

Comparación de la concentración espermática usando la cámara de Makler y la cámara de Neubauer

Cardona-Maya W, Berdugo J, Cadavid A.

Grupo Reproducción. Universidad de Antioquia. Medellín (Colombia).

Actas Urol Esp. 2008;32(4):443-445

RESUMEN

COMPARACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA USANDO LA CÁMARA DE MAKLER Y LA CÁMARA DE NEUBAUER

Objetivo: Determinar la concordancia entre el conteo de espermatozoides obtenido usando cámara de Makler y de Neubauer, en eyaculados de individuos fértiles.

Diseño: Estudio prospectivo realizado en el Grupo Reproducción de la Universidad de Antioquia, Medellín-Colombia.

Métodos: 112 eyaculados provenientes de individuos fértiles fueron analizados en el presente estudio. El recuento espermático se realizó en la cámara de Makler y en la cámara de Neubauer; la comparación entre ellas se determinó con la prueba Bland-Altman plot.

Resultados: El promedio de las concentraciones fue 107,8 y 106,2 x 10⁶ espermatozoides/mL usando la cámara de Makler y de Neubauer, respectivamente. Se encontró concordancia entre ambos métodos.

Conclusion: Nuestros resultados muestran que la determinación de la concentración espermática mediante la cámara de Makler es tan exacta como la realizada con la cámara de Neubauer y que ambas pueden ser usadas en el análisis rutinario de semen.

Palabras clave: Concentración espermática. Cámara de Makler. Cámara de Neubauer. Hombres fértiles. Espermatozoide.

ABSTRACT

COMPARING THE SPERM CONCENTRATION DETERMINED BY THE MAKLER AND THE NEUBAUER CHAMBERS

Objective: The aim of this work was to determine the concordance between the counts obtained with the Makler and the Neubauer chambers in ejaculates from fertile men.

Design: Cross sectional study in Reproduction Group, University of Antioquia, Medellín-Colombia.

Methods: 112 ejaculates from fertile men were analyzed in the present study. Sperm count was determined using both chambers, the comparisons between chambers were determined using a Bland-Altman plot.

Results: The means values for sperm count were 107.8 and 106.2 x 10⁶ sperm/mL using the Makler and the Neubauer chamber, respectively, and there was concordance between both methods.

Conclusion: Our results show that the determination of sperm concentration with the Makler chamber is as accurate as with the Neubauer chamber and that either chamber can be used in routine semen analyses.

Keywords: Sperm concentration. Makler chamber. Neubauer chamber. Fertile men. Spermatozoa.

La concentración de espermatozoides es uno de los parámetros más importantes en la evaluación de la fertilidad masculina. Tradicionalmente, el recuento de espermatozoides se realiza utilizando la cámara de Neubauer® que se ha convertido en el patrón de oro y el método recomendado por la Organización Mundial de la Salud (OMS)^{1,2}. Sin embargo se han diseñado otras cámaras como la Makler® (Sefi Medical Instruments, Haifa, Israel), Microcell® (Concepción Technologies, Natick, MA, EE.UU.) y

Horwell® (Horwell Ltd, Londres, Reino Unido), para determinar la concentración de espermatozoides. La ventaja de las nuevas cámaras sobre la cámara de Neubauer® es que éstas utilizan las muestras sin diluir, aumentando la precisión del procedimiento y la reproducibilidad de los resultados. La implementación de estas cámaras alternativas para la evaluación de la concentración de espermatozoides ha generado controversia debido a los informes que cuando se utilizó la cámara Makler® no mostraron

resultados uniformes. Es importante comparar los resultados obtenidos con diferentes cámaras y elegir el método más adecuado para cada laboratorio. El objetivo del presente estudio fue determinar la concordancia entre los recuentos obtenidos con las cámaras Makler® y Neubauer® en eyaculaciones de hombres fértiles.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras de Semen

Se obtuvieron muestras de 112 hombres con fertilidad probada que iban a realizarse una vasectomía en la Clínica Profamilia, Medellín, Colombia. Todos los participantes firmaron consentimiento informado y este estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Centro de Investigaciones Médicas de la Universidad de Antioquia. Se obtuvieron muestras mediante masturbación, después de 3 a 5 días de abstinencia sexual y se recogieron en contenedores estériles desechables. La determinación de la concentración espermática se realizó dos veces usando cada cámara y si la diferencia en dos recuentos de cada cámara era mayor del 10%, se repetían los recuentos.

Cámara de Makler®

La cuadrícula de la cámara de recuento Makler® mide 1 x 1 mm, y tiene una profundidad de sólo 0,01 mm, y está subdividida en 100 cuadros de 0,1 x 0,1 mm, cada uno, por lo que el volumen total en una cámara Makler® es 0,01 µL, 1/10 de la cámara Neubauer®. El recuento de espermatozoides se realizó siguiendo las instrucciones del fabricante. Resumiendo, se transfirieron a la cámara 3-5 µL de muestra de semen previamente inmovilizada por incubación a 60°C durante 10 minutos y el recuento fue realizado después de 5 minutos en 10 cuadrados de la cámara. El número total de espermatozoides contado es la concentración final expresada como 10^6 espermatozoides/mL.

