

Journal für

Reproduktionsmedizin und Endokrinologie

– Journal of Reproductive Medicine and Endocrinology –

Andrologie • Embryologie & Biologie • Endokrinologie • Ethik & Recht • Genetik
Gynäkologie • Kontrazeption • Psychosomatik • Reproduktionsmedizin • Urologie



**Das WHO-Laborhandbuch zur Untersuchung und
Aufarbeitung des menschlichen Ejakulates – Darstellung
und Kommentierung der Unterschiede zwischen der 5. und
6. Auflage // The WHO laboratory manual for the
examination and processing of human semen**

Köhn FM, Schuppe HC

J. Reproduktionsmed. Endokrinol 2022; 19 (4), 177-182

www.kup.at/repromedizin

Online-Datenbank mit Autoren- und Stichwortsuche

Offizielles Organ: AGRBM, BRZ, DVR, DGA, DGGEF, DGRM, D-I-R, EFA, OEGRM, SRBM/DGE

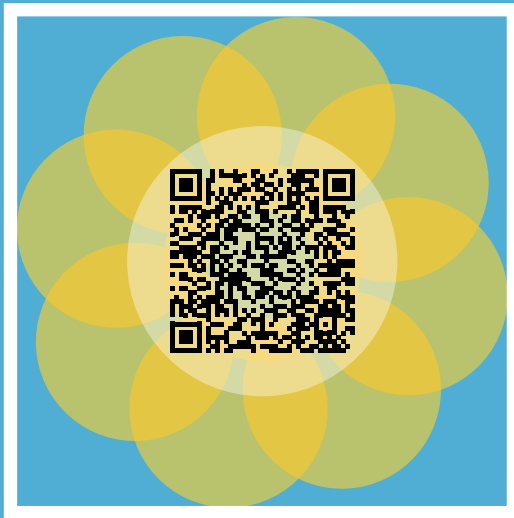
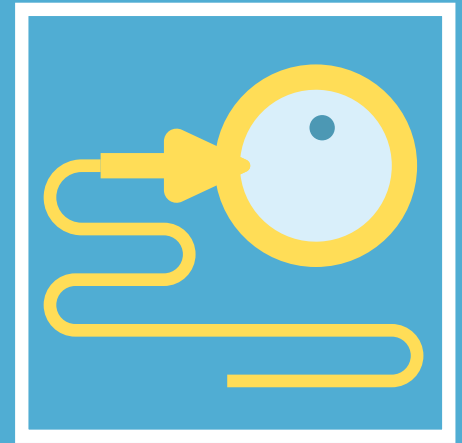
Indexed in EMBASE/Excerpta Medica/Scopus

Krause & Pachernegg GmbH, Verlag für Medizin und Wirtschaft, A-3003 Gablitz

Call for Abstracts

10. DVR-KONGRESS

20.09.-22.09.2023



World Conference Center BONN

Prof. Dr. med. Jean-Pierre Allam

PD Dr. rer. nat. Verena Nordhoff

Prof. Dr. med. Nicole Sänger

PROGRAMM JETZT ONLINE!

Download und weitere Informationen unter

www.DVR-KONGRESS.de

BACK TO THE FUTURE

Das WHO-Laborhandbuch zur Untersuchung und Aufarbeitung des menschlichen Ejakulates – Darstellung und Kommentierung der Unterschiede zwischen der 5. und 6. Auflage

F.-M. Köhn¹, H.-C. Schuppe²

Die Untersuchung des Ejakulates ist zentraler Bestandteil der andrologischen Diagnostik. Daher gibt die Weltgesundheitsorganisation (WHO) seit über 40 Jahren Laborhandbücher mit dem Ziel einer weltweiten Standardisierung der Untersuchungsmethoden heraus. Mit der 6. Auflage des WHO-Laborhandbuches 2021 liegt nun eine aktualisierte Version vor.

Die Änderungen der Referenzbereiche (untere Grenzwerte) für die einzelnen Variablen des Spermioграмms sind im Vergleich zu der 5. Auflage marginal. Die zugrunde liegende Datenbasis wurde aber erheblich erweitert. Bedeutsam erscheinen Verschiebungen in der Einordnung von Testverfahren als Standardverfahren oder „erweiterte Untersuchungen“, der Verzicht auf eine Definition der Nomenklatur zur Kurzbeschreibung der Ergebnisse eines Spermioграмms und eine vorsichtige Aufwertung von Spermienfunktionstests durch die Einordnung in „erweiterte“ oder „fortgeschrittene“ Untersuchungen anstatt in „Forschungsverfahren“.

Schlüsselwörter: Spermioграмm, Spermien, Ejakulat, Analyse, WHO

The WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen – description and comments on differences between the 5th and 6th edition. Semen analysis is one important part of the diagnostic procedures in Andrology. In order to standardize the methods of semen analysis, the World Health Organization publishes the WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen. The 6th edition was published in 2021.

The lower 5th percentiles for the different parameters of basic semen analysis have not changed significantly. They are now based on a much higher number of men in couples from different geographical areas of the world having achieved a natural conception within one year of trying. Detailed analysis of the new WHO Laboratory Manual shows, that some methods are not longer classified as standard procedures but as “extended” or “advanced” examinations. Sperm function tests are no longer summarized as research procedures supporting their clinical relevance.

