



World Health
Organization



WHO Laborhandbuch

zur Untersuchung und Aufarbeitung
des menschlichen Ejakulates

5. Auflage



Springer

**WHO-Laborhandbuch zur Untersuchung und Aufarbeitung
des menschlichen Ejakulates**

5. Auflage

WHO-Laborhandbuch zur Untersuchung und Aufarbeitung des menschlichen Ejakulates

5. Auflage

Deutsche Übersetzung herausgegeben von
Eberhard Nieschlag, Stefan Schlatt, Hermann M. Behre
und Sabine Kliesch

unter Mitarbeit von:

Rebecca Bongers, Fedra Gottardo, Thomas Greither,
Barbara Hellenkemper, Susan Nieschlag, Verena Nordhoff,
Maria Schalkowski und Michael Zitzmann

Mit 48 Abbildungen davon 14 farbig



World Health Organization
20, Avenue Appia
CH-1211 Geneva 27
Switzerland

Deutsche Übersetzung herausgegeben von

Eberhard Nieschlag¹, Stefan Schlatt¹, Hermann M. Behre² und Sabine Kliesch¹

¹ Centrum für Reproduktionsmedizin und Andrologie, WHO Kooperationszentrum zur Erforschung der männlichen Fertilität, Universitätsklinikum Münster, Domagkstr. 11, 48149 Münster

² Zentrum für Reproduktionsmedizin und Andrologie, Universitätsklinikum Halle (Saale), Ernst-Grube-Str. 40, 06120 Halle

unter Mitarbeit von:

Rebecca Bongers, Fedra Gottardo, Thomas Greither, Barbara Hellenkemper, Susan Nieschlag, Verena Nordhoff, Maria Schalkowski und Michael Zitzmann

Die Originalausgabe wurde 2010 unter dem Titel WHO Laboratory manual for the examination and processing of human sperm, 5th edition von der World Health Organization veröffentlicht.

© World Health Organization 2010

Die World Health Organization erteilte dem Springer-Verlag die Lizenz für die deutsche Ausgabe, für die er allein die Verantwortung trägt.

ISBN 978-3-642-21122-5 Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.d-nb.de> abrufbar.

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt. Die dadurch begründeten Rechte, insbesondere die der Übersetzung, des Nachdrucks, des Vortrags, der Entnahme von Abbildungen und Tabellen, der Funksendung, der Mikroverfilmung oder der Vervielfältigung auf anderen Wegen und der Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen, bleiben, auch bei nur auszugsweiser Verwertung, vorbehalten. Eine Vervielfältigung dieses Werkes oder von Teilen dieses Werkes ist auch im Einzelfall nur in den Grenzen der gesetzlichen Bestimmungen des Urheberrechtsgesetzes der Bundesrepublik Deutschland vom 9. September 1965 in der jeweils geltenden Fassung zulässig. Sie ist grundsätzlich vergütungspflichtig. Zuwiderhandlungen unterliegen den Strafbestimmungen des Urheberrechtsgesetzes.

SpringerMedizin

Springer-Verlag GmbH

ein Unternehmen von Springer Science+Business Media

springer.de

© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2012

Produkthaftung: Für Angaben über Dosierungsanweisungen und Applikationsformen kann vom Verlag keine Gewähr übernommen werden. Derartige Angaben müssen vom jeweiligen Anwender im Einzelfall anhand anderer Literaturstellen auf ihre Richtigkeit überprüft werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutzgesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürfen.

Planung: Peter L. Bergmann, Dr. Sabine Höschele

Projektmanagement: Ina Conrad

Lektorat: Ingrid Fritz, Bad Füssing

Umschlaggestaltung: deblik Berlin

Satz: Crest Premedia Solutions (P) Ltd., Pune, India

SPIN: 80027959

Gedruckt auf säurefreiem Papier

2111 – 5 4 3 2 1 0

Inhaltsverzeichnis

1	Hintergrund	1
1.1	Einleitung	2
1.2	Die 5. Auflage	2
1.3	Zweck des und Umfang des Laborhandbuchs	3
I	Untersuchung des Ejakulates	
2	Standardverfahren	7
2.1	Einleitung	12
2.2	Probengewinnung	15
2.2.1	Vorbereitung	15
2.2.2	Gewinnung des Ejakulates für diagnostische und Forschungszwecke	15
2.2.3	Sterile Probengewinnung im Rahmen der assistierten Reproduktion	15
2.2.4	Sterile Probengewinnung für die mikrobiologische Untersuchung	16
2.2.5	Probengewinnung zu Hause	16
2.2.6	Probengewinnung mittels Kondom	16
2.2.7	Sichere Probenhandhabung	17
2.3	Erste makroskopische Untersuchung	17
2.3.1	Liquifizierung (Verflüssigung)	17
	Verzögerte Liquifizierung	17
2.3.2	Konsistenz	18
2.3.3	Aussehen des Ejakulates	18
2.3.4	Ejakulatvolumen	18
	Unterer Referenzwert	19
2.3.5	pH-Wert des Ejakulates	19
	Referenzwerte	20
2.4	Erste mikroskopische Untersuchung	20
2.4.1	Gründliche Mischung und repräsentative Probenentnahme	20
2.4.2	Herstellung eines Feuchtpräparates	20
2.4.3	Spermienaggregationen	21
2.4.4	Spermienagglutinationen	21
2.4.5	Zelluläre Elemente außer Spermien	22
2.5	Spermienmotilität	24
2.5.1	Klassifizierung der Spermienmotilität	24
2.5.2	Vorbereitung der Probe und Beurteilung der Motilität	25
2.5.3	Arbeitsbeispiele	26
2.5.4	Untere Referenzgrenze	27
2.6	Spermiovitalität	27
2.6.1	Vitalitätstest mittels Eosin-Nigrosin	28
	Zubereitung der Reagenzien	28
	Durchführung	28
	Auswertung	29
	Unterer Referenzwert	29
2.6.2	Vitalitätstest mittels Eosin allein	29
	Zubereitung der Reagenzien	29

