

Examen microscópico- Movilidad

INTEGRANTES:

Borsini Ana

Casanova Melina

Elvira Tania

Ibarra Guadalupe

Maiztegui Pilar

Redigonda Maida

FACULTAD DE CIENCIAS BIOQUÍMICAS
Y FARMACÉUTICAS

· Aspectos Inmunológicos del Proceso
Reproductivo- 2020·

Grupo 2



Espermograma

El ESPERMOGRAMA es actualmente una herramienta básica que nos proporciona la mejor información para evaluar la fertilidad del varón y es muy útil a la hora de indicar tratamientos personalizados para la pareja.

Entre las principales indicaciones se incluyen la evaluación de la función de los órganos genitales masculinos, el estudio de la pareja infértil y la búsqueda de espermatozoides después de una vasectomía o de una reversión de una vasectomía. Tiene utilidad clínica como prueba de tamización para la infertilidad y para determinar su causa probable. La combinación de varios de sus parámetros tiene mayor valor predictivo que el uso de los parámetros individuales.

El espermograma tiene sus limitaciones y la más importante es la variabilidad de los parámetros en un mismo individuo. Es así como las muestras recogidas, bajo condiciones iguales y con el mismo período de abstinencia, pueden mostrar variaciones en todos los parámetros.

Los espermogramas incluyen:

- Toma de muestra
- Examen Macroscópico
- Examen Microscópico
- Examen Químico
- Examen Microbiológico
- Examen Inmunológico.

Examen microscópico

El examen de los parámetros microscópicos se centra en analizar todos los aspectos relacionados con los espermatozoides y la presencia de elementos celulares distintos a los

espermatozoides. La investigación microscópica inicial involucra el escaneo de la preparación a un aumento total de 100X. Esto provee una visión global de la muestra que revela:

- La formación de hebras de moco.
- La agregación o aglutinación de los espermatozoides.
- La presencia de otras células diferentes a los espermatozoides, como por ejemplo, células epiteliales, células redondas (leucocitos y células germinales inmaduras) y cabezas o colas de espermatozoides aislados.

Agregación

Se refiere a la adherencia de los espermatozoides inmóviles el uno al otro o de los espermatozoides móviles a los filamentos de moco, células no espermáticas o residuos. Se considera agregación no específica y debe registrarse como tal.

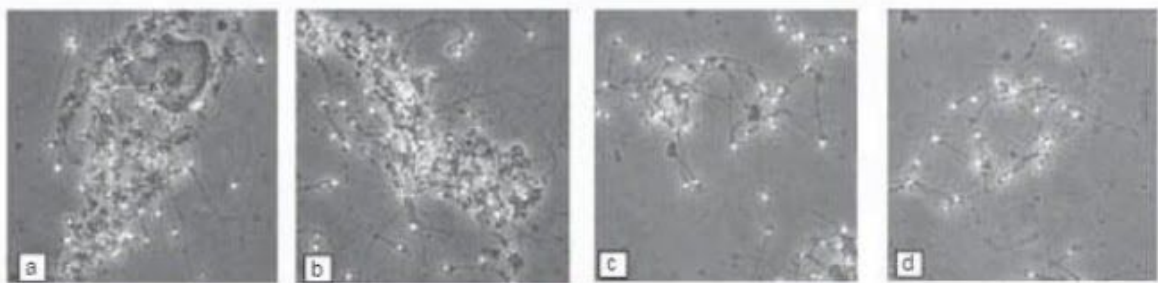


Fig. 1. Espermatozoides unidos con con células epiteliales (a), residuos (b), otros espermatozoides (c, d)

Aglutinación

La aglutinación de los espermatozoides significa que los espermatozoides móviles se adhieren entre ellos, cabeza con cabeza, cola con cola o de un modo mixto, por ejemplo, cabeza con cola. La movilidad es vigorosa con movimientos de agitación frenética, pero a veces los espermatozoides están tan aglutinados que su movilidad se ve limitada. Cualquier tipo de aglutinación debe tenerse en cuenta. Los distintos tipos de aglutinación se clasifican en grados 1-4 y los sitios de unión en letras A-E (Fig. 2).

Grado 1: <10 espermatozoides por aglutinado, muchos espermatozoides libres.

Grado 2: 10-50 espermatozoides por aglutinado, espermatozoides libres.

Grado 3: >50 espermatozoides aglutinados, pocos espermatozoides libres.

Grado 4: Todos los espermatozoides se encuentran aglutinados y las aglutinaciones se encuentran interconectadas.

