



Фото: Фотодженика

Исследование спермы: подборка ответов экспертов на вопросы и СОПы

Исследование спермы

Подборка ответов экспертов на вопросы и СОПы

Анонс

Исследование спермы вошло в программу репродуктивного скрининга мужчин в рамках диспансеризации населения (письмо Минздрава от 08.04.2024 № 17-6/И/2-6434). На самые распространенные вопросы сотрудников КДЛ, внедряющих эту лабораторную услугу в практику, отвечают эксперты журнала. Шаблоны документов, необходимые для исследования эякулята, прилагаются.

Автор-составитель

Елена Владимирова, шеф-редактор журнала
«Справочник заведующего КДЛ»



Содержание

Исследование спермы: ответы на распространенные вопросы сотрудников КДЛ	4
Олигозооспермия: какие клиничко-лабораторные подходы использовать в диагностике	14
Ретроградная эякуляция: какие особенности лабораторной диагностики	27
Как организовать в КДЛ исследования спермы	35
Референсный диапазон при исследовании секрета предстательной железы: на какие источники опираться	53
Базовое исследование эякулята: на какие документы опираться специалистам КДЛ	57

Исследование спермы: ответы на распространенные вопросы сотрудников КДЛ

Посмотрите ответы экспертов на вопросы заведующих об организации исследования спермы в КДЛ.

Как фиксировать сперму для подсчета количества сперматозоидов? Можно ли использовать что-то еще, кроме формалина 40%?



Жанна Юрьевна Давидова, руководитель
Национального центра клинических исследований ФГБУ
«Национальный институт качества» Росздравнадзора:

– Фиксация препарата эякулята формалином 40% – это требование устаревшей методике, получившей распространение в то время, когда не существовало медизделий для диагностики *in vitro*, прошедших госрегистрацию в РФ, для базовой оценки эякулята человека. Сегодня разработан отечественный набор реагентов для цитохимического окрашивания клеточного состава эякулята для анализа спермы человека микроскопическим методом. Набор содержит компоненты, позволяющие стандартизовать рутинную спермограмму. Фиксирование образца эякулята рабочими растворами реагентов позволяет провести окрашивание и количественную оценку клеток, содержащих пероксидазу, а также фиксировать подвижные клетки (сперматозоиды) для подсчета их концентрации в камере Горяева при разведении эякулята от 1 : 10 и выше с использованием соответствующих формул.



Светлана Вячеславовна Кулешова, старший преподаватель кафедры КЛД и постдипломного образования АПО ФМБА России:

– Для обездвиживания сперматозоидов и разведения спермы можно использовать 5% NaCl или раствор Барбагалло (7 мл 40% формалина и 93 мл 0,85% раствора NaCl) – такие данные указаны в учебнике «Лабораторная диагностика мужского бесплодия», авторы: В.В. Долгов, С.А. Луговская, издательство: Триада, 2005. Так как эякулят имеет повышенную вязкость, то для взятия точного объема рекомендуется использовать стеклянные пипетки, автоматические семплеры с коническим наконечником могут привести значительную погрешность при работе с вязкими растворами. В настоящее время доступны так называемые «позитивно перемещающие» пипетки со сменными одноразовыми наконечниками, применяемые для ПЦР в работе с вязкими жидкостями.

Приобрели анализатор спермы. В каких случаях необходимо проводить обязательную микроскопию эякулята?



Жанна Юрьевна Давидова, руководитель Национального центра клинических исследований ФГБУ «Национальный институт качества» Росздравнадзора:

– Использование анализатора не исключает применение набора реагентов для цитохимического окрашивания клеточного состава эякулята для анализа спермы человека методом микроскопии, потому что технические возможности анализаторов и функциональные возможности наборов реагентов дополня-

Исследование спермы

Подборка ответов экспертов на вопросы и СОПы

ют друг друга. К примеру, анализатор не определяет концентрацию лейкоцитов (пероксидазо-положительных клеток), что восполняется применением набора реагентов. Вязкий эякулят невозможно аликвотировать в капилляры для проведения автоматизированного исследования, в свою очередь, в состав набора входит реагент для разжижения вязкого эякулята и т. д.



Светлана Вячеславовна Кулешова, старший преподаватель кафедры КЛД и постдипломного образования АПО ФМБА России:

– Микроскопия обязательна при любом сомнении. Но обычно приборы достаточно точно коррелируют с «глазами».

На какую патологию могут указывать двух- и более жгутиковые сперматозоиды?



Жанна Юрьевна Давидова, руководитель Национального центра клинических исследований ФГБУ «Национальный институт качества» Росздравнадзора:

– Тератозооспермию, вероятно, связанную с генетическими аномалиями сперматозоидов. Для более глубокой информации необходимо обратиться к научным публикациям. К примеру, дефекты гена DNAH2 лежат в основе мужского бесплодия с множественными морфологическими аномалиями жгутиков сперматозоидов у людей и мышей и др.

Как считать лейкоциты в спермограмме (без камеры Маклера)? В руководстве ВОЗ не указано



Жанна Юрьевна Давидова, руководитель
Национального центра клинических исследований ФГБУ
«Национальный институт качества» Росздравнадзора:

– В настоящее время на территории РФ руководство ВОЗ по исследованию и обработке эякулята человека не является документом, регламентирующим проведение методики, поэтому искать ответы на вопросы там нецелесообразно.

Подсчет концентрации лейкоцитов (пероксидазоположительных клеток) необходимо согласно пошаговой инструкции по применению используемого в вашей КДЛ набора реагентов для цитохимического окрашивания клеточного состава эякулята для анализа спермы человека микроскопическим методом. ППК рассчитывается согласно инструкции к набору. Пример приведен в памятке (приложение 1).

Влияют ли на показатели спермограммы расовые (географические) особенности?



Лада Леонидовна Михалева, биолог клинической
лабораторной диагностики ГБУЗ «Детская краевая
клиническая больница», Краснодар:

– На сегодняшний день опубликованы исследования, которые описывают различия в качестве семенной жидкости у представителей европеоидной расы и азиатской. Сравнивались средние показатели спермограммы и доля мужчин с субоптимальными параметрами по критериям Всемирной организации здравоохранения пятой редакции в зависимости от возраста. Установлено, что если объем семенной жидкости в среднем выше у белых мужчин, то у азиатов вы-

ше концентрация сперматозоидов и их общее количество. То есть мужчины азиатской расы имеют в среднем более высокое качество спермы*.

В 2021 году было проведено первое крупномасштабное российское исследование, описывающее качество спермы и уровень репродуктивных гормонов среди молодых мужчин из четырех городов и трех этнических групп, проживающих в Сибирском регионе России. Сотрудниками Федерального исследовательского центра «Институт цитологии и генетики» Сибирского отделения Российской академии наук (Новосибирск, Россия) были исследованы образцы спермы и крови 1291 молодых людей из Новосибирска, Кемерово, Улан-Удэ и Якутска, в том числе 1013 мужчин трех наиболее многочисленных этнических групп: славян, бурят и якутов. Была также предоставлена информация об образе жизни и этнической принадлежности. Обнаружены значительные региональные и этнические различия в показателях спермы и репродуктивных гормонов. Средние концентрации сперматозоидов в Новосибирске, Кемерово, Улан-Удэ и Якутске составили 54.6, 39.9, 34.7, 33.1 × 10⁶ / мл; общее количество сперматозоидов – 202.5, 138.7, 97.9, 93.4 × 10⁶; процент морфологически нормальных сперматозоидов – 7.8, 6.5, 6.3, 5.0% соответственно. Средние концентрации сперматозоидов у славян, бурят и якутов составили 43.7, 37.0, 30.6 × 10⁶ / мл; общее количество сперматозоидов – 150.0, 102.3 и 74.8 × 10⁶; процент морфологически нормальных сперматозоидов – 6.8, 6.8, 4.8% соответственно. Полученные данные позволили сделать вывод, что этнический состав и окружающая среда могут влиять на региональные различия в параметрах спермы и репродуктивных гормонов**.

Таблицы с некоторыми референсными значениями спермограммы – в приложении 2.

* Yash S. Khandwala, Chiyuan A. Zhang, Shufeng Li, Barry Behr, David Guo, Michael L. Eisenberg; Department of Urology, Stanford University School of Medicine, Stanford, University of California San Diego School of Medicine, La Jolla, CA

** Региональные и этнические различия в качестве спермы и репродуктивных гормонах в России: Сибирское популяционное когортное исследование молодых мужчин // Андрология. 2021 №9. С. 1512–1525. doi: 10.1111/andr.13024. Epub 2021 19 мая

Как рассчитать время и трудоемкость одного исследования образца эякулята?



Жанна Юрьевна Давидова, руководитель
Национального центра клинических исследований ФГБУ
«Национальный институт качества» Росздравнадзора:

– Время и трудоемкость определяется ТАТ (turnaroundtime), или временем оборота теста. ТАТ базовой оценки эякулята (спермограммы) напрямую связан с видом технологии выполнения методики: автоматизированная, полуавтоматизированная, «ручная» (световая микроскопия), на основе искусственного интеллекта либо гибридные (смешанные технологии).

В инструкции производителя каждой из перечисленных технологий должно быть определены этапы и временной интервал исполнения каждого из них. Также необходимо учитывать знания и практические навыки специалистов, принимающих участие в реализации той или иной технологии спермограммы на всех ее этапах, исправность основного и вспомогательного диагностического оборудования, работу ЛИС и много других факторов, которые способны повлиять на ТАТ.

Важно, чтобы процесс спермограммы выполнял хорошо обученный специалист: это позволит минимизировать временные и имиджевые потери для медицинской организации в целях своевременного и качественного оказания медицинской услуги пациенту.

Перед выбором технологии необходимо хорошо ознакомиться с каждой из них, подобрать подходящую, согласно потоку биоматериала в смену, и пройти обучение по соответствующей программе повышения квалификации – например, по тематике «Анализ спермы человека», «Практический курс спермограммы» и т. п., аккредитованных НМО. Перечень образовательных программ для специалистов ме-

Исследование спермы

Подборка ответов экспертов на вопросы и СОПы

дицинской лаборатории высшего и среднего звена можно найти на сайте ssc-school.com. (одобрено Росздравнадзором).

Какие обязательные требования к подготовке специалистов КДЛ, проводящих исследование спермы? Кто имеет право проводить такое исследование?



Татьяна Ивановна Долгих, заведующая кафедрой медицинской микробиологии и лабораторной медицины ПИУВ – филиала РМАНПО:

– Нормативно этот вопрос пока не закреплён. Обязательной подготовки на циклах не предусмотрено.

Как регистрировать склеивание неподвижных сперматозоидов друг с другом – как агглютинацию?



Светлана Вячеславовна Кулешова, старший преподаватель кафедры КЛД и постдипломного образования АПО ФМБА России:

– Под агглютинацией сперматозоидов подразумевают склеивание подвижных сперматозоидов между собой головками, хвостами или головок с хвостами. Склеивание неподвижных сперматозоидов друг с другом или подвижных сперматозоидов с нитями слизи, другими клетками или остатками клеток следует считать и регистрировать не как агглютинацию, а как неспецифическую агрегацию*. При исследовании ре-

* Ермолаева Т.Д., Тельминова Л.В. Общеклинические исследования. Анализ эякулята (спер-

Исследование спермы

Подборка ответов экспертов на вопросы и СОПы

гистрируют тип агглютинации (головками, хвостами, смешанный вариант). Можно использовать полуколичественный метод оценки степени агглютинации от «-» (отсутствие агглютинации) до «+++» (тяжелая степень, при которой все подвижные сперматозоиды подвержены агглютинации). В норме склеиваются не более 3–5%. Если количество агглютинированных сперматозоидов составляет 10–15%, можно говорить о понижении их оплодотворяющей способности.

Приложение 1. Памятка «Как рассчитать концентрацию пероксидазо-положительных клеток в эякуляте»

Проведение исследования

1. Тщательно перемешайте образец спермы, не допуская образования пузырьков и пены.
2. В пробирку поместите аликвоту из 20 мкл спермы и 180 мкл рабочего раствора (разведение 1 : 10) – готовая смесь исследуемого раствора.
3. Аккуратно перемешайте суспензию в пробирке в течение 10 секунд стеклянной палочкой и инкубируйте при комнатной температуре в течение 30–45 минут.
4. После предварительного аккуратного повторного перемешивания суспензии заполните две стороны камеры Горяева для двукратного подсчета лейкоцитов с последующим определением средней величины (в целях минимизации ошибки).
5. Для осаждения клеток удерживайте камеру Горяева горизонтально не менее 4 минут при комнатной температуре.
6. Оцените заполненные камеры в световом микроскопе при увеличении $\times 200$ или $\times 400$.
7. Подсчитывайте число ППК в квадратах камеры Горяева с помощью лабораторного счетчика.

ВНИМАНИЕ! Пероксидаза-положительные клетки окрашиваются в коричневый цвет, пероксидаза-отрицательные клетки не окрашиваются.

Приложение 2. Референсные интервалы спермограммы***Оценка морфологии сперматозидов**

Объем – 2,0 мл или более.

pH – 7,2 или более.

Концентрация – 20×10^6 сперматозоидов/мл или более.

Общее количество – 40×10^6 сперматозоидов и более в эякуляте.

Подвижность – 50% или более подвижных (категория а + b); 25% или более с поступательным движением (категория а) в течение 60 минут после эякуляции.

Жизнеспособность – 50% или более живых, то есть неокрашенных.

Лейкоциты – менее 1×10^6 мл.

Классификация показателей эякулята

Нормозооспермия – нормальный эякулят.

Олигозооспермия – концентрация сперматозоидов ниже нормативных значений.

Астенозооспермия – подвижность ниже нормативных значений.

Тератозооспермия – морфология ниже нормативных значений.

Олигоастенотератозооспермия – наличие нарушений всех трех показателей.

Азооспермия – нет сперматозоидов в эякуляте.

Аспермия – нет эякулята.