	Durchführung	29
	Auswertung	30
	Unterer Referenzwert	30
2.6.3	Vitalitätstest mittels hypoosmotischer Schwellung	30
	Zubereitung der Reagenzien	30
	Durchführung	30
	Auswertung	31
	Unterer Referenzwert	31
2.7	Spermienanzahl	32
2.7.1	Verschiedene Arten von Zählkammern	33
2.7.2	Das Neubauer-improved-Hämozytometer	33
2.7.3	Anwendung des Hämozytometer-Rasters	34
2.7.4	Pflege der Zählkammer	35
2.7.5	Diluent zur Ejakulatverdünnung	35
2.7.6	Die Notwendigkeit, eine ausreichende Anzahl an Spermien zu zählen	35
2.8	Routine-Zählverfahren	36
2.8.1	Bestimmung der erforderlichen Verdünnung	36
2.8.2	Vorbereitung der Verdünnungen und Beladung der Hämozytometerkammer	38
2.8.3	Bestimmung der Spermienzahl in den Zählkammern	39
2.8.4	Berechnung der Spermienkonzentration im Ejakulat	40
2.8.5	Berechnungsbeispiele	40
2.8.6	Unterer Referenzwert für die Spermienkonzentration	42
2.8.7	Berechnung der Spermiengesamtzahl im Ejakulat	42
2.8.8	Unterer Referenzwert für die Spermiengesamtzahl	42
2.9	Niedrige Spermienzahl: Kryptozoospermie und vermutete Azoospermie	42
2.10	Wenn eine exakte Bestimmung einer niedrigen Spermienzahl nicht notwendig ist	43
2.10.1	Keine weiteren Maßnahmen ergreifen	43
2.10.2	Untersuchung von zentrifugierten Proben, um Spermien zu finden	43
2.10.3	Untersuchung von nicht zentrifugierten Proben, um bewegliche Spermien zu finden	44
2.11	Wenn eine genaue Bestimmung auch bei wenigen Spermien notwendig ist	45
2.11.1	Die Bestimmung einer niedrigen Spermienzahl im gesamten Neubauer-improved-Hämozytometer (Phasenkontrast-Mikroskopie)	45
	Durchführung	45
	Berechnung niedriger Spermienkonzentrationen im Ejakulat	47
	Sensitivität der Methode	47
	Berechnungsbeispiele	47
	Berechnung der Spermiengesamtzahl im Ejakulat	48
2.11.2	Erfassung einer niedrigen Spermienzahl in großvolumigen Einweg-Zählkammern (Fluoreszenzmikroskopie)	48
	Durchführung	48
	Berechnung niedriger Spermienkonzentrationen im Ejakulat	49
	Sensitivität der Methode	49
	Berechnungsbeispiele	50
	Berechnung der Spermiengesamtzahl im Ejakulat	51
2.12	Zählung von Zellen, die keine Spermien sind	51
2.12.1	Berechnung der Konzentration von Rundzellen im Ejakulat	51
2.12.2	Sensitivität der Methode	51
2.12.3	Berechnungsbeispiele	51

2.13	Spermienmorphologie	52
2.13.1	Das Konzept normaler Spermien	52
2.13.2	Vorbereitung des Ejakulatausstriches	53
	Normale Ejakulatproben	54
	Proben mit geringen Spermienkonzentrationen	55
	Visköse Ejakulatproben	55
	Waschen von zellreichen oder viskösen Ejakulaten und Reduzieren von Hintergrundartefakten für die computerunterstützte Spermienmorphometrie	56
2.14	Färbemethoden	56
2.14.1	Traditionelle Fixierung und sequentielle Färbung	56
2.14.2	Papanicolaou-Färbung für die Spermienmorphologie	57
	Reagenzien	57
	Fixierung der luftgetrockneten Ejakulatausstriche	57
	Färbung der fixierten Ejakulatausstriche	58
	Behandlung der gefärbten Ausstriche vor dem Einbetten	58
	Einbetten der gefärbten Ejakulatausstriche	58
2.14.3	Shorr-Färbung für die Spermienmorphologie	58
	Reagenzien	59
	Fixierung der luftgetrockneten Ejakulatausstriche	59
	Färbung der fixierten Ejakulatausstriche	59
	Einbetten der gefärbten Ejakulatausstriche	59
2.14.4	Schnellfärbemethoden für die Spermienmorphologie	59
	Reagenzien	59
	Fixierung der luftgetrockneten Ejakulatausstriche	59
	Färbung der fixierten Ejakulatausstriche	59
	Einbetten der gefärbten Ejakulatausstriche	60
2.15	Beurteilung der gefärbten Präparate	60
2.15.1	Klassifizierung der normalen Spermienmorphologie	60
2.15.2	Klassifikation der abnormalen Spermienmorphologie	61
2.16	Abbildungen zur Spermienmorphologie	62
2.17	Analyse eines Ejakulatausstriches	94
2.17.1	Beurteilung der normalen Spermienmorphologie	94
2.17.2	Arbeitsbeispiel	94
2.17.3	Unterer Referenzbereich	95
2.17.4	Bestimmung der abnormalen Spermienmorphologie	95
2.17.5	Arbeitsbeispiel	95
2.17.6	Beurteilung spezifischer Spermiendefekte	95
2.18	Beurteilung der Leukozyten im Ejakulat	96
2.18.1	Zelluläre Peroxidase-Färbung mit Ortho-Toluidin	96
	Prinzip	96
	Reagenzien	97
	Durchführung	97
	Bestimmung der Peroxidase-positiven Zellzahl im Hämocytozometer	97
	Kalkulation der Konzentration der peroxidase-positiven Zellen im Ejakulat	98
	Sensitivität der Methode	98
	Arbeitsbeispiele	98
	Referenzwerte	99

2.19	Beurteilung unreifer Keimzellen im Ejakulat	100
2.20	Testung auf Spermiantikörper	100
2.20.1	Der gemischte Antiglobulin-Reaktions-Test	101
	Durchführung	101
	Beurteilung	102
	Referenzwerte	102
2.20.2	Der direkte Immunobead-Test	102
	Reagenzien	103
	Vorbereitung der Immunobeads	103
	Vorbereitung der Spermien	103
	Durchführung	103
	Referenzwerte	104
2.20.3	Der indirekte Immunobead-Test	104
	Reagenzien	104
	Vorbereitung der Immunobeads	104
	Vorbereitung der Spermien	104
	Vorbereitung der zu testenden Flüssigkeiten	104
	Inkubation der Spermien mit den zu testenden Flüssigkeiten	105
	Immunobead-Test	105
3	Fakultative Untersuchungen	107
3.1	Index für multiple Spermiendefekte	109
3.1.1	Errechnen der Indizes für multiple morphologische Defekte	109
3.1.2	Beispiel	109
3.2	Panleukozyten-Marker CD45	110
3.2.1	Prinzip	110
3.2.2	Reagenzien	111
3.2.3	Durchführung	112
	Vorbereitung des Samens	112
	Anfertigen der Spermienausstriche	112
	Antikörper-Inkubation	112
	Färbung und Einbettung	112
	Beurteilung der CD45-positiven Zellen	112
	Errechnen der CD45-Zell-Konzentration im Ejakulat	113
	Sensitivität der Methode	113
	Beispiele	113
	Referenzbereiche	113
3.3	Interaktionen zwischen Zervikalschleim und Spermien	114
3.3.1	In-vivo-Test (postkoital)	114
	Ziel	114
	Timing	114
	Instruktionen für die Patienten	114
	Durchführung	114
	Die Untersuchung des Vaginalsekretes	115
	Die Untersuchung der Mukusprobe	115
	Interpretation	115
3.3.2	In-vitro-Tests	116

