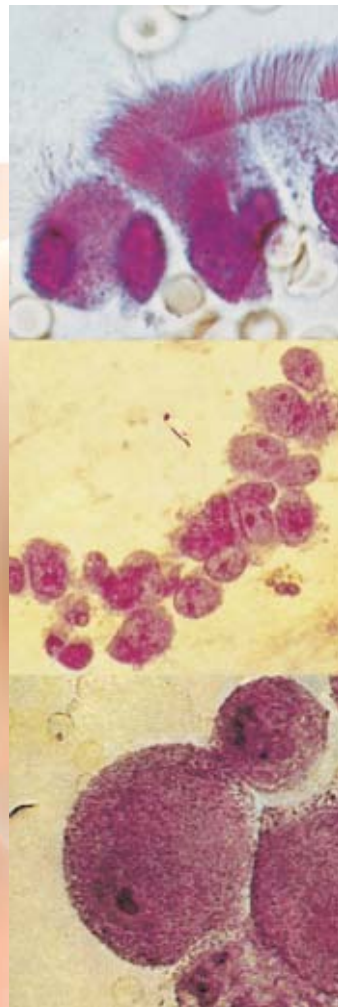




Testsimplets®

Gebrauchsfertige,
farbbeschichtete Objektträger

Ready-to-use, prestained slides



Inhalt/*Contents*

Allgemeine Hinweise und Anwendungsgebiete <i>General information and applications</i>	4
Differentialblutbildfärbung <i>Differential blood count</i>	6
Karzinomzytologie <i>Cancer cytology</i>	14
Urinzytologie <i>Urinary cytology</i>	18
Liquorzytologie <i>Cerebrospinal fluid cytology</i>	20
Zytologie des Nasenabstriches <i>Nasal cytology</i>	24
Spermatozoenfärbung <i>Spermatozoal staining</i>	28

Ablauf der Differentialblutbild-Bestimmung

Procedure for differential blood count

einfach
simple



Kapillarblut
kleinen Blutstropfen auf das Deckglas
überspringen lassen

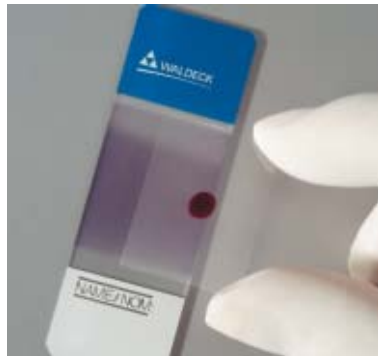
*Capillary blood
take up a small drop of blood with the
cover slip*



Venenblut
direkt auf das Deckglas auftragen

*Venous blood
apply directly to the cover slip*

sauber
clean



Deckglas mit kleinem Blutstropfen
auf das Farbfeld legen

*Place the cover slip with the small drop
of blood on the prestained area of the
slide*

schnell
fast



Schon nach 15 Minuten auswerten

*Ready for evaluation after only
15 minutes*

Testsimplets®

- Gebrauchsfertige, mit standardisierten Farbstoffen beschichtete Objektträger zur rationellen differential-diagnostischen Mikroskopie
- Einfache und saubere Handhabung ohne FärbeprozEDUREN und Blutaussstrichen für das Differentialblutbild
- Vielfach bewährt für Praxis – Labor – Station, insbesondere zur Untersuchung von Einzelproben und kleineren Serien

Anwendungsgebiete

- Routinemäßige Kontrolle des Differentialblutbildes
 - Differenzierung des normalen weißen Blutbildes und seiner reaktiven Veränderungen
 - Darstellung aller normalen Leukozytenformen sowie der Thrombozyten
 - gleichzeitige Erfassung der Retikulozyten
- Karzinomzytologie
- Urinzytologie
- Liquorzytologie
- Zytologie des Nasenabstriches
- Spermatozoenfärbung

Testprinzip

- Verwendung der beiden Farbstoffe Neu-Methylen-Blau-N und Cresyl-Violett-Acetat in chemisch reiner Form
- Konstantes Mischungsverhältnis und gleichmäßiges Auftragen auf Objektträger ergibt Färbung in zuverlässig guter Qualität
- Analoges Reaktionsprinzip wie bei der panchromatischen (panoptischen) Färbung

Testsimplets®

- Ready-to-use slides prestained with standard dyes for time- and cost-saving differential diagnostic microscopy
- Simple and clean procedure for differential blood counts. No blood film preparation or staining procedures needed
- Tried and tested method for office practice, laboratory or hospital ward, particularly suitable for single specimens or small series

Applications

- Routine evaluation of the differential blood count
 - differentiation of the normal WBC count and its reactive changes
 - visualization of all normal leukocyte forms and platelets
 - simultaneous detection of reticulocytes
- Cancer cytology
- Urinary cytology
- Cerebrospinal fluid cytology
- Nasal cytology
- Spermatozoal staining

Test principle

- The stain is composed of the two dyes new methylene blue N and cresyl violet acetate in chemically pure form
- Constant mixing ratio and even distribution ensure reliably good staining quality
- Reaction principle analogous to that of the panchromatic (panoptic) stain

Differentialblutbildfärbung

Differential blood count

Charakteristik

Die einfache und saubere Handhabung sowie die schnelle Färbung mit standardisierten Farbstoffen erlauben einen funktionellen Einsatz von Testsimplets® in Praxis und Klinik. Testsimplets® eignet sich besonders zur Untersuchung von Einzelproben und kleineren Serien, wie sie gerade in der Praxis des niedergelassenen Arztes, aber auch im Labor einer kleinen Klinik anfallen. Darüber hinaus kann man den Befund des Differentialblutbildes mit Testsimplets® innerhalb kurzer Zeit auf der Station oder im Nachtdienst jeder Klinik erhalten. Ebenso kann das Ergebnis des Differentialblutbildes noch während der Konsultation in der Praxis vorliegen.

Klinik

Bei vielen Krankheitsbildern sind Veränderungen an Zahl und Gestalt der Blutzellen charakteristisch. Über Ausmaß und Art dieser Veränderung gibt neben anderen Befunden das Differentialblutbild gute Hinweise. Hieraus ergibt sich die klinische Bedeutung des Differentialblutbildes bei:

- entzündlichen Prozessen (reaktive Verschiebung)
- Verdacht auf allergische Reaktionen (Eosinophilie)
- Verdacht auf Parasitenbefall (Eosinophilie)
- Kontrollen auf Arzneimittelnebenwirkungen (Agranulozytose, Thrombopenie)
- unklaren Lymphknotenschwellungen (z. B. Lymphozytose)
- unklaren generalisierten Blutungen (Thrombopenie)
- Verdacht auf leukämische Erkrankungen (pathologische Linksverschiebung)

Bei der Differentialblutbild-Färbung mit Testsimplets® werden gleichzeitig die Retikulozyten angefärbt. Die Retikulozyten spiegeln im peripheren Blut die Regenerationsfähigkeit der Erythropoese im Knochenmark wider. Sie können damit einen Hinweis auf den Erythrozytenumsatz geben.

Characteristics

The simple and clean handling and the fast staining with standardized dyes make Testsimplets® ideal for use in hospitals and doctors' surgeries. Testsimplets® are especially suitable for examination of single samples and small series such as those that occur particularly in doctors' practices or in the laboratories of small hospitals. In addition, a differential count with Testsimplets® provides rapid results on the ward or during night duty in any hospital. In general practice the doctor can have the result of the differential count available before the end of the consultation.

Clinical aspects

Many diseases are characterised by typical changes in the number and morphology of the blood cells. The differential count, in addition to other tests, provides useful information about the extent and nature of these changes. The differential count is thus clinically relevant in:

- infectious processes (reactive shifts)
- suspected allergic reactions (eosinophilia)
- suspected parasitic infection (eosinophilia)
- checking for drug side-effects (agranulocytosis, thrombocytopenia)
- lymphadenopathy of unknown origin (e.g. lymphocytosis)
- generalised bleeding of unknown origin (thrombocytopenia)
- suspicion of leukaemic diseases (pathological shift to the left)

The differential blood count stain with Testsimplets® also shows up reticulocytes. The reticulocytes in the peripheral blood reflect the regenerative capacity of erythropoiesis in the bone marrow. The reticulocyte count thus provides information about the red cell turnover.

Der Nachweis einer Retikulozytose ist unter anderem wichtig:

- bei Verdacht auf hämolytische Erkrankungen
- zur Therapiekontrolle von Eisen-, Folsäure- oder Vitamin B12-Mangelanämien

Detection of reticulocytosis is important, e.g.

- if a haemolytic disorder is suspected
- for monitoring treatment of iron-, folic acid- or vitamin B12 deficiency anaemia

Durchführung

Ein kleiner Blutstropfen (Kapillar- oder Venenblut) von ca. 3 µl wird auf die Mitte eines Deckglases aufgetragen und auf das Farbfeld des Objektträgers so gelegt, dass sich das Blut gleichmäßig nach allen Seiten verteilt. Mit Hilfe eines Stiftes kann durch Druck auf die Mitte des Deckglases eine gleichmäßige Verteilung der Probe bewirkt werden. Nach 15 Minuten Anfärbezeit kann das Präparat mit Ölimmersion bei 800–1000facher Vergrößerung differenziert werden. Bei Raumtemperatur ist das Präparat mindestens 4 Stunden haltbar.

Kann eine mikroskopische Differenzierung des Präparates erst nach 4–24 Stunden durchgeführt werden, so sollte das Präparat sofort nach dem Anfertigen im Kühlschrank aufbewahrt werden.

Auswertung

Zur Auswertung sucht man im Präparat eine Stelle, an der die Blutzellen in so dünner Schicht liegen, dass sie leicht identifiziert werden können. Es werden 100 Leukozyten ausgezählt, indem man den Bereich der dünnen Schicht mäanderförmig durchfährt.

Während des Mikroskopierens empfiehlt es sich, durch „Spielen“ am Feintrieb des Mikroskopes die Scharfeinstellung in den Leukozyten ständig leicht zu verändern. Besonders in Zweifelsfällen – wie sie bei der Identifizierung von Monozyten, Stabkernigen und Basophilen auftreten können – ist es wichtig, dass man die gesamte Zelle unter Scharfeinstellung einzelner Zellbereiche „durchfährt“.

Procedure

Apply a small drop of capillary or venous blood (about 3 µl) to the middle of a cover slip and place on the pre-stained area of the slide in such a way that the blood spreads evenly in all directions. To obtain even distribution of the sample it can be useful to press gently on the centre of the cover slip with a pencil. Allow 15 minutes for staining and then differentiate the preparation at x800 to x1000 magnification with oil immersion. The preparation remains stable for at least 4 hours at room temperature.

If microscopic differentiation of the preparation cannot be performed until after 4 to 24 hours the preparation should be refrigerated immediately.

Evaluation

For evaluation, select a site where the cells are spread thinly enough to allow easy identification. Count 100 leukocytes, scanning back and forth across the thin layer with the “battlement tracking technique”.

While scanning the slide it is advisable to keep adjusting the focus of the leukocytes by “playing” with the fine adjustment knob of the microscope. In doubtful cases – such as can occur with the identification of monocytes, band neutrophils and basophils – it is particularly important to scan the entire cell bringing individual cell regions into sharp focus.

Charakterisierung der Leukozyten

Nachfolgend werden die beim Gesunden im peripheren Blut auftretenden Leukozytenformen beschrieben:

Neutrophile Granulozyten

Im Zytoplasma erkennt man eine farblose oder zart violett gefärbte, feine Granulation. Die Kerne heben sich durch die leuchtend purpurne Färbung deutlich von dem granulierten Zytoplasma ab.

Stabkernige

Bei den stabkernigen Neutrophilen liegt der Kern stabförmig, d. h. ohne Segmentierung vor.

