

ГБПОУ СК СБМК  
ЦМК лабораторной диагностики

# Исследование эякулята

Лекция для студентов специальности 31.02.03

Лабораторная диагностика

ПМ.01 МДК 0101

Преподаватель Бочарова Л.И.

2020 год

## Микроскопическое исследование.

- Эякулят помещают в термостат при температуре 37 С (при пониженной температуре сперматозоиды замирают).



# Микроскопическое исследование.

Микроскопируют после разжижения не позднее, чем через 1 час после эякуляции. Перемешанную сперму наносят на чистое, сухое, подогретое до 20-30°C предметное стекло и накрывают покровным. Нативные препараты смотрят при объективе 40, окуляре 10, полуопущен конденсор. Описывают клеточные и неклеточные элементы. Определяют кинезисграмму.



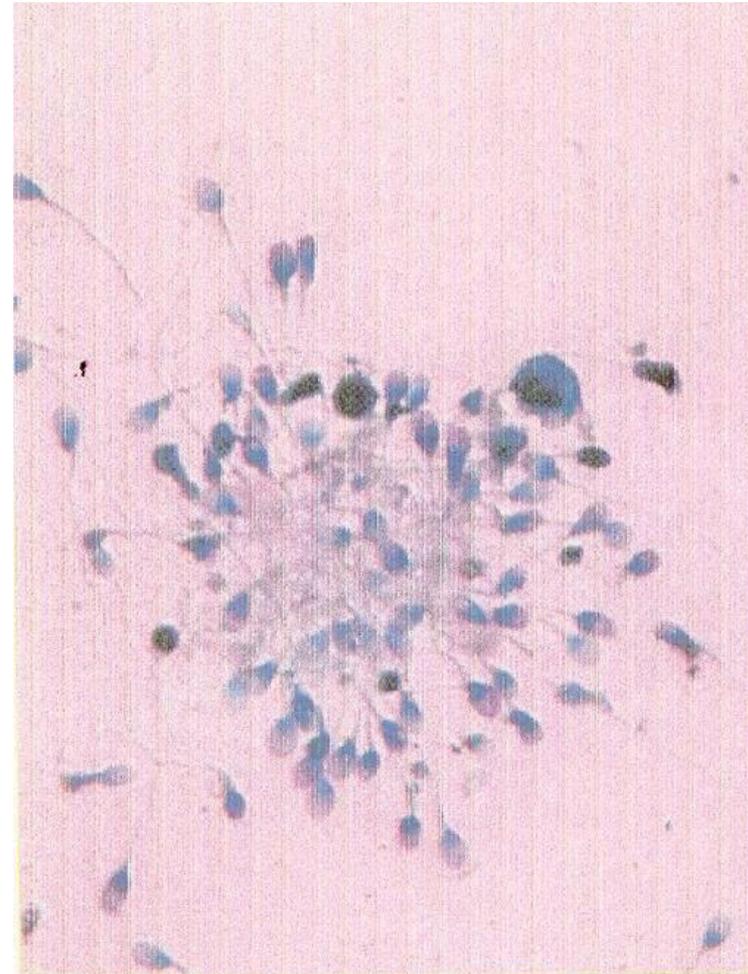
## Микроскопическое исследование.



- Сперматозоиды - длинные клетки (58-66 мкм) со жгутиками.
- В них различают головку, шейку и хвост. Головка грушевидной формы с заостренным передним концом. Большая часть головки занята ядром, вокруг тонкая полоска цитоплазмы. Шейка — наиболее тонкая часть сперматозоида. Хвост тонкий, длиной 50-60 мкм. При отсутствии сперматозоидов в нативных препаратах сперму центрифугируют при 3-4 тыс. об/мин. 5-10 мин, из осадка готовят нативные препараты, затем их окрашивают и исследуют сперматограмму.

## Микроскопическое исследование.

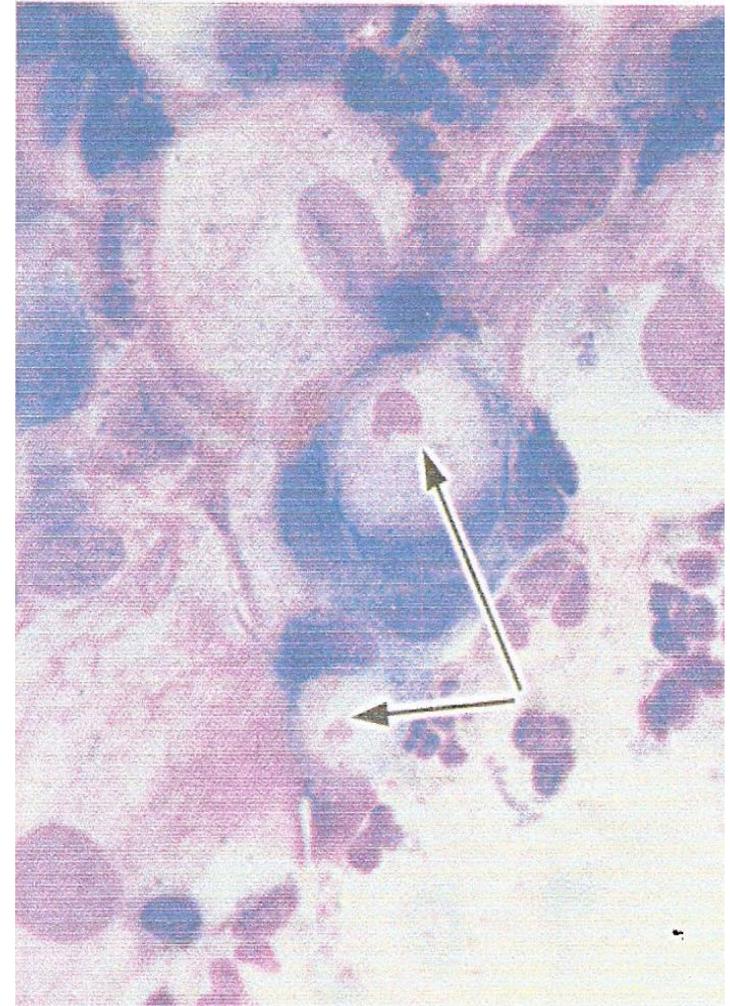
- При различных заболеваниях половых органов (простатит и др.) может наблюдаться агглютинация (склеивание) сперматозоидов (+), при склеивании половины сперматозоидов только головками (++), половины сперматозоидов и головками и хвостами (+++), всех или почти всех сперматозоидов (++++).



