



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES
ORGANISMO DE INVESTIGACIÓN JUDICIAL (OIJ)
PODER JUDICIAL, COSTA RICA

**PROCEDIMIENTO PARA LA REALIZACIÓN
DEL ESPERMOGRAMA**

PROCEDIMIENTO DE
OPERACIÓN NORMADO
ESPECIFICO

P-DCF-ECT-BQM-25

Versión: 03

Rige desde: 10/11/2023

PAGINA: 1 de 14

Elaborado o modificado por: Dr. Alejandro Hernández Bolaños Perito Judicial 2B, Sección Bioquímica Allison Castillo Sandoval Técnico Especializado 6 Sección Bioquímica	Revisado por Líder Técnico: Dra. Magaly Segura Castillo Líder Técnico a.i., Sección de Bioquímica
Visto Bueno Encargado de Calidad: Dr. Alejandro Hernández Bolaños Encargado de Calidad, Sección de Bioquímica	Aprobado por: Dra. Anayanci Rodríguez Quesada Jefatura a.i. Sección de Bioquímica

CONTROL DE CAMBIOS A LA DOCUMENTACIÓN

Versión	Fecha de Aprobación	Fecha de Revisión	Descripción del Cambio	SCD	Solicitado por
01	30.11.2010	11/11/2019	Versión Inicial del Procedimiento	-	MEE
02	11/11/2019	10/11/2023	Actualización del Procedimiento	24-2019	EFM
03	10/11/2023		Actualización del Procedimiento	24-2023	ARQ

**ESTE PROCEDIMIENTO ES UN DOCUMENTO CONFIDENCIAL
PARA USO INTERNO DEL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES
SE PROHÍBE CUALQUIER REPRODUCCIÓN QUE NO SEA PARA ESTE FIN**

La versión oficial digital es la que se mantiene en la ubicación que la Unidad de Gestión de Calidad defina. La versión oficial impresa es la que se encuentra en la Unidad de Gestión de Calidad. Cualquier otro documento impreso o digital será considerado como copia no controlada

	<p>DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES ORGANISMO DE INVESTIGACIÓN JUDICIAL (OIJ) PODER JUDICIAL, COSTA RICA</p>	<p>PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN NORMADO ESPECIFICO</p>
<p>PROCEDIMIENTO PARA LA REALIZACIÓN DEL ESPERMOGRAMA</p>	<p>P-DCF-ECT-BQM-25</p>	
<p>Versión: 03</p>	<p>Rige desde: 10/11/2023</p>	<p>PAGINA: 2 de 14</p>

1 Objetivo:

El objetivo del presente Procedimiento de Operación Normado, es proporcionar la metodología básica para la realización del análisis de fluido seminal (espermograma) a partir de muestras de semen de usuarios que asisten a la Unidad de Análisis Clínicos de la Sección de Bioquímica.

2 Alcance:

Este procedimiento se emplea para hacer espermogramas a partir de muestras de semen recolectadas por los usuarios que asisten a la Unidad de Análisis de Clínicos de la Sección de Bioquímica.

3 Referencias:

- [World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 6ta edición. 2021.](#)

4 Equipos y Materiales:

- Anteojos de seguridad.
- Basurero para desechos biopeligrosos no punzocortantes.
- Basurero para descarte de material biopeligroso y/o punzocortante.
- Cámara de Neubauer.
- Centrífuga capaz de generar 3000 r.p.m.
- Cronómetro.
- Cubreobjetos.
- Frasco de plástico de boca ancha nuevo de 50mL.
- Gabacha.
- Gradilla para tubos de ensayo.
- Guantes desechables de látex o similar.
- Formulario: "Espermograma".
- Formulario: "Consentimiento Informado Espermogramas".
- Formulario: "Declaración Jurada para Espermograma".
- Libro de trabajo rotulado como "Libro de Espermograma".
- Mechero de alcohol.
- Micropipeta con volumen ajustable entre los 10-100uL.
- Micropipeta con volumen ajustable entre los 20-200uL.
- Micropipeta con volumen ajustable entre los 100-1000uL.



