

# Androloji laboratuvarlarında semen analizi standardizasyonunun Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) kriterlerine göre değerlendirilmesi

## Evaluation of semen analysis standardization in andrology laboratories according to the criteria of World Health Organization (WHO)

Muhamet Afşin<sup>1</sup>, Mesude Duman<sup>2</sup>

### ÖZ

**AMAÇ:** Karmaşıklığı ve özneliği nedeniyle, semen analizinin laboratuvarlar arasında standardize edilmesi oldukça zordur. Bu çalışmadaki amacımız Türkiye'deki androloji laboratuvarlarının semen analizi ile ilgili temel bilgilerin toplanması, semen analizi için laboratuvar içi ve laboratuvarlar arası standardizasyon düzeyini belirlemektir.

**GEREÇ ve YÖNTEMLER:** Türkiye'de semen analizini gerçekleştiren 145 androloji laboratuvarına semen analizinin tüm yönlerini kapsayan 41 sorudan oluşan bir anket gönderildi. Bunlardan 106 laboratuvar doldurup iade etti. Anketin içeriği 2021 Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ=WHO)'nın insan semenin incelenmesi ve işlemlerden geçirilmesi laboratuvar el kitabı 6. baskısında belirtilen prosedürlere göre hazırlandı. Anket; raporlanan parametreler, semenin toplanması ve muhafazası, makroskopik-mikroskopik değerlendirme, ileri testler ve laboratuvarın iç-dış kalite kontrol konuları hakkında bilgi almak için tasarlandı.

**BULGULAR:** Laboratuvarlara ilişkin olarak, semen analizinde raporlanan parametrelerin %84,1'i, semen toplama aşamasının %75,8'i, semenin laboratuvarda muhafazası ve makroskopik analiz %76,5'i, semenin mikroskopik analizinin %78,07'i, ileri testlerin %49,8'i, kalite kriterlerine ilişkin parametrelerin %73'ü WHO 2021 kriterlerine uyumluydu.

**SONUÇ:** Türkiye'de ki laboratuvarlar arasında WHO 2021 kriterlerine göre semen analizinin raporlanması ve standardizasyonunda farklılıklar olduğu görülmektedir. Androloji laboratuvarlarında çok sayıda farklı standart ve kriter kullanılmaktadır, bu da sonuçları bir laboratuvarın diğerine karşılaştırmayı zorlaştırmaktadır. Bu nedenle semen analizinin uluslararası standartlar ve kılavuzların belirlediği kriterlere göre değerlendirilmesi tavsiye edilmelidir.

**Anahtar Kelimeler:** semen analizi, androloji laboratuvarı, mikroskopik analiz

### ABSTRACT

**OBJECTIVE:** Due to its complexity and subjectivity, semen analysis is difficult to standardize across laboratories. Our aim in this study is to collect basic information about semen analysis of andrology laboratories in Türkiye and to determine the level of standardization within and between laboratories for semen analysis.

**MATERIAL and METHODS:** A survey consisting of 41 questions covering all aspects of semen analysis was sent to 145 andrology laboratories that perform semen analysis in Türkiye. Of all, 106 laboratories filled out and returned the survey. The content of the survey was prepared according to the procedures specified in the 6th edition of the 2021 World Health Organization (WHO) laboratory handbook for the examination and processing of human semen. The survey was designed to obtain information about the reported parameters, semen collection and storage, macroscopic-microscopic evaluation, advanced tests and internal-external quality control of the laboratory.

**RESULTS:** In relation to the laboratories, 84.1% of the parameters reported in semen analysis, 75.8% of the semen collection phase, 76.5% of the storage of semen in the laboratory and macroscopic analysis, 78.07% of the microscopic analysis of semen, 49.8% of advanced tests and 73% of the parameters related to quality criteria were compatible with WHO 2021 criteria.

**CONCLUSION:** There appear to be differences between laboratories in Türkiye in the reporting and standardization of semen analysis according to the WHO 2021 criteria. Many different standards and criteria are used for semen analysis in andrology laboratories. This makes it difficult to compare results from one laboratory to another. Therefore, it should be recommended that semen analysis be evaluated according to the criteria set by international standards and guidelines.

**Keywords:** semen analysis, andrology laboratory, microscopic analysis

## GİRİŞ

Semen analizi erkeğin üreme kapasitesini öngörebilmek amacıyla ejakülatın makroskopik ve mikroskopik özelliklerinin değerlendirilmesidir.<sup>[1]</sup> İnfertil çiftlerin ve özellikle de erkek infertilitesinin değerlendirilmesinde ilk ve temel tetkik semen analizidir.<sup>[2]</sup> Günümüzde erkek infertilitesi tanısı için yapılan temel semen analizinde; sperm konsantrasyonu, motilite, vitalite ve morfoloji gibi mikroskopik

<sup>1</sup>SBÜ Gazi Yasargil Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Androloji Laboratuvarı Diyarbakır, Türkiye

<sup>2</sup>Dicle Üniversitesi, Atatürk Sağlık Bilimleri Fakültesi, Diyarbakır, Türkiye

### Yazışma Adresi/ Correspondence:

Muhamet Afşin

SBÜ Gazi Yasargil Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Androloji Laboratuvarı, Diyarbakır, Türkiye

Tel: +90 505 481 44 53

E-mail: afsin.muhammet21@hotmail.com

Gelis/ Received: 13.02.2024

Kabul/ Accepted: 27.02.2024



parametrelerin yanında, semenin hacmi, rengi, vizkozitesi, likefaksiyon süresi ve pH gibi makroskobik parametreler de bakılmaktadır.<sup>[3]</sup> Ancak semen analizi erkeğin fertilizasyon kapasitesini tek başına ölçememektedir. Yapılan araştırmalarda normal semen analizi sonucuna sahip erkeklerde de infertilitenin görüldüğü ve idiyopatik infertilite vakalarında temel semen analizinin yetersiz olduğu görülmüştür.<sup>[4]</sup> Anormal sperm değerlerine sahip kişilerin veya idiyopatik infertilite vakalarında daha fazla klinik ve/veya ileri laboratuvar testleri ile erkek faktörlü infertilite araştırılmalıdır.<sup>[5]</sup>

