Instructions pour des cellules de numération des globules sanguine ou hémocytomètre

Ce document couvre les sujets suivants

1. Que sont les cellules de numération et où sont-elles utilisées?
2. Construction
3. Conception et identification
5. Remplissage
6. Comptage des particules
7. Calculs
8. Les instructions de nettoyage

1. Que sont les cellules de numération et où sont-elles utilisées?

Les cellules de numération sont des instruments de mesure de précision, fabriquées de verre optique spécial. Elles sont utilisées pour déterminer le nombre de particules par volume d'un fluide. Les particules sont comptées à l'œil sous un microscope.

L'utilisation principale des cellules de numération est dans le laboratoire médical pour l'analyse de sang (comptage des leucocytes, des globules rouges et des plaquettes) elles sont aussi utile pour l'énumération des cellules dans le fluide cephalor-rhachidian ainsi que d'autres usages spécialisés.

Les cellules de numération peuvent aussi être utilisées dans les laboratoires alimentaires et chimiques pour énumérer des bactéries et des spores fongiques, ainsi que dans les laboratoires vétérinaires parmi d'autres.

2. Construction

Toutes les cellules de numération suivent le même principe de construction (Fig.1).

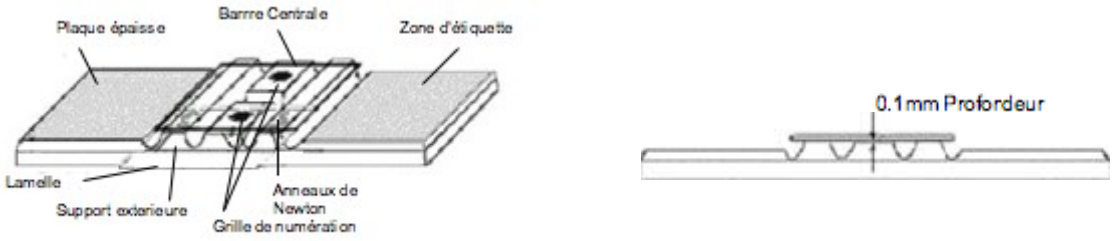

Fig. 1

Sur une plaque épaisse de verre optique spécial, la taille d'une lame de microscope, il y a quatre rainures longitudinales coupées dans le tiers médian. Les deux principales surfaces externes sont inachevées et sont utilisées pour le marquage.

La barre centrale et les deux supports extérieurs sont meulés et polis. Sur la barre centrale (la base) sont gravées les grilles d'énumération. Par rapport aux appuis extérieurs cette barre est légèrement décalée vers le bas, généralement de 0,1 ou 0,2 mm.

Quand une mince couche de verre plat est placée sur les appuis extérieurs il ya un écart de 0,1 ou 0,2 mm d'épaisseur respectivement entre elle et le fond de la chambre. Les lignes imaginaires limites de la projection verticale de la grille d'énumération forment la limite du volume latéral.

3. Conception et l'identification des cellules de numération

Types de cellules de numération :

Cellules doubles - barre centrale divisée (deux filets d'énumération) - Fig. 2.
Une seule cellule - barre centrale unique (un filet d'énumération) - Fig. 3.

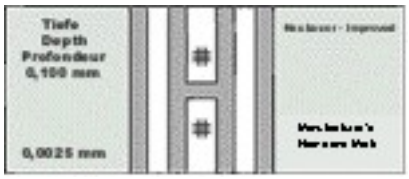

Fig. 2

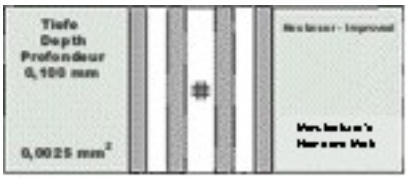

Fig. 3

En outre, nous distinguons entre la version standard et la version ligne lumineuse.

• Dans la version standard, la grille d'énumération est gravée directement dans le verre.

• Dans la version ligne lumineuse, la base est recouverte d'un miroir rhodium. La grille d'énumération est gravée dans le rhodium. En utilisant un microscope à contraste de phase une conversion de couleurs est possible, de sorte que la grille d'énumération est soit sombre soit lumineuse.

