

El laboratorio de fertilidad masculina, su evolución en los últimos 20 años

► Julia Irene Ariagno^{1a*}, Patricia Chenlo^{2a}, Susana Mercedes Curi^{2a}, Gabriela Mendeluk^{3a}

¹ Bioquímica. Especialista en Bioquímica Clínica - Área Citología Exfoliativa y de la Reproducción. Especialista en Andrología. (ORCID: 0000-0002-3436-6022).

² Bioquímica. Especialista en Bioquímica Clínica - Área Citología Exfoliativa y de la Reproducción. Especialista en Andrología.

³ Doctora de la Universidad de Buenos Aires - Área Citología Exfoliativa y de la Reproducción.

^a Universidad de Buenos Aires. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Departamento de Bioquímica Clínica, Cátedra de Bioquímica Clínica II, Laboratorio de Fertilidad Masculina. Instituto de Fisiopatología y Bioquímica Clínica (INFIBIOC). Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

* Autora para correspondencia.

Resumen

La mayor accesibilidad a los tratamientos de reproducción asistida (RA) y los avances de la criobiología produjeron cambios en los laboratorios de andrología. El objetivo de este trabajo fue analizar la demanda y evolución de las variables seminales en las últimas dos décadas, caracterizar el laboratorio andrológico actual, evaluar el impacto de la incorporación del aseguramiento de la calidad y la inclusión de los sistemas computarizados (CASA). Se utilizaron datos de las medias mensuales del control de calidad interno (n=22 528) y encuestas a profesionales de laboratorios andrológicos (n=65) y a médicos especialistas en fertilidad (n=33). La demanda global se redujo significativamente con el aumento de las solicitudes de primera vez. El volumen y recuento, variables dependientes de andrógenos, disminuyeron con los años. El criterio estricto en morfología disminuyó el porcentaje de normales; la mitad de los médicos encuestados recibieron resultados entre 0 y 10% y el 40% consideró que ponía en riesgo el valor clínico de la variable. El sistema CASA permitió objetivar la cinética espermática e incrementar el porcentaje de progresivos rápidos, pero pocos laboratorios lo incorporaron. El 66% de los médicos resuelven el factor andrológico severo por tratamientos clínicos y el 95% utiliza técnicas de RA. El análisis de semen es ejecutado fundamentalmente por bioquímicos especializados, con baja adhesión a la automatización y acreditación del laboratorio, pero con participación en programas de evaluación externa de calidad. La demanda disminuyó como consecuencia del aumento del tratamiento por RA. La reducción del porcentaje de formas normales compromete su utilidad clínica.

Palabras clave: Análisis de semen; Sistema de análisis computarizado del semen; Laboratorio de fertilidad masculina; Andrología; Programas de evaluación externa de la calidad

The male fertility laboratory, its evolution over the last 20 years

Abstract

Increasing availability to assisted reproduction (AR) treatments in Argentina and advances in cryobiology resulted in changes in andrology laboratories. The aim of this study was to evaluate the demand and evolution of seminal variables in the last two decades, characterise the current andrology laboratory, evaluate the impact of the incorporation of quality assurance and the introduction of computer assisted semen analysis (CASA). Data were taken from internal quality control (IQC) monthly means (n=22 528) and pro-

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957 (impresa)

ISSN 1851-6114 (en línea)

ISSN 1852-396X (CD-ROM)

professionals in charge of laboratories (n=65) and fertility physicians' (n=33) surveys. Overall demand decreased significantly while first-time orders increased. Sperm volume and sperm count –androgen dependent parameters– decreased over the years. Strict morphology criteria reduced the percentage of normal results; half of the physicians received results between 0 and 10% and 40% considered that it compromised the clinical value of the variable. The CASA system made it possible to objectify sperm kinetic, increasing the percentage of fast progressives, but few laboratories have incorporated it. Sixty-six percent of physicians resolve severe andrological factor by clinical treatments and 95% use AR techniques in those cases. Semen analysis is mainly performed by specialised biochemists, with low adherence to laboratory automatisation and accreditation, but with participation in external quality assessment programmes. The demand decreased because of the increase in AR treatment. The lower percentage of normal forms compromises their clinical utility.

Keywords: Semen analysis; Computer assisted semen analysis; Male fertility laboratory; Andrology; External quality control programmes

O laboratorio de fertilidade masculina, sua evolução ao longo dos últimos 20 anos

Resumo

O aumento do acesso aos tratamentos de reprodução assistida (RA) e os avanços na criobiologia levaram a mudanças nos laboratórios de andrologia. O objetivo deste trabalho foi analisar a demanda e a evolução das variáveis de sêmen nas últimas duas décadas, caracterizar o laboratório de andrologia atual, avaliar o impacto da incorporação da garantia da qualidade e a inclusão dos sistemas computadorizados (CASA). Foram utilizados dados das médias mensais do controle de qualidade interno (n= 22 528) e pesquisas a profissionais de laboratórios andrológicos e a médicos especialistas em fertilidade (n=33). A demanda geral diminuiu significativamente com o aumento das solicitações de primeira vez. O volume e a contagem de esperma, parâmetros dependentes de andrógenos, diminuíram ao longo dos anos. O critério morfológico rigoroso diminuiu a porcentagem de normais; metade dos médicos entrevistados recebeu resultados entre 0 e 10% e 40% considerou que isso comprometia o valor clínico do parâmetro. O sistema CASA, permitiu objetivar a cinética espermática e aumentar o percentual de progressões rápidas, mas poucos laboratórios o incorporaram. 66% dos médicos resolvem o fator andrológico grave por tratamentos clínicos e 95% utilizam técnicas de RA nesses casos. A análise do sêmen é realizada principalmente por bioquímicos especializados, com baixa aderência à automação e acreditação laboratorial, mas com participação em programas de avaliação externa de qualidade. A demanda diminuiu como consequência do aumento do tratamento por RA. A diminuição em porcentagem de formas normais compromete sua utilidade clínica.

Palavras-chave: Análise de sêmen; Sistema de análise computadorizado do sêmen; Laboratório de fertilidade masculina; Andrologia; Programas externos de avaliação de qualidade

Introducción

La difusión y democratización de los procedimientos de reproducción asistida (RA) impactaron en la demanda del estudio del semen. El espermograma es una prueba funcional que será normal si el funcionamiento testicular es adecuado y permitirá descartar el factor endocrino y obstrucciones de las vías (1).

El laboratorio andrológico no escapa a los avances que hubo en estos tiempos en el laboratorio bioquímico clínico. El aseguramiento de la calidad, los programas de evaluación externa (PEEC) (2) y la acreditación se incorporaron a las prácticas, lo que resultó en una mejora en la calidad de los informes (3). La incorpo-

ración de los sistemas asistidos por computadora permitió objetivar las observaciones ya que se puede tener registro de todas ellas (4).

