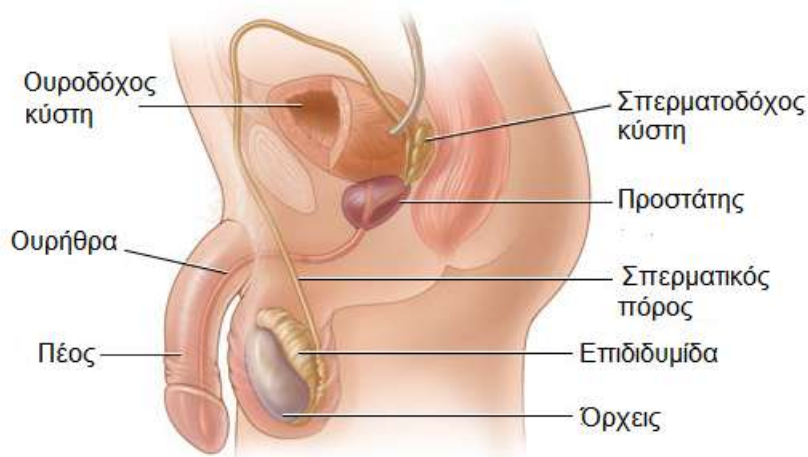


Συλλογή δείγματος σπέρματος

Όπως και σε κάθε άλλο βιολογικό υγρό έτσι και η συλλογή σπέρματος θα πρέπει να γίνεται με συγκεκριμένους κανόνες προκειμένου τα αποτελέσματα της ανάλυσης του να βοηθήσουν αποτελεσματικά τον άντρα που καταφεύγει για εξετάσεις στο ειδικό εργαστήριο. Κατά κανόνα ο άνδρας που ζητάει την βασική ανάλυση σπέρματος (basic semen analysis), γνωστή και ως σπερμοδιάγραμμα (spermodiagram) επιθυμεί να ελέγξει αν πάσχει από υπογονιμότητα, μια πολλή συχνή παθολογία στην εποχή μας οφειλόμενη σε διάφορα αίτια.



Τα τμήματα του ανδρικού αναπαραγωγικού συστήματος. Τα σπερματοζωάρια παράγονται στους δύο όρχεις και συγκεκριμένα στα σπερματικά σωληνάκια. Κατόπιν εισέρχονται στην επιδιδυμίδα όπου ωριμάζουν και αποκτούν την δυνατότητα κίνησης.

Προετοιμασία ασθενούς

Για να είναι το δείγμα αντιπροσωπευτικό της κατάστασης του ανδρικού αναπαραγωγικού συστήματος θα πρέπει ο άνδρας να συλλέξει το δείγμα με τέτοιο τρόπο ώστε να επηρεαστεί η ποιότητα του από συνθήκες που δεν σχετίζονται με την παθολογία του.

Συγκεκριμένα:

Προτιμάται η συλλογή του δείγματος να γίνεται **πρωί**. Το πρωινό δείγμα εξασφαλίζει συγκρίσιμα αποτέλεσμα στην περίπτωση επανελέγχου. Ο λόγος είναι ότι οι ανδρικές ορμόνες, με την επίδραση των οποίων παράγεται το σπέρμα, δεν παράγονται ομοιόμορφα καθόλη την διάρκεια της ημέρας.

Ο άνδρας θα πρέπει να απέχει από κάθε σεξουαλική επαφή και εκσπερμάτιση για 2 – 9 ημέρες. Οι δύο ημέρες απαιτούνται για την αναγέννηση των σπερματοζωαρίων και οι εννιά ημέρες είναι ο μέγιστος χρόνος διατήρησης καλής ποιότητας σπέρματος. Μετά τον χρόνο αυτό οι παράμετροι του σπέρματος επιδεινώνονται γρήγορα. Στη πράξη συνιστάται στενότερο όριο αποχής, 3 – 4 ημέρες για να είναι τα αποτελέσματα συγκρίσιμα.

Είναι γεγονός ότι αν ο άνδρας δεν έχει συχνές σεξουαλικές επαφές δεν έχει το αναπαραγωγικό του σύστημα στη καλύτερη δυνατή κατάσταση. Για τον λόγο αυτό συνιστάται ο εξεταζόμενος άνδρας να έχει πριν την ενδεδειγμένη αποχή (3 – 4 ημέρες) τακτικές σεξουαλικές επαφές για όσο το δυνατόν μεγαλύτερο χρονικό διάστημα.

