

44. Giacaglia LR, Kohek MB dF, Carvalho FM, Fragoso MC, Mendonca B, Latronico AC. No evidence of somatic activating mutations on gonadotropin receptor genes in sex cord stromal tumors. *Fertil Steril* 2000; 74: 992-995.
45. Tapanainen JS, Vaskivuo T, Aittomaki K, Huhtaniemi IT. Inactivating FSH receptor mutations and gonadal dysfunction. *MolCell Endocrinol* 1998; 145: 129-135.
46. Huhtaniemi I. The Parkes lecture. Mutations of gonadotrophin and gonadotrophin receptor genes: what do they teach us about reproductive physiology? *J Reprod Fertil* 2000; 119: 173-186.
47. Gromoll J, Simoni M, Nieschlag E. An activating mutation of the follicle-stimulating hormone receptor autonomously sustains spermatogenesis in a hypophysectomized man. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 1367-1370.
48. Simoni M, Gromoll J, Hoppner W, Kamischke A, Krafft T, Stahle D et al. Mutational analysis of the follicle-stimulating hormone (FSH) receptor in normal and infertile men: identification and characterization of two discrete FSH receptor isoforms. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 751-755.
49. Perez MM, Gromoll J, Behre HM, Gassner C, Nieschlag E, Simoni M. Ovarian response to follicle-stimulating hormone (FSH) stimulation depends on the FSH receptor genotype. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 3365-3369.
50. Laven, JS. and Fauser, BC. Genetics of human reproductive dysfunction. *Tijdschr Fertil Ond* 1998; 12: 52-61.
51. Cabrera MS, Vogiatzi MG, New MI. Long term outcome in adult males with classic congenital adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 3070-3078.
52. White PC. Congenital adrenal hyperplasias. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2001; 15: 17-41.
53. Lee H. CYP21 mutations and congenital adrenal hyperplasia. *Clin Genet* 2001; 59: 293-301.
54. Loy CJ, Yong EL. Sex, infertility and the molecular biology of the androgen receptor. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2001; 13: 315-321.
55. Patrizio P, Leonard DG. Expansion of the CAG trinucleotide repeats in the androgen receptor gene and male infertility: a controversial association. *J Androl* 2001; 22:748.
56. Smith EP, Boyd J, Frank GR, Takahashi H, Cohen RM, Specker B et al. Estrogen resistance caused by a mutation in the estrogen-receptor gene in a man. *N Engl J Med* 1994; 331: 1056-1061.

Summary

Genetic causes of male fertility problems. Laven JSE. Ned Tijdschr Klin Chem 2001; 26: 293-301.

Due to recent advances in molecular biology, many studies have been undertaken attempting to unravel genetic defects that underlie male reproductive disorders. Until recently it seemed that genetic causes of infertility accounted for only a small proportion of males representing with reproductive dysfunction. Cases with well-defined single-gene defects have provided invaluable information regarding structure-function relationships of affected hormones. However, these individuals are likely to represent only the most severe cases in a wide spectrum of genetic abnormalities affecting male reproduction. It is clear that further comprehension of these extreme cases will provide the basis for elucidation of more common reproductive disorders involving multiple genes. This article attempts to provide the reader with an overview of recently described patients in whom the gene defect has been described at a molecular level.

Key-Words: male fertility problems; molecular genetics; sex hormones; autosomes; steroid biosynthesis; testes

Ned Tijdschr Klin Chem 2001; 26: 301-308

De spermabank: cryopreservatie van menselijk semen met diverse toepassingen

P.M.W. JANSSENS¹ en J.K. de BRUYN²

Cryopreservatie van menselijk sperma, alhoewel nog immer in de taboesfeer, is de laatste 25 jaar meer en meer een standaardbehandelingsoptie geworden in situaties van (reële of te voorziene) vruchtbaarheidsproblematiek. De laboratoriumtechnieken voor succesvolle cryopreservatie van humaan sperma zijn uitgekristalliseerd. De eisen waaraan een semenmonster moet voldoen om na cryopreservatie voldoende kans op verwekking van de bevruchtingstechniek die wordt toegepast, min of meer helder en aan te geven. Met de

sinds enige jaren beschikbaar gekomen hoog-technologische in-vitro-bevruchtingstechnieken lijkt het minimum van slechts één benodigde levende spermatozoë thans bereikt. De nagestreefde veiligheids garanties zijn in kaart gebracht en kunnen afhangen van het type toepassing, i.c. de leveranciers en gebruikers van het semen. De toepassingen van cryo-gepreserveerd semen variëren van eigen semen voor eigen gebruik, tot aan donorsemen te gebruiken voor specifieke of willekeurige recipiënten. Om ontoelaatbare verwisselingen te voorkomen en de vereiste veiligheid te kunnen garanderen wordt gewerkt volgens strikte protocollen, begeleid door een sluitend administratief systeem. Wetgeving en verdere regelgeving, waaraan dezer dagen gewerkt wordt, bedden de cryopreservatie van semen- en gameetdonatie in in de solide structuur die mag worden verwacht van een activiteit waarmee menselijke voortplanting wordt verkregen.

Klinisch Chemisch Laboratorium, Ziekenhuis Rijnstate, Arnhem¹ en Leids Universitair Medisch Centrum, afd. Gynaecologie/Fertiliteit, sectie KID en andrologische Cryopreservatie². Bestuursleden^{1, 2} van de Nederlands-Belgische Vereniging voor Kunstmatige Inseminatie, NBVKI.

Correspondentie: Dr. P.M.W. Janssens, Klinisch Chemisch Laboratorium, Ziekenhuis Rijnstate, Postbus 9555, 6800 TA Arnhem
e-mail: PJanssens@Rijnstate.nl

Trefwoorden: cryopreservatie; menselijk sperma; semen; spermabank; veiligheid; kunstmatige inseminatie; KID; donor

Het invriezen van menselijk sperma is in principe mogelijk sinds de vijftiger jaren van de afgelopen eeuw. Sinds het begin der jaren zeventig werd aanvankelijk vooral sperma van oncologische patiënten ingevroren, alvorens deze een vruchtbaarheidsbedreigende behandeling, zoals chemotherapie of radiotherapie, moesten ondergaan. Daarna werd ook steeds vaker sperma van spermadonoren gecryopreserveerd, vooral als deze niet op de dag van de inseminatie aanwezig konden zijn. Bij de intrede van AIDS begin jaren tachtig werd gebruik van vers semen van donoren voor inseminaties obsoleet en werd uitsluitend nog gebruik gemaakt van gecryopreserveerd semen.

