

10^ο ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΑΝΔΡΟΛΟΓΙΑΣ
ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΑΝΔΡΟΛΟΓΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ
ΑΘΗΝΑ 18 – 03 – 2017

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ: ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΙΣΜΟΙ ΣΤΗΝ ΑΝΑΦΟΡΑ ΤΩΝ ΕΥΡΗΜΑΤΩΝ

ΛΙΝΑ Α.ΕΥΓΕΝΗ, M.Phil, Ph.D

Βιολόγος της Αναπαραγωγής
Διευθύντρια Τράπεζας Κρυοσυντήρησης ‘ΚΡΥΟΓΟΝΙΑ’



Ουδεμία σύγκρουση συμφερόντων



ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ (ΣΠΕΡΜΟΔΙΑΓΡΑΜΜΑ)

Υπό την προϋπόθεση τήρησης αυστηρών μεθοδολογικών κανόνων και ποιοτικού ελέγχου, η βασική ανάλυση σπέρματος παραμένει αναμφίβολα το **ουσιωδέστερο βήμα στην αρχική αξιολόγηση της ανδρικής υπογονιμότητας.**

(Nallela et al, 2006; Barratt, 2007, Menkveld, 2007)



ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ (ΣΠΕΡΜΟΔΙΑΓΡΑΜΜΑ)

American Urological Association (AUA)
European Association of Urology (EAU)

‘... η αρχική αξιολόγηση του υπογόνιμου άνδρα
πρέπει να περιλαμβάνει **τουλάχιστον μία ή δύο
συμβατικές αναλύσεις σπέρματος...**’



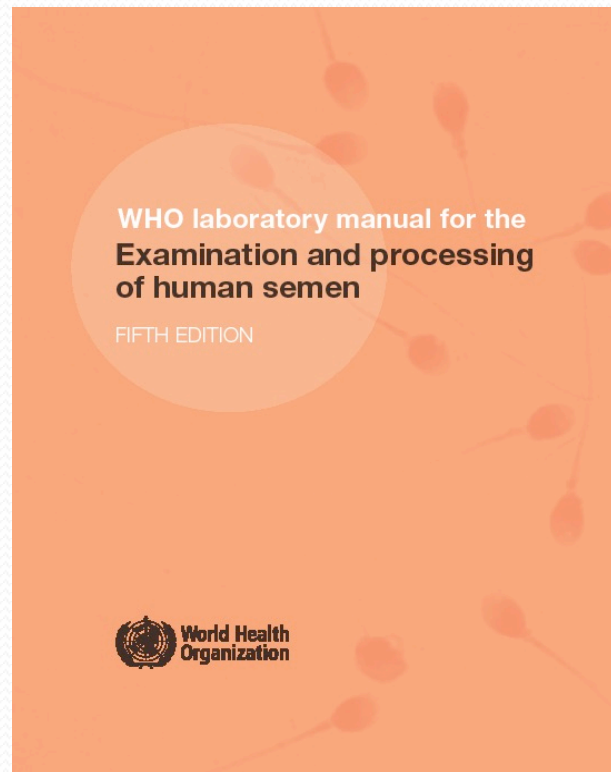
...« Owed to its complex nature, semen analysis should ideally be carried out in a **dedicated Andrology laboratory** attired with **experienced technicians**, internal and external **quality control**, validation of test systems, **quality assurance** during all testing processes and **proper in place communication with clinicians and patients**»...

Esteves SC, Agarwal A Ensuring that reproductive laboratories provide high-quality services .

In: Bento FC, Esteves SC, Agarwal A (ed). Quality management in ART clinics: A Practical Guide (2013); 129-45.



ΕΓΧΕΙΡΙΔΙΟ Π.Ο.Υ. ΓΙΑ ΤΗ ΔΙΕΝΕΡΓΕΙΑ ΤΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ



**WHO Laboratory Manual for the Examination and
Processing of human semen, 5th edition, 2010**



ΤΙΜΕΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ ΒΑΣΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΑ ΕΓΧΕΙΡΙΔΙΑ Π.Ο.Υ.