Segmentkernige

Die Kernform korreliert mit dem Reifegrad und entspricht den bekannten Befunden.

Eosinophile Granulozyten

Charakteristisch sind die Granula. Das Zytoplasma ist vollständig oder nahezu vollständig ausgefüllt mit deutlich abgrenzbaren, leuchtend gelbgrünen bis grünen Granula. Gegenüber den Granula der Basophilen und Neutrophilen sind sie größer, transparent und wirken gequollen. Bei Verwendung von Achromaten herrscht ein grünlicher Farbton vor.

Bei den reifen Formen besteht der Kern häufig aus 2 hellpurpurnen Segmenten und hebt sich so farblich deutlich von den Granula ab.

Basophile Granulozyten

Charakteristisch für die Basophilen sind die unterschiedlich großen, meistens scharf begrenzten Granula, die purpurfarben, dunkelviolett oder orange bis braun gefärbt sind. Die violette Granula zeigen beim „Spielen“ am Feintrieb orangebraune Ringe an ihrer äußeren Begrenzung.

Monozyten

Im Vergleich zu dem gewohnten Bild sind sie deutlich kleiner. Das Zytoplasma wird mehr oder weniger purpur gefärbt. Es erscheint unscharf granuliert, ohne dass einzelne Granula abgrenzbar sind. Bei langen Anfärbezeiten kann es ebenso purpur wie der Kern werden. Die Konturen des Kerns bilden eine scharfe und eindeutig erkennbare Linie, die den Kern deutlich vom Zytoplasma abgrenzt.

Leukocyte characterisation

The leukocyte forms occurring in the peripheral blood of healthy individuals have the following characteristic features:

Neutrophilic granulocytes (neutrophils)

A fine, colourless or faintly violet granulation can be seen in the cytoplasm. The nucleus stains bright purple and thus stands out clearly from the granulated cytoplasm.

Band neutrophils

The nucleus of the band neutrophils is shaped like a band or rod, i.e. without segmentation.

Segmented neutrophils

The shape of the nucleus depends on the degree of maturity of the cell and corresponds to familiar picture.

Eosinophilic granulocytes

The granules are characteristic. The cytoplasm is completely or almost completely filled with clearly defined, bright yellow-green to green granules. They are larger than the granules of the basophils and neutrophils, transparent and appear swollen. If achromates are used a greenish colour prevails.

In the mature forms the nucleus often consists of two light purple segments and is thus clearly distinguishable from the granules on account of its colour.

Basophilic granulocytes

The basophils are characterised by the different-sized, usually sharply delineated granules which stain purple, dark violet or orange to brown. "Playing" with the fine adjustment reveals orange-brown rings at the outer perimeter of the violet granules.

Monocytes

Monocytes appear considerably smaller than on conventional blood films. The cytoplasm stains more or less purple. It appears indistinctly granulated without individual granules being distinguishable. After long staining times it can become just as purple as the nucleus. The contours of the nucleus form a sharp and clearly identifiable line which separates the nucleus distinctly from the cytoplasm.

Lymphozyten

Das Zytoplasma ist mehr oder weniger purpur und enthält keine Granula. Bei den kleinen Lymphozyten bildet es einen ganz schmalen, kaum erkennbaren Saum um den Kern.

Die Kernfärbung ist purpur. Das Chromatin erscheint schollig, an der Kernmembran verstärkt. Häufig erkennt man distinkte Nukleolen. Der Kern ist meistens rund.

Funktionsformen der Lymphozyten (lymphatische Reizformen) können unterschiedlich verformte Kerne besitzen, die den Monozytenkernen sehr ähneln. Hierdurch wird die Beurteilung der lymphatischen Reizformen sehr erschwert.

Lymphocytes

The cytoplasm is more or less purple and contains no granules. In the small lymphocytes it forms a narrow, scarcely perceptible rim around the nucleus.

The nucleus is purple. The chromatin appears clumped, increasingly so at the nuclear membrane. Distinct nucleoli can often be seen. The nucleus is usually round. Functional forms of the lymphocytes (reactive lymphocytes) can have nuclei of different shapes which closely resemble the nuclei of monocytes. This considerably complicates evaluation of the functional lymphocyte forms.

Leukozyten-Frühformen

Im peripheren Blut werden auftretende Frühformen der Leukozyten erkannt, können aber nur schwer differenziert werden.

Early leukocyte forms

Early leukocyte forms occurring in the peripheral blood can be seen but are difficult to differentiate.

Normalwerte der Leukozyten/Normal values for leukocytes

	Erwachsene/Adults		Kinder/Children		Säuglinge/Infants	
Leukozyten/mm ³ Leucocytes/mm ³	4000–9000		8000–12000		9000–15000	
	%	absolut(e)	%	absolut(e)	%	absolut(e)
Neutrophile Neutrophils	55–70	2200–6300	35–70	2800–8400	25–65	2250–9750
Stabkernige Band neutrophils	3–5	120–450	0–10	–1200	0–10	–1500
Segmentkernige Segmented neutrophils	50–70	2000–6300	26–65	2000–7800	22–65	2250–9750
Eosinophile Eosinophils	2–4	80–360	1–5	80–600	1–7	90–1050
Basophile Basophils	0–1	–90	0–1	–120	0–2	–300
Monozyten Monocytes	2–6	80–540	1–6	80–720	7–20	630–3000
Lymphozyten Lymphocytes	25–40	1000–3600	25–50	2000–6000	20–70	1800–10500

Charakterisierung anderer Blutzellen

Thrombozyten

Die Thrombozyten erkennt man als kleine purpurne Plättchen. Sie sind meist als Thrombozytenhaufen zu sehen, können aber auch einzeln vorliegen. Ausgeprägte Thrombopenien können erkannt werden.

Erythrozyten

Die Erythrozyten sind fahl gelbbraun gefärbt und fast alle aufgequollen. Verursacht wird diese Deformierung durch Farbstoffeinflüsse auf die vitale Zelle. **Deshalb ist die Beurteilung der Erythrozytenmorphologie nicht zu empfehlen.**

Eine Abschätzung des Hämoglobingehalts der Erythrozyten ist nicht möglich, Formen ohne Hämoglobinbildung können bei flüchtiger Betrachtung mit Lymphozyten verwechselt werden.

Retikulozyten

Die Retikulozyten sind ebenfalls deformiert. Ihre Färbung entspricht der der Erythrozyten. Die für die Retikulozyten typische Substantia granulo-filamentosa wird mehr oder minder intensiv purpur eingefärbt.

Retikulozytenzählung

Pro Gesichtsfeld werden alle Erythrozyten (also auch die Retikulozyten) gezählt und notiert. Anschließend wird im gleichen Gesichtsfeld die Zahl der Retikulozyten ermittelt. An verschiedenen Stellen des Ausstrichs werden so insgesamt 1000 Erythrozyten ausgezählt und die Retikulozyten in ‰ angegeben.

Antikoagulantien

Als Antikoagulans für Venenblut empfiehlt sich EDTA. EDTA-Blut darf bis zur Verarbeitung nicht länger als 3 Stunden bei Zimmertemperatur gestanden haben (keine Kühschranksaufbewahrung).

Bei Verwendung von Citrat-Blut kann es zu Überfärbungen kommen.

Oxalat und Fluorid sind nicht geeignet, ebenso Heparinat und Blut von Patienten unter Heparintherapie.

Characterisation of other blood cells

Platelets

The platelets appear as small purple discs. They are usually in clumps but can also occur singly. Marked thrombocytopenia can be identified.

Erythrocytes

The erythrocytes stain a pale yellowish brown and are almost always swollen. This deformation is caused by influences of the dye on the vital cell. **Evaluation of erythrocyte morphology is therefore not recommended.**

It is not possible to estimate the haemoglobin content of the erythrocytes. Forms without haemoglobin formation can be confused with lymphocytes on cursory inspection.

Reticulocytes

The reticulocytes are also deformed. They stain the same colour as the erythrocytes. The typical granular and filamentous structures (reticulin) stain a more or less intense purple.

Reticulocyte counting

To determine the reticulocyte count, count all the erythrocytes (including reticulocytes) in a visual field and note down the number. Then count the number of reticulocytes in the same visual field. Repeat this procedure in different areas of the film until a total of 1000 erythrocytes have been counted and express the reticulocyte count in ‰.

Anticoagulants

EDTA is recommended as anticoagulant for venous blood.

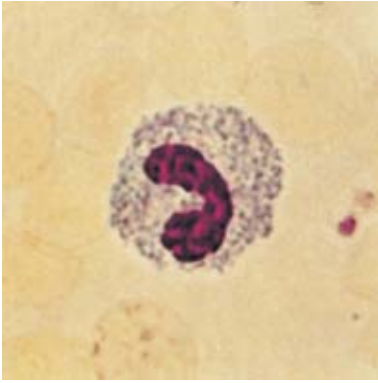
EDTA blood should not have been standing for more than 3 hours at room temperature before it is used (do not refrigerate).

Use of citrated blood can cause overstaining.

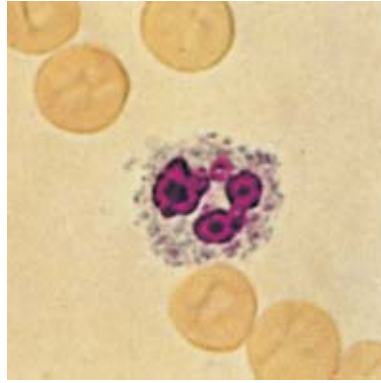
Oxalate and fluoride are unsuitable, likewise heparinate and blood from patients on heparin therapy.

Normale Leukozytenformen des peripheren Blutes

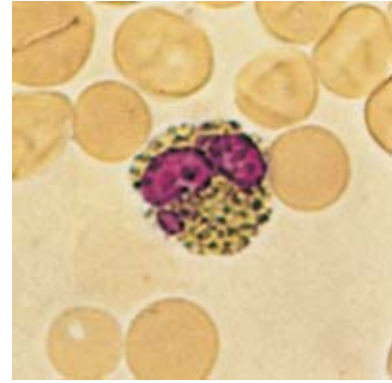
Leukocyte forms normally occurring in peripheral blood



