

DIN EN ISO 23162

ICS 11.100.01

Einsprüche bis 2020-09-17

Entwurf**Grundlegende Samenanalyse –
Spezifikation und Testmethoden (ISO/DIS 23162:2020);
Deutsche und Englische Fassung prEN ISO 23162:2020**

Basic semen analysis –
Specification and test methods (ISO/DIS 23162:2020);
German and English version prEN ISO 23162:2020

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2020-07-17 wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und Stellungnahme vorgelegt.

Weil die beabsichtigte Norm von der vorliegenden Fassung abweichen kann, ist die Anwendung dieses Entwurfs besonders zu vereinbaren.

Stellungnahmen werden erbeten

- vorzugsweise online im Norm-Entwurfs-Portal von DIN unter www.din.de/go/entwuerfe bzw. für Norm-Entwürfe der DKE auch im Norm-Entwurfs-Portal der DKE unter www.entwuerfe.normenbibliothek.de, sofern dort wiedergegeben;
- oder als Datei per E-Mail an named@din.de möglichst in Form einer Tabelle. Die Vorlage dieser Tabelle kann im Internet unter www.din.de/go/stellungnahmen-norm-entwuerfe oder für Stellungnahmen zu Norm-Entwürfen der DKE unter www.dke.de/stellungnahme abgerufen werden;
- oder in Papierform an den DIN-Normenausschuss Medizin (NAMed), 10772 Berlin oder Saatwinkler Damm 42/43, 13627 Berlin.

Die Empfänger dieses Norm-Entwurfs werden gebeten, mit ihren Kommentaren jegliche relevanten Patentrechte, die sie kennen, mitzuteilen und unterstützende Dokumentationen zur Verfügung zu stellen.

Gesamtumfang 74 Seiten

DIN-Normenausschuss Medizin (NAMed)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 23162:2020) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 212 „Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 140 „In-vitro-Diagnostik“ erarbeitet, dessen Sekretariat von DIN (Deutschland) gehalten wird.

Das zuständige deutsche Normungsgremium ist der Arbeitsausschuss NA 063-03-03 AA „Qualitätsmanagement in medizinischen Laboratorien“ im DIN-Normenausschuss Medizin (NAMed).

Um Zweifelsfälle in der Übersetzung auszuschließen, ist die englische Originalfassung beigelegt. Die Nutzungsbedingungen für den deutschen Text des Norm-Entwurfes gelten gleichermaßen auch für den englischen Text.

Aktuelle Informationen zu diesem Dokument können über die Internetseiten von DIN (www.din.de) durch eine Suche nach der Dokumentennummer aufgerufen werden.

Titel de: Grundlegende Samenanalyse — Spezifikation und Testmethoden
(ISO/DIS 23162:2020)

Titel en: Basic semen examination — Specification and test methods
(ISO/DIS 23162:2020)

Titel fr:

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	4
Vorwort	5
Einleitung	6
1 Anwendungsbereich	7
2 Normative Verweisungen	7
3 Begriffe	7
4 Schulung und Kompetenz des Personals	10
4.1 Allgemeine Aspekte	10
4.2 Schulung	10
4.3 Kompetenzerhalt	11
5 Samenmerkmale, Probenahme und Handhabung vor der Analyse	11
5.1 Allgemeine Merkmale	11
5.2 Physikalische und chemische Merkmale	11
5.3 Probenahme und erste Probenbehandlung	11
5.4 Patienten-/Probandenaufklärung und Datenerfassung	12
5.4.1 Dem Patienten/Probanden zur Verfügung zu stellende Informationen	12
5.4.2 Erfassung der Patienten-/Probandendaten	12
5.5 Erste Probenhandhabung	13
5.6 Prüfung der Spermientoxizität	13
6 Analysen	14
6.1 Erforderliche Ausrüstung	14
6.2 Laborintern angesetzte Reagenzien	14
6.3 Bewertungen	15
6.3.1 Einleitung der Bewertungen	15
6.3.2 Makroskopische Bewertung	15
6.3.3 Direktmikroskopie des Feuchtpräparates	15
6.3.4 Bewertung der Spermienmotilität	16
6.3.5 Bewertung der Spermienkonzentration	16
6.3.6 Bewertung bei Fehlen von Spermien	17
6.3.7 Bewertung der Spermienvitalität	17
6.3.8 Evaluierung der Spermienmorphologie	17
7 Handhabung nach der Analyse und Prüfbericht	18
7.1 Allgemeines	18
7.2 Berechnungen und Darstellung der Ergebnisse	18
7.2.1 Gesamtmenge im Ejakulat	18
7.2.2 Sonstige Berechnungen	18
7.3 Darstellung der Ergebnisse	19
7.3.1 Allgemeines	19
7.3.2 Inhalt des Samenanalyseberichts	19
7.4 Praktische Aspekte der Qualitätssicherung	20
7.4.1 Interne Qualitätskontrolle	20
7.4.2 Ringversuche	20
7.4.3 Vergleich zwischen Laboratorien	21

Anhang A (informativ) Die statistische Grundlage zur Bestimmung des Fehlens von Spermien.....	22
Anhang B (informativ) Hauptgesichtsfeld.....	23
Anhang C (informativ) Schulung zur Motilitätsbewertung.....	24
Anhang D (informativ) Verdünnungsmittel zur Bewertung der Spermienkonzentration	27
Anhang E (informativ) Schätzung der geeigneten Verdünnung zur Bewertung der Spermienkonzentration.....	28
Anhang F (informativ) Vergleich der Übereinstimmung zwischen zwei Replikatbewertungen mit Prozentangaben	29
Anhang G (informativ) Vergleich der Übereinstimmung zwischen zwei Replikatzählungen der Spermienkonzentration.....	31
Anhang H (informativ) Bewertung der Spermiovitalität	34
Anhang I (informativ) Bewertung der Spermienmorphologie.....	36
Literaturhinweise.....	38

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 23162:2020) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 212 „Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 140 „In-vitro-Diagnostik“ erarbeitet, dessen Sekretariat von DIN gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur parallelen Umfrage vorgelegt.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO/DIS 23162:2020 wurde von CEN als prEN ISO 23162:2020 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

Vorwort

ISO (die Internationale Organisation für Normung) ist eine weltweite Vereinigung von Nationalen Normungsorganisationen (ISO-Mitgliedsorganisationen). Die Erstellung von Internationalen Normen wird normalerweise von ISO Technischen Komitees durchgeführt. Jede Mitgliedsorganisation, die Interesse an einem Thema hat, für welches ein Technisches Komitee gegründet wurde, hat das Recht, in diesem Komitee vertreten zu sein. Internationale Organisationen, staatlich und nicht-staatlich, in Liaison mit ISO, nehmen ebenfalls an der Arbeit teil. ISO arbeitet eng mit der Internationalen Elektrotechnischen Kommission (IEC) bei allen elektrotechnischen Themen zusammen.

Die Verfahren, die bei der Entwicklung dieses Dokuments angewendet wurden und die für die weitere Pflege vorgesehen sind, werden in den ISO/IEC-Direktiven, Teil 1 beschrieben. Im Besonderen sollten die für die verschiedenen ISO-Dokumentenarten notwendigen Annahmekriterien beachtet werden. Dieses Dokument wurde in Übereinstimmung mit den Gestaltungsregeln der ISO/IEC-Direktiven, Teil 2 erarbeitet (siehe www.iso.org/directives).

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. ISO ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren. Details zu allen während der Entwicklung des Dokuments identifizierten Patentrechten finden sich in der Einleitung und/oder in der ISO-Liste der empfangenen Patenterklärungen (siehe www.iso.org/patents).

