

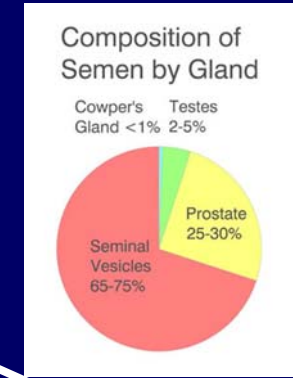
Semen Analizi

İstanbul Üniversitesi
İstanbul Tıp Fakültesi
Üroloji Anabilim dalı
Androloji Bilim Dalı

Cinsel Perhiz

Refleksojenik Ereksiyon + Visuel seksuel Stimulasyon

Semen



Semen (+)

Makroskopik inceleme

Sıvılaşma süresi
Viskozite
Renk
Hacim
pH

Mikroskopik inceleme

Sayı
Motilite
Canlılık
Yuvarlak hücre → Lökosit
Morfoloji

Semen (-) ise veya
Semen volumü < 1,5 ml

Ejakülasyon sonrası
idrarda sperm aranması

Retrograd ejakülasyon ?

THE ONLY PRESENCE OF SPERM IN URINE DOES NOT IMPLY RETROGRADE EJACULATION

J. I. Ariagno, G. R. Mendeluk, M. N. Pugliese, S. L. M. Sardi, C. Acuña, H. E. H. Repetto, and S. M. Curi □ *Departamento de Bioquímica Clínica,*

retroejaculation index (RI)=

$$\frac{\text{İdrardaki toplam sperm}}{(\text{semendeki toplam sperm} + \text{İdrardaki toplam sperm})}$$

- According to NCCLS guidelines the 2.5th and the 97.5th percentiles from the control group define the reference limits.
- Considering the 97.5th percentile, retroejaculators are those patients where the

Fluid Fractions

- 1. Urethral glands** (2-5%) are very small mucus secreting glands.
- 2. Prostate:** Approximately 20% to 30% of the semen volume is acidic fluid produced by the prostate gland, the secretion contains acid phosphatase and proteolytic enzymes that act on the fluid from the seminal vesicles, resulting in the coagulation and liquefaction of the semen.

3. ***Seminal vesicles*** (produce about 46-80 % of the fluid volume of semen) viscous, yellowish secretion is rich in fructose, vitamin C, prostaglandin, and other substances, which nourish and activate the sperm passing through the tract.
4. ***Testis & Epididymis:*** (5%) Spermatozoa are produced in the testis under the influence of testosterone, and then the epididymis (is the first part of the duct system) provides a temporary storage site for the immature sperm that enter it from testis. This fraction still in the inactive form until ejaculation.

Cinsel Perhiz

Refleksojenik Ereksiyon + Visuel seksuel Stimulasyon

Semen

5 dakika

Sıvılaşma için (37 °C)

İlk 30-60 dakika

Makroskopik analiz
Mikroskopik analiz

Semen Santrifüjü
İmmunobead Test

İlk 3 saat

Mikrobiyolojik
incelemesi

İlk 4 saat

Morfoloji
boyanma-değerlendirme

Sonraki gün

Gerekli olduğunda
Dondurulan örnekte
Yardımcı bez işlevlerinin
değerlendirilmesi
indirekt immunobead

Makroskopik Analiz

- Sıvılaşma süresi
- Viskozite
- Renk
- Hacim
- pH

Sıvılaşma

Ortalama 15 dk (0-60 dk)

Koagülasyon



Semenogelin proteini
(seminal vezikül)

Likefaksiyon



Prostatik enzim

Makroskopik Analiz

- Sıvılaşma süresi
- Viskozite
- Renk
- Hacim
- pH

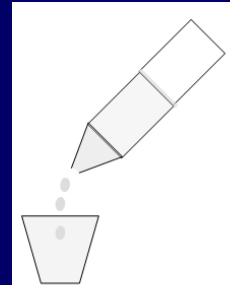
Viskozite

- Semen yerçekimi etkisiye damla damla akması
 - Pipet (1,5 mm çapında)
 - Cam çubuk
- Değerlendirme
- Semen damlasındaki uzama

< 2cm normal



> 2cm anormal



Sıvılaşmayan örneklerde ve anormal viskozite

Ejakülasyon sonrası 60 dk içinde Sıvılaşma (-)
Viskozite > 2 cm ise

Mekanik işlem Pipete veya enjektöre çekip bırakma 6-10 kez

Fizyolojik solusyonu Eşit hacimde salinde Dulbecco fosfat tamponu ilavesi

Enzimatik 1 g/l bromelin, 0.5 cu/ml plasmin veya 10 IU/ml bromelain

Makroskopik Analiz

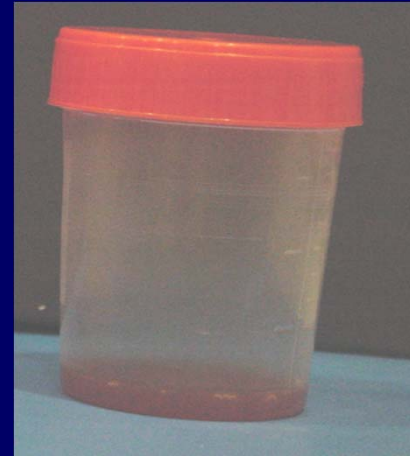
- Sıvılaşma süresi
- Viskozite
- Renk
- Hacim
- pH

Renk

Normal semen
homojen, gri ve opak.



Eritrosit varlığı
kırmızı kahverengi



Makroskopik Analiz

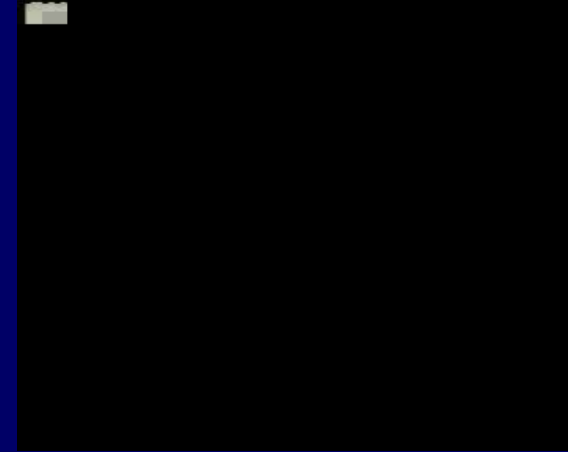
- Sıvılaşma süresi
- Viskozite
- Renk
- Hacim
- pH

Semen hacminin belirlenmesi

Gravimetrik yöntem

Dereceli geniş ağızlı kaba alınması

Volümün aspire edilerek ölçülmesi tavsiye edilmemektedir
– 0,3-0,9 ml kadar eksik ölçülmektedir.



Semen volumu

- Volum $> 1,5$ ml



WHO 2010



BIOSIGMA S.r.l.