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES
ORGANISMO DE INVESTIGACIÓN JUDICIAL (OIJ)
PODER JUDICIAL, COSTA RICA

**PROCEDIMIENTO PARA LA REALIZACIÓN
DEL ESPERMOGRAMA**

PROCEDIMIENTO DE
OPERACIÓN NORMADO
ESPECIFICO

P-DCF-ECT-BQM-25

Versión: 03

Rige desde: 10/11/2023

PAGINA: 3 de 14

- Microscopio óptico.
- Palillos de madera nuevos.
- Papel filtro de 90g/m² o similar.
- Papel toalla desechable.
- Pipeta plástica desechable de 3mL.
- Portaobjetos.
- Puntas nuevas y autoclavadas de micropipeta para dispensar 10-100uL, 20-200uL y 100-1000uL.
- Recipiente plástico para descarte de tubos de ensayo.
- Reloj de intervalos de 0 a 60 minutos.
- Tiras para medición de pH con un rango de 6.0 a 10.0.
- Toallas de papel desechables.
- Tubo de vidrio de 5mL.
- Tubo de vidrio de 10mL.
- Tubo de vidrio de 20mL tipo Pyrex.
- Tubo cónico de 15mL nuevo.

5 Reactivos y Materiales de Referencia:

- Agua tipo Milli Q.
- Agua de tubo.
- Acido Clorhidrico concentrado.
- Azul Tripan, indice de color 23859 o similar.
- Bicarbonato de sodio.
- Cloro al 3,5% grado comercial o similar.
- Cloruro de calcio dihidratado.
- Cloruro de Magnesio hexahidratado.
- Cloruro de Sodio.
- Cloruro de Potasio.
- Detergente desinfectante liquido Bacdown o similar.
- Eosina, indice de color 45380 o similar.
- Etanol al 70%.



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES
ORGANISMO DE INVESTIGACIÓN JUDICIAL (OIJ)
PODER JUDICIAL, COSTA RICA

**PROCEDIMIENTO PARA LA REALIZACIÓN
DEL ESPERMOGRAMA**

PROCEDIMIENTO DE
OPERACIÓN NORMADO
ESPECIFICO

P-DCF-ECT-BQM-25

Versión: 03

Rige desde: 10/11/2023

PAGINA: 4 de 14

- Fosfato de hidrogeno disodico heptahidratado.
- Fosfato dihidrogenado de potasio.
- Formalina.
- D-Glucosa.
- Hidroxido de Sodio.
- Nigrosina, indice de color 50420 o similar.
- Resorcinol.
- Solución salina tamponada con fosfato de Dulbecco.
- Violeta Genciana Saturada.

6 Condiciones Ambientales:

El procedimiento de recolección de la muestra de semen debe realizarse en las áreas designadas para tal propósito en la Unidad de Análisis Clínicos de la Sección de Bioquímica.

7 Procedimiento:

Nota 1: Se debe revisar adecuadamente los análisis solicitados en la solicitud de dictamen criminalístico F-083i previo al inicio de la supervisión de la toma de muestra.

7.1 Supervisión de la toma de muestra de semen.

7.1.1 Complete la declaración jurada para espermograma y la toma de muestra de espermograma del usuario.

7.1.2 Solicite a la persona que se desvista completamente y recolecte la ropa del usuario y coloquela en una bolsa. De ser posible el funcionario que supervisa la toma de muestra debe ser masculino.

7.1.3 El usuario recolectará la muestra de semen por masturbación y la colocará en un frasco de plástico de boca ancha nuevo previamente rotulado con al menos su nombre.

7.1.4 Una vez recolectada la muestra, marque una hora en el reloj de intervalos.

7.2 Tiempo de licuefacción.

Nota 2: La muestra se debe analizar preferiblemente en un tiempo de 30 minutos, pero no más de 60 minutos después de la eyaculación.