Jeder in diesem Dokument verwendete Handelsname wird als Information zum Nutzen der Anwender angegeben und stellt keine Anerkennung dar.

Eine Erläuterung der Bedeutung ISO-spezifischer Benennungen und Ausdrücke, die sich auf Konformitätsbewertung beziehen, sowie Informationen über die Beachtung der Grundsätze der Welthandelsorganisation (WTO) zu technischen Handelshemmnissen (TBT, en: Technical Barriers to Trade) durch ISO enthält der folgende Link: www.iso.org/iso/foreword.html.

Das für dieses Dokument verantwortliche Komitee ist ISO/TC 212, *Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems*.

Einleitung

Das vorliegende Dokument wurde als Antwort auf den weltweiten Bedarf an Normen zur verlässlichen Analyse von menschlichem Samen erarbeitet. Die WHO hat in fünf Ausgaben zwischen 1980 und 2010 ein Handbuch zur Untersuchung des menschlichen Ejakulates veröffentlicht, das allgemeine Empfehlungen für Laborverfahren enthält. Diese Empfehlungen wurden zunehmend detaillierter und prägnanter gefasst [13].

Eine formale Norm, die auf der besten verfügbaren Evidenz und einem globalen Konsens basiert, würde es jedoch jedem Laboratorium, das eine Akkreditierung für die Samenanalyse anstrebt, erleichtern, Laborverfahren mit der größten Wahrscheinlichkeit für zuverlässige Ergebnisse einzusetzen. Die Patienten/Probanden würden davon profitieren, dass die Wahl der Behandlungsmodalität weniger Zufallsfaktoren unterliegen würde. Die Kosten für den Einsatz suboptimaler Behandlungen könnten aller Voraussicht nach sinken. Auch die Weiterentwicklung der klinischen Wissenschaft würde durch den Einsatz geeigneter Verfahren vorangetrieben, die eine Weiterentwicklung sowohl diagnostischer als auch therapeutischer Strategien ermöglichen, welche von klar definierten Labortechniken profitieren. Dies umfasst sowohl die symptomatische Behandlung der Paarinfertilität (Assistierte Reproduktionstechnologie – ART; In-vitro-Fertilisation – IVF) als auch die Nachsorge nach Behandlungen oftmals ursächlicher Erkrankungen beim Mann (z. B. Hypogonadismus, Varikozele). Darüber hinaus können zur Validierung und Evaluierung neuer Verfahren zur besseren Diagnostik und Behandlung der Infertilität die hier definierten Standardtechniken als Referenzverfahren dienen

Die Vorbereitung von menschlichem Samen vor dessen Analyse ist nicht nur bei der manuellen grundlegenden Samenanalyse wichtig, sondern auch bei der computerassistenten Spermienanalyse (CASA). Für die Qualität der gewonnenen Daten ist eine standardisierte Handhabung und Aufbereitung der Samenproben unerlässlich.

In diesem Dokument werden die folgenden Verbformen verwendet:

- „muss/müssen“ (en: „shall“) zeigt eine Anforderung an;
- „sollte/sollten“ (en: „should“) zeigt eine Empfehlung an;
- „darf/dürfen“ (en: „may“) zeigt eine Zulässigkeit an;
- „kann/können“ zeigt eine Möglichkeit oder ein Vermögen an.

Weitere Einzelheiten können den ISO/IEC-Richtlinien, Teil 2:2018, 7, entnommen werden.

1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument legt die Mindestanforderungen an die Laborausstattung und entscheidende Aspekte der Prüfmethoden für bewährte Vorgehensweisen in Laboratorien fest, die eine grundlegende Analyse von durch Ejakulation gesammelten menschlichem Samen durchführen.

Dieses Dokument ist anwendbar auf den gesamten Prozess der manuellen grundlegenden Samenanalyse und auch auf die Probenvorbereitung für die computerassistierte Spermienanalyse (CASA).

Dieses Dokument gilt nicht für Bewertungen nach einer Vasektomie.

ANMERKUNG Angesichts der medizinisch-rechtlichen Folgen, die mit der Evaluierung von Ejakulaten nach einer Vasektomie einhergehen, reicht die Methodik in diesem Dokument aller Wahrscheinlichkeit nach nicht aus, um ein Ejakulat als vollständig „frei“ (d. h. ohne Spermien im Ejakulat) zu bezeichnen.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente werden im Text in solcher Weise in Bezug genommen, dass einige Teile davon oder ihr gesamter Inhalt Anforderungen des vorliegenden Dokuments darstellen. Bei datierten Verweisungen gilt nur die in Bezug genommene Ausgabe. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe des in Bezug genommenen Dokuments (einschließlich aller Änderungen).

ISO 15189, *Medical laboratories — Requirements for quality and competence*

ISO/TS 20914, *Medical laboratories — Practical guidance for the estimation of measurement uncertainty*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

ISO und IEC stellen terminologische Datenbanken für die Verwendung in der Normung unter den folgenden Adressen bereit:

- ISO Online Browsing Platform: verfügbar unter <https://www.iso.org/obp>
- IEC Electropedia: verfügbar unter <http://www.electropedia.org/>

3.1

Luftpolsterpipette

übliche Laborpipette mit Einwegspitzen, bei der das angesaugte Volumen durch die Verdrängung eines äquivalenten Luftvolumens in einer geschlossenen Kammer innerhalb des Pipettengriffs reguliert wird

Anmerkung 1 zum Begriff: Eine Luftpolsterpipette kann nur für Flüssigkeiten mit einer Viskosität ähnlich der von Wasser ein genaues Volumen liefern.

3.2

Azoospermie

vollständiges Fehlen von Spermien im *Ejakulat* (3.4)

Anmerkung 1 zum Begriff: Der Begriff Azoospermie ist keine klinische Diagnose, sondern die Beschreibung eines Laborbefundes. Das vollständige Fehlen von Spermien ist in absoluten Zahlen schwer zu bestimmen. Da nur Teile eines *Ejakulats* (3.4) analysiert werden können, basiert die moderne Definition auf Wahrscheinlichkeitsberechnungen, die aus Daten abgeleitet werden, welche aus Untersuchungen von zufälligen Aliquoten eines *Ejakulats* (3.4) gewonnen wurden (siehe Anhang A).

3.3

CASA

computerassistierte Spermienanalyse

automatisierte Analyse von *Ejakulaten* (3.4) mit Geräten, die mit bildgebenden Verfahren arbeiten

Anmerkung 1 zum Begriff: Analyse auf der Grundlage der Bildanalyse von Videosequenzen, um Angaben zur Spermienkonzentration (3.18) und -motilität, seltener zur Morphologie der Spermien, zu erhalten.

Anmerkung 2 zum Begriff: Es gibt handelsübliche CASA-Systeme, jedoch keine gemeinsame Norm für die Validierung, Evaluierung, Zuverlässigkeit der Analysen oder den Inhalt von Berichten. Der Anwendungsbereich dieses Dokuments besteht nicht darin, eine Norm für die CASA bereitzustellen, obwohl die Aspekte vor der Analyse für Entwickler, Hersteller und Nutzer von CASA-Anlagen ebenfalls von Nutzen sein können.

3.4

Ejakulat

Samen oder Samenprobe, der/die durch Masturbation, Geschlechtsverkehr, Vibrationsstimulation oder Elektroejakulation gewonnen wurde

Anmerkung 1 zum Begriff: Das Ejakulat ist eine Mischung aus Spermien und Sekreten, hauptsächlich aus den Samenblasen, der Prostata und den Nebenhoden.

