

Laboratorium praktijk richtlijn controle na vasectomie

Opgesteld door werkgroep semen van NVKC en KLEM

Datum:

Revisie: uiterlijk 1 januari 2010

Inhoudsopgave

Inleiding	3
Verantwoording.....	3
Werkwijze	5
1. Pre-analytisch traject	5
2. Monsterontvangst door laboratorium	5
3. Materialen.....	5
4. Werkwijze	5
5. Rapportage	6
6. Interpretatie	6
Bijlagen	7
Bijlage 1	7
Voorbeeld berekening van te meten oppervlakte	7
Bijlage 2	8
Tabel voor BI van het verwachte aantal cellen per volume bij gevonden aantal (x) cellen	8

Inleiding:

Op grond van de herziene richtlijn “Vasectomie”, die is gepubliceerd door de NVU (1), de workshop vasectomie (2) en de 4^e editie van het WHO manual voor semen onderzoek (3), heeft de werkgroep Semen, na overleg met de NVU, een praktijkrichtlijn opgesteld voor een verantwoorde uitvoering van de semenanalyse voor de postvasectomie controle.

Verantwoording

Met behulp van een uitgebreid literatuuronderzoek die is uitgevoerd tot 30 juni 2007 met behulp van Medline (Zoekterm Vasectomy: 3871 treffers) is geprobeerd om de relatie vast te stellen tussen een met behulp van een semenanalyse vastgestelde steriliteit en de kans op een zwangerschap na vasectomie. De conclusie is dat publicaties over dit onderwerp niet bruikbaar waren voor het opzetten van een praktijkrichtlijn voor de uitvoering van een semenanalyse waarmee steriliteit op een wetenschappelijk onderbouwde wijze kan worden vastgesteld. De belangrijkste reden hiervoor is dat in deze publicaties (4) de noodzakelijke informatie ontbreekt over de technische uitvoering van de semenanalyse, zoals het geanalyseerde volume. Hierdoor is het bijvoorbeeld onmogelijk om te herleiden of het voorkomen van zaadcellen na een aanvankelijk vaststelling van steriliteit, waarvan de prevalentie hiervan wordt ingeschat op 0,04-0,08%, een fysiologische oorzaak had, dan wel het gevolg was van de wijze waarop de semenanalyse werd uitgevoerd (5). Bovendien kon op grond van deze publicaties het aandeel van andere oorzaken voor de sporadische zwangerschappen na vasectomie, zoals een te vroege onbeschermd coïtus of een buitenrelationele verwekking van een kind, onvoldoende gekwantificeerd worden. Door het ontbreken van wetenschappelijk onderbouwde criteria, is de werkgroep bij het opstellen van de praktijkrichtlijn voor de uitvoering van de semenanalyse uitgegaan van NVU-criteria voor “steriliteit”, namelijk: “*een azoöspermie of een concentratie van minder dan 100.000 niet-beweeglijke zaadcellen per milliliter.*” **[Fout! Bladwijzer niet gedefinieerd.]**, mede ingegeven door het feit dat er na een vasectomie nog lange tijd (enkele maanden tot een jaar) kleine hoeveelheden (non-motiele) restspermatozoa bij ejaculatie mee kunnen komen ().

Tijdens de workshop vasectomie (2) werden als uitgangspunten vastgesteld:

- Na een vasectomie kunnen nog lange tijd (enkele maanden tot een jaar) kleine hoeveelheden (non-motiele) restspermatozoa bij ejaculatie meekomen.
- De aanwezigheid van motiele zaadcellen, 3 maanden na de vasectomie, duidt op een mislukte ingreep of rekanalisatie .
- Centrifugatie is ongeschikt om volledige sedimentatie van alle spermatozoa te bewerkstelligen. Tevens kan de aanwezigheid van grote hoeveelheden debris een betrouwbare inspectie van het pellet verhinderen.