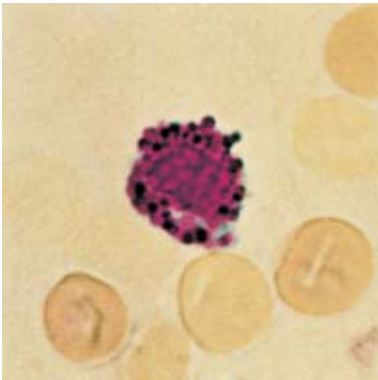
Stabkerniger
Band neutrophil



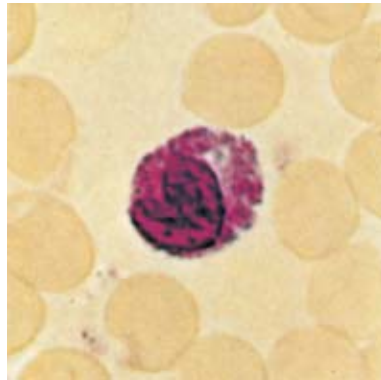
Segmentkerniger
Segmented neutrophil



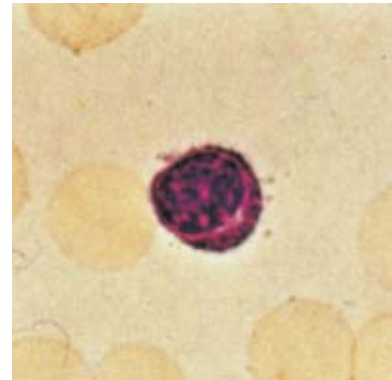
Eosinophiler
Eosinophil



Basophiler
Basophil



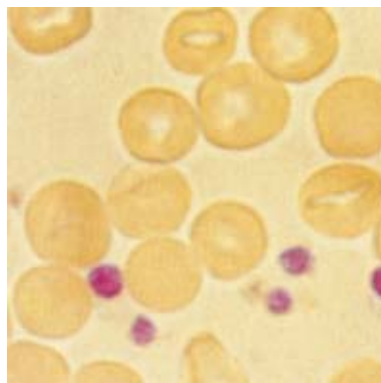
Monozyt
Monocyte



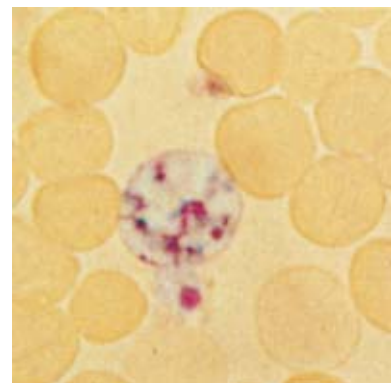
Lymphozyt
Lymphocyte

Weitere Blutzellen

Other blood cells



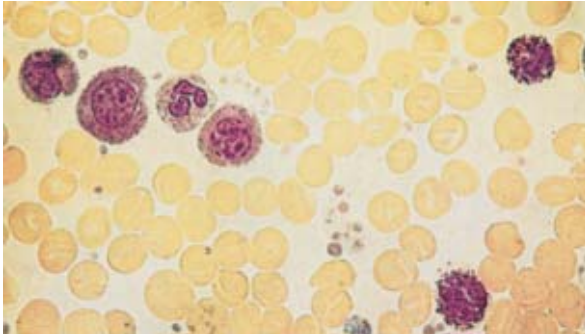
Thrombozyten
Platelets



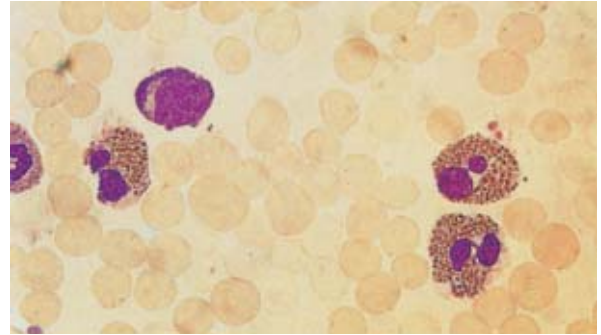
Retikulozyt
Reticulocyte

Pathologische Leukozytenformen des peripheren Blutes

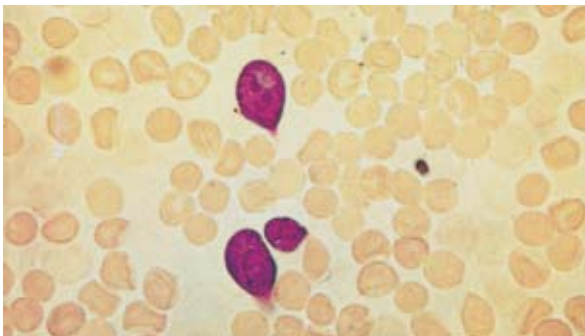
Pathological leukocyte forms in the peripheral blood



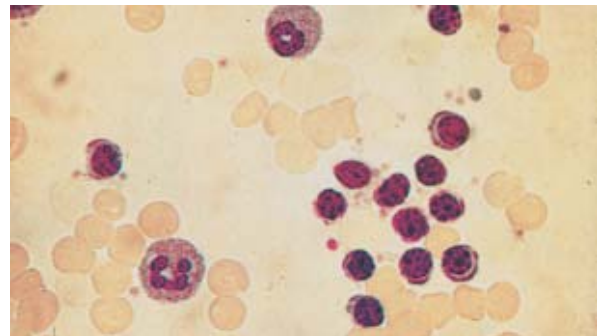
Zellbild einer chronisch myeloischen Leukämie (CML)
Peripheral smear of chronic myeloid leukaemia (CML)



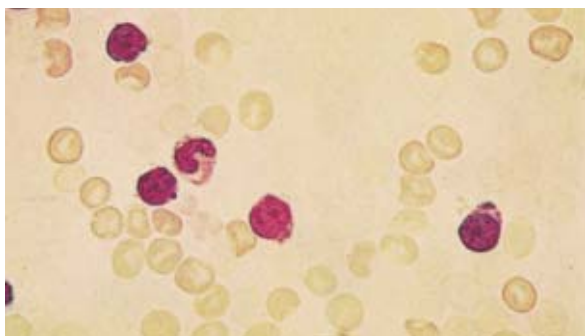
Eosinophilie bei einer CML; im Bild drei Eosinophile, ein Blast
Eosinophilia in patient with CML; three eosinophils and one blast can be seen



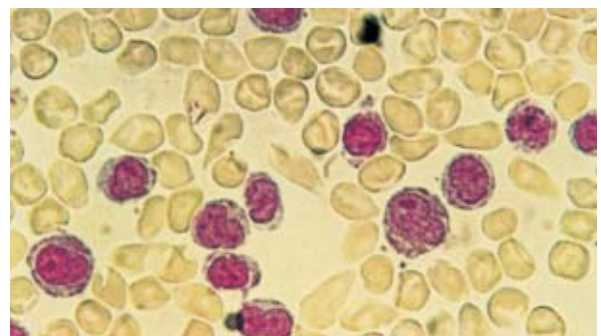
Zellbild bei Pfeiffer'schem Drüsenfieber, zwei transformierte Lymphozyten, ein kleiner Lymphozyt
Peripheral smear of infectious mononucleosis; two reactive lymphocytes, one small lymphocyte



Zellbild einer chronisch lymphatischen Leukämie (CLL)
Peripheral smear of chronic lymphatic leukaemia (CLL)



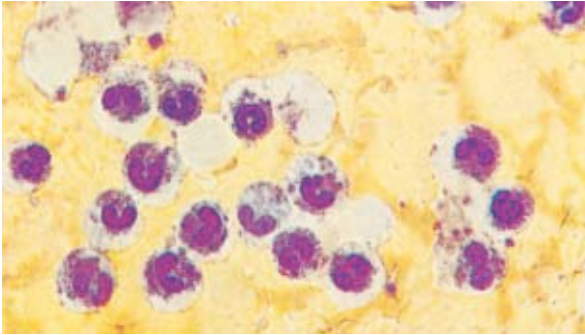
Zellbild bei einer akuten Leukämie mit kleinen Blasten
Peripheral smear of acute leukaemia with small blasts



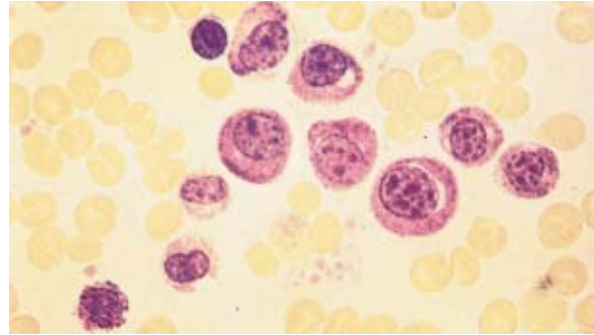
Zellbild bei einer akuten Leukämie (Diagnose: ACL, POX positiv)
Peripheral smear of acute leukaemia (Diagnosis: ACL, POX positive)

Pathologische Leukozytenformen des peripheren Blutes

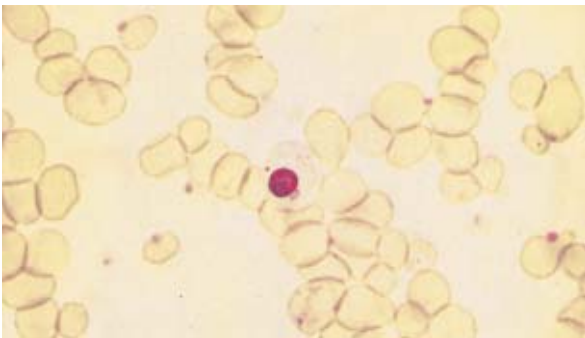
Pathological leukocyte forms in the peripheral blood



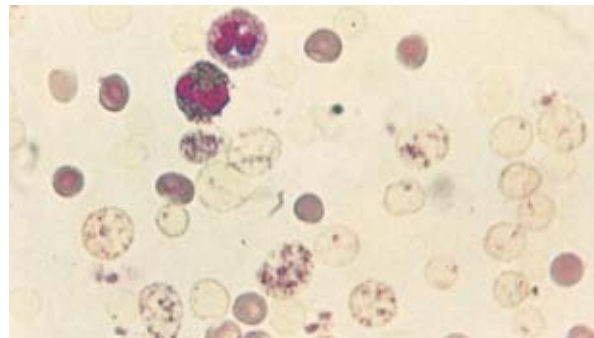
Leukozytenkonzentrat mit Pelger'scher Kernanomalie
Leukocyte concentrate with Pelger-Huet anomaly



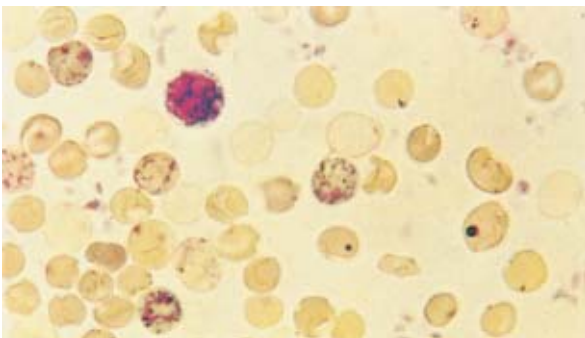
Normoblast (links oben) bei einer CML
Normoblast (top left) in CML



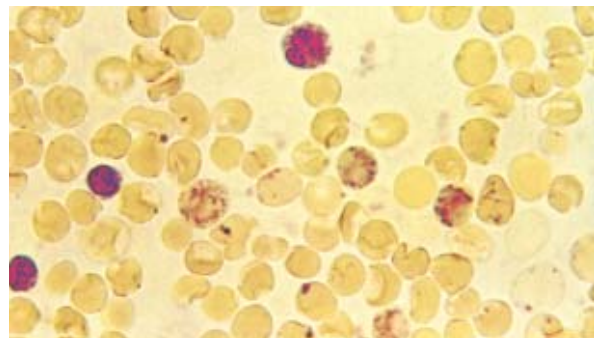
Normoblast (Bildmitte) bei einer perniziösen Anämie
Normoblast (centre) in pernicious anaemia



Zellbild bei schwerer hämolytischer Anämie mit Kugelzellen und Retikulozyten (500 ‰)
Peripheral smear of severe haemolytic anaemia with spherocytes and reticulocytes (500 ‰)



Zellbild nach Milzexstirpation mit Retikulozyten und Howell Jolly-Körperchen
Peripheral smear after splenectomy with reticulocytes and Howell-Jolly bodies



Zellbild nach Milzexstirpation mit Retikulozyten und Heinz'schen Innenkörpern
Peripheral smear after splenectomy with reticulocytes and Heinz bodies

Karzinomzytologie

Cancer cytology

Testsimplets® kann in der Klinik als Akut-Diagnostikum und in der Praxis als Vor-Diagnostikum in der Karzinomzytologie eingesetzt werden.

Testsimplets® eignet sich hervorragend zur schnellen Anfärbung von karzinomverdächtigem Zellmaterial, z. B. in der Bronchialzytologie. Morgentliche Nativsputa, durch gezielte Absaugung erhaltene Sputa und Bronchialinhalt sowie Zellmaterialien anderer Herkunft (Punktionen von Pleura, Aszites, Perikard, Lunge oder Magenspülwasser) lassen sich nach wenigen Minuten Anfärbezeit unter dem Mikroskop beurteilen.

