

Espermograma

Ana Isabel Toro Montoya¹

Resumen: el espermograma es una prueba esencial en el análisis de la infertilidad y para el estudio de las enfermedades genitales masculinas. El análisis del semen o espermograma incluye la evaluación de los espermatozoides, el líquido seminal y la presencia de otras células, como los leucocitos y las bacterias. El análisis del semen aporta información importante en cuanto al proceso de espermatogénesis, la función de los espermatozoides y la función de las glándulas sexuales accesorias. El personal del laboratorio que procesa las muestras debe estar capacitado para realizar un espermograma con calidad que ayude al clínico a llegar a un diagnóstico diferencial, apoyado por pruebas adicionales más especializadas cuando sea necesario. Se debe seguir un control de calidad riguroso que garantice la reproducibilidad de los resultados y minimice los errores inter e intra-observador. En el presente módulo se hace una revisión de los parámetros que se deben evaluar en un espermograma básico de rutina y se describe la metodología para un estudio adecuado del semen. Finalmente, se mencionan brevemente otras pruebas especializadas, como el cultivo de semen y las pruebas de penetración.

Palabras clave: espermatogénesis, espermograma, parámetros microscópicos, parámetros macroscópicos, laboratorio.

Toro-Montoya AI. Espermograma. Medicina & Laboratorio 2009, 15: 145-169.

Módulo 14 (Tecnología) número 11. Editora Médica Colombiana S.A., 2009®.

Recibido el 18 de enero, 2009; aceptado el 20 de febrero 2009.

El análisis del semen o espermograma es una prueba de laboratorio simple de gran importancia para la evaluación de la infertilidad en las parejas y para el estudio de las enfermedades genitales masculinas y de otras patologías, como las causadas por la exposición a productos químicos, factores ambientales y medicamentos, entre otras [1]. Muchos de los parámetros y técnicas descritas hace más de 50 años [2, 3] continúan teniendo validez en la actualidad. El espermograma básico evalúa las características generales del semen, como son la apariencia y el volumen, el número de espermatozoides, la motilidad, la morfología, la vitalidad y la presencia de leucocitos. El recuento y la motilidad de los espermatozoides tienen utilidad para determinar si hay suficientes espermatozoides que puedan alcanzar el ovocito, en tanto que la morfología de los espermatozoides se considera como el parámetro del espermograma que más se asocia con la capacidad de fertilización [4, 5]. Otros parámetros adicionales a los ya mencionados, como las pruebas inmunológicas que detectan anticuerpos contra los espermatozoides y las pruebas funcionales como las de unión del espermatozoide a la zona pelúcida y penetración al ovocito, se utilizan como pruebas complementarias en la evaluación de la pareja infértil [6]. En este módulo se presenta una descripción de los parámetros que componen un espermograma básico y correlaciona los resultados con posibles alteraciones de los órganos genitales masculinos.

¹ Bacterióloga y Laboratorista Clínica. Magíster en Virología. Coordinadora Científica, Editora Médica Colombiana S.A. Carrera 43C No. 5-33. Medellín, Colombia. E-mail: infoedi@edimeco.com

Espermatogénesis

La espermatogénesis es un proceso complejo mediante el cual las células madres germinales se dividen para renovarse y para generar células hijas que se convertirán en espermatozoides. Este proceso que convierte una célula esférica diploide (46 cromosomas, XY) en cuatro células haploides (23 cromosomas, X o Y) flageladas, ocurre dentro de los túbulos seminíferos en los testículos y dura aproximadamente dos meses en los mamíferos. Los túbulos seminíferos están recubiertos por las células de Sertoli [7], de sostén, las cuales están unidas fuertemente para dividir el espacio de los túbulos seminíferos en dos compartimentos: el basal y el luminal, formando la base de la barrera hemato-testicular con el fin de que la espermatogénesis ocurra en un sitio privilegiado inmunológicamente, ya que los espermatozoides comienzan a ser producidos en la pubertad y son considerados “extraños” para el sistema inmune que desarrolla el reconocimiento de lo propio durante el primer año de vida. Dentro de los túbulos, las células germinales van formando capas dependiendo de su grado de diferenciación; es decir, junto a la membrana basal yacen las espermatogonias, seguidas por los espermatocitos primarios, espermatocitos secundarios y las espermátides cerca a la luz del túbulo [8, 9], como se observa en la **figura 1**.

Etapas de la espermatogénesis

La espermatogénesis es un proceso continuo que comienza en la pubertad y perdura toda la vida. La duración de un ciclo completo de espermatogénesis es de 60 días en el hombre.

La espermatogénesis comienza con la división mitótica de la espermatogonia (2n), que da origen a los espermatocitos primarios (2n). Posteriormente se da una división meiótica que da origen a los espermatocitos secundarios (1n) y éstos a su vez por otro ciclo de meiosis dan origen a las espermátides (1n), las cuales tendrán la mitad del material genético original (23 cromosomas), como se observa en la **figura 1**.

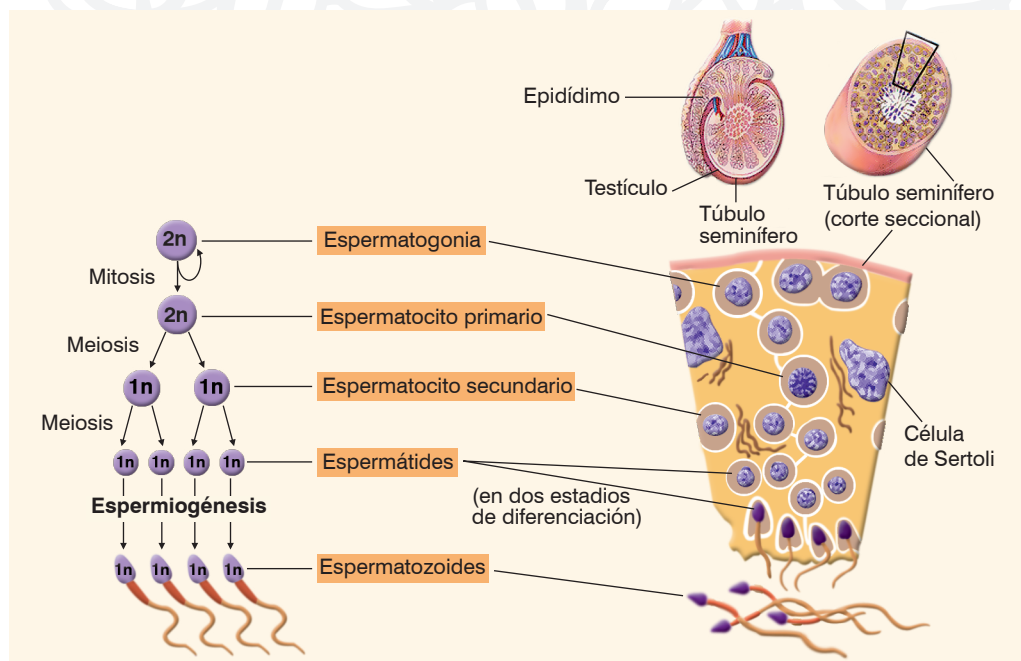


Figura 1. Las espermatogonias se dividen por mitosis para generar los espermatocitos primarios. Los espermatocitos primarios inician su división meiótica para dar origen a dos espermatocitos secundarios, los cuales a su vez se dividen nuevamente por meiosis para generar dos espermátides. Posteriormente comienza el proceso de maduración de la espermátide (espermiogénesis): el citoplasma se reduce, el núcleo se alarga y queda en la cabeza del espermatozoide, las mitocondrias se ubican en el cuello y los centriolos dan origen al flagelo.

Luego comienza un ciclo de maduración mediante el cual las espermatídes maduran a espermatozoides funcionales en las células de Sertoli [7]. Este proceso de maduración se conoce con el nombre de espermiogénesis, el cual puede durar varias semanas y consiste en una serie de eventos, los cuales se enuncian en la **tabla 1**. Al completarse la maduración del espermatozoide, el citoplasma de las células de Sertoli se retracta de alrededor del espermatozoide, liberándolo a la luz de los túbulos.

Tabla 1. Eventos que suceden en la espermiogénesis

Formación del acrosoma
Formación del flagelo
Reorganización de las mitocondrias alrededor de la parte media
Condensación del núcleo al 10% del tamaño original
Pérdida de gran parte del citoplasma

Los espermatozoides dentro de los testículos tienen poca o ninguna movilidad y son incapaces de fertilizar el ovocito, adquieren su funcionalidad sólo después de atravesar el epidídimo, donde finalizan su proceso de maduración. Esta etapa tiene una duración de 10 a 15 días [8].

El espermatozoide

El espermatozoide es la célula reproductora sexual masculina. Es una célula haploide, por lo que sólo contiene 23 cromosomas (1n). Los espermatozoides constan de tres regiones:

- Cabeza: contiene el núcleo haploide cubierto por el acrosoma y un par de centriolos detrás del núcleo. El acrosoma contiene enzimas como la hialuronidasa y la acrosina que facilitan la penetración del espermatozoide al ovocito.
- Segmento intermedio o cuerpo: región que une la cabeza con la cola y que contiene la carga mitocondrial que provee la energía necesaria (ATP) para la movilidad del espermatozoide.
- Cola o flagelo: da la movilidad al espermatozoide.

En la **figura 2** se observa un esquema de un espermatozoide con sus componentes estructurales.

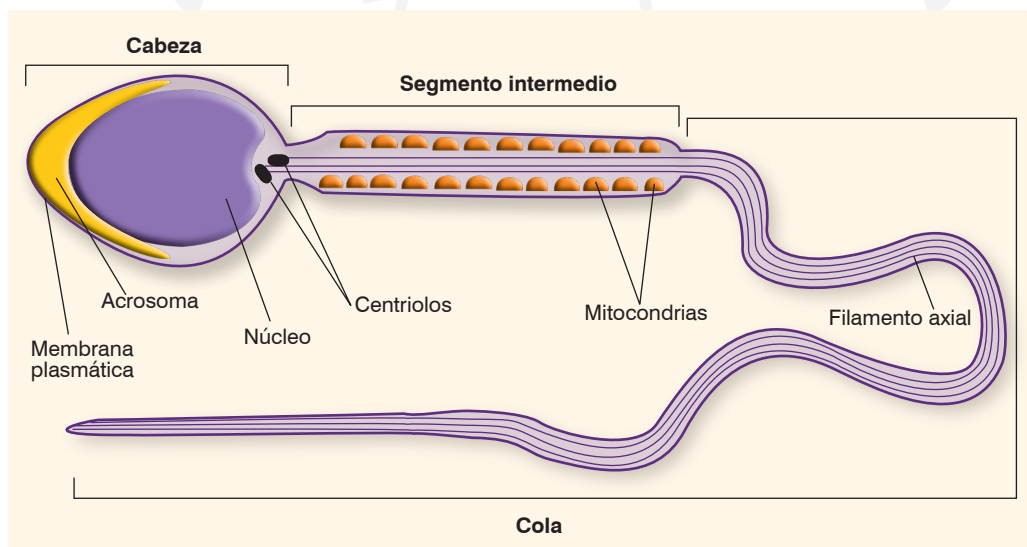


Figura 2. Representación esquemática de un espermatozoide maduro con sus componentes estructurales.

Durante la eyaculación, los espermatozoides son liberados del epidídimo, donde se almacenan, a través del conducto deferente y se mezclan con las secreciones de la próstata y otras glándulas para conformar el semen.