# Микроскопическое исследование.

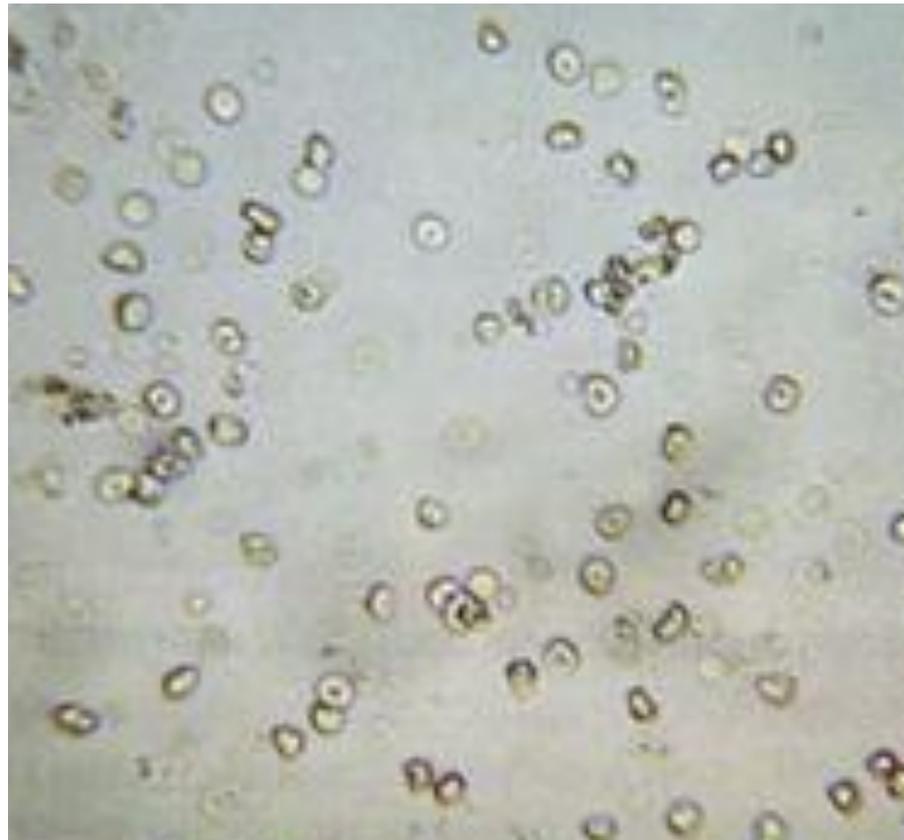
## Поддерживающие клетки извитых семенных канальцев (клетки Сертоли) –

- Крупные вытянутой грушевидной формы (20-40) со светлым угловатой формы ядром. В цитоплазме много трофических включений (капли жира и липидов, кристаллы белков). Встречаются в эякуляте в 5% случаев.



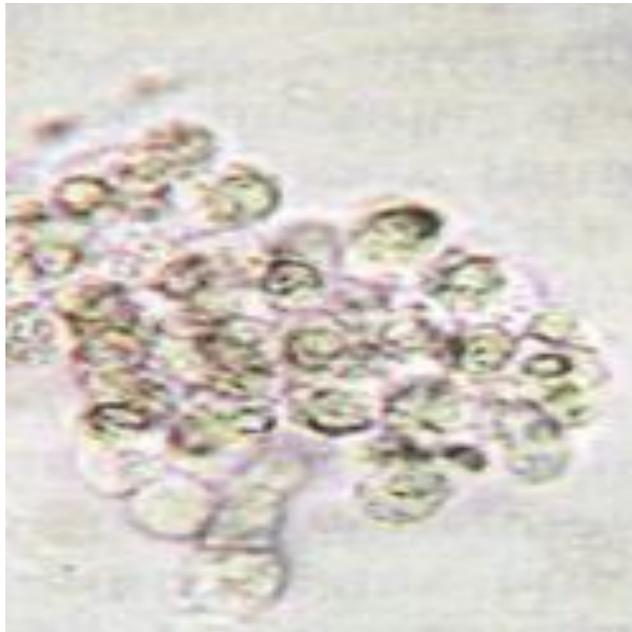
## ЭРИТРОЦИТЫ –

в норме отсутствуют или 1-2 в препарате. При ранениях  
воспалениях – гемоспермия.