Testsimplets® erlaubt somit eine außerordentlich schnelle Diagnostik. So ist es z. B. möglich, noch während der Endoskopie über das zytologische Ergebnis informiert zu werden, so dass weitere diagnostische Maßnahmen unmittelbar eingeleitet werden können.

Durchführung

Nativsputum wird nach der Methode Kitasato-Mulder gewaschen. Mit einer Platinöse von 5 mm Durchmesser wird die gewaschene Sputumflocke auf Testsimplets® aufgetragen und nach sorgfältiger Ausbreitung mit einem Deckglas abgedeckt. Mit Hilfe eines Stiftes kann durch Druck auf die Mitte des Deckglases eine gleichmäßige Verteilung der Probe bewirkt werden. Nach einer 15minütigen Anfärbezeit kann das Präparat unter dem Mikroskop beurteilt werden. Besonders zähflüssige Sputa benötigen für die Durchfärbung längere Zeit.

Punktionsmaterial aus Körperhöhlen wird durch Zytocentrifugation angereichert. Bronchialinhalt, gewonnen bei gezielter Bronchialabsaugung, wird in physiologischer Kochsalzlösung aufgefangen und anschließend durch Zytocentrifugation angereichert. Danach wird ein kleiner Tropfen Sediment auf die Farbschicht von Testsimplets® aufgetragen und mit einem Deckglas abgedeckt.

Nach einer Anfärbezeit von etwa 2–4 Minuten kann das Präparat unter dem Mikroskop beurteilt werden.

Die Färbung des Präparates hält sich bei Raumtemperatur 4 Stunden, bei Aufbewahrung im Kühlschrank ist die Beurteilung des Präparates bis zu 24 Stunden, bei sehr zähflüssigem Sputa auch noch nach 48 Stunden möglich.

Testsimplets® can be used in cancer cytology for acute testing in hospitals and for preliminary testing in the doctor's surgery.

Testsimplets® are ideal for rapid staining of cell material suspected of being cancerous, e.g. in bronchial cytology. Early morning sputum samples, aspirates of sputum and bronchial contents obtained by endoscopy or cell material of other origin (pleural, ascites, pericardial or pulmonary aspirates, gastric washings) can be examined under the microscope after staining for only a few minutes.

Testsimplets® thus permit extremely rapid diagnostic evaluation. This means that a cytological result can be obtained while the endoscopy is still in progress so that further diagnostic measures can be initiated immediately if necessary.

Procedure

Wash native sputum using the Kitasato-Mulder method. Then apply the sputum pellet to the Testsimplets® slide using a platinum loop with a diameter of 5 mm, spread the material carefully and cover with a cover slip. To ensure that the preparation is evenly distributed it can be useful to apply gentle pressure to the middle of the cover slip with a pencil. Allow 15 minutes for staining and then examine the preparation under the microscope. Particularly viscid sputa require longer staining times.

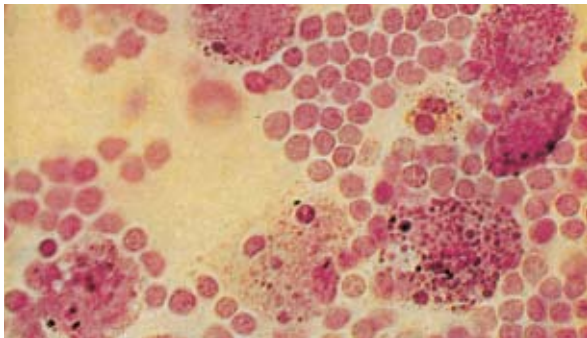
Material obtained by aspiration of body cavities is concentrated by cytocentrifugation. Bronchial contents obtained by endoscopic bronchial aspiration are collected in physiological saline and then concentrated by cytocentrifugation. A small drop of the sediment is applied to the prestained area of the Testsimplets® slide and covered with a cover slip.

After a staining time of 2–4 minutes the preparation can be examined under the microscope.

The stained preparation remains stable for 4 hours at room temperature. If refrigerated, it may still be evaluated after up to 24 hours, or after 48 hours in the case of very viscid sputa.

Auswertung

Die mikroskopische Auswertung der Testsimplets®-Präparate wird nach den gleichen Beurteilungskriterien vorgenommen wie die konventionell gefärbten Präparate, entsprechend den Einteilungsgraden I bis V (nach Papanicolaou).

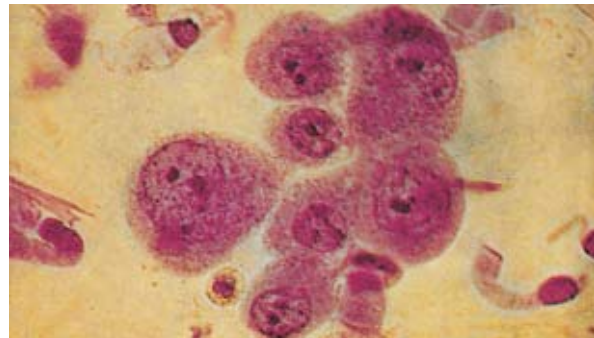


Nativsputum: Alveolarhistiozyten und reichlich undifferenzierte lymphozytenähnliche Tumorzellen
Histologie: undifferenziertes Bronchialkarzinom

Native sputum: alveolar histiocytes and abundant undifferentiated lymphocyte-like tumour cells
Histology: undifferentiated bronchial carcinoma

Evaluation

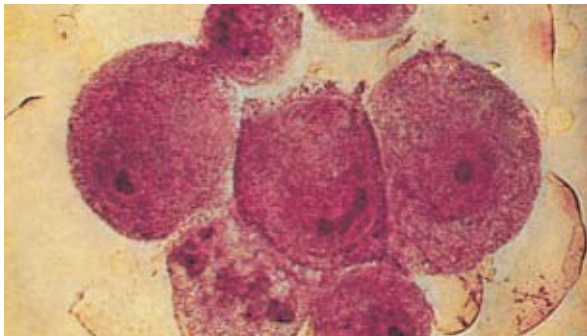
The Testsimplets® preparations are evaluated according to the criteria used for conventionally stained preparations (Papanicolaou classes I to V).



Gezielte Bronchialabsaugung: neben normalen Flimmer-epithelien und einer Becherzelle mehrere polymorphzellige Tumorzellen

Histologie: polymorphzelliges Bronchialkarzinom

Endoscopic bronchial aspirate: several polymorphous tumour cells alongside normal ciliated epithelial cells and a goblet cell
Histology: polymorphous bronchial carcinoma

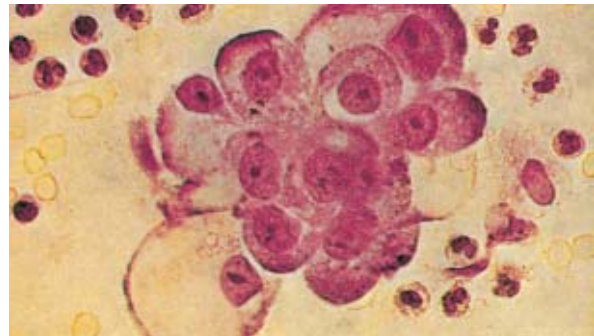


Pleuraerguß: großzellige Tumorzellen mit schaumigem Plasma, eine Mitose

Histologie: großzelliges, zum Teil schleimbildendes Bronchialkarzinom

Pleural effusion: large tumour cells with foamy plasma, one mitosis

Histology: large-cell, partially mucinous bronchial carcinoma



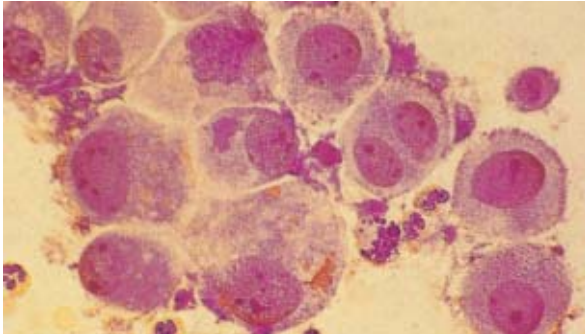
Pleuraerguß: Adenokarzinomzellen im Verband

Histologie: Ovarialkarzinom

Pleural effusion: aggregate of adenocarcinoma cells
Histology: ovarian carcinoma

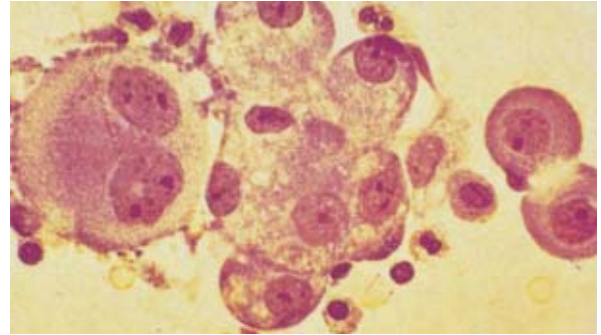
Karzinomzytologie

Cancer cytology



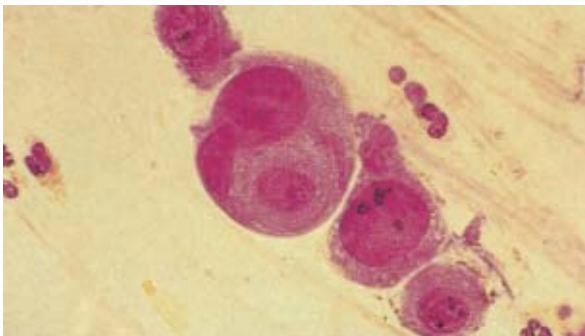
Pleuraerguß: Adenokarzinomzellen im Verband, Metastasen eines Ovarialkarzinoms

Pleural effusion: aggregate of adenocarcinoma cells, metastases of an ovarian carcinoma



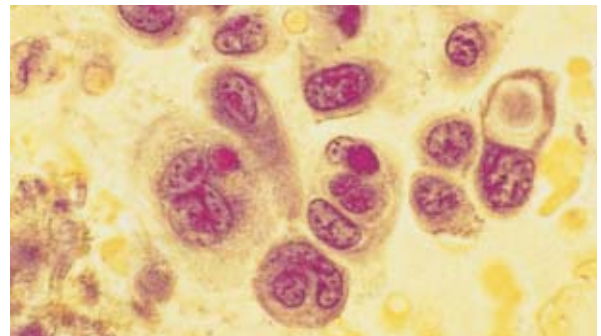
Pleuraerguß: Zellen eines Adenokarzinoms (metastasierendes Ovarialkarzinom)

Pleural effusion: adenocarcinoma cells (metastatic ovarian carcinoma)



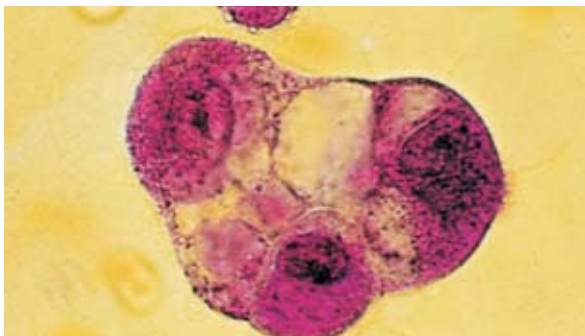
Nativsputum: Zellen eines Plattenepithelkarzinoms, daneben einige Leukozyten

Native sputum: squamous cell carcinoma cells with some leukocytes lying alongside



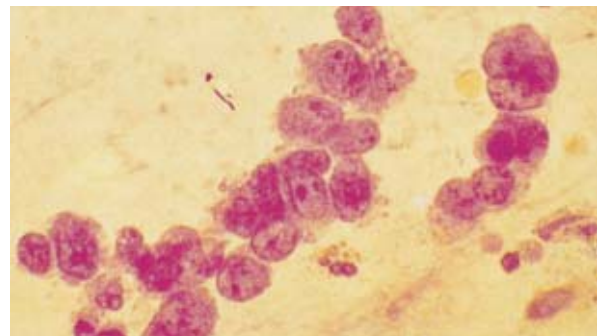
Gezielte Absaugung: mäßig verhornendes Plattenepithelkarzinom

