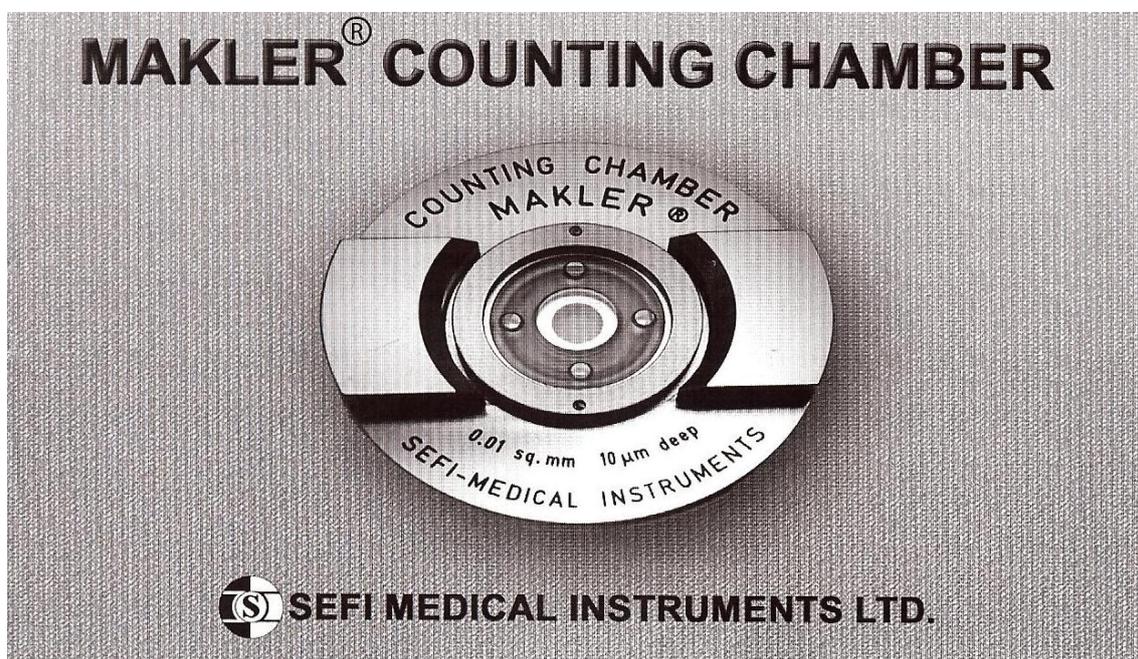


MAKLER 精子计数板

使用说明书



一、描述：

Makler 精子计数板（腔室）是一种方便精子计数使用的设备，用于快速精确的精子计数，活动性和形态学评价，可使用未稀释的样品。

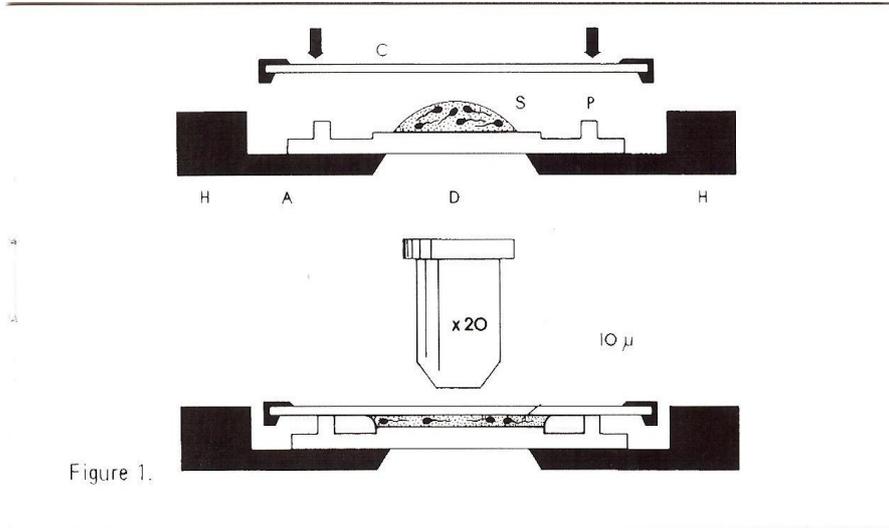


图 1

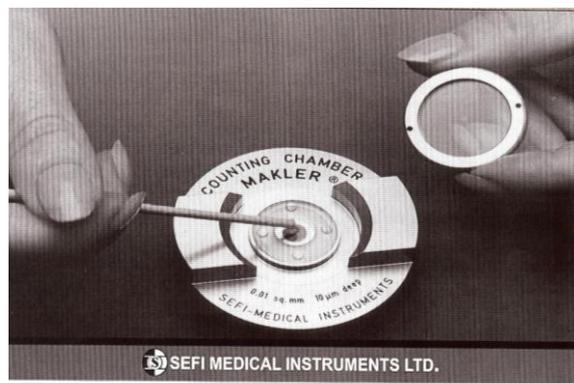
计数板包括两个部分（图 1）：

1. 下面的主要部分有一个金属基底（A）和两个把手（H）。在基底的中心有一个光学平玻璃制的平盘（D），样品放置其上。在平盘周围有四个针（P）。他们的尖端比平盘高 10 微米。
2. 上面部分是覆盖玻璃（C）被一个金属环环绕。在他的下表面中心有一个 1 mm 平方的格子，被分成 100 个方格，每个是 0.1 mm X 0.1mm 。当覆盖玻璃放置在四个针上时，在一行上的 10 个方格包围的空间就是一毫升的百万分之一。因此，在 10 个方格里的精子头数量代表着他们以 百万/mL 为单位的浓度。

二、腔室的准备：