7.2.1 Mida con un cronómetro el tiempo en minutos que tarda la muestra en licuarse.

7.2.2 Si la muestra no ha licuado a los 30 minutos, espere otros 30 minutos, si no ha licuado a los 60 minutos agregue un volumen de medio fisiológico (solución



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES
ORGANISMO DE INVESTIGACIÓN JUDICIAL (OIJ)
PODER JUDICIAL, COSTA RICA

PROCEDIMIENTO DE
OPERACIÓN NORMADO
ESPECIFICO

P-DCF-ECT-BQM-25

**PROCEDIMIENTO PARA LA REALIZACIÓN
DEL ESPERMOGRAMA**

Versión: 03

Rige desde: 10/11/2023

PAGINA: 5 de 14

salina tamponada con fosfato de Dulbecco) similar al volumen aproximado de la muestra, para facilitar la licuefacción de ésta.

7.3 Color y aspecto:

7.3.1 Una vez licuada la muestra, examine su color y aspecto.

7.3.1.1 Una muestra normal puede tener un color blanco perlado, blanco grisáceo y/o blanco amarillento, un color amarillento y un aspecto que va desde opalescente, turbia, aunque se pueden encontrar muestras translúcidas.

7.4 Volumen de muestra:

7.4.1 Mida el volumen de la muestra de semen, para lo anterior trasvase la totalidad de la muestra a un tubo cónico volumétrico de 15mL o a un tubo de vidrio de 10mL que permita determinar el volumen.

7.4.1.1 No use jeringa pues puede alterar la movilidad de los espermatozoides.

Nota 3: En caso de haber sido necesario agregar medio fisiológico para la licuefacción de la muestra, tomar en cuenta la cantidad agregada para el calculo del volumen final de la muestra.

7.5 Viscosidad.

7.5.1 Determine la viscosidad aspirando la muestra en una pipeta plástica desechable y deje caer las gotas por gravedad para observar la longitud del filamento.

7.5.1.1 En una muestra con viscosidad normal caen pequeñas gotas, en una de viscosidad aumentada se forma un filamento de más de 2 cm.

7.5.1.2 En una muestra con viscosidad disminuida la apariencia es como agua.

7.6 pH.

7.6.1 Mida el pH de la muestra con las tiras para medición de pH, para lo anterior utilice un palillo de madera y sumerja uno de sus extremos en la muestra de semen y mezcle suavemente, retire e impregne de forma homogénea el área de reacción de la tira de medición de pH.

7.7 Investigación microscópica inicial.

7.7.1 Coloque con una micropipeta aproximadamente 10uL de la muestra de semen en una lámina portaobjeto y cubra con un cubreobjeto.

7.7.2 Revise microscópicamente a bajo poder utilizando el lente de 10X de magnificación para realizar una evaluación preliminar de formación de hebras de moco, agregación espermática o aglutinación.



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES
ORGANISMO DE INVESTIGACIÓN JUDICIAL (OIJ)
PODER JUDICIAL, COSTA RICA

**PROCEDIMIENTO PARA LA REALIZACIÓN
DEL ESPERMOGRAMA**

PROCEDIMIENTO DE
OPERACIÓN NORMADO
ESPECIFICO

P-DCF-ECT-BQM-25

Versión: 03

Rige desde: 10/11/2023

PAGINA: 6 de 14

7.7.3 Determine la presencia de otros elementos celulares como células epiteliales, leucocitos, células germinales inmaduras y cabezas o colas de espermatozoides aislados utilizando el lente de 40X de magnificación.

7.8 Motilidad de espermatozoides.

7.8.1 Con el lente de 40X, observe la presencia o ausencia de espermatozoides y realice la evaluación de la motilidad espermática.

7.8.1.1 La motilidad de los espermatozoides se evalúa después de que la muestra licue, preferiblemente a los 30 minutos.

7.8.2 Evalúe al menos 5 campos con un total final de 200 espermatozoides.

7.8.3 Clasifique la motilidad en porcentaje de acuerdo a:

- A. Motilidad progresiva: los espermatozoides se mueven activamente, ya sea linealmente o en un círculo grande, independientemente de la velocidad.
- B. Motilidad no progresiva: todos los patrones de movilidad con ausencia de progresión.
- C. Inmotilidad: no móviles.