3.3.3	Vereinfachter In-vitro-Test	117
	Durchführung	117
	Beobachtungen	117
	Beurteilung	118
3.3.4	Kapillar-Test	118
	Materialien	118
	Durchführung	118
	Untersuchung der Flachkapillare	119
	Interpretation	120
3.4	Biochemische Marker zur Testung der Funktion der akzessorischen Geschlechtsdrüsen	120
3.4.1	Die Bestimmung von Zink im Seminalplasma	121
	Hintergrund	121
	Prinzip	121
	Reagenzien	121
	Durchführung	121
	Berechnung	122
	Unterer Referenzbereich	122
3.4.2	Bestimmung der Fruktose aus dem Seminalplasma	122
	Hintergrund	122
	Prinzip	122
	Reagenzien	122
	Durchführung	123
	Berechnung	123
	Unterer Referenzbereich	124
3.4.3	Bestimmung der neutralen α -Glukosidase im Seminalplasma	124
	Hintergrund	124
	Prinzip	124
	Reagenzien	124
	Durchführung	125
	Berechnung	125
	Unterer Referenzbereich	126
3.5	Computerassistierte Spermienanalyse	126
3.5.1	Einführung	126
3.5.2	Verwendung der CASA zur Bestimmung der Spermienmotilität	126
	Durchführung	127
	Probenvorbereitung	127
	CASA-Terminologie	127
3.5.3	CASA zur Bestimmung der Spermienkonzentration	128
3.5.4	Computergestützte Untersuchung der Spermienmorphologie (CASMA)	129
4	Forschungsrelevante Methoden	131
4.1	Reaktive Sauerstoffradikale	133
4.1.1	Einleitung	133
4.1.2	ROS-Bestimmung in Spermiesuspensionen	133
	Prinzip	133
	Reagenzien	134
	Opsonisierung des Zymosan	134

	Bestimmung spontaner ROS-Produktion	134
	FMLP-Provokationstest in Leukozyten	135
	Zymosan-Provokationstest in Leukozyten	135
	PMA-Provokationstest für Bestimmung der ROS-Produktion von Leukozyten und Spermien	135
	Ergebnisse	135
4.2	Humane Spermien-Oozyten-Interaktionstests	135
4.3	Humaner Zona-pellucida-Bindungstest	135
4.4	Beurteilung der Akrosomreaktion	136
4.4.1	Fluoreszenzverfahren zur Bestimmung der Akrosomreaktion	136
	Reagenzien	136
	Einfaches Waschen der Spermien	137
	Behandlung der gereinigten Spermienpräparation	137
	Abstrichpräparation	137
	PSA-FITC-Färbung	137
	Bewertung	137
	Quantitative Bestimmung der Akrosomreaktion	137
4.4.2	Induzierter Akrosomreaktionstest	138
	Reagenzien	138
	Verfahren	138
	Bewertung	138
	Qualitätskontrolle	139
4.5	Hamster-Oozyten-Penetrationstest	139
4.5.1	Protokolle	139
	Reagenzien	139
	Standardprotokoll ohne Ionophor-Stimulation	139
	Alternative Protokolle mit Kalzium-Ionophor (Ca ²⁺)	140
	Gewinnung der Ovarien	140
	Gewinnung der Kumulusmassen	141
	Aufbereitung der Hamsteroozyten	141
	Ko-Inkubation der Gameten	141
	Analyse der Oozyten	141
	Qualitätskontrolle	142
4.6	Spermien-Chromatin-Test	142

II Spermienpräparationen

5	Spermienpräparationstechniken	145
5.1	Einleitung	146
5.1.1	Wann ist das Abtrennen der Spermien vom Seminalplasma sinnvoll	146
5.1.2	Methodenwahl	146
5.1.3	Effizienz der Spermioseparation vom Seminalplasma und von infektiösen Organismen ...	147
5.2	Generelle Prinzipien der Spermienpräparationstechniken	147
5.3	Einfaches Waschen	147
5.3.1	Reagenzien	148
5.3.2	Durchführung	148
5.4	Direkter Swim-up	148
5.4.1	Reagenzien	148

5.4.2	Durchführung	149
5.5	Diskontinuierlicher Dichtegradient	149
5.5.1	Reagenzien	149
5.5.2	Durchführung	150
5.6	Präparation von HIV-infizierten Spermienproben	150
5.7	Präparation testikulärer und epididymaler Spermien	150
5.7.1	Enzymatische Methode	151
5.7.2	Mechanische Methode	151
5.7.3	Verarbeitung der Spermien suspension zur intrazytoplasmatischen Spermieninjektion	151
5.8	Präparation von retrograden Spermienproben	151
5.9	Präparation von mit technischer Hilfe gewonnenen Ejakulatproben	152
6	Kryokonservierung von Spermien	153
6.1	Einleitung	154
6.2	Protokolle zur Kryokonservierung des Ejakulats	156
6.2.1	Standarddurchführung	156
	Vorbereitung des GEYC-Kryoprotektivums	156
	Beimengung des Kryoprotektivums zum Ejakulat	157
	Befüllen der Plastikstraws (»Strohhalme«) der Kryokassetten	157
	Verriegeln der Kryostraws	157
	Kühlen und Einfrieren des Ejakulates in programmierbaren Einfriergeräten	157
	Manuelles Einfrieren und Auftauen des Ejakulates	158
	Aufbewahrung der kryokonservierten Samenproben	158
	Transport von kryokonservierten Samenproben	158
	Auftauen der kryokonservierten Samenproben	158
6.2.2	Modifizierte Einfrierprotokolle für oligozoosperme Proben und operativ gewonnene Spermien	158
	Modifizierte Kryoprotektiva (TGG)	159
	Durchführung	159
6.2.3	Beschriftung der Kryostraws und Kassetten	159