Definition of the nomenclature for short description of semen quality has not been included into the new edition of the laboratory manual, despite the fact, that it is still used by WHO. **J Reproduktionsmed Endokrinol 2022; 19 (4): 177–82.**

Key words: semen, sperm, ejaculate, analysis, WHO

■ Einleitung

Das Spermioграмm ist nach wie vor die Basis der andrologischen Labordiagnostik [1]. Es liefert Daten über verschiedene zelluläre Variablen wie die Konzentration und Gesamtzahl der Spermien, deren Beweglichkeit und morphologische Qualität sowie die im Ejakulat enthaltenen „Rundzellen“ (Spermatogenezellen, segmentkernige Granulozyten, Makrophagen). Darüber hinaus enthält das Spermioграмm auch Informationen zu biochemischen Bestandteilen im Seminalplasma (z. B. Fruktose als Marker für die Bläschendrüse oder alpha-Glukosidase als Marker für den Nebenhoden).

Mit der Neuauflage des „WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen“ (erschienen 2021) hat die WHO seit 1980 insgesamt sechs Auflagen ihres Laborhandbuches herausgegeben, in denen die Methodik zur Erstellung eines Spermioграмms be-

schrieben und Referenzbereiche für die einzelnen Variablen festgelegt werden [2].

Davor war die 5. Auflage dieses Laborhandbuches in englischer Sprache erschienen [3], der im Jahre 2012 die bisher letzte deutsche Übersetzung folgte [4].

Waren die Abstände zwischen der Herausgabe der ersten WHO-Laborhandbücher noch kürzer (1980 – 1987 – 1992 – 1999), haben sie sich mit den letzten beiden Publikationen (2010 – 2021) auf jeweils mehr als 10 Jahre verlängert.

Zudem wurde bis zur 4. Auflage schon im Titel der Laborhandbücher auf die Spermien-Zervikalschleim-Interaktion Bezug genommen. In der 5. Auflage entfiel dieser Verweis zwar im Titel; entsprechende Testverfahren wurden aber im Abschnitt „Optional Procedures“ und in zwei Appendices präzisiert. In der 6. Auflage finden solche Tests nur noch kurze Erwähnung (siehe unten).

Bemerkenswert ist die Aufnahme einer Kommentierung („From the World Health Organization“) der neuesten Auflage des WHO Manuales durch den Direktor des Department of Sexual and Reproductive Health and Research der WHO, die sich in der vorhergehenden Ausgabe nicht fand. Es wird auf die Bedeutung des Laborhandbuches für klinische Anwendung und wissenschaftliche Studien mit dem Ziel der Verbesserung der sexuellen und reproduktiven Gesundheit hingewiesen.

Mit der Herausgabe der 5. Auflage des WHO-Laborhandbuches im Jahre 2010 waren neue evidenzbasierte Referenzbereiche für die wichtigsten Variablen des Spermioграмms gültig geworden, die sich z. T. erheblich von den zuvor geltenden konsensusbasierten Werten unterschieden.

Ein Vergleich der entsprechenden Werte im aktuellen WHO-Laborhandbuch

Eingelangt und angenommen am 23. August 2022 (verantwortlicher Rubrik-Herausgeber: F.-M. Köhn, München)

Aus dem ¹Andrologikum München und der ²Sektion Konservative Andrologie, Klinik und Poliklinik für Urologie, Kinderurologie und Andrologie, Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH – Standort Gießen

Korrespondenzadresse: Prof. Dr. med. Frank-Michael Köhn, Andrologikum München, D-80331 München, Burgstraße 7; E-Mail: info@andrologikum.com

Tabelle 1: Ejakulatparameter aus einer Referenzpopulation fertiler Männer – Vergleich der WHO-Laborhandbücher 2010 und 2021. Erstellt nach [2, 3, 5].

Ejakulatparameter	WHO 2010 5. Perzentile (95%- Konfidenzintervall)	WHO 2021 5. Perzentile (95%- Konfidenzintervall)
Volumen	1,5 (1,4–1,7)	1,4 (1,3–1,5)
Spermienkonzentration	15 (12–16)	16 (15–18)
Gesamt-Spermienzahl	39 (33–46)	39 (35–40)
Progressivmotilität [a+b] = [PR]	32 (31–34)	30 (29–31)
Gesamtmotilität [a+b+c] = [PR+NP]	40 (38–42)	42 (40–43)
Morphologie	4 (3,0–4,0)	4 (3,9–4,0)
Vitalität (Eosin-Test)	58 (55–63)	54 (50–56)

2021 offenbart hingegen, dass die Unterschiede gegenüber jenen aus dem Jahre 2010 eher marginal sind (Tab. 1) [2, 4, 5]. Dennoch zeigen sich im Detail relevante Änderungen zwischen den beiden WHO-Laborhandbüchern, die bei der Befundmitteilung und Interpretation von Spermioogrammen erhebliche Bedeutung haben und Änderungen entsprechender Formblätter erfordern.