Оценка результатов макроскопического исследования эякулята*

Показатель	Характеристика	Интерпретация
Цвет	Серовато-беловатый, слегка опалесцирующий	Норма
	Почти прозрачный	Концентрация сперматозоидов очень низка
	Красновато-коричневатый	Присутствие эритроцитов
	Зеленоватый	Пиоспермия
	Желтоватый	Желтуха, прием некоторых витаминов, при длительном воздержании
Реакция	pH 7,2–7,8, слабощелочная	Норма
	Ниже 7,0	В образце с азооспермией – наличие обструкции или врожденного двустороннего отсутствия семявыносящих протоков
	9,0–10,0, щелочная	Патология предстательной железы
Объем	2–6 мл	Норма
	Менее 1 мл	Андрогенная недостаточность, эндокринные заболевания, сужения и деформации пузырьков, семявыводящих путей

* Ермолаева Т.Д., Тельминова Л.В. Общеклинические исследования. Анализ эякулята (спермограмма) // Справочник «Лабораторная диагностика инфекционных болезней» под редакцией В.В. Покровского, М.Г. Твороговой, Г.А. Шипулина. М.: Бино, 2013. С. 318–325

Олигозооспермия: какие клинико-лабораторные подходы использовать в диагностике

Жанна Юрьевна Сапожкова

руководитель Международной Школы
Цитологии & Медицинской Школы Инноваций,
к. м. н.

Посмотрите обзор современной литературы об олигозооспермии – патологии репродуктивной системы мужчин. Перечислены основные факторы, которые могут вызвать снижение общего количества сперматозоидов. Представлены варианты расчета количества и концентрации сперматозоидов.

Олигозооспермия – одна из наиболее распространенных причин мужского бесплодия, характеризующаяся снижением общего количества сперматозоидов <39 млн сперматозоидов/мл или снижением концентрации сперматозоидов <15 млн сперматозоидов/мл при двукратном базовом исследовании эякулята.

При постановке диагноза «олигозооспермия» предпочтение всегда следует отдавать снижению общего количества сперматозоидов в эякуляте, так как этот параметр более важен по сравнению с концентрацией. В 6-м издании (2021) справочных критериев руководства ВОЗ по исследованию и обработке эякулята человека не сообщается о критериях поставки диагноза «олигозооспермия» [8]. Комиссия по руководящим принципам Европейской ассоциации урологов считает, что оценочные критерии по 5-му лабораторному

руководству ВОЗ (2010) по-прежнему клинически актуально в повседневной практике [10].

Количество и качество эякулята

Определение концентрации и общего количества сперматозоидов в эякуляте имеет первостепенное значение для оценки факта фертильности. Эти параметры указывают на выработку сперматозоидов яичками, проходимость мужских половых путей и количество сперматозоидов, попадающих в женский яйцевод во время полового акта.

Количество сперматозоидов свидетельствует об активном поступлении сперматозоидов в мочеиспускательный канал благодаря сокращениям гладкой мускулатуры придатка яичка и семявыносящего протока. На этот процесс влияют нервные сигналы, поступающие к гладкомышечным клеткам, таким как семявыносящие протоки, железы и сфинктер мочевого пузыря. Более того, гладкие мышечные клетки контролируют приток и отток крови к эректильным тканям полового члена, наряду с поперечнополосатыми бульбокавернозными мышцами и мышцами промежности, которые влияют на эректильную функцию и перенос сперматозоидов в мочеиспускательный канал.

Концентрация сперматозоидов в эякуляте отражает состояние мужской фертильности и функции яичек, зависит от объема содержимого семенных пузырьков и предстательной железы.

Возможные факторы, приводящие к олигозооспермии

Эндокринная дисфункция. Причинами возникновения олигозооспермии могут стать дисфункции гипоталамуса, гипофиза, надпочечников, гипер- и гипотиреоз. Дисфункция гипоталамуса вызывается некоторыми врожденными аномалиями (например, синдром Кляйфельтера). Диагноз основывается на нарушении полового созревания. Дисфункция гипофиза может возникать из-за нескольких патологий, включая неоплазию и инфильтративные заболевания.

Эти ситуации могут привести к дефициту гонадотропинов. С другой стороны, использование андрогенных стероидов или злоупотребление ими может повлиять на активность гипофиза, как и терапия глюкокортикоидами.

Дисфункция надпочечников, обусловленная, к примеру, гиперплазией, – врожденное заболевание, приводит к дефициту фермента 21-гидроксилазы, который снижает выработку глюкокортикоидов и увеличивает выработку андрогенов из-за более высокого уровня АКТГ. Это состояние подавляет гипоталамо-гипофизарно-гонадную систему, что негативно влияет на нормальный сперматогенез.

Гипертиреоз может вызывать задержку сперматогенеза, снижение подвижности сперматозоидов и уменьшение массы яичек. Гипотиреоз приводит к снижению объема эякулята, снижает активность сперматогенеза, уменьшает количество семенных канальцев [13–18].

Генетические аномалии. При врожденных хромосомных аномалиях (например, синдроме Клайнфельтера) наследуемая дополнительная X-хромосома приводит к фенотипическим аномалиям у пациентов, таким как гинекомастия, маленькие размеры яичек, гиалинизация семенных канальцев, гипергонадотропный гипогонадизм и тяжелая олигоспермия/азооспермия.

Микроделеции Y-хромосомы, особенно связанные с локусом фактора азооспермии (AZF) на q-плече Y-хромосомы, приводят к мужскому бесплодию. В зависимости от области, измененной AZF, у пациента может наблюдаться «сертоликлеточный синдром», задержка созревания и олигосперматогенез. Эти изменения могут происходить в разных областях яичек, что приводит к различной морфологической картине. Муковисцидоз приводит к двустороннему отсутствию семявыносящих протоков, что вызывает обструктивную азооспермию.

Анатомические аномалии. *Варикоцеле* проявляется в виде аномально расширенных и извилистых вен в сплетении семенного канатика. Патогенез является сложным и многофакторным и до конца не изучен. Считается, что это может привести к гипертермии мошонки, гипоксии, оттоку метаболитов из почек и надпочечников, гормональному дисбалан-

су и образованию антиспермальных антител. Повышенная температура мошонки нарушает нормальный сперматогенез, влияет на качество спермы, функцию сперматозоидов, гистологию яичек и уровень репродуктивных гормонов. Окислительный стресс и снижение общего антиоксидантного потенциала приводят к окислению жирных кислот в мембране сперматозоидов, что приводит к нарушению подвижности и функции сперматозоидов [15, 17, 19].

Обструкция семявыносящих протоков, помимо других симптомов, может вызывать аспермию, азооспермию или олигоастеноспермию. Это может быть вызвано пороком развития семявыносящих протоков, кистами предстательной железы средней линии, фиброзом вследствие простатита или семенного везикулита, камнями в семенных пузырьках или рубцами после эндоскопии.

Крипторхизм может быть приобретенным или врожденным заболеванием. Он связан с уменьшением количества половых клеток, уменьшением размера яичек и количества зародышевых клеток. Потеря сперматогониальных стволовых клеток приводит к азооспермии или олигозооспермии [20–23].

Прием некоторых лекарственных препаратов. Противоопухолевые препараты могут быть гонадотоксичными. Комбинированное лечение лучевой терапией и химиотерапией вызывает более выраженный токсический эффект, чем любой из этих методов в отдельности. Гонадотоксический эффект лучевой терапии зависит от дозы и метода введения. Некоторые химиотерапевтические препараты проникают через гематоэнцефалический барьер и воздействуют на половые клетки непосредственно или путем гиалинизации и фиброза интерстициальной ткани яичек.

Опиоиды в высоких дозах снижают уровень тестостерона, что приводит к гипогонадизму. Морфин повышает экспрессию ароматазы в яичках, снижая их функцию. Глюкокортикоиды могут нарушать работу гипоталамо-гипофизарно-гонадной системы, снижая уровень тестостерона [16, 24–26].

Повреждения яичек. Острые, бессимптомные инфекции, а также некоторые хирургические вмешательства могут стать причиной развития олигозооспермии. Эпидемический паротит может вызывать орхит. Повреждение яичек проявляется отеком и болью в мошонке. Последствиями паротидного орхита являются атрофия зародышевого эпителия и остановка сперматогенеза. Известно также, что COVID-19 может влиять на качество спермы. Вялотекущие инфекционно-воспалительные процессы в мужских добавочных половых железах, которые плохо поддаются лабораторной диагностике в виду хронизации процессов, также влияют на качество спермы.

Повреждение сосудов (перекрут) в одностороннем порядке может привести к иммунологическому повреждению противоположного яичка. Риск перекрута яичка при крипторхизме увеличивается в десять раз. У пациентов с односторонним крипторхизмом наблюдается нарушение сперматогенеза. Хирургическое вмешательство (односторонняя орхидэктомия) при лечении рака яичек также может привести к снижению количества сперматозоидов [16, 27, 28].

Факторы окружающей среды. Некоторые химические вещества могут воздействовать на сперматозоиды, изменяя текучесть плазматической мембраны и мембранный потенциал. Кроме того, эти химические вещества способны активировать апоптоз, изменять функцию митохондрий (усиливать регуляцию проапоптотических генов) и могут действовать как эндокринные разрушители.

Тяжелые металлы, такие как медь (Cu), свинец (Pb) и кадмий (Cd), могут изменять уровень репродуктивных гормонов, таких как тестостерон. Кроме того, тяжелые металлы способны вызывать окислительный стресс и считаются эндокрин-

Внимание

Олигозооспермию можно классифицировать как легкую (10–15 млн сперматозоидов/мл), умеренную (5–10 млн сперматозоидов/мл) или тяжелую (<5 млн сперматозоидов/мл).

ными разрушителями, которые вредны для яичек. Например, Cd способен разрушать гематоэнцефалический барьер.

Пестициды считаются эндокринными разрушителями, которые способны ухудшать качество спермы. Пестициды могут влиять на сперматогенез гормональным или генотоксическим путем. Фосфорорганические соединения могут влиять на концентрацию сперматозоидов, повреждая семенной эпителий в результате пролиферации половых клеток [29–33].

Образ жизни. Ожирение может привести к повышению уровня лептина и инсулинорезистентности и, следовательно, к снижению выработки ГнРГ (гонадотропин-рилизинг-гормон). Увеличение экспрессии ароматазы приводит к дефициту андрогенов (ускоряет превращение тестостерона в эстрадиол).

Курение сигарет связано с лейкоцитоспермией (источником АФК/активных форм кислорода) и отрицательно влияет на количество сперматозоидов, их подвижность и морфологию.

Употребление алкоголя влияет на гипоталамогипофизарно-гонадную систему, нарушая выработку гонадотропин-рилизинг-гормона (ГнРГ), фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), лютеинизирующего гормона (ЛГ) и тестостерона и, следовательно, негативно влияя на сперматогенез.

Наркотики, такие как кокаин, ассоциированы с нарушением сперматогенеза и повреждением ультраструктуры яичек.

Стресс активирует гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую систему, повышая уровень глюкокортикоидов, которые снижают (или подавляют) секрецию тестостерона, что, следовательно, влияет на сперматогенез.

Нарушение сна может привести к повышению уровня серотонина, это в конечном итоге отрицательно сказывается на концентрации, подвижности и морфологии сперматозоидов. Продолжительность сна влияет на их концентрацию [34, 35].

Возраст. Старение может ухудшать параметры сперматозоидов, усиливая окислительный стресс и выработку активных форм кислорода. Также олигозооспермию связывают с апоптозом внутри развивающейся популяции половых клеток

и повышенным индексом фрагментации ДНК в сперматозоидах [10].

Несмотря на значительные достижения в последние несколько десятилетий, этиологию мужского бесплодия удается выявить не более чем у 50% пациентов, остальная доля случаев олигозооспермии по-прежнему остается необъяснимой [10].

Лабораторная диагностика олигозооспермии

Подсчет концентрации осуществляют в 1 мл эякулята и общего числа сперматозоидов во всей порции эякулята [7, 8]. Руководство ВОЗ рекомендует для подсчета концентрации сперматозоидов следующие приборы:

- ~ гемоцитометр Нейбауэра или камеру Горяева (глубина счетного окошка около 100 мкм) – для стандартного исследования;
- ~ камеру Маклера (глубина счетного окошка около 10 мкм) – для экспресс-подсчета, результаты на 30% менее точные, чем при использовании гемоцитометра.

Национальный стандартизированный протокол подсчета концентрации сперматозоидов представлен в первом российском наборе реагентов для оценки всех параметров спермограммы (2021/13931 от 06.04.2021, ©2726207, научный идеолог и разработчик ООО Компания Лайф энд Квалити»/Международная Школа Цитологии & Медицинская Школа Инноваций), который применяется в российских медицинских лабораториях. Стандартизированная процедура, одобренная Росздравнадзором, предполагает использование камеры Горяева, где ведется подсчет с использованием двух

К сведению

По данным лабораторного руководства ВОЗ, анализ спермы следует проводить на образцах, полученных после как минимум 2-дневного и максимум 7-дневного воздержания. Для точной оценки количества сперматозоидов требуется сбор всей порции эякулята. Первая эякулируемая фракция составляет 15–45% от всего объема спермы, она наиболее богата сперматозоидами, обогащена секретом предстательной железы и эпидидимиса. Важно не пропустить первую каплю эякулята.

возможных вариантов. Расчет концентрации сперматозоидов представлен в памятке.

Строгое соблюдение всех этапов выполнения базового анализа спермы человека наряду с комплексной оценкой всех параметров спермограммы позволяет поставить безошибочный диагноз. Ключевая роль принадлежит профессиональной компетенции специалиста клинической лабораторной диагностики среднего и высшего звена, которые обязаны быть в курсе всех изменений в протоколах анализа. Достоверный результат анализа спермы также напрямую зависит от материально-технического обеспечения для выполнения исследования, которое может быть как неавтоматизированным, так и с применением анализаторов и гибридных технологий.

Список использованной литературы

1. Клинические рекомендации «Мужское бесплодие» (утв. Минздравом), разработчик: общероссийская общественная организация «Российское общество урологов», одобрено Научно-практическим Советом Минздрава РФ, 2021.
2. Стандарт оказания медицинской помощи мужчинам при бесплодии. Приказ Минздрава от 08.02.2022 № 62н «Об утверждении стандарта медицинской помощи мужчинам при бесплодии (диагностика и лечение)» (Зарегистрирован 22.03.2022 № 67830).
3. Патент РФ 2 726207. Способ комбинированного измерения концентрации пероксидазоположительных клеток (нейтрофильных гранулоцитов) и сперматозоидов в эякуляте человека с использованием вариаций на основе цитохимического окрашивания / Сапожкова Ж.Ю., Еремин К.И. Заявл. 2019136865, 18.11.2019. Опубл. 09.07.2020. Бюл. № 19.
4. Сапожкова Ж.Ю., Еремин К.И., Долгов В.В. Унификация процедур цитохимического окрашивания эякулята для определения фертильности мужчины // «Лабораторная диагностика. Восточная Европа», 2020, том 9, № 1–2, стр. 41–49. doi: <https://doi.org/10.34883/PI.2020.9.1.026> УДК 616.697.
5. Сапожкова Ж.Ю., Еремин К.И. Модификация процедур цитохимического окрашивания эякулята для определения статуса фертильности мужчины // Справочник заведующего КДЛ. 2020, № 5, с. 36–43.