Dankzij cryopreservatie kan de spermaproductie losgekoppeld worden van het tijdstip van de daadwerkelijke bevruchting. Semencryopreservatie biedt de mogelijkheid levenskrachtig erfelijk materiaal voor onbeperkte duur te behouden, zodat het op elk gewenst later tijdstip kan worden gebruikt voor één of meerdere vrouwen zonder dat de producent van het sperma daarbij aanwezig hoeft te zijn. In de vele jaren dat cryopreservatie van humaan semen inmiddels plaatsvindt, is nimmer gebleken dat cryopreservatie leidt tot toename van genetische of aangeboren defecten. Dit heeft de weg geopend tot een veelvuldig en divers gebruik van gecryopreserveerd humaan sperma.

Methodiek van cryopreservatie van humaan semen

De cryopreservatie van humaan semen is gebaseerd op het feit dat bij ultralage temperaturen het cellulair metabolisme voor (on)bepaalde tijd in een sluimer-toestand wordt gebracht. De temperatuur van vloeibare stikstof, waarin de opslag van monsters doorgaans plaatsvindt, is $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Essentieel is dat de cellen door het invriezen geen noemenswaardige schade oplopen. Ter voorkoming van schade door invriezen worden aan een monster sperma verschillende stoffen toegevoegd. In de loop der jaren is een variëteit aan stoffen en mengsels in verschillende centra toegepast, met al dan niet aangetoonde voor- of nadelen (1, 2, 3, 4). Alleen de meest gebruikte middelen worden hier genoemd.

Waarschijnlijk is de belangrijkste stof voor succesvolle cryopreservatie van semen glycerol. Glycerol verlaagt het vriespunt van het water, intra- en extracellulair. Optimaal effect van glycerol als cryoprotectans wordt bereikt bij een (eind)concentratie van ca. 7,5%. Voorts kan aan het invriesmedium eigeel uit kippeneieren toegevoegd worden (eindconcentratie 10% v/v). Hiervan wordt verondersteld dat het de membraanvloeibaarheid van de spermatozoën verhoogt. Volgens sommigen zou eigeel zelfs de aanwezigheid van glycerol overbodig maken. In plaats van dit eigeel kan (in medium waarin zich glycerol bevindt) ook humaan albumine (0,4%) worden gebruikt (5). Vaak worden verder enkele suikers (glucose, fructose) toegevoegd als energiebron voor de spermatozoën en een antibioticum om overbrenging van infecties tegen te gaan. Het invriesmedium wordt met buffers als glycine, citraat, Tris/HCl, Hepes of andere op een pH van ca. 7,4 gehouden en kan ingevroren bij $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ worden bewaard. Sommige firma's bieden in-

vriesmedium kant en klaar te koop aan. Al naar gelang de concentratie spermatozoa en de gewenste eindconcentratie van beschermende stoffen wordt het semen normaliter in een 2:1 tot een 1:1 verdunning met het invriesmedium gemengd.

Het met invriesmedium gemengde semen wordt overgebracht in opbergseenheden van ca. 0,25 ml, de zogenaamde 'Franse' rietjes of cryovials, voor opslag in vloeibare stikstof (1). Het volume van ejaculaat kan sterk variëren; per ejaculaat kunnen van enkele tot 50 rietjes verkregen worden (meestal 15-20). Enkele andere opslageenheden (met volumina tot 0,5 ml) worden ook, zij het zelden, nog wel gebruikt (enquête Nederlands-Belgische vereniging voor Kunstmatige Inseminatie, NBVKI, 2000). De rietjes dienen stuk voor stuk voorzien te zijn van eenduidige gegevens zoals een persoonsgebonden code en de datum van de semenproductie. De rietjes verkregen uit één ejaculaat worden in een zogeheten visotube in de canisters van een stikstofbewaarfes geplaatst. Rietjes en visotubes bestaan er in vele kleuren, wat een specifieke kleurencombinatie mogelijk maakt. Dit, toegepast naast de monsteridentificerende gegevens op de rietjes zelf, vermindert de kans dat er onduidelijkheid zou kunnen ontstaan over de identiteit van een bepaald monster, hetgeen uiteraard van essentieel belang is ter voorkoming van verwisseling bij later gebruik. Aldus kunnen in een stikstofbewaarfes honderden semenmonsters worden opgeslagen. Het hoeft geen betoog dat een feilloze administratie van de opslag hierbij onontbeerlijk is.

Succesvol invriezen van sperma kan worden gedaan, gebruik makend van twee uitersten wat betreft de temperatuurdaling (1, 3, 4). Enerzijds kan een zeer snelle temperatuurdaling worden toegepast. Hierbij worden de rietjes met semen 8-30 min in de damp van vloeibare stikstof gehouden (bijvoorbeeld in de hals van een stikstofvat) om vervolgens te worden ondergedompeld. Dit is een handmatige en eenvoudige methode. Anderzijds kunnen goede resultaten verkregen worden met een gefaseerde langzame temperatuurdaling, waarbij de temperatuurdaling binnen een aantal temperatuurtrajecten met verschillende snelheid plaatsvindt. Hierbij wordt doorgaans gebruik gemaakt van computergestuurde invriesapparatuur. Beide methoden werden in Nederland anno 2000 ongeveer even veel gebruikt (enquête NBVKI 2000). Doel van elk van de invriesmethoden is te voorkomen dat er grote ijskristallen ontstaan en/of schadelijke intracellulaire waterbewegingen plaatsvinden die desastreus zijn voor de cellen. Het ontdooien van cryogepreserveerd sperma lijkt minder kritisch te zijn, alhoewel gegevens suggereren dat de optimale ontdooimethode wel samenhangt met de invriesmethode: na snel invriezen, zou ontdooien bij $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ de beste methode zijn; na langzaam computergeprogrammeerd invriezen, ontdooien bij $22\text{ }^{\circ}\text{C}$ (4).

Eisen aan in te vriezen semen

Het invriezen van sperma veroorzaakt ongeveer 30-50% motiliteitsverlies van de spermatozoa (1, 2, 4). Omdat gezond sperma echter miljoenen spermatozoa bevat, levert een dergelijk verlies in veel gevallen

Tabel 1. Normen te stellen aan ingevroren sperma

Toepassing in	Minimaal aantal spermatozoa per behandeling
<i>niet-voorbewerkt semen</i> Peri- of intracervicale, of soms ook intra-uteriene inseminatie (KI)	2,5 x 10 ⁶ progressief beweeglijk (CECOS-norm; 7,8)
<i>voorbewerkt semen</i> Intra-uterine inseminatie (IUI)	1 x 10 ⁶ progressief beweeglijk
In-vitro fertilisatie (IVF)	0,5 x 10 ⁶ progressief beweeglijk
Intra cytoplasmatische semeninjectie (ICSI)	enkele levende/beweegende

geen onoverkomelijke bezwaren op. Soms echter wel. De mate van verlies aan motiliteit is tamelijk variabel tussen verschillende ejaculaten en verschillende mannen, waarbij een bepaald invriesmedium voor de een beter geschikt kan blijken dan voor de ander (1). In de praktijk gaat men echter zelden zo ver om per ejaculaat/man uit te zoeken welk medium de beste overleving geeft en wordt gewerkt met alleen het middel dat in het centrum voorhanden is.