Dünya Sağlık Örgütü (WHO), semen analizi prosedürlerinin standardizasyonuna yönelik artan ihtiyaca yanıt olarak ortalama her 8–10 yılda bir güncel referans (yani alt ve üst limit) değerlerini ve temel semen analizinin yeni eklenen ve değişen standartlarını belirlemek ve teşvik etmek için bir dizi laboratuvar el kitabı yayımlamıştır.<sup>[6–10]</sup> Bu el kitapları dünya genelinde kabul görmesine rağmen yapılan araştırmalarda çoğu laboratuvar tavsiye edilen metot ve yöntemleri uygulama konusunda yetersiz kalmıştır.<sup>[11]</sup> Semen analizi, erkek fertilitasını değerlendirmek için en önemli laboratuvar testlerinden biridir. Bununla birlikte, pratikte laboratuvarlar arasındaki standardizasyon ve güven eksikliği, raporlanan parametrelerdeki farklılıklar ve kalite standartlarının yetersiz uygulanması, bazı araştırmacıların dikkatini temel semen analizine yöneltmiştir. Farklı laboratuvarlardan elde edilen semen analizi sonuçlarını karşılaştırabilmek için, laboratuvarların WHO kriterlerini yerine getirmeleri gerekmektedir. Keel ve ark. laboratuvarlar arasında yaptıkları çalışmada analiz edilen semen parametrelerinin raporlanmasında WHO'nun her parametre için belirlenen referans değerleri arasında tutarsızlıklar olduğunu belirtmişlerdir. Özellikle sperm konsantrasyonu, motilite ve morfoloji parametreleri için farklı referans değerlerinin olması klinisyenlerin farklı laboratuvarlardan alınan semen analizi sonuçlarını karşılaştırmasını zorlaştırmaktadır.<sup>[12]</sup> Keel yaptığı bir çalışmada laboratuvarlar arasındaki standardizasyon eksikliği nedeniyle bir hastaya ait semen analizinde sperm konsantrasyonu 50×10/ml ve A+B motilite %65 gösteren bir sonuç, bir laboratuvar da normozoospermik, diğerinde oligoastenozoospermik olarak raporlandığını belirtmiştir.<sup>[11]</sup>

Androloji laboratuvarları WHO kriterlerini dikkate almadan aynı laboratuvar içinde dahi özellikle manuel-mikroskobik yöntemlerle birden fazla teknisyenin analiz yapması durumunda aynı hastaya ait semen analizinde istatistiksel olarak farklı sonuçlar ortaya çıkmaktadır.<sup>[13]</sup> Farklı laboratuvarlarda da aynı kişiye ait semen analizi sonuçlarının bariz ölçüde farklı çıkması ve klinisyenler tarafından farklı yorumlanması ise infertilite tedavisinde ciddi problemler yaratmaktadır.<sup>[14]</sup> Erkek infertilitesinin tanı ve tedavisi bu sonuçlara dayandığından testlerin doğru olması elzemdir.

Ayrıca, laboratuvarlar arasında ve laboratuvar içinde semen analizi yöntemlerinin tutarlılığı, güvenilirliği, doğruluğu ve karşılaştırılabilir sonuçlar sağlamak ve hastalar için pahalı olan bu testlerin yenilenmesinden kaçınmak gerekir. Bununla birlikte, birkaç çalışmada da, WHO'nun standartlarına eksik uyulması, kalite kontrol yetersizliği ve teknisyenlerin güncel eğitim eksikliği nedeniyle semen analizi sonuçlarının hem aynı laboratuvar içinde hem de laboratuvarlar arasında farklılıklar göstermektedir.<sup>[11,15]</sup>

Temel semen analizinde raporlanan sonuçların referans limitlerle birlikte yorumlanması için öncelikle sperm konsantrasyonu, motilite, vitalite (motilite düşükse) ve morfolojiyi WHO kriterlerine göre belirlemek öncelikli hedef olmalıdır.<sup>[16]</sup> Ancak küresel olarak, semen analizi için WHO'nun belirlediği standartlara ve kriterlere uyum yetersiz olmuştur.<sup>[17]</sup> Bu da sonuçlara olan güvenin azalmasına ve laboratuvarlar arasındaki sonuçların sınırlı oranda karşılaştırılabilmesine yol açmaktadır. Bu çalışmanın amacı Türkiye'deki androloji laboratuvarlarının işleyişine dikkat çekmek ve temel semen analizi aşamalarının WHO standartları ile uyumunu test ederek laboratuvarlar arası uygulanan standart ve kriterleri karşılaştırmaktır.

## GEREÇ ve YÖNTEMLER

### Anket Tasarımı

Tanımlayıcı tipte tasarlanan bu çalışma Türkiye'de semen analizini gerçekleştiren androloji laboratuvarları ile gerçekleştirilmiştir.

### Veri Toplama

Türkiye'de semen analizini gerçekleştiren 145 androloji laboratuvarına anket gönderildi. Anketin içeriği 2021 WHO'nun insan semenin incelenmesi ve işlemlerden geçirilmesi laboratuvar el kitabı 6. baskısında belirtilen prosedürlere göre dizayn edildi. Ayrıca ilgili literatür de tarandıktan sonra semen analizinin tüm yönlerini kapsayan 41 sorudan oluşan bir anket hazırlandı. Ankete ek olarak, anketin yapılma gerekçesi, toplanan verilerin akademik bir makaleye konu edineceğini ifade eden ön yazı ve çalışma ile ilgili alınan etik kurul onayı da eklendi.

Anketin toplam 145 kopyası mail yoluyla ilgili androloji laboratuvar sorumlusuna iletilmek üzere gönderildi ve 106 (%73) laboratuvar doldurup iade etti. Ankete yanıt veren personelin kimliği ve laboratuvarın ismi çalışma boyunca gizli tutuldu. Laboratuvar yetkilisinden laboratuvarlarının türü (androloji, androloji-embriyoloji lab.), semen analizini gerçekleştiren personelin eğitim düzeyi vb gibi bilgilerde istendi.

Yanıt veren laboratuvarların 24 (%22,6)'ü kamuya ait 3. basamak eğitim ve araştırma hastaneleri ile üniversite hastaneleri iken, 82 (%77,4) laboratuvar ise özel hastanelere aitti.

