

UNIVERSIDAD DE OVIEDO
MASTER UNIVERSITARIO EN BIOLOGÍA

Y

TECNOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN

Indicadores de Calidad en el Laboratorio de
Reproducción Asistida

TRABAJO FIN DE MÁSTER REALIZADO
POR

ROCÍO CAMPORRO VÁZQUEZ

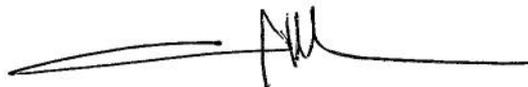
TUTOR: CARLOS GARCÍA OCHOA

JULIO 2012

El Dr. Carlos García Ochoa certifica que:

El presente Trabajo Fin de Máster titulado : “Indicadores de Calidad en el Laboratorio de Reproducción Asistida”, presentado por Rocío Camporro Vázquez para optar por el título de Máster Universitario en Biología y Tecnología de la Reproducción, ha sido realizado bajo su dirección y, una vez revisado, no encuentra objeciones para que sea presentado a su lectura y defensa.

VºBº



Fdo. Carlos García Ochoa

En Oviedo a 10 de Julio de 2012

ÍNDICE

1. QUÉ ES CALIDAD 1

1.1 CALIDAD EN ASISTENCIA SANITARIA	2
1.2 GESTIÓN DE CALIDAD	4
1.3 GARANTÍA DE CALIDAD EN SALUD	5
1.4 GESTIÓN ORIENTADA A PROCESOS	6
1.5 MAPA DE PROCESOS	7
1.6 ANÁLISIS DEL PROCESO	10
1.7 CONTROL DE CALIDAD	11
1.7.1 Control de resultados	12
1.7.2 Control del proceso o de la ejecución	12
1.7.3 Control de la estructura	13
1.8 LA MEDICIÓN DEL NIVEL DE CALIDAD (MONITORIZACIÓN)	13

2. INDICADORES DE CALIDAD..... 15

2.1 CÓMO LO ESTAMOS HACIENDO	15
2.2 TIPOS DE INDICADORES	16
2.3 PROPIEDADES INDICADORES	17
2.4 DEFINIR UN INDICADOR	18
2.5 CÓMO ELEGIR LOS INDICADORES A MEDIR	20
2.6 CONSTRUCCIÓN DE INDICADORES.....	21
2.7 DEFINIR EL ESTÁNDAR	22
2.8 INDICADORES SELECCIONADOS POR EL COMITÉ DE CALIDAD DE ASEBIR.....	24
2.8.1 Porcentaje de recuperación de espermatozoides móviles (REM)	24
2.8.2 Test de descongelación de una muestra de esperma	25

3. LABORATORIO DE REPRODUCCIÓN 26

3.1 INSTALACIONES Y EQUIPOS	28
3.1.1 Laboratorio de Andrología.....	30
3.1.2 CONTROL DE CALIDAD EN EL LABORATORIO DE ANDROLOGIA.....	31
3.1.3 Laboratorio de Embriología (FIV/ICSI)	32
3.1.4 Laboratorio de crioconservación de material biológico reproductivo.....	35
3.2 INSTALACIONES Y EQUIPOS - INDICADOR DE LA CALIDAD DEL AIRE.....	36
3.2.1 Los compuestos volátiles orgánicos como fuente de contaminación.....	38
3.2.2 Origen y presencia de COVs en Laboratorios in vitro	38
3.2.3 Eliminación de COVs en el Laboratorio	40
3.2.4 Resultados tras un buen diseño de las instalaciones y	41
disponer de un buen sistema HVAC en nuestro Laboratorio	41
3.3 PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS (OPERATIVOS).....	43
3.3.1 Factores que afectan al potencial de un embrión.....	45
3.3.2 Cómo trabajar para hacer mejores embriones.....	46
3.3.3 Análisis de muestras de esperma – Valoración del estado del esperma.....	47
3.3.4 Elección del Tratamiento basado en la valoración de la funcionalidad del semen	48
Análisis de la muestra de semen.....	48
Estudio Inmunológico (Anti-Sperm antibodies – ASABs).....	49
Análisis Seminal asistido por computadora (ASAC).....	50
Lavado de la muestra seminal.....	51
3.3.5 Valor clínico de realizar una valoración de la funcionalidad del semen	51
3.3.6 Recogida de ovocitos (OPU).....	52

3.3.7 <i>El momento adecuado de realizar la microinyección en un tratamiento de ICSI</i>	53
3.4 EFECTO DE LAS INSTALACIONES Y DE LOS EQUIPOS SOBRE LOS FACTORES DEL MEDIO DE CULTIVO Y FACTORES DEL PROPIO EMBRIÓN.....	54
3.4.1 <i>¿Qué tipo de puesto de trabajo es mejor?</i>	54
3.4.2 <i>Efecto del diseño del Incubador sobre la calidad del embrión</i>	55
3.4.3 <i>CO₂ y control del pH del medio de cultivo</i>	57
3.5 MATERIALES	58
3.6 RECURSOS HUMANOS	59
4. OPTIMIZACIÓN DEL SISTEMA	62

Bibliografía 64

1. QUÉ ES CALIDAD

Evolución histórica de la calidad • La calidad, como característica, peculiaridad o singularidad de los productos o servicios, a partir de los cuales es posible calificarlos como aceptables, buenos, excelentes, inaceptables, malos o pésimos, no es algo nuevo en la larga historia de la humanidad. La batalla por asegurar que los resultados del trabajo humano respondan a las exigencias o expectativas de quienes van a consumirlos, parece haber empezado desde muy temprano.⁴

La revolución industrial trajo consigo la producción en serie, la no participación directa del propietario en la fabricación del producto, la especialización en el trabajo y el surgimiento de la competitividad como problema, lo que derivó en la necesidad de encontrar nuevas formas de organizar las empresas en función de que fueran capaces de satisfacer un mercado que crecía exponencialmente y se volvía cada vez más exigente.

El proceso industrial derivó en la necesidad de hacer énfasis en la división del trabajo, la estandarización de los componentes y de los procesos, la separación en personas diferentes de la función de hacer el producto y la de inspeccionarlo, el estudio de los tiempos y movimientos para simplificarlos y hacerlos más eficientes y una estructura organizativa conceptualmente nueva, que pudiera asimilar el significativo crecimiento en cantidad de subordinados, en niveles de ejecución y en elementos nuevos, tales como las diferencias entre lo ejecutivo y lo funcional.

La calidad ha evolucionado en la misma medida en que han evolucionado las sociedades, las personas, los métodos de producción y distribución, el transporte, los medios de comunicación, la tecnología de la información y los mercados.

Desde una perspectiva de un producto manufacturado básico, la calidad puede ser definida como adecuación a las especificaciones – especificaciones que son definidas por el fabricante, basados en la experiencia de este sobre lo que el cliente quiere. Por supuesto, esto se puede descubrir llevando a cabo encuestas a los clientes o consultando las cifras de ventas.²⁵

1.1 Calidad en Asistencia Sanitaria

El concepto más sencillo de calidad y el primero que se nos debe venir a la mente al pensar en ella es “hacer lo correcto de un modo correcto”. Pero, cómo aplicar este axioma a la vez tan sencillo y completo a un Servicio de Salud Pública como puede ser el proporcionado para un tratamiento de reproducción asistida (TRA).

El reto inicial era adaptar unas modalidades provenientes del sector industrial al sector de los servicios, buscando no sólo obtener calidad técnica o intrínseca al producto, sino en términos de actos de calidad la cual sea percibida por el usuario.³²

Un producto de calidad tradicionalmente se percibe como algo que tendrá un coste mayor. Se utilizarán mejores materiales y si el proceso es artesanal, lo cual conlleva un trabajo más laborioso y con más esmero, tendrá un valor añadido. Ese producto valdrá más dinero pero sus características hacen que lo valga, si uno está dispuesto a pagar el precio extra. Ahí es donde entra el concepto de cliente y lo que él espera de su producto.

La calidad no es lo mismo que el lujo, en el cual un producto supera con creces su objetivo primario y es típicamente caro. Desde una perspectiva de un producto básico manufacturado la calidad puede definirse como “conformidad a los especificaciones” las cuales determina el fabricante basándose en su experiencia de lo que el cliente quiere. Pero este concepto es más difícil de definir si lo aplicamos a los servicios de salud. Como bien expresa Mortimer un avance mayor en la comprensión del concepto de calidad vendría de la mano del “fitness for use”, o lo que es lo mismo “una adecuación al uso”, en la que uno se orienta completamente hacia las percepciones y opiniones de los usuarios del servicio de salud o en la jerga de calidad “clientes”.²⁵

Esta nueva política significa practicar la “conformidad a los requerimientos del usuario”, pensar más en lo que la gente podría necesitar en contraposición a lo que nosotros les ofrecemos. Qué es lo que la sociedad demanda más que en la oferta de servicios. Por ejemplo, yo puedo tener un quirófano estupendo, un gran personal y realizar con éxito una intervención quirúrgica complicada pero no tener una sala de recuperación adecuada tras la intervención lo cual creará una situación incómoda al paciente lo que repercutirá en su percepción final y global de un servicio de calidad.

Al hablar de calidad hay cuatro conceptos generales que pueden y deben aplicarse al contexto específico de un servicio de salud.³⁷

La **equidad** se refiere al derecho a la salud, en donde la justicia es el principio, en el derecho que los individuos tienen de acceder a los servicios de salud. El objetivo es que todo el mundo, independientemente de su condición social o económica pueda tener acceso al servicio.

La **eficacia** viene a medir el grado en que se alcanzan los objetivos y metas impuestos en beneficio de los pacientes mientras que la **eficiencia** constituye la relación entre los resultados (previstos y no previstos) y el gasto de recursos para lograr esos resultados, el rendimiento neto.

Por último estaría el concepto de **efectividad** que se puede definir como una medida del impacto en un sistema de salud como resultado de la eficiencia y la eficacia de los servicios. Un sistema de salud sería efectivo si consigue sacar el máximo provecho con los recursos de los que dispone.

Fue Abedis Donabedian en los años 80 quien definió la Calidad como “a partir de unos recursos disponibles, obtener por el paciente los mayores beneficios con los menos riesgos posibles”.¹⁴

La OMS define una atención en salud de calidad como “aquella que identifica las necesidades en salud (educativas, curativas, preventivas y de mantenimiento) de los individuos y de la población de una forma total y precisa, y destina los recursos necesarios (humanos y otros) a estas necesidades de forma oportuna y tan efectiva como el estado actual del conocimiento lo permite”.

Todas las definiciones de la calidad, pueden ser interpretadas como el establecimiento de condiciones tales que los resultados de todas las actividades realizadas en el laboratorio ayuden a los clínicos en la práctica de una buena medicina centrada en los pacientes.²³

La calidad en Reproducción asistida es proporcionar ayuda a parejas infértiles.

Es imprescindible establecer protocolos para la estandarización de técnicas de laboratorio de reproducción y determinar criterios que permitan la acreditación de estos laboratorios. Estos protocolos deben basarse en la evidencia científica llevada a un consenso de todos los expertos y tienen que contemplar el marco legal vigente.⁷

1.2 Gestión de calidad

La gestión de calidad es la integración de actividades de calidad las cuales incluyen el control de calidad, la garantía de calidad y la mejora de calidad dentro de un sistema de calidad definido.

Un sistema de gestión de la calidad describe el sistema desarrollado por una organización que implica el establecimiento de una política de calidad, unos objetivos de calidad y unos procesos para lograr esos objetivos.

Los sistemas de calidad están basados esencialmente en los principios de las normas ISO 9000. Esta es una acreditación que tiene unos determinados estándares fijados internacionales (International Standard Organization), no depende de organizaciones nacionales y por supuesto no son gubernamentales. Es de carácter voluntario.

Fue desarrollada para ayudar a las organizaciones de todos los tipos y tamaños a implementar y operar con un sistema de gestión de calidad **basado en los procesos** que incluyen la mejora continua. Cada vez se ve más como el standard “de oro” para las clínicas IVF.³²

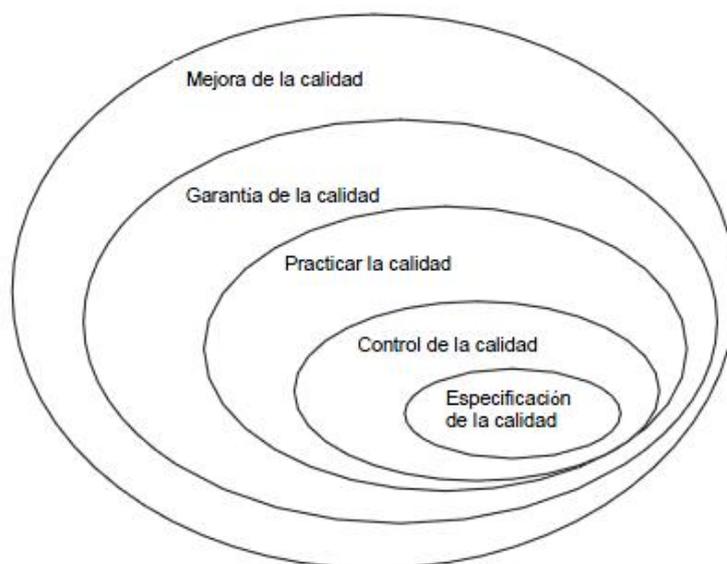


Ilustración 1 Una revisión en diagrama de las distintas áreas que engloba un programa de mejora de calidad con el papel central que ocupan las especificaciones de la calidad.

1.3 Garantía de Calidad en Salud

Es el conjunto de actividades sistemáticas al completo implementadas dentro de un sistema de calidad (incluyendo el control de calidad) que son necesarias para proveer la suficiente confianza de que un producto o servicio satisfará sus características de calidad especificadas o requeridas. Comprende aspectos tales como costes financieros atribuibles al laboratorio, la satisfacción del cliente, el establecimiento y reconocimiento de umbrales para la evaluación, la valoración sistemática, la garantía de la competencia del personal de laboratorio, así como de transferir información y actividades de coordinación entre diferentes áreas y dentro del propio laboratorio.

La garantía de Calidad busca como fin último, en el caso de los Servicios de Salud, asegurar una adecuada prestación de servicios con un excelente nivel de atención.

En todas las áreas la garantía de calidad se centra en los procedimientos y los sistemas. Bajo su práctica se aumenta la probabilidad de que cuando un método en particular se sigue todo irá según lo planeado, aumentando la consistencia y la práctica en general.

El control de calidad es el establecimiento de las especificaciones de calidad para cada aspecto del proceso de ensayo, la evaluación de los procedimientos usados para determinar la conformidad a estas especificaciones, y el tomar cualquier acción correctiva necesaria que haga que sean conformes. Por ejemplo, asegurarme que un procedimiento de ensayo se ha realizado correctamente y que sus resultados están dentro de los (pre-definidos) límites aceptables.

En un laboratorio, el control de calidad típicamente equivale a asegurarse que un ensayo se lleva a cabo adecuadamente: los calibradores se usan para asegurar que los instrumentos funcionan adecuadamente, los estándares de referencia se usan para verificar que los resultados se aproximan a lo que deberían. El control de calidad trata de asegurar que cada tarea se hace correctamente.

1.4 Gestión orientada a procesos

Proceso: conjunto de actividades mutuamente relacionadas o que interactúan, las cuales transforman elementos de entrada en resultados.

Procedimiento: forma especificada para llevar a cabo una actividad o un proceso. Definen la secuencia de los pasos para ejecutar una tarea.

Producto: resultado de actividades o de procesos. Puede ser tangible (embrión) o intangible (información).

Servicio: el resultado generado por actividades en la interfaz entre cliente y suministrador para satisfacer las necesidades del cliente.

La forma más sencilla de definir un proceso se ve reflejada en el siguiente gráfico:



Ilustración 2 Esquema de un proceso genérico

Un servicio dado de acuerdo a un sistema de calidad (la estructura organizativa, los procedimientos, los procesos y los recursos para implementar la gestión de calidad) entendido como un todo está conformada por no sólo un proceso, sino que son varios. Lo que para un proceso es su producto o resultado, otro lo toma como recurso propio para convertirlo en un nuevo resultado. La relación de estos procesos sería por tanto lineal o secuencial, uno no puede ocurrir si el otro no se ha llevado a cabo en primera instancia.

Pero la relación de los procesos también puede ser paralela o simultánea, ambos ocurren al mismo tiempo buscando el mismo resultado.

En conclusión, el conjunto de todos los procesos conformaría un **sistema**. En nuestro caso el sistema es un ciclo de tratamiento de fecundación in vitro. Pero es demasiado complejo para entenderlo como un todo, es necesario entender cada uno de los procesos individualmente y comprender su relación con el resto de procesos. Para facilitar esta tarea se hace uso de una herramienta gráfica que se denomina **mapa de procesos**.

