

Håndbok for sædanalyse

Nivå - dokument nr.: 2-KKL.IVF.8.02	Versjon: 9.00	Fagansvarlig: seksjonsleder P Fedorcsak
Utarbeidet av: seksjonsleder P Fedorcsak	Gyldig fra: 24.08.2010	Godkjent av: seksjonsleder P Fedorcsak

Stikkord: []

1. Introduksjon.

Formålet med laboratoriehåndboken er å gi henvisende lege utfyllende informasjon om rutine sædanalyse, retningslinjer for henvisning for analyse, prøvetaking, kvalitetssikring og vurdering av prøvesvar, samt forskningssamarbeid med laboratoriet. Laboratoriehåndboken oppdateres løpende og publiseres på laboratoriets hjemmesider.

www.rikshospitalet.no/andrologi.

2. Analyser som utføres ved Andrologisk laboratorium

Analyse	Metode	Referanse -	Referanse -verdi	Kommentar
volum	WHO/NAFA	fertile nordmenn ¹	> 1,4 mL	
pH			7,6 – 9,2	
spermiekonsentrasjon	WHO/NAFA	fertile nordmenn ¹	> 10 millioner/mL	Nedre grense for kvantifisering er ~ 1 millioner/mL.
totalt antall spermier	WHO/NAFA		> 16 millioner	
progressivt motile spermier	WHO/NAFA	fertile nordmenn ¹	>29%	
rask progressive spermier	WHO/NAFA	fertile nordmenn ¹	>12%	
morfologisk normale	NAFA	fertile nordmenn ¹	>2%	De strenge kriteria fra NAFA benyttes ved vurdering av spermimorfologi. Farget preparat arkiveres og sammenstilles ved gjentatt analyse/kontrollprøve.
hodefeil	NAFA	fertile nordmenn ¹	<98%	
nakkefeil	NAFA	fertile nordmenn ¹	<64%	
halefeil	NAFA	fertile nordmenn ¹	<23%	
cytoplasmatiske rester	NAFA	fertile nordmenn ¹	<5%	
teratozoospermie indeks	NAFA	fertile nordmenn ¹	<1,87	
agglutinerings	WHO/NAFA	WHO ²	negativ	Motile spermier bundet til hverandre via antistoff. De har ofte et spesifikt bindingsmønster, for eksempel hode mot hode, hale mot hale eller hode mot hale. Andre celler/cellerester er normalt ikke involvert i agglutinerer.
aggregering	WHO/NAFA	WHO ²	negativ	Sammenklumping av spermier (skyldes oftest stor andel av immotile spermier) og eventuelt andre celler/cellerester. Merkes positiv hvis andelen aggregerte spermier er > 10%.
rundceller	WHO/NAFA	WHO ²	negativ	Ejakulatet inneholder varierende mengde andre celler enn spermier slik som granulocytter og umodne germinalceller. Normalt skal en sædprøve inneholde < 1mill/mL leukocytter og < 5 mill/mL rundceller.
granulocytter	WHO/NAFA	WHO ²	negativ	Normalt skal en sædprøve inneholde < 1mill/mL leukocytter og < 5 mill/mL

				rundceller.
vitalitet	WHO/NAFA	WHO ²	>75%	
anti-spermie antistoff IgG	MAR	WHO ²	negativ	En positiv test har ingen klinisk relevans hvis antall spermier immobilisert av antistoff er lavere enn 40%.
anti-spermie antistoff IgA	MAR	WHO ²	negativ	En positiv test har ingen klinisk relevans hvis antall spermier immobilisert av antistoff er lavere enn 40%.
DNA fragmentering	akridinorange/v æskestrømcytometri	Evenson, 2006 ³	<30%	Farging av spermier med akridinorange kan skille mellom uskadet og skadet celle-DNA. DNA fragmentering hos spermier er sannsynligvis forårsaket av frie radikaler i sædplasma.
DNA fargeopptak	akridinorange/v æskestrømcytometri	Evenson, 2006 ³	<15%	Økt opptak av DNA fargestoff hos spermier indikerer en redusert kondensering av spermiekromatin, og sannsynliggjør abnorm spermiedannelse, slik som det oppstår ved bl. a. globozoospermie.

¹ Referanseverdi fastsatt ved en undersøkelse blant 96 fertile nordmenn, Haugen TB et al. (2006) Semen parameters in Norwegian fertile men. J Androl 27, 66-71

² Referanseverdi fastsatt av WHO manualen (1999).