Anket, numune toplamaya ilişkin sorular (cinsel perhiz süresi, numune verme aşamaları ve numune verecek kişiyi bilgilendirme), semenin laboratuvarında muhafazası ve makroskopik değerlendirme parametreleri (semenin likefaksiyonu, viskozitesi, görünümü-rengi, volümü ve pH'sı) semenin mikroskopik değerlendirmesi (sperm konsantrasyonu, motilite, morfoloji, vitalite, lökosit, olgunlaşmamış germ hücreleri ve uygulanan test metodolojisi-boya lar vb.) semen analizinde ileri testler (anti sperm antikor testi, DNA hasarı, karyotip analizi, oksidatif stres düzeyi, semende fruktoz, çinko ve semen kültürü) ve labortauvarın iç-dış kalite kontrol (teknisyenin semen analizi eğitimi, kalite prosedürleri ve cihazların kontrol ve kalibrasyonları) konuları hakkında bilgi almak için tasarlandı.

### Araştırmanın Etik Boyutu

Bu çalışma için etik kurul onayı Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gazi Yaşargil Eğitim ve Araştırma Hastanesi klinik araştırmalar etik kurulundan 31.12.2021 tarih ve 958 numara ile alınmıştır. Bu çalışma güncel Helsinki Bildirgesi'ne uygun olarak yapılmıştır.

### İstatistik Analizi

İstatistiksel değerlendirme için anket yanıtları sayısal verilere dönüştürüldü, frekans ve yüzdeler hesaplandı. Sonuçlar tanımlayıcı istatistik yöntemi kullanılarak analiz edildi.

## BULGULAR

Çalışmamıza katılan 106 laboratuvarın temel semen analizinde DSÖ 2021 kılavuzuna göre hangi parametreleri çalıştıkları ve raporladıkları Tablo 1'de görülmektedir.

Ankete katılan tüm laboratuvarlar; numune alımından önce 2-7 gün cinsel perhiz süresini sorguladıklarını, %50'sinin analiz öncesi numune veren kişinin idrara çıkmasının istendiği, %96,2'sinin numune veren kişinin numune verme aşaması hakkında bilgilendirildiği, %83'ünün numune veren kişiye numune verme aşamasında yaşanacak aksaklıklar konusunda teknisyeni bilgilendirmesi istendiği, %82'sinin laboratuvarında numune veremeyen kişiler için evde numune alındıktan bir saat içinde laboratuvara teslim edilmesi ve numuneyi taşıma koşulları hakkında bilgilendirildiği, %18'inin raporda numunenin evde veya cinsel birleşme sırasında kondom ile alındığının belirtildiğini vurguladılar. Semen toplama aşamasına ilişkin parametreler Tablo 2'de görülmektedir.

**Tablo 1.** WHO 2021 kılavuzuna göre temel semen analizinde raporlanan parametreler

| Parameterler             | Evet; n (%) | Hayır; n (%) |
|--------------------------|-------------|--------------|
| Cinsel Perhiz Süresi     | 106(100)    | 0(0)         |
| Semen Volümü             | 94(88,7)    | 12(11,3)     |
| Likefaksiyon Süresi      | 79(74,5)    | 27(25,5)     |
| Görünüm-Renk             | 74(69,8)    | 32(30,2)     |
| Viskozite                | 95(89,6)    | 11(10,4)     |
| pH                       | 70(66)      | 36(34)       |
| Konsantrasyon            | 106(100)    | 0(0)         |
| Toplam Sperm Sayısı      | 79(74,5)    | 27(25,5)     |
| Motilite                 | 106(100)    | 0(0)         |
| İleri Hızlı Motilite     | 106(100)    | 0(0)         |
| Total Motil Sperm Sayısı | 71(67)      | 35(33)       |
| Vitalite                 | 67(63,2)    | 39(36,8)     |
| Morfoloji                | 86(81,1)    | 20(18,9)     |
| Aglütinasyon             | 92(86,8)    | 14(13,2)     |

**Tablo 2.** Semen toplama aşamasına ilişkin parametreler

| Laboratuvar Standardı   | Evet; n (%) | Hayır; n (%) |
|---|-------------|--------------|
| Semen analizi öncesi 2-7 günlük cinsel perhiz süresi istendi  | 106(100)    | 0(0)         |
| Analiz öncesi numune veren kişiye teknisyen tarafından idrara çıkması istendi   | 53(50)      | 53(50)       |
| Numune veren kişi, numune verme aşaması hakkında bilgilendirildi  | 102(96,2)   | 4(3,8)       |
| Numune veren kişiye numune verme aşamasında yaşanacak aksaklıklar konusunda teknisyeni bilgilendirmesi istendi  | 88(83)      | 18(17)       |
| Laboratuvarında numune veremeyen kişiler için evde numune alındıktan 1 saat içinde laboratuvara teslim edilmesi ve numuneyi taşıma koşulları hakkında bilgilendirildi | 87(82)      | 19(18)       |
| Raporda numunenin evde veya cinsel birleşme sırasında kondom ile alındığı belirtildi  | 19(18)      | 87(82)       |

Ankete katılan laboratuvarların %82'sinin semeni 37°C'lik inkübatörde inkübe ettiklerini, %75'inin likefaksiyon süresini analiz raporunda belirttiklerini, %89,6'sının viskozitenin ölçülmesinde pipet veya cam çubuk kullandıklarını, %69,8'inin semenin görünümü ve renginin raporda belirttiklerini, %88,7'sinin semen volümünün numunenin konulduğu kabı ile beraber tartarak veya dereceli silindir ile ölçüldüğünü, %66'sının semen pH ölçümü için pH paper kullanıklarını belirttiler. Semen laboratuvarında muhafazası ve makroskopik aşamasına ilişkin parametreler Tablo 3'te görülmektedir.

**Tablo 3.** Semeninin laboratuvarında muhafazası ve makroskobik analizine ilişkin parametreler

| Laboratuvar Standardı  | Evet; n (%) | Hayır; n (%) |
|--|-------------|--------------|
| Semenin çözünmesi için semen kabının laboratuvar sehпасına veya 37°C'lik inkübatöre bırakıldı  | 87(82)      | 19(18)       |
| Numunenin alınması ile semen analizine başlanması için geçen süre rapora yazıldı   | 31(29,2)    | 75(70,8)     |
| Ejekülasyondan itibaren mikroskobik analiz için 15–30 dk da likefaksiyon kontrol edildi. Semen likefiye değilse 30 dk daha inkübe edildi ve semen raporunda likefaksiyon süresi belirtildi | 79(74,5)    | 27(25,5)     |
| Semen viskozitesinin ölçülmesinde pipet veya cam çubuk yöntemi uygulandı   | 95(89,6)    | 11(10,4)     |
| Semen çözündükten sonra semenin görünümü ve rengi raporda belirtildi   | 74(69,8)    | 32(30,2)     |
| Semen volümü; numune kabını tartarak veya dereceli silindir ile ölçüldü  | 94(88,7)    | 12(11,3)     |
| Semen pH'ı; pH kağıdı ile ölçüldü  | 70(66)      | 36(34)       |