Tot midden tachtiger jaren werd gecryopreserveerd semen alleen gebruikt voor simpele inseminatietechnieken (KI). Bij dit soort werkwijzen wordt het gehele volume van semen met cryoprotectans in de vagina, of soms ook wel in het voorste deel van de uterus gebracht, waarna alleen de goed progressief bewegende spermatozoa zich in de baarmoeder begeven. Een nadeel hiervan is dat voor een redelijk te behalen succespercentage de concentratie van progressief bewegende spermatozoa minimaal 2,5 miljoen per rietje van 0,25 ml dient te bedragen. Met het beschikbaar komen van technieken zoals IUI, IVF en ICSI is het mogelijk geworden de normen voor zinvol invriezen van semen drastisch naar beneden toe bij te stellen. Het meest vergaand in deze is de ICSI-techniek (intracytoplasmatische spermatozoa-injectie). Hiervoor is slechts een handvol levende spermatozoa nodig (in theorie zelfs slechts per eicel één). Zelfs behandelingen met aspiraten uit de bijbal (MESA) of biopten uit de testes (TESE) waarin spermatozoa worden aangetroffen, in combinatie met ICSI, zijn hiermee mogelijk geworden (6). Dit soort geavanceerde methodieken heeft het mogelijk gemaakt dat mannen waarvan voorheen de voortplantingskans nihil werd geschat, nu biologisch eigen nakomelingen kunnen krijgen. De minimale eisen die bij verschillende fertilisatiemethodieken aan semen na invriezen kunnen worden gesteld zijn opgesomd in tabel 1. De gegeven getallen moeten worden opgevat als richtlijnen, omdat fertilisatiekansen uiteraard geen alles of niets zaak zijn. Zo zijn er tussen verschillende auteurs en centra de nodige verschillen te vinden (zie bijv. 1, 7, 8). Een normale inseminatie, uitgevoerd m.b.v. een cervixcupje of peri-intracervicaal uitgevoerd, zoals doorgaans bij donorinseminatie (KID) wordt toegepast, vereist toepassing van minstens 2,5 x 10⁶

progressief bewegende spermatozoa (7, 8). Volgens de grote retrospectieve Franse CECOS-onderzoeken (8, 9), bevestigd door diverse anderen (26), levert dit gerekend over de eerste 12 behandelingscycli een zwangerschapskans op van 9% per cyclus met een cumulatief succespercentage na 12 cycli van 72%. Bij uitblijvende zwangerschap kan de hoeveelheid gebruikt sperma bijvoorbeeld na 6 cycli worden verhoogd. Met deze inseminatietechnieken wordt meestal niet langer doorgedaan dan 12 cycli. Hierna kan eventueel overgegaan worden op IVF met donorsemen (7).

Veiligheid van sperma uit een spermabank

Cyrogepreserveerd sperma draagt niet alleen erfelijke eigenschappen over van producent op ontvangster (recipiënte). Via sperma kunnen ook besmettelijke ziekten worden overgedragen, de zogeheten bloed- en sexueel overdraagbare aandoeningen (SOA), zoals HIV, hepatitis B + C, MCV, *Chlamydia trachomatis*, lues, gonorrhoe, e.d. Terwijl in de normale omgang van mensen de verantwoordelijkheid voor de overbrenging van ongewenste erfelijke eigenschappen en besmettelijke ziekten geheel bij de seksuele partners ligt, ontstaat door de tussenkomst van een spermabank een situatie waarin die verantwoordelijkheid geheel of ten dele door de spermabank wordt overgenomen. In de meest vergaande vorm komt dit voor bij toepassingen waarbij gebruik gemaakt wordt van niet-eigen semen. Hierbij kennen de recipiënten de man die het sperma levert veelal niet, waarmee de veiligheidscheck die het normale intermenselijke contact met zich meebrengt, verloren gaat. Het is dan ook niet verwonderlijk dat vrouwen die overwegen sperma van een meer of minder bekende donor te gaan gebruiken bewust uit veiligheidsoverwegingen soms de tussenkomst van een spermabank zoeken. Medisch-technisch is zo'n tussenkomst niet nodig. Een simpele zelfinseminatie (ZI)-techniek met vers semen kan eenvoudig thuis worden uitgevoerd. Interessant hierbij is overigens op te merken dat overbrenging van infecties bij toepassing van de meeste, zo niet alle, kunstmatige fertilisatiemethodieken aanmerkelijk geringer is dan bij geslachtelijk verkeer (10, 11).

Een ander aspect van de veiligheid bij gebruik van semen na cryopreservatie betreft de horizontale transmissie. Vergeleken met de natuurlijke situatie wordt semen bij cryopreservatie geruime tijd in een niet-natuurlijke, potentieel besmettelijke omgeving gebracht. Hierbij moet vooral gedacht worden aan besmetting via de opslagvaten, met name aan ziektekiemen vanuit andere spermamonsters. Doorgaans zijn monsters van meerdere mannen in eenzelfde vat opgeslagen in de vloeibare stikstof. Een -weliswaar beperkt- aantal studies suggereert dat het denkbaar is dat verspreiding van micro-organismen via de vloeibare stikstof in een vat kan optreden, met als resultaat dat monsters elkaar zouden kunnen besmetten (12, 13). Zelfs al wordt de kans op dergelijke overdracht van infectieus materiaal in opslagvaten klein geacht, dan nog kan men zich voor een moreel dilemma geplaatst zien wanneer een besmet monster in een vat aanwezig blijkt te zijn, zeker wanneer die besmetting de ver-