Cámara de Neubauer®

La cámara Neubauer® tiene una profundidad de 0,1 mm. Consiste en 25 cuadrados grandes y 16 pequeños; cada cuadrado grande tiene 1 x 1 mm. Se realizó un cálculo visual preliminar de la concentración de espermatozoides por medio de observación microscópica de la muestra sin diluir antes de preparar la cámara; las muestras se diluyeron en un medio HAM F-12 (Sigma Chemical Company, St Louis, MO, USA) basado en el cálculo visual. Las muestras con una concentración probable $<15 \times 10^6$ espermatozoides/mL fueron diluidas 1:5; muestras entre 15 a 40×10^6 espermatozoides/mL, 1:10; muestras entre 40 a 200×10^6 espermatozoides/mL, 1:20 y las muestras $>200 \times 10^6$ espermatozoides/mL se diluyeron 1:50. La cámara se llenó con la suspensión de espermatozoides y el recuento se llevó a cabo usando un microscopio de luz. La concentración final se calculó siguiendo las instrucciones de la OMS².

Los resultados de la concentración de espermatozoides se expresan como media \pm DS. Los límites de concordancia se dedujeron calculando 2 x DS de las diferencias entre las cámaras Makler® y Neubauer® y los diagramas de dispersión de la diferencia entre las cámaras (eje Y) y el promedio de las dos cámaras (eje X), fueron trazados para visualizar los datos, usando el método Bland-Altman. Por otro lado, separamos las muestras por debajo y por encima de 40×10^6 espermatozoides/mL y evaluamos la diferencia estadística y la correlación mediante t de Student y un test de Pearson respectivamente. Los datos se analizaron utilizando el programa Prism® 4.0.

Análisis Estadístico

Los resultados de la concentración de espermatozoides se expresan como media \pm DS. Los límites de concordancia se dedujeron calculando 2 x DS de las diferencias entre las cámaras Makler® y Neubauer® y los diagramas de dispersión de la diferencia entre las cámaras (eje Y) y el promedio de las dos cámaras (eje X), fueron trazados para visualizar los datos, usando el método Bland-Altman. Por otro lado, separamos las muestras por debajo y por encima de 40×10^6 espermatozoides/mL y evaluamos la diferencia estadística y la correlación mediante t de Student y un test de Pearson respectivamente. Los datos se analizaron utilizando el programa Prism® 4.0.

RESULTADOS

Las medias de las concentraciones espermáticas fueron $107,8 \pm 73,64$ y $106,2 \pm 74,24 \times 10^6$ espermatozoides/mL utilizando las cámaras de Makler® y Neubauer® respectivamente. El gráfico de Bland-Altman indicó que los valores obtenidos por cualquier método eran similares, con un sesgo de -1,55 y un intervalo de confianza del 95% entre -46,8 y 43,7 (Fig. 1).

Adicionalmente la comparación de las muestras por debajo y por encima de 40×10^6 espermatozoides/mL usando las cámaras Makler® y Neubauer® no fue estadísticamente significativo ($p > 0,05$), y la correlación de Pearson fue alta (muestras por debajo de $40 \times 10^6 = 0,88$ y muestras por encima de $40 \times 10^6 = 0,93$).

DISCUSIÓN

El uso de la cámara de Makler® para determinar la concentración de espermatozoides sólo requiere una única alícuota de la muestra original, es más fácil de realizar que con la cámara de Neubauer® y el cálculo se aproxima a la concentración real de espermatozoides. La variabilidad en la determinación de la concentración de espermatozoides entre las diferentes cámaras es inevitable y las diferencias se han atribuido a la dilución de las muestras de semen, las cámaras utilizadas para contar los espermatozoides, las pro-

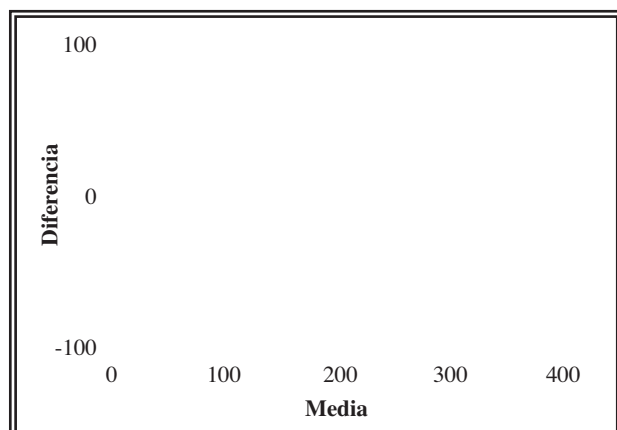


FIGURA 1. Correlación entre el cálculo de espermatozoides de 112 hombres fértiles determinado por las cámaras de Makler® y Neubauer®.