Laboratuvarların mikroskobik değerlendirmesinde; %93,4'ünün sperm konsantrasyonu ve motilite için Makler kamera kullandıklarını, %76,4'ünün sperm motilitesini ileri hareket (A+B), yerinde hareket (C), hareketsiz (D) şeklinde sınıflandırdıklarını; %86,8'inin aglütinasyona bakıldığını ve aglütinasyonun az, orta, çok derecelendirmesinin raporlandığını ve %81'inin epitelyal hücre, lökosit, eritrosit ve olgunlaşmamış germ hücrelerine bakıldığını ve raporlandığını belirttiler. Sperm morfolojisi için %81'inin Krugerin Tygerberg Strict kriterlerini uyguladıklarını, %55,7'sinin Diff quick, Papinoclu, SHORR boyalarını kullandıklarını, %72,6'sının baş, akrozom, boyun ve kuyruk kısımlarını incelediklerini belirttiler. Sperm vitalitesi için %63,2'sinin eozin-nigrozin veya hipo-ozmotik şişme testi ile bakıldığını, %71,7'sinin azoospermi şüpheli numunenin 3000 rpm'de 15 dk santrifüj edildikten sonra tanı konulduğunu beyan ettiler. Semeninin mikroskobik değerlendirme aşamasına ilişkin parametreler Tablo 4'te görülmektedir.

Ankete katılan laboratuvarların %38,7'sinin lökosit tayini için Peroksidaz testini, %31'inin anti sperm antikor testi için Mixt Agglutination Reaction veya Immunobead testinin yapıldığını, %62,3'ünün sperm DNA hasarı için TUNEL veya COMET testlerinin yapıldığını, %66'sının karyotip ve Y kromozomu mikrodilesyonuna bakıldığını, %58,5'ünün semeninin oksidatif stres düzeyinin ölçüldüğünü, %25,5'inin semende fruktoz, çinko vb ölçüldüğünü, %50,1'inin semen kültürünün yapıldığını belirttiler. Semeninin analizinde ileri testlere ilişkin parametreler Tablo 5'te görülmektedir.

**Tablo 4.** Semeninin mikroskobik analizine ilişkin parametreler

| Laboratuvar Standardı  | Evet; n (%) | Hayır; n (%) |
|--|-------------|--------------|
| Semen mikroskobik analizinden önce mikro pipet veya pastör pipeti ile homojenize edildi                                      | 90(84,9)    | 16(15,1)     |
| Sperm sayımı ve motilite için ışık veya faz kontrast mikroskopta X20'lik objektif kullanıldı                                 | 99(93,4)    | 7(6,6)       |
| Sperm sayımı ve motilite Makler kamera ile değerlendirildi   | 99(93,4)    | 7(6,6)       |
| Sperm motilitesi; ileri hızlı (A) , ileri yavaş hareket (B) , yerinde hareket (C) ve hareketsiz (D) şeklinde değerlendirildi | 25(23,6)    | 81(76,4)     |
| Sperm konsantrasyonu ve motilitesi aynı numuneden en az iki kere değerlendirilip ortalamaları alındı                         | 66(62,3)    | 40(37,7)     |
| Mikroskobik analiz için en az 5 alanda ve 100 sperm hücresi sayıldı  | 85(80,2)    | 21(19,8)     |
| Azoospermi şüpheli numune 3000 rpm'de 15 dk santrifüj edildikten sonra tanı konuldu  | 76(71,7)    | 30(28,3)     |
| Sperm vitalite testi (motilite < 40 ise) için eozin-nigrozin veya hipo-ozmotik şişme testi ile bakıldı                       | 67(63,2)    | 39(36,8)     |
| Sperm morfolojisi için Krugerin Tygerberg Strict kriterleri uygulandı  | 86(81,1)    | 20(18,9)     |
| Sperm morfolojisi için standart boyama yöntemleri (Diff quick, Papinoclu, SHORR vb.) kullanıldı                              | 59(55,7)    | 47(44,3)     |
| Sperm morfolojisi için baş, akrozom, boyun ve kuyruk kısımları incelendi   | 77(72,6)    | 29(27,4)     |
| Morfoloji ve vitalite ışık veya faz kontrast mikroskopta x100'lük objektif kullanıldı  | 86(81,1)    | 20(18,9)     |
| Aglütinasyona bakıldı ve aglütinasyonun az, orta, çok derecelendirmesi raporlandı  | 92(86,8)    | 14(13,2)     |
| Epitelyal hücre, lökosit, eritrosit ve olgunlaşmamış germ hücreleri bakıldı ve raporlandı                                    | 86(81,1)    | 20(18,9)     |

**Tablo 5.** Semen analizinde ileri testlere ilişkin parametreler

| Laboratuvar Standardı   | Evet; n (%) | Hayır; n (%) |
|---|-------------|--------------|
| Gerekirse lökositler ile olgunlaşmamış germ hücrelerini ayırt etmek için Peroksidaz testi yapıldı | 41(38,7)    | 65(61,3)     |
| Gerekirse anti sperm antikor testi için Mixt Agglutination Reaction veya Immunobead testi yapıldı | 33(31,1)    | 73(68,9)     |
| Gerekirse sperm DNA hasarı için PCSI, Microchip, TUNEL veya COMET testleri yapıldı                | 66(62,3)    | 40(37,7)     |
| Gerekirse Karyotip analizi ve Y kromozomu mikrodilesyonu bakıldı                                  | 70(66)      | 36(34)       |
| Gerekirse semende Oksidatif Stres düzeyi ölçüldü  | 62(58,5)    | 46(41,5)     |
| Gerekirse semende Fruktoz, Çinko vb. gibi kimyasal parametreler ölçüldü                           | 27(25,5)    | 79(74,5)     |
| Gerekirse semen kültürü yapıldı   | 54(50,1)    | 52(49,9)     |