1.5 Mapa de procesos

Según la ISO 9001:2008 un mapa de procesos es la representación gráfica, con un nivel adecuado de detalle, de todos los procesos de un centro y de sus interrelaciones.¹⁶

La gestión adecuada de los procesos en Reproducción asistida es crítica para el éxito. Y a simple vista es muy difícil si no se tiene una idea estructurada y ordenada de donde acaba uno y empieza otro o de la relación que existe entre ellos. Por eso es muy útil y facilita el trabajo realizar un mapa de procesos.²⁷

El primer paso es identificar cuáles son los procesos dentro de nuestro sistema. Nos enfrentamos a un sistema multidisciplinar en el que diferentes profesionales trabajan sinérgicamente hacia la consecución de un resultado. Médicos, embriólogos, enfermeras, y personal no sanitario que realizan diferentes actividades según el departamento en el que se engloba su trabajo, las funciones que desempeñen y el puesto concreto que ocupen.

Debemos identificar las actividades en las que participan cada uno de ellos. Luego, deberemos agrupar esas actividades en aquellas que tengan:

- Entradas comunes (recursos)
- Salidas comunes (producto)
- Finalidad común

Tras realizar esta reflexión y haber agrupado nuestras actividades estaremos preparados para identificar nuestros procesos.

El siguiente paso para poder hacer nuestro mapa de procesos es englobar cada uno de los procesos identificados en uno de los tres tipos definidos por la norma. Están los procesos estratégicos, los procesos operacionales y los de soporte.

Para comprender mejor qué tipo de procesos engloba cada categoría haré uso de la siguiente gráfica que representa el mapa de procesos de la Clínica Tambre ubicada en Madrid.

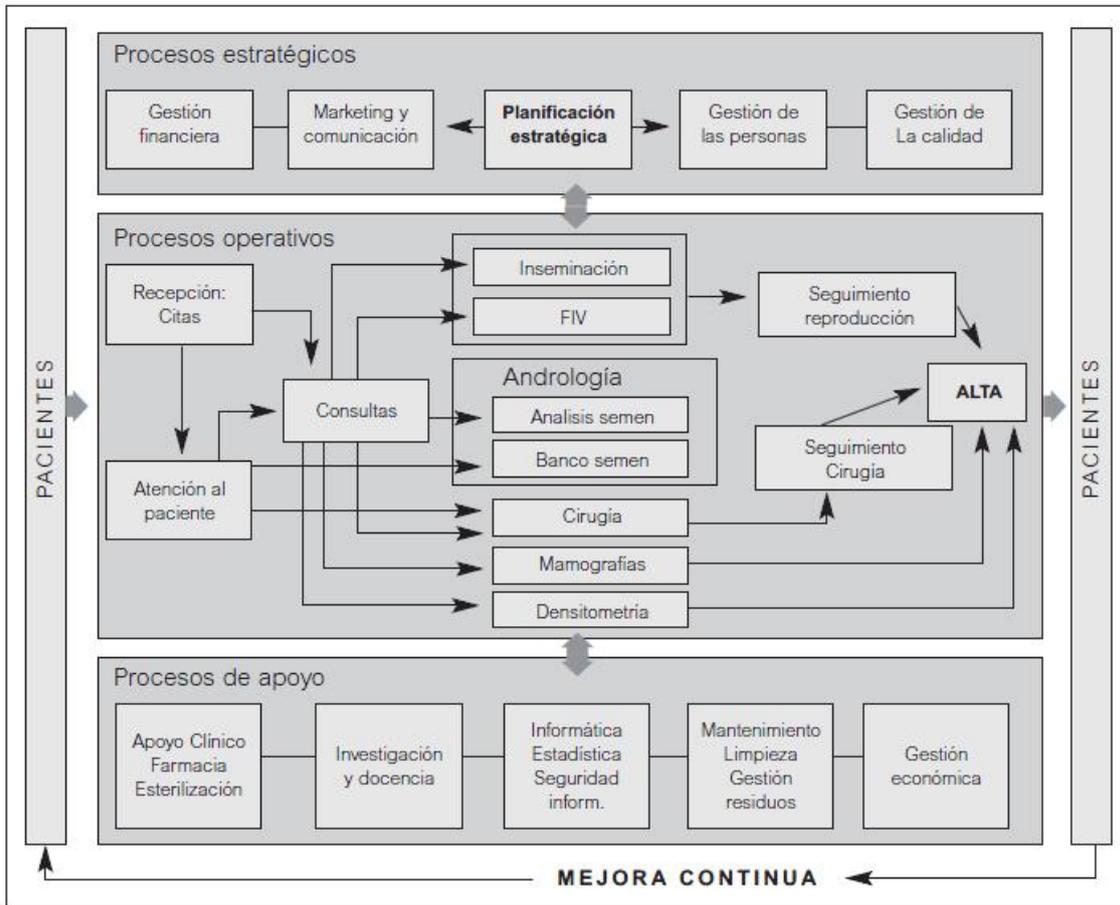


Ilustración 3 Mapa de procesos de la clínica Tambre: procesos estratégicos, operativos y de apoyo.

Aquellos procesos clave que tengan oportunidades de mejora se volverán **críticos** para nuestro sistema.

Un mapa de procesos es un organigrama que representa las entradas (recursos) y los resultados (productos) y las actividades que se realizan entre ellos para obtenerlos de modo que veamos a simple vista cual es su relación.

Requiere que cualquier sistema o proceso complejo se dibuje como un flujo, identificando cada paso o proceso componente del sistema. Y que ese sistema se vea reducido a su mínima expresión o pasos fundamentales para poder identificar y analizar cuáles son los **factores** que actúan sobre cada uno de los pasos.

Siguiendo el esquema más sencillo que retratamos de un proceso en la Ilustración 2, a continuación describiré un ejemplo propuesto por Mortimer²⁶. Un proceso de *Fecundación in vitro*, en el cual uno de mis recursos es el espermatozoides con el que poder fertilizar los ovocitos en una placa de petri. Otro de mis recursos son los propios ovocitos. El conjunto de actividades que conseguirá que yo obtenga un resultado a partir de ellos es el proceso de *Fecundación in vitro* en sí mismo. Y como resultado obtendré un embrión que es mi producto.

Ilustración 4 Diagrama que representa un tratamiento FIV como un único proceso a su nivel más sencillo

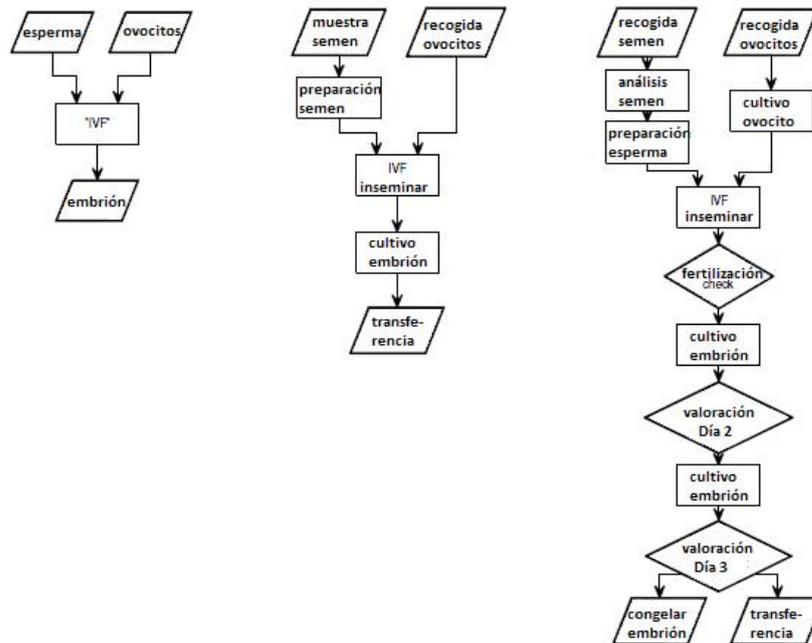
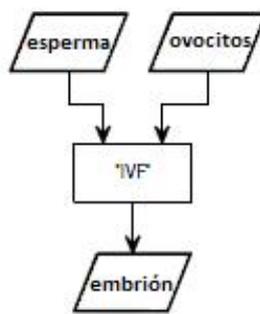


Ilustración 5 El mismo proceso detallado cada vez en más profundidad en la secuencia de cada uno de los pasos generales que conforman ese proceso.

Pero cualquier proceso puede ser descrito cada vez con más detalle, incorporando nuevos pasos y con un grado de descripción cada vez más profundo que incluya una secuencia de pasos generalizados. En el anterior gráfico podemos observar como la representación del proceso *Fecundación in vitro* puede ser representado a su nivel más simple y progresivamente representarlo de un modo más complejo.

1.6 Análisis del proceso

Para analizar un proceso una vez desdibujado su mapa seguimos el modelo FMEA descrito por Mortimer (Failure models and Effects Analysis).

- 1) Examinar el proceso para identificar todas las funciones que se espera que ocurran.
- 2) Identificar cualquier situación en la cual cualquiera de esas Funciones pudiesen ir mal (Failure Mode)
- 3) Establecer cuales serian las consecuencias (Effects) de cada Failure Mode.
- 4) Identificar las causas subyacentes o “Factores Implicados”
- 5) Estimar la frecuencia o posibilidad de que ocurra cada Failure Mode o Factor Implicado.(L)
- 6) Estimar el nivel de daño o severidad que ese Efecto puede causar a nuestro proceso, sus consecuencias.(C)
- 7) Identificar cualquier método de “control” que se pudiese llevar a cabo (identificar sistema de monitorización o de detección)
- 8) Calcular qué tan crítico es cada uno de los factores implicados o ese Failure Mode y establecer un rango de acción (L x C)
- 9) Identificar rutas de acción y cómo serán evaluadas (el “Plan de acción”).

Este es el modo de ilustrar como un examen más detallado de un proceso pone de relieve los pasos clave que **deben ser controlados**.

1.7 Control de calidad

No debemos olvidar que el control de calidad es una técnica que nació para la industria, para poder monitorizar los procesos de manufactura. En este contexto el control se refiere a una serie de acciones que permiten verificar si nuestro producto o proceso cumple unas especificaciones y en qué grado las cumple (nivel de calidad).

El control de calidad puede ser en relación con:

- la materia prima o recursos
- el producto final (adecuación a las especificaciones o exigencias)
- el proceso (T^a , velocidad del proceso).

El proceso es estándar, establecido, definido y tiene un margen de tolerancia. Está conformado por una serie de actividades y para cada una de esas actividades están establecidas una serie de especificaciones o estándares para los parámetros implicados.

Estas especificaciones de calidad son necesarias en el laboratorio clínico, pues éste solamente debe usar procedimientos validados para confirmar que los procedimientos son adecuados para el uso previsto.^{17, 23}

La pregunta que surge a continuación es qué método o acciones debo llevar yo a cabo para ver qué nivel de calidad estoy alcanzando. Estas actividades de ensayo que me permiten cuantificar un parámetro específico como nivel de calidad conforman el **control de calidad** de mi sistema.

Si los recursos o los productos no cumplen el control de calidad, estamos ante lo que denominamos en calidad como error o defecto. El incumplimiento del proceso fuera de lo estandarizado y del margen es una no conformidad.

Por ejemplo: cultivo de ovocitos para su maduración en una incubadora.

Rango T^a para ovocitos, mi estándar son los 37°C y mi rango de margen es de ± 0.5 . En un periodo de un mes la temperatura de mi incubadora se ha subido a más de 38° unas 3 veces. Estamos ante una no conformidad porque un parámetro (la temperatura) de mi proceso (cultivo de ovocitos) se ha desvaído de mis estándar y de los márgenes especificados. Si constituye un error o no deberemos comprobar si las alteraciones puntuales han afectado al nivel de calidad de mis ovocitos.

Así hemos analizado hasta este momento cómo define las Normas ISO el Control: “consiste en verificar, mediante la confrontación con estándares y parámetros oportunamente fijados si los resultados que se van obteniendo corresponden a los previstos..., en recoger datos que permitan efectuar acciones correctivas...”

El sistema de control puede desarrollarse a tres niveles diferentes capaces de ser valorados o evaluados: control de resultados, control del proceso o de la ejecución y control de la estructura.

1.7.1 Control de resultados

El control centrado en los resultados solamente controla los resultados finales obtenidos. Se centra en los resultados obtenidos por las diferentes actividades en la medida que ellos tienen un impacto en la población.

1.7.2 Control del proceso o de la ejecución

Para analizar un proceso, un resultado o una estructura con el propósito de hacer control de calidad uno debe tener conocimiento de los parámetros normales de la operación que quiere controlar. Esto requiere tener acceso a los valores obtenidos de esos parámetros que hemos ido obteniendo a lo largo del tiempo al realizar el proceso en nuestras instalaciones. La información se encuentra disponible en la empresa, y lo único que hay que hacer con ella es agruparla o procesarla convenientemente para formar las medidas deseadas. A la vez es útil recurrir al conocimiento por bibliografía, guías de recomendación, etc. Este último nos dará una idea de la variabilidad inherente al proceso.

El análisis nos permite identificar todos los factores que afectan al proceso que está siendo analizado. Básicamente, mediante el uso de técnicas de control de procesos seremos capaces de establecer si, en cualquier punto concreto en el tiempo, nuestro sistema estaba bajo control o no si lo comparamos con los niveles que habíamos conseguido alcanzar hasta ese instante. El interés es detectar y corregir las desviaciones en la ejecución del proceso que puedan tener consecuencias negativas en el logro de los resultados. Medidas de los procesos del laboratorio (o de cualquier otro proceso dentro del Centro de IVF) son simplemente valoraciones que forman las bases cuantitativas para el control de calidad y la garantizan.

1.7.3 Control de la estructura

Por estructura se entiende el conjunto de recursos (humanos, físicos, económicos, etc.) que intervienen en la realización de los procesos. La estructura como un componente evaluable de la calidad se entiende fácilmente en términos del número apropiado de personal, conveniencia de equipamiento, etc.

No es mejor implementar indicadores en procesos en vez de en resultados, ni mejor en estructura que en procesos. Existe una relación funcional entre los tres elementos: las características estructurales influyen en la ejecución de los procesos y la ejecución de los procesos en los resultados obtenidos. No obstante es cierto que una buena estructura y un buen proceso no garantizan totalmente buenos resultados y que sólo se obtienen buenos resultados con una buena estructura y una buena ejecución del proceso.

1.8 La medición del nivel de calidad (monitorización)

Las actividades de ensayo para el control de calidad son el muestreo y el análisis. El resultado final de los procedimientos de muestreo y análisis son los datos cuantitativos. La validez de los datos depende de la exactitud y precisión de los **métodos** usados para generar datos. Para asegurar la validez, se emplean a su vez diversas medidas de control de calidad para cada uno de los **métodos** de referencia.

La principal medida de control de calidad es la calibración. La **calibración** comprueba la exactitud de una medición al establecer la relación entre el resultado de un proceso de medición y un estándar de concentración conocida. Cada uno de los métodos de referencia tiene procedimientos precisos de calibración que se deben seguir para asegurar resultados exactos.

Una herramienta muy útil a la hora de ilustrar un control de calidad es representar los datos que hemos ido registrando en un gráfico²⁵. Esto nos permitirá hacer un análisis visual y directo de cómo ha ido evolucionando en el tiempo ese parámetro.

Un gráfico de control para un proceso en general cuyos resultados se han medido haciendo uso de un Indicador que posee un rango de valores que va del 0 al 100 (por Ej. si lo expresamos en relación a un porcentaje)

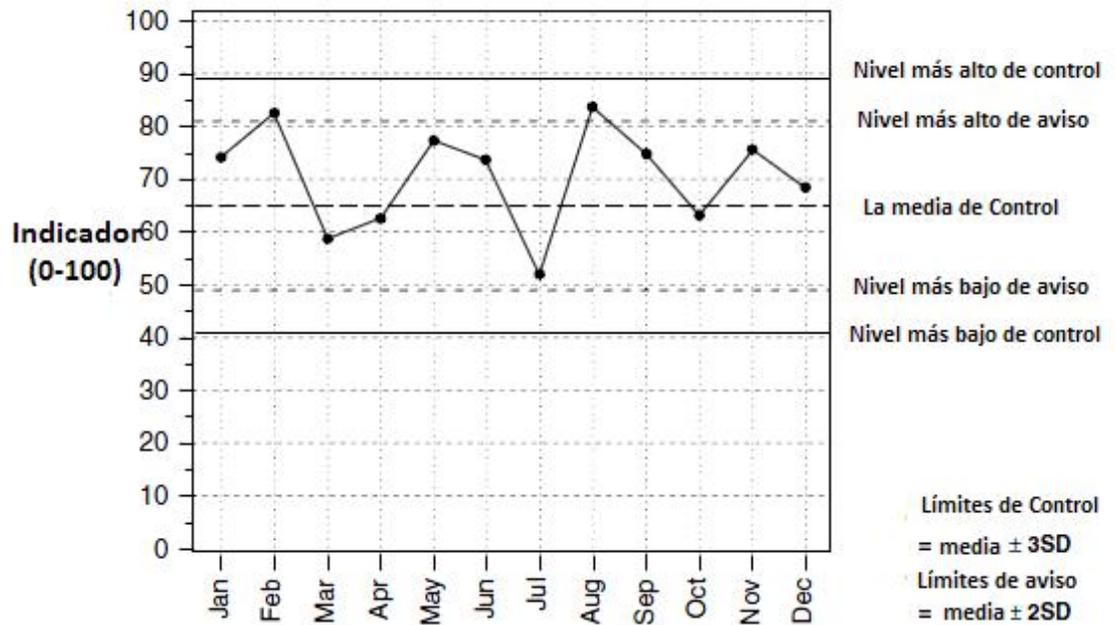


Ilustración 6 Un gráfico general de control. Obtenido de Mortimer

Datos de referencia sobre el rendimiento del proceso se requieren para un periodo representativo de la actividad, x. ej. Valores medios cada mes para el Indicador durante los 6 meses previos. La media y la desviación estándar (SD) de estos 6 valores (cada uno correspondería a un mes) se calcula y son esos valores los que se usan para establecer la “media Control” y los dos tipos de valores límite:

- Límite de aviso, que viene definido por el valor de la media \pm 2SD
- Límite de control, que viene definido por el valor de la media \pm 3SD

El número de periodos de datos anteriores que se requieren para calcular los valores de límite de control para un Indicador **no se predeterminan arbitrariamente**. El número empleado debe ser suficiente para darnos una buena indicación de la variabilidad del Indicador, pero al mismo tiempo no ser tan numerosos que la desviación estándar se vea reducida a un rango en el que los valores de control límites sean demasiado estrechos, resultando en que aparentes desviaciones de los valores control con frecuencia terminen resultando ser fluctuaciones al azar en el Indicador.