El espermograma

El espermograma tiene como finalidad evaluar el semen y los espermatozoides. 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 [10]. La combinación de varios de sus parámetros tiene mayor valor predictivo que el uso de los parámetros individuales [11]. En la **tabla 2** se enumeran las principales indicaciones del espermograma.

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 por un mismo individuo, bajo condiciones iguales y con el mismo período de abstinencia, pueden mostrar variaciones en todos los parámetros [12]. Por lo tanto, se sugiere hacer al menos dos espermogramas en muestras diferentes, antes de hacer un diagnóstico definitivo [10, 13].

Toma de la muestra

De acuerdo con las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS) [13], la muestra para el espermograma se debe tomar siguiendo las siguientes normas:

- Se debe entregar al paciente una hoja de instrucciones escrita con claridad sobre la manera de recoger el semen y trasladarlo al laboratorio.
- Lo ideal es recoger la muestra después de dos días y no más de siete de abstinencia sexual. En el formulario que acompaña a cada análisis de semen se debe anotar el nombre del paciente, el período de abstinencia, la fecha y la hora de la recolección.
- Para hacer la evaluación inicial se deben recoger dos muestras independientes de semen. El tiempo transcurrido entre las recolecciones depende de las circunstancias, pero no debe ser menor de siete días ni mayor de tres meses. Si los resultados de estas evaluaciones son muy distintos, se deben analizar más muestras de semen, pues dentro de un mismo individuo pueden ocurrir variaciones importantes en la producción de espermatozoides.

Tabla 2. Indicaciones del espermograma

Infertilidad

Infecciones genitales

Varicocele

Pérdidas fetales recurrentes

Vasectomía

Criptorquidia

Tratamientos médicos (quimioterapia, sulfasalazina, etc.)

Lesiones en escroto

Orquitis por paperas

Exposición ocupacional a tóxicos

Vasovasostomía (reversión de la vasectomía)

■ Lo ideal es que la muestra se recoja en la intimidad de una dependencia próxima al laboratorio. De lo contrario, se debe llevar al laboratorio antes de transcurrida una hora de la recolección y si la motilidad de los espermatozoides es anormalmente baja (menos de 25% con motilidad progresiva rápida), se debe examinar una segunda muestra lo antes posible después de la recolección.

■ Si se van a realizar pruebas de la función de los espermatozoides, es

fundamental separar los espermatozoides del plasma seminal antes de una hora de la producción del eyaculado.

- La muestra se debe obtener mediante masturbación y eyacularse dentro de un recipiente de vidrio o plástico de boca ancha que esté limpio; si se usa plástico, se debe verificar la ausencia de efectos tóxicos sobre los espermatozoides. El recipiente debe estar tibio para reducir al mínimo el riesgo de choque por frío.
- Si se va a hacer un análisis bacteriano, el paciente debe orinar y luego lavarse y enjuagarse las manos y los genitales antes de recoger la muestra en un recipiente estéril. No se debe usar condón para recoger el semen porque se puede comprometer la vitalidad de los espermatozoides.
- Cuando por circunstancias especiales no es posible obtener el semen mediante masturbación, existen condones de plástico específicos para este fin. El *coitus interruptus* no es aceptable para hacer la recolección del semen, porque puede perderse la primera porción del eyaculado, que suele contener la mayor concentración de espermatozoides. Además, hay contaminación celular y bacteriológica de la muestra y el pH ácido del líquido vaginal ejerce una influencia adversa sobre la motilidad de los espermatozoides.
- Las muestras incompletas no se deben analizar, en particular si se pierde la primera porción del eyaculado.
- La muestra se debe proteger de las temperaturas extremas (no menor de 20°C ni mayor de 40°C) durante el traslado al laboratorio.
- El recipiente debe rotularse con el nombre del paciente, la fecha y hora de la recolección, y la duración de la abstinencia.

Las muestras de semen se deben analizar a más tardar dentro de la primera hora después de su recolección. Se debe tener en cuenta que las muestras de semen pueden contener patógenos transmisibles, como son el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), el virus de la hepatitis B y el herpesvirus, por lo tanto deben ser manipuladas con extrema precaución [13].

Algunas causas de error incluyen la forma en que se recolectó la muestra: si fue por masturbación, como debe tomarse, o si por interrupción del coito; también si se recogió toda la muestra o sólo una parte. Finalmente, debe tenerse en cuenta que a pesar de que el espermograma arroje resultados normales, puede haber otro tipo de anomalías que sólo se manifiestan en los análisis complementarios o funcionales, particularmente cuando hay problemas de fertilidad [6].

Parámetros macroscópicos del espermograma

La evaluación del semen se debe realizar lo más pronto posible. Los parámetros macroscópicos iniciales incluyen la evaluación de la apariencia, la licuefacción, la viscosidad o consistencia, la determinación del volumen de la muestra y su pH.

Apariencia

El semen tiene una apariencia homogénea y un color entre blanco y gris claro, y ocasionalmente amarillento en pacientes con ictericia o que consumen ciertas vitaminas [13]. Un color rosado o rojo sugiere la presencia de sangre (hematospermia).

Licuefacción

El semen se coagula casi inmediatamente después de su eyaculación, para nuevamente licuarse 5 a 40 minutos después, por la acción del antígeno específico de próstata. En algunos casos, la licuefacción no se completa hasta después de una hora y se debe informar; sin embargo, su significado clínico es controvertido [14, 15]. En los casos en que la licuefacción ocurra antes de que la muestra sea evaluada en el laboratorio, se le debe preguntar al paciente si observó los coágulos previos a la licuefacción. También es posible que el semen no se licue. Es normal observar coágulos gelatinosos en las muestras y no se asocian con problemas de infertilidad [16].

La muestra se debe mezclar cuidadosamente en el recipiente antes de tomar una parte para el análisis, con el fin de garantizar un recuento acertado. Si la muestra no se licua, se le puede agregar un volumen igual de solución salina o de un medio de cultivo y mezclar repetidamente con una pipeta. No se debe olvidar el factor de dilución al calcular el resultado del recuento e informar que debido a anomalía en la licuefacción, se tuvo que disolver la muestra en una solución [13].

Volumen

El volumen del semen está conformado por las secreciones de varias glándulas. Los testículos y el epidídimo sólo contribuyen con el 5% del contenido (principalmente espermatozoides y testosterona), en tanto que las vesículas seminales aportan entre el 46% y el 80% (enzimas responsables de la coagulación del semen y fructosa), la próstata entre el 13% y el 33% (varias sustancias, entre ellas el antígeno específico de próstata que participa en la licuefacción del semen) y las glándulas bulbouretrales y uretrales entre el 2% y el 5% (sustancias lubricantes y ocasionalmente anticuerpos causantes de infertilidad) [17].

El volumen se debe medir con un cilindro graduado de base cónica o con una pipeta estéril de 5 mL o 10 mL y no se deben usar jeringas plásticas, ya que pueden alterar la motilidad de los espermatozoides [13]. El volumen normal del eyaculado debe ser mayor o igual a 2 mL. Un volumen menor se asocia con una deficiencia en la secreción de las vesículas seminales o con una eyaculación retrógrada, en tanto que volúmenes mayores de 6 mL se asocian con varicocele o con períodos largos de abstinencia [16].

Viscosidad o consistencia

La viscosidad o consistencia del semen se puede evaluar aspirando la muestra en una pipeta de 5 mL y permitiendo la caída libre de las gotas para observar la longitud del filamento que se forma. Una muestra normal deja caer gotas pequeñas y bien definidas o un filamento no mayor de 2 cm. Una viscosidad anormal puede dificultar la determinación de ciertos parámetros, como son el recuento de espermatozoides y la motilidad. Una viscosidad aumentada puede ser el resultado de una inflamación crónica de la próstata, pero también se asocia con alto contenido de moco y con la presencia de anticuerpos antiespermatozoides [16, 18, 19]. En estos casos, se recomienda diluir la muestra con una solución, como se describió previamente.

pH

El pH se debe medir dentro de la primera hora de recolección de la eyaculación. Para ello, se utiliza una gota de semen sobre papel de pH y se hace la lectura a los 30 segundos. El valor normal está entre 7,2 y 7,8. Valores de pH por encima de 7,8 hacen pensar en una infección o en una anomalía de la función secretora de la próstata [1], en tanto que valores por debajo de 6,5 ó 7,0 en una muestra sin espermatozoides (azoospermia), hacen pensar en una obstrucción de las vías eyaculatorias, en ausencia bilateral congénita de los vasos deferentes o en una anomalía funcional de las vesículas seminales [13].

Parámetros microscópicos del espermograma

El examen microscópico del semen incluye la evaluación de la motilidad, la vitalidad, el recuento y la morfología de los espermatozoides, y el examen citobacteriológico, en el cual se busca la presencia de otros elementos celulares diferentes a los espermatozoides, como son los leucocitos y las bacterias. Si en el examen microscópico se observa aglutinación de los espermatozoides, es recomendable buscar anticuerpos antiespermatozoides. Es de gran importancia que cada laboratorio estandarice su metodología para el examen microscópico, con el fin de que todas las muestras sean evaluadas de igual manera.

Se debe hacer un análisis microscópico inicial de la muestra sin diluir para estimar el número de espermatozoides por campo y decidir sobre la dilución a utilizar para la determinación de los parámetros microscópicos. Se utiliza un volumen de semen de 10 μL entre lámina y laminilla, a una magnificación de 100X (lente objetivo de 10X y ocular de 10X), que permita la visualización de filamentos de moco y la aglutinación de los espermatozoides. Luego se debe pasar a una magnificación de 400X, como se describe en la **tabla 3**; por ejemplo, si a una magnitud de 400X se observan entre 40 y 200 espermatozoides por campo (ver **figura 3**), para el recuento se debe diluir la muestra 1:20 (1 parte de semen + 19 partes del diluyente para recuento). 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 [17]. Todos los parámetros microscópicos se deben procesar por duplicado.

Tabla 3. Factores de dilución y conversión para hacer el recuento en cámara de Neubauer [13]

Espermatozoides por campo de 400X	Dilución (semen + diluyente)	Factores de conversión		
		Número de cuadrados contados		
		25	10	5
<15	1:5 (1 + 4)	20	8	4
15-40	1:10 (1 + 9)	10	4	2
40-200	1:20 (1 + 19)	5	2	1
>200	1:50 (1 + 49)	2	0,8	0,4

Motilidad

La motilidad de los espermatozoides se evalúa en una muestra de 10 μL entre lámina y laminilla, 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 μm y 30 μm , la cual garantiza el movimiento libre de los espermatozoides [16]. Se debe adoptar un sistema, como el que se observa en la **figura 4**, que permita el recuento de 200 espermatozoides por placa, con una magnificación de 400X a 600X, con el fin de clasificar su motilidad de acuerdo a los siguientes parámetros:

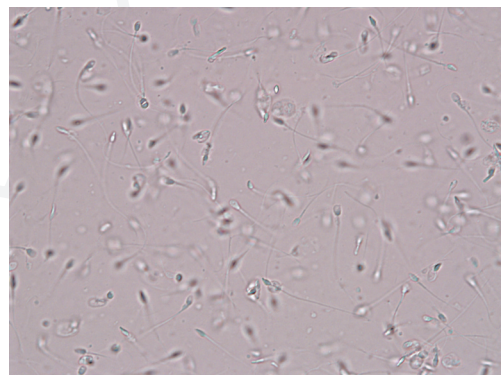


Figura 3. Observación inicial de una gota de semen, entre lámina y laminilla, en la que se pueden contar aproximadamente unos 150 espermatozoides. 400X

- Motilidad “a”: espermatozoides con motilidad progresiva rápida, a una velocidad de progresión $\geq 25 \mu\text{m}/\text{segundo}$ a 37°C, lo que equivale a la mitad de la cola en distancia o a 5 cabezas.

