

Recomendaciones en el estudio del semen posvasectomía y vasovasostomía

Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular, Comité Científico
Comisión de Seminología y Técnicas de Reproducción Asistida
Documento B, Fase 3, Versión 4
Preparado por: C.Aulesa y JA Castilla

ÍNDICE

0. Introducción
1. Objetivo y Campo de aplicación
2. Vasectomía
 - 2.1. Fase preanalítica
 - 2.1.1. Impreso informativo e instrucciones.
 - 2.1.1.1. Período de abstinencia
 - 2.1.1.2. Medidas higiénicas
 - 2.1.1.3. Lugar de obtención y transporte
 - 2.1.1.4. Obtención de la muestra
 - 2.1.2. Recepción de la muestra y anamnesis.
 - 2.2. Fase analítica
 - 2.2.1. Análisis semen en fresco
 - 2.2.2. Análisis sedimento
 - 2.3. Resultados
3. Vasovasostomía
 - 3.1. Análisis de semen prevasovasostomía
 - 3.2. Análisis de semen postvasovasostomía
 - 3.3. Resultados
6. Bibliografía
5. Anexo I
6. Anexo 2

0. INTRODUCCIÓN

La vasectomía está considerada como uno de los métodos más efectivos y populares de control de la natalidad. Esta técnica es de elección, sobre todo para parejas estables que ya tienen hijos y no desean tener más. La incorporación de nuevas técnicas quirúrgicas que han sustituido la mera ligadura y sutura del conducto deferente, ha aumentado la eficiencia de la vasectomía, que se considera el mejor método anticonceptivo (1,2). La evidencia científica actual (3) considera el análisis de semen como la mejor metodología de valoración de la efectividad de la técnica quirúrgica, ya que hay que considerar que existe un riesgo bajo, pero no nulo, de complicaciones o de que se recanalice el conducto seccionado (1,4).

1. OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN

El objeto de este documento es el de establecer unas recomendaciones entre los facultativos de laboratorio clínico para la adecuada

Composición de la comisión: Carmen Mar (Presidenta), Carlos Aulesa, José Antonio Castilla, Amparo Galán, Inmaculada García Covaleda, Carmen Gonzalvo, María Luisa Hortas, María del Valle Lozano, Mercedes Marcos, Inmaculada Martín, Isabel Sánchez Prieto.

recogida de la muestra de semen, su recepción y análisis posterior, en respuesta a una creciente necesidad de estandarización de los procedimientos para el examen del semen humano (5-7); siendo el campo de aplicación, el análisis de semen posvasectomía y vasovasostomía.

2. VASECTOMÍA

La vasectomía es una operación simple que tiene una duración media de 30 minutos y que se realiza en el ámbito ambulatorio (1), con la utilización de anestesia local. Tiene como fundamento la oclusión quirúrgica de los conductos deferentes.

Inmediatamente después de la vasectomía, todas las eyaculaciones pueden contener en teoría espermatozoides potencialmente fértiles, por lo que se debe aconsejar continuar con otros métodos anticonceptivos hasta que se demuestre la eficacia de la intervención (7,8).

La experiencia del cirujano, junto con el número de vasectomías/año que realice, ha demostrado ser el factor más importante en el éxito de la operación y la posible aparición de complicaciones (4). La recanalización espontánea puede ser precoz (antes de los 4 meses) o tardía. La recanalización precoz presenta una incidencia entre 0,36-0,75% según los diferentes estudios y una posterior paternidad de 0-0,08% (7) y la tardía presenta una incidencia aun menor del 0,1% (1). Todo paciente que vaya a ser sometido a una vasectomía debe ser informado por el clínico de estos datos.