6. Сапожкова Ж.Ю., Репникова А.Р. Процедура выполнения рутинной спермограммы. Что учесть в рабочей инструкции // Справочник заведующего КДЛ, 2020, № 6, с. 66–79.
7. World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5th ed. Geneva, Switzerland: WHO Press; 2010.
8. World Health Organization. WHO Laboratory manual for the examination and processing of human semen, sixth edition. Geneva: World Health Organization, 2021.
9. World Health Organization. Sexually transmitted infections (STIs) Geneva: World Health Organization; 2021. <https://www.cdc.gov/std/treatment-guidelines/STI-Guidelines-2021.pdf> [Google Scholar].
10. EAU Guidelines on Sexual and Reproductive Health A. Salonia et al, 2024.
11. Chung E., Park H.J. (2024). Historical View: From First to the Sixth WHO Manual. In: Agarwal A., Boitrelle F., Saleh R., Shah R. (eds) Human Semen Analysis. Springer, Cham. doi.org/10.1007/978-3-031-55337-0_1.
12. Ashok Agarwal et al, Human Semen Analysis From the WHO Manual to the Clinical Management of Infertile Men/2024 ISBN 978-3-031-55336-3 ISBN 978-3-031-55337-0 (eBook) doi.org/10.1007/978-3-031-55337-0.
13. Choy J.T., Amory J.K. Nonsurgical management of oligozoospermia // J Clin Endocrinol Metab. 2020. Vol. 105 (12):e4194–207. doi.org/10.1210/clinem/dgaa390.
14. Cangiano B., Swee D.S., Quinton R., Bonomi M. Genetics of congenital hypogonado-tropic hypogonadism: peculiarities and phenotype of an oligogenic disease // Hum Genet. 2021. Vol. 140. P. 77–111. doi.org/10.1007/s00439-020-02147-1.
15. Iammarrone E., Balet R., Lower A., Gillott C., Grudzinskas J. Male infertility // Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2003. Vol. 17 (2). P. 211–229. doi.org/10.1016/s1521-6934(02)00147-5.
16. La Vignera S., Vita R. Thyroid dysfunction and semen quality. Int J Immunopathol Pharmacol. 2018;32:2058738418775241. doi.org/10.1177/2058738418775241.
17. McLachlan R. Approach to the patient with oligozoospermia // J Clin Endocrinol Metab. 2013. Vol. 98(3). P. 873–880. <https://doi.org/10.1210/jc.2012-3650>.
18. Romano R.M., Gomes S.N., Cardoso N.C., Schiessl L., Romano M.A., Oliveira C.A. New insights for male infertility revealed

by alterations in spermatid function and differential testicular expression of thyroid-related genes // *Endocrine*. 2017. Vol. 55(2). P. 607–617. doi.org/10.1007/s12020-016-0952-3.

19. Krausz C., Casamonti E. Spermatogenic failure and the Y chromosome // *Hum Genet*. 2017. Vol. 136(5). P. 637–655. doi.org/10.1007/s00439-017-1793-8.

20. Fisch H., Lambert S.M., Goluboff E.T. Management of ejaculatory duct obstruction: etiology, diagnosis, and treatment // *World J Urol*. 2006. Vol. 24(6). P. 604–610. doi.org/10.1007/s00345-006-0129-4.

21. Gupta C., Chinchole A., Shah R., Pathak H., Talreja D., Kayal A. Microscopic varicocelectomy as a treatment option for patients with severe oligospermia // *Investig Clin Urol*. 2018. Vol. 59(3). P. 182–186. doi.org/10.4111/icu.2018.59.3.182.

22. Pallotti F., Paoli D., Carlini T., Vestri A.R., Martino G., Lenzi A., Lombardo F. Varicocele and semen quality: a retrospective case-control study of 4230 patients from a single centre // *J Endocrinol Invest*. 2018. Vol. 41(2). P. 185–192. doi.org/10.1007/s40618-017-0713-z.

23. Ciongradi C.I., Sarbu I., Iliescu Halitchi C.O., Benchia D., Sarbu K. Fertility of cryptorchid testis-an unsolved mystery // *Genes (Basel)*. 2021. Vol. 12 (12). Vol. 1894. doi.org/10.3390/genes12121894.

24. Vakalopoulos I., Dimou P., Anagnostou I., Zeginiadou T. Impact of cancer and cancer treatment on male fertility // *Hormones (Athens)*. 2015. Vol. 14(4). P. 579–689. doi.org/10.14310/horm.2002.1620.

25. Drobniš E.Z., Nangia A.K. Pain medications and male reproduction // *Adv Exp Med Biol*. 2017. Vol. 1034. P. 39–57. doi.org/10.1007/978-3-319-69535-8_6.

Полный список литературы находится в редакции

Памятка. Расчет концентрации сперматозоидов в эякуляте*

1. В случае если сперматозоиды лежат в монослоях (малое количество после предварительной визуальной оценки), то подсчет концентрации сперматозоидов необходимо проводить в этой же стороне камеры Горяева, где были подсчитаны лейкоциты, то есть в прежнем разведении 1:10.
2. Оцените заполненную камеру в фазово-контрастном микроскопе при увеличении $\times 200$ или $\times 400$.
3. Подсчитывайте число сперматозоидов с помощью лабораторного счетчика.
4. Подсчитайте не менее двух сторон камеры Горяева для того, чтобы достичь приемлемо низкой ошибки.

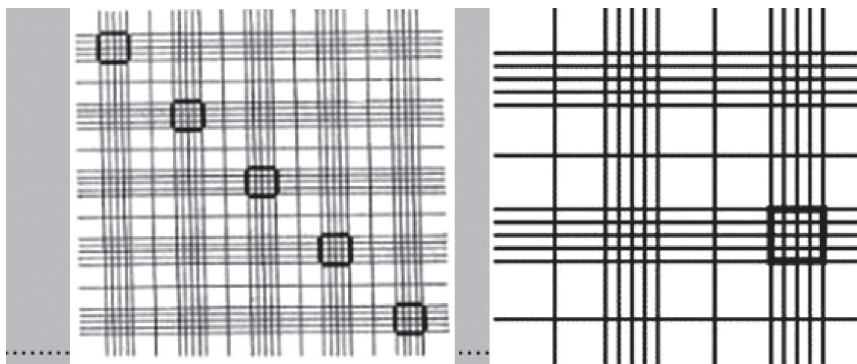
Расчет ведут по первому варианту.

Первый вариант подсчета концентрации сперматозоидов

При разведении эякулята 1:10 концентрация сперматозоидов считается в 5 больших квадратах** камеры Горяева, разделенных на 16 малых, по диагонали. Расчет проводят по формуле:

$$C = a \times 500\,000 \text{ [млн/мл]},$$

где C – концентрация сперматозоидов в 1 мл эякулята, a – количество сперматозоидов в 5 больших квадратах по диагонали.



Пример. При подсчете в 5 больших квадратах по диагонали камеры Горяева было обнаружено 135 сперматозоидов. Расчет концентрации сперматозоидов в 1 мл спермы $C = 135 \times 500\,000 = 67,5$ млн/мл.

* Из инструкции к набору «Спермограмма».

** 5 больших квадратов камеры Горяева, разделенных на 16 малых.

В случае если сперматозоиды лежат в мультислоях (большое количество после предварительной визуальной оценки), то необходимо увеличить разведение до 1:20 и более путем добавления в пробирку № 1 с исследуемым раствором еще 200 мкл рабочего раствора. Если необходимо разведение 1:40, 1:80, то необходимо добавлять в пробирку № 1 с существующим разведением каждый раз по 200 мкл рабочего раствора соответственно.

ВНИМАНИЕ! При дополнительном разведении рабочего раствора для подсчета концентрации сперматозоидов необходимо заполнять новые камеры Горяева.

После предварительного аккуратного повторного перемешивания суспензии заполните камеру Горяева. Для осаждения клеток удерживайте камеру Горяева горизонтально не менее 4 минут при комнатной температуре.

Оцените заполненную камеру в фазово-контрастном микроскопе при увеличении $\times 200$ или $\times 400$.

Подсчитывайте число сперматозоидов с помощью лабораторного счетчика. Подсчитайте не менее двух сторон камеры Горяева для того, чтобы достичь приемлемо низкой ошибки.

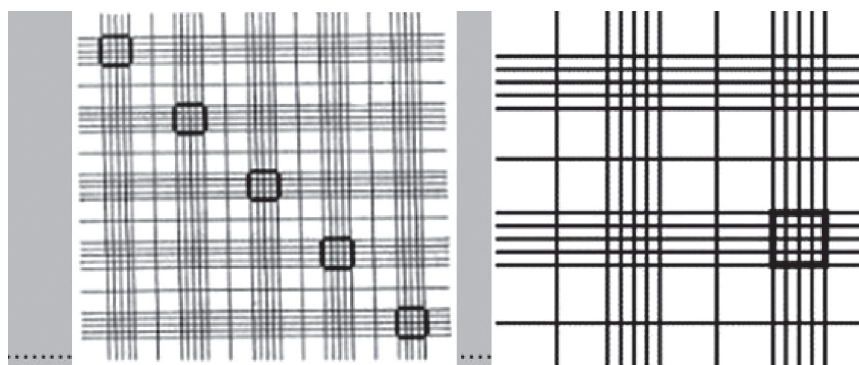
Расчет ведут по второму варианту.

Второй вариант подсчета концентрации сперматозоидов

При разведении эякулята 1:20 концентрация сперматозоидов считается также в 5 больших квадратах* камеры Горяева, разделенных на 16 малых, по диагонали. Расчет проводят по формуле:

$$C = a \times 1\,000\,000 \text{ [млн/мл]},$$

где C – концентрация сперматозоидов в 1 мл эякулята, a – количество сперматозоидов в 5 больших квадратах по диагонали:



* 5 больших квадратов камеры Горяева, разделенных на 16 малых.

Исследование спермы

Подборка ответов экспертов на вопросы и СОПы

Пример. При подсчете в 5 больших квадратах по диагонали камеры Горяева было обнаружено 135 сперматозоидов. Расчет концентрации сперматозоидов в 1 мл спермы $C = 135$ млн/мл.

Подсчет *общего числа сперматозоидов* проводят путем умножения концентрации сперматозоидов на объем доставленного эякулята:

Пример. Объем доставленного эякулята 3,5 мл, концентрация сперматозоидов $C = 45$ млн/мл.

Общее число сперматозоидов – 157,5 млн/эякуляте.

Ретроградная эякуляция: какие особенности лабораторной диагностики

Жанна Юрьевна Сапожкова

руководитель Международной Школы цитологии
и Медицинской школы инноваций, к. м. н.

Автор статьи приводит обзор современной литературы о ретроградной эякуляции – патологии репродуктивной системы мужчин. С этой патологией сталкиваются специалисты лабораторной диагностики в процессе проведения исследований в рамках репродуктивного скрининга населения. Отмечено, что в настоящее время отсутствует национальный унифицированный протокол исследования постэякуляторной мочи и оценочные критерии по результатам этого теста. Особое внимание в статье уделено преаналитическому этапу – подготовке пациента к исследованию, а также процедуре извлечения сперматозоидов в лабораторных условиях.

Этиология и патогенез ретроградной эякуляции

Нормальная эякуляция имеет фазу выброса, которая регулируется симпатическими нервами (T10-L2) и включает в себя участие дистального придатка яичка, семявыносящего протока, ампул семявыводящих путей, семенных пузырьков, предстательной железы и бульбоуретральных желез. Сперматозоиды выходят антеградным путем из семявыносящего протока, затем попадают в простатический отдел мочеиспускательного канала, после этого шейка мочевого пузыря непроизвольно сокращается через внутренний сфинктер мочеиспускательного канала, чтобы предот-

вратить отток спермы в мочевого пузыря. Фаза изгнания регулируется соматическими нервами из сегментов позвоночника S2-4, контролирующими ритмическое сокращение наружного сфинктера мочеиспускательного канала и мышц тазового дна. Любое отклонение от этой рефлекторной дуги приводит к подавлению сокращения шейки мочевого пузыря, вызывая отток спермы в мочевого пузыря, или ретроградную эякуляцию (РЭ).

Частота встречаемости РЭ регистрируется у 0,3–2% бесплодных пациентов, а у мужчин с диабетом этот показатель увеличивается до 6%. В зависимости от степени выраженности симпатической вегетативной neuropathии (при сахарном диабете), органических поражений или других причин РЭ проявляется олигоспермией, когда объем эякулята менее 1,5 мл, или аспермией, когда эякулят полностью отсутствует.

Процедура извлечения сперматозоидов в лабораторных условиях

Возможность зачатия естественным путем при этой патологии отсутствует, но отцовство с использованием спермы пациента возможно при правильном извлечении его сперматозоидов из мочи с последующей оценкой биоматериала.

В случае когда клиницист установит невозможность достижения антеградной эякуляции, необходимо инициировать процедуру извлечения сперматозоидов в лабораторных условиях. Обнаружение сперматозоидов в моче после эякуляции является основным методом диагностики РЭ, а также вариантом оценки извлеченных сперматозоидов для использования во вспомогательных репродуктивных технологиях (ВРТ). При данной патологии необходима стандартизация пошагового лабораторного протокола оценки образцов спермы.

В клинических рекомендациях «Мужское бесплодие», утвержденных Минздравом [2], для исключения у пациента РЭ при азооспермии и объеме эякулята менее 1 мл (со ссылкой на источник 2015 г. от Американского сообщества репродуктивной медицины), рекомендуется «микроскопическое исследование осадка мочи (исследование постэякуляторной

мочи) (УУР-С, УДД-5)». Следует уточнить, что в настоящее время отсутствует национальный унифицированный протокол исследования постэякуляторной мочи и оценочные критерии результатов этого теста, в этой связи специалисты лабораторной медицины России вынуждены обращаться к информационным источникам сети Интернет* и зарубежным руководствам**. Текущая ситуация указывает на отсутствие стандартизации протокола анализа посторгазменной мочи наряду с семиологическим исследованием при ретроградной эякуляции, то есть прослеживается неунифицированный подход ко всем этапам этих видов исследования.