El objetivo de este trabajo fue analizar la demanda y evolución de las variables seminales de los estudios diagnósticos de infertilidad masculina en las últimas dos décadas, caracterizar el laboratorio andrológico actual, el menú de determinaciones disponibles en la Argentina y observar el impacto de la incorporación del aseguramiento de la calidad, la acreditación de laboratorios y la inclusión de los *computer assisted semen analysis* (CASA) (5) percibido por los profesionales de laboratorios andrológicos y los médicos especialistas en fertilidad.

Materiales y Métodos

La demanda y evolución de las variables seminales se analizaron con datos generados a partir del monitoreo de las medias mensuales del control de calidad interno (CCI), de un total de 22 528 muestras de semen de pacientes que asistieron al laboratorio entre 2001 y 2019, evaluadas según los criterios vigentes de la OMS (6) (7) (8) (9).

Las muestras se recogieron mediante masturbación, previa abstinencia sexual de 3 a 5 días y fueron analizadas después de la licuefacción, dentro de los 30 a 60 minutos.

VARIABLES CONSIDERADAS

Volumen (V)

Se determinó por pesada: las muestras se recogieron en frascos tarados y luego pesados con el semen. La diferencia entre ambas medidas permitió determinar el volumen de semen en mL, dado que la densidad es aproximadamente 1 g/mL.

Movilidad espermática

Clasificación de los espermatozoides (Ez) según su movimiento. Se empleó el método subjetivo hasta 2010 y luego el objetivo CASA-SCA (Sperm Class Analyser®-Microptic S.L., Barcelona, España).

I. Método subjetivo

Se realizó por duplicado a 37 °C (platina termostatazada) con microscopio óptico, utilizando porta y cubreobjetos formando una cámara de 20 µm de profundidad.

II. Método objetivo

Se utilizó el sistema CASA-SCA por duplicado, platina termostatazada a 37 °C y cámaras ISAS D4C10 de 10 µm de profundidad.

Clasificación en porcentaje de la movilidad espermática

Manual OMS 1992 y 1999 (6) (7): móviles progresivos rápidos [Grado (a)], móviles progresivos lentos [Grado (b)], móviles no progresivos [Grado (c)], inmóviles [Grado (d)].

El manual OMS 2010 (8) sugirió utilizar la siguiente clasificación: móviles progresivos (MP) = Grado (a) + Grado (b), móviles totales (MT) = Grado (a) + Grado (b) + Grado (c) e inmóviles (I).

Recuento espermático

Se llevó a cabo empleando una cámara de Neubauer mejorada, por duplicado, considerando al menos 200 Ez

y se informó en millones/mL (Ez/mL) y millones/eyaculado (Ez/ey).

Morfología espermática

Se determinó el porcentaje de Ez normales (N) mediante la coloración de Papanicolaou. Criterios de clasificación: OMS 1992 hasta 2006 y luego criterio estricto OMS 1999 (N-criterio estricto (CE)).

Factor inmunológico

Se investigó la presencia de anticuerpos antiespermáticos del tipo IgG mediante el MAR-test (*mixed agglutination reaction test*); inicialmente se empleó la técnica desarrollada por Jager (10) y a partir de 2019 el Sperm-Mar Test-IgG (FertiPro).

Fragmentación del ADN

Se determinó mediante el método de TUNEL (*terminal deoxy-nucleotidyl transferase dUTP nick end labeling*) (11) por citometría de flujo con agregado de yoduro de propidio.

Análisis estadístico

Se utilizó el programa estadístico MedCalc versión 9.5.0.0 (*MedCalc Software*, Mariakerke, Bélgica). Las medias anuales de cada variable se calcularon como la media de las medias mensuales y se determinó la línea de tendencia en el tiempo; los cambios se expresaron como: coeficiente de Pearson (*r*); significación estadística ($p < 0,05$).

Encuestas a profesionales de laboratorios andrológicos y a médicos especialistas en fertilidad

Se estableció contacto con sociedades científicas argentinas vinculadas a la fertilidad, quienes facilitaron a sus miembros la invitación para participar del estudio de investigación, razón por la cual se desconoce el número total de profesionales que recibieron las encuestas. Se envió un correo electrónico que incluía un texto explicativo sobre el propósito del trabajo, junto con los enlaces a los cuestionarios *Google Form* diseñados como encuestas de opinión autoadministradas en soporte electrónico. Se incluyeron preguntas cerradas de opción múltiple, multirrespuesta y abiertas. Además, se envió un recordatorio dos semanas después del primer contacto.

Se crearon dos cuestionarios distintos: uno dirigido a los profesionales a cargo de laboratorios andrológicos (Tabla I) y otro destinado a los médicos especialistas en fertilidad (Tabla II).

Tabla I. Encuesta a profesionales a cargo de laboratorios andrológicos

Descripción de los laboratorios participantes
Usted desempeña su actividad en Laboratorio privado general Laboratorio de hospital público Laboratorio de institución privada Laboratorio privado especializado en fertilidad Laboratorio en hospital público especializado en fertilidad Laboratorio de institución privada especializado en fertilidad Laboratorio de universidad pública
El profesional a cargo del sector posee título de grado de Bioquímico Biólogo Genetista Médico Técnico en análisis clínicos
El profesional a cargo del sector, ¿posee título de especialista? Sí No
En caso afirmativo, ¿podría indicarnos cuál y la entidad otorgante?
La cantidad de muestras de semen procesadas mensualmente en su laboratorio es: Menor de 5 De 5 a 20 De 20 a 50 De 50 a 100 Mayor de 100
Movilidad espermática
El manual OMS 2010 sugiere expresar la movilidad espermática en % de Ez móviles progresivos, no progresivos e inmóviles. A su entender esta clasificación... Mejoró la precisión de la prueba Mejoró la precisión de la prueba, pero le restó valor predictivo Restó valor predictivo a la prueba No modificó la interpretación No sabe
¿Incorporó en sus informes de laboratorio la sugerencia de clasificación de OMS 2010 de movilidad espermática? Sí (móviles progresivos, no progresivos e inmóviles) No, se informan también los móviles progresivos rápidos (Ga)
Habitualmente en su laboratorio ¿cómo se evalúa la movilidad espermática? Método subjetivo Método objetivo Ambos
En caso de emplear un sistema CASA, ¿cuál de ellos emplea? (n=9) Hamilton Thorne SCA-Microptic ISAS-Proiser SQA-V Medical Electronic System
Morfología espermática
Cuál es su opinión respecto del siguiente enunciado: La evaluación de la morfología espermática según el "criterio estricto" donde "todas las formas con defectos mínimos deben ser consideradas anormales" provocó que los % de formas normales de las muestras evaluadas disminuyeran significativamente Muy de acuerdo De acuerdo Poco de acuerdo Nada de acuerdo No sabe