■ Ziele und Umfang der WHO-Manuale („Scope of the manual“)

Als primärer Zweck der beiden letzten Ausgaben des Laborhandbuches wird ausdrücklich festgelegt, dass die darin beschriebenen Methoden dazu dienen sollen, global die „Qualität der Ejakulat-analyse zu verbessern und die Ergebnisse vergleichbar zu machen“. Dadurch sollen auch Beiträge zur Verbesserung der Behandlung männlicher „Subfertilität“ und der Überprüfung kontrazeptiver Maßnahmen beim Mann geleistet werden [2].

Der Anspruch auf eine breite Anwendung und Umsetzung wird in der neuesten Ausgabe des WHO-Handbuches deutlich stärker betont als zuvor. Hieß es in der Ausgabe von 2010 bezüglich der im WHO-Laborhandbuch beschriebenen Methoden noch: „They should not necessarily be taken as obligatory by local, national or global laboratory accreditation bodies“, legt sich das neue Laborhandbuch deutlicher fest: „The methods provided here can be used as standard operating procedures not only for andrology laboratories but for any laboratory performing semen examination“. Dies wird dazu führen, dass die Methoden die Grundlage für zukünftige Zertifizierungen

und Akkreditierungen von Spermio-grammlaboren sein werden.

Die Angabe von Referenzbereichen und Referenzgrenzen beziehen sich auf eine definierte Population von Männern, deren Partnerinnen mit ihnen innerhalb der letzten 12 Monate auf natürlichem Wege eine Schwangerschaft erreicht hatten. Im neuen WHO-Laborhandbuch 2021 sind die entsprechenden Daten einer größeren Anzahl von Männern aus zudem weiteren geographischen Regionen der Erde (neu: China, Ägypten, Griechenland, Iran, Italien) in die Auswertung eingegangen.

Die in den Referenzbereichen angegebenen unteren 5. Perzentilen bedeuten, dass nur 5 % der in die Auswertungen einbezogenen Männer (siehe oben) mit ihren Ergebnissen unterhalb der jeweiligen Grenzwerte lagen.

An mehreren Stellen wird in den beiden jüngsten Ausgaben des WHO-Laborhandbuches darauf verwiesen, dass die Referenzwerte alleine keine dichotome Unterscheidung zwischen Fertilität und Infertilität auf individueller Basis erlauben [2, 4]. Wie schwierig dieser nachvollziehbare Hinweis in einem Laborhandbuch ist, das ja durchaus eine Umsetzung in einem klinischen Umfeld verlangt, zeigt sich auch in der 6. Auflage des WHO-Laborhandbuches, in dem in Kapitel 8.1 nach Darstellung der Perzentilen bzw. unteren Grenzwerte für die Variablen des Basis-Spermioogramms gefolgert wird: „This can be of help to interpret results from an individual patient“ [2].

Hinzu kommen nationale Vorgaben wie z. B. die des gemeinsamen Bundesausschusses in Deutschland, in denen als

Voraussetzung für die anteilige Kosten-erstattung einer assistierten Fertilisation (ICSI) die „schwere männliche Fertilitätsstörung, dokumentiert durch zwei aktuelle Spermioogramme, die auf der Grundlage des Handbuches der WHO (...) erstellt worden sind“, gefordert wird [6].

In Kapitel 8.1 („Interpretation of semen examination results“) des neuen WHO-Laborhandbuches beschränken sich die Autoren bezüglich der Interpretation von Spermioogrammen jedoch grundsätzlich auf zwei Statements: „The manual is not a guideline for clinical decisions as the choice of treatment modalities for male factor infertility. Still, it is the responsibility of each laboratory to provide information that can facilitate the interpretation of the results.“

Ob ein solcher Anspruch an die Spermio-grammlabore in einem WHO-Handbuch, das die gleichmäßige, weltweite Etablierung der Methoden zum Ziel hat, realistisch ist, muss kritisch hinterfragt werden. Die Darstellung von Referenzbereichen nach Erhebung von Daten entsprechender Populationen legt ja gerade eine (vorsichtige!) Interpretation von Spermioogrammergebnissen nahe (siehe Beitrag Schuppe et al. in diesem Heft; [7]).

Zumindest wäre es sinnvoll gewesen, im WHO-Laborhandbuch auch die Methoden, mit denen „jedes Labor“ die Interpretation seiner Ergebnisse untermauern soll, klar zu definieren. Ansonsten kann nicht ausgeschlossen werden, dass die Methodik der Messung zwar vereinheitlicht, die Interpretation aber inhomogen und nicht valide und zudem durch fachfremde, auch finanzielle Interessen beeinflusst wird.

Der stärkere Rückzug auf die Methodik kommt in der neuen Auflage des WHO-Laborhandbuches auch darin zum Ausdruck, dass sich im Gegensatz zu der vorhergehenden Ausgabe bei den Beschreibungen der Basisuntersuchungen zu einem Ejakulat die detaillierten Hinweise zu klinisch relevanten Ursachen für Abweichungen von den Referenzwerten nicht mehr direkt bei den Bestimmungsmethoden finden lassen. Diese sind erst am Ende des Kapitels zu den Basisuntersuchungen als zusätzlicher Gliederungspunkt „2.5 Additional informations and comments“ aufgeführt.