Η συλλογή του δείγματος σπέρματος γίνεται από τον εξεταζόμενο άνδρα μέσα σε **αποστειρωμένο ουροδοχείο**. Οι στείρες συνθήκες είναι πρωταρχικής σημασίας γιατί πολλές φορές απαιτείται μαζί με το σπερμοδιάγραμμα να γίνει και καλλιέργεια σπέρματος.

Σκεύη

Αποστειρωμένο ουροδοχείο.

Χώρος

Η λήψη του σπέρματος μπορεί να γίνει είτε σε ειδικό χώρο του εργαστηρίου είτε ακόμα και στο σπίτι του εξεταζόμενου. Στη δεύτερη περίπτωση θα πρέπει το δείγμα να μεταφερθεί γρήγορα στο εργαστήριο. Ο χώρος της δεγματοληψίας στο εργαστήριο θα πρέπει να είναι άνετος, καθαρός, διακριτικός και εφοδιασμένος με κατάλληλο οπτικό υλικό. Καλό είναι να εξασφαλίζει και την συμμετοχή της συντρόφου.

Διαδικασία

Μπορεί να γίνει είτε με προκλητή εκσπερμάτιση είτε με διακοπή της συνουσίας προ εκσπερμάτισεως. Είναι εξαιρετικά σημαντικό να συλλεχτεί ολόκληρη η ποσότητα του σπέρματος, επειδή μία από τις παραμέτρους που θα προσδιοριστούν είναι ο όγκος. Σε κάθε περίπτωση είναι απαραίτητο να συλλεχτεί το πρώτο τμήμα του δείγματος που περιέχει και τα καλύτερης ποιότητας σπερματοζωάρια. Αποφεύγονται οι μαλάξεις στο τέλος για να μην επιμολυνθεί το δείγμα από μικρόβια του δέρματος.

Είναι απαραίτητο το δείγμα να έχει προέλθει ύστερα από πολύ καλή στύση. Για τον λόγο αυτό θα πρέπει ο χώρος σπερμοληψίας να περιέχει οπτικό υλικό. Μερικοί άνδρες επιθυμούν την βοήθεια της συντρόφου τους κάτι που άλλωστε συνίσταται.

Δεν επιτρέπεται η λήψη με την χρήση προφυλακτικού επειδή περιέχει σπερματοκτόνες ουσίες. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν όμως ειδικά προφυλακτικά χωρίς σπερματοκτόνα που πωλούνται στα φαρμακεία. Σε αυτή την περίπτωση το περιεχόμενο του προφυλακτικού αδειάζει μέσα σε αποστειρωμένο ουροδοχείο.

Πόσες λήψεις σπέρματος πρέπει να γίνουν

Το σπέρμα επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες (περιβάλλον, προβλήματα υγείας κ.α.) και κατά συνέπεια μία μόνο λήψη δεν φτάνει. Ο ΠΟΥ προτείνει να επαναλαμβάνεται η μέτρηση μετά από 1 – 4 εβδομάδες. Στη πράξη κανένας ουρολόγος – ανδrolόγος αλλά και ούτε οι υγειονομικές επιτροπές των ασφαλιστικών ταμείων δεν θεωρούν αξιόπιστο ένα μόνο σπερμοδιάγραμμα και γι' αυτό ζητούν τουλάχιστον δύο. Καλό είναι να υπάρχουν σπερμοδιαγράμματα σε διαφορετικές εποχές του έτους (π.χ. χειμώνα – καλοκαίρι) γιατί η θερμοκρασία του περιβάλλοντος είναι σημαντικός παράγοντας επηρεασμού της ποιότητας του σπέρματος.

Παράγοντες που επηρεάζουν την ποιότητα του σπέρματος

Προβλήματα υγείας

Παροδικά προβλήματα υγείας μπορούν να επηρεάσουν την συλλογή και την ποιότητα του δείγματος. Αν ο άνδρας είναι εμπύρετος, πάνω από 38° C η κινητικότητα και ο αριθμός των σπερματοζωαρίων του σπέρματος μπορεί να επηρεαστεί για 4 – 6 εβδομάδες. Για τον λόγο αυτό ο εξεταζόμενος δεν θα πρέπει να δώσει σπέρμα μέσα σε αυτό το χρονικό διάστημα. Επίσης οι λοιμώξεις π.χ. οι προστατίτιδες μπορούν να επηρεάσουν την ποιότητα του σπέρματος για πολύ μεγάλο χρονικό διάστημα δεδομένου ότι οι θεραπείες τους είναι χρονοβόρες.