También es verdad que según un laboratorio se vuelve mejor organizado, se implementan métodos más robustos, o se realizan más casos por unidad de tiempo, habrá una reducción en la variabilidad inherente en nuestros Indicadores.

Toda medida lleva un error asociado con ella y, sin una valoración cuantitativa de ese error, una medida carece de valor, incluso de credibilidad. El parámetro que cuantifica los límites de error de una medición es la “incertidumbre de la medida”. Una incertidumbre de medida debe tener asociada un nivel de confianza, lo más común es trabajar con un intervalo de confianza del 95.¹⁰

Cuando se alcancen estas circunstancias los valores límites de control deberán ser recalculados a partir de datos más recientes.

Hasta que los valores medios en consecutivas y periódicas mediciones no se mantengan dentro de los valores límites de control, el proceso no se considerará como “controlado”.

Al realizar la medida de nuestro indicador nos podemos encontrar ante diversas situaciones:

✓ El Indicador cruza el valor límite control en la dirección adversa. Esta situación es inaceptable y requiere acción inmediata para determinar si existe un problema y, una vez verificado, intentar buscar una solución (problema probable)

✓ El Indicador cruza sus valores de aviso o advertencia en la dirección adversa. La acción a tomar es determinar si pudiese existir un problema o se estuviese empezando a desarrollar (problema posible).

✓ El Indicador muestra que en tres mediciones sucesivas hay cambios en los valores con una tendencia hacia los valores de aviso y de control límite pero sin llegar a cruzarlos. Debemos determinar si puede estar empezando a desarrollarse un problema (problema posible).

✓ El Indicador cruza los valores límite de control pero en una dirección que es beneficiosa para mi proceso. El sistema debe ser revisado para ver por qué ha ocurrido y si la mejora se sostiene. Si la mejora es real, entonces debemos volver a redefinir los valores límites de control (volver a validar).

2. INDICADORES DE CALIDAD

2.1 Cómo lo estamos haciendo

Para medir el grado o cantidad en el que los diferentes aspectos de las actividades que conforman nuestro sistema se ajustan a las especificaciones o **niveles de calidad**

pre-establecidos (**estándares**) precisamos de unos instrumentos de medida. Estos instrumentos de medida se llaman “indicadores” de calidad.

Sirven para describir actividades en términos cuantitativos o cualitativos contribuyendo a evaluar dicha actividad. Cómo funciona una actividad, pues hacen referencia a parámetros estables que sirven de magnitud de comprobación del funcionamiento de ésta. Nos permite identificar esa actividad así como seguir la calidad que se está ofreciendo al cliente como las desviaciones que se puedan producir en el servicio. Su existencia es fundamental para fundamentar los resultados de cualquier acción correctiva.

Se basan en hechos y datos. Con la información que nos proporcionan podemos tener bajo control el sistema y detectar aquellos **puntos “débiles”**. Estas mediciones se realizan a lo largo del tiempo para evaluar cómo evoluciona e intentar poco a poco alcanzar el nivel estándar, que responde al nivel de calidad **objetivo** que la organización espera y desea alcanzar.

2.2 Tipos de Indicadores

Hay distintas clases de indicadores⁴⁰. Por un lado están los Indicadores de ejecución que son aquellos que aluden a los resultados de la actividad. Pueden ser:

- De eficiencia, si nos ayudan a medir los recursos necesarios para alcanzar un determinado nivel de eficacia.
- De eficacia, si comparan los resultados obtenidos con los previstos. Si estamos consiguiendo los objetivos planteados según nuestra política de calidad.
- De efectividad, si valoran el resultado global concreto con el previsto, el impacto en la población.

Por otro lado tenemos los Indicadores de proceso que son los que sirven para medir la forma como se están haciendo las cosas, para hacer visibles puntos críticos



Ilustración 7 Esquema de tipos de indicadores

2.3 Propiedades Indicadores

Sin embargo, se requiere tener especial cuidado en asegurarse que estos Indicadores se calculan de modo que no sólo comparemos manzanas con manzanas, sino que deben ser el mismo tipo de manzanas. Los Indicadores deben reunir una serie de cualidades:

- **Pertinencia:** El indicador expresa un concepto y mantiene con claridad esta significación a lo largo del tiempo, esto es, el indicador es adecuado para lo que se quiere medir. A la vez lo primero que se debe tener en cuenta es que lo que vayamos a medir sea relevante para el objetivo que perseguimos. El objetivo puede ser mejorar el nivel de calidad de los embriones obtenidos por fecundación *in vitro*. Entonces uno debe plantearse si el saber ese dato me ayudará a mejorar mi proceso. Debo plantearme cómo puedo emplear ese dato, qué información me aporta y qué decisiones podría ayudarme a tomar concretamente. La implementación y mantenimiento de un indicador consume recursos y tiempo de tu personal, por lo tanto, debe valer la pena invertir en él.

- **Objetividad:** Su cálculo a partir de las magnitudes observadas, no es ambiguo. Si tu Indicador necesita que una persona ingrese los datos de los que se alimenta, corres un riesgo de malversación. La persona que recoge los datos no debe ser la que pueda beneficiarse de los resultados para que no exista la posibilidad de manipulación de los mismos en su favor, si no existe ningún otro tipo de verificación.

- Unívoco: Las modificaciones expresadas por el Indicador, no permiten interpretaciones equívocas.

- Sensibilidad: La medida del indicador es suficientemente eficaz para identificar variaciones pequeñas.

- Precisión: El margen de error del indicador es aceptable.

- Fidelidad (o repetibilidad): Las cualidades del indicador se mantienen con el tiempo.

- Accesibilidad: Otra cuestión importante es cómo de factible técnicamente sería la obtención de esa medición. Su obtención tiene un coste aceptable y es fácil de calcular e interpretar. Potencialmente se pueden diseñar muy buenos indicadores pero que no se pueden llevar a la práctica en la realidad.

Un Indicador debe implantarse teniendo bien definidos todos estos aspectos para no cometer errores que vuelvan los resultados obtenidos inútiles por no ser fiables o que nunca lleguen a ser usados habiendo desperdiciado unos valiosos recursos³⁹. La utilidad y fiabilidad del control de gestión se vincula necesariamente a la utilidad y fiabilidad de los Indicadores.

Antes de que podamos aplicar el dogma central de calidad y controlar, practicar, asegurar y mejorar la calidad del laboratorio, debemos conocer exactamente qué indicadores y qué nivel de calidad es necesario para asegurar que el servicio prestado se hace satisfactoriamente. Se hace por tanto imprescindible la definición de los indicadores de calidad así como de sus especificaciones.

2.4 Definir un Indicador

La norma ISO 9001 dice textualmente:” Deben determinarse los métodos para obtener y utilizar dicha información”.¹⁶

Todo Indicador necesita para su completa definición una serie de datos e información general sobre la característica que va a controlar. La información a recoger para documentar un indicador puede ser:

- Código y denominación del servicio.
- Código denominación de proceso.
- Denominación del Indicador. Nombre que identifica al indicador de forma clara y sin ambigüedades.
- Descripción del indicador. Características, actividad o aspecto al que está asociado el indicador (lo que mide el indicador)
- Unidad de medida. Especifica la unidad de medida a utilizar. Se debe procurar utilizar unidades estándares y normalizadas (cualquier responsable de la medición debería obtener el mismo valor de la medición), que faciliten su uso.
- Forma de calcular el indicador. Especifica las operaciones matemáticas, estadísticas, lógicas, etc. para realizar el cálculo y obtener el valor asociado al indicador, los medios para procesar la información e informar del resultado.
- Fuentes de los datos. Lugar y forma de recopilar los datos. Algo de vital importancia es prever la forma de recolección de la información. El formato, momento y método de registro, responsable de recoger esos datos, etc.
- Estándar a alcanzar. Valor numérico a alcanzar en el indicador expresado en la unidad de medida indicada. También se pueden especificar intervalos numéricos de referencia (rango de valores aceptables) o límites numéricos (mayor que, menor que). Es el valor de referencia para medir la evolución del indicador y representa el objetivo que pretende alcanzar la Organización en un periodo de tiempo determinado. El estándar puede ser negativo o positivo.
- Evolución deseada. Tendencia que debe seguir el indicador para conseguir los objetivos propuestos, expresado mediante los términos de “Disminuir”, “Aumentar” o “Mantener Estable” el valor del indicador.
- Frecuencia de medida. Período de tiempo en los que se obtendrá el valor asociado al indicador.

Las fuentes habituales para definir indicadores son las Normativas legales, códigos éticos y deontológicos, protocolos, normas o sistemáticas de funcionamiento establecidos, conferencias de consenso, literatura científica sobre el tema, opinión y

experiencia de profesionales expertos, la práctica prevalente y la práctica de profesionales o de instituciones líderes.

2.5 Cómo elegir los Indicadores a medir

Los Indicadores son cruciales para el desarrollo, y el mantenimiento, de un sistema de calidad. En concordancia con la máxima “No puedes controlar lo que no puedes medir”, los Indicadores que se empleen deben reflejar las áreas que, cuando se controlan, consiguen un beneficio medible para el programa IVF.²⁸ Pongamos un ejemplo, incluso aunque la tasa de embarazo es un indicador importante para una valoración general del programa, no es necesariamente la más útil en términos de eficiencia, finanzas y operaciones.

Los indicadores de calidad propuestos deben cubrir:

- los servicios ofrecidos al cliente, crear un producto o servicio que satisfaga al cliente o consumidor final.
- los servicios internos que se generan entre departamentos y que desembocan finalmente en el servicio al cliente. Desarrollar procesos que se encuentren libres de deficiencias productivas para evitar la potencial insatisfacción del cliente.

Es bastante probable que los Indicadores más útiles difieran según un programa IVF frente al siguiente, puesto que dependerán de las áreas a las que se refieren para la mejora. Esto es la razón por la cual las autoridades de acreditación no proveen una lista de indicadores “obligatorios”, se espera que las áreas de necesidad sean identificadas como parte de cada proceso de Mejora de Calidad de cada Centro específico. En el caso concreto de indicadores de resultados del laboratorio de reproducción, ASEBIR (Asociación Española para el Estudio de la Biología Reproductiva), publicó en 2007 el documento de consenso “Datos para la normalización de los Resultados del Laboratorio de Reproducción humana” que fue elaborado por su comisión de Calidad (Santos, MJ et al., 2007)³⁵

ASEBIR se creó en 1993 con la finalidad de agrupar a los profesionales que trabajan en el ámbito de la biología de la Reproducción para fomentar el estudio, desarrollo y difusión en este campo y poner en común los conocimientos adquiridos. Desde la plataforma de su junta Directiva se crearon distintas comisiones encaminadas a alcanzar un consenso en diferentes aspectos de la embriología clínica. Una de estas

comisiones denominada en un principio “Registro del laboratorio de Reproducción asistida” tenía dos objetivos principales. El primero correspondía a la necesidad de normalización de los formatos de presentación de los resultados de las tareas que se realizan en los laboratorios de andrología y de embriología clínica ya que se carece de un lenguaje común para poder comparar resultados en convenciones científicas y/o actos similares. El segundo objetivo era el que una vez que se hubiesen establecido los formatos de presentación de resultados, se eligieran los marcadores o indicadores de calidad que ayuden a definir la excelencia en la práctica de dichas tareas.

A partir del documento redactado para cubrir el primer objetivo (“Datos para la normalización de los Resultados del Laboratorio de Reproducción humana”) el comité discutió y construyó algunos indicadores que ellos consideran pueden ser recomendables como marcadores de calidad en los laboratorios de reproducción humana.

2.6 Construcción de Indicadores

Para este cometido el comité consideró que el modelo propuesto por la Joint Commission on Health Care Organizations, una autoridad de acreditación de origen americano, era el modelo idóneo para construir nuevos indicadores.^{22, 23} La propuesta recomendaba definir y considerar una serie de apartados que fueran comunes para todos los indicadores que permitiera definirlos y al mismo tiempo justificar su elección. A continuación, se enumeran estos apartados y cuál es su significado del modo en que fueron definidos por la Joint Comisión.

Nombre	
Dimensión	Característica o atributo del indicador para que sea considerado de calidad (accesibilidad, efectividad, eficiencia, adecuación, riesgo...)
Justificación	Utilidad del indicador como medida de la calidad.
Fórmula	Expresión matemática que refleja el resultado de la medición. Habitualmente se expresa en forma de porcentaje, pero también se puede expresar como una media o número absoluto.
Explicación de términos	Definición de aquellos aspectos del indicador que puedan ser sujetos a diversas interpretaciones. Ej. Si en el Indicador se menciona la realización de un análisis de semen completo, habrá que especificar cuáles son los parámetros necesarios para que el análisis de semen pueda etiquetarse como completo.

Población	Descripción de la unidad de estudio que va a ser objeto de medida. Puede referirse a pacientes, ciclos, punciones, etc.
Periodicidad	Muestra representativa de la población definida.
Tipo	Clasificación según el enfoque de la evaluación. De estructura (aparatos y dotaciones), de proceso (actividades asistenciales) o de resultado (efecto de la actividad)
Fuente de datos	Origen de la información y la secuencia de obtención de datos necesaria para poder cuantificar el indicador (experiencia de centros, bibliografía y opinión de expertos).
Estándar	Nivel deseado de cumplimiento para el indicador (óptimo, deseable o mínimo)
Comentarios	Reflexiones a la validez del indicador o poner de manifiesto posibles factores de confusión que deberán ser tenidos en cuenta a la hora de interpretar los resultados.

Tabla 1 Definición de un Indicador por la Joint Comission on Healht Care Organizations

2.7 Definir el estándar

Actualmente, no existen especificaciones de calidad oficiales para los indicadores de calidad del laboratorio de Embriología. Las especificaciones de calidad vienen dadas por los valores que queremos obtener (estándar. Ver Tabla 1) durante la medición o monitorización del nivel de calidad. En el trabajo realizado por ASEBIR pretendieron establecer estas especificaciones para algunos indicadores siguiendo las estrategias propuestas en la conferencia de consenso de Estocolmo de 1999 sobre “Las especificaciones de calidad en un laboratorio Médico”.¹⁸

Las estrategias para establecer el estándar de un indicador se basan en cómo averiguar cuál es ese valor estándar, de qué fuentes sacamos esa información. Se pueden calcular de distintas maneras.

Una de ellas se denomina “método basado en el estado del arte”. Este estado de arte hace referencia al nivel más alto de desarrollo conseguido en un momento dado sobre cualquier aparato o técnica. Lo que aquí se considera es que si uno de cada cinco laboratorios puede conseguir un nivel de calidad determinado con la tecnología y la metodología que disponemos en la actualidad el resto de laboratorios deberían de ser capaces de alcanzarla también. Se debe analizar qué están haciendo mal el resto de los

laboratorios, o qué está haciendo bien ese único laboratorio para alcanzar esos resultados.

En el campo de la embriología clínica se puede aplicar este concepto partiendo de los registros de actividad de técnicas de reproducción asistida, considerando como especificación aquellos resultados obtenidos por los mejores laboratorios.

ASEBIR para establecer sus especificaciones de Calidad basadas en el estado del arte utilizó los Registros de Técnicas de Reproducción asistida (TRA) de Inseminación Artificial y FIV/ICSI del año 2009, de la Sociedad Española de Fertilidad (SEF), único registro nacional sobre TRA y validado por el Ministerio de Sanidad. ⁽²³⁾ Se hizo un análisis retrospectivo de los datos del registro, que son ofrecidos por las clínicas Españolas de forma siempre voluntaria. Los datos se recogen centro por centro. En el 2009 participaron 139 laboratorios.

Para el cálculo de especificaciones de calidad analítica se definen tres niveles de especificaciones:

- Mínima, aquella que es capaz de conseguir el 95 % de los laboratorios.
- Deseable, aquella que es capaz de conseguir el 75 % de los laboratorios.
- Óptima, aquella que es capaz de conseguir el 25 % de los laboratorios.

