

La numération cellulaire est la détermination du nombre de cellules contenues dans un volume précis de milieu liquide. On exprime le résultat de la numération en concentration cellulaire c'est-à-dire **en nombre de cellules par millilitre**.

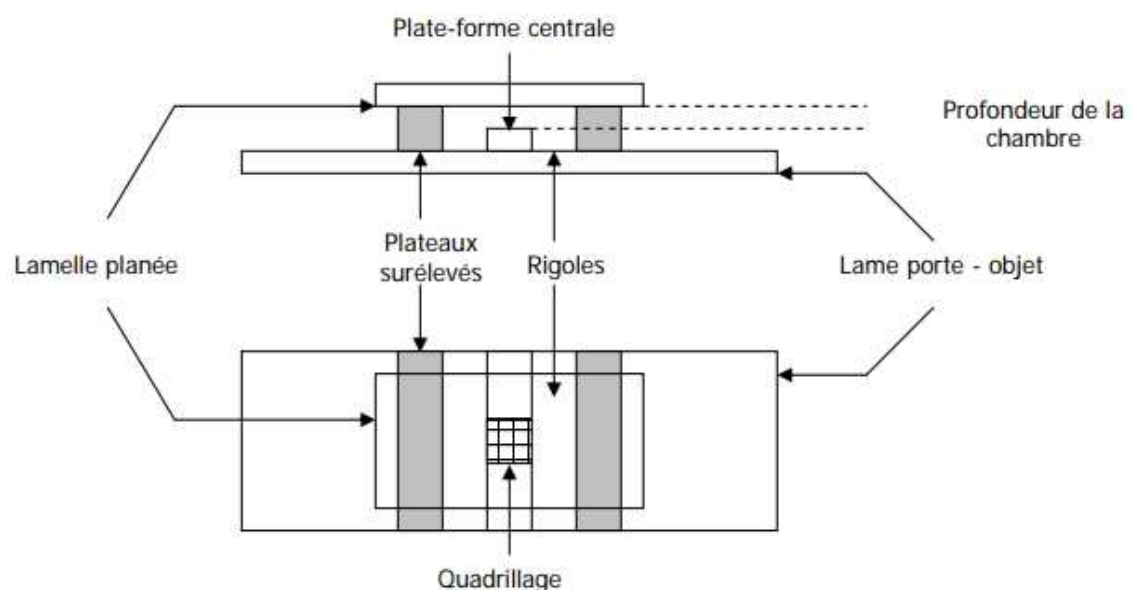
La numération cellulaire est réalisée directement par comptage au microscope, à l'aide d'une lame de comptage : la cellule de Malassez.

1. Dilution préalable

Lorsque la suspension cellulaire est trop concentrée, il est nécessaire de réaliser une dilution préalable. En effet, lorsque la suspension est trop concentrée, il est difficile de compter les cellules.

2. Présentation de la cellule de Malassez

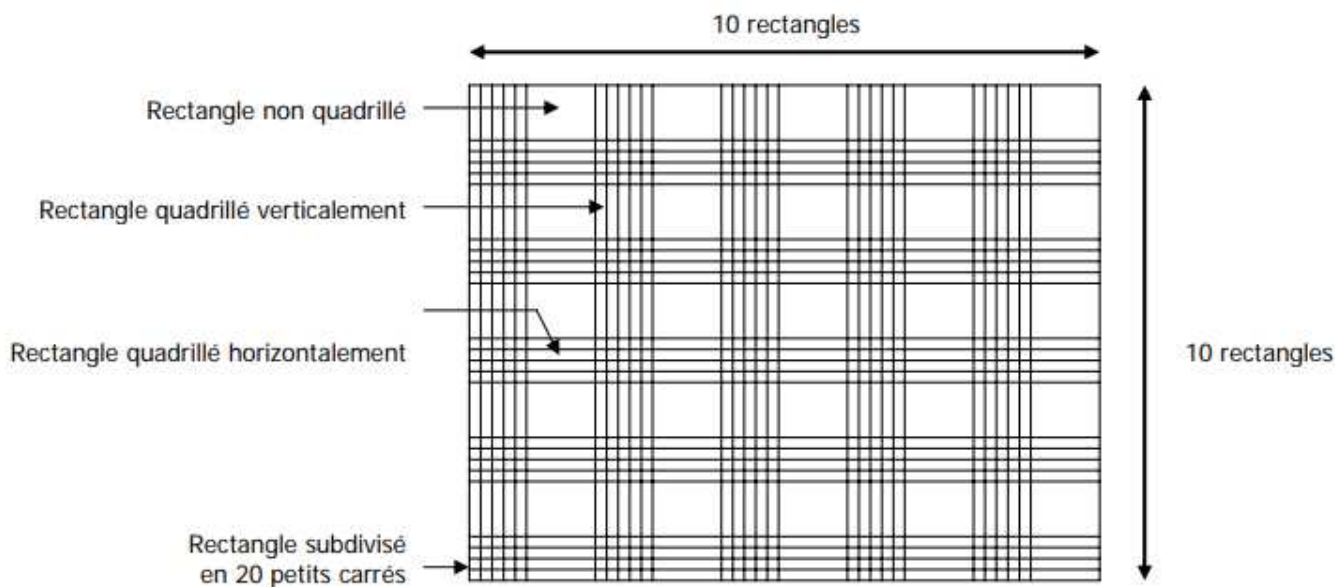
La cellule de Malassez est une lame porte objet dans laquelle est creusée une chambre de comptage de volume connu. C'est une lame épaisse en verre, comportant des rigoles et un quadrillage. Le volume de comptage est déterminé par la surface du quadrillage gravé sur la lame et la profondeur de la chambre.