Tabla I. Encuesta a profesionales a cargo de laboratorios andrológicos (Continuación)

<p>El rango de resultados de morfología espermática reportado habitualmente por su laboratorio es:</p> <p>Entre 0 y 6% Entre 0 y 10% Entre 0 y 20% Un rango amplio</p>
<p>En el caso de haber respondido las opciones entre "0 y 6" o entre "0 y 10" en la pregunta 6, ¿A qué le atribuye que la población de hombres estudiados en su laboratorio se encuentre en el percentilo 0,25 de la población de referencia?</p> <p>El laboratorio recibe una población con patología andrológica severa Los médicos usuarios del laboratorio solicitan una morfología muy estricta El laboratorio está inserto en un grupo de fertilización asistida y se requiere un criterio muy estricto El criterio vigente, donde todas las formas con defectos mínimos deben ser consideradas como anormales, induce a obtener resultados menores de 10% de formas normales</p>
<p>Test de vitalidad</p>
<p>¿Qué prueba se realiza en el laboratorio para estudiar la vitalidad espermática?</p> <p>Eosina Eosina-nigrosina Test hiposmótico Eosina y test hiposmótico No se evalúa vitalidad</p>
<p>Estudios inmunológicos</p>
<p>La demanda de estudios inmunológicos en semen en su laboratorio es:</p> <p>Nula Escasa Moderada Abundante</p>
<p>Si el laboratorio recibe una solicitud de estudio inmunológico en semen...</p> <p>Se resuelve en el laboratorio Se deriva No se recibe</p>
<p>Si el estudio inmunológico en semen no lo resuelve el laboratorio, ¿cuál sería el motivo?</p> <p>Falta de reactivo Fecha de caducidad breve de los reactivos Falta de conocimiento de la técnica La poca demanda no lo justifica</p>
<p>Si se deriva la muestra para estudio inmunológico en semen, se envía:</p> <p>Muestra de semen dentro de la hora de recolección Plasma seminal para prueba indirecta Suero para prueba indirecta Se deriva al paciente</p>
<p>Estudios complementarios</p>
<p>Swim-up de evaluación Gradiente de densidad (Percoll) Sobrevida Búsqueda de espermatozoides en orina Pruebas inmunológicas (MAR Test/immunobeads) Bioquímica del plasma seminal TUNEL SCD (Test de dispersión de la cromatina) Test hiposmótico MOST (Test de stress modificado) Prueba de caspasas Azul de anilina Naranja de acridina Estrés oxidativo (TBA, EROs, RA) Ninguno</p>

Tabla I. Encuesta a profesionales a cargo de laboratorios andrológicos (Continuación)

Garantía de la calidad
<i>¿El laboratorio participa en algún programa de evaluación externa de calidad en la especialidad?</i> Sí No
<i>Si su respuesta fue afirmativa, ¿en cuál?</i> PEEC (FBA) PPEC + CAP One World Accuracy
<i>¿El laboratorio tiene implementado un control de calidad interno (CCI) en la especialidad?</i> Sí No
Acreditación
<i>¿El laboratorio se encuentra acreditado en la especialidad?</i> Sí No En camino a la acreditación
<i>* Si la respuesta a la pregunta anterior ha sido Sí o en camino a la acreditación, ¿podría indicarnos cuál es el ente acreditador elegido?</i>
<i>* Si el laboratorio no se encuentra acreditado ¿podría indicarnos el motivo?</i>

Tabla II. Encuestas a médicos de la especialidad

Caracterización de la población
Sexo Mujer Hombre
Edad (años) Menor de 30 De 30 a 40 De 40 a 50 De 50 a 65 Mayor de 65
Usted desempeña su actividad en: Consultorio privado Centro de reproducción Hospital público Hospital privado Instituto de CONICET - universidad pública
Su especialidad es: Urología Andrología Ginecología Reproducción asistida Endocrinología
<i>¿Cuántos años hace que usted se desempeña en la especialidad?</i> Menos de 5 años De 5 a 10 años De 10 a 20 años Más de 20 años
1- Para usted, el número de laboratorios especializados en andrología que realizan el estudio del semen con garantía de calidad: Se incrementó No se modificó No sabe

Tabla II. Encuestas a médicos de la especialidad (Continuación)

<p>2- La acreditación de los laboratorios es el reconocimiento formal de competencia e imparcialidad. Significa que el laboratorio cumple con los requisitos de calidad analítica que los análisis requieren. Para usted, que un laboratorio esté acreditado:</p> <p>Es importante porque le asegura servicios de calidad Lo considera imprescindible Lo tiene en cuenta al momento de seleccionar un laboratorio No lo considera, tiene más en cuenta al profesional a cargo de los análisis No tiene opinión formada</p>
<p>3- Frente a un "espermograma" de resultado normal, de una pareja que consulta por infertilidad, usted:</p> <p>a) Descarta el factor masculino b) Solicita un segundo espermograma c) Solicita estudios complementarios d) Solicita un segundo espermograma con estudios complementarios</p>
<p>* De haber marcado la opción (c) o (d) en la pregunta (3), ¿podría indicar qué estudios complementarios solicita?</p>
<p>4- Frente a un estudio de semen de resultado patológico, usted:</p> <p>a) Solicita un segundo espermograma confirmatorio b) Indica tratamiento andrológico con controles ulteriores de laboratorio c) Sugiere técnicas de reproducción asistida d) Indica las opciones (a), (b) y (d) sucesivamente según la edad de la mujer e) Otro</p>
<p>* En el caso de haber respondido "otro", ¿podría detallar su proceder?</p>
<p>5- ¿Cuál es su opinión respecto del siguiente enunciado? "En los pacientes que padecen oligoastenoteratozoospermia los tratamientos andrológicos no mejoran la fertilidad de la pareja"</p> <p>Muy de acuerdo De acuerdo Poco de acuerdo Nada de acuerdo</p>
<p>6- El manual OMS 2010 sugiere expresar la movilidad espermática en % de Ez móviles progresivos, no progresivos e inmóviles. A su entender esta clasificación:</p> <p>Disminuyó la variabilidad entre laboratorios Le restó valor diagnóstico Disminuyó la variabilidad, pero le restó valor diagnóstico No sabe</p>
<p>7- Cuando recibe informes de movilidad espermática con % de móviles progresivos rápidos [Grado (a)], el laboratorio lo ha evaluado...</p> <p>Por método CASA Por método subjetivo No lo especifican No recibo informes con % de Ez grado (a)</p>
<p>8-Cuál es su opinión respecto del siguiente enunciado: La evaluación de la morfología espermática según el "criterio estricto" donde "todas las formas con defectos mínimos deben ser consideradas anormales" provocó que los % de formas normales de las muestras evaluadas disminuyeran significativamente.</p> <p>Muy de acuerdo De acuerdo Poco de acuerdo Nada de acuerdo No tengo opinión al respecto</p>
<p>9- El rango de resultados de morfología espermática reportado habitualmente por los laboratorios especializados en andrología es:</p> <p>a) entre 0 y 6% b) entre 0 y 10% c) entre 0 y 20% d) un rango amplio</p>
<p>* En caso de haber respondido (a) o (b), ¿considera que el rango de resultados tan estrecho de morfologías le restó valor clínico a la prueba?</p> <p>Sí No No sabe</p>