Otra estrategia posible que fue empleada por el comité de ASEBIR para complementar la información obtenida a partir de la base de datos del SEF consistió en una revisión sistemática de la literatura científica de más alto nivel por parte de un grupo de expertos sobre la materia consultada. Aquí la variabilidad de resultados de las diversas fuentes bibliográficas puede ser asombrosamente alta, lo que explica que algunos estándares para ciertos indicadores puedan ser bastante difíciles de establecer. A partir de esta revisión los expertos se pronuncian en una serie de recomendaciones.

Una vez inferido nuestro estándar deberemos basar nuestro control en él. Si lo cumplimos, debemos procurar mantenerlo y si es posible incluso mejorarlo. Si no lo cumplimos, debemos identificar la causa, implantar acciones que la subsanen (mejora) y volver a medir nuestro indicador hasta que cumplamos el estándar exigido.

2.8 Indicadores seleccionados por el comité de Calidad de ASEBIR

Finalmente, después de todo el trabajo llevado a cabo el comité seleccionó varios indicadores.²² En todos ellos el atributo para que fuesen considerados de interés es que reflejan, cada uno de ellos en relación a una actividad concreta, la capacidad del laboratorio a la hora de llevar a cabo esa actividad lo que repercutirá en la calidad del resultado final (efectividad).

2.8.1 Porcentaje de recuperación de espermatozoides móviles (REM)

Se necesita conocer cómo se comporta el semen al procesarlo con vistas a realizar tratamiento de reproducción asistida adecuado. Para ello se realizan los llamados test de mejora o REM (recuperación de espermatozoides Móviles).

Este Indicador sirve para medir la capacidad del laboratorio para recuperar el mayor número de espermatozoides móviles progresivos de movimiento rectilíneo y rápido 20~m/s (categoría a) más la suma de los de movimiento más lento o haciendo curvas (categoría b) de una muestra de semen en fresco para indicar o realizar adecuadamente una técnica de reproducción asistida. Es un indicador exclusivo de laboratorio que influye en el resultado final del proceso al ser estos espermatozoides los únicos del total de una muestra espermática capaces de fecundar un ovocito con éxito.

La fórmula para obtener el valor numérico de este indicador es $(N^{\circ} \text{ total de espermatozoides a+b recuperados} / n^{\circ} \text{ total de espermatozoides a+b iniciales}) \times 100$.

Se realizará esta medida en todas las muestras de semen fresco que presentan espermatozoides de calidad a y/o b iniciales, analizándose los datos en conjunto cada 30 muestras para ver cómo se está trabajando en el laboratorio de andrología.

El valor estándar perseguido después de consultar la bibliografía disponible es de una recuperación de un **25%** como mínimo. Si se obtiene un resultado inferior, la metodología deberá ser revisada.

2.8.2 Test de descongelación de una muestra de esperma

Por diferentes motivos (donación de esperma almacenado en bancos de esperma, paciente oncológico, pre-vasectomía, etc.) a veces se hace necesario que la muestra de semen de un paciente deba ser congelada para mantener su capacidad fertilizante hasta el momento en que se realice el tratamiento de reproducción asistida. Llegado ese momento la muestra es descongelada y el proceso, si no se realiza adecuadamente, puede alterar la calidad del esperma haciendo disminuir las posibilidades de embarazo.

Este Indicador diseñado por ASEBIR refleja la capacidad del laboratorio para recuperar el mayor número de espermatozoides móviles progresivos de movimiento rectilíneo y rápido $20\text{-}m/s$ (categoría a) más la suma de los de movimiento más lento o haciendo curvas (categoría b) de una muestra de semen descongelada para realizar adecuadamente una técnica de reproducción asistida.

La fórmula para obtener el valor numérico de este indicador es (porcentaje de espermatozoides a+b tras descongelación / porcentaje de espermatozoides a+b en fresco) x 100.

Esta medida se realizará en todas aquellas muestras de semen congeladas que presentan espermatozoides de categoría a y/o b en fresco. Sin embargo, el análisis no debe realizarse en sémenes de pacientes oncológicos, debido al valor que tienen las muestras congeladas y su limitación en número de muestras. Se analizarán los datos en conjunto cada 30 muestras para ver cómo se está trabajando en el laboratorio de andrología.

El valor estándar perseguido después de consultar la bibliografía disponible es de una recuperación de un **35%** como mínimo. Si se obtiene un resultado inferior algo falla en nuestra metodología y deberá ser revisada.

Desde la perspectiva de los pacientes, aparte del coste y de la localización del centro, la tasa de embarazo del Centro y la tasa de implantación serán los Indicadores que probablemente busquen.

La constitución de un sistema de indicadores se corresponde con el paso “Check” (verificar) de la metodología PDCA que, según la norma ISO 9001:2008 contempla el seguimiento y medición de los procesos y los productos (o servicios), la comparación con los objetivos y los requisitos para el producto (o el servicio) y el informar sobre los resultados.

Esta misma norma¹⁴ establece (apartado 8.4- Análisis de datos) que “ la Organización debe determinar, recopilar y analizar los datos apropiados para demostrar la idoneidad y la eficacia del sistema de gestión de la calidad y para evaluar dónde puede realizarse la mejora continua de la eficacia del sistema de gestión de calidad”.

A través de la evaluación de los Indicadores se llega a hacer una serie de Recomendaciones. Cada Laboratorio debe deducir cuales van a ser los indicadores que va a necesitar.

Los indicadores nos permiten detectar problemas (Troubleshooting)

3. LABORATORIO DE REPRODUCCIÓN

Cuando pensamos en un servicio de atención a una pareja que es incapaz de concebir por si misma el laboratorio de reproducción tiene sin duda un papel protagonista dentro del proceso global. Por lo tanto es necesario asegurarnos de que nuestro Sistema de Calidad garantiza la seguridad y la reproducibilidad de todos los métodos llevados a cabo en él. Dentro del contexto de un laboratorio de reproducción esto incluye que el modo de realizar los procedimientos debe quedar por escrito, el personal debe poder acceder a una formación continua para garantizar que su trabajo esté al nivel de los últimos avances en este campo, poseer un programa de seguridad que garantice la protección no sólo del laboratorio sino del personal que trabaja en él y de los pacientes, etc.

Un sistema de calidad bien implantado nos permite identificar problemas o errores que puedan darse lugar en nuestro laboratorio, y corregirlos. Se contempla el laboratorio

como un todo lo que repercute en mejorar el proceso completo y por tanto mejorar el servicio ofrecido a nuestros pacientes.

Las actividades que se incluyen dentro de un control de calidad en un laboratorio clínico aseguran la fiabilidad técnica de los procedimientos que se realizan en ese laboratorio. Como hemos explicado previamente, al verificar y documentar los procesos realizados en el laboratorio lo que estamos haciendo es asegurarnos que se están realizando dentro de unas condiciones estables, que siempre nos mantenemos dentro de unos límites previamente establecidos que hemos definido como tolerables o adecuados. Este modo de trabajar hace que cualquier resultado anómalo en un paciente pueda ser atribuido a las características específicas de ese paciente, y no a una incidencia o mala praxis de nuestro laboratorio.

Uno de los aspectos del programa de control de calidad se basa en la verificación de la calidad técnica y de los procedimientos. Este nuevo concepto hace referencia al control del funcionamiento de aparatos (incubadoras, balanzas, pipetas, etc.), al adecuado estado de las instalaciones (calidad del aire, humedad, etc.) y material (caducidad, obsolescencia, etc.) y al trabajo eficiente del personal. Deben estar protocolizadas las medidas que se deben aplicar para prevenir fallos y si estos se diesen los procedimientos a realizar en caso de que no se cumplan las especificaciones técnicas determinadas.

El control de calidad de los procedimientos se puede realizar a dos niveles de actuación: analítico y biológico.

Si se contempla desde un punto de vista **analítico** lo que estamos controlando es la variabilidad inherente a cualquier actividad de medida (concentración de espermatozoides, calidad embrionaria, etc.) intentando evitar que nuestros resultados de medida sean imprecisos y que esa medida dé como resultado uno que esté siempre dentro de un rango de valores, que no dependa de quién haga la medición, o que el aparato esté mal calibrado, etc.

El control de calidad interno **biológico** hace referencia a la idoneidad de todos los aparatos, medios y materiales que vayan a entrar en contacto con los valiosos gametos y

embriones evitando que no resulten tóxicos o puedan perjudicar a la viabilidad de las células.

En el año 2007 la Asociación Nacional de Clínicas de Reproducción Asistida (ANACER) que agrupa a las principales clínicas privadas que ejercen en España contrató los servicios de un reputado experto en el campo de la calidad en la Reproducción Asistida que ha trabajado como consultor freelance a tiempo completo desde Octubre de 1999, el Doctor David Mortimer, para que a través de una revisión de 18 Centros localizados en España realizase una visión general de las áreas principales dentro del laboratorio de Reproducción : instalaciones, equipos, procedimientos técnicos y materiales y recursos humanos. El objetivo era identificar problemas en los laboratorios para que los centros desarrollasen soluciones/sistemas unificados.³⁰

A través de un análisis de cómo se debe trabajar y cómo debe estar construido y equipado un laboratorio de reproducción a continuación se realiza un análisis de estas distintas áreas.

3.1 Instalaciones y equipos

Los laboratorios de Reproducción asistida son únicos dentro de la categoría de Laboratorios clínicos y las especificaciones o exigencias descritas para estos últimos deben adaptarse y convertirse para su uso en reproducción asistida.

El trabajo en un laboratorio de reproducción comprende tres tareas fundamentales que son: la manipulación de muestras de semen (laboratorio de andrología), la manipulación de ovocitos y embriones (laboratorio de embriología-FIV/ICSI) y el trabajo de gestión administrativa. Una adecuada distribución y diseño de las distintas áreas de trabajo es un factor clave, ya que cada una de estas tiene unas necesidades específicas por la labor que en ellas se realiza. Las dos primeras conllevan el manejo de muestras biológicas muy valiosas y susceptibles de deterioro irreversible si las condiciones ambientales (temperatura, esterilidad, luz, etc.) y de manipulación por parte del personal no son las adecuadas. Por ello, el área administrativa debe estar diferenciada y separada físicamente del área de obtención y manipulación de material y

muestras. Pero para asegurar el correcto funcionamiento de estas tres áreas la comunicación entre ellas tiene que ser fluida.

El espacio físico para el laboratorio de andrología y de embriología ha de ser de acceso restringido y limitado al personal cualificado y no debe estar en situación de paso obligado a otras dependencias del centro (facilita la comodidad y privacidad de los pacientes). Esta medida ayuda a que existan condiciones de esterilidad. Por ello paredes, techo y suelo han de ser de material no poroso y de fácil acceso para su limpieza y desinfección (se recomienda evitar las uniones en ángulo recto entre pared y suelo) utilizando en todo momento pinturas y barnices carentes de toxicidad.

Estas pinturas deben ser de tipo “epoxy”, ecológicas o similares con 0% de contenido en disolventes orgánicos que carezcan de compuestos amoníacos y metales pesados. El suelo se recomienda continuo de linóleoum o similar, excepto en el suelo del criolaboratorio ya que este tipo de suelo se cuartea al contacto con el nitrógeno líquido. Las superficies de trabajo se recomiendan que sean de acero inoxidable, acrilopoliuretano o similar.

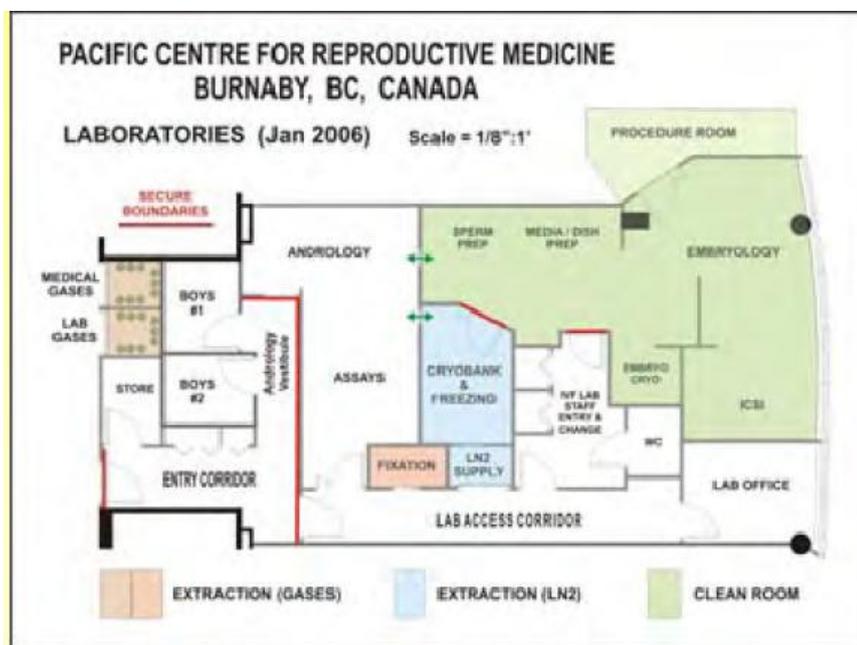


Ilustración 8 Plano del Laboratorio para Reproducción Asistida en Burnaby, BC, Canada. Este debería ser considerado como un buen modelo a seguir en la distribución de las distintas áreas así como en la comunicación y aislamiento entre ellas.²⁸

En la actualidad ninguna norma ha establecido un estándar internacional aceptado para calcular la superficie de trabajo necesaria en laboratorios clínicos. La amplitud del laboratorio tiene que ser la adecuada para poder albergar todo el equipo necesario y permitir la movilidad del personal. Existe un requisito mínimo en el caso de un laboratorio de fecundación *in vitro* y es que este debe contar con dos habitaciones independientes, de modo que el laboratorio de embriología esté aislado lo máximo posible del resto de dependencias. También debe tener una superficie mínima de 12 metros cuadrados. Deberá tener comunicación directa con el laboratorio de andrología, la sala de punción ovárica y transferencia embrionaria de modo que el personal pueda moverse sin problema de un habitáculo a otro pero a la vez esté aislado para mantener la luminosidad, temperatura y esterilidad requeridas.

Lo más recomendable es el uso de luz de fuentes regulables incandescentes, mejor luz amarilla que blanca, y una temperatura ambiental en el laboratorio entre 22-25 °C. Deben controlarse y registrarse diariamente la temperatura, CO₂/pH de incubadoras, estufas y frigoríficos con instrumentos externos a los del aparato, a ser posible con un sistema de alarma que ponga de manifiesto cualquier anomalía en su funcionamiento.

3.1.1 Laboratorio de Andrología

El Laboratorio de Andrología se situará lo más cerca posible del lugar de la habitación de recogida de la muestra y del lugar en el que se va a utilizar la muestra preparada. Esta área del laboratorio de Reproducción se reserva para el análisis y preparado de la muestra seminal la cual debe hacerse siguiendo las recomendaciones de la OMS (2010)³⁶ o de la European Society of Human Reproduction and Embriology (ESHRE 2003).

Para el control interno de calidad debe existir un registro de cualquier incidencia acontecida durante la extracción de la muestra.

El equipamiento básico para cualquier laboratorio de Andrología^{1, 7} es el que enumeramos a continuación:

1. Una incubadora de CO₂ si se emplean medios tamponados con bicarbonato. En caso de utilizar medios con otros tampones (HEPES) bastaría con una estufa que mantenga la temperatura en torno a los 37°C. El mantenimiento de esta temperatura facilita la licuefacción (es un proceso enzimático que se ve potenciado por la temperatura). A la vez es una agitadora que está en continuo movimiento lo que facilita el análisis inmediato.
2. Cabina de flujo laminar en la que poder manipular las muestras en un ambiente estéril.
3. Frigorífico y congelador -20°C.
4. Placas calefactadas para evitar el choque térmico de la muestra seminal por la temperatura ambiental del Laboratorio y de las superficies de trabajo.
5. Microscopio con platina calefactada, y con contraste de fases (40x), y objetivo de inmersión (100x).
6. Contador manual multicanal.
7. Botes estériles de 60-100 ml de propileno de boca ancha y con tapa para la recogida de muestras.
8. Contenedores para desechos y material punzante.
9. Medios para la preparación de la muestra y su tinción.
10. Cámara de recuento celular (cámara de Makler y/o de Neubauer)
11. Pipetas de desplazamiento positivo y pipetas Pasteur estériles de plástico, desechables.
12. Filtros Millipore® de 0.22 μ
13. Tubos de plástico de fondo cónico de 12 ml.
14. Centrífuga con tapas de seguridad.

3.1.2 CONTROL DE CALIDAD EN EL LABORATORIO DE ANDROLOGIA

Los controles de calidad tanto internos como externos de un laboratorio de andrología son aconsejables.²⁴ En España desde hace unos años,³³ vienen realizándose los controles externos por parte de un Laboratorio auspiciado por la Asociación Española de Biólogos de la Reproducción (ASEBIR) y que a su vez colabora con la Asociación española de Biopatología Médica y la Asociación Española de Farmacéuticos Analistas.

