar vitalidad.

Kit que contiene diluyente para determinar la morfología.

Pota objetos.

Cubre objetos

Pipeta semiautomática.

Microtubos ò tubo de ensayo pequeños.

Cámara de Neubauer.

Detergente nutro.

Franela suave.

Agua Bidestilada.

Hemocitometro.

Indicaciones para que el paciente prepare correctamente su muestra:

a) Debe de tener abstinencia sexual por lo menos 3 días, y no más de 5 días previos al estudio.


b) La Muestra debe ser obtenida en las instalaciones del laboratorio entre 7:00 y 8:00 de la mañana.

c) Asear Genitales con agua y jabón

d) Obtener la muestra por masturbación, la cual debe ser recolectada en envase estéril de la farmacia, registra la hora de la recolección.


e) Puede obtener su muestra en su domicilio, traerla dentro de la siguiente media hora transportándola a la temperatura corporal (pegada al cuerpo).

COPIA NO CONTROLADA

	INSTRUCCION DE TRABAJO PARA EL ANALISIS BASICO DEL SEMEN HUMANO EN EL LABORATORIO CENTRAL	Código: IT-CH-LC-06
		Página 5 de 15
		Fecha de Revisión: Agosto 2019
	DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO	Versión Vigente: 01


5. DESARROLLO:			
No.	Responsables	Descripción de la Actividad	
INSTRUCCIONES DE TRABAJO PARA LA ENTREGA DEMUESTRA EN EL AREA DE RECEPCION DEL LABORATORIO			
5.1	Paciente	Pasa el paciente con su muestra directamente a la ventanilla y entrega muestra en área de recepción, para su registro. Ver anexo 1 (como obtener muestra). Ver anexo 2 (material recomendado para depositar semen).	
5.2	Paciente	Debe contesta las siguientes preguntas el paciente: Nombre completo Periodo de Abstinencia. Fecha y hora de recolección de muestra	
5.3	Administrativo	Recoge la muestra el área de Recepción. Registra datos de paciente en el sistema informático para obtener códigos de barras, Imprime Código de Barras. Pega en el recipiente las etiquetas de códigos de barras que identifican al paciente, los cuales se obtienen al momento de captura de datos en el sistema informático.	
5.3.1	QFB/TCL	¿MUESTRA ÓPTIMA	
		SI	ENTONCES Continua en 5.4.1
		NO	Repite las instrucciones del Punto 5.1 y 5.2, Hasta nueva cita.
5.4	QFB/TCL	Realiza las siguientes determinaciones: Examen físico o macroscópico que comprende: Aspecto, color, pH, licuefacción, viscosidad y volumen seminal. *Nota: Si la muestra corresponde a un paciente con vasectomía únicamente se determina pH, volumen y recuento.	
5.4.1	QFB/TCL	Determinar el pH se utilizando tiras reactivas con rango de 6.4 hasta 8.0, ver anexo 5.	
5.4.2	QFB/TCL	Incubar a 37oC durante 1 hora la muestra para determinar Licuefacción. Agita la muestra (no vortex). Registra las observaciones.	
5.4.3	QFB/TCL	Determina y Registra; color y aspecto de la muestra.	
5.4.4	QFB/TCL	Recoge muestra con una pipeta Pasteur y se deja caer su contenido. Determina y Registra Viscosidad	

COPIA NO CONTROLADA

	INSTRUCCION DE TRABAJO PARA EL ANALISIS BASICO DEL SEMEN HUMANO EN EL LABORATORIO CENTRAL	Código: IT-CH-LC-06
		Página 6 de 15
		Fecha de Revisión: Agosto 2019
	DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO	Versión Vigente: 01


