

# LeucoScreen

Test auf Leukozyten im Ejakulat

**Bestellnr.: 3090**

- für 20 Tagesansätze mit bis zu je 10 Tests auf Leukozyten im Ejakulat
  - CE-gekennzeichnet



## Inhalt:

1 Flasche mit 20 ml LeucoScreen

Färbemittel (Reagenz 1)

1 Flasche mit 1 ml Wasserstoffperoxid 30% (Reagenz 2)

## Lagerung:

Bei Raumtemperatur zwischen 4°C und 25°C lagern

## Haltbarkeit:

12 Monate ab Herstellungsdatum

FertiKult Gück GmbH  
Zietenstraße 25a  
10783 Berlin

Tel. 030 - 21 47 37 38  
Fax 030 - 21 47 37 39

[office@fertikult.de](mailto:office@fertikult.de)  
[www.fertikult.de](http://www.fertikult.de)



## **Anwendungsbereich:**

Fast jede Samenprobe enthält neben Spermatozoen auch andere Zellen. Teilweise handelt es sich um Polygonalzellen des Genitaltraktes, am häufigsten treten jedoch kernhaltige Rundzellen auf. Rundzellen sind entweder spermatogenetische Vorläuferzellen (Spermatiden, Spermatozyten, Spermatogonien) oder aber weiße Blutzellen. Bei den weißen Blutzellen handelt es sich in der Regel um neutrophile polymorphe Leukozyten, deren Granula das Enzym Peroxidase enthalten. Exzessives Vorkommen dieser Zellen (Leukozytospermie) kann eine Samenleiterinfektion anzeigen.

Die Leukozytospermie kann auch mit einer Störung des Samenprofils einschließlich der Verminderung des Spermavolumens, der Spermienkonzentration und der Spermienbeweglichkeit einhergehen und einen Verlust der Spermienfunktion als Folge oxidativen Stresses oder der Sekretion zytotoxischer Zytokine anzeigen. Es ist schwierig, einen Grenzwert der Leukozytenkonzentration anzugeben, ab dem die Fruchtbarkeit gestört ist. Der Einfluss dieser Zellen hängt von der Stelle im Reproduktionskanal ab, an der die Leukozyten in das Sperma gelangen, vom Typ der Leukozyten und deren Aktivierungsgrad.

Allgemein gilt, dass ein normales Ejakulat höchstens  $5 \times 10^6$  Rundzellen pro ml enthalten sollte, wobei die Zahl der Leukozyten den Wert von  $1 \times 10^6$  pro ml nicht überschreiten soll. Wenn die Samenflüssigkeit mehr als  $1 \times 10^6$  weiße Blutkörperchen pro ml enthält, muss die Probe mikrobiologisch auf eine Drüseninfektion untersucht werden.

Hinweis: Das Fehlen von Leukozyten schließt die Möglichkeit einer Drüseninfektion nicht aus.

## **Gebrauchsanleitung:**

Weitere benötigte Materialien:

- Objektträger
- Deckgläschen
- Pipetten

Testprinzip:

Die Granula in den neutrophilen polymorphen Leukozyten enthalten Peroxidase, die zusammen mit dem Wasserstoffperoxid Wasser und freie Sauerstoffionen bildet. Die Sauerstoffionen oxidieren das Benzidin, das sich und damit auch die Zellen braun färbt. Reagenz I enthält weiterhin eine rote Kontrastlösung, um die peroxidasepositiven Rundzellen von den peroxidasenegativen Rundzellen zu differenzieren.

Testempfindlichkeit:

Mit dem LeucoScreen Test werden nur peroxidasepositive Leukozyten angefärbt, andere weiße Blutzellen (z.B. Lymphozyten oder Monozyten) können nicht nachgewiesen werden.

In einer vergleichenden Studie zwischen der Peroxidase-färbung und einem immunhistologischen Test ermittelten Politch et al. (1993) eine Empfindlichkeit und Spezifität der Färbemethode von 90%. Der untere Grenzwert lag bei  $1 \times 10^6$  Leukozyten pro ml (Peroxidasefärbung) bzw. bei  $2 \times 10^6$  Leukozyten pro ml (immunohistologischer Test).

Trotzdem können auch geringere Mengen an Leukozyten detektiert werden, da sich alle Peroxidase-positiven Zellen braun färben. Je mehr Mikroskopfelder ausgezählt werden, desto geringer ist die Nachweisgrenze.