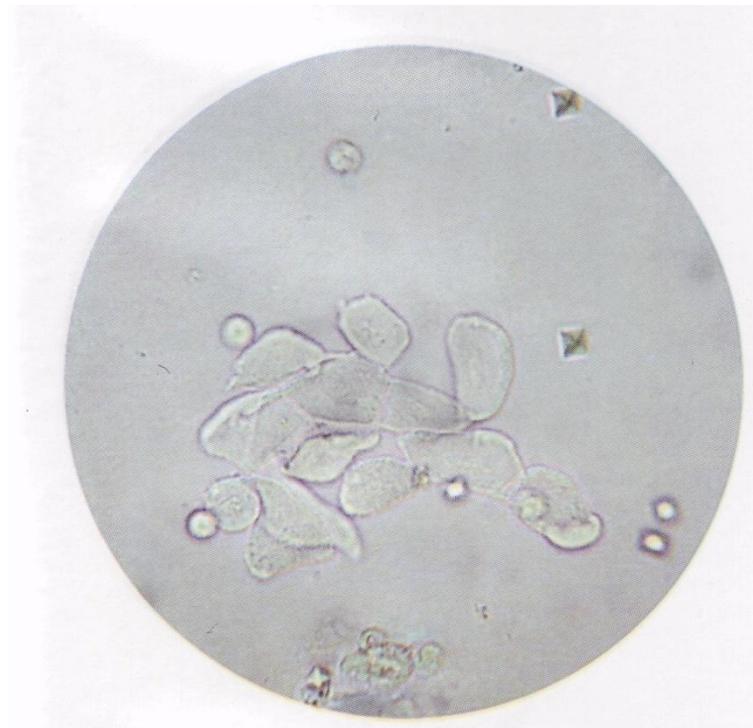
## ЛЕЙКОЦИТЫ (L) –

В норме единичные. Количество их повышается при гонорее, туберкулезе. Большое количество лейкоцитов - плеоспермия, необходимы окраска по Граму, бактериологическое исследование (посев на микрофлору, чувствительность к антибиотикам).



