



*L'esame seminale:
Come farlo? Dove farlo?
Come leggerlo?*

Luciano Negri

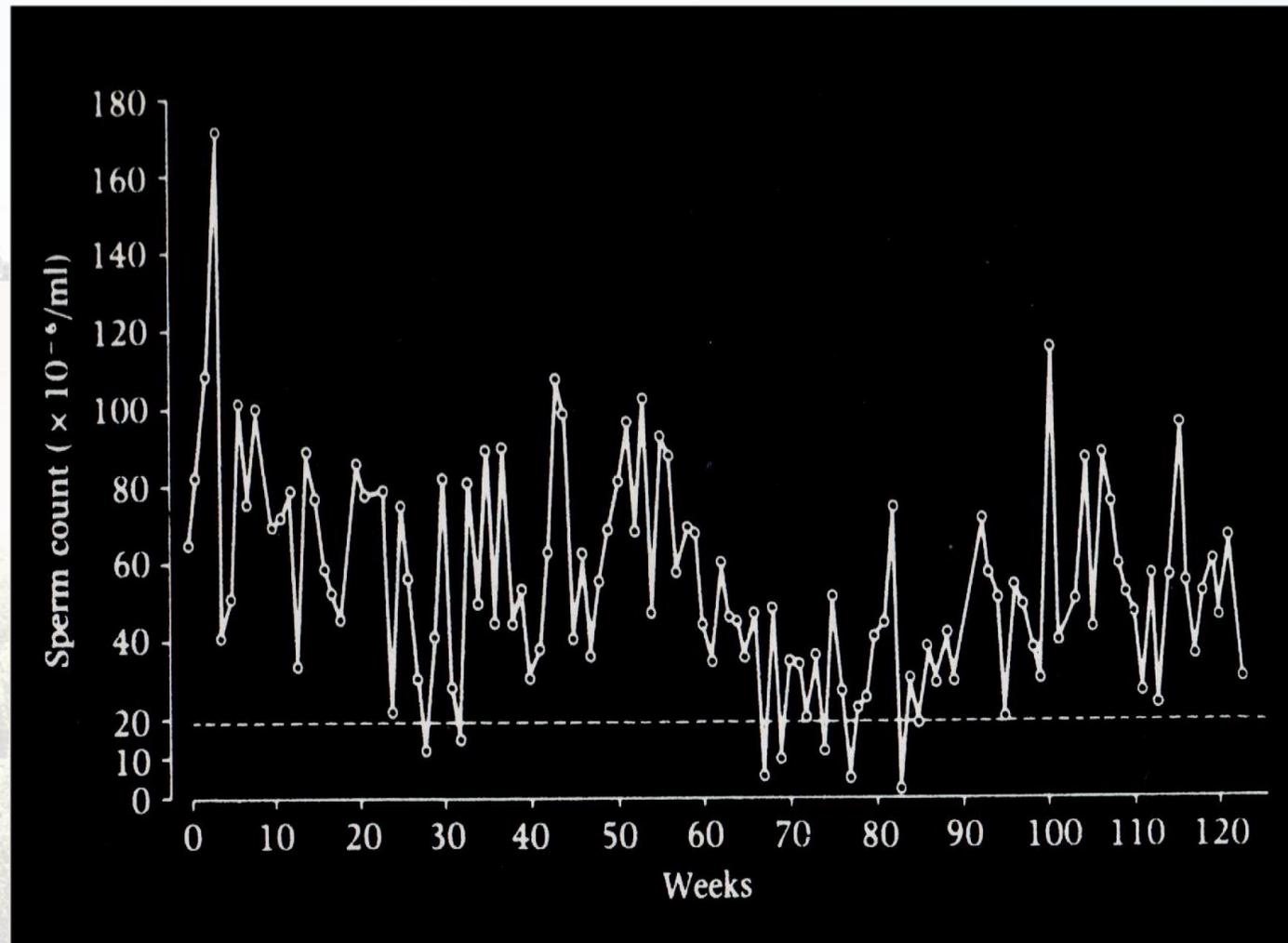
*Humanitas Research Hospital, Dept. of Gynecology,
Division of Gynecology and Reproductive Medicine,
Rozzano (Milan), Italy*

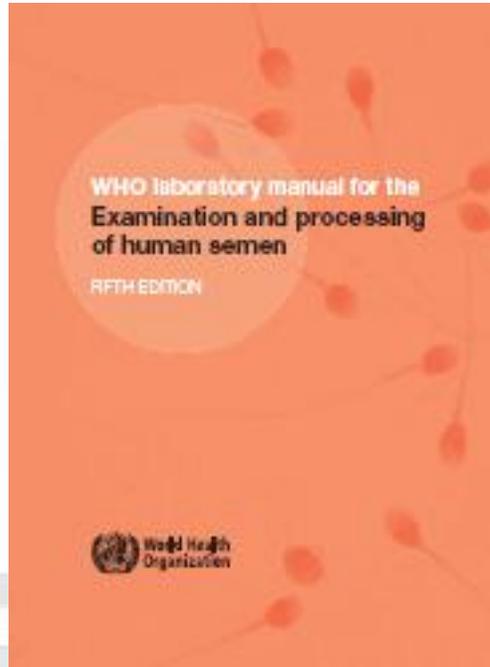


Lo spermogramma deve essere eseguito secondo i criteri del Manuale WHO 2010.

