

MAKLEROVA KOMŮRKA

SPRÁVNÉ VYŠETŘENÍ EJAKULÁTU DLE WHO STANDARD

BRATISLAVA – 1.3.2018

Maklerova komůrka

- ▶ je jednoduché zařízení pro rychlé a přesné spočítání a ohodnocení motility přímo z neředěného spermatu.

- ▶ snížená hlavní část má kovovou bázi a dvě držátka. Ve středu báze je malý disk, na který se dává vzorek. Na okrajích disku jsou čtyři do čtverce rozmístěné hroty, které jsou vyvýšeny nad povrch centrální části o 10 mikronů.
- ▶ vrchní (horní) část komůrky tvoří krycí sklíčko. Uprostřed jeho spodní strany je 1-2 mm mřížka, rozdělená na 100 čtverců, každý o rozměrech 0.1 x 0.1 mm.
- ▶ Po umístění krycího skla na čtyři hroty bude prostor ohraničen dvěma povrchy a každá řada 10 čtverců mřížky má přesně 0.001 mm³ nebo 1 milion / ml.

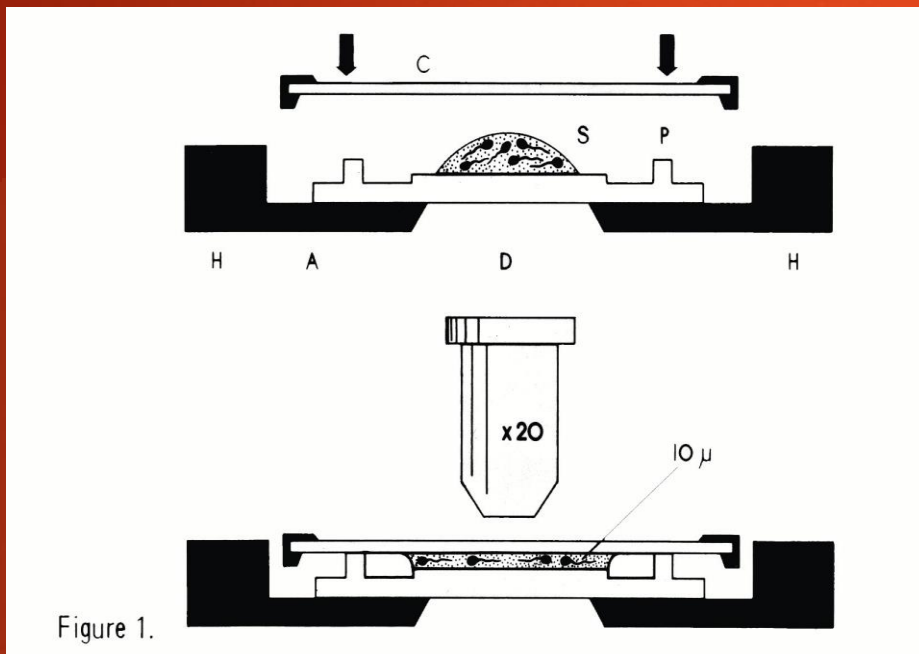
MAKLER[®] COUNTING CHAMBER



 SEFI MEDICAL INSTRUMENTS LTD.

Maklerova komůrka

► PŘÍPRAVA



- Před použitím se přesvědčte, že protilehlé skleněné povrchy jsou naprosto čisté a bez smítek, jelikož velikost těchto částí je více než 10 mikron.
- Čistota může být testována umístěním skla na čtyři hroty a sledováním barevného okraje u čtyř kontaktních bodů (Newtonův fenomén). Ten lze nejlépe pozorovat oproti odrazu fluorescence.

ANALÝZA SPERMATU

- ▶ Sperma dobře promíchat, vyvarovat se tvorbě bublinek. Pomocí hůlky umístit malou kapku do centra nižšího disku.
- ▶ Uchopit krycí sklo v místě 2 tmavých bodů, položit na čtyři hroty a zároveň opět pozorovat objevení se barevných okrajů. To zajistí automatické rozprostření kapky do flouščky 10 mikronů. Kapka bude tedy rozprostřena po celé ploše nižšího disku. Případný nadbytek nenaruší správnou analýzu pokud nepřetéká přes hroty. Na krycí sklo již nesahat a neodkrývat.