III Qualitätssicherung

7	Qualitätssicherung und Qualitätskontrolle	163
7.1	Qualitätskontrolle im Andrologielabor	165
7.2	Die Art von Fehlern bei der Ejakulatanalyse	165
7.3	Minimierung des Stichprobenfehlers	166
7.4	Programm zur Qualitätskontrolle (QK)	166
7.5	Standardisierte Verfahrensanweisungen (SOPs)	168
7.6	Interne Qualitätskontrolle (IQK)	169
7.6.1	Käuflich erhältliche QK-Proben	169
7.6.2	Selbst hergestellte QK-Proben	169
7.6.3	Gelagerte QK-Proben (gekauft oder selbst hergestellt)	169
	Spermienkonzentration	169
	Spermienmorphologie und Vitalität	170
	Spermienmotilität	170
7.6.4	Frische QK-Proben (selbst hergestellt)	170

7.7	Statistische Verfahren zur Analyse und Dokumentation systematischer Fehler desselben Technikers oder zwischen mehreren Technikern	170
7.7.1	Mittelwertkarte	171
	Kontrollgrenze einer Mittelwertkarte berechnen	171
	Graphische Darstellung der Mittelwertkarte	171
7.7.2	Die S-Karte	171
	Bestimmung der Kontrollgrenze für die S-Karte	171
	Graphische Darstellung der S-Karte	172
7.8	QK mit relativen Werten (Prozentangaben)	173
7.9	Handhabung und Kontrolle der X- und S-Karten	174
7.9.1	Wie kann man fehlerhafte Verfahren erkennen?	174
7.9.2	Ursachen für »nichtbestandene« Verfahrenswerte	174
7.9.3	Reaktion nach Erhalt unbestandener QK-Probenwerte	175
7.10	Statistische Verfahren zur Analyse der Variabilität zwischen Technikern	175
7.10.1	Vergleich von Resultaten zwischen zwei oder mehreren Technikern	176
7.10.2	Erstellen monatlicher Mittelwerte	178
7.11	Externe Qualitätskontrolle und Qualitätssicherung	178
7.11.1	Bestimmung der EQK-Ergebnisse	178
7.11.2	Reaktionsmaßnahmen bei nicht bestandener Bewertung	181
7.12	Frequenz und Priorität der Qualitätskontrolle	183
7.13	Ausbildung	183
7.13.1	Praktische Hinweise für die Bestimmung der Spermienkonzentration	184
7.13.2	Praktische Hinweise für die Bestimmung der Spermienmorphologie	185
7.13.3	Praktische Hinweise für die Beurteilung der Spermienmotilität	185
7.13.4	Praktische Hinweise für die Bestimmung der Spermiovitalität	185

IV Appendices

8	Referenzwerte und Nomenklatur der Ejakulatanalyse	189
8.1	Referenzwerte	190
8.2	Nomenklatur	192
9	Ausstattung und Sicherheit	193
9.1	Grundausrüstung eines Andrologielabors	194
9.1.1	Allgemeine Ausstattung für das Andrologielabor	194
9.1.2	Notwendige Ausstattung und Materialien für eine Ejakulatanalyse	194
9.1.3	Notwendige Chemikalien und Reagenzien	195
9.2	Potentielle Gefährdungen im Andrologielabor	196
9.3	Sicherheitsvorkehrungen für das Personal im Andrologielabor	196
9.4	Sicherheitsmaßnahmen in Bezug auf die Laboreinrichtung	198
9.5	Sicherheitsvorkehrungen beim Arbeiten mit flüssigem Stickstoff	198
10	Mikroskopie im Andrologielabor	201
10.1	Das Auflegen der Probe	202
10.2	Einstellen des Okulars	204
10.3	Fokussieren des Bildes	204
10.4	Fokussieren des Okulars	204

10.5	Fokussieren des Lichtkondensators	204
10.6	Zentrieren des Kondensors	205
10.7	Einstellen der Phasenringe	205
10.8	Fluoreszenzmikroskopie	205
11	Vorrats- und Arbeitslösungen	207
11.1	Biggers, Whitten und Whittingham	208
11.2	Dulbecco's phosphatgepufferte Salzlösung	208
11.3	Earle's Medium	208
11.4	Ham's-F-10-Medium	209
11.5	Hanks'-Pufferlösung	209
11.6	HTF-Medium (Human-Tubular-Fluid)	209
11.7	Krebs-Ringer-Medium	209
11.8	Tris-gepufferte Kochsalzlösung	210
11.9	Tyrode-Lösung	210
11.10	Papanicolaou-Färbung	210
12	Zervikalmukus	213
12.1	Einführung	214
12.2	Gewinnung und Konservierung des Zervikalmukus	215
12.2.1	Gewinnung	215
12.2.2	Lagerung und Konservierung	215
12.3	Beurteilung des Zervikalmukus	216
12.3.1	Volumen	216
12.3.2	Konsistenz (Viskosität)	216
12.3.3	Farnkrautbildung	216
12.3.4	Spinnbarkeit	217
12.3.5	Zelluläre Bestandteile	217
12.3.6	pH-Wert	217
13	Befundbögen für Ejakulatuntersuchungen und Untersuchungen des Zervikalmukus	219
13.1	Vorlage für einen Befundbogen für Ejakulatuntersuchungen	220
13.2	Vorlage für einen Befundbogen für Zervikalmukus-Untersuchungen	222
14	Messfehler und Qualitätskontrolle	223
14.1	Fehler bei der Messung der Spermienkonzentration	225
14.1.1	Fehler bei Zählungen	225
14.1.2	Übereinstimmung von wiederholten Zählungen (Replikaten)	225
14.2	Die Bedeutung der Kenntnis von Messfehlern	225
14.3	Fehler bei der Messung von Prozentsätzen	228
14.3.1	Fehler bei der Bestimmung von Prozentsätzen	228
14.3.2	Übereinstimmung zwischen Prozentsätzen von Wiederholungsmessungen	228
14.4	Herstellung von Ejakulatproben für die Qualitätskontrolle	229
14.5	Vorbereitung von Videoaufnahmen für die interne Qualitätskontrolle der Analyse der Spermienmotilität	231
14.5.1	Zusätzliche Geräte	231
14.5.2	Durchführung	231

14.5.3	Analyse der Videoaufnahmen	233
14.6	Vorbereitung von verdünntem Ejakulat für die interne Qualitätskontrolle der Spermienkonzentrationsbestimmung	234
14.6.1	Allgemeine Überlegungen	234
14.6.2	Reagenzien	235
14.6.3	Zusätzliche Ausrüstung	235
14.6.4	Durchführung	235
14.6.5	Nutzung der gelagerten Proben für die interne Qualitätskontrolle	236
14.7	Herstellung von Objektträgern für die interne Qualitätskontrolle für die Bestimmung der Spermienmorphologie	237
14.7.1	Allgemeine Überlegungen	237
14.7.2	Durchführung	237
14.8	Kalibrierung der Laborausstattung	238
14.8.1	Waagen	238
14.8.2	Pipetten	239
14.8.3	Tiefe der Kammern	239
14.8.4	Inkubatoren	239
14.8.5	pH-Papier	239
14.8.6	Andere Geräte	239
15	Nationale externe Qualitätskontrollprogramme für die Ejakulatanalyse ...	241
	Literatur	243

Danksagung

Diese Publikation wurde vom UNDP/UNFPA/WHO/World Bank Special Programme of Research, Development and Research Training in Human Reproduction (HRP), WHO Department of Reproductive Health and Research (RHR) produziert. Die Mitarbeit folgender Personen an der Präparation und der Herausgabe dieses Manuals wird hiermit dankend anerkannt.

