

Esame del liquido seminale: cosa “pretendere” dalla refertazione nella quotidiana pratica clinica

Data la rilevanza medico legale dell'esame seminale, il referto dello spermioγραμμα deve essere standardizzato e deve riportare alcune delle indicazioni raccolte nella *fase pre-analitica e tutti i parametri valutati nella fase analitica*. Il referto seminale deve essere stilato secondo una modalità di refertazione standardizzata, di chiara ed univoca interpretazione e può prevedere osservazioni ma non giudizi clinici sulla potenziale fertilità del paziente.

Per una corretta esecuzione laboratoristica dell'esame del liquido seminale è fondamentale standardizzare precise norme di raccolta e di consegna del campione al fine di evitare errori che potrebbero alterare i dati della fase analitica.

FASE PRE-ANALITICA

Giorni di astinenza. Si suggeriscono due possibilità: la prima più ampia di 2- 7 giorni, la seconda più stretta di 3 – 5 giorni, meno soggetta a variazioni casuali.

Modalità di raccolta. L'unica modalità di raccolta accettabile è la masturbazione, cercando di non perdere nessuna frazione dell'eiaculato, in un contenitore sterile per urine. Qualsiasi modifica a tale norma deve essere riportata nelle osservazioni del referto in quanto potrebbe essere causa di alterazione delle caratteristiche seminali

Modalità di trasporto e consegna. È necessario che il campione sia consegnato entro 30-60 minuti dalla raccolta, protetto dalle eccessive escursioni termiche. In caso contrario il campione non può essere valutato per l'analisi. Non è necessario inserirlo nella refertazione ma è importante non accettare campioni trasportati in condizioni non idonee.

FASE ANALITICA

Valutazione Macroscopica

Volume – Il volume dell'eiaculato si misura in millilitri. ***pH*** - deriva dal bilanciamento delle secrezioni prostatiche acide e delle vescicole seminali alcaline ed è misurato utilizzando cartine al tornasole con un range compreso fra 6 e 8. ***Aspetto*** - L'aspetto fisiologico del seme è avorio opalescente, altrimenti può risultare: *acquoso* se la componente cellulare è molto scarsa; *ematico* in caso di presenza di emazie; *lattescente* se costituito solo da secreto prostatico; *pioide* in caso di piospermia; *giallastro* in presenza di pigmenti di origine ematica o batterica o in seguito ad assunzione di farmaci. ***Fluidificazione***- Se la fluidificazione è avvenuta nella sua completezza viene definita *fisiologica* (completa o normale); è classificata come *irregolare*, se permangono coaguli o filamenti più o meno grossolani, spesso indice di infiammazioni o *finemente irregolare*. ***Viscosità*** - La viscosità viene definita normale se le gocce del campione seminale da una pipetta

si staccano una dopo l'altra in maniera ritmica e sequenziale. E' considerata aumentata se le gocce sono sostituite da un unico filamento, e diminuita se le gocce si staccano più rapidamente

Valutazione Microscopica

Numero di spermatozoi. La concentrazione dei nemaspermi viene valutata sia per mL che per eiaculato, moltiplicando la concentrazione degli spermatozoi per volume totale di liquido seminale.

Azoospermia. Il termine di azoospermia indica assenza di spermatozoi nell'eiaculato e per definire un liquido seminale azoospermico è indispensabile eseguire l'analisi di tutto il sedimento dopo centrifugazione del campione seminale.

Motilità' nemaspermica. *Motilità Progressiva*- lo spermatozoo si muove attivamente, in modo lineare o non lineare indipendentemente dalla velocità; *Motilità Non-Progressiva*- lo spermatozoo non è in grado di progredire nello spazio rimanendo in situ; *Immobilità*- nessun movimento. Nel referto va indicata la motilità progressiva e la motilità totale (progressiva + non progressiva) mentre il resto a 100 indica la percentuale di spermatozoi immobili. E' importante ricordare che la sola descrizione quantitativa non ha significato prognostico ai fini della fertilità dell'individuo, pertanto la motilità deve essere sempre definita sul piano qualitativo. Nei campioni seminali con motilità progressiva inferiore al 40% è necessario eseguire il Test di Vitalità nemaspermica che deve essere indicato nel referto.

Morfologia. La morfologia nemaspermica viene valutata su un preparato a fresco e su un preparato fissato e colorato. Nel referto va indicata la percentuale di spermatozoi tipici (o nella norma) e atipici (o anormali), specificando le atipie più frequenti. E' necessario a questo scopo una notevole esperienza seminologica e la disponibilità di un apparato microscopico con un sistema ottico di elevata qualità che consenta una precisa rilevazione dell'assetto morfologico delle cellule. Inoltre, lo studio della morfologia nemaspermica si esegue su strisci fissati e colorati; il preparato viene osservato con un obiettivo a 100X in immersione e vengono distinte le forme tipiche dalle forme atipiche. Le colorazioni più utilizzate sono May-Grünwald-Giemsa e Papanicolau.

Leucociti. vengono valutati in milioni/ml,

Emazie. Se presenti sono sintomo di microemorragie o di patologie flogistiche.

Elementi della linea germinativa. Sono sempre presenti nell'eiaculato e sono rappresentati prevalentemente da: spermatociti e spermatidi, più raramente spermatogoni. Vengono indicate nel referto come rare, presenti o numerose

Cellule epiteliali di sfaldamento. Derivano dall'apparato genito-urinario e possono presentarsi o isolate o in piccoli ammassi, vengono indicate come rare, presenti o numerose.