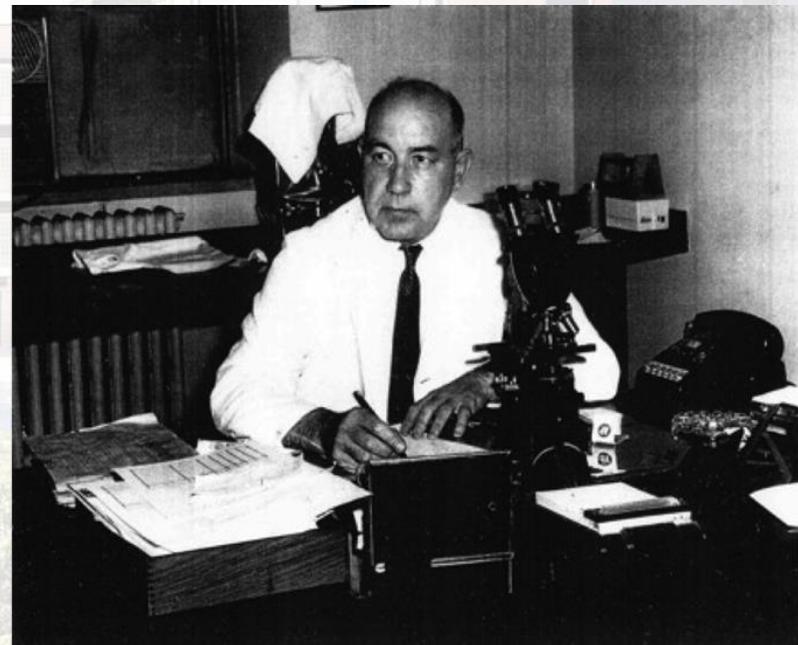
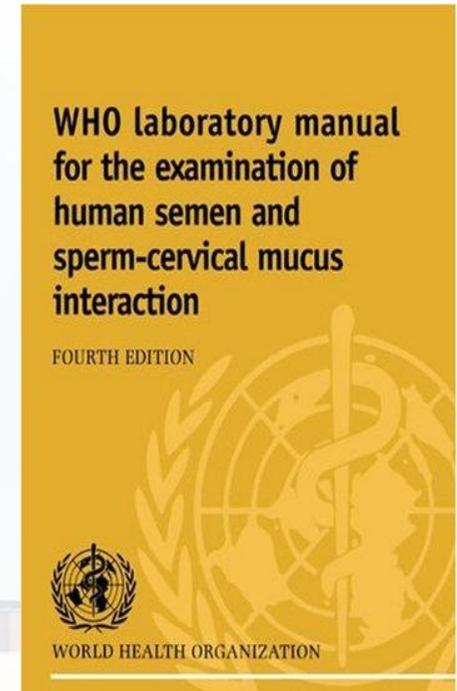
I metodi descritti in questo manuale hanno l'intento di linee guida per migliorare la qualità dell'analisi del liquido seminale e la comparabilità dei risultati

Data l'ampia variabilità dei parametri seminali (stagionalità, scarsa eccitazione, febbre, saune, farmaci, stress elevato), il paziente DEVE eseguire due esami, distanziati di 1-3 mesi





Il Manuale WHO 2010 ha introdotto sostanziali modifiche rispetto ai criteri di interpretazione usati a partire dal 1953



John McLeod, 1953

Nel 2010 (5a Edizione) avviene un svolta epocale:

Table 1. Cutoff reference values for semen characteristics as published in consecutive WHO manuals

Semen Characteristics	WHO 1980	WHO 1987	WHO 1992	WHO 1999	WHO 2010*
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 [†] (%)	$\geq 2^{\dagger}$	≥ 25	≥ 25 (grade a)	$\geq 25\%$ (grade a)	32 (grade a + b)
Vitality (% alive)	ND	≥ 50	≥ 75	≥ 75	58
Morphology (% normal forms)	80.5	≥ 50	$\geq 30^{\S}$	14 [¶]	4
Leukocyte count (10^6 /mL)	<4.7	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0

- Introduzione il concetto di normalità in centili
- Unificazione delle prime due classi di motilità
- Drastico abbassamento del valore di normalità della morfologia (→30 →14% →4%)
- Conta spermatica totale invariata

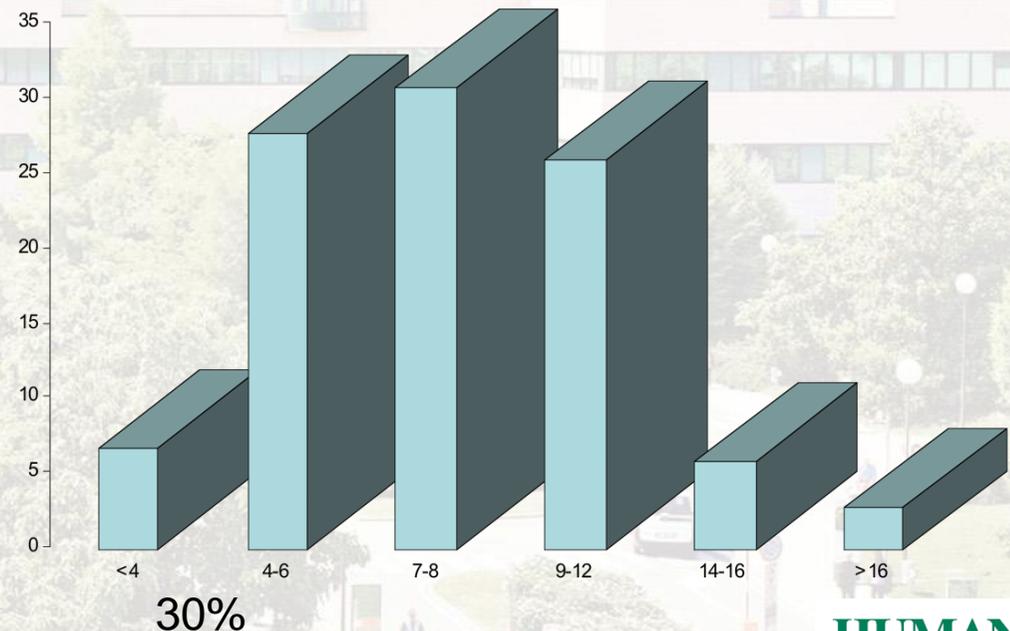
ATTENDIBILITA' DELLO SPERMIOGRAMMA

Lo spermogramma è letto da un Biologo ➤ soggettività e competenza

Si esige assoluta attendibilità: se ridotta qualità seminale ➤ allungamento del TEMPO per ottenere la gravidanza ➤ scelta terapeutica appropriata