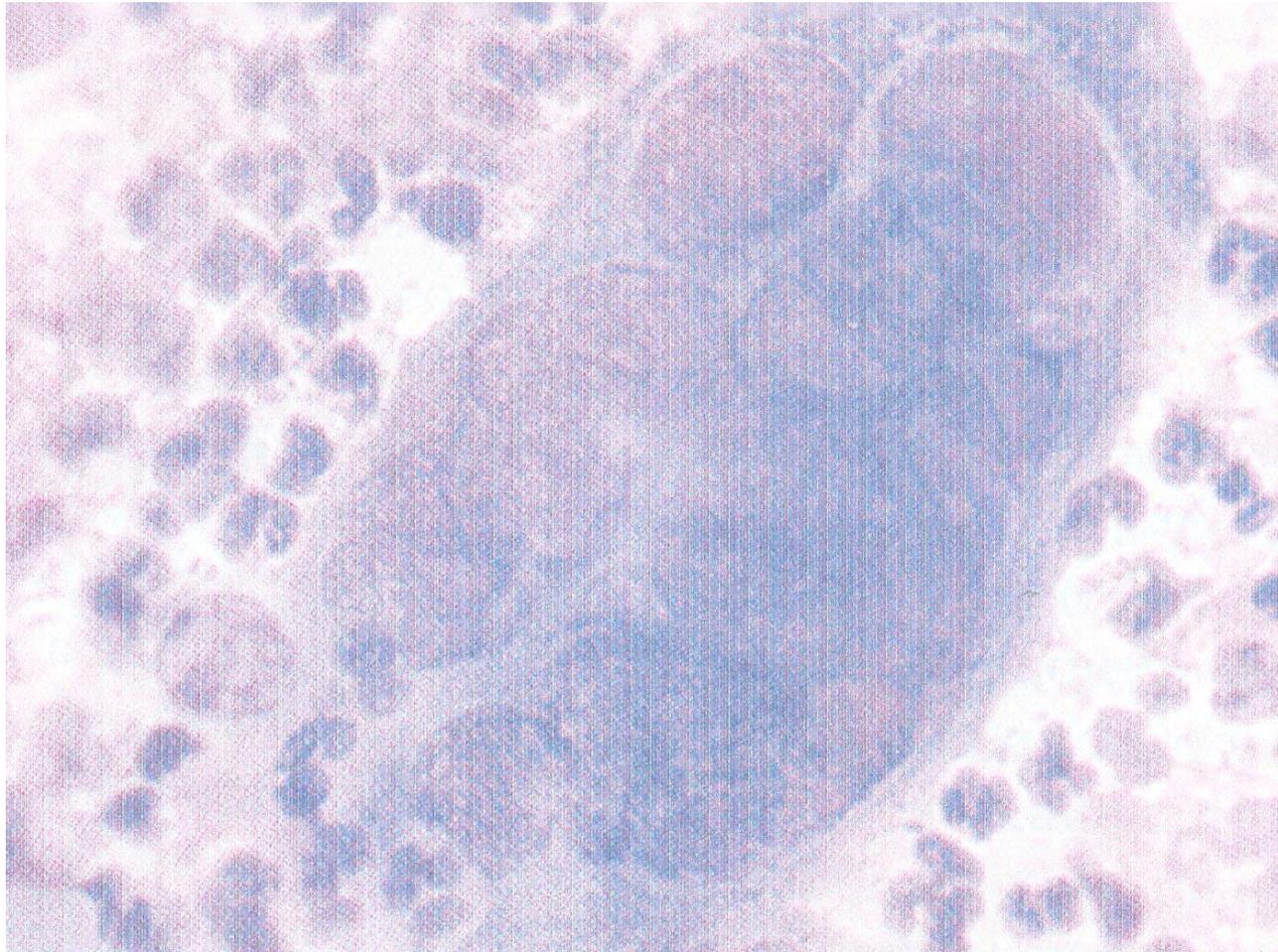
## КЛЕТКИ ЭПИТЕЛИЯ –

В норме - в небольшом количестве цилиндрический эпителий мочеиспускательного канала и единичные клетки протока придатка яичка, они полигональной формы 18-42 мкм, ядра круглые, гиперхромные. При неспецифическом уретрите - в сперме многослойный плоский неороговевающий эпителий.



## **ГИГАНТСКИЕ КЛЕТКИ –**

диаметром 16-22 мкм. 2-12 ядер. Это клетки хронического воспаления.



## СПЕРМАТОФАГИ –

круглые большие клетки диаметром 20-36 мкм со светлой вакуолизированной цитоплазмой, 1 или несколько ядер.

В цитоплазме - головки фагоцитированных сперматозоидов. Сперматофаги появляются при застое спермы (половое воздержание, облитерация семявыносящего протока из-за воспаления).



## **ЗЕРНА ЛИПИДОВ – (лецитиновые зерна)**

мелкие белесоватые образования округлой формы. В норме в большом количестве. При воспалении предстательной железы снижены.



## **КРИСТАЛЛЫ БЕТТХЕРА –**

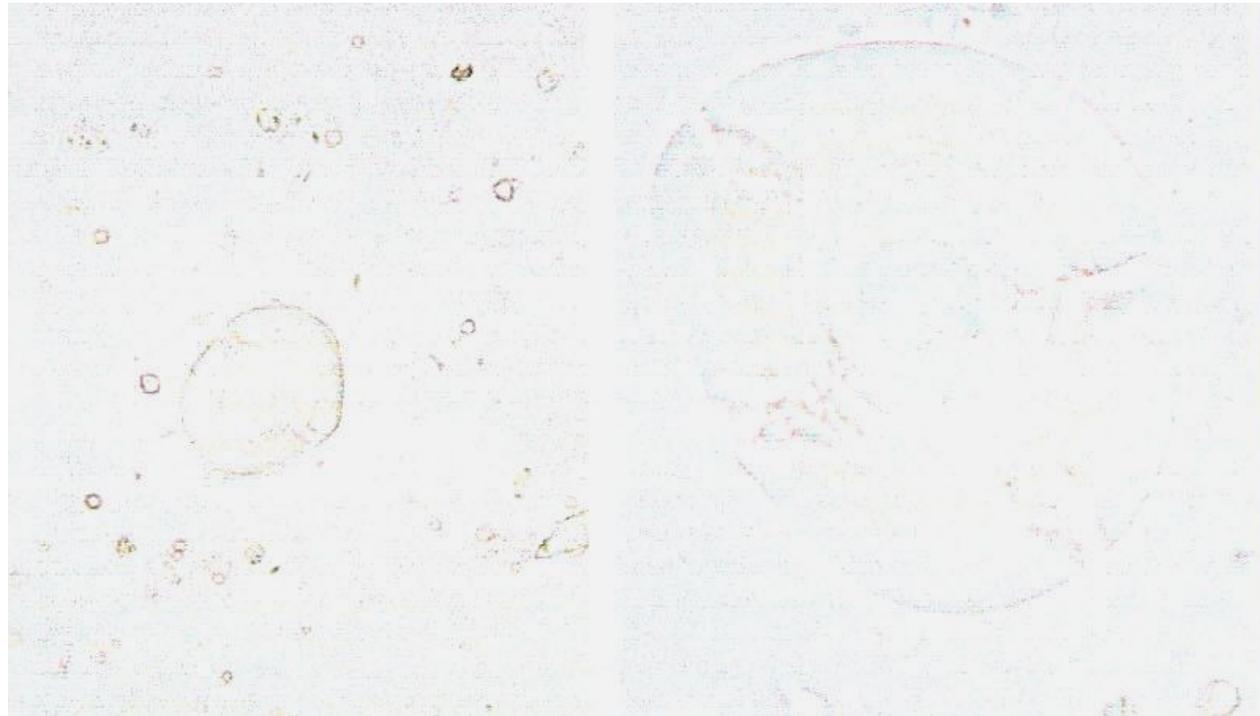
бесцветные, удлинённые, раствором Люголя окрашиваются в синий цвет. Являются продуктами кристаллизации спермина-секрета предстательной железы. Чем больше гипоспермия, тем больше этих кристаллов. Причина – простатит.