Debe existir un equilibrio entre la realización del análisis de los controles que demuestren la eficacia de la técnica y el tiempo de espera para realizar el primer control, ya que si éste se realiza demasiado pronto, se puede tener un elevado número de falsos positivos (varones con la vasectomía bien realizada que presentar espermatozoides móviles en el eyaculado). Los espermatozoides residuales pierden capacidad de fecundación entre los 3-8 días después de la intervención y se encuentran inmóviles transcurridos 15 días. El 97% de los pacientes presentan una azoospermia a los 4 meses de la intervención, el 3% restante puede presentar espermatozoides residuales hasta 12 meses después (9), asociado probablemente a un mayor reservorio del tracto urogenital; aunque numerosos estudios aseguran que en estos pacientes, esto no implica un mayor riesgo de gestación que la azoospermia (4,9).

Se estima que existe un 16% de pacientes operados que no realizan ningún tipo de control tras la vasectomía (10).

2.1 Fase preanalítica

2.1.1 Impreso informativo e instrucciones:

A la hora de informar al paciente sobre los pasos a seguir, las instrucciones le serán facilitadas por el clínico que solicita el

análisis o por el mismo laboratorio, pero, en cualquier caso, deben ser supervisadas por el facultativo del laboratorio (7,9). Es conveniente que la hoja de instrucciones sea simple pero informativa explicando al paciente no sólo lo que debe hacer o no debe hacer, sino también por qué. Este impreso deberá ser además normalizado con el sistema de calidad implantado en el laboratorio.

A continuación se describen los apartados que debe incluir el impreso informativo y las recomendaciones adicionales cuando se han considerado convenientes.

2.1.1.1 Período de abstinencia sexual

Antes de la recogida de la muestra a analizar, debe guardarse abstinencia sexual durante un periodo mínimo de 48 horas. Debe tenerse en cuenta que después de realizarse la operación de vasectomía y antes de hacer el primer análisis deben haber transcurrido 3-4 meses y haber tenido un mínimo de 25 eyaculaciones. El primer análisis se hará a los 3-4 meses de la operación y el segundo, de dos a cuatro semanas después de esta primera muestra.

Recomendaciones: Si el período de abstinencia es inferior a 48 horas, la muestra se debe considerar como no válida para su estudio.

2.1.1.2 Medidas higiénicas

Son necesarias para evitar una posible contaminación de la muestra. Se debe lavar el pene con jabón y aclararlo abundantemente con agua para evitar restos de jabón. No se debe aplicar ningún tipo de pomada. Recoger la muestra en un frasco de plástico de boca ancha estéril que se entregará en el laboratorio (puede también adquirirse en oficinas de farmacia solicitando "frasco estéril de boca ancha"), cerrándolo con su tapa tras la obtención del semen asegurando que queda bien cerrado.

2.1.1.3 Lugar de obtención

Es recomendable recoger la muestra en una sala anexa próxima al laboratorio para asegurar que el tiempo transcurrido desde la obtención hasta el inicio del estudio sea el menor posible y para evitar los cambios de temperatura que se producen en el transporte.

Recomendaciones:

- En ocasiones hay pacientes que manifiestan la incapacidad para obtener la muestra en dichas condiciones, en esos casos la muestra se puede obtener en el domicilio del paciente siguiendo las instrucciones que se comentan a continuación: se deberá llevar al laboratorio lo antes posible, protegiéndola durante el transporte de cambios de temperatura y siguiendo la normativa horaria de recepción de muestras que indique el laboratorio.

- No deberán aceptarse muestras enviadas a través de centros de extracción periféricos, ya que no se garantizan las condiciones preanalíticas indicadas.

2.1.1.4 Obtención de la muestra

Por masturbación. Los preservativos no pueden usarse debido a que contienen lubricantes y espermicidas y el *coitus interruptus* es inaceptable debido a que la primera fracción, rica en espermatozoides se puede perder fácilmente.

Recomendaciones:

- En ocasiones hay pacientes que manifiestan la incapacidad para obtener la muestra por masturbación. Existen preservativos especiales (sin espermicidas ni lubricantes) para obtención de semen con finalidad diagnóstica o terapéutica que pueden

usarse siguiendo estrictamente las instrucciones que acompañan al preservativo.

