

Spermac Stain

Färbetest zur Spermienmorphologie

- 4 x 50ml für 200 Anwendungen zur Untersuchung der Spermienmorphologie, **In-Vitro**-Diagnostikkit
 - CE-gekennzeichnet

Bestellnr.: 3070

- 4 x 250ml für 1000 Anwendungen zur Untersuchung der Spermienmorphologie, **In-Vitro**-Diagnostikkit
 - CE-gekennzeichnet

Bestellnr.: 3071



Inhalt:

- 50 oder 250 ml **Färbelösung A** (rot)
- 50 oder 250 ml **Färbelösung B** (blassgrün)
- 50 oder 250 ml **Färbelösung C** (dunkelgrün)
- 50 oder 250 ml **Fixierlösung**

Lagerung:

Bei Raumtemperatur zwischen 15°C und 25°C lagern. Falls sich Bodensatz bildet, Farbregenzien filtern.

Haltbarkeit:

Ungeöffnet 36 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
www.fertikult.de



Anwendungsbereich:

Die Beurteilung der Spermienmorphologie ist ein Standardverfahren bei der Samenanalyse. Die SpermacStain Färbetechnik ist einfach und für eine detaillierte Untersuchung der Morphologie aller Teile des Spermio des Spermatozoons sehr gut geeignet. Die angefärbten Zellen werden direkt unter dem Mikroskop bei einer 1000-fachen Vergrößerung beurteilt. Die Kriterien zur Klassifikation der Spermien anhand ihrer Morphologie finden Sie im WHO-Laborhandbuch (Springer, 5. Aufl., 2012, Kap. 2.13). Generell ist es einfacher, Kriterien für abnormale Zellen zu definieren, als ein normales Spermatozoon zu erkennen. Bei der Beurteilung der Spermienmorphologie kann es daher ratsam sein, alle offensichtlich abnormalen Zellen zu identifizieren und alle übrigen Zellen als normal einzustufen.

Gebrauchsanleitung:

Vorbereitung:

Füllen Sie die Reagenzien in Coplingefäße. Achten Sie darauf, dass die Füllhöhe die Färbefläche bedeckt. Befüllen Sie das Fixiergefäß erst, wenn die Objektträger bereits präpariert wurden, getrocknet sind und die Fläche zur Färbung vorbereitet wurde. Befüllen Sie ein fünftes Coplingefäß oder einen anderen Behälter, der einen Objektträger aufnehmen kann, mit Leitungswasser (zum Waschen der Objektträger zwischen den Färbegängen). Wenn das Leitungswasser zu alkalisch ist ($\text{pH} > 7$), destilliertes Wasser zum Waschen verwenden. Die Objektträger sollten vor dem Gebrauch gereinigt, mit Alkohol gewaschen und getrocknet werden.



Durchführung:

1. Einen dünnen Federstrich ausgestrichenes frisches, unverdünntes Sperma an der Luft bei 37°C auf einer Wärmeplatte trocknen lassen.
Hinweis:
Keinen Ausstrich in der Nähe der geöffneten Flasche der Fixierlösung durchführen, da der Dampf der Fixierlösung (sogar in sehr geringen Mengen) mit der Färbung interferiert.
2. Die Fixierung des Ausstrichs erfolgt durch Eintauchen des Objektträgers im Coplingefäß mit Fixierlösung (toxisch, krebserregend, enthält Formaldehyd) für mindestens 5 Minuten. Längere Fixierzeiten sind möglich, aber nicht nötig.
3. Entfernen Sie den Objektträger aus dem Fixierbad, stellen Sie ihn kurz auf Löschpapier, um überschüssiges Fixierlösung zu entfernen. Berühren Sie die Probe nicht mit dem Papier.
4. Waschen Sie den Objektträger gründlich durch 7-maliges Eintauchen in Leitungswasser oder destil. Wasser. Wenn der Behälter mehr als 5 zu färbende Objektträger enthält, stellen Sie sicher, dass der Waschbehälter groß genug ist, die Fixierlösung abzuwaschen. Wenn der Waschbehälter kleiner ist (z.B. Coplingefäß) wiederholen Sie die Waschprozedur mit frischem Wasser. Entfernen Sie überschüssiges Wasser mit saugendem Papier.
5. Färben Sie die Probe 1 Minute in Färbelösung A. Die Probe 7 mal in die Färbelösung langsam eintauchen (etwa - ein Dip pro Sekunde), um sicherzustellen, dass die gesamte Probe mit Färbelösung in Kontakt kommt. Lassen Sie die Probe für den Rest der Färbezeit in der Färbelösung. Waschen Sie die Probe wie oben durch 7maliges Eintauchen in frisches Wasser. Entfernen Sie überschüssiges Wasser mit saugendem Papier.
6. Wiederholen Sie den Waschvorgang in frischem Wasser. Dieser zweite Waschschrift nach der Färbung in Lösung A ist sehr wichtig. Entfernen Sie überschüssiges Wasser mit saugendem Papier.
7. Färben Sie 1 Minute in Färbelösung B. Tauchen Sie die Probe 7 mal langsam ein und stellen Sie sicher, dass die Probe vollständig Kontakt mit der Färbelösung hat. Waschen Sie wie oben beschrieben mit frischem Wasser.
8. Färben Sie 1 Minute in Färbelösung C. Tauchen Sie die Probe wieder 7 mal in die Färbelösung und waschen Sie diese wie oben beschrieben in frischem Wasser.
9. Lassen Sie den Ausstrich an der Luft trocknen.
10. Werten Sie unter einem Lichtmikroskop (Objektiv 100x) mit Ölimmersion die Anfärbung aus: Das Akrosom ist dunkelgrün gefärbt, der Zellkern rot, die Äquatorialregion erscheint blassgrün, Mittelstück und Schwanz sind grün gefärbt.



