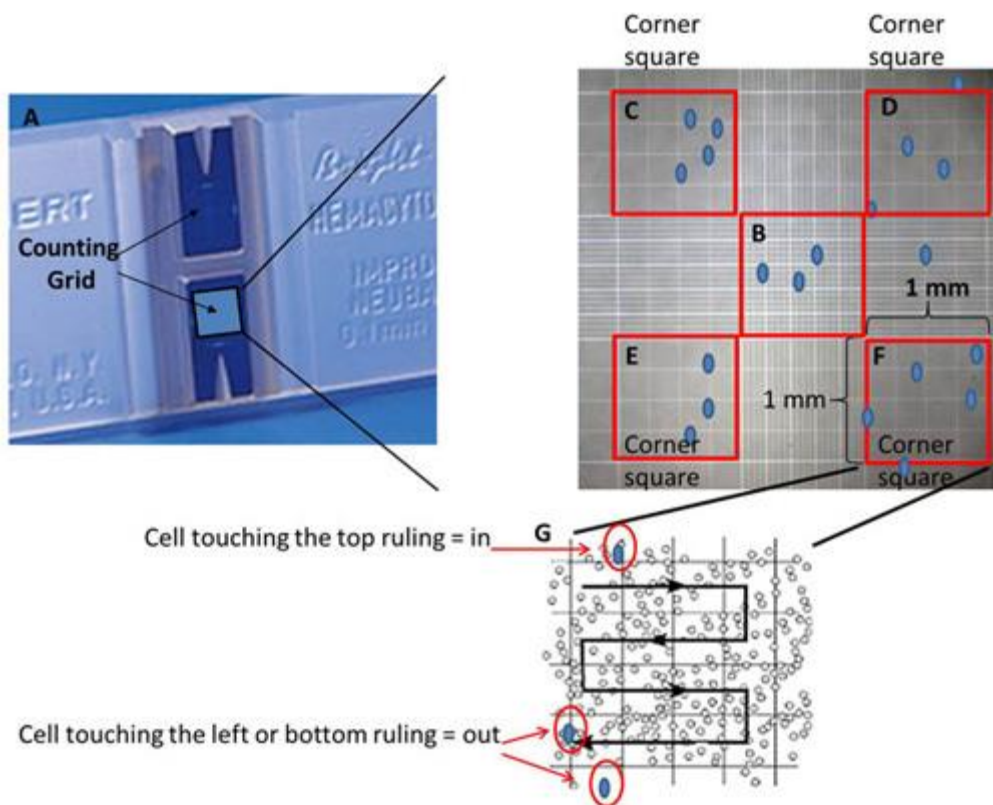
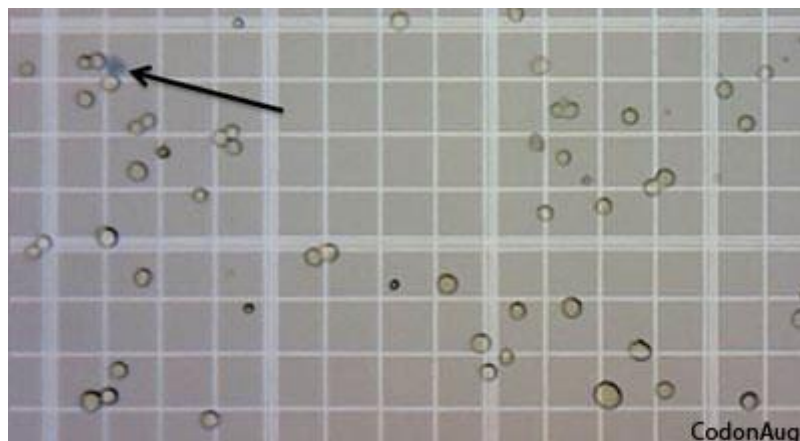


یک شبکه کامل در هموسیتومتر شامل ۹ مربع است که هرکدام ۱ میلی‌متر مربع می‌باشند. ناحیه شمارش مرکزی هموسیتومتر شامل ۲۵ مربع بزرگ است و هر مربع بزرگ دارای ۱۶ مربع کوچک‌تر است. هنگامی که شمارش را انجام می‌دهید تنها سلول‌هایی را که بر روی خطوط دو لامل قرار گرفته بر روی مربع‌های بزرگ هستند شمارش کنید تا از شمارش دوباره سلول‌ها اجتناب کنید. محلول‌ها باید به میزانی رقیق شوند که هر سلول یا هر ذره‌ای که شمارش می‌شود بر روی هم قرار نگیرند و به صورت یکسانی پخش شده باشند.



برای تفاوت گذاشتن بین سلول‌های مرده و زنده، نمونه معمولاً در یک رنگ خاص مانند تریپان بلو محلول می‌شود. این روش رنگ‌آمیزی به نام رنگ‌آمیزی حذف با رنگ (dye exclusion staining) شناخته شده که با استفاده از یک رنگ دوظرفیتی که از غشاء سلول‌های مرده می‌گذرد و آنها را آبی می‌کند شناخته می‌شود، درحالی‌که سلول‌های زنده این رنگ را جذب نمی‌کنند و در نتیجه سلول‌های زنده از مرده تفکیک می‌شوند. هنگامی که این نمونه در زیر میکروسکوپ مشاهده شود سلول‌های مرده مانند نقطه‌های تاریک دیده می‌شوند.



برای انجام شمارش، بزرگ‌نمایی موردنظر برای تشخیص سلول‌ها