Endoscopic aspirate: moderately keratinising squamous cell carcinoma



Pleurapunktat: primärer Tumor, Pankreaskopfkarzinom

Pleural aspirate: primary tumour, pancreas head carcinoma

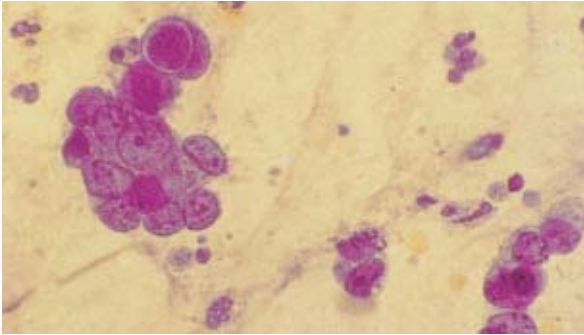


Pleuraerguß: metastasierendes Mammakarzinom

Pleural effusion: metastatic breast cancer

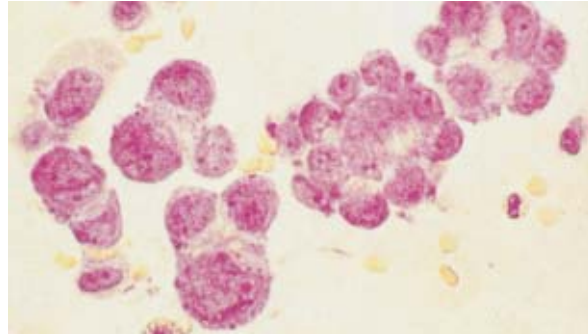
Karzinomzytologie

Cancer cytology



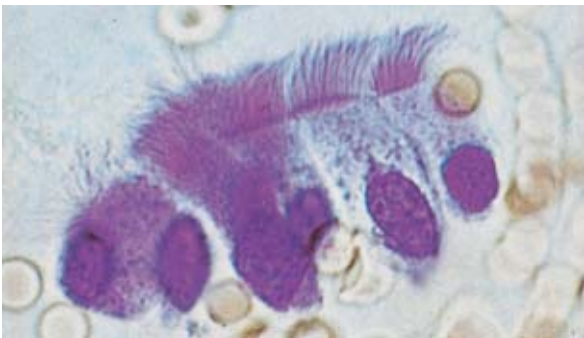
Nativsputum: Zellen eines entdifferenzierten Karzinoms, histologisch bestätigt

Native sputum: cells of a dedifferentiated carcinoma, histologically confirmed



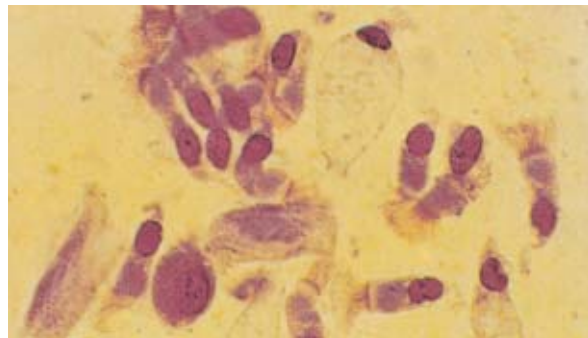
Sputum: undifferenziertes Karzinom

Sputum: undifferentiated carcinoma



Bronchialsekret: normale Flimmerzellen

Bronchial secretions: normal ciliated cells



Gezielte Bronchialabsaugung: normale Flimmerepithelien und Becherzellen

Endoscopic bronchial aspirate: normal ciliated epithelial cells and goblet cells

Urinzytologie

Urinary cytology

Mit Testsimplets® können außergewöhnlich gut Kernstrukturen, Kernmembranen, Chromatingerüst und Nukleolen sowie Zytoplasmastrukturen differenziert und klassifiziert werden.

Die Zytodiagnostik des Urins ist sinnvoll bei:

- allen Formen der Mikro- und Makrohämaturien
- Therapieresistenter Zystitis
- Zystalgie
- unklaren Dysurien
- Verlaufskontrolle nach Urotheltumor-Operationen
- Früherkennung und Verlaufskontrolle von Blasenkarzinomen

Die Beurteilung des Malignitätsgrades von Tumoren ist identisch mit der bei konventionellen Färbetechniken (nach Papanicolaou und Pappenheim).

Testsimplets® allow extraordinarily good differentiation and classification of nuclear structures, nuclear membranes, chromatin and nucleoli as well as cytoplasmic structures.

Urinary cytology is useful in:

- all forms of microscopic and macroscopic haematuria
- refractory cystitis
- cystalgia
- dysuria of unclear origin
- monitoring after urothelial tumour surgery
- early detection and monitoring of bladder cancer

The criteria for tumour grading are the same as those used with conventional staining (Papanicolaou and Pappenheim).

Durchführung

Die Aufarbeitung des Harns ähnelt der Anfertigung eines normalen Urinsediments: Urin wird ca. 10 Minuten bei 3000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert. Der Überstand wird sorgfältig und vollständig dekantiert. Das Sediment wird in 3 Tropfen physiologischer Kochsalzlösung resuspendiert. Von dieser Suspension wird ein Tropfen direkt auf die Mitte eines der beigefügten Deckgläser aufgetragen und auf das Farbfeld gelegt. Mit Hilfe eines Stiftes kann durch Druck auf die Mitte des Deckglases eine gleichmäßige Verteilung der Probe bewirkt werden. Nach etwa 5–10 Minuten ist der Färbevorgang abgeschlossen und das Präparat kann untersucht werden; bei Raumtemperatur ist es bis zu 5 Stunden nach der Anfärbung auswertbar.

Auswertung

Die Durchmusterung der Präparate beginnt man zweckmäßigerweise bei 100facher Vergrößerung, um dann anschließend gezielt markante Zellen bzw. Zellformationen bei 200–400facher oder mit Ölimmersion bei 1000facher Vergrößerung beurteilen zu können.

Aufgrund der Vitalfärbung erscheinen die angefärbten Zellen in ihrer natürlichen Größe, daher werden – im Vergleich mit anderen Methoden – Details besonders der Kernstrukturen und Kernmembran außergewöhnlich gut sichtbar gemacht.

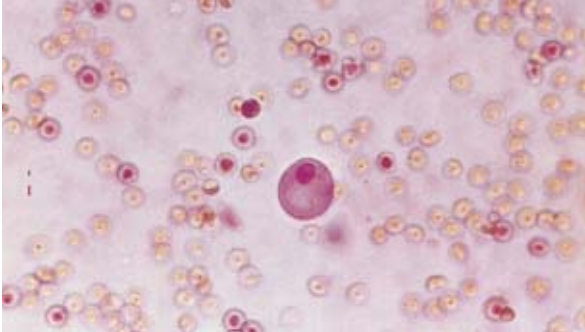
Procedure

The processing of the urine is similar to that for preparation of a normal urinary sediment: centrifuge the urine for about 10 minutes at 3000 rpm. Pour off the supernatant carefully and completely. Resuspend the sediment in 3 drops of physiological saline. Apply one drop of this suspension directly to the centre of one of the cover slips provided and then place the cover slip on the prestained area of the slide. To ensure even distribution of the sample it can be useful to press gently on the centre of the cover slip with a pencil. After about 5 to 10 minutes the staining process is completed and the preparation can be examined; at room temperature the preparation is stable for up to 5 hours after staining.

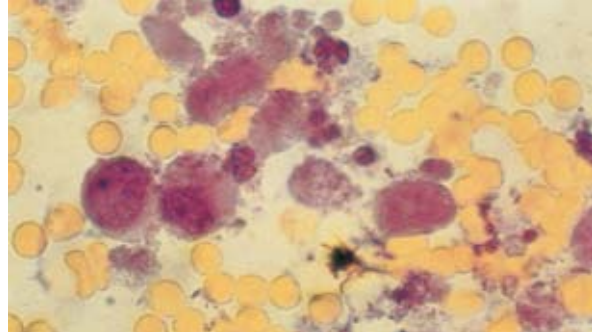
Evaluation

Begin by surveying the preparation at a magnification of x100 and then examine any striking cells or cell formations at x200 to x400 magnification or at x1000 with oil immersion.

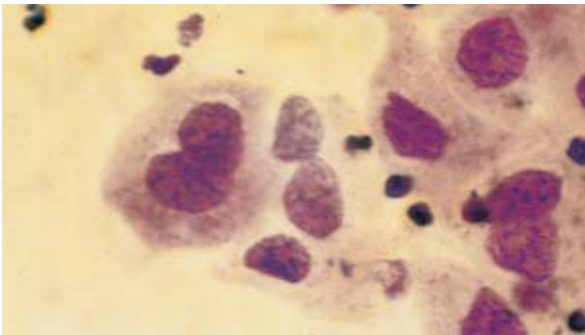
On account of the vital stain the stained cells appear in their natural size. In contrast to other methods, details especially of the nuclear structures and nuclear membrane are therefore extremely well visualized.



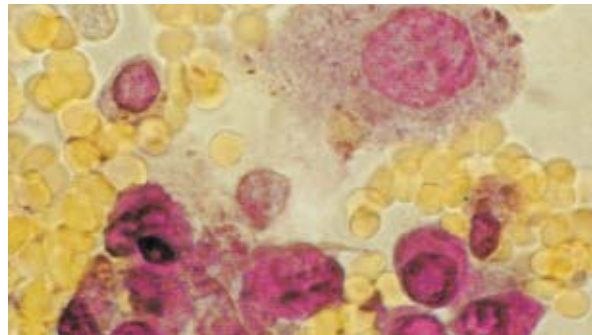
Normale Urothelzelle umgeben von Erythrozyten
Normal urothelial cell surrounded by erythrocytes



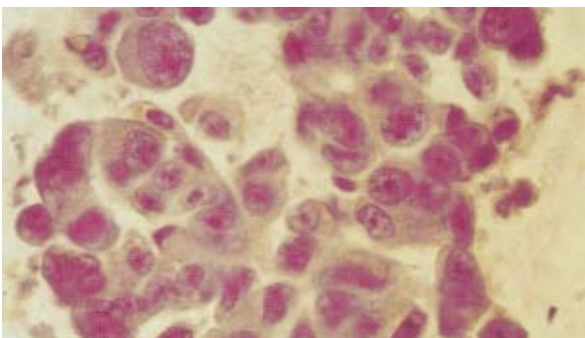
Blasenkarzinom G3, entdifferenzierte Zellen mit großen Kernen, Vakuolen und Kernkörperchen
Bladder carcinoma G3, dedifferentiated cells with large nuclei, vacuoles and nuclear bodies



Blasenkarzinom G2, hyperchromatische Kerne, zahlreiche Kernkörperchen, destruktive Veränderungen im Zytoplasma, mehrere Leukozyten in der Umgebung
Bladder carcinoma G2, hyperchromatic nuclei, numerous nuclear bodies, destructive changes in the cytoplasm, several leukocytes in the surrounding area



Blasenkarzinom G3, teilw. hyperchromatische Kerne, kleine Zellen, multiple Nukleolen, Kernwandhyperchromasie
Bladder carcinoma G3, nuclei partially hyperchromatic, small cells, multiple nucleoli, nuclear wall hyperchromasia



Blasenkarzinom G2, deutliche Kerngrößenvarianz, multiple Nukleolen, Kernplasmarelation zu Gunsten der Kerne verschoben
Bladder carcinoma G2, marked variation of nuclear size, multiple nucleoli, nucleus-to-cytoplasm ratio shifted in favour of the nucleus

Liquorzytologie

Cerebrospinal fluid cytology

Testsimplets® färbt alle im Liquor auftretenden Zellen. Im Gegensatz zu konventionellen Techniken, wie z. B. Sedimentkammerverfahren und Zytozentrifugation, ist Testsimplets® als diagnostisches Routineverfahren für die Liquorzytologie geeignet:

- schnelle Aufarbeitung und Isolierung der Liquorzellen
- geringes Liquorvolumen (20 µl Nativliquor)
- bereits normale Leukozytenzahlen (3–4 Zellen pro µl) werden ohne mechanische Anreicherung erfasst
- Gefahr der Zellyse und Zelldenaturierung erheblich verringert
- erhöhter Anteil differenzierbarer Zellen

Durchführung

Ca. 20 µl des durchmischten Liquors werden auf die Farbschicht von Testsimplets® aufgetragen. Das Deckglas wird unmittelbar danach so auf das Farbfeld gelegt, dass sich der Liquor nach allen Seiten gleichmäßig verteilt. Mit Hilfe eines Stiftes kann durch Druck auf die Mitte des Deckglases eine gleichmäßige Verteilung der Probe bewirkt werden.

