

مقدمه

در پاسخ به نیازهای روزافزون جهت استاندارد سازی روش‌های بررسی آزمایشگاهی مایع منی، در سال ۱۹۸۰ میلادی برای اولین بار نخستین دستورالعمل نحوه بررسی‌های آزمایشگاهی مایع منی و چگونگی ارزیابی واکنش متقابل بین اسپرم‌ها و ترشحات مخاط دهانه رحم توسط سازمان بهداشت جهانی منتشر گردید. از آن زمان تاکنون این دستورالعمل‌ها پنج بار بازنگری گشته، به روز رسیده و به زبان‌های مختلف ترجمه شده‌اند. بیش از ۳۵ سال است که این دستورالعمل‌ها مورد قبول همه محققان در سرتاسر جهان بوده و از آن‌ها در جهت انجام تحقیقات و بررسی‌های معمول آزمایشگاهی سود می‌جویند.

در چند سال اخیر آشکار گردیده بود که پاره‌ای از دستورالعمل‌های قبلی براساس شواهد تازه نیاز به بازنگری جدیدی دارند. به همین علت نیز کمیته انتشارات سازمان بهداشت جهانی تصمیم به بازنگری کلی در تمام روش‌های پیش‌نهادی و به روز رسانی آن‌ها گرفت که حاصل آن چاپ پنجم این دستورالعمل‌ها بود. کتابی که هم‌اکنون مطالعه می‌فرمایید نیز ترجمه چاپ پنجم این دستورالعمل‌ها می‌باشد که تحت نام

WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen

توسط انتشارات سازمان بهداشت جهانی منتشر گشته است. از آن جایی که تعداد کتب تألیف و یا ترجمه شده نحوه آنالیز مایع منی در کشورمان اندک بوده و جای خالی آن احساس می‌شد، بر آن شدیم که با توجه به مرجع بودن کتاب فوق به ترجمه آن اقدام نماییم. پزشکان و متخصصین در امر ناباروری و هم‌چنین هم‌کاران شاغل در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی مخاطبین اصلی این کتاب را تشکیل می‌دهند.

ترجمه این کتاب حاصل بیش از یک سال تلاش ما می‌باشد که خدمتتان تقدیم می‌گردد. هرچند در ترجمه این کتاب تمام سعی و اولویت‌های ما رعایت کامل اصول علمی توأم با ساده‌نگاری بوده و بیش از سه بار نیز آن را ویرایش نموده‌ایم ولی بدون شک مصون از خطا نیز نبوده و به‌همین علت نیز پیشاپیش از همه شما عزیزان پوزش می‌طلبیم. از صمیم قلب آرزوی همه ما آن است که این کتاب مورد استفاده و قبول همه شما هم‌کاران محترم قرار گیرد. در خاتمه وظیفه خود می‌دانیم که از مسئول محترم نشر اشرافیه جناب آقای احمدحسین اوزار و همه همکارانشان که در چاپ و نشر این کتاب کمر همت بسته و ما را یاری داده‌اند تشکر و قدردانی نماییم.

گروه مترجمین

فهرست

فصل ۱

مقدمات و آشنایی با علم خون‌شناسی ۹

بخش ۱: آزمایش منی

فصل ۲: روش‌های استاندارد

مقدمه	۱۲
جمع‌آوری نمونه	۱۴
آزمایش ماکروسکوپی اولیه	۱۶
آزمایشات میکروسکوپی اولیه	۱۸
تعیین نحوه حرکت اسپرم‌ها	۲۱
حیات (زنده بودن) اسپرم‌ها	۲۵
شمارش اسپرم	۲۹
روش‌های معمول شمارش اسپرم	۳۳
نمونه‌های دارای تعداد اسپرم کم (کریپتوزواسپرمی) و فاقد اسپرم (آزواسپرمی)	۳۹
در چه شرایطی شمارش دقیق تعداد اسپرم‌ها در نمونه کم اسپرم، نیاز نمی‌باشد	۳۹
نحوه شمارش دقیق تعداد اسپرم‌ها در نمونه‌های کم اسپرم	۴۱
شمارش سایر سلول‌های موجود در مایع منی	۴۶
مرفولوژی اسپرم‌ها	۴۷
روش‌های رنگ‌آمیزی	۵۰
نحوه بررسی گسترش‌های رنگ‌آمیزی شده	۵۳
تصاویر و تفاسیر اشکال طبیعی و غیرطبیعی اسپرم‌ها	۵۶
بررسی لکوسایت‌های موجود در نمونه	۸۷
ارزیابی سلول‌های نابالغ زایا در نمونه منی	۹۱
آزمایشات مرتبط با اسپرم‌های پوشیده شده با آنتی‌بادی	۹۱