Le modèle lumineux est généralement préféré car il offre plus de confort au travail.

3.1 Identification

Certains détails sont imprimés sur les deux faces non travaillés des cellules de numération :

• le système de grille d'énumération,
• le nom et la marque du fabricant,
• la profondeur de la chambre en mm,
• l'aire de la plus petite surface de la grille d'énumération en mm ².

4. Production et Qualité

Les cellules de numération sont des instruments de mesure de précision souvent utilisées dans les laboratoires médicaux. En Europe, seules les cellules poinçonnées CE sont utilisées. Au-delà de l'Europe, les cellules de numération non poinçonnées sont disponibles.

Cela ne signifie pas qu'il ya un premier et un deuxième choix. Dans chaque cas, il peut s'agir de personnes traitées à partir de résultats des mesures obtenues avec nos cellules de numération.

Toutes les cellules PRECISS EUROPE sont fabriquées en utilisant les dernières méthodes en conformité avec les poids et les règlements en vigueur avec les mesures et les normes DIN. La distinction est uniquement entre celles qui sont certifiées et celles qui restent à certifier.

4.1. Production

La production des cellules de numération est décrite de façon générale.
Le processus comprend plusieurs étapes, durant lesquelles sont effectués des contrôles stricts.

Le soutien interne (la base de la chambre) et les deux supports externes sont fabriqués par meulage et par polissage des surfaces de verre. Le but de ce processus est d'amener les deux surfaces d'appui externes au même niveau et d'abaisser la barre centrale intérieure (la base) par rapport à ceux des supports extérieurs par une mesure extrêmement précise.

Après ces opérations, la grille d'énumération est gravée à l'aide d'un diamant dans une machine à précision avec les valeurs correspondantes.

Finalement vient l'impression et la cuisson.

Toutes les cellules de numération doivent passer une inspection rigoureuse finale, conforme aux exigences DIN ayant leurs normes et leurs règlements de certification. Ce n'est qu'alors que la distinction se fait entre les cellules de numération certifiés et celles qui sont certifiables, ainsi une partie est envoyée au bureau des poids et mesures et l'autres part directement pour la vente.

4.2. Exigences de contrôle de la qualité

Les tolérances sont :

- Chambre de profondeur de ± 2% de la valeur nominale selon l'exigence de la grille.
- Pour des distances de moins de 0,4 mm entre les lignes nettes ± 0,002 mm de la valeur nominale.
- Pour des distances de 0,4 mm ou plus entre les lignes nettes ± 0,5% de la valeur nominale.
- Angle de division nette ± 1 °.

La largeur des lignes ne doit pas être supérieure à 0,005 mm.

Les tolérances de planéité selon la norme DIN 7184 Partie 1 sont les suivants :

- La base de cellules de numération 0.002 mm net.
- Les surfaces de contact couvrir les glisser dans la région d'un comptage 0.002 mm net.
- La surface de la lamelle 0.003 mm.

Les lamelles doivent satisfaire aux exigences de la norme DIN 58884.

5. Remplissage des cellules de numération

5.1. Coulissante sur la lamelle

Les supports externes sont humidifiés avec de l'eau distillée, puis le couvercle en verre est poussé avec une légère pression à l'avant des cellules de numération.

Attention : le couvercle en verre est fragile !

La formation de franges d'interférences (anneaux de Newton) entre les bandes extérieures montre que le couvercle en verre est placé correctement (Fig. 4).

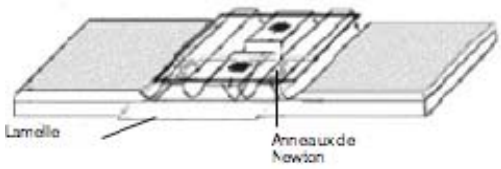

Fig. 4

5.2. Alimentation

Sortez de l'agitateur une pipette bien mélangé et jetez la première goutte.

Séchez l'extérieur de la pipette et inclinez-la jusqu'à ce qu'une petite goutte se forme à sa pointe.

