

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b> .....	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Gewinnung und Untersuchung des menschlichen Ejakulates</b> .....	<b>3</b>
2.A	Standardverfahren .....	3
2.1	Gewinnung und Transport der Ejakulatprobe .....	3
2.2	Sicherheitsvorkehrungen beim Umgang mit Proben ..	5
2.3	Erste makroskopische Untersuchung .....	5
2.3.1	Liquefizierung (Verflüssigung) .....	5
2.3.2	Aussehen .....	6
2.3.3	Volumen .....	6
2.3.4	Konsistenz .....	6
2.3.5	pH-Wert .....	7
2.4	Erste mikroskopische Untersuchung .....	7
2.4.1	Aufbereitung zur routinemäßigen Samenanalyse .....	7
2.4.2	Klassifizierung der Motilität .....	8
2.4.3	Zelluläre Elemente außer Spermien .....	9
2.4.4	Agglutination .....	11
2.5	Weitere mikroskopische Untersuchungen .....	12
2.5.1	Lebensfähigkeit der Spermien .....	12
2.5.1.1	Vitalfärbung .....	12
2.5.1.2	Hypoosmotischer Schwelltest (HOS-Test) .....	12
2.5.2	Zählung der Spermien .....	13
2.5.3	Morphologische Beurteilung der Spermien .....	15
2.5.3.1	Morphologische Klassifizierung menschlicher Spermatozoen .....	15
2.5.3.2	Durchführung der Morphologieanalyse .....	20
2.5.3.3	Spezifische zu Infertilität führende Spermiendefekte .....	20

2.5.4	Färbemethoden für menschliche Spermien .....	20
2.5.5	Testung auf membrangebundene Spermienantikörper .....	21
2.5.5.1	Immunobead-Test .....	22
2.5.5.2	MAR-Test .....	23
2.B	Fakultative Tests .....	23
2.6	Ejakulatkultur .....	24
2.7	Biochemische Analyse .....	24
2.7.1	Seminalplasma .....	24
2.7.1.1	Sekretorische Kapazität der Prostata .....	25
2.7.1.2	Sekretorische Kapazität der Samenblasen .....	25
2.7.1.3	Sekretorische Kapazität des Nebenhodens .....	25
2.8	Unreife Keimzellen .....	27
2.C	Tests für Forschungszwecke .....	27
2.9	Spermien-Funktionstests .....	27
2.9.1	Spermatozoen .....	27
2.9.2	Hamster-Ovum-Penetrations-Test (HOP-Test) .....	27
2.9.3	Hemi-Zona-Assay .....	28
2.9.4	Beurteilung der Akrosomreaktion .....	29
2.10	Computer-assistierte Spermienanalyse (CASA) .....	29
2.10.1	Einleitung .....	29
2.10.2	Durch CASA ermittelte Meßgrößen der Spermienaktivität .....	30
<b>3</b>	<b>Spermien-Mukus-Interaktion .....</b>	<b>33</b>
3.1	Einleitung .....	33
3.2	Gewinnung und Konservierung des Zervikalsekretes .....	37
3.2.1	Gewinnung .....	37
3.2.2	Lagerung und Konservierung .....	37
3.3	Bewertung des Zervikalsekretes .....	38
3.3.1	Volumen .....	38
3.3.2	Konsistenz .....	38
3.3.3	Farnkrautbildung .....	39
3.3.4	Spinnbarkeit .....	39
3.3.5	Zelluläre Bestandteile .....	39
3.3.6	pH .....	40