Лабораторная оценка ретроградных образцов спермы

Справочная информация этапов лабораторной оценки ретроградных образцов спермы представлена в следующих документах и источниках:

- ~ лабораторное Руководство ВОЗ 6-го издания по исследованию и обработке эякулята человека (2021) [2]: РЭ посвящены три абзаца главы 5.9 (приложение 1);
- ~ пошаговое Руководство по восстановлению эякулята у мужчин с ретроградной эякуляцией (под ред. А. Agarwal) [3]. В документе представлен алгоритм подготовки пациента и сбор образцов спермы и мочи (приложение 2);
- ~ практические наработки автора публикации и департамента научно-исследовательской лаборатории клинических разработок Международной Школы Цитологии & Медицинской школы Инноваций. В рамках совместной работы был составлен алгоритм проведения исследования образцов спермы и мочи у пациентов с ретроградной эякуляцией (приложение 3).

Список использованной литературы

1. Клинические рекомендации «Мужское бесплодие», утвержденные Минздравом, разработаны Общероссийской обще-

* Euromed-invitro.ru/specialist-and-prices/test-na-retrogradnuu-eyakulaciy

** Hal.science/hal-03287323/document

ственной организацией «Российское общество урологов», одобрено Научно-практическим Советом Минздрава РФ, 2021.

2. World Health Organization. WHO Laboratory manual for the examination and processing of human semen, sixth edition. Geneva: World Health Organization, 2021.

3. Руководство по восстановлению эякулята у мужчин с ретроградной эякуляцией (под ред. А. Agarwal) [Sajal P. Gupta, Rakesh Kumar Sharma, Ashok Agarwal, Neel V. Parekh, Renata Finelli et al. A comprehensive guide to sperm recovery in infertile men with retrograde ejaculation. The World Journal of Men's Health, 2021, 39, ff10.5534/WJMН.210069ff. fhal-03287323f].

Приложение 1. Памятка «Подготовка образцов при ретроградной эякуляции»

(Лабораторное Руководство ВОЗ 6-го издания по исследованию и обработке эякулята человека (2021))

Сперматозоиды могут быть извлечены из мочи. Например, подщелачивание мочи при приеме внутрь бикарбоната натрия увеличивает вероятность того, что любые сперматозоиды, попадающие в мочу, сохранят свои характеристики подвижности.

Сбор спермы без обработки подщелачиванием (5.9.1).

В лаборатории следует попросить мужчину:

- помочиться, не опорожня мочевой пузырь полностью в первый контейнер для мочи;
- собрать эякулят путем мастурбации в контейнер с надписью «Сперма»;
- собрать остаточную посторгазменную мочу во второй контейнер для дальнейшего подщелачивания мочи.

Процедура подщелачивания, проводимая перед сбором спермы (5.9.2).

Подщелачивания мочи можно добиться, выпив воды с добавлением хлорида и бикарбоната натрия за 1–2 часа до попытки сбора эякулята. Это можно сочетать с приемом стимуляторов альфа-1-рецепторов.

В лаборатории мужчине следует предложить:

- получить эякулят путем мастурбации в контейнер для спермы;
- помочиться после оргазма во второй контейнер (объемом не менее 500 мл).

Анализ антеградного образца эякулята и посторгазменной мочи (5.9.3).

Следует проанализировать как эякулят (если таковой имеется), так и образцы мочи. Поскольку может образоваться большой объем мочи, часто бывает необходимо его сконцентрировать путем центрифугирования (5000 об/мин в течение 8 минут).

Ретроградный образец после концентрирования и антеградный образец после его получения могут быть наиболее эффективно обработаны с использованием метода получения с градиентом плотности (раздел 5.5 на с. 166 руководства ВОЗ 6-го издания) и использовать для проведения протоколов ВРТ (вспомогательных репродуктивных технологий).

Приложение 2. Алгоритм подготовки пациента и сбор образцов спермы и мочи

(Руководство по восстановлению эякулята у мужчин с ретроградной эякуляцией (под ред. А. Agarwal)

1. Пациенту:

– исключить секс с партнером или мастурбацию в течение 2–5 дней перед исследованием;

– за 12 часов до приема не пить большое количество жидкости, так как моча становится водянистой и выделить сперматозоиды будет сложнее.

2. Сотрудникам лаборатории: приготовить 2 контейнера для сбора образцов спермы с маркировкой № 1 и мочи с маркировкой № 2.

3. Пациенту:

– помочиться в унитаз, чтобы опорожнить мочевой пузырь;

– убедиться, что руки (или руки партнера) чистые и сухие. В специально отведенной комнате самостоятельно собрать эякулят в контейнер для спермы № 1, поднеся контейнер для сбора спермы № 1 к кончику пениса. Не использовать слюну или смазочные материалы. Это разрушит сперматозоиды;

– в случае аспермии достичь оргазма;

– вернуться в зону ожидания на 10–15 минут. В течение этого времени не пить жидкости;

– сходить в туалет с контейнером для сбора мочи с маркировкой № 2 и помочиться в этот контейнер;

– передать оба контейнера персоналу в лабораторию.

4. Сотрудникам лаборатории: провести ручной анализ параметров спермы. Концентрация и подвижность оцениваются с помощью стационарной камеры для подсчета клеток. Результаты зарегистрировать.

Приложение 3. Алгоритм проведения исследования образцов спермы и мочи у пациентов с ретроградной эякуляцией

(Практические наработки Ж.Ю. Сапожковой и департамента научно-исследовательской лаборатории клинических разработок Международной Школы Цитологии и Медицинской школы Инноваций)

I. Преаналитический внелабораторный этап. Подготовка пациента и сбор образцов спермы и мочи – см.: «Подготовка пациента и сбор образцов спермы и мочи из Руководства по восстановлению эякулята у мужчин с ретроградной эякуляцией» (под ред. А. Agarwal).

II. Преаналитический и аналитический лабораторный этап. Подготовка образцов спермы и мочи для исследования. Проводятся два теста:

1) Анализ посторгазменной мочи на факт наличия/отсутствия сперматозоидов проводится после центрифугирования в конической пробирке объемом 10 мл при скорости 3000 об/мин 10 минут с последующей оценкой осадка. В случае наличия сперматозоидов – неавтоматизированным методом светооптической микроскопии происходит оценка трех параметров эякулята: концентрации, подвижности (оцениваются с помощью стационарной камеры Горяева для подсчета клеток) и морфологии сперматозоидов на основе методической инструкции к набору «Спермограмма».

2) Анализ собранного эякулята (если таковой имеется) проводится неавтоматизированным методом светооптической микроскопии происходит оценка четырех параметров эякулята: объема спермы, концентрации/подвижности концентрации, подвижности (оцениваются с помощью стационарной камеры Горяева для подсчета клеток) и морфологии сперматозоидов на основе методической инструкции к набору «Спермограмма» (оцениваются с помощью стационарной камеры Горяева для подсчета клеток).

III. Постаналитический лабораторный этап. Оформление отчета о проведенном исследовании.

1) По результату анализа посторгазменной мочи на факт наличия/отсутствия сперматозоидов делается заключение: *«Сперматозоиды обнаружены/не обнаружены».*

Исследование спермы

Подборка ответов экспертов на вопросы и СОПы

В случае наличия сперматозоидов делается отметка в бланке для рутинной спермограммы, например: «*Оценка ретроградных сперматозоидов: концентрация $2,0 \times 10^6$ /мл, подвижность 25%, морфология нормальная (5%)*».

2) По результату анализа собранного эякулята (если таковой имеется) делается запись на бланке для рутинной спермограммы, например: «*Объем 0,30 мл, концентрация $24,0 \times 10^6$ /мл, подвижность 20%, морфология ненормальная (2%)*».

Как организовать в КДЛ исследования спермы



Планируем внедрить в КДЛ исследования спермы. Каким документом, если таковой имеется, регламентируется оснащение оборудованием, необходимость специального обучения кадров, нормы трудозатрат для выполнения данного исследования? К какой категории сложности оно относится и кем непосредственно выполняется: врачом КДЛ или медицинским лабораторным техником? Нужно ли специальное помещение?



На вопрос отвечает **Жанна Юрьевна Давидова**, старший преподаватель Международной Школы цитологии и Медицинской школы инноваций, к. м. н., руководитель Национального центра клинических исследований ФГБУ «Национальный институт качества» Росздравнадзора

Анализ спермы человека необходим для оценки функции репродуктивных органов, для мониторинга во время андрологической терапии, для оценки состояния сперматогенеза после события мужской контрацепции, для выбора протокола вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), а также для эпидемиологических и экологических исследований в различных популяциях. Проследивая эволюцию базового анализа эякулята человека, так называемой спермограммы, можно отметить шесть руководств ВОЗ, которые описывают технологические этапы этого исследования.

Документы, регламентирующие исследование

С 1980 по 2021 год произошли глобальные изменения в технологии проведения аналитического этапа спермо-

граммы (собственно в выполнении исследования), постановочном этапе (оценке результатов, формировании заключения согласно контрольным значениям общего числа, концентрации, морфологии, подвижности и других характеристик сперматозоидов; оформлении отчета или бланка результата).

Последнее, 6-е Руководство ВОЗ по исследованию и обработке эякулята человека (2021) основано на материалах ISO 23162:2021 Basic Semen Examination – Specification and test methods.

Часто задаваемый вопрос – является ли Руководство ВОЗ обязательным для исполнения на территории РФ? Ответ содержится в самих же руководствах:

«... Руководство ВОЗ не следует в обязательном порядке утверждать как стандарт для местных, национальных и лабораторных учреждений мира, а лишь необходимо использовать как рекомендации для улучшения качества проведения семиологического анализа и сравнения результатов» (введение Руководства ВОЗ, 5-е издание, 2010, стр. 18).

ВОЗ получила подтверждение от Guidelines Review Committee /GRC, что формат Руководства не является регламентом и не требует его утверждения. Цель Руководства – описание процедур для выработки локальных национальных стандартов (гл. 1.4 Руководства ВОЗ, 6-е издание, 2021, стр. 6).

С января 2024 года в нашей стране был введен Национальный стандарт РФ ГОСТ Р ИСО 23162-2-23 «Исследование качества спермы базовое. Требование и методы исследований. Basic Semen Examination – Specification and test methods». Этот документ – дословный перевод с английского на русский язык ISO 23162:2021 Basic Semen Examination – Specification and test methods. Это значит, что мы по-прежнему имеем дело с документом, не адаптированным для РФ. Следует отметить, что все ГОСТы не обязательны для исполнения, то есть имеют рекомендательный характер.

Такова ситуация и с настоящим национальным стандартом. Согласно этому документу, существуют определенные сложности и ограничения его использования в России. Это Руководство рекомендует применение ряда реагентов для окрашивания, не зарегистрированных в РФ и содержащих

канцерогенные вещества (прекурсоры). Главный источник ошибочного определения уровня истинных лейкоцитов/пероксидазо-положительных клеток (ППК), а также живых и мертвых сперматозоидов – это отсутствие обработки спермы реагентами для надлежащего цитохимического окрашивания согласно прописям Руководства ВОЗ, адаптированным к российским условиям.

Для установления истинной репродуктивной возможности и мониторинга сперматогенеза необходимо стандартизировать протокол спермограммы, который описан в технологической инструкции к набору реагентов отечественного производства «Гемстандарт-спермограмма» (ООО «ГЕМСТАНДАРТ», Санкт-Петербург)/Компания Л&К, Москва).

Документы, необходимые для организации исследования в КДЛ

Чтобы выполнять анализ «Спермограмма», КДЛ необходимо:

- ~ санитарно-эпидемиологическое заключение на помещение, где располагается лаборатория;
- ~ лицензия на медицинскую деятельность: 1) на оказание первичной, в том числе доврачебной медико-санитарной помощи в амбулаторных условиях по лабораторной диагностике; 2) на оказание первичной специализированной медико-санитарной помощи в амбулаторных условиях при клинической лабораторной диагностике.

Организация рабочей зоны

Для производства спермограммы не требуется отдельного боксированного помещения или кабинета, необходима лишь выделенная зона.

Для повышения качества исследования крайне необходима рядом с КДЛ (в одно здании) специально оборудованная комната для сбора эякулята, желательно без окон.

Как правило, комната для сбора эякулята оборудуется:

- ~ раковины с холодной и горячей водой с бесконтактным смесителем;

Исследование спермы

Подборка ответов экспертов на вопросы и СОПы

- ~ одноразовыми полотенцами;
- ~ жидким мылом;
- ~ лабораторным столиком с одноразовыми контейнерами с за-винчивающейся крышкой;
- ~ удобным диваном или креслом;
- ~ телевизором с тематическим фильмами;
- ~ журналами с тематической направленностью;
- ~ вешалкой для одежды;
- ~ мягким освещением (торшер, настольная лампа).

Если анализ проводится полностью методом световой микроскопии, необходимы не менее 6 кв. м площади в зоне аналитики общеклинического отдела, медицинская мебель (рабочий стол, стул), естественное и искусственное освещение, естественная и приточно-вытяжная вентиляция. Список медицинских изделий, необходимых для проведения анализа эякулята методом световой микроскопии, смотрите в чек-листе в приложении 1.

Если анализ проводится комбинированно: ручным методом (микроскопия) и автоматизированным, необходимы: анализатор спермы, расходные материалы и реагенты к нему, отдельное рабочее пространство (стол).

Требования к специалистам, выполняющим исследование

Выполнять все технологические этапы спермограммы светооптическим методом могут специалисты старшего звена медицинской лаборатории:

1) врач клинической-лабораторной диагностики, имеющий сертификат специалиста или аккредитацию по специальности «Клиническая лабораторная диагностика», прошедший специальную подготовку – дополнительную образовательную программу повышения квалификации по тематике «Ана-

Внимание

Оценку результатов анализа, формирование заключения и валидацию отчета должен делать исключительно специалист старшего звена медицинской лаборатории.