**Нативный  
препарат**

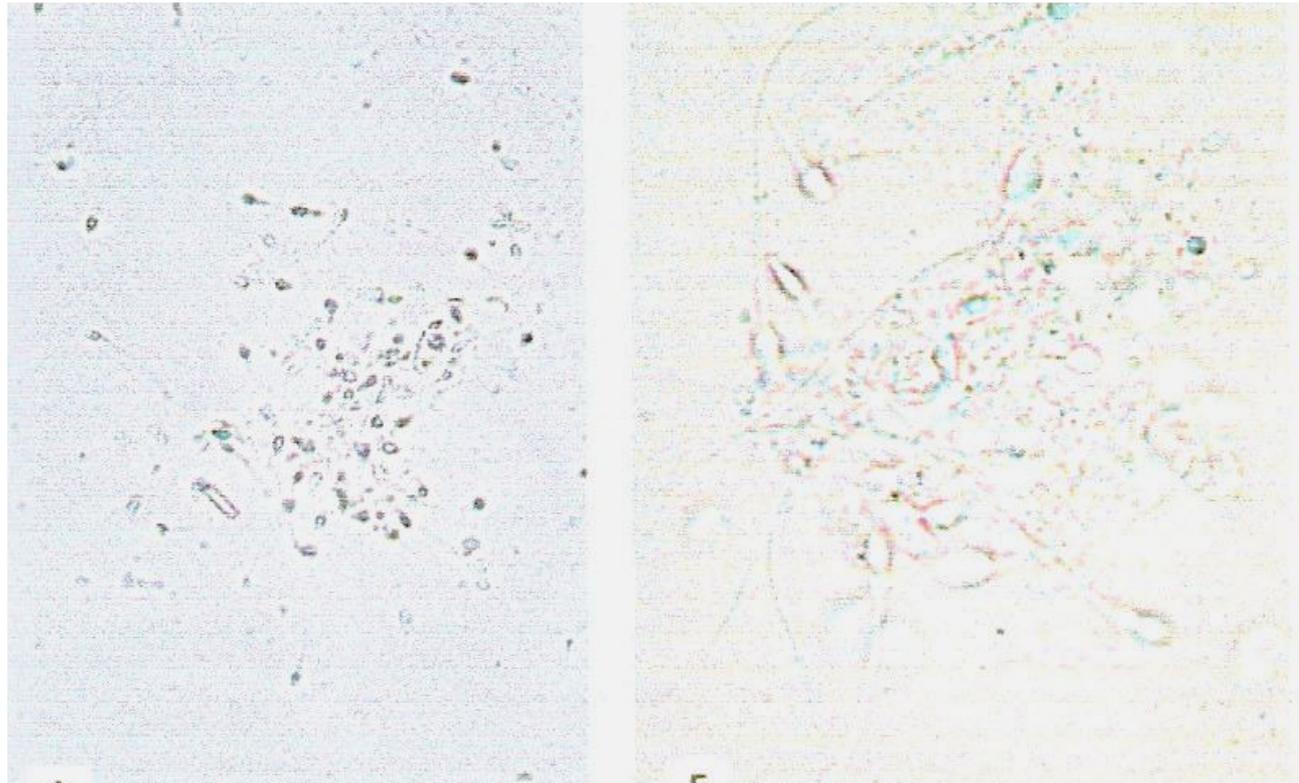
## **АМИЛОИДНЫЕ ТЕЛЬЦА (конкременты) –**

овальной или округлой формы с концентрической исчерченностью. Центральная часть мелкозернистая, желтая. Иногда тельца сливаются по 2-3 вместе. Обнаруживаются при застое спермы (аденома, гипертрофия предстательной железы, ее воспаление).



## СЛИЗЬ –

В норме отсутствует. При простатите и везикулите – большое количество густой липкой слизи, обволакивающей сперматозоиды, что затрудняет их подвижность.



# Определение количественных и качественных особенностей сперматозоидов.

## Определение подвижности сперматозоидов.

### КИНЕЗИСГРАММА –

- Процентное соотношение в эякуляте сперматозоидов с различной подвижностью. В нативном мазке подсчитывают 100 сперматозоидов, отмечая количество с нормальной подвижностью (нормокиноспермия), с ослабленной (гипокиноспермия) и неподвижных (акиноспермия).
- Сперматозоиды с нормальной подвижностью (поступательными движениями) скорость 50 мкм/с, в норме 80-90%, с ослабленной (медленными поступательными движениями) -10-12%, неподвижных - 6-10%. Колебательные движения сперматозоидов - называются дискиноспермия – в норме не наблюдается.

**Определение количественных и качественных особенностей сперматозоидов.**

**Определение подвижности сперматозоидов.**

### **ДИНАМИЧЕСКАЯ КИНЕЗИСГРАММА.**

24 часа определяют подвижность сперматозоидов. Каплю спермы помещают в лунку на стекле, закрывают покровным стеклом (края смазаны вазелином) и определяют количество подвижных сперматозоидов через 3,6,12, и 24 часа. Нормокиноспермия должна убывать меньше чем на 20%, если с большей скоростью, то это астеноспермия (слабая оплодотворяющая способность).