3.5

Ejakulatsammelbehälter

primärer Probenbehälter

Anmerkung 1 zum Begriff: Der Ejakulatsammelbehälter sollte für Spermien atoxisch sein.

Anmerkung 2 zum Begriff: Falls ein *Ejakulat* (3.4) nur beim Geschlechtsverkehr gewonnen werden kann, kann ein atoxisches Silastikkondom verwendet werden. Das *Ejakulat* (3.4) muss nach Erhalt im Laboratorium in einen Ejakulatprobenbehälter überführt werden; dies muss auf dem Berichtsformular vermerkt werden.

3.6

Ejakulatviskosität

Eigenschaft eines *Ejakulats* (3.4), die nach der *Verflüssigung* (3.10) seinen Widerstand beschreibt, wie Wasser zu fließen

Anmerkung 1 zum Begriff: Aufgrund des Gehalts an gelartigen Strukturen in der Ejakulatflüssigkeit ist unvollständig verflüssigter Samen keine homogene Flüssigkeit.

3.7

Ringversuch

externe Qualitätskontrolle

Eignungsprüfung

Organisation, Leistung und Evaluierung von Messungen oder Prüfungen gleicher oder ähnlicher Einheiten durch zwei oder mehr Laboratorien in Übereinstimmung mit vorbestimmten Bedingungen

3.8

Hauptgesichtsfeld

Bereich eines Objektträgers, der im Mikroskop unter starker Vergrößerung (400fach) sichtbar ist

Anmerkung 1 zum Begriff: Hierbei handelt es sich nicht um ein Standardgesichtsfeld, da die Größe je nach Art der verwendeten Okulare (z. B. Standard- oder Weitfeld) schwankt (siehe Anhang B).

3.9

immotil

vollständiges Fehlen aktiver Schwanzbewegungen

3.10

Verflüssigung

Veränderungsprozess der Konsistenz des *Ejakulats* (3.4) von einer gel- oder koagulumartigen in eine flüssige Phase

Anmerkung 1 zum Begriff: Die Verflüssigung erfolgt aufgrund des Abbaus der gel- oder koagulumartigen Eigenschaft durch Enzymeinwirkung auf Makromoleküle.

3.11

nicht-progressive Spermienmotilität

aktive Schwanzbewegungen, die zu einer Spermienprogression von weniger als etwa 5 µm/s führen

Anmerkung 1 zum Begriff: Die normale Kopflänge beträgt etwa 5 µm.

3.12

Direktverdrängerpipette

übliche Laborpipette, bei der anstelle der Verdrängung von Luft innerhalb einer geschlossenen Kammer eine kolbengetriebene Verdrängung innerhalb einer Kapillare erfolgt

Anmerkung 1 zum Begriff: Der Kolben in der Pipettenspitze steht in direktem Kontakt mit der flüssigen Probe.

Anmerkung 2 zum Begriff: Wird zur Vermeidung größerer Volumenfehler bei viskösen Flüssigkeiten wie Samen verwendet.

3.13

progressive Spermienmotilität

vorwärtsgerichtete Motilität eines Spermiums von > 5 µm/s

Anmerkung 1 zum Begriff: Siehe auch langsam-progressive Spermienmotilität (3.17) und rasch-progressive Spermienmotilität (3.14).

3.14

rasch-progressive Spermienmotilität

vorwärtsgerichtete Motilität eines Spermiums von mindestens 25 µm/s

3.15

Seminalplasma

spermienfreie Mischung aus Sekreten, hauptsächlich aus den Samenblasen, der Prostata und den Nebenhoden

3.16

sexuelle Karenz

Zeit zwischen der Gewinnung des *Ejakulats* (3.4) und der letzten vorherigen Ejakulation

3.17

langsam-progressive Spermienmotilität

vorwärtsgerichtete Motilität eines Spermiums von 5 µm/s bis 24 µm/s

3.18

Spermienkonzentration

Spermienanzahl je Volumeneinheit

Anmerkung 1 zum Begriff: Die Spermienkonzentration wird in Millionen oder Tausenden je Milliliter angegeben).

Anmerkung 2 zum Begriff: Sie darf nicht mit der Spermiedichte (Masse/Volumen) verwechselt werden.

3.19

Spermienvitalität

Prozentsatz der vitalen Spermien, unabhängig von ihrer Bewegungsfähigkeit

3.20

Spermiengesamtanzahl

berechnete Gesamtanzahl der Spermien im *Ejakulat* (3.4)

Anmerkung 1 zum Begriff: $\text{Spermiengesamtanzahl} = \text{Spermienkonzentration} \times \text{Volumen des Ejakulats}$ (3.4).

Anmerkung 2 zum Begriff: Die Spermiengesamtanzahl ist nicht gleich der Spermienkonzentration.

3.21

strikte Kriterien nach Tyberberg

morphologische Spermienkriterien, die auf der Morphologie von Spermien basieren, welche in den Zervixschleim eindringen und darin wandern können

3.22

typisches Spermium

Spermium mit der typischen Morphologie von Spermien, die in den Zervixschleim eindringen und darin wandern und den Ort der Befruchtung erreichen können

[QUELLE: Menkveld, et al., 1991 [7], Menkveld und Kruger, 1995 [8]]

3.23

Teratozoospermie-Index

TZI

durchschnittliche Anzahl der Regionen mit Fehlbildungen (Kopf, Hals-/Mittelstück, Schwanz und/oder Zytoplasmatröpfchen) bei abnormalen Spermien

Anmerkung 1 zum Begriff: Definitionsgemäß liegt dieser Index niemals außerhalb des Intervalls [1,00;4,00].

4 Schulung und Kompetenz des Personals

4.1 Allgemeine Aspekte

Die allgemeinen Anforderungen an die Schulung und Kompetenz des Personals sind in ISO 15189:2012 geregelt. Hier wird behandelt, wie diese Anforderungen auf die Analyse von menschlichem Samen angewendet werden.

4.2 Schulung

Die Samenanalyse umfasst viele analytische Schritte, die zur Minimierung der Subjektivität des Bedienpersonals eine Schulung erfordern, damit genaue und zuverlässige Ergebnisse erzielt werden (MacLeod und Gold, 1951 [6], Mortimer, 1994 [10], Barratt, et al., 2011 [1]).

Alle Mitarbeiter, die Motilität, Konzentration, Vitalität und/oder Morphologie der Spermien bewerten, müssen eine Schulung erhalten, bei der entweder kommerzielles, firmeneigenes oder aus der externen Qualitätssicherung abgeleitetes validiertes Referenzmaterial verwendet wird, um sicherzustellen, dass ihre Ergebnisse mit den vorgegebenen Messunsicherheiten des Laboratoriums übereinstimmen. Ohne eine solche Schulung kann nicht erwartet werden, dass das Personal genaue oder zuverlässige Ergebnisse für diese Bewertungen liefern kann, und die Teilnahme an Programmen der externen Qualitätssicherung wäre zwecklos.

ANMERKUNG Für diese Bewertungen wurden effektive, zielorientierte, reiterative Schulungsverfahren veröffentlicht (Mortimer, 1994 [10], Björndahl, et al., 2010 [2]); zwischen unerfahrenen Mitarbeitern nach Abschluss ihrer Schulung und den erfahrenen Mitarbeitern des Laboratoriums wird ein Messfehlerbereich von $\pm 10\%$ erwartet (siehe auch Anhang C).