Tabla II. Encuestas a médicos de la especialidad (Continuación)

<p>10- En cuanto a la recomendación de solicitar estudios inmunológicos en la primera evaluación andrológica, usted:</p> <p>Acuerda con la recomendación Si el estudio de semen es normal no los solicita Sólo los solicita en los casos de ESCA (esterilidad sin causa aparente) Otro</p>
<p>* En el caso de haber respondido "Otro", ¿podría detallar su proceder?</p>
<p>11- En su experiencia, la prueba de fragmentación del ADN predice el éxito de la fertilidad:</p> <p><i>In vivo</i> <i>In vitro</i> <i>In vivo e in vitro</i> No predice la fertilidad No sabe</p>
<p>12- ¿Cuál es su opinión respecto del siguiente enunciado? "Frente a una pareja que consulta por infertilidad, con factor masculino severo, el consejo médico predominante es recurrir a técnicas de reproducción asistida"</p> <p>Muy de acuerdo De acuerdo Poco de acuerdo Nada de acuerdo</p>
<p>13- ¿Cuáles de los siguientes estudios complementarios solicita usted?</p> <p><i>Swim up</i> de evaluación Gradiente de densidad (Percoll) Sobrevida Búsqueda de espermatozoides en orina Pruebas inmunológicas (<i>MAR test/immunobeads</i>) Bioquímica del plasma seminal TUNEL SCD (<i>test</i> de dispersión de la cromatina) <i>Test</i> hiposmótico MOST (<i>test</i> de <i>stress</i> modificado) Prueba de caspasas Ninguno Otro/s</p>
<p>* De haber respondido "Otro/s", ¿podría indicarnos cuáles?</p>
<p>Comentarios</p>

Se solicitó a los participantes que completaran el cuestionario correspondiente a su actividad profesional. Durante el período comprendido entre junio de 2020 y enero de 2021, se recibió un total de 98 respuestas, 65 provenientes de profesionales de laboratorios y 33 de médicos. Los resultados se presentan mediante cifras y porcentajes.

Resultados

Demanda y evolución de las variables

El número de pacientes anuales que concurrieron al laboratorio entre 2001 y 2019 disminuyó según se mues-

tra en la Figura 1 (-0,58; 0,012). Se observó un aumento en el porcentaje de consultas de primera vez (0,83; <0,001).

Las líneas de tendencia para cada variable fueron: $V_{(2001-2019)}$ (-0,60; 0,007); $Ez/mL_{(2001-2019)}$ (-0,58; 0,01), $Ez/ey_{(2001-2019)}$ (-0,79; <0,001), $\% \text{Grado (a)}_{(2001-2019)}$ (0,78; <0,001), $\% \text{Grado (a)-subjetoivo}_{(2001-2010)}$ (0,36; NS), $\% \text{Grado (a)-SCA}_{(2010-2019)}$ (0,28; NS), $\% \text{MP}_{(2001-2019)}$ (-0,59; 0,01), $\% \text{MP-SCA}_{(2010-2019)}$ (-0,53; NS), $\% \text{MT}_{(2001-2019)}$ (0,001; NS), $\% \text{MT-SCA}_{(2010-2019)}$ (-0,61; NS); $\% \text{N}_{(2001-2019)}$ (-0,83; <0,001), $\% \text{N-CE}_{(2006-2019)}$ (-0,71; 0,006) (Fig. 2) (Fig. 3) (Fig. 4).

Las solicitudes de *MAR-test* y de TUNEL se mantuvieron en el tiempo: *MAR-test* (0,28; NS); TUNEL (-0,18; NS).