Nach 10–15 Minuten Anfärbezeit kann das Präparat differenziert werden. Die Differenzierung muss innerhalb einer Stunde nach Anlegen des Präparates erfolgen.

Bei Lagerung in einer feuchten Kammer bei +4°C (Petrischale) kann das Präparat bis zur Differenzierung 2 Stunden aufbewahrt werden. Bei Lagerung des Liquorpräparates bei –20°C beträgt die Haltbarkeit mindestens 2 Tage.

Auswertung

Die Auswertung des Präparates erfolgt mit Ölimmersion bei 800–1000facher Vergrößerung. Bei niedriger Leukozytenzahl werden 25–50, bei hoher 100 bis 200 Leukozyten ausgezählt. Die untere Erfassungsgrenze der Methode liegt bei 3–4 Leukozyten pro Mikroliter, also im Normalbereich.

Testsimplets® stain all cells occurring in the cerebrospinal fluid. Unlike conventional techniques, e.g. sedimentation chamber and cytocentrifugation, Testsimplets® is suitable for routine cytological testing of CSF:

- rapid processing and isolation of the CSF cells
- small volume of CSF (20 µl native CSF)
- detects even normal leukocytes counts (3–4 cells per µl) without mechanical concentration
- considerably less danger of cell lysis and cell denaturation
- greater proportion of cells suitable for differentiation

Procedure

After mixing, apply about 20 µl of the cerebrospinal fluid sample to the prestained area of the Testsimplets® slide. Then immediately place a cover slip on the slide in such a way that the CSF is evenly spread in all directions. To ensure even distribution of the sample it can be useful to press gently on the centre of the cover slip with a pencil.

After a staining time of 10 to 15 minutes the preparation is ready for differentiation. Differentiation must be performed within one hour after preparing the slide.

If the slide is stored in a moist chamber at +4°C (Petri dish) it can be kept for up to 2 hours before differentiation. If stored at –20°C the CSF preparation is stable for at least 2 days.

Evaluation

Evaluate the preparation at a magnification of x800 – x1000 with oil immersion. In preparations with low leukocyte counts 25–50 leukocytes should be counted, in preparations with high leukocyte counts 100–200. The lower detection limit of the method is 3–4 leukocytes per microlitre, i.e. within the normal range.

Charakterisierung der Leukozyten im Liquor

Granulozyten

Die neutrophilen Granulozyten zeigen violettbraune Kerne bzw. Kernsegmente mit Chromatinverdichtungen und rötlich bis rosa angefärbtes Zytoplasma mit gelblich-bräunlichen Granula.

Basophile Granulozyten zeigen typisch dunkelviolette Granula.

Monozyten

Zellen mit großem exzentrischem, ovalem, nierenförmigem oder gelapptem rotbraunem bis violettem Kern mit wabiger Struktur. Den Kern umgibt viel rosa-violettes, körniges Zytoplasma.

Lymphozyten

Zellen mit rundem, teils leicht eingebuchtetem Kern, der rotviolett bis braunschwarz angefärbt ist, mit deutlich erkennbaren grobscholligen Chromatinverdichtungen, umgeben von schmalem bis mittelbreitem rosa bis violettbraunem Zytoplasma ohne oder mit wenig erkennbaren Granula.

Transformierte Lymphozyten unterscheiden sich von den mit unterschiedlichen Kerngrößen vorkommenden Lymphozyten durch reichliches rosa bis rotbraun gefärbtes Zytoplasma mit wenigen dunkler gefärbten Granula.

Plasmazellen

Zellen, mit großem rundlich-ovalem randständigem Kern von dunkelbrauner Farbe mit radspeichenförmigen Aufhellungen sowie viel rotbraun gefärbtem Zytoplasma mit wabigen Struktureinschlüssen.

Characterisation of the leukocytes in cerebrospinal fluid

Granulocytes

Neutrophilic granulocytes have violet-brown nuclei or nuclear segments with clumped chromatin. The cytoplasm is reddish to pink with yellowish-brownish granules.

Basophilic granulocytes have typical dark violet granules.

Monocytes

Cells with a large eccentric nucleus which is oval, kidney-shaped or lobulated and stains red-brown to violet with a honeycomb-like structure. The nucleus is surrounded by abundant pink-violet, grainy cytoplasm.

Lymphocytes

Cells with a round, sometimes slightly indented nucleus, which stains red-violet to brown-black, with distinct coarse chromatin clumping, surrounded by a narrow to moderately wide rim of pink to violet-brown cytoplasm without or with scarcely perceptible granules.

In contrast to the lymphocytes with nuclei of different sizes, transformed lymphocytes have abundant pink to red-brown cytoplasm with a few darker staining granules.

Plasma cells

Cells with a large, roundish-oval marginal nucleus that stains dark brown with a cartwheel pattern of lighter areas and abundant red-brown cytoplasm with honeycomb-like inclusion structures.

Normalwerte Leukozyten*

*Normal values for leukocytes**

	Erwachsene/Adults	Neugeborene/Neonates
Leukozyten (Lymphozyten) pro μl Liquor <i>Leukocytes (lymphocytes) per μl CSF</i>	< 3	< 32

Weitere mit Testsimplets® darstellbare Liquorzellen

Monozytenähnliche Zellen

Monozytoidzellen, Makrophagen und Riesenzellen

Liquorräume auskleidende Zellen

Choroid-Plexus-Zellen, ependymale Zellen,
arachnoidale Deckzellen und leptomeningale Zellen.

Gliazellen

Tumorverdächtige Zellen und Tumorzellen

Erythrozyten

Further CSF cells that can be shown with Testsimplets®

Monocyte-like cells

Monocytoid cells, macrophages and giant cells

Cells lining CSF spaces

Choroid plexus cells, ependymal cells, arachnoid
mesothelial cells and leptomeningeal cells

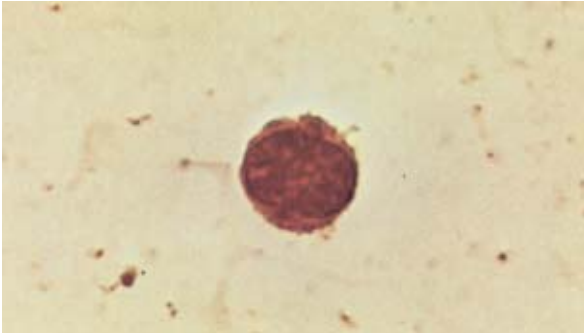
Glia cells

Tumour cells and cells suspicious for cancer

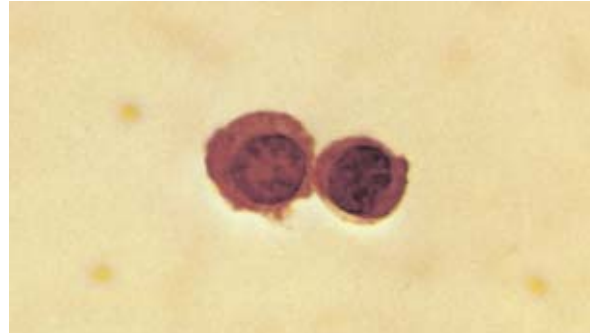
Erythrocytes

* Rick, W. Klinische Chemie und Mikroskopie, Berlin, Heidelberg, New York: Springer, 6. Auflage 1990

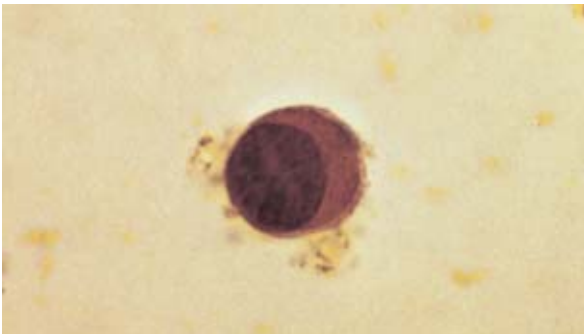
* Rick, W. Klinische Chemie und Mikroskopie, Berlin, Heidelberg, New York: Springer, 6th Edition 1990



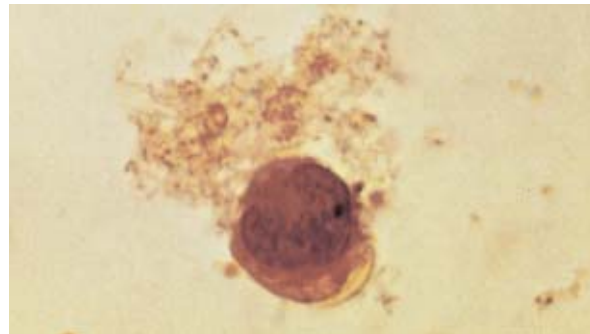
Großer Lymphozyt
Large lymphocyte



Transformierter und kleiner Lymphozyt
Transformed lymphocyte and small lymphocyte



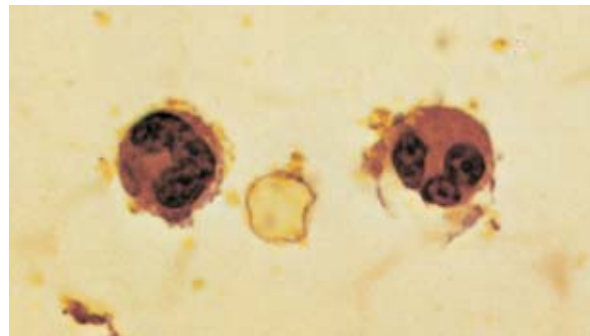
Plasmazelle
Plasma cell



Monozyt
Monocyte



Neutrophiler polymorphkerniger Granulozyt
Neutrophilic polymorphonuclear granulocyte



Stabkerniger und polymorphkerniger neutrophiler Granulozyt
mit Erythrozyt
Band neutrophil and polymorphonuclear neutrophilic granulocyte with erythrocyte

Zytologie des Nasenabstriches

Nasal cytology

Testsimplets® eignet sich als einfache und sichere Screeningmethode, die in der rhinologischen Routinediagnostik angewendet werden kann. Bei der Differentialdiagnose der Rhinitis kann schon aufgrund der zytologischen Untersuchung unterschieden werden zwischen:

- bakteriellen
- viralen
- atrophischen
- allergischen und pseudoallergischen Entzündungen

Testsimplets® can be used as a simple and reliable screening method for routine rhinological evaluation. In the differential diagnostic evaluation of rhinitis the cytology permits a distinction between:

- bacterial
- viral
- atrophic
- allergic and pseudoallergic inflammation

Durchführung

Mit einem Watteträger wird aus dem unteren und/oder mittleren Nasengang Sekret entnommen. Bei Kindern kann auch ausgeschnäuztes Sekret zur Untersuchung verwendet werden. Das Untersuchungsmaterial wird mit dem Watteträger auf das Deckglas von Testsimplets® aufgestrichen oder ausgerollt und leicht auf das Farbfeld der Objektträger gedrückt. Die Zeit zwischen Entnahme des Sekrets und dem Andrücken des Deckgläschens auf den Objektträger sollte möglichst kurz sein, da sonst die Feuchtigkeit fehlt, die zur Anfärbung der Strukturen nötig ist.

