

Annali

dell'Istituto Superiore di Sanità

Supplemento al N. 1, Vol. 25, 1989



Manuale di laboratorio della WHO per l'esame del liquido seminale umano e dell'interazione tra liquido seminale e muco cervicale

Edizione italiana pubblicata per conto della *World Health Organization*
Prefazione alla edizione italiana di **M. Serio**
e traduzione di **C. Orlando**

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ - VIALE REGINA ELENA, 299 - ROMA

Manuale di laboratorio della WHO

*per l'esame del liquido seminale umano
e dell'interazione tra liquido seminale
e muco cervicale*

*Edizione italiana pubblicata
per conto della
World Health Organization
da
Istituto Superiore di Sanità*

Prefazione alla edizione italiana di **M. Serio**
e traduzione di **C. Orlando**

Prima edizione © World Health Organization 1980
Pubblicata da Press Concern, Singapore 1980

L'edizione italiana è basata sul testo pubblicato dalla Cambridge University Press per conto della World Health Organization nel 1987 con il titolo di "WHO Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Semen-Cervical Mucus Interaction".
© World Health Organization 1987

Preparato dal Programma Speciale di Ricerca dell'Organizzazione Mondiale della Sanità "Sviluppo e ricerca nella riproduzione umana".

La citazione di specifiche ditte e di prodotti industriali non implica che essi siano indicati e raccomandati dall'Organizzazione Mondiale della Sanità in preferenza ad altri, di natura simile, che non vengono menzionati. Errori od omissioni a parte, i nomi dei prodotti di proprietà riservata sono indicati con l'iniziale maiuscola.

La World Health Organization sarà citata nel testo nella forma italiana "Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS)" (*n.d.r.*).

Prefazione alla edizione italiana

L'esame del liquido seminale e i test per lo studio dell'interazione tra gli spermatozoi ed il muco cervicale sono una tappa fondamentale nell'iter diagnostico dell'infertilità di coppia. Purtroppo la molteplicità delle procedure e dei metodi adottati rendono spesso i risultati in possesso del paziente non utilizzabili a fini clinici, quando ottenuti in differenti laboratori. Anche la nomenclatura delle alterazioni rilevabili è spesso non omogenea e questo aggrava la confusione diagnostica, coinvolgendo anche emotivamente la coppia.

E' partendo proprio da questa constatazione di fatto che i gruppi dell'Organizzazione Mondiale della Sanità, impegnati nei progetti riguardanti la riproduzione umana, hanno deciso di preparare un Manuale che servisse da guida teorico-pratica per l'esecuzione dei suddetti tests e che potesse rappresentare un punto di riferimento sicuro per qualsiasi laboratorio vi si volesse uniformare. Il gruppo di scienziati che vi si sono dedicati è prestigioso e ricco di conoscenze clinico-sperimentali. Il prodotto che ne è risultato è un Manuale leggibile, agile e pratico.

Ho accettato quindi con vivo piacere l'invito dell'Organizzazione Mondiale della Sanità e dell'Istituto Superiore di Sanità di curare la traduzione italiana di questo Manuale, che è stata affidata ad un ricercatore particolarmente esperto in questo settore, il Dr. Claudio Orlando.

Sono convinto che questo Manuale sarà di grande utilità per tutti coloro che si impegnano onestamente nel settore della medicina della riproduzione, nelle strutture pubbliche come in quelle private.

M. Serio (*)

Nell'intraprendere la traduzione del Manuale mi sono trovato di fronte a due ordini di problemi: quello cioè di dare una traduzione il più possibile fedele al testo originale e quello di adattare alla nostra lingua, spesso carente per quanto riguarda la terminologia scientifica moderna, lo stile sintetico e incisivo della lingua inglese. Ne è risultato un compromesso, che speriamo ben accetto al lettore, in cui, per esempio, abbiamo voluto mantenere in lingua originale certe definizioni o sigle, che pensiamo ormai entrate nell'uso corrente di chi opera in questo settore. Pensiamo, quindi, al di là di possibili imperfezioni "letterarie", di aver mantenuto inalterato lo spirito prevalentemente pratico e tecnico di questo Manuale.