Table 1 - Cut-off reference values for semen characteristics as published in consecutive WHO manuals.

Semen characteristics	WHO 1980	WHO 1987	WHO 1992	WHO 1999	WHO 2010 ¹
Volume (mL)	ND	≥ 2	≥ 2	≥ 2	1.5
Sperm count (10 ⁶ /mL)	20-200	≥ 20	≥ 20	≥ 20	15
Total sperm count (10 ⁶)	ND	≥ 40	≥ 40	≥ 40	39
Total motility (% motile)	≥ 60	≥ 50	≥ 50	≥ 50	40
Progressive motility ²	≥ 2 ³	≥ 25%	≥ 25% (grade a)	≥ 25% (grade a)	32% (a + b)
Vitality (% alive)	ND	≥ 50	≥ 75	≥ 75	58
Morphology (% normal forms)	80.5	≥ 50	≥ 30 ⁴	(14) ⁵	4 ⁶
Leukocyte count (10 ⁶ /mL)	< 4.7	< 1.0	< 1.0	< 1.0	< 1.0

¹Lower reference limits generated from the lower fifth centile value; ²Grade a = rapid progressive motility (> 25μm/s); grade b = slow/sluggish progressive motility (5-25μm/s); Normal = 50% motility (grades a +b) or 25% progressive motility (grade a) within 60 min of ejaculation; ³Forward progression (scale 0-3); ⁴Arbitrary value; ⁵Value not defined but strict criterion is suggested; ⁶Strict (Tygerberg) criterion; ND = not defined.

Reprinted with permission from Excerpta Medica Inc.: Esteves SC et al. Critical appraisal of World Health Organization's new reference values for human semen characteristics and effect on diagnosis and treatment of subfertile men, Urology 2012, volume 79, issue 1, page 17.

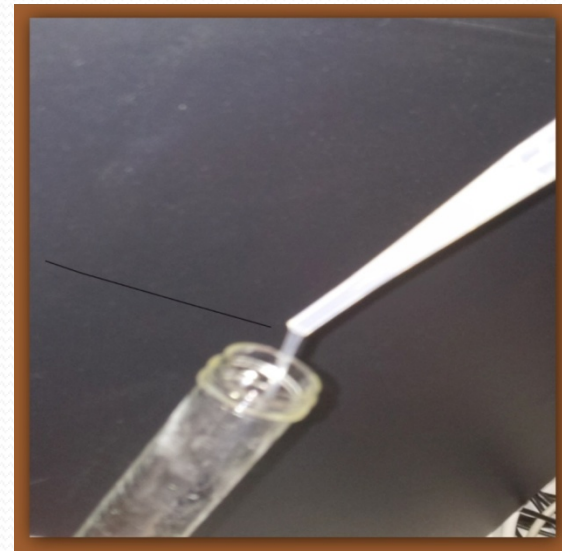
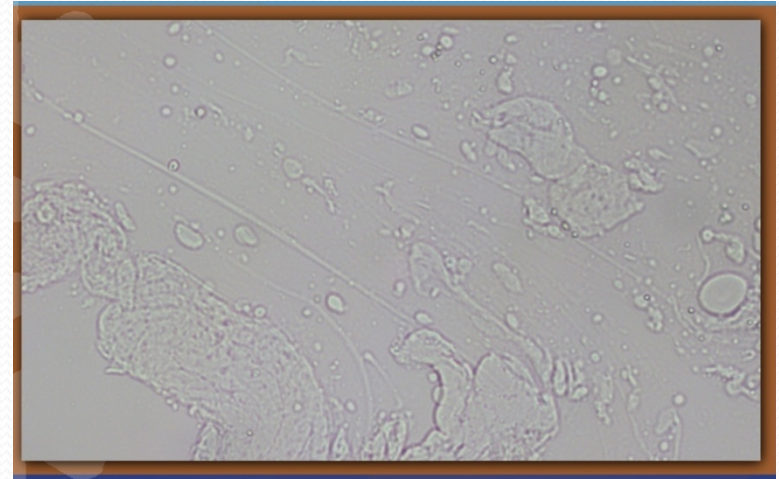


ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ

ΦΥΣΙΚΑ

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

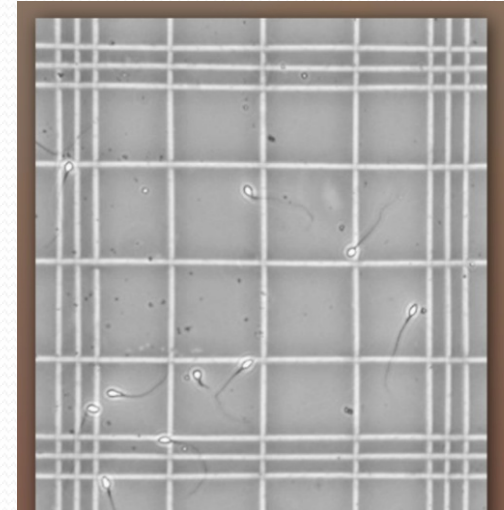
- Ρευστοποίηση
- Ιξώδες
- Χροιά / όψη
- Οσμή
- pH
- Όγκος σπέρματος (ml)



ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ

ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ

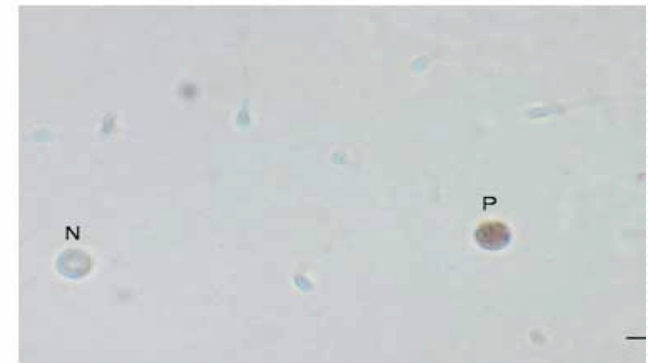
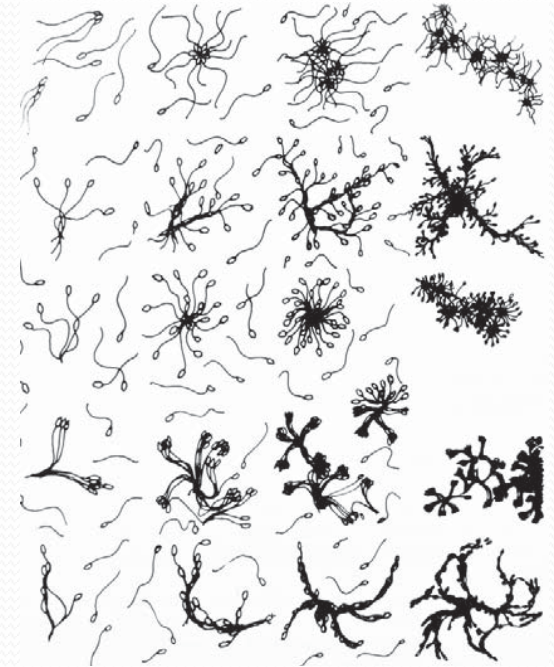
- **Συγκέντρωση** ($\times 10^6/\text{ml}$)
- **Κινητικότητα** (%) (ταχεία + νωθρή προωθητική)
- **Μορφολογία** (% φυσιολογικές μορφές) (κατά Tygerberg)
- **Ζωτικότητα** (% ζώντα)