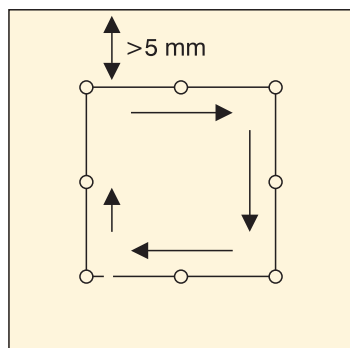


Figura 4. Ejemplo de un sistema que facilita el recuento de la motilidad de los espermatozoides [13].

- Motilidad “b”: espermatozoides con motilidad progresiva lenta, a una velocidad de progresión entre 5 y 25 $\mu\text{m}/\text{segundo}$ a 37°C, lo que equivale a la mitad de la cola en distancia.
- Motilidad “c”: espermatozoides con motilidad no progresiva.
- Motilidad “d”: espermatozoides inmóviles.

En la **tabla 4** se enuncian los factores que pueden afectar la motilidad de los espermatozoides [1] y en la **figura 5** se observa una gráfica para determinar si la diferencia de los valores encontrados en los recuentos duplicados es aceptable y se pueden informar los resultados, o si por el contrario, hubo errores en el recuento de la motilidad y se debe repetir el proceso completo [13].

Vitalidad

El parámetro que evalúa la vitalidad de los espermatozoides es útil para saber si los espermatozoides inmóviles están vivos o muertos [10]. El porcentaje de espermatozoides vivos se puede determinar por varios métodos, siendo la coloración con eosina, el método más utilizado. Se mezcla una gota (10 μL a 15 μL) del semen con una gota del colorante con eosina al 0,5% en una lámina

Tabla 4. Factores que afectan la motilidad de los espermatozoides [1]

Varicocele
Desórdenes endocrinos
Infecciones genitales
Anticuerpos antiespermatozoides
Bacteriospermia (bacterias en el semen)
Defectos en la cola
Anormalidades en las secreciones de la próstata o vesículas seminales
Hábito del cigarrillo
Consumo excesivo de licor
Drogas
Estrés

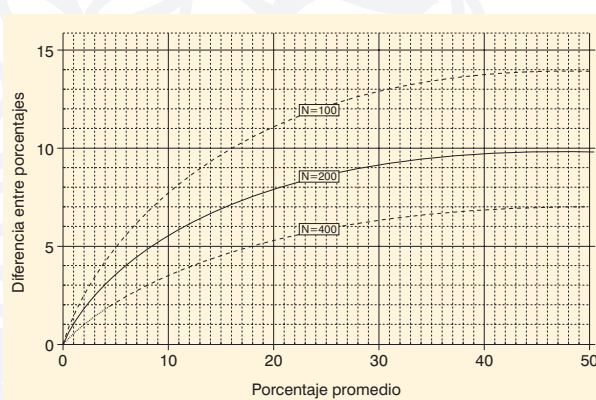


Figura 5. Rango de diferencias que se espera que ocurran en el 95% de las muestras, causadas por errores en el recuento, por duplicado, de 100, 200 y 400 espermatozoides. Diferencias mayores sugieren un error de dilución en el recuento o una distribución no uniforme de los espermatozoides en el semen diluido. Nótese el mayor error estadístico asociado con el recuento de sólo 100 espermatozoides.

Ejemplo 1. Se obtuvo una motilidad en los recuentos por duplicado de 200 espermatozoides así: motilidad “a” = 3% en una de las muestras y 20% en la otra; motilidad “b” = 32% y 40%; motilidad “c” = 5% y 5%; motilidad “d” = 60% y 35%, respectivamente. Se utiliza la categoría de motilidad más frecuente para el paciente; en este caso es la motilidad “d” (60% y 35%), que dan un promedio de 47,5% y una diferencia entre ambos recuentos de 25%. De acuerdo con la gráfica, se observa que para un recuento de 200 espermatozoides en cada muestra por duplicado y para un promedio de 47,5%, sólo puede haber una diferencia entre ambos recuentos de 10%; sin embargo, la diferencia fue de 25%. Sólo es necesario comparar las diferencias en los recuentos del tipo de motilidad más frecuente. Los resultados se deben descartar y se debe proceder a preparar una muestra adecuada para un nuevo recuento.

Ejemplo 2. Se obtuvo una motilidad en los recuentos por duplicado de 200 espermatozoides así: motilidad “a” = 32% y 25%; motilidad “b” = 4% y 3%; motilidad “c” = 4% y 4%; motilidad “d” = 60% y 68%, respectivamente. Se utiliza la categoría de motilidad más frecuente para el paciente; en este caso también es la motilidad “d” (60% y 68%), que dan un promedio de 64% y una diferencia entre ambos recuentos de 8%. La gráfica sólo muestra hasta un porcentaje promedio de 50%; en estos casos, se resta 100%-64% y da un valor de 36%. Este valor se lleva a la gráfica, la cual muestra que para un recuento de 200 espermatozoides y para un promedio de 36%, sólo puede haber una diferencia entre ambos recuentos de 9,5%. Como la diferencia fue de sólo 8%, se pueden informar los resultados [13].

portaobjeto y se cubre con una laminilla, se deja reposar la muestra 30 segundos y se procede a contar 200 espermatozoides (coloreados y no coloreados), con una magnificación de 400X [16]. Los espermatozoides vivos tienen su membrana intacta que impide la penetración del colorante, en tanto que los muertos adquieren la coloración, como se observa en la **figura 6**. El resultado se expresa en porcentaje.

Es importante comparar el resultado de la vitalidad con el de los espermatozoides inmóviles, ya que el porcentaje de espermatozoides muertos no debe ser mayor que el de los inmóviles o sólo mínimamente (dentro de los errores permitidos en los recuentos).

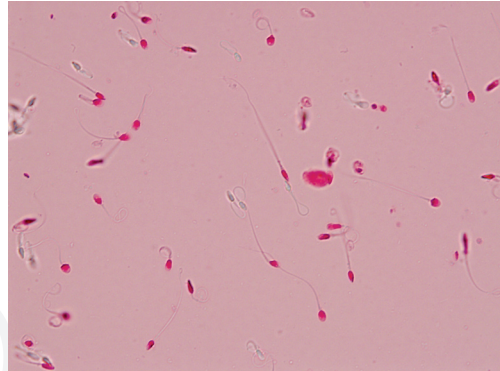


Figura 6. Muestra de semen coloreada con eosina, en la que se observan espermatozoides vivos (sin coloración) y muertos (con coloración). 400X

Recuento

Para el recuento de espermatozoides se puede utilizar la cámara de Neubauer. Se cuentan en el cuadrante central que se utiliza para el recuento de los glóbulos rojos, como se observa en la **figura 7** (área azul). Con base en lo estimado en la observación inicial de la muestra, se diluye el semen, se llenan ambos lados de la cámara de Neubauer con 10 μ L de la dilución y se procede a contar con una magnificación de 200X a 400X. Para las muestras que contienen menos de 10 espermatozoides en el cuadrado grande central (azul en la **figura 7**), se deben contar en todo el cuadrado (que contiene 25 cuadrados pequeños); para las muestras que contienen entre 10 a 40 espermatozoides en el cuadrado grande central, se pueden contar 10 cuadrados pequeños, de los 25; y para las muestras que contienen más de 40 espermatozoides en el cuadrado grande central, se pueden contar sólo 5 cuadrados pequeños (cuadrados 1 a 5 en la **figura 7**). Si hay espermatozoides sobre la línea que divide a dos cuadrados adyacentes, sólo se cuentan los que estén en el lado superior y en el lado izquierdo, descartando los que estén en el lado inferior y en el lado derecho [13], como se observa en la **figura 8**. Los resultados de ambos lados de la cá-

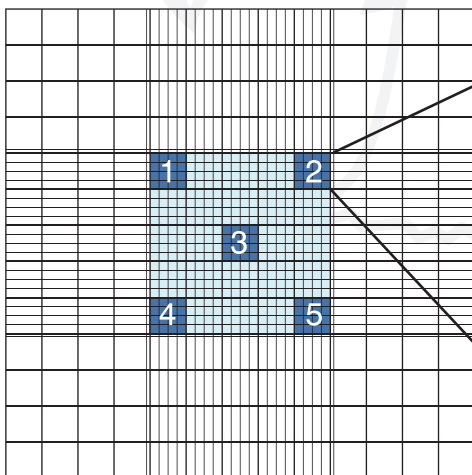


Figura 7. Para determinar la concentración de espermatozoides por mL de semen y el recuento total, se utiliza el área central de la cámara de Neubauer. El número de cuadrados pequeños en los que se cuentan los espermatozoides depende de cada muestra.

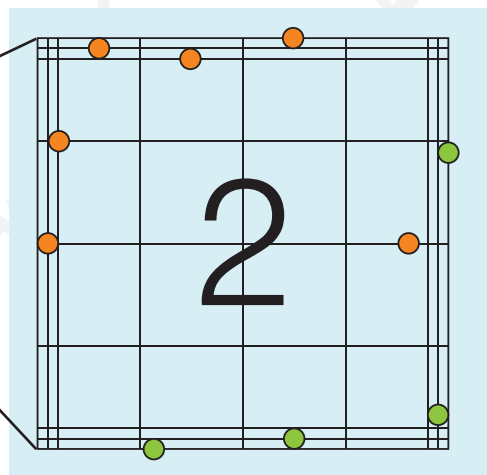


Figura 8. Para el recuento de espermatozoides, se cuentan las células que estén en la parte superior e izquierda del cuadrado (color naranja), y no se cuentan las que estén en la parte inferior y derecha (color verde).

Para se promedian y el valor se divide por el factor de conversión (ver **tabla 3**); el resultado final corresponde al número (en millones) de espermatozoides por mL de eyaculado o concentración de los espermatozoides por mL. El recuento de espermatozoides también se debe informar como número total de espermatozoides en el eyaculado o recuento total de espermatozoides [16].

- **Ejemplo:** en una muestra de semen se contaron 25 espermatozoides por campo (400X) en la observación inicial. Esto sugiere que para el recuento en la cámara de Neubauer se debe diluir la muestra 1:10. Luego de contar 10 cuadrados pequeños en ambos lados de la cámara, se obtuvo un promedio de 60 espermatozoides (55 en un lado y 65 en el otro). Este valor se divide por el factor de conversión, que en este caso es 4 (ver **tabla 3**) y se obtiene el resultado de 15 millones de espermatozoides por mL de eyaculado. Si el volumen total del eyaculado era de 2 mL, el recuento total de espermatozoides es de 30 millones.

Si los recuentos en ambos lados de la cámara muestran mucha variación, significa que la muestra no es homogénea, ya sea por que no se haya mezclado adecuadamente, por aglutinación de los espermatozoides o por presencia de grumos. Se debe preparar una nueva dilución, mezclándola bien o diluyéndola aún más. Cuando el número de espermatozoides es muy bajo en la observación inicial (oligozoospermia o control de una vasectomía), la muestra se debe centrifugar antes de hacer el recuento en la cámara de Neubauer [20].

El recuento debe incluir sólo los espermatozoides completos con cabeza y cola. Los defectuosos que sólo tengan cabeza o cola, se deben contar aparte e informar en el resultado.