C. Orlando (**)

(*) Direttore dell'Unità di Endocrinologia, Dipartimento di Fisiopatologia Clinica, Università degli Studi, Firenze

(**) Unità di Endocrinologia, Dipartimento di Fisiopatologia Clinica, Università degli Studi, Firenze

Contenuto

Ringraziamenti	Pag.	IX
Abbreviazioni		XI
1	Introduzione	1
2	Raccolta ed esame del liquido seminale umano	3
2.A	LE PROCEDURE STANDARD	3
2.1	Raccolta e consegna del campione	3
2.2	Manipolazione del campione	4
2.3	Esame macroscopico iniziale	5
2.3.1	<i>Aspetto</i>	5
2.3.2	<i>Volume</i>	5
2.3.3	<i>Consistenza</i>	5
2.3.4	<i>pH</i>	5
2.4	Esame microscopico iniziale	6
2.4.1	<i>Motilità</i>	6
2.4.2	<i>Preparazione del campione e determinazione del grado di motilità</i>	6
2.4.3	<i>Prima valutazione della concentrazione degli spermatozoi</i>	7
2.4.4	<i>Elementi cellulari diversi dagli spermatozoi</i>	7
2.4.5	<i>Agglutinazione</i>	9
2.5	Ulteriori esami microscopici	9
2.5.1	<i>Vitalità degli spermatozoi</i>	9
2.5.2	<i>Conta degli spermatozoi</i>	9
2.5.3	<i>Analisi delle caratteristiche morfologiche degli spermatozoi</i>	11
2.5.4	<i>Metodo di colorazione</i>	11
2.5.5	<i>Metodo per individuare la presenza di anticorpi adesivi agli spermatozoi</i>	12
2.B	TEST FACOLTATIVI	13
2.6	Coltura del liquido seminale	13
2.7	Analisi biochimiche	13
2.7.1	<i>Il plasma seminale</i>	13
2.7.2	<i>Gli spermatozoi</i>	14
2.8	Il test di penetrazione in uovo di hamster	14
2.9	Il test di migrazione degli spermatozoi: l'isolamento di spermatozoi mobili dal liquido seminale	15
2.10	Le cellule germinali immature	15

3	Interazione tra spermatozoi e muco cervicale	17
3.1	Introduzione	17
3.2	Raccolta e conservazione del muco cervicale	19
3.2.1	<i>Procedura per la raccolta</i>	19
3.2.2	<i>Conservazione e mantenimento</i>	20
3.3	Valutazione del muco cervicale	21
3.3.1	<i>Volume</i>	21
3.3.2	<i>Consistenza</i>	21
3.3.3	<i>Ferning (cristallizzazione)</i>	21
3.3.4	<i>Spinnbarkeit (filanza)</i>	22
3.3.5	<i>Cellularità</i>	22
3.3.6	<i>pH</i>	22
3.4	Interazione tra spermatozoi e muco cervicale	22
3.4.1	<i>Test in vivo (post-coital test)</i>	22
3.4.2	<i>Test in vitro</i>	24
	Appendici	
I.A	Valori normali delle variabili seminali	27
I.B	Nomenclatura di alcune variabili seminali	28
II	Rilevazione dell'attività perossidasi con il blu di <i>orto</i> -toluidina	29
III	Tecniche di colorazione sopra-vitale	30
IV	Colorazione di Giemsa per gli spermatozoi e il nucleo di altre cellule	31
V.A	Colorazione con il metodo di Papanicolaou modificato per gli spermatozoi	32
V.B	Colorazione di Papanicolaou semplificata per gli spermatozoi	36
VI	Colorazione di Bryan-Leishman per lo studio morfologico di strisci seminali	37
VII	Esempio di modulo per la registrazione dei dati seminali	40
VIII	MAR test (mixed antiglobulin test)	42
IX	Test con immunobeads	43
X	Tecniche di coltura per batteri aerobici presenti nel liquido seminale	45
XI	Dosaggio dello zinco nel plasma seminale	46
XII	Determinazione dell'acido citrico nel plasma seminale	48
XIII	Determinazione del fruttosio nel plasma seminale umano	50
XIV	Metodo per la determinazione dell'ATP nel liquido seminale	52
XV	Protocollo per il test di penetrazione nell'uovo di hamster	55
XVI	Suggerimenti per la preparazione del post-coital test	59
XVII	Interazione tra spermatozoi e muco cervicale: test del tubo capillare	61
	Bibliografia	65

