

Controle na vasectomie

Laboratorium protocol

Versie: 1.0

Ingangsdatum: 1 Augustus 2010

Revisiedatum: 1 Augustus 2015

Status: Definitief

Inhoudsopgave

Inbedding	3
Werkwijze en Resultaten	3
Literatuuronderzoek.....	3
Workshop	3
Opstellen protocol	4
Referenties	4
Protocol	5
Pre-analytisch traject	5
Monsterontvangst door het laboratorium	5
Analyse	5
Rapportage	6
Bijlagen	7
Bijlage 1: Voorbeeld berekening van te meten oppervlakte.....	7
Bijlage 2: Tabel Betrouwbaarheidsinterval.....	8
Opstelling laboratorium protocol	9

Inbedding

In 2005 heeft de Nederlandse Vereniging voor Urologie (NVU) bekend gemaakt dat de richtlijn voor het uitvoeren van vasectomie is herzien (1). In deze herziene richtlijn is tevens opgenomen de controle op het slagen van de ingreep. Voor deze controle wordt semenonderzoek verricht waarbij 100.000 zaadcellen per milliliter de bovengrens vormt voor *clearance*. Het gaat hierbij om onbeweeglijke zaadcellen. Bij waarneming van beweeglijke zaadcellen wordt nooit *clearance* gegeven. Aangezien semenonderzoek doorgaans wordt uitgevoerd in klinisch chemische en klinisch embryologische laboratoria, heeft de werkgroep semen van de Nederlandse Vereniging voor Klinische Chemie en Laboratoriumgeneeskunde (NVKC) en de Vereniging voor Klinische Embryologie (KLEM) zich beraden over een verantwoorde uitvoering van de semenanalyse voor de postvasectomie controle, aangezien de aangegeven grenswaarde niet voldoende betrouwbaar kan worden uitgevoerd met een standaard concentratiemeting en de WHO manual voor semenonderzoek (2) geen duidelijk protocol voorschrijft. De werkgroep heeft dit gecommuniceerd met de NVU en hierover gepubliceerd (3).

Werkwijze en resultaten:

Literatuuronderzoek

Allereerst werd een literatuuronderzoek verricht om na te gaan of er in de literatuur relaties zijn gelegd tussen de resultaten van een semenanalyse en de kans op een zwangerschap na vasectomie. De literatuurstudie werd uitgevoerd met behulp van Medline met als zoekterm "vasectomy" en met als uiterste publicatiedatum 30 juni 2007. Er waren 3871 treffers.

Uit de literatuur blijkt dat de prevalentie van ongewenste zwangerschappen na vasectomie wordt geschat op 0,04-0,08%. Verder blijkt dat in deze publicaties (4) de noodzakelijke informatie ontbreekt over de technische uitvoering van de semenanalyse, zoals het geanalyseerde volume. Hierdoor is het onmogelijk te herleiden of het voorkomen van zaadcellen, na een aanvankelijk vaststelling van steriliteit, het gevolg is van een fysiologische oorzaak (bijvoorbeeld rekanalisatie) of dat sprake is van een fout in de uitvoering van de semenanalyse (5). Bovendien kon op grond van deze publicaties het aandeel van andere oorzaken voor de sporadische zwangerschappen na vasectomie, zoals een te vroege onbeschermde coïtus of een buitenrelationele verwekking van een kind, onvoldoende gekwantificeerd worden. 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 met aanvaardbare zekerheid kan worden vastgesteld.

Workshop

In het kader van een onderzoek naar de werkzaamheid van een anticonceptiepil voor mannen was inmiddels meer onderzoek gedaan naar het vaststellen van zeer lage concentraties zaadcellen. Dit onderzoek werd uitgevoerd onder supervisie van Organon. Er werd onderzoek gedaan door de groep van Cooper (Münster, Duitsland), waarbij gebruik werd gemaakt van speciale telkamers van de firma Leja (Nieuw-Vennep, Nederland). Besloten werd een workshop te organiseren waarbij de betrokkenen van dit onderzoek werden uitgenodigd. Ook de NVU was vertegenwoordigd. Tijdens de workshop werd gediscussieerd over de meetbaarheid van de NVU-criteria voor "steriliteit", namelijk: "een azoöspermie of een concentratie van minder dan 100.000 niet-beweeglijke zaadcellen per milliliter."(1).