**Tablo 6.** Semen analizi yapan labortauvarın kalite kriterlerine ilişkin parametreler

| <i>Laboratuvar Standardı</i>   | <i>Evet; n (%)</i> | <i>Hayır; n (%)</i> |
|--|--------------------|---------------------|
| Teknisyen temel semen analizi için eğitim almıştır   | 106(100)           | 0(0)                |
| Sperm sayısı, motilite ve morfoloji verileri iç ve dış kalite güvence programı denetimindedir                                  | 29(27,4)           | 77(72,6)            |
| WHO'nun güncel semen analizi referans değerler dikkate alındı  | 75(70,8)           | 31(29,2)            |
| WHO'nun İnsan semenini incelenmesi ve işlemlerden geçirilmesi laboratuvar el kitabı mevcut ve ihtiyaç halinde başvurulmaktadır | 73(68,9)           | 33(31,1)            |
| Laboratuvar iç kalite prosedürlerini uyguluyor ve bir dış kalite kontrol programının denetimindedir                            | 28(26,4)           | 78(73,6)            |
| Laboratuvar içinde rutin standart çalışma prosedürleri uygulanmaktadır   | 104(98,1)          | 2(1,9)              |
| Kullanılan cihazların kontrol ve kalibrasyonları belirlenen periyotlarda yapılmaktadır   | 96(90,6)           | 10(9,4)             |

Katılımcı laboratuvarların %100'ünün teknisyenin temel semen analizi için eğitim aldığını, %26,4'ünün laboratuvarın iç kalite prosedürlerini uyguladığını, %90,6'sının cihazların kontrol ve kalibrasyonlarının belirlenen periyotlarda yapıldığını, %68,9'unun güncel WHO laboratuvar el kitabına ihtiyaç halinde başvurduklarını, %70,8'inin DSÖ güncel semen analizi referans değerlerini dikkate aldıklarını beyan ettiler. Semen analizi yapan labortauvarın kalite kriterlerine ilişkin parametreler Tablo 6'da görülmektedir.

Ankete katılan labortauvarların %22,6'sının (24/106) kamuya ait 3. basamak eğitim ve araştırma hastaneleri ile üniversite hastaneleri tabanlı iken geriye kalan %77,4'ünün (82/106) özel hastanelere ait laboratuvarlardı. Laboratuvarların %45,3'ü (48/106) sadece androloji, %54,7'si (58/106) ise androloji ve embriyoloji laboratuvarı olarak nitelendirdiler. Ankete katılanların %65'i (69/106), laboratuvarlarının yardımcı üreme tedavisi (YÜT) prosedürlerini uygulayan genel hastane tabanlı olduğunu, %35'inin (37/106) ise sadece YÜT prosedürlerini uygulayan kadın doğum kliniği olduklarını belirttiler. Laboratuvarda semen analizini yapan teknisyenlerin akademik eğitimlerine ilişkin, %21'i önlisans, %57'si lisans, %12'si yüksek lisans, %10'u doktora derecesine sahip olduklarını belirttiler. Semen analizi yapan teknisyenlerin %45'i androloji laboratuvarı işleyiş ve temel semen analizi eğitimi aldıklarına dair sertifikaya sahip olduklarını beyan ettiler.

## TARTIŞMA

Bugüne kadar temel semen analizinin nasıl yapılacağına dair kanıtla dayalı rehberlik sağlayan WHO androloji laboratuvarlarının çalışma prensiplerini belirleyen altı baskısı yayımlanmıştır. İnsan semeninin incelenmesi ve işlenmesi için WHO laboratuvar el kitabının tüm baskılarında belirtildiği gibi, kılavuzun amacı semen analizi prosedürlerinin standardizasyonuna yönelik artan ihtiyaçları karşılamaktır. Androloji ve üreme tıbbi alanındaki ilerlemeler ve infertilite tedavisi için gelişmiş yardımcı üreme teknolojilerinin ortaya çıkışı ile bu kılavuzlar temel semen analizi için kanıtla dayalı, doğrulanmış testlere olan ihtiyacı karşılamak için sürekli olarak güncellenmektedir.<sup>[18]</sup> 1980–2021 yılları arasında WHO kılavuzları yayımlanmasına rağmen, küresel ölçekte androloji laboratuvarlarında standardizasyon eksikliği sorunu halen devam etmektedir.<sup>[16]</sup> Bu durum laboratuvarlar arasında sonuçların sınırlı oranda karşılaştırılabilmesine yol açmaktadır.

Erkek infertilitesinin araştırılmasında temel semen analizi uzun yıllardır yapılmasına rağmen, birçok çalışma semen analizi sonuçlarını sorgulamaktadır. Bunun nedeni laboratuvarlar arasındaki metodolojik farklılıklar (manuel, Computer Assisted Semen Analysis vb.) androloji laboratuvarlarının iç-dış kalite kontrol ve kalibrasyonlarının yetersizliği ve özellikle manuel semen analizini gerçekleştiren teknisyene bağlı subjektif değerlendirmelerden dolayı semen analizi sonuçlarının farklılık göstermesidir.<sup>[19]</sup> Temel semen analizi, WHO'nun kriterlerine göre semen ve sperm parametrelerinin alt ve üst referans limitleri dikkate alınarak yapıldığında klinik açıdan doğru veri sağlayacaktır.<sup>[20]</sup> Bu çalışmada, temel semen analizi yapan Türkiye'deki 106 androloji laboratuvarının WHO standartlarına uygunluk derecesini araştırdık. Çalışmamıza katılan laboratuvarların semen analizi raporları incelendiğinde bazı laboratuvarlarda WHO'nun önerdiği bazı parametrelerin temel semen analizine dâhil edilmediği ve dolayısıyla da raporlanmadığı, ayrıca WHO 2021'de her parametre için belirlenen referans değerlerinin raporda belirtilmediği görülmektedir. Dolayısıyla farklı laboratuvarlardan alınan semen analizi raporlarının WHO'nun standartlarını taşımaması nedeniyle klinisyenlerin o semen analizi raporunu objektif ve güvenilir bir şekilde değerlendirmesini zorlaştırmaktadır.

