

VOUS AVEZ BESOIN DE/D'

Le "Neubauer Improved Haemocytometer"

La suspension de cellules/spores convenablement diluée

Le compteur de points ou stylo compteur

Les pipettes Pasteur

Le microscope (compound or stereo)

1. Préparation avant l'utilisation d'une chambre de comptage

1. L'hémocytomètre doit être manipulé avec précaution. Pour éviter les empreintes digitales sur les zones réglées, la chambre de comptage doit être tenue uniquement par les côtés et le fond.
2. **UTILISEZ DES LAMELLES POUR HÉMOCYTOMÈTRE, PLUTÔT QU'UNE LAMELLE ORDINAIRE, CAR CELA NE DONNERA PAS DE RÉSULTATS PRÉCIS.**
3. **Faites très attention lors de la mise au point du microscope car la chambre de comptage est beaucoup plus épaisse qu'une lame classique. L'objectif du microscope, ainsi que la chambre et le verre de couverture, peuvent être endommagés si l'utilisateur ne fait pas attention.**
4. Nettoyez la chambre de comptage avec de l'alcool à 70 % et un chiffon non pelucheux.

A noter:

La figure ci-contre est reproduite avec l'autorisation de Current Protocols in Cell Biology, John Wiley & Sons Inc.

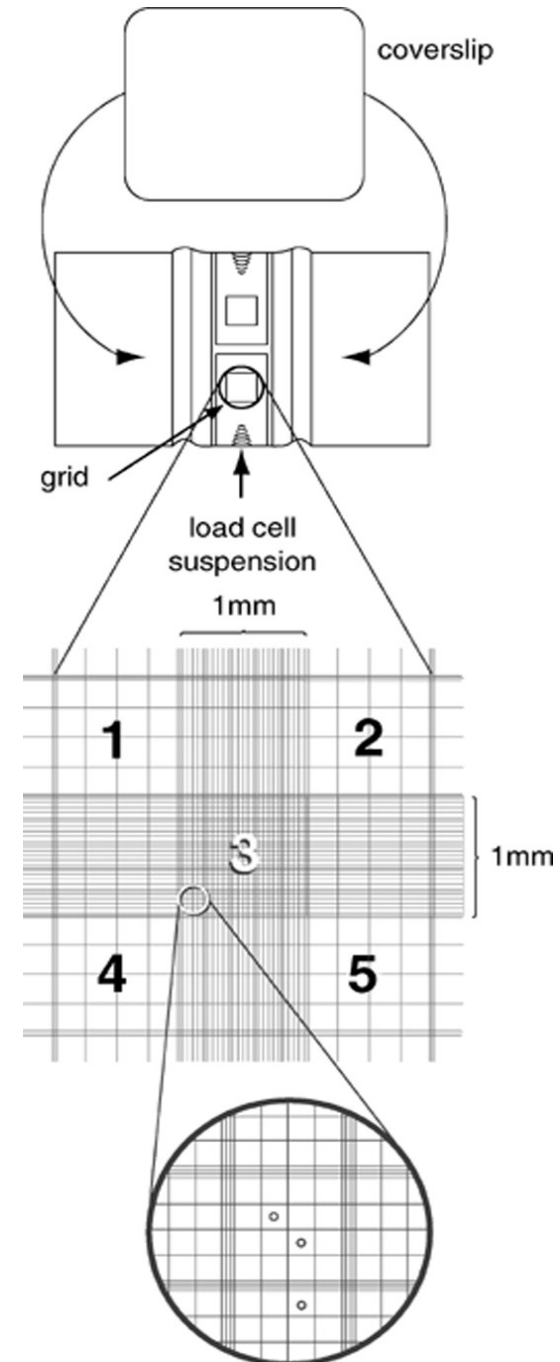
www.currentprotocols.com/protocol/cb0101

Traduction pour le diagramme

Coverslip : la lamelle couvre-objet

Grid : le grille

Load cell suspension : le suspension de cellules de charge



2. Protocole d'utilisation d'une chambre de comptage

- Humidifier les épaules de l'hémocytomètre et fixer le verre de couverture en exerçant une légère pression et en effectuant de petits mouvements circulaires. Cela permet de s'assurer que la profondeur de la chambre est correcte (0,1 mm).
- À l'aide d'une pipette Pasteur, déposer une goutte de la suspension cellulaire sur le bord du "V" de la chambre. Laissez la suspension être aspirée dans la chambre par action capillaire.
*Attention, ne remplissez pas trop ou pas assez la chambre. Remplissez la chambre opposée de la même manière.
- Les règles couvrent 9 mm² dans un carré de 3x3. Le carré central de la grille est divisé en 25 groupes de 16 carrés plus petits (la surface de chaque petit carré est de 0,0025 mm²), chaque groupe étant séparé par trois lignes, dont la ligne centrale constitue la limite. Les lignes, dont celle du milieu constitue la limite.

La surface du carré central est : $25 \times 16 \times 0,0025 = 1 \text{ mm}^2$ et le volume est : $1 \text{ mm}^2 \times 0,1 \text{ mm} = 0,1 \text{ mm}^3$ ou $0,1 \mu\text{L}$ ($1 \text{ mL} = 1000 \text{ mm}^3$).

Le nombre de cellules comptées par mL = nombre de cellules comptées par mm carré x dilution x 10 000.

- Pour garantir l'exactitude des comptages, un modèle de comptage spécifique doit être déterminé. Voici un guide clair pour l'utilisation d'une chambre de comptage:

<http://www.ruf.rice.edu/~bioslabs/methods/microscopy/cellcounting.html>

Reproduit avec autorisation, un pdf 'Utilisation d'une chambre de comptage' peut être trouvé sur www.kirkhoustrust.org, allez sur : Ressources → Ressources pour la recherche → Manuels d'équipement → Hémocytomètre. Compter les spores fongiques

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC202674/pdf/aem00111-0126.pdf>

Discussion utile pour compter les spores fongiques

<https://www.researchgate.net/post/What-are-the-general-methods-used-for-the-spore-counting-of-fungi>