Oggi la variabile «tempo» risulta il nemico più spietato per le coppie in cerca di prole (età femminile sempre più elevata)

Una dispermia “pesa di più” se la moglie non è giovanissima e se la frequenza coitale è ridotta per stanchezza, stress, ansia della riproduzione, ecc.



Concentrazione (x10 ⁶ /ml)	% concepimento	% concepimento
	a 1 anno	a 12 anni
0,1-1	1	8
1-5	1	26
5-10	8	34

Anni '80: tassi di concepimento spontaneo in funzione della concentrazione spermatica (Schoysman, 1994)

Situazione attuale: nel mondo occidentale la maggior parte delle coppie non può permettersi una finestra riproduttiva di 12 anni. L'età media femminile alla prima gravidanza è di 31 anni (ma nelle italiane è maggiore), quella maschile di 35 anni (ISTAT 2017)

ESAME DEL LIQUIDO SEMINALE		Laboratorio Analisi Ospedale di [redacted]	
COGNOME e NOME	data di nascita	CLAUDIO	nato il 25-06-
data dell'esame	luogo raccolta	01-06-2011	c/o Laboratorio
giorni di astinenza	richiesto da	quasi 4 gg	Specialista Andrologo in Med. della Riproduzione
	<i>risultato</i>	<i>u.m.</i>	<i>riferimenti minimi O.M.S. 2010</i>
Esame chimico fisico			
<i>Aspetto</i>	Opalescente		opalescente
<i>Colore</i>	Grigiastro		avorio / giallo - grigiastro
<i>Formazione di coagulo</i>	Assente		presente (se da casa: riferita)
<i>Liquefazione</i>	Già liquefatto		completa
<i>Viscosità</i>	Diminuita		< 2 cm
<i>pH</i>	8.0		≥7.2
Esame quantitativo			
<i>Volume</i>	6.2	ml	≥ 1,5 ml
<i>Concentrazione spermatozoi</i>	9	x 10 ⁶ / ml	≥ 15 x 10 ⁶ / ml
<i>Numero totale spermatozoi nell'eiaculato</i>	55.8	x 10 ⁶	≥ 39 x 10 ⁶ per eiaculato
Motilità a 30' e comunque ≤60'			
<i>Progressiva</i>	rapida + lenta (classe a+b) PR	38 (28%a+10%b)	% ≥ 32%
	n° totale PR nell'eiaculato	21	x 10 ⁶
<i>non Progressiva</i>	(classe c) NP	4	%
Motilità Progressiva+Non Progressiva	PR+NP	42	% ≥ 40%
<i>Immobili</i>	(classe d) IM	58	%
<i>Vitalità a 30' e comunque ≤60'</i>		45	% ≥ 58 %
	n° totale vitali nell'eiaculato	25	x 10 ⁶
<i>SpermMar IgG latex test</i>	(Abs anti-sperma)	Negativo	Negativo: < 50%
Morfologia (si utilizzano i criteri ristretti di Kruger)			
<i>forme normali</i>		14	%
	n° totale normoconformati	7.8	x 10 ⁶
<i>anomalie testa</i>		38	% a punta con acr. ridotto/assente
<i>anomalie tratto intermedio</i>		5	% inserzione
<i>anomalie coda</i>		20	% condensata, arrotolata, mozza
<i>presenza di residuo citoplasmatico</i>		3	%
<i>anomalie miste</i>		20	% testa + coda
Esame microscopico			
<i>Cellule "rotonde"</i>		0.3	x 10 ⁶ / ml < 5 x 10 ⁶ / ml
(leucociti ed elementi immaturi della linea germinale)			
<i>Leucociti</i>		Assenti	x 10 ⁶ / ml < 1 x 10 ⁶ / ml
<i>Emaie (a 250X)</i>		Assenti	assenti
<i>Agglutinati</i>		Assenti	assenti
<i>Trichomonas vaginalis</i>		Assente	assente

Eventuali osservazioni:

Stavro

(dr.ssa S [redacted])

tel. 0 [redacted] it

DOVE FARE LO SPERMIOGRAMMA?

Lo specialista deve identificare uno o più Laboratori di riferimento sulla base della propria esperienza. In generale quelli dei Centri di Infertilità garantiscono uno standard omogeneo. Il personale viene sottoposto a controlli di qualità interni ed organizzati dalle Società Scientifiche.

CODICE PAZIENTE: 30 15624

COGNOME E NOME: A FRANCO

ESAME LIQUIDO SEMINALE

		Valori di riferimento
Data		2 - 7 giorni
Durata dell'astinenza	5 gg	
Ora dell'eiaculazione	09:15	
Ora dell'esame	10:30	
Aspetto	grigio perlaceo	grigio perlaceo
Liquefazione completa	<1 h	<= 1 ora
Coagulo	assente	
Viscosità	< 2 cm	< 2 cm
Volume	7.0 ml	>= 2 ml
PH	7.4	7,2 - 8,0
Concentrazione spermatozoi	20.000.000	> 20.000.000/ml
Numero totale spermatozoi	140.000.000	> 40.000.000
Mobilità:		
a) rapidamente progressiva	30 %	a+b > 50%
b) lentamente progressiva	20 %	oppure a>25%
c) movimenti non progressivi	5 %	
d) immobili	45 %	
morfologia forme normali	76 %	>30%
agglutinazione	assente	assente
tipo di agglutinazione	-	
leucociti	1	< 1 x 10 ⁶ /ml
eritrociti	Assenti	
cellule germinali immature	1	< 5 x 10 ⁶ /ml
flora microbica	Assente	
indice di fertilità	4	5 - 80

CONCLUSIONI: Oligospermia.

