

**Centro Interdipartimentale per la Tutela
della Salute Sessuale
Clinica Ginecologica e Fisiopatologia della
Riproduzione**

**Il manuale WHO 2010 per l'esame del
liquido seminale: luci e ombre**

Bologna, 29 Gennaio 2011

**IL NUOVO MANUALE DEL WHO, FIFTH
EDITION.**

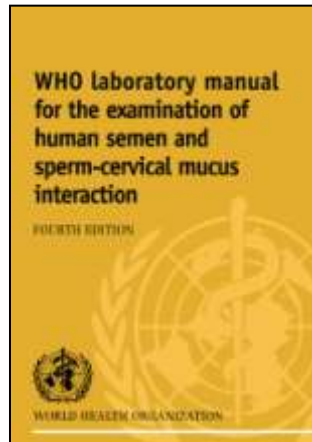
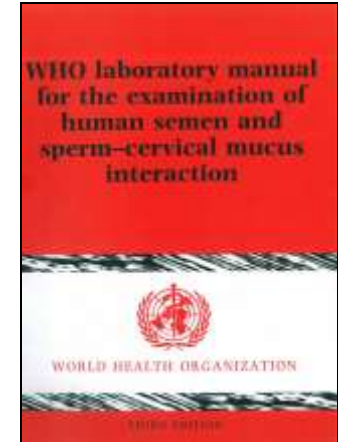
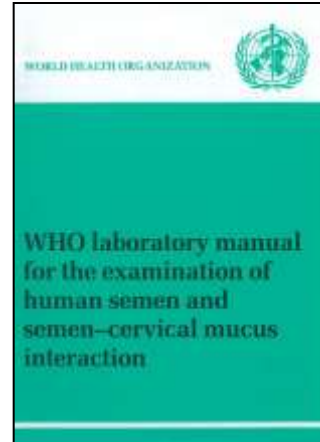
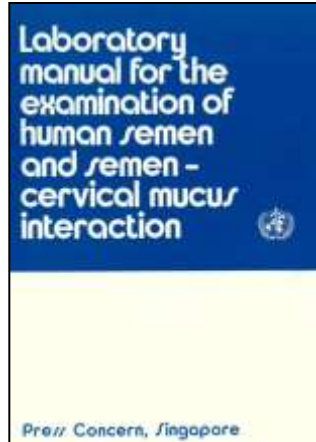
Differenze e nuovi obiettivi

M Cristina Meriggiola

IL NUOVO MANUALE DEL WHO, FIFTH EDITION

Differenze e nuovi obiettivi

Merigiola M Cristina



1.3 SCOPO DEL MANUALE

“ 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. Non dovrebbero essere necessariamente presi come obbligatori da strutture di accreditamento locale, nazionale o internazionale. L'analisi seminale può essere utile sia in campo clinico che di ricerca, per valutare lo stato della fertilità maschile così come per monitorare la spermatogenesi nel follow-up della regolazione della fertilità maschile.”



World Health Organization reference values for human semen characteristics

Table II Distribution of values, lower reference limits and their 95% CI for semen parameters from fertile men whose partners had a time-to-pregnancy of 12 months or less

	N	Centiles										
		2.5	(95% CI)	5	(95% CI)	10	25	50	75	90	95	97.5
Semen volume (ml)	1941	1.2	(1.0–1.3)	1.5	(1.4–1.7)	2	2.7	3.7	4.8	6	6.8	7.6
Sperm concentration (10^6 /ml)	1859	9	(8–11)	15	(12–16)	22	41	73	116	169	213	259
Total number (10^6 /Ejaculate)	1859	23	(18–29)	39	(33–46)	69	142	255	422	647	802	928
Total motility (PR + NP, %)*	1781	34	(33–37)	40	(38–42)	45	53	61	69	75	78	81
Progressive motility (PR, %)*	1780	28	(25–29)	32	(31–34)	39	47	55	62	69	72	75
Normal forms (%)	1851	3	(2.0–3.0)	4	(3.0–4.0)	5.5	9	15	24.5	36	44	48
Vitality (%)	428	53	(48–56)	58	(55–63)	64	72	79	84	88	91	92

*PR, progressive motility (WHO, 1999 grades a + b); NP, non-progressive motility (WHO, 1999 grade c).

The values are from unweighted raw data. For a two-sided distribution the 2.5th and 97.5th centiles provide the reference limits; for a one-sided distribution the fifth centile provides the lower reference limit.