## Определение количественных и качественных особенностей сперматозоидов.

### Проба на «оживление» сперматозоидов.

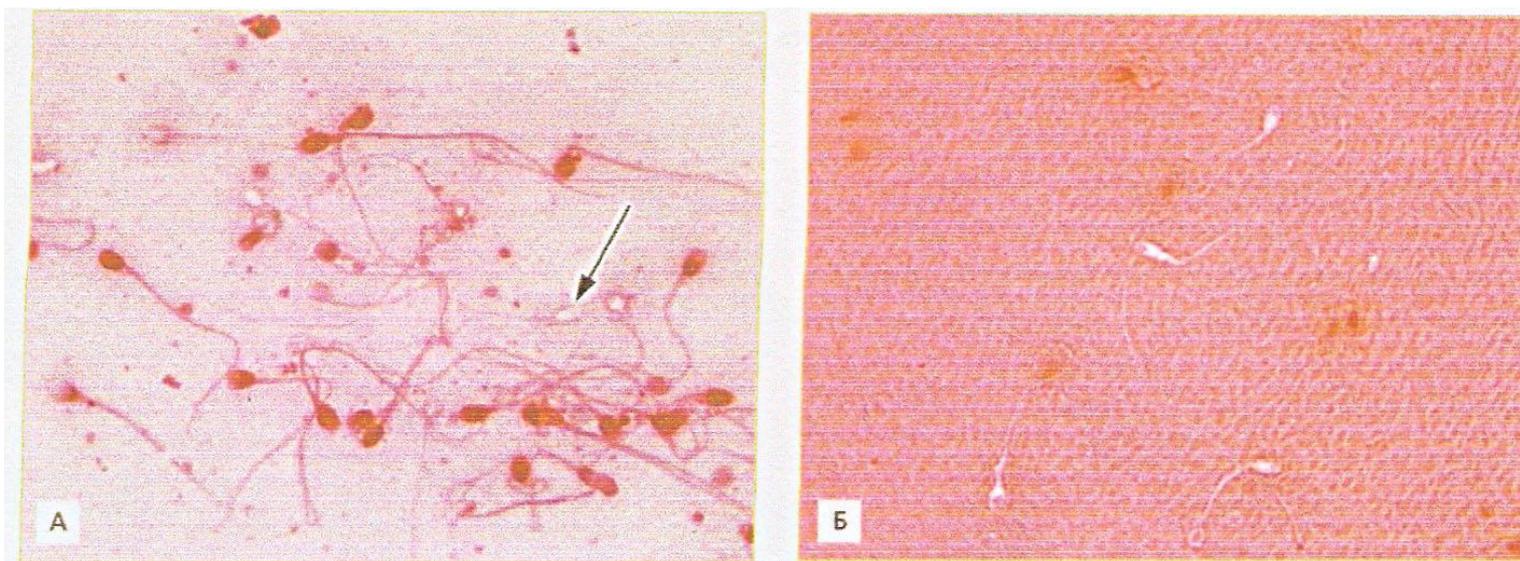
- Если акиноспермия в свежем эякуляте более 30% можно попытаться «оживить» сперматозоиды. Безуспешная попытка говорит о некроспермии (мертвые). В качестве «оживляющих» растворов применяют:
  1. Р-р Бекера: глюкоза 3г +  $\text{NaHPO}_4$  -0,6г+  $\text{NaCl}$  0,2г +  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,01г +  $\text{H}_2\text{O}_2$  до 100 мл.
  2. 0,1% р-р кофеина.
  3. 0,1 % р-р аргинина.
- Мерной пипеткой на 1 мл насасывают 0,1 мл. спермы + 0,9 мл. любого стимулирующего р-ра. выдувают в лунку, перемешивают и исследуют под микроскопом. Через 5-10 мин неподвижные, но живые сперматозоиды начинают двигаться.

## Проба на «оживление» сперматозоидов.

- **ОКРАСКА ПО БЛУМУ.** Позволяет отличить погибшие сперматозоиды от живых. На предметное стекло наносят маленькую каплю спермы, рядом в 2 раза больше каплю 5% р-ра эозина и каплю 10% водного р-ра нигрозина в 2 раза большую, чем капля эозина. Сначала каплю спермы смешивают стеклянной палочкой с эозином, ждут 5 сек. Затем с нигрозином, ждут 5 сек и делают мазок (как кровь).

## Проба на «оживление» сперматозоидов.

- Живые сперматозоиды не окрашиваются, а погибшие становятся розовыми. Смотрят с иммерсией. Сосчитывают 500 клеток и определяют процент живых, в норме - 80-90%.



Суправитальная окраска для дифференциации живых и мертвых сперматозоидов. Головки и хвосты мертвых сперматозоидов окрашены эозином в интенсивный красно-оранжевый цвет, головки живых сперматозоидов не окрашиваются и остаются бесцветными (стрелка (А) указывает на живой сперматозоид). Окраска 3% эозином по Блюму.  $\times 1000$

## Подсчет сперматозоидов в 1 мл и во всем объеме эякулята.

- Перемешанную сперму набирают в меланжер до отметки 0,5, затем до метки II жидкость для разведения и заполняют камеру Горяева.