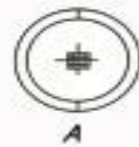


UPOZORNĚNÍ

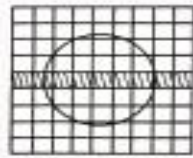
- ▶ **NIKDY NEPOUŽÍVAT** objektiv 40 x - krycí sklo se může poškrábat nebo zlomit.
- ▶ Objektiv 20 x nastavovat opatrně!!! - nejlepší viditelnost je při výšce objektivu nad sklíčkem 1mm.
- ▶ Kombinace objektivů je 20 x objektiv + 10 x okulár.
- ▶ Sperma dobře promíchat - pro správné rozmístění vrstvy spermií pod krycím sklem.

POČÍTÁNÍ SPERMÍÍ

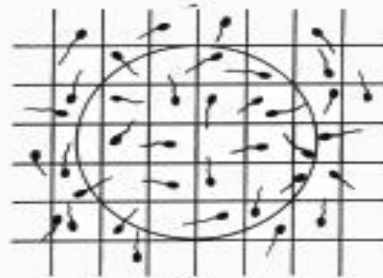
- ▶ Pokud jsou spermie příliš husté a pohyblivé, je vhodné je **imobilizovat** - přeneseme nějakou část vzorku do další zkumavky, zkumavku pak vložíme na 5 min do vody o teplotě 50 -60 °C (do nádoby namícháme 2/3 vařící vody a 1/3 vodovodní vody).
- ▶ Kapku z dobře promíchaného předehřátého vzorku pak umístíme na komůrku a překryjeme. Hlavičky spermií ve čtvercích se počítají stejným způsobem, jako krevní buňky v hemocytometru.
- ▶ Konečný počet spermií získáme sečtením jejich počtu ve vybraných 10 – ti čtvercích. Tento počet reprezentuje koncentraci spermií v mil/ml. Je vhodné počítání zopakovat 1 nebo 2 krát a určit průměr. Ještě je doporučeno určit počet spermií ze 2 nebo 3 jiných kapek vzorku, aby vzrostla spolehlivost výpočtu.
- ▶ U případů oligospermických pacientů je vhodnější spočítat spermie v celé mřížce. Pak k odečtenému počtu přidáme 5 nul a výsledek je v mil/ml.



A



B



C

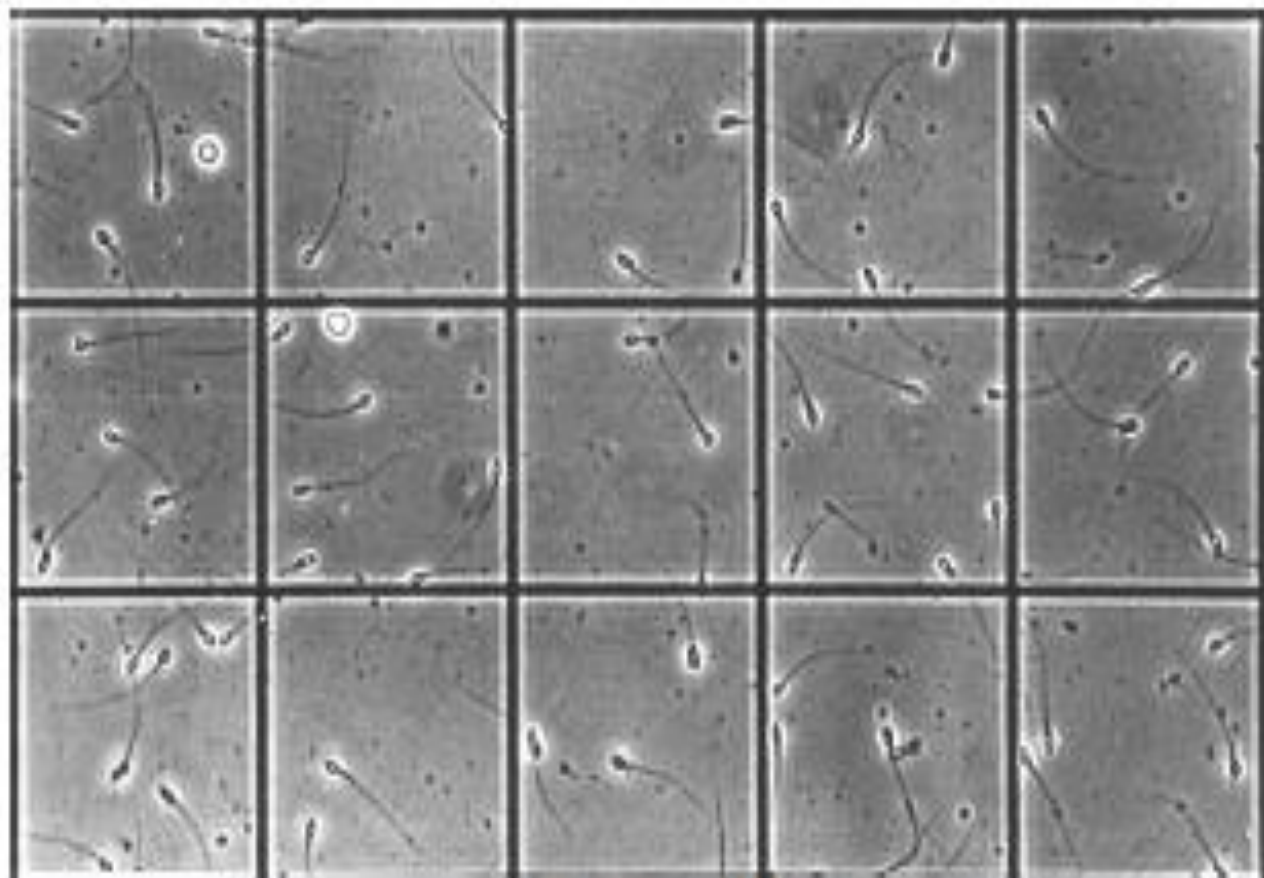
Figure 3.