T.G. Cooper, Human Reproduction Update, Vol.16, No.3 pp. 231–245, 2010



IL NUOVO MANUALE DEL WHO, FIFTH EDITION

Differenze e nuovi obiettivi

Meriggiola M Cristina

Cut-off values for semen variables as published in consecutive WHO manuals

Semen variable	1980	1987	1992	1999	2010 ¹
Volume (mL)	–	≥ 2.0	≥ 2.0	≥ 2.0	1.5
Concentration (10 ⁶ mL ⁻¹)	20–200	≥ 20	≥ 20	≥ 20	15
Total sperm number (10 ⁶ /ejaculate)	–	≥ 40	≥ 40	≥ 40	39
Motility (% motile)	≥ 60	≥ 50 (a + b) ²	≥ 50 (a + b)	≥ 50 (a + b)	40 (a + b + c)
Forward progression (for 1980 only)	≥ 2 ³	≥ 25 (a)	≥ 25 (a)	≥ 25 (a)	32 (a + b)
Morphology (% normal)	80.5 ⁴	≥ 50	≥ 30 ⁵	(14) ⁶	4
Viability/vitality (% live)	–	≥ 50	≥ 75	≥ 75	58
White blood cells (10 ⁶ mL ⁻¹)	< 4.7	< 1.0	< 1.0	< 1.0	< 1.0

R. Menkveld *Asian J Androl* (2010) 12: 47–58



Significance of lower reference limits

T.G. Cooper, Hum Reprod Update, Vol.16, No.3 pp. 231–245, 2010

- the condition diagnosed is not strictly male infertility
• the possible or probable contribution of one variable to a multi-factorial condition
• a couple's inability to conceive

l'analisi del liquido seminale non fornisce una diagnosi, cioè non spiega le cause dell'alterazione. Va quindi sottolineato che il laboratorista non deve dare consigli sul trattamento

- The prog... such as sperm number, ... markers of male fertility, is ... ways...
- Semen characteristics are highly variable within ... among men and these parameters are not the sole determinants of a couple's fertility.



IL NUOVO MANUALE DEL WHO, FIFTH EDITION.

Differenze e nuovi obiettivi

Merigliola M Cristina

VALUTAZIONE DELL'ERRORE E TABELLE DI ACCETTABILITA' DELL'ERRORE

Table 2.4 Acceptable differences between two replicate counts for a given sum

Sum	Acceptable Difference*	Sum	Acceptable Difference*
144–156	24	329–346	36
157–169	25	347–366	37
170–182	26	367–385	38
183–196	27	386–406	39
197–211	28	407–426	40
212–226	29	427–448	41
227–242	30	449–470	42
243–258	31	471–492	43
259–274	32	493–515	44
275–292	33	516–538	45
293–309	34	539–562	46
310–328	35	563–587	47

**Based on the rounded 95% confidence interval.*



IL NUOVO MANUALE DEL WHO, FIFTH EDITION

Differenze e nuovi obiettivi

Merigiola M Cristina

PARTE I L' ANALISI DEL LIQUIDO SEMINALE
Capitoli 2-4

PARTE II LA PREPARAZIONE DEGLI
SPERMATOZOI
Capitoli 5-6

PARTE III IL CONTROLLO DI QUALITA'
Capitolo 7

APPENDICI



IL NUOVO MANUALE DEL WHO, FIFTH EDITION

Differenze e nuovi obiettivi

Merigiola M Cristina

PARTE I

L' ANALISI DEL LIQUIDO SEMINALE

- **Procedure standard**
- **Procedure facoltative**
- **Test di ricerca**



IL NUOVO MANUALE DEL WHO, FIFTH EDITION

Differenze e nuovi obiettivi

Meriggiola M Cristina

PROCEDURE STANDARD

Raccolta del campione

Proprietà fisiche

Conta degli spermatozoi e azoospermia

Conta cellule- non spermatozoi

Motilità

Vitalità

Morfologia



IL NUOVO MANUALE DEL WHO, FIFTH EDITION

Differenze e nuovi obiettivi

Meriggiola M Cristina

PROCEDURE STANDARD

Raccolta del campione

Proprietà fisiche

Conta degli spermatozoi e azoospermia

Conta cellule- non spermatozoi

Motilità

Vitalità

Morfologia



IL NUOVO MANUALE DEL WHO, FIFTH EDITION

Differenze e nuovi obiettivi

Meriggiola M Cristina

PROCEDURE STANDARD

Raccolta del campione

Proprietà fisiche

Conta degli spermatozoi e azoospermia

Conta cellule- non spermatozoi

Motilità

Vitalità

Morfologia



IL NUOVO MANUALE DEL WHO, FIFTH EDITION

Differenze e nuovi obiettivi

Meriggiola M Cristina

PROCEDURE STANDARD

Raccolta del campione

Proprietà fisiche

Conta degli spermatozoi e azoospermia

Conta cellule- non spermatozoi

Motilità

Vitalità

Morfologia



STORIA DELLA VALUTAZIONE DELLA MORFOLOGIA

Liberal approach

... 'we are not prepared at this time to classify any but the most distorted forms as truly abnormal.' Owing to the fact that on the basis of this approach no specific criteria were put forward for a morphologically normal spermatozoon, poor correlations could theoretically be expected with normal sperm functions and fertilization rates, as reported by Page and Holding

Strict (Tygerberg) criteria

The definition for a morphologically normal spermatozoon was based on biological evidence obtained from spermatozoa found at the level of the internal cervical os.