فصل ۳: آزمایشات اختیاری

شاخص‌های نقایص چندگانه مرفولوژیکی	۹۷
رنگ‌آمیزی ایمنوسایتوشیمی برای ردیابی شاخص سطحی CD-45 (Pan leukocyte antigen)	۹۹
فعل و انفعالات بین اسپرم‌ها و ترشحات مخاطی سرویکال	۱۰۲
روش‌های بیوشیمیایی جهت ارزیابی عمل‌کرد ارگان‌های فرعی جنسی	۱۰۸
استفاده از رایانه در آنالیز مایع منی	۱۱۳

فصل ۴: روش‌های تحقیقاتی

متابولیت‌های فعال اکسیژن	۱۱۸
آزمایشات مرتبط با واکنش اسپرم‌ها و اووسایت در انسان	۱۲۱
آزمایشات مرتبط با اتصال اسپرم‌ها به ناحیه شفاف اووسایت انسان	۱۲۱
نحوه ارزیابی واکنش ناحیه آکروزوم	۱۲۱
آزمایش سوراخ شدن اووسایت هامستر	۱۲۵
نحوه ارزیابی کروماتین اسپرم‌ها	۱۲۸

بخش ۲: آماده‌سازی اسپرم

فصل ۵: تکنیک‌های آماده‌سازی اسپرم

مقدمه	۱۳۲
اصول کلی	۱۳۳
نحوه شستشوی ساده	۱۳۳
روش شناورسازی مستقیم	۱۳۴
شیب غلظت ناپیوسته	۱۳۵
نحوه آماده‌سازی نمونه‌های مایع منی آلوده به ویروس HIV	۱۳۶
نحوه تهیه اسپرم‌های بیضه‌ای و اپیدیدیمال	۱۳۶
نحوه تهیه مایع انزالی به‌عقب برگشته	۱۳۷
نحوه پردازش نمونه‌های انزالی مساعدت شده	۱۳۷

فصل ۶: تکنیک‌های نگهداری اسپرم‌ها در سرما

مقدمه	۱۳۸
پروتکل‌های نگهداری اسپرم در سرما	۱۳۸

بخش ۳: تضمین کیفیت

فصل ۷: تضمین کیفیت و کنترل کیفی

۱۴۶	کنترل کیفی در آزمایشگاه
۱۴۶	ماهیت خطاها در آنالیز مایع منی
۱۴۷	نحوه کاهش خطاهای آماری یا نمونه‌برداری
۱۴۷	برنامه تضمین کیفیت
۱۴۹	دستوالعمل روش‌های آزمایشگاهی
۱۴۹	کنترل کیفی داخلی (Internal quality control = IQC)
۱۵۱	روش‌های آماری جهت ردیابی خطاهای سیستماتیک
۱۵۴	کنترل کیفی درصدها
۱۵۵	نحوه ارزیابی X_{bar} و نمودارهای S
۱۵۶	نحوه عکس‌العمل به خارج از کنترل شدن نتایج
۱۶۰	کنترل کیفی خارجی و تضمین کیفیت
۱۶۲	تناوب و اولویت انجام کنترل کیفی
۱۶۳	نحوه دادن آموزش