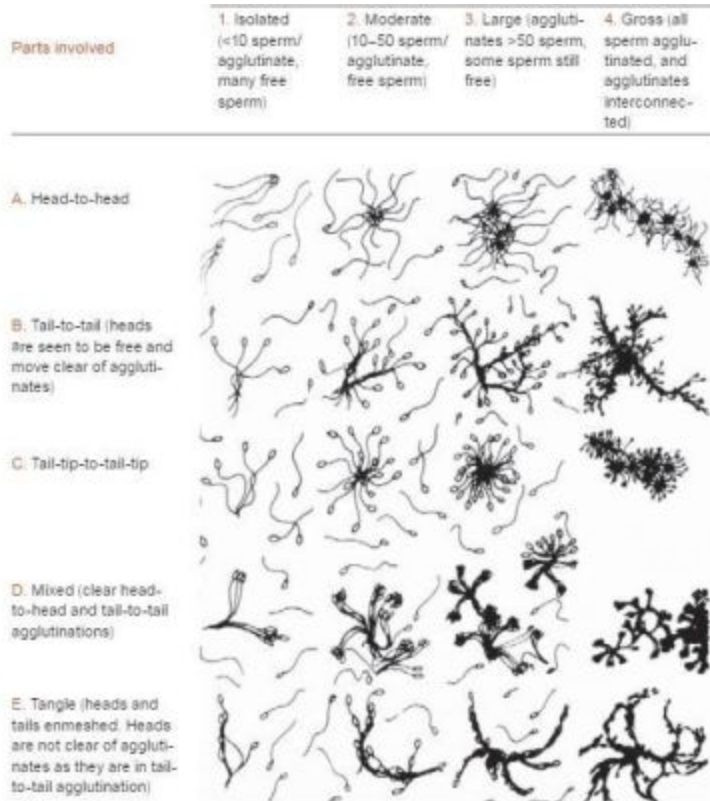


Figura 2: Diagrama de diferentes grados de aglutinación de espermatozoides.

La preparación debe ser observada luego a un aumento total de 200x o 400x, lo que permite:

- La evaluación de la movilidad espermática.
- La determinación de la dilución requerida para una evaluación precisa del número de espermatozoides.

La temperatura para evaluar la motilidad y progresión de los espermatozoides idealmente debe ser de 37°C; sin embargo, se puede hacer entre 20°C y 24°C siempre y cuando sea constante, ya que la temperatura afecta la motilidad de los espermatozoides. Todos los parámetros microscópicos se deben procesar por duplicado.

Para el análisis es necesario depositar una gota de semen de aproximadamente 10 uL, con una pipeta graduada o pipeta pasteur, en el centro de la cámara Neubauer o Makler e inmediatamente cubrirla y observar las siguientes características bajo el microscopio:

- Concentración de espermatozoides
- **Motilidad o movilidad espermática.**
- Vitalidad espermática
- Morfología de espermatozoides
- Presencia de leucocitos, bacterias y células epiteliales
- Aglutinación
- Anticuerpos antiespermáticos: si se observa aglutinación en el examen directo se recomienda la búsqueda de los mismos.

Preparación de muestras para examen microscópico directo

Se prepara una muestra de semen en fresco y se la evalúa en un microscopio de contraste de fase.

-Mezclar bien la muestra de semen.

-Tomar una alícuota de semen inmediatamente después del mezclado, evitando que los espermatozoides sedimenten.

-Volver a mezclar la muestra de semen antes de tomar la alícuota del duplicado.

El volumen de semen y las dimensiones del cubreobjeto deben estar estandarizadas, de modo que los análisis se llevan a cabo en una preparación de profundidad fija de aproximadamente 20 μ m, lo cual permite a los espermatozoides nadar libremente:

- Colocar un volumen estándar de semen sobre un portaobjetos de vidrio limpio
- Cubrir la muestra con un portaobjeto. El peso del cubreobjeto extiende la muestra.
- Tener cuidado para evitar la formación y la captura de burbujas de aire entre el cubreobjeto y el portaobjeto.
- Evaluar la preparación húmeda al microscopio.

Motilidad o movilidad espermática

La motilidad debe ser evaluada lo antes posible después de la licuefacción de la muestra, dentro de la hora de la eyaculación, preferentemente a los 30 minutos.

Se analiza el porcentaje de espermatozoides móviles de la muestra, así como el modo en que se mueven. Se dice que una muestra seminal es normal cuando más del 40% de sus espermatozoides se mueve y más del 32% lo hace de forma progresiva.

La motilidad de los espermatozoides se evalúa en una muestra de 10 μ L, por duplicado. Es importante estandarizar el volumen a usar y el tamaño de la laminilla (20x20 mm o 24x24 mm), de manera que para el análisis se utilice una muestra con una profundidad entre 25 μ m y 30 μ m, la cual garantiza el movimiento libre de los espermatozoides.