7.8.4 Si no se observan espermatozoides:

7.8.4.1 Centrifugue a 3000 rpm por 15 minutos

7.8.4.2 Realice el montaje del sedimento en un portaobjetos

7.8.4.3 Obsérvelo al microscopio.

7.8.5 Si aún no se observan espermatozoides después de una búsqueda exhaustiva, clasifique la muestra como azoospermica, y reporte que no se observaron espermatozoides en tantos campos observados posterior a la centrifugación a 3000 rpm por 15 minutos.

7.8.6 En caso de observar espermatozoides, reporte el número de espermatozoides observados, como el número promedio de espermatozoides observados por campo de 40X en el número total de campos observados, luego de la centrifugación a 3000 rpm por 15 minutos.

7.9 Vitalidad.

7.9.1 Agregue 100 uL de semen a un portaobjeto.

7.9.2 Agregue 2 gotas de eosina al portaobjeto y mezcle.

7.9.3 Agregue 1 gota de nigrosina, mezcle y colóquelo en forma vertical sobre un pedazo de papel toalla, de manera que escurra el exceso de colorante en el papel y déjelo seca a temperatura ambiente.

7.9.4 Una vez secos proceda inmediatamente a realizar la observación microscópica.



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES
ORGANISMO DE INVESTIGACIÓN JUDICIAL (OIJ)
PODER JUDICIAL, COSTA RICA

**PROCEDIMIENTO PARA LA REALIZACIÓN
DEL ESPERMOGRAMA**

PROCEDIMIENTO DE
OPERACIÓN NORMADO
ESPECIFICO

P-DCF-ECT-BQM-25

Versión: 03

Rige desde: 10/11/2023

PAGINA: 7 de 14

7.9.5 Cuento con el microscopio óptico en inmersión a 100X en cada extendido 200 espermatozoides, diferenciando los espermatozoides vivos, no teñidos(Blancos) de los muertos teñidos(Rosados).

7.10 Morfología:

7.10.1 En la misma lámina de vitalidad, cuente 200 espermatozoides en el microscopio óptico a 100X y determine el porcentaje anormalidades de cabeza, de segmento intermedio y de flagelo de la siguiente manera:

- Cabeza: piriforme, microcéfalo, macrocéfalo, bicéfalo, acéfalo.
- Segmento intermedio: angulaciones, restos citoplasmáticos.
- Flagelo: corto, ausente, arrollado, doble.

7.11 Conteo de espermatozoides:

7.11.1 Realice la dilución según corresponda:

7.11.1.1 En caso de que la cantidad de espermatozoides sea mayor a 200 por campo de 40X utilice una dilución 1:50 de la muestra de la siguiente manera: Agregue 50uL de la muestra en 2450uL de solución diluyente de espermatozoides, en un tubo de ensayo limpio.

7.11.1.2 En caso de que la cantidad de espermatozoides este entre 40-200 por campo de 40X utilice una dilución 1:20 de la muestra de la siguiente manera: Agregue 50uL de la muestra en 950uL de solución diluyente de espermatozoides, en un tubo de ensayo limpio.

7.11.1.3 En caso de que la cantidad de espermatozoides este entre 16-40 por campo de 40X utilice una dilución 1:10 de la muestra de la siguiente manera: Agregue 50uL de la muestra en 450uL de solución diluyente de espermatozoides en un tubo de ensayo limpio.

7.11.1.4 En caso de que la cantidad de espermatozoides este entre 2-15 por campo de 40X utilice una dilución 1:5 de la muestra de la siguiente manera: Agregue 50uL de la muestra en 200uL de solución diluyente de espermatozoides en un tubo de ensayo limpio.

7.11.1.5 Si la cantidad de espermatozoides es menor a 2 por campo de 40X utilice una dilución 1:2 de la muestra de la siguiente manera: Agregue 100uL de la muestra en 100uL de solución diluyente de espermatozoides en un tubo de ensayo limpio.