Ergebnisbewertung:

- Zählen Sie mindestens 100 (besser 200) Spermien aus und stufen sie als normal oder abnormal ein, vermerken Sie die häufigsten Defekte.
- Beziehen Sie nur eindeutig zu bestimmende Spermienzellen in die Auswertung ein.
- Die Kriterien zur Einstufung der Zellen als normal oder abnormal richten sich nach dem im Labor verwendeten Klassifikationssystem.
- Entsprechend den WHO-Kriterien ist eine Probe als normal einzustufen, wenn mindestens 30% der Spermien normale Formen aufweisen.
- Nach den Tygerberg (oder strikten) Kriterien nimmt die Befruchtungsrate pro IVF-Zyklus deutlich ab, wenn der Anteil normaler Spermien unter 15% liegt.

Lagerung der Objektträger:

Werden die Objektträger gelagert, verblasst die Färbung unter Lagermedium (innerhalb von Wochen). Daher lagern Sie die Objektträger nicht, wenn Sie darauf rückverweisen möchten. Entfernen Sie das Immersionsöl, das ebenfalls die Färbung verblassen lässt. Empfehlenswert ist es daher, wenn nötig, Duplikate der Objektträger anzufertigen oder Fotos oder Videodokumentationen zu erstellen.

Sicherheitshinweise/Vorsichtsmaßnahmen:

- Alle Samenproben 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).
- Die Fixierlösung enthält Formaldehyd: toxisch bei Inhalation, Hautkontakt oder Verschlucken. Kann Irritationen der Schleimhäute verursachen, krebserregend. Risiko irreversibler Schäden. Kann bei Hautkontakt Allergien auslösen.
- Alle anderen Inhaltsstoffe sind nicht als toxisch eingestuft. Die Sicherheitsdatenblätter erhalten Sie über die FertiPro Homepage.

Hinweise zur Benutzung:

- Proteinreiche oder gelatinöse Proben müssen ebenso wie gefrorene Proben vor dem Ausstrich mit 3% Natriumcitrat 1:1 verdünnt werden.
- Ein gefärbter Objektträger sollte transparent sein mit nur einem Hauch von grün. Wenn der Objektträger dunkelgrün ist, wurde der Objektträger den Dämpfen der Fixierlösung ausgesetzt vor der eigentlichen Fixierung.
- Für einen Transport vor der Färbung können die Objektträger präpariert, fixiert, gewaschen und getrocknet werden. Schützen Sie die Objektträger vor mechanischem Abrieb während des Transportes. Wenn die Färbung beginnen soll, starten Sie bei der Fixierung (Schritt 2), das bedeutet, die Objektträger erhalten eine doppelte Fixierung. Dies ist nötig, da die Fixierlösung Puffer enthält, welche die anschließende Färbung richtig erfolgen lassen.