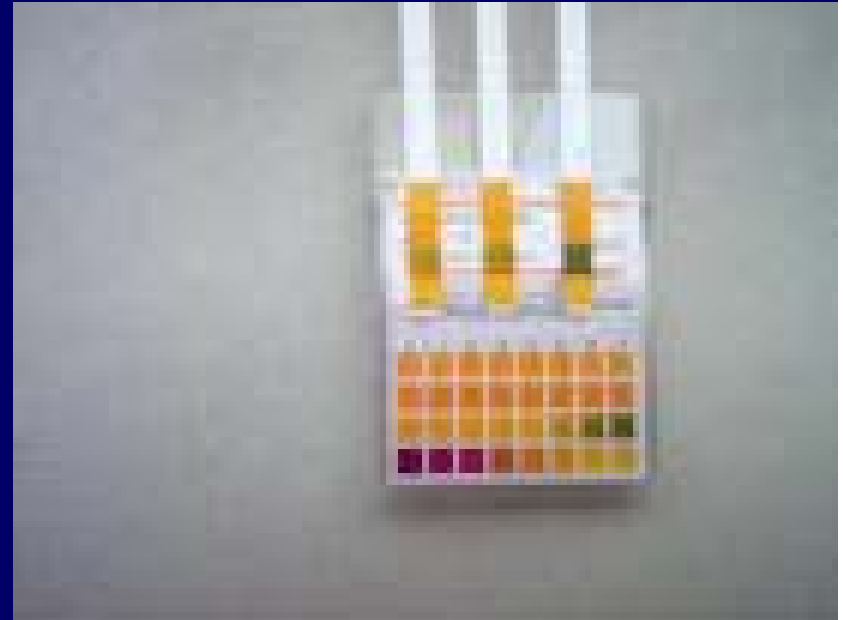
Makroskopik Analiz

- Sıvılaşma süresi
- Viskozite
- Renk
- Hacim
- pH

Semen pH

- Semen pH sı farklı yardımcı bez sekresyonları başlıca alkali seminal veziküler sekresyon (pH:7,4) ve asidik protatik sekresyonun(pH:6,4) ph değerleri arasındaki dengeyi gösterir.
- Likefaksiyon sonrası
 - Tercihen 30 dk
 - Mutlak 1 saat içinde

Viskoz örnekler için pH metre
Referans değer pH > 7,2



Neden $\text{pH} > 7,2$

- Ejakülasyon sonrası semen kadın üreme kanalında ortamın pH sındaki değişiklikler sperm hareketini, kapasitasyon ve fertilizasyonu etkilemektedir.
- Düşük pH ($\text{pH}=5.2$ ve 6.2) nutrisyon solusyonunda toplam hareketlilik , ileri hareketlilik oranı , hipoosmotik şişme testi sonuçlar $\text{pH}=7,2-8.2$ lu ortama göre düşük

Zhou J, 2015

Mikroskopik Analiz

- Sayı
- Motilite
- Canlılık
- Yuvarlak hücre → Lökosit
- Morfoloji

İlk Mikroskopik İnceleme

- Semen hacmi 10 μ l
- Lamel boyutu 22x22
- Derinlik 20 μ m
- Değerlendirmeler 37°C



İlk Mikroskopik İnceleme

Sperm (+)

- Agregasyon veya aglütinasyon
- **Uygun dilusyon derecesi**
- **Sayı**
- **Motilite** → **Canlılık**
- **Yuvarlak hücre** → **Lökosit**
- **Morfoloji**

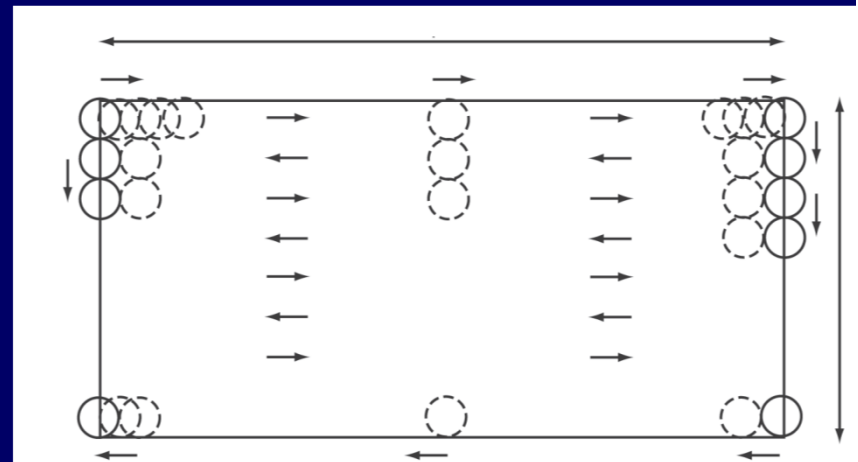
Sperm (-)

Semen 3000 g 15 dk santrifuj

Pellette spermatozoa (+) **Kriptozoospermi**

Toplam sperm sayısı - Motilite karakteri -

Canlı sperm sayısı



Agregasyon

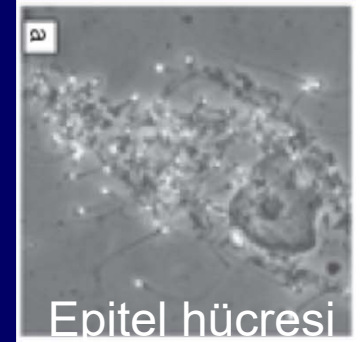
Hareketli veya hareketsiz spermlerin

- Mukus iplikleri
- sperm dışı hücreler,
- hücresel atıklara bağlanma

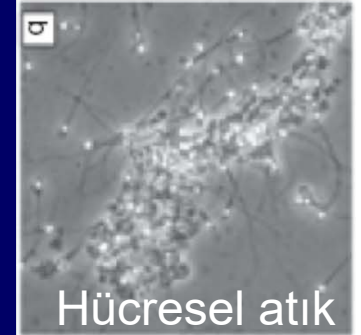


WHO 99

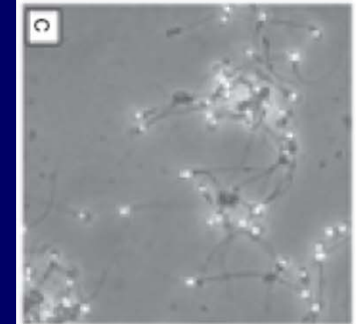
WHO 2010



Epitel hücresi



Hücresel atık

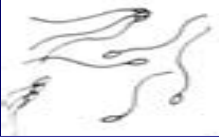
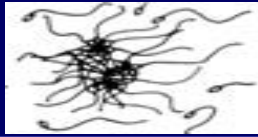
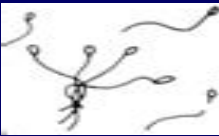
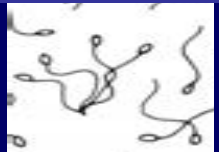
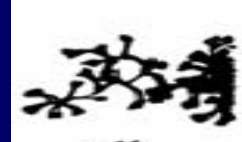


Spermatozoa

Sperm aglütinasyonu

Hareketli spermlerin birbirine yapışarak bir arada bulunması

grade 1: isolated (seyrek)	aglütinasyon başına ayrılmış sperm <10 spermatozoa, spermlerin çoğu serbesttir.
grade 2: orta	aglutinasyon başına 10-50 sperm,serbest sperm
grade 3: geniş	agglutinasyon >50 spermatozoa, bazı spermatozoalar serbest
grade 4: gross (bütün)	Bütün spermatozoalar aglutine olmuş ve bağlantılar arası aglutinasyon