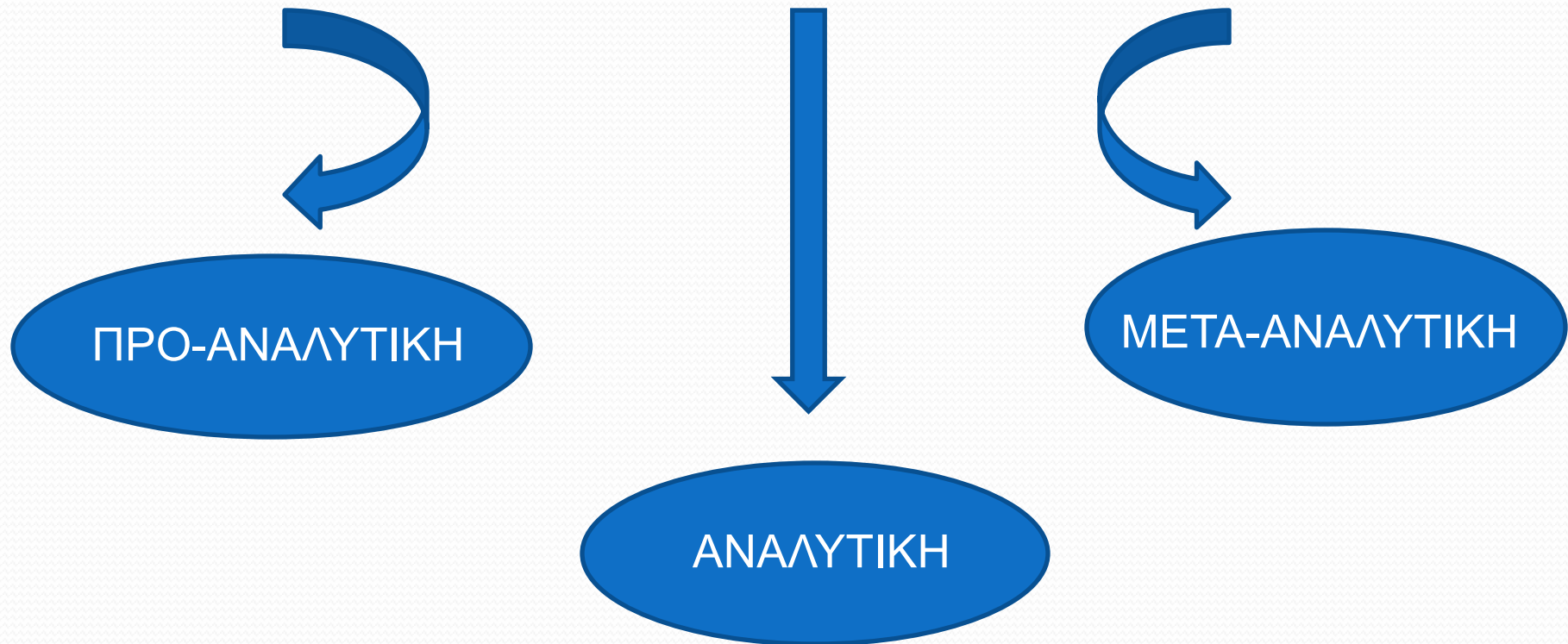
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ

ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ

- Ταυτοποίηση συγκολλήσεων – συσσωματώσεων (MAR Test)
- Ταυτοποίηση στρογγυλών κυττάρων (τεστ υπεροξειδάσης)
- Έλεγχος μακροβιότητας σπερματοζωαρίων (εντός καλλιεργητικού υλικού)



ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ ΕΥΡΗΜΑΤΩΝ



ΑΝΑΦΟΡΑ ΕΥΡΗΜΑΤΩΝ

Έλεγχος προ-αναλυτικών προϋποθέσεων

ΓΕΝΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

ΣΗΜΕΙΑ ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΝΤΟΣ	
<i>Ιστορικό τελευταίου τριμήνου</i>	Εμπύρετη κατάσταση Νόσος Φλεγμονή Λήψη φαρμάκων Λήψη άλλων ουσιών
<i>Αποχή</i>	Ημέρες αποχής
<i>Συνθήκες δειγματοληψίας</i>	Τόπος Τρόπος Πληρότητα



ΑΝΑΦΟΡΑ ΕΥΡΗΜΑΤΩΝ

Έλεγχος αναλυτικών συνθηκών /τεχνικών - τεχνογνωσίας

ΑΝΑΛΥΣΗ ΣΠΕΡΜΑΤΟΛΟΓΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ

ΣΗΜΕΙΑ ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΝΤΟΣ	
<i>Τήρηση χρονισμού ανάλυσης</i>	Ρευστοποίηση pH Κινητικότητα Ζωτικότητα
<i>Εφαρμοζόμενη μεθοδολογία – κριτήρια αξιολόγησης</i>	Καταγραφή (π.χ. WHO, ESHRE, άλλη?)
<i>Όρια αναφοράς</i>	Συγκριτική παράθεση (δίπλα σε αποτέλεσμα)