POHYBLIVOST

- ▶ Stanovení pohyblivosti spermií a ohodnocení motility se musí provést do 3-5 minut, protože spermie mají tendenci migrovat z periferie.
- ▶ Motilita se hodnotí v 9 až 16 čtvercích mřížky – spočítáme nepohyblivé spermie a pak ve stejné oblasti spočítáme všechny motilní spermie.
- ▶ Doporučuje se postup zopakovat v jiné části mřížky a hodnoty zprůměrovat.

MORFOLOGIE

- ▶ Rychlé hodnocení morfologie spermatu můžeme provést na vlhkém nebarveném vzorku, který obsahuje imobilizované spermie na mikroskopu s fázovým kontrastem.
- ▶ Spočítáme všechny normální a abnormální spermie v určité oblasti mřížky a tuto proceduru opakujeme na jiných vzorcích až napočítáme celkově 200 spermií.
- ▶ U oligospermie je obvykle počet spermií nižší.
- ▶ Vypočítáme procento normálních a abnormálních forem spermií.
- ▶ Komůrka není vhodná pro určování morfologie ze suchých vzorků.



SEFI MEDICAL INSTRUMENTS LTD.

SPECIALNI PŘÍPADY

- ▶ **Bubliny** – Když se v oblasti mřížky vyskytnou bubliny, doporučuje se nahradit celou kapku jinou bez bublin. Jen v případě, že bubliny jsou malé a nezasahují do analýzy se vzorek ponechá. Velká částice prachu, vlákno atd. také zasahují do analýzy a kapka, která toto obsahuje by se měla také nahradit. **Významné změny v počtu spermií, získaných z různých kapek stejného vzorku znamenají, že vzorek nebyl dobře promíchán v případě vysoké viskozity, nebo že plocha komůrky nebyla dobře očištěna.**
- ▶ **Shluky** – Někdy se předehtřáté spermie shluknou uvnitř komůrky, pokud jsou příliš dlouho počítány. V tomto případě se doporučuje vyměnit kapku s řádně promíchaným novým vzorkem. Kapka s aglutinovanými shluky by měla být také nahrazena.
- ▶ **Krystaly** – Vzorky, které jsou dlouho ponechány mohou obsahovat krystaly, které zhorší počítání spermií. Někdy jsou tyto krystaly příliš velké a mohou narušit povrch skla. Proto vzorkům obsahujícím krystaly věnujte zvýšenou pozornost.

ČISTĚNÍ A PŘIPRAVA PRO ZNOVUPOUŽITÍ

- ▶ Nemáčet a nevyplachovat komůrku pod vodou z kohoutku.
- ▶ Ponořit štětku do čisté vody nebo do neničivého antiseptického roztoku a jednoduše utírat obě strany skel. Pak vymáčkat štětku a houbou získat přebytečnou vodu z komůrky. Nakonec utřít povrch skel speciálním papírkem na objektiv (čočky).
- ▶ **Vyhněte se dotýkání skel špičkami nebo ostrými předměty.**