

SLGC 血球計算盤 算定法

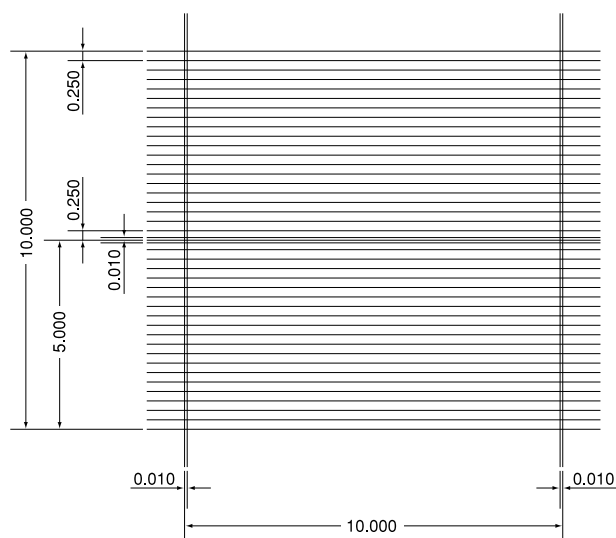
ナジェットチャンバー

ナジェットチャンバー(Nageotte Chamber)計算盤は同一の目盛が刻まれた2面の計算室を持っています。各計算室の容積は50 μ Lで、一度に100 μ Lのサンプルを測定することが出来ます。白血球除去血液製剤中の残存白血球数の計数をはじめ、動物実験での血液中のマイクロビーズの算定など、絶対数が非常に少ない、高い検出感度を要求される細胞等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10.000mmで、これが横に40等分(0.250mm \times 40)され40個のグリッドに区分されています。また計算室の深さは、カバーガラスをセットすると0.500(1/2)mmとなるので、全体の容積は50mm³、1グリッドの容積は1.25mm³となります。

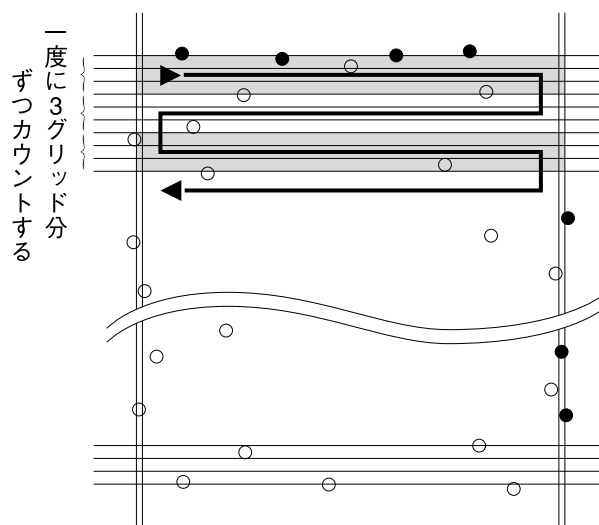
以下残存白血球数の算定を例に説明します。

図-1 ナジェットチャンバー目盛標線図



Depth 0.500mm \cdot 2.500mm³

図-2 線上の細胞の数え方



(●印のものは数えない)

白血球算定法

- (1) マイクロピペット等を用いて希釈液(チュルク液等)を9、次に検体液を1の割合で試験管に入れ、10倍希釈液を作ります。この時、チップ外側に付着した血液を清浄綿等できれいにふき取った後、チップ先端を希釈液に入れて数回ピペッティングを行い、検体液の分量を正確に希釈液に入れるようにします。1回の算定で使用する液量は、計算室1面当たり約90 μ Lです(操作にともなうロス分は含んでいません)。
- (2) ミキサー等で攪拌した後、数分間静置して赤血球の溶血を待ちます。
- (3) 再度よく攪拌して細胞分布を均一にした後、この希釈液をマイクロピペット等に採ります。
- (4) 別紙使用法にしたがい希釈液を計算室に入れ、保湿したシャーレの中に10分程度静置して白血球の沈下を待ちます。つぎに計算盤をステージにセットし、100倍顕微鏡下で白血球をカウントします。
- (5) 図-2のように、はじめに上段グリッドの左端に焦点をあわせ、右方向へ移動しながら上段3グリッド内にある白血球をカウントします。こうして一度に3グリッド分ずつ計数しながら、図-2の矢印の順序で40グリッド内にあるすべての白血球をカウントします(中間目印として、20グリッド目に3重線があります)。また、境界線上にある白血球は、重複を避けるため、図-2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。
- (6) 以上により求めた白血球総数をxとすると、検体1mL中の白血球数Xは、

$$X = x/50(\text{計算室容量}) \times 10(\text{希釈倍率}) \times 1,000 = 200x$$

- Xを1,000で割ると1 μ L中の白血球数になります。
- 希釈を行わない時は希釈倍率の数字を1にします。

以上の算定を2つの計算室で同時に行い、その平均値を出すとより正確な算定結果が得られます。