Bölümlerin içeriği	grade 1: isolated (seyrek)aglutinasyon başına ayrılmış sperm <10 spermatozoa, çoğu spermatozoa	grade 2: orta aglutinasyonbaşına 10-50 sperm, serbest sperm	grade 3: geniş agglutinasyon >50 bazı Spermatozoalar Hala serbest spermatozoa	grade 4: gross (bütün) Bütün spermatozoalar aglutine olmuş ve bağlantılar arası aglutinasyon
A- Baş başa				
B- Kuyruk kuyruğa Başlar serbest görünür ve aglutinatların hareketi nettir)				
C. kuyruk ucu kuyruk ucuna				
D- karışık (baş-baş ve kuyruk kuyruğa aglutinasyonlar nettir.)				
E. Dolaşmış Baş ve kuyruk ağ gibi sarılmış . aglutinatlarda baş net değil çünkü kuyruk kuyf-ruğa aglutinasyon				

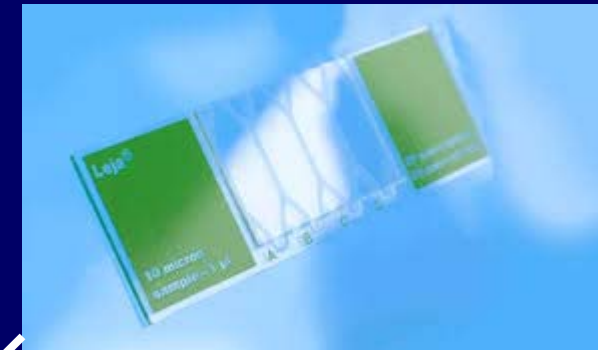
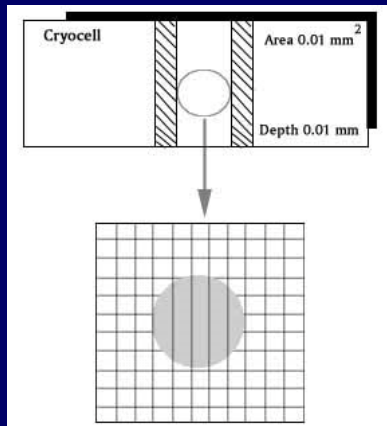
Mikroskopik Analiz

- Sayı
- Motilite
- Canlılık
- Yuvarlak hücre → Lökosit
- Morfoloji

Sperm sayımı

- Sayım kamarası: Improved Neubauer
- Kullanılacak Hemasitometrinin derinliği 100µm olmalıdır.

Alternatif kullanılacak sayım kamaralarının sonuçları Improved Neubauerden alınan sonuçlar ile kontrol edilmelidir.



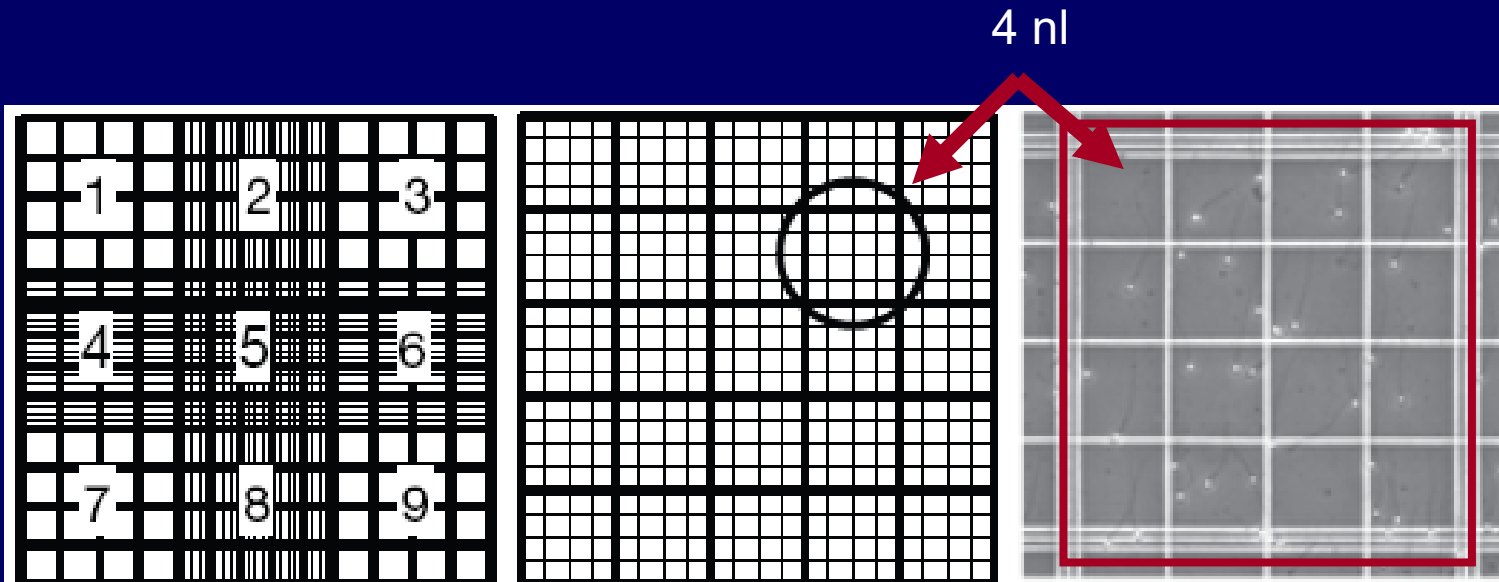
Bilgisayar Yardımlı
Sperm Analiz Sistemleri



Sperm sayımı

İmprover Neubauer kamara

- Toplam 9 kare
- Merkez kare 5x5 büyük kareden oluşur. Semen dilusyonu: merkez karedeki sperm sayısı 200 ve üzeri olacak şekilde yapılır.
- Her semen için 2 kez 200 sperm sayılmalıdır



semen dilusyon oranları ve değ erlendirilecek potansiyel alanlar

400x alandaki sperm sayısı	200x alandaki sperm sayısı	Gerekli olan dilusyon	Semen µl	Fikstatif µl	Sayım kamarası	Değ erlendirilecek alanlar Karelerin numarası
>101	>404	1:20 (1+19)	50	950	Improved Neubauer	5, 4, 6
16–100	64–400	1:5 (1 + 4)	50	200	Improved Neubauer	5, 4, 6
2–15	8–60	1:2 (1 + 1)	50	50	Improved Neubauer	5, 4, 6
<2	<8	1:2 (1 +1)	50	50	Improved Neubauer Veya fazla volüm	9 karenin hepsi Tüm mikroskop lamı

Sperm Sayısı/ml

Spermatozoa/ml 15×10^6

Toplam sperm sayısı 39×10^6

WHO 2010

- Her semen analizinde en az 2 kez dilue edilmiş semen hazırlanır ve sayım yapılır.
- İki sayımın toplamı ve farkı alınır
- Tablodan uygunluğu kontrol edilir
- Gerekirse tekrar dilue örnek sayılır

Toplam	Kabul edilebilir fark
144–156	24
157–169	25
170–182	26
183–196	27
197–211	28
212–226	29
227–242	30
243–258	31
259–274	32
275–292	33
293–309	34
310–328	35

Toplam	Kabul edilebilir fark
329–346	36
347–366	37
367–385	38
386–406	39
407–426	40
427–448	41
449–470	42
471–492	43
493–515	44
516–538	45
539–562	46
563–587	47

**Based on the rounded 95% confidence interval.*

Mikroskopik Analiz

- Sayı
- Motilite
- Canlılık
- Yuvarlak hücre → Lökosit
- Morfoloji

Sperm Hareketi

- Sıvılaşmadan sonra 60 dk içinde
 - Tercihen 30 dk içinde değerlendirilir.
- Oda sıcaklığında veya 37 C de
- 20 μ m derinlikte ve 200X veya 400X büyütmede
- Toplam 200 hücre sayılarak

Motilite

- A. Hızlı ileri hareketli (25 μ m/sn)
- B. Yavaş ileri hareketli
- C. Yerinde hareketli (5 μ m/sn)
- D. Hareketsiz

WHO 99

- **İleri hareketli**

- Hızı ne olursa olsun Spermin aktif olarak hareketi hem lineer hem de geniş dairesel.