ΑΝΑΦΟΡΑ ΕΥΡΗΜΑΤΩΝ

ΑΝΑΛΥΣΗ ΣΠΕΡΜΑΤΟΛΟΓΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ

ΣΗΜΕΙΑ ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΝΤΟΣ	
<i>Ασαφή/αμφιλεγόμενα αποτελέσματα</i>	Ακραίες τιμές Συσσωματώσεις ≠ Συγκολλήσεις Ρευστοποίηση ≠ Ιξώδες
<i>Αξιοσημείωτες διαφορές</i>	Κινητικότητα α, β Διαφορετικές δειγματοληψίες
<i>Μη λογικά αποτελέσματα</i>	Ζωτικότητα (νεκρά σπζ>κινητά??)
<i>Ακρίβεια μετρήσεων</i>	Δείγματα πολύ χαμηλής συγκέντρωσης



ΚΙΝΔΥΝΟΣ ΜΗ ΑΝΕΥΡΕΣΗΣ ΣΠΕΡΜΑΤΟΖΩΑΡΙΩΝ ΣΕ ΣΧΕΣΗ ΜΕ ΤΗΝ ΠΡΑΓΜΑΤΙΚΗ ΤΟΥΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ

Πραγματική συγκέντρωση σπερμ/ρίων (σπερμ/ml) στο προς ανάλυση δείγμα	1 Makler Καμία αραιώση (10nl από εξεταζόμενο δείγμα)	Σταγόνα του δείγματος (10 πεδία ~ 40nl)	Neubauer (2 θάλαμοι) 1 + 1 αραιώση (100 nl)
Κίνδυνος να μην βρεθούν σπερματοζωάρια			
1000	0.99	0.96	0.90
10 000	0.90	0.67	0.37
30 000	0.74	0.30	< 0.05
70 000	0.50	0.06	
75 000	0.47	< 0.05	
100 000	0.37		
200 000	0.14		
300 000	< 0.05		

ΑΝΑΦΟΡΑ ΕΥΡΗΜΑΤΩΝ

Έλεγχος μετα-αναλυτικών στοιχείων

ΚΑΤΑΓΡΑΦΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

ΣΗΜΕΙΑ ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΝΤΟΣ	
<i>Καταγραφή σε ηλεκτρονικό αρχείο</i>	Σφάλματα καταχωρήσεων
<i>Παράδοση</i>	Ταυτοποίηση εξεταζομένου – δείγματος Κωδικοποίηση Ιχνηλασιμότητα Τήρηση εμπιστευτικότητας



ΑΠΟΚΛΙΣΕΙΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ ΑΠΟ ΤΗ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ ΚΑΙ ΠΙΘΑΝΕΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ

ΑΠΟΚΛΙΣΗ:	ΠΙΘΑΝΗ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ:
↑ συγκέντρωση σπερματοζωαρίων ↓ pH	Απώλεια τελικών σταγόνων
↓ συγκέντρωση σπερματοζωαρίων ↑ pH	Απώλεια αρχικών σταγόνων
↑ συγκέντρωση ↓ κινητικότητα σπερματοζωαρίων	Παρατεταμένη αποχή
Πιθανή απουσία σπερματοζωαρίων στο εκσπερμάτιμα, αλλά παρουσία τους στο ίζημα ούρων που συλλέγονται μετά την εκσπερμάτιση	Παλίνδρομη εκσπερμάτιση
↓ ζωτικότητα και ↓ κινητικότητα (λόγω τοξικών επιδράσεων) ↓ ιξώδες και ↓ συγκέντρωση (λόγω της αραιωτικής επίδρασης των ούρων)	Επιμόλυνση από ούρα
↑ παρουσία βακτηρίων ή/και ↑ παρουσία λευκοκυττάρων (+) μικροβιολογικές καλλιέργειες	Φλεγμονή
Ενδεχόμενη παρουσία βακτηρίων, αλλά όχι λευκοκυττάρων	Επιμόλυνση



ΑΠΟΚΛΙΣΕΙΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ ΑΠΟ ΤΗ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ ΚΑΙ ΠΙΘΑΝΕΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ

<i>ΑΠΟΚΛΙΣΗ:</i>	<i>ΠΙΘΑΝΗ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ:</i>
Υδαρής όψη	↓ συγκέντρωση σπερματοζωαρίων
Παρουσία βλέννας	Δυσχέρεια στον προσδιορισμό της κινητικότητας και συγκέντρωσης
Παρουσία συσσωματώσεων ή συγκολλήσεων	Δυσχέρεια στον προσδιορισμό της κινητικότητας και συγκέντρωσης
Πλήρης ακινησία	Παρουσία του Συνδρόμου <i>Kartagener</i> (ακίνητα σπερματοζωάρια εμφανίζονται ζώντα με χρώση ζωτικότητας)



**[ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ – ΠΙΣΤΟΠΟΙΗΣΕΙΣ]
[ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΕΞΕΤΑΖΟΜΕΝΟΥ]
[ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ]**

**ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ
(ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΚΑΤΑ Π.Ο.Υ. 2010)**

ΓΕΝΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ		
Πληροφορίες υποβάθρου τελευταίου τριμήνου		
Ημέρες αποχής		
Τόπος λήψης	Τρόπος λήψης	
Πληρότητα συλλογής		
ΦΥΣΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ		
Όνη/γροιά	Οσμή	
Ρευστοποίηση	Ιξώδες	
pH	T.A. >7,2	
ΠΟΣΟΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ		
Όγκος εκσπερμάτισης	ml	T.A. $\geq 1,5$ ml
Συγκέντρωση σπερματοζωαρίων	/ml	$\geq 15 \times 10^6$ /ml
Ολικός αριθμός σπερματοζωαρίων	/εκσπερμάτιση	$\geq 39 \times 10^6$ /εκσπερμάτιση
ΠΟΙΟΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ		
ΚΙΝΗΤΙΚΟΤΗΤΑ	εντός 60 min από τη λήψη	T.A.
α. Ταχεία προωθητική	%	$\geq 32\%$ με προωθητική
β. Νοθήρη προωθητική	%	κινητικότητα (α + β)
γ. Επιτόπια	%	
δ. Ακίνησια	%	$\geq 40\%$ με ολική
		κινητικότητα (α + β + γ)
Διαβάθμιση κινητικότητας		0-4
Δείκτης κινητικότητας		0-300
ΖΩΤΙΚΟΤΗΤΑ		
Ζώντα	εντός 60 min από τη λήψη	T.A.
	%	$\geq 58\%$ ζώντα
ΛΟΙΠΑ ΚΥΤΤΑΡΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ		
Στρογγυλά κύτταρα	ΛΟΙΠΑ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ	
Επιθηλιακά κύτταρα	Συσσωματώσεις	
Ερυθρά κύτταρα	Βλέννα	
Μικρόβια (βακτήρια/πρωτόζωα)	Debris	
ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ		
Συγκολλήσεις		
Τύπος συγκόλλησης		
MAR test IgG	T.A. <10% Αρνητικό	

[ΥΠΟΓΡΑΦΗ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΥ ΥΠΕΥΘΥΝΟΥ]

**[ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ – ΠΙΣΤΟΠΟΙΗΣΕΙΣ]
[ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΕΞΕΤΑΖΟΜΕΝΟΥ]
[ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ]**

**ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑΣ ΣΠΕΡΜΑΤΟΖΩΑΡΙΩΝ
(ΜΕΘΟΔΟΣ ΑΥΣΤΗΡΩΝ ΚΡΙΤΗΡΙΩΝ ΚΑΤΑ TYGERBERG-
TIMES ΑΝΑΦΟΡΑΣ ΚΑΤΑ Π.Ο.Υ. 2010)**