بخش ۴: ضمیمه

ضمیمه ۱: محدوده‌های مرجع و اصطلاحات مرتبط با آنالیز مایع منی

۱۶۸	محدوده‌های مرجع
۱۶۹	اصطلاحات مرتبط با آنالیز مایع منی

ضمیمه ۲: تجهیزات و ایمنی

۱۷۱	تجهیزات اصلی مورد نیاز جهت بخش آنالیز مایع منی (Andrology)
۱۷۳	خطرات بیولوژیک بالقوه در آزمایشگاه‌های آندرولوژی
۱۷۳	توصیه‌ها و روش‌های محافظت از پرسنل آزمایشگاه
۱۷۳	توصیه‌ها و روش‌های محافظت از تجهیزات آزمایشگاه آندرولوژی
۱۷۴	مراقبت‌های ایمنی در هنگام جابه‌جایی و کار با نیتروژن مایع

ضمیمه ۳: محلول‌های ذخیره

۱۷۶	محلول Biggers, Whitten & Whittingham
-----	--

۱۷۶.....	Dulbeccos (Dulbeccos phosphate-buffered saline) بافر فسفات/سالیین
۱۷۷.....	Earle's محیط
۱۷۷.....	Ham's F – 10 محیط
۱۷۷.....	Hank's balanced salt solution محلول نمکی هانکس
۱۷۷.....	Human Tubal Fluid مایع لوله رحمی انسان
۱۷۸.....	(Krebs – Ringer medium) محیط کریس – رینگر
۱۷۸.....	TBS یا (Tris-buffered saline) سرم فیزیولوژی توأم با بافر تریس
۱۷۸.....	(Tyrode's solution) محلول تایرود
۱۷۸.....	(Papanicolaou stain) رنگ پاپانیکولا

ضمیمه ۵: ترشحات مخاط سرویکس (دهانه رحم)

۱۸۱.....	مقدمه
۱۸۲.....	نحوه جمع‌آوری و نگهداری ترشحات مخاط سرویکس
۱۸۳.....	ارزیابی ترشحات مخاط سرویکس

ضمیمه ۵: نحوه ثبت نتایج آزمایشات صورت پذیرفته بر روی مایع منی و ترشحات مخاط سرویکس

۱۸۶.....	نمونه‌ای از فرم‌های ثبت نتایج آنالیز ترشح مخاط سرویکس و آزمایش بعد از نزدیکی
۱۸۷.....	نمونه‌ای از فرم ثبت نتایج آزمایشات مایع منی

ضمیمه ۶

۱۸۹.....	نحوه تهیه نمونه‌های مایع منی جهت کنترل کیفی
۱۸۹.....	نحوه تهیه نمونه مایع منی رقیق شده جهت کنترل کیفی داخلی تعیین غلظت اسپرم‌ها
۱۹۰.....	محلول‌ها
۱۹۲.....	نحوه تهیه گسترش‌های کنترل کیفی داخلی جهت ارزیابی مرفولوژی اسپرم‌ها
۱۹۳.....	نحوه تهیه CD ها و نوارهای ضبط شده ویدیویی جهت کنترل کیفی داخلی بررسی نحوه حرکت اسپرم‌ها

فصل

۱

معرفی واژه‌ها و اختصارات

بهار رفته در این کتاب

بقایای سایتوپلاسم مازاد	:	ERC
فلورسین ایزوتیوسیانات	:	FTTC
فورمیل - متیونیل - لوسیل - فنیل آلانین	:	FMLP
انتقال گامت به داخل لوله فالوپ	:	GIFT
گلیسروفسفو کولین	:	GPC
هیدروژن پراکسید (آب اکسیژنه)	:	H ₂ O ₂
محلول نمکی متعادل شده Hank	:	HBSS
ویروس هپاتیت B	:	HBV
گوندوتروپین کوریونیک انسان	:	hCG
ویروس هپاتیت C	:	HCV
ویروس نقص ایمنی انسان	:	HIV
نفوذ به داخل اسایت هامستر	:	HOP
تورم در محیط هایواسمز	:	HOS
میدان میکروسکوپی با درشت‌نمایی بالا	:	HPF
پراکسیداز ترپ‌چه	:	HRP
آلبومین سرم انسان	:	HSA
مایع لوله رحمی انسان	:	HTF
ذرات ریزی که بر روی آن‌ها آنتی‌بادی متصل ساخته باشند	:	IB
آزمایش توسط ذرات ریزی که بر روی آن‌ها آنتی‌بادی متصل ساخته باشند	:	IBT
تلقیح اسپرم به داخل سایتوپلاسم	:	ICSI
ایمونوگلوبولین	:	Ig
عدم تحرک	:	IM
کنترل کیفی داخلی	:	IQC
واحد بین‌المللی	:	IU
لقاح درون رحمی	:	IUI
لقاح خارج‌بدنی (درون آزمایشگاهی)	:	IVF
محیط Krebs-Ringer	:	KRM
خطی بودن منحنی	:	LIN
محدوده پایین اندازه‌گیری	:	LLQ
میدان میکروسکوپی با درشت‌نمایی پایین	:	LPF
میانگین جابه‌جایی زاویه‌دار	:	MAD