7.11.2 Las diluciones preparadas se deben agitar suave y manualmente.

7.11.3 Se deben dejar reposar por al menos 2 minutos.

7.11.4 Limpie la cámara de Neubauer utilizando etanol al 70%.

7.11.5 Prepare una cámara de Neubauer para realizar el conteo de espermatozoides.



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES
ORGANISMO DE INVESTIGACIÓN JUDICIAL (OIJ)
PODER JUDICIAL, COSTA RICA

PROCEDIMIENTO DE
OPERACIÓN NORMADO
ESPECIFICO

P-DCF-ECT-BQM-25

**PROCEDIMIENTO PARA LA REALIZACIÓN
DEL ESPERMOGRAMA**

Versión: 03

Rige desde: 10/11/2023

PAGINA: 8 de 14

7.11.6 Coloque sobre el área de conteo de la cámara el cubreobjeto de la misma (Fig. 1A y 1B).

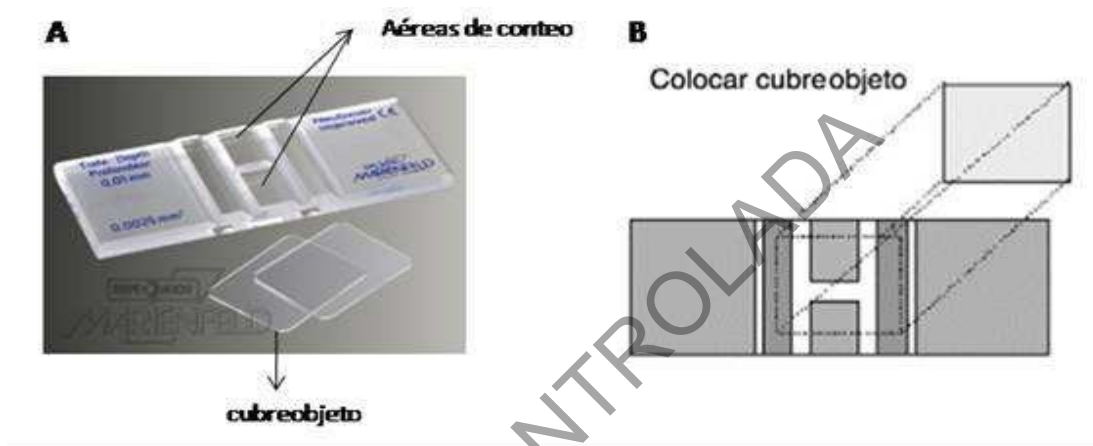
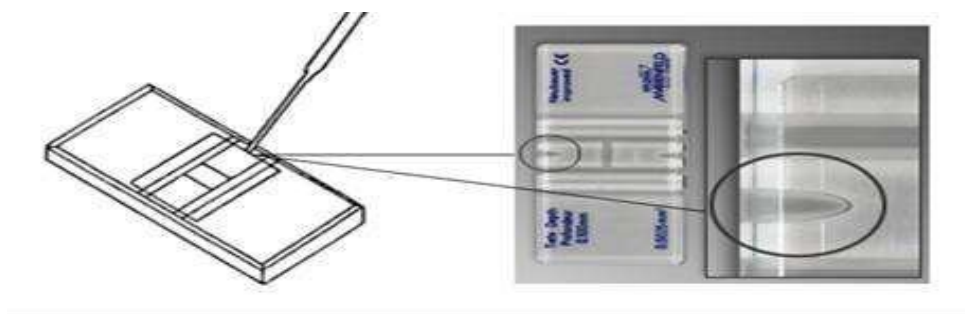


Figura 1. Cámara de Neubauer, mostrando las dos áreas de conteo o cámaras para recuento (A), así como una vista superior de la misma y el sitio donde se debe colocar el cubreobjeto (B).

7.11.7 Agite nuevamente de forma manual la solución con la dilución de la muestra de semen y tome 10uL de esta solución.

7.11.8 Llène de forma cuidadosa (sin mover el cubreobjeto de la cámara) utilizando para ello la micropipeta, una de las dos cámaras de recuento (áreas de conteo) de la cámara de Neubauer (Fig. 1).