Los recuentos mayores de 250 millones por mL (polizoospermia) se asocian con anomalías cromosómicas [21], bajo contenido de ATP [22], función acrosomal alterada [23] y mayor riesgo de pérdida fetal [24]. La oligozoospermia por el contrario, se asocia con una variedad de entidades, como son las alteraciones cromosómicas, varicocele, problemas endocrinos, orquitis por paperas y factores externos como la exposición a rayos X, medicamentos y productos químicos, entre otros [25-28]. La azoospermia o ausencia de espermatozoides en el semen, puede tener un origen obstructivo, que impide la liberación de los espermatozoides en el eyaculado, o un origen no obstructivo, causado por una falla testicular severa [29]; también es el resultado de una vasectomía realizada con éxito [30].

Morfología

La evaluación de la morfología de los espermatozoides consiste en el examen detallado de 200 espermatozoides en una placa coloreada con coloración de Papanicolaou (idealmente) o con coloración de Gram, por duplicado [17]. Se debe utilizar un objetivo ocular de 10X y un objetivo de inmersión de 10X, seleccionando varias áreas sistemáticamente. Según la Organización Mundial de la Salud, es normal encontrar sólo el 30% de los espermatozoides normales en los individuos fértiles [13], pero se han informado estudios de individuos fértiles con un promedio de espermatozoides con morfología normal de sólo 20% (rango entre 15% y 35%) [31].

La evaluación de las anomalías morfológicas debe incluir los defectos de la cabeza, del segmento intermedio, la cola y la presencia de gotas citoplásmicas mayores que 1/3 a 1/2 del tamaño de una cabeza normal, como se esquematiza en la **figura 9** [13]. Para que un espermatozoide sea considerado normal, la cabeza, el segmento intermedio y la cola deben ser normales. La cabeza debe ser ovalada, con una longitud aproximada entre 4 y 5 μm y un ancho entre 2,5 y 3,5 μm ; la región acrosomal debe ocupar entre el 40% y el 70% de la cabeza; el segmento intermedio debe tener un ancho menor de 1 μm y una longitud aproximada de una cabeza y media; las gotas citoplásmicas deben tener un tamaño menor que 1/3 a 1/2 de una cabeza normal y la cola debe ser derecha y uniforme, más estrecha que el segmento intermedio, debe estar desenrollada y medir aproximadamente 45 μm de largo [13, 32]. Las vacuolas que ocupan más

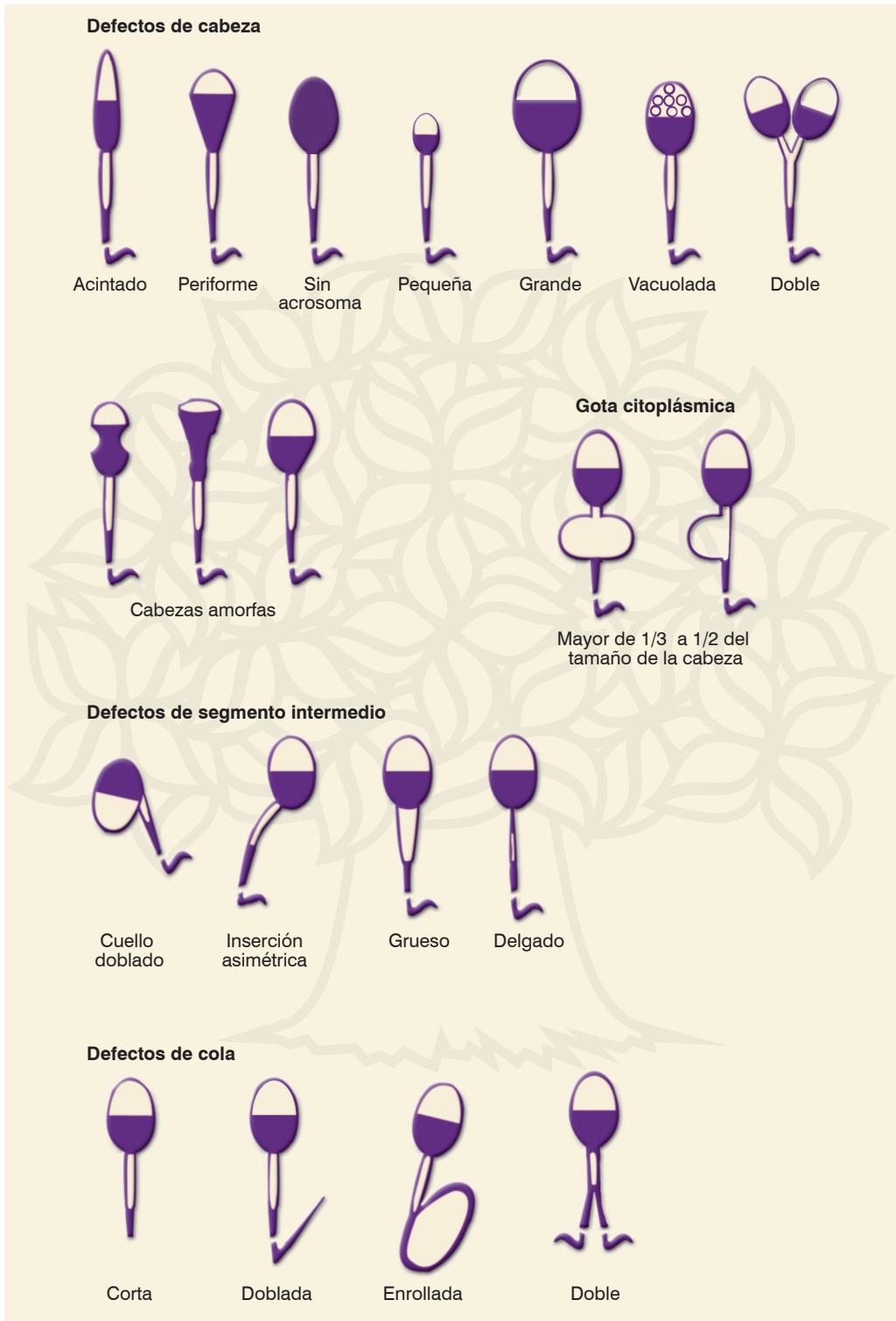


Figura 9. Representación esquemática de algunas anomalías de los espermatozoides. Tomado y modificado del Manual de laboratorio de la OMS para el examen del semen humano y de la interacción entre el semen y el moco cervical [13].

del 20% de la cabeza se consideran anormales [17]. Para el recuento morfológico diferencial, sólo se deben incluir los espermatozoides con cola, las células inmaduras no se cuentan pero se deben informar, al igual que las cabezas y las colas aisladas. Los espermatozoides se deben clasificar como normales, con defecto de cabeza, con defecto en el segmento medio o con defecto en la cola; si un espermatozoide tiene más de un defecto, se puede informar con el defecto más importante en este orden: cabeza, segmento intermedio, cola. El resultado se expresa en porcentaje, después de contar 200 espermatozoides por duplicado. No es necesario informar todas las variaciones encontradas en los espermatozoides, pero sí los defectos más frecuentes.

Otros elementos celulares

En las muestras coloreadas también se identifica la presencia de otros tipos de células como son los leucocitos, las formas inmaduras de los espermatozoides, las células epiteliales del tracto uretral y de la próstata, y microorganismos. La presencia de abundantes células poligonales cubiertas con bacterias sugiere que la muestra fue tomada por *coitus interruptus* y que las células tienen su origen en el epitelio vaginal [16]. Las “células redondas” que corresponden a formas inmaduras de los espermatozoides o a leucocitos se pueden confundir y su correcta identificación es de utilidad en algunas circunstancias. La presencia de abundantes formas inmaduras en el semen hace pensar en un daño en la espermatogénesis, como resultado de una anomalía en los túbulos seminíferos, varicocele u otra alteración en los testículos [33, 34]. Si las células redondas se encuentran a una concentración superior a 2 millones por mL, se debe hacer la diferenciación entre las formas inmaduras y los leucocitos con coloraciones especiales, como la técnica de la peroxidasa [16]. Un número elevado de leucocitos (leucocitospermia) sugiere la presencia de una inflamación o de una infección en las glándulas accesorias sexuales y se asocia con una mala calidad del semen [16, 35]. El semen normal debe contener menos de 1 millón de leucocitos por mL.

En las **figuras 10 a 33** se observan muestras directas y coloreadas con espermatozoides normales, anormales y con diferentes elementos celulares.

Aglutinación

La aglutinación de los espermatozoides puede ocurrir cabeza con cabeza, segmento intermedio con segmento intermedio, cola con cola o puede ser mixta, por ejemplo cabeza con cola. La aglutinación es sugestiva de presencia de anticuerpos antiespermatozoides [16, 17] y se debe evaluar al momento de determinar la motilidad de los espermatozoides. Se puede informar semicuantitativamente en escala de cruces. En la **figura 34** se observan algunos patrones de aglutinación de los espermatozoides.

Anticuerpos antiespermatozoides

Los anticuerpos antiespermatozoides en el semen usualmente son del tipo IgA e IgG, y rara vez del tipo IgM debido a su gran tamaño. Su producción puede ser el resultado de un trauma testicular, infecciones genitales, obstrucción de los conductos genitales o de orquitis por paperas [36]. Los anticuerpos antiespermatozoides pueden inducir la aglutinación, inmovilización o lisis de los espermatozoides [1].

Para esta prueba se utilizan dos técnicas: la técnica con inmunoesferas y la reacción mixta de antiglobulinas (MAR). Para que estas pruebas sean válidas, debe haber al menos 200 espermatozoides móviles disponibles.

La prueba con inmunoesferas consiste en unas esferas de poliacrilamida que están cubiertas con antiinmunoglobulinas humanas, las cuales se adhieren a los anticuerpos antiespermatozoides (unidos a los espermatozoides), si están presentes en el semen. Con una magnificación de 400X, se

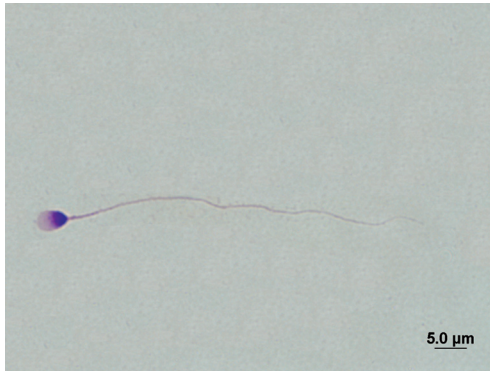


Figura 10. Espermatozoide normal. La cabeza debe tener una longitud aproximada entre 4 y 5 µm y un ancho entre 2,5 y 3,5 µm. Coloración de Gram. 1000X

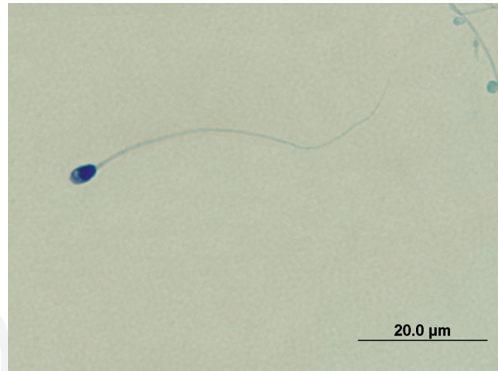


Figura 11. Espermatozoide normal. La cola debe ser derecha y uniforme, debe estar desenrollada y medir aproximadamente 45 µm de largo. Coloración de Papanicolaou. 1000X