آنتی‌بادی	:	Ab
لقاح مصنوعی	:	AI
لقاح مصنوعی با مایع منی اهدایی	:	AID
لقاح مصنوعی با مایع منی شوهر	:	AIH
شدت جابه‌جایی جانبی سر اسپرم	:	ALH
آنالیز واریانس	:	ANOVA
مجموعه آنزیم فسفاتاز قلیایی و آنتی‌بادی ضد آن	:	APAAP
آکروزوم تحت تأثیر قرار گرفته	:	AR
فناوری بارداری کمک شده	:	ART
آنتی‌بادی ضد اسپرم	:	ASA
استر N - بنزوئیل - L - آرژنین اتیل	:	BAEE
سرعت تکرار ضربان	:	BCF
آلبومین سرم گوساله	:	BSA
محیط کشت ارائه شده توسط Biggers, Whitten & Whittingham	:	BWW
آنالیز اسپرم توسط رایانه	:	CASA
ارزیابی مرفولوژی اسپرم توسط رایانه	:	CASMA
فقدان دوطرفه مادرزادی مجرای وایبرن (Vas deferens)	:	CBAVD
صفحه متراکم رایانه	:	CD
تکه‌های کوچک سایتوپلاسم	:	CD
شاخص عمومی سطح یاخته‌های سفید	:	CD45
شاخص آکروزومال	:	CD46
فاصله (فرجه) اطمینان	:	CI
حدود اطمینان	:	CL
دی‌اکسید کربن	:	CO ₂
دی‌متیل سولفاکسید	:	DMSO
داوکسی رایبونوکلیک اسید	:	DNA
بافر فسفات سالین Dulbecco	:	DPBS
صفحه (دیسک) فراگیر چند منظوره	:	DVD
اتیلن‌دی‌آمین تترا - استیک اسید	:	EDTA
اطمینان کیفی خارجی	:	EQA
کنترل کیفی خارجی	:	EQC

۱۰ • آزمایشات باروری (برطبق دستورالعمل‌های سازمان بهداشت جهانی)

r.p.m.	:	دور سانتریفیوژ در دقیقه
SD	:	انحراف معیار
SDI	:	شاخص شکل غیرطبیعی اسپرم
SDS	:	سدیم ددوسیل سولفات
SE	:	خطای استاندارد
SOP	:	روش استاندارد عمل
STR	:	مستقیم بودن حرکت اسپرم
TBS	:	بافر تریس - سالین
TGG	:	محلول گلوکز گلیسرول Tyrode
TZI	:	شاخص تر آتوزوسپرمیا
VAP	:	متوسط سرعت مسیر
VCL	:	سرعت حرکت منحنی شکل اسپرم
VSL	:	سرعت حرکت مستقیم اسپرم
WHO	:	سازمان بهداشت جهانی
WOB	:	مخفف Wobble به معنای لرزیدن و یا جنیندن بوده و حاصل تقسیم VAP/VCL می‌باشد.