7.11.8.1 Para lo anterior coloque la punta de la micropipeta sobre el borde del cubreobjeto en la zona donde hay pequeña ranura en forma de "V" invertida (Fig. 2) y dispense suavemente la solución, la cámara se llenará por capilaridad.




	<p>DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES ORGANISMO DE INVESTIGACIÓN JUDICIAL (OIJ) PODER JUDICIAL, COSTA RICA</p> <p>PROCEDIMIENTO PARA LA REALIZACIÓN DEL ESPERMOGRAMA</p>	<p>PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN NORMADO ESPECIFICO</p> <p>P-DCF-ECT-BQM-25</p>
<p>Versión: 03</p>	<p>Rige desde: 10/11/2023</p>	<p>PAGINA: 9 de 14</p>

Figura 2. Cámara de Neubauer donde se muestra la zona donde se debe colocar la punta de la pipeta para llenar las cámaras de conteo.

- 7.11.9** Deje reposar por espacio de 3-5 minutos la muestra dispensada en la cámara antes de realizar el conteo, esto con el fin de que las células sedimenten al fondo de la cámara. Evaluar la muestra en un máximo de tiempo de 15 minutos.
- 7.11.10** Proceda a realizar el recuento de los espermatozoides en la cámara de la siguiente manera:
- 7.11.10.1** cuente el número de espermatozoides localizados en la cuadrícula central de 1 mm, la cual está dividida en 25 cuadrantes de 16 cuadrantes cada uno (Fig. 3).

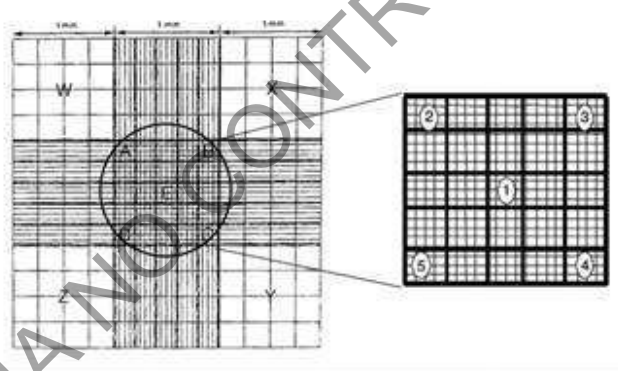


Figura 3. Área de recuento de la cámara de Neubauer, mostrando la cuadrícula central para el conteo de espermatozoides.

Nota 5: Para evitar el recuento por duplicado de una misma célula y estandarizar el conteo, solamente se deben incluir dentro del conteo de cada cuadrante pequeño, los espermatozoides que se encuentran sobre el borde izquierdo y superior de cada cuadrante.

- 7.11.11** Realice el cálculo de la concentración de espermatozoides por mililitro mediante la siguiente fórmula:

Espermatozoides/mL = $N \times 10 \times 20 \times 1000$, donde

N = número de espermatozoides en la cuadrícula central

10 = valor de profundidad de la cámara (0,1 mm) x 10



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES
ORGANISMO DE INVESTIGACIÓN JUDICIAL (OIJ)
PODER JUDICIAL, COSTA RICA

**PROCEDIMIENTO PARA LA REALIZACIÓN
DEL ESPERMOGRAMA**

PROCEDIMIENTO DE
OPERACIÓN NORMADO
ESPECIFICO

P-DCF-ECT-BQM-25

Versión: 03

Rige desde: 10/11/2023

PAGINA: 10 de 14

20 = factor de dilución aplicado en la dilución para realizar el
conteo (puede variar según la dilución utilizada)

1000 = valor aplicado para realizar la conversión de mm^3 a
 $\text{cm}^3(\text{mL})$

7.11.12 Realice el cálculo de la concentración de espermatozoides en la totalidad de la muestra, multiplicando el valor de la concentración de espermatozoides por mililitro por la cantidad de mililitros del eyaculado.