La cellule de Malassez possède un quadrillage spécifique comptant 100 rectangles

Parmi les 100 rectangles totaux, on trouve 25 rectangles qui sont divisés en 20 petits carrés afin de faciliter le comptage.

- Le volume de comptage correspondant au quadrillage total est égale à **1 μ l**
- **Chaque rectangle correspond à un volume 100 fois plus faible c'est-à-dire 0.01 μ l**

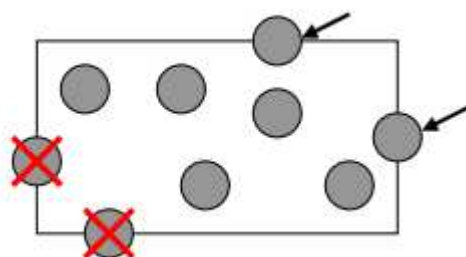


3. Utilisation de la cellule de Malassez

- Humecter les deux plateaux latéraux. Faire adhérer parfaitement la lamelle aux plateaux latéraux : pour cela placer la lamelle sur ces plateaux, puis à l'aide des pouces posés sur la lamelle, exercer une pression sur la lamelle tout en pratiquant un mouvement de va et vient jusqu'à perception d'une résistance.
- Placer la cellule de comptage sur une surface plane. Homogénéiser la suspension cellulaire, et prélever celle-ci à l'aide d'une pipette. Remplir la chambre de comptage par capillarité, en plaçant la pointe de la pipette légèrement inclinée près de la lamelle sur la plate-forme centrale quadrillée. Le remplissage doit être fait en une seule fois, sans bulles d'air, et sans faire déborder le liquide dans les rigoles. Laisser sédimenter les cellules sur le quadrillage quelques minutes, et passer à la numération.

4. Numération

- Observer à l'objectif x10 pour repérer la position du quadrillage, et vérifier l'homogénéité de la répartition des cellules à compter (si la répartition est mauvaise, recommencer).
- Observer ensuite à l'objectif x40 pour réaliser le comptage (1 rectangle par champ).
- Compter les cellules contenues dans **10 rectangles du quadrillage**. Remarque : pour les cellules chevauchant les lignes de quadrillage, compter seulement celles qui chevauchent 2 arêtes du rectangle sur 4 (en pratique, on choisit de prendre en compte les cellules chevauchant la ligne horizontale supérieure, et la ligne verticale droite).



Numération sur le rectangle = 7 cellules

5. Calcul de la concentration cellulaire

Après avoir effectué la manipulation, on calcule la concentration cellulaire de la suspension de cellules étudiée. **Soit C le nombre de cellules par millilitres.**

$$C = n \times 10\,000 \times f$$

Avec :
- n : **la somme du nombre** de cellules comptées sur 10 carreaux
- f : facteur de dilution de la solution

Pour connaître le **nombre de cellules dans votre tube (N)**, multiplier la concentration cellulaire par le nombre de millilitres contenus dans votre tube.

$$N = C \times V$$

Avec :
- C : la concentration cellulaire en nombre de cellules/ml
- V : le volume de la solution en millilitre