Chefredakteur

Dr. Trevor G. Cooper

Centre of Reproductive Medicine and
Andrology of the University Münster
Münster
Germany

Redaktionsteam

Dr. John Aitken

Biological Sciences School of Life and
Environmental Sciences
University Drive
Callaghan, New South Wales
Australia

Dr. Jacques Auger

Service de Biologie de la Réproduction
Pavillon Cassini Hôpital Cochin
Paris
France

Dr. H.W. Gordon Baker

Department of Obstetrics
and Gynaecology
Royal Women's Hospital
Carlton
University of Melbourne
Victoria
Australia

Dr. Chris L.R. Barratt

Division of Maternal and Child Health
Sciences
The Medical School, Ninewells Hospital
Dundee
Scotland

Dr. Hermann M. Behre

Centre for Reproductive Medicine and
Andrology, Martin-Luther-University
Halle
Germany

Dr. Lars Björndahl

Andrology Centre Karolinska University
Hospital and Institute
Stockholm
Sweden

Ms. Charlene Brazil

Center for Health and the Environment
University of California
Davis
CA USA

Dr. Christopher De Jonge

University of Minnesota
Reproductive Medicine Center
Minneapolis
MN USA

Dr. Gustavo F. Doncel

CONRAD, Department of Obstetrics and
Gynecology
Eastern Virginia Medical School
Norfolk
VA USA

Dr. Daniel Franken

Department of Obstetrics and Gynaeco-
logy
Tygerberg Hospital
Tygerberg
South Africa

Dr. Trine B. Haugen

Faculty of Health Sciences
Oslo University College
Oslo
Norway

Dr. Aucky Hinting

Andrology Unit, Department of Biomedicine
School of Medicine, Airlangga University
Surabaya
Indonesia

Mr. Godwin E. Imade

Department of Obstetrics and Gynaecology
Faculty of Medical Sciences University of
Jos
Jos
Nigeria

Dr. Thinus F. Kruger

Reproductive Biology Unit
Stellenbosch University
Tygerberg
South Africa

Dr. Hesbon O. Odongo

Department of Zoology
University of Nairobi
Nairobi
Kenya

Ms. Elizabeth Noonan

Fred Hutchinson Cancer Research Center
Statistical Center for HIV/AIDS Research
and Prevention
Seattle WA
USA

Dr. Steven M. Schrader

National Institute for Occupational Safety
and Health Centers for Disease Control
and Prevention
Cincinnati OH
USA

Dr. Christina C.L. Wang

Harbor-UCLA Medical Center
Torrance CA
USA

Dr. William Shu-Biu Yeung

Department of Obstetrics and
Gynaecology
University of Hong Kong
Hong Kong SAR
China

WHO Secretariat

**Department of Reproductive Health
and Research**

Dr. Kirsten M. Vogelsong

Scientist
Research Area Manager

Dr. Sigrid von Eckardstein

Former Acting Research Area Manager

Dr. Michael T. Mbizvo

Director ad interim

Ms. Maud Keizer

Secretary

Zusätzlich gebührt Dank den folgenden Personen: Ms. Cathy Treece, Ms. Charlene Tollner und Professor Jim Overstreet (University of California, Davis, CA, USA) für die mikroskopischen Aufnahmen der Spermienmorphologie und die Überprüfung der Medien, Dr. Rune Eliasson (Sophiahemmet Hospital, Stockholm, Schweden) für die Hilfe bei der Definition der Zellen außer Spermien, Dr. Timothy Farley (World Health Organization, Geneva, Switzerland) für die Durchsicht der Abschnitte zur Qualitätskontrolle, Dr. Gary N. Clarke (The Royal Women's Hospital, Carlton, Australia), Dr. Roelof Menkveld (Tygerberg Academic Hospital and University of Stellenbosch, Tygerberg, South Africa), und Prof. Pieter Wranz (University of Stellenbosch, Tygerberg, South Africa) für weitere Informationen, die bei der Zusammenstellung dieses Laborhandbuchs nützlich waren.

Die finanzielle Unterstützung der International Society of Andrology wird hiermit dankbar anerkannt.

Diese Ausgabe des Laborhandbuchs wird dem Andenken an Geoffrey Waites (1928–2005) gewidmet, der einer der Manager der WHO Task Force on Methods for the Regulation of Male Fertility und Mitherausgeber der zweiten, dritten und vierten Ausgabe dieses Laborhandbuchs war. Das Herausbergremium wurde bei seiner Arbeit durch Geoff's Aufrichtigkeit, Fairness und seine Sorge um die Unterprivilegierten motiviert.

Abkürzungsverzeichnis

AI	artifizielle Insemination
ALH	»seitliche Kopfauslenkung« (engl. amplitude of lateral head displacement)
ANOVA	Varianzanalyse (engl. analysis of variance)
APSYS	agglutinationsverhindernde Lösung
AR	Akrosom-reagiert (engl. acrosome-reacted)
ART	assistierte reproduktive Techniken
ASA	Anti-Spermien-Antikörper
BCF	»Kopfschlagfrequenz« (engl. beat-cross frequency [Hz])
BSA	bovines Serumalbumin
BWW	Biggers-, Whitten- und Whittingham-(Lösungen)
CASA	computerassistierte Spermienanalyse
CASMA	computerassistierte Spermienmorphologieanalyse
CBAVD	kongenitales beidseitiges Fehlen des Vas deferens
CI	Konfidenzintervall
CV	Variationskoeffizient
CUSUM	kumulativen Summe
DMSO	Dimethyl-Sulfoxyd
DPBS	Dulbecco's phosphatgepufferte Salzlösung
EDTA	Ethylenediamine-tetra-acetic acid
EQK	externe Qualitätskontrolle
EQV	externe Qualitätssicherung
FITC	Fluorescein-Isothiocyanat
FMLP	Formyl-Methionyl-Leucocyl-Phenylalanin
GIFT	intratubarer Keimzellentransfer (engl. gamete intrafallopian transfer)
GPC	Glycerophosphocholin
HBSS	Hanks'-balancierte Salzlösung
HBV	Hepatitis-B-Virus
HCV	Hepatitis-C-Virus
HIV	humanes Immundefizienzvirus
HOP-Test	Hamster-Oozyten-Penetrationstest
HOS	hypoosmotische Schwellung (engl. hypo-osmotic swelling)
HPF	Hauptgesichtsfeld (engl. high-power field)
HRP	Meerrettich-Peroxidase (engl. horseradish peroxidase)
HSA	Serumalbumin (engl. human serum albumin)
HTF	humane Tubenflüssigkeit (engl. human tubal fluid)
IBT	Immunobead-Test
ICSI	intrazytoplasmatische Spermieninjektion
IM	Immotilität (der Spermien)
IQK	interne Qualitätskontrolle
ISO	International Organisation für Standardisation
IU	internationale Einheit (engl. international unit)
IUI	intrauterine Insemination
IVF	In-vitro-Fertilisation
KRM	Krebs-Ringer-Medium
LIN	Linearität