Исследование спермы

Подборка ответов экспертов на вопросы и СОПы

лиз спермы человека», «Теоретические/практические основы спермограммы» и т. д. в объеме не менее 18 часов;

2) биологи КДЛ, прошедшие специальную подготовку – дополнительную образовательную программу повышения квалификации по тематике «Анализ спермы человека», «Теоретические/практические основы спермограммы» и т. д. в объеме не менее 18 часов;

Некоторые этапы технологического процесса можно делегировать специалистам среднего звена, имеющим сертификат специалиста или аккредитацию по специальности «Лабораторная диагностика». СОП «Проведение спермограммы», памятка по сбору эякулята и таблицы для интерпретации результатов исследования – в приложении 2.

Расчет трудовых затрат

Выполнить одну спермограмму светооптическим методом на основе методологии набора спермограммы возможно менее чем за 60 минут. Каждый последующий анализ – за 30 минут.

В одну рабочую смену можно запланировать:

- ~ поток до 8–12 проб/раб. смена 8 часов (если 1 ставка /1 человек только на спермограмме);
- ~ поток до 13–25 проб/раб. смена 12 часов (если 1 ставка /1 человек только на спермограмме).

Себестоимость одного исследования – в среднем от 250 до 400 руб. в зависимости от состава набора (100 или 500 определений).

Чек-лист. Перечень медицинских изделий, необходимых для проведения анализа эякулята методом световой микроскопии

- Контейнер для отбора биопробы с завинчивающейся крышкой, 120 мл
- Светооптический микроскоп с объективами $\times 100$ или $\times 200$, $\times 400$, $\times 1000$
- Термостат на $+37\text{ }^{\circ}\text{C}$
- Счетчик форменных элементов
- Камера Горяева
- Тест-полоски для определения pH
- Пипетки Пастера
- Предметные стекла
- Покровные стекла 18×18 или 24×24
- Шпатель для растяжки мазков
- Пробирки градуированные центрифужные полипропиленовые 10–12 мл
- Дозаторы переменного объема от 10 до 200 мкл
- Наконечники к дозаторам
- Штатив для центрифужных пробирок
- Штатив для пробирок типа Эппендорф
- Салфетки спиртовые
- Перчатки медицинские
- Салфетки марлевые
- Емкость с дезсредством для отработанных расходных материалов
- Морозильная камера
- Набор реагентов

Приложение 2. Примерная рабочая инструкция к стандартной операционной процедуре «Спермограмма»

Наименование медицинской организации		Рабочая инструкция к стандартной операционной процедуре		Номер:
				Всего листов 1 из 7
Название: Спермограмма в лаборатории				ОРИГИНАЛ:
Действует с	Заменяет: Вводится впервые	Причина пересмотра:		Дата следующего пересмотра:
СОСТАВИЛ:		Утвердил:		
Согласовано:		Главный врач медицинской организации		
«___» _____ 2020 г.		_____ Ф. И. О. «___» _____ 2020 г.		

Рабочая инструкция (далее – РИ) описывает порядок подготовки пациента, условия сбора, хранения и транспортировки спермы в медицинскую лабораторию. Разработана в соответствии с Руководством ВОЗ по исследованию и обработке эякулята человека (5-е издание, 2010 г.).

Цель: повысить качество анализа спермы человека путем стандартизации процессов исследования.

Область применения: предназначена для использования специалистами клиничко-диагностической лаборатории (далее – КДЛ), участвующими в проведении спермограммы.

Задачи:

1. Стандартизировать преаналитический внелабораторный этап (требования к подготовке пациента, порядок и правила сбора, хранения и доставки биоматериала).
2. Стандартизировать преаналитический лабораторный этап (подготовка биоматериала к исследованию).
3. Стандартизировать аналитический этап (процесс исследования эякулята в соответствии с требованиями Руководства ВОЗ по исследованию и обработке эякулята человека (5-е издание, 2010 г.).
4. Стандартизировать постаналитический лабораторный этап (протоколирование результатов исследования согласно бланку исследования, валидирование результата, архивирование результатов).
5. Определить порядок проведения контроля качества по основным параметрам спермограммы.

Ответственность несут все сотрудники, участвующие в выполнении спермограммы. Контроль за исполнением осуществляется заведующим клиничко-диагностической лабораторией или заведующим отделом клиничко-диагностической лаборатории.

I. Преаналитический внелабораторный этап (выполняется старшим и (или) средним медперсоналом медицинской организации (не КДЛ))

1. Информационная работа с пациентом:

А. Сотрудник медицинской организации информирует пациента о виде медицинского вмешательства, пациент подписывает информированное добровольное согласие.

Выясняются причины обращения, диагноз, Ф. И. О. врача, направляющего на исследование.

В. Проводится инструктаж пациента относительно подготовки к сдаче эякулята с выдачей памятки (см. приложение 1).

2. Сбор, хранение и транспортировка материала:

А. Пациент отправляется в помещение для сбора эякулята, расположенное недалеко от лаборатории.

В. Биоматериал собирается согласно памятке (см. приложение 1).

С. После сбора материала пациент должен немедленно доставить полученный эякулят в лабораторию. Время взятия, количество дней воздержания и Ф. И. О. фиксируются на контейнере.

Д. В том случае, когда материал собирается дома, время взятия, количество дней воздержания и Ф. И. О. также фиксируются на контейнере. Биоматериал должен быть доставлен не позднее чем через 60 минут после взятия при температуре 37 °С.

II. Преаналитический лабораторный этап (выполняется средним медицинским и старшим персоналом КДЛ с использованием средств индивидуальной защиты)

Первые 5–60 минут после получения образца эякулята:

А. При доставке образца эякулята в КДЛ дополнительно уточняются условия взятия, хранения и транспортировки.

В. Контейнер с материалом немедленно помещается в термостат с установленной температурой 37 °С на 15–60 минут.

С. Если разжижение достигнуто или с момента сбора образца прошло 60 минут, то необходимо приступить к исследованию.

Д. Если разжижение не достигнуто, а с момента сбора образца прошло 60 минут, то материал разжижается дополнительными процедурами, применение которых записывается.

Е. При несоблюдении требований к подготовке, сбору, времени полового воздержания, условиям хранения и транспортировки образцы бракуются и утилизируются.

1. Подготовка рабочего места к исследованию средним медицинским персоналом КДЛ:

А. Средний медицинский персонал КДЛ подготавливает необходимые материалы для проведения исследования: набор для окрашивания спермы человека, предметные стекла, покровные стекла 22×22 мм, счетную камеру Горяева, наконечники одноразовые пластиковые 5–200 мкл, автоматические дозаторы, градуированные стеклянные/пластиковые центрифужные пробирки или инсулиновый шприц, пластиковые одноразовые пипетки Пастера, иммерсионное масло, спирт для обработки микроскопа/спиртосодержащие салфетки, дезинфицирующий раствор для обработки поверхностей, контейнеры для сбора отходов класса А, Б и Г.

В. Средний медицинский персонал КДЛ подготавливает необходимые реагенты для проведения исследования: неразведенный фиксатор Май-Грюнвальда, смесь красителя по Романовскому и воды очищенной в соотношении 1:5 (10 мл красителя по Романовскому и 40 мл воды очищенной); проверяет наличие на столе готовых растворов бромелайна (для разжижения вязкого эякулята), эозина и нигрозина (для оценки жизнеспособности сперматозоидов), реагента для оценки пероксидазо-положительных клеток (далее ППК) и концентрации сперматозоидов; тест-полоски для определения pH эякулята; готовит рабочий раствор для окрашивания ППК согласно инструкции к набору либо размораживает аликвоту рабочего раствора.

2. Подготовка рабочего места к исследованию старшим персоналом КДЛ заключается в настройке освещения по Келлеру.

III. Аналитический этап (выполняется старшим персоналом КДЛ с использованием средств индивидуальной защиты)

1. Макроскопическая оценка препарата:

– оценка разжижения: если разжижение эякулята не наступило в течение 60 минут, в пробирку со всей порцией эякулята внести пипеткой Пастера равное количество фосфатно-солевого раствора бромелайна в соотношении 1 + 1 (1:2), размешать, не допуская образования пузырьков. Процедура разжижения может влиять на биохимические показатели эякулята, его подвижность и морфологию сперматозоидов, поэтому использование процедуры должно быть записано. Разведение 1 + 1 (1:2) должно быть учтено при расчете концентрации сперматозоидов и лейкоцитов умножением полученных результатов на 2;

– оценка вязкости: погрузить пипетку в аккуратно перемешанный образец, оценить длину нити эякулята, образующуюся при поднятии пипетки;

- измерение объема в градуированной пробирке (если количество образца слишком маленькое, необходимо использовать шкалу делений инсулинового шприца);
- оценка внешнего вида и запаха эякулята;
- измерение рН эякулята тест-полосками.

2. Подготовка препаратов для микроскопического исследования:

- отобрать 10 мкл образца для оценки подвижности сперматозоидов (кинезисграммы), накрыть покровным стеклом 22×22 мм, положить на предметный столик микроскопа;
- приготовить рабочую смесь для окрашивания ППК и дальнейшего подсчета концентрации ППК и сперматозоидов согласно инструкции к набору;
- отобрать 10 мкл эякулята, поместить на другое предварительно промаркированное предметное стекло, добавить 20 мкл 5% раствора эозина водного, перемешать в течение 5 с; добавить 30 мкл 10% раствора нигрозина, перемешать в течение 5 с, приготовить препарат, оставить сушиться на воздухе, использовать для оценки жизнеспособности сперматозоидов;
- отобрать 10 мкл эякулята, поместить на третье предварительно промаркированное предметное стекло, растянуть мазки с помощью шпателя, оставить в лотке до полного высыхания, окрашивать по Романовскому для оценки морфологии сперматозоидов.

3. Микроскопическая оценка препарата:

А. Обзор препарата на общем увеличении $\times 100$ (комбинация объектива $\times 10$ и окуляра $\times 10$):

- а) оценка формирования нитей слизи (в крестах от + до +++);
- б) оценка агрегации (слипание либо неподвижных сперматозоидов друг с другом, либо подвижных сперматозоидов с нитями слизи, не сперматогенными клетками или дебрисом) в крестах от + до +++;
- в) оценка агглютинации (слипание друг с другом подвижных сперматозоидов головка к головке, жгутик к жгутику или смешанным образом) с определением типа и степени;
- д) оценка присутствия круглых клеток (КК) – клетки сперматогенеза, лейкоциты, макрофаги/спермиофаги, гистиоциты, эритроциты, липоидные тельца, амилоидные конкременты, эпителий;
- е) обзорная кинезисграмма (оценка примерного соотношения прогрессивно подвижных, непрогрессивно подвижных и неподвижных сперматозоидов).

В. Обзор препарата на общем увеличении $\times 200$ (комбинация объектива $\times 20$ и окуляра $\times 10$) или $\times 400$ (комбинация объектива $\times 40$ и окуляра $\times 10$):

а) подсчет кинезисграммы (подвижности сперматозоидов) по трем категориям: оценить относительное количество прогрессивно подвижных (категория А или PR/progressive motility), непрогрессивно подвижных (категория В или NP/non progressive motility) и неподвижных сперматозоидов (категория С или IM/immobility) (в %) с помощью лабораторного счетчика (оценивается не менее 200 сперматозоидов, при высокой концентрации оценивается по ½ или ¼ поля зрения):

I) прогрессивно подвижные – сперматозоиды, движущиеся активно, либо линейно, либо по кругу большого радиуса, независимо от скорости;

II) непрогрессивно подвижные – все другие виды движений с отсутствием прогрессии, то есть плавающие по кругу небольшого радиуса, жгутик с трудом смещает головку или когда наблюдается только биение жгутика;

III) неподвижные – полное отсутствие движения;

б) определение предстоящего разведения для подсчета концентрации сперматозоидов;

с) оценка жизнеспособности (мертвые (контактные к красителю) сперматозоиды с красными головками; живые (интактные к красителю) сперматозоиды с белыми (бесцветными) головками);

д) окрашивание и подсчет концентрации нейтрофильных лейкоцитов/ППК с использованием вариаций:

если круглые клетки (КК) расположены в монослоях (небольшое/малое количество после предварительной визуальной оценки), окрашенные ППК считаются в 100 больших квадратах камеры Горяева. Расчет вести по формуле:

$$L = \frac{a \times 250 \times 10 \times 1000}{100 \times 1\,000\,000^*} \left[\frac{\text{млн}}{\text{мл}} \right],$$

где L – количество лейкоцитов (ППК) в 1 мл эякулята, a – количество лейкоцитов (ППК) в 100 больших квадратах, 250 – (1/250) – объем одного большого квадрата, 10 – степень разведения спермы, 1000 – 1000 мкл в 1 мл, 100 – количество больших квадратов, 1 000 000* – при пересчете на мл/мл (установленные ВОЗ единицы измерения), необходимо полученный результат разделить на 1 000 000. Сокращенный вариант формулы можно вывести самостоятельно.

Если круглые клетки (КК) расположены в мультислоях (большое количество после предварительной визуальной оценки), окрашенные ППК считаются в 40 больших квадратах камеры Горяева (20 – сверху сетки, 20 – внизу). Расчет вести по формуле:

$$L = a \times 0,0625 \left[\frac{\text{млн}}{\text{мл}} \right].$$

е) подсчет концентрации сперматозоидов с использованием вариаций:

В случае если сперматозоиды лежат в монослоях (малое количество после предварительной визуальной оценки), то подсчет концентрации сперматозоидов необходимо проводить в этой же стороне камеры Горяева, где были подсчитаны лейкоциты, то есть в прежнем разведении 1:10. Считается в 5 больших квадратах камеры Горяева, разделенных на 16 малых, по диагонали. Расчет проводят по формуле:

$$C = a \times 50\,000 \times X \left[\frac{\text{млн}}{\text{мл}} \right],$$

где С – концентрация сперматозоидов в 1 мл эякулята, а – количество сперматозоидов в 5 больших квадратах по диагонали, X – степень разведения спермы.

В случае если сперматозоиды лежат в мультислоях (большое количество после предварительной визуальной оценки), то необходимо увеличить разведение до 1:20 или 1:40 и более, используя соответствующую формулу.

ф) оценка случаев, не требующих точного подсчета концентрации сперматозоидов: если число сперматозоидов в нативном препарате на поле зрения при увеличении 400 было менее 4, достаточно указать концентрацию как <2 млн/мл).