Deze praktijkrichtlijn heeft tot doel om te beschrijven hoe in een zaadmonster met behulp van een éénduidige bepalingprocedure steriliteit kan worden vastgesteld, zoals gedefiniëerd door de NVU. Hierbij zijn als eisen gesteld dat productie en beoordeling gericht moeten zijn op de bepaling van motiele spermatozoa en dat de monsternamen zodanig dient te geschieden dat de afwezigheid of juist de aanwezigheid van lage hoeveelheden spermatozoa betrouwbaar vastgesteld kunnen worden.

Referenties:

- (1) Dohle GR, Meuleman EJH, Hoekstra JW, van Roijen JH, Zwiers W. Herziene richtlijn “vasectomie” van de Nederlandse vereniging voor Urologie. Ned Tijdschrift Geneeskd. 2005; 149: 2728-2731

- (2) Werkgroep Semen. Workshop vasectomie NVKC Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2007; 32: 108-109
- (3) WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction 4th edition 1999
- (4) Weiske WH. Vasectomy. Andrologia 2001; 33: 125-134
- (5) Bengler JR, Swami SK, Gingell JC. Persistent spermatozoa after vasectomy: a survey of British urologists. BJU 1995; 76: 376-379

Werkwijze:

1. Pre-analytisch traject:

Het laboratorium dient met behandelaars en andere betrokkenen afspraken gemaakt te hebben over de wijze van het aanvragen en de verkrijging van semen dat geanalyseerd gaat worden.

Er dienen schriftelijke instructies gegeven te worden over de condities waaronder het semen geproduceerd en getransporteerd dient te worden.

Het monster dient geproduceerd te worden middels masturbatie en te worden opgevangen in een schoon en steriel potje dat bij voorkeur wordt uitgegeven door het laboratorium.

Aan de patiënt moet duidelijk zijn dat het monster t.t.v. ontvangst door het laboratorium niet ouder mag zijn dan 2 uur na productie. Transport moet plaatsvinden bij een temperatuur tussen kamertemperatuur en lichaamstemperatuur (bv in binnenzak jas). Eventueel verlies van materiaal of bijzondere omstandigheden tijdens productie en/of transport moeten bij afgifte gemeld worden.

Elk monster dat in bewerking genomen wordt dient te zijn voorzien van een unieke identificatie.

2. Monsterontvangst door laboratorium

- a) Controleer aanvraagformulier, identificatie op potje en identificatie van patiënt; tenminste naam en geboortedatum.
- b) Noteer productietijd, ontvangsttijd en bijzonderheden tijdens transport.
- c) Vraag naar koortsende ziekte in de afgelopen 3 maanden. (Effect van koorts is het grootste in de periode van 8 – 60 dagen voor ejaculatie.)
- d) Noteer datum vasectomie en om hoeveelste controle het gaat.

3. Materialen:

- a) Buis met schroefdop
- b) Rollerbank
- c) Pipetten
- d) Telkamer: disposable, 20 µm diep, met gevalideerde telstatistiek
- e) Fase contrast microscoop met verwarmde tafel.

4. Werkwijze:

- a) Laat het semen 15 minuten vervloeien (bij 37°C).
- b) Breng het semen over naar een buis met dop.
- c) Homogeniseer het semen (30 min op roller) .
- d) Bepaal de viscositeit (doe dit door met een Pasteurse pipet semen op te zuigen en terug te druppelen in de buis; de viscositeit is normaal als de druppels geen draad hebben). Indien viscositeit verhoogd dan dient dit als commentaar in de rapportage gemeld te worden.

- e) Bepaal de homogeniteit van het monster op het oog (aanwezigheid slierten, vlokken e.d.). Indien er geen sprake is van een homogeen monster dan dient dit als commentaar in de rapportage gemeld te worden.
- f) Neem uit het semen twee verschillende monsters en breng deze in de disposable telkamers.
- g) Bepaal in telkamers het aantal zaadcellen over een oppervlakte die voldoende groot is (zie bijlage).
- h) Toets de dupliceerbaarheid van beide uitkomsten (95% BI). Herhaal de gehele meting inclusief monstername, indien de waarden niet overeenkomen.
- i) Bepaal of het aantal getelde zaadcellen overeenkomt met een waarde $>$ of $<$ 100,000/ml.
- j) Beoordeel of er motiele zaadcellen te zien zijn.