Metodo O.M.S.

IL RESPONSABILE


DOVE NON FARE LO SPERMIOGRAMMA!

- Quando dubitare della attendibilità:
- % motilità sono sempre multipli di 5
 - >20% forme normali in assoluto
 - Esame di controllo è fotocopia del 1°
 - Errori nelle conclusioni
 - Manca il nome dell'esecutore
 - Manca dichiarazione della metodica
 - Indici di fertilità obsoleti

Lo spermioγραμμα rimane l'unica indagine semplice, poco costosa e ripetibile, per iniziare ad indagare il fattore maschile di infertilità

Le caratteristiche dello spermioγραμμα devono essere interpretate all'interno del contesto clinico

Volume (ml)

Concentrazione ($\times 10^6/\text{ml}$)

Conta totale ($\times 10^6$)

Motilità totale (%)

Motilità progressiva (%)

Forme normali (%)

Vitalità (%)

Leucociti ($\times 10^6/\text{ml}$)

Concentrazione & Conta totale

Volume eiaculato (ml):	5,0	Volume eiaculato (ml):	0,3
Colore:	Grigio opalescente	Colore:	Grigio opalescente
Viscosità:	Normale	Viscosità:	Aumentata
Odore:	Normale	Odore:	Normale
Numero spermatozoi x eiaculato:	55.000.000	Numero spermatozoi x eiaculato:	9.300.000
Numero spermatozoi x ml:	11.000.000	Numero spermatozoi x ml:	31.000.000
Agglutinati:	<10%	Agglutinati:	<10%
Cellule rotonde x ml:	400.000	Cellule rotonde x ml:	1.200.000

- **OLIGO RELATIVA DA IPERDILUIZIONE**
- costituzionale o da flogosi prostatico-vescicolare
- curare ev.infezione seminale; split ejaculation

- **FALSA NORMOZOOSPERMIA DA OLIGOPOPOSIA**
- eiaculazione parziale, perdita del campione, ostruzione dotti eiaculatori, eiaculazione retrograda, agenesia 1 via seminale, deficit androgenico
- «foglio eiaculazioni» a domicilio; ricerca spz nelle urine; ecografia testicolare e transrettale (CMAVD)

Concentrazione & Conta totale

Volume eiaculato (ml):	2,5
Colore:	Grigio opalescente
Viscosità:	Normale
Odore:	Normale
Numero spermatozoi x eiaculato:	250.000
Numero spermatozoi x ml:	100.000
Agglutinati:	<10%
Cellule rotonde x ml:	200.000

CONTA TOTALE BASSA
CONCENTRAZIONE BASSA

- OLIGOZOOSPERMIA SEVERA: Casuale? Secretoria o Ostruttiva?
- Ripetere spermioγραμμα e dosare FSH, LH, Testosterone totale
- Esame obiettivo & Ecografia scrotale
- Ev. Cariotipo su sangue periferico e Delezioni Y

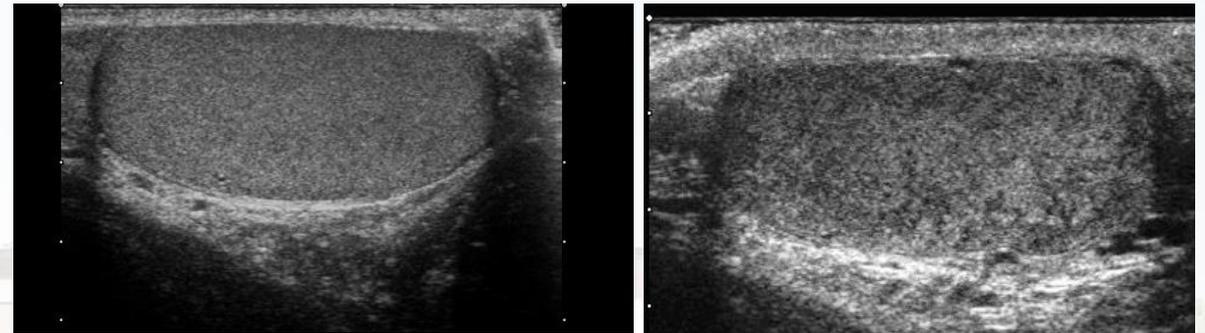
Lo spermioγραμμα conferma oligozoospermia severa