- **Yerinde hareketli**

- İlerlemenin olmadığı motilitenin tüm modelleri
- Küçük daire içinde yüzme,

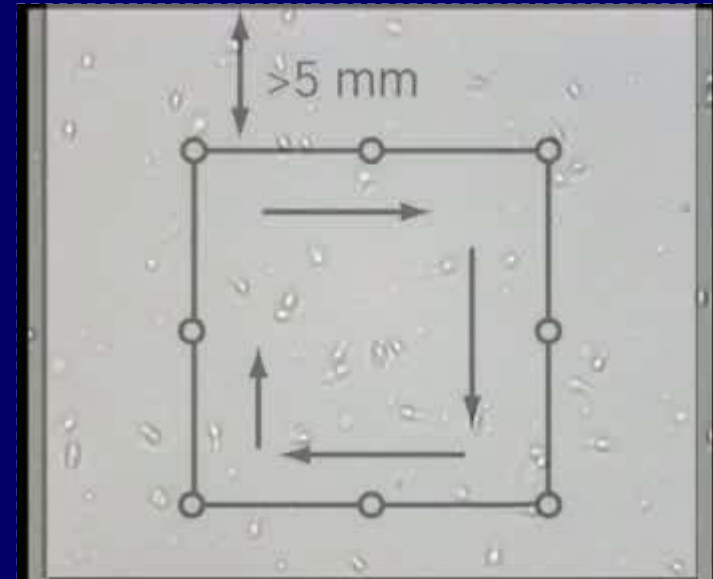
- **Hareketsiz**

WHO 2010

İleri hareketli sperm



+



Hızlı İleri Hareketli

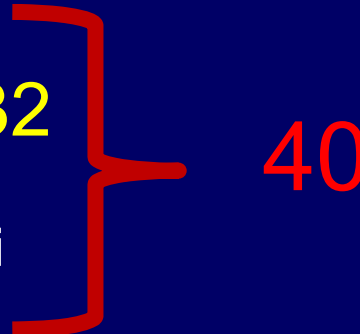
Yavaş İleri Hareketli



Yerinde Hareketli

Sperm Hareketi

Referans değerler

- İleri hareketli 32
 - Yerde hareketli
 - Hareketsiz
- 
- 40

WHO 2010

Mikroskopik Analiz

- Sayı
- Motilite
- Canlılık
- Yuvarlak hücre → Lökosit
- Morfoloji

Sperm canlılığı

- Rutin olarak tüm semen örneklerine yapılmalı
- İleri hareketli sperm $\leq$ %40 ise $\rightarrow$ canlılık testi
- Sperm canlılığı hücrenin membran bütünlüğü ile tanımlanır
- Toplam 200 hücre sayılarak canlı sperm oranı belirlenir.



Eosin Y



Eosin-Nigrosin



HOS test

Sperm Canlılığı

- Boyama testleri
 - Eosin %58 canlı
 - Eosin-nigrosin %58
- Hipoosmotik şişme testi %58

WHO 2010

Mikroskopik Analiz

- Sayı
- Motilite
- Canlılık
- Yuvarlak hücre → Lökosit
- Morfoloji

Yuvarlak Hücre

- Sperm dışı hücreler
 - Epitel ve prostat hücreleri,
 - Spermatogenik hücreler
 - Lökosit
- 
- Yuvarlak hücre sayısı $< 5 \times 10^6$

Lökosit

- Ejakülattaki lökositler özellikle **nötrofillerden** oluşur.
- Lökositlerin fazlalığı;
 - Enfeksiyon
 - Ejakülat hacminin azalması
 - Oksidatif stress nedeni ile sperm fonksiyonunun bozulması
- Normal semende → Lökosit sayısı < 1 milyon/ml
- Yuvarlak hücre sayısı > 1×10^6 ise lökosit tanıma testi yapılır

Lökosit

Lökosit sayısını belirlemede kullanılan teknikler:

1. İntrasellüler peroksidaz varlığı
2. Lökosit spesifik antijen

İntrasellüler peroksidaz varlığına dayalı testte ;

Lökositler (nötrofiller) ortama ilave edilen benzidin ve hidrojenperoksitle kahverengiye boyanır.

Endtz Test

Stok Solusyon

% 96 Etanol	25 ml
Benzidin	0.0625 g
Distile su	25 ml

Hazırlanan solusyon +4-6 C de 6 ay saklanır.

Çalışma solusyonu

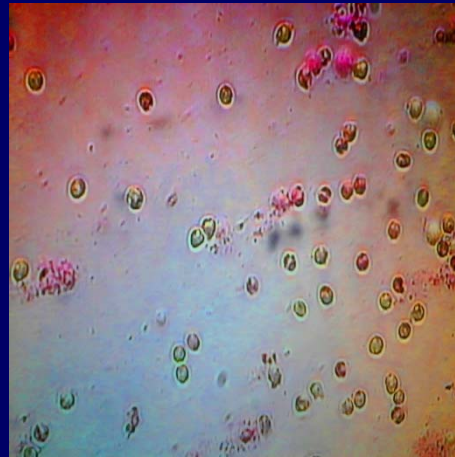
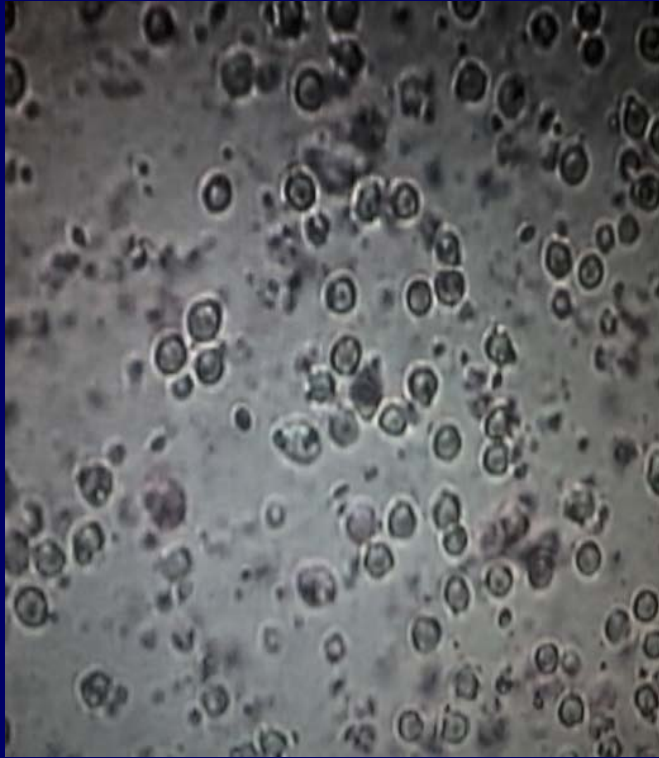
4 ml stok solusyon +50 µl % 3 H₂O₂

