zur Druckansicht wechseln

CellVision
Neubauer improved

Abb. 1

Warum CellVision ?

- keine aufwendigen Reinigungsverfahren
- reduziertes Risiko gegenüber potentiell infektiösem Material
- präzis festgelegte Kammerhöhe mit maximaler Genauigkeit und Reproduzierbarkeit
- Auftragsvolumina bereits aufgedruckt
- Kammern füllen sich durch Kapillarkräfte
- Farbcodierung ermöglicht schnelle Zuordnung des Kammertyps

FertiKult Gück GmbH
Zietenstraße 25a
10783 Berlin

Tel. 030 - 21 47 37 38
Fax 030 - 21 47 37 39

office@fertikult.de
www.fertikult.de

Neubauer

Das Neubauer-improved Hämozytometer - Anwendung

Das Neubauer-improved Hämozytometer hat zwei separate horizontal befüllbare Zählkammern (s. Abb. 1), von denen jede ein 3 x 3 mm² mikroskopisch sichtbares Raster eingraviert hat (s. Abb. 2). Die Kammerhöhe beträgt exakt 100 µm. Jede Zählfläche ist in neun 1 x 1 mm² große Rasterquadrate unterteilt. Die vier in Abb. 2 mit "A" gekennzeichneten Eckquadrate werden für die **Leukozytenzählung** verwendet.

Das große Quadrat in der Mitte ist zusätzlich unterteilt in 5 mal 5 Gruppenquadrate (Abb. 3) mit einer Seitenlänge von je 0,2 mm und einem Flächeninhalt von je 0,04 mm². Die Gruppenquadrate sind wiederum in 16 kleinste Quadrate von je 0,0025 mm² unterteilt. Fünf dieser Gruppenquadrate (hier mit "E" bezeichnet) werden für die **Erythrozytenzählung** verwendet.

Spermien werden je nach Verdünnung in den Gebieten 1, 2 oder 3 (Abb. 2) ausgezählt.

Besondere Beachtung verdient, daß die Kammer (bestehend aus 16 Kleinquadraten, Abb. 3) allseitig dreifache Grenzlinien aufweist, von denen die mittlere (!) Linie als die eigentliche Maßlinie anzusehen ist. Dies ist wichtig für die Beurteilung, ob Zellen, die im Grenzbereich liegen, mitzuzählen sind oder nicht.

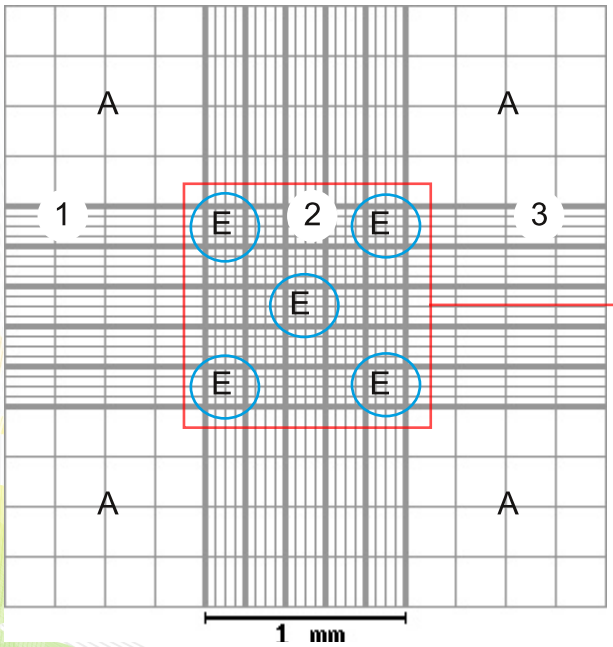

Abb. 2

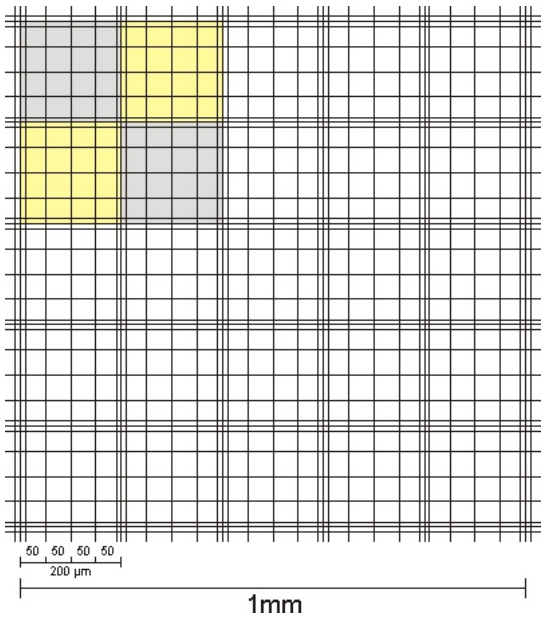

Abb. 3

Bestimmung der Spermienzahl in den Zählkammern

Neubauer

Die Spermienzahl sollte in beiden Kammern der Neubauer-improved bestimmt werden (Doppelbestimmung). Wenn beide Werte ausreichend übereinstimmen, gilt die Probe repräsentativ für das gesamte Ejakulat (vgl. Tab. 2.4 auf S. 40 des WHO-Handbuchs, 5. Aufl.).

Verwenden Sie ein Phasenkontrastmikroskop bei 200- oder 400-facher Vergrößerung.

Zur Immobilisierung der Zellen auf dem Raster lassen Sie die befüllte Neubauerkammer horizontal für mindestens 4 Minuten bei Raumtemperatur in einer Feuchtkammer (z.B. nasses Filterpapier in einer abgedeckten Petrischale) lagern, um ein Austrocknen zu verhindern.

Sie sollten mindestens 200 Spermien pro Doppelbestimmung auszählen, um einen akzeptablen niedrigen Stichprobenfehler zu erhalten (vgl. Tab. 2.2 auf S. 36 des WHO-Handbuchs, 5. Aufl.).

Start:
Zuerst das zentrale Rasterquadrat 2 (Abb. 2) Reihe für Reihe beurteilen, bis mindestens 200 Spermien und eine komplette Reihe (5 größere Teilquadrate) gezählt wurden, d.h. dass immer vollständige Reihen ausgezählt werden, niemals in der Mitte einer Reihe aufhören. Wenn noch keine 200 Spermien aus dem zentralen Rasterquadrat gesichtet wurden, muß in den Reihen der angrenzenden Rasterquadraten 1 und 3 weitergezählt werden.

Die Summe der insgesamt ausgezählten Reihen bis zum Erreichen von 200 Spermien muss dokumentiert werden, um dann ebenfalls die gleiche Anzahl von Reihen in der 2. Kammer des Hämozytometers auszuzählen. Nur so können Sie gewährleisten, dass Sie auch das gleiche Volumen in den beiden Bestimmungen ausgezählt haben.

Berechnung:

C = (N/n) x (1/20) x VF [Spermien pro nL oder 10^6 pro mL Ejakulat]
C = Konzentration
N = Summe gezählter Spermien (aus Doppelbestimmung)
n = Anzahl gezählter vollständiger Reihen (Summe aus Doppelbestimmung)
VF = Verdünnungsfaktor

Bsp.:
Verdünnung 1:20
1. Doppelbestimmung = 212 Spermien; 2. Doppelbestimmung = 245 Spermien
ausgezählte Reihen = 2*7 = 14
C = (457/14) x (1/20) x 20 = 32,6 Spermien/nL
= 33 x 10^6 Spermien/mL Ejakulat