Tijdens de workshop vasectomie (6) werd als volgt geconcludeerd:

- Ten opzichte van met onderzoek met de anticonceptiepil is vaststellen van een azoöspermie na een vasectomie complexer. Als gevolg van de ingreep zal vaak meer debris aanwezig zijn.
- Na een vasectomie kunnen nog lange tijd (enkele maanden tot een jaar) kleine hoeveelheden (immotiele) restspermatozoa bij ejaculatie meekomen.
- De aanwezigheid van motiele zaadcellen, 3 maanden na de vasectomie, duidt op een mislukte ingreep of rekanalisatie .
- Centrifugeren is ongeschikt om volledige sedimentatie van alle spermatozoa te bewerkstelligen (7). Tevens kan de aanwezigheid van grote hoeveelheden debris een betrouwbare inspectie van het pellet verhinderen.

Opstellen protocol:

Op basis van het bovenstaande is geconcludeerd dat het lastig is een sluitend protocol op te zetten ter vaststelling van steriliteit na vasectomie. Er is daarom besloten het protocol op te stellen met inachtnaam van de volgende punten:

- ✓ Er wordt niet gecentrifugeerd omdat dit een versturende factor is bij het kwantificeren van het aantal zaadcellen. Gevolg is dat er een relatief groot volume gemeten dient te worden t.o.v. de concentratiebepaling in een standaard semenanalyse;
- ✓ De meting ter vaststelling van een concentratie van meer of minder dan 100.000 zaadcellen/ml moet een statistische betrouwbaarheid hebben van minstens 99%;
- ✓ Voor het vaststellen van de aanwezigheid van (een) enkele motiele zaadcel(len) in het totale ejaculaat is geen betrouwbare statistiek voorhanden;
- ✓ Viscositeit en inhomogeniteit zijn versturende factoren. Deze bevindingen worden aan de aanvrager gerapporteerd.

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) WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction 4th edition 1999
- (3) Van der Horst FAL, Wolthuis A, de Vries JWA, Wetzels A, Arts EGJM, Beijer C, Curfs MHJM, Njo TL. Herziene richtlijn 'Vasectomie' van de Nederlandse Vereniging voor Urologie. Ned Tijdschr Geneeskd 2006; 150: 819-820.
- (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.
- (6) Werkgroep Semen. Workshop vasectomie. Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2007; 32: 108-109.
- (7) Cooper TG, Hellenkemper B, Jonckheere J, Callewaert N, Grootenhuis AJ, Kersemaekers WM, Leung A, Wang C. Azoospermia: virtual reality or possible to quantify. J Androl 2006; 27: 483-490.
- (8) Jouannete P, David G. Evolution of the properties of semen immediately following vasectomy. Fertil Steril 1978; 29: 435-441.

Protocol:

1. Pre-analytisch traject

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

Er dienen schriftelijke instructies gegeven te worden aan de cliënt 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 cliënt moet duidelijk zijn dat het monster na productie niet ouder mag zijn dan 2 uur ten tijde van ontvangst door het laboratorium. 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.

Als een monster onvolledig is verzameld moet dit door de cliënt worden aangegeven op het formulier. Deze monsters worden niet in bewerking genomen daar het een onbetrouwbaar resultaat geeft (vaak gaat het eerste deel van het ejaculaat verloren waar de meeste spermatozoën in zitten).

Elk monster dat aangenomen wordt dient te zijn voorzien van een unieke identificatie.

2. Monsterontvangst door laboratorium

Bij de ontvangst van het monster dient de unieke identificatie te worden gecontroleerd. Tevens de volgende gegevens worden genoteerd en gerapporteerd: productietijd, ontvangsttijd, bijzonderheden tijdens productie en transport (bv. verlies van materiaal), datum vasectomie, eventueel eerdere controles en koortsende ziekte in de afgelopen 3 maanden (het effect van koorts is het grootste in de periode van 8 – 60 dagen voor ejaculatie).

3. Analyse

- Voorafgaande aan de analyse dient het monster goed vervloeid (bij voorkeur 37°C) en gehomogeniseerd (bij voorkeur rollerbank gebruiken) te zijn.
- De viscositeit en de homogeniteit van het monster moeten worden vastgesteld. Indien het monster niet homogeen is, of als de viscositeit verhoogd is, dient dit te worden gerapporteerd aan de aanvragend arts. De werkgroep doet vooralsnog geen uitspraak over het gebruik van enzymen ter verlaging van de viscositeit.

Immers, een belangrijk criterium bij de interpretatie van het postvasectomie onderzoek is de motiliteit. De beschikbare wetenschappelijke literatuur geeft naar het idee van de werkgroep onvoldoende duidelijkheid over de effecten van de enzymbehandeling op de motiliteit.