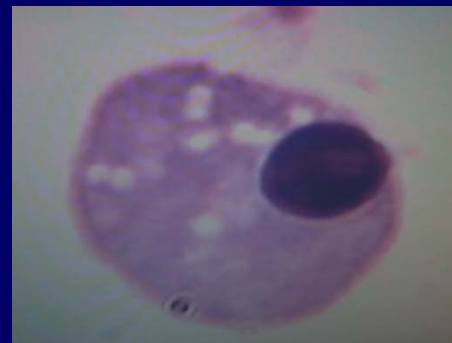
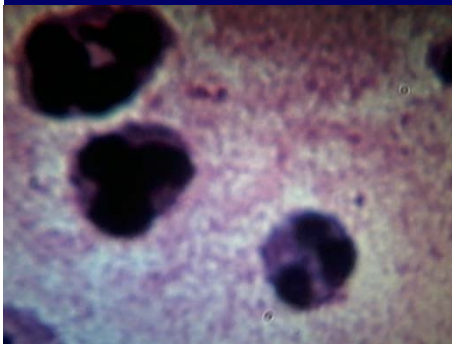
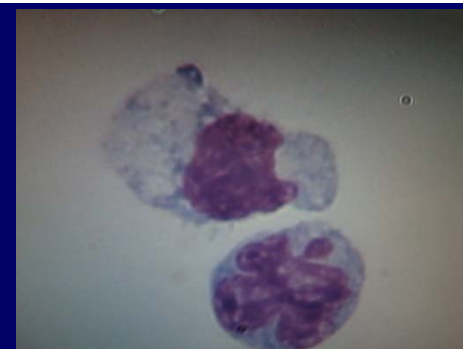
Çalışma

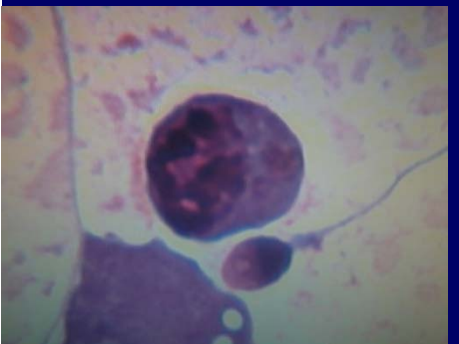
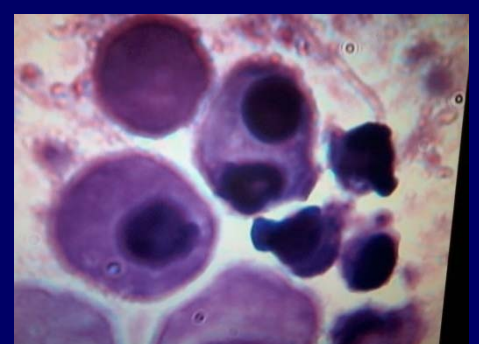
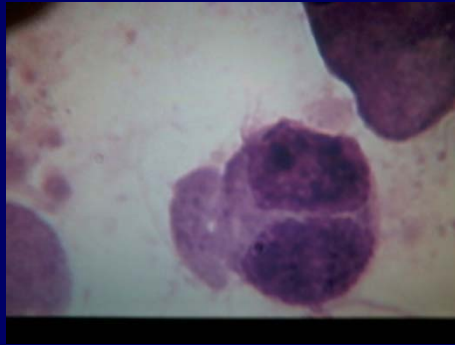
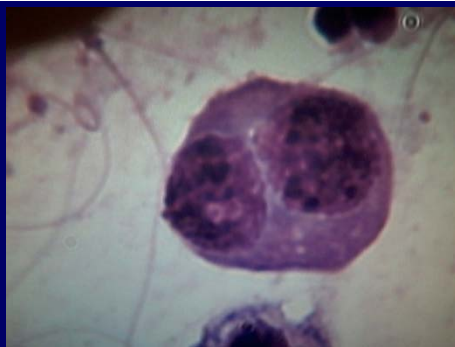
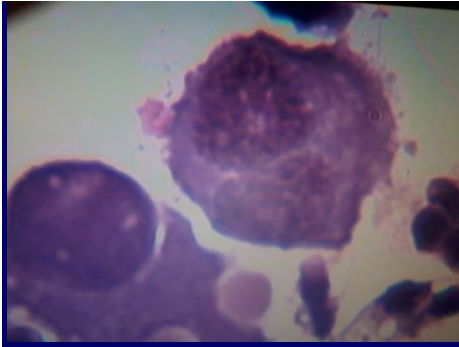
20 µl semen

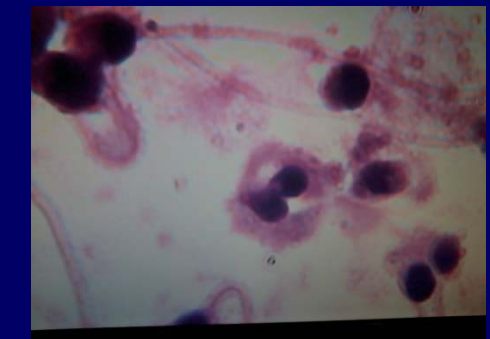
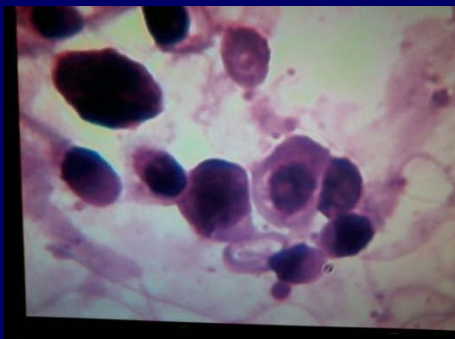
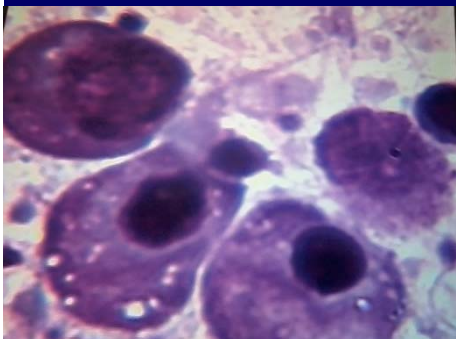
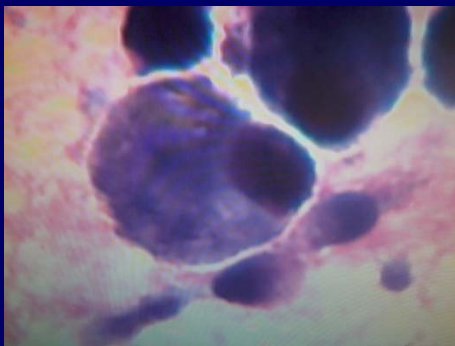
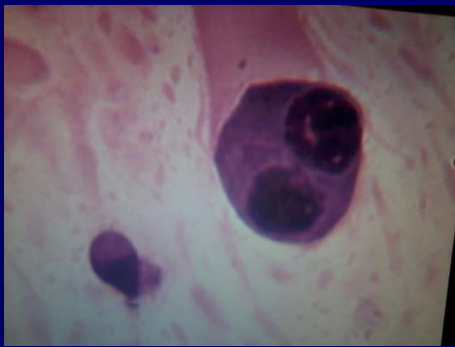
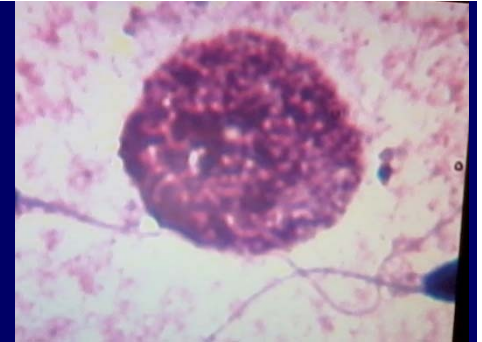
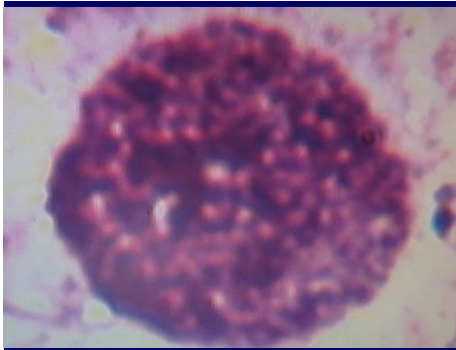
20 µl yıkama solusyonu