在把样品放在平盘上之前，确保相对表面彻底清洁且无尘，因为因为大多数颗粒的尺寸大于玻璃间的狭小空间。为了此目的，用镜头纸擦两个表面。清洁度可以通过把覆盖玻璃放置到四个针上，观察四个接触点彩色边纹（Newton 现象）来检查。对着荧光灯可以看到最好的效果。

三、精液分析的方法：



充分混合样品，注意避免产生气泡。通过木棒或移液器的帮助，在平盘中心区域放置一小滴。用手指拿起覆盖玻璃黑色点的相反面，并立即放在四根针上。轻柔按下，再次观察彩色边纹。液滴会在平盘的整个区域扩散成厚度 10 微米的薄层。

只要针没有被淹没，多余的不会影响正常的分析。一旦覆盖玻璃就位，避免触摸、抬起以及再次覆盖。因为这会改变腔室内精子的平均分布。用把手拿起腔室并放置在显微镜平台上。可能需要用腔室夹头来进行固定。

四、特别注意事项

1, 绝对不要对此腔室使用 40X 物镜。这样盖玻片在聚焦时会被破坏。

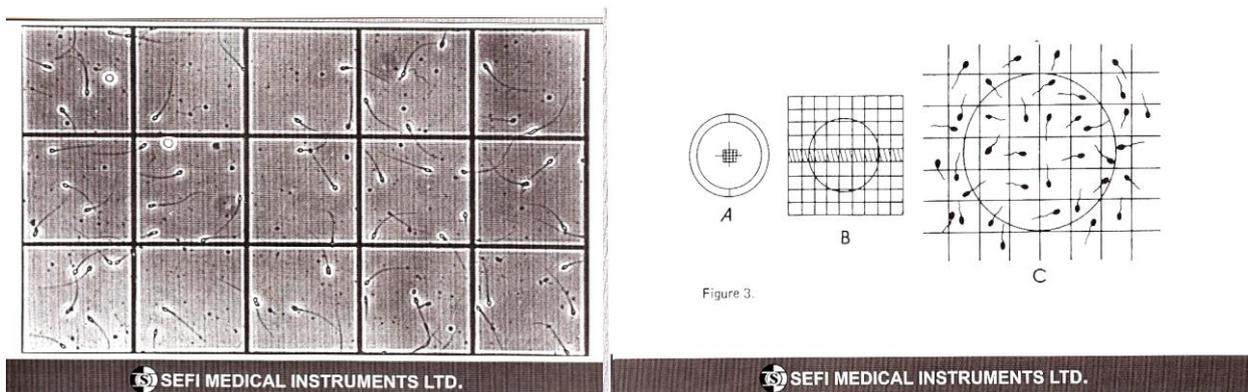
2, 即使使用合适的 20X 物镜，也要小心不要压到覆盖玻璃上。一般当物镜末端距离表面 1mm 的时候，图像是清晰的。如果因为不正确的使用显微镜导致覆盖玻璃损坏，我们不会负责。

