

Instrukcja użytkowania

WSTĘP

Kamery Pentasquare® są to płytki wykonane z PMMA, z 10 komorami pomiarowymi. Powierzchnia każdej komory, do której wprowadza się próbkę, podzielona jest na pola wyznaczone przez siatkę, co umożliwi dokładne policzenie elementów komórkowych obecnych w osadzie moczu. Metoda oznaczenia jest identyczna z metodą stosowaną w przypadku kamer szklanych (Bürkera, Thoma, Neubauera).

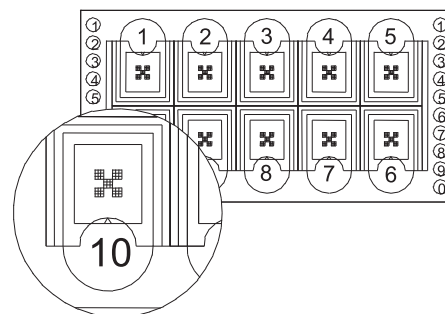
Kamery Pentasquare® w porównaniu z tradycyjnymi kamerami szklanymi cechują się prostotą użytkowania. Ułatwiają codzienną pracę i znacząco zmniejszają prawdopodobieństwo powstania błędów. Kamery Pentasquare® zapewniają większą dokładność oznaczenia dzięki unikalnej i opatentowanej siatce. Sposób wykonania linii siatki zapewnia jednorodny rozkład elementów komórkowych na siatce. Objętość próbki przypadająca na siatkę jest ściśle określona i taka sama we wszystkich kwadratach (każda kamera podlega kontroli jakości w czasie procesu produkcji).

PARAMETRY KAMERY

Obszar ograniczony liniami siatki (3 mm na 3 mm) jest podzielony na 5 kwadratów o długości boku równym 1 mm. Każdy kwadrat o boku 1 mm podzielony jest na 9 małych kwadratów o długości boku równym 0,333 mm. Obszar ograniczony liniami podzielony jest więc na 45 małych kwadratów o długości boku równym 0,333 mm.

W ten sposób zostaje precyzyjnie określona objętość próbki przypadająca na każdy kwadrat siatki:

| | |
|-----------|--|
| 0,5 ul | na całej siatce |
| 0,1 ul | wewnątrz każdego z 5 kwadratów o boku 1 mm |
| 0,0111 ul | wewnątrz każdego z 45 małych kwadratów o boku 0,333 mm |



SPOSÓB PRZYGOTOWANIA PRÓBKII

1. Wymieszać dokładnie próbkę moczu i nalać 10 ml do próbki stożkowej lub do próbki z wgłębieniem (przy niedostatecznej ilości moczu nalać 5 ml).
2. Wirować przez 5 minut przy prędkości 1000-1500 obrotów/minutę (ok. 400 RCF).
3. Wylać mocz z górnej warstwy pozostawiając odpowiednio 1 ml w próbce stożkowej lub 0,5 ml w próbce z wgłębieniem.
4. Dokładnie wymieszać pozostały w próbce osad.
5. Przy użyciu kapilamej pipety Pasteura pobrać próbkę z próbki i wprowadzić ją do komory pomiarowej na płytce.

METODYKA OKREŚLENIA ILOŚCI ELEMENTÓW KOMÓRKOWYCH

Przystępując do określenia ilości elementów komórkowych w moczu należy oszacować wstępnie próbkę przeznaczoną do badań, oglądając ją pod mikroskopem przy powiększeniu 100 razy w zredukowanym świetle. Podczas obserwacji oszacować wstępną ilość elementów komórkowych w próbce oraz czy elementy ułożone są równomiernie. Dla małej liczby elementów komórkowych (średnio mniej niż 1 komórka na najmniejszy kwadrat) zliczać w 10 najmniejszych kwadratach; dla większej ilości (średnio 2-3 komórki na najmniejszy kwadrat) zliczać w 5 najmniejszych kwadratach. W przypadku bardzo dużego zagęszczenia powtórzyć zliczanie dla niewirowanej próbki moczu. Liczenie elementów komórkowych w wybranej siatce przeprowadzić przy powiększeniu 400 razy w jasnym polu widzenia. Pole odczytu powinno obejmować najmniejszy kwadrat siatki (o długości boku równym 0,333 mm). W zależności od stwierdzonej ilości elementów komórkowych w przygotowanej próbce moczu oraz doświadczenia należy zastosować jedną z poniższych metod określania ilości komórek.

Sposób liczenia elementów komórkowych z wykorzystaniem tabel:

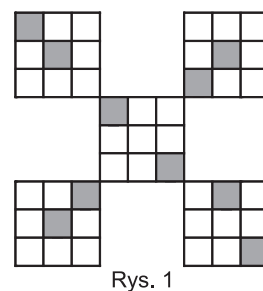
Metoda ta może być wykorzystana w przypadku przygotowania badanej próbki zgodnie z powyżej opisanym sposobem.