4.3 Kompetenzerhalt

In regelmäßigen, laut Qualitätsrahmen des Laboratoriums definierten Abständen muss von allen Mitarbeitern, die diese Bewertungen durchführen, eine laufende Verifizierung ihrer Kompetenz nachgewiesen werden.

ANMERKUNG Gemäß Unterabschnitt 4.2 wird für die laufende Verifizierung der Kompetenz aller geschulten Mitarbeiter, die diese Bewertungen durchführen, derselbe Messfehlerbereich von $\pm 10\%$ erwartet.

5 Samenmerkmale, Probenahme und Handhabung vor der Analyse

5.1 Allgemeine Merkmale

Die Analyse des Ejakulats unterscheidet sich in einigen wichtigen Aspekten von der Analyse anderer Flüssigkeiten des menschlichen Körpers. Vom Patienten/Probanden wird erwartet, dass er das Ejakulat selbst gewinnt. Die Ergebnisse hängen von der Ejakulationsfrequenz vor der Probenahme sowie von der Zeit und Temperatur vor Einleitung der Untersuchungen ab. Bei diagnostizierter Infertilität fehlen klare Referenzgrenzwerte, da das gewünschte Ergebnis von der besonderen klinischen Situation jedes Paares mit Schwangerschaftswunsch abhängt.

5.2 Physikalische und chemische Merkmale

In einem Ejakulat, das in einer Vorrichtung für Laboruntersuchungen gewonnen wurde, gibt es keine interne Homöostasekontrolle. Zunächst liegt das gesamte Ejakulat als gelartiges Koagulum vor, das nach und nach zu einer noch viskösen, aber eher wasserähnlichen Flüssigkeit abgebaut wird (Verflüssigung). Während dieses Vorgangs verdampft Kohlendioxid, wodurch sich der pH-Wert ändert. Der enzymatische Abbau der Gelkomponenten führt zu einer signifikanten Erhöhung der osmotischen Eigenschaften der Flüssigkeit, die die Spermien umgibt, was sich wiederum auf die Spermienleistung auswirkt.

5.3 Probenahme und erste Probenbehandlung

Außer bei Männern mit beispielsweise Extremitätenbehinderungen, Rückenmarksverletzungen oder Paraplegie, muss die Probenahme stets vom Patienten/Probanden selbst vorgenommen werden. Falls erforderlich, darf der Partner des Patienten/Probanden diesen bei der Probenahme unterstützen. Bei Patienten/Probanden mit ethischen oder religiösen Vorbehalten gegen Masturbation kann ein nicht-spermatotoxisches (Silastik-)Kondom verwendet werden, um ein Ejakulat während des Geschlechtsverkehrs aufzufangen. Allerdings führt diese Art der Gewinnung zu einem gewissen Verlust der Gesamtprobe, da diese dem Kondom entnommen wird. Die Ejakulatgewinnung durch Coitus interruptus („Rückzug“) wird nicht empfohlen, da der erste, spermienreiche Anteil des Ejakulats oft verloren geht. Bei einigen Patienten/Probanden kann die Verwendung von Gleitmitteln erforderlich sein; solche Produkte müssen als nichttoxisch für Spermien validiert sein (Mortimer, et al., 2013 [11]).

Nach der Ejakulation muss die Probe so nahe wie möglich bei 37 °C gelagert werden und keinesfalls bei höheren Temperaturen; Abkühlung und Erwärmung können zu Artefakten und Spermindysfunktion führen. Aufgrund aller nach der Ejakulation auftretenden Veränderungen müssen die Untersuchungen schnellstmöglich nach der Verflüssigung beginnen, die in der Regel innerhalb von 30 Minuten nach der Ejakulation abgeschlossen ist. Eine unvollständige Verflüssigung 60 Minuten nach der Ejakulation weist auf eine Anomalie hin. Die labornahe Ejakulatgewinnung eignet sich am besten, da die Bewertungen direkt nach Abschluss der Verflüssigung eingeleitet werden können. Da Dauer und Grad der sexuellen Erregung des Patienten/Probanden die Ejakulation beeinflussen, könnte die Probenahme im Falle größerer Schwierigkeiten am besten an einem vom Patienten/Probanden gewählten Ort durchgeführt werden. Wird das Ejakulat laborfern gewonnen, muss es dem Laboratorium möglichst innerhalb von 30 min zugeführt werden, mindestens jedoch innerhalb von 60 min (die Umstände der Ejakulatgewinnung und des Ejakulattransports sind im Bericht zu vermerken). Dennoch bleiben die Aspekte der Temperatur und Zeitspanne bis zur Analyse wichtig für deren Qualität und Robustheit.

5.4 Patienten-/Probandenaufklärung und Datenerfassung

5.4.1 Dem Patienten/Probanden zur Verfügung zu stellende Informationen

Dem Patienten/Probanden müssen die folgenden Informationen schriftlich in einer für ihn verständlichen Sprache zur Verfügung gestellt werden:

a) Allgemeine Angaben:

- Kontaktangaben des Laboratoriums;
- Grund der Untersuchung, falls vom Anforderer zur Verfügung gestellt;
- eine Kurzdarstellung dessen, was untersucht werden soll;
- wie die Ergebnisse der Laboruntersuchungen dem Patienten/Probanden mitgeteilt werden.

b) Gewinnung, Handhabung und Transport des Ejakulats:

- wie das Ejakulat gewonnen wird;
- Auswirkung einer Verzögerung zwischen Probenahme und Einleitung der Bewertungen;
- Wichtigkeit der Vermeidung einer Abkühlung oder Erwärmung des Ejakulats;
- Wichtigkeit der Angabe der korrekten sexuellen Karenzdauer;
- Wichtigkeit der Angabe jeder unvollständigen Probenahme.

5.4.2 Erfassung der Patienten-/Probandendaten

a) Erforderliche Angaben

Von jedem Patienten/Probanden müssen folgende Angaben erhoben werden, die vom Laboratorium zu vermerken sind:

- zuverlässige Personenkennung;
- Dauer der sexuellen Karenz;
- Zeitpunkt der Probenahme;
- ein Transport der Ejakulate sollte vermieden werden, sofern sie jedoch nicht in den Räumlichkeiten des Laboratoriums gewonnen wurden: Bestätigung, dass die Probe während des Transports zum Laboratorium vor extremen Temperaturen geschützt war;
- Vollständigkeit der Probenahme; bei unvollständiger Probenahme Angabe, welche Teile bei der Ejakulationsfolge während der Probenahme ausgelassen wurden.

b) Optionale Angaben

Die Angaben sind für die klinische Deutung von Bedeutung und können praktischerweise beim Laborbesuch des Patienten/Probanden außerhalb der eigentlichen Laborarbeit eingeholt werden.

- Anamnese, die Folgendes umfassen kann:
 - alle Episoden eines schweren Entzündungsgeschehens innerhalb der letzten drei Monate;
 - alle früheren chirurgischen Eingriffe (Leistenbruch, Varikozele, Kryptorchismus oder andere Störungen im Urogenitalbereich) oder Behandlungen mit Chemotherapeutika, Zytostatika oder Bestrahlung der Urogenitalorgane;
 - jede Anwendung von Arzneimitteln mit Ausnahme des kurzfristigen Einsatzes von nicht verschreibungspflichtigen Medikamenten (z. B. Schmerzmittel und Antiallergika).
- jeglicher Gebrauch von Freizeitsubstanzen, anabolen Steroiden oder anderen leistungssteigernden Nahrungsergänzungsmitteln (wie Proteinpulver).