Procedure

Collect material from the inferior and/or middle nasal meatus using a cotton wool swab. With children, material obtained by blowing the nose can be used for evaluation. Apply the specimen material to the Testsimplets® cover slip by spreading or rolling with the cotton swab and then press the cover slip gently onto the prestained area of the slide. The time between collection of the material and pressing the cover slip onto the slide should be as short as possible as otherwise there will be insufficient moisture for staining.

Auswertung

Nach 15–20 Minuten Anfärbezeit können Zellstrukturen und Kristalle ausgewertet werden.

Evaluation

After a staining time of 15–20 minutes cell structures and crystals can be evaluated.

Beurteilung

Normalbefund

Im Nasenabstrich eines Gesunden sieht man neben Epithelzellen mit relativ kleinem Zytoplasma und großem Zellkern hauptsächlich Flimmerepithelzellen und Becherzellen.

Neutrophile Granulozyten

Der mikroskopische Nachweis von vermehrten Neutrophilen ist ein Beweis für eine Rhinitis, z. B. bakteriellen, viralen oder allergisch superinfizierten Ursprungs.

Normal result

A healthy nasal smear contains epithelial cells with a relatively small amount of cytoplasm and large nucleus and otherwise mainly ciliated epithelial cells and goblet cells.

Neutrophilic granulocytes

Microscopic detection of increased numbers of neutrophils is proof of rhinitis which can be of bacterial, viral or allergic superinfected origin.

Eosine Granulozyten

„Eosinophilennester“ oder mehr als 30% eosineophile Granulozyten deuten auf eine anaphylaktische Allergie oder auf eine Analgetikaintoleranz hin.

Basophile Zellen

Zellen mit basophilen Granula sind geringer vertreten als Eosinophile. Das Vorhandensein basophiler Zellen, die entweder basophile Granulozyten oder Mastzellen darstellen, spricht für eine Rhinitis allergischer Genese. Basophile Zellen treten weiterhin auf bei gestörter nasaler Ventilation, z. B. bei Tumoren oder Polypen. Auch bei tracheotomierten Patienten oder laryngektomierten Patienten sind Basophile zu finden.

Lymphozyten

Bei akuten viralen Infekten treten vermehrt Lymphozyten auf.

Riesenzellen und Ziliozytophorie

Mehrkernige Riesenzellen deuten auf einen akuten viralen Infekt hin. Bei degenerativen Veränderungen von Flimmerzellen mit Zilienabbau wird von einer Ziliozytophorie gesprochen.

Epidermoide Zellen

Bei der atrophischen Rhinitis werden diese Zellen mit kleinem Zellkern und großem Zytoplasmahof gefunden.

Kristalle

Zerfallen Eosinophile, so entstehen die spindelförmigen Charcot-Leyden-Kristalle. Sie sind bei allergischer Rhinitis und auch bei Analgetikaintoleranz zu finden. Farnkrautähnliche Kristalle sind bei erhöhtem Natrium-Kaliumgehalt des Nasensekrets und bei gleichzeitigen verminderten Kolloidspiegeln zu finden. Diese Verminderung des Schutzfilmes zeigt eine beginnende Schleimhautatrophie im Spätstadium chronischer Rhinitiden an.

Eosinophilic granulocytes

The presence of 'nests' of eosinophils or more than 30% eosinophilic granulocytes indicates an anaphylactic allergy or analgesic intolerance.

Basophilic cells

Cells containing basophilic granules are less abundant than eosinophils. The presence of basophilic cells, either basophilic granulocytes or mast cells, suggests rhinitis of allergic origin. Basophilic cells also occur in obstructed nasal ventilation, e.g. due to tumours or polyps, and in patients who have undergone tracheotomy or laryngectomy.

Lymphocytes

In acute viral infections there are increased numbers of lymphocytes.

Giant cells and cilial loss

Multinuclear giant cells indicate an acute viral infection. Degenerative changes in the ciliated cells can lead to cilial loss.

Epidermoid cells

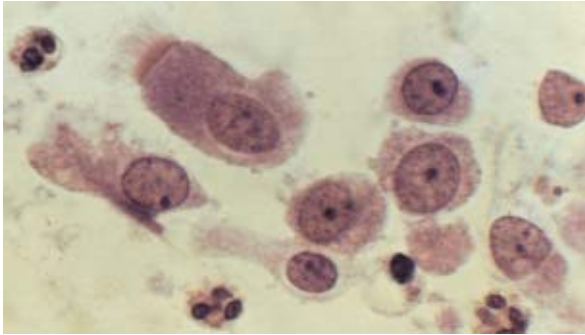
Small nucleus, large cytoplasm, typically found in an atrophic rhinitis.

Crystals

Breakdown of eosinophils produces the spindle-shaped Charcot-Leyden crystals which are found in allergic rhinitis and analgesic intolerance. Fern-like crystals are found in nasal secretions with an increased sodium-potassium content accompanied by reduced colloid levels. This reduction of the protective film is a sign of beginning mucosal atrophy in the late stage of chronic rhinitis.

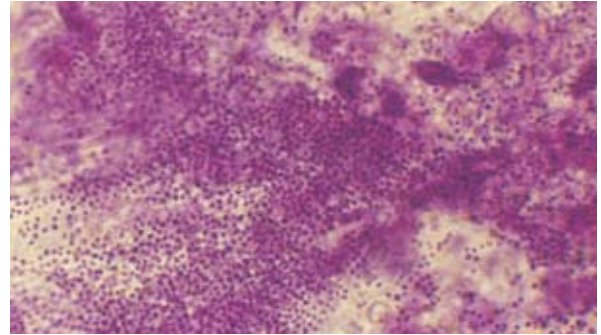
Zytologie des Nasenabstriches

Cytology of the nasal smear



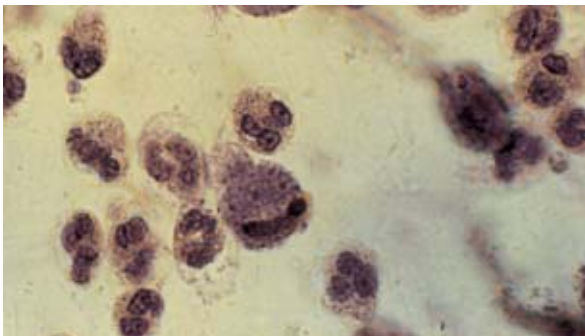
Nasenabstrich des Gesunden mit Flimmerepithelzellen, Becherzellen und vereinzelt Granulozyten

Healthy nasal smear with ciliated cells, goblet cells and occasional granulocytes



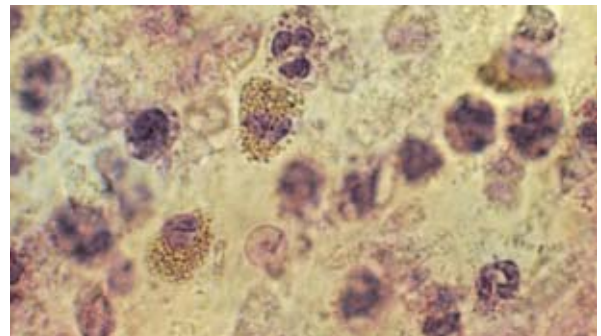
Bakterien im Nasenabstrich

Bacteria in the nasal smear



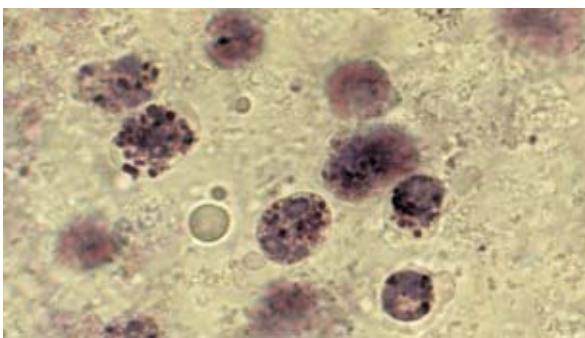
Neutrophile Granulozyten

Neutrophilic granulocytes



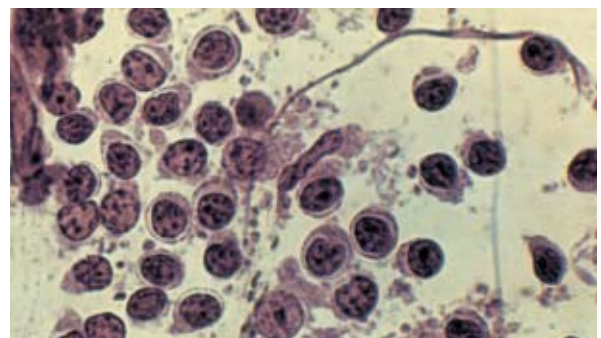
Eosinophile Granulozyten

Eosinophilic granulocytes



Zellen mit basophilen Granula

Cells containing basophilic granules

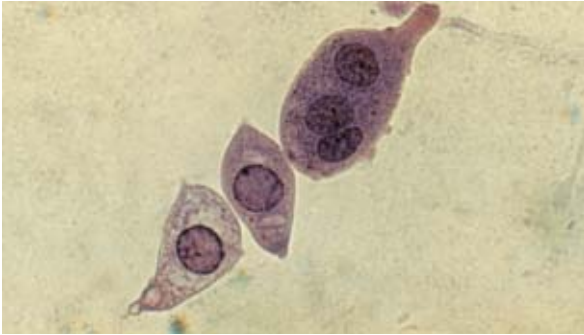


Lymphozyten bei viraler Rhinitis

Lymphocytes in viral rhinitis

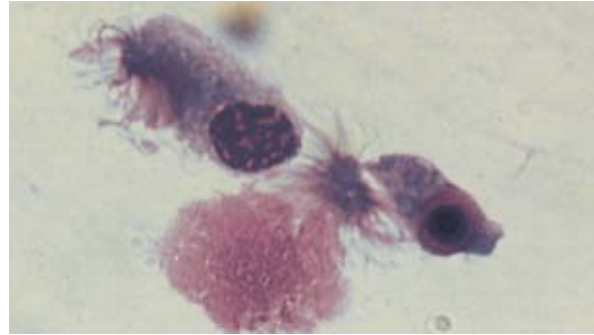
Zytologie des Nasenabstriches

Cytology of the nasal smear



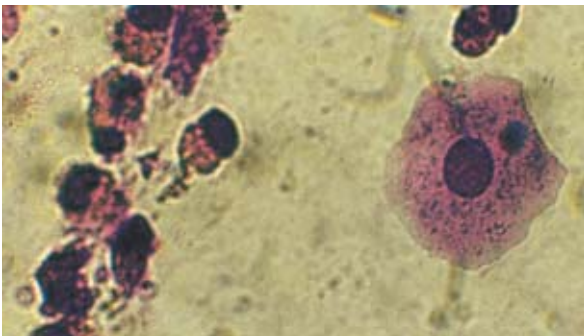
Riesenzelle bei viraler Rhinitis

Giant cell in viral rhinitis



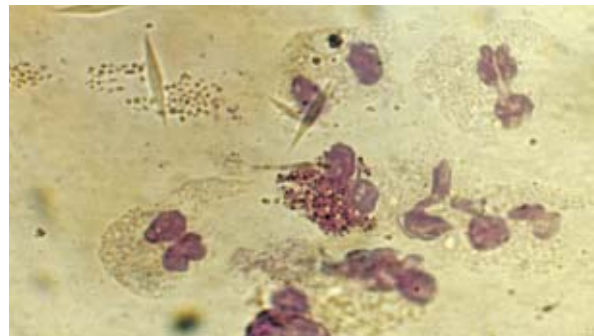
Degenerative Veränderungen von Flimmerzellen bei viraler Rhinitis

Degenerative changes in ciliated cells in viral rhinitis



Epidermoide Zellen bei atrophischer Rhinitis

Epidermoid cells in atrophic rhinitis



Charot-Leyden-Kristalle als untergegangene eosinophile Granulozyten im Nasenabstrich

Charcot-Leyden crystals as breakdown products of eosinophilic granulocytes in the nasal smear

Spermatozoenfärbung

Spermatozoal staining

Bei der routinemäßigen Erstellung eines Spermiogrammes kann Testsimplets® die aufwendige Färbung nach Papanicolaou ersetzen. Mit Testsimplets® ist die Färbung des frischen Ejakulats mit geringem Arbeitsaufwand möglich.