40 µl çalışma solusyonu



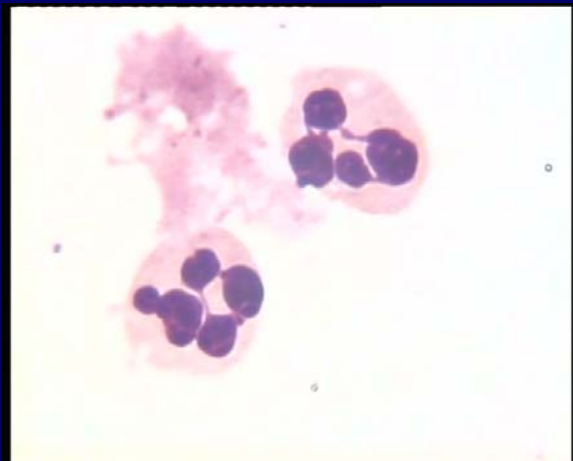








Boyalı preparatta Lökosit



Mikroskopik Analiz

- Sayı
- Motilite
- Canlılık
- Yuvarlak hücre → Lökosit
- Morfoloji

Morfoloji

- Normal $> \%30$
WHO 92

- Normal $\geq \%4$

WHO 2010

- Normal $< \%15$ ise
IVF de başarı
düşüktür
WHO 99

Morfoloji

- Normal $> \%30$
WHO 92

- Normal $\geq \%4$

WHO 2010

- Normal $< \%15$ ise
IVF de başarı
düşüktür
WHO 99



Normal Baş

Oval

Baş en : 2.5-3.5 μm

Baş boy : 4.0-5.0 μm

Baş boy/ Baş en : 1,5-1,75

Akrozomal bölge başın %40-70 kaplamalıdır

Boyun ve orta parça

Boyun ve orta parça < 1.0 μm

boyu baş uzunluğunun 1,5 katı

Sitoplazmik atıklar normal baş alanının
yarısından az olmalıdır

Kuyruk

Uzunluğu ~45 μm

Genişliği < orta parça

Düz

Kıvrılmamış

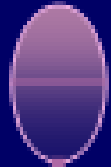
kırılmamış

WHO 99



Parametreler	WHO 1999	WHO 2010
Baş		
Genişlik	2.5-3.5µm	2.8 µm
Uzunluk	4.0-5.0 µm	4.1 µm
boy/en	1,5-1,75	1,5
Akrozomal bölge	%40-70 kaplamalıdır	
Boyun ve orta parça		
Genişlik	< 1.0µm	0.6 µm
Uzunluk	Baş uzunluğunun 1,5 katı	4.0 µm
Sitoplazmik atıklar	normal baş alanı< 1/3	
Kuyruk		
Uzunluğu	~45 µm	
Genişliği	< orta parça	

•Papanicolaou boyama ve bilgisayar sistemi ile ortalama sperm ölçüleri



Genişliği < orta parça
Düz

Morfoloji

Baş

- Oval
 - Akrozomal bölge %40-70
 - Vakuol sayısı < 2
 - Vakuol başın kapldığı alanın %20'nden az
 - Postakrozomal bölgede vakuol olmamalıdır.

Kuyruk

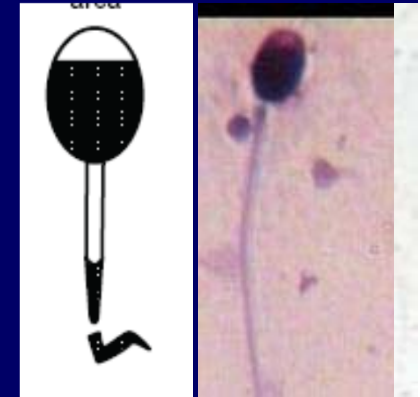
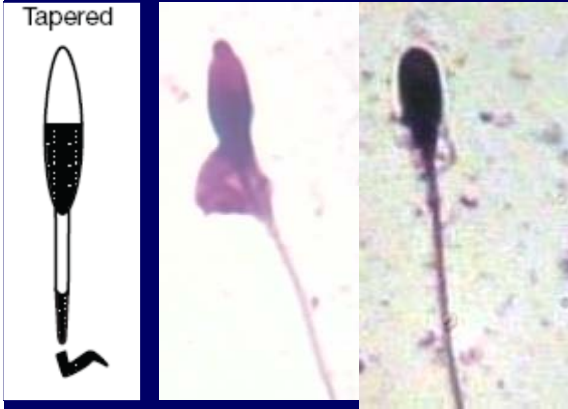
- kırık , kıvrık olmamalıdır
- Kuyruk 360° dönmemelidir.

Normal Baş



Baş Defektleri

Küçük Akrozom



Yuvarlak Baş

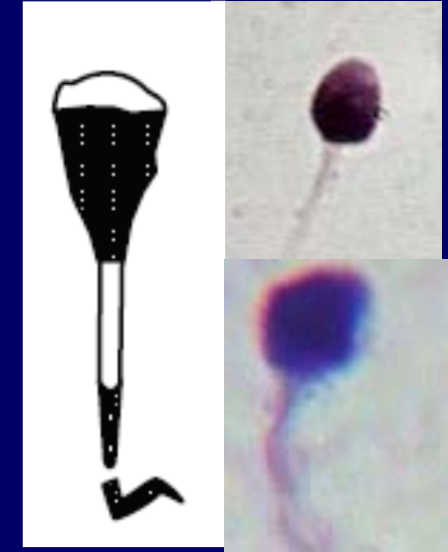
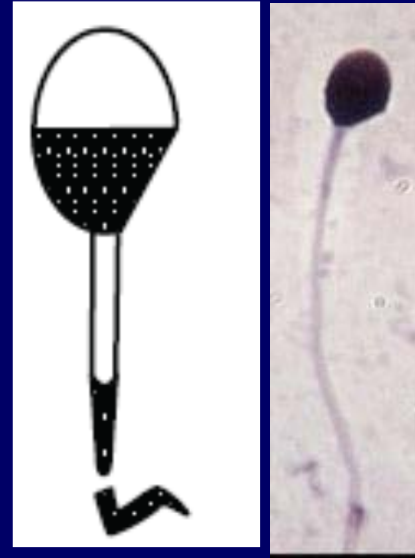
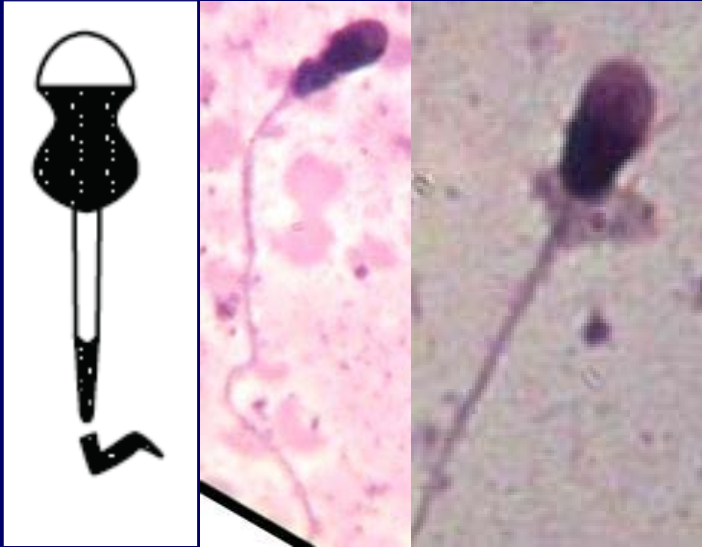
Akrozomsuz baş