MAI	:	شاخص آنومالی‌های متعدد
MAR	:	واکنش آنتی گلوبولین مخلوط
NA	:	روزنه (شکاف) مدرج
NP	:	غیرپیش‌رونده (نوعی حرکت اسپرم)
PBS	:	بافر فسفات - سالین
PDCA	:	نقشه، اجرا، کنترل، فعالیت اصلاحی
PMA	:	فربول ۱۲ - میریستات ۱۳ - استات
PMSG	:	گونادوتروفین سرم مادیاں باردار
PNPG	:	پارا - نیتروفنول گلوکوپیرانوزید
PR	:	پیش‌رونده (نوعی حرکت اسپرم)
PSA	:	آگلوتینین استخراج شده از صمغ گیاه <i>Pisum sativum</i>
QA	:	تضمین کیفیت
QC	:	کنترل کیفی
RCF	:	نیروی نسبی سانتریفیوژ
RI	:	شاخص انکسار
RNA	:	رایبونوکلئیک اسید
ROS	:	گونه‌های نوافعال اکسیژن



بخش

آزمایش منی

مقدمه

می‌شوند. در این حالت اسمولالیته نمونه نیز افزایش خواهد یافت. به نظر می‌رسد نحوه فرایند انزال جهت تهیه نمونه منی، در کیفیت و ویژگی آن نقش داشته باشد. نمونه‌ای که در یکی از اتاق‌های آزمایشگاه و از طریق خودانزالی تهیه شده باشد در مقایسه با نمونه‌ای که در خانه و طی فرایند آمیزش جنسی (توسط کاندوم فاقد مواد اسپرم‌کش) تهیه گشته است از کیفیت پایین‌تری برخوردار خواهد بود. این اختلاف منعکس کننده تفاوت‌های نوع تحریک جنسی است زیرا زمان سپری شده جهت تهیه نمونه از طریق خودانزالی می‌تواند در کیفیت نمونه منی تأثیرگذار باشد.

در صورتی که جمع‌آوری نمونه در تحت شرایط استاندارد انجام شده باشد، کیفیت مایع منی بستگی به فاکتورهای غیرقابل تغییری خواهد داشت که از جمله آن‌ها می‌توان به تعداد اسپرم‌های تولید شده توسط بیضه‌ها، میزان و نوع مایعات ترشح شده توسط اندام‌های جانبی و بیماری‌های اخیراً وقوع به‌ویژه بیماری‌های تب‌زا اشاره نمود. هم‌چنین از آن‌جایی که دیگر عوامل چون فاصله زمانی بین آمیزش جنسی قبلی تا زمان نمونه‌گیری نیز در نتایج حاصله اثرگذار می‌باشند، ثبت و توجه به آن‌ها در هنگام تفسیر نتایج ضروری است.

نتایج ارزیابی‌های آزمایشگاهی کیفیت مایع منی به موارد زیر بستگی دارد:

- **جمع‌آوری کامل نمونه در طی فرایند انزال:** درحالی‌که اولین بخش‌های مایع منی دارای مایعات پروستاتیک سرشار از اسپرم می‌باشند، بخش‌های بعدی آن بیش‌تر حاوی مایع سمینال و زیکول هستند. بنابراین فقدان بخش اول سرشار از اسپرم در نمونه جمع‌آوری گشته به نسبت فقدان بخش‌های بعدی، تأثیر بیش‌تری بر روی نتایج حاصل از آزمایش خواهد داشت.

- **مایعات حاصل از عمل کرد غدد جنسی جانبی که باعث**

رقیق شدن اسپرم‌های اپیدیدیمال می‌شوند: تراکم اسپرم معیار خوبی برای ارزیابی بازده بیضه‌ها نبوده و نمی‌تواند

نمونه منی که طی فرایند انزال به‌دست می‌آید متشکل از سوسپانسیون غلیظی از اسپرم‌های ذخیره گشته در اپیدیدیم می‌باشد که در مایعی که از اندام‌های جنسی فرعی ترشح می‌شود، مخلوط و رقیق شده‌اند. در طی انزال این نمونه به‌صورت چند مرحله‌ای به بیرون فرستاده می‌شود. مقایسه حجم نمونه منی قبل و بعد از عمل وازکتومی نشان می‌دهد که حدود ۹۰ درصد حجم مایع منی از ترشحات اندام‌های جنسی فرعی به‌ویژه پروستات و سمینال و زیکول تشکیل یافته است. هم‌چنین غدد پیازی- پیشابراهی^۱ (غدد کاویر) و اپیدیدیم نیز به‌میزان کمی در ترشح این مواد دخالت دارند. نمونه منی دارای دو ویژگی کمیت‌پذیر می‌باشد که عبارتند از:

- **تعداد کل اسپرم‌ها** که منعکس کننده تولید اسپرم به‌وسیله بیضه‌ها و قابلیت سیستم مجاری پس از بیضوی^۲ است.
- **حجم کل مایع منی** که غدد جانبی متعددی در تولید آن دخیل بوده و منعکس کننده فعالیت ترشحی غدد تناسلی می‌باشد.