Mała liczba elementów komórkowych w próbce (mała cytoza) – Tabela 1

Należy policzyć elementy komórkowe w 10 najmniejszych kwadratach, po dwa wybrane losowo w każdym z 5 dużych kwadratów (patrz rysunek 1).

Wynik odczytać w Tabeli 1 według następującego schematu:

- dla 10 ml moczu wirowanego w próbkach stożkowych (1 ml osadu)
wynik odczytać bezpośrednio z tabeli
- dla 10 ml moczu wirowanego w próbkach z wgłębieniem (0,5 ml osadu)
wynik odczytany z tabeli podzielić przez 2
- dla 5 ml moczu wirowanego w próbkach stożkowych (1 ml osadu)
wynik odczytany z tabeli pomnożyć przez 2
- dla 5 ml moczu wirowanego w próbkach z wgłębieniem (0,5 ml osadu)
wynik odczytać bezpośrednio z tabeli

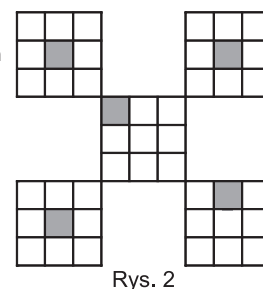


Duża liczba elementów komórkowych w próbce (duża cytoza) – Tabela 2

Należy policzyć elementy komórkowe w 5 najmniejszych kwadratach, po jednym wybranym losowo w każdym z 5 dużych kwadratów (patrz rysunek 2).

Wynik odczytać w Tabeli 2 według następującego schematu:

- dla 10 ml moczu wirowanego w próbkach stożkowych (1 ml osadu)
wynik odczytać bezpośrednio z tabeli
- dla 10 ml moczu wirowanego w próbkach z wgłębieniem (0,5 ml osadu)
wynik odczytany z tabeli podzielić przez 2
- dla 5 ml moczu wirowanego w próbkach stożkowych (1 ml osadu)
wynik odczytany z tabeli pomnożyć przez 2
- dla 5 ml moczu wirowanego w próbkach z wgłębieniem (0,5 ml osadu)
wynik odczytać bezpośrednio z tabeli



Bardzo duże zagęszczenie elementów komórkowych w próbce – Tabela 3

W przypadku bardzo dużego zagęszczenia elementów komórkowych w badanej próbce moczu, wprowadzić do komory pomiarowej mocz niewirowany i policzyć elementy komórkowe w 10 najmniejszych kwadratach, po 2 wybrane losowo w każdym z 5 dużych kwadratów. Wynik odczytać w Tabeli 3.

| Tabela 1 10 ml odwirowanego moczu – liczenie w 10 najmniejszych kwadratach | | |
|---|--------------------------------------|--------------------------------------|
| Liczba komórek zliczonych w 10 kwadratach | Liczba komórek obecnych w 1 µl moczu | Liczba komórek obecnych w 1 ml moczu |
| 1 | 1 | 900 |
| 2 | 2 | 1 800 |
| 3 | 3 | 2 700 |
| 4 | 4 | 3 600 |
| 5 | 5 | 4 500 |
| 6 | 5 | 5 400 |
| 7 | 6 | 6 300 |
| 8 | 7 | 7 200 |
| 9 | 8 | 8 100 |
| 10 | 9 | 9 000 |
| 12 | 11 | 10 800 |
| 14 | 13 | 12 600 |
| 18 | 16 | 16 200 |
| 20 | 18 | 18 000 |
| 25 | 23 | 22 500 |
| 30 | 27 | 27 000 |
| 35 | 32 | 31 500 |
| 40 | 36 | 36 000 |
| 45 | 41 | 40 500 |
| 50 | 45 | 45 000 |
| 55 | 50 | 49 500 |
| 60 | 54 | 54 000 |
| 65 | 59 | 58 500 |
| 70 | 63 | 63 000 |
| 75 | 68 | 67 500 |
| 80 | 72 | 72 000 |
| 85 | 77 | 76 500 |
| 90 | 81 | 81 000 |
| 95 | 86 | 85 500 |
| 100 | 90 | 90 000 |
| 105 | 95 | 94 500 |
| 110 | 99 | 99 000 |