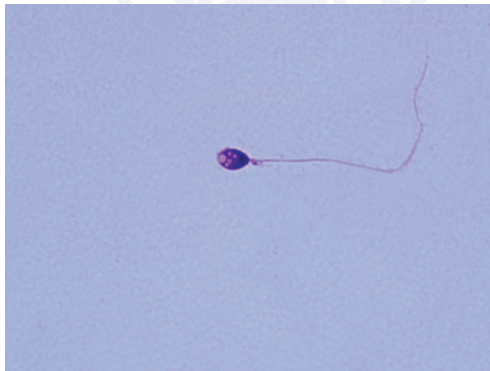


Figura 12. Espermatozoide con vacuolas anormales. Coloración de Gram. 1000X

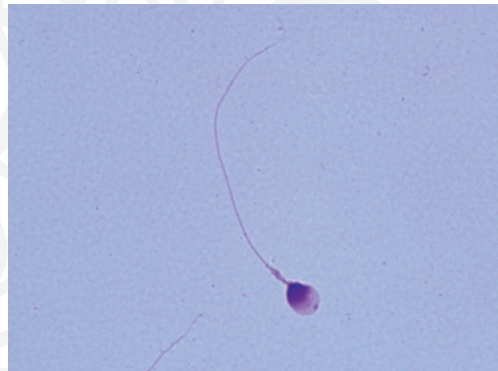


Figura 13. Espermatozoide con defecto de cabeza. Coloración de Gram. 1000X

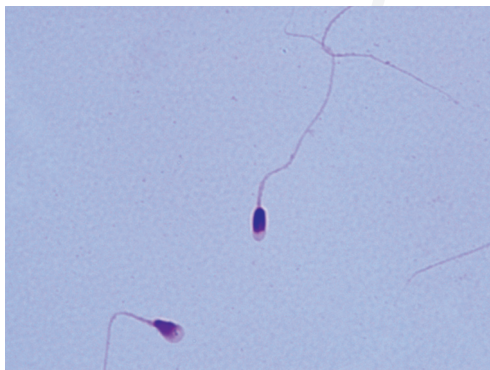


Figura 14. Espermatozoides con defecto de cabeza. Coloración de Gram. 1000X

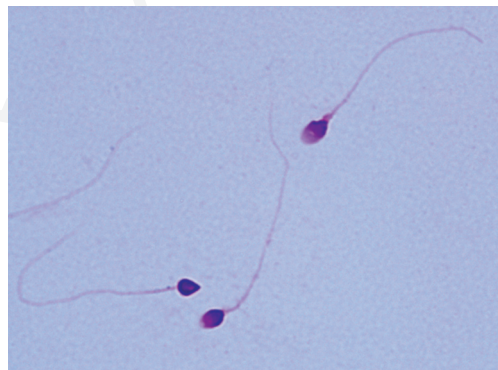


Figura 15. Espermatozoides con defecto de cabeza. Coloración de Gram. 1000X

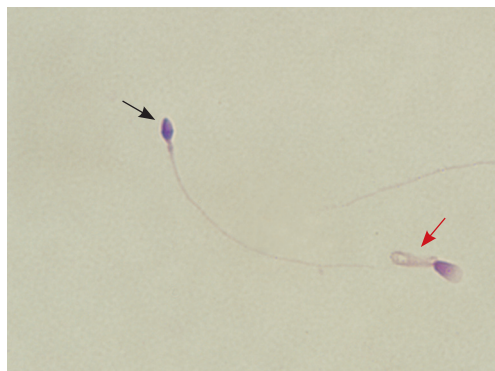


Figura 16. Espermatozoide con defecto de cabeza (flecha negra) y cola (flecha roja). Coloración de Gram. 1000X

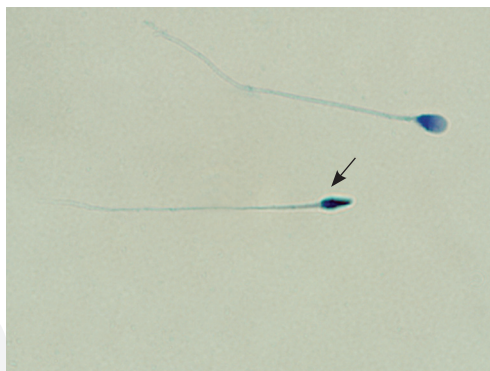


Figura 17. Espermatozoide con defecto de cabeza (flecha) y espermatozoide normal. Coloración de Papanicolaou. 1000X

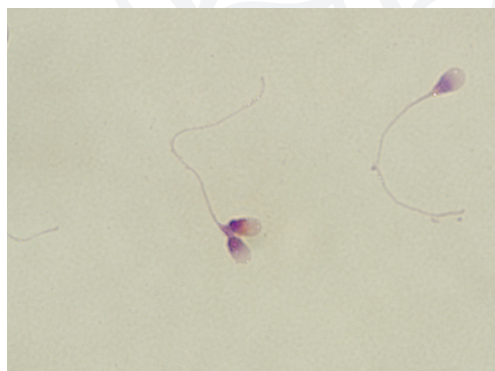


Figura 18. Espermatozoide con defecto de cabeza (doble). Coloración de Gram. 1000X

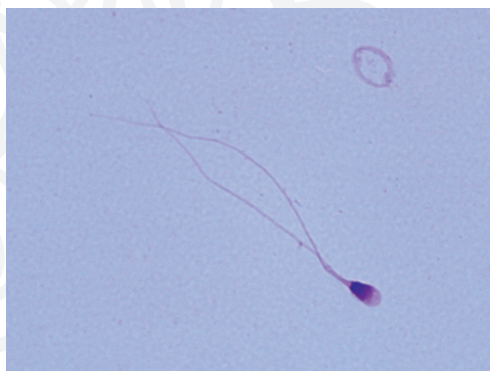


Figura 19. Espermatozoide con defecto de cola (doble). Coloración de Gram. 1000X

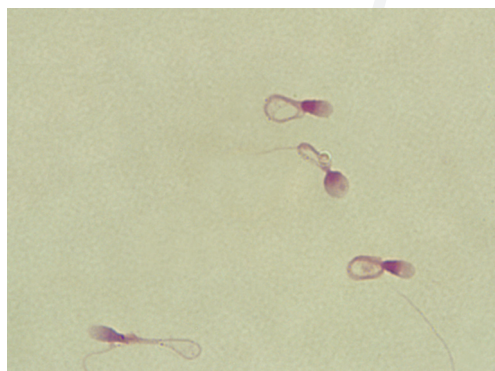


Figura 20. Espermatozoides con defectos de cola. Coloración de Gram. 1000X

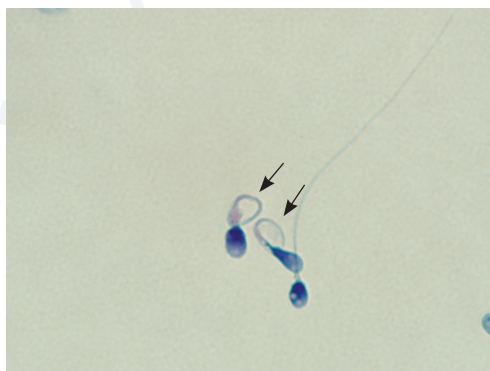


Figura 21. Espermatozoides con defectos de cola (flechas). Coloración de Papanicolaou. 1000X

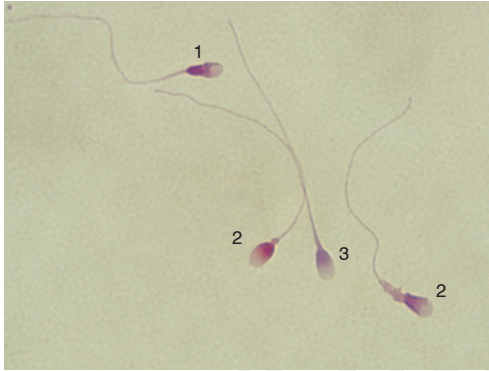


Figura 22. Espermatozoides con defecto de cabeza (1); cabeza y segmento intermedio (2); y espermatozoide normal (3). Coloración de Gram. 1000X

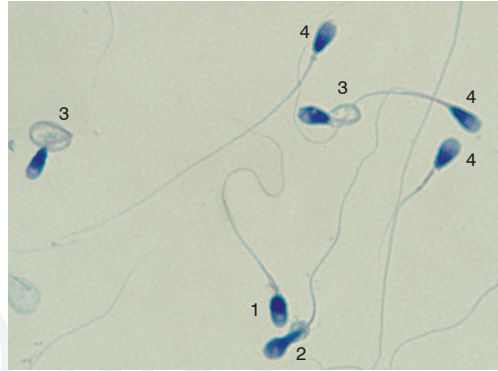


Figura 23. Espermatozoides con defecto de cabeza (1); cabeza y segmento intermedio (2); cola (3); y espermatozoides normales (4). Coloración de Papanicolaou. 1000X

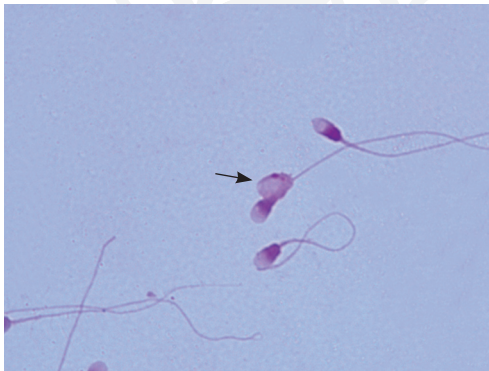


Figura 24. Gota citoplásmica anormal (flecha). Coloración de Gram. 1000X

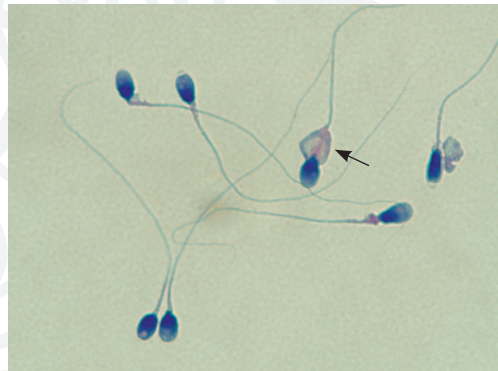


Figura 25. Gota citoplásmica anormal (flecha). Coloración de Papanicolaou. 1000X

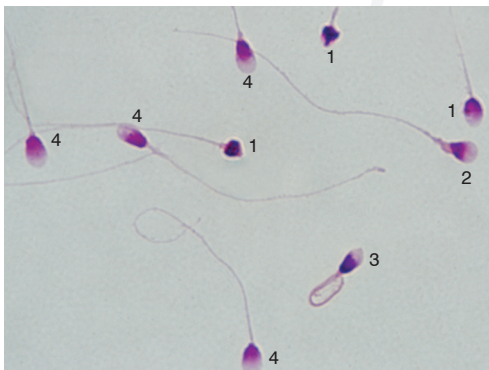


Figura 26. Espermatozoides con defecto de cabeza (1); cabeza y segmento intermedio (2); cola (3); y espermatozoides normales (4). Coloración de Gram. 1000X

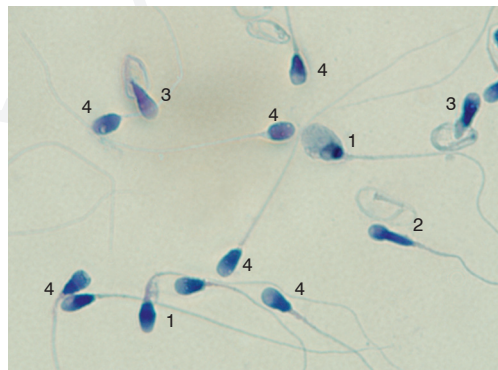


Figura 27. Espermatozoides con defecto de cabeza (1); cabeza y segmento intermedio (2); cabeza y cola (3); y espermatozoides normales (4). Coloración de Papanicolaou. 1000X

