

## خامساً: - فحوصات الحيامن الحية و الميتة:

تحتوي عينة السائل المنوي على نطف حية و ميتة و مشوهة ويمكن التمييز بين الحيامن الحية و الميتة بواسطة استعمال صبغات معينة فقد تبين ان الحيامن الميتة تتقبل الصبغات بسبب نفاذية جدرانها للصبغات و لهذا الفحص اهمية حيث ان كثير من الحيامن تظهر تحت المجهر متحركة ولكنها بالفعل هي ميتة اما سبب حركتها فهي الحيامن الحية و عليه فان هذا الفحص يظهر بصورة فعالة نسبة الحيامن الحية و الميتة في النماذج و يعتبر الفحص تقييم جيد للصلاحية أي السائل المنوي صالح للاستعمال ، اما النطف المشوهة فتظهر تحت المجهر اما مشوهة الرأس او الذيل (كما شرح في محاضرة مورفولوجية الحيامن) على ان لا تزيد نسبة التشوهات عن 10% لعينة السائل المنوي .

### طريقة العمل:

- 1- نأخذ 0.1 مل من السائل المنوي ونضيف لها محلول الملح الفسيولوجي 2-3 قطرة.
- 2- نضيف للخليط أعلاه قطرتان من الصبغة الملونة نكروسين – ايوسين ثم تمزج بمدة لا تقل عن نصف دقيقة و لا تزيد عن دقيقة واحدة.
- 3- تعمل مسحة على الشريحة الزجاجية و تترك الشريحة لتجف بدرجة حرارة الغرفة.
- 4- تفحص العينة تحت المجهر على القوة 40x
- 5- يتم حساب 200 حيمن لاستخراج النسبة المئوية للحيامن الحية وفق المعادلة التالية:

$$\text{النسبة المئوية للحيامن الحية} = (\text{عدد النطف الحية} / \text{عدد الحيامن الكلية المحسوبة}) * 100$$

ولاستخراج النسبة المئوية للحيامن المشوهة تحتسب من المعادلة التالية :

$$\text{النسبة المئوية للحيامن المشوهة} = (\text{عدد الحيامن المشوهة} / \text{الحيامن الكلية المحسوبة}) * 100$$

## سادساً:- الفحوصات الكيماوية و البيولوجية:-

### أ- اختبار درجة الحموضة (PH):-

إن درجة الحموضة لنموذج سائل منوي مجموع حديثاً يكون متعادل تقريباً. و يمكن بعد مض لحظات تميل هذه الدرجة للارتفاع قليلاً نحو الشق

القاعدي وذلك لتصاعد 2CO ثم يحدث بعد ذلك انخفاض سريع يميل إلى الشق أحامضي وذلك نتيجة لتراكم حامض اللاكتيك الناتج من عمليات تمثيل الفركتوز بواسطة الحيامن.

السائل المنوي الطبيعي تكون PH له اقرب قليلاً إلى الشق أحامضي و لا تزيد هذه الدرجة عن 7.3.

ان عملية استنفاد الاوكسجين بواسطة الحيامن النشطة يمكن قياسها بواسطة المانوميتر و هذا الاختبار يحتاج الى اجهزة مختبرية باهظة الثمن بالاضافة الى تعذر إجراءه كأختبار روتيني الا عند توفر الامكانيات الخاصة. ان عملية استنفاد الاوكسجين بواسطة الحيامن النشطة يمكن قياسها بواسطة المانوميتر و هذا الاختبار يحتاج الى اجهزة مختبرية باهظة الثمن بالاضافة الى تعذر إجراءه كأختبار روتيني الا عند توفر الامكانيات الخاصة. ان عملية استنفاد الاوكسجين بواسطة الحيامن النشطة يمكن قياسها بواسطة المانوميتر و هذا الاختبار يحتاج الى اجهزة مختبرية باهظة الثمن بالاضافة الى تعذر إجراءه كأختبار روتيني الا عند توفر الامكانيات الخاصة. ثم يحدث بعد ذلك انخفاض سريع يميل إلى الشق أحامضي وذلك نتيجة لتراكم حامض اللاكتيك الناتج من عمليات تمثيل الفركتوز بواسطة الحيامن. السائل المنوي الطبيعي تكون له اقرب قليلاً إلى الشق أحامضي و لا تزيد هذه الدرجة عن 7.3. ثم يحدث بعد ذلك انخفاض سريع يميل إلى الشق أحامضي وذلك نتيجة لتراكم حامض اللاكتيك الناتج من عمليات تمثيل الفركتوز بواسطة الحيامن. السائل المنوي الطبيعي تكون له اقرب قليلاً إلى الشق أحامضي و لا تزيد هذه الدرجة عن 7.3.

**PH \* \* للقدفة الأولى يتراوح بين 6.7-6.9**

**PH \* \* للقدفة الثانية يتراوح بين 6.9-7.1 و لا تزيد عن 7.3**

**\*\*\* كذلك يتأثر PH السائل المنوي بالدرجة الحرارية العالية للجو حيث يرتفع بطريقة غير مباشرة حيث انها تقلل نسبة تركيز الحيامن ودرجة حيويتها**

## وهناك عدة طرق لقياس درجة الحموضة (PH) وهي كالآتي:

1- نأخذ 1 مل من السائل المنوي في أنبوبة اختبار يضاف إليها 8 قطرات من محلول البروموثايمول الأزرق بتركيز 0.2 % و المذاب في الكحول المركز ومن ثم يقارن اللون الناتج من هذا المزيج بلوحة بها ألوان مثبتت تحت كل لون درجة الحموضة المقارنة بهذا اللون ، يكون اللون اصفر عند درجة الحموضة 6 و ازرق داكن عند PH 6.7 .