5.5 Erste Probenhandhabung

- Vom Patienten/Probanden mitgeteilte Angaben müssen dokumentiert werden.
- Der Probensammelbehälter muss ein sauberer, nichttoxischer Einmalartikel sein.
- Der Probensammelbehälter sollte vorzugsweise vor der Probenahme gewogen und sein Gewicht auf zwei Dezimalstellen dokumentiert werden.
- Die Probensammelvorrichtung muss nach der Probenahme gewogen und die berechnete Gewichts Differenz als Maß für das Volumen verwendet werden. Bei Verwendung einer kalibrierten serologischen Pipette geht nach der Messung immer etwas Samen im Probensammelbehälter und in der Pipette verloren. Der durch das Pipettieren verursachte Fehler ist größer als die Annahme 1,0 g Samen = 1,0 ml Samen (Cooper, et al., 2007 [4]). Das Ejakulatvolumen muss auf eine Dezimalstelle in ml angegeben werden.
- Alle Dokumente und die Probensammelvorrichtung müssen mit mindestens zwei eindeutigen Identifikatoren versehen werden.
- So bald wie möglich nach der Probenahme muss die Probenvorrichtung bei einer Temperatur zwischen 35 °C und 37 °C gehalten werden, um die Verflüssigung zu erleichtern und die Motilitätsbewertung bei standardisierter Temperatur vorzubereiten, vorzugsweise auf einem Rütteltablett, um die Durchmischung während der Verflüssigung zu verbessern (falls kein Rütteltablett zur Verfügung steht, muss manuell häufig geschüttelt werden).

Spermien werden durch die Erdschwerkraft beeinflusst und setzen sich auch dann am Boden des jeweiligen Behälters ab („Geotaxis“), wenn sie motil sind. Folglich muss bei der Gewinnung eines Ejakulats dieses gut durchmischt werden, damit sich die Spermien und anderen Bestandteile des Ejakulats gleichmäßig verteilen. Auch bei kurzzeitigem Ruhen kommt es zu einer ungleichmäßigen Verteilung der zellulären Bestandteile des Ejakulats. Es ist daher wichtig, das Ejakulat vorsichtig zu durchmischen, bevor ein Aliquot zur Analyse entnommen wird, wobei zu beachten ist, dass kein Vortex-Mischer verwendet werden darf.

5.6 Prüfung der Spermientoxizität

Damit Materialien, die mit Ejakulat in Kontakt kommen (Probensammelbehälter, Pipettenspitzen), nicht spermatotoxisch sind, muss jede neue Materialcharge einer grundlegenden Toxizitätsprüfung unterzogen werden. Das Prinzip beruht auf dem Vergleich der Beweglichkeit der Spermien bei Exposition mit dem bisherigen und dem neuen Material. Die Expositionsdauer ist auf die Zeit zu beziehen, während der die Spermien dem Material ausgesetzt sind – Sekunden bei Pipettenspitzen und 30 Minuten bis 60 Minuten bei Probensammelbehältern. Die Exposition gegenüber dem Prüf- und Kontrollmaterial muss mindestens doppelt so lange dauern wie die beabsichtigte „übliche Exposition“.

Praktisch wird eine ausreichende Menge von gut durchmischem Samen mit guter Motilität dem Kontroll- bzw. Prüfmaterial ausgesetzt. Das Volumen muss einen guten Kontakt zwischen den Spermien und Materialien sicherstellen, Verdunstung und Austrocknung vermeiden und eine Motilitätsbewertung nach einer festgelegten Zeitspanne ermöglichen. Die prozentuale Motilitätsdifferenz zwischen Kontroll- und Prüfspermien darf nicht mehr als 10 % betragen. Falls sowohl die Kontroll- als auch die Prüfprobe keine Motilität zeigt, muss die Toxizitätsprüfung nach Evaluierung der Dauer, Temperatur und möglichen Verdunstung wiederholt werden.

6 Analysen

6.1 Erforderliche Ausrüstung

Die Spermienmotilität wird insbesondere hinsichtlich der Geschwindigkeit stark von der Umgebungstemperatur beeinflusst. Der Einsatz temperaturgesteuerter Geräte reduziert den Einfluss einer schwankenden Raumtemperatur.

Die folgende Ausrüstung wird benötigt:

- Laborwaage, Bereich 0,00 g bis 50,00 g (Anzeige auf zwei Dezimalstellen);
- ein Inkubator oder eine Wärmeplatte, der/die das Ejakulat auf Körpertemperatur halten kann, vorzugsweise mit einem Rütteltablett (Orbitalmischer);
- aufrechtes Lichtmikroskop mit Phasenkontrast (10fach-, 20fach- und 40fach-Objektive empfohlen) und Hellfeld-Optik (100fach-Ölimmersionsobjektiv, hochauflösendes Objektiv) und 10fach-Okularen und einem Okularmikrometer (oder einer Okularstrichplatte oder einem mit einer Mikrometerskala kalibrierten Gitter) und Vorrichtungen, um Feuchtpräparate auf Körpertemperatur zu halten (z. B. beheizter Objekttisch);
- Direktverdrängerpipette zur Bewertung der Spermienkonzentration, Kapazität 0 µl bis 50 µl oder 0 µl bis 100 µl;
- Luftpolsterpipetten (Größen 1 µl bis 20 µl, 20 µl bis 200 µl und 200 µl bis 1 000 µl) für Konzentrationsverdünnungsmittel, Feucht- und andere Präparate;
- Ausrüstung zum Färben und Einbetten von Objektträgern zur Morphologie und Vitalität (Objektträgerhalter, Färbegläser, Einwegpipetten für das Einbettmedium);
- Zentrifuge (z. B. für konische 15-ml-Zentrifugenröhrchen) – bevorzugt wird ein Schwenkbecher, um einzelne Pellets besser herzustellen – und entweder gekapselte Becher oder ein gekapselter Rotor, um das Bedienpersonal vor möglicher Aerosolkontamination zu schützen, falls ein Röhrchen beim Zentrifugieren zerbrechen sollte;
- Hämozytometer mit Neubauer Improved-Skala (Tiefe 100 µm);

ANMERKUNG Mehrfach verwendbare Hämozytometer müssen regelmäßig daraufhin überprüft werden, dass die Kammertiefe durch Abnutzung nicht verändert wurde, und Hämozytometer für den Einmalgebrauch können verwendet werden, sofern sie ordnungsgemäß validiert und evaluiert wurden (Kirkman Brown und Björndahl, 2009 [5])

- Feuchtkammer zur Spermis sedimentation in Hämozytometern;
- Vortex-Mischer (zum Durchmischen fester Spermasuspensionen für die Konzentrationsbewertung).

6.2 Laborintern angesetzte Reagenzien

Zur Bewertung der Spermienkonzentration ist ein Verdünnungsmittel unerlässlich, das laborintern angesetzt werden kann (siehe Anhang D). Der Zweck ist die Immobilisierung (Abtötung) der Spermien, um die Zählung zuverlässiger zu gestalten. Zur leichteren und zuverlässigeren Bewertung ist es auch von Vorteil, wenn das Wachstum von Mikroorganismen verhindert werden kann.

6.3 Bewertungen

6.3.1 Einleitung der Bewertungen

Für eine zuverlässige Bewertung der Ejakulatmerkmale muss die Verflüssigung abgeschlossen sein. Bei den meisten Ejakulaten wird dies innerhalb von 30 Minuten erreicht, sofern sie nach der Probenahme bei 37 °C gelagert wurden. Bei noch nicht abgeschlossener Verflüssigung kann die Probe maximal 30 Minuten im Inkubator belassen werden; danach müssen die Bewertungen eingeleitet werden. Eine unvollständige Verflüssigung zu Analysebeginn muss im Bericht vermerkt werden, ebenso wie die Zeitspanne zwischen Probenahme und Einleitung der Bewertung des Feuchtpräparates.