Γνωστό πρόβλημα εκσπερμάτισης είναι η παλίνδρομη ή ανάστροφη εκσπερμάτιση. Φυσιολογικά το σπέρμα εξέρχεται διαμέσου της ουρήθρας που αποτελεί κοινό αγωγό για το σπέρμα και τα ούρα. Εάν έχουν γίνει χειρουργικές επεμβάσεις του προστάτη αδένος ή έχει χορηγηθεί σε αυτόν φαρμακευτική αγωγή τότε ο μηχανισμός εξόδου του σπέρματος διαταράσσεται με αποτέλεσμα το σπέρμα να καταλήγει στο εσωτερικό της ουροδόχου κύστεως. Το αποτέλεσμα είναι να μην βγαίνει σπέρμα από το πέος (ασπερμία). Εκτός όμως από τα οργανικά αίτια η παλίνδρομη εκσπερμάτιση έχει και ψυχολογικά αίτια. Προφανώς στη παλίνδρομη παλινδρόμηση το σπερμοδιάγραμμα θα πρέπει να ανασταλεί μέχρι την θεραπεία της πάθησης. Στην περίπτωση όπου η συλλογή του σπέρματος πρέπει να γίνει υποχρεωτικά λόγω επικείμενης εξωσωματικής γονιμοποίησης (IVF) τότε θα πρέπει να χορηγηθεί στον

άνδρα μία ουσία αλκαλοποίησης των ούρων της ουροδόχου κύστεως (το όξινο pH των ούρων καταστρέφει τα σπερματοζωάρια). Στη συνέχεια ουρεί για να αδειάσει η ουρήθρα του και επαναλαμβάνει τον αυνανισμό.

Η στυτική δυσλειτουργία επηρεάζει φυσικά και την συλλογή του σπέρματος. Σήμερα αντιμετωπίζεται αποτελεσματικά με πολλές μεθόδους μεταξύ άλλων και με τα γνωστά φάρμακα σιλδεναφίλη (Viagra), ταδαλαφίλη (Cialis) και βαρδεναφίλη (Levitra).

Τέλος η παραπληγία – ημιπληγία επειδή προκαλεί προβλήματα στύσης, προκαλεί και προβλήματα στη συλλογή σπέρματος. Στη περίπτωση αυτή η συλλογή σπέρματος γίνεται με ηλεκτρική διέγερση του πέος και τεχνικό αυνανισμό. Οι ασθενείς μπορούν έτσι να προβούν σε εξωσωματική γονιμοποίηση.

Περιβάλλον

Η ποιότητα του σπέρματος επηρεάζεται από το περιβάλλον όπου ζει ο άνδρας. Σαν βασική αρχή ισχύει: η υψηλή θερμοκρασία μειώνει την ποιότητα του σπέρματος και η χαμηλή την αυξάνει. Έτσι η γονιμότητα των ανδρών στην Ελλάδα μειώνεται το καλοκαίρι και αυξάνεται το χειμώνα. Άλλος παράγοντας του περιβάλλοντος που επηρεάζει το σπέρμα είναι η επαφή του άνδρα με τοξικά ή χημικά εκεί που εργάζεται ή ζει.

Τρόπος ζωής

Ο τρόπος ζωής επηρεάζει δραματικά την ποιότητα του σπέρματος ιδιαίτερα το κάπνισμα, ο αλκοολισμός, η παχυσαρκία, η καθιστική εργασία αλλά και η λήψη στεροειδών αναβολικών.

Η χειρουργική συλλογή του σπέρματος

Σήμερα υπάρχει η δυνατότητα συλλογής σπερματοζωαρίων ακόμα και στη περίπτωση που ο άνδρας πάσχει από αζωοσπερμία (το σπέρμα δεν έχει σπερματοζωάρια). Η αζωοσπερμία μπορεί να οφείλεται είτε στην απόφραξη κάποιου σημείου του αναπαραγωγικού συστήματος (αποφρακτική αζωοσπερμία) είτε σε διαταραχή στη σπερματογένεση (μη αποφρακτική αζωοσπερμία). Αν η κλινική εξέταση και το ιστορικό του ασθενούς δεν δείξουν το αίτιο της αζωοσπερμίας τότε την λύση δίνει η βιοψία όρχι. Η βιοψία γίνεται υπό αναισθησία του ασθενούς είτε χειρουργικά με διάνοιξη του οσχέου και τομή του όρχι είτε με παρακέντηση αυτού με πολύ λεπτή βελόνα.