Inhaltsverzeichnis	IX
3.4 Spermien-Mukus-Interaktion	40
3.4.1 In vivo-Test (Postkoital-Test)	41
3.4.1.1 Zeitplan	41
3.4.1.2 Durchführung des Postkoital-Testes	41
3.4.1.3 Vaginale Probe	41
3.4.1.4 Zervikalsekretprobe	41
3.4.1.5 Beurteilung	42
3.4.2 In vitro-Untersuchungen	43
3.4.2.1 Vereinfachter Objektträger-Test	43
3.4.2.2 Interpretation	44
3.4.2.3 Spermien-Zervikal-Mukus-Kontakt-Test (SZMK- bzw. SCMC-Test)	45
3.4.2.4 Interpretation	45
3.4.2.5 Kapillar-Test (Kremer-Test)	46
<b>4 Präparationstechniken für Spermien</b>	<b>47</b>
<b>5 Qualitätskontrolle bei der Ejakulatanalyse</b>	<b>49</b>
5.1 Einführung	49
5.2 Interne Qualitätssicherung	50
5.3 Methodik	50
<b>Anhang I.A Normalwerte der Ejakulatparameter</b>	<b>51</b>
<b>Anhang I.B Nomenklatur einiger Ejakulatparameter</b>	<b>53</b>
Literatur	53
<b>Anhang II Sicherheitsrichtlinien für das Andrologie-Labor</b>	<b>55</b>
<b>Anhang III Methoden zum Leukozyten-Nachweis</b>	<b>57</b>
III.1 Peroxidase-Färbung mit Ortho-Toluidin-Blau	57
III.1.1 Reagenzien	57
III.1.2 Durchführung	58
III.2 Immunozytochemie	58
III.2.1 Reagenzien	58
III.2.2 Zellpräparation	59

<b>Anhang IV Supravitalfärbungen</b> .....	61
IV.1 Eosin allein .....	61
IV.1.1 Reagenzien .....	61
IV.1.2 Durchführung .....	61
IV.2 Eosin-Nigrosin (modifizierte Blom-Technik) .....	61
IV.2.1 Reagenzien .....	61
IV.2.2 Durchführung .....	62
<b>Anhang V Differenzierte Spermien-Morphologiekontrolle:</b> <b>Feucht-Präparate</b> .....	63
V.1 Reagenzien .....	63
V.2 Durchführung .....	64
<b>Anhang VI Giemsa-Färbung für Spermatozoen</b> <b>und andere Zellkerne</b> .....	65
VI.1 Reagenzien .....	65
VI.2 Durchführung .....	65
<b>Anhang VII Für Spermien</b> <b>modifizierte Papanicolaou-Färbung</b> .....	67
VII.1 Vorbereitung der Proben .....	67
VII.2 Durchführung der Färbung .....	67
VII.3 Herstellung der Farblösungen .....	68
VII.3.1 Bestandteile von EA-36, zu EA-50 äquivalent. ....	68
VII.3.1.1 Durchführung .....	69
VII.3.2 Bestandteile von Orange G6 .....	69
VII.3.2.1 Durchführung .....	69
VII.3.3 Bestandteile von Hämatoxylin nach Harris ohne Essigsäure .....	70
VII.3.3.1 Durchführung für die Herstellung der Färbelösung .....	70
VII.3.4 Bestandteile der Scotts Lösung .....	70
VII.3.5 Bestandteile von saurer Äthanol-Lösung .....	71
<b>Anhang VIII Bryan-Leishman-Färbung</b> <b>zur Differenzierung der Spermienmorphologie</b> .....	73
VIII.1 Besondere Überlegungen .....	74

Inhaltsverzeichnis	XI
VIII.2 Herstellung der Lösungen	74
VIII.2.1 Bryans Reagenz (modifiziert)	74
VIII.2.2 Leishman-Farblösung für Blut: Stammlösung	74
VIII.2.3 Leishman-Farblösung für Blut: Arbeitslösung	75
<b>Anhang IX Shorr-Färbung für morphologische Spermien-Ausstriche</b>	77
IX.1 Herstellung des Ausstriches	77
IX.2 Färbevorschrift	77
IX.3 Reagenzien	77
<b>Anhang X Befundbogen für Ejakulatuntersuchungen</b>	79
<b>Anhang XI Immunobead-Test</b>	81
XI.1 Reagenzien	81
XI.2 Durchführung	82
XI.3 Indirekter Immunobead-Test	83
XI.4 Kontrollen	83
<b>Anhang XII Gemischter Antiglobulin-Test (Mixed Antiglobulin Test, MAR-Test)</b>	85
<b>Anhang XIII Bestimmung von Zink im Seminalplasma</b>	87
XIII.1 Hintergrund	87
XIII.2 Haltbarkeit der Reagenzien	87
XIII.3 Herstellung und Haltbarkeit der Chromogenlösung	87
XIII.4 Vorbereitung der Probe	87
XIII.5 Zinkstandard	88
XIII.6 Durchführung der Assays	88
XIII.7 Berechnung	88
XIII.8 Normbereich	88
<b>Anhang XIV Bestimmung von Zitronensäure im Seminalplasma</b>	89
XIV.1 Reagenzien	89
XIV.1.1 Boehringer Kit Nr. 139076 (Ultraviolettmethode)	89
XIV.1.2 TRA-Puffer (pH 7,7)	89
XIV.2 Durchführung	89
XIV.2.1 Vorbereitung des Seminalplasmas	89
XIV.2.2 Extraktion	90
XIV.2.3 Bestimmung	90

