

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Gewinnung und Untersuchung des menschlichen Ejakulates	3
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
3	Spermien-Mukus-Interaktion	33
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

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 Objekträger-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
4	Präparationstechniken für Spermien	47
5	Qualitätskontrolle bei der Ejakulatanalyse	49
5.1	Einführung	49
5.2	Interne Qualitätssicherung	50
5.3	Methodik	50
Anhang I.A Normalwerte der Ejakulatparameter		51
Anhang I.B Nomenklatur einiger Ejakulatparameter		53
Literatur		53
Anhang II Sicherheitsrichtlinien für das Andrologie-Labor		55
Anhang III Methoden zum Leukozyten-Nachweis		57
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

Anhang IV Supravitalfärbungen	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
Anhang V Differenzierte Spermien-Morphologianalyse: Feucht-Präparate	63
V.1 Reagenzien	63
V.2 Durchführung	64
Anhang VI Giemsa-Färbung für Spermatozoen und andere Zellkerne	65
VI.1 Reagenzien	65
VI.2 Durchführung	65
Anhang VII Für Spermien modifizierte Papanicolaou-Färbung	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
Anhang VIII Bryan-Leishman-Färbung zur Differenzierung der Spermienmorphologie	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
Anhang IX Shorr-Färbung für morphologische Spermien-Ausstriche	77
IX.1 Herstellung des Ausstriches	77
IX.2 Färbevorschrift	77
IX.3 Reagenzien	77
Anhang X Befundbogen für Ejakulatuntersuchungen	79
Anhang XI Immunobead-Test.....	81
XI.1 Reagenzien	81
XI.2 Durchführung	82
XI.3 Indirekter Immunobead-Test	83
XI.4 Kontrollen	83
Anhang XII Gemischter Antiglobulin-Test (Mixed Antiglobulin Test, MAR-Test).....	85
Anhang XIII Bestimmung von Zink im Seminalplasma.....	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
Anhang XIV Bestimmung von Zitronensäure im Seminalplasma	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
Anhang XV Bestimmung der sauren Phosphatase im Seminalplasma		91
XV.1	Reagenzien	91
XV.2	Durchführung	91
XV.3	Berechnung	92
XV.4	Normalbereich	93
Anhang XVI Bestimmung von Fruktose im menschlichen Seminalplasma		95
XVI.1	Reagenzien	95
XVI.2	Vorbereitung des Seminalplasmas	95
XVI.3	Durchführung	96
XVI.4	Berechnung	96
XVI.5	Normbereich	96
Anhang XVII Bestimmung der neutralen α-Glukosidase im Seminalplasma		97
XVII.1	Reagenzien	97
XVII.2	Durchführung	98
XVII.3	Berechnung	99
XVII.4	Normalwerte	99
	Literatur	99
Anhang XVIII Hypoosmotischer Spermien-Schwell-Test ..		101
XVIII.1	Schwell-Lösung	101
XVIII.2	Durchführung	101
Anhang XIX Protokolle für den Hamster-Ovum-Penetrations-Test ..		103
XIX.1	Standard-Protokoll	103
XIX.1.1	Durchführung	103
XIX.2	Protokoll mit Ca-Ionophoren (A23187)	106
XIX.3	Qualitätskontrolle	107
	Literatur	107

Anhang XX Computer-Assistierte Spermien-Analyse (CASA)	109
XX.1 Vorbereitung des Samens für die Untersuchung mit einem CASA-Gerät	109
XX.2 Videoaufzeichnung des Spermias 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
Anhang XXI Patientenempfehlung für die Vorbereitung eines Postkoital-Tests	115
Anhang XXII Sperma-Mukus-Interaktion: der Kapillar-Test	117
XXII.1 Material	117
XXII.2 Methode	117
XXII.3 Beurteilung des Tests	118
Literatur	119
Anhang XXIII Standardverfahren für die Zell- und Spermienzählung im Zervikalsekret	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
Anhang XXIV Präparationstechniken für Spermatozoen	125
Verfahren	125
XXIV.1 Swim-up	125
XXIV.2 Diskontinuierliche Percoll-Gradienten	126
XXIV.3 Präparation von qualitativ schlechten Ejakulatproben	127
Literatur	127
Anhang XXV Grundausstattung eines Andrologie-Labors	129
Literatur	131