- Conviene además explicar la importancia de recoger el contenido total de la eyaculación, avisando que si se pierde o se vierte alguna cantidad por pequeña que sea, deberá comunicarlo al personal de laboratorio ya que la muestra no sería válida. Esto puede hacerse en la hoja informativa o bien comentarlo con el paciente en el momento de la entrevista previa a la obtención de la muestra.

2.1.2 Recepción de la muestra y anamnesis

Se aconseja que los pacientes traigan personalmente los especímenes al laboratorio, para facilitar su colaboración. El personal del laboratorio debe identificar el recipiente, el formulario de la solicitud y la hoja de trabajo, con el código-número de identificación del laboratorio, a ser posible todo ello delante del paciente.

La hoja de trabajo debe tener los siguientes apartados:

- Etiqueta identificativa de la muestra
- Primer apellido
- Segundo apellido
- Nombre
- Fecha de nacimiento
- Número Historia Clínica (cuando exista)
- Teléfono

La persona que recibe la muestra, deberá efectuar la adecuada anamnesis y anotación de las respuestas al paciente en lo referente a:

2.1.2.1 Hora de recogida de la muestra

2.1.2.2 Hora de entrega al laboratorio

2.1.2.3 Tiempo transcurrido desde la última eyaculación

2.1.2.4 Confirmación de recogida del volumen total de la muestra

Nota: en caso de pérdida de alguna porción del eyaculado, se explicará que la muestra no es válida.

2.1.2.5 Fecha de la vasectomía y si es la primera muestra que se trae al laboratorio

Finalmente, es conveniente que el paciente que transporta la muestra firme su entrega. Si no es el propio interesado, la persona que entrega la muestra debe identificarse y firmar en el impreso del laboratorio.

El personal del laboratorio debe saber que las muestras de semen, al igual que cualquier otra muestra en el laboratorio, pueden contener virus patógenos (HIV, virus hepatitis, herpes...) y por consiguiente deben de ser manejadas con las debidas precauciones.

2.2 Fase analítica

2.2.1 Análisis en fresco

Se recomienda que el laboratorio analice las muestras de semen lo antes posible con un límite máximo de 4 horas desde la eyaculación. La muestra se homogeneizará mediante agitación suave y se situará una alícuota de 10 microlitros entre portaobjetos y cubreobjetos de 22 x 22 mm y se examinarán no menos de 20-30

campos con un microscopio en contraste de fases (en el Anexo 1 se estudia la fiabilidad de la determinación dependiendo del número de campos analizados y su intervalo de confianza). Si se detecta la presencia de espermatozoides móviles, se especificará la concentración y el grado de movilidad siguiendo las recomendaciones del Manual de Análisis Básico de Semen de la ESHRE (6) o de la OMS (5). Si se detecta exclusivamente la presencia de espermatozoides inmóviles, bastará con mencionarlo en el informe.

2.2.2. Análisis sedimento

Si en el análisis en fresco no se observan espermatozoides se transferirá toda la muestra de semen a un tubo de base cónica y se centrifugará a 1000 g durante 10-15 minutos. Se separará el sobrenadante y se homogeneizará mecánicamente el sedimento en 100 microlitros del mismo plasma seminal y se estudia de igual manera a la descrita cuando se analiza el semen fresco (en el Anexo 2 se estudia la fiabilidad de la determinación dependiendo del número de campos analizados y su intervalo de confianza), señalando la presencia o ausencia de espermatozoides y su movilidad.

Recomendaciones:

En el caso de observar abundantes células o leucocitos en el sedimento, se debe señalar su presencia, indicando que pueden enmascarar la visualización de los espermatozoides y solicitar una nueva muestra para confirmar el resultado.

2.3 Resultados

Es responsabilidad del clínico y no del laboratorio el comunicar los resultados del análisis del semen a sus pacientes.

El informe de laboratorio debe de incluir los siguientes apartados:

- Nombre
- Identificación laboratorio
- Número Historia clínica
- Fecha de obtención de la muestra
- Periodo de abstinencia
- Volumen

Análisis en fresco: Presencia o ausencia de espermatozoides. Si se observan: concentración, porcentaje de espermatozoides móviles y porcentaje de espermatozoides inmóviles.