ویژگی‌های ذاتی اسپرم‌ها (شکل، تحرک و زنده بودن آن‌ها) و ترکیبات مایع سمینال نیز در عمل کرد آن‌ها بسیار مهم هستند. در طول آمیزش جنسی، بخش اولیه مایع منی که سرشار از مواد پروستاتیک می‌باشد در تماس مستقیم با مخاط سرویکس بوده و بقیه آن به‌صورت حوضچه‌ای در واژن باقی می‌ماند درحالی‌که در سیستم‌های آزمایشگاهی کل مایع انزالی درون ظرفی جمع گشته، اسپرم‌ها درون لخته‌ای که حاصل فعالیت پروتئین‌های سمینال و زیکول می‌باشد حبس گشته و متعاقب حل شدن لخته در اثر فعالیت پروتئازهای پروستاتیک، آزاد

1 - Bulbourethral glands

2 - Cowper's gland

3 - Post-testicular

فصل ۲: روش‌های استاندارد • ۱۳

می‌دهد. تعیین و محاسبه وسعت این اثر مشکل بوده و به‌ندرت مورد توجه قرار می‌گیرد.

• **اندازه بیضه‌ها** تعداد کل اسپرم‌ها را در هر انزال تحت تاثیر قرار می‌دهد. اندازه بیضه‌ها منعکس‌کننده میزان فعالیت اسپرماتوژنیک آن‌ها بوده و بر روی شکل اسپرم‌ها نیز تاثیر می‌گذارد.

توجه: پارامترهای فوق‌الذکر می‌توانند موجب تفاوت‌های وسیع بیولوژیک در کیفیت نمونه منی گشته و به‌همین علت نیز باید به‌طور دقیق مورد توجه قرار گیرند.

عوامل متعدد دیگری نیز وجود دارند که به‌طور عمده غیرقابل کنترل بوده و ناشی از تفاوت‌های درون فردی در محتویات مایع منی می‌باشند. **شکل ۱-۲** نشان‌دهنده تغییرات در تراکم و تعداد کل اسپرم‌های در طول زمان می‌باشد که به‌وسیله روش‌های پیش‌نهادی سازمان بهداشت جهانی مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند.