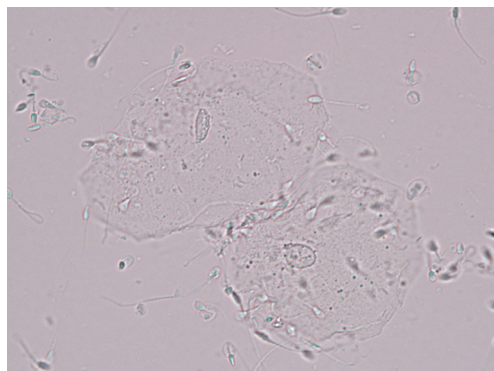


Figura 28. Muestra de semen en la cual se observan células epiteliales vaginales, que indican que la muestra fue tomada por *coitus interruptus*. Directo. 400X

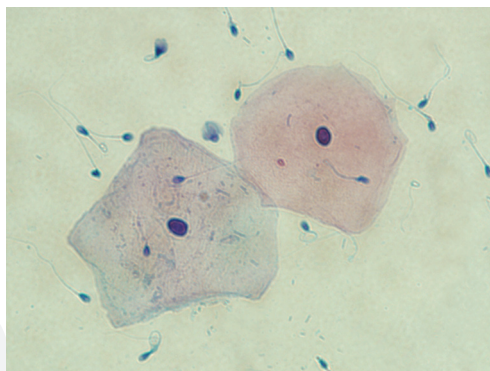


Figura 29. Muestra de semen en la cual se observan células epiteliales vaginales, que indican que la muestra fue tomada por *coitus interruptus*. Coloración de Papanicolaou. 400X

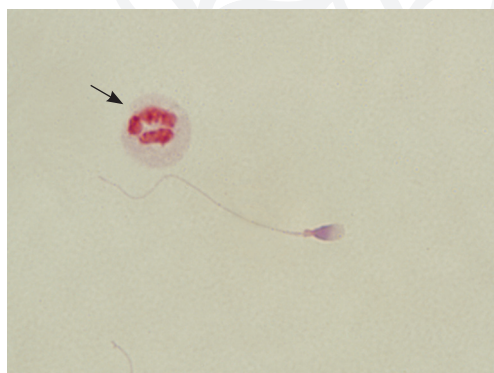


Figura 30. Leucocito. Coloración de Gram. 1000X

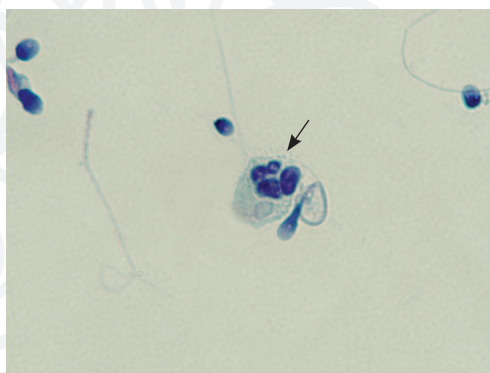


Figura 31. Leucocito. Coloración de Papanicolaou. 1000X

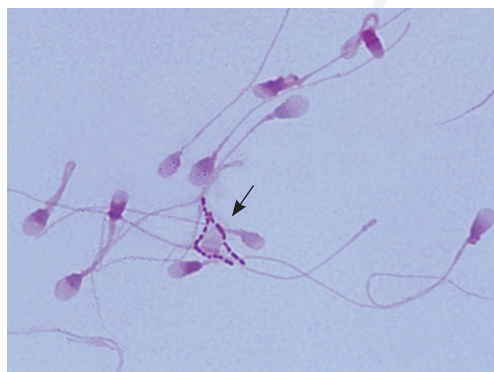


Figura 32. Bacterias. Coloración de Gram. 1000X

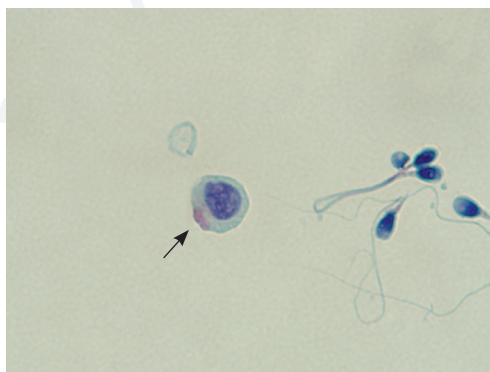


Figura 33. Célula germinal inmadura. Coloración de Papanicolaou. 1000X

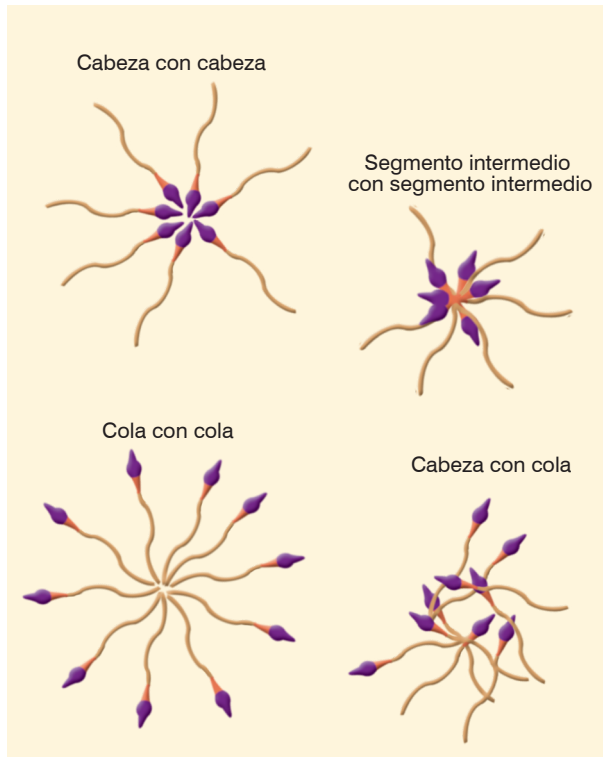


Figura 34. Patrones de diferentes tipos de aglutinación de los espermatozoides [17].

determina el porcentaje de espermatozoides que tienen dos o más esferas adheridas a los espermatozoides móviles; la unión a la punta de la cola no se tiene en cuenta. Se deben contar al menos 200 espermatozoides móviles por duplicado. De forma similar, la prueba MAR se puede hacer en semen fresco agregando partículas de látex recubiertas con anticuerpos anti-IgG o anti-IgA y observando los aglutinados entre las partículas y los espermatozoides.

Para que ambas pruebas tengan significado clínico y se asocien con problemas de infertilidad, el 50% o más de los espermatozoides deben tener esferas o partículas adheridas [37-39].

Pruebas especializadas

La mayoría de estas pruebas se han desarrollado para la evaluar la función de los espermatozoides cuando se estudia la infertilidad en las parejas. Entre ellas se incluyen la prueba de penetración de los espermatozoides y la prueba de hemizona. En la **tabla 5** se enuncian las más utilizadas [6, 13].

Pruebas de penetración

Durante su trayecto en el tracto femenino, los espermatozoides sufren cambios que facilitan su penetración en el ovocito. Las pruebas de penetración se describieron por primera vez hace más de 30 años [40] y se han modificado con el paso de los años [41-43]. Estas pruebas son complejas y requieren protocolos estrictos; sin embargo, aportan una valiosa información sobre varios pasos en el proceso de fertilización, como son la reacción acrosomal, la penetración de la membrana plasmática y la descondensación de la cromatina. También son útiles para evaluar la eficacia de varios tratamientos de infertilidad, como son la inseminación artificial, la fertilización *in vitro* y la inyección intracitoplasmática de espermatozoides [44] (ver **figura 35**).

Cultivo de semen

El cultivo de semen debe hacerse cuando se encuentra un número de leucocitos mayor a un millón por mL. Puede indicar la presencia de una infección en las glándulas accesorias genitales [45]. Las muestras se deben tomar con precaución por el riesgo de contaminación. El paciente debe orinar antes de recoger la muestra, luego debe lavarse las manos y el área genital con jabón y secarse. La muestra se debe recolectar en un recipiente estéril. El cultivo se debe realizar lo más rápidamente posible, una vez se

Tabla 5. Pruebas especializadas del semen

Cultivo del semen
Ácido cítrico
Zinc
Fructosa
Fosfatasa ácida
Pruebas de hinchazón hipo-osmótica
Penetración en ovocito de hámster
Pruebas de unión a la zona <i>pellucida</i> humana
Pruebas de reacción acrosomal

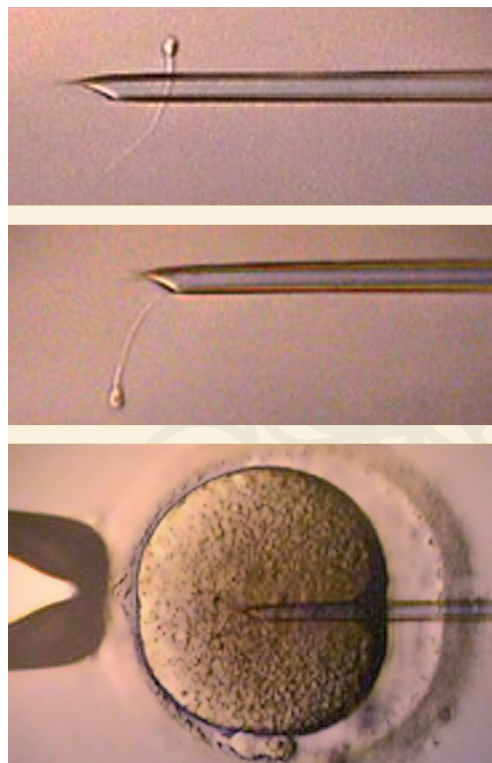


Figura 35. Microinyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI). Consiste en la introducción, mediante una microaguja, de un espermatozoide en el citoplasma del ovocito.

ha determinado el volumen del eyaculado; luego se procede con el resto del análisis [17].

El semen debe diluirse antes de cultivarse debido a la capacidad bacteriostática del líquido seminal. Para ello, se mezcla 0,2 mL de semen con 0,2 mL de solución salina estéril en un recipiente estéril y se procede a extender 50 µL de la dilución de la muestra, en forma homogénea, sobre el medio de cultivo con agar sangre y se incuba durante la noche a 37°C. Se cuentan las colonias y se multiplica por 40 para obtener el número de unidades formadoras de colonias (UFC) por mL. Si el número de unidades formadoras de colonias es superior a 3.000/mL, las colonias se deben identificar posteriormente con pruebas adicionales y se debe hacer un antibiograma. Un número de unidades formadoras de colonias entre 1.000 y 3.000/mL se considera en el límite y menos de 1.000/mL sugiere contaminación. También el crecimiento no uniforme de más de 3.000 unidades formadoras de colonias por mL de diferentes especies se considera contaminación [16].