...mostly homogeneous appearing sperm population. Small biological variations in the head morphology can be observed in such samples, but these variations were considered normal. One of the most important aspects of the strict evaluation criteria is that the range allowed for these minute normal biological variations has to be kept as small as possible. For this reason, the so called 'borderline' or 'slightly abnormal' head forms are regarded as abnormal.



IL NUOVO MANUALE DEL WHO, FIFTH EDITION

Differenze e nuovi obiettivi

Meriggiola M Cristina

Cut-off values for semen variables as published in consecutive WHO manuals

Semen variable	1980	1987	1992	1999	2010 ¹
Volume (mL)	–	≥ 2.0	≥ 2.0	≥ 2.0	1.5
Concentration (10 ⁶ mL ⁻¹)	20–200	≥ 20	≥ 20	≥ 20	15
Total sperm number (10 ⁶ /ejaculate)	–	≥ 40	≥ 40	≥ 40	39
Motility (% motile)	≥ 60	≥ 50 (a + b) ²	≥ 50 (a + b)	≥ 50 (a + b)	40 (a + b + c)
Forward progression (for 1980 only)	≥ 2 ³	≥ 25 (a)	≥ 25 (a)	≥ 25 (a)	32 (a + b)
Morphology (% normal)	80.5 ⁴	≥ 50	≥ 30 ⁵	(14) ⁶	4
Viability/vitality (% live)	–	≥ 50	≥ 75	≥ 75	58
White blood cells (10 ⁶ mL ⁻¹)	< 4.7	< 1.0	< 1.0	< 1.0	< 1.0

R. Menkveld *Asian J Androl* (2010) 12: 47–58



IL NUOVO MANUALE DEL WHO, FIFTH EDITION

Differenze e nuovi obiettivi

Meriggiola M Cristina

PROCEDURE FACOLTATIVE

- Indici di difetti multipli degli spermatozoi
- Colorazione immunocitochimica per i globuli bianchi
- Interazione fra spermatozoi e muco cervicale
- Dosaggi biochimici per la funzione delle ghiandole accessorie (zinco, fruttosio, glucosidasi epididimarie)
- Analisi computerizzata del liquido seminale



IL NUOVO MANUALE DEL WHO, FIFTH EDITION

Differenze e nuovi obiettivi

Meriggiola M Cristina

PROCEDURE FACOLTATIVE

- Indici di difetti multipli degli spermatozoi
- Colorazione immunocitochimica per i globuli bianchi
- Interazione fra spermatozoi e muco cervicale
- Dosaggi biochimici per la funzione delle ghiandole accessorie (zinco, fruttosio, glucosidasi epididimarie)
- **Analisi computerizzata del liquido seminale**



IL NUOVO MANUALE DEL WHO, FIFTH EDITION

Differenze e nuovi obiettivi

Meriggiola M Cristina

TEST DI RICERCA

Specie reattive all'ossigeno

Test di interazione fra spermatozoo e ovocita

Test di legame alla zona pellucida

Valutazione della reazione acrosomiale

Hamster test

Valutazione della cromatina nemaspermica

PARTE II
LA PREPARAZIONE DEGLI
SPERMATOZOI

- **Tecniche di preparazione degli spermatozoi**
- **Crioconservazione del liquido seminale**



IL NUOVO MANUALE DEL WHO, FIFTH EDITION

Differenze e nuovi obiettivi

Meriggiola M Cristina

PARTE III

ASSICURAZIONE DI QUALITA' E IL CONTROLLO DI QUALITA'

APPENDIX 8 National external quality control programmes for semen analysis

Australia: Fertility Society of Australia, External Quality Assurance Schemes for Reproductive Medicine, PO Box 1101, West Leederville, Western Australia 6901, Australia

Denmark: Dansk Institut for Ekstern Kvalitetssikring for Laboratorier, Sundhedssektoren, DEKS 54MI, Herlev Universitets sygehus, Herlev Ringvej 75, 2730 Herlev, Denmark

Germany: QuaDeGA, Centrum für Reproduktionsmedizin und Andrologie der Universitätsklinikum, Domagkstrasse 11, D-48129 Münster, Germany

Italy: Valutazione Esterna di Qualità, Gruppo Controllo Qualità Analitico Azienda Ospedaliero-Universitaria di Bologna, Policlinico Sant'Orsola-Malpighi, Bologna, Italy

Scandinavia: NAFA (Nordic Association for Andrology), Andrology Unit, Reproductive Medicine Centre, Karolinska Hospital, PO Box 140, SE-171 76 Stockholm, Sweden

Spain: Centro de Estudio e Investigación de la Fertilidad (CEIFER), Granada, Spain

United Kingdom: UKNEQAS Schemes for Andrology, Department of Reproductive Medicine, St Mary's Hospital, Manchester M13 0JH, United Kingdom

United States of America: American Association of Bioanalysts Proficiency Testing Service, 205 West Leves, Brownsville, Texas 78520-5596, USA



IL NUOVO MANUALE DEL WHO, FIFTH EDITION.

Differenze e nuovi obiettivi

Merigiola M Cristina

BUON CONGRESSO!