wekker van een ernstige ziekte, bijvoorbeeld AIDS, betreft. De vraag die dan gesteld moet worden is of men andere spermamonsters, die opgeslagen zijn geweest in vloeibare stikstof in de directe nabijheid van zo'n besmet monster, nog wel mag gebruiken. Een belangrijke rol speelt hierbij de concrete wijze van opslag van het sperma. Zo is opslag in rietjes afgedicht met polymeriserend polyvinyl afdichtpoeder of in cryovials feitelijk niet-steriel (12). Afdichting van rietjes door middel van sealen is wel steriel, doch op dit moment nog weinig gebruikt, omdat het duurder en arbeidsintensiever is en de rietjes aanzienlijk meer ruimte in beslag nemen. Aanhechting van infectieus materiaal aan de buitenkant van rietjes of vials blijft overigens bij alle werkwijzen in vloeibare stikstof moeilijk uit te sluiten. Een redelijke oplossing bij de huidige werkwijzen is vatsgewijze quarantaine (zie beneden; 14). Veel beter nog lijkt opslag in de dampfase van vloeibare stikstof -geen sinecure echter, want dit vergt vergaande aanpassingen van de opslaginstallaties (12, 13). Ook uitvoering van een PCR-/LCR-test voor relevante micro-organismen op elk in te vriezen ejaculaat is een theoretische mogelijkheid, doch organisatorisch en financieel lijkt dit nauwelijks haalbaar. Zich bewust van hun bijzondere verantwoordelijkheden hebben de spermabanken sinds lang werkwijzen doorgevoerd die de veiligheid van uitgegeven sperma moeten garanderen (7). Deze werkwijzen kunnen worden onderscheiden in:

- voorselectie
- microbiologisch/serologisch onderzoek
- quarantaine.

De aanpak hierbij vertoont grote overeenkomsten met die van de bloedbanken, waarbij aangetekend, dat hij enigszins variëren kan met het type man/donor cq. semen waarvoor de cryopreservatie plaatsvindt. Zo wordt in het geval van cryopreservatie voor eigen gebruik de voorselectie minder grondig uitgevoerd dan in het geval van cryopreservatie voor niet-eigen gebruik en ook wordt voor deze categorie gebruikers de quarantaine vaak achterwege gelaten. Aanbevolen microbiologische/serologische onderzoeken wijzigen zich uiteraard voortdurend, onder invloed van de kennis van gevaren en infecties en de technische en financiële mogelijkheden.

Tabel 2. Microbiologisch uit te voeren screening alvorens tot cryopreservatie van het semen wordt overgegaan

<i>Minimaal</i>	
HIV	serologie
Hepatitis B	serologie
Hepatitis C	serologie
<i>Chlamydia trachomatis</i>	PCR/LCR uit allereerste ochtendurine of semen
<i>Additioneel (zeker bij donoren)</i>	
Syfilis (lues)	serologie
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	PCR/LCR uit urine of semen
CMV ¹⁾	serologie

¹⁾ Positieve CMV-serologie is in principe geen reden voor weigering, omdat een groot deel van de bevolking daarvan al een (subklinische) besmetting heeft doorgemaakt. Eventueel kan er bij de "matching" van donoren en recipiënten rekening mee worden gehouden.

Voorselectie

Deze bestaat uit een persoonlijke intake. Hierbij wordt aan de hand van een checklist doorgenomen of de man in kwestie tekenen van bloed- of seksueel overdraagbare aandoeningen vertoont, of tot de risico-groepen daarvoor behoort. De verdenking positief te zijn betreffende een van deze categorieën leidt in alle gevallen tot nader onderzoek en bij bevestiging tot weigering van de cryopreservatie.

Microbiologisch/serologisch onderzoek

Dit onderzoek, dat na de voorselectie volgt, dienen alle mannen die semen willen invriezen voorafgaand aan de cryopreservatie te ondergaan. Er wordt gekeken naar een variëteit aan bloed- en seksueel overdraagbare aandoeningen door klinisch onderzoek, onderzoek in urine en serum en in bijzondere gevallen ook in het ejaculaat. In tabel 2 is aangegeven wat anno 2001 noodzakelijk/wenselijk wordt geacht.

Quarantaine

Deze wordt altijd toegepast voor donorsperma dat zal worden gebruikt voor meerdere vrouwen. Dit houdt in dat ingevroren spermamonsters geruime tijd worden bewaard (meestal 6 maanden) alvorens te worden gebruikt (7). Donoren worden zowel bij de start als op het eind van de quarantaineperiode serologisch getest en bij continuering van donorschap periodiek steeds opnieuw. Dit biedt de mogelijkheid spermamonsters te onderscheppen die reeds besmettelijke microben bevatten, maar waarvan de donor ten tijde van de spermaproductie nog geen seroconversie heeft doorgemaakt (d.w.z. nog geen antilichamen had, maar wel reeds het besmettelijke agens). Seroconversie met name voor HIV vindt doorgaans binnen de 6 maanden plaats, dus wanneer een donor 6 maanden na de semendonatie nog seronegatief is, kan met een grote mate van zekerheid worden gesteld dat zijn eerder afgestane (in quarantaine bewaarde) semen microbiologisch veilig is. Indien de donor daarentegen aan het einde van de quarantaineperiode seropositief blijkt te zijn, worden met terugwerkende kracht de in quarantaine gehouden semenmonsters vernietigd. Vatsgewijs en niet donorgewijs uitvoeren van quarantaine lijkt hierbij een goede optie (14). Wanneer monsters uit een quarantainevat na een laatste negatief bevonden test simultaan worden vrijgegeven, kan gesteld worden dat er ook een minimale kans op horizontale transmissie via de vloeibare stikstof is geweest.

Toepassingen van cryopreservatie van sperma

De opslag van sperma kan gebeuren voor strikt eigen gebruik of bedoeld zijn voor een voorraad, te gebruiken als donormateriaal (tabel 3). Bij de cryopreservatie van persoonlijk-eigen sperma (categorie 1) gaat het feitelijk om het (tijdelijk) in bewaring geven van persoonlijk eigendom, met alle juridische consequenties van dien. Dit is een geheel tegenovergestelde situatie aan die bij de derde opslag-categorie, waarbij producent en gebruikster (recipiënte) van het sperma volkomen losgekoppeld zijn van elkaar en geen van de betrokkenen verwachtingen koestert met betrek-

Tabel 3. Toepassingen van cryopreservatie van humaan semen

- *Opslag van eigen semen*

- orgasme- of ejaculatiestoornissen.
- vruchtbaarheidsbedreigende behandeling (vooral bij oncologische patiënten) zoals chemotherapie, radiotherapie, anabole steroïden, andere medicatie of chirurgisch ingrijpen in het kleine bekken.
- verzekering van voortplantingsmogelijkheden na een voorgenomen sterilisatie (vasectomie)
- bij langdurige afwezigheid van de partner rond de ovulatieperiode van de vrouw (doorgezette fertilisatiekansen)
- als zekerheid bij een voorgenomen behandeling IVF/ICSI

