

του αιμοκυτταρομέτρου. Ο αριθμός αυτός θα καθορίσει πόσα τετράγωνα θα μετρηθούν συνολικά. Έτσι, αν υπάρχουν >40 σπερματοζώαρια στο κεντρικό ή πάνω αριστερά τετράγωνο θα μετρηθούν συνολικά 5 τετράγωνα (τα 4 γωνιαία και το κεντρικό), αν βρεθούν από 10-40 σπερματοζώαρια θα μετρηθούν 10 τετράγωνα (10 οριζόντια ή κάθετα) ενώ αν βρεθούν <10 θα μετρηθούν και τα 25 τετράγωνα του κεντρικού πλέγματος του αιμοκυτταρομέτρου Neubauer. Υπολογίζονται μόνο τα πλήρη σπερματοζώαρια με κεφαλή και ουρά. Κεφαλές χωρίς ουρά και σπερματοζώαρια με «κεφαλή καρφίτσας» δεν προσμετρώνται. Η μέτρηση γίνεται και στις δύο θέσεις του αιμοκυτταρομέτρου και βγαίνει ο μέσος όρος. Οι δύο αυτές μετρήσεις δεν πρέπει να διαφέρουν περισσότερο από $\pm 10\%$, διαφορετικά η μέτρηση απορρίπτεται, τα δείγματα αναδεύονται ξανά και η μέτρηση επαναλαμβάνεται. Αν και πάλι η μέτρηση δεν είναι αποδεκτή, φτιάχνονται νέες αραιώσεις και η διαδικασία επαναλαμβάνεται.

Η συγκέντρωση των σπερματοζωαρίων υπολογίζεται με βάση τον τύπο:

$$\text{Συγκέντρωση} = \frac{\text{Αριθμός σπερματοζωαρίων} \times 1000}{\text{Αραίωση} \times \text{βάθος} \times \text{επιφάνεια}}$$

Ο αριθμός των σπερματοζωαρίων ανά ml καθορίζεται από τη μέτρηση του αριθμού στο αιμοκυτταρόμετρο, το αντίστροφο της αραιώσης (δηλαδή αραιώση 1:20 εκφράζεται ως 0.05), το βάθος του αιμοκυτταρομέτρου (σταθερό και ίσο με 0.1 mm) και την επιφάνεια η οποία καθορίζεται από τον αριθμό των μετρηθέντων τετραγώνων (5 τετράγωνα ισοδυναμούν με επιφάνεια 0.2 mm², 10 τετράγωνα με 0.4 mm² και 25 τετράγωνα με 1.0 mm²). Επειδή η συγκέντρωση των σπερματοζωαρίων εκφράζεται σε εκατομμύρια ανά mL ενώ το βάθος X επιφάνεια εκφράζεται σε mm³, είναι αναγκαίο το αποτέλεσμα του παραπάνω υπολογισμού να πολλαπλασιαστεί με 1000 για να μετατραπούν οι μονάδες^{6,16,27}. Ο αριθμός σπερματοζωαρίων του φυσιολογικού σπέρματος πρέπει να είναι $\geq 20 \times 10^6/\text{mL}$. Χαμηλή τιμή συγκέντρωσης μπορεί να οφείλεται σε

ανατομικές ανωμαλίες, μικρή περίοδο αποχής, ή απώλεια του πρώτου τμήματος της εκσπερμάτισης. Πρόσφατο εμπύρετο νόσημα, ορισμένα φάρμακα και έκθεση σε διάφορους χημικούς παράγοντες (συνήθως λόγω επαγγελματικής ενασχόλησης) μπορεί επίσης να έχουν ως αποτέλεσμα μειωμένη συγκέντρωση σπέρματος²⁸. Εάν δεν βρεθεί κανένα σπερματοζώαριο κατά τη μέτρηση, το αποτέλεσμα πρέπει να δίδεται ως $< 0.03 \times 10^6/\text{mL}$, εξαιτίας της στατιστικής αβεβαιότητας κατά τους υπολογισμούς. Εάν η υπολογιζόμενη συγκέντρωση διαφέρει αισθητά από την εκτίμηση της συγκέντρωσης κατά την προκαταρκτική μικροσκόπηση, θα πρέπει να εξετασθούν διάφοροι παράγοντες, όπως η μη καλή ανάδευση, η παρουσία συσσωματωμάτων που δεν παρατηρήθηκαν εξ αρχής και αριθμητικά λάθη κατά τους υπολογισμούς²⁹.

Σε αυτό το στάδιο γίνεται επίσης ο υπολογισμός της συγκέντρωσης των «στρογγυλών» κυττάρων, προδρόμων γαμετοκυττάρων και λευκοκυττάρων, με την ίδια μεθοδολογία.

Βιωσιμότητα

Εάν τα κινητά σπερματοζώαρια είναι λιγότερα από το 50% του συνόλου, τότε πρέπει να γίνει χρώση βιωσιμότητας για να διαπιστωθεί αν τα ακίνητα σπερματοζώαρια είναι ζωντανά ή νεκρά. Για το λόγο αυτό 2 σταγόνες 1 % εωσίνης Y (C.I. 45380) αναμιγνύονται με 1 σταγόνα από το σπέρμα και επωάζονται για 30 sec σε θερμοκρασία δωματίου. Προστίθενται 3 σταγόνες 10% νιγροσίνης (C.I. 50420), αναμιγνύονται καλά και επωάζονται για άλλα 30 sec. Στη συνέχεια, τοποθετείται μια σταγόνα σε αντικειμενοφόρο πλάκα και επιστρώνεται το παρασκεύασμα με τη βοήθεια καλυπτρίδας. Αφού το επίχρισμα στεγνώσει, μετρώνται τουλάχιστον 200 σπερματοζώαρια σε 10 τυχαία οπτικά πεδία και υπολογίζεται η εκατοστιαία αναλογία των ζωντανών. Τα ζωντανά σπερματοζώαρια έχουν την ικανότητα να μην επιτρέπουν στη χρωστική να εισέλθει στο κυτταρόπλασμα και έτσι φαίνονται άχρωμα. Αντίθετα, τα νεκρά τα οποία δεν έχουν