Androloji laboratuvarlarında numunenin toplanması, muhafazası ve semenin makroskobik analizi temel semen analizinin önemli aşamalarındandır. Bjorndahl & Brown (2022) yaptıkları çalışmada cinsel perhiz süresinin ve semen toplama aşamasının semenin makroskobik ve mikroskobik parametreleri üzerinde önemli etkileri olduğunu belirtmişlerdir. Yine ejakülattaki sperm motilitesi ejakülasyondan

sonra zamanla azaldığından ejakülasyondan sonraki 30 dakika içinde semen analizine başlanması gerektiğini vurgulamışlardır.<sup>[16]</sup> Bu çalışmada laboratuvarların %74,5'ü ejakülasyondan itibaren mikroskopik analiz için 15–30 dk'da likefaksiyonun kontrol edildiğini, semen likefiye değilse 30 dk daha inkübe edildikten sonra mikroskopik analizin yapıldığını ve semen raporunda likefaksiyon süresinin belirtildiğini ifade etmişlerdir. Ankete katılan laboratuvarların semen toplama aşamasını %71'inin, laboratuvarında muhafazası ve makroskopik inceleme aşamasının %73'ünün WHO standartlarını uyguladıkları görülmektedir. Temel semen analizinde makroskopik değerlendirmedeki standartlara aykırı uygulamalar semen analizinin mikroskopik değerlendirmesini olumsuz etkileyeceği için güvenilir ve doğru olmayan sonuçlara yol açacağı kanaatindeyiz.

Günümüzde yaygın olarak yardımcı üreme tedavisi (YÜT) merkezlerinde ve androloji laboratuvarlarında sperm konsantrasyonu ve motiliteyi analiz etmek için hem manuel-mikroskopik (Neubauer hemasitometre, Makler kamerası ve tek kullanımlık sayım cihazları Mikro-Cell vb.) hem de bilgisayar destekli semen analiz yöntemleri (CASA) kullanılmaktadır.<sup>[14]</sup> WHO kılavuzlarının 2010'dan önceki baskıları (1980, 1987, 1992, 1999), Neubauer hemasitometresi ve Makler kamerasının kullanılmasını tavsiye etmiştir. WHO beşinci baskısından (2010) itibaren sadece Neubauer hemasitometreyi kullanmayı tavsiye etmektedir ve hiçbir kılavuzunda bilgisayar destekli semen analizini (CASA) önermemiştir. Dünya genelinde olduğu gibi Türkiye'de de diğer sayım kameralarına göre kullanım avantajları daha fazla olduğu için Makler sayım kamerası (Selfi-Medical Instruments, Haifa, İsrail) yaygın olarak kullanılmaktadır. İtalya'da androloji laboratuvarların %50'si<sup>[21]</sup> ve Almanya'da %35'i<sup>[22]</sup> Makler sayım kamerasını kullanmaktadırlar. Bu çalışmadaki anketimize yanıt veren laboratuvarların %93,4'ü semen analizinde sperm konsantrasyonu ve motiliteyi belirlemek için Makler sayım kamerasını kullandıklarını beyan edip WHO'nun 2010 kılavuzunda önerdiği Neubauer hemasitometresi tercih edilmemiştir.

Temel semen analizinde en önemli parametreler sperm konsantrasyonu, motilite ve normal morfolojik formların yüzdesidir. WHO (2011) altıncı baskıdaki en önemli değişiklik beşinci baskıda (2010) birleştirilen ileri hareket (A+B), yerinde hareket (C) ve hareketsiz (D) şeklindeki üç kategorili sperm motilitesi yerine, ileri hızlı hareket (A), ileri yavaş hareket (B), yerinde hareket (C) ve hareketsiz (D) şeklindeki dört kategorili sperm motilitesi ayrımının yeniden getirilmesidir. Bu baskıda temel semen analizinde; sperm konsantrasyonu, dört kategorili motilite, morfoloji ve yalnızca ileri motilite düşükse vitalite bakılması tavsiye

edilmektedir. Eliasson (2010); WHO'nun beşinci baskıda (2010) hızlı ve yavaş ilerleyen sperm arasındaki ayrımı terk etmenin geriye doğru bir adım olduğunu belirtmişti.<sup>[23]</sup> Björndahl (2010); motilitenin sperm fonksiyonunun pek çok yönü için önemli olduğundan ileri hızlı ve ileri yavaş motilite ayrımı yapmanın klinik olarak doğru olduğunu savunmaktadır.<sup>[24]</sup> Çalışmamıza katılan 106 laboratuvarın %76,4'ü motiliteyi ileri hareket (A+B), yerinde hareket (C), hareketsiz (D) şeklindeki 3'lü kategoriye göre; %23,6'sının motiliteyi dört kategorili ileri hızlı (A), ileri yavaş (B), yerinde hareket (C), hareketsiz (D) şeklinde değerlendirdikleri görülmektedir. Çalışmamızın bu yönüyle Keel ve ark.'nın yaptıkları çalışma ile uyumlu olduğunu görmekteyiz. Buradan da WHO kılavuzunun (2011) altıncı baskısının yayımlanmasından iki yıl sonra bu çalışmaya katılan laboratuvarların WHO'nun tavsiyelerine uyulması için belirli bir sürenin geçmesi gerektiğini düşünebiliriz. Aynı şekilde WHO kılavuzlarındaki değişen kriterlerin uygulamasının küresel ölçekte zaman alacağını söyleyebiliriz.

Sperm morfolojisi, semen analizinde en subjektif parametre olarak kabul edilir ve bu parametrenin laboratuvarlar arasında standartlaştırılması analizin en karmaşık kısmını oluşturmaktadır. WHO kılavuzlarının ardışık baskılarında değerlendirme kriterlerindeki ve referans limitlerindeki hızlı değişiklikler morfolojik değerlendirme sorununa katkıda bulunmuştur. WHO (1987) baskısında %50 olan normal morfoloji sınırının, WHO (1992) baskısında %30'a ve WHO (1999) baskısında normal değer atlanması, morfoloji değerlendirmesine ilişkin belirsizliği ve kafa karışıklığını artırmıştır.<sup>[25]</sup> Filimberti ve ark. (2012), yaptıkları çalışmada laboratuvarlar tarafından morfoloji için kullanılan boyama prosedüründeki çeşitliliğin morfolojik değerlendirmede farklılığı artırabileceğini ileri sürmektedirler.<sup>[21]</sup> Björndahl & Brown (2022) morfolojik değerlendirmeyi yapan teknisyenin özellikle klinik açıdan önemli olan baş, akrozom, boyun ve kuyruk kısımlarındaki anomalileri tespit etmek üzere eğitilmesi gerektiğini ve sperm hücrelerinin tüm ana bölümlerinin değerlendirilmesini önermektedirler.<sup>[16]</sup> Çalışmamıza katılan laboratuvarların %81,1'inin WHO 6. baskıda tavsiye edilen Kruger'in Tygerberg Strict kriterlerini uyguladıklarını, %55,7'sinin önerilen standart boyama yöntemlerini (Diff quick, Papinoclu, SHORR vb.) kullandıklarını, %72,6'sının sperm morfolojisi için baş, akrozom, boyun ve kuyruk kısımlarını incelediklerini belirtmişlerdir. Çalışmamıza katılan laboratuvarların WHO 6. baskıdaki morfolojik değerlendirme kriterlerini yarıdan fazlasını uyguladıklarını göstermektedir. Bu sonuçlar Türkiye'de üreme tıbbi alanındaki laboratuvarların WHO'nun tavsiyelerini önemsediklerini ve gelişmiş

ülkelerin bu alandaki uygulamaları ile yarışabilecek düzeyde olduğunu söyleyebiliriz.