LLQ	Untergrenze der Quantifizierung
MAD	»mittlere Richtungsabweichung« (engl. mean angular displacement)
MAI	Index der multiplen Anomalitäten
MAR	Antiglobulin-Reaktion
NP	nichtprogressive Motilität (der Spermien)
PBS	Phosphat-Puffer-Salzlösung
PDCA	planen, testen, überprüfen/standardisieren, umsetzen (engl. plan, do, check, act)
PMA	Phorbol-12-Myristat-13-Acetat
PMN	polymorphkernige Leukozyten
PMSG	Pregnant Mare Serum Gonadotropin (engl. pregnant mare serum gonadotropin)
PR	progressive Motilität (engl. progressive [motility])
PSA	Pisum-sativum-Agglutinin
QS	Qualitätssicherungsprogramm
QK	Qualitätskontrolle
QMH	Qualitätsmanagement-Handbuch
ROS	reaktive Sauerstoffradikale (engl. reactive oxygen species)
rpm	Umdrehungen pro Minute (engl. revolutions per minute)
RZK	relative Zentrifugalkraft
SCSA	Spermien-Chromatin-Struktur-Assay
SD	Standardabweichung (engl. standard deviation)
SDI	Spermiendeformationen
SE	Standardfehler (engl. standard error)
SF	Stichprobenfehler
SOP	standardisierte Verfahrensanweisung (engl. standard operating procedure)
STR	»Linearitätsindex« (engl. straightness [VSL/VAP])
TBS	Tris-gepufferte Kochsalzlösung
TGG	Tyrodé's Glucoseglycerol
TTP	Zeit bis zum Eintritt der Schwangerschaft (engl. time-to-pregnancy)
TZI	Teratozoospermieindex
VAP	»Pfadgeschwindigkeit« (engl. average path velocity)
VCL	»Spurgeschwindigkeit« (engl. curvilinear velocity)
VSL	»Progressivgeschwindigkeit« (engl. straight-line (rectilinear) velocity)
WOB	»Flattrigkeit«, »Seitenausschlag« (engl. wobble [VAP/VCL])

Hintergrund

- 1.1 Einleitung – 2
- 1.2 Die 5. Auflage – 2
- 1.3 Zweck des und Umfang des Laborhandbuchs – 3

1.1 Einleitung

Als Reaktion auf den wachsenden Bedarf an einer Standardisierung der Methoden zur Untersuchung des menschlichen Ejakulates erschien 1980 die erste Auflage des *WHO Labor-Handbuchs für die Untersuchung des menschlichen Ejakulates und der Spermien-Mukus-Interaktion*. Seither sind drei Neuauflagen erschienen sowie Übersetzungen in verschiedene Sprachen. Im Laufe der letzten 30 Jahre wurde das Laborhandbuch als globaler Standard anerkannt und weltweit extensiv in der Forschung und in klinischen Laboratorien benutzt.

Trotz dieses Erfolges wurde deutlich, dass einige Empfehlungen aus früheren Auflagen im Lichte neuer Erkenntnisse revidiert werden mussten und einige Konzepte weiterer Erklärung und unterstützender Evidenz bedurften. Im Lichte dieser Überlegungen setzte die WHO ein Herausgebergremium ein, um alle beschriebenen Methoden des Laborhandbuchs zu überarbeiten und um sie entweder zu bestätigen, zu ändern oder zu aktualisieren. In zahlreichen Fällen entpuppte sich dies als eine schwierige Aufgabe, da nur ungenügende Daten mit den im Laborhandbuch beschriebenen Methoden generiert worden waren. In einigen Fällen erzielten gut etablierte Laboratorien übereinstimmende Daten, aber dies konnte von anderen nicht bestätigt werden. In diesen Fällen fand das Herausgebergremium nach Evaluierung der einschlägigen Literatur einen Konsensus.

Zusätzliche Empfehlungen gingen von technischen Assistenten und Wissenschaftlern ein, insbesondere im Hinblick auf die Notwendigkeit einer detaillierteren Beschreibung der Methoden. Das Fehlen von Details in früheren Ausgaben führte dazu, dass es einige Laboratorien bevorzugten, andere Methoden zu benutzen oder sie entwickelten eigene Versionen dieser Methoden, wobei sie weiterhin behaupteten, die Ejakulatanalyse entsprechend dem WHO-Manual durchzuführen. Um globale Vergleiche einfacher zu gestalten, enthält die gegenwärtige Ausgabe des Laborhandbuchs deshalb viel mehr Details und begründet alternative Methoden. Wenn Ergebnisse in Publikationen mitgeteilt werden, wird jetzt empfohlen, dass die Autoren klarstellen sollten, welche spezielle Methode aus dem Laborhandbuch benutzt wurde.

1.2 Die 5. Auflage

Die fünfte Auflage enthält drei Teile: Ejakulatanalyse (► Kap. 2–4), Spermienpräparationen (► Kap. 5 und 6) und Qualitätssicherung (► Kap. 7). Der Teil 1, der sich mit der Ejakulatanalyse befasst, ähnelt dem aus früheren Auflagen, ist jedoch in drei Kapitel eingeteilt: Standardmethoden, die robuste Routine-Methoden zur Bestimmung der Spermienqualität darstellen; fakultative Tests, die in bestimmten Situationen benutzt oder von einzelnen Laboratorien bevorzugt werden; Forschungstests, die gegenwärtig nicht als für die Routine geeignet betrachtet werden. Da die Ejakultatkultur normalerweise nicht im Andrologie-Labor durchgeführt wird, wird diese nur in dem Abschnitt über die sterile Gewinnung des Ejakulates erwähnt. Der Abschnitt über die Spermienpräparation befasst sich nicht nur mit der Gewinnung von Spermien aus dem Ejakulat, sondern auch aus dem Hoden und dem Nebenhoden. Anmerkungen mit speziellen methodologischen Erklärungen sind in den Text eingestreut, ferner Kommentare, die die Ergebnisse interpretieren und die zusätzliche Erklärungen enthalten.