Se debe adoptar un sistema, como el que se observa en la figura 3, que permita el recuento de 200 espermatozoides por placa, con una magnificación de 200X, con el fin de clasificar su motilidad de acuerdo a los siguientes parámetros:

- **Motilidad Progresiva (PR):** Los espermatozoides se mueven activamente, tanto en forma lineal como en grandes círculos, sin importar su velocidad.
- **Motilidad No Progresiva (NP):** Son todos los otros patrones con ausencia de progresión .
- **Inmóviles (IM):** Espermatozoides incapaces de moverse
- **Motilidad total (PR+NP):** Motilidad progresiva + motilidad no progresiva

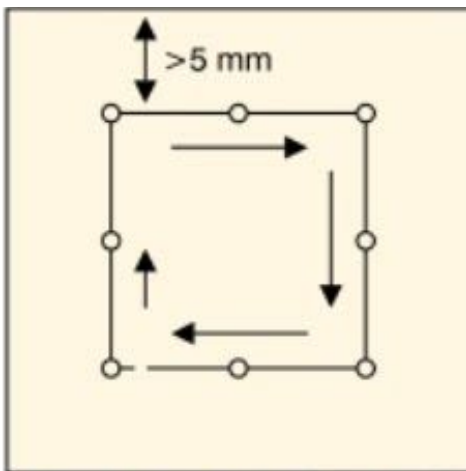


Figura 3. Ejemplo de un sistema que facilita el recuento de la motilidad de los espermatozoides [13].

Primero se cuentan los espermatozoides Inmóviles y No Progresivos presentes en 10 cuadrados. Luego se procede a contar los espermatozoides con Movilidad Progresiva en la misma área. El análisis debe realizarse por duplicado.

Una vez realizado el recuento se debe calcular el porcentaje promedio y la diferencia entre los dos porcentajes de los replicados de la categoría más común. Se utiliza la tabla adjunta debajo para aceptar o rechazar el resultado.

Si la diferencia entre los porcentajes es aceptada, se procede a informar el porcentaje

promedio para cada grado de motilidad (PR, NP, IM). En caso contrario, se repite la determinación analizando dos nuevas alícuotas.

Ejemplo:

Muestra 1	Muestra 2
PR: 30%	PR: 35%
NP: 5%	NP: 15%
IM: 65%	IM: 50%
MT: 35%	MT: 50%

Promedio IM: $65+50/2= 57,5\%= 58\%$

Diferencia: $65-50= 15\%$

El resultado se rechaza ya que según la tabla la diferencia debería ser como máximo del 10%.

200 espermatozoides contados por replicado (400 total)			
Promedio (%)	Diferencia	Promedio (%)	Diferencia
0	1	66-67	9
1	2	77-83	8
2	3	84-88	7
3-4	4	89-92	6

5-7	5	93-95	5
8-11	6	96-97	4
12-16	7	98	3
17-23	8	99	2
24-34	9	100	1
35-65	10		

Tabla (WHO 2010) diferencias aceptables entre dos replicados

Una diferencia mayor a la diferencia aceptable que va a llevar a rechazar el resultado puede ser consecuencia de una contabilidad errónea de los espermatozoides, errores de pipeteo o que las células no estuvieran bien mezcladas, con una distribución no aleatoria en la cámara.

Astenozoospermia

La patología asociada a la movilidad espermática se denomina astenozoospermia o astenospermia que se define como una alteración del semen caracterizada por la baja movilidad de los espermatozoides. Se considera que un paciente es astenospérmico cuando el porcentaje de sus espermatozoides con movilidad progresiva es menor al 32%. Las causas pueden ser:

- Exposición de la muestra al frío (para descartar esta opción debe confirmarse que el transporte de la muestra y el momento de la lectura de la motilidad hayan sido adecuados)
- Síndrome de Kartagener

- Licuefacción incompleta
- Recipiente sucio
- Coagulación
- Exposición a sustancias tóxicas como fertilizantes, solventes químicos, etc
- Causas fisiológicas
- Presencia de anticuerpos antiespermáticos
- Consumo excesivo de alcohol, tabaco, marihuana y otras drogas
- Edad avanzada (descenso de la movilidad a partir de los 45 años)
- Tratamientos oncológicos

Bibliografía:

- Espejo, Catena, Sotelo y Salvador. (2020). *¿Cómo se interpretan los resultados del seminograma y sus valores?*. Reproducción Asistida ORG.
- Toro Montoya A. (2009). *Espermograma*. Módulo 14, número 11. Colombia. Editora Médica Colombiana, pp.145-169.
- World Health Organization. (2010). *Laboratory Manual For The Examination And Processing Of Human Semen*. (5th ed) Geneva.