Análisis muestra centrifugada: Presencia o ausencia de espermatozoides. Si se observan especificar porcentaje de espermatozoides móviles y porcentaje de espermatozoides inmóviles.

Recomendaciones

En el caso de detectar abundantes espermatozoides inmóviles y sobre todo móviles y una vez verificada la fecha de la vasectomía, es aconsejable contactar con el clínico para informarle del hecho.

3. VASOVASOSTOMÍA

La vasovasostomía es una intervención que recanaliza el conducto deferente y que requiere microcirugía con anestesia general. La incidencia de las vasovasostomías se ha descrito entre el 1-3%⁰⁰ de las vasectomías (4,11) y el aumento de su frecuencia en el nuevo contexto social, hace aconsejable su incorporación al presente documento.

La operación puede exceder de las dos horas y si se realiza una epidídimo-vasostomía 4 o 5 horas. Respecto a la técnica quirúrgica, se recomienda el empleo de microcirugía (1,11).

El conducto deferente es seccionado a ambos lados de la sutura y la aparición intraoperatoria de espermatozoides al final del deferente seccionado es un índice de buen pronóstico. Posteriormente se procede a la anastomosis del vaso. Cuando existe una obstrucción patológica del epidídimo es necesario realizar una epidídimo-vasostomía, que comporta una mayor complejidad y unos resultados más pobres.

La experiencia del cirujano y la técnica de microcirugía empleada es un factor importante. Se han descrito una tasa de recuperación testicular y posterior paternidad entre el 30-65% de los intervenidos, en función de los años transcurridos desde la vasectomía. La realización de una epidídimo-vasostomía está indicada cuando han transcurrido más de 10 años (11) de la vasectomía.

Una alternativa actual que se debe plantear después del fracaso de la vasovasostomía, es la utilización de técnicas de reproducción asistida (ICSI) a partir de espermatozoides obtenidos del epidídimo o del testículo intraoperatoriamente (11).

3.1. Análisis semen prevasovasostomía

Un análisis de semen preintervención es recomendable, ya sea para comprobar la ausencia de espermatozoides, como para obtener el volumen de semen de muestra inicial preoperatorio, ya que un bajo volumen del semen, indicaría además la necesidad de la realización de una ecografía antes de la intervención para localizar obstrucciones adicionales del tracto urogenital (1). La recomendación de obtención de muestra y posterior análisis es igual que el análisis de semen posvasectomía junto con la medición del volumen del eyaculado.

3.2. Análisis semen posvasovasostomía

A los seis meses de la intervención se determinarán los parámetros básicos seminales. En función de los resultados, puede ser conveniente realizar determinaciones de fructosa, ácido cítrico y maltasa (glucosidasa neutra) para valorar las secreciones de la vesícula seminal, próstata y epidídimo (12).

3.3. Resultados

En el análisis prevasovasostomía, se adopta el formato de resultados del análisis de semen posvasectomías ya descrito y en cuanto al análisis de semen posvasovasostomía el informe que el laboratorio tenga establecido.

4. BIBLIOGRAFÍA

1. Goldstein M. Campbell's Urology 8th ed.; Editor: Walsh P.C. Philadelphia, 2002.
2. Wright A, Best KC, Sokal D. Clinical review: Recent developments in vasectomy. *BMJ* 2005; 330: 296-9.
3. Sivardeen KAZ, Budhoo M. Post vasectomy analysis: call for uniform evidence based protocol. *Ann R Coll Surg Eng* 2001; 83: 177-9.
4. Schwingl PJ, Guess HA. Safety and effectiveness of vasectomy. *Fertil Steril* 2000; 73: 923-36.
5. OMS manual de laboratorio para el examen del semen humano y de la interacción entre el semen y el moco cervical. 4ed. Editorial Panamericana, 2001. Madrid.
6. Kvist U, Björndahl L. ESHRE Monographs. Manual on basic semen analysis. Oxford University Press. June 2002.
7. Hancock P, McLaughlin E. British Andrology Society guidelines for the assessment of post vasectomy semen samples. *J Clin Pathol* 2002; 55: 812-6.
8. Jamieson D, Costello C, Trussell J, Hillis SD, Marchbanks PA, Peterson HB. The risk of pregnancy after vasectomy. *Obstet Gynecol* 2004; 103: 848-50.