### **Жидкости:**

1. Р-р гидрокарбоната Na (гидрокарбонат Na 5 мг + конц. формалин 1 мл+H<sub>2</sub>O 100 мл.
  2. Жидкость Рубенкова (осн. фуксин 0,1 г, краситель Романовского 0,02 мл., конц. карболовая кислота 0,2 мл., глицерин 0,1 мл., этиловый спирт 2 мл., 1% NaCl 100 мл.
- Окуляр x7, объектив x40. Считают сперматозоиды в 5 больших квадратах по диагонали и умножают на 1 млн. (в 1 мл. спермы). В норме число сперматозоидов в 1 мл спермы 60-120 млн., при гиперспермии больше 120 млн, при олигоспермии - 30-60 млн.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ СПЕРМАТОГРАММЫ.

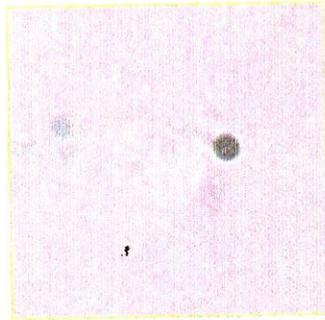
Спермограмма – совокупность результатов количественного исследования спермы. Для определения спермограммы препараты окрашивают по Паппенгейму, оценивают с иммерсией не менее 200 сперматозоидов. В норме сперматозоиды нормальной формы составляют 80 – 85%. Молодые или незрелые формы имеют вокруг головки и шейки остаток цитоплазмы ("воротничок"), наблюдается при частых половых сношениях и не способны к оплодотворению.



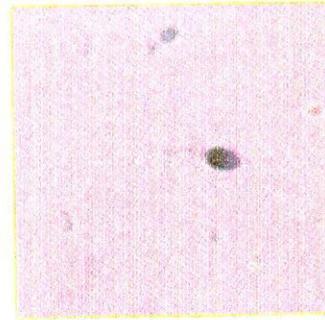
# ОПРЕДЕЛЕНИЕ СПЕРМАТОГРАММЫ

- Старые формы характеризуются гиперхромией, ахромией, вакуолизацией головки — половое воздержание, не пригодны к оплодотворению. Дегенеративные формы: мегалосперматозоиды (гиганты), сперматозоиды с двумя головками, но с одной шейкой и одним хвостом, а также без шейки с одним или несколькими хвостами, без хвоста, с хвостом без головки и др. У здоровых мужчин патологические формы не встречаются. Патология хвоста чаще из-за прохождения по патологическим семявыносящим путям.

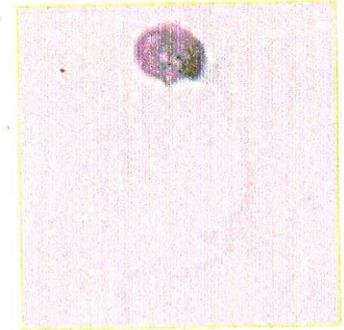
# Патологические формы сперматозоидов



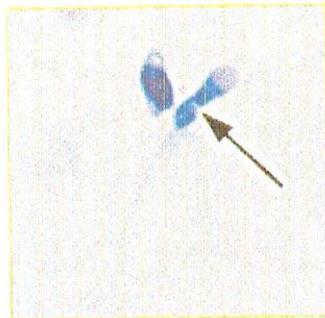
Маленькая круглая гиперхромная головка без акросомы



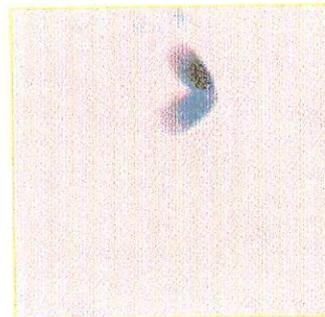
Маленькая овальная гиперхромная головка без акросомы



Большая округлая головка с акросомой, занимающей более 70% ее площади, и вакуолью



Сперматозоиды с аморфной головкой, с вакуолью в области хроматина (стрелка) и крупной овальной гиперхромной головкой без акросомы и с закрученным хвостом