FSH >7.6 mu/ml

Orchidometria <12 ml

Ecopattern gonadico

**Oligozoospermia
secretoria**

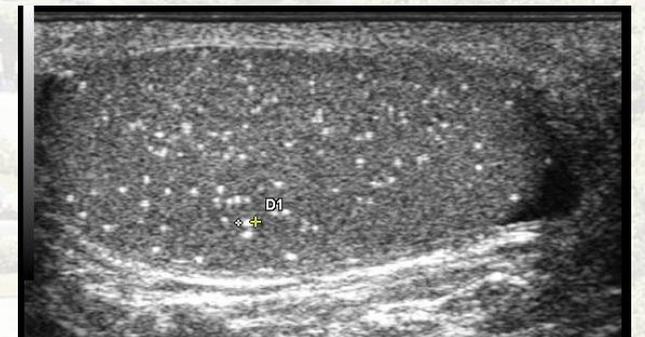


**STOP
(nessuna terapia)**

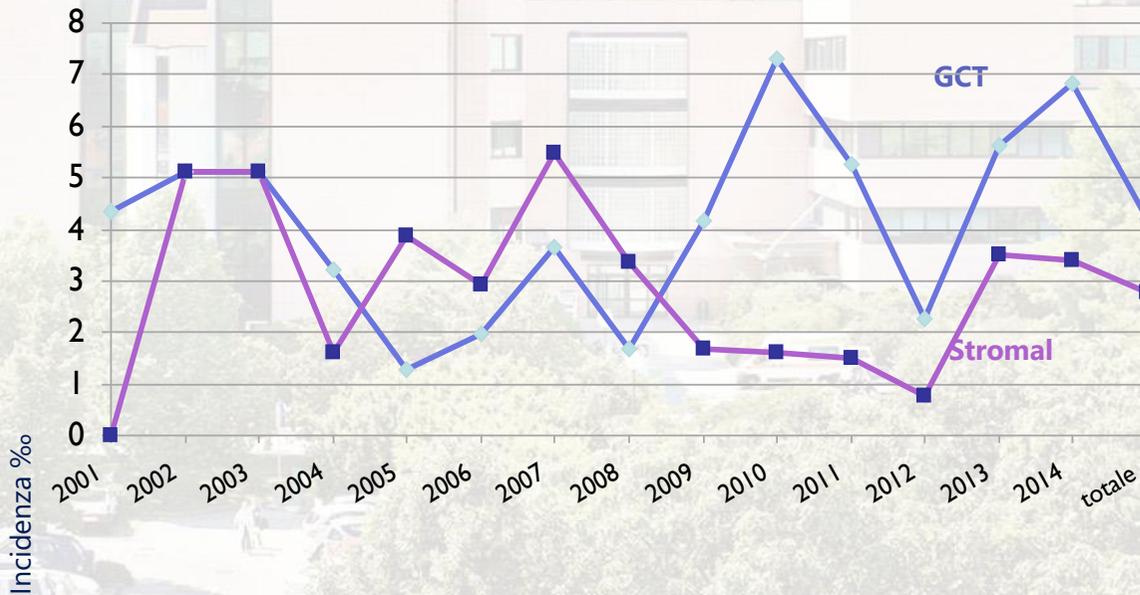
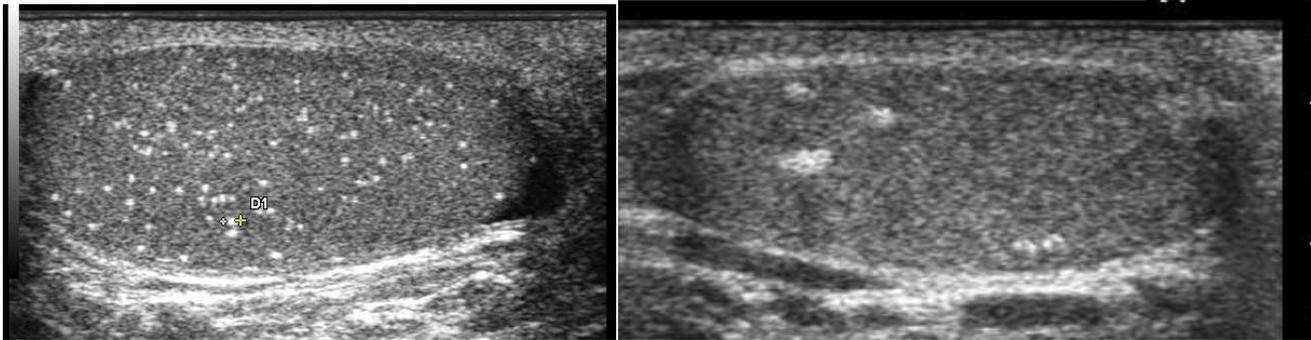
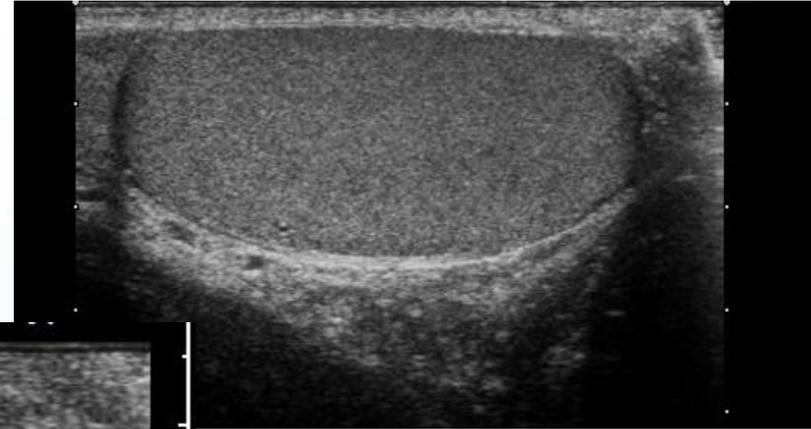
?