9. Chafter M, Andrés C, Navarro L. Espermiograma para control de la vasectomía. *An Clin* 2005;30:9-19.
10. Badrakumar C, Gogoi NK, Sundaram SK. Semen analysis after vasectomy: when and how many? *BJU international* 2000;86:479-81.
11. Fox M. Failed vasectomy reversal: is a further attempt using microsurgery worthwhile?. *BJU International* 2000;86:474-8.
12. Lemack GC, Goldstein M. Presence of sperm in the prevasectomy reversal semen analysis: incidence and implications. *J Urol* 1996;155:167-9.

5. Anexo 1

Al examinar una muestra de semen en fresco, lo que realmente se analiza es una pequeña fracción de la muestra completa, esto significa que la muestra, con cierta posibilidad contiene menos de una determinada concentración de espermatozoides. La imprecisión de una valoración depende de la concentración real de espermatozoides y de la proporción de la muestra original que se examine en el microscopio. Cuanto mayor sea la proporción mayor será la precisión. Si se examinan unos 10 campos de una preparación en fresco, se estarán analizando unos 40 nanolitros (tabla I). Este hecho refleja que cuando no se encuentra ningún espermatozoide en una cámara de 10 microlitros, hay un riesgo del 5% de ignorar una concentración de espermatozoides igual a 290.000/mL y del 50% de ignorar 70.000/mL (6). Por ello será importante examinar el sedimento del semen tras centrifugar, cuando no se encuentre ningún espermatozoide en la preparación en fresco.

Tabla I. Riesgo de no observar espermatozoides en una preparación en fresco (\approx 40 nL) a varias concentraciones de espermatozoides

Concentración espermática real (espermatozoides/mL) de la muestra analizada	Preparación en fresco (10 campos \approx 40 nL) Riesgo de no encontrar ningún espermatozoide
1000	0,96
10.000	0,67
30.000	0,30
70.000	0,06
75.000	< 0,05

6. Anexo 2

Cuando una muestra de semen contiene espermatozoides siempre existe un riesgo de no observarlos. La confianza en la valoración de una gota de 10 microlitros del sedimento tras la centrifugación, bajo el objetivo de 40x, (un campo microscópico corresponde a 4 nL) se presenta en la tabla II. Cada vez que se analiza al microscopio un cubreobjetos de arriba a abajo, se observan aproximadamente unos 40 campos. Realizando esta operación 10 veces, se analizan 400 campos. Cuando se examinan 400 campos, se valora un volumen total de unos 1.600 nL (4 x 400), por ejemplo \approx 1/62 del volumen total del sedimento de 100 mL (100.000 nL). Si hay >188 espermatozoides en el sedimento obtenido tras la centrifugación, el riesgo de no encontrar espermatozoides es <5%. Sin embargo, con concentraciones más bajas, la probabilidad de no encontrar espermatozoides es >5%. Por esto, si no se encuentra ningún espermatozoide después de examinar un volumen total de 1.600 nL, se puede afirmar que los 100 μ L de sedimento, y por tanto la muestra completa, contienen < 188 espermatozoides (tabla II) (12).

Tabla II. En esta tabla se representa, el número crítico de espermatozoides, con relación al número de campos examinados, por encima del cual, el riesgo de no observar espermatozoides es < 5%. Así, al examinar 400 campos, el riesgo de no encontrar espermatozoides es <5% si la muestra contiene 188 espermatozoides (diámetro de campo de 500 μ m, profundidad de preparación de 20 μ m)

	Campos de visión examinados		
	4	40	400
Número crítico de espermatozoides	18.750	1.875	188

Correspondencia
Carmen Mar
Laboratorio de Bioquímica
Hospital de Galdakao
cmar@hgda.osakidetza.net