

Quali indicazioni, relative alla astinenza, è necessario fornire ai pazienti per un esame seminale attendibile da un punto di vista diagnostico?

Natali I.*, Turchi P.** , Millanti L.***

* Ospedale dei S.S. Cosma e Damiano, Laboratorio di Seminologia, Azienda USL Toscana Centro

**Servizio di Andrologia, Azienda USL Toscana Centro

*** UFC Epidemiologia Dipartimento Prevenzione, Azienda USL Toscana Centro

INTRODUZIONE

L'analisi del liquido seminale è utile ai fini diagnostici per valutare le possibilità riproduttive del maschio e, ai fini terapeutici, per indicare un eventuale trattamento da proporre al paziente, sia nella ricerca di una gravidanza spontanea, sia nella ricerca di una gravidanza attraverso la fecondazione assistita. Molti fattori possono avere un impatto sui parametri seminali cambiando così l'esito di uno spermioγραμμα. Uno di questi fattori è l'astinenza, cioè il tempo che intercorre tra l'ultima eiaculazione ed il giorno in cui viene effettuato l'esame del liquido seminale. L'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) raccomanda che il periodo di astinenza per un esame seminale attendibile ai fini diagnostici debba essere compreso tra i 2 ed i 7 giorni (1), anche se altri Autori sostengono l'importanza di un periodo di astinenza ridotto di 3-4 giorni (2). Diversi studi hanno messo in relazione il periodo di astinenza con la qualità del seme per comprendere se al periodo di astinenza di 2-7 giorni corrispondevano le migliori caratteristiche del liquido seminale (3-7) portando alla conclusione che l'effetto dell'astinenza sulla qualità seminale è incerto. Infatti, mentre per alcuni parametri seminali si ha un miglioramento quando le astinenze sono più lunghe (ad esempio la concentrazione degli spermatozoi), per altri si assiste ad un miglioramento se le astinenze sono più brevi

(come la percentuale di spermatozoi con DNA frammentato); per altri ancora, come la morfologia, non si osserva alcun netto cambiamento. Perciò, nessuna chiara indicazione risulta emergere.

Il nostro studio prende in considerazione i parametri seminali dopo un periodo di astinenza che va da 2 a 7 giorni, quando si esegue un esame seminale di base (spermioγραμμα) a scopi diagnostici.

Lo scopo è quello di fornire ai pazienti che si rivolgono al nostro ambulatorio una indicazione chiara e semplice per ottenere un esame attendibile.

MATERIALI E METODI

Sono stati presi in considerazione i parametri seminali di pazienti afferiti al Laboratorio di Seminologia dell'Azienda USL Toscana Centro dal settembre 2022 al settembre 2023, molti dei quali inviati dall'Unità di Andrologia dell'Ospedale di Prato (Azienda USL Toscana Centro). L'esame seminale era richiesto dallo specialista o dal medico di medicina generale e faceva parte di un percorso diagnostico di coppie infertili.

Dopo l'applicazione dei criteri di inclusione ed esclusione sono stati inseriti nello studio 495 pazienti.

I criteri di inclusione erano: presenza di spermatozoi mobili nel liquido seminale; ri-

spetto del periodo di astinenza (2-7 giorni); assenza di terapie, anestesi generali, episodi febbrili importanti nei 3 mesi che precedono l'esame stesso.

I criteri di esclusione erano: assenza di spermatozoi nel campione; assenza di motilità; non rispetto del periodo di astinenza consigliato (2-7 giorni); assunzione di farmaci, anestesi generali ed episodi febbrili importanti nei 3 mesi precedenti l'esame.

Analisi seminale

I campioni seminali sono stati raccolti per masturbazione in un luogo dedicato e vicino al laboratorio di seminologia, dopo 2-7 giorni di astinenza dai rapporti sessuali.

I campioni sono stati mantenuti ad una temperatura di 36,6°C ed esaminati dopo liquefazione completa (solitamente dopo 30 minuti dall'eiaculazione) secondo le linee-guida internazionali riportate nell'ultima edizione del Manuale dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (1).

La concentrazione e la motilità sono state determinate contando 200 spermatozoi in 2 repliche e valutando l'accettabilità dei valori ottenuti secondo quanto raccomandato dal Manuale WHO 2021.

La morfologia è stata valutata contando 200 spermatozoi con il metodo di colorazione Diff-Quick con microscopio ad ingrandimento x1000 con obiettivo ad immersione.

Il laboratorio di Seminologia partecipa al Programma di Verifica Esterna di Qualità VEQ della Regione Toscana.