Esami genetici

ICSI



Oligospermia & calcificazioni: aumentato rischio di neoplasia testicolare



**Italia 2012: ogni anno 1 caso
di tumore testicolare ogni 11.300
uomini (2664 nuovi casi ogni anno)**

**2002-2014: in media 1 caso
di tumore del testicolo ogni 238
nuovi casi che accedono alla PMA**

$P < 0.0001$ Odds ratio = 26,693
95% CI: 11,077 to 64,323

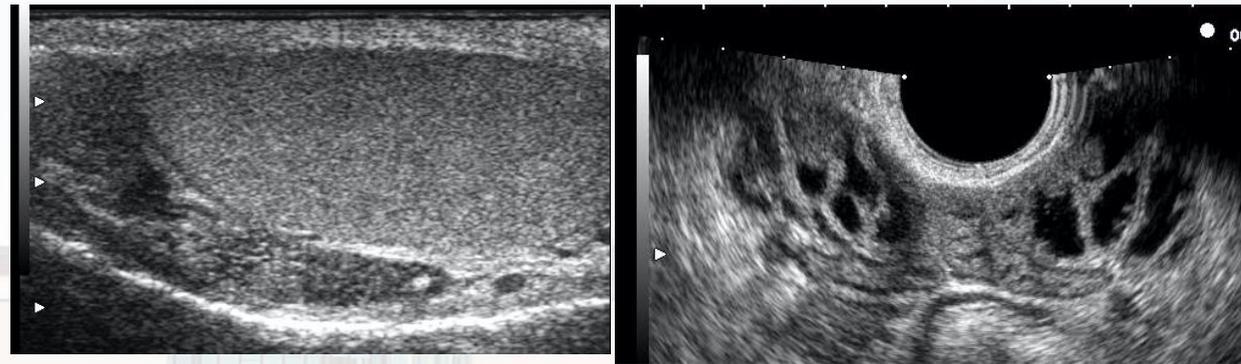
AUTOPALPAZIONE E/O ECOGRAFIA ANNUALE

Lo spermogramma conferma oligozoospermia severa

FSH <7.6 mu/ml

Orchidometria > 12 ml

Ecografia



**Oligozoospermia
ostruttiva**

Se partner giovane

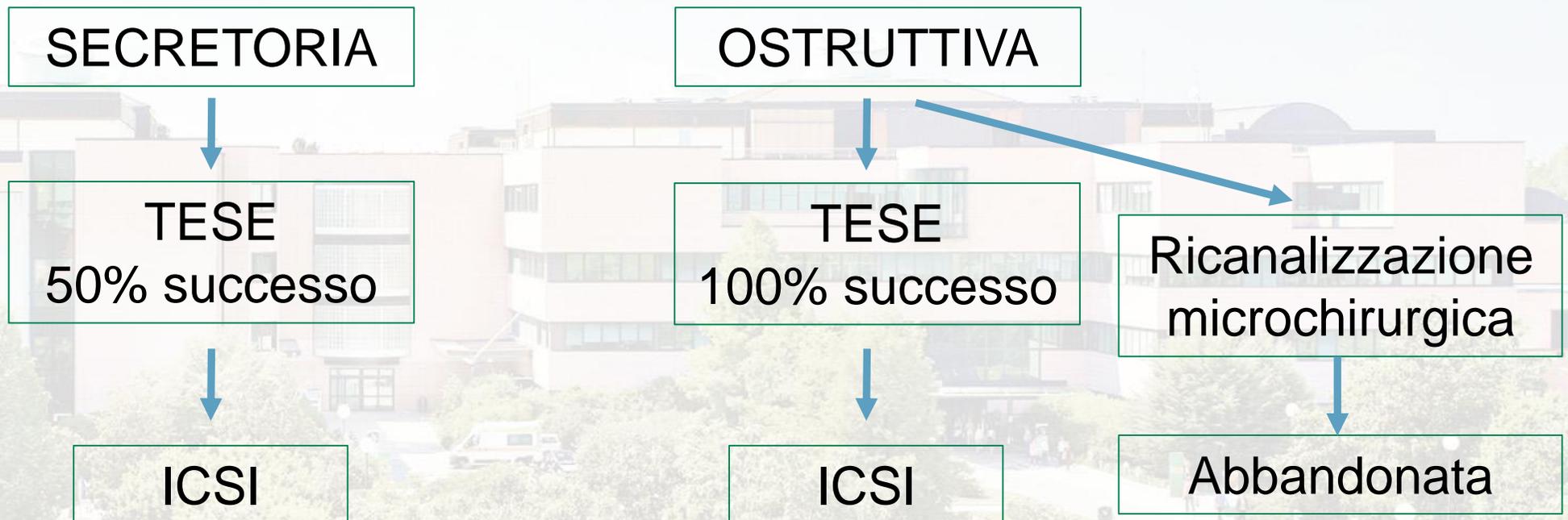
Se partner >33 aa

Terapie empiriche

ICSI

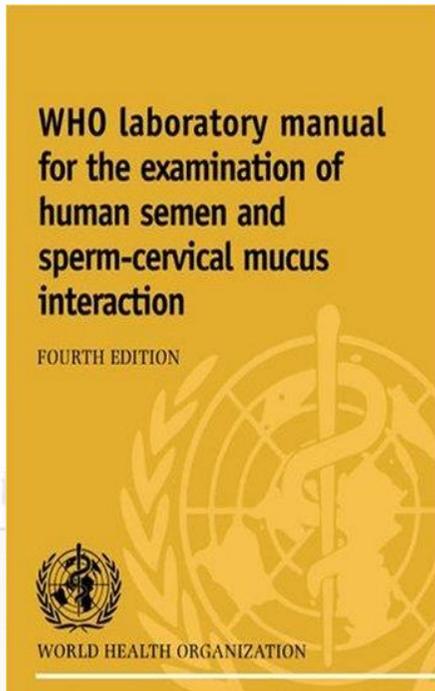
Concentrazione & Conta totale

- **AZOOSPERMIA:** Casuale? Secretoria o Ostruttiva?
- Ripetere spermioγραμμα con analisi su **citocentrifugato**
- Dosare FSH, LH, Testosterone totale
- Esame obiettivo & Ecografia scrotale
- Cariotipo su sangue periferico, Delezioni Y, Mutazioni gene CFTR *