Zone di spermioagglutinazione. Possono essere suggestive di risposta autoimmune antispermatozoo. Vengono valutate a fresco ed indicate come rare, presenti o numerose.

Corpuscoli prostatici. Sono rappresentati da materiale non cellulare proveniente dalla prostata.

*Infine nel referto dello spermioγραμμα devono essere sempre riportati i valori di riferimento, in particolare, ad oggi vengono utilizzati quelli indicati dalla ultima edizione del Manuale WHO (2010) **Tabella 1**. Tali valori derivano da una selezione diretta e retrospettiva di uomini fertili cioè uomini le cui partner hanno concepito entro 12 mesi dalla sospensione di metodi contraccettivi e ottenuti da laboratori di 8 Paesi e 3 Continenti, che hanno utilizzato protocolli standardizzati.*

Parametri (unità)	N	Percentile								
		2.5	5	10	25	50	75	90	95	97.5
Volume (ml)	1941	1.2	1.5	2.0	2.7	3.7	4.8	6.0	6.8	7.6
Numero spermatozoi/eiaculato (10 ⁶ /eiaculato)	1859	23	39	69	142	255	422	647	802	928
Numero spermatozoi/ml (10 ⁶ /ml)	1859	9	15	22	41	73	116	169	213	259
Motilità totale (PR + NP, %)	1781	34	40	45	53	61	69	75	78	81
Motilità progressiva (PR, %)	1780	28	32	39	47	55	62	69	72	75
Motilità non progressiva (NP, %)	1778	1	1	2	3	5	9	15	18	22
Spermatozoi immobili (IM, %)	1863	19	22	25	31	39	46	54	59	65
Vitalità (%)	428	53	58	64	72	79	84	88	91	92
Forme normali (%)	1851	3	4	5.5	9	15	24.5	36	44	48

Tabella 1 valori di riferimento del manuale WHO 2010, quinta edizione (a cura della Società Italiana di Andrologia e Medicina della Sessualità - SIAMS)

Nell'edizione del WHO 2010 vengono utilizzati come valori di riferimento i percentili in quanto i parametri seminali non seguono una distribuzione gaussiana normale ma seguono una curva asimmetrica a sinistra o a destra. Il 5° percentile è dato come limite inferiore di riferimento, limite al quale un individuo può essere ancora potenzialmente fertile anche se con probabilità ridotte. Tali valori devono essere considerati come valori minimi di potenzialità fecondante per vie naturali e non valori di normalità. Per un inquadramento clinico dell'esame seminale è importante considerare anche il 50° ed il 95° percentile perché ciò consentirà all'andrologo di avere una visione della potenzialità fecondante più probabile del paziente.

Cosa deve essere riportato nel referto dello spermioγραμμα?

Campione consegnato.....

Luogo e data.....

Data di nascita.....

Inviato da.....

Giorni di astinenza.....

Aspetti macroscopici

pH

Volume

Aspetto

Viscosità

Fluidificazione

Aspetti microscopici

Concentrazione spermatozoi: *Numero/ml*.....

Concentrazione /eiaculato.....

Motilità: *Motilità progressiva*.....

Motilità totale.....

Morfologia: *Tipici*

Atipici.....

Leucociti/ml (*vr* < 1.000.000/ml).....

Emazie.....

Elementi linea spermatogenetica.....

Zone di spermioagglutinazione.....

Cellule di sfaldamento.....

Corpuscoli prostatici.....

TEST DI VITALITA' ALL'EOSINA- Percentuale di spermatozoi vitali:

Valori di riferimento: WHO 2010							
	Volume	Numero / ml	Conc. / eiaculato	Motilità progressiva	Motilità totale	Forme tipiche	Test di vitalità
<i>v.r. 5° percentile</i>	1.5 ml	15 x 10 ⁶	39 x 10 ⁶	32%	40%	4%	58%
<i>v.r. 50° percentile</i>	3.7 ml	73 x 10 ⁶	255 x 10 ⁶	55%	61%	15%	79%
<i>v.r. 95° percentile</i>	6.8 ml	213 x 10 ⁶	802 x 10 ⁶	72%	78%	44%	91%

Il Responsabile del laboratorio

Il Seminologo

BIBLIOGRAFIA

1. Cooper TG, Hellenkemper B, Jonckheere J, Callewaert N, Grootenhuis AJ, Kersemaekers WM, Leung A, Wang C. *Azoospermia: virtual reality or possible to quantify?* *J Androl.* 2006; 27(4):483-90.
2. Gandini L, Menditto A, Chiodo F, Lenzi A. *Italian pilot study for an external quality control scheme in semen analysis and antisperm antibodies detection.* *Int. J. Androl.* 2000; 23:1.
3. Gandini L., Lombardo F. Paoli D., Lenzi A. *Diagnostica per immagini dello spermatozoo umano.* Carocci Editore, 2010.
4. Lenzi A. *Computer-aided semen analysis (CASA) 10 years after: a test-bed for the European scientific andrological community.* *Int. J Andrology,* 1997; 20:1.
5. *WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen, Fifth Edition,* Geneva, Switzerland, 2010

Autore: Donatella Paoli, Marianna Pelloni, Tania Carlini (Roma)

Commissione Linee Guida SIAMS: Elisa Giannetta (Roma), Sandro La Vignera (Catania), Sara Marchiani (Firenze), Pier Francesco Palego (Padova)