5. Rapportage:

- a) Neem de gegevens van de monsterontvangst over in de rapportage.
- b) Geef aan of de viscositeit normaal of verhoogd was. Vermeld in de toelichting dat een verhoogde viscositeit mogelijk van invloed kan zijn op de betrouwbaarheid van het resultaat .
- c) Geef aan of het monster als homogeen kan worden aangemerkt. Vermeld in de toelichting dat afwijkingen in de homogeniteit mogelijk van invloed kunnen zijn op de betrouwbaarheid van het resultaat .
- d) Geef als eerste resultaat weer: concentratie $<$ of $>$ 100,000/ml.
- e) Geef als tweede resultaat weer: wel/geen motiele zaadcellen waargenomen in telvolume (# μ l)

6. Interpretatie:

- Geef aan dat de concentratiebepaling een steekproef betreft met een BI van 99%.
- Geef aan dat de motiliteit bepaald wordt in een volume van .. μ l en dat de afwezigheid of aanwezigheid van cellen hierin wordt gerapporteerd zonder dat hiervoor betrouwbare statistiek voorhanden is.
- Rapporteer geen waarden boven 100,000/ml. Het is aan de aanvragend arts om dit evt middels een standaard semenanalyse aan te vragen.
- Geef geen conclusie bij de uitslag (bv “clearance” of “special clearance”); dit is de verantwoordelijkheid van de uroloog.

Bijlagen

- **Bijlage 1:**
Voorbeeld berekening van te meten oppervlakte.

Uitgaande van een disposable telkamer met een diepte van 20 μ kan de volgende berekening worden gemaakt:

1. Een afkapwaarde van 100.000 zaadcellen/ml (norm uit richtlijn vasectomie van NVU) betekent 100 zaadcellen/ μ l.
2. In de genoemde telkamer heeft een volume van 1 μ l een bijbehorend oppervlak van ongeveer 7 x 7 mm.
3. Uit de tabel in bijlage 2 kunnen we nu met een zekerheid van 99% de upper limit van het aantal zaadcellen aflezen. Kijk hiervoor in de laatste kolom (ul 98) en zoek hierbij de rij met het getal dat net onder de waarde 100 ligt. In ons voorbeeld is dat 98,871. De bijbehorende waarde onder "x" is 76. Dus: tellen we in het oppervlak van 7x7 mm 76 of minder cellen dan kan met een zekerheid van 99% gesteld worden dat de concentratie minder is dan 100.000/ml.
4. LET OP: houdt rekening met het voorschrift van de telkamer. Soms zijn correcties noodzakelijk, bv voor viscositeit of m.b.t. de uitkomsten van de duplo's.

Bijlage 2: Tabel voor BI van het verwachte aantal cellen per volume bij gevonden aantal (x) cellen. Ugaande van een Poisson verdeling. Voor unilaterale waarnemingen (zoals hier het geval) mag de laatste kolom gebruikt worden met daaraan gekoppeld een betrouwbaarheidsinterval van 0.99.

x	ll_90	ul_90	ll_98	ul_98
1	0.051	4.744	0.010	6.638
2	0.355	6.296	0.149	8.406
3	0.818	7.754	0.436	10.045
4	1.366	9.154	0.823	11.605
5	1.970	10.513	1.279	13.108
6	2.613	11.842	1.785	14.571
7	3.285	13.148	2.330	16.000
8	3.981	14.435	2.906	17.403
9	4.695	15.705	3.507	18.783
10	5.425	16.962	4.130	20.145
11	6.169	18.208	4.771	21.490
12	6.924	19.443	5.428	22.821
13	7.690	20.669	6.099	24.139
14	8.464	21.886	6.782	25.446
15	9.246	23.097	7.477	26.743
16	10.036	24.301	8.181	28.030
17	10.832	25.499	8.895	29.310
18	11.634	26.692	9.616	30.581
19	12.442	27.879	10.346	31.845
20	13.255	29.062	11.082	33.103
21	14.072	30.240	11.825	34.355
22	14.894	31.415	12.574	35.601
23	15.719	32.585	13.329	36.841
24	16.549	33.752	14.089	38.077
25	17.382	34.916	14.853	39.308
26	18.219	36.077	15.623	40.534
27	19.058	37.234	16.397	41.757
28	19.901	38.389	17.175	42.975
29	20.746	39.541	17.957	44.190
30	21.594	40.691	18.742	45.401
31	22.445	41.838	19.532	46.608
32	23.297	42.982	20.324	47.813
33	24.153	44.125	21.120	49.014
34	25.010	45.266	21.919	50.213
35	25.870	46.404	22.721	51.408
36	26.731	47.541	23.526	52.601
37	27.595	48.675	24.333	53.791
38	28.460	49.808	25.143	54.979
39	29.327	50.940	25.955	56.164
40	30.196	52.069	26.770	57.347
41	31.066	53.197	27.587	58.528