С. Оценка препарата на общем увеличении $\times 1000$ (комбинация объектива $\times 100$ и окуляра $\times 10$).

1. Оценка морфологии сперматозоидов.

Определить концентрацию морфологически нормальных и патологических сперматозоидов (в %), оценив не менее 200 клеток в препаратах по следующим категориям:

- нормальные сперматозоиды;
- патологические сперматозоиды:
 - с патологией головки (% Н);
 - с патологией шейки и средней части (% М);
 - с патологией жгутика (% Р);
 - с патологичной цитоплазматической каплей (% С).

NB! В случае если количество нормальных морфологических форм находится в пределах референсных интервалов, оценка каждого типа аномалии (% Н, % М, % Р, % С) нецелесообразна, так как излишняя информация может привести к неверной диагностике, неправильному лечению.

2. Оценка остальных параметров.

Подсчет общего числа сперматозоидов в эякуляте рассчитывается умножением концентрации сперматозоидов на объем эякулята.

IV. Постаналитический лабораторный этап (выполняется старшим персоналом КДЛ)

1. Протоколирование результатов анализа согласно бланку (приложение 2).
2. Валидирование результата:
 - a) анализ каждого из полученных параметров;
 - b) сопоставление параметров друг с другом;
 - c) заключение по результатам спермограммы согласно сличению результатов с референсными интервалами и контекстному анализу полученных данных;
 - d) консультационная поддержка врача/пациента по результатам спермограммы.
3. Архивирование результатов исследования:
 - a) ЛИС (лабораторная информационная система);
 - b) бумажные носители – не менее 1 года.

V. Порядок проведения внутреннего контроля качества по основным параметрам спермограммы (выполняется старшим персоналом КДЛ)

1. Результаты окрашивания нейтрофильных лейкоцитов/ППК оценивают методом микроскопии. В качестве положительного контроля при определении окраски форменных элементов образцов эякулята рекомендовано использовать цельную кровь без содержания каких-либо добавок. Тестируемая кровь будет содержать различные типы лейкоцитов, в том числе окрашенные в коричневый цвет в этой реакции. Некоторые будут неокрашенными. Таким образом, один и тот же препарат контрольного образца будет иметь как положительный контроль – окрашенные в коричневый цвет лейкоциты (гранулоциты), так и отрицательный контроль – неокрашенные лейкоциты. Для отдельного отрицательного контроля выполните анализ без использования проявителя. В этом протоколе анализируемая кровь будет содержать неокрашенные лейкоциты.
2. Внутренний контроль качества проводится по измерению показателей концентрации сперматозоидов, концентрации ППК, жизнеспособности и морфологии сперматозоидов. Результаты фиксируются в журнале в виде таблиц, карт и заключения:
 - a) для построения графиков из материалов с нормальной и низкой концентрацией отбирается по 10 образцов и оценивается всеми исследователями. Проводится подсчет концентрации в каждом образце:
 - a) вычисляется среднее значение концентрации для каждого образца;
 - b) рассчитывается среднее значение в целом;
 - c) определяется стандартное отклонение для каждого образца $S = \sqrt{\frac{(C_i - C_{cp.i})^2}{n}}$ и усредняется;

- d) по таблице 1 находятся коэффициенты для расчета контрольных пределов;
- e) для построения графика Сср. с целью выявления систематических ошибок используются предупредительные и действительные пределы;
- f) для построения графика S с целью выявления степени вариабельности используем следующие формулы для определения контрольных границ: нижней действительной, нижней предупредительной, верхней предупредительной, верхней действительной;
- g) образцы аликвотируются и ежеквартально оцениваются каждым исследователем. Результаты наносятся на контрольную карту;
- h) для контроля качества процентных значений (оценка подвижности, жизнеспособности и морфологии) используются следующие формулы в диапазоне от 20 до 80%:

$$S = \sqrt{\frac{p \times (100-p)}{n}}$$

где S – среднееквадратичное отклонение, p – процентное значение, n – число подсчитанных сперматозоидов вне диапазона 20–80%

$$S = \frac{1}{2 \times \sqrt{n}}$$

- i) используются готовые окрашенные препараты и видеозаписи.
- Кроме того, при обычной работе с образцом определяется приемлемость различий между повторами и оценивается согласно таблицам 2 и 3 (различия приведены для 95% доверительного интервала).

Список использованной литературы

1. Сапожкова Ж.Ю., Еремин К.И. Модификация протокола аналитического этапа спермограммы. «КЛД». 2020; 65 (2): DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-2>.
2. Долгов В.В., Луговская С.А., Фанченко Н.Д. и др. Лабораторная диагностика мужского бесплодия. – М.-Тверь: Триада; 2006.
3. Esteves S., Zini A., Aziz N. et al. Critical appraisal of World Health Organization's new reference values for human semen characteristics and effect on diagnosis and treatment of subfertile men. PMID: 22070891 DOI: 10.1016/j.urology.2011.08.003.
4. Руководство ВОЗ по исследованию и обработке эякулята человека. 5-е изд.
5. Рекомендации по мужскому бесплодию. Европейская ассоциация урологов, 2014. – 68 стр.
6. ГОСТ Р 53133.2-2008.
7. ГОСТ Р ИСО 15189-2015.
8. ГОСТ Р ИСО 9001-2015
9. Сапожкова Ж.Ю., Еремин К.И. Долгов В.В. Унификация процедур цитохимического окрашивания эякулята для определения фертильности мужчины. «Лабораторная диагностика. Восточная Европа», 2020, том 9, № 1–2, стр 41–49.
10. Сапожкова Ж.Ю., Еремин К.И. Патент на интеллектуальную собственность «Способ комбинированного измерения концентрации пероксидазо-положительных клеток (нейтрофильных гранулоцитов) и сперматозоидов в эякуляте человека с использованием вариаций на основе цитохимического окрашивания», 2020 г.

Для диагностики фертильности и (или) мониторинга сперматогенеза

(согласно Руководству ВОЗ, 5-е издание, 2010 г.) WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen

Подготовка пациента

- Образец спермы должен быть собран после 2-, максимум 7-дневного воздержания. Если планируются неоднократные исследования, количество дней полового воздержания должно быть как можно более постоянным при каждом визите.
- В дни воздержания следует вести обычный образ жизни, но не злоупотреблять алкоголем, никотином, не париться в бане, не переохлаждаться, минимизировать стрессы/конфликты, тяжелые физические и умственные нагрузки.

Сбор биоматериала

- Сперму (эякулят) следует собирать в специальной комнате недалеко от лаборатории, чтобы ограничить воздействие на эякулят колебаний температуры и сократить время между сбором образца и его анализом. Допускается сбор спермы в домашних условиях.
- Образец спермы получают путем мастурбации с последующей эякуляцией в чистый широкогорлый контейнер из пластика или стекла.
- При невозможности провести мастурбацию допускается сбор эякулята в специальные презервативы для сбора спермы с обязательной маркировкой на их упаковке («нетоксично для сперматозоидов»).

ОБЫЧНЫЕ презервативы НЕ МОГУТ быть использованы для сбора спермы, так как содержат спермицидную смазку

ВАЖНО! Образец спермы не должен быть потерян в процессе сбора, так как первая порция эякулята содержит максимальную концентрацию сперматозоидов.

НЕЛЬЗЯ прибегать к прерванному половому акту для сбора эякулята по следующим причинам: потеря первой порции эякулята; клеточная и бактериальная контаминация образца спермы вагинальным содержимым: низкая кислотность вагинального содержимого может снизить подвижность сперматозоидов; контейнер должен быть промаркирован с указанием Ф. И. О. мужчины и временем сбора.

Доставка

- Образец собранной спермы (эякулята) должен быть доставлен в лабораторию с направительным бланком со следующей информацией: Ф. И. О., время воздержания, дата и время сбора образца, утерян/не утерян образец во время сбора, были ли трудности во время эякуляции.
- До доставки в лабораторию собранный образец следует хранить при температуре 20–37 °С, исключая резкие перепады температуры во избежание повреждения сперматозоидов.
- Образец следует доставить в лабораторию в течение 1 часа!

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ!

Если первая капля эякулята была потеряна, сбор образца следует повторить после указанного выше периода воздержания

Исследование спермы

Подборка ответов экспертов на вопросы и СОПы

Приложение 3. Спермограмма

Ф. И. О. _____

Дата рождения _____

Показатель	Результат	Единицы измерения	Минимальное референсное значение (ВОЗ, 5-е издание, 2010 г.)
Количество дней воздержания			
Макроскопическое исследование			
Объем		мл	1,5
Вязкость		мм	≤20
Разжижение		мин	≤60
Цвет			серовато-белый
Запах			специфический
pH			>7,2
Мутность	Микроскопическое исследование, млн		мутная
Концентрация (кол-во/мл)			≥15
Общее кол-во сперматозоидов в эякуляте		млн	≥39
(А) Прогрессивно подвижные (PR)		%	≥32
(В) Непрогрессивно подвижные (NP)		%	
(А + В) Общая подвижность		%	>40
(С) Неподвижные (IM)		%	
Жизнеспособность		%	≥58
Агглютинация		степени: 1, 2, 3, 4 / А, В, С, D, E	нет
Агрегация			нет
Лейкоциты		млн/мл	≥1
Эритроциты		в п/з	нет
Липоидные тельца		в п/з	немного
Амилоидные тельца		в п/з	нет
Макрофаги, спермиофаги	Морфологическое исследование в п/з		
Нормальные формы		%	≥4
Критерии Крюгера			
Патология головки			
Патология шейки			
Патология хвоста			
Цитоплазматические капли			
Клетки сперматогенеза			

Исследование спермы

Подборка ответов экспертов на вопросы и СОПы

Показатель	Результат	Единицы измерения	Минимальное референсное значение (ВОЗ, 5-е издание, 2010 г.)
ЗАКЛЮЧЕНИЕ:			
Степень 1 (частичная): ≤ 10 сперматозоидов в агглютинате, много отдельно лежащих			
Степень 2 (умеренная): 10–50 сперматозоидов в агглютинате, встречаются отдельно лежащие			
Степень 3 (выраженная): агглютинаты более чем из 50 сперматозоидов, единичные отдельно лежащие			
Степень 4 (тотальная): все сперматозоиды в агглютинатах			
А – головка – головка, В – жгутик – жгутик; С – кончик жгутика – кончик жгутика; D – смешанная; E – беспорядочная			
Дата выпуска анализа			
Врач			

Таблица 1

Коэффициенты для расчета контрольных пределов

Число исследователей (n)	Стандартное отклонение (Sn)	Контрольные пределы для Ccp		Контрольные пределы для Scp			
		Предупредительные $A2 \text{ Ccp} \pm A2n \times \text{Scp}$	Действительные $A3 \text{ Ccp} \pm A3n \times \text{Scp}$	Нижние действительные $(S_{0,999}) \text{ Scp} \times S 0,999n$	Нижние предупредительные $(S_{0,975}) \text{ Scp} \times S 0,975n$	Верхние предупредительные $(S_{0,025}) \text{ Scp} \times S 0,025n$	Верхние действительные $(S_{0,001}) \text{ Scp} \times S 0,001n$
2	1,253	1,772	2,659	0,002	0,039	2,809	4,124
3	1,128	1,303	1,954	0,036	0,180	2,167	2,966
4	1,085	1,085	1,628	0,098	0,291	1,916	2,527
5	1,064	0,952	1,427	0,160	0,370	1,776	2,286
6	1,051	0,858	1,287	0,215	0,428	1,684	2,129
7	1,042	0,788	1,182	0,263	0,473	1,618	2,017
8	1,036	0,733	1,099	0,303	0,509	1,567	1,932
9	1,032	0,688	1,032	0,338	0,539	1,527	1,864
10	1,028	0,650	0,975	0,368	0,563	1,495	1,809

Таблица 2

Приемлемые различия между повторными подсчетами концентрации, исходя из полученной суммы значений

Сумма	Различие	Сумма	Различие	Сумма	Различие
35–40	12	144–156	24	329–346	36
41–47	13	157–169	25	347–366	37
48–54	14	170–182	26	367–385	38
55–62	15	183–196	27	386–406	39
63–70	16	197–211	28	407–426	40
71–79	17	212–226	29	427–448	41
80–89	18	227–242	30	449–470	42
90–98	19	243–258	31	471–492	43
99–109	20	259–274	32	493–515	44
110–120	21	275–292	33	516–538	45
121–131	22	293–309	34	539–562	46
132–143	23	310–328	35	563–587	47

Таблица 3

Приемлемые различия между повторными подсчетами процентных значений исходя из полученного среднего при повторных подсчетах 100 сперматозоидов (суммарно 200 подсчитанных сперматозоидов)

Среднее (%)	Различие	Среднее (%)	Различие	Среднее (%)	Различие
0	2	16–19	11	91–93	8
1	3	20–25	12	94–95	7
2	4	26–33	13	96	6
3	5	34–66	14	97	5
4	6	67–74	13	98	4
5–6	7	75–80	12	99	3
7–9	8	81–84	11	100	2
10–12	9	85–87	10		
13–15	10	88–90	9		

Референсный диапазон при исследовании секрета предстательной железы: на какие источники опираться

В редакцию поступил вопрос: на какие источники ориентироваться при установлении референсного диапазона для анализа секрета предстательной железы? Автор отметил, что эти данные необходимы для бланка лабораторного заключения. За ответом мы обратились к Жанне Юрьевне Давидовой, заведующей КДЛ Подольского диагностического центра, руководителю, старшему преподавателю Международной Школы цитологии и Медицинской школы инноваций, к. м. н.

На пути поиска этиологического фактора инфекции мужских добавочных половых желез (МДПЖ) в сочетании с мужским бесплодием представляются сомнительными лабораторные алгоритмы исследования уретрального отделяемого / уретрального соскоба и секрета предстательной железы (СПЖ) в связи с невозможностью воспроизводства и стандартизации по количеству и качеству взятого биоматериала, а также низкой диагностической ценностью этих исследований.

В этой связи клинические рекомендации, как российские, так и европейские, не акцентируют внимание на подробной интерпретации результатов исследования СПЖ, так как в мире отсутствуют верифицированные референсные интервалы результатов микроскопического исследования СПЖ согласно обследуемым популяциям.

В открытых источниках можно найти изобилие различных методических рекомендаций (МР), каждая из которых несет исключительно рекомендательный характер (пример референсных значений одной из таких МР ниже).