L'analisi descrittiva del campione in studio è riportata in tab.1.

	Media	Varianza	Mediana	Moda
Età	35,22	80,35	35	41
GG astinenza	4,08	0,99	4	4
pH	7,84	0,28	8	8
Volume	3,83	1,67	4	3
Motilità a+b (%)	45,95	15,87	50	54
Concentrazione (mil/ml)	53,98	57,51	38	50
Numero Totale (mil)	183,49	181,54	133	10
Morfologia (%)	2,43	2,19	2	1

Tab.1. Analisi descrittiva dei parametri seminali appartenenti ai pazienti inseriti nello studio (n=495).

ANALISI STATISTICA

Lo studio, retrospettivo, è stato condotto su 495 pazienti, con età media di 35 anni (mediana 35, moda 41).

Disponendo di un campione non probabilistico della popolazione degli assistiti, è stata progettata un'indagine esplorativa volta ad indagare l'importanza del numero di giorni di astinenza (2, 3, 4, 5, 6 e 7 giorni) che precedono lo spermogramma su tutti i parametri seminali presi in considerazione (volume dell'eiaculato, concentrazione di spermatozoi, numero totale, motilità progressiva a+b, morfologia % o percentuale di forme normali). Allo scopo di chiarire l'esistenza e l'intensità del possibile legame tra i giorni di astinenza precedenti l'esame e le misurazioni eseguite (parametri seminali), è stata condotta l'analisi della correlazione sia in termini lineari (Coefficiente di Pearson, ρ) che generalizzati (Coefficiente di Kendall, τ).

In un primo momento, l'analisi è stata applicata su tutti i parametri seminali considerati; successivamente, allo scopo di investigare ulteriormente la possibile presenza di tale legame, l'analisi è stata applicata ripartendo la popolazione del campione in sottogruppi mediante i 3 intervalli dei percentili per la distribuzione della variabile concentrazione (Manuale WHO, 6° edizione).

Gli intervalli erano i seguenti: (0 , 5° percentile] per le concentrazioni che vanno da 0 a 16 milioni/ml; (5° percentile , 50° percentile] per le concentrazioni che vanno da 17 a 66 milioni/ml; (50° percentile e oltre) per le concentrazioni che vanno da 67 milioni/ml in poi.

RISULTATI

L'analisi condotta su tutti i parametri seminali considerati (volume, concentrazione, numero totale, motilità a+b, morfologia) non ha evidenziato alcuna variazione significativa in funzione dei giorni di astinenza (2-7 giorni) sia in termini lineari che non lineari. Dai valori ottenuti dei due indici ρ e τ e sulla base anche dei loro test di significatività, infatti, emerge una correlazione prossima a zero e poco significativa (fig.1).

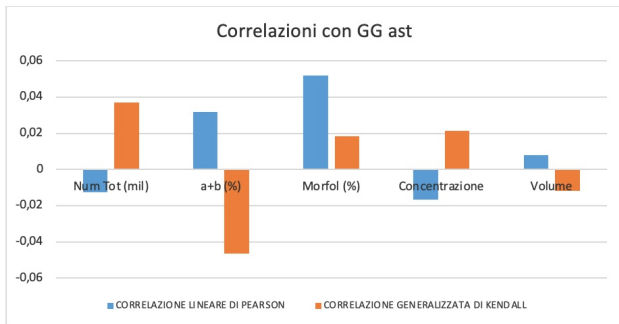


Fig. 1. Indici di correlazione di Pearson ρ e di Kendall τ dei parametri Numero totale (mil), motilità a+b %, Morfol %, concentrazione e volume in funzione dei giorni di astinenza.

CONFRONTO TRA CLASSI DI PERCENTILI

Passando al confronto tra classi di percentili, si osserva una impercettibile diversità di comportamento delle misure, ossia sono tendenzialmente tutte legate in modo inverso con i giorni di astinenza (se una aumenta l'altra diminuisce) fatta eccezione per il gruppo intermedio dei percentili (quello che va dal 5° al 50°)(fig.3) in cui emerge un infinitesimo legame diretto.

Tutti i risultati dei calcoli degli indici di correlazione lineari e generalizzati in valore assoluto sono strettamente inferiori a 0,15, che significa che qualsiasi indice di correlazione venga considerato, l'intensità della correlazione è talmente infinitesima da escludere la presenza di un legame dalle evidenze empiriche misurabili.

I test d'ipotesi condotti (quello della T-student bilaterale per Pearson e quello della Z-normale standardizzata bilaterale per Kendall, sia con alfa pari al 10% che con alfa pari al 5%) hanno fornito come risultato l'esistenza di una correlazione pari a zero.