Küçük Akrozom



Amorf Baş



Vakuol



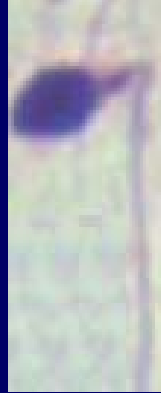
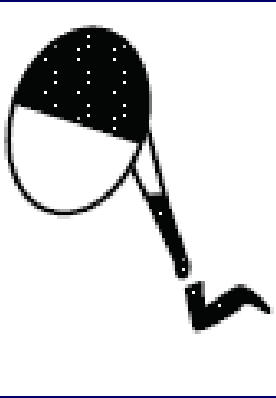
Çift Baş





Boyun ve Orta Parça Defektleri

Kırık boyun



İnce boyun



Boyun ve Orta Parça Defektleri

Kalın boyun

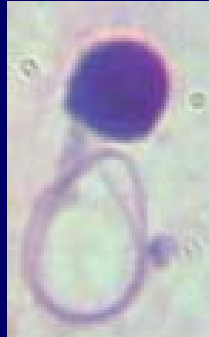


Asimetrik



Kuyruk Defekti

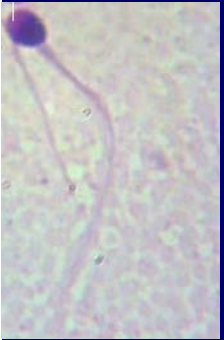
Halka (coiled) kuyruk



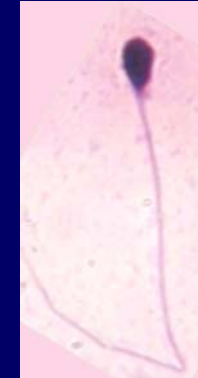
Kısa kuyruk



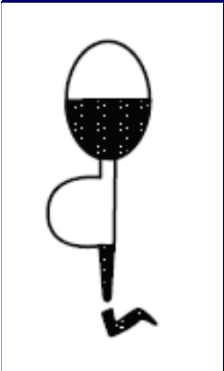
Kalın kuyruk



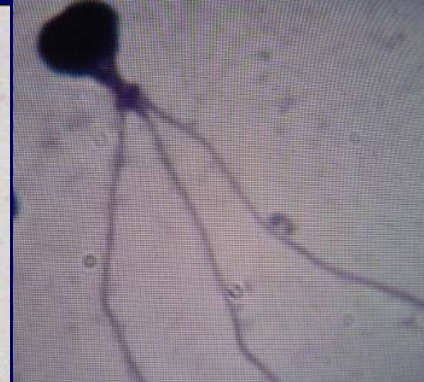
Kırık kuyruk



Sitoplazmik Damla



İki veya daha fazla kuyruk



Özel defektler



Başsız kuyruk
İğne baş

- Sayı, motilite ve morfoloji belirlerken, baş ve kuyruğu bütünü içinde olan spermler değerlendirilir



Kuyruksuz baş

- Bunlar anormal olarak değerlendirilmez
- Gerekli durumlarda sayıları rapor edilir.



İsteğe bağlı yapılacak işlemler

- Multipl anomali indeksi : MAI
- Teratozoospermia indeks :TZI
- Sperm deformiti indeks: :SDI

$$\text{MAI} = \frac{\text{baş defekti} + \text{boyun defekti} + \text{kuyruk defekti}}{\text{toplam defektli sperm sayısı}}$$

$$\text{TZI} = \frac{\text{baş defekti} + \text{boyun defekti} + \text{kuyruk defekti} + \text{stoplazmik damla}}{\text{toplam defektli sperm sayısı}}$$

Max : 4

$$\text{SDI} = \frac{\text{baş defekti} + \text{boyun defekti} + \text{kuyruk defekti} + \text{stoplazmik damla}}{\text{toplam sperm sayısı}}$$

Max : 3

- Normal Morfoloji %4 ise

TZI < 1,7 ise IVFte fertilizasyon iyi olabilir. (ICSI de değil)

TZI > 1,9 ise ICSI düşünülmelidir.

- Normal morfoloji %0 ise ileri inceleme

Rowe et al. (2000)

Normal morfoloji %	İn vivo Gebelik oranı %
<4	11,5
4-9	21,15

Van Zyl ve ark 1990

Teratozoospermi indeksi (TZI) eşik değeri

- Anormal TZI değeri $\geq 1,6$

WHO 1999

- Anormal TZI > 2.09 (subfertil)

- Fertil grupta $< 1,51$

Menkveld R 2001

IVF

Normal Sperm morfoloji (%) ≤ 4

fertilizasyon % 59,3

gebelik %15,2

Normal Sperm morfoloji (%) >4

fertilizasyon % 77,6

gebelik %26

– Cotzee K 1998

Bilgisayar Yardımlı Sperm Analizi (CASA)

- Otomatik sistem
- Sperm görüntülerini alabilen kamera-video - bilgisayar sistemi
 - Sperm sayısı/ ml
 - Hareketlilik
 - Canlılık
 - Morfoloji
- Spermilerin istatistiksel analiz

Kesin doğru
ölçüm

İdeal CASA sistemi

- Sistemin çalıştırılması ve analizin başlaması için teknisyen olmalıdır.
- Semen örneği aparata yerleştirilir
- Analiz yapılır ve sonuç alınır
- Uygulamada ise çalışmanın her aşaması teknisyen tarafından kontrol edilir.

CASA Sistemleri 1

- CASA sistemi
- Kamera ile görüntü alınır ve dijital görüntüye dönüştürülür
- Karanlık alan veya negatif faz kontrast görüntülerinin kullanımı yaygındır
 - Beyaz sperm başına karşı karanlık arka plan
- Bilgisayar programı seçilen alanda sperm başının görüntüsünü aramaya başlar

CASA Sistemleri 2

- Sperm başının kesintisiz görüntüsü yerleştikten sonra sperm yörüngesi tespit edilir.
- Her bir sperm için yörüğe oluşturulur ve sperm dinamik serisi hesaplanır.
- CASA sistemlerinin çoğu böyle çalışır.