ΤΥΠΙΚΕΣ ΜΟΡΦΕΣ	T.A.
%	$\geq 4\%$

ΜΗ ΤΥΠΙΚΕΣ ΜΟΡΦΕΣ		
ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ	ΕΙΔΟΣ	% ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΑΝΑ ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΑΝΩΜΑΛΙΩΝ
Ανωμαλίες κεφαλής	Αμορφη	
	Επιμήκης	
	Μεγάλη	
	Μικρή	
	Δυσλή	
Ανωμαλίες ουράς	Απουσία	
	Λοιπές	
Ανωμαλίες ουράς	Σπειροειδής	
	Κεκαμμένη	
	Πολυαπλή	
Ανώριμες μορφές	Κυτταροπλασματικό υπόλειμμα	
	Ανώριμη μορφή	

ΕΙΔΙΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ	
ΜΗ ΤΥΠΙΚΗ ΜΟΡΦΗ	% ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΕΠΙ ΤΟΥ ΣΥΝΟΛΟΥ ΤΩΝ ΣΠΕΡΜΑΤΟΖΩΑΡΙΩΝ

ΔΕΙΚΤΕΣ ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑΣ	
Δείκτης Τερατοζωοσπερμίας (1,00-4,00)	
Δείκτης Μορφολογίας Ακροσώματος	

[ΥΠΟΓΡΑΦΗ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΥ ΥΠΕΥΘΥΝΟΥ]

Σπερμοδιάγραμμα

Ώρα συλλογής δείγματος: 9:00

Ώρα παραλαβής από το εργαστήριο: 9:30

Ήμερες αποχής: 4

Φαρμακευτική αγωγή: ΟΧΙ

Όγκος (σε mL): 6.0 (Φ.Τ.: 1.4-1.7)

Αριθμός /mL ($\times 10^6$): 0.5 (Φ.Τ.: >15)

Αριθμός/εκσπερμάτιση ($\times 10^6$): 3 (Φ.Τ.: >39)

Γλοιότητα: Βαθμός II

Συγκολλήσεις: ΟΧΙ

Ρευστοποίηση: 20' (Φ.Τ.: <30')

Όψη: ΟΠΑΛΙΖΟΥΣΑ

Χροιά: ΚΙΤΡΙΝΗ

Αντίδραση pH: 8.0 (Φ.Τ.: 7.2-8.0)

Άωρες μορφές/mL ($\times 10^6$): 0.1 (Φ.Τ.: <5)

Πυοσφαίρια /mL ($\times 10^6$): 3 (Φ.Τ.: <1)

Μικροοργανισμοί: ΟΧΙ

Κινητικότητα	Ζωηρά(%)	Νωθρά(%)	Επιτόπια κίνηση(%)	Ακίνητα(%)	Φ.Τ. (1 ^η Ώρα): Ζωηρά + νωθρά >32% Ζωηρά + νωθρά + Επ. κίνηση >40%
1 ^η ώρα	10	15	15	60	
3 ^η ώρα	5	5	10	80	

Μορφολογία

Φυσιολογικά: 71 % (Φ.Τ.: >4%)

Ανωμαλία στη κεφαλή: 10 %

Ανωμαλία στον αυχένα: 9 %

Ανωμαλία στην ουρά: 10 %

Σχόλια

(Μέτρηση και αξιολόγηση κατά W.H.O. 2010)

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

- Η σωστή διάγνωση και θεραπευτική συμβουλή βασίζεται σε *αξιόπιστα εργαστηριακά αποτελέσματα*
- Η ορθή διενέργεια της συμβατικής ανάλυσης σπέρματος προϋποθέτει την *άρτια εφαρμογή των ενδεδειγμένων μεθοδολογιών* από εργαστήρια που διαθέτουν την κατάλληλη *τεχνογνωσία, κατάρτιση και εμπειρία, υπό το πρίσμα αυστηρού ποιοτικού ελέγχου*
- Η αναφορά των αποτελεσμάτων πρέπει να αξιολογείται από τον κλινικό ιατρό με γνώμονα τις *σύγχρονες προδιαγραφές* που συνιστώνται *από τους έγκριτους διεθνείς επιστημονικούς φορείς*





ΕΥΧΑΡΙΣΤΩ



www.cryogonia.gr