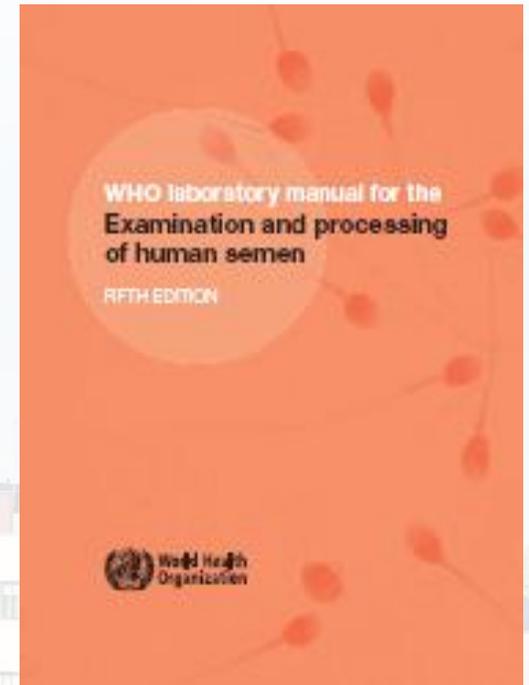


* Se volume < 1 ml e pH <7: agenesia vie seminali. Richiedere mutazioni gene CFTR anche alla partner

Motilità



Rapidamente progressiva	Progressiva
Lentamente progressiva	
Non progressiva	Non progressiva
Immobili	Immobili



unificazione delle prime due classi di motilità

Se l'esaminatore usa ancora il metodo WHO 1999, vanno sommate le 2 motilità progressive (→32%)

Cause di alterata motilità

CORREGGIBILI

- Varicocele
- Infezioni/esiti
- Fumo, alcol, obesità, sedentarietà, S. metabolica, farmaci, dieta, tossici ambientali, notebook
- Ipertermia locale (abbigliamento), bagni caldi, lavori a rischio

NON CORREGGIBILI

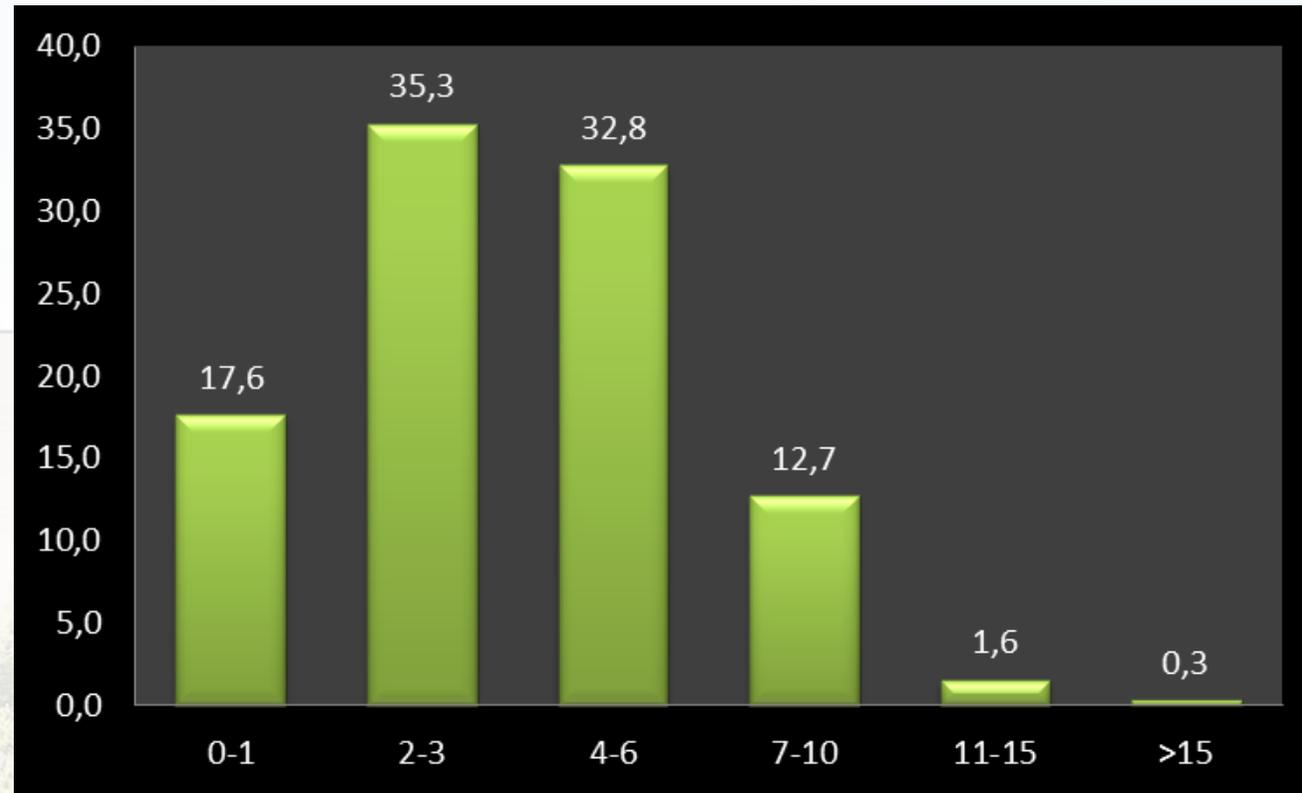
- Anticorpi antispermatozoo *
- Epididimo ostile **
- Alterato svuotamento delle vie seminali distali ***



- * Alloplastica inguinale, idrocelectomia, traumi scrotali, epididimite
- ** Aging (>40 aa), infezioni occulte, microtraumi, dismetabolismi
- *** BPH, ostruzione irreversibile dotti eiaculatori

Morfologia spermatozoaria

- Una elevata percentuale di spermatozoi morfologicamente anomali è un tratto distintivo della nostra specie



Classi di morfologia normale (%) negli ultimi 3.543 esami.
Nel 50% dei casi si trattava di infertilità femminile.