6.3.2 Makroskopische Bewertung

Bei fehlenden metrologischen Normen für die physikalischen Merkmale des menschlichen Samens ist es nicht möglich, eine korrekte Normung der Verfahren zu erreichen oder eine Messunsicherheit festzulegen. Einige Beobachtungen zu Farbe oder Geruch sind jedoch hinsichtlich der Provenienz der Probe oder des medizinischen Status des Patienten/Probanden möglicherweise klinisch relevant. Folglich müssen alle derartigen Bemerkungen, die in den Bericht aufgenommen werden, als Ausnahmemeldungen dokumentiert werden, d. h. als Versuch, Merkmalsbeobachtungen zu beschreiben, die außerhalb des Erwartungsbereichs liegen.

a) Äußere Beschaffenheit:

- 1) Farbe (Normal: eine breite Palette schillernder, gräulich-weißer, manchmal leicht oder sogar leuchtend gelblicher Farben. Abnormal: bräunlich oder rot, durchsichtig; stark gelb);
- 2) Verflüssigung (sollte nach der Ejakulation innerhalb von 30 Minuten bei 37 °C abgeschlossen sein; abnormal: verbleibende Gelklumpen);

b) Sonstige physikalische Beobachtungen:

- 1) Viskosität – gemessen durch langsames Abtropfenlassen des Samens mittels Schwerkraft von einer Pipette mit großem Durchmesser (z. B. einer serologischen 5-ml-Pipette oder einer nichttoxischen Pasteurpipette aus Glas oder Kunststoff). Normal: einzelne Tröpfchen mit „Fäden“ < 2 cm;
- 2) Geruch (Samen hat keinen „normalen“ Geruch und sein Duft ist sehr subjektiv. Ein stark fauler Geruch deutet jedoch oft auf eine aktive Infektion hin; ein leicht fauler Geruch könnte für eine längere Karenzzeit sprechen, während ein starker Harngeruch auf eine Kontamination des Samens mit Urin hinweisen könnte);
- 3) pH-Wert des Samens – gemessen durch Aufbringen eines Aliquots verflüssigten Samens auf einen validierten pH-Teststreifen innerhalb von 30 Minuten nach der Ejakulatgewinnung, zumindest bei Fehlen von Spermien und geringem Samenvolumen.

6.3.3 Direktmikroskopie des Feuchtpräparates

Zum Ansetzen eines Feuchtpräparates muss ein 10-µl-Aliquot gut durchgemischten Samens auf einen beschrifteten, vorgewärmten Objektträger aufgebracht und mit einem vorgewärmten 22 mm × 22 mm großen Deckglas (Dicke #1½ oder #2, um eine vollständige Ausbreitung des Tropfens zu ermöglichen) bedeckt werden, um eine Präparatetiefe von etwa 20 µm zu erreichen (bei 18 mm × 18 mm großen Deckgläsern sind für die gleiche Tiefe nur 6,5 µl erforderlich).

- Es wird auf das Vorliegen von Spermien, anderen Zellen, Trümmern, Kristallen geachtet.
- Es wird auf das Vorliegen von agglutinierten und aggregierten Spermien geachtet.
- Es wird die geeignete Verdünnung für die Bewertung der Spermienkonzentration abgeschätzt (siehe Anhang E).

Beobachtungen anderer zellulärer und nichtzellulärer Elemente, die in einem menschlichen Ejakulat vorliegen könnten, weisen alle keine metrologischen Normen auf und können daher auch mit qualitativen Beschreibungen nicht objektiv bewertet werden. Einige Beobachtungen können jedoch hinsichtlich des medizinischen Status des Patienten/Probanden klinisch relevant sein. Daher müssen alle derartigen Bemerkungen, die in den Bericht aufgenommen werden, als Ausnahmemeldungen dokumentiert werden, d. h. als Versuch Beobachtungen zu beschreiben, die außerhalb des Erwartungsbereichs liegen. Das Laboratorium muss sicherstellen, dass es minimale subjektive Unterschiede zwischen den Analysespezialisten nachweisen kann.

6.3.4 Bewertung der Spermienmotilität

- muss an zwei unabhängigen Feuchtpräparaten einer gut durchmischten Probe bei 37 °C durchgeführt werden;
- in jedem Replikat müssen mindestens vier unterschiedliche Gesichtsfelder bewertet werden;
- in jedem Replikat müssen mindestens 200 Spermien klassifiziert werden;

Jedes Spermium wird entweder als rasch-progressiv, langsam-progressiv, nicht-progressiv oder immotil klassifiziert.

Tabelle 1 — Definitionen der Spermienmotilitätsklassen

Klasse	Motilitätstyp
Rasch-progressiv (a)	aktive Schwanzbewegungen, Progression $\geq 25 \mu\text{m/s}$
Langsam-progressiv (b)	aktive Schwanzbewegungen, Progression $5 \mu\text{m/s}$ bis $24 \mu\text{m/s}$
Nicht-progressiv (c)	aktive Schwanzbewegungen, Progression $0 \mu\text{m/s}$ bis $4 \mu\text{m/s}$
Immotil (d)	keine aktiven Schwanzbewegungen

ANMERKUNG In jedem Gesichtsfeld werden zuerst die rasch- und langsam-progressiven Spermien gezählt. Anschließend werden die nicht-progressiven und immotilen Spermien innerhalb desselben Gesichtsfeldes gezählt. Bei sehr hoher Spermienkonzentration ist es ratsam, nur die Spermien zu zählen, die in einem kleineren Gesichtsfeld zu sehen sind, z. B. in den zentralen vier Quadranten eines Okulargitters oder Gitterkreuzes.

ANMERKUNG Die Motilitätsvaluierung muss ohne Einbeziehung agglutinierter oder aggregierter Spermien erfolgen. Falls schätzungsweise mehr als 20 % bis 25 % der Spermien in solchen Klumpen vorliegen und daher nicht in die Motilitätsbewertung einbezogen werden, muss dies im Bericht dokumentiert werden.

- Die Bewertungen der beiden Replikate müssen übereinstimmen (siehe Anhang F), um ein Ergebnis mit der erwarteten Genauigkeit und Messunsicherheit zu berechnen.

6.3.5 Bewertung der Spermienkonzentration

- Es müssen zwei getrennte Aliquots einer gut durchmischten Samenprobe gewonnen und unabhängig voneinander verdünnt werden. Volumen von $50 \mu\text{l}$ oder $100 \mu\text{l}$ (exaktes Volumen durch Direktverdrängerpipette) je nach der geschätzten Konzentration (siehe Anhang E)
- Zur Immobilisierung der Spermien und zum Erreichen einer Konzentration, die im Hämozytometer sicher gezählt werden kann, wird jedes Aliquot verdünnt (siehe Anhang E; Volumen abhängig von der Beobachtung am Feuchtpräparat).

- Nach dem Beschicken einer Zählkammer mit der Spermasuspension wird diese mindestens 10 Minuten in einer feuchten Kammer horizontal ruhen gelassen, damit sich die Spermien auf dem Zählgitter absetzen können. Bei einer Dauer von mehr als 20 Minuten muss die Luftfeuchte in der Kammer überprüft werden.

Zur Bewertung der Replikate müssen in jedem Replikat mindestens 200 Spermien verglichen werden, es sei denn, die Anzahl ist so groß, dass dies nicht möglich ist, wie z. B. bei einer Konzentration von weniger als 1 Million Spermien je ml.