Исследование спермы

Подборка ответов экспертов на вопросы и СОПы

Референсные интервалы показателей анализа секрета простаты

Показатели	Пределы референсных интервалов	Примечание в случае отклонения от пределов референсных интервалов
Количество	0,5–2 мл	Может наблюдаться как уменьшение объема секрета (простатит), так и его увеличение (при застойных явлениях)
Цвет	Белесоватый	Воспаление в предстательной железе может придавать секрету интенсивно белый и желтый цвет. Примесь крови дает различные оттенки красного
Запах	Специфический запах спермина	Неспецифический запах
Плотность	1022	< 1022
Реакция рН	Слабокислая или нейтральная (рН 6,4–7,0)	Обычно при остром простатите или обострении хронического простатита рН сдвигается в кислую сторону. При хроническом простатите вне обострения реакция может быть щелочной
Лейкоциты	При увеличении × 280: 0–10 в п/зр; при увеличении × 400: 0–5 в п/зр; при использовании счетной камеры – 300 клеток/мкл	Повышение количества лейкоцитов свидетельствует о наличии воспалительного процесса. Следует помнить, что лейкоциты могут примешиваться в секрет при прохождении через уретру
Эритроциты	Единичные или отсутствуют	Могут появляться при простатите или раке простаты
Эпителиальные клетки	1–2 в п/зр	Повышение свидетельствует о наличии воспалительного компонента
Макрофаги	Единичные или отсутствуют	Их количество увеличивается при хроническом воспалительном процессе либо при застойных явлениях
Гигантские клетки	Отсутствуют	Появляются на фоне хронического воспаления и застоя в предстательной железе
Амилоидные тельца	Отсутствуют	Их появление свидетельствует о застойных явлениях
Летициновые зерна	Много (10 млн/мл)	Количество уменьшается при простатите
Кристаллы Бетхера	Единичные	Особого диагностического значения не имеют
Симптом папоротника	Положительный	Отрицательный
Грибы	Не обнаружены	Выявляются при простатите
Флора (бактерии)	Единичная	При бактериальном простатите выявляются в большом количестве

Пример заполнения бланка микроскопического исследования секрета предстательной железы:

Исследования	Референсные значения	Результат
Эпителий	Единичные	Единичные
Эритроциты	Единичные	Единичные
Лейкоциты	До 5	0–1–2 в п/з
Макрофаги	Не обнаружено	Не обнаружено
Лецитиновые зерна	Большое количество	Скудное количество
Амилоидные конкременты	Не обнаружено	Не обнаружено
Флора	Не обнаружено	Не обнаружено
Сперматозоиды	Единичные	Не обнаружено

Поскольку в нашей стране основной источник достоверной информации – это клинические рекомендации, не существует никакого регламента, где были бы прописаны «нормы» результатов микроскопического исследования СПЖ в ЛИС. Каждая медицинская лаборатория вправе утверждать свои нормы согласно обследуемой популяции мужчин, беря за условный ориентир информацию в открытых источниках (см. примеры результатов медицинской лаборатории).

Более подробную и новейшую информацию и методах доказательной лабораторной диагностики можно найти в новой книге «Интерпретация лабораторных исследований при инфекциях мужских половых желез и нарушении репродуктивной функции» geotar.ru/lots/NF0026281.html.

Список использованной литературы

1. Урология. Российские клинические рекомендации / Под ред. Ю.Г. Аляева, П.В. Глыбочко, Д.Ю. Пушкаря. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. – 496 с. ISBN 978-5-9704-3649-3.
2. Сапожкова Ж.Ю., Селиванов Т.О., Негашева Е.С. и др. Интерпретация лабораторных исследований при инфекциях мужских половых желез и нарушении репродуктивной функции. Артикул: NF0026281 ISBN: 978-5-9704-8017-5. 2023. 144 с.
3. Сапожкова Ж.Ю., Милованова Г.А., Пацап О.И. Лабораторная диагностика мужского бесплодия. Маркеры. Часть I // Лабораторная и клиническая медицина. Фармация. 2021. Т. 1, № 1. С. 57–68. DOI: 10.14489/lcmp.2021.01.pp.057-068.

4. Сапожкова Ж.Ю., Милованова Г.А., Пацап О.И. Лабораторная диагностика мужского бесплодия. Маркеры и методы. Часть II // *Лабораторная и клиническая медицина. Фармация.* 2021. Т. 1, № 2. С. 65–79. DOI: 10.14489/lcmp.2021.02.pp.065-079.
5. Сапожкова Ж.Ю., Милованова Г.А., Почерников Д.Г., Постовойтенко Н.Т. Диагностические возможности исследования осадка эякулята с помощью амплификации нуклеиновых кислот методом полимеразно-цепной реакции в режиме реального времени и микробиологического исследования при поиске причин нарушения мужской репродуктивной функции // *Медицинские технологии. Оценка и выбор.* 2022. № 44 (2). С. 62–71. <https://doi.org/10.17116/medtech20224402162>.
6. Почерников Д.Г., Сапожкова Ж.Ю. Тенденции использования ПЦР в обследовании мужчин на инфекции, передающиеся половым путем // *Лабораторная и клиническая медицина. Фармация.* 2022. Т. 2, № 3. С. 18–26. DOI: 10.14489/lcmp.2022.03.pp.018-026.
7. Сапожкова Ж.Ю. Патент на изобретение «Способ лабораторной диагностики мужской репродуктивной функции», заявка 2022113772/14 (028779) г. 2023 г. © 2 799245 <http://new.fips.ru>.
8. Исследование осадка эякулята в диагностике инфекций, передаваемых половым путем. Сапожкова Ж.Ю. Шабалова И.П., Касоян К.Т.: Учебное пособие. – М.: ФГБОУ ДПО РМАНПО МЗ РФ, 2017. – 27с. ISBN 978-5-7249-2488-7.
9. Sapozhkova Z., Kasoyan K., Kovalchuk E. et al. Sperm Sediment Cytology: A New Technique for Diagnosing Occult Urologic infections *ActaCytologica* 2017; 61:247-251 DOI: 10.1159/000469653 URL: karger.com/DOI/10.1159/000469653.
10. EAU Guidelines on Urological Infections Bonkat G. (Chair), Bartoletti R., Bruyère F., Cai T., Geerlings S.E., Köves B., Schubert S.F. Wagenlehner Guidelines Associates: Devlies W., Horváth J., Mantica G., Mezei T., Pilatz A., Pradere B., Veeratterapillay R. © European Association of Urology 2021.

Базовое исследование эякулята: на какие документы опираться специалистам КДЛ

Жанна Юрьевна Сапожкова

руководитель Международной Школы Цитологии&Медицинской Школы
Инноваций, врач клинической лабораторной диагностики, к. м. н.

Статья посвящена проблемам базового исследования эякулята в рамках национального проекта «Демография». По мнению автора, для полноценного выполнения исследований эякулята специалисты лабораторной медицины хотят видеть актуальный работающий регламент, созданный при участии узкопрофильных практикующих специалистов, которого пока нет. Отмечено, что ситуация, когда российские лаборатории используют свои собственные методики и пороговые значения, приводит к неверной интерпретации результатов спермограммы, неправильной последующей тактике дообследования и лечения как мужчины, так и супружеской пары в целом.

Каждую минуту планета Земля пополняется на 134 человека*. Несмотря на это, темпы роста мировой популяции составляют 0,87%***, что соответствует уровню 1955 года. По прогнозам на ближайшие 30 лет удвоится лишь население 46 менее развитых стран – наибольший рост прогнозируется в Африке к югу от Сахары. В 61 наиболее развитой стране ожидается сокращение населения минимум на 1% (больше всего в Восточной Европе). Сегодня мировой репродуктивный тренд соответствует рождению не более двух детей на одну жен-

* worldpopulationreview.com

** worldpopulationreview.com

щину, за исключением африканских стран, где в среднем рожают 4–5 детей*.

В России за последние 12 лет наблюдается тенденция к естественной убыли населения**. С 2015 по 2024 год темпы роста рождаемости в нашей стране упали ниже нулевой отметки (-0,24%***). По уровню смертности Россия занимает 9-е место в мире (13,1/1000 человек)****, по уровню рождаемости – 189-е место (9,3/1000 человек)*****.

Главная причина – бесплодие: 1 из 6 человек во всем мире (17,5% взрослого населения) страдает им; 15% пар не достигают беременности в течение 1 года и обращаются за медицинской помощью; каждая 8-я пара сталкивается с проблемами при попытке зачать первого ребенка и каждая 6-я – последующего. У 50% бесплодных пар выявляется мужской фактор, обычно связанный с патоспермией [1, 2]. С 2000 по 2018 год уровень мужского бесплодия в России вырос в 2 раза [3, 4].

В майском документе Президента «Указ о национальных целях развития РФ на период до 2030 года...» от 07.05.2024 определены целевые показатели суммарного коэффициента рождаемости (СКР) до 1,6 к 2030 году и 1,8 до 2036 года, в том числе ежегодный рост СКР третьих и последующих детей*****. На период 2017–2022 годы СКР составлял 1,4.

Проект «Демография»: какие нормативные документы актуальны для лабораторной службы

В рамках национального проекта «Демография» (2018–2030) перечень документов, которые регулируют деятельность различных социальных сфер жизни, постоянно обновляется. Представлены следующие документы, в той или иной мере касающиеся лабораторной медицины:

* ru.wikipedia.org/wiki/Список_стран_по_суммарному_коэффициенту_рождаемости

** [Здравоохранение в России. 2023: стат. сб./Росстат. – М., 2023. 179 с. rosstat.gov.ru/storage/mediabank/Zdravoohran-2023.pdf](https://rosstat.gov.ru/storage/mediabank/Zdravoohran-2023.pdf)

*** [Здравоохранение в России. 2023: стат. сб./Росстат. – М., 2023. 179 с. rosstat.gov.ru/storage/mediabank/Zdravoohran-2023.pdf](https://rosstat.gov.ru/storage/mediabank/Zdravoohran-2023.pdf)

**** worldpopulationreview.com/country-rankings/death-rate-by-country

***** worldpopulationreview.com/country-rankings/birth-rate-by-country

***** kremlin.ru/acts/news/73986

- ~ приказ Минздрава от 30.08.2012 № 107н (ред. от 01.02.2018) «О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению»;
- ~ клинические рекомендации (КР) «Мужское бесплодие» (2021) [5];
- ~ стандарт оказания медицинской помощи мужчинам при бесплодии (приказ Минздрава от 08.02.2022 № 62н «Об утверждении стандарта медицинской помощи мужчинам при бесплодии (диагностика и лечение)» (зарегистрирован 22.03.2022 № 67830);
- ~ постановление Правительства от 28.12.2023 № 2353 «О Программе государственных гарантий бесплатного оказания гражданам медицинской помощи на 2024 год и на плановый период 2025 и 2026 годов»;
- ~ ГОСТ Р ИСО 23162–2023 «Исследование качества спермы базовое. Требования и методы исследований. ‘Basic semen examination – Specification and test methods’»;
- ~ письмо Минздрава от 08.04.2024 № 17-6/И/2-6434 «О направлении методических рекомендаций по диспансеризации мужчин и женщин репродуктивного возраста с целью оценки репродуктивного здоровья».

Все перечисленные документы рекомендуют использовать анализ эякулята человека для скрининга мужской фертильности, то есть специалистам лабораторной медицины делегирован самый ответственный участок в медицинском направлении национального проекта «Демография».

Почему «Руководства ВОЗ по исследованию эякулята» не заменят национальный регламент

Очевидно, что для достижения поставленных целей каждый проект должен начинаться с дорожной карты, где определен пошаговый алгоритм мероприятий, и разработки пакета документов. Для реализации своей части национального проекта «Демография», то есть для полноценного выполнения исследований эякулята, специалисты лабораторной медицины хотят видеть в первую очередь актуальный работающий регламент, созданный при участии узкопрофильных практикующих специалистов.

С тех пор как Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) (50–60-е годы прошлого века) получила разрешение от ООН на регуляцию репродуктивного здоровья в глобальном масштабе, мир увидел 6 томов лабораторного руководства ВОЗ по исследованию и обработке эякулята человека от 200–500 страниц каждый, которые регулярно обновлялись через 5–11 лет: 1-е вышло в 1980 году, 2-е – в 1987, 3-е – в 1992, 4-е – в 1999, 5-е – в 2010 и 6-е – в 2021 году.

По данным проведенного опроса за последние 6 лет, 50% специалистов лабораторной медицины считают эти книги безупречным регламентом для России, остальные в этом не уверены, но готовы «следовать моде», каждый раз исправляя в отчетных бланках «старые» нижние пороговые/полезные* значения главных параметров спермограммы на «новые» согласно каждому обновленному изданию лабораторного руководства ВОЗ. Мнение о том, что вся необходимая информация по выполнению анализа эякулята для России находится именно в этих глобальных справочниках, ошибочно по ряду причин.

1. Контент ВОЗ должен использоваться в информационных целях. Во-первых, сам ВОЗ так считает: его контент должен расцениваться в информационных целях; необходимо использовать национальный регламент, о чем также упоминается в руководствах: 1) 5-го издания (2010): «... Руководство ВОЗ не следует в обязательном порядке утверждать как стандарт для местных, национальных и лабораторных учреждений мира, а лишь необходимо использовать как рекомендации для улучшения качества проведения семиологического анализа и сравнения результатов» (введение, Руководство ВОЗ 5-го издания, 2010, стр. 18) [6] и 2) нового 6-го издания (2021): «Руководство ВОЗ получило подтверждение от GRC (Guidelines Review Committee), что формат руководства не является регламентом и не требует его утверждения. Цель Руководства – описание процедур для выработки локальных национальных стандартов» (гл. 1.4 Руководства ВОЗ 6-го издания, 2021, стр. 6) [7].

* Значения 5-го центиля, необходимые лишь для интерпретации результата анализа эякулята, то есть фертильности эякулята, а не мужского бесплодия!