Die Darstellung der Methodik wird hierdurch ebenfalls unübersichtlicher. Während in der 5. Auflage des WHO-Laborhandbuchs die Bestimmung der Ejakulatviskosität durch die Fadenlänge des herabtropfenden Ejakulates von einem Glasstab als eine Alternative direkt in dem Abschnitt „Semen viscosity“ genannt wird, findet sich diese Angabe im neuen Laborhandbuch nicht im Absatz „2.4.2.3 Ejaculate viscosity“, sondern erst mehr als 50 Seiten später im Absatz „2.5 Additional informations and comments“.

■ Gewinnung des Ejakulates

Einflussfaktoren auf die Ejakulatgewinnung und das Ejakulatvolumen (z. B. durch Medikamente) werden im aktuellen WHO-Laborhandbuch detaillierter dargestellt als in der vorhergehenden Ausgabe.

Als Karenzzeit vor Abgabe des Ejakulates werden erneut 2–7 Tage empfohlen, auch wenn eine kürzere sexuelle Abstinenz von 2–3 Tagen als vorteilhaft Erwähnung findet.

Die Anzahl der Ejakulate, die untersucht werden sollten, wird im aktuellen Laborhandbuch nicht eindeutig definiert. Es gäbe zwar Evidenz, dass die Auswertung eines SpermioGRAMMS für die Bestimmung des weiteren Vorgehens ausreichend sein könne; andererseits könnten auch zwei oder mehr SpermioGRAMME notwendig werden.

In der vorherigen Ausgabe findet sich hingegen noch eine klare Festlegung: „*It is impossible to characterize a man's semen quality from evaluation of a single semen sample.*“

Angaben bzw. Empfehlungen zu einem zeitlichen Abstand zwischen mehreren SpermioGRAMMEN finden sich auch in der 6. Auflage des Laborhandbuchs nicht.

Leider ist auch die Abbildung mit Darstellung der intraindividuellen Schwankungen der Spermaqualität von Männern über einen Zeitraum von mehr als einem Jahr im aktuellen Laborhandbuch nicht mehr aufgeführt. Neu aufgenommen wurde eine detaillierte Beschreibung der Auswertung von fraktioniert gewonnenem Ejakulat („Split“-Ejakulaten) im Kapitel „Extended examination“.

Tabelle 2: Zeitlicher Ablauf der Standarduntersuchungen des menschlichen Ejakulates. Erstellt nach [2, 3].

Innerhalb 5 Minuten

- Ejakulatgefäß auf Labortisch oder in Inkubator (37 °C) zur Verflüssigung des Spermas

Zwischen 30 und 60 Minuten

- Beurteilung von Verflüssigung, makroskopisches Aussehen
- Anfertigung eines Nativpräparates zur mikroskopischen Beurteilung, Spermienmotilität und Abschätzung der Verdünnung vor Bestimmung der Spermienkonzentration
- Ejakulatvolumen
- pH (wenn notwendig)
- Vitalität (wenn Motilität reduziert)
- Motilität
- **Bestimmung der Konzentration und Gesamtzahl (WHO 2010)**
- Ausstriche für Spermienmorphologie
- Zentrifugation von Seminalplasma für Biochemie (wenn notwendig)
- Mixed Antiglobulin Reaction- (MAR-) Test (wenn notwendig)
- Bestimmung peroxidasepositiver Zellen (wenn notwendig, z. B. vermehrt Rundzellen)

Innerhalb 3 Stunden

- **Bestimmung der Konzentration und Gesamtzahl, evtl. auch später (WHO 2021)**
- Versendung von Proben an das mikrobiologische Labor (wenn notwendig)

Nach 4 Stunden

- Fixierung und Färbung für Beurteilung der Morphologie
- Bestimmung biochemischer Marker (optional)

Zeitlicher Ablauf der Basisuntersuchung des Ejakulats

Die konkreten Angaben zum zeitlichen Ablauf der Basisuntersuchungen des Ejakulates unterscheiden sich nur geringfügig zwischen den beiden Ausgaben des Laborhandbuchs. Lediglich die Bestimmung der Spermienzahlen findet sich nun explizit im Zeitfenster „3 Stunden“ (oder später) (Tab. 2).

■ Bestimmung des Ejakulatvolumens

In der 5. und 6. Auflage des WHO-Laborhandbuchs wird die Bestimmung des Ejakulatvolumens indirekt durch die Messung des Ejakulatgewichts im ursprünglichen Auffanggefäß empfohlen (Dichte des Ejakulats ca. 1 g/ml).

Während in der 5. Auflage aber alternativ noch die Möglichkeit einer direkten Messung des Ejakulatvolumens in einem graduierten Auffanggefäß aus Glas erwähnt wird, findet diese Bestimmungsmethode im neuen WHO-Handbuch keine Erwähnung mehr. Der untere Wert des Referenzbereiches wurde nun von 1,5 ml auf 1,4 ml reduziert.