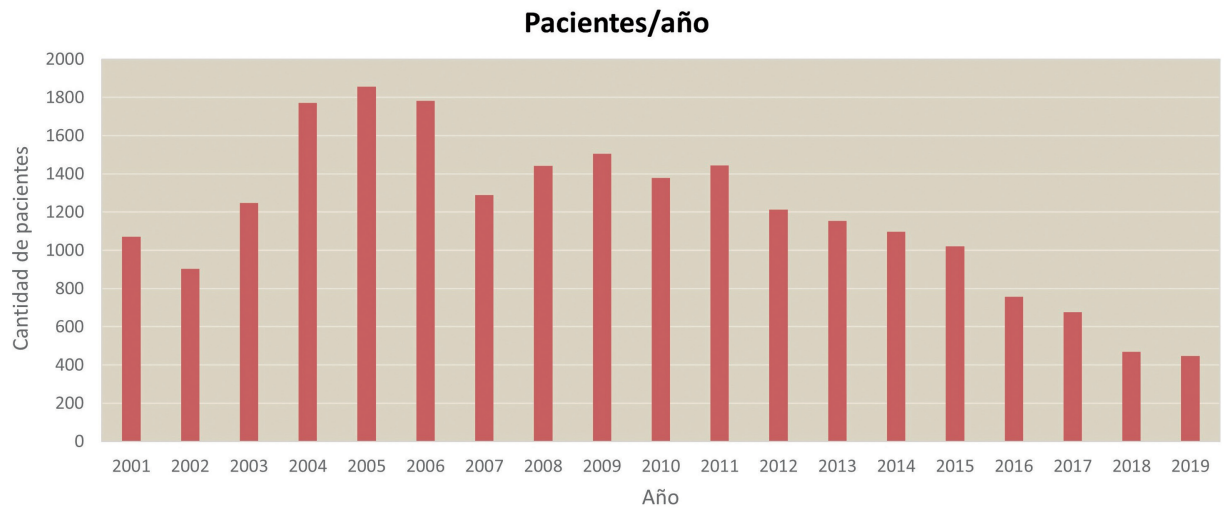


Figura 1. Concurrencia de pacientes al laboratorio de fertilidad masculina

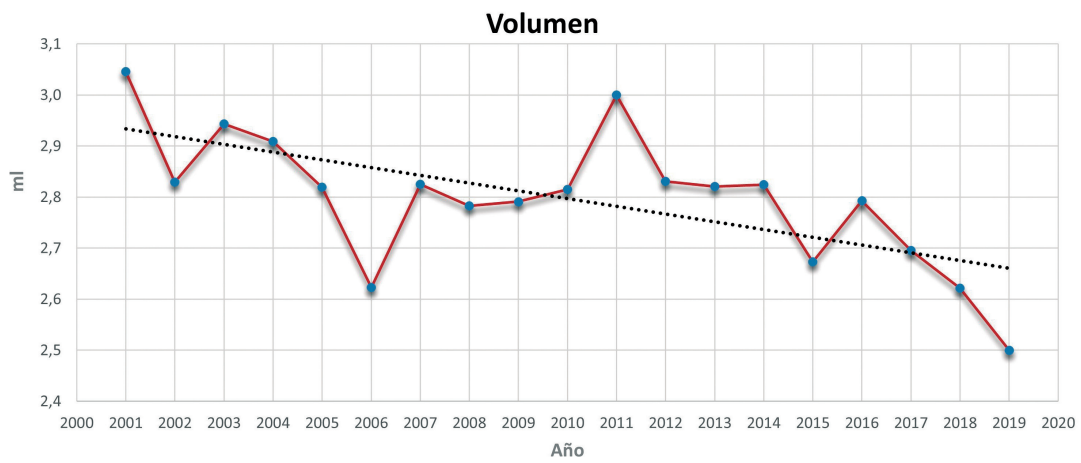


Figura 2. Evolución en el tiempo del volumen de semen

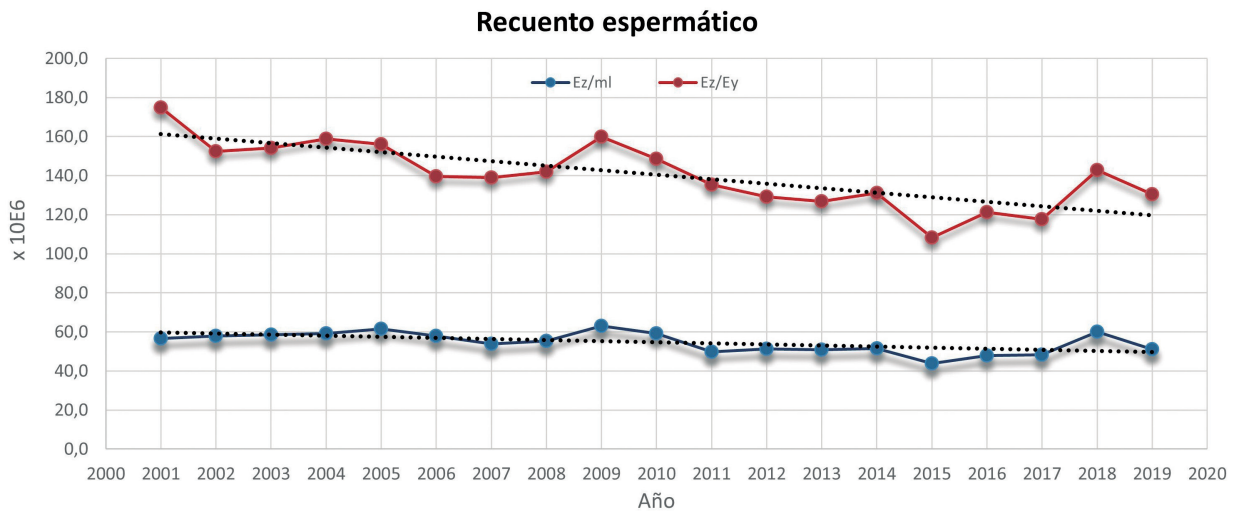


Figura 3. Evolución en el tiempo del recuento espermático. Concentración relativa (Ez/mL) y absoluta (Ez/ey), donde Ez son espermatozoides y ey es eyaculación