En la **tabla 6** se define la nomenclatura de algunas variables del semen [46] y en la **tabla 7** se resumen los valores normales de los diferentes parámetros del espermograma. Como ya se mencionó, se debe tener en cuenta que estos valores pueden variar en un mismo individuo, ya

que factores como los días de abstinencia previos a la toma de la muestra, la recolección de la misma y su transporte pueden afectar los resultados. Otros factores que pueden alterar los resultados del espermograma incluyen el hábito del cigarrillo [47], el consumo de alcohol [48], el uso de esteroides anabólicos [49], las enfermedades de transmisión sexual [50], el estrés [51] el uso de celulares [52] y enfermedades endocrinas [53], entre otros [54, 55]. Finalmente, en la **tabla 8** se enuncian algunas causas de anomalías en los parámetros del espermograma y su posible efecto en los otros parámetros, que permitan a quienes realicen las pruebas tomar acciones que garanticen unos resultados acertados y reales [17].

Tabla 6. Nomenclatura de algunas variables del semen [46]

Término	Descripción
Normozoospermia	Eyaculado normal
Oligozoospermia	Menos de 20 millones de espermatozoides por mL
Polizoospermia	Más de 250 millones de espermatozoides por mL
Astenozoospermia	Menos de 50% de espermatozoides con motilidad progresiva (categorías "a" y "b") o menos de 25% de espermatozoides con motilidad de la categoría "a"
Teratozoospermia	Menos de 30% de espermatozoides con morfología normal
Oligoastenoteratozoospermia	Alteración de las tres variables (también pueden usarse combinaciones de dos prefijos)
Azoospermia	Ausencia de espermatozoides en el eyaculado
Aspermia	Ausencia de eyaculado
Hiperespermia	Más de 6 mL de eyaculado
Hipospermia	Menos de 2 mL de eyaculado
Necrozoospermia	Más de 40% de espermatozoides muertos

Tabla 7. Valores normales del espermograma de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud [13]

Parámetro	Normal
Volumen	≥ 2 mL
pH	7,2 – 7,8
Concentración de espermatozoides	≥ 20 millones por mL
Recuento total	≥ 40 millones por eyaculado
Motilidad	≥ 50% móviles progresivos (categorías "a" y "b") ≥ 25% móviles progresivos rápidos (categoría "a")
Morfología	≥ 30% de formas normales
Vitalidad	≥ 75% de espermatozoides vivos
Leucocitos	< 1 millón por mL
Zinc	> 0,157 mg por eyaculado
Fructosa	> 2,34 mg por eyaculado
Fosfatasa ácida	≥ 200 U por eyaculado
Ácido cítrico	≥ 10 mg por eyaculado

Tabla 8. Alteraciones en el espermograma, causas y acciones posibles [17]

Parámetro	Hallazgo	Causas posibles	Acciones posibles	Efecto en otros parámetros
Coagulación	No coagula	Hubo licuefacción antes de llegar la muestra al laboratorio	Preguntar al paciente por coagulación de la muestra	
			Preguntar al paciente si se perdió la segunda parte del eyaculado	Si ocurre por pérdida de la segunda parte de la muestra, puede aumentar la concentración de los espermatozoides y disminuir el pH
	No licua	Pérdida de la primera parte del eyaculado	Preguntar al paciente si se perdió la primera parte del eyaculado	Si se perdió la primera parte de la muestra, puede disminuir la concentración de los espermatozoides y aumentar el pH
		Disfunción de la próstata	Inducir licuefacción en este orden: 1) prolongar el reposo de la muestra; 2) pipetear la muestra repetidamente con pipeta de 10 mL; y, 3) agregar un enzima proteolítica (quimotripsina)	
Volumen	Volumen disminuido	Pérdida de la segunda parte del eyaculado	Preguntar al paciente si se perdió la segunda parte del eyaculado	Si se perdió la segunda parte de la muestra, puede aumentar la concentración de los espermatozoides y disminuir el pH
		Aplasia de vesícula seminal	Diluir la muestra si es necesario	
		Eyaculación retrógrada		Si es debido a eyaculación retrógrada, aparecen los espermatozoides en la orina y desaparecen del semen
		Ausencia congénita de vesículas seminales		
		Infección	Anticipar otros parámetros anormales	Si es debido a una infección, puede aumentar la concentración de los leucocitos y las bacterias. El cultivo puede ser positivo
	Obstrucción			

Espermograma

Viscosidad	Viscosidad aumentada	Alto contenido de moco	Inducir licuefacción en este orden: 1) prolongar el reposo de la muestra; 2) pipetear la muestra repetidamente con pipeta de 10 mL; y, 3) agregar un enzima proteolítica (quimotripsina)	Puede tener “debris” (basura) o espermatozoides anormales en la muestra
		Anticuerpos antispermatozoides	Si hay aglutinación en más del 10% de los espermatozoides, la motilidad se debe evaluar sólo en los espermatozoides libres	Puede disminuir la concentración de los espermatozoides y la motilidad
Apariencia	Color rojo o rosado (sangre fresca) o café (sangre vieja)	Infección	Anticipar otros parámetros anormales	Si es debido a una infección, puede aumentar la concentración de los leucocitos y las bacterias. El cultivo puede ser positivo
		Trauma		
		Enfermedad maligna de los testículos		
		Cáncer de próstata		
	Color verdoso	Infección		Si es debido a una infección, puede aumentar la concentración de los leucocitos y las bacterias. El cultivo puede ser positivo
		Uso de ciertos medicamentos	Preguntar al paciente por el uso de medicamentos	
		Contaminación bacteriana	Preguntar si la muestra llegó a tiempo al laboratorio	Si es debido a contaminación puede haber presencia de bacteria y no de leucocitos
	Color amarilloso	Infección		Si es debido a una infección, puede aumentar la concentración de los leucocitos y las bacterias. El cultivo puede ser positivo
		Contaminación con orina		Si es debido a contaminación con orina, puede tener efectos tóxicos y disminuir la motilidad y vitalidad. El efecto diluyente de la orina disminuye la viscosidad y la concentración de los espermatozoides
		Abstinencia prolongada	Preguntar al paciente por período de abstinencia	Si es debido a un período largo de abstinencia, puede aumentar la concentración de los espermatozoides y disminuir la motilidad
		Uso de ciertos medicamentos	Preguntar al paciente por el uso de medicamentos	
		Presencia de bilirrubina		
	Filamentos de moco	Licuefacción incompleta	Puede ser necesaria la dilución de la muestra	
			Anticipar otros parámetros anormales	Puede interferir con la evaluación de la motilidad y la concentración
	Grumos abundantes	Puede haber presencia de aglutinación	Anticipar otros parámetros anormales	Puede interferir con la evaluación de la motilidad y la concentración

	Diluida	Baja concentración de espermatozoides	Anticipar otros parámetros anormales	Disminuye la concentración de los espermatozoides
		Ausencia de espermatozoides		
Olor	Mal olor	Infección	Preguntar al paciente por el uso de medicamentos	Si es debido a una infección, puede aumentar la concentración de los leucocitos y las bacterias. El cultivo puede ser positivo
		Abstinencia prolongada	Preguntar al paciente por período de abstinencia	Si es debido a un período largo de abstinencia, puede aumentar la concentración de los espermatozoides y disminuir la motilidad
		Contaminación con orina		Si es debido a contaminación con orina, puede tener efectos tóxicos y disminuir la motilidad y vitalidad. El efecto diluyente de la orina disminuye la viscosidad y la concentración de los espermatozoides
		Recolección de la muestra en un recipiente sucio		
pH	< 7,2	Anormalidad de las vesículas seminales		Si el pH es ácido y el volumen disminuido, indica una obstrucción de las vesículas seminales
		Prostatitis crónica	Preguntar al paciente si se perdió la segunda parte del eyaculado	
	≥ 8,0	Retraso en la lectura del pH	Confirmar tiempo de lectura del análisis	
		Anormalidad en la próstata (un pH mayor de 8,6 indica prostatitis aguda)	Preguntar al paciente si se perdió la primera parte del eyaculado	Si se perdió la primera parte de la muestra, puede disminuir la concentración de los espermatozoides y aumentar el pH
		Infección		Si es debido a una infección, puede aumentar la concentración de los leucocitos y las bacterias. El cultivo puede ser positivo
		Contaminación con microorganismos		Si es debido a una contaminación con microorganismos, se pueden observar bacterias, pero no leucocitos
Motilidad	Disminuida	Exposición al frío	Confirmar que el transporte de la muestra y el momento de la lectura de la motilidad hayan sido adecuados	
		Síndrome de Kartagener		Si es debido al síndrome de Kartagener, los espermatozoides inmóviles no toman la coloración de eosina (vitalidad)
		Licuefacción incompleta		
		Recipiente sucio		
		Coagulación		
		Exposición a sustancias tóxicas como la orina		
		Causas fisiológicas		

Espermograma

Vitalidad	Disminuida	Abstinencia prolongada	Preguntar al paciente por período de abstinencia	Si es debido a un período largo de abstinencia, puede aumentar la concentración de los espermatozoides y disminuir la motilidad
		Síndrome de Kartagener		Si es debido al síndrome de Kartagener, los espermatozoides inmóviles no toman la coloración de eosina (vitalidad)
		Contaminación con orina		Si es debido a contaminación con orina, puede tener efectos tóxicos y disminuir la motilidad y vitalidad. El efecto diluyente de la orina disminuye la viscosidad y la concentración de los espermatozoides
		Necrozoospermia		
Aglutinación	Presente	Anticuerpos antiespermatozoides	Si hay aglutinación en más del 10% de los espermatozoides, la motilidad se debe evaluar sólo en los espermatozoides libres	Puede interferir con la evaluación de la motilidad y la concentración
		Infección		
Concentración	Disminuida	Pérdida de la primera parte del eyaculado	Preguntar al paciente si se perdió la primera parte del eyaculado	Si se perdió la primera parte de la muestra, puede disminuir la concentración de los espermatozoides y aumentar el pH
		Medicamentos	Preguntar al paciente por el uso de medicamentos	
		Abstinencia corta	Preguntar al paciente por período de abstinencia	
	Aumentada	Anormalidad fisiológica	Puede ser necesaria la concentración de la muestra	
		Fiebre reciente	Preguntar al paciente por fiebre reciente	
		Defecto anatómico		
		Pérdida de la segunda parte del eyaculado	Preguntar al paciente si se perdió la segunda parte del eyaculado	Si se perdió la segunda parte de la muestra, puede aumentar la concentración de los espermatozoides y disminuir el pH
		Abstinencia prolongada	Preguntar al paciente por período de abstinencia	Si es debido a un período largo de abstinencia, puede aumentar la concentración de los espermatozoides y disminuir la motilidad
Morfología	Anormal	Eyaculaciones frecuentes	Preguntar al paciente por período de abstinencia (puede haber mayor cantidad de células inmaduras por eyaculaciones frecuentes)	
		Infección		Si es debido a una infección, puede aumentar la concentración de los leucocitos y las bacterias. El cultivo puede ser positivo
		Defecto anatómico		
		Anormalidad fisiológica		
		Varicocele		
		Calentamiento del escroto		

Células redondas	Aumento de leucocitos	Infección o inflamación	Revisar análisis inicial para comprobar presencia de bacterias	Si es debido a una infección, puede aumentar la concentración de los leucocitos y las bacterias. El cultivo puede ser positivo
			Preguntar al paciente por fiebre reciente	
	Aumento de células precursoras	Anormalidad fisiológica o reproductiva	Si hay más de 5×10^6 células redondas por mL, se debe hacer coloración para diferenciar de leucocitos	

Agradecimientos

Al personal del Laboratorio Clínico Hematológico, en particular a las bacteriólogas Diana Carolina Bedoya Múnera y María Eugenia Dávila Calle, por su colaboración con las microfotografías y la revisión del texto.