2. В России нет рекомендуемых в руководствах ВОЗ торговых наименований реагентов. Во-вторых, лабораторное руководство ВОЗ может быть полезным, если только для R&D-компаний (research and development), которые могут найти информацию по прописям химических составов в целях дальнейшей разработки реагентов. Практикующий специалист лабораторной медицины в глобальном справочнике встретит торговые наименования реагентов, которые не зарегистрированы по правилам в РФ; многоэтапные методики, не подходящие под производственные реалии; противоречивый контент, который дезориентирует специалистов, особенно начинающих. Так, в предыдущем 5-м издании ВОЗ (2021), лейкоциты (пероксидазо-положительные клетки/ППК) входили в перечень основных параметров спермограммы, а в новом, 6-м выпуске, их уже относят к вспомогательным (необязательным) исследованиям. В противовес этому, КР «Мужское бесплодие» (2021) утверждают, что лабораторная диагностика мужского бесплодия должна начинаться с обязательного исследования спермограммы с оценкой концентрации ППК [5].

Что касается подвижности сперматозоидов, то в 6-м издании вновь было введено различие между прогрессивной подвижностью и двумя категориями (классы а и b). Таким образом, классификация подвижности сперматозоидов вернулась к быстро прогрессирующей, медленно прогрессирующей, не прогрессирующей подвижности и неподвижности (классы а, b, с или d соответственно), как указано в 4-м издании [8]. Для этого необходимо предварительно инкубировать чистые предметные стекла при температуре 37 °С. Чтобы обосновать этот выбор, в 6-м руководстве ВОЗ приводятся устаревшие публикации, в которых утверждается, что быстрая подвижность (класс а) имеет клиническое значение [9]. Поскольку в 5-м издании ВОЗ (2010) эта оценка была отменена, различие в прогрессирующей подвижности в двух категориях не оценивалось, как другие параметры (путем сравнения данных, полученных от фертильных и нефертильных мужчин). Удивительно, что это различие в подвижности добавлено в 6-е издание без каких-либо недавних исследований (после 2010 года), которые продемонстрировали бы его полезность в андрологии или в рутинной диагностике [9].

Что касается полезных значений, то согласно данным обзоров в 6-м издании ВОЗ был устранен недостаток 5-го издания, связанный с недостаточной демографической представленностью некоторых географических регионов. Таким образом, 6-е издание содержит результаты анализа образцов спермы 3589 фертильных мужчин из 13 стран и 6 континентов: Азии, Америки, Европы, Африки, Океании (1800 испытуемых из 5-го издания и 1789 новых испытуемых). Недавно добавленные данные получены из двух стран Южной Европы, которые были недостаточно представлены в предыдущем 5-м издании, а также из двух стран Азии и одной страны Африки, которые не были отражены в предыдущем выпуске. Обозреватели отмечают, что некоторые географические регионы, такие как Южная Америка и страны Африки к югу от Сахары, по-прежнему недостаточно представлены в текущем 6-м издании [9, 10].

Приведенные факты – лишь малая часть противоречивого контента изданий лабораторного руководства ВОЗ по исследованию эякулята. Анализ показал, что все главы содержат много невнятных, усложненных, устаревших подходов к методам и методикам, особенно это касается 6-го издания (2021).

3. ГОСТ Р ИСО 23162-2023 не адаптирован к условиям российских медицинских лабораторий. В-третьих, ситуацию с исследованием эякулята в нашей стране осложнил вступивший в силу в январе 2024 года национальный стандарт РФ ГОСТ Р ИСО 23162-2023 «Исследование качества спермы базовое. Требования и методы исследований. Basic semen examination – Specification and test methods»^{*} вызвал споры и недопонимание в профессиональном сообществе. Необходимо отметить, что национальный стандарт является переводной версией международного стандарта «Исследование качества спермы базовое. Требования и методы исследования» (ISO 23162:2021 ‘Basic semen examination – Specification and test methods’, IDT), на основе которого создано лабораторное Руководство ВОЗ по исследованию и обработке эякулята человека 6-го издания (2021). В ГОСТ Р ИСО 23162-2023

* internet-law.ru/gosts/gost/80580/

рекомендуется применение химических реагентов/материалов/приборов, которые на территории РФ не имеют статуса «изделие медицинского назначения», к тому же прописи многих реагентов содержат химические реагенты, обладающие канцерогенными и мутагенными свойствами. Ввиду того, что национальный документ не адаптирован к реалиям российских лабораторий, практикующие специалисты лабораторной медицины не могут опираться на ГОСТ Р ИСО 23162-2023 для написания стандартной операционной процедуры (СОП) спермограммы.

Крайне важно отметить, что на момент утверждения ГОСТ Р ИСО 23162-2023 на территории РФ уже появился набор реагентов отечественного производства для исследования спермы человека (№ РЗН 2021/13931 от 06.04.2021). В подробном пошаговом методическом сопровождении к набору (© 2726207) [11] предложен стандартный протокол выполнения усовершенствованной методики спермограммы, одобренный Росздравнадзором. Также в 2019–2022 годах вышли российские публикации с рекомендуемой рабочей инструкцией СОП «Спермограмма» [12].

Технология набора предусматривает модифицированные подходы к исследованию эякулята, включая окрашивание и подсчет ППК, валидированное окрашивание морфологии сперматозоидов по методу Май – Грюнвальду – Гимзе (по Романовскому – Гимзе) и др. При окрашивании по Романовскому – Гимзе не только достигается эффект более яркой и отчетливой визуализации всех морфологических структур сперматозоида (формы головки, шейки, акросомальной зоны и хвоста) по сравнению с многоэтапным и длительным окра-

Внимание

Россия не упоминается ни в одном издании ВОЗ и ни в одной зарубежной обзорной публикации. Таким образом, уже на протяжении 45 лет данные фертильной, субфертильной/нефертильной российской мужской популяции не используются для установления нижних полезных значений эякулята в глобальных клинических исследованиях ВОЗ. В этой связи стремление российских специалистов учитывать в работе значения обновленных справочников лабораторных руководств ВОЗ глубоко ошибочно.

шиванием по Папаниколау, но и снижается ТАТ (turnearound time/время оборота теста). Мультикolorная идентификация клеток по Папаниколау, рекомендуемая лабораторным руководством ВОЗ 6-го издания (2021)/ISO 23162:2021 и ГОСТ Р ИСО 23162-2023, была предложена в 1954 году греческим гинекологом-патоморфологом Д. Папаниколау исключительно для скрининга рака шейки матки, так как компонентный состав красителей специфично прокрашивает зрелые и незрелые участки плоского эпителия шейки матки для ранней диагностики предраковых и раковых изменений.

В итоге российская разработка для анализа эякулята с пошаговым обновленным алгоритмом с РУ от 2019 года в ГОСТ не вошла. Приведенные примеры демонстрируют поверхностный подход к проблеме и задаче тех, кому делегируется создание документов, регулирующих репродуктивное здоровье нации.

Исходя из короткого обзора ситуации, необходимо отметить, что:

1) любое лабораторное руководство ВОЗ по исследованию и обработке эякулята человека не является российским регламентом;

2) ГОСТ Р ИСО 23162-2023 «Исследование качества спермы базовое. Требования и методы исследований. Basic semen examination – Specification and test methods, который послужил основой для руководства ВОЗ 6-го издания (2021), следует приостановить с целью предотвращения профессиональной дезориентации специалистов лабораторной медицины;

3) необходимо создание локальных национальных документов/стандартов с учетом актуальных российских публикаций и экспертного мнения узкопрофильных практикующих специалистов;

4) ключевой момент – разработка национальных нижних полезных значений для главных параметров базового исследования эякулята человека.

В настоящее время специалисты лабораторной медицины не могут обеспечить исполнение анализа эякулята в рамках национального проекта «Демография», так как во всех лабораториях России используют свои методики и пороговые значения. Такая ситуация приводит к неверной интерпретации результатов спермограммы, неправильной после-

дующей тактике дообследования и лечения как мужчины, так и супружеской пары в целом. Ситуация требует немедленного реагирования со стороны национального профессионального сообщества, так как, по мировым прогнозам, на ближайшие 80 лет в рейтинге густонаселенных стран мира России уже нет [13].

Документальное регулирование процесса – это один из этапов дорожной карты каждого проекта. Что касается анализа эякулята, то специалисты лабораторной медицины также хотят видеть единую концепцию образования по исследованию спермы, широкую линейку реагентов и анализаторов, необходимую для полноценного покрытия потребностей в диагностике мужской фертильности, достаточный кадровый резерв. Но это уже темы для следующих публикаций.

На какие документы опираться специалистам КДЛ, пока не разработан полноценный национальный стандарт

В период неопределенности специалистам, выполняющим методику базовой оценки эякулята неавтоматизированным химико-микроскопическим методом в светлопольном исполнении, необходимо придерживаться единой концепции проведения технологической процедуры спермограммы. Такой подход и есть соблюдение протокола выполнения усовершенствованной методики спермограммы, одобренного Росздравнадзором, сопровождающего первый единственный набор реагентов отечественного производства для исследования спермы человека (№ РЗН 2021/13931 от 06.04.2021).

Также рекомендован к использованию единый бланк отчета по результатам спермограммы (приложение), который разработали специалисты Международной Школы Цитологии & Медицинской Школы Инноваций (МШЦ&МШИ), руководствуясь глобальными информационными справочниками, научными зарубежными и отечественными публикациями, патентами и клиническими наблюдениями из повседневной клинической и лабораторной практики.

Больше информации по правилам проведения анализа эякулята человека можно узнать на дополнительных

образовательных программах повышения квалификации. Представлен обновленный контент согласно свежим справочно-информационным источникам и глубоком профессиональном анализе к состоянию проблемы.

Список использованной литературы

1. Infertility prevalence estimates 1990–2021, WHO, 2023.
2. EAU Guidelines on Sexual and Reproductive Health A. Salonia et al., 2024.
3. Национальный проект «Демография». URL: rosmintrud.ru/ministry/programms/demography. [National project «Demography». URL: <https://rosmintrud.ru/ministry/programms/demography>. (In Russian)].
4. Лебедев Г.С., Голубев Н.А., Шадеркин И.А., Шадеркина В.А., Аполихин О.И., Сивков А.В., Комарова В.А. Мужское бесплодие в Российской Федерации: статистические данные за 2000–2018 годы // Экспериментальная и клиническая урология. 2019. № 4. С. 4–12.
5. Клинические рекомендации «Мужское бесплодие» (утв. Минздравом), разработчик: общероссийская общественная организация «Российское общество урологов», одобрено Научно-практическим советом Минздрава, 2021.
6. WHO, Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen, in 5th edn; 2010.
7. World Health Organization. Sexually transmitted infections (STIs) Geneva: World Health Organization. 2021.
8. World Health Organization. WHO Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Sperm-Cervical Mucus Interaction, 4th ed.; Cambridge University Press: Cambridge, UK, 1999. P. 96–99.
9. Boitrelle F., Shah R., Saleh R., Henkel R., Kandil H., Chung E., Vogiatzi P., Zini A., Arafa M., Agarwal A. The Sixth Edition of the WHO Manual for Human Semen Analysis: A Critical Review and SWOT Analysis. *Life* 2021,11,1368. <https://doi.org/10.3390/life1121368>.
10. Campbell M.J., Lotti F., Baldi E., Schlatt S., Festin M.P.R., Björndahl L., Toskin I., Barratt C.L.R. Distribution of semen examination results 2020—A follow up of data collated for the WHO semen analysis manual // *Andrology*. 2021. Vol. 9. P. 817–822.

11. Сапожкова Ж.Ю., Еремин К.И. Способ комбинированного измерения концентрации пероксидазо-положительных клеток (нейтрофильных гранулоцитов) и сперматозоидов в эякуляте человека с использованием вариаций на основе цитохимического окрашивания. Патент РФ 2 726207. 09.07.2020. Бюл. № 19.
12. Сапожкова Ж.Ю., Репникова А.Р. Процедура выполнения рутинной спермограммы. Что учесть в рабочей инструкции // Справочник заведующей КДЛ. 2020. № 6. С. 66–79.
13. United Nations Department of Economic and Social Affairs, Population Division (2024). World Population Prospects 2024: Summary of Results (UN DESA/POP/2024/TR/NO. 9).

Приложение. Пример отчетного бланка

Спермограмма

Ф. И. О. пациента _____

Дата рождения _____

Параметры	Результат	Единицы измерения	Нижний пороговый интервал*
Количество дней воздержания (нужное подчеркнуть): 1 2 3 4 5			
Макроскопическое исследование			
Объем		мл	1,4 (1,3–1,5)
Вязкость		мм	≤ 20
Разжижение		мин	≤ 60
Цвет			серый опалесцирующий
Запах			негнилостный
pH			7–7,8
Мутность			мутная
Микроскопическое исследование			
Концентрация сперматозоидов		×10 ⁶ /мл	16 (15–18)
Общее количество сперматозоидов		×10 ⁶ /эякулят	39 (35–40)
(А) Прогрессивно-подвижные		%	30 (29–31)
(В) Непрогрессивно-подвижные		%	1 (1–1)
(А + В) Общая подвижность		%	42 (40–43)
(С) Неподвижные		%	20 (19–20)
Жизнеспособность		%	54 (50–56)
Агглютинация**		1, 2, 3, 4	нет
Агрегация			нет
Лейкоциты		×10 ⁶ /мл	≤ 1
Липоидные тельца		в п/з	присутствуют
Дополнительные клетки		в п/з	
Клетки сперматогенеза			
Слизь			отсутствует

Исследование спермы

Подборка ответов экспертов на вопросы и СОПы

Параметры	Результат	Единицы измерения	Нижний пороговый интервал*
Оценка морфологии сперматозоидов			
Типичные формы Нетипичные формы***: ~ патология головки ~ патология средней части ~ патология хвоста ~ резидуальные цитоплазматические отростки		%	4 (3,9–4)
ЗАКЛЮЧЕНИЕ:			
<p>* Нижний пороговый интервал (5th центиль и его 95% доверительный интервал) для оценки качества эякулята (2021, Руководство ВОЗ по исследованию и обработке эякулята человека) не является границей между фертильностью и бесплодием.</p> <p>** Степень 1 (частичная) – < 10 сперматозоидов в агглютinate, много отдельно лежащих. Степень 2 (умеренная) – 10–50 сперматозоидов в агглютinate, встречаются отдельно лежащие. Степень 3 (выраженная) – агглютинаты более чем из 50 сперматозоидов, единичные отдельно лежащие. Степень 4 (тотальная) – все сперматозоиды в агглютинатах.</p> <p>*** Tyberg Strict Criteria</p>			

Дата выпуска анализа _____

Врач _____

Печать