Η θεραπεία στη αζωοσπερμία είναι η εξωσωματική γονιμοποίηση. Τα σπερματοζωάρια που θα απαιτηθούν μπορούν να προέλθουν είτε από τράπεζα σπέρματος, είτε από λήψη ιστού από τον όρχι ή την επιδιδυμίδα.

Αναρρόφηση ορχικού ιστού με λεπτή βελόνη (Testicular Fine Needle Aspiration (TFNA))

Η μέθοδος χρησιμοποιείται για την διάγνωση του αίτιου της αζωοσπερμίας. Γίνεται με τοπική αναισθησία. Ο ορχικός ιστός αναρροφάται με λεπτή βελόνη 21 – 23 gauge ή με ειδικό πιστόλι βιοψίας.



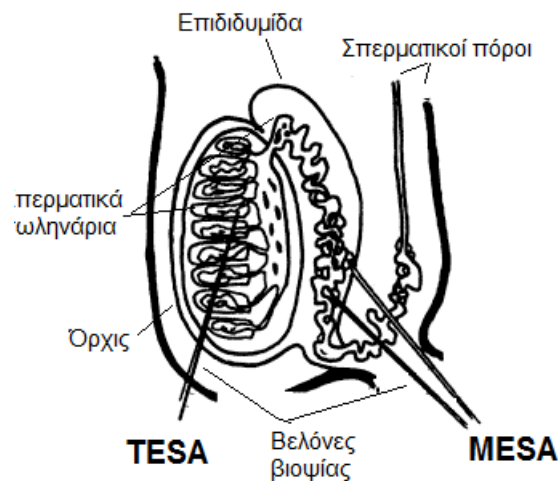
Λήψη ορχικού ιστού με λεπτή βελόνη

Λήψη σπέρματος από τον όρχι (Testicular Sperm Extraction - TESA)

Στην επέμβαση τύπου TESE ο χειρουργός αφαιρεί ένα μικρό τμήμα από τον ιστό του όρχι. Ο δείγμα μεταφέρεται στο εργαστήριο και αφαιρούνται τα σπερματοζωάρια από τα σπερματικά σωληνάρια του ιστού. Ο αριθμός των σπερματοζωαρίων που απομονώνεται είναι μικρός και αποτελείται από ανώριμα σπερματοζωάρια που δεν μπορούν να ψυχθούν. Για τον λόγο αυτό η επέμβαση TESA εκτελείται λίγο πριν την εξωσωματική γονιμοποίηση. Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται κυρίως στις μη αποφρακτικές περιπτώσεις αζωοσπερμίας.

Μικροχειρουργική αναρρόφηση σπέρματος από την επιδιδυμίδα (Microsurgical Epididymal Sperm Aspiration – MESA)

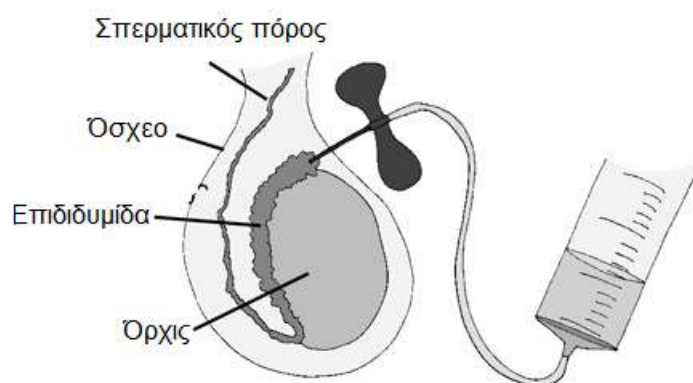
Παρόμοια μέθοδος με την TESA όπου η λήψη σπέρματος γίνεται από την επιδιδυμίδα. Με την μέθοδο MESA συλλέγονται περισσότερα και πιο ώριμα σπερματοζωάρια από την TESA.