5.4.5	QFB/TCL	Coloca muestra en un tubo graduado de 15 ml tipo cónico con Tapa hermética. Determina y registra volumen de muestra.
5.5 INSTRUCCIONES PARA REALIZAR VITALIDAD DEL ESPERMATOZOIDE. (Colorante Nigrosina-Eosina).		
5.5.1	QFB/TCL	Hace una mezcla de volúmenes iguales (semen-colorante) en un tubo de ensayo o microtubo. Toma de la muestra 10-15µL sobre el portaobjeto y hace una extensión (como frotis) las extensiones no deben ser demasiado grueso. Deja secar al aire y observar al microscopio con aceite de inmersión (1000x). Los espermatozoides vivos tienen cabezas blancas y los muertos se tiñen de rosa, los que tengan una coloración débil en cabeza se evalúa como vivo, al igual que los muertos con color en la región del cuello y el resto de la cabeza no esté coloreada también contar como vivos.
5.5.2	QFB/TCL	Calcula el porcentaje de espermatozoides vivos y muertos: Evaluar 200 espermatozoides. Se puede utilizar un contador de laboratorio. % de vitalidad = $\frac{\text{Esperma vivos}}{\text{Espermas contados}} \times 100$
6.0	QFB/TCL	PROCEDIMIENTO PARA DETERMINAR VITALIDAD.
6.1.1	QFB/TCL	Realiza extensiones, similar al frotis sanguíneo, colocar 5-10 µL de muestra en el porta objetos, deslice con cuidado que no queden muy gruesas para una mejor visualización al microscopio, dejar secar completamente antes de teñir. Fija el frotis durante 1 minuto con la solución fijadora incluida.
6.1.2	QFB/TCL	Realiza la Tinción: a) Coloque las extensiones en la solución fijadora durante un minuto, dejar escurrir. b) Teñir con el colorante 1, sumerja extendido en el frasco, realice 10 inmersiones de un segundo cada una en la solución, o introduzca la extensión en el frasco durante 30-60 segundos. c) Absorba el excedente de colorante. d) En el colorante II realice 10 inmersiones del extendido o introduzca 30-60 segundos en el colorante. e) Enjuague con agua destilada no permita que el chorro de agua caiga con presión sobre la muestra del extendido. f) Deja secar y Observe al microscopio con objetivo de 100x

COPIA NO CONTROLADA

	INSTRUCCION DE TRABAJO PARA EL ANALISIS BASICO DEL SEMEN HUMANO EN EL LABORATORIO CENTRAL	Código: IT-CH-LC-06
		Página 7 de 15
		Fecha de Revisión: Agosto 2019
	DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO	Versión Vigente: 01

		g) Contar 200 espermatozoides consecutivos. Calcule el porcentaje de morfología normal.
6.1.3	QFB/TCL	<p>Calcula la Morfología considerando los siguientes datos:</p> <p>Al haber una región acrosomal definida que ocupa del 40-70% del área total de la cabeza, la pieza media debe ser delgada con un ancho menor a 1µm, unida a la cabeza de forma axial, las gotas citoplasmáticas deben ser menores de la mitad de cabeza normal, la cola debe ser derecha y uniforme, debe ser enrollada y medir aproximadamente 45-50 µm de largo.</p> <p>Considere las siguientes categorías anormales, debe reportar como observación los defectos más frecuentes. (Ver Anexo 6).</p>
7.0 PROCEDIMIENTO PARA DETERMINAR CONCENTRACIÓN		
7.1.1	QFB/TCL	<p>Realiza un análisis microscópico inicial de la muestra para estimar el número de espermatozoides y decidir la dilución a utilizar:</p> <p>Diluye 10 µl de semen depositarlos en un porta objeto, con cuidado colocar un cubre objeto, con el objetivo de 100x observar la cantidad estimada contable y seguir la indicación para diluir la muestra.</p> <p>Ver Anexo 7.</p>
7.1.2	QFB/TCL	<p>Realiza técnica para concentración de espermatozoides:</p> <p>Prepara en dos tubos pequeños o microtubos (hacer por duplicado la dilución) medir la cantidad de diluyente y coloca muestra según la dilución determinada. se recomienda utilizar muestras de semen de por lo menos 50µL para descartar errores de medición en volúmenes más pequeños.</p> <p>Mezclar perfectamente, opcional vortex durante 10 segundos a máxima velocidad. Transfiere de 10-15 µL de cada dilución a cada cámara del hemocitometro, dejar reposar 5 minutos en la cámara húmeda para que los espermatozoides sedimenten.</p> <p>El número de espermatozoides debe evaluarse en ambas cámaras del hemocitometro, los dos valores deben coincidir ver la tabla del anexo 7. Si la diferencia es mayor a lo indicado se repetirá la dilución.</p> <p>Cuenta por lo menos 200 espermatozoides (solo espermatozoides enteros con cabeza y cola) por cada dilución para un total aproximado de 400 células totales.</p>

COPIA NO CONTROLADA

	INSTRUCCION DE TRABAJO PARA EL ANALISIS BASICO DEL SEMEN HUMANO EN EL LABORATORIO CENTRAL	Código: IT-CH-LC-06
		Página 8 de 15
		Fecha de Revisión: Agosto 2019
	DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO	Versión Vigente: 01