Erkek infertilitesinin değerlendirilmesinde temel semen analizi bazen yetersiz kalmaktadır. WHO altıncı baskısında ve önceki baskılarda temel semen analizine ek olarak klinisyenin talebi doğrultusunda ileri testlerin prosedürleri anlatılmış ve bu testlerin belirlenen metotlar ile çalışılmasını tavsiye etmiştir. Çalışmamıza katılan laboratuvarlara; sperm DNA hasarı, karyotip analizi, Y kromozomu mikrodilesyonu, semende oksidatif stres düzeyi, fruktoz, çinko vb. gibi kimyasal belirteçler, semen kültürü, lökositler ile olgunlaşmamış germ hücrelerini ayırt etmek için peroksidaz testi ve anti sperm antikor testi gibi testleri WHO kriterlerine göre değerlendirmelerini sorguladık. Bu çalışmadaki ankete cevap veren laboratuvarların %77,3'ü özel hastanelere ait daha çok yardımcı üreme tedavi merkezindeki androloji-embriyoloji laboratuvarı tabanlı olmasından dolayı ileri testleri uygulama oranı ortalama %50 civarındadır. Ayrıca son yıllarda Türkiye'de üreme tıbbındaki yapısal ve teknolojik ilerlemeler de ileri testlerin uygulama başarısını etkilediğini söyleyebiliriz. Çalışmamız bu yönüyle önceki çalışmaların aksine WHO'nun altıncı baskısında ileri testler için önerilen yöntemleri uygulama konusunda Türkiye'deki infertilite ve üreme araştırması yapan laboratuvarların başarılı olduğu kanaatini taşıyoruz.

Bir laboratuvarında bildirilen sonuçların başka bir laboratuvarın sonuçlarıyla karşılaştırmanın birkaç yolu vardır. İlk olarak, bu testi gerçekleştiren tüm laboratuvarların, WHO tarafından tavsiye edilen ve evrensel olarak kabul edilen standartların uygulanması gerekir. İkincisi laboratuvarın çok merkezli bir yeterlilik testi programına katılmasıdır. Yeterlilik testi, hasta numunelerinin katılımcı laboratuvarlar tarafından test edildiği ve tüm katılımcıların test sonuçlarının karşılaştırıldığı laboratuvarlar arası bir kalite kontrol sürecidir. Üçüncüsü, androloji laboratuvarları, bildirilen sonuçların doğru ve tekrarlanabilir olmasını sağlamak için dâhili kalite güvence programları uygulamalıdır.<sup>[11]</sup> Mallidis ve ark., 2011 yılından itibaren Almanya'da Alman Androloji Derneği tarafından bir dış kalite kontrol programı oluşturulduğunu ve semen analizi yapan tüm laboratuvarların bu kalite kontrol programına katılımı zorunlu hale getirildiğini belirtmişlerdir.<sup>[22]</sup> Del Giudice ve ark. semen analizinde güvenilir sonuçlar elde etmek için uyulması gereken ilkelerden birinin androloji laboratuvarlarında çalışan teknisyenlere rutin-güncel eğitimin verilmesi gerektiğini vurgulamışlardır. Bu eğitimler European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE) tarafından verilen temel semen analizi kursları veya çeşitli üreme tıbbi ve androloji dernekleri tarafından düzenlenen bilimsel kongre ve sempozyumlarda verilmesini önermektedirler.<sup>[26]</sup>

Yardımcı üreme teknikleri son 20 yılda teknolojik olarak büyük ilerleme göstermiş ancak çok pahalıdır. Evrensel standartlar ve WHO'nun önerdiği kalite prosedürleri, kapsamlı eğitim ve talimatlarla laboratuvarlar arasındaki semen analizi sonuçlarının güvenilirliği, doğruluğu artırılabilir ve değişkenliği azaltılabilir. Üreme tedavisi başarısı için üreme tıbbi ve infertilite merkezlerinin bu standartlara göre laboratuvarlarını dizayn etmeleri gerekmektedir.<sup>[27]</sup> Çalışmamıza yanıt veren laboratuvarların kendi laboratuvarlarında yaptıkları temel semen analizlerinde WHO'nun belirlediği iç ve dış kalite prosedürlerini uygulama konusunda yetersiz oldukları görülmektedir. Bu durum farklı laboratuvarlarda yapılan sperm konsantrasyonu, motilite ve morfolojisi değerlendirmeleri arasında tutarsızlıkların kaçınılmaz olacağı, bu tutarsızlıkları azaltmak için WHO'nun tavsiye ettiği laboratuvarlar arasındaki iç ve dış kalite kontrolü ve standartlarının uygulanması gerekir.

## SONUÇ

Semen analizinin her bir parametresi WHO'nun 8–10 yılda bir güncellenen ve en son 2021 kılavuzundaki yöntem ve metotları doğrultusunda standardize edilmelidir. İdeal androloji laboratuvarları, bir kalite kontrol programı içerisine katılmış ve kendini sürekli kontrol eden merkezler olma durumundadır. Sadece standardizasyonun yapılması değil, aynı zamanda kalite kontrol şemalarının da düzenli olarak kullanılmasıyla sonuçların güvenilirliği, doğruluğu ve etkinliği sağlanmalıdır. Teknisyenler değişen standartlara ve yeni teknolojilere yönelik belirli periyotlarda eğitimleri güncellenmelidir. Böylece doğru ve güvenilir bir semen analizi sonucu hastayı en uygun tedaviye yönlendirmeye yardımcı olacak ve gereksiz tedavilere maruz kalma riskini azaltacaktır. Türkiye'de yıllar içinde standardizasyonu sağlamaya yönelik pozitif bir eğilim gözlemlenirken, değişen teknoloji ve çalışma prosedürleri laboratuvarlar arasında daha fazla işbirliği ve uyumu zorunlu hale getirmeyi hedeflemelidir. Bu çalışmada Türkiye'deki androloji laboratuvarlarının çoğu, semen analizinde WHO'nun güncellenen tavsiyelerine uyumu bazı parametrelerde orta düzeyin üstünde iken bazı parametrelerde orta düzeyin altındadır. Genel olarak, bu ankete yanıt veren tüm laboratuvarlarda semen analizi için laboratuvar içi ve laboratuvarlar arası kalite prosedürü eksikliği vardı. Bu çalışma Türkiye'de androloji laboratuvarlarının işleyişini araştıran ilk araştırma olması bakımından önemlidir. Sonuç olarak, teşhis amacıyla veya üreme tedavisi sırasında yapılan semen analizinin uluslararası standartlar ve kılavuzların belirlediği kriterlere göre değerlendirilmesi şiddetle tavsiye edilmelidir.