³ Evenson D and Wixon R (2006) Meta-analysis of sperm DNA fragmentation using the sperm chromatin structure assay. Reprod Biomed Online 12, 466-472

3. Rekvirering av sædanalyse, prøvesvar.

Sædanalyse skjer etter henvisning fra lege. Henvisningen må inneholde pasientens navn og fødselsnummer, legens navn og adresse, hvor prøvesvaret skal sendes, og kort beskrivelse av problemstillingen. Laboratoriets henvisningsskjema kan gjerne benyttes.

Pasienten bør selv avtale time på 23 07 23 29 mellom kl 12.30 og 14.30 på hverdager.

Ved rutine sædanalyse utføres alle analysene nevnt under punkt 2 så vidt de er relevante. Hvis det er behov for analyser utover disse, behov for nedfrysning av sæd, eller behov for utvidet prøvetaking, bør laboratoriet varsles på forhånd, og de ønskede analysene må oppgis og begrunnes på henvisningen.

4. Prøvetaking.

Andrologisk laboratorium analyserer ejakulert sæd, urin som er blitt samlet etter onanering ved retrograd ejakulasjon, eller ejakulat samlet etter vibro/elektrostimulasjon.

Ejakulert sæd.

Pasienter med lang reisevei (>1time) må ta prøven ved Andrologisk laboratorium.

Pasienter med kort reisevei (< 1time) kan ta prøven hjemme som følger:

- Det bør være minimum 2 og maksimum 7 døgn siden siste sædavgang.
- Sterilt prøvebeholder (for eksempel urinbeholder 60 ml) skal benyttes.
- Hånd og penis vaskes først med mild såpe og skylles godt med vann.
- Prøven tas direkte i prøvebeholderet ved masturbasjon. Avbrutt samleie, oppsamling med kondom eller lignende er ikke tillatt.
- Hele sædvolumet samles i prøvebeholderet.
- Beholderet merkes med navn, fødselsnummer og dato for prøvetaking.

- Prøven transporteres snarest mulig (innen 1 time) til laboratoriet, og holdes nær kroppstemperatur (for eksempel under jakken).

Retrograd ejakulasjon.

Sædprøve i forbindelse med retrograd ejakulasjon må tas ved Andrologisk laboratorium etter følgende forberedelser:

- Det anbefales 2 – 7 dagers seksuell avholdenhet før prøvetaking.
- Kvelden før prøvetaking drikker pasienten ca. 5 g natriumbikarbonat (en teskje Natron) oppløst i et glass vann.
- Morgenurinen tømmes i toalettet som vanlig.
- Heretter drikkes en teskje Natron oppløst i et glass vann.
- Frokost inntas med rikelig drikke (mer enn ½-1 liter). Cola og sitrussaft (appelsinjuice) må unngås.
- Frammøte ved Andrologisk laboratorium ved avtalt tidspunkt.

Natron kan kjøpes på apotek eller dagligvarebutikk.

Brennende magesmerter kan lindres av 1-2 Link tyggetabletter eller 10-20 ml (ca 1 spiseskje) Link mikstur (kan kjøpes på apotek).

Anejakulasjon.

Prøvetaking kan forsøkes ved vibrostimulering eller elektroejakulasjon. Laboratoriet må kontaktes for nærmere avtale. Cytologiske nåleaspirater/biopsier fra epididymis eller testikkel analyseres etter nærmere avtale.

5. Kvalitetssikring.

Kvalitetssystem og kvalitetsovervåking.

Sædanalyse er en innledende undersøkelse ved infertilitetsutredning som ofte gir grunnlag for viktige kliniske beslutninger. Korrekt utført sædanalyse er derfor avgjørende.

Nøyaktigheten påvirkes av flere variasjonskilder. Sædkvaliteten varierer i stor grad mellom ulike menn og også mellom gjentatte sædprøver fra samme mann, og dette gjør at den *biologiske variasjonen* ved sædanalysen blir stor, særlig hos subfertile menn. I tillegg vil det alltid være en viss variasjon mellom målinger utført av ulike bioingeniører/instrumenter, og også mellom gjentatte observasjoner av samme bioingeniør/instrument, og dette er kilden til den *analytiske variasjonen*. Ved nøyaktig sædanalyse skal den analytiske variasjonen ikke overstige en viss andel av den biologiske variasjonen.

ISO 17051, Norske akkreditering dok 48a, WHO manualen (1999) og NAFA manualen forordner en rekke prosedyrer for å etablere, kontinuerlig overvåke og ved avvik, gjenopprette kvaliteten ved sædanalyse. På Andrologisk laboratorium etableres analysenøyaktighet og riktighet ved duplikat prøveanalyse, bruk av kontrollert prøveidentitetskjede, detaljerte prosedyrer, kalibrerte måleinstrumenter og opplæring. Analyse kvaliteten overvåkes rutinemessig i hht analytisk variasjon og tidsrelatert drift hos analyseresultatene. Analysens riktighet verifiseres gjennom sammenligning med referanselaboratoriet ved ESHRE External Quality Control program.