- Volumebepaling van het ejaculaat is optioneel. Het belangrijkste is dat het monster volledig is (dit moet worden nagevraagd, zie monsterontvangst). Gemiddeld zal het semenvolume door de ingreep met 0,6 ml afnemen (8).
- De zaadcelconcentratie dient bepaald te worden in een steekproef van tenminste 1 μ l van het vervloeide en gemengde semen. Indien van toepassing dient rekening te worden gehouden met de door de fabrikant van de telkamer verstrekte specificaties. Middels de tabel in bijlage 2 kan worden nagegaan waar de kritische grens ligt om met 99% zekerheid een concentratie van minder dan 100.000/ml te kunnen rapporteren. Indien de meting in duplo wordt uitgevoerd dan dient de dupliceerbaarheid van de duplo's te worden getoetst, bijvoorbeeld met behulp van de grafiek op pagina 16 van de WHO manual (3). Bij discrepantie dient de meting, inclusief monsternamen, te worden herhaald. (Het toetsen van dupliceerbaarheid bij zeer lage aantallen in de praktijk is erg lastig.) Een voorbeeldtelling wordt beschreven in bijlage 1.
- Indien tijdens de beoordeling van de steekproef één of meer beweeglijke zaadcellen worden waargenomen, dan dient dit te worden gerapporteerd. Hierbij wordt opgemerkt dat er voor de aan- of afwezigheid van beweeglijke zaadcellen geen betrouwbare statistiek voorhanden is.
- Indien tijdens de beoordeling van de steekproef voorlopercellen uit de spermatogenese en/of bacteriën worden aangetroffen dan dient dit te worden gerapporteerd. Overige rondcellen zijn niet relevant.

4. Rapportage:

In de rapportage dient tenminste te worden vermeld: gegevens uit de monsterontvangst, viscositeit, homogeniteit, telvolume, aantal waargenomen zaadcellen in het telvolume, de interpretatie of er met 99% zekerheidgesteld kan worden dat er minder dan 100.000/ml zaadcellen aanwezig zijn, aanwezigheid van beweeglijke zaadcellen, aanwezigheid van voorlopercellen (uit de spermatogenese) en aanwezigheid van bacteriën. Voorts moet de afwezigheid van telstatistiek voor beweeglijke zaadcellen en de eventueel versturende werking van verhoogde viscositeit of verminderde homogeniteit worden vermeld. Geadviseerd wordt om geen concentraties boven 100.000/ml te rapporteren. De aanvragend arts kan dit eventueel in een later stadium middels een standaard semenanalyse aanvragen. Geadviseerd wordt om geen conclusie bij de uitslag te rapporteren aangezien dit de verantwoordelijkheid is van de aanvragend arts.

Bijlagen

Bijlage 1: Voorbeeld berekening van te meten volume/oppervlakte.

Uitgaande van een disposable telkamer met een diepte van 20 μm en een vulvolume van 5 μl kan de volgende berekening worden gemaakt:

1. Een afkapwaarde van 100.000 zaadcellen/ml (norm uit richtlijn vasectomie van NVU) betekent 100 zaadcellen/ μl .
2. In de genoemde telkamer heeft een volume van 1 μl een bijbehorend oppervlak van ongeveer $7 \times 7 \text{ mm}^2$.
3. Uit de tabel in bijlage 2 kunnen we nu met een zekerheid van 99% de bovengrens van het aantal zaadcellen aflezen. Kijk hiervoor in de kolom "99%" en zoek hierbij de "x" 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 $7 \times 7 \text{ mm}^2$ 76 of minder cellen dan kan met een zekerheid van 99% gesteld worden dat de concentratie minder is dan 100.000/ml. Uitgangspunt daarbij is dat er sprake is van een goed vervloeid, homogeen monster.
4. LET OP: het minimale telvolume is 1 μl . Een groter volume zal de betrouwbaarheid verder vergroten.
5. 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. Ook dient ieder laboratorium de doorsnede van het gezichtsveld te bepalen bij de gebruikte vergroting (zie "praktische uitwerking").

Praktische uitwerking:

1. Bepaal met behulp van een glaasje met een micrometer (commercieel verkrijgbaar) de doorsnede van het gezichtsveld bij de normaal gebruikte vergroting.
2. Stel de doorsnede van het gezichtsveld is 1 mm, de diepte van de monsterruimte in de telkamer is 20 μm en de breedte van de telkamer is 15 mm (gemeten).
3. Door horizontaal te "micrometeren" wordt een strook gescand van $1 \times 15 = 15 \text{ mm}^2$ met een volume van $15 \times 0,02 = 0,3 \mu\text{l}$.
4. Om een totaal volume van 1 μl te tellen moeten dus $1/0,3 = 3,3$ (afgerond 4) stroken worden geteld. (dit komt overeen met 60 gezichtsvelden).