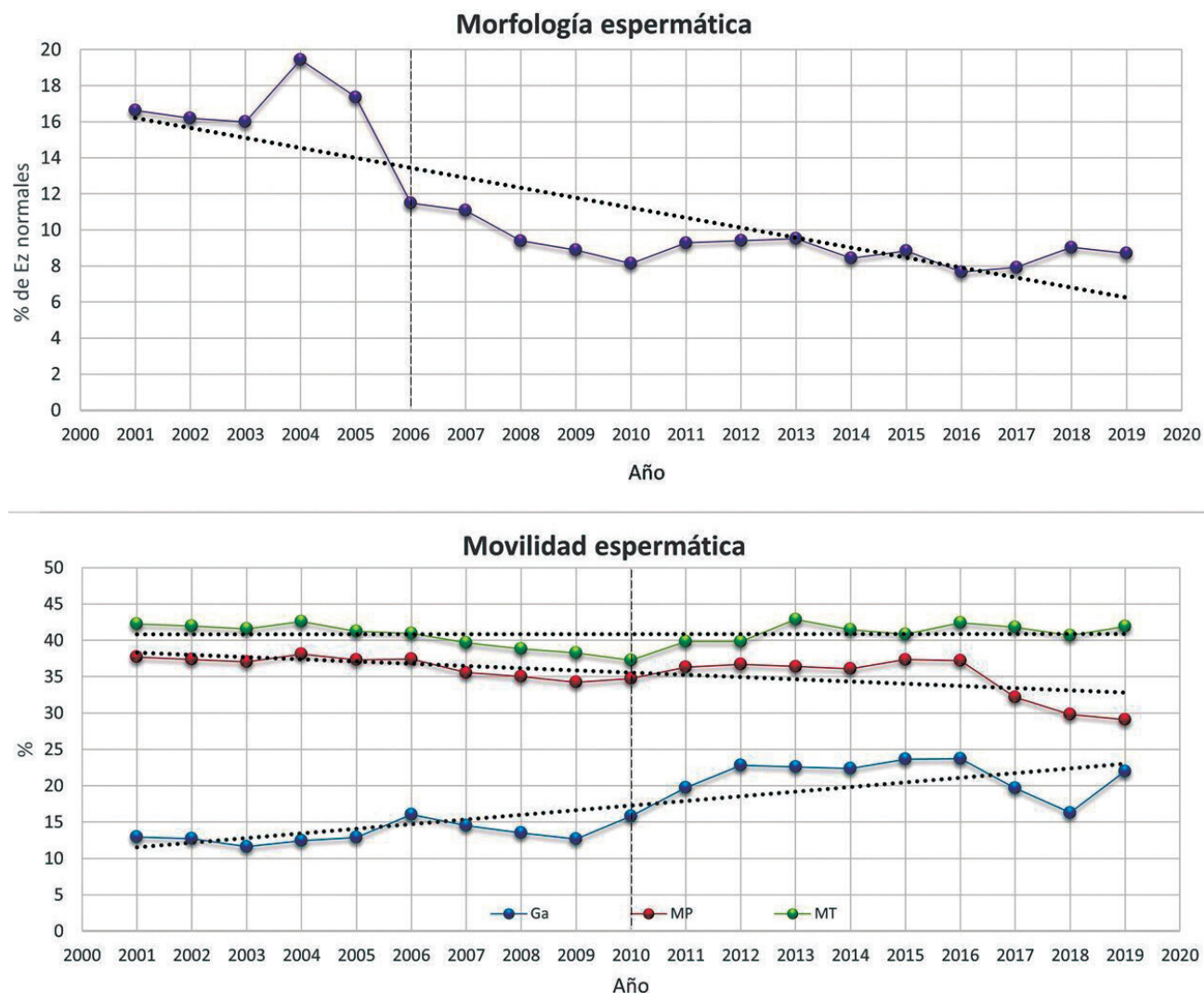


Figura 4. Evolución en el tiempo de la morfología y movilidad espermática. Móviles progresivos rápidos (Ga), móviles progresivos (MP), móviles totales (MT). La línea vertical indica el cambio de criterio en la evaluación de la morfología y el cambio de metodología en la evaluación de la movilidad espermática

Encuesta a los profesionales de laboratorios andrológicos

El 57% de los profesionales de laboratorios desarrollaban su actividad en laboratorios privados generales de mediana complejidad que recibían menos de 50 estudios mensuales (85%). Un bajo porcentaje se desempeñaba en establecimientos especializados en fertilidad. El 86% eran bioquímicos, de los cuales aproximadamente la mitad poseían título de especialista otorgado en su mayoría por la Sociedad Argentina de Andrología (SAA) y en menor proporción por la Sociedad Argentina de Medicina Reproductiva (SAMER), la Sociedad de Endocrinología y Metabolismo (SAEM) y la Sociedad de Endocrinología Ginecológica

y Reproductiva (SAEGRE) y por universidades nacionales.

Los profesionales consideraron que la clasificación de la movilidad (OMS 2010) mejoró la precisión (75%), pero un 36% le restaba valor predictivo a la prueba. Un 25% no adhirió a esta sugerencia y continuaba informando los “Grado (a)”. El 85% de los laboratorios evaluaba por método subjetivo. Sólo el 15% había incorporado métodos objetivos, de los cuales el 70% empleaban CASA (Hamilton Thorn, SCA-Microptic o ISAS-Proiser) y el 30% sistemas automatizados (SQA-V Medical Electronic System).

El 88% consideró que la evaluación de la morfología según criterio estricto, donde los Ez con defectos mínimos son considerados anormales, provocó que los

porcentajes de formas normales disminuyeran significativamente. El 52% informaba resultados <10% mientras que el 34% de ellos informaba <6%. El resto obtenía resultados con una variabilidad mayor, a pesar de que muy pocos (8%) superaban el 20% de formas normales. El 84% de los que informaban <10% se lo adjudicaban al CE y en menor medida a que atendían patología andrológica severa. El 19% refirió que, al pertenecer a grupos de fertilización asistida, requerían criterio muy estricto.

La viabilidad de los Ez se estudiaba por la prueba de la eosina; ningún laboratorio empleaba el método eosina-nigrosina y muy pocos empleaban la prueba hipoosmótica (5%).

Debido a la baja demanda de estudios inmunológicos, solo el 33% lo realizaba y el 53% lo derivaba. La mitad lo hacía correctamente, es decir, enviaba al paciente o la muestra de semen dentro de la hora de recolección o suero para prueba indirecta al laboratorio receptor. Un tercio derivaba plasma seminal.

Los estudios complementarios que los laboratorios ofrecían en orden decreciente eran: *swim up*, búsqueda de Ez en orina, sobrevida, *test* hipoosmótico, bioquímica del plasma seminal, TUNEL, estrés *test* modificado (MOST), MAR-*test* e *immunobeads*.

El 75% de los laboratorios participaba en el PEEC, Subprograma Laboratorio de Semen, de la Fundación Bioquímica Argentina (FBA), entidad sin fines de lucro que organiza el programa de evaluación de la mayoría de los laboratorios argentinos que realizan análisis de semen y muy pocos, además, en programas internacionales como el del CAP (*College of American Pathologists – EE.UU.*) o el *One World Accuracy* (Canadá).

El 40% de los laboratorios tenían implementado un CCI: evaluación por múltiple operador, duplicados, diferencias inter e intraoperador, registros semanales y mensuales de datos (medias mensuales), uso de microesferas para el recuento espermático en CASA. Los laboratorios que no lo efectuaban en su mayoría refirieron dificultades debido al tipo de muestra y a la falta de adhesión de los operadores por la subjetividad de los métodos empleados.

El 80% de los laboratorios encuestados no estaban acreditados. De los 9 laboratorios que habían recibido la acreditación, 6 lo habían efectuado a través de SAMER y 3 por FBA.

Los laboratorios que no habían accedido a la acreditación refirieron como causas:

- La acreditación no es tenida en cuenta por los usuarios al momento de seleccionar un laboratorio (31%)
- El proceso de acreditación es muy trabajoso (24%)
- La dirección del laboratorio no lo considera relevante (18%)
- El proceso de acreditación es oneroso (16%)

Encuesta a los médicos especialistas en fertilidad

Respondieron la encuesta 23 hombres (70%) y 10 mujeres (30%) y se observó una distribución equitativa en cuanto a la edad, ya que se abarcaron todas las décadas a partir de los 30 años. Cabe destacar que la mayoría de los participantes ejercían su labor en diversos entornos asistenciales, incluyendo hospitales públicos, centros de reproducción y consultorios privados. El 70% de los encuestados se identificaron como andrólogos, especialidad que se consideró como una extensión de la urología o endocrinología. El 21% eran ginecólogos, especialidad que fue la más representada en los centros de fertilidad (n=5), mientras que el restante 9% eran especialistas en RA. El 60% de los participantes acumulaba más de 10 años de experiencia en la especialidad.

Los médicos andrólogos no percibieron un aumento en la garantía de calidad de los laboratorios especializados, si bien consideraron que la acreditación sería un aporte de valor.

