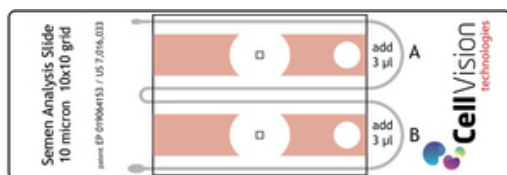


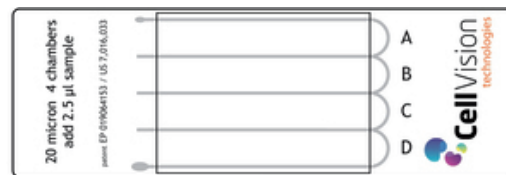
# Einmal-Zählkammern von CellVision eine saubere Lösung

## Warum CellVision für Ihre Spermienanalyse?

- Keine aufwendigen Reinigungsverfahren
- Reduziertes Risiko gegenüber potentiell infektiösem Material
- Präzise festgelegte Kammerhöhe mit maximaler Genauigkeit & Reproduzierbarkeit
- Auftragsvolumina bereits aufgedruckt
- Kammern füllen sich durch Kapillarkräfte
- Farbcodierung ermöglicht schnelle Zuordnung des Kammertyps
- Bestimmung von Konzentration und Motilität



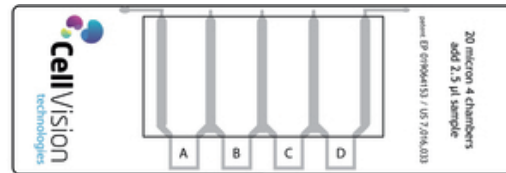
Typ Makler, 10µm KH (CV-1010-102)



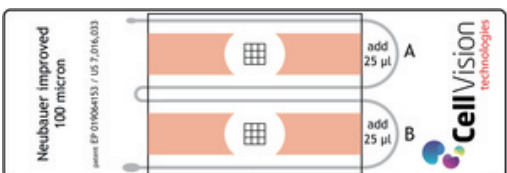
Typ CASA-Slide, Bsp. 20µm KH, horizontal (CV-1020-4ch)



Typ Makler, 20µm KH (CV-1020-102)



Typ CASA-Slide, Bsp. 20µm KH, vertikal (CV-1020-4cv)

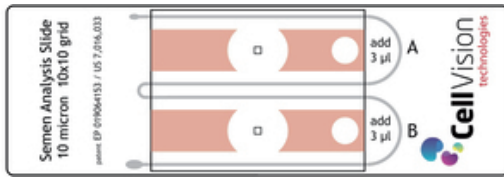


Typ Neubauer, 100µm KH (CV-1100-NI)

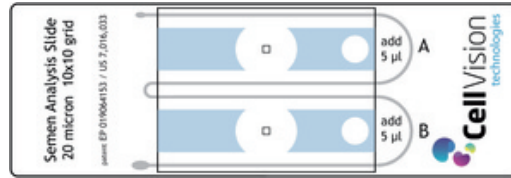
## Bestimmung von Konzentration, Morphologie und Beweglichkeit

### 1.) Manuelle Analysen

Zählkammern mit eingravierten Gitternetzlinien nach Typ Makler bieten wir in 2 Varianten an.



Makler/10<sup>2</sup> (10µm Kammerhöhe)

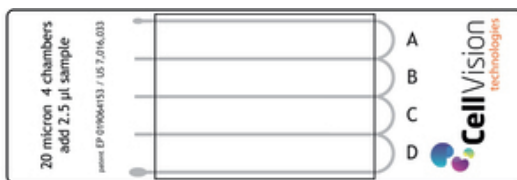


Makler/10<sup>2</sup> (20µm Kammerhöhe)

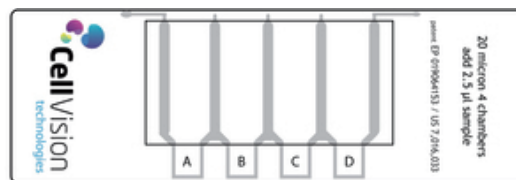
Objektträger mit je 2 Zählkammern mit je einem 10 x 10 µm<sup>2</sup> Gitternetz,  
Typ Makler/10<sup>2</sup> 10µm Kammerhöhe entspricht exakt dem der Makler-Zählkammer von Sefi Medical