Η λήψη σπερματοζωαρίων με τις τεχνικές TESA και MESA

Διαδερμική αναρρόφηση σπέρματος από την επιδιδυμίδα (Percutaneous Epididymal Sperm Aspiration - PESA)

Παρόμοια μέθοδος με την MESA αφού και σε αυτή λαμβάνονται σπερματοζωάρια από την επιδιδυμίδα. Σε αντίθεση με την MESA η λήψη στη PESA δεν απαιτεί χειρουργική επέμβαση αφού γίνεται είτε με σύριγγα είτε με πιστόλι βιοψίας με τοπική μόνο αναισθησία.



Η λήψη σπερματοζωαρίων με σύριγγα κατά την τεχνική PESA

Τράπεζες σπέρματος

Οι τράπεζες σπέρματος συλλέγουν και συντηρούν το σπέρμα προκειμένου αυτό να χρησιμοποιηθεί σε εξωσωματική γονιμοποίηση του ίδιου ή αγνώστου ανδρός. Σήμερα βεβαίως με τις χειρουργικές τεχνικές συλλογής του σπέρματος η κρυοσυντήρηση (ψύξη στους -196°C σε υγρό άζωτο) του σπέρματος δεν έχει σαν στόχο την θεραπεία της αζωοσπερμίας. Αντίθετα χρησιμοποιείται για την αντιμετώπιση συγκεκριμένων παθολογικών καταστάσεων που αφορούν τον ίδιο τον δότη («αυτόλογη λήψη»). Τέτοιες είναι:

- Ο δότης θα απουσιάζει την ημέρα που θα γίνει η εξωσωματική γονιμοποίηση σε ταξίδι.
- Ο δότης εργάζεται σε περιβάλλον που βλάπτει το σπέρμα. Π.χ. στη βιομηχανική παραγωγή όπου έρχεται σε επαφή με υψηλές θερμοκρασίες ή τοξικά.
- Ο δότης επρόκειτο να υποστεί θεραπεία για τον καρκίνο των όρχεων.
- Ο δότης πρόκειται να χειρουργηθεί στους όρχεις ή στο προστάτη.
- Ο δότης πρόκειται να κάνει χρήση απαγορευμένων ουσιών (αναβολικά, ναρκωτικά).

Η λήψη σπέρματος από άγνωστο άνδρα («ετερόλογη λήψη») από μία τράπεζα σπέρματος συνίσταται όταν ο λήπτης πάσχει από κάποια κληρονομική ασθένεια. Σε αυτή την περίπτωση κρατείται πλήρη ανωνυμία του δότη. Στο ζευγάρι γνωστοποιούνται μόνο τα σωματομετρικά χαρακτηριστικά του δότη (βάρος, ύψος, χρώμα, μαλλιών κ.α.). Επιλέγεται φυσικά σπέρμα από δότη που μοιάζει όσο τον δυνατόν με τον υποψήφιο πατέρα.

Τα δείγματα σπέρματος πριν χορηγηθούν υπόκεινται σε ιολογικό έλεγχο για τους ιούς του AIDS, ηπατίτιδων Β και C και σύφιλης όπως άλλωστε γίνεται και σε κάθε μετάγγιση. Ο έλεγχος επαναλαμβάνεται μετά από έξι μήνες και βγουν πάλι αρνητικά τα αποτελέσματα το δείγμα χρησιμοποιείται στην εξωσωματική γονιμοποίηση.



Κατάψυξη υγρού αζώτου για την συντήρηση του σπέρματος

Συνθήκες συντήρησης του σπέρματος

Αμέσως μετά την λήψη του δείγματος θα πρέπει το δείγμα να τοποθετηθεί σε επωαστικό κλίβανο στους 37° C. Εκεί θα παραμείνει για τουλάχιστον 20 λεπτά πριν την πρώτη μέτρηση της κινητικότητας των σπερματοζωαρίων. Στην περίπτωση που το δείγμα έχει συλλεχτεί σε χώρο εκτός του εργαστηρίου, π.χ. στο σπίτι του εξεταζόμενου, τότε αυτό θα πρέπει να μεταφερθεί στο εργαστήριο σε θερμοκρασία 37° C. Για τον λόγο αυτό το χειμώνα προτείνεται το δείγμα να τοποθετείται μέσα από το μπουφάν και να μεταφέρεται έτσι στο εργαστήριο στη θερμοκρασία του σώματος.