7.12 Determinación de fructosa.

7.12.1 Diluya la muestra de semen con el reactivo de Seliwanoff de la siguiente manera:

7.12.1.1 Agregue 100uL de la muestra en 1mL de reactivo de Seliwanoff en tubo de vidrio tipo pirex de 20mL.

7.12.2 Tome el tubo con la muestra con unas pinzas y caliente cuidadosamente el tubo de vidrio sobre la llama del mechero de alcohol hasta que empiece a ebulir la solución.

7.12.3 Observe el desarrollo de color. La tonalidad va desde rosado suave hasta rojo intenso.

7.12.3.1 Clasifique de 1 a 4 cruces según la intensidad de la siguiente manera:

- 1+ ligeramente rosado
- 2+: medianamente rosado
- 3+: coloración rosada intensa
- 4+: color casi rojo

7.12.4 La intensidad del color es una estimación cualitativa de la cantidad de fructosa en la muestra de semen.

7.13 Descarte todos los tubos de vidrio utilizados durante el análisis en el recipiente plástico para descarte de tubos de ensayo con detergente desinfectante líquido.

7.14 Descarte todos los portaobjetos utilizados durante el análisis en el basurero para descarte de material biopeligroso y/o punzocortante.

7.15 Descarte todos los materiales no punzocortantes utilizados durante el análisis en el basurero para desechos biopeligrosos no punzocortantes

7.16 Reporte el análisis realizado en el libro de trabajo y en el formulario de espermograma.

8 Criterios de Aceptación o Rechazo de Resultados:



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES
ORGANISMO DE INVESTIGACIÓN JUDICIAL (OIJ)
PODER JUDICIAL, COSTA RICA

**PROCEDIMIENTO PARA LA REALIZACIÓN
DEL ESPERMOGRAMA**

PROCEDIMIENTO DE
OPERACIÓN NORMADO
ESPECIFICO

P-DCF-ECT-BQM-25

Versión: 03

Rige desde: 10/11/2023

PAGINA: 11 de 14

Rechace las muestras de semen cuando:

- La muestra de semen tenga una apariencia líquida con aparente saliva u otra sustancia ajena al semen.
- La muestra de semen esté fría al recibirla luego de ser recolectada por el paciente, lo cual podría indicar que no fue tomada por el paciente en ese mismo momento y que probablemente la trajo.
- Cuando exista la sospecha de que la muestra no fue tomada efectivamente por el paciente.

Acciones Correctivas:

- Al rechazar una muestra como se indica en el punto anterior, se debe explicar al usuario la situación y dar una nueva cita para que recolecte la muestra nuevamente.

9 Cálculos y evaluación de la incertidumbre:

No aplica

10 Reporte de Análisis y Resultados:

10.1 Proceda a completar el formulario de espermograma según los datos obtenidos.

11 Medidas de Seguridad y Salud Ocupacional:

- Recuerde colocarse la gabacha y los guantes antes de manipular las muestras.
- En caso de derrame limpie la zona con cloro al 3,5% y etanol al 70%, utilizando toallas de papel desechable.
- La disolución de cloro se debe emplear con precaución pues es irritante. Se recomienda protegerse con anteojos siempre que manipule cloro.
- Descarte la muestra después de terminar el análisis en cloro al 3,5 % o desinfectante DBD para fluidos biológicos.

12 Simbología:

- g: gramos
- mL: mililitros
- cm: centímetros
- mm: milímetros
- uL: microlitros



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES
ORGANISMO DE INVESTIGACIÓN JUDICIAL (OIJ)
PODER JUDICIAL, COSTA RICA

**PROCEDIMIENTO PARA LA REALIZACIÓN
DEL ESPERMOGRAMA**

PROCEDIMIENTO DE
OPERACIÓN NORMADO
ESPECIFICO

P-DCF-ECT-BQM-25

Versión: 03	Rige desde: 10/11/2023	PAGINA: 12 de 14
-------------	------------------------	------------------