x	ll_90	ul_90	ll_98	ul_98
42	31.938	54.324	28.406	59.707
43	32.812	55.449	29.228	60.884
44	33.687	56.573	30.052	62.058
45	34.563	57.695	30.877	63.231
46	35.441	58.816	31.705	64.402
47	36.320	59.935	32.534	65.571
48	37.200	61.054	33.365	66.738
49	38.082	62.171	34.198	67.903
50	38.965	63.287	35.032	69.067
51	39.849	64.402	35.869	70.230
52	40.734	65.516	36.707	71.390
53	41.620	66.628	37.546	72.549
54	42.507	67.740	38.387	73.707
55	43.396	68.851	39.229	74.863
56	44.285	69.960	40.073	76.018
57	45.176	71.069	40.918	77.172
58	46.067	72.177	41.765	78.324
59	46.959	73.284	42.613	79.475
60	47.852	74.390	43.462	80.625
61	48.746	75.495	44.312	81.773
62	49.641	76.599	45.164	82.921
63	50.537	77.702	46.016	84.067
64	51.434	78.805	46.870	85.212
65	52.331	79.907	47.726	86.355
66	53.229	81.008	48.582	87.498
67	54.128	82.108	49.439	88.640
68	55.028	83.208	50.297	89.781
69	55.928	84.306	51.157	90.920
70	56.830	85.405	52.017	92.059
71	57.732	86.502	52.879	93.196
72	58.634	87.599	53.741	94.333
73	59.537	88.695	54.604	95.469
74	60.441	89.790	55.469	96.604
75	61.346	90.885	56.334	97.738
76	62.251	91.979	57.200	98.871
77	63.157	93.073	58.067	100.003
78	64.063	94.166	58.935	101.134
79	64.970	95.258	59.803	102.265
80	65.878	96.350	60.673	103.395
81	66.786	97.441	61.543	104.524
82	67.695	98.532	62.414	105.652
83	68.604	99.622	63.286	106.779
84	69.514	100.712	64.159	107.906
85	70.425	101.801	65.032	109.032
86	71.336	102.889	65.906	110.157
87	72.247	103.977	66.781	111.281
88	73.159	105.065	67.657	112.405

x	ll_90	ul_90	ll_98	ul_98
89	74.071	106.152	68.533	113.528
90	74.984	107.239	69.410	114.650
91	75.898	108.325	70.288	115.772
92	76.812	109.410	71.166	116.893
93	77.726	110.495	72.045	118.013
94	78.641	111.580	72.925	119.133
95	79.556	112.664	73.805	120.252
96	80.472	113.748	74.686	121.371
97	81.388	114.832	75.568	122.489
98	82.305	115.915	76.450	123.606
99	83.222	116.997	77.333	124.723
100	84.139	118.079	78.216	125.839
101	85.057	119.161	79.100	126.954
102	85.975	120.242	79.984	128.069
103	86.894	121.323	80.870	129.184
104	87.813	122.404	81.755	130.297
105	88.733	123.484	82.641	131.411
106	89.652	124.564	83.528	132.523
107	90.573	125.643	84.415	133.636
108	91.493	126.722	85.303	134.747
109	92.414	127.801	86.191	135.859
110	93.336	128.879	87.080	136.969
111	94.257	129.957	87.969	138.080
112	95.179	131.035	88.859	139.189
113	96.102	132.112	89.750	140.298
114	97.024	133.189	90.640	141.407
115	97.947	134.266	91.532	142.516
116	98.871	135.342	92.423	143.623
117	99.795	136.418	93.316	144.731
118	100.719	137.494	94.208	145.838
119	101.643	138.569	95.101	146.944
120	102.568	139.644	95.995	148.050
121	103.493	140.719	96.889	149.156
122	104.418	141.793	97.783	150.261
123	105.344	142.867	98.678	151.365
124	106.270	143.941	99.574	152.470
125	107.196	145.014	100.469	153.574
126	108.122	146.087	101.365	154.677
127	109.049	147.160	102.262	155.780
128	109.976	148.233	103.159	156.883
129	110.904	149.305	104.056	157.985
130	111.831	150.377	104.954	159.087
131	112.759	151.449	105.852	160.188
132	113.687	152.521	106.751	161.290
133	114.616	153.592	107.650	162.390
134	115.545	154.663	108.549	163.491
135	116.474	155.734	109.449	164.591