Διαχωρισμός δείγματος

Πολλές φορές μαζί με το σπερμοδιάγραμμα ο ιατρός ζητεί από τον άνδρα να κάνει και άλλες εξετάσεις π.χ. καλλιέργεια σπέρματος, μοριακό έλεγχο κ.α. Σε αυτή την περίπτωση ο άνδρας δίνει μόνο ένα δείγμα και το εργαστήριο διαχωρίζει αυτό σε δύο ή περισσότερα μέρη αμέσως μετά την μέτρηση του όγκου του.

Ταυτοποίηση δείγματος

Αμέσως μετά την λήψη του δείγματος σημειώνονται στην καρτέλα του ασθενούς:

1. Δημογραφικά στοιχεία (ονοματεπώνυμο, τηλέφωνο, κλινική, ιατρός κ.α.).
2. Η ακριβής ώρα λήψης του δείγματος.
3. Οι ημέρες της αποχής.
4. Αν έχει γίνει ολική λήψη ή έχει χαθεί μέρος του δείγματος.

Το δείγμα αριθμείται και τοποθετείται στον επωαστικό κλίβανο στους 37°C υπό συνεχή ανάδευση.

Πίνακας 1 **Οι παράμετροι της βασικής ανάλυσης σπέρματος**

1. pH
2. Όγκος
3. Χροιά
4. Οσμή
5. Ρευστότητα

6. Γλοιότητα
7. Κινητικότητα σπερματοζωαρίων
8. Προσδιορισμός συσσωματωμάτων και συσσωρεύσεων σπερματοζωαρίων.
9. Συγκέντρωση και αριθμός σπερματοζωαρίων
10. Ζωτικότητα σπερματοζωαρίων
11. Μέτρηση πυοσφαιρίων
12. Μέτρηση μικροβίων, επιθηλιακών κυττάρων, ερυθρών

Οι συνθήκες εκτέλεσης του σπερμοδιαγράμματος

Όλοι οι προσδιορισμοί της ανάλυσης σπέρματος πρέπει να εκτελούνται γρήγορα και συγκεκριμένα μέσα σε μία ώρα. Ο λόγος είναι ότι το δείγμα σπέρματος αλλοιώνεται γρήγορα και οι τιμές αναφοράς των διαφόρων παραμέτρων του σπέρματος ισχύουν μόνο για την πρώτη ώρα. Φυσικά τα χρωσμένα παρασκευάσματα που χρησιμοποιούνται για το προσδιορισμό της ζωτικότητας και της μορφολογίας μπορούν να μελετηθούν οποιαδήποτε στιγμή.

Η πλέον επείγουσα εξέταση του σπερμοδιαγράμματος είναι το pH όπως άλλωστε συμβαίνει με όλα τα βιολογικά υγρά. Αρχικά το pH του σπέρματος αυξάνει και γίνεται όλο και πιο αλκαλικό. Στη συνέχεια όμως αρχίζει και ελαττώνεται.

Καθόλη την διάρκεια εκτέλεσης του σπερμοδιαγράμματος το δείγμα πρέπει να βρίσκεται στους 37° C. Για τον λόγο αυτό βρίσκεται πάντα μέσα σε επωαστικό κλίβανο. Καλό είναι να αναδεύεται διαρκώς και γι' αυτό μέσα στον επωαστικό κλίβανο τοποθετείται αναδευτήρας δοχείων. Η συνεχή ανάδευση αποτρέπει την συγκόλληση των υγιών σπερματοζωαρίων πάνω στα τοιχώματα του ουροδοχείου και κρατά το δείγμα ομοιογενές.

Πίνακας 2

Οι παράμετροι της βασικής ανάλυσης σπέρματος και οι τιμές αναφοράς τους μέσα στη πρώτη ώρα από την λήψη του δείγματος

Παράμετρος	Τιμές αναφοράς
pH	> 7,2
Όψη	Ημιδιαφανής
Χροιά	Φαίον ιριδίζον
Όγκος	2 – 5 ml
Οσμή	Ιδιάζουσα
Γλοιότητα	Μηδενική μετά από 15 min