Ringraziamenti

Lo Speciale Programma di Ricerca dell'Organizzazione Mondiale della Sanità, "Sviluppo e Ricerca nella Riproduzione Umana" desidera ringraziare tutti coloro che hanno attivamente partecipato in tutte le tappe della compilazione e della pubblicazione della seconda edizione del *Manuale di Laboratorio*:

Dr R.J. Aitken
MRC Reproductive Biology Unit
Centre for Reproductive Biology
37 Chalmers Street
Edinburgh EH3 9EW, UK

Dr F.H. Comhaire
Department of Internal Medicine
Academisch Ziekenhuis
185 de Pintelaan
B-9000 Ghent, Belgium

Dr R. Eliasson
Department of Physiology
Faculty of Medicine
Karolinska Institute
S-104 01 Stockholm, Sweden

Dr S. Jager and
Dr J. Kremer
Department of Obstetrics and
Gynaecology
University Hospital
Oostersingel 59
9713 EZ Groningen
The Netherlands

Dr W.R. Jones
Department of Obstetrics and
Gynaecology
Flinders Medical Center
Bedford Park
South Australia 5042
Australia

Dr D.M. de Kretser
Department of Anatomy
Monash University
Clayton, Victoria
Australia 3168

Dr E. Nieschlag
Max Planck Clinical Research Unit
for Reproductive Medicine
at the University Women's Hospital
Steinfurter Strasse 107
D-4400 Münster
Federal Republic of Germany

Dr C.A. Paulsen
Department of Medicine
University of Washington
US Public Health Service Hospital
Seattle, Washington 98114
USA

Dr C. Wang
Department of Medicine
Queen Mary Hospital
Hong Kong

Dr G.M.H. Waites
Special Programme of Research,
Development and Research
Training in Human Reproduction
World Health Organization
1211 Geneva 27, Switzerland

Validi contributi alla realizzazione di aspetti particolari del *Manuale* sono stati anche forniti da:

Dr K.S. Moghissi
Department of Obstetrics and
Gynaecology
Wayne State University
Detroit, Michigan 48201
USA

Dr T.M.M. Farley and
Dr P.J. Rowe
Special Programme of Research,
Development and Research
Training in Human Reproduction
World Health Organization
1211 Geneva 27, Switzerland

Si ringrazia sentitamente Evelyn Matala (Speciale Programma di Ricerca dell'Organizzazione Mondiale della Sanità "Sviluppo e Riproduzione Umana") per il meticoloso ed accurato lavoro di segreteria svolto.

Abbreviazioni

AID	artificial insemination by donor semen = inseminazione artificiale eterologa
AIH	artificial insemination by husband semen = inseminazione artificiale omologa
BSA	bovine serum albumin = albumina bovina serica
EtOH	ethyl alcohol = alcool etilico
HPF	high-power field = elevato campo visivo
Ig	immunoglobulin = immunoglobulina
IVF	<i>in vitro</i> fertilization = fertilizzazione <i>in vitro</i>
MAR	mixed antiglobulin reaction = reazione antiglobulinica mista
RLU	relative light units = unità relative di luce
SCMC	sperm-cervical mucus contact = test di contatto tra spermatozoi e muco cervicale