Die Hauptpunkte der 5. Auflage werden hier kurz vorgestellt:

- Die Kapitel zur Ejakulatanalyse beinhalten Details aller verwandten Lösungen, Verfahren, Berechnungen und Interpretationen, so dass jede Methode grundsätzlich komplett ist und selten Hinweise auf andere Teile des Laborhandbuchs notwendig sind.
- Der Abschnitt über die Spermienpräparationen wurde ausgeweitet und ein Kapitel zur Kryokonservierung von Spermien hinzugefügt. Die Verfahren zur Analyse des Zervikalmukus wurden zwischen dem Kapitel über fakultative Methoden und einem Appendix zur Charakterisierung des Mukus aufgeteilt.
- **Bestimmung der Spermienzahl:** Die Ejakulatverdünnungen und die Abschnitte der Zählkammer zur Bestimmung der Spermienzahl in einer Samenprobe wurden dahingehend geändert, dass 200 Spermien pro Doppelbestimmung gezählt werden. Die Bedeutung von Fehlern beim Umgang mit der Probe und die Sicherheit der gewonnenen Zahlenergebnisse werden betont. Das Herausgebergremium

betrachtet die Gesamtspermienzahl pro Ejakulat als eine wichtigere Information für die Beurteilung der Hodenfunktion als die Spermienkonzentration, aber für diesen Zweck muss das Ejakulatvolumen exakt gemessen werden.

- **Bestimmung der Azoospermie:** Obwohl auf den ersten Blick einfach, wird die Diagnose einer Azoospermie durch zahlreiche Faktoren kompliziert, zu denen große Fehler beim Zählen nur weniger Spermien, die große Zahl der Felder, die mikroskopisch analysiert werden müssen und Schwierigkeiten bei der Untersuchung Debris-reicher Spermienpellets gehören. Zu den empfohlenen Änderungen gehören die Untersuchung fixierter, un-zentrifugierter Proben und die Angabe der Sensibilität der Zählmethode. Jedoch werden auch Zentrifugationsmethoden für die Anreicherung genügender Spermienzahlen für therapeutische Zwecke und Methoden für die Identifizierung motiler Spermien in unfixierten Proben für die Beurteilung eines Post-Vas-ektomie-Ejakulates erwähnt.
- **Beurteilung der Spermienmotilität:** Eine wichtige Änderung gegenüber früheren Auflagen bildet die Kategorisierung der Spermienmotilität. Es wird jetzt empfohlen, dass Spermien in progressiv-motil, nichtprogressiv-motil und immotil (anstelle der Grade a, b, c oder d) eingeteilt werden.
- **Beurteilung der Spermienmorphologie:** Einige Laboratorien bestimmen nur die normalen Formen, während andere den Typ, die Lokalisation und das Ausmaß der Abnormalität für wichtig halten. Es bleibt zu diskutieren, ob diese differenziellen oder semi-quantitativen Beurteilungen den Wert der Ejakulatanalyse erhöhen. Ergebnisse, die eine Beziehung zwischen dem Prozentsatz normalgeformter Spermien (entweder durch strikte Kriterien oder durch computer-assistierte Beurteilung der Morphologie definiert) und In-vivo-Fertilisationsraten finden, rechtfertigen den Versuch, eine spezifische morphologische Subpopulation der Spermatozoen im Ejakulat zu identifizieren. In die vorliegende Auflage wurden mehr und qualitativ bessere mikroskopische

Aufnahmen von Spermien aufgenommen, die als normal oder grenzwertig beurteilt werden, und es werden mehr Erklärungen geliefert, nach welchen Kriterien die Spermatozoen klassifiziert werden. Dies sollte dazu beitragen, technische Assistenten besser zu trainieren, Spermatozoen einheitlich zu beurteilen. Neue Daten von einer fertilen Population erlauben es, Referenzwerte für den Prozentanteil normalgeformter Spermien zu geben.

- **Qualitätskontrolle:** Dieses Kapitel wurde komplett neu geschrieben. Strikte Qualitätssicherung der Ejakulatanalyse ist notwendig, um verlässliche analytische Ergebnisse zu erzielen. Es werden Hinweise und Vorschläge gemacht, wie die Laborarbeit verbessert werden kann, wenn die Ergebnisse der Qualitätskontrolle nicht zufriedenstellend sind.
- **Referenzbereiche und Referenzgrenzen:** Daten zur Qualität des Ejakulates von fertilen Männern, deren Partnerinnen eine »time-to-pregnancy« (TTP) (Zeit bis zum Eintritt der Schwangerschaft) von weniger als 12 Monaten hatten, liefern die Referenzbereiche in diesem Manual. Rohdaten von 400–1900 Ejakulatproben von kürzlich gewordenen Vätern aus acht Ländern auf drei Kontinenten wurden herangezogen, um die Referenzbereiche festzulegen. Entsprechend konventioneller statistischer Tradition wurden die 2,5te Zentile eines zweiseitigen Referenzintervalles als der Grenzwert herangezogen, unter dem Werte als zu einer anderen Population gehörend betrachtet werden. Ein einseitiges Referenzintervall wurde jedoch als für die Ejakulatanalyse angebracht betrachtet, da es unwahrscheinlich ist, dass hohe Werte irgendeines Parameters die Fertilität negativ beeinflussen. Die 5. Zentile wird als untere Referenzgrenze angegeben und die vollständige Verteilung jedes Ejakulatparameters wird in ► Kap. 8 dargestellt.

1.3 Zweck des und Umfang des Laborhandbuchs

Die hier beschriebenen Methoden sollen als Richtlinie dienen, um die Qualität der Ejakulatanalyse

zu verbessern und die Ergebnisse vergleichbar zu machen. Sie sollten von lokalen, nationalen oder globalen Einrichtungen zur Akkreditierung von Laboratorien nicht notwendigerweise als obligatorisch betrachtet werden. Die Ejakulatanalyse kann sowohl im klinischen wie im Forschungsbereich nützlich sein, um den männlichen Fertilitätsstatus zu erfassen, aber auch um die Spermatogenese während und nach einer männlichen Kontrazeption zu überwachen.