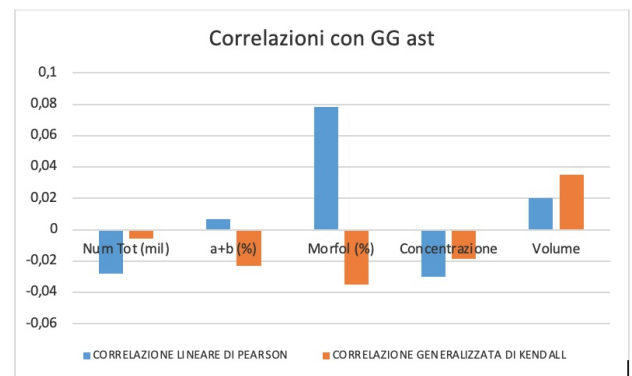


Fig.2. Indici di correlazione di Pearson ρ e di Kendall τ dei parametri Numero totale (mil), motilità a+b %, Morfol %, concentrazione e Volume in funzione dei giorni di astinenza nella prima classe percentile (da 0 al 5° percentile).

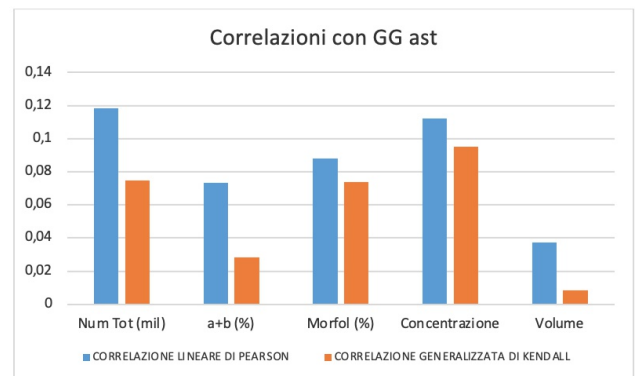


Fig.3. Indici di correlazione di Pearson ρ e di Kendall τ dei parametri Numero totale (mil), motilità a+b %, Morfol %, Concentrazione e Volume in funzione dei giorni di astinenza nella seconda classe percentile (dal 5° al 50° percentile).

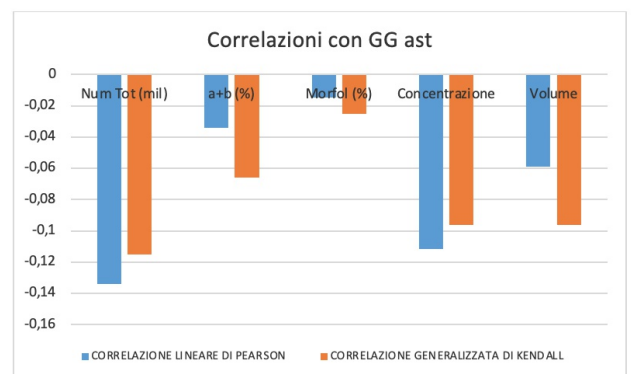


Fig.4. Indici di correlazione di Pearson ρ e di Kendall τ dei parametri Numero totale (mil), motilità a+b %, Morfol %, Concentrazione e Volume in funzione dei giorni di astinenza nella terza classe percentile (dal 50° percentile e oltre).

CONCLUSIONI

L'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) raccomanda che il periodo di astinenza per un esame seminale attendibile ai fini diagnostici debba essere compreso tra i 2 ed i 7 giorni (Manuale WHO 2021). Il rispetto di tale suggerimento consente di avere un esame attendibile e, soprattutto, confrontabile con quelli che il paziente farà successivamente.

Il mancato rispetto di questa condizione può portare ad esami non affidabili, dal significato incerto e dal contenuto clinico fuorviante nella programmazione di approfondimenti successivi e di trattamenti di fecondazione assistita.

L'ottimizzazione della durata dell'astinenza è inoltre importante per garantire la qualità e la quantità degli spermatozoi richiesti per il successo del concepimento spontaneo o medicalizzato (fecondazione assistita) (6).

Nonostante il periodo di astinenza suggerito dall'ultimo Manuale WHO sia di 2-7 giorni, una parte della letteratura scientifica riporta che i giorni di astinenza possono incidere marcatamente sui parametri seminali e che, per questo motivo, il periodo di 2-7 giorni può essere considerato troppo lungo per produrre esami confrontabili.