Ρευστοποίηση	15 - 60 min
Κινητικότητα σπερματοζωαρίων	≥ 50 % έχουν προωθητική κίνηση ή ≥ 25 % έχουν ζωνή προωθητική κίνηση
Ερυθρά	0 – 5 κ.ο.π.
Μικροοργανισμοί	Όχι
Συγκολλήσεις - συσσωρεύσεις	Όχι
Ζωτικότητα	≥ 75 % ζωντανά σπερματοζωάρια
Συγκέντρωση σπερματοζωαρίων	≥ 20.000.000 / ml
Αριθμός σπερματοζωαρίων	≥ 40.000.000 / εκσπερμάτιση
Μορφολογία σπερματοζωαρίων	≥ 14 % τυπικές μορφές
Δείκτης Τερατοσπερμίας (TZI)	< 1,60
Στρογγυλά κύτταρα	< 5.000.000 / ml
Πυοσφαίρια	< 1.000.000 / ml

Πίνακας 3

Οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για την βασική ανάλυση σπέρματος

Παράμετρος	Τιμές αναφοράς
pH	Πεχαμετρικό χαρτί, πεχάμετρο
Όψη	Οπτική παρατήρηση
Χροιά	Οπτική παρατήρηση
Όγκος	Πλαστική ογκομετρική πιπέττα
Οσμή	Παρατήρηση
Γλοιότητα	Οπτική παρατήρηση με πλαστική πιπέττα Pasteur
Ρευστοποίηση	Μικροσκόπηση σε αντίθεση φάσης με μεγέθυνση 40X
Κινητικότητα σπερματοζωαρίων	Μικροσκόπηση σε αντίθεση φάσης, με θερμαινόμενη τράπεζα, μεγέθυνση 40X και πλέγμα στο προσοφθάλμιο σύστημα.
Ερυθρά	>>

Μικροοργανισμοί	>>
Συγκολλήσεις - συσσωρεύσεις	Ανοσολογική μέθοδος και μικροσκόπηση σε αντίθεση φάσης με μεγέθυνση 40X.
Ζωτικότητα	Χρώση Νιγκροσίνης – Εωσίνης και μικροσκόπηση με μεγέθυνση 40X ή 100X.
Συγκέντρωση σπερματοζωαρίων	Συντήρηση σε διάλυμα φορμαλδεΐδης – όξινου ανθρακικού νατρίου και μικροσκόπηση σε 40X σε πλάκα Neubauer.
Αριθμός σπερματοζωαρίων	>>
Μορφολογία σπερματοζωαρίων	Χρώση Παπανικολάου και μικροσκόπηση με μεγέθυνση 40X.
Δείκτης Τερατοσπερμίας (TZI)	Υπολογίζεται από μαθηματικό τύπο
Στρογγυλά κύτταρα	Χρώση Παπανικολάου και μικροσκόπηση με μεγέθυνση 40X και μέτρηση με μαθηματικό τύπο. Εναλλακτικά μπορούν να μετρηθούν σε πλάκα Neubauer με μικροσκόπηση αντίθεσης φάσης με μεγέθυνση 40X.
Πυοσφαίρια	Χρώση υπεροξειδάσης – ορθοτολουιδίνης και μικροσκόπηση με μεγέθυνση 40X.

Βιβλιογραφία

1. Heineman M, Manual on Basic Semen Analysis, ESHRE monographs, 2002.
2. Kruger T, Franken D, Atlas of Human Sperm Morphology Evaluation, Taylor & Francis, London 2004.
3. Rajasingham S. Jeyendran, Protocols for Semen Analysis in Human in Clinical Diagnosis, Taylor & Francis, London 2002.
4. Comhaire F, Hargreave T, WHO Manual for the Standardized Investigation, Diagnosis and Management of the Infertile Male, Cambridge University Press, 2000.
5. Schlegel PN, Berkeley AS, Goldstein M, Cohen J, et al. Epididymal micropuncture with in vitro fertilization and oocyte micromanipulation for the treatment of unreconstructable obstructive azoospermia. *Fertil Steril* 61(5):895-901, 1994.
6. Schlegel PN, Palermo GD, Alikani M, et al. Micropuncture retrieval of epididymal sperm with in vitro fertilization: importance of in vitro micromanipulation techniques. *Urology* 46:238-241, 1995.
7. Schlegel PN, Palermo GD, Goldstein M, Menendez S, Zaninovic N, Veeck LL, Rosenwaks Z: Testicular sperm extraction with ICSI for non-obstructive azoospermia. *Urology*, 49:435-440, 1997