Untersuchung des Ejakulates

- Kapitel 2 Standardverfahren – 7
- Kapitel 3 Fakultative Untersuchungen – 107
- Kapitel 4 Forschungsrelevante Methoden – 131

Standardverfahren

- 2.1 Einleitung – 12**
- 2.2 Probengewinnung – 15**
 - 2.2.1 Vorbereitung – 15
 - 2.2.2 Gewinnung des Ejakulates für diagnostische und Forschungszwecke – 15
 - 2.2.3 Sterile Probengewinnung im Rahmen der assistierten Reproduktion – 15
 - 2.2.4 Sterile Probengewinnung für die mikrobiologische Untersuchung – 16
 - 2.2.5 Probengewinnung zu Hause – 16
 - 2.2.6 Probengewinnung mittels Kondom – 16
 - 2.2.7 Sichere Probenhandhabung – 17
- 2.3 Erste makroskopische Untersuchung – 17**
 - 2.3.1 Liquifizierung (Verflüssigung) – 17
 - Verzögerte Liquifizierung – 17
 - 2.3.2 Konsistenz – 18
 - 2.3.3 Aussehen des Ejakulates – 18
 - 2.3.4 Ejakulatvolumen – 18
 - Unterer Referenzwert – 19
 - 2.3.5 pH-Wert des Ejakulates – 19
 - Referenzwerte – 20
- 2.4 Erste mikroskopische Untersuchung – 20**
 - 2.4.1 Gründliche Mischung und repräsentative Probenentnahme – 20
 - 2.4.2 Herstellung eines Feuchtpräparates – 20
 - 2.4.3 Spermienaggregationen – 21
 - 2.4.4 Spermienagglutinationen – 21
 - 2.4.5 Zelluläre Elemente außer Spermien – 22
- 2.5 Spermienmotilität – 24**
 - 2.5.1 Klassifizierung der Spermienmotilität – 24
 - 2.5.2 Vorbereitung der Probe und Beurteilung der Motilität – 25
 - 2.5.3 Arbeitsbeispiele – 26
 - 2.5.4 Untere Referenzgrenze – 27

2.6 Spermiovitalität – 27

- 2.6.1 Vitalitätstest mittels Eosin-Nigrosin – 28
 - Zubereitung der Reagenzien – 28
 - Durchführung – 28
 - Auswertung – 29
 - Unterer Referenzwert – 29
- 2.6.2 Vitalitätstest mittels Eosin allein – 29
 - Zubereitung der Reagenzien – 29
 - Durchführung – 29
 - Auswertung – 30
 - Unterer Referenzwert – 30
- 2.6.3 Vitalitätstest mittels hypoosmotischer Schwellung – 30
 - Zubereitung der Reagenzien – 30
 - Durchführung – 30
 - Auswertung – 31
 - Unterer Referenzwert – 31

2.7 Spermienanzahl – 32

- 2.7.1 Verschiedene Arten von Zählkammern – 33
- 2.7.2 Das Neubauer-improved-Hämozytometer – 33
- 2.7.3 Anwendung des Hämozytometer-Rasters – 34
- 2.7.4 Pflege der Zählkammer – 35
- 2.7.5 Diluent zur Ejakulatverdünnung – 35
- 2.7.6 Die Notwendigkeit, eine ausreichende Anzahl an Spermien zu zählen – 35

2.8 Routine-Zählverfahren – 36

- 2.8.1 Bestimmung der erforderlichen Verdünnung – 36
- 2.8.2 Vorbereitung der Verdünnungen und Beladung der Hämozytometerkammer – 38
- 2.8.3 Bestimmung der Spermienzahl in den Zählkammern – 39
- 2.8.4 Berechnung der Spermienkonzentration im Ejakulat – 40
- 2.8.5 Berechnungsbeispiele – 40
- 2.8.6 Unterer Referenzwert für die Spermienkonzentration – 42
- 2.8.7 Berechnung der Spermiengesamtzahl im Ejakulat – 42
- 2.8.8 Unterer Referenzwert für die Spermiengesamtzahl – 42

2.9 Niedrige Spermienzahl: Kryptozoospermie und vermutete Azoospermie – 42

2.10 Wenn eine exakte Bestimmung einer niedrigen Spermienzahl nicht notwendig ist – 43

- 2.10.1 Keine weiteren Maßnahmen ergreifen – 43

- 2.10.2 Untersuchung von zentrifugierten Proben, um Spermien zu finden – 43
- 2.10.3 Untersuchung von nicht zentrifugierten Proben, um bewegliche Spermien zu finden – 44
- 2.11 Wenn eine genaue Bestimmung auch bei wenigen Spermien notwendig ist – 45**
 - 2.11.1 Die Bestimmung einer niedrigen Spermienzahl im gesamten Neubauer-improved-Hämozytometer (Phasenkontrast-Mikroskopie) – 45
 - Durchführung – 45
 - Berechnung niedriger Spermienkonzentrationen im Ejakulat – 47
 - Sensitivität der Methode – 47
 - Berechnungsbeispiele – 47
 - Berechnung der Spermiengesamtzahl im Ejakulat – 48
 - 2.11.2 Erfassung einer niedrigen Spermienzahl in großvolumigen Einweg-Zählkammern (Fluoreszenzmikroskopie) – 48
 - Durchführung – 48
 - Berechnung niedriger Spermienkonzentrationen im Ejakulat – 49
 - Sensitivität der Methode – 49
 - Berechnungsbeispiele – 50
 - Berechnung der Spermiengesamtzahl im Ejakulat – 51
- 2.12 Zählung von Zellen, die keine Spermien sind – 51**
 - 2.12.1 Berechnung der Konzentration von Rundzellen im Ejakulat – 51
 - 2.12.2 Sensitivität der Methode – 51
 - 2.12.3 Berechnungsbeispiele – 51
- 2.13 Spermienmorphologie – 52**
 - 2.13.1 Das Konzept normaler Spermien – 52
 - 2.13.2 Vorbereitung des Ejakulatausstriches – 53
 - Normale Ejakulatproben – 54
 - Proben mit geringen Spermienkonzentrationen – 55
 - Visköse Ejakulatproben – 55
 - Waschen von zellreichen oder viskösen Ejakulaten und Reduzieren von Hintergrundartefakten für die computerunterstützte Spermienmorphometrie – 56
- 2.14 Färbemethoden – 56**
 - 2.14.1 Traditionelle Fixierung und sequentielle Färbung – 56
 - 2.14.2 Papanicolaou-Färbung für die Spermienmorphologie – 57
 - Reagenzien – 57