En su gran mayoría (80%), los andrólogos no realizaban el diagnóstico del factor masculino con un solo espermograma, tanto si era normal como anormal; solicitaban un segundo estudio como lo sugiere la bibliografía y complementaban la evaluación con estudios de integridad del ADN y bacteriológicos. El 21%, en su mayoría ginecólogos, descartaban el factor masculino con un solo estudio. Este enfoque reveló diferencias entre especialidades, lo que resaltó la diversidad de prácticas dentro del ámbito de la andrología y la ginecología en el diagnóstico de la fertilidad masculina.

Frente al enunciado: “los tratamientos andrológicos no mejoran las oligoastenoteratozoospermias”, el 66% de los médicos no acordaron; sin embargo, el 96% afirmó que frente a una pareja que consultaba por infertilidad, con factor masculino severo, el consejo médico predominante era recurrir a técnicas de RA.

Si bien los médicos observaron una mayor precisión en la movilidad clasificada de acuerdo con OMS 2010 (MP, NP, I), no tenían opinión definida sobre su impacto en el valor diagnóstico y predictivo.

La mayoría de los profesionales (90%) consideraba que la evaluación de la morfología según el “criterio estricto” provocó que los porcentajes de formas normales disminuyeran significativamente. El 50% de los médicos respondieron que sólo recibían resultados de morfología en el rango 0-10%. El 37% consideraba que este rango estrecho afectaba el valor clínico de la prueba.

Se observó baja adherencia (24%) a la recomendación de solicitar estudios inmunológicos en la primera evaluación. No lo solicitaban si el primer análisis arrojaba resultados dentro del rango de referencia; sin embargo, algunos (21%) lo consideraban de utilidad cuando se trataba de esterilidad sin causa aparente (ESCA).

La mitad de los encuestados consideraba que el estu-

dio de la fragmentación del ADN predecía la fertilidad, fundamentalmente *in vitro*.

Los estudios complementarios más solicitados fueron: estudio de la fragmentación del ADN (88%), luego *swim-up* de evaluación, pruebas inmunológicas y bioquímica del plasma seminal. Algunos estudios que fueron promisorios en su momento no son solicitados actualmente (caspasas, sobrevida, MOST, *test* de dispersión de la cromatina, *test* hipoosmótico).

Discusión y Conclusiones

En estas últimas dos décadas se produjeron cambios en la demanda a los laboratorios de andrología, probablemente debido a la mayor accesibilidad a los tratamientos de fertilidad a la luz de la Ley Nacional de Fertilización Asistida (12) y a los avances de la criobiología, que amplió el alcance a las parejas con factor femenino.

Este laboratorio, inmerso en un hospital escuela, funciona desde la década de los setenta y fue pionero en el estudio del semen y formador de especialistas en el área de la andrología. La disminución de las peticiones se puede atribuir a la labor docente desempeñada que generó nuevos laboratorios capaces de realizar estudios de calidad que descentralizaron las solicitudes. Por otro lado, la reducción progresiva y significativa de la demanda global con aumento de las solicitudes de estudios de primera vez, denota el cambio de paradigma en el tratamiento del factor masculino y sustituyó los procedimientos médicos y quirúrgicos por técnicas de fertilización asistida.

Durante los años analizados se observó una disminución en el volumen y recuento espermático, ambas variables dependientes de andrógenos. Se atribuye esta tendencia a cambios en el estilo de vida que exponen a los varones a disruptores endócrinos con impacto epigenético (13). Este fenómeno refleja la importancia de abordar y comprender los posibles efectos de estas influencias en la calidad del esperma a lo largo del tiempo.

Durante estos 20 años hubo en este laboratorio dos hitos metodológicos: la incorporación del criterio estricto para la morfología en 2006, que disminuyó el porcentaje de espermatozoides normales y la adquisición del sistema CASA en 2010, que permitió la objetivación de las velocidades y su correcta medida, lo que se manifestó como un incremento en el porcentaje de espermatozoides Grado (a).

De las encuestas dirigidas a los profesionales de laboratorios y a los médicos se pudo inferir que el diagnóstico está fundamentalmente a cargo de bioquímicos especialistas, si bien en los procedimientos de RA hay una gran intervención de biólogos. Los médicos en su mayoría eran andrólogos, tanto del ámbito público como privado. En referencia exclusivamente a la encuesta realizada a los mismos, resulta contradictorio que, si bien el 66% pensaba que podía resolver el fac-

tor andrológico severo por tratamiento farmacológico o quirúrgico, el 95% adhería a las técnicas de RA en esos casos.

A partir de las encuestas se pudo concluir que el diagnóstico está fundamentalmente a cargo de bioquímicos especialistas. No obstante, en los procedimientos de RA, los biólogos desempeñan un papel significativo. La mayoría de los médicos, tanto en el ámbito público como en el privado, se identifican como andrólogos. En relación exclusiva a la encuesta realizada a los médicos, resulta contradictorio que, aunque el 66% de ellos consideraba que podía abordar el factor andrológico severo mediante tratamiento farmacológico o quirúrgico, el 95% mostró preferencia por las técnicas de RA en esos casos.

Tanto los profesionales de laboratorio como los médicos compartieron la opinión de que la adhesión a la clasificación de la movilidad espermática según los porcentajes de MP, NP e I establecida por la OMS en 2010 mejoró la precisión de la prueba y redujo la variabilidad entre laboratorios. Si bien los médicos no expresaron una opinión definida sobre la influencia de este criterio de análisis en el valor clínico de la prueba, algunos laboratorios consideraron que esta modificación disminuyó el valor diagnóstico. Por esta razón, es posible que la nueva edición del Manual de la OMS en 2021 proponga regresar a la categorización de los espermatozoides según su velocidad de nado, específicamente los progresivos rápidos (Grado (a) $\geq 25 \mu\text{m/s}$) al considerarse que esta clasificación puede realizarse mediante método subjetivo. Las autoras de este trabajo creen que esta variable es crucial, pero que solo puede evaluarse de manera precisa mediante sistemas CASA (14). La evaluación subjetiva de una variable que requiere estimación de la velocidad de nado tiende a ser propensa a errores y genera coeficientes de variación elevados, lo que finalmente disminuye el valor clínico de la determinación.

Casi todos los laboratorios y la mayoría de los médicos consideraron que el CE para evaluar la morfología provocó que los porcentajes de espermatozoides morfológicamente normales disminuyeran significativamente, por lo cual no permitiría diferenciar “sanos” de “enfermos”, requerimiento básico de las pruebas bioquímicas. Esto merece revisión, de forma tal que la morfología refleje la patología celular, entendiendo las limitaciones de la microscopía óptica de materiales fijados y coloreados (15).

Para evaluar la vitalidad se recomienda la prueba de eosina-nigrosina (9); sin embargo, en el presente estudio no se observó adherencia por parte de los laboratorios, quienes utilizan mayoritariamente la prueba de eosina sola en fresco.