x	ll_90	ul_90	ll_98	ul_98
136	117.403	156.804	110.349	165.690
137	118.333	157.874	111.249	166.789
138	119.262	158.944	112.150	167.888
139	120.192	160.014	113.051	168.987
140	121.123	161.083	113.953	170.085
141	122.053	162.153	114.854	171.183
142	122.984	163.221	115.757	172.280
143	123.915	164.290	116.659	173.377
144	124.846	165.359	117.562	174.474
145	125.778	166.427	118.465	175.571
146	126.710	167.495	119.369	176.667
147	127.642	168.563	120.273	177.763
148	128.574	169.630	121.177	178.858
149	129.506	170.698	122.081	179.953
150	130.439	171.765	122.986	181.048
151	131.372	172.832	123.891	182.143
152	132.305	173.898	124.797	183.237
153	133.238	174.965	125.703	184.331
154	134.172	176.031	126.609	185.424
155	135.106	177.097	127.515	186.518
156	136.040	178.163	128.422	187.611
157	136.974	179.228	129.329	188.703
158	137.908	180.294	130.236	189.796
159	138.843	181.359	131.144	190.888
160	139.778	182.424	132.052	191.980
161	140.713	183.488	132.960	193.071
162	141.648	184.553	133.868	194.163
163	142.584	185.617	134.777	195.254
164	143.519	186.682	135.686	196.344
165	144.455	187.746	136.595	197.435
166	145.391	188.809	137.505	198.525
167	146.327	189.873	138.415	199.615
168	147.264	190.936	139.325	200.704
169	148.200	192.000	140.235	201.794
170	149.137	193.063	141.146	202.883
171	150.074	194.125	142.057	203.972
172	151.011	195.188	142.968	205.060
173	151.949	196.251	143.879	206.149
174	152.886	197.313	144.791	207.237
175	153.824	198.375	145.703	208.325
176	154.762	199.437	146.615	209.412
177	155.700	200.499	147.528	210.500
178	156.638	201.560	148.440	211.587
179	157.576	202.622	149.353	212.673
180	158.515	203.683	150.266	213.760
181	159.454	204.744	151.180	214.846
182	160.393	205.805	152.093	215.933

x	ll_90	ul_90	ll_98	ul_98
183	161.332	206.866	153.007	217.018
184	162.271	207.926	153.921	218.104
185	163.210	208.987	154.836	219.190
186	164.150	210.047	155.750	220.275
187	165.090	211.107	156.665	221.360
188	166.030	212.167	157.580	222.444
189	166.970	213.227	158.495	223.529
190	167.910	214.286	159.411	224.613
191	168.850	215.346	160.327	225.697
192	169.791	216.405	161.242	226.781
193	170.731	217.464	162.159	227.865
194	171.672	218.523	163.075	228.948
195	172.613	219.582	163.992	230.032
196	173.554	220.641	164.908	231.115
197	174.496	221.700	165.825	232.197
198	175.437	222.758	166.743	233.280
199	176.379	223.816	167.660	234.362
200	177.320	224.874	168.578	235.444