2- أوراق كاشفة لاختبار PH // تغمس أوراق في نموذج سائل منوي و يقارن اللون بالألوان المشابهة له بلوحة خاصة مرفقة بهذا الكاشف و يقرأ الPH لهذا اللون.

3- جهاز قياس ( PH meter )// وهو جهاز كهربائي يعطي قراءات دقيقة بعد غمس قطب هذا الجهاز في عينة السائل المنوي و يقرأ PH .

## ب- اختبار اختزال المثلين الأزرق:-

و يستخدم هذا الاختبار لمعرفة مدى درجة حيوية الحيامن و تركيزها في عينة حيث ان ايونات الهيدروجين الناتجة من التمثيل اللاهوائي للحيامن للفركتوز لها القدرة على اختزال الالوان الكيميائية و منها المثلين الازرق .

يقاس الزمن اللازم لاتمام عملية الاختزال وبذلك يمكن تقييم حيوية الحيامن و درجة تركيزها كالآتي:-

1- 50 ملغم من المثلين الازرق يذاب في 100مل من محلول سترات الصوديوم او فوسفات الصوديوم النقية.

2- يخفف 2/1 مل من السائل المنوي المركز و المجمع حديثاً في 2 مل من مخفف سترات الصوديوم مع صفار البيض .

3- يوضع 0.9 مل من السائل المنوي المخفف في انبوبة .

4- يضاف الى السائل المنوي المخفف 0.1 مل من محلول المثلين الازرق و يخلط جيداً.

5- يغطى المحلول بشمع البارافين (لتوفير بيئة لا هوائية).

6- توضع الانبوبة في حمام مائي درجة حرارته 40م0

7- بحسب الزمن اللازم حتى يختزل اللون الازرق حيث يلاحظ ان زمن الاختزال في العينة الجيدة بين 3-6 دقيقة و في العينة العادية لا يتعدى 15 دقيقة ، اما الرديئة فتستغرق اكثر من ذلك.

### ج- اختبار الكاتاليز Catalase:-

و هو اختبار للتأكد من نظافة السائل المنوي و خلوه من الجراثيم المرضية و الخلايا المختلفة، وهو يعتمد على ان الحيامن تنتج كمية محدودة من انزيم الكاتاليز الذي له القدرة على تحويل ثنائي اوكسيد ثنائي الهيدروجين  $H_2O_2$  الى ماء و اوكسجين نقي.

\*\* عند ارتفاع نسبة هذا الانزيم في السائل المنوي فهذا دليل على اختلاط هذه العينة بعدد من كريات الدم او جراثيم او خلايا.

### طريقة العمل //

1- يستخدم لهذا الاختبار انبوبة خاصة تسمى انبوبة بلوم ، يوضع في الانبوبة 1 مل من السائل المنوي المراد فحصه و يضاف اليها 8 قطرات من محلول البروموثايمول 0.2% المذاب في كحول مركز

2- تملئ الانبوبة حتى العلامة الخاصة عند نهايتها بمحلول ثنائي اوكسيد ثنائي الهيدروجين  $H_2O_2$  3% تغلق الانبوبة بسداد مطاطي تخترقه انبوبة شعرية مفتوحة الطرفين.

3- ترج الانبوبة بعد 5 دقائق ، 10 دقائق ، 15 دقيقة ، وفي الدقيقة 20 تؤخذ قراءة سطح السائل داخل انبوبة بلوم الذي يقل حجمه نتيجة لتولد غاز 20 و الذي يضغط على السائل الى اسفل و يدفعه الى الخروج من الانبوبة الشعرية ليحل محله .

**ملاحظة //** تكون القراءة في السائل المنوي النظيف من 50-100

#### د- اختبار التمثيل الغذائي للفركتوز :-

يعتمد هذا الاختبار على قدرة الحيامن الحية النشطة على تمثيل الفركتوز الموجود بالسائل المنوي لها هوائياً في درجة حرارة 37م0 ، ويستخدم هذا الاختبار بالمقارنة للحيامن الجيدة و الرديئة و بما ان الحويصلات المنوية هي المسؤولة عن افراز الفركتوز فان هذا الاختبار يتخذ ايضا للدلالة عن مدى سلامة هذه الغدد و قيامها بوظيفتها و بالتالي كدليل ايضا على سلامة الافراز الهرموني الذي ينشط افراز الفركتوز.

#### ه- اختبار النشاط التنفسي :-

ان عملية استنفاد الاوكسجين بواسطة الحيامن النشطة يمكن قياسها بواسطة المانوميتر و هذا الاختبار يحتاج الى اجهزة مختبرية باهظة الثمن بالاضافة الى تعذر إجراءه كأختبار روتيني الا عند توفر الامكانيات الخاصة.