Già nel 1952, il lavoro di MacLeod e Gold (8) dimostrava chiaramente che sia il volume dell'eiaculato sia la concentrazione degli spermatozoi aumentavano consistentemente per ogni giorno di incremento di astinenza; in particolare, la concentrazione aumentava più del doppio quando l'astinenza passava da 3 a 10 giorni, conclusione peraltro condivisa nel lavoro di Mortimer e collaboratori del 1982 (9).

Ai fini della standardizzazione e del confronto tra gruppi, secondo alcuni autori (10, 11) è perciò di estrema importanza che l'astinenza richiesta prima di un esame seminale vada dai 3 ai 4 giorni.

Il nostro studio evidenzia che se i pazienti rispettano un periodo di astinenza compreso tra 2 e 7 giorni i loro esami seminali sono attendibili; nessun effetto di deviazione dei parametri dovuto all'astinenza troppo breve o

troppo lunga risulta essere presente. Allo stesso modo, non risulta esserci una maggiore attendibilità dei valori seminali se il periodo di astinenza viene ristretto a 3-5 giorni rispetto a quello più ampio di 2-7 giorni.

Quando i pazienti rispettano il periodo di astinenza consigliato non emerge alcun effetto sulla qualità seminale, come ha dimostrato l'analisi degli indici di correlazione lineari e generalizzati, in valore assoluto strettamente inferiori a 0,15; ciò significa che qualsiasi indice di correlazione venga considerato l'intensità della correlazione è talmente infinitesima da escludere la presenza di un legame.

La conclusione di questo studio è che dobbiamo comunicare ai pazienti che il periodo di astinenza per eseguire un esame seminale a scopo diagnostico al fine di ottenere i valori più attendibili e riproducibili è compreso tra 2 e 7 giorni e che un periodo di astinenza più ristretto (da 3 a 4 o 5 giorni) non rende l'esame maggiormente affidabile.

Naturalmente se la raccolta del liquido seminale è finalizzata ad un trattamento di fecondazione assistita, può essere stabilito caso per caso e a seconda delle alterazioni del liquido seminale presenti quanti siano i giorni di astinenza richiesti, con lo scopo di migliorare il più possibile le caratteristiche del liquido stesso e di ottimizzare i risultati dei trattamenti in fecondazione assistita.

BIBLIOGRAFIA

1. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen, Sixth edition. Geneva: World Health Organization, 2021.
2. Barratt CLR, Bjorndahl L, Menkveld R, Mortimer D. ESHRE special interest group for andrology basic semen analysis course: a continued focus on accuracy, quality, efficiency and clinical relevance. *Human Reproduction*. 2011; 26(12): 3207–3212.
3. De Jonge C, LaFromboise M, Bosmans E, Ombelet W, Cox A, Nijs M. Influence of the abstinence period on human sperm quality. *Fertil Steril*. 2004;82(1):57–65.

4. Levitas E, Lunenfeld E, Weiss N, Friger M, Har-Vardi I, Koifman A, Potashnik G. Relationship between the duration of sexual abstinence and semen quality: analysis of 9,489 semen samples. *Fertil Steril*. 2005;83(6):1680–6.
5. Mayorga-Torres BJM, Camargo M, Agarwal A, du Plessis S, Cadavid AP, Cardona Maya WD. Influence of ejaculation frequency on seminal parameters. *Reprod Biol Endocrinol*. 2015;13:47.
6. Agarwal A, Gupta S, Du Plessis S, Sharma R, Esteves SC, Cirenza C, Eliwa J, Al-Najjar W, Kumaresan D, Haroun N, Philby S, Sabanegh E. Abstinence time and its impact on basic and advanced semen parameters. *Urology*. 2016;94:102–10.
7. Hanson BM, Aston KI, Jenkins TG, Carrell DT, Hotaling JM. The impact of ejaculatory abstinence on semen analysis parameters: a systematic review. *J Assist Reprod Genet*. 2018;35:213–220.
8. Macleod J, and Gold RZ. The Male Factor in Fertility and Infertility, V. Effect of Continence on Semen Quality. *Fertil and Steril*. 1952; 297-315.
9. Mortimer D, Templeton AA, Lenton EA, Coleman RA. Influence of abstinence and ejaculation-to analysis delay on semen analysis parameters of suspected infertile men. *Arch Androl* 1982;8:251–256.
10. Menkveld R. The basic semen analysis. Chapter 9. In: Oehninger S, Kruger TF (eds). *Male Infertility. Diagnosis and Treatment*. Oxford: Informa Healthcare, 2007b, 141–170.
11. Bjorndahl L. The usefulness and significance of assessing rapidly progressive spermatozoa. *Asian J Androl* 2010;12:33–35.