XIV.3	Berechnung .....	90
XIV.4	Normbereich .....	90
<b>Anhang XV Bestimmung der sauren Phosphatase im Seminalplasma .....</b>		<b>91</b>
XV.1	Reagenzien .....	91
XV.2	Durchführung .....	91
XV.3	Berechnung .....	92
XV.4	Normalbereich .....	93
<b>Anhang XVI Bestimmung von Fruktose im menschlichen Seminalplasma .....</b>		<b>95</b>
XVI.1	Reagenzien .....	95
XVI.2	Vorbereitung des Seminalplasmas .....	95
XVI.3	Durchführung .....	96
XVI.4	Berechnung .....	96
XVI.5	Normbereich .....	96
<b>Anhang XVII Bestimmung der neutralen <math>\alpha</math>-Glukosidase im Seminalplasma .....</b>		<b>97</b>
XVII.1	Reagenzien .....	97
XVII.2	Durchführung .....	98
XVII.3	Berechnung .....	99
XVII.4	Normalwerte .....	99
	Literatur .....	99
<b>Anhang XVIII Hypoosmotischer Spermien-Schwell-Test ...</b>		<b>101</b>
XVIII.1	Schwell-Lösung .....	101
XVIII.2	Durchführung .....	101
<b>Anhang XIX Protokolle für den Hamster-Ovum-Penetrations-Test .....</b>		<b>103</b>
XIX.1	Standard-Protokoll .....	103
XIX.1.1	Durchführung .....	103
XIX.2	Protokoll mit Ca-Ionophoren (A23187) .....	106
XIX.3	Qualitätskontrolle .....	107
	Literatur .....	107

<b>Anhang XX Computer-Assistierte Spermien-Analyse (CASA)</b>	109
XX.1 Vorbereitung des Samens für die Untersuchung mit einem CASA-Gerät	109
XX.2 Videoaufzeichnung des Spermas für computer-assistierte Spermien-Analyse	110
XX.3 Der Einsatz von CASA-Geräten	111
XX.4 CASA-Terminologie	112
XX.5 Statistische Auswertung	113
Literatur	114
<b>Anhang XXI Patientenempfehlung für die Vorbereitung eines Postkoital-Tests</b>	115
<b>Anhang XXII Sperma-Mukus-Interaktion: der Kapillar-Test</b>	117
XXII.1 Material	117
XXII.2 Methode	117
XXII.3 Beurteilung des Tests	118
Literatur	119
<b>Anhang XXIII Standardverfahren für die Zell- und Spermienzählung im Zervikalsekret</b>	121
XXIII.1 Waschung	121
XXIII.2 Zubereitung des Trägerfettes	122
XXIII.3 Die Zählung von Spermien oder anderen Zellen in dem Präparat	122
Literatur	123
<b>Anhang XXIV Präparationstechniken für Spermatozoen</b>	125
Verfahren	125
XXIV.1 Swim-up	125
XXIV.2 Diskontinuierliche Percoll-Gradienten	126
XXIV.3 Präparation von qualitativ schlechten Ejakulatproben	127
Literatur	127
<b>Anhang XXV Grundausrüstung eines Andrologie-Labors</b>	129
<b>Literatur</b>	131