Durchführung

Je nach zu erwartender Spermatozoenkonzentration werden

5 µl (bei Spermienkonzentrationen von > 50 mill/ml)
10 µl (bei Spermienkonzentrationen von 10–50 mill/ml)
15 µl (bei Spermienkonzentrationen von < 10 mill/ml)

des verflüssigten Ejakulats auf die Mitte eines Deckgläschens aufgetragen und auf das Farbfeld des Objektträgers so gelegt, dass sich das Ejakulat nach allen Seiten gleichmäßig verteilt. Mit Hilfe eines Stiftes kann durch Druck auf die Mitte des Deckglases eine gleichmäßige Verteilung der Probe bewirkt werden.

Die Spermatozoen sind nach ca. 30 Minuten bei Raumtemperatur schwach angefärbt. Das Präparat sollte jedoch ca. 2 Stunden bei Raumtemperatur liegenbleiben; bis dahin ist der größte Teil der Spermatozoen unbeweglich und die Spermatozoen sind gut angefärbt.

Anschließend wird die Differenzierung in normale und pathologische Formen vorgenommen. Bei Raumtemperatur ist das Präparat mind. 4 Stunden haltbar. Kann eine mikroskopische Differenzierung erst nach 4–24 Stunden durchgeführt werden, so ist das Präparat sofort nach dem Anfertigen im Kühlschrank aufzubewahren.

Die Spermatozoen sind auch nach 20–24 Stunden bei +4 °C im Kühlschrank gut angefärbt.

Eine Fixierung der Ausstriche durch Einbettung mit Eukitt ist nicht möglich; die Spermatozoen sind anschließend nicht mehr differenzierbar.

Auswertung

Die Auswertung erfolgt bei 800–1000facher Vergrößerung mit Ölimmersion. Üblicherweise werden 200–500 Spermatozoen pro Präparat beurteilt und nach den Kriterien für normale und pathologische Formen in Prozenten dokumentiert.

In routine semen analysis Testsimplets® can be used in place of the time-consuming and costly Papanicolaou staining. Testsimplets® is a labour-saving method for staining the fresh ejaculate.

Procedure

The amount of liquefied ejaculate needed is dependent on the spermatozoa concentration:

5 µl (spermatozoa concentration > 50 mill/ml)
10 µl (spermatozoa concentration > 10–50 mill/ml)
15 µl (spermatozoa concentration < 10 mill/ml)

Apply a drop of the liquefied ejaculate to the middle of a cover slip and place on the prestained area of the slide in such a way that the ejaculate spreads evenly in all directions. To ensure even distribution of the sample it is useful to press on the middle of the cover slip with a pencil.

After 30 minutes a weak staining is attainable, however the preparation should be left to stand at room temperature for about 2 hours until the majority of the spermatozoa have become immobile and well stained.

Then differentiation into normal and pathological forms is undertaken. The preparation is stable for at least 4 hours at room temperature. If microscopic differentiation cannot be performed until after 4 to 24 hours the slide should be refrigerated immediately after preparation. After 20–24 hours stored in a refrigerator at 4 °C the spermatozoa are still well stained.

Fixation using Eukitt® is not advisable due to the subsequent destruction of the spermatozoa.

Evaluation

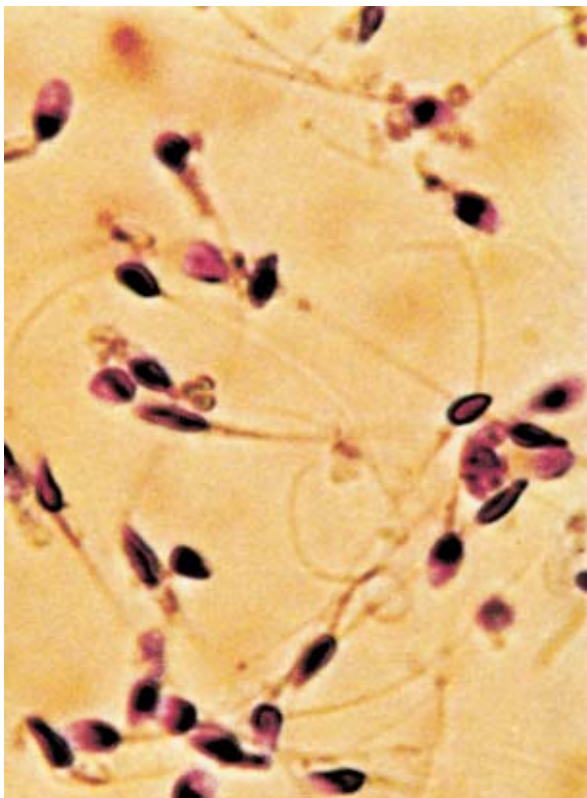
Evaluation is performed at a magnification of x800 to x1000 with oil immersion. Usually 200–500 spermatozoa per preparation are evaluated and documented in percent according to the criteria for normal and pathological forms.

Charakterisierung der Spermatozoen

Die Spermatozoen werden kontrastreich angefärbt. Sowohl Kopf- als auch Mittelteil und Schwanz sind gut zu erkennen. Der innerhalb des Kopfteils liegende Kern wird dunkelpurpur angefärbt. Das Plasma erscheint je nach Fokussierung orange bis hellviolett. Der Mittelteil erscheint bei pathologischer Vergrößerung ebenfalls hellviolett. Der Schwanzteil wird nur schwach angefärbt, ist aber deutlich zu sehen.

Normalwert

Über 60% morphologisch normal ausgebildete Spermatozoen.



Humansperma mit hohem Anteil normal geformter Spermatozoen

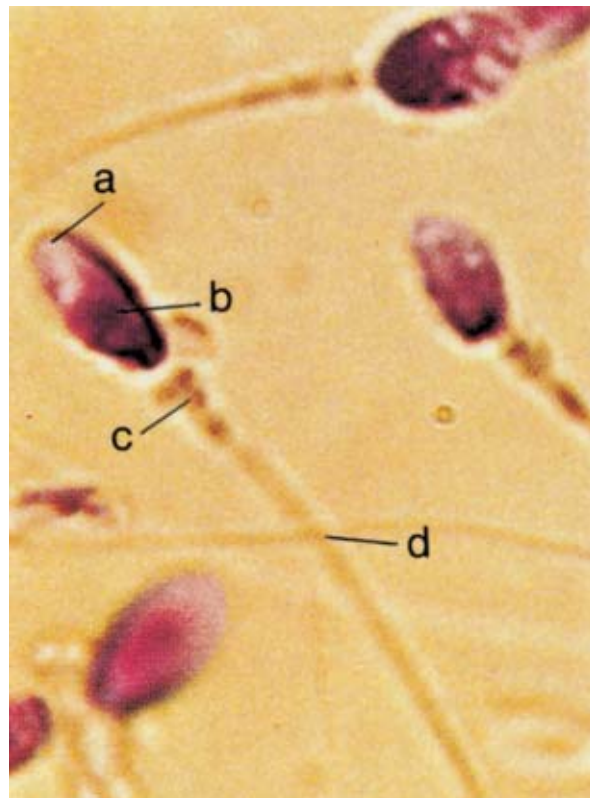
Human spermatozoa with high proportion of morphologically normal spermatozoa

Characterization of the spermatozoa

The spermatozoa stain very well. The head, the mid-piece and the tail can all be clearly identified. The nucleus lying within the head stains dark purple. The plasma appears orange to pale violet depending on the focus. The mid-piece also appears pale violet if it is pathologically enlarged. The tail is only lightly stained but is clearly visible.

Normal findings

More than 60% morphologically normal spermatozoa.

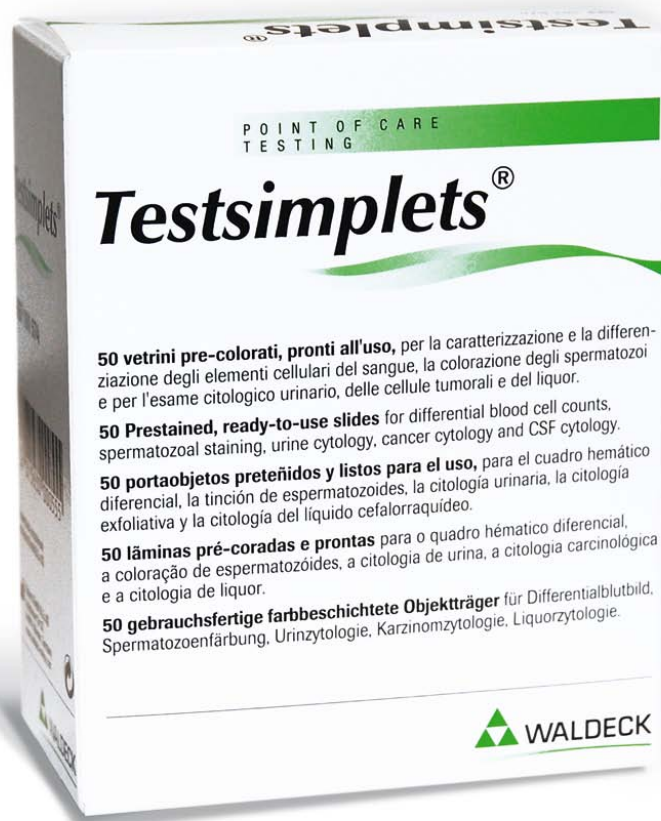


Normal geformtes Spermatozoon

- a) Akrosom
- b) Kern
- c) Mittelteil
- d) Schwanz

Morphologically normal spermatozoon

- a) acrosome
- b) nucleus
- c) mid-piece
- d) tail



Art. Nr.	Bezeichnung	Packungsinhalt
191574	Testsimplets®	50 gebrauchsfertige, farbbeschichtete Objektträger 50 staubfreie Deckgläser (24 x 36 mm)
Cat. No.	Name	Pack content
191574	Testsimplets®	50 ready-to-use, prestained slides 50 dust-free cover slips (24 x 36 mm)

Exklusiv-Vertrieb weltweit über
exclusive worldwide distribution by



Diagonal GmbH & Co. KG
Havixbecker Str. 62
D-48161 Münster
Germany
Telefon: +49 (0) 25 34/970-216
Telefax: +49 (0) 25 34/970-116
E-Mail: info@diagonal.de
Internet: www.diagonal.de

Differentialdiagnostische
Mikroskopie mit
Testsimplets® –
vielfach bewährt
in Praxis und Labor

*Differential diagnostic
microscopy with
Testsimplets® –
well tried in
practice and laboratory*



Waldeck GmbH & Co. KG
Havixbecker Str. 62 · D-48161 Münster
Tel.: +49 (0) 25 34/970-0
Fax: +49 (0) 25 34/970-258
E-Mail: info@waldeck-ms.de
Internet: www.waldeck-ms.de