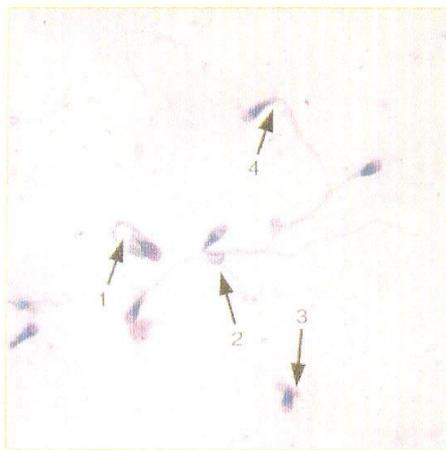


Две головки сперматозоида без хвоста



Сперматозоид без акросомы с головкой конической формы

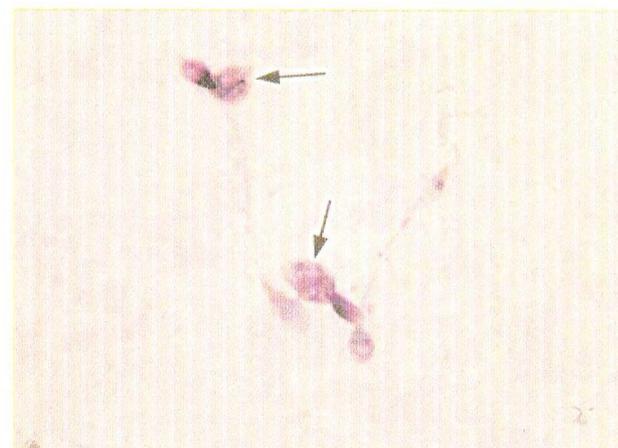
# Патологические формы сперматозоидов



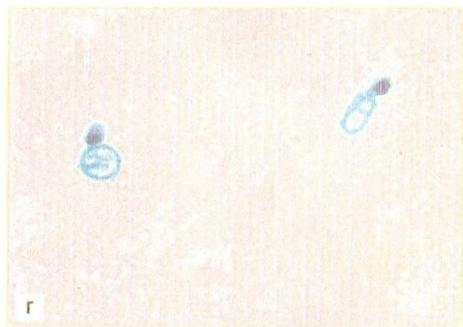
Тератозооспермия. Патология головки, шейки и хвоста: 1 – сперматозоид с цитоплазматической каплей, 2 – излом шейки и большая цитоплазматическая капля, 3 – закрученный в виде кольца хвост, 4 – утолщенная шейка. Препарат окрашен азур-эозином.  $\times 1000$



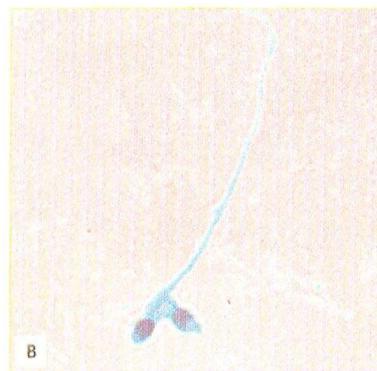
Тератозооспермия. Патология головки, шейки и хвоста: 1 – утолщенная шейка и излом хвоста, 2 и 3 – патология хвоста в виде закрученного в кольцо, 4 – большая цитоплазматическая капля, 5 – две гиперхромные большие, удлинённые головки одного сперматозоида. Препарат окрашен азур-эозином.  $\times 1000$



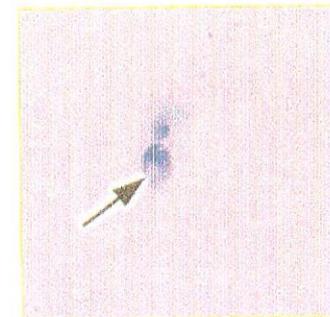
# Патологические формы сперматозоидов



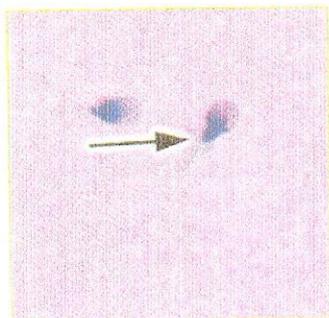
Сперматозоиды с кольцевидными хвостами.  
Окраска эякулята красителем «Spermac Stain».  $\times 1000$



Сперматозоид с двумя головками. Окраска эякулята красителем «Spermac Stain».  $\times 1000$



Вакуоль в области акросомы и цитоплазматическая капля в виде «шарфа»



Головка с несимметричным расположением акросомы



«Булавочная головка», или отделенный тонкий хвост. «Булавочные головки» (отделенные хвосты) не учитываются при подсчете как дефект головки, так как очень редко в головках этих сперматозоидов клереди от базальной пластины можно обнаружить хроматин или другие структуры. Такие «отделенные хвосты» обычно активно двигаются в нативном препарате. Наличие большого числа сперматозоидов с «булавочными головками» следует отметить в бланке. Препарат окрашен азур-эозином.  $\times 1000$

## Референтные значения эякулята (ВОЗ, 2002)

Объем	Не менее 2 мл
Разжижение	В течение 60 мин
pH	7,2-8,0 ед.
Концентрация сперматозоидов	Не менее $20 \times 10^6$ сперматозоидов/мл
Общее количество сперматозоидов в эякуляте	Не менее $40 \times 10^6$ сперматозоидов
Подвижность	Не менее 50% подвижных (категория А -t- В) или не менее 25% с поступательным движением (категория А) в течение 60 мин после эякуляции
Морфология	<p>&gt;50% с нормальной морфологией или &gt;30% с нормальной морфологией головки</p> <p><i>Примечание.</i> В настоящее время во многих странах приняты «строгие критерии» нормальной морфологии сперматозоидов (см. рис. 68) которые существенно отличаются от приведенных в данной таблице (14% и более)</p>

## Референтные значения эякулята (ВОЗ, 2002)

Жизнеспособность	<p>&gt;75% живых сперматозоидов, т. е. сперматозоидов, не окрашенных суправитальной краской.</p> <p><i>Примечание.</i> В протоколе ВОЗ указано 50% или более живых, т. е. неокрашенных по Блюму сперматозоидов (в нашей стране чаще используется приведенное выше значение – 75 % живых сперматозоидов)</p>
Агглютинация	Отсутствует
Лейкоциты	$< 1 \times 10^6$ лейкоцитов/мл
MAR или IBT	Менее 50% сперматозоидов с прилипшими частицами или шариками