Los envíos que realizan constan de:

- DVD para evaluación de movilidad espermática
- Suspensión de espermatozoides para evaluación de la concentración.
- Portas de semen fijado y teñido y fijado pero no teñido para evaluación de la morfología espermática
- Portas teñidos para la evaluación de la motilidad.

La continua evaluación del personal del Laboratorio con controles internos se hace necesaria así como los controles periódicos de las estufas, microscopios, calibración de las pipetas, etc.

3.1.3 Laboratorio de Embriología (FIV/ICSI)

El Laboratorio de Embriología debe estar cerca o comunicado con el quirófano en el que se lleva a cabo la extracción del líquido folicular y la transferencia embrionaria para evitar que los ovocitos y embriones sufran estrés ambiental por un periodo de tiempo excesivo e innecesario. Por la misma razón debe estar situado cercano al laboratorio de andrología en el que se recoge y prepara la muestra seminal para su posterior utilización en el momento de la inseminación o fertilización.

La manipulación del embalaje en el que llegue todo el material necesario para realizar las técnicas de reproducción asistida debe realizarse fuera del laboratorio de embriología y se debe airear todo el material fungible destinado al cultivo embrionario antes de su uso para evitar contaminantes producidos durante su fabricación, como puede ser el caso del estireno.

Se conocen los efectos no deseados que la disminución de temperatura durante el cultivo de ovocitos/embriones puede inducir en algunos componentes del cito esqueleto como es el enlentecimiento de la división embrionaria ²¹. Por este motivo se debe garantizar que los ovocitos y embriones mantengan una temperatura de 37°C durante todo el proceso de Fecundación *in vitro* (FIV) desde la punción folicular hasta la transferencia de embriones. Existe por lo tanto, una serie de instalaciones y equipos mínimos cuya presencia permitirá mejoras significativas en nuestros resultados. En este sentido será importante que el laboratorio de embriología esté equipado con superficies

termocalefactadas o en su defecto usar placas calefactadas en las posiciones de trabajo, tanto en lupas estereoscópicas como en microscopios. Para que el trabajo pueda realizarse sin interrupciones y con un espacio adecuado se recomiendan al menos dos puestos de trabajo, y un puesto más cada vez que se vea aumentada la carga de trabajo en 300 ciclos más al año. Se recomienda que en cada puesto de trabajo haya asientos con altura regulable en beneficio a la ergonomía.

Se aconseja como mínimo dos incubadoras con CO₂ para mantener las condiciones de temperatura y de concentración de gases similares a las que se da en el útero de la mujer y en sus vías reproductivas (37 °C y 5% de CO₂). El máximo ideal por incubadora sería el de 3 pacientes aunque podría variar en función de su capacidad. Los expertos recomiendan una incubadora más por cada 300 ciclos añadidos al año si se realizan transferencias en d+2 o cada 150 ciclos si se realizan transferencias en día +3. Es recomendable a su vez destinar una incubadora para periodos cortos de incubación (minutos) y otra a incubaciones prolongadas (horas-días).

Puesto que la evaluación de los embriones debe realizarse bajo el microscopio invertido se recomienda instalar microscopios invertidos con contraste de fases, óptica de Hoffman o similar y que dispongan de platina calefactada. Según la actividad serán necesarios dos microscopios, uno con un equipo de micro manipulación adaptado y otro sin dicho equipo adaptado. En todo caso se necesita un microscopio invertido por cada 300 ciclos al año.

Los equipos de micro manipulación para realizar la técnica de ICSI deben situarse en una mesa que esté provista de un sistema de antivibración. No es recomendable pipetear con la boca, mejor usar pipeteadores automáticos con capilares o pipetas Pasteur. Si se estiran o moldean pipetas Pasteur o capilares mediante calor se recomienda hacerlo fuera del laboratorio de embriología. Y mejor usar micro pipetas automáticas autoclavables.

Para realizar técnicas de congelación se recomienda poseer dos congeladores, o en su defecto uno si el laboratorio tiene conocimientos y experiencia en técnicas alternativas de criopreservación que no requieran de un aparataje especial, como por

ejemplo la vitrificación. Por cada 100 congelaciones adicionales al mes será necesario un congelador adicional.

Para el almacenaje de ciertos reactivos y medios se precisa de un frigorífico que mantenga la temperatura en torno a los +2 y +8 °C.

Como en el caso del laboratorio de Andrología debe haber contenedores para los desechos y material punzante.

No es imprescindible pero se recomienda encarecidamente disponer de un ordenador, a ser posible con programa para capturar videos, y monitor adaptables al microscopio para poder visualizar los ovocitos y los embriones.

Las bombonas de CO₂ como fuente de este gas para las incubadoras deben poseer filtros adecuados y un sistema de aporte continuo de este gas. Es recomendable que estén situadas fuera del laboratorio y debe haber una bombona de repuesto en todo momento con intercambiador automático cuando su presión descienda por debajo de 500 psi (35 Kg /cm²).

Todos los equipos deben ser de fácil limpieza y desinfección. Se recomienda limpiar y esterilizar periódicamente las incubadoras, y los tanques de nitrógeno al menos una vez al año. Los productos de limpieza deben estar diluidos en agua destilada para el laboratorio y en agua normal para el suelo. Se deben usar siguiendo las normas del fabricante y cumpliendo los protocolos establecidos para ellos. Todos los equipos deben ser revisados y calibrados y/o verificados al menos una vez al año por personal técnico cualificado, cumplimentándose con la documentación adecuada. Cualquier manipulación de estos equipos debe hacerse siguiendo las normas establecidas y estar correctamente informado y registrado. El registro incluirá identificación del profesional que ha realizado cada procedimiento, así como la fecha y hora del mismo.

Es necesario tener una fuente de energía de emergencia independiente con autonomía suficiente (SAI), que asegure el funcionamiento de incubadoras, congeladores y demás equipos críticos en el caso de fallo en el suministro general.

3.1.4 Laboratorio de crioconservación de material biológico reproductivo

Las condiciones de seguridad deben detectar cualquier escape de nitrógeno líquido o gases. Debe de disponerse de un oxímetro ambiental con sistema de alarma, así como, de un adecuado sistema de ventilación.⁶

Son necesarios contenedores para el almacenaje de nitrógeno líquido y disponer de medios crioprotectores y de descongelación comerciales, con marcado CE con los controles de calidad adecuado.

Debe existir un registro diario⁶ del control de los niveles de nitrógeno líquido.

Se registrarán todas las entradas y salidas de material crioconservado, al igual que cualquier incidencia o fallo en el método y/o proceso de congelación.

Es necesario garantizar que el material biológico congelado no entre en contacto directo con el nitrógeno líquido, para lo cual se recomienda el uso de pajuelas de seguridad biológica o sistemas que eliminen el riesgo de contaminación cruzada.

Deben existir contenedores independientes para el almacenamiento de embriones/ovocitos y para el semen, que deberían estar fuera del laboratorio.

El equipamiento necesario se enumera a continuación:

1. Material para el manejo seguro del nitrógeno líquido (pinzas, tenazas, gafas y guantes) y evitar el contacto con él.
2. Rotuladores y etiquetas (manchones, visotubos) para la identificación de las pajuelas o criotubos, que resistan las temperaturas muy bajas y largos periodos de almacenamiento.
3. Criocongeladores que permitan una adecuada programación

3.2 Instalaciones y Equipos - Indicador de la Calidad del aire

Cuando hablamos de calidad de aire estamos haciendo referencia a un aire libre de contaminantes provenientes de ese mismo aire o de fuentes específicas. Entre los diversos contaminantes que se pueden acumular con un efecto perjudicial para el ser humano se encuentran el monóxido de carbono, el dióxido de carbono y los compuestos orgánicos volátiles (COVs).

En los años 90 la incidencia de la contaminación química del aire era común en la práctica de la reproducción asistida. Con lo cual se centró el interés en averiguar qué compuestos se hallaban presentes en un laboratorio y cuál podría ser su procedencia.⁸

Se comprobó que el aire exterior sin filtrar puede ser más limpio que el aire obtenido en sistemas de ultrafiltración de alta eficacia (HEPA), o aire de incubadoras, debido a la acumulación de compuestos orgánicos volátiles derivados de espacios adyacentes o de productos específicos del laboratorio como CO₂, placas de Petri o materiales capaces de producir emisiones gaseosas.

Se encontraron grupos de productos como gases anestésicos, refrigerantes, productos de limpieza, hidrocarburos y compuestos aromáticos como benceno y tolueno. Así mismo también se detectó en grandes cantidades Isopropil Alcohol (IPA), aunque no es utilizado en el propio laboratorio.

Los datos de las concentraciones de los contaminantes del aire se usan para determinar la exposición a la que están sometidos los embriones y el efecto potencial que pueden tener sobre la concepción *in vitro*. Para limitar la exposición a estos compuestos es necesario detectarlos para identificar y subsanar las fuentes.

Los incubadores obtienen 94-95 % de su aire ambiental directamente del habitáculo del laboratorio, a través de la puerta abierta o a través de las válvulas de admisión de su parte trasera y el 5 % proviene de las botellas de gas deteriorado del propio incubador.

La calidad del aire respecto a partículas y colonias microbiológicas deberá ser equivalente a la especificada como grado A en el anexo I de la Directiva europea 2006/86/EC para la codificación, procesado, preservación, almacenamiento y distribución de los tejidos humanos y células. Esta calidad se alcanza en cabinas de flujo laminar si la sala en la que se sitúa es de grado C o B. El entorno se recomienda que sea equivalente al grado C (este nivel se alcanza con un número de renovaciones de aire proporcional al tamaño de la sala, al equipo así como al equipamiento y el personal presentes en la sala).¹²

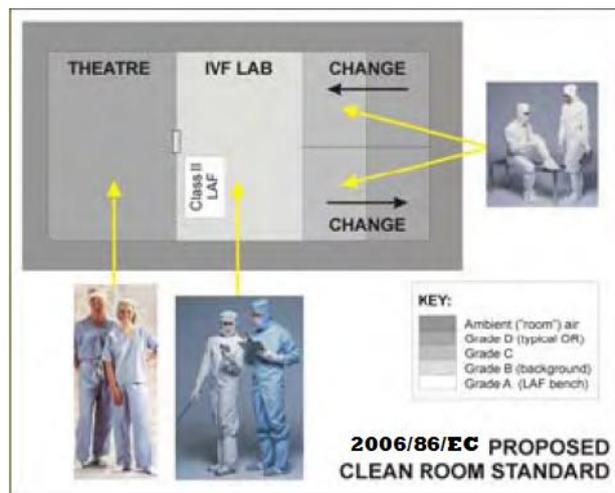


Ilustración 9 Directiva 2006/86/EC Anexo I Calidad del aire exigidas por la normativa en las distintas áreas de un Laboratorio de Reproducción

En líneas generales se utilizan los niveles de CO₂ como marcador de la calidad de aire interior de un habitáculo como puede ser un laboratorio. Los niveles exteriores de CO₂ rondan los 350 ppm. Según la ASHRAE (American Society of Heating, Refrigeration & Air condition Engineers) si se produce un incremento de ese valor, hasta rondar las 1000ppm estaremos ante una calidad de aire “pobre” debido a una renovación insuficiente al irse acumulando el CO₂ exhalado por los ocupantes del edificio.³

Pero según un estudio publicado por la compañía RAE Systems³⁴ la sola medición del gas CO₂ no es suficiente. Niveles altos de CO₂ no indican necesariamente niveles altos de compuestos orgánicos volátiles totales (tCOVs) y viceversa ya que demostraron que no había correlación exacta entre ambos valores.

3.2.1 Los compuestos volátiles orgánicos como fuente de contaminación

Los compuestos volátiles orgánicos (COVs) forman parte de aquellos factores ambientales que tienen efectos adversos sobre las células de los embriones que se manejan en un laboratorio de reproducción asistida. Y no sólo a los embriones sino también al personal que los manipula.

Ya se demostró su efecto perjudicial y sus efectos sobre la salud, abarcando un amplio espectro. Según la OMS: irritación ocular y respiratoria, dolores de cabeza, vértigo, problemas visuales y pérdida de memoria.

En cuanto a los embriones hay estudios que demuestran que su presencia en el laboratorio puede alterar el desarrollo embrionario. Los embriones tienen altas tasas metabólicas y mitóticas, de ahí proviene su sensibilidad a los contaminantes químicos tóxicos. Altas concentraciones de COVs se correlacionaron con bajadas muy importantes en la tasa de embarazos.

3.2.2 Origen y presencia de COVs en Laboratorios *in vitro*

El origen o procedencia de los COVs en un ambiente interior puede provenir de una amplia variedad de fuentes. Pueden ser productos de limpieza y de desinfección, materiales de construcción, de instrumental específico como son los microscopios, los monitores de televisión, la superficie de cubierta de ciertos muebles, los equipamientos de oficina como impresoras, a partir de contaminación microbiana como hongos y ácaros, a través de sistemas de ventilación, lacas del pelo, cosméticos, perfumes y un largo etc.

Un laboratorio destinado a Técnicas de Reproducción Asistida (TRA) es un área con un alto riesgo para COVs y otros contaminantes del aire. Medidas de rutina de la calidad de aire interior a menudo muestran moléculas de bajo peso molecular así como un alto porcentaje de moléculas hidrocarbonadas de alto peso molecular (posiblemente procedentes de productos de combustión, emisiones de gasoil o lubricantes).

Uno de los compuestos detectados en mayor concentración es el IsoPropilAlcohol (desinfectante), también se encuentran otros hidrocarburos como benceno, tolueno, xileno y hexano.

En un estudio realizado por Jacques Cohen et al y publicado en la revista Human Reproduction en 1997, se detectaron más de 300 toxinas en CO₂ comprimido utilizado para cultivos embrionarios y gametos,⁽⁸⁾ la mayoría volátiles como tolueno, octano, una variedad de freones, aditivos de gasolina, xilenos y diversos compuestos clorados así como enflorano.

Composición de VOC detectado en CO ₂ comprimido utilizado para cultivos embrionarios y gametos	
COV	ug/m ³
Benceno	100
Freones	100
Isopropanol	80
n-Pentano	50
Acetaldehído	50
n-Butano	30
Isohexano + Acido Acético	30
Acetona	24
Etanol	20
Tolueno	12
n-Heptano	10
Alkyl Benceno	10
n-Undecano	10
Alcanos	16
Tricloroetano	5
m- y p- Xileno	4
Etil Benceno	2

Tabla 2 Composición de COVs detectado en CO₂ comprimido utilizado para cultivos embrionarios y gametos

Sorprendentemente las concentraciones más elevadas se encontraron en las incubadoras. Posteriormente se confirmó que la fuente eran las botellas de CO₂ donde se encontraron hasta 100 µg/m³ de benceno. Además se encontraron concentraciones como isopropanol, acetona, acetaldehído y tolueno. Posibles fuentes de contaminación son los desmoldantes de los materiales plásticos y las juntas de la incubadora.

Ejemplos de COVs que se pueden detectar en un incubador se ven reflejados en la Tabla 2. La concentración se expresa en términos de masa por unidad de volumen, usualmente en microgramos por metro cúbico.

3.2.3 Eliminación de COVs en el Laboratorio

El conocimiento adquirido a lo largo de los años nos ha permitido mejorar el diseño de las instalaciones de un laboratorio de reproducción asistida.

Debe estar diseñado para asegurar un ambiente estable, no tóxico, libre de contaminantes. Esto es de vital importancia para todos los procesos: recolección de ovocitos, cultivo y transferencia de embriones.

Para favorecer un ambiente de esterilidad, especialmente en el laboratorio de embriología, es recomendable instalar un sistema propio de ventilación y filtrado de aire que además cree una atmósfera de presión positiva hacia el exterior para establecer un ambiente estéril en el interior. Se recomienda un sistema de filtrado de aire con prefiltro y filtro HEPA. El sistema de presión positiva debe renovar el aire del laboratorio al menos 15 veces/hora y ser respecto a estancias exteriores de 5-20 pascales.

Esto se conseguiría con un buen sistema de HVAC (Heating, Ventilation and Air-Conditioning) cuyo principal propósito es el mantener una buena calidad de aire en el interior del laboratorio a través de una buena ventilación con filtración (se recomienda la utilización en el sistema central de filtros como puede ser el filtro de carbón activado de 12”) y mantener una temperatura adecuada.

También se recomienda el uso de purificadores de aire para remover contaminantes químicos volátiles del ambiente del Laboratorio:

- CODA tower

- zIVF-AIRe, que es un purificador presente en el mercado muy eficaz. Primero limpia el aire de macro-partículas. A continuación su filtro HEPA elimina los alérgenos. Absorbe compuestos químicos y gases tóxicos. Su unidad fotocatalítica destruye mediante la oxidación estos compuestos químicos y elimina “olores” y por último la fuente de luz u.v. con la que está equipado mata a gérmenes infecciosos al contacto y los iones negativos mantienen el aire del habitáculo fresco.

En cuanto a las incubadoras se recomienda el uso de filtros de compuestos volátiles al interior y el uso de CO₂ de alta pureza (99.9995%). En el caso del

purificador de aire CODA hay disponibles en el mercado para instalar en el interior de las incubadoras.

Es imprescindible la utilización de equipos de lectura directa para controlar la calidad de aire en laboratorios.

