

SEMEN-DIFF – zestaw do barwienia nasienia



Zastosowanie:

Semen-diff jest zestawem dedykowanym do barwienia nasienia, w celu oceny morfologii plemników. Specjalnie dobrane barwniki kontrastowo wybarwiają jądro, akrosom, witkę i wstawkę, umożliwiając bezbłędną ocenę uszkodzeń plemników zarówno ludzkich jak i zwierzęcych.

Sposób użycia:

1. Wykonać rozmaz świeżo upłynnionego nasienia i pozostawić do wyschnięcia na 15 min. w temperaturze pokojowej lub na 5 minut w temperaturze 37°C
2. Wysuszony rozmaz zanurzyć na 5 minut w utrwalaczu (można też pokryć utrwalaczem szkiełko umieszczone na mostku do barwienia). Następnie zlać utrwalacz i bez płukania pozostawić rozmazy do całkowitego wyschnięcia (30-40 min. w temperaturze pokojowej, 15 min. w temp. 37°C).
3. Po całkowitym wyschnięciu, spłukać preparaty wodą destylowaną, (w przypadku płukania poprzez zanurzenia w naczyniu z wodą, należy płukać dwukrotnie, używając za każdym razem świeżej wody).
4. Barwić preparat przez 2 minuty w barwniku A (ciemnoczerwonym).
5. Spłukać preparat wodą destylowaną.
6. Bejcować preparat przez 1 minutę w barwniku B (żółtozielonym).
7. Spłukać preparat wodą destylowaną.
8. Dobarwić rozmaz przez 1 minutę w barwniku C (ciemnozielonym)
9. Spłukać rozmaz wodą destylowaną i pozostawić do wyschnięcia.

Preparat najlepiej oceniać przy użyciu obiektywu 100x w cienkich miejscach rozmazu.

Uwagi:

1. Prawidłowo wykonany i zabarwiony rozmaz powinien posiadać lekko zielonkawy odcień.
2. Nasienie nieupłynnione, o podwyższonej lepkości lub z obecnością dużej ilości ciał żelatynowych mogą utrudnić lub wręcz uniemożliwić barwienie.
W tym wypadku należy próbkę nasienia rozcieńczyć w stosunku 1:10 0,9% roztworem NaCl. Po bardzo dokładnym wymieszaniu należy nasienie odwirować przy 800g w ciągu 10 minut, zlać ok. 95 % supernatantu a z pozostałości wykonać rozmaz po uprzednim dokładnym wymieszaniu.

Wyniki: Akrosom – zielononiebieski do zielonego

Jądro – różowe

Wstawka, witka – zielone

Cytoplazma komórek – zielona