

SLGC 血球計算盤 算定法

.....

バクテリアカウンター

バクテリアカウンター(Bacteria Counter)計算盤は同一の目盛が刻まれた2面の計算室をもち、各計算室の容積は0.18 μ Lです。また計算室の深さは、顕微鏡観察時における細胞等の重なりを防ぐため20 μ mと浅く、各種細菌類やプランクトン、血小板(約 2×10^8 個/mL、径2 μ m)など微小な細胞の算定に適しています。目盛標線は図-1のように縦横とも一辺の長さが3.000mmで、これが各三等分され全体が1mm \times 1mmの9個の大ブロックに区分されています。このうち中央の大ブロックAは絶対数の多い細胞等の算定に使用し、四隅の大ブロックW₁~W₄は絶対数の少ない細胞等の算定に使用します。以下二つの算定方法について説明します。

図-1 目盛標線図

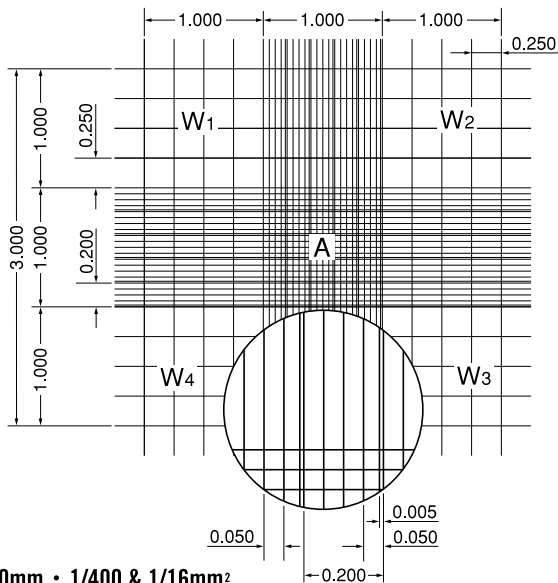
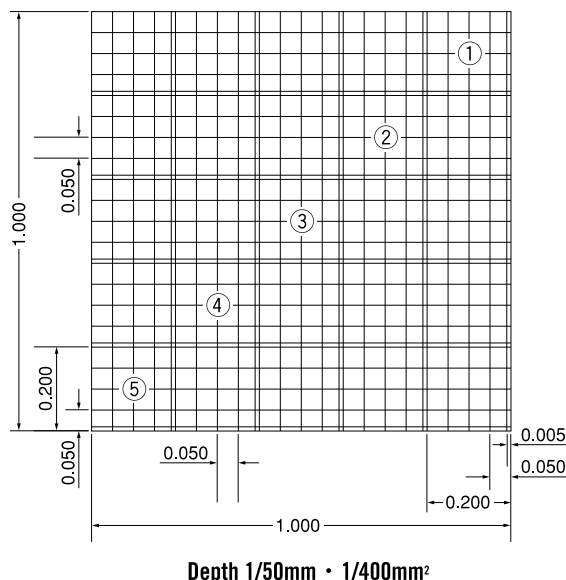


図-2 中央大ブロック(A部)拡大図



四隅の大ブロックを使用した算定法

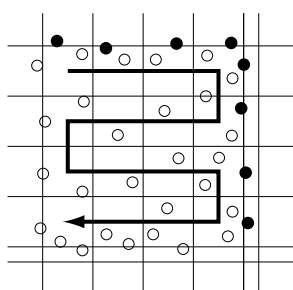
四隅の大ブロックW₁~W₄は、図-1のように一辺の長さが1.000mmの正方形で、これが縦横4等分されそれぞれ16個のマス(小正方形)に区分されています。計算室の深さはカバーガラスをセットすると0.020(1/50)mmとなるので、各大ブロックの容積は1/50mm³、1マスの容積は1/800mm³となります。

- (1) ピペットを用いて1マスあたり細胞数が5~10個程度になるよう検体原液を希釈します。1回の算定に使用する液量は計算室1面あたり約2 μ L、2室合計で約4 μ Lです。

例) 細胞数 1×10^7 個/mLの原液使用時の1マスあたり細胞数は12.5個となります。

- (2) よく混和して細胞分布を均一にした希釈液を別紙使用法にしたがい計算室に入れ、400倍顕微鏡下でW₁~W₄の中にある細胞をカウントします。粘度の高い原液をそのまま算定する場合には適量を計算室に滴下し、その上から気泡が入らないよう注意しながらカバーガラスをセットします。

図-3 線上の細胞の数え方



(●印のものは数えない)

- (3) W₁の左上のマスから数えはじめ、図-3の矢印の順序に従い16マス内を計数します。こうして4つの大ブロック内にある細胞をすべて数えます。境界線上にある細胞は、重複を避けるため、図-3のように相対する辺いづれか一方の線上にある物だけを数えます。

- (4) 以上により求めた細胞総数をcとすると、検体原液1mL(1cc)中の細胞数Cは、

$$C = c / 4 \times 50 \text{ (計算室の深さ)} \times [\text{希釈倍率}] \times 1,000$$

$$= 12,500c \times [\text{希釈倍率}]$$

- Cを1,000で割ると1 μ Lあたり細胞数となります
- 希釈を行わない時は希釈倍率の数字を1にします

中央大ブロックを使用した算定法

中央の大ブロックAは、図-2のように一辺の長さが1.000mmの正方形で、これが各20等分され400個のマス(小正方形)に区分されています。計算室の深さはカバーガラスをセットすると0.020(1/50)mmとなるので、大ブロックの容積は1/50mm³、1マスの容積は1/20,000mm³となります。

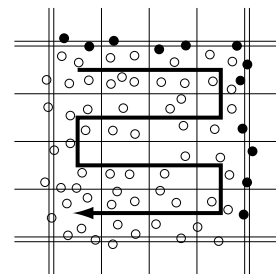
- (1) ピペットを用いて1マスあたり細胞数が5~10個程度になるよう検体原液を希釈します。1回の算定に使用する液量は計算室1面あたり約2 μ L、2室合計で約4 μ Lです。

例) 細胞数 1×10^7 個/mLの原液使用時の1マスあたり細胞数は平均0.5個となります。

- (2) 別紙使用法にしたがい希釈液を計算室に入れ、数分間静置して細胞の沈下を待ち、400倍顕微鏡下で細胞をカウントします。

- (3) 図-2の、2本線で区切られた16マスの集合体(中ブロック)①~⑤の中にある細胞を数えます。はじめに①の左上のマスから数えはじめ、図-4の矢印の順序に従い16マスを計数します。こうして5個の中ブロック内にある細胞数をすべて数えます。境界線上にある細胞は、重複を避けるため、図-4のように相対する辺いづれか一方の線上にある物だけを数えます。

図-4 線上の細胞の数え方



(●印のものは数えない)

- (4) 以上の5中ブロック(80マスに相当)内にある細胞総数をcとすると、検体原液1mL中の細胞数Cは、

$$C = c \times 400 / 80 \times 50 \text{ (計算室の深さ)} \times [\text{希釈倍率}] \times 1,000$$

$$= 250,000c \times [\text{希釈倍率}]$$

- (5) 1マスあたり細胞数が少ない場合は、算定精度を高めるため大ブロック内にあるすべての細胞数をカウントします。この総数をc'とすると、

$$C = c' \times 50 \times [\text{希釈倍率}] \times 1,000 = 50,000c' \times [\text{希釈倍率}]$$

暗視野カウンターは計算室深さ10 μ m、計算盤肉厚1.3mmの暗視野測定対応の計算盤です