Analytisk og biologisk variasjon ved sædanalyse.

Tabellen nedenfor viser den *analytiske* og den *totale* (*biologiske + analytiske*) variasjonen ved kvantifiserbar standard sædanalyse, herunder konsentrasjon, motilitet og morfologi. Ved de øvrige analysene kan variasjonen bare delvis beregnes fordi analysen er vanskelig å

kvantifisere (rundceller, granulocytter, beskrivelse av morfologisk avvik og svarvurdering) eller fordi det ikke finnes referansestandard (MAR, SCSA, vitalitet).

Analyse	Kvalitetskontroll	variasjonskoeffisient (KV)	
		analytisk ¹	biologisk + analytisk ²
spermiekonsentrasjon	ESHRE	19%	71%
progressivt motile spermier	ESHRE	10%	27%
rask progressive spermier	ESHRE	36%	56%
morfologisk normale	ESHRE	33%	102%
teratozoospermie indeks	ESHRE	3%	22%
anti-spermie antistoff	ingen	ukjent	ukjent
DNA fragmentering	ingen	6%	57%
DNA fargeopptak	ingen	6%	43%

¹ Beregnes og oppdateres kvartalmessig basert på data av intern kvalitetskontroll. Sist oppdatert 06.05.09.

² Beregning er basert på 1154 nordmenn henvist til Andrologisk laboratorium for gjentatte sædundersøkelser i forbindelse med infertilitetsutredning. Oppdatert 14.10.09.

6. Vurdering av analyseresultat.

De vanligste kliniske spørsmål ved sædanalysen er vurdering av pasientens spontane befruktningsevne og valg av behandlingsmetode ved assistert befruktning. Dessverre kan ikke disse besvares bare utfra en enkel sædanalyse. Ved vurdering av analyseresultatet bør følgende tas i betraktning:

- Sædanalysen er ikke en absolutt test av fruktbarheten, men en indirekte undersøkelse av sædens/spermienes biologisk funksjon.
- Den biologiske variasjonen ved sædkvaliteten hos samme mann er særdeles stor, spesielt hos infertile menn.
- Sædkvaliteten påvirkes av sykdom, spesielt sykdom med høy feber i løpet av perioden når ejakulerte spermier blir dannet.
- Spermiogenesen tar 3-4 måneder.

Ved avvikende resultat foreslås derfor en ny sædanalyse. Bare avvik som blir bekreftet av en kontrollprøve kan indikere at spontan befruktningsevne er redusert, og at det foreligger mistanke om mannlig infertilitet. Ved tolkning er det best å bruke sannsynlighetsberegning, f. eks.: for en mann med 50 millioner/ml spermiekonsentrasjon er det ca. 15-21% sannsynlighet for å oppnå graviditet med frisk partner i en menstrualsyklus, mens sannsynligheten er ca. 7-14% for en mann med 10 millioner/ml spermiekonsentrasjon (*Lancet*, 1998; 352:1172-77). Menn med levende bevegelige spermier bør ikke erklæres sterile.

7. Forsknings samarbeid.

Laboratoriet ønsker velkommen til vitenskapelig samarbeid, og vil gjerne delta i prosjekter initiert av eksterne forskere.

Avtale og samarbeid.

Vitenskapelige undersøkelser må avtales med laboratoriet på forhånd. Laboratoriet ønsker å bli involvert i søknadsprosessen til etisk komité. Når analysedata skal benyttes vitenskapelig, blir det vurdert om undersøkelsen krever større nøyaktighet og presisjon enn de krav som stilles ved rutineanalyser, og om metodene må tilpasses de spesielle prosjekter (ev.utvide analyserepertoar). I forbindelse med oppdragsprosjekter har oppdragsgiver tilbud om innsyn i den del av avdelingens virksomhet som omfattes av prosjektet.

Publisering av resultater.

Ved bruk av resultater fra laboratoriet i vitenskapelige publikasjoner, må laboratoriets sjef være orientert om dette, og det må opplyses om hvor analysesvarene stammer fra. Laboratoriet ønsker å være involvert i dataanalyse, tolkning av funn og beskrivelse av laboratoriemetoder.

Referanser og vedlegg

Kryssreferanser

Eksterne referanser

Vedlegg

--	--