Protocole Lames morphologie

LAMES PRECOLOREES POUR ANALYSER LA MORPHOLOGIE DU SPERME

Principe :

Les lames pré-colorées pour la morphologie combinent des lames de microscope conventionnelles et la coloration isosmotique SpermBlue dans un dispositif prêt à l'emploi pour l'évaluation de la morphologie des échantillons de sperme. Ces lames pré-colorées sont conçues pour être utilisées avec des systèmes automatisés tels que Sperm Class Analyzer® (SCA®) ou SCA SCOPE.

Caractéristiques du produit :

1 boîte: 50 lames / 50 tests

Matériel requis :

Eau déminéralisée

Colle de montage

Pipette et pointes

Couvertures de 0,13 à 0,16 d'épaisseur, préférablement de 24x50 / 24x60mm

Stockage et stabilité :

Les lames doivent être conservées à l'abri de la lumière et à température ambiante (15 - 25 ° C). Elles peuvent rester stables pendant au moins un an depuis la date de fabrication.

Préparation de l'échantillon / Procédure de coloration :

1. Faites un simple lavage de sperme avec du PBS.

Cette étape est recommandée pour éliminer les débris et les brins de mucus du plasma séminal qui pourraient rendre difficile l'analyse automatique des spermatozoïdes. De même, elle permet d'adapter la concentration de spermatozoïdes afin d'optimiser le temps consacré à l'évaluation morphologique :

- Prendre une aliquote d'échantillon de sperme d'environ 400 µl* et ajouter 800 µl de PBS (deux fois le volume aliquoté). Homogénéisez-le.

  **Le volume d'échantillon à utiliser peut varier selon la quantité disponible. Le volume minimum d'échantillon afin d'obtenir du pellet après centrifugation est de 100 µl. Il est important que le volume de PBS soit le double du volume de l'échantillon utilisé. Pour les échantillons Oligospermiques, le frottis peut se faire directement avec le pellet pour obtenir une concentration acceptable.*

- Centrifuger le mélange de sperme et PBS à 300g pendant 10 min.

- Jeter le surnageant.

- Casser le culot (en tapotant doucement le tube avec le doigt) et ajouter le volume requis de PBS pour obtenir une concentration finale de sperme d'environ 50 M de spermatozoïdes / ml. Utilisez la formule :

$$V_{spz\ lavé} = \frac{C_{sperme} \times V_{sperme}}{50}$$

(Où *Csperme* correspond à la concentration initiale de spermatozoïdes dans le sperme (M / mL), *Vsperme* le volume de sperme utilisé pour le lavage (avant d'ajouter le PBS) et *Vspz lavé* le volume de PBS à ajouter après centrifugation).

- Remettre en suspension le culot avec le volume de PBS calculé.

2. Préparer un frottis selon l'OMS 6ème Éd. Ce sont les étapes à suivre :

Pipeter 10 µl d'échantillon de sperme sur le bord de la lame et faire glisser la goutte avec une deuxième lame suivant un angle de 45 ° (voir figure 1).

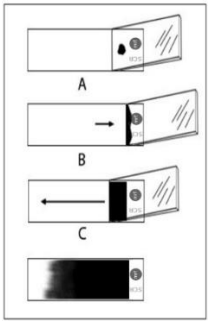

Figure 1 : Préparation du frottis

3. Attendez 20 à 30 secondes à température ambiante.

4. Plonger la lame deux fois dans de l'eau désionisée (1 seconde / immersion).

5. Placer la lame en position verticale et laisser sécher à l'air à température ambiante.

6. Une fois complètement séchée, monter la lame avec Eukitt (ou une colle de montage synthétique équivalente) et une lamelle (voir figure 2). Le montage facilite la mise au point correcte de certaines caractéristiques du sperme (par exemple les vacuoles) qui sont omises à des grossissements élevés du microscope lorsqu'elles ne sont pas montées. Les étapes à suivre pour monter le frottis sont les suivantes :

1. Mettez deux gouttes d'Eukitt sur la lamelle.

2. Ensuite, placez la lame à l'envers sur la lamelle.

3. Appuyez sur la lame pour étendre la colle de montage.

4. Laissez sécher le frottis monté horizontalement, la lamelle étant vers le haut.

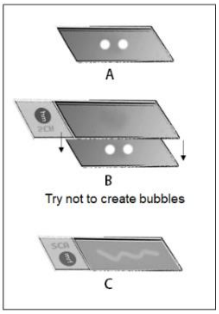

Figure 2 : Montage avec Eukitt

Manufactured by:
Microptic S.L.
Av. Josep Tarradellas, 8, 1º 6ª – 08029 Barcelona (Spain)
Phone: +34 93 419 29 10 Fax +34 93 419 94 26
www.micropticsl.com