

SLGC 血球計算盤 算定法

暗視野カウンター

暗視野カウンター(Dark-field Counter)計算盤は、可視光の波長よりも小さな細胞等を高いコントラストで観察することが出来る、暗視野顕微鏡対応の厚さ1.3mmの計算盤です。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 $0.01\mu\text{L}$ となっています。また計算室の深さは、顕微鏡観察時における微小細胞等の重なりを防ぐため $10\mu\text{m}$ と浅く設定されています。目盛標線は図-2のように縦横とも一辺の長さが1.000mmの正方形(大ブロック)で、これが各20等分され全体が400個のマスの(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 $0.010(1/100)\text{mm}$ となるので、計算室の容積は $1/100\text{mm}^3$ 、1マスの容積は $1/40,000\text{mm}^3$ となります。

図-1 構造 図

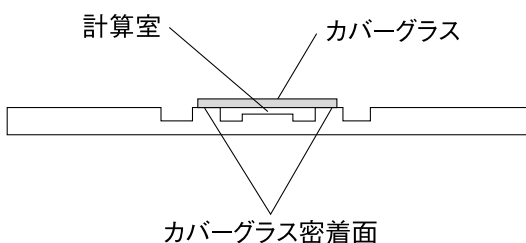
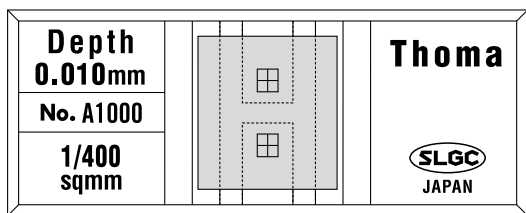
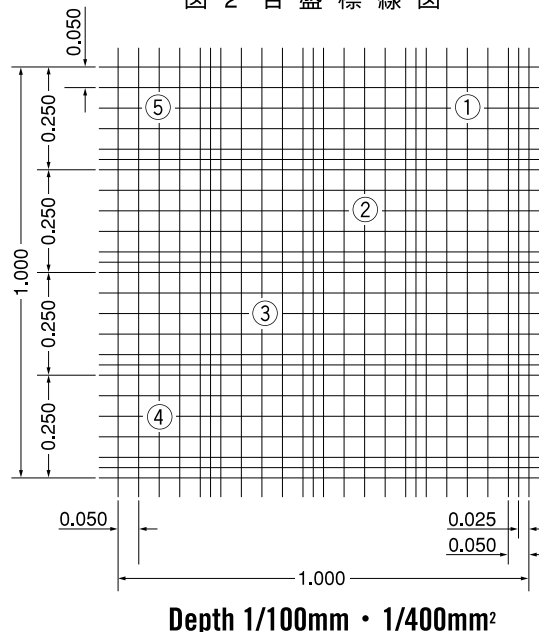


図-2 目盛標線 図



算 定 法

(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 $1\mu\text{L}$ 、2室合計で約 $2\mu\text{L}$ です。

- 希釈倍率の求め方：検体原液1mLあたり推定細胞数をA個、求める希釈倍率をz倍とすると、 $(A/1,000 \times 1\text{マスの容積})/z < 10$ 、したがって、 $z > A/(4 \times 10^8)$

(2) よく混和して細胞分布を均一にした希釈液をピペットに採り、別紙使用法にしたがい計算室に入れます。

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上に滴下し、その上から、気泡を入れないよう注意しながらカバーガラスをセットします。

(3) 数分間静置して細胞等の沈下を待ち、顕微鏡下でカウントします。

高倍率で計数する場合には対物レンズのカバーガラスへの接触到注意して下さい。

(4) 図-2の、3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。

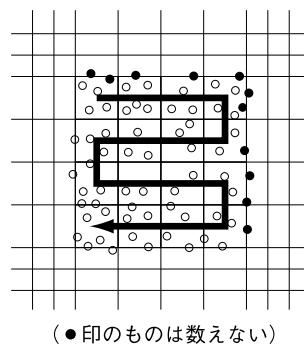
はじめに①の左上のマスの細胞を数えはじめ、図-3の矢印の順序に従い16マスを計数します。こうして5個の中ブロック内にある細胞をすべて数えます。境界線上にある細胞は、重複を避けるため、図-3のように相対する辺いづれか一方の線上にある物だけを数えます。

(5) 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(1cc)中の細胞数Cは、

$$C = c \times 400/80 \times 100 (\text{計算室の深さ}) \times [\text{希釈倍率}] \times 1,000 = 500,000c \times [\text{希釈倍率}]$$

- Cを1,000で割ると $1\mu\text{L}$ 中の細胞数になります
- 希釈を行わない時は希釈倍率の数字を1にします

図-3 線上の細胞の数え方



(●印のものは数えない)

2面の計算室で同時に算定を行いその平均値を求めると、より正確な算定結果が得られます