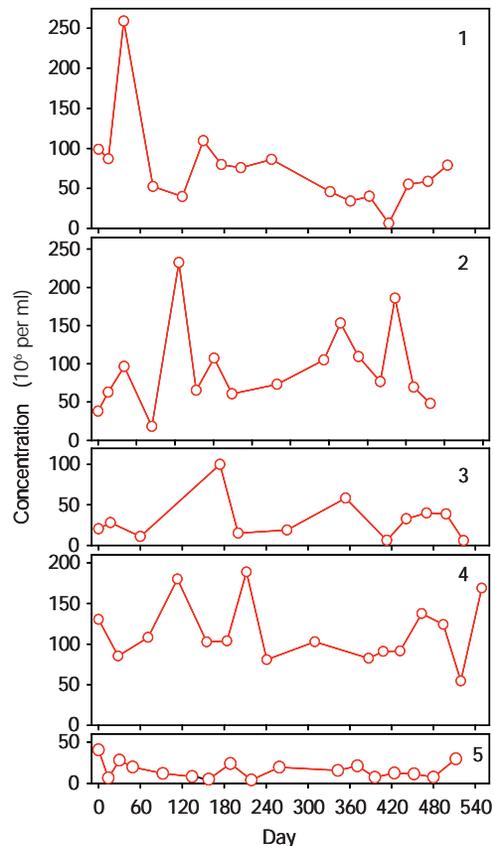
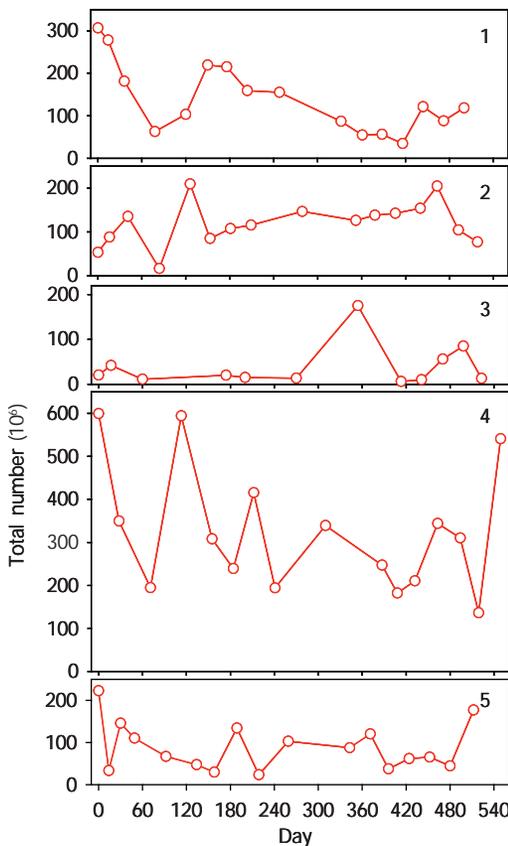
به‌عنوان تعداد کل اسپرم‌های انزالی در نظر گرفته شود زیرا تراکم اسپرم در واحد حجم محاسبه و گزارش می‌شود. برای مثال تراکم اسپرم‌های مایع منی دو مرد جوان و مسن می‌تواند مشابه هم باشد اما تعداد کل اسپرم‌ها معمولاً متفاوت است زیرا حجم مایع سمینال و در نتیجه تعداد کل اسپرم‌ها متناسب با سن کاهش پیدا می‌کنند.

• **مدت زمان سپری شده از آخرین فعالیت جنسی:**

در صورتی که برای مدتی انزال صورت نگرفته باشد، اسپرم‌ها در اپیدیدیم تجمع یافته، سپس داخل پیشابراه لبریز شده و در ادرار ظاهر می‌شوند. بقای اسپرم‌ها و رنگ ضاهری نمونه تحت تاثیر افزایش مدت زمان اجتناب از فعالیت جنسی قرار نمی‌گیرد مگر آن‌که عمل کرد اپیدیدیم مختل شده باشد.

• **عدم تخلیه کامل منی در مقاربت قبلی:** در صورت عدم

تخلیه کامل اپیدیدیم در سیر انزال قبلی برخی از اسپرم‌های حاصل از انزال قبلی باقی می‌مانند که این مسئله، محدوده سنی و کیفیت اسپرم‌های مایع انزالی را تحت تاثیر قرار



شکل ۱-۲. تنوع در تراکم و تعداد کل اسپرم‌های ۵ مرد مورد بررسی در طول دوره یک و نیم ساله

- انجام آزمایش واکنش آنتی گلوبولین مخلوط (MAR)^۱ در صورت نیاز.
- ارزیابی و برآورد سلول‌های پراکسیداز مثبت در صورت حضور سلول‌های گرد.
- آماده‌سازی اسپرم‌ها جهت آزمایشات ایمنولوژیک در صورت نیاز.
- سانتیفریوژ نمونه در صورت نیاز به ارزیابی‌های بیوشیمیایی.
- در صورت نیاز به ارسال نمونه به بخش میکروب‌شناسی، این عمل باید در طی ۳ ساعت نخست بعد از نمونه‌گیری انجام شود.

درباره زمانی حدود ۴ ساعت باید بررسی‌های زیر صورت پذیرد:

- رنگ‌آمیزی و ارزیابی گسترش‌ها جهت تعیین خصوصیات مرفولوژیکی اسپرم‌ها.
- بررسی‌های تکمیلی در همان روز و یا در روز بعد مشروط بر نگه‌داری نمونه در یخچال، صورت می‌پذیرد:
- ارزیابی شاخص‌های غدد جانبی در صورت نیاز.
- انجام آزمایشات ایمنولوژیکی در صورت نیاز.