Morfologia spermatozoaria

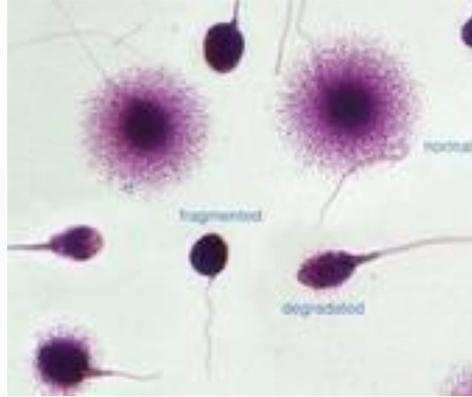
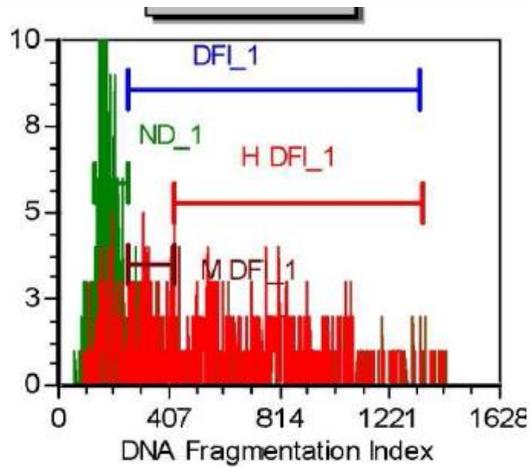
- L'analisi della morfologia richiede grande esperienza e controlli di qualità regolari
- Nella grande maggioranza dei casi si tratta di anomalie della testa

Come risolvere il dubbio?

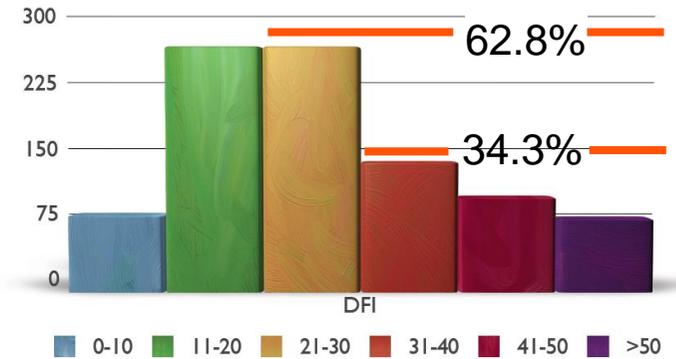
Test di integrità del DNA

Le anomalie della testa sono sempre state associate ad un danno del nucleo

Ma nella pratica clinica capita di osservare gravidanze spontanee con lo 0-1% di forme normali



% frammentazione DNA in 918 pazienti non selezionati



SCSA

SCD

SCSA e SCD sono regolarmente utilizzati nella pratica clinica. Valutano il grado di frammentazione del DNA spermatozoario (DFI), parametro indipendente da quelli seminali classici. Elevatissimo potere predittivo di fertilità spontanea: le probabilità decadono quando DFI raggiunge il 20%, quasi si azzerano quando DFI >30%

2 pazienti su 3 hanno una frammentazione elevata ($\geq 20\%$), 1 su 3 altissima

SCSA

DOVE EFFETTUARE TEST DI FRAMMENTAZIONE DNA SPERMATOZOARIO

SCSA viene eseguito in tre strutture Ospedaliere accreditate con SSN.
In un solo Centro si esegue con copertura del SSN (impegnativa 91.38.4 Indice di frammentazione del DNA spermatozoario, compilabile da Specialista). Costo 100-200 euro

SCD viene eseguita in molti Centri di Infertilità in regime di solvenza (100-200 euro)

COME CORREGGERE IPERFRAMMENTAZIONE DNA SPERMATOZOARIO

Correggere le cause note: varicocele, infezioni, abolire fumo, alcol, farmaci, alimentazione scorretta, fonti di calore e onde EM in sede scrotale.

Assumere Integratori alimentari (funzionano poco se stile di vita ottimale). Essendo antiossidanti rischiano di provocare problemi se il bilancio ossidativo è normale.

Riepilogo

1. Richiedere uno spermioγραμμα fatto con i criteri del WHO 2010
2. I Centri di Infertilità garantiscono una elevata attendibilità
3. Sempre almeno 2 spermiogrammi
4. Ricordarsi degli indicatori di inaffidabilità
5. Non dire mai: «...lei non può avere un figlio»
6. Compilare sempre anamnesi dettagliata (ernioplastica, droghe, MTS, ecc.)
7. Quando si legge lo spermioγραμμα: **ricordarsi sempre dell'età femminile**
8. Se ricerca di prole > 3 anni: c'è un problema molto grave (Ab, DFI, genetica)
9. Se concentrazione <10/10⁶/ml: sempre FSH, LH, testosterone totale
10. Se leucospermia: la spermiocoltura generica non serve (sempre negativa)
11. Se oligozoospermia con FSH>7.6 mU/ml: STOP → ICSI
12. Se azoospermia con FSH >> 7.6 mU/ml: STOP → TESE
13. Se azoospermia con volume seminale < 1 ml e pH <7: FIBROSI CISTICA
14. Se microcalcificazioni testicolari: RISCHIO NEOPLASIA
15. Prescrizione integratori: quando si sospetti stress ossidativo (anamnesi)