■ Verflüssigungszeit und Viskosität

Die Ejakulatanalyse beginnt mit einer ersten makroskopischen Untersuchung. Hierzu sollte es vollständig verflüssigt sein. Die Verflüssigungszeit sollte 15 bis maximal 60 Minuten betragen. In der neuen Auflage des WHO-Laborhandbuchs

wird darauf hingewiesen, dass schon eine nicht erfolgte bzw. unvollständige Verflüssigung innerhalb von 30 Minuten im SpermioGRAMMBEFUND vermerkt werden soll. Zusätzlich muss eine Verflüssigungsstörung nach 60 Minuten (wie in der 5. Auflage des Laborhandbuchs) dokumentiert werden. Sie kann objektiviert werden, indem die Fadenlänge des aus einer Pipette abtropfenden, verflüssigten Ejakulats beurteilt wird. Üblicherweise beträgt diese Fadenlänge bei vollständig verflüssigten Ejakulaten weniger als 2 cm. Alternativ kann das Abtropfen des Ejakulates auch nach Einführen eines Glasstabes beobachtet werden (s. o). Die empfohlenen Möglichkeiten, das Ejakulat bei Viskosopathien doch zu verflüssigen (Verdünnung mit Medium, Behandlung mit Bromelain, wiederholtes Aufziehen des Ejakulates mit Nadeln der Kaliber 18 oder 19), unterscheiden sich zwischen den beiden Ausgaben des WHO-Laborhandbuchs nicht wesentlich.

■ Bestimmung des pH-Wertes

Die Bestimmung des pH-Wertes des Ejakulates sollte nach den Vorgaben beider WHO-Laborhandbücher bevorzugt nach 30 Minuten und auf jeden Fall spätestens 60 Minuten nach Gewinnung der Spermprobe erfolgen. Verwendet wird ein pH-Papier, das einen Messbereich von 6,0 bis 10,0 abdeckt. Während in der 5. Auflage des WHO Laborhandbuchs noch ein „Konsensuswert“ für die untere Grenze des pH-Wertes von 7,2 aufgeführt ist, finden sich im aktuellen Laborhandbuch wieder an zwei verschiedenen

Stellen Anmerkungen zu einem Mangel an Bläschendrüsenschleim bei einem pH-Wert $< 7,2$ und einer möglichen kongenitalen bilateralen Aplasie des Vas deferens (CBAVD) bei einem pH-Wert $< 7,0$. Leider gibt es auch im aktuellen WHO-Laborhandbuch keine Angaben zu einem oberen Grenzwert.

■ Mikroskopische Untersuchung des Ejakulats – Nativpräparate

Bei der Entnahme von Aliquots für einzelne Bestimmungen sollte das Ejakulat jeweils gut durchmischt werden; aufgrund der viskosen Beschaffenheit der Proben müssen Pipetten mit positiver Verdrängungstechnik („positive displacement“) verwendet werden. Die orientierende Untersuchung eines Nativpräparates kann z. B. mit 10 μl Ejakulat auf Objektträger mit 22×22 mm Deckglas erfolgen. Dadurch entsteht eine Kammertiefe von 20,7 μm , sodass die Motilität der Spermien nicht eingeschränkt ist und sich nicht zu viele Spermien und andere zelluläre Bestandteile des Spermas übereinander lagern können.

Die Sichtung unter dem Phasenkontrastmikroskop erlaubt so neben der Beurteilung der Spermienmotilität eine Abschätzung der Spermienkonzentration.

Sehr hilfreich ist im neuen WHO-Laborhandbuch die Tabelle für die Wahrscheinlichkeit unentdeckter Spermien im Nativpräparat in Abhängigkeit vom nativen Ejakulatvolumen und der für die Nativpräparate entnommenen Proben volumina (10 oder 20 μl). Diese Tabelle findet sich allerdings wieder erst im Kapitel 2.5 („Additional information and comments“) und zeigt, dass bei einem Ejakulatvolumen von 2 ml und einem entnommenen Volumen von 10 μl ca. 300 Spermien unentdeckt bleiben können (95%-Konfidenzintervall).

Zusätzlich erlaubt das Nativpräparat bereits Hinweise auf morphologische Störungen der Spermien, das Vorhandensein anderer zellulärer Elemente sowie unspezifischer Aggregationen (Verklumpung immotiler Spermien; Anhaften an Debris etc.) oder spezifischer Agglutinationen (Aneinanderhaften motiler Spermien). Letztere weisen auf die Anwesenheit membrangebundener Autoantikörper gegen Spermien hin.

■ Beurteilung der Spermienmotilität

Die Beurteilung der Spermienmotilität sollte unmittelbar nach der Verflüssigung des Ejakulates beginnen.

Die Durchführung der Messungen erfolgt im Nativpräparat (Objektträger, Deckglas und Kammertiefe siehe oben) bevorzugt bei 37 °C. Es sollten mindestens fünf Blickfelder ausgewertet werden, auch wenn in weniger Blickfeldern bereits mehr als 200 Spermien ausgewertet werden konnten. Es werden 2×200 Spermien aus zwei verschiedenen Nativpräparaten ausgewertet.

Ein wesentlicher Unterschied zwischen der 5. und 6. Auflage des WHO-Laborhandbuches besteht in der Rückkehr zu den „alten“ Kategorien der Spermienmotilität. Es soll nun wieder zwischen den ursprünglichen Kategorien „a = schnelle Progressivmotilität $\geq 25 \mu\text{m/s}$ “, „b = langsame Progressivmotilität 5 bis $< 25 \mu\text{m/s}$ “, „c = nicht-progressive Motilität $< 5 \mu\text{m/s}$ “ und „d = Immotilität“ differenziert werden.

