**شرایط نمونه گیری تست اسپرم**

* نمونه باید پس از 48 تا 72 ساعت پرهیز از نزدیکی تهیه شود. نمونه هایی که بیش از 2 روز و پس از 7 روز از اخرین نزدیکی جمع وری میشودبزآوری میشود برای انجام آزمایش مناسب نیست.
* وجود تب در خلال 3 روز پیش از آزمایش نتیجه را تحت تاثیر قرار میدهد.
* نمونه باید در آزمایشگاه تهیه شود در غیر این صورت نمونه باید کمتر از نیم ساعت به آزمایشگاه تحویل گردد . .نمونه هایی که از زمان جمع آوری آن بیش از نیم ساعت گذشته باشد، فاقد ارزش آزمایش است.
* در هنگام تحویل نمونه به آزمایشگاه زمان دقیق جمع آوری نمونه را به همکاران آزمایشگاه اعلام نمایید.
* بهترین نمونه منی نمونه ای است که از طریق تحریک مصنوعی تهیه شده و در ظرف مخصوصی که از طرف آزمایشگاه در اختیار شما قرار داده شده جمع آوری می گردد.
* نمونه جمع آوری شده توسط کاندم برای آزمایش مناسب نیست.
* قبل از نمونه گیری دستهای خود را کاملا بشویید و مثانه باید بطور کامل خالی باشد.
* قبل از نمونه گیری بهتر است دمای ظرف را با در دست گرفتن به حدود دمای بدن (37 درجه) برسانید.
* باید دقت شود که تمامی نمونه منی در ظرف مخصوص ریخته شود، در غیر این صورت نتیجه غیرواقعی خواهد شد0
* از قرار دادن نمونه در حرارت بالا و یا پایین خودداری شود.
* مصرف بعضی از دارو ها سایمتیدین-استروژن و متیل تستوسترون در انجام آزمایش تداخل ایجاد میکند.
* از مصرف هرگونه داروی هرمونی اجتناب گردد.
* **طرز تهیه گسترش ازمایع منی:**

 برای بررسی مورفولوژی نباید مستقیماً به مایع منی فیکساتور افزود، زیرا این کار باعث دناتوره شدن پروتئین‌های مایع منی و به دام افتادن اسپرم‌ها در میان آنها شده و بدین ترتیب مشاهده اسپرم‌ها به راحتی امکان‌پذیر نخواهد بود. برای ارزیابی مورفولوژی، دو لام تهیه کرده و آن‌ها را بررسی می‌کنیم. در صورتی ‌که اختلاف بین دو لام بیش از حد قابل قبول بود، آزمایش را تکرار می‌کنیم.

* **تهیه گسترش از نمونه‌های نرمال:**

 ابتدا نمونه را به خوبی مخلوط کرده و قبل از اینکه ته ‌نشین شود، لام‌ها را تهیه می‌کنیم. برای این کار، دو طرف لام را به خوبی تمیز کرده و مشخصات بیمار را با مداد روی آن می‌نویسیم. مقدار**10-5µL** از مایع منی را در یک انتهای لام قرار داده و با کمک یک لام دیگر آن را روی سطح لام پخش می‌کنیم. از زمان گذاشتن نمونه روی لام تا کشیدن گسترش نباید بیشتر از چند ثانیه طول بکشد. سپس صبر می‌کنیم تا لام‌ها در مجاورت هوا خشک شده و آن‌ها را رنگ‌آمیزی می‌کنیم. برای تهیه گسترش مثل لام‌های هماتولوژی عمل می‌کنیم، بدین ترتیب که لام را به عقب برده و پس از تماس با نمونه، آن را به جلو حرکت می‌دهیم. هرچه زاویه لام کمتر باشد و سرعت کشیدن لام بیشتر باشد، گسترش حاصل ضخیم‌ تر خواهد بود.

* **برای شروع کار، 10µL از نمونه را روی لام گذاشته و لام دوم را با زاویه 45° نسبت به آن می‌گیریم و در مدت 1 ثانیه حرکت می‌دهیم. اگر اسپرم‌ها روی هم افتاده باشند، می‌توان این پارامترها را تغییر داد.**
* **a) تهیه گسترش از نمونه رقیق نشده:** **به کمک یک لام دیگر که با زاویه 45° در دست گرفته‌ایم گسترش را تهیه می‌کنیم.**
* **b) روش پی‌پت که برای نمونه‌های شسته شده به کار می‌رود. قطره‌ای از سوسپانسیون اسپرم را روی لام گذاشته و با چرخاندن یک پی‌پت پاستور، آن را روی لام پخش می‌کنیم.**
* تهیه گسترش از نمــونه‌هایی که تعداد کمی اسپرم دارند:
* در مواردی که تعــداد اسپرم‌ها کم است**(کمتر از 2×106 / mL)** نمونه را باید تغلیظ نمود. برای این کار، نمونه را **10** دقیقه در **600g**سانتریفوژ نموده و مایع رویی را برمی‌داریم. سپس رسوب را با تکان دادن حل کرده و مشابه روش ذکر شده در بالا گسترش را تهیه می‌کنیم.
* تهیه گسترش از نمونه‌های ویسکوز: با استفاده از برخی مواد شیمیایی مثل بروملین و یا استفاده از روش‌های مکانیکی **(مثل کشیدن و خالی کردن نمونه با سرنگ نمره 18)** می‌توان این نمونه‌ها را سیال کرد. همچنین می‌توان با استفاده از شستشو، مایع منی را رقیق نمود. برای این کار حدود **0.2-0.5mL** از مایع منی را با **10mL**نرمال سالین مخلوط کرده و به مدت **10** دقیقه در **g800**سانتریفوژ می‌کنیم. مایع رویی را تخلیه کرده و رسوب را با تکان دادن حل می‌کنیم. **10-5µL** از سوسپانسیون حاصل را روی لام گذاشته و به کمک پی‌پت پاستور آن را روی لام پخش می‌کنیم. اسلایدها را در مجاورت هوا خشک کرده و رنگ‌آمیزی می‌کنیم. در هر میدان میکروسکوپی باید حداقل **60** اسپرم وجود داشته باشد و تجمع یا روی هم افتادن اسپرم‌ها دیده نشود. در صورتی که تعداد اسپرم‌های هر میدان میکروسکوپی خیلی زیاد باشد و اسپرم‌ها روی هم افتاده باشند، مقدار کمتری مایع منی را برای شستشو برداشته و مجددا" لام تهیه می‌کنیم و اگر تعداد اسپرم‌های هر میدان میکروسکوپی خیلی کم بود، برعکس عمل می‌کنیم. عمل شستشوی مایع منی می‌تواند روی مورفولوژی اسپرم‌ها اثر گذارد و باید آن را در جواب بیمار گزارش نمود.