- OMS: Organización Mundial de la Salud
- r.p.m: revoluciones por minuto
- SCD: Solicitud de Cambio Documental


13 Terminología:

No aplica

14 Anexos

No. de Anexo	Nombre del Anexo
01	Preparación de reactivos

COPIA NO CONTROLADA

	<p>DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES ORGANISMO DE INVESTIGACIÓN JUDICIAL (OIJ) PODER JUDICIAL, COSTA RICA</p> <p>PROCEDIMIENTO PARA LA REALIZACIÓN DEL ESPERMOGRAMA</p>	<p>PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN NORMADO ESPECIFICO</p> <p>P-DCF-ECT-BQM-25</p>
<p>Versión: 03</p>	<p>Rige desde: 10/11/2023</p>	<p>PAGINA: 13 de 14</p>

Anexo 01

Detergente desinfectante líquido Bacdown™, Decon Laboratories, Inc.:

Agregue 16mL de desinfectante en 984mL de agua de tubo. Agite de forma manual y agregue al recipiente plástico para descarte de tubos de ensayo.

Diluyente fijador para cómputo de espermatozoides:

Disuelva 25 g de bicarbonato de sodio y 5 mL de formalina al 35% (v/v) en 500 mL de agua purificada. Si desea agregue 0,125 g de azul de tripan (índice de color 23859) o 2,5 mL de violeta genciana saturada (>4 mg/mL) (índice de color 42555).

Almacene a 4° C. Si se forman cristales filtrar con papel filtro de 0,45 um antes de usar.

Solución de Seliwanoff:

Pese 0,005 g de resorcinol en un beaker de 200 mL, agregue a 70 mL de agua desionizada tipo II y agregue 30 mL de ácido clorhídrico concentrado medidos con una probeta de 100 mL. Agite de forma manual el beaker y agregue la solución en una botella color ámbar rotulada con el nombre del reactivo, fecha de preparación y nombre de analista y con tapa.

Almacene a temperatura ambiente. Prepare cada 6 meses.

Solución para prueba de vitalidad (Eosina-nigrosina):

Eosina 1 %:

Pese 1,00 g de eosina y agregue 100 mL de agua tipo Mili Q medidos con una probeta de 100 mL, en un erlenmeyer de 125 mL. Agite para disolver manualmente.

Mantenga la solución en una botella ámbar de 100 mL, y almacene a temperatura ambiente. Prepare cada 6 meses.

Nigrosina 10%:

Pese 10,00 g de Nigrosina y agregue 100 mL de agua tipo Mili Q medidos con una probeta de 100 mL, en un erlenmeyer de 125 mL. Agite para disolver manualmente.

Mantenga la solución en una botella ámbar de 100 mL, y almacene a temperatura ambiente. Filtre antes de utilizar. Prepare cada 6 meses.



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FORENSES
ORGANISMO DE INVESTIGACIÓN JUDICIAL (OIJ)
PODER JUDICIAL, COSTA RICA

**PROCEDIMIENTO PARA LA REALIZACIÓN
DEL ESPERMOGRAMA**

PROCEDIMIENTO DE
OPERACIÓN NORMADO
ESPECÍFICO

P-DCF-ECT-BQM-25

Versión: 03

Rige desde: 10/11/2023

PAGINA: 14 de 14

Solución salina tamponada con fosfato de Dulbecco:

A 750 mL de agua purificada agregue 0,2 g de cloruro de potasio (KCl), 0,2 g fosfato dihidrogenado de potasio (KH_2PO_4), 0,1 g de cloruro de magnesio hexahidratado ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), 8,0 g cloruro de sodio (NaCl), 2,16 g de fosfato de hidrógeno disódico heptahidratado ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) y 1,00 g de D-glucosa.

Disuelva 0,132 g de cloruro de calcio dihidratado ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) en 10 mL de agua purificada y adicione lentamente a la solución anterior con agitación.

Ajuste el pH a 7,4 con hidróxido de sodio 1 mol/L (NaOH).

Llevar hasta 1000 mL con agua purificada.

COPIA NO CONTROLADA