3, 推荐使用 20X 物镜和 10X 目镜。不推荐使用 10X 物镜，因为精子看起来会太小，除非用 20X 目镜。

五、精子计数：

如果精子太密集和活动，他们首先需要被固定。这很容易做到，通过把样品一部分转移到另一个测试管。然后测试管插入 50°C-60°C 热水中，大约 5 分钟。一滴充分混合的，预热的样品放置在腔室上并盖上覆盖玻璃。在格子的方格里精子头被计数，与血液学中计数血细胞的方法一样。 (图 3)

在此精子的数量是最重要的，在连续一系列 10 个方格里对其计数。数量代表了以 百万每毫升为单位的浓度。在其他一系列或两列里重复此操作，以测定平均值。可以选择用其他 2 或 3 滴样品进行计数以提高计数的可靠性。在精子缺乏症样品中，推荐在整个格子区域计数。



在精子聚焦之后，移动显微镜平台把各自定位在视野中心。然后，调节腔室以使格子线处于水平和垂直位置。

在此搜索期间你可能会观察到：

A) 精子分别是是否均匀？如果不是，样品没有混合好。

B) 是否所有精子都在一个聚焦平面，没有模糊？如果不是，可能表面没有清洁或两个表面之间有大的颗粒。

任意情况，都要从开始重复。

六、活动性评价：

推荐在样品准备好 3-5 分钟之内进行活动性评价，以避免从周边移动过来的精子的干扰。计数 9 或 16 格内所有不能动的精子。然后计数相同区域内能动的精子且评估移动等级+1 到+4. 在格子的另一个区域重复此过程，以及另外 3 到 4 滴样品并计算平均值。

这样的评估比原始载玻片上的要精确很多，因为那里精子被盖玻片压缩且活动性被损害。Makler 精子计数板提供了标准条件，对所有分析样品精子都可以在一个光滑的水平面自由移动。

七、形态学：

快速精子形态学评价可以从一个湿的未染色的样品进行，其包含固定的精子。推荐使用一个相差显微镜。在格子的一个特定区域计数所有正常和不正常精子，且从其他样品重复此过程以达到总计数 200。显然，精子缺乏症样品扫描的精子数可以更低。腔室不适合染色的，干的样品进行形态学测定。

八、特殊情况：

气泡：格子区域如果出现气泡，推荐换一滴样品，除非气泡非常小，不影响分析。

大的灰尘颗粒，纤维等，也会通过改变空间大小来影响计数，也应该更换一滴样品。如果样品没有混合完全，高度粘稠，或腔室有颗粒或灰尘；在同一样品不同滴之间计数会出现较大差别。

凝聚：在腔室里有时周围的精子会聚集，如果在计数之前过去了太久。这种情况下，更换此滴样品为适当混合的新样品。在个别情况下，在格子区域内会出现胶状聚集，此时应更换样品。

结晶：样品时间过长可能包含晶体，可能不会影响计数，但使计数更困难。

有时候，这些晶体太大，可能会损坏表面区域。因此，分析包含晶体的样品时需特别注意。

九、为了重复使用的清洗和准备：

不要用自来水淋洗或浸泡腔室。把刷子蘸水或非腐蚀性杀菌溶液，并擦玻璃的两个面。然后，挤压刷子擦掉剩下的水。最后用无毛镜头纸擦干表面，尽量避免触摸针的尖端。腔室现在可以重复使用了。

一般来说，一旦检查固定，不需要改变聚焦。无需提高物镜，简单的把腔室滑进滑出即可。

十、附件：

- ✓ 清洁刷
- ✓ 无毛镜头纸
- ✓ 腔室夹头——在精子分析期间此设备应该被放置在显微镜平台上。紧紧夹住腔室使之可以在平台上平滑移位。当精子分析结束，握住夹头把腔室滑出。要进行新的精子分析，再次把腔室滑进夹头。
- ✓ 英文说明书