Cette goutte est alors placée entre le couvercle en verre et la chambre de comptage.

L'action capillaire comble l'écart entre couvercle en verre et le fond. Avant que la solution de sang dilué atteint les bords de la base, la pointe doit être tiré à nouveau. Si des bulles d'air sont visibles ou si le déversement de liquide se fait sur les bords dans les rainures, la cellule doit être nettoyé et de nouveau rempli (Fig. 5).

5.3 Utilisation des pipettes de sang

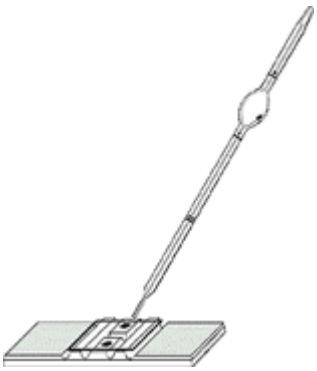

Fig. 5

a) Érythrocytaire - pipette (boule rouge)

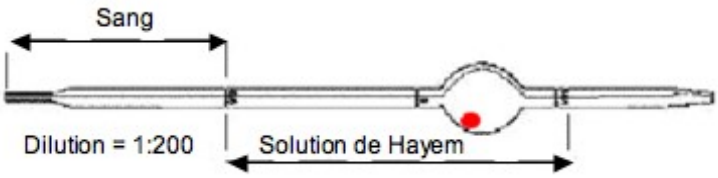

Fig. 5.1

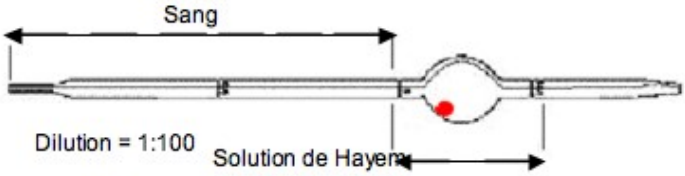

Fig. 5.2

b) Leucocytes - pipette (boule blanche)

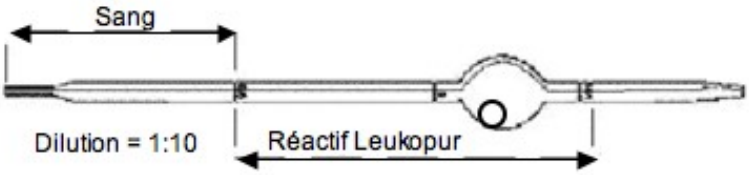

Fig. 5.3

6. Comptage des particules

6.1. Technique de numération

Le comptage des cellules suppose que l'utilisateur possède une connaissance exacte de l'emplacement des limites des grilles de numération. Un exemple de ceci est montré dans la figure suivante (Neubauer - Figure 6).

Afin de s'assurer que les cellules sanguines qui se trouvent sur ou près des lignes ne soient pas comptées deux fois ou ignorées dans le décompte, il faut compter à l'aide de certaines règles.

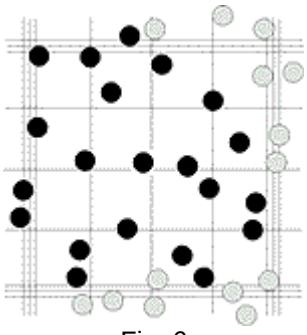

Fig. 6

La figure ci-dessus (figure 6) illustre toutes les cellules a comptées qui sont définie dans la grand zone de mesure. Les cellules sont considérées comme étant dans cette zone si elles se touchent ou se reposent sur les lignes du coté gauche et celles du haut et toutes celles dans les plus petits carrés. Toutes les cellules marquées de noir sont à compter impérativement.

Il faut compter les cellules dans les grandes zones de la manière indiquée ci-dessous Fig. 6.1..

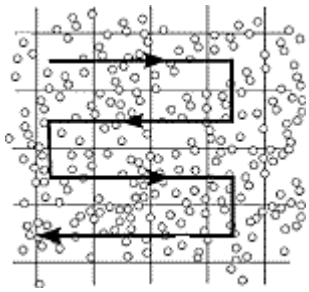

Fig. 6.1

Le compte commence dans le coin supérieur gauche de la flèche et continue à travers les grandes zones en faisant des allers retours.