Los profesionales de laboratorio y los médicos coincidieron en la relevancia de las pruebas inmunológicas, aunque los médicos no las solicitaban a menos que se tratara de ESCA, lo que justifica la baja demanda que percibían los laboratorios, quienes optan por derivar al paciente o sus muestras. Los materiales derivados en su

mayoría son los apropiados, a excepción de un tercio de los casos en los que envían plasma seminal, el cual no se considera un material válido, a menos que se trate de una azoospermia.

Aunque no todos los laboratorios ofrecían la prueba de TUNEL, ésta era muy solicitada, ya que los médicos le atribuían valor predictivo significativo para la RA. Esta técnica requiere el uso de un microscopio de fluorescencia o, preferentemente, de citometría de flujo (16) (17), lo cual va más allá de la capacidad del equipamiento estándar de un laboratorio andrológico convencional.

El estudio bioquímico del plasma seminal era ofrecido por la mayoría de los laboratorios y demandado por gran parte de los médicos. Sin embargo, para estos autores, el valor clínico del estudio solo se justificaba en contados casos, como en la agenesia de conducto deferente y vesícula seminal.

Si bien la calidad y acreditación de laboratorios son valorespreciados por la comunidad médica, las encuestas no reflejaron el alto esfuerzo que han realizado los laboratorios para alinearse en los programas de aseguramiento de la calidad. Sus respuestas llamaron la atención de las autoras. Probablemente el grupo de médicos que se reportó sea el que siempre derivó a sus pacientes a laboratorios de referencia. La acreditación en la Argentina es un proceso voluntario, muy laborioso y puede resultar oneroso para los laboratorios (18) y algunos refieren que no es reconocido en el momento de ser seleccionados por los usuarios, si bien los médicos lo consideraron un aporte de valor. Las autoras consideran que se trata de un proceso gradual, educativo, que tiende a la mejora continua. Esos son los objetivos que se persiguen en esta primera etapa.

Las miradas de los profesionales de laboratorios y de los médicos parecen estar alineadas con diferencias sutiles que fueron marcadas a lo largo de la discusión. Frente a este escenario, se debería avanzar en el camino de la objetivación de métodos de laboratorio (4) para el aseguramiento de la calidad analítica de procedimientos estandarizados, que concluyan en una masiva acreditación de los laboratorios.

Fuentes de financiación

Este estudio fue subsidiado por la Universidad de Buenos Aires - Secretaría de Ciencia y Técnica (UBACYT 003BA).

Conflictos de intereses

Las autoras declaran no tener conflictos de intereses respecto del presente trabajo.

Correspondencia

Bioq. Esp. JULIA IRENE ARIAGNO
Correo electrónico: jariagno@ffyba.uba.ar

Referencias bibliográficas

- Sunder M, Leslie SW. Semen analysis. En: Stat Pearls [Internet]. Treasure Island (FL) (EE.UU.): Stat Pearls Publishing; 2021.
- Curi S, Ariagno JI, Chenlo P, Pugliese MN, Sardi LM, Repetto HE, *et al.* External quality control sperm analysis. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2008; 42: 183-7.
- ISO 15189:2022 - Medical Laboratories - Requirements for Quality and Competence (2022). Disponible en: <https://www.iso.org/standard/56115.html>
- Finelli R, Leisegang K, Tumallapalli S, Henkel R, Agarwal A. The validity and reliability of computer-aided semen analyzers in performing semen analysis: a systematic review. *Transl Androl Urol* 2021; 10 (7): 3069-79.
- Chenlo PH, Ariagno JI, Pugliese MN, Repetto H, Sardi LM, Mendeluk GR, *et al.* Estudio del semen humano: implementación de un método objetivo. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2013; 47: 61-9.
- World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction, 3rd ed. Cambridge, Inglaterra, New York, NY, EE.UU.: Published on behalf of the World Health Organization by Cambridge University Press; 1992.
- World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction, 4th ed. Cambridge, Inglaterra, New York, NY, EE.UU.: Published on behalf of the World Health Organization by Cambridge University Press; 1999.
- World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen, 5th ed. Geneva: World Health Organization; 2010.
- World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen, 6th ed. Geneva: World Health Organization; 2021.
- Jager S, Kremer J, Van Slochteren-Draaisma T. A simple method of screening for anti-sperm antibodies in the human male. Detection of spermatozoal surface IgG with the direct mixed antiglobulin reaction carried on untreated fresh human semen. *Int J Fertil* 1987; 23 (1): 12-21.
- Chenlo P, Curi S, Pugliese M, Ariagno J, Sardi-Segovia M, Furlan MJ, *et al.* Fragmentación del ADN espermático empleando el método de TUNEL. *Actas Urol Esp* 2014; 38 (9): 608-12.
- Ley 26862/2013 de Acceso integral a los procedimientos y técnicas MEF-asistenciales de reproducción médicamente asistida. Disponible en: <https://e-legis-ar.msal.gov.ar/hdocs/legisalud/migration/html/21207.html> (fecha de acceso: 1 de diciembre de 2023).
- Pabarja A, Ganjalikhan Hakemi S, Musanejad E, Ezzatabadipour M, Nematollahi-Mahani SN, Afgar A, *et al.* Genetic and epigenetic modifications of F1 offspring's sperm cells following in utero and lactational combined exposure to nicotine and ethanol. *Sci Rep* 2021; 11 (1): 12311.

14. Ariagno J, Mendeluk G, Furlan MJ, Sardi M, Chenlo P, Curi S, *et al.* Computer-aided sperm analysis: a useful tool to evaluate patient's response to varicocelectomy. *Asian J Androl* 2017; 19 (4): 449-52.
15. Ariagno JI, Curi SM, Chenlo P, Repetto HE, Pugliese MN, Palaoro LA, *et al.* Our experience in sperm morphology assessment. *Asian J Androl* 2011; 13 (2): 201-2.
16. Muratori M, Forti G, Baldi E. Comparing flow cytometry and fluorescence microscopy for analyzing human sperm DNA fragmentation by TUNEL labeling. *Cytometry A* 2008; 73: 785-7.
17. Curi SM, Chenlo PH, Billordo LA, Baz P, Sardi ML, Ariagno JI, *et al.* Flow cytometry TUNEL standardization for assaying sperm DNA fragmentation. *J Androl* 2012; 33 (1): 1.
18. Chenlo P, Curi M, Pugliese M, Avendaño C, Munuce MJ, Ariagno J, *et al.* Acreditación de los laboratorios de Andrología en la República Argentina. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2019; 53 (3): 315-21.

Recibido: 29 de noviembre de 2022

Aceptado: 27 de diciembre de 2023