Die Empfehlung von mindestens 200 Spermien *dupliziert* soll den statistischen Fehler (Vertrauensintervall 95 %) auf $\leq \pm 10$ % reduzieren. Bei Bewertung von mindestens 100 Spermien dupliziert beträgt der entsprechende Fehler $\leq \pm 14$ %. Jedes Ergebnis, das auf weniger als 200 beobachteten Spermien basiert, muss im Abschlussbericht kommentiert werden.

Die Bewertungen der beiden Replikate müssen übereinstimmen (siehe Anhang G), um ein Ergebnis mit der erwarteten Genauigkeit und Messunsicherheit zu berechnen.

6.3.6 Bewertung bei Fehlen von Spermien

Der erste Teil der Bewertung ist eine gründliche, systematische Sichtprüfung [(200fache bis 400fache Vergrößerung; Abfahren der gesamten Fläche unter einem 22 mm × 22 mm großen Deckglas)] von zwei unabhängigen 10-µl-Aliquots, ohne dass ein Spermium gefunden wird. Der zweite Teil ist die Prüfung der gesamten Fläche unter einem 22 mm × 22 mm großen Deckglas eines 10-µl-Aliquots eines Zentrifugationspellets (1 000×g, 15 min) des gesamten Ejakulats. Falls bei keiner dieser Sichtprüfungen Spermien nachgewiesen wurden, wird es für ein klinisches Laboratorium als ausreichend erachtet, festzustellen, dass das Ejakulat wahrscheinlich keine Spermien enthält, obwohl das Vorliegen gelegentlicher Spermien nicht ausgeschlossen werden kann (siehe Anhang A).

6.3.7 Bewertung der Spermiovitalität

Die Spermiovitalität wird meist nicht routinemäßig bewertet, sondern nur dann, wenn ein geringer Prozentsatz motiler Spermien im Feuchtpräparat zu sehen ist, z. B. Gesamtmotilität <40 %.

Zur Unterscheidung zwischen vitalen und abgestorbenen Spermien wird ein evaluiertes und validiertes Verfahren verwendet, z. B. gut durchmischter Samen gemischt mit einer kombinierten Supravital- und Hintergrundfärbung (z. B. Eosin Y und Nigrosin) Björndahl, et al., 2003 [3]) (siehe Anhang H).

6.3.8 Evaluierung der Spermienmorphologie

Ausstriche für die Morphologie sollten vorzugsweise innerhalb von 60 Minuten nach der Ejakulatgewinnung angefertigt werden (siehe Anhang I). Eine längere Exposition mit dem verflüssigten Ejakulat könnte durch die kontinuierliche Zunahme der Osmolalität des Ejakulats das Auftreten von geringelten Spermienchwänzen erhöhen.

Jedes Spermium muss im Hinblick auf Anomalien von Kopf, Hals- und Mittelstück, Schwanz und auf das Vorliegen einer zytoplasmatischen Residuummasse bewertet werden (siehe Anhang I). Es dürfen nur vollständige Spermien (mit Kopf und Schwanz) bewertet werden. Bei mehr als 20 losen Köpfen je 100 vollständigen Spermien muss die Anzahl der losen Köpfe getrennt als Anzahl der losen Köpfe je 100 vollständige Spermien angegeben werden.

Für zuverlässige Bewertungen der Morphologie menschlicher Spermien ist eine umfassende Beobachter-schulung an validierten Referenzmaterialien (Ausstriche mit Papanicolaou-Färbung mit Referenzergebnissen von erfahrenen Experten) erforderlich. Ohne diese Schulung sowie die laufende Verifizierung der Kompetenz sind die Ergebnisse wahrscheinlich nur von begrenztem oder keinem wissenschaftlichen oder klinischen Wert.

7 Handhabung nach der Analyse und Prüfbericht

7.1 Allgemeines

Zu den Anforderungen nach der Analyse gehören die Berechnungen und Darstellung der Ergebnisse.

Jedes Laboratorium muss die Messunsicherheit bestimmen (ISO/TS 20914).

7.2 Berechnungen und Darstellung der Ergebnisse

7.2.1 Gesamtmenge im Ejakulat

Die korrekte Deutung der Zellkonzentration im Ejakulat ist schwierig, da das Endvolumen von den Anteilen mehrerer verschiedener akzessorischer Drüsen abhängt, die zeitlich sowohl innerhalb eines Patienten/Probanden als auch zwischen den Ejakulaten unterschiedlicher Patienten/Probanden schwanken können. Daher ist es von großer Bedeutung, auch die Gesamtanzahl je Ejakulat zu berechnen.

— Spermiengesamtanzahl = Ejakulatvolumen × Spermienkonzentration

7.2.2 Sonstige Berechnungen

a) Motilität

Die prozentuale Motilität muss aus dem Mittelwert zweier akzeptierter Replikatbewertungen berechnet und als Prozentsatz dargestellt werden (basierend auf der Anzahl der gezählten Spermien, es werden nur ganzzahlige Werte verwendet, d. h. ohne Dezimalstellen):

- rasch-progressiv;
- langsam-progressiv;
- nicht-progressiv;
- immotil.

Neben den dokumentierten Prozentsätzen können aus den dokumentierten Ergebnissen auch die folgenden Werte berechnet und als ganzzahlige Prozentsätze ohne Dezimalstellen dargestellt werden:

- prozentualer Anteil progressiv (rasch- + langsam-progressiv);
- prozentualer Anteil motil (rasch- + langsam-progressiv + nicht-progressiv).

ANMERKUNG Eine Bewertung der Motilität in vier Kategorien, einschließlich der Unterscheidung zwischen rasch- und langsam-progressiven Spermien, liefert wichtige Erkenntnisse für die klinische Entscheidungsfindung (Barratt, et al., 2011 [1]).

b) Morphologie

Bei der Darstellung morphologischer Bewertungen anhand der Anzahl der gezählten Spermien werden nur ganzzahlige Werte, d. h. ohne Dezimalstellen, verwendet; einzige Ausnahme ist der TZI, bei dem zwei Dezimalstellen verwendet werden müssen:

- prozentualer Anteil „typischer“ Spermien (Mortimer und Menkveld, 2001 [12]);

- Prozentsätze der erfassten Anomalien (Kopf, Hals-/Mittelstück, Schwanz oder zytoplasmatische Residuen) als deren jeweiliger *Anteil an allen bewerteten Spermien* (d. h. nicht nur ihre Prävalenz unter den abnormalen Spermien);
- Spezifische Anomalien (z. B. Spermien mit runden Köpfen [d. h. Globozoospermie], piriforme Spermien, lose Spermienköpfe) müssen getrennt gemeldet werden, sofern sie zu mehr als 20 je 100 Spermien vorkommen;
- Teratozoospermie-Index (TZI) – ist optional und wird berechnet als die Gesamtanzahl der beobachteten Regionen mit Fehlbildungen (Kopf, Hals-/Mittelstück, Schwanz und zytoplasmatisches Residuum) geteilt durch die Anzahl der abnormalen Spermien, in denen sie gezählt wurden (konventionsgemäß auf 2 Dezimalstellen).

7.3 Darstellung der Ergebnisse

7.3.1 Allgemeines

- Prozentsätze werden als ganzzahlige Prozentzahlen (ohne Dezimalstellen) angegeben.
- Falls angegeben: TZI – stets auf zwei Dezimalstellen angegeben.
- Spermienkonzentration und -anzahl: ganzzahlige Werte ohne Dezimalstellen; für Ergebnisse ≥ 10 Millionen; bei Werten zwischen 0,05 und 9,95 Millionen kann aus Gründen der sichtbaren Klarheit eine Dezimalstelle gerechtfertigt sein. Für niedrigere Werte, z. B. 0,04 Millionen, könnten Ausdrücke wie 40 Tausend Spermien verwendet werden, um die ungefähre Natur der erhaltenen Anzahl zu verdeutlichen.