### 2.) Analysen mit einem CASA - System

Für computergestützte Spermienanalyse verwenden Sie am besten die Einwegzählkammern ohne Gitternetzlinien in verschiedenen Kammerhöhen (10, 12, 16 20 oder 100µm) mit 4 befüllbaren Kammern:



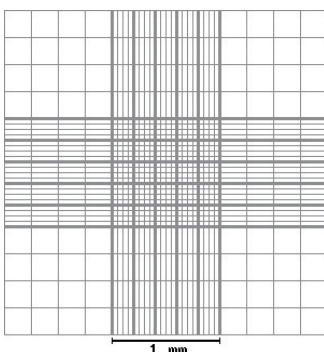
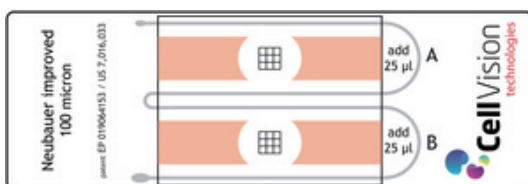
horizontale Befüllung



vertikale Befüllung

### 3.) Analysen nach WHO - Kriterien

Für Analysen nach WHO-Kriterien verwenden Sie Einwegzählkammern mit **Neubauer**-Gitter und einer Kammerhöhe von 100 µm.



## Manuelle Spermienzählung - Anwendung

Alle Einmalzählkammern der Firma CellVision sind einfach in der Anwendung. Das notwendige Probevolumen sowie der Auftragungsbereich ist auf jede Zählkammer gedruckt. Zur leichten Unterscheidung der unterschiedlichen Kammertypen gibt es Farbcodierungen. Für die manuelle Spermienanalyse bietet CellVision Zählkammern unterschiedlicher Kammerhöhe mit eingravierten Gitternetzlinien nach Typ Makler, Neubauer u.a. an. Die Zählkammern vom Typ Makler haben zwei separate horizontal befüllbare Kammern A und B (s. Abb. 1), von denen jede ein 100 x 100 µm mikroskopisch sichtbares Raster eingraviert hat (s. Abb. 2). Jede Zählfläche ist in 100 10 x 10 µm<sup>2</sup> große Rasterquadrate unterteilt.

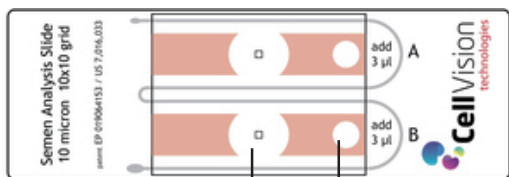


Abb. 1

Bereich für Spermienmotilität  
Bereich mit eingraviertem Raster zur Konzentrationsbestimmung

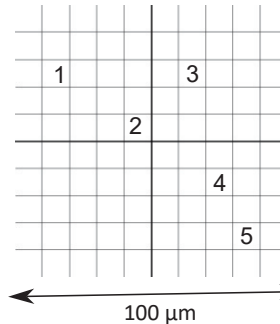


Abb. 2

laut CellVision werden 5 Kleinquadrate zur Auszählung empfohlen  
(entspricht in 10 µl o. 0,01 ml)

## Bestimmung der Spermienzahl in den Kammern

Die Spermienzahl sollte in beiden Kammern der Makler-Kammer bestimmt werden (Doppelbestimmung). Wenn beide Werte ausreichend übereinstimmen, gilt die Probe repräsentativ für das gesamte Ejakulat.

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

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.).

### ► Typ Makler mit Kammerhöhe 10 µm

1. Geben Sie **3 µl** der vollständig verflüssigten und homogenisierten Spermienprobe auf das Feld A und/oder B.
2. Die Kammer wird sich aufgrund von Kapillarkräften selbst füllen.
3. Wenn sich die Kammer vollständig gefüllt hat, entfernen Sie, falls notwendig, jeglichen Überschuss im Bereich A und/oder B.
4. Zählen Sie nun **zehn** beliebige Kleinquadrate (Abb. 3) aus.
5. Bestimmen Sie die Spermienbeweglichkeit im Motilitätsfenster.