Abstract: Semen analysis is an essential test in the workup of couples consulting for infertility and in the study of male genital diseases. Semen analysis includes the examination of spermatozoa, seminal fluid and other cells present in the semen, such as leukocytes and bacteria. Semen analysis provides important information regarding the process of spermatogenesis, sperm function and sexual glands function. Laboratory personnel performing the assays should be efficiently trained to carry out this technique that helps the clinician with the differential diagnosis, supported by special assays, when necessary. An appropriate quality control must be followed that guarantees reproducible results and minimizes inter and intra-individual differences. The present module reviews the parameters of the basic routine semen analysis and the methodology for an adequate semen analysis. Finally, special tests are briefly described, including semen culture and penetration assays.

Key words: Spermatogenesis, semen analysis, microscopic parameters, macroscopic parameters, laboratory.

Toro-Montoya Al. Semen analysis. *Medicina & Laboratorio* 2009, 15: 145-169.

Module 14 (Technology), number 11. Editora Médica Colombiana S.A., 2009®.

Received on January 18, 2009; accepted on February 20, 2009.

Bibliografía

1. **Andrade-Rocha FT.** Semen analysis in laboratory practice: an overview of routine tests. *J Clin Lab Anal* 2003; 17: 247-258.
2. **Mac LJ, Gold RZ.** The male factor in fertility and infertility. IV. Sperm morphology in fertile and infertile marriage. *Fertil Steril* 1951; 2: 394-414.
3. **Macleod J, Gold RZ.** The male factor in fertility and infertility. II. Spermatozoon counts in 1000 men of known fertility and in 1000 cases of infertile marriage. *J Urol* 1951; 66: 436-449.
4. **Rogers BJ, Bentwood BJ, Van Campen H, Helmbrecht G, Soderdahl D, Hale RW.** Sperm morphology assessment as an indicator of human fertilizing capacity. *J Androl* 1983; 4: 119-125.
5. **Kruger TF, Menkveld R, Stander FS, Lombard CJ, Van der Merwe JP, van Zyl JA, et al.** Sperm morphologic features as a prognostic factor in *in vitro* fertilization. *Fertil Steril* 1986; 46: 1118-1123.
6. **Carrell DT.** Semen analysis at the turn of the century: an evaluation of potential uses of new sperm function assays. *Arch Androl* 2000; 44: 65-75.

7. **Griswold MD.** The central role of Sertoli cells in spermatogenesis. *Semin Cell Dev Biol* 1998; 9: 411-416.
8. **Turek PJ.** Male infertility. In *Lange's Urology*. McGraw-Hill's Access Medicine. www.accessmedicine.com/popup.aspx?alD=3131819. Acceso junio 5, 2008.
9. **de Kretser DM, Loveland KL, Meinhardt A, Simorangkir D, Wreford N.** Spermatogenesis. *Hum Reprod* 1998; 13 Suppl 1: 1-8.
10. **Sigman M, Zini A.** Semen analysis and sperm function assays: what do they mean? *Semin Reprod Med* 2009; 27: 115-123.
11. **Guzick DS, Overstreet JW, Factor-Litvak P, Brazil CK, Nakajima ST, Coutifaris C, et al.** Sperm morphology, motility, and concentration in fertile and infertile men. *N Engl J Med* 2001; 345: 1388-1393.
12. **Oshio S, Ashizawa Y, Yotsukura M, Tohyama Y, Iwabuchi M, Adachi Y, et al.** Individual variation in semen parameters of healthy young volunteers. *Arch Androl* 2004; 50: 417-425.
13. **World Health Organization.** Laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. 3rd ed. Cambridge, UK; Cambridge University Press. 1992.
14. **Santomauro AG, Sciarra JJ, Varma AO.** A clinical investigation of the role of the semen analysis and postcoital test in the evaluation of male infertility. *Fertil Steril* 1972; 23: 245-251.
15. **Munuce MJ, Bregni C, Carizza C, Mendeluk G.** Semen culture, leukocytospermia, and the presence of sperm antibodies in seminal hyperviscosity. *Arch Androl* 1999; 42: 21-28.
16. **Comhaire F, Vermeulen L.** Human semen analysis. *Hum Reprod Update* 1995; 1: 343-362.
17. **Baker DJ.** Semen analysis. *Clin Lab Sci* 2007; 20: 172-187; quiz 188-192.
18. **Mendeluk G, Gonzalez Flecha FL, Castello PR, Bregni C.** Factors involved in the biochemical etiology of human seminal plasma hyperviscosity. *J Androl* 2000; 21: 262-267.
19. **Moulik S, Gopalkrishnan K, Hinduja I, Shahani SK.** Presence of sperm antibodies and association with viscosity of semen. *Hum Reprod* 1989; 4: 290-291.
20. **Steward B, Hays M, Sokal D.** Diagnostic accuracy of an initial azoospermic reading compared with results of post-centrifugation semen analysis after vasectomy. *J Urol* 2008; 180: 2119-2123.
21. **Chan SY, Tang LC, Tang GW, Ho PC, Wang C.** Spermatozoal fertilizing capacity in polyzoospermia: a preliminary study. *Andrologia* 1986; 18: 208-213.
22. **Calamera JC, Giovenco P, Brugo S, Dondero F, Nicholson RF.** Adenosine 5 triphosphate (ATP) content and acrosin activity in polyzoospermic subjects. *Andrologia* 1987; 19: 460-463.
23. **Topfer-Petersen E, Volcker C, Heissler E, Schill WB.** Absence of acrosome reaction in polyzoospermia. *Andrologia* 1987; 19 Spec No: 225-228.
24. **Glezerman M, Bernstein D, Zakut C, Misgav N, Insler V.** Polyzoospermia: a definite pathologic entity. *Fertil Steril* 1982; 38: 605-608.
25. **Dohle GR, Halley DJ, Van Hemel JO, van den Ouwel AM, Pieters MH, Weber RF, et al.** Genetic risk factors in infertile men with severe oligozoospermia and azoospermia. *Hum Reprod* 2002; 17: 13-16.
26. **Forti G, Krausz C.** Clinical review 100: Evaluation and treatment of the infertile couple. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 4177-4188.
27. **Merino Ruiz MC, De Leon Cervantes MG, Garcia Flores RF.** [Male sterility and its association with genital disease and environmental factors]. *Ginecol Obstet Mex* 1995; 63: 427-431.
28. **Pasqualotto FF.** Semen analysis: role of age and varicocele. *J Postgrad Med* 2007; 53: 1-2.
29. **Kolettis PN.** The evaluation and management of the azoospermic patient. *J Androl* 2002; 23: 293-305.
30. **Attar KH, Holden S, Peters J, Philp T.** The first semen analysis after vasectomy: timing and definition of success. *BJU Int* 2007; 100: 700-701.
31. **Chia SE, Tay SK, Lim ST.** What constitutes a normal seminal analysis? Semen parameters of 243 fertile men. *Hum Reprod* 1998; 13: 3394-3398.
32. **Menkveld R, Stander FS, Kotze TJ, Kruger TF, van Zyl JA.** The evaluation of morphological characteristics of human spermatozoa according to stricter criteria. *Hum Reprod* 1990; 5: 586-592.
33. **Ariagno J, Curi S, Mendeluk G, Grinspon D, Repetto H, Chenlo P, et al.** Shedding of immature germ cells. *Arch Androl* 2002; 48: 127-131.
34. **Arata de Bellabarba G, Tortolero I, Villarroel V, Molina CZ, Bellabarba C, Velazquez E.** Non-sperm cells in human semen and their relationship with semen parameters. *Arch Androl* 2000; 45: 131-136.
35. **Wolff H, Politch JA, Martinez A, Haimovici F, Hill JA, Anderson DJ.** Leukocytospermia is associated with poor semen quality. *Fertil Steril* 1990; 53: 528-536.

36. **Mazumdar S, Levine AS.** Antisperm antibodies: etiology, pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Fertil Steril* 1998; 70: 799-810.
37. **Ayvaliotis B, Bronson R, Rosenfeld D, Cooper G.** Conception rates in couples where autoimmunity to sperm is detected. *Fertil Steril* 1985; 43: 739-742.
38. **Gregoriou O, Vitoratos N, Legakis N, Gregoriou G, Zourlas PA.** Detection of sperm-bound antibodies in the male partners of infertile couples using the immunobead test. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1989; 33: 235-239.
39. **Clarke GN, Elliott PJ, Smaila C.** Detection of sperm antibodies in semen using the immunobead test: a survey of 813 consecutive patients. *Am J Reprod Immunol Microbiol* 1985; 7: 118-123.
40. **Yanagimachi R, Yanagimachi H, Rogers BJ.** The use of zona-free animal ova as a test-system for the assessment of the fertilizing capacity of human spermatozoa. *Biol Reprod* 1976; 15: 471-476.
41. **Rogers BJ, Van Campen H, Ueno M, Lambert H, Bronson R, Hale R.** Analysis of human spermatozoal fertilizing ability using zona-free ova. *Fertil Steril* 1979; 32: 664-670.
42. **Rogers BJ.** The sperm penetration assay: its usefulness reevaluated. *Fertil Steril* 1985; 43: 821-840.
43. **McClure RD, Tom RA, Dandekar PV.** Optimizing the sperm penetration assay with human follicular fluid. *Fertil Steril* 1990; 53: 546-550.
44. **Carrell DT, Kuneck PH, Peterson CM, Hatasaka HH, Jones KP, Campbell BE.** A randomized, prospective analysis of five sperm preparation techniques before intrauterine insemination of husband sperm. *Fertil Steril* 1998; 69: 122-126.
45. **Purvis K, Christiansen E.** Infection in the male reproductive tract. Impact, diagnosis and treatment in relation to male infertility. *Int J Androl* 1993; 16: 1-13.
46. **Cardona-Toro LE.** Espermograma: indicaciones e interpretación. *Medicina & Laboratorio* 1996; 6: 267-275.
47. **Ramlau-Hansen CH, Thulstrup AM, Aggerholm AS, Jensen MS, Toft G, Bonde JP.** Is smoking a risk factor for decreased semen quality? A cross-sectional analysis. *Hum Reprod* 2007; 22: 188-196.
48. **Robbins WA, Elashoff DA, Xun L, Jia J, Li N, Wu G, et al.** Effect of lifestyle exposures on sperm aneuploidy. *Cytogenet Genome Res* 2005; 111: 371-377.
49. **Bonetti A, Tirelli F, Catapano A, Dazzi D, Dei Cas A, Solito F, et al.** Side effects of anabolic androgenic steroids abuse. *Int J Sports Med* 2008; 29: 679-687.
50. **Ochsendorf FR.** Sexually transmitted infections: impact on male fertility. *Andrologia* 2008; 40: 72-75.
51. **Gollenberg AL, Liu F, Brazil C, Drobnis EZ, Guzick D, Overstreet JW, et al.** Semen quality in fertile men in relation to psychosocial stress. *Fertil Steril* 2009;
52. **Agarwal A, Deepinder F, Sharma RK, Ranga G, Li J.** Effect of cell phone usage on semen analysis in men attending infertility clinic: an observational study. *Fertil Steril* 2008; 89: 124-128.
53. **Dindyal S.** the sperm count has been decreasing steadily in Western industrialized countries: is there an endocrine basis for this decrease? *Internet J Urol* 2004; 2: 2-13.
54. **Carlsen E, Giwercman A, Keiding N, Skakkebaek NE.** Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. *Bmj* 1992; 305: 609-613.
55. **Safarinejad MR.** Sperm DNA damage and semen quality impairment after treatment with selective serotonin reuptake inhibitors detected using semen analysis and sperm chromatin structure assay. *J Urol* 2008; 180: 2124-2128.