- *Opslag van niet-eigen semen voor specifieke recipiënte*

- semen van een voor de vrouw bekende donor

- *Opslag van donormateriaal voor meerdere recipiënten*

- semen van onbekende donor, al dan niet voor de nakomeling anoniem-blijvend later

king tot het opgeslagen sperma, afgezien van de genetische en microbiologische veiligheidswaarborgen. Tussenvormen zijn te vinden in opslagcategorie 2 en bij vrouwen uit categorie 3, die sperma van een bepaalde donor reserveren voor gebruik voor een volgende zwangerschap van dezelfde donor. Alhoewel bij alle cryopreservatie van sperma in grote lijnen dezelfde richtlijnen gelden, bestaan er voor de zojuist genoemde categorieën in sommige opzichten verschillende procedures, die voortvloeien uit de verschillende eisen omtrent het opgeslagen sperma. Zo zullen voor de cryopreservatie van het persoonlijk-eigen sperma, waarvoor de genetische veiligheid vanwege het persoonlijke gebruik nauwelijks ter discussie staat, de procedures er vooral op gericht zijn de kans op verlies van het sperma te minimaliseren, een en ander volgens de afspraken die zijn gemaakt en in contractvorm zijn vastgelegd. Aan de andere kant zullen voor sperma dat juist niet voorbestemd is persoonlijk te worden gebruikt, de procedures bij uitstek gericht zijn op genetische/microbiologische veiligheid.

Opslag van eigen semen en spermatozoa

De grootste groep in de categorie opslag van eigen sperma betreft vaak jonge oncologische patiënten die een vruchtbaarheidsbedreigende behandeling zullen moeten ondergaan (tabel 3) (15). Als gevolg van de ziekte zelf of door de curatieve behandeling (bijv. chemotherapie, radiotherapie of chirurgisch ingrijpen) kan een man tijdelijk of blijvend onvruchtbaar zijn. Ook voorkoming van genetische schade aan de gameten speelt soms een rol. Zeker bij jonge mannen die nog geen kinderen hebben en bij wie kinderwens te zijner tijd reëel mag worden geacht is het verstandig de mogelijkheid van cryopreservatie van het sperma te overwegen, ook wanneer er nog geen vaste levenspartner is. Soortgelijk geldt dit voor (jonge) mannen die door een ongeval een dwarlaesie oplopen (16). In al dit soort situaties ligt hier een belangrijke taak voor de behandelaar. Er kan niet vanuit worden gegaan dat een jonge man die geconfronteerd wordt met een ernstige ziekte of ongeval automatisch aan

cryopreservatie van zijn sperma denkt, aangenomen zelfs dat hij er van weet en het ter sprake durft te brengen. Zijn gedachten zullen op zo'n moment op geheel andere zaken gericht zijn.

Minder dringende redenen voor spermacryopreservatie dan de zojuist genoemde, zijn te vinden bij mannen die zich laten steriliseren. Hun belangstelling voor het invriezen van semen vloeit voort uit een persoonlijke afweging en is als het ware een soort verzekering voor als ze later spijt krijgen van hun verkozen steriliteit. Hersteloperaties, die in dat geval een optie zijn, hebben slechts een beperkt slagingspercentage. In de regel moet vanwege het vrijwillige karakter voor deze dienst door het individu zelf worden betaald. Ook degenen die sperma invriezen vanwege langdurige afwezigheid van de mannelijke partner, kunnen worden gekenschetst als meer vrijwillige "invriezers". Vanzelfsprekend biedt het voorhanden zijn van ingevroren bewaard sperma bij langdurige afwezigheid van de partner een grotere kans op het ontstaan van zwangerschap, omdat (rekening houdend met de ovulatie) met inseminatie kan worden doorgedaan. Zeker voor paren waarbij 'de tijd gaat dringen', omdat de vrouw de leeftijd van veertig nadert, is dit een mogelijkheid om de kans op nakomelingen te verhogen.

Tenslotte is er nog de mogelijkheid van invriezen van spermatozoa bevattend materiaal verkregen uit de epididymis, MESA (microchirurgische epididymale semen aspiratie), of testis (TESE: testiculaire spermextractie). Dit materiaal kan met microchirurgische technieken verkregen worden bij mannen die geen sperma ejaculeren, of die een spermatozoaloos ejaculaat hebben (azoöspermie). Dankzij tegenwoordige technieken zoals ICSI kunnen hiermee nakomelingen verkregen worden, ondanks de beschikbaarheid van slechts enkele spermatozoa (6). Op het moment dat MESA en TESE mondiaal mogelijk werden, bestond er nog belangrijke onduidelijkheid of er door toepassing van deze behandelingen een onevenredig grote kans zou bestaan op het doorgeven van genetische defecten, met name die leiden tot infertiliteit. Derhalve werd hierover in 1996 in Nederland een moratorium door de betrokken beroepsgroep en de overheid afgesproken. Inmiddels is er meer inzicht in de veiligheid van MESA en TESE ontstaan. Vanaf 2000 is het daarom van overheidswege toegestaan ICSI uit te voeren met MESA-materiaal, wanneer deze behandeling deel uitmaakt van officieel door de CCMO*-goedgekeurd onderzoek (17).

Opslag semen voor niet-eigen gebruik t.b.v. een specifieke recipiënte

Zoals in tabel 3 is aangegeven zijn er twee verschillende situaties waarbij semen wordt ingevroren voor niet-eigen gebruik. Eén daarvan is bij semenmateriaal dat afgestaan wordt voor een specifieke recipiënte (i.c. een vrouw met een zelf aangebrachte donor). Deze situatie kan organisatorisch gezien vergeleken

* Centrale Commissie Mensgebonden Onderzoek, door de overheid ingestelde commissie die de kwaliteit van alle onderzoek met mensen bewaakt.

worden met materiaal dat door de eigen partner in opslag gegeven is. Met dit materiaal wordt z.g. KIE (kunstmatige inseminatie van eigen semen) toegepast. Een dergelijke situatie zou echter ook goed opgelost kunnen worden door ZIE (zelfinseminatie eigen semen), thuis door de recipiënte zelf met vers semen. Het grote voordeel hiervan is dat een dergelijke zwangerschap, waarbij wensmoeder en donor elkaar (goed) kennen, niet gemedicaliseerd wordt. Wel invriezen is uiteraard zeer praktisch omdat de donor rond de ovulatieperiode niet beschikbaar hoeft te zijn. Vaak blijkt dit echter niet zo'n groot probleem te zijn. Een ander voordeel van het wel invriezen in een dergelijke situatie is dat de donor en het materiaal gescreend worden op overdraagbare microbiële aandoeningen (tabel 2). Met betrekking tot dit screeningsargument zou echter gesteld kunnen worden, dat recipiënte en donor goede afspraken kunnen maken waardoor, vergelijkbaar met andere paren, een microbiologische screening overbodig zou kunnen worden geacht. Derhalve is het ook maar de vraag of het verstandig is dat een spermabank in een situatie, waarin blijkbaar geen adequate afspraken tussen recipiënte en donor te maken zijn, deze verantwoordelijkheid overneemt. Naar schatting zijn sinds begin jaren negentig in Nederland zo'n 1500-2000 zwangerschappen voor de doelgroep waar het hier om gaat gerealiseerd (18). In 1997 rapporteerden de spermabanken gezamenlijk dat jaar 143 maal aan een dergelijk verzoek te hebben meegewerkt (19). Opvallend is dat deze 143 verzoeken voornamelijk in 2 van de in totaal 13 spermabanken werden gerealiseerd. Het lijkt erop dat de individuele overtuiging van een verantwoordelijke binnen een specifieke spermabank hierbij een grote rol speelt.