Allerdings beziehen sich die Angaben zu den Referenzbereichen im neuen WHO-Laborhandbuch noch auf die in der vorhergehenden Fassung aufgeführten Motilitätskategorien PR (Progressivmotilität), NP (nicht-progressive Motilität) und IM (Immotilität), da nur hierfür Studiendaten ausgewertet werden konnten [5].

Die untere Grenze der Referenzbereiche für die Gesamtmotilität (progressiv und nicht-progressiv motile Spermien) beträgt jetzt 42 % (davor 40%) und für die Progressivmotilität 30 % (davor 32%) [2, 5].

Im Rahmen der Qualitätssicherung muss beachtet werden, dass sich die akzeptablen Differenzen zwischen den Ergebnissen der beiden Auswertungen von jeweils 200 Spermien (jeweils basierend auf dem 95%-Konfidenzintervall) zwischen den beiden Ausgaben der WHO-Laborhandbücher etwas unterscheiden [2].

■ Vitalität der Spermien

In der vorhergehenden Ausgabe des WHO-Laborhandbuches wird eine Prüfung der Spermienvitalität bei einer

Progressivmotilität < 40 % empfohlen. Im neuen WHO-Handbuch 2021 bleibt es zwar bei der Grenze von 40 %, diese wird aber nicht mehr auf die Progressivmotilität bezogen, sondern nur noch auf die Motilität (das wäre dann die Globalmotilität WHO a+b+c) allgemein.

Grundlage der Vitalitätsprüfung ist die Beurteilung der Intaktheit der Spermienmembranen. So können Farbstoffe wie das Eosin nur eine defekte Membran der Spermienköpfe passieren und den Spermienkopf rot färben (eine zusätzliche Färbung mit Nigrosin erzeugt einen dunklen Hintergrund zur besseren Differenzierung). Die Färbung mit Eosin-Nigrosin ist die im neuen WHO-Laborhandbuch empfohlene Testmethode. Der hypoosmotische Schwelltest, der die Membranintegrität der Flagella erfasst, wird in der vorhergehenden Ausgabe noch gleichwertig aufgeführt, aber im neuen Handbuch lediglich am Ende des Kapitels als alternativer Test erwähnt.

Nicht klar ist, warum im aktuellen Laborhandbuch für den Eosin-Nigrosin-Test die Auswertung von 200 Spermien verlangt wird („Evaluate 200 spermatozoa, to achieve an acceptably low sampling error.“), während für den hyposmotischen Schwelltest zwei Untersuchungen erwähnt werden („Evaluate 200 spermatozoa in each replicate, to achieve an acceptably low sampling error.“). Es ist wahrscheinlich, dass es sich bei den Angaben zur Eosin-Nigrosin-Färbung um einen redaktionellen Fehler handelt.

Die untere Grenze des Referenzbereiches für vitale Spermien beträgt nun 54 % (vorher 58%) [2, 5].

■ Spermienkonzentration und Spermiengesamtzahl

Im Rahmen der mikroskopischen Untersuchung des Nativpräparates (siehe oben) wird durch die Bestimmung der Spermienzahlen pro Blickfeld bei 200-facher oder 400-facher Vergrößerung festgelegt, wie hoch die Verdünnung mit dem von der WHO empfohlenen Fixativum zur Auswertung der Spermienkonzentration sein muss. Für die Bestimmung der Spermienkonzentration sollen jeweils 50 μl Nativejakulat für zwei getrennte Untersuchungen eingesetzt werden. Die Messungen sollten in einem Hämozytometer (Neubauer improved) erfolgen.

Wie bei der Spermienmotilität muss beachtet werden, dass sich die akzeptablen Differenzen zwischen den Ergebnissen der beiden Auswertungen von jeweils 200 Spermien zwischen den beiden Ausgaben der WHO-Laborhandbücher etwas unterscheiden. Im neuen Laborhandbuch ist der Bereich der ausgezählten Spermien sehr viel weiter gefasst und vereinfacht so die Auswertung auch höherer Spermienzahlen.

Die untere Grenze des Referenzbereiches für die Spermienkonzentration beträgt jetzt $16 \times 10^6/\text{ml}$ (davor $15 \times 10^6/\text{ml}$) und für die Spermiengesamtzahl pro Ejakulat nach wie vor 39×10^6 [2,5].

■ Sehr niedrige Spermienzahlen und Azoospermie

Die bisher gewohnte Nomenklatur von Spermioagrammbefunden wird im neuen WHO-Laborhandbuch nicht mehr erwähnt. Dennoch wird sie z. B. im Absatz „2.4.8.8 Low sperm numbers“ noch verwendet („...a total lack of spermatozoa [azoospermia]...“).

Sollten sich in der Nativprobe bei 400-facher Vergrößerung weniger als 4 Spermien pro Blickfeld nachweisen lassen, kann es ausreichend sein, die Spermienkonzentration mit weniger als oder ca. $1 \times 10^6/\text{ml}$ (in der 5. Auflage des WHO-Laborhandbuches ist hier die Angabe von $2 \times 10^6/\text{ml}$ zu finden) anzugeben und zu vermerken, ob motile Spermien erkennbar waren [2,4].