Si se detectan problemas en la calidad de aire, utilizaremos el equipo para localizar el foco, y eliminarlo siempre que sea posible, mediante acciones correctoras.

Los equipos deben ser suficientemente fáciles de utilizar por cualquier laborante.

3.2.4 Resultados tras un buen diseño de las instalaciones y disponer de un buen sistema HVAC en nuestro Laboratorio

Ha quedado demostrado por la publicación de un artículo en Agosto de 2007 por el investigador C. Lawrence en la Alpha Newsletter⁽¹⁹⁾ que en el laboratorio modelo PCRM (Pacific Centre for Reproductive Medicine) diseñado como un circuito cerrado, con presión positiva para mantener el habitáculo estéril con el suministro de aire filtrado a través de un filtro HEPA hacia el Laboratorio de Embriología y la Sala de operaciones con un máximo de 15 % de aire fresco por pasillo y con unidades fotocatalíticas instaladas en el flujo de aire de retorno (zIVF- AIRE) ha conseguido disminuir los valores de VOCs en las distintas áreas del Laboratorio de Reproducción. Estos niveles de VOCs fueron medidos usando un analizador RAE en unidades de parte por billón (ppb).

Las mediciones se realizaron cinco días consecutivos antes de instalar las unidades fotocatalíticas zIVF- AIRE en el Laboratorio de andrología, el laboratorio de Embriología, la habitación para cambiarse el personal, el hall de la clínica y la zona del laboratorio donde se realizan las técnicas de FIV e ICSI, y cuatro días consecutivos después de que estas unidades fueran activadas y que funcionasen durante 24 horas en el laboratorio de Andrología y del de Embriología. La efectividad clínica del nuevo laboratorio se valoró analizando los resultados de los primeros 30 ciclos de tratamientos realizados en la clínica después de las reformas.

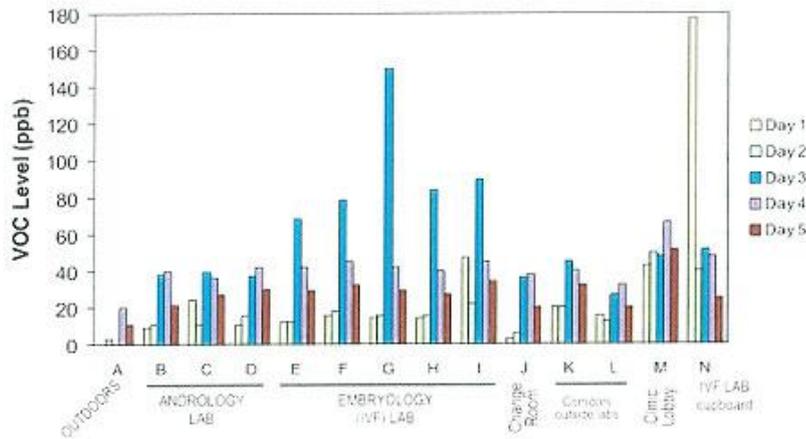


Ilustración 10 Niveles de VOCs pre zIVF-AIRE

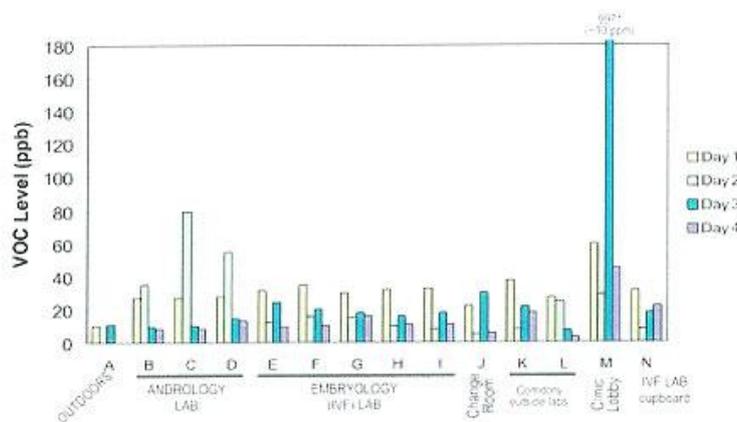


Ilustración 11 Niveles de VOCs post zIVF-AIRE

El introducir las unidades zIVF- AIRE redujo las fluctuaciones de los valores de COVs en el Laboratorio de Embriología. Aunque los valores medios no fueron estadísticamente diferentes entre para cada área antes y después de la introducción de las unidades zIVF- AIRE los valores se vieron reducidos en gran medida tras la introducción de los purificadores de aire. No hubo elevación de los valores de VOCs en ninguna de las áreas del laboratorio donde se realizaron las medidas, lo que confirma que la presión positiva en el laboratorio de Embriología fue efectiva en prevenir la contaminación y mantener el área como habitación libre de contaminantes o “limpia”. En el día 3 post-zIVF-AIRE había niveles muy altos de COV en el corredor justo a fuera de las dependencias de laboratorio (ubicación M) debido a una puerta de madera barnizada que elevó el nivel de VOCs por los derivados del barniz.

Por último resaltar que los primeros 30 ciclos de tratamiento después de los cambios introducidos en el sistema HVAC del laboratorio como control interno para medir la efectividad de las medidas tomadas dieron lugar a los siguientes resultados. Resaltar que la media de edad de las pacientes estaba entre los valores de 26 y 40 años (la media en torno a los 34 años). Se realizó un total de 29 transferencias embrionarias con una media de 2 embriones por transferencia.

De las 30 pacientes estudiadas 18 tuvieron una prueba positiva de embarazo (un 60 % de éxito), y 14 de ellas llevaron a buen término el embarazo (47 % de éxito por ciclo). En cuanto a la tasa de implantación de los 58 embriones transferidos 22 llegaron a desarrollar saco embrionario lo que se traduce en un 38 % de implantación uterina con éxito.

Indicador	Resultados
Beta-hCG positiva	18/30=60% por ciclo
Embarazo clínico	14/30=47 % por ciclo
Tasa Implantación	38%(22 sacos a partir de 58 embriones)

Tabla 3 Resumen de Resultados para los primeros 30 ciclos de tratamiento IVF/ICSI realizados en el laboratorio

Los resultados del estudio confirman la eficacia de incluir purificadores de VOCs en nuestro sistema HVAC que provee al Laboratorio de Embriología y que el tiempo empleado en diseñar correctamente la disposición de las distintas áreas así como las reformas que esto pueda ocasionar se ven compensados con una mejora en los resultados de los indicadores de eficacia en nuestros tratamientos.

3.3 Procedimientos técnicos (operativos)

Los principales procesos que se llevan a cabo en un Laboratorio de Reproducción Asistida son los que enumeramos a continuación (* hablaremos más detenidamente de ellos):

- Análisis de muestras de esperma (incluye la recogida de la muestra)*
- Procesamiento del esperma
- Crioconservación del esperma
- Recogida de los ovocitos (o como se denomina en inglés Oocyte Pick-up “OPU”)*
- Inseminación por Fecundación *in vitro* (FIV)
- Inyección Intracitoplasmática del esperma (ICSI)
- Comprobación De Fertilización y Análisis de la calidad y viabilidad de los embriones
- Transferencia de embriones (ET)
- Crioconservación de embriones (y en algunos casos de ovocitos)

Todos estos procesos están encaminados a un mismo objetivo: obtener embriones, y conseguir que estos embriones cada vez sean de mejor calidad. La calidad de los embriones tiene relación directa con su viabilidad y con la capacidad de ese embrión de interaccionar con la pared del útero (endometrio) y de implantarse para poder desarrollar un saco embrionario que no se desprenda con facilidad y que todo el tratamiento culmine en el tan deseado embarazo. Con los avances en el conocimiento de los distintos factores que condicionan la calidad de los embriones el futuro de los tratamientos de reproducción asistida cada vez está más cerca de alcanzar lo que viene a denominarse eSET, que no es más que la Transferencia de un único embrión por cada ciclo asegurando su calidad, permita evitar transferir más embriones a la vez que se consigue mayor tasa de implantación, reduciendo el riesgo de un embarazo múltiple.

La práctica de transferir un único embrión es ya una realidad en varios países, principalmente en Europa y Escandinavia, pero también en Australia. En esta decisión intervienen numerosos factores políticos, financieros, médicos, psicológicos y educacionales que influyen en la aceptación y en la elección de realizar eSET por parte de las clínicas IVF y de los pacientes.

El objetivo es cómo hacer embriones “de calidad”. A partir de gametos más sanos (tanto femeninos como masculinos), obtendremos embriones más sanos.

Lo que confiere a los ovocitos y a los espermatozoides su competencia es:

- Ser capaces de alcanzar la fertilización.
- Contribuir cada uno al nuevo individuo con un genoma haploide sin anomalías cualitativas ni cuantitativas.
- Que el ooplasma sea capaz de proporcionar todo lo necesario para que el desarrollo del embrión en los primeros días se realice con normalidad y provea las mitocondrias maternas necesarias como fuente de energía.

Un embrión competente a su vez es aquel que inicia el desarrollo a través de una división en etapas tempranas, que activa su genoma embrionario en el momento adecuado (alrededor del día 3), cuyo desarrollo alcanza el estadio de blastocisto y que finalmente es capaz de implantarse en la pared del útero.

3.3.1 Factores que afectan al potencial de un embrión

A. Factores relacionados con la calidad del esperma

Por muy buena que sea la calidad de un ovocito si el esperma no tiene capacidad fertilizante o los espermatozoides tienen el genoma dañado, el embrión resultante no será viable.

B. Factores relacionados con la maduración de los ovocitos

La maduración del ovocito se analiza a dos niveles. La maduración a nivel nuclear (por ej. extrusión corpúsculo polar) y a nivel citoplasmático (por Ej., niveles de mRNAs). Ambos son de vital importancia.

C. Factores relacionados con la estimulación del desarrollo de los ovocitos en los folículos

La maduración adecuada del ovocito durante el desarrollo folicular está condicionada por factores endocrinos y paracrinos en el ambiente folicular y por la actuación de las células de la granulosa.

D. Factores relacionados con el medio de cultivo

Durante la maduración en cultivo de los ovocitos como en el de embriones se hace necesario controlar diferentes factores entre ellos:

- Control de la temperatura (37-37,5 °C)

- Control del pH del medio que a su vez repercute en el del interior de las células. Control del pH manteniendo un rango de 7,2-7,4. Es recomendable usar medios tamponados.

- La composición del medio.

E. Factores relacionados con el propio embrión

Que su genoma no esté dañado. Que sea capaz de regular su propio metabolismo de un modo correcto y capaz de alcanzar la homeostasis.

F. Factores relacionados con la transferencia de los embriones al útero materno

Que la transferencia sea adecuada depende de diversos factores como puede ser la elección del catéter, de que el material del que esté fabricado haya sido testado previamente en ensayos biotecnológicos o con células embrionarias de ratón que demuestren su no toxicidad, que la técnica sea la adecuada. Que se coloque en la zona adecuada de la cavidad uterina.

G. Factores relacionados con la implantación

La correcta implantación depende de que previamente el embrión haya sufrido una eclosión de la zona pelúcida correcta, de que el endometrio haya sido correctamente estimulado mediante hormonas para ser receptivo, lo cual depende a su vez de factores endocrinos y paracrinos y de que los receptores a nivel de las células endometriales se expresen correctamente así como los ligandos en la superficie de la membrana del embrión.

3.3.2 Cómo trabajar para hacer mejores embriones

Con lo que hemos visto hasta ahora está claro que el proceso IVF al completo depende de la biología, las necesidades de los gametos y de los embriones.

Debemos preocuparnos por proveerles las condiciones óptimas, de protegerlos frente a un posible estrés fisiológico que repercute negativamente. Aunque los embriones tienen sus armas para protegerse y son altamente adaptables al medio, esta adaptación conlleva a un “gasto” extra de energía lo que repercute en un estrés celular que perjudica a su viabilidad ya que ese estrés puede alterar la expresión de los genes

y/o su regulación (fenómenos de imprinting). Para que esto no ocurra debemos protegerlos de los posibles factores externos adversos.

Todos estos requisitos bioquímicos y biofísicos como hemos dicho son los que marcan todos los procedimientos que se llevan a cabo en un laboratorio de FIV. Así como la ingeniería de los equipos del laboratorio y los materiales usados en él.

Una vez comprendido y con conocimiento lo que la biología necesita (y por tanto como deben ser los aspectos químicos y físicos), debo utilizar este conocimiento para definir los requisitos para un adecuado y seguro manejo de los gametos y embriones, lo que equivale a diseñar mi proceso y optimizarlo. Puedo elaborar y redefinir la formulación de los medios de cultivo para optimizar los resultados tanto en gametos como en embriones. Deducir qué equipos se ajustan mejor a mi modo de trabajar para mantener unas condiciones biofísicas y bioquímicas correctas para cada paso del proceso. Puedo diseñar las instalaciones de mi laboratorio para eliminar (o al menos minimizar dentro de lo posible) las condiciones o factores que pueden perjudicar a mis gametos y embriones.

En este punto es cuando yo debo monitorizar cada proceso que realizo en mi laboratorio usando Indicadores que me ayuden a controlar y mejorar el proceso indicado. Para ello lo primero es hacer un mapa de mi proceso (para ello revisar la sección previa de este trabajo donde se explica en qué consiste un mapa de proceso).

3.3.3 Análisis de muestras de esperma – Valoración del estado del esperma

Se ha estimado que alrededor de un 30-40 % de las parejas que buscan ayuda médica por su infertilidad, presentan una combinación de factores masculinos y femeninos lo cual debe ser considerado a la hora de elegir el tratamiento a seguir. Incluso cuando un factor femenino ha sido identificado, un completo estudio de la pareja debe incluir un análisis seminal. Una buena y responsable atención médica debe considerar a los dos componentes de la pareja.

Se necesita reconocer que las diferentes pruebas que se realizan para valorar una muestra seminal funcionan como test de diagnóstico y deberían ser tratadas como tales. Cualquier laboratorio de Andrología que quiera ser competente en el mercado debe trabajar conforme a las guías de la OMS y de ESHRE y alcanzar las expectativas de la ISO 15189:2003.¹⁷

Con la sola valoración del semen no podemos esperar ser capaces de predecir si habrá o no embarazo. Al hacer esta valoración no estamos interesados en tratar de predecir la probabilidad de éxito del tratamiento (por ej. Fertilización por inseminación intrauterina) sino que nuestro objetivo real es identificar el riesgo de un fracaso específico por emplear una modalidad de tratamiento particular.

3.3.4 Elección del Tratamiento basado en la valoración de la funcionalidad del semen

- **Apto para cualquier tipo de tratamiento:** no hay disfunción espermática aparente, por lo cual ningún tratamiento es requerido basándonos en la calidad del esperma del hombre.

- **Inseminación intrauterina recomendada (IUI):** una disfunción espermática menor con probabilidad de afectar la penetración del mucus cervical o la capacidad de migración, pero no hay sospecha de no capacidad de fertilización.

- **Inseminación in vitro (IVF):** Disfunción del esperma con probabilidad de afectar al transporte y/o una parcial incapacidad de fertilización identificada.

- **Inyección intracitoplasmática del espermatozoide (ICSI):** Una disfunción severa del esperma con probabilidad de reducir o prevenir la fertilización, incluso *in vitro*.

Para valorar la funcionalidad del esperma y poder concluir cual es el tratamiento que mejor se ajusta al caso particular de cada pareja se realizan las siguientes pruebas³⁰:

Análisis de la muestra de semen

Lo que incluye medida del volumen, pH, recuento espermático y la concentración. Los valores de referencia vienen dados por el Manual de la OMS “Examinación y procesado del semen humano”.

- Recuento : 2 M/día : necesita de un test genético(Inmunoglobulinas, antífragmento Fc)
- Vitalidad: 40%, sospecha de citotoxicidad por anticuerpos contra espermatozoides, investigar y después realizar ICSI.
- Motilidad: 0% pero vivos: Síndrome de Kartagener, proceder con ICSI.
0% & 40% vivos: considerar una biopsia testicular (TESE).
25% o 50% a+b: Si el recuento es de 2M con movilidad progresiva proceder con IVF, en otro caso se realizaría ICSI.
- Morfología: En caso de globozoospermia (100 % de cabezas espermáticas redondeadas), realizar ICSI.

Estudio Inmunológico (Anti-Sperm antibodies – ASABs)

Los estudios inmunológicos deben de estar reservados para aquellos casos en los que se sospecha factor inmunológico como puede ser la aglutinación o los movimientos de agitación (*shacking*) espermática.

Las células germinales masculinas postmeióticas, los espermatozoides y los antígenos espermáticos son capaces de inducir la producción de auto e isoanticuerpos que pueden interferir en la fertilidad de la pareja.

El estudio de la presencia de anticuerpos antiespermatozoides puede realizarse de una forma directa, determinando la presencia de anticuerpos que recubren al espermatozoide y de forma indirecta buscando anticuerpos antiespermatozoides en el suero de ambos miembros de la pareja.

Las dos técnicas más utilizadas para el estudio de los anticuerpos antiespermatozoides son Inmunobeads test (IBT) y MAR Test, Mixed Antiglobulin Reaction Test.