Opslag semen voor niet-eigen gebruik t.b.v. willekeurige recipiëntes

In het afgelopen decennium telde Nederland zo'n 1200 KID-zwangerschappen (kunstmatige inseminatie met donorsemen) per jaar, (18, 19, 20). De KID-toepassing van semencryopreservatie belichaamt in zijn uiterste vorm de loskoppeling van spermaproductie door de man en de bevruchting c.q. inseminatie bij de vrouw, zowel wat betreft de betrokken personen als het tijdstip van bevruchting/inseminatie. De specifieke eisen waaraan de cryopreservatie en uitgifte van sperma ten bate van KID dienen te voldoen zijn uitvoerig beschreven in een CBO-advies uit 1992 (in 1997 gereviseerd) (7). Daarin wordt onder meer bepaald dat in Nederland een maximum van 25 zwangerschappen per donor acceptabel kan worden geacht, een getal waaronder volgens gemaakte berekeningen de consanguïteit onder de bevolking niet toeneemt. Het optreden van onbewuste consanguïne relaties is hierbij nagenoeg uitgesloten.

Niet alleen de verantwoordelijkheid voor de veiligheid van het sperma ligt bij KID geheel in handen van de spermabank. Ook de keuze van het sperma dat wordt gebruikt, komt binnen de invloedssfeer van de spermabank en de behandelaars die de KID verrichten (voor zover deze überhaupt gescheiden zijn). Hierbij wordt ernaar gestreefd een donor te vinden

die qua uiterlijke kenmerken zo goed als mogelijk past bij de partner van de vrouw, waarbij wordt gelet op de etnische achtergrond, oog- en haarkleur, bloedgroep, lengte en lichaamsbouw (7; NBVKI-enquête 2000). Voor de motieven van donoren, de effecten die opheffing van de anonimiteit met zich mee kan brengen en de indicatiestelling van recipiëntes wordt verwezen naar de betreffende bijdrage in dit nummer (21).

Organisatie van een spermabank

Essentieel voor cryopreservatie van semen c.q. een spermabank is dat niet alleen de werkzaamheden deskundig en zorgvuldig worden uitgevoerd, maar ook dat deze activiteit ingebed is in een feilloos organisatorisch en administratief systeem. Het hoeft geen betoog dat reeds een kleine fout ernstige gevolgen kan hebben. Denk bijvoorbeeld aan overbrenging van een infectie op een gebruikster van opgeslagen sperma, of de verwekking van een nakomeling met semen van de verkeerde man bij de verkeerde vrouw. In de literatuur zijn daar pijnlijke voorbeelden van bekend (22). Minimale zorgvuldigheidseisen met betrekking tot opslag van en behandeling met ingevroren sperma zijn geformuleerd in diverse nationale en internationale bronnen (1, 7, 23). In organisatorische zin kan het werk van een semenbank in vier onderdelen worden onderscheiden, die hier achtereenvolgens worden beschreven.

De intake van personen die voornemens zijn sperma op te slaan

Voor de man (patiënt, donor of vrijwillige "invriezer") die cryopreservatie van zijn sperma overweegt, is het belangrijk om na te gaan of cryopreservatie voor hem een goede optie is, gezien zijn vraag of gediagnosticeerde probleem. Als het goed is, heeft in dit stadium reeds een uitvoerig fertiliteitsonderzoek van de man (en in betreffende gevallen zijn vrouwelijke partner waarmee hij een kindwens deelt) plaats gehad (24). Middels de resultaten van een uitgebreid semenonderzoek (25, 26, 27) is dan ook bekend hoe de kwaliteit van zijn sperma is. Vanuit de semenbank dient de man geïnformeerd te worden over de voorwaarden en mogelijkheden van de cryopreservatie en de vruchtbaarheidskansen daarna. Tegelijk is het intakegesprek voor de semenbank de gelegenheid voor voorselectie en anamnese van de man, waarbij kan worden nagegaan of er redenen zijn om op enigerlei wijze aan de veiligheid van zijn sperma te twifelen (zie boven). Het intakegesprek is dus voor beide partijen van belang. Er worden afspraken bij gemaakt en gedane bevindingen worden vastgelegd. Afhankelijk van het type cryopreservatie wordt een bepaald contract opgesteld. Contracten zijn noodzakelijk in alle gevallen van semencryopreservatie voor eigen gebruik. Ook bij verschillende andere toepassingen van semencryopreservatie kan er een plaats voor een contract zijn. In het contract is vastgelegd aan welke verplichtingen beide partijen dienen te voldoen, in welke situaties het contract kan komen te vervallen en wat te doen, bijvoorbeeld, bij het overlijden van de man wiens sperma ingevroren is. Het wederzijds ondertekende contract weerspiegelt de grote waarde die het opgeslagen sperma heeft voor degene die het toebehoort.

Sperma-onderzoek

Onmiddellijk voorafgaand aan het invriezen is het noodzakelijk vast te stellen wat de kenmerken van het sperma zijn. Hiertoe wordt doorgaans slechts een beperkt semenonderzoek verricht, inhoudende een vaststelling van de concentratie, het percentage en de mate van beweeglijkheid van de spermatozoa (27). In geval men bij de microscopie een groot aantal leukocyten ziet, dient men verdacht te zijn op de aanwezigheid van (overdraagbare) infecties. Deze dienen door nader onderzoek uitgesloten te zijn alvorens het semen kan worden opgeslagen en gebruikt. Tevens wordt de 'invriesbestendigheid' van het sperma vastgesteld. Dit houdt in dat bij de gebruikte invriesmethoden met een proefmonster wordt gekeken in welke mate de resultaten van het spermaonderzoek na invriezen-ontdooien verschillen met die van vóór het invriezen. Aan de hand hiervan kan worden vastgesteld of het überhaupt zinvol is, het sperma in te vriezen. Ook kan bepaald worden welke fertiliteitsbehandelingen met het betreffende sperma na cryo-preservatie redelijkerwijs mogelijk zijn (zie tabel 1).