La diferencia entre el recuento de espermatozoides usando las cámaras Makler® y el Neubauer® (eje Y) trazado contra la media de los dos recuentos (eje X). El diagrama ilustra el tamaño de la diferencia entre las dos cámaras y la distribución cerca de cero.

piedades de la muestra de semen, tales como viscosidad, y las diferencias entre el los técnicos que realizan el trabajo³. Por lo tanto, la investigación en este campo está justificada con el fin de validar uno de los métodos existentes o diseñar nuevas cámaras que produzcan resultados menos variables⁴.

No se encontraron diferencias significativas entre las cámaras Makler y Neubauer® en la realización del recuento de espermatozoides. Sin embargo, esto está en desacuerdo con otros estudios. Ginsburg y Armant⁵ estudiaron 10 personas y encontraron un aumento de 62% con diferencias estadísticamente significativas al comparar los espermatozoides obtenidos con la cámara Makler® y la cámara Neubauer®, Christensen et al.⁶, obtuvieron datos similares utilizando semen de toro. Asimismo Imade et al.⁷ también encontraron diferencias significativas en el estudio de 50 muestras. Además, Matson et al.⁸ demostraron que estas diferencias podrían reducirse siguiendo cuidadosamente las instrucciones del fabricante.

Por otra parte, nuestros resultados están en concordancia con los de Sukcharoen et al.⁹ y Mahmoud et al.³ que no encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) entre las dos cámaras. Además, Sukcharoen et al.⁹ encontraron que en las muestras con concentraciones por debajo de 40×10^6 espermatozoides/mL, el recuento usando la cámara de Makler® fue mayor ($p < 0,0001$) que en las muestras con mayor concentración de espermatozoides. Esto podría sugerir que el uso de la cámara

de Makler® es inadecuado para este tipo de muestras. Por lo tanto, dividimos las muestras por debajo y por encima de este valor crítico y encontramos que el valor obtenido mediante el uso de cada cámara era similar en ambos grupos de muestras ($p > 0,05$). Esta diferencia puede explicarse por el número de muestras utilizadas por Sukcharoen et al.⁹ ($n=55$), mientras que nosotros hemos utilizado 112 eyaculados, 92 de las cuales pertenecían al grupo de muestras con concentraciones por debajo de 40×10^6 espermatozoides/mL.

No existe acuerdo sobre el protocolo a utilizar en la prueba recomendada para este procedimiento por la OMS² como el patrón de oro. Cada laboratorio deberá experimentar con su propia población para decidir qué cámara es la más adecuada. Sin embargo, hay que resaltar que el uso de la cámara de Makler® es rápido y sencillo. En resumen, nuestros resultados muestran que ambas cámaras son precisas, incluso cuando se utiliza con muestras cuyo recuento es bajo.

Agradecimientos

A la Clínica Profamilia, Medellín-Colombia.

Este trabajo recibió el apoyo de la Universidad de Antioquia y Cardona-Maya W cuenta con el apoyo económico de COLCIENCIAS.

REFERENCIAS

1. OMS. Manual de Laboratorio de la OMS para el examen del semen humano y de la interacción entre el semen y el moco cervical. Bogotá.: Editorial Panamericana; 1992.
2. WHO. WHO Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Sperm-Cervical Mucus Interaction. Cambridge: Cambridge University Press; 1999.
3. Mahmoud AM, Depoorter B, Piens N, Comhaire FH. The performance of 10 different methods for the estimation of sperm concentration. Fertil Steril. 1997;68(2):340-345.
4. Coetzee K, Menkveld R. Validation of a new disposable counting chamber. Arch Androl. 2001;47(2):153-156.
5. Ginsburg KA, Armant DR. The influence of chamber characteristics on the reliability of sperm concentration and movement measurements obtained by manual and videomicrographic analysis. Fertil Steril. 1990;53(5):882-887.
6. Christensen P, Stryhn H, Hansen C. Discrepancies in the determination of sperm concentration using Burkert-Turk, Thoma and Makler counting chambers. Theriogenology. 2005;63(4): 992-1003.
7. Imade GE, Towobola OA, Sagay AS, Otubu JA. Discrepancies in sperm count using improved Neubauer, Makler, and Horwells counting chambers. Arch Androl. 1993;31(1):17-22.
8. Matson P, Irving J, Zuvela E, Hughes R. Delay in the application of the cover glass is a potential source of error with the Makler Counting Chamber. Fertil Steril. 1999;72(3):559-561.
9. Sukcharoen N, Ngeamjirawat J, Chanprasit Y, Aribarg A. A comparison of Makler counting chamber and improved Neubauer hemocytometer in sperm concentration measurement. J Med Assoc Thai. 1994;77(9):471-476.

Correspondencia autor: Dr. Walter Cardona-Maya
Grupo Reproducción. Universidad de Antioquia -SIU-, Medellín.
Carrera 53 # 61-30, Colombia. Tel.: 57 (4) 2196685
E-mail: wdcmaya@yahoo.com/reproduccion@medicina.udea.edu.co
<http://reproduccion.udea.edu.co/>
Información artículo: Original - Andrología infertilidad
Trabajo recibido: junio 2007
Trabajo aceptado: julio 2007