Durchführung (Endzt, 1972):

1. Geben Sie 30µl Reagenz 2 (ätzend, enthält Wasserstoffperoxid) zu 1 ml Reagenz 1 (giftig, enthält Benzidin, Cyanosin und Methanol). Diese Arbeitslösung ist einen Tag lang stabil.
2. Mischen Sie einen Tropfen (10 µl) Ejakulat und einen Tropfen (10 µl) Arbeitslösung auf einem Objektträger mit der Kante eines Deckgläschens sorgfältig mindestens 1 Minute.
3. Decken Sie die Mischung ca. 2 Minuten nach Zugabe der Arbeitslösung zum Ejakulat mit dem Deckgläschen ab und vermeiden dabei das Einschließen von Luftbläschen. Eine Bildung kleiner Luftbläschen ist allerdings Teil der chemischen Reaktion zwischen Peroxidase und Wasserstoffperoxid. Mit zunehmender Konzentration an peroxidasepositiven Zellen steigt die Anzahl der sich bildenden Luftbläschen.
4. Mikroskopieren Sie die Probe nach 2 Minuten bei einer 400-fachen Vergrößerung und zählen Sie mindestens 20 Mikroskopfelder aus.

Anmerkung:

Die Bildung eines Niederschlages in Reagenz 1 ist normal. Das Sediment kann mit Hilfe eines Papierfilters leicht entfernt werden.

Ergebnisbewertung:

Gelbbraun gefärbte Zellen sind peroxidasepositive Zellen: neutrophile polymorphe Leukozyten. Alle anderen Zellen sind rosa gefärbt.

Sicherheitshinweise/Vorsichtsmaßnahmen:

Alle humanen organischen Substanzen sollten als potentiell infektiös betrachtet werden. Behandeln Sie alle Proben so, als ob sie HIV oder Hepatitis übertragen könnten. Tragen Sie immer Sicherheitskleidung, wenn Sie mit Proben und Reagenzien arbeiten (Handschuhe, Kittel, Augen-/Gesichtsschutz).

Reagenz 1 enthält Benzidin, Cyanosin und Methanol. Giftig beim Einatmen, Hautkontakt oder Verschlucken. Gefahr irreversibler Schäden. Kontaminierte Kleidung sofort ausziehen. Schutzkleidung tragen. Im Falle eines Unfalls sofort Arzt aufsuchen.

Reagenz 2 enthält H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Wasserstoffperoxid). Korrosiv, verursacht Verätzungen. Nach Hautkontakt sofort mit Wasser und Seife waschen. Augen- und Gesichtsschutz tragen.



## Ermittlung der Konzentration weißer Blutzellen

### ***Bekannte Konzentration an Spermatozoen:***

Zählen Sie in mindestens 20 Mikroskopfeldern die weißen Blutzellen (braun gefärbte Leukozyten) und die Spermatozoen. Die Konzentration der weißen Blutzellen wird anhand folgender Formel berechnet:

(Anzahl weißer Blutzellen / Anzahl Spermatozoen) x Spermienkonzentration (Mio./ml) Diese Methode ist nur für Proben geeignet, die Spermien enthalten (möglichst mehr als 10 Mio./ml).

### ***Unbekannte Konzentration an Spermatozoen:***

In diesem Fall wird die Konzentration der weißen Blutzellen durch Multiplikation mit einem Faktor ermittelt, der sich aus der Höhe des Abstands zwischen dem Objektträger und dem Deckglas (bzw. der Tiefe der Samenprobe) ergibt.

Der Durchmesser eines Mikroskopfeldes kann mit einem Mikrometer gemessen werden. Der Flächeninhalt  $s$  entspricht dem Quadrat des Radius  $r$  multipliziert mit  $\pi$  ( $s = \pi r^2$ ).

Bsp.: Mikroskopfelddurchmesser = 250  $\mu\text{m}$   $\rightarrow$  Radius = 125  $\mu\text{m}$   $\rightarrow$  Mikroskopfeldfläche  $s = 49086 \mu\text{m}^2$

Die Höhe zwischen dem Objektträger und dem Deckglas kann mit folgender Formel berechnet werden:

Höhe [ $\mu\text{m}$ ] = Volumen [ $\mu\text{l}$ ] / (Länge [mm] x Breite des Deckglases [mm])

**Bsp.:** Volumen der Probe = 20  $\mu\text{l}$ .

Deckglas = 24 x 40 mm  $\rightarrow$  Höhe = 0,0208

mm = 20,8  $\mu\text{m}$

Der Faktor, mit dem die Konzentration der weißen Blutzellen multipliziert werden muss, errechnet sich aus diesen Größen wie folgt:

Faktor = 1 000 000 / (Mikroskopfeldfläche x Höhe)

Bsp.: Faktor = 1 000 000  $\mu\text{m}^3$  / (49086  $\mu\text{m}^2$  x 20,8  $\mu\text{m}$ ) = 0,98

Wenn beispielsweise in einem Mikroskopfeld 5 weiße Blutzellen gezählt werden, ergibt sich mit diesem Faktor eine Konzentration von 4,9 Millionen weißer Blutzellen pro ml.