#### Etik Kurul Onayı

Çalışma, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gazi Yaşargil Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylandı. (onay tarihi ve sayısı: 31.12.2021/958).

#### Hakem Değerlendirmesi

Diş bağımsız.

#### Çıkar Çatışması

Yazarlar çıkar ilişkisi olmadığını beyan etmişlerdir.

#### Finansal Destek

Herhangi bir mali destek alınmamıştır.

#### Ethics Committee Approval

The study was approved by Health Sciences University Gazi Yaşargil Training and Research Hospital Clinical Research Ethics Committee. (date and number of approval: 31.12.2021/958).

#### Peer-review

Externally peer-reviewed.

#### Conflict of Interest

No conflict of interest was declared by the authors.

#### Financial Disclosure

No financial support has been received.

## KAYNAKLAR

- Comar VA, Petersen CG, Mauri AL, Mattila M, Vagnini LD, Renzi A. Influence of the abstinence period on human sperm quality: analysis of 2, 458 semen samples. *JBRA Assist Reprod.* 2017;21:306–12. [CrossRef]
- Yılmaz F. Sperm function tests; from past to present. *J Health Sci Med.* 2020;3(1):71–6. [CrossRef]
- Tocci A, Lucchini C. WHO reference values for human semen. *Human reproduction update.* 2010;16:559. [CrossRef]
- Castillo J, Estanyol JM, Ballescà JL, Oliva R. Human sperm chromatin epigenetic potential: genomics, proteomics, and male infertility. *Asian J Androl.* 2015;17:601–9. [CrossRef]
- Carrell DT, Cartmill D. A brief review of current and proposed federal government regulation of assisted reproduction laboratories in the United States. *J Androl.* 2006;23:611–7. [CrossRef]
- WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction, 2nd ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1987.
- WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction, 3rd ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1992.
- WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction, 4th ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1999. [CrossRef]
- WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen 5th ed. World Health Organization; Cambridge: Cambridge University Press, 2010.
- WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen 6th ed. World Health Organization; 2021.
- Keel BA. How reliable are results from the semen analysis? *Fertil Steril.* 2004;82:41–4. [CrossRef]
- Keel BA, Stembridge T, Pineda G, Serafy NT. Lack of standardization in performance of the semen analysis among laboratories in the United States. *Fertil Steril.* 2002;78:603–8. [CrossRef]
- Douglas C, Parekh N, Kahn LG, Henkel R, Agarwal A. A novel approach to improving the reliability of manual semen analysis: a paradigm shift in the workup of infertile men. *World J Mens Health.* 2021; 39:172–85. [CrossRef]
- Lu JC, Zhang HY, Hu YU, Huang YF, Lü NG. A survey on the status of semen analysis in 118 laboratories in China. *Asian J Androl.* 2010;12:104–110. [CrossRef]
- Baker DJ. Semen analysis. *Clin Lab Sci.* 2007;20:172–87.
- Björndahl L, Brown JK. The sixth edition of the WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen: ensuring quality and standardization in basic examination of human ejaculates. *Fertil Steril.* 2022;117(2):0015–0282. [CrossRef]
- Björndahl L, Barratt CLR, Mortimer D, Jouannet P. How to count sperm properly: checklist for acceptability of studies based on human semen analysis. *Hum Rep.* 2016;31:227–32. [CrossRef]
- Wang C, Mbizvo M, Festin MP, Björndahl L, Toskin I. Evolution of the WHO “Semen” processing manual from the first (1980) to the sixth edition (2021). *Fertil Steril.* 2021;15–282. [CrossRef]
- Lammers J, Chtourou S, Reignier A, Loubersac S, Barrière P, Fréour T. Comparison of two automated sperm analyzers using 2 different detection methods versus manual semen assessment. *J Gynecol Obstet Hum Reprod.* 2021;50(8):102084. [CrossRef]
- Jonge CJ. Semen analysis: looking for an upgrade in class. *Fertil Steril.* 2012;97(2):15–282. [CrossRef]
- Filimberti E, Degl’Innocenti S, Borsotti M, Quercioli M, Piomboni P, Natali I, et al. High variability in results of semen analysis in andrology laboratories in Tuscany (Italy) : the experience of an external quality control (EQC) programme. *Andrology.* 2012;1:401–7. [CrossRef]
- Mallidis C, Cooper TG, Hellenkemper B, Lablans M, Uckert F, Nieschlag E. Ten years’ experience with an external quality control program for semen analysis. *Fertil Steril.* 2012;98:611–6. [CrossRef]
- Eliasson R. Semen analysis with regard to sperm number, sperm morphology and functional aspects. *Asian J Androl.* 2010;12:26–32. [CrossRef]
- Björndahl L. The usefulness and significance of assessing rapidly progressive spermatozoa. *Asian J Androl.* 2010;12:33–5. [CrossRef]
- Riddell D, Pacey A, Whittington K. Lack of compliance by UK andrology laboratories with World Health Organization recommendations for sperm morphology assessment. *Hum Reprod.* 2005;20:3441–5. [CrossRef]
- Del Giudice F, Kasman AM, Chen T, De Berardinis E, Busetto GM, Sciarra A, et al. The association between mortality and male infertility: review and meta-analysis. *Urology.* 2021;154:148. [CrossRef]
- Sikka SC, Hellstrom WJ. Current updates on laboratory techniques for the diagnosis of male reproductive failure. *Asian J Androl.* 2016;18:392. [CrossRef]