| Tabela 2 10 ml odwirowanego moczu – liczenie w 5 najmniejszych kwadratach | | |
|--|--------------------------------------|--------------------------------------|
| Liczba komórek zliczonych w 5 kwadratach | Liczba komórek obecnych w 1 µl moczu | Liczba komórek obecnych w 1 ml moczu |
| 1 | 2 | 1 800 |
| 2 | 4 | 3 600 |
| 3 | 5 | 5 400 |
| 4 | 7 | 7 200 |
| 5 | 9 | 9 000 |
| 6 | 11 | 10 800 |
| 7 | 13 | 12 600 |
| 8 | 14 | 14 400 |
| 9 | 16 | 16 200 |
| 10 | 18 | 18 000 |
| 12 | 22 | 21 600 |
| 14 | 25 | 25 200 |
| 18 | 32 | 32 400 |
| 20 | 36 | 36 000 |
| 25 | 45 | 45 000 |
| 30 | 54 | 54 000 |
| 35 | 63 | 63 000 |
| 40 | 72 | 72 000 |
| 45 | 81 | 81 000 |
| 50 | 90 | 90 000 |
| 55 | 99 | 99 000 |
| 60 | 108 | 108 000 |
| 65 | 117 | 117 000 |
| 70 | 126 | 126 000 |
| 75 | 135 | 135 000 |
| 80 | 144 | 144 000 |
| 85 | 153 | 153 000 |
| 90 | 162 | 162 000 |
| 95 | 171 | 171 000 |
| 100 | 180 | 180 000 |
| 105 | 189 | 189 000 |
| 110 | 198 | 198 000 |

| Tabela 3 10 ml niewirowanego moczu – liczenie w 10 najmniejszych kwadratach | | |
|--|--------------------------------------|--------------------------------------|
| Liczba komórek zliczonych w 10 kwadratach | Liczba komórek obecnych w 1 µl moczu | Liczba komórek obecnych w 1 ml moczu |
| 1 | 9 | 9 000 |
| 2 | 18 | 18 000 |
| 3 | 27 | 27 000 |
| 4 | 36 | 36 000 |
| 5 | 45 | 45 000 |
| 6 | 54 | 54 001 |
| 7 | 63 | 63 001 |
| 8 | 72 | 72 001 |
| 9 | 81 | 81 000 |
| 10 | 90 | 90 001 |
| 12 | 108 | 108 001 |
| 14 | 126 | 126 001 |
| 18 | 162 | 162 002 |
| 20 | 180 | 180 002 |
| 25 | 225 | 225 002 |
| 30 | 270 | 270 003 |
| 35 | 315 | 315 032 |
| 40 | 360 | 360 036 |
| 45 | 405 | 405 041 |
| 50 | 450 | 450 045 |
| 55 | 495 | 495 050 |
| 60 | 540 | 540 054 |
| 65 | 585 | 585 059 |
| 70 | 630 | 630 063 |
| 75 | 675 | 675 068 |
| 80 | 720 | 720 072 |
| 85 | 765 | 765 077 |
| 90 | 810 | 810 081 |
| 95 | 855 | 855 086 |
| 100 | 900 | 900 090 |
| 105 | 945 | 945 095 |
| 110 | 990 | 990 099 |
| 150 | 1 350 | 1 350 135 |
| 200 | 1 800 | 1 800 180 |
| 250 | 2 250 | 2 250 225 |

Sposób liczenia elementów komórkowych przy użyciu wzoru:

Metoda ta może być wykorzystana w przypadku innych zagęszczeń badanej próbki oraz innej liczby najmniejszych kwadratów przyjętych do liczenia elementów komórkowych w stosunku do powyżej opisanej metody:

$$\text{ilość komórek w 1 } \mu\text{l moczu} = \frac{\text{Zliczona ilość komórek}}{\text{ilość najmniejszych kwadratów w których liczono komórki}} \times \frac{\text{ilość najmniejszych kwadratów w całej siatce pomiarowej}}{\text{całkowita objętość moczu}} \times 2$$

Przykład: w 16 najmniejszych kwadratach kamery zliczono 14 komórek pochodzących z 1 ml osadu uzyskanego z 12 ml moczu:

$$\text{ilość komórek w 1 } \mu\text{l moczu} = \frac{14}{16} \times 45 / \frac{12 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 2$$

- średnia ilość komórek przypadająca na najmniejszy kwadrat wynosi 14/16;
- stopień zagęszczenia moczu 12/1;
- ilość komórek w 1 µl moczu (14/16) × 45 / (12/1) × 2 = **6,5625**

UWAGA

Pomimo przestrzegania podanych zaleceń dotyczących liczenia elementów komórkowych może pojawić się błąd statystyczny wynikający z losowego rozkładu komórek na siatce. Można zmniejszyć ten błąd licząc elementy komórkowe w większej liczbie kwadratów. Osoba wykonująca badanie, korzystając ze swego doświadczenia, powinna dostosować metodę liczenia do liczby komórek znajdujących się w oznaczanej próbce moczu.



Kamery Pentasquare® są wyrobami medycznymi do diagnostyki in vitro w rozumieniu dyrektywy IVD 98/79/WE oraz ustawy o wyrobach medycznych z dnia 20 maja 2010r.