7.3.2 Inhalt des Samenanalyseberichts

Neben den in ISO 15189 festgelegten formalen Anforderungen müssen die folgenden, für die Analyse von Ejakulatsamen spezifischen Daten aufgeführt werden:

- Analysedatum;
- Dauer der sexuellen Karez in Tagen;
- Zeitspanne zwischen Ejakulation und Einleitung der Analyse;
- Angaben darüber, ob das Ejakulat im Laboratorium oder anderswo gewonnen und zum Laboratorium transportiert wurde. Im letzteren Fall sollte im Abschlussbericht auch die Ankunftszeit im Laboratorium angegeben werden;
- Viskosität, Verflüssigung und andere makroskopische Beobachtungen;
- Ejakulatvolumen in ml;
- Spermienkonzentration in Millionen/ml;
- Spermiengesamtanzahl in Millionen/Ejakulat;
 - Für Ejakulate ohne beobachtete Spermien im Feuchtpräparat (10 µl) ist ein Bericht über alle in einem Zentrifugationspellet beobachteten Spermien erforderlich;
- prozentuale Motilität;
- prozentuale Morphologie und TZI;

- in Sonderfällen der Prozentsatz vitaler Spermien;
- pH-Wert, sofern gemessen;
- alle anderen signifikanten oder ungewöhnlichen Befunde, die bei der mikroskopischen Untersuchung des Feuchtpräparats festgestellt wurden, z. B. Aggregate und Agglutinate, Vorliegen von Rundzellen, Trümmern und Kristallen;
- Die Differenzierung zwischen unterschiedlichen Rundzelltypen im Ejakulat ist oft schwierig. Tests auf aktive Entzündungszellen (Leukozyten) können manchmal einen Hinweis geben und Ausstriche mit Papanicolaou-Färbung können das Vorliegen unreifer Keimzellen (Spermatiden, Spermatozyten oder in seltenen Fällen Spermatogonien) zeigen, wobei jedoch eine klare Unterscheidung oft nicht möglich ist. Im WHO-Handbuch wird jedoch empfohlen, Beobachtungen von mehr als 1 Million Rundzellen je ml in einen Bericht aufzunehmen (Weltgesundheitsorganisation, 2010 [13]).
- Beobachtungen ungewöhnlicher physikalischer Merkmale des Ejakulats, z. B. Farbe, Geruch, Viskosität (6.3.1 und 6.3.2).

ANMERKUNG Deutung und Hinweise zum Samenanalysebericht liegen in der Verantwortung des Anforderers.

7.4 Praktische Aspekte der Qualitätssicherung

7.4.1 Interne Qualitätskontrolle

Das Laboratorium muss eine interne Qualitätskontrolle (en: internal quality control, IQC) durchführen, um die Leistung des gesamten Analyseprozesses zu bewerten und jedes Ereignis aufzudecken, das aufgrund eines Defekts der verwendeten Reagenzien oder Geräte, bei der Anwendung des Betriebsablaufs oder aufgrund einer ungeeigneten Schulung des Bedienpersonals auftritt.

Kontrollmaterialien für die Spermienmotilität (Videoaufzeichnungen) und fest eingebettete Objektträger mit Färbung für die Morphologie bzw. Vitalität können zur wiederholten Verwendung angefertigt und gelagert oder durch Teilnahme an Ringversuchsprogrammen erhalten werden.

Vorverdünnte und fixierte Samenproben können eine sehr schlechte Stabilität aufweisen, und Präparate-techniken müssen vor der Verwendung für die Langzeitüberwachung der Spermienkonzentration validiert und evaluiert werden. Darüber hinaus können bis zu einem gewissen Grad alternative Verfahren eingesetzt werden, um die Genauigkeit der Spermienzählung unter Einsatz von Produkten wie Latexkugeln zu validieren. Obwohl Videoaufnahmen motiler Spermien nicht alle Aspekte der Bewertung der Spermienmotilität evaluieren können, ist der Einsatz von Videoaufnahmen unerlässlich, um die Fähigkeit jedes Bedieners zu beurteilen, den wichtigsten Teil der Motilitätsanalyse zu bewerten: die richtige Differenzierung zwischen den unterschiedlichen Klassen der Spermienmotilität.

7.4.2 Ringversuche

Zur Bewertung der Variabilität zwischen den Bedienern muss dieselbe Spermaprobe von jedem Bediener bewertet werden. Um die zeitliche Konsistenz der Bewertung sicherzustellen, müssen mit dem gleichen Material wiederholte Evaluierungen durchgeführt werden.

- Spermienkonzentration – nach der Verdünnung frischer Spermien mit Fixierverdünnungsmittel sollte die tatsächliche Zählung innerhalb einer angemessenen Zeitspanne von Stunden bis einigen Tagen nicht zeitabhängig sein (je nach Luftdichtheit des Verdünnungsfläschchens und ob die Spermien an den Fläschchenwänden haften bleiben). Das Hauptproblem ist eine allgemeine Zunahme der Spermienaggregate, welche die Konzentration der freien Spermien verringern.
- Spermienmotilität – aufgrund der Veränderungen der Spermienmotilität im Ejakulat ist eine zuverlässige Evaluierung von Vergleichen schwierig. Videoaufnahmen der Spermienmotilität liefern

einheitlicheres Material für die Evaluierung der Variabilität zwischen Individuen und für die zeitliche Konsistenz der Bewertungen. Für die Validität der Qualitätskontrollen mittels Videoaufzeichnungen ist es unerlässlich, dass die beobachteten Videosequenzen dem Beobachter in der gleichen Weise präsentiert werden wie die Routineanalyse der Ejakulate. Daher wird eine Routineevaluierung unter Einsatz desselben Video- oder Computerbildschirms wie bei der Evaluierung zur Qualitätskontrolle empfohlen. (Dieses Dokument berücksichtigt nicht die Motilitätsevaluierung mittels CASA.)

- Spermienmorphologie – die Evaluierung der Variabilität zwischen Individuen kann mit fixierten, eingebetteten und gefärbten Ausstrichen vorgenommen werden.
- Spermienvitalität – die Evaluierung der Variabilität zwischen Individuen kann an gefärbten und eingebetteten Ausstrichen vorgenommen werden.

Zur Erstellung einer langfristigen Leistungsevaluierung müssen die von den einzelnen Bedienern erzielten Ergebnisse überwacht werden. Das Laboratorium muss die Häufigkeit dieser laborinternen Vergleiche unter Berücksichtigung der Risikobewertung für jedes Spermienmerkmal sowie der für die verschiedenen Messparameter zu erreichenden Ziele festlegen.

7.4.3 Vergleich zwischen Laboratorien

Jedes Laboratorium, das manuelle/visuelle Samenanalysen durchführt, sollte auch an Ringversuchen teilnehmen, die zumindest die grundlegenden Merkmale des vom Laboratorium analysierten und berichteten Ejakulats (Konzentration, Motilität, Morphologie und Vitalität der Spermien) betreffen.

ANMERKUNG Programme liefern idealerweise Zielwerte und stützen sich nicht nur auf Mittelwerte für teilnehmende Laboratorien, die einer Population mit unterschiedlicher Erfahrung und Kompetenz entsprechen.