### Berechnung:

$$C = (N/n) \times 10 \times 10^6 \quad [\text{Spermien pro ml Ejakulat}]$$

C = Konzentration

N = Summe gezählter Spermien (mindestens 200 laut WHO-Handbuch)

n = Anzahl gezählter vollständiger Reihen (wenn nach 10 Kleinquadr. noch keine 200 Spermien gezählt wurden); 10 = 10 Kleinquadrate (laut CellVision)

### Bsp.:

N = 223 Spermien

n = 11 Kleinquadrate

$$C = (223/11) \times 10 \times 10^6 = 203 \times 10^6 \text{ Spermien / ml Ejakulat}$$

### ► Typ Makler mit Kammerhöhe 20 µm

1. Geben Sie **5 µl** der vollständig verflüssigten und homogenisierten Spermienprobe auf das Feld A und/oder B.
2. Die Kammer wird sich aufgrund von Kapillarkräften selbst füllen.
3. Wenn sich die Kammer vollständig gefüllt hat, entfernen Sie, falls notwendig, jeglichen Überschuss im Bereich A und/oder B.
4. Zählen Sie nun **fünf** beliebige Kleinquadrate aus.
5. Bestimmen Sie die Spermienbeweglichkeit im Motilitätsfenster.

#### Berechnung:

$$C = (N/n) \times 5 \times 10^6 \quad [\text{Spermien pro ml Ejakulat}]$$

C = Konzentration

N = Summe gezählter Spermien (mindestens 200 laut WHO-Handbuch)

n = Anzahl gezählter vollständiger Reihen (wenn nach 5 Kleinquadr. noch keine 200 Spermien gezählt wurden); 5 = 5 Kleinquadrate (laut CellVision)

#### Bsp.:

N = 220 Spermien

n = 21 Kleinquadrate

$$C = (220/21) \times 5 \times 10^6 = 52 \times 10^6 \text{ Spermien / ml Ejakulat}$$

### ► Typ Neubauer-improved Hämozytometer mit Kammerhöhe 100µm

Das Neubauer-improved Hämozytometer hat zwei separate horizontal befüllbare Zählkammern von denen jede ein 3 x 3 mm<sup>2</sup> mikroskopisch sichtbares Raster eingraviert hat.

Die Kammerhöhe beträgt exakt 100 µm. Jede Zählfläche ist in neun 1 x 1 mm<sup>2</sup> 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 mm<sup>2</sup>. Die Gruppenquadrate sind wiederum in 16 kleinste Quadrate von je 0,0025 mm<sup>2</sup> 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. 3) ausgezählt.

Besondere Beachtung verdient, dass die Kammer (bestehend aus 16 Kleinquadrate, Abb. 4) 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.

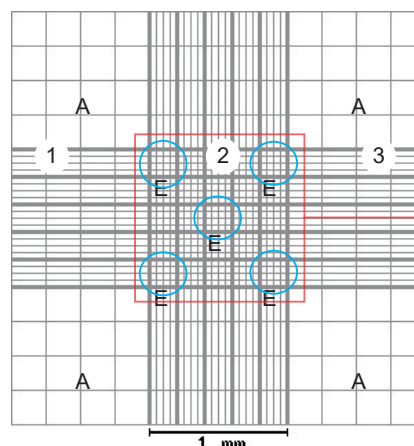


Abb. 3

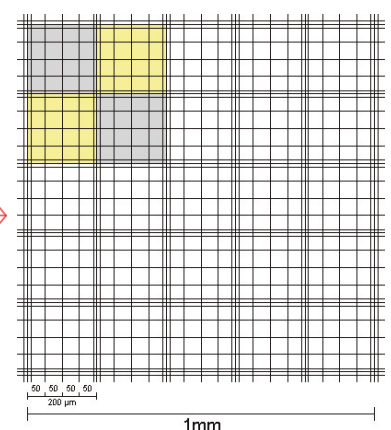


Abb. 4

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. 3) Reihe für Reihe beurteilen, bis mindestens 200 Spermien und eine komplette Reihe (5 größere Teilquadrate) gezählt wurden. Das heißt, es werden immer vollständige Reihen ausgezählt. 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:**

**$C = (N/n) \times (1/20) \times VF$**  [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 =  $2 \times 7 = 14$

**$C = (457/14) \times (1/20) \times 20 = 32,6 \text{ Spermien/nl} = \underline{\underline{33 \times 10^6 \text{ Spermien/ml Ejakulat}}}$**