Inmunobeads Test , Detecta la presencia de anticuerpos IgA, IgG, IgM en la superficie del espermatozoide. El medio contiene esferas de látex recubiertas con anticuerpos que se unen a los anticuerpos de los espermatozoides.

MAR Test , Dispone de dos suspensiones, una conteniendo partículas de látex recubiertas con IgG y de un antisuero monoespecífico directamente antifragmento Fc de IgG humana.

Si los anticuerpos se unen a:

- La punta de la cola: no es clínicamente relevante
- IgM: 20%, puede haber un trauma del tracto masculino o cáncer. Referir a especialista.
- Cabeza: 50%, recurrir a ICSI.
- Pieza intermedia y/o cola : 50%, recurrir a IVF (o a inseminación intrauterina 3 veces si el paciente lo prefiere)
- Cola: 50%, recurrir a IUI por unas 3 veces.

Análisis Seminal asistido por computadora (ASAC)

Existen en el mercado muchos fabricantes que proveen los sistemas ASAC. El volumen de trabajo del Laboratorio va a ser determinante a la hora de decidir la adquisición de dichos aparatos, que en la actualidad todavía tienen un precio elevado.

Las muestras pueden ser analizadas directamente o mediante una grabación de video, lo que permite que laboratorios no especializados recojan las muestras y las procesen gráficamente, para su posterior envío a Laboratorio de referencia.

Se analiza la velocidad espermática y la trayectoria que describe. Según los valores que de n como resultado de un ensayo HAmx (% de esperma móvil que está hiperactivado).

Si los resultados dan que:

- Normal: 50% hiperactivados, cualquier tratamiento debería ser eficaz.
- Buenos resultados : 20% de hiperactivados, se recomienda IUI o IVF
- Bajos: 20% de hiperactivados. Se debe recurrir a IUI 3 veces, y si no funciona recurrir directamente a ICSI.
- Anormales: 10% de hiperactivados. Directamente recurrir a ICSI

Lavado de la muestra seminal

En cualquier intervención médica cuya intención sea la inseminación, el espermatozoide debe ser separado del semen completo, ya que los fluidos seminales contienen factores que son dañinos para el mismo y su función.

Un lavado del semen mediante swim-up o gradientes (métodos más utilizados), nos permite recuperar una cantidad y calidad de espermatozoides que variará en función de la muestra en fresco y nos hará decidir cuál es el procedimiento más adecuado para cada caso.

Si tras el lavado la recuperación de espermatozoides móviles es superior a 5 millones y la movilidad a+b, y siempre que no haya un factor femenino añadido, se puede realizar ciclos de IAC.

Si es $<$ de 5 millones y $>$ a 2 millones con movilidad a+b, se puede recurrir a FIV y si la recuperación es inferior a 2 millones de movilidad a+b, recurrir a ICSI.

Hay otras variables que nos van a hacer cambiar de estrategia, como son la morfología espermática, la edad de la mujer, tratamientos previos, etc.

3.3.5 Valor clínico de realizar una valoración de la funcionalidad del semen

En el centro Genesis Fertility en Vancouver³¹ se realizó una valoración completa a 485 pacientes. De los 266 pacientes cuyos resultados encajaron en los valores “normales” declarados por la OMS para un análisis rutinario de semen (morfología, movilidad, pH, etc.) 103 (un 39 %) tuvieron resultados anómalos en un análisis más completo (anticuerpos, CASA, etc.), con lo cual un tratamiento de ICSI fue recomendado. PERO 12 de los 67 pacientes que tuvieron resultados pobres en las pruebas generales tuvieron buena movilidad e hiperactivación tras realizar el lavado de la muestra.

Como conclusión final se vio que gracias a hacer un análisis completo la incidencia de fallo en tratamientos de reproducción asistida bajo de un 6% al 1 % de los ciclos en esta clínica, tan sólo por elegir el tratamiento más adecuado averiguando donde estaba el origen del problema.

Según datos recopilados por D. Mortimer en clínicas IVF de Australia³⁰, más del 90 % de los hombres presentan algún factor masculino según los criterios de la OMS. En estos casos un 35 % de las veces se realizó un tratamiento de ICSI, en un 65 % se realizó FIV y hubo tan solo un 5% de fallo de fertilización.

En España apenas se practica la Fertilización in vitro(FIV), tendiéndose a realizar un tratamiento de ICSI en la idea de “asegurar” la fertilización y permitir la transferencia embrionaria, todo ello relacionado con los altos costes que suponen los tratamiento de reproducción asistida y las limitaciones en la medicina pública.

3.3.6 Recogida de ovocitos (OPU)

Otro de los procesos que se lleva a cabo en el laboratorio de reproducción es la aspiración de los folículos y obtención de los ovocitos de los ovarios estimulados previamente.

Uno de los factores clave en este proceso que afectará a la calidad de lo ovocitos recolectados es la temperatura. Debemos mantener a los ovocitos en todo momento por encima de una temperatura de 35 °C. La razón radica en que si los ovocitos se ven sometidos a continuas oscilaciones de temperatura el huso meiótico se despolariza y repolariza en sucesivas ocasiones, aumentando el riesgo de una división celular incorrecta con la consecuente aparición de aneuploidías y puede afectar al transporte trans-membrana así como a varios procesos metabólicos.

Entonces surge la pregunta de en qué momentos clave debemos controlar esa temperatura y cómo podemos controlarla: durante la aspiración de los folículos, el transporte del líquido folicular con los ovocitos aspirados desde la sala de extracción hasta el laboratorio, su búsqueda en el medio folicular y el manejo de los complejos

cúmulo oóforo-ovocito (COCs) siempre debe de mantenerse la temperatura en optimas condiciones.

También es necesario mantener un ambiente de homeostasis que evite la pérdida de aminoácidos (para ello usaremos un medio adecuado de flushing o lavado de folículos) y prevenir los cambios de pH (medios HEPES/MOPs para el manejo de ovocitos).

El cómo proteger frente al enfriamiento al líquido aspirado de los folículos por debajo de 35 °C se consigue mediante el pre-calentamiento de los tubos en los que se recogerá ese líquido así como del medio de lavado. Mientras recogemos el líquido folicular los tubos receptores deben mantenerse en un calentador y en este mismo calentador deben ser transportados hasta el puesto de trabajo del embriólogo en el laboratorio par que él pueda proceder a identificación de los COCs.

La pletina del microscopio donde se depositan las placas de petri con los ovocitos mantenga también la temperatura por encima de los 35 °C. Un ovocito que tenga una temperatura de 37°C, al contacto con el ambiente del laboratorio que puede estar en torno a los 28 °C, en tan sólo medio minuto puede ver su temperatura descendida por debajo de 35°C. Los mejores modelos de calentadores de pletina para microscopio en el mercado pueden ser el modelo MP30DM, el modelo LEC978 y trabajar en un puesto de trabajo que incluya una base calefactada y un microscopio incorporado.

3.3.7 El momento adecuado de realizar la microinyección en un tratamiento de ICSI

Otro de los aspectos que se detectó como mala praxis en los centros españoles fue que la decumulación de los ovocitos de las células de la granulosa así como la punción de los espermatozoides en el interior de los ovocitos se realizaba demasiado pronto. Con demasiado pronto estamos haciendo referencia en relación al momento al que la paciente se le suministra la hCG previo a la punción ovárica.

En un estudio publicado por Cohen en 2004⁽⁹⁾ si han pasado menos de 38 horas desde la medicación con hCG en el momento en el que introducimos el espermatozoide en el interior del citoplasma del ovocito para fertilizarlo, la tasa de fertilización es de un 62.2% mientras que si dejamos pasar al menos 38 h o más, la tasa era de un 70.4%. Por lo tanto en aquellas punciones de ovario realizadas a las 35 h post-hCG, la inyección de la ICSI debe realizarse al menos 3 horas más tarde.

Protocolo	A	B	C
Decumulación	Inmediata	Retrasada 4 h	Inmediata
Inyección	Inmediata	Sin demora	Retrasada 4 h
Fertilización	43.4 %	72.5 %	46.0%
Embarazo	8.7%	26.2%	11.8%

Tabla 4 Hassan (2001) J. Assist. Reprod. Genet., 18:539

Según un estudio realizado por Hassan en 2001¹⁵ en el que se ensayaron tres protocolos diferentes en base a la hora de la decumulación y el momento de la inyección en tratamientos de ICSI, los mejores resultados se obtuvieron con el protocolo B en el que se retrasó la decumulación ovocitaria cuatro horas tras la punción folicular. Esto se explica porque la presencia de las células del cúmulo óforo es importante para completar la maduración citoplasmática del ovocito.

3.4 Efecto de las instalaciones y de los equipos sobre los Factores del medio de cultivo y Factores del propio embrión

3.4.1 ¿Qué tipo de puesto de trabajo es mejor?

Existe un amplio rango de configuraciones posibles para un puesto de trabajo en el microscopio donde uno puede realizar las distintas técnicas que se llevan a cabo en la

rutina de un laboratorio de FIV.⁽²⁹⁾ En relación al nivel más sencillo, las alternativas de las que disponemos hoy en día son:

- Una cabina de flujo laminar vertical
- Tipo aislada de neonato o “Cámara de IVF”

Una cámara de flujo laminar horizontal no se considera puesto que no provee ninguna protección para el operario. Claramente, un puesto de trabajo abierto es inaceptable puesto que no provee protección frente a contaminantes ni para los ovocitos/embriones ni para el operador.

En cuanto a obtención de embriones, la calidad que se alcanza con una cabina tipo “cámara de IVF” es mejor que la que se puede alcanzar con una cabina de flujo laminar vertical tradicional. La cámara IVF mantiene toda la cámara a 37 °C mientras que esta temperatura sólo se alcanza en una cabina de flujo laminar en la platina calefactada del microscopio. Toda la cámara mantiene una atmósfera rica en CO₂, la exposición al aire ambiental es mínima y consigue mantener un ambiente húmedo del 80% pero sin condensación. La cabina sin embargo está expuesta a COVs y otros contaminantes al menos durante la observación y es menos eficaz en mantener la humedad ya que esta se consigue porque el flujo de aire sale a través de agua. El coste es superior y la comodidad a la hora de trabajar es mucho menor, con lo cual en la mayoría de los casos se opta por instalar cabinas de flujo laminar vertical que también dan excelentes resultados.

3.4.2 Efecto del diseño del Incubador sobre la calidad del embrión

Existen numerosos factores que necesitan ser tenidos en cuenta a la hora de elegir un incubador que vaya más allá de la simple necesidad de crear un ambiente enriquecido en CO₂ para el cultivo de gametos y embriones. Algunos aspectos son técnicos (control de la temperatura, control de nivel de gases CO₂ y O₂, calidad del aire y estabilidad del ambiente) mientras que otros son más prácticos (capacidad, tamaño y la ergonomía).

Un incubador que use una fuente de gas pre-mezclada tiene una mayor superioridad técnica ya que consigue que la composición sea constante, que esté calentada y humidificada, pudiendo regular el nivel de flujo y purgar el ambiente después de abrir la puerta.

Un incubador debe controlar las siguientes variables:

- Estabilidad de la Temperatura

Cómo de rápido mi incubador es capaz de recobrar la temperatura después de abrir la puerta.

Cómo de rápido el contenido de las placas de petri alcanza la temperatura deseada después de introducirlos en el incubador.

- Control del nivel de CO₂ y de O₂

Está bien establecido que un nivel reducido de presión parcial de O₂ mejora el cultivo *in vitro* de embriones de mamíferos y cada vez hay más evidencia de que produce embriones humanos de mejor calidad especialmente en el cultivo hasta estadio de blastocisto.

- Calidad del aire

Si se usa un incubador tradicional debemos asegurarnos que la calidad de aire de nuestro laboratorio es la adecuada. Si usamos un incubador que usa gas pre-mezclado, entonces ese gas debe filtrarse para eliminar partículas y VOCs antes de que entre al interior de la cámara.

- Estabilidad del ambiente en el interior

Si la puerta se va a abrir con una frecuencia que imposibilite al incubador recuperar la atmósfera adecuada entonces hay que considerar tener puertas interiores para diferentes cámaras en el interior del mismo incubador.

Cuanta energía consume mi incubador para funcionar correctamente.

Ahora ilustraremos una comparación entre un incubador tradicional y un incubador moderno como puede ser el Cook IVF MINC. El siguiente diagrama ilustra la existencia de un hueco de aire entre las baldas de un incubador tradicional y las placas de petri y la falta de dicho hueco de aire en el incubador Cook MINC. Debido a que el

aire es un conductor pobre del calor, la temperatura de los medios de las placas de petri en un incubador MINC se re-establecen mucho más rápido.

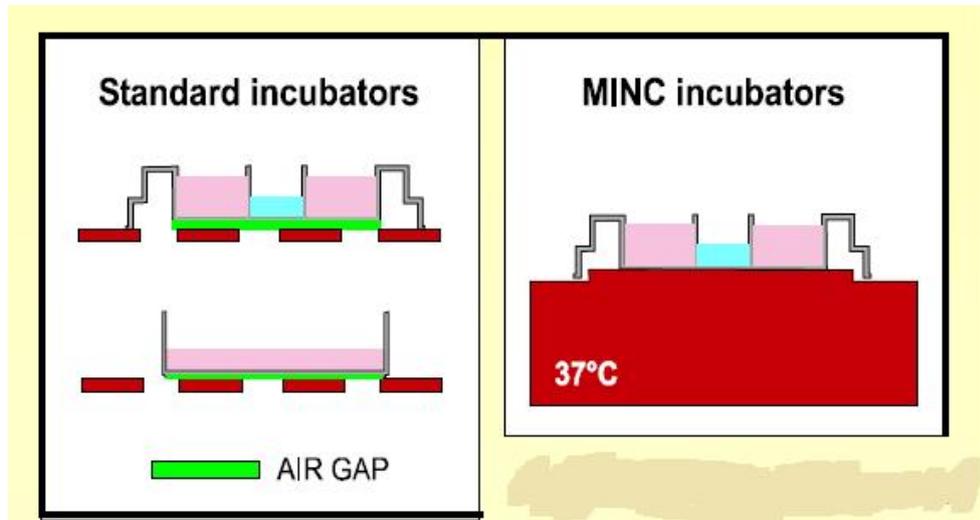


Ilustración 12 Diferencias en relación a la superficie de contacto entre las baldas de un incubador tradicional frente a un modelo Cook MINC y las placas de petri depositadas en su interior.

3.4.3 CO₂ y control del pH del medio de cultivo

Cuando se trabaja con medios de cultivo tamponados con bicarbonato (HCO₃), una atmósfera enriquecida con CO₂ es esencial para mantener el pH del medio. Por ejemplo, una placa de Petri que contenga 5 ml de medio de cultivo se quedará sin gas después de sacarla de un incubador con CO₂ virando el pH por encima de 7.45 en menos de dos minutos – y una vez recolocado la placa en el interior del incubador le llevará 15 minutos re-equilibrar el pH. Estas diferencias se deben a las magnitudes relativas en el contenido de CO₂ entre el medio de equilibrio y el aire y entre la atmósfera de la incubadora y del medio que se queda parcialmente sin gas. El viraje de pH externo afecta al pH interno de las células y por ende al metabolismo de los embriones. Por esta razón se empezó a cubrir el medio de cultivo con aceite mineral.

Gráfico que muestra el equilibrio de ya sea 50 µL de gotas de medio bajo aceite (línea punteada) o 5 ml de medio (línea discontinua) en 60 mm de diámetro de placas petri Falcon 300. Las placas fueron llevadas fuera de la incubadora (una Cytoperm Heraeus equipado con una puerta 6-sección interior y funcionando a 6,5% de CO₂) y se coloca bajo la atmósfera de aire durante 3 minutos antes de ser puesta de nuevo en la incubadora. En ambos casos el pH del medio se había excedido 7,45 en menos de 2

minutos de exposición al aire, y el re-equilibrio tardó unos 15 minutos para los 5 ml de medio en una placa y 35 minutos para las gotas de 50 μ L (Blake et al, 1999)⁵

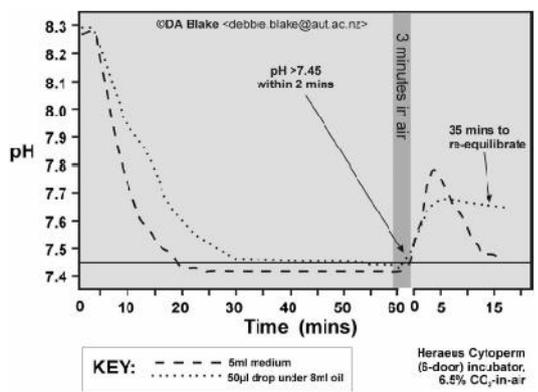


Ilustración 13 Comparación del tiempo que tarda en recuperar el equilibrio de pH un medio con aceite mineral y otro que carece de él.

Se requiere más tiempo para equilibrar las gotas de 50 μ l de medio bajo el aceite que los 5 ml de medio en un placa "abierta". En ambos casos el pH había excedido el rango deseado (es decir, era $> 7,45$) dentro de los 2 minutos de exposición al aire de la habitación. Re-equilibrio después de sustituir los "gaseados" fuera de las placas en la Incubadora de CO₂ llevó unos 15 minutos para los 5 ml de medio, pero unos 35 minutos para las 50 gotas de 50 μ l de medio bajo el aceite. Como conclusión, parece que no existe beneficio en usar aceite en términos de mantener el pH en los medios de cultivo.