CASA Sistemi 3

Klinik androloji laboratuvarlarında

- Hamilton-Thorne Sperm Analyzer (Hamilton Thorne Research, Beverly, MA, USA)
 - Liu , 1991, 2004;
 - Blanchard , 2011
- Sperm Class Analyzer (SCA, Microptic S.L, Madrid, Spain)
 - Lampiao, 2009)
- Cellsoft system (Cryo Resources, New York, NY, USA)
 - Hurowitz et al., 1995;
 - Akashi et al., 2010),
- WLJY-9000 system (Beijing Weili New Century Science & Tech Dev. Co. Ltd., Beijing, China),

CASA Sistemi 4

Sayı/ml

- CASA ile DNA boyalarının kullanılması
 - Sperm DNA boyası ile boyanır ve Floresan mikroskop altında sperm dışı hücrelerden ayrılır.
- Sperm konsantrasyonu belirlenmesinde floresan boyama kullanımı ile daha daha güvenilir sonuçlar elde edilir.
 - (Amann & Katz, 2004; World Health Organization, 2010).
- Sperm konsantrasyonu 2×10^6 - 50×10^6 sperm/ml arasında olursa değerlendirilebilir
- CASA sistemi CFT- 9200 system (Beijing Aerospace Ruiqi Technology Development Co., Ltd., Beijing, China)
 - (Hu et al., 2013)

CASA Sistemleri 5

- Bilgisayar -Mikrovideo- fotovoltaiik teknoloji
- Sperm Quality Analyser V (SQA-V, Medical Electronic Systems Ltd., Caesarea, Israel)
 - (Akashi et al., 2005; Ge et al., 2008).
- Bu sistemde sperm konsantrasyonu ve motilite optik sinyal yolu ile alınır.
- Optik sinyal elektirik pulse ile dijital sinyale dönüşür süreç dijital olarak devam eder otomatik olarak semen parametrelerine dönüşür.
-

CASA – Hareketlilik

- En iyi kinematik analizlerdir
- Hareketsiz sperm sayısı belirlenir
- Hücre döküntüleri hareketsiz spermle karışabilir
- Uygun prosedürler ile güvenilir ve tekrarlanabilir sonuçlar elde edilebilir.
- CASA kullanımı ile ilgili klavuzlara başvurulmalıdır.

CASA – Hareketlilik

- Likefiye olan örnekler;
- CASA sistemleri 37 C de tutulmalıdır
- Motilite değerlendirilmesi; 2×10^6 - 50×10^6 sperm/ml arasında ise yapılabilir.
- Sperm sayısı $> 50 \times 10^6$ ise aynı erkekten alınan spermsiz seminal plazma dilue edilir.
 - Semen 6 dk 16.000 g de santrifuj edilir.

CASA – Hareketlilik

- Cell Trak/S system (CTS, Motion Analysis Corp., Santa Rosa, CA, USA)
 - (Hurowitz et al., 1995; Centola, 1996),
- Sperm Motility Analysis System (SMAS, Kaga Electronics, Tokyo, Japan)
 - (Akashi et al., 2010).
- Copenhagen Rigshospitalet Image House Sperm Motility Analysis System (CRISMAS)
 - (Larsen et al., 2000; Vested et al., 2011),

CASA - Morfoloji

- Otomasyonlu sistemler
 - Tarafsızlık
 - Kesinlik
 - Tekrarlanabilirlik
- Tekrarlanabilirlik ve kesinlik düzeyi deneyimli teknisyenin manuel değerlendirmesinden %7 üstün olabilir.
- Sperm sayısı az olduğunda sperm başları seminal döküntülerle karışabilir.

CASA - Morfoloji

- Morfoloji analizi için geliştirilen sistem computer-aided sperm morphology analysis (CASMA)
- Bazı sistemlerde Sperm başının boyu genişliği , akrozomal bölgenin yüzdesi sperm baş çevresi belirlenir
 - (Garrett et al., 2007)
- Bazı sistemlerde Sperm baş boyun kuyruk incelenir ve boyun ve kuyruğun doğru değerlendirilmemesi güvenilir sonuç vermez.
 - (Amann & Katz, 2004),

CASA nın klinik uygulaması

- Sperm hızı ile ilgili
- curvilinear velocity (VCL, $\mu\text{m s}^{-1}$), kavisli hareket hızı
- straight-line velocity (VSL, $\mu\text{m s}^{-1}$) ileri doğru doğrusal hareket hızı
- average path velocity (VAP, $\mu\text{m s}^{-1}$). ortalama hız
- BCF beat-cross frequency (Hz) sperm kuyruğu vuruş sıklığı (Hz)
- VAP average path velocity ortalama hız
- VCL curvilinear velocity kavisli hareket hızı
- VSL straight-line (rectilinear) velocity ileri doğru doğrusal hareket hızı
-

Computer-aided sperm analysis: past,
present and future

J. C. Lu¹

, Y. F. Huang² & N. Q. Lu³

- Karşılaştırılmalı çalışmalarda manuel olarak yapılan semen analizi ile CASA sonuçları arasında
- **Korelasyon vardır.**
 - (Spiropoulos, 2001; Nafisi ., 2005; Hu l., 2006; Akashi l., 2010;Tomlinson., 2010; Vested 2011).
- **Sonuçlar birbiriyle anlamlı olarak ilişkilidir**
 - (Liu et al., 1991; Akashi et al., 2010)
- İki yöntem arasında çok fark var
 - (Spiropoulos, 2001; Vested et al., 2011).

Manuel - CASA

Karşılaştırılmalı çalışmalarda manuel olarak yapılan semen analizi ile CASA sonuçları arasında;

- Korelasyon vardır.

Spiropoulos, 2001; Nafisi 2005; Hu , 2006; Akashi 2010; Tomlinson et al., 2010; Vested et al., 2011

- Sonuçlar birbiriyle anlamlı olarak ilişkilidir

(Liu et al., 1991; Akashi et al., 2010)

- İki yöntem arasında çok fark var

(Spiropoulos, 2001; Vested et al., 2011)

- Genelde sperm konsantrasyonları arasındaki fark azdır. CASA sistemi ile hareketlilik ve dinamik sonuçlar manuel yöntemle göre daha güvenilir , kesin ve objektiftir.

Garrett, 2003; Nafisi., 2005; Hu , 2006 Tomlinson 2010

- Sperm konsantrasyonu sonuçları iki yöntem ile uyumlu, hareketlilikler ise farklı olarak elde edilmiştir.

Davis & Katz, 1992; Jin ., 2004; Ge 2008; Akashi ., 2010

CASA - CASA + Floresan Boya

- Floresan boyama yapan ve yapmayan CASA sistemlerin sonuçları arasında da oldukça fazla fark elde edilmektedir. Jin et al., 2004
- Floresan boyamalı CASA sistemde
 - sperm ve sperm olmayan partiküller canlı ve ölü sperm olarak değerlendirilebilir.
- Floresan boyama yapmayan CASA sistemlerde
 - bazı fragmanları gereksiz olarak sayabilir
 - bazı spermleri algılayamaz
 - CASA sistemler oligozoospermik örnekler için sperm sayısını daha yüksek bulunabilir.

Manuel müdahale gereklidir.

- Floresan boyalı CASA sistem semen analizi için uygundur.
- Özellikle sperm sayısı belirlemede daha güvenilirdir.
- Bu sistemlerde kalite kontrol çok önemlidir.

Jin W, 2004

Bilgisayar yardımlı semen analizi

- Gelişen teknoloji ile beraber geliştirilen bilgisayar yardımlı semen analizi sistemleri sperm hareketliliği, konsantrasyon ve morfoloji tespitinde kullanılabilmektedir.

- Floresan DNA boyaları
- Sperm kuyruğunun belirlenmesindeki algoritmalar



Sperm konsantrasyonu ve ileri hareket oranını belirlemeye imkan tanır.