Wenn in beiden Nativproben keine Spermien nachweisbar waren, sollte das Ejakulat zentrifugiert ($3000 \times g$, 15 Minuten) werden, um im Pellet nach Spermien zu suchen. Sichere Aussagen zur Motilität lassen sich dann nicht mehr machen. Auch wenn sich im Pellet keine Spermien nachweisen lassen, ist damit das Vorhandensein vereinzelter motiler Spermien im Ejakulat nicht ausgeschlossen. Bei der Mitteilung der Befunde müssen daher das verwendete Verfahren sowie die Empfindlichkeit der Zählkammer angegeben werden.

■ Spermienmorphologie

Auch bei der aktuellen Auflage des WHO-Laborhandbuches sind die sog. strikten Kriterien als Grundlage zur Beurteilung der Spermienmorphologie

geblieben. Die untere Grenze des Referenzbereiches ist mit 4 % unverändert [2,5].

Während in der 5. Auflage des Laborhandbuches aber als Färbungen zur Beurteilung der Spermienmorphologie die Papanicolaou-, Shorr- oder Diff-Quik-Färbung empfohlen werden, ist in der neuen Auflage des Laborhandbuches als einzige Empfehlung die Papanicolaou-Färbung aufgeführt. Alternativ werden zwar auch die Shorr-Färbung und Schnellfärbemethoden (Diff-Quik) erwähnt, allerdings mit der Einschränkung, dass die Papanicolaou-Färbung die am besten evaluierte Methode ist. Auch hier ist aber zu vermerken, dass die zur Begründung dieser Empfehlung zitierten Literaturstellen alle bereits schon bei der Publikation der 5. Auflage des Laborhandbuches bekannt waren.

Ein weiterer Unterschied zwischen der 5. und 6. Auflage der Laborhandbücher in diesem Kapitel ist die Empfehlung der auszählenden gefärbten Spermien. Im neuen Laborhandbuch wird nur noch die Auswertung von ca. 200 gefärbten Spermien gefordert, während in der vorhergehenden Auflage noch 2×200 Spermien beurteilt werden sollten.

Es ist aber durchaus möglich, dass diese Diskrepanz durch eine redaktionelle Unschärfe im Text des neuen WHO-Laborhandbuches verursacht worden ist, denn im Kapitel „2.5.15 Statistical considerations“ wird darauf hingewiesen, dass bei der Auszählung von Spermien (und damit vermutlich auch im Fall der Auswertung der Spermienmorphologie) Doppelbestimmungen von je ca. 200 Spermien erfolgen sollten [2].

■ Nachweis von Leukozyten

Auch im neuen WHO-Laborhandbuch wird die Peroxidase-Färbung als Methode zum Nachweis von Leukozyten im Ejakulat beschrieben. Sie wird aber nun im Kapitel 3 „Extended examinations“ aufgeführt, während sie in der vorhergehenden Ausgabe des Handbuches noch zu den „Standard procedures“ gezählt wurde. Angesichts der notwendigen Fortentwicklung und Verbesserung der Diagnostik von Entzündungsprozessen im männlichen Genitaltrakt ist diese Entscheidung kritisch zu sehen [8].

■ Nachweis von Spermienautoantikörpern

Der Verdacht auf das Vorliegen von Spermienautoantikörper besteht dann, wenn bei der Beurteilung des Nativejakulates spezifische Agglutinationen nachweisbar sind (siehe oben). Spermienautoantikörper können aber auch dann vorhanden sein, wenn sich keine Agglutinationen zeigen; umgekehrt können Agglutinationen auch ohne spezifische Spermienantikörper auftreten. Wie in der vorhergehenden Ausgabe des Laborhandbuches wird auch in der 6. Auflage darauf hingewiesen, dass der alleinige Nachweis von Spermienautoantikörpern nicht für eine klinische Beurteilung ausreicht. In diesem Zusammenhang findet sich dann doch noch ein Hinweis auf die Bedeutung des Spermien-Mucus-Penetrationstests.

Unverändert werden zwei Testverfahren zum Nachweis von Spermienautoantikörpern beschrieben: der Mixed Antglobulin Reaction- (MAR-) Test und der Immunobead-Test.

Die Kontrolle auf Spermienautoantikörper wird wie der Nachweis von Leukozyten im Ejakulat im aktuellen Laborhandbuch jedoch im Kapitel 3 „Extended examinations“ aufgeführt, während sie in der vorhergehenden Ausgabe des Handbuches noch zu den „Standard procedures“ gezählt wurde.

Die Konsensusempfehlungen für die Beurteilung des MAR-Tests sind unverändert geblieben. Demnach sollten $< 50\%$ der motilen Spermien entsprechende Antikörper aufweisen [2].

■ Biochemische Marker

Biochemische Marker im Seminalplasma erlauben eine Beurteilung der sekretorischen Funktion der akzessorischen Drüsen. Im Hinblick auf Samentransportstörungen bzw. Verschlüsse der Samenwege dient z. B. die Fruktose ($\geq 13 \mu\text{mol}/\text{Ejakulat}$) als Funktionsparameter der Bläschendrüsen, die α -Glukosidase ($\geq 20 \text{ mU}/\text{Ejakulat}$) als Nebenhodenmarker und Zink ($\geq 2,4 \mu\text{mol}/\text{Ejakulat}$) als Marker für die Prostatasekretion. Wesentliche Unterschiede zwischen den beiden Ausgaben der Laborhandbücher bestehen hier nicht. In der 5. Auflage wurden sie unter „Optional procedures“, in der 6. Auflage unter „Extended examinations“ aufgeführt [2,4].