6.2 Notes sur la numération

a) Lorsque vous utilisez des cellules de numération, l'ouverture de l'objectif du microscope doit être presque fermé.

b) La variation du nombre de cellules comptées entre les grandes zones ne devrait pas dépasser 10 cellules.

c) Tous les chiffres doivent être dupliqués. La grille inférieure des cellules de numération doit être uniquement considéré comme un contrôle à celles du niveau supérieur. Il est important de s'assurer que l'échantillon ne se dessèche pas. Ceci peut être évité en remplissant les cellules de numération peu de temps avant de compter, puis en effectuant le compte après que le temps de sédimentation est a expiration.

d) La différence entre la somme des chiffres pour les deux grilles de comptage ne doit pas dépasser 10 cellules. La moyenne des chiffres est ensuite utilisée dans la formule de calcul (ou multipliée par le facteur approprié).

7. Calculations

Formule:

$$\frac{Cellules_comptées}{Surface_compté(mm^2) \times Profondeur_de_la_chambre(mm) \times Dilution} = Cellules_per_\mu l_de_sample_origina$$

Exemple : cellules de numération Neubauer amélioré.

a) Leucocytes

1. Cellules comptées = 156 leucocytes
2. Surface comptée = 4 grands carrés, soit 4 mm ²
3. Profondeur de la chambre = 0,1 mm ·
4. Dilution = 1:20

$$\frac{156 \times 20}{4.0 \times 0.1 \times 1} = 7800_Leucocytes/\mu l$$

b) Les érythrocytes

1. Cellules comptées = 528 érythrocytes
2. Surface compté = 5 petits carrés, soit 0,2 mm ²
3. Profondeur de la chambre = 0,1 mm
4. Dilution = 1: 200

$$\frac{528 \times 200}{0.2 \times 0.1 \times 1} = 5.28 \times 10^6 \, Érythrocytes/\mu l$$

8. Nettoyage des chambres de comptage

Immédiatement après le dépouillement, retirez le couvercle en verre et nettoyer les cellules de numération avec de l'eau ou du sodium à 0,7% Mucasol.
Note: À cette concentration, le Mucasol n'attaque pas la surface du verre!

Par la suite, la chambre doit être séchée avec un chiffon doux. Les cellules de numération peut aussi être rincée avec de l'acétone après le nettoyage à l'eau ; ainsi il sèchera sans laisser de traces.

9. Une brève description de la cellules de numération les plus couramment utilisés:

Les systèmes utilisés pour le comptage des cellules de numération sont différents selon la taille de la grille d'énumération et la profondeur de la chambre. La grille est constitué par un fil de division carrelé en forme de filet de pêche ; celui-ci n'est pas visible a moins qu'il soit placé sous un microscope (avec un grossissement d'environs 100 fois).

Voici une description sommaire du système le plus courant :

Neubauer amélioré
Le plus grand carré : 1 mm2
Groupe carré : 0,4 mm2
Le plus petit carré : 0,025 mm2
Profondeur de la chambre est de 0,100 mm.
La division nette de ces chambres est en trois parties chacune ayant trois carré avec une superficie de 1 mm2.

Les quatre cases de coin sont utilisées pour les leucocytes.
La grande zone du milieu est également divisé en cinq par cinq groupes de carrés avec un bord
D'une longueur de 0,2 mm et une surface de 0,04 mm2 chacune.
Ces groupes de carrés sont à leur tour divisés en seize carrés très petits chacun d'une superficie de 0,0025 mm2.
Cinq de ces groupes de carrés sont utilisés pour compter les globules rouges.
Une attention particulière devrait être accordée au fait que la chambre a des lignes triples sur tous les côtés, sachant que la ligne centrale doit être considérée comme la ligne de dimension réelle. Ceci est important pour juger si les cellules dans la zone frontalière doivent être comptés ou non.