Bijlage 2: Tabel voor de bovengrens van het 99% betrouwbaarheidsinterval van het verwachte aantal cellen per volume bij gevonden aantal (x) cellen uitgaande van een Poisson verdeling. Er is sprake van unilaterale (éénzijdige) waarnemingen.

X	99%	X	99%	X	99%	X	99%	X	99%
1	6.638	43	60.884	85	109.032	127	155.780	169	201.794
2	8.406	44	62.058	86	110.157	128	156.883	170	202.883
3	10.045	45	63.231	87	111.281	129	157.985	171	203.972
4	11.605	46	64.402	88	112.405	130	159.087	172	205.060
5	13.108	47	65.571	89	113.528	131	160.188	173	206.149
6	14.571	48	66.738	90	114.650	132	161.290	174	207.237
7	16.000	49	67.903	91	115.772	133	162.390	175	208.325
8	17.403	50	69.067	92	116.893	134	163.491	176	209.412
9	18.783	51	70.230	93	118.013	135	164.591	177	210.500
10	20.145	52	71.390	94	119.133	136	165.690	178	211.587
11	21.490	53	72.549	95	120.252	137	166.789	179	212.673
12	22.821	54	73.707	96	121.371	138	167.888	180	213.760
13	24.139	55	74.863	97	122.489	139	168.987	181	214.846
14	25.446	56	76.018	98	123.606	140	170.085	182	215.933
15	26.743	57	77.172	99	124.723	141	171.183	183	217.018
16	28.030	58	78.324	100	125.839	142	172.280	184	218.104
17	29.310	59	79.475	101	126.954	143	173.377	185	219.190
18	30.581	60	80.625	102	128.069	144	174.474	186	220.275
19	31.845	61	81.773	103	129.184	145	175.571	187	221.360
20	33.103	62	82.921	104	130.297	146	176.667	188	222.444
21	34.355	63	84.067	105	131.411	147	177.763	189	223.529
22	35.601	64	85.212	106	132.523	148	178.858	190	224.613
23	36.841	65	86.355	107	133.636	149	179.953	191	225.697
24	38.077	66	87.498	108	134.747	150	181.048	192	226.781
25	39.308	67	88.640	109	135.859	151	182.143	193	227.865
26	40.534	68	89.781	110	136.969	152	183.237	194	228.948
27	41.757	69	90.920	111	138.080	153	184.331	195	230.032
28	42.975	70	92.059	112	139.189	154	185.424	196	231.115
29	44.190	71	93.196	113	140.298	155	186.518	197	232.197
30	45.401	72	94.333	114	141.407	156	187.611	198	233.280
31	46.608	73	95.469	115	142.516	157	188.703	199	234.362
32	47.813	74	96.604	116	143.623	158	189.796	200	235.444
33	49.014	75	97.738	117	144.731	159	190.888		
34	50.213	76	98.871	118	145.838	160	191.980		
35	51.408	77	100.003	119	146.944	161	193.071		
36	52.601	78	101.134	120	148.050	162	194.163		
37	53.791	79	102.265	121	149.156	163	195.254		
38	54.979	80	103.395	122	150.261	164	196.344		
39	56.164	81	104.524	123	151.365	165	197.435		
40	57.347	82	105.652	124	152.470	166	198.525		
41	58.528	83	106.779	125	153.574	167	199.615		
42	59.707	84	107.906	126	154.677	168	200.704		

Opstelling laboratorium protocol

Dr. E.G.J.M. Arts, klinisch embryoloog in het Academisch Ziekenhuis Groningen

Drs. C. Beijer, klinisch chemicus in het Rijnland Ziekenhuis te Leiderdorp

Dr. M.H.J.M Curfs, klinisch embryoloog in de Isala klinieken te Zwolle

Dr. F.A.L. van der Horst, klinisch chemicus in de Reinier de Graaf Groep, Delft

Drs. H.E. van Ingen, klinisch chemicus in het Ruwaard van Putten Ziekenhuis, Spijkenisse

Dr. R.J. van Kooij, klinisch embryoloog in Medisch Centrum Kinderwens, Leiderdorp

Dr. A.M.M. Wetzels, klinisch embryoloog, UMC St Radboud, Nijmegen

Dr. A. Wolthuis, klinisch chemicus in het KCL te Leeuwarden