■ Nomenklatur der Ejakulatabefunde

Eine Tabelle zur Nomenklatur der Spermioagrammbefunde (z. B. Oligozoospermie, Teratozoospermie usw.) findet sich wie oben bereits ausgeführt im neuen Laborhandbuch nicht mehr, obwohl diese Begriffe auch in der aktuellen Auflage noch verwendet werden.

■ Relevanz für die Praxis

- Das neue WHO-Laborhandbuch wird die Standardisierung der Ejakulatanaalyse durch die sehr detaillierten Angaben noch einmal deutlich verbessern.
- Dadurch unterstützt es die Möglichkeit entsprechender Labore, die Vorgaben der externen und internen Qualitätskontrolle zu erfüllen.
- Es wäre aber im Sinne einer Standardisierung der Beurteilung gewesen, die Definitionen der Nomenklatur für die Kurzbeschreibung von Spermioagrammbefunden beizubehalten.
- Zudem wäre eine stärkere Fokussierung auf die klinische Relevanz von Spermioagrammbefunden in Bezug auf deren Aussagekraft für die männliche Fertilität wünschenswert gewesen.

■ Spermienfunktionstests

Bezüglich der Spermienfunktionstest wird auf den entsprechenden Beitrag von Nordhoff et al. in diesem Heft verwiesen. Deren klinische Relevanz wird in der neuen Auflage des Laborhandbuches dadurch gestärkt, dass sie nun in den Kapiteln „Extended examinations“ und „Advanced examinations“ enthalten sind, während sie in der vorhergehenden Ausgabe noch unter „Research procedures“ zu finden waren.

■ Interessenkonflikt

Die Autoren geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Literatur

1. Schuppe HC, Köhn FM, Steger K. Andrologie in der interdisziplinären Reproduktionsmedizin. In: Reproduktionsmedizin. Diedrich K, Ludwig M, Griesinger G (eds.) Springer-Verlag, Heidelberg, 2020; 443–89.
2. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 6th ed. World Health Organization, Geneva; 2021. (Lisence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.)
3. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5th ed. WHO Press, Geneva, Switzerland, 2010
4. World Health Organization. WHO-Laborhandbuch zur Untersuchung und Aufarbeitung des menschlichen Ejakulates. 5. Aufl. Springer-Verlag, Berlin. Heidelberg, New York, 2012.
5. Campbell MJ, Lotti F, Baldi E, et al. Distribution of semen examination results 2020 – A follow up of data collated for the WHO semen analysis manual 2010. *Andrology* 2021; 9: 817–22.
6. Gemeinsamer Bundesausschuss der Ärzte und Krankenkassen. Richtlinien des Bundesausschusses der Ärzte und Krankenkassen über ärztliche Maßnahmen zur künstlichen Befruchtung („Richtlinien über künstliche Befruchtung“). *Bundesanzeiger AT* 17.10.2014 B3; letzte Änderung BAnz AT 01.06.2017 B4.
7. Schuppe HC, Behre HM, Köhn FM. Das neue WHO-Laborhandbuch zur Ejakulatdiagnostik: Ändern sich Befundinterpretation und Beratung der Patienten? *J Reproduktionsmed Endokrinol* 2022; 19: 194–9.
8. Schuppe HC, Pilatz A, Hossain H, Diemer T, Wagenlehner F, Weidner W. Urogenitale Infektionen und männliche Fertilität. *Dtsch Arztebl Int* 2017; 114: 339–46.

Mitteilungen aus der Redaktion

Besuchen Sie unsere Rubrik

[Medizintechnik-Produkte](#)



Neues CRTD Implantat
Intica 7 HF-T QP von Biotronik



Artis pheno
Siemens Healthcare Diagnostics GmbH



Philips Azurion:
Innovative Bildgebungslösung

Aspirator 3
Labotect GmbH



InControl 1050
Labotect GmbH

e-Journal-Abo

Beziehen Sie die elektronischen Ausgaben dieser Zeitschrift hier.

Die Lieferung umfasst 4–5 Ausgaben pro Jahr zzgl. allfälliger Sonderhefte.

Unsere e-Journale stehen als PDF-Datei zur Verfügung und sind auf den meisten der marktüblichen e-Book-Readern, Tablets sowie auf iPad funktionsfähig.

[Bestellung e-Journal-Abo](#)

Haftungsausschluss

Die in unseren Webseiten publizierten Informationen richten sich **ausschließlich an geprüfte und autorisierte medizinische Berufsgruppen** und entbinden nicht von der ärztlichen Sorgfaltspflicht sowie von einer ausführlichen Patientenaufklärung über therapeutische Optionen und deren Wirkungen bzw. Nebenwirkungen. Die entsprechenden Angaben werden von den Autoren mit der größten Sorgfalt recherchiert und zusammengestellt. Die angegebenen Dosierungen sind im Einzelfall anhand der Fachinformationen zu überprüfen. Weder die Autoren, noch die tragenden Gesellschaften noch der Verlag übernehmen irgendwelche Haftungsansprüche.

Bitte beachten Sie auch diese Seiten:

[Impressum](#)

[Disclaimers & Copyright](#)

[Datenschutzerklärung](#)