3.5 Materiales

Según el anexo I de la Directiva 2006/86/EC “Requisitos de trazabilidad, notificación de sucesos adversos serios y requisitos técnicos obligatorios para codificar, procesar, preservar, almacenar y distribuir células y tejidos humanos”, los procedimientos deben detallar las especificaciones para todos los materiales y reactivos que sean críticos (los que entran en contacto con el material biológico)¹².

Todo el material debe estar esterilizado antes de su uso. Será desechado o depositado en contenedores específicos inmediatamente después de su utilización. Se recomienda el uso de materiales y medios comerciales, con marcado CE con los controles de calidad adecuados (por ejemplo con embriones de ratón o mediante test de

supervivencia espermática). En caso de no usarse medios no comerciales se deben cumplir los requisitos necesarios para este tipo de actividades. Se utilizará agua ultrapura o tipo I, con osmolaridad adecuada (280 ± 10 mosmol/L), libre de endotoxinas, y con fuentes de proteínas no animales. Se deben realizar controles y bioensayos adecuados para garantizar su calidad.

Para la correcta identificación de las muestras y cultivos se utilizarán rotuladores de baja toxicidad, o preferiblemente marcadores de vidrio o etiquetas. En caso de utilizar rotuladores conviene airear antes de introducir en incubadores.

Se necesitarán medios para la manipulación de los cúmulos y de los ovocitos y para el cultivo de ovocitos/embriones. Se recomienda que el manejo de estos medios se realice en un área que se encuentre próximo a la zona en que se van a utilizar. Todos los medios tienen que estar en perfectas condiciones, totalmente precintados y con los certificados de análisis y control de calidad del fabricante.

Cualquier entrega de medios tiene que ser verificada, y tener la seguridad de que no se ha roto la cadena de frío. El lugar de almacenaje y preparación de los medios debe tener las condiciones necesarias para asegurar la conservación y manipulación correcta de los mismos.

Hay que llevar un registro de la entrada y salida de los lotes, así como de cualquier incidencia ocurrida durante su transporte, almacenamiento o procesado posterior. Los medios deben prepararse bajo condiciones de esterilidad.

3.6 Recursos Humanos

Una de las variables de las que depende el éxito de un laboratorio de reproducción es la dotación numérica de la plantilla. Un equilibrio entre carga asistencial, complejidad de las técnicas y operarios será, por lo tanto, indispensable para poder realizar las técnicas en el momento más idóneo, sin premuras y con la calidad y la destreza que este tipo de técnicas requieren.

Igualmente, no debemos olvidar que el laboratorio de embriología es fruto de la síntesis de disciplinas interrelacionadas, con un ancho rango de materias y un complejo equipo integrado por distintos eslabones: ginecólogos, urólogos, psicólogos, personal de enfermería, técnicos de laboratorio, personal administrativo que junto con el embriólogo completan la cadena de la reproducción asistida.

La forma en que un laboratorio convoca, selecciona, prepara, motiva y retiene a su personal determina la calidad del servicio que presta, e indica si ese laboratorio es sensible a las necesidades cambiantes de sus pacientes. El funcionamiento y la efectividad de un laboratorio puede verse obstaculizado o potenciado por la calidad de la estructura organizativa interna del laboratorio. Existen al menos tres figuras que son: embriólogo, coordinador y director de laboratorio, y cuya presencia dependerá del número de ciclos que realice el centro. La formación y experiencia de cada una de estas figuras deberá seguir las recomendaciones elaboradas por las sociedades científicas de los profesionales del laboratorio de reproducción.

El embriólogo deberá haber obtenido el grado de licenciado en ciencias biomédicas, poseer conocimientos de fisiología humana, endocrinología reproductiva, genética, técnicas de laboratorio de andrología y embriología, y conocimientos de cultivo celular (según Plan de Formación de Embriólogos Clínicos de ASEBIR, revisión de 2008). Tendrá una experiencia de al menos 2 años, acreditando haber realizado 100 ciclos de FIV con ICSI y 200 preparaciones de semen para inseminación artificial supervisados por el coordinador del laboratorio del centro en cuestión, o por otro embriólogo ya formado.

El coordinador del laboratorio será el responsable en primera instancia de todo lo que pase en el laboratorio de FIV y andrología en el día a día. Debe supervisar que todos los equipos y material tengan un correcto funcionamiento y estén en correcto estado, así como todo el proceso de recogida de muestras.

El director de laboratorio será el responsable de todo lo que suceda en el laboratorio ante el responsable legal del centro de reproducción asistida. Se encarga de la elaboración y revisión periódica de todos los protocolos de laboratorio, elección y

verificación del material y aparataje. Así como del análisis de los indicadores de calidad y de los resultados de los programas de control de calidad interno y externo. Evaluará la preparación y conocimientos de todo el personal del laboratorio y deberá facilitar su formación continuada en todas las materias de interés con la reproducción asistida, y concretamente con el laboratorio de Andrología y embriología clínica.

	Funciones	Número de profesionales
Embriólogo	<ul style="list-style-type: none"> *Realizar la mayor parte del trabajo asistencial *Tomar decisiones de acuerdo con los protocolos establecidos 	Número en función del volumen. <ul style="list-style-type: none"> •1 por cada 150 ciclos de FIV/ICSI anuales •1 por cada 800 muestras de semen. Se recomienda un mínimo de 2.
Coordinador	<ul style="list-style-type: none"> *Responsable de todo lo que ocurra en el laboratorio en el día a día *Coordinar las distintas áreas y supervisar equipos, material y proceso de recogida de muestras *Actividad: mínimo de 100 ciclos de FIV/ICSI y/o 100 muestras de semen anuales 	Presencia supeditada al número de ciclos. Se recomienda: <ul style="list-style-type: none"> •A partir de 300 ciclos de FIV/ICSI anuales •A partir de 1600 muestras de semen
Director	<ul style="list-style-type: none"> *Responsable del laboratorio ante el responsable legal del centro *Definir el organigrama funcional del laboratorio y coordinarlo con la actividad clínica *Elaboración y revisión periódica de los protocolos de laboratorio *Análisis de los resultados del programa de control de calidad *Facilitar la formación continuada de todo el personal *Información a las parejas sobre aspectos biológicos y de laboratorio referentes a su caso. *Actividad: mínima que le permita tener un contacto directo con la práctica del laboratorio 	Siempre uno.

Tabla 5 Recursos humanos en el laboratorio de reproducción

La existencia de dos embriólogos como mínimo por centro será indispensable con la intención de garantizar el trabajo asistencial por personal cualificado durante el periodo vacacional, descansos y/o enfermedad, además de minimizar el riesgo de error en el laboratorio de FIV. El número de profesionales requeridos en un laboratorio de

embriología será constantemente revisado en función de la naturaleza, la cantidad de la carga de trabajo y del impacto que supongan las nuevas tecnologías aplicadas a reproducción asistida.

4. Optimización del Sistema

Los indicadores de calidad nos sirven para identificar aquellos puntos de nuestros procesos que no acaban de funcionar del todo bien, a modo de alarma para darnos cuenta de que algo está pasando que no nos permite alcanzar aquellos niveles de calidad especificados previamente.

A partir de su revisión y análisis, podremos sacar conclusiones que nos ayudarán a que nuestro proceso cada vez sea más eficaz y eficiente a la vez que seguro. Otro punto importante para que un indicador de calidad sea útil como herramienta es que el personal que revisa los datos recogidos y tenga que analizarlos tenga la formación adecuada para poder sacar conclusiones de un modo científico.

Se debe haber entrenado a las personas del equipo para que entiendan por qué un procedimiento particular se hace de una particular manera. En otras palabras, el razonamiento para un procedimiento particular debería ser enseñado siempre al mismo tiempo que se enseña el procedimiento en sí.

Es más, el entender las bases fisiológicas y de modo de proceder en un procedimiento es necesario para detectar y corregir problemas, para desarrollar mejoras en el método al formularse las preguntas adecuadas para resolverlo. Todas estas habilidades serían de desear en un buen embriólogo clínico.

Un procedimiento se realiza de un modo como resultado de muchos años de experiencia en el que se han ido corrigiendo desviaciones y aprendiendo a hacer las cosas de un modo correcto que repercuta positivamente en mis resultados.

El siguiente paso sería el plantearse cuáles de estos procesos son los requisitos clave, que sería interesante controlar y aporten valor (¿para qué medir un indicador que

no aporte valor a la empresa?) Así será cómodo y fácil establecer los indicadores, realizando las preguntas fundamentales. Posteriormente se decidirá el rango o los datos sobre los que se construirá el indicador.

Puede haber un indicador general que resuma los procesos de toda la empresa, aquel que teniendo en cuenta que una empresa tiene un cliente, y por tanto su objetivo fundamental es satisfacer los requisitos del cliente, tomará aquel Indicador como Principal será relacionado con la satisfacción del cliente.

¿Y qué rol juegan entonces los estándares de calidad? Un estándar es la mejor forma que encontramos (la organización, quienes realizan las tareas), hasta el momento, de realizar un trabajo. Y si ésta es la mejor manera, por qué hacer las cosas de otra forma. Hasta el momento, significa que se puede encontrar otra mejor, y sólo ahí se justifica hacerlas de esta otra manera, actualizándose el estándar. Es dinámico, también porque el entorno lo es, los clientes y sus necesidades lo son.

El problema es que trabajar “mejor” no siempre se traduce directamente en tasas de embarazo más altas. También entra en consideración el número de embriones de alta calidad, así como una eficiencia aumentada, un control más ajustado reduciendo la variabilidad inherente a los procesos, un riesgo menor, etc.

Se utilizarán indicadores de calidad que reflejen la satisfacción del paciente y el cumplimiento del manual de procedimiento. Deben registrarse los resultados clínicos y de laboratorio mediante indicadores y estándares validados y actualizarse periódicamente. Éstos deben quedar a disposición del director de laboratorio para permitir una evaluación periódica de los resultados, incluidos los de cada trabajador individual. Es recomendable participar en registros de resultados nacionales e internacionales de Sociedades Científicas.

Bibliografía

1. Aldana JM., García J., Carriazo AM. Guía de reproducción humana asistida en el servicio andaluz de salud. (2006)
2. Alper M, Brinsden PR, Fischer R, Wikland M. Is your IVF program good? Hum Reprod. 2002; 17:8-10.
3. American Society of Heating, Refrigeration & Air condition engineers. Vol. 62 (1999)
4. Ávalos García María Isabel: La evaluación de la calidad en la atención primaria a la salud. Consideraciones teóricas y metodológicas. Feb. 2010
5. Blake, D. A., Forsberg, A. S., Hillensjö, T., and Wikland, M. (1999) The practicalities of sequential blastocyst culture. Presented at *ART, Science and Fiction*, the Second International Alpha Congress, Copenhagen, Denmark, September 1999.
6. Castilla JA., Magán R. Seguridad biológica en el laboratorio de Reproducción Asistida. Ed. Gráficas Fernando: Granada. Aula de formación en Embriología Clínica Nº 4, 2003
7. Castilla JA., González A., Marina F., Moragas M., Santos MJ, Urries A. Cuadernos de Embriología Clínica. “*Recomendaciones sobre Recursos Humanos y Físicos para el laboratorio de reproducción*”. ASEBIR. Ed. 2008
8. Cohen, J., Gilligan, A., Esposito, W., Schimmel, T., and Dale, B. Ambient air and its potential effects on conception *in vitro*. Human Reproduction, 12:1742-1749, (1997)
9. Cohen Y. et al, Spindle imaging: a new marker for optimal timing of ICSI?. Human Reproduction, 19:649, (2004)
10. Cook, R. R. (1999) *Assessment of Uncertainties in Measurement for Calibration and Testing Laboratories*. Sydney, Australia, National Association of Testing Authorities.

11. Chen MJ, Bongso A. Comparative evaluation of two density gradient preparations for sperm separation for medically assisted conception. *Human Reproduction* vol.14 no.3 pp.759–764, 1999
12. Directive 2006/86/EC implementing Directive 2004/23/EC of the European Parliament and of the Council as regards traceability requirements, notification of serious adverse reactions and events and certain technical requirements for the coding, processing, preservation, storage and distribution of human tissues and cells.
13. Fernández A., Castilla JA., Martínez L., Núñez AI., García-Peña ML., Mendoza JL., Blanco M., Maldonado V., Fontes J., Mendoza N. Indicadores de calidad asistencial en un programa FIV/ICSI. *Rev. Iberoamericana de Fertilidad*. Vol. 19-nº 4 – Julio-Agosto(2002)
14. Galán Morera R., *Garantía de calidad en salud*. Ed. Médica Panamericana, 2006(2º Ed.) Capítulo 4. Sistema de garantía de calidad en salud (pp. 62-69)
15. Hassan HA. Cumulus cell contribution to cytoplasmic maturation and oocyte developmental competence in vitro. *J Assist Reprod. Genet* 2001;18:539
16. ISO (2008) *Quality Management Systems: Requirements*. International standard ISO 9001. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
17. ISO (2007) *Medical Laboratories: Particular Requirements for Quality and Competence*. International Standard ISO 15189. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
18. Kenny D., Fraser CG., Hyltoft-Petersen PH, Kallner A., Consensus agreement. *Scand J Clin Lab Invest* 1999;59(7):585
19. Lawrence C, Mortimer S, Havelock J, Mortimer D (2007) VOC levels in a new IVF laboratory with both central and in laboratory photocatalytic air purification units. *Alpha Newsletter*, No.36: 1-5.
20. Manual Guía para la Definición e Implantación de un Sistema de Indicadores de Calidad. Ed. Nov 2002

21. Matorras R, Hernandez J (eds): Estudio y tratamiento de la pareja estéril: Recomendaciones de la Sociedad Española de Fertilidad, con la colaboración de la Asociación Española para el Estudio de la Biología de la Reproducción, de la Asociación Española de Andrología y de la Sociedad Española de Contracepción. Adalia, Madrid 2007. Capítulo 38,42
22. Moreno JM., Castilla JA., Ardoy M., Gómez E. *Indicadores del Laboratorio de Embriología clínica*. ASEBIR (2011).
23. Moreno JM., Palacios E., Gómez E., Castilla JA., González AL. *Definición y especificaciones de calidad de Indicadores del Laboratorio de embriología*. ASEBIR (2012)
24. Mortimer D, Mortimer ST. Laboratory investigation of the infertile male. In Brinsden PR (ed), *Textbook of In Vitro Fertilization and Assisted Reproduction*. Taylor & Francis, Abingdon (UK), 2005, pp.61-91.
25. Mortimer D. Ph.D., Mortimer Sharon T. Ph.D.: Quality and Risk Management in the IVF Laboratory. University of Cambridge. Cambridge, United Kingdom 2005. Quality and quality management.
26. Mortimer D. Ph.D., Mortimer Sharon T. Ph.D.: Quality and Risk Management in the IVF Laboratory. University of Cambridge. Cambridge, United Kingdom 2005. Process and systems
27. Mortimer D. Ph.D., Mortimer Sharon T. Ph.D.: Quality and Risk Management in the IVF Laboratory. University of Cambridge. Cambridge, United Kingdom 2005. Making it Work
28. Mortimer D. Ph.D., Mortimer Sharon T. Ph.D.: Quality and Risk Management in the IVF Laboratory. University of Cambridge. Cambridge, United Kingdom 2005. How are we doing? Benchmarking
29. Mortimer D. Ph.D., Mortimer Sharon T. Ph.D.: Quality and Risk Management in the IVF Laboratory. University of Cambridge. Cambridge, United Kingdom 2005. Quality and Risk Management in the IVF Laboratory
30. Mortimer D. Ph.D., Follow-up Meeting ANACER (Nov. 2007)
31. Mortimer ST et al, ESHRE Abstract P-317 (2002)

32. Núñez-Calonge Rocío. Sistemas de gestión de calidad en Reproducción Asistida. CMR-2011. Vol. 17. N° 2
33. Núñez-Calonge R, et al. Overall quality improvement of an IVF center: usefulness of a Quality System in Reproduction. International Congress Fertil Steril. 2004; 1271.
34. RAE Systems Application Note 212
35. Santos MJ et al., Estandarización de los Indicadores de Resultados en el Laboratorio de Reproducción Asistida. Revista ASEBIR , 2007;12(2):17-23
36. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen - 5th ed.
37. Williams Guillermo I. Dr., Calidad de los servicios de Salud. Programa Nacional de Garantía de Calidad en la Atención Médica. Ministerio de Sanidad de la República Argentina.
38. Wollersheim H., Hermens R., Hulscher M., Braspenning J., Ouwens M., Schouten J., Marres H., Dijkstra R., Grol R. *Clinical indicators: development and applications*. The Netherlands Journal of Medicine. Vol. 65, N°1, January 2007
39. www.dged.salud.gob.mx. “Manual de Indicadores de Servicios de Salud”
40. <http://es.scribd.com/doc/52080171/31/TIPOS-DE-INDICADORES>