7.1.3	QFB/TCL	<p>Recuenta las filas completas, inicia con el cuadrante central, enumerando como 5 (si no se alcanza en las cinco filas de 200 spz, continuar con las filas del cuadrante 4 y 6. Contar el mismo número de filas en ambos lados de la cámara.</p> <p>Concentración de spz (10⁶/ MI= No. espermatozoides x 1 fila x factor de dilución $\frac{\text{n filas contadas}}{20\mu\text{L}}$ Ver Anexo 8.</p>
8.0 PROCESO PARA DETERMINAR LA CONCENTRACION DE ESPERMATOZOIDE X VOLUMEN DE MUESTRA*		
8.1.1	QFB/TCL	<p>Mide el volumen de la muestra por peso de un contenedor estándar con y sin semen o midiendo con un cilindro graduado con base cónica. Ejemplo:</p> <p>Una dilución 1:20 reporta 207 espermatozoides en un lado de la cámara contando 4 filas, el duplicado reporta 215 espermatozoides en 4 filas, la diferencia en la suma es 8, con los datos de la tabla 2 es aceptable. La suma es 422 espermatozoides.</p> $\frac{C_ N^{\circ} \text{ spz}}{n^{\circ} \text{ filas}} \times \frac{1 \text{ Fila}}{20\mu\text{L}} \times \text{Factor de Dilución}$
8.1.2	QFB/TCL	Realiza, la limpieza de la cámara de recuento, quitar el cubreobjeto y enjuagarla con agua y detergente neutro, sanitizar con hipoclorito de sodio por 1-2 minutos y enjuagar con agua destilada y secar con un paño suave.
8.2.1	QFB/TCL	Abre la interfaz del sistema informático y reporta los resultados en forma manual Con Clave :par
8.2.2	QFB/TCL	<p>Limpia su área de trabajo dejarlo en óptimas condiciones de higiene y aseo.</p> <p>Limpia su equipo y mesa de trabajo, lo realiza utilizando hipoclorito de sodio al 5% en una dilución de 1:10 de acuerdo a las indicaciones del fabricante.</p> <p>Coloca los materiales de desecho en los contenedores especiales. (Ver anexo 1). Del Manual de procedimientos de bioseguridad en las diferentes áreas del laboratorio de patología clínica (MB-CH-LC-01).</p>

6. ANEXOS

ANEXO 1:

- Debe de tener abstinencia sexual por lo menos 3 días, y no más de 5 días previos al estudio.
- La Muestra debe ser obtenida en las instalaciones del laboratorio entre 7:00 y 8:00 de la mañana.
- Asear Genitales con agua y jabón

COPIA NO CONTROLADA

	INSTRUCCION DE TRABAJO PARA EL ANALISIS BASICO DEL SEMEN HUMANO EN EL LABORATORIO CENTRAL	Código: IT-CH-LC-06
		Página 9 de 15
	DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO	Fecha de Revisión: Agosto 2019
		Versión Vigente: 01

d) Obtener la muestra por masturbación, la cual debe ser recolectada en envase estéril de la farmacia, registra la hora de la recolección.

e) Puede obtener su muestra en su domicilio, traerla dentro de la siguiente media hora transportándola a la temperatura corporal (pegada al cuerpo).

f) Lo ideal: recoger la muestra en el baño o cuarto cerca del laboratorio. Evitar choque térmico

Hacer hincapié:

- b) Lavarse bien las manos y genitales antes.
- b) Evitar la pérdida.
- c) No utilizar preservativo ni el coitus interruptus.

ANEXO 2:



Anexo 3

COPIA NO CONTROLADA



INSTRUCCION DE TRABAJO PARA EL ANALISIS BASICO DEL SEMEN HUMANO EN EL LABORATORIO CENTRAL

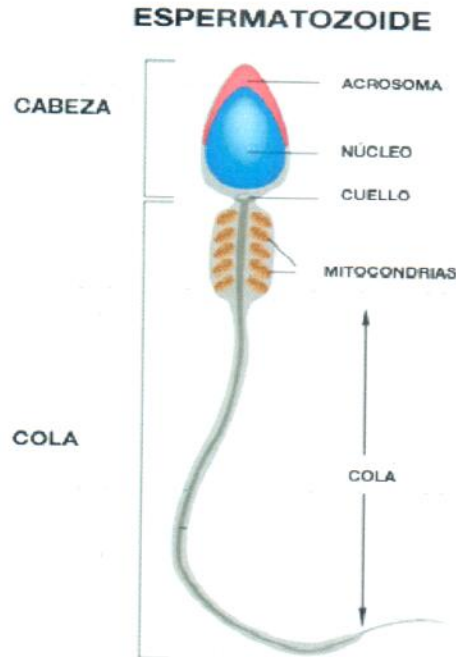
DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO

Código: IT-CH-LC-06

Página 10 de 15

Fecha de Revisión:
Agosto 2019

Versión Vigente: 01



ANEXO 4



COPIA NO CONTROLADA



**INSTRUCCION DE TRABAJO PARA EL ANALISIS
BASICO DEL SEMEN HUMANO EN EL LABORATORIO
CENTRAL**

**DIVISION DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO
Y TRATAMIENTO**

Código: IT-CH-LC-06

Página 11 de 15

Fecha de Revisión:
Agosto 2019

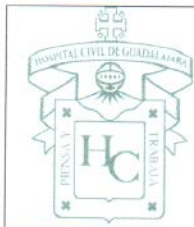
Versión Vigente: 01

ANEXO 5

TABLA. Valores normales de los indicadores del espermograma

Indicadores	Valores normales
Volumen eyaculado	1,5 - 6,0 ml
pH del semen	7,2 - 8,0
Concentración espermatozoides/mL	\$ 20 000 000
Conteo total de espermatozoides	\$ 40 000 000
Movilidad lineal progresiva (a+b)	\$ 50 %
Movilidad lineal rápida (a)	\$ 25 %
Morfología normal	\$ 50 %
- Criterio estricto	\$ 30 %
Viabilidad	\$ 50 %
Agglutinaciones	# 10 %

COPIA NO CONTROLADA



**INSTRUCCION DE TRABAJO PARA EL ANALISIS
BASICO DEL SEMEN HUMANO EN EL LABORATORIO
CENTRAL**

**DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO
Y TRATAMIENTO**

Código: IT-CH-LC-06

Página 12 de 15

Fecha de Revisión:
Agosto 2019

Versión Vigente: 01

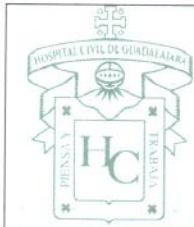
Anexo 6:



Anexo 7:

Espermas por campo 40x	Dilución	Semen μL	Diluyente μL	Área a contar	Formula, el número final es factor de dilución
>101	1:20 (1+19)	50	950	Filas 5,4,6	$Nn \times 1/20uL \times 20$
16-100	1:5 (1-4)	50	200	Filas 5,4,6	$Nn \times 1/20uL \times 5$
2-15	1:2 (1-1)	50	50	Filas 5,4,6	$Nn \times 1/20uL \times 1$
< 2	1:2 (1-1)	50	50	Filas 5,4,6	$1/1800uL \times 2$

COPIA NO CONTROLADA



**INSTRUCCION DE TRABAJO PARA EL ANALISIS
BASICO DEL SEMEN HUMANO EN EL LABORATORIO
CENTRAL**

**DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO
Y TRATAMIENTO**

Código: IT-CH-LG-06

Página 13 de 15

Fecha de Revisión:
Agosto 2019

Versión Vigente: 01

Anexo 8:



COPIA NO CONTROLADA

FT-IS-GC-01/Version 02



**INSTRUCCION DE TRABAJO PARA EL ANALISIS
BASICO DEL SEMEN HUMANO EN EL LABORATORIO
CENTRAL**

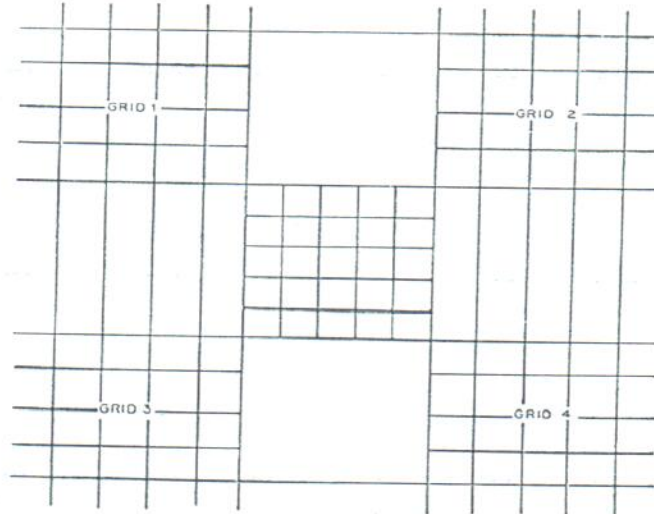
Código: IT-CH-LC-06

Página 14 de 15

Fecha de Revisión:
Agosto 2019

**DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO
Y TRATAMIENTO**

Versión Vigente: 01



SUMA	DIFERENCIA
144-156	24
197-211	28
293-309	34
386-406	39
483-515	44

Tabla 2

COPIA NO CONTROLADA



**INSTRUCCION DE TRABAJO PARA EL ANALISIS
BASICO DEL SEMEN HUMANO EN EL LABORATORIO
CENTRAL**

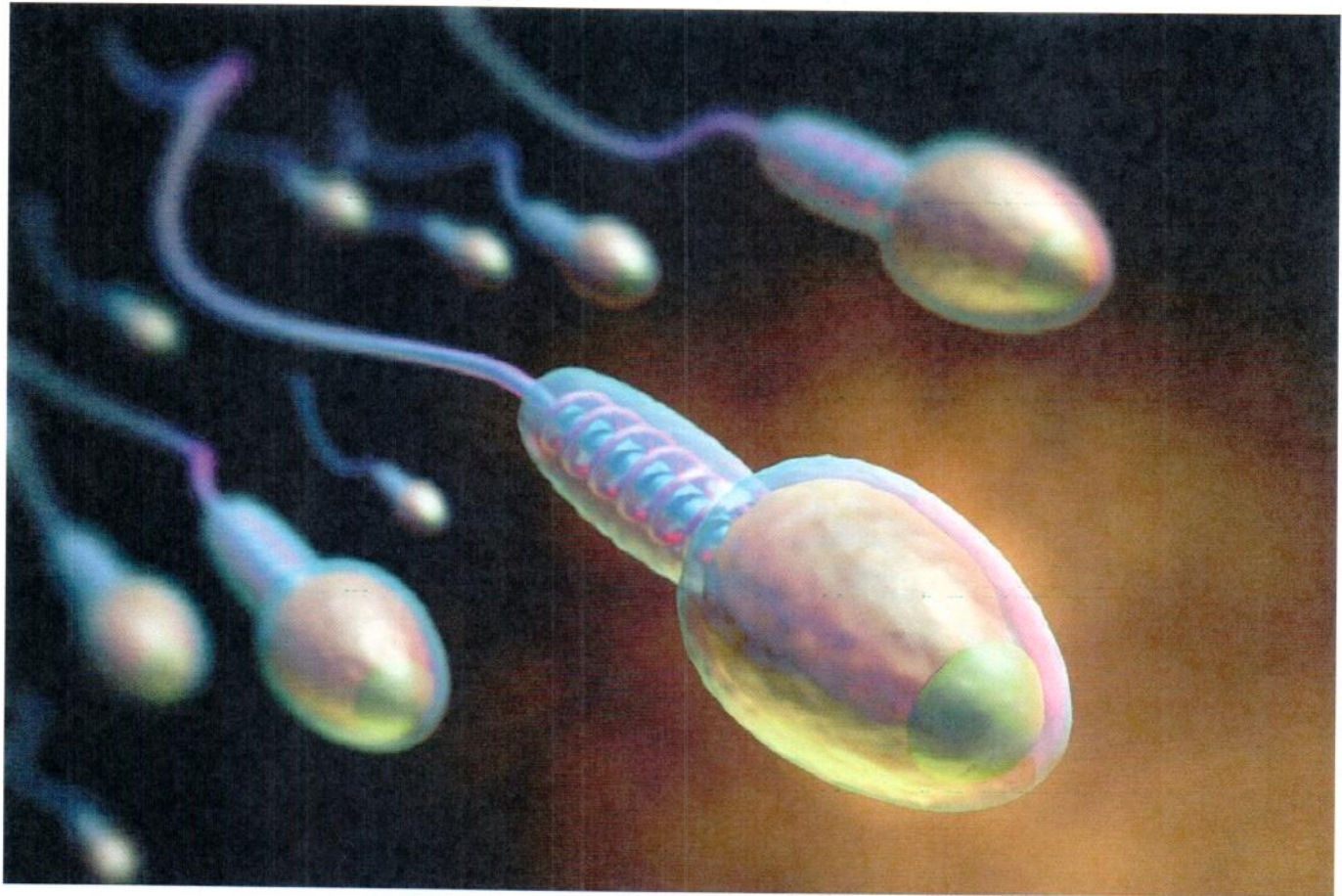
**DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE DIAGNÓSTICO
Y TRATAMIENTO**

Código: IT-CH-LC-06

Página 15 de 15

Fecha de Revisión:
Agosto 2019

Versión Vigente: 01



7.- Control de Cambios:

Versión Vigente	Fecha	Motivo
00	Enero 2017	Alta de Documento
01	Agosto 2019	Actualización de Documento: en los puntos 2 ,5.1 hasta 8.1.1

COPIA NO CONTROLADA

FT-IS-GC-01/Version 02