جمع‌آوری نمونه

تهیه مقدمات

- به‌منظور کاهش تغییرات دمایی و کنترل زمان بین جمع‌آوری و آنالیز نمونه، بهتر است نمونه‌گیری در اتاق ویژه‌ای نزدیک آزمایشگاه صورت پذیرد.
- نمونه باید حداقل ۲ و حداکثر ۷ روز پس از پرهیز جنسی جمع‌آوری شود. در صورت نیاز به نمونه‌گیری مجدد، تعداد روزهای پرهیز جنسی باید ثابت باقی بماند.
- به بیماران باید آموزش‌های کتبی و شفاهی واضحی در مورد نحوه جمع‌آوری داده شده، تأکید گردد که نمونه به‌طور کامل جمع‌آوری گشته و هر گونه کاهش یا فقدان بخش‌های آن اهمیت دارد.
- اطلاعات فردی باید در برگه گزارش ثبت شود. این اطلاعات عبارتند از: نام بیمار، تاریخ تولد، کد ملی، دوره پرهیز جنسی، تاریخ و ساعت جمع‌آوری نمونه، کامل بودن نمونه، هرگونه اشکال در سیر تهیه نمونه و فاصله زمانی بین جمع‌آوری نمونه و شروع آزمایش.

- برای این منظور از پنج داوطلب جوان سالمی استفاده گشت که در یک مطالعه پیش‌گیری از بارداری با هورمون مردانه شرکت نموده و دارونما دریافت کرده بودند.
- در هنگام تفسیر نتایج آنالیز مایع منی توجه به نکات زیر اهمیت دارد:
- به‌نظر می‌رسد که غیرممکن می‌توان با بررسی تنها یک نمونه مایع منی ویژگی‌های کیفی آن را به‌دست آورد.
- آزمایش دو یا سه نمونه برای کسب اطلاعات پایه کمک‌کننده خواهد بود.

هرچند ارزیابی‌های صورت گرفته بر روی تمامی بخش‌های اسپرم‌های انزالی قادر به تشخیص توانایی و ظرفیت لقاح نمی‌باشد زیرا بخش کمی از مایع انزالی به محل لقاح می‌رسد، ولی قادر است اطلاعات مهمی از وضعیت بالینی فرد را در اختیار ما قرار دهد. تمامی جنبه‌های جمع‌آوری و آنالیز نمونه بایستی تحت شرایط و روش‌های استاندارد مناسب انجام پذیرند تا نتایج دارای اعتبار و ارزش‌مند گردند. آزمایشات شرح داده شده در این فصل جزء روش‌های قابل قبولی هستند که گام ضروری در ارزیابی مایع منی را تشکیل می‌دهند. آنالیز نمونه منی به اختصار شامل مراحل زیر می‌باشد که به‌تفصیل در بخش‌های بعدی شرح داده شده‌اند.

درباره مدت ۵ دقیقه بعد از نمونه‌گیری:

- ظرف نمونه را داخل انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار دهید تا منی حالت مایع پیدا کند.
- بعد از ۳۰ دقیقه، نمونه را از انکوباتور خارج سازید.
- **درباره ۳۰ دقیقه بعدی:**
- مایع منی را از نظر ظاهری ارزیابی کنید.
- حجم نمونه را اندازه‌گیری کنید.
- pH نمونه منی را اندازه‌گیری کنید.
- گسترش مرطوبی را جهت بررسی میکروسکوپی نحوه حرکت اسپرم‌ها و تعیین رقت مورد نیاز جهت شمارش تعداد آن‌ها تهیه نمایید.
- در صورت کم بودن درصد اسپرم‌های متحرک، ارزیابی دقیقی از زنده بودن آن‌ها به‌عمل آورید.
- گسترشی جهت ارزیابی‌های مرفولوژی اسپرم‌ها تهیه نمایید.
- رقت‌هایی از مایع منی جهت ارزیابی تراکم اسپرم‌ها تهیه کنید.
- ارزیابی و برآورد تعداد اسپرم‌ها.