Cryopreservatie van aangeboden sperma

De productie van in te vriezen sperma geschiedt bij voorkeur op dezelfde afdeling waar ook de cryopreservatie plaatsvindt. Semenproductie in de thuissituatie met daarop snel transport naar de spermabank, wordt in bepaalde centra onder bepaalde voorwaarden ook acceptabel geacht, waarbij de wat grotere kans op kwaliteitsverlies en op verwisseling van het monster voor lief worden genomen. Met het invriesproces wordt zo spoedig mogelijk nadat het spermamonster verkregen is begonnen. Dit hele proces dient te bestaan uit sluitende procedures, waarin de kans op verwisseling van ejaculaten of verlies van kwaliteit tot een minimum beperkt zijn. Op diverse plaatsen binnen de procedure dienen controles ingebouwd te zijn. Het geheel dient vergezeld te gaan van een waterdichte administratie, waarin de innamedata, opslagplaatsen, kwaliteitsparameters, vrijgave- en uitgiftedata van de ejaculaten per donor, samen met de resultaten van de screeningsonderzoeken zijn geregistreerd. Idealiter wordt de administratie bijgehouden door middel van een computerprogramma. Uiteraard is een bepaald spermamonster in de administratie van de spermabank altijd te herleiden tot een betreffende man. Voor mannen die sperma voor eigen gebruik of persoonlijk bestemd voor een bepaalde vrouw hebben laten invriezen kan direct met persoonsidentificerende gegevens gewerkt worden. Voor KID-donoren daarentegen, die hun sperma afstaan ten behoeve van gebruik door anderen, dient met codes te worden gewerkt. De herleidbaarheid van deze codes tot de persoonsidentificerende gegevens van de KID-donor kan welbewust beperkt worden tot enkele medewerkers binnen de spermabank en gescheiden blijven van behandelaar en recipiënte. Het voordeel van een dergelijke gescheiden administratie is dat de privacy van de donor, zowel bij volstrekt anonieme donoren als bij donoren die het goed vinden dat het kind na 16 jaar hun identiteit zal mogen kennen, maximaal gewaarborgd blijft. Aangezien uitgifte en gebruik van

sperma op het terrein van de behandelaars liggen, terwijl de donorwerving, -contacten en de spermaopslag meestal een laboratoriumaangelegenheid zijn, sluit een dergelijke scheiding vaak gemakkelijk aan bij de bestaande praktijk.

Uitgifte en gebruik van cryo-gepreserveerd sperma

Het daadwerkelijke gebruik van het uitgegeven sperma is veelal een inseminatie in het kader van fertiliteitsbehandeling. Deze kan plaatsvinden in dezelfde instelling als waar de spermabank gevestigd is. Het sperma kan echter ook naar een andere instelling worden getransporteerd. Soms, en dan uitsluitend onder strikte voorwaarden, kan de inseminatie ook door de recipiënte en haar partner zelf gedaan worden in de privésfeer. Dit uiteraard na adequate instructie en oefening en gebruik makend van daartoe meegegeven eenvoudige hulpmiddelen. Het ingevroren sperma kan daarbij meegenomen worden in speciaal veilige transportcontainers. Vanzelfsprekend moet de KI-hulpverlener hierbij het volste vertrouwen hebben in een verantwoordelijke toepassing van het meegegeven sperma en de kwaliteit van de uit te voeren handelingen, anders kan hij er beter niet aan meewerken.

Cryopreservatie van sperma in Nederland in de eenentwintigste eeuw

Cryopreservatie van semen in Nederland wordt op diverse wijzen en in uiteenlopende organisatorische vormen uitgevoerd. Dit vloeit voort uit het feit, dat de overheid tot op heden weinig regelgeving heeft doen uitgaan over cryopreservatie van semen en het uiteenlopende karakter van diensten die hiermee verleend kunnen worden. Vestiging van een spermabank is tot op heden bijvoorbeeld niet vergunningplichtig. De belangrijkste voorwaarde op dit moment is financiering van de activiteit. In de huidige situatie gebeurt dit vaak door de opbrengsten ingebracht door personen die van de faciliteit gebruik maken, soms ten dele vergoed door zorgverzekeraars en ten dele uit het budget van ziekenhuizen. De variabele financiering hangt samen met de sterk uiteenlopende doeleinden waarvoor cryopreservatie van semen wordt toegepast. Aan het ene uiterste van het spectrum bevindt zich de cryopreservatie van semen voor oncologische patiënten. Aan het andere uiterste bevindt zich de cryopreservatie ten bate van vrouwen die nakomelingen willen zonder te beschikken over een mannelijke partner. Daartussen bevindt zich een scala aan personen met meer of minder grote vruchtbaarheidsproblemen. Kinderwens is echter geen ziekte. Dit verklaart ook het diverse karakter waarmee de cryopreservatie van het semen wordt uitgevoerd: in instellingen uiteenlopend van ziekenhuizen tot aan privé-klinieken en in grootte variërend van spermaopslag op kleine schaal met een luttel opslagvat, tot aan grote spermabanken met aanzienlijke faciliteiten. In ziekenhuizen is cryopreservatie van semen feitelijk vaak een verliespost. De handhaving binnen deze instellingen komt voort uit de opvatting dat de mogelijkheid van cryopreservatie van semen gezien wordt als een onlosmakelijk onderdeel horend binnen het scala van geboden vruchtbaarheidsondersteunende behandelingsmogelijk-

lijkheden. Wanneer men alleen de wat grotere faciliteiten voor cryopreservatie beschouwt als spermabank, komt men volgens de telling van de Nederlands-Belgische Vereniging voor Kunstmatige Inseminatie in 1997 tot iets meer dan tien spermabanken in Nederland (19, 20). Het aantal instellingen waar KI-hulp geboden wordt werd bij die inventarisatie geschat op ca. 40 (19, 20). Het is echter afwachten of deze aantallen, als gevolg van de dezer dagen tot stand gekomen wetgeving (met kans op een vermindering van het donorbestand (21)) en verdergaande regelgeving die vanuit de overheid op komst is, de komende jaren gelijk blijven. Gezien het historisch gegroeide pluriforme karakter van cryopreservatie van semen in haar ruimste betekenis mag een aanzet tot verdere uniformering anno 2001 overigens geen overbodige luxe worden genoemd. Alhoewel de technieken van cryopreservatie eenvoudig van aard zijn, betreft het handelingen met humane gameten, een ethisch gevoelige materie, waarmee zo zorgvuldig mogelijk dient te worden omgegaan.

Literatuur

- Mortimer D. Semen cryopreservation. In: Mortimer D. Practical Laboratory Andrology. Oxford: Oxford Univ Press 1994; 301-323.
- Keel BA and Webster BW. Semen analysis data from fresh and cryopreserved donor ejaculates: comparison of cryoprotectants and pregnancy rates. *Fert Steril* 1989; 52: 100-105.
- Jeyendran RS, Gunawardana VL, Barisic D, Wentz AC. Test-yolk media and sperm quality. *Hum Reprod Updat* 1995; 1: 73-79.
- Royere D, Barthelemy C, Hamamah S, Lansac J. Cryopreservation of spermatozoa: a 1996 review. *Hum Reprod* 1996; 2: 553-559.
- Brotherton J. Cryopreservation of human semen. *Arch Androl* 1990; 25: 181-195.
- Holden CA, Southwick GJ, Fuscaldo GF, Hauser R, Jackson P, Temple-Smith PD, Cato A, McLachlan RI. Frozen-thawed epididymal spermatozoa for intracytoplasmic sperm injection. *Fert Ster* 1997; 67: 81-87.
- De Bruyn JK, coördinator i.s.m. Nederlands/Belgische Vereniging v. Kunstmatige Inseminatie, Nederlandse Ver. v. Obstetrie en Gynaecologie en Ver. v. Klinische Genetica Nederland. Advies medisch-technische aspecten van kunstmatige donorinseminatie 1992. Engelse versie hiervan is in 1997 beschikbaar gekomen. Centraal Begeleidingsorgaan voor de Intercollegiale Toetsing (CBO); ISBN 90-6910-123-8.
- Le Lannou D, Lansac J. Artificial procreation with frozen donor semen: experience of the French Federation CECOS. *Hum Reprod* 1989; 4: 757-761.
- Le Lannou D, Thépot F, Jouannet P. Multicentre approaches to donor insemination in the French CECOS Federation: nationwide evaluation, donor matching, screening for genetic diseases and consanguinity. *Hum Reprod* 1998; 13: 35-49.
- Eskenazi B, Pies C, Newsletter A, Shepard C, Pearson K. HIV-serology in artificially inseminated lesbians. *J Acq Imm Defic Syndr* 1989; 2: 187-193.
- Chiasson MA, Stoneburner RL, Joseph SC. Human immunodeficiency virus transmission through artificial insemination. *J Acq Imm Defic Syndr* 1990; 3: 69-72.
- Clarke GN. Sperm cryopreservation: is there a significant risk of cross-contamination? *Hum Reprod* 1999; 14: 2941-2943.
- Tomlinson M, Sakkas D. Is a review of standard procedures for cryopreservation needed? Safe and effective cryopreservation - should sperm banks and fertility centres move toward storage in nitrogen vapour? *Hum Reprod* 2000; 15: 2460-2463.
- Janssens PMW. Safety during sperm banking; plus comment by: Bahadur G, Tedder RS. *Hum Reprod* 1997; 12: 2579-2580.
- Pfeifer SM, Coutifaris C. Reproductive technologies 1998: options available for the cancer patient. *Med Ped Oncol* 1999; 33:34-40.
- Mallidis C, Lim TC, Hilll ST, Skinner DJ, Brown DJ, Johnston WH, et al. Collection of semen from men in acute phase of spinal cord injury. *Lancet* 1994; 343: 1072-1073.
- Regeling van de Minister van Volksgezondheid, Welzijn en Sport; 12 december 2000. CSZ/ZT-2125876.
- Van Dijke A, Terpstra L. Wel kinderen; geen man. Utrecht, Warray, 1991.
- De Bruyn JK. Spermabanken in Nederland 1990-1997. Leiden, 1998. Nederlands/Belgische Ver. v. Kunstmatige Inseminatie; Intern Rapport t.b.v. het Ministerie van VWS.
- Instituut voor strategisch consumentenonderzoek SWOKA, Trommelen M, den Otter M, van der Veen G. Bereidheid tot donatie van sperma bij opheffing van de anonimiteitwaarborg van de donor. 1999. Onderzoek uitgevoerd in opdracht van ZorgOnderzoek nederland, ZON; ISBN 90-5763-010-9.
- De Bruyn JK. Maatschappelijke ontwikkelingen rond KID. *Ned Tijdschr Klin Chem* 2001; 26: 309-313.
- Cotterell, VF. Kind van twee vaders. De ongelooflijke geschiedenis van een ziekenhuisfout. Amsterdam 1996.
- Barratt C, Englert Y, Gottlieb, C, Jouannet P. Gamete donation guidelines. The Corsendonk consensus document for the European Union. *Hum Reprod* 1998; 13: 500-501.
- Jequier AM. Male infertility; a guide for the clinician. Oxford: Blackwell Science Ltd, 2000.
- Van Roijen JH, Vreeburg JTM, Kluit MW, Pierik F, Dohle GR, Weber RFA. Standaardisatie van semen-analyse. *Ned Tijdschr Klin Chem* 1995; 20: 209-212.
- McCoshen JA, Fernandes PA. Male infertility: the use and efficacy of frozen sperm. *Curr Sci* 1990; 2: 850-856.
- World Health Organisation. WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. 3rd ed. Cambridge: Cambridge Univ Press, 1995.

Summary

Sperm banking: cryopreservation of human semen with multiple applications. Janssens PMW and Bruyn JK de. Ned Tijdschr Klin Chem 2001; 26: 301-308.

During the last 25 years cryopreservation of human semen, despite remaining a sensitive subject, has become more and more an accepted treatment option for cases where reproductive problems are real or likely. Optimal laboratory methods for successful cryopreservation of human semen have been defined. The requirements for a semen sample with sufficient chance to give fertilisation following cryopreservation are dependent on the fertilisation technique to be used. They have been defined with some certainty. The advances in in-vitro fertilisation techniques that became available in recent years have enabled us to reach the absolute limit of just one living preserved sperm needed for procreation. Safety requirements for cryopreservation have been specified and may depend on the type of use made of the semen, as determined by the men producing the semen and the recipients. The utilisation of cryopreserved semen is diverse, varying from use of own semen for personal reproduction to use of donor semen for specific recipients or even arbitrary women. To prevent intolerable mix-up of samples and guarantee optimal safety, strict protocols are followed, controlled by a tight administrative system. Regulations and legislation on cryopreservation of semen and gamete use, like those that are in preparation in The Netherlands these days, form the solid basis required for any activity aiming at human reproduction.

Key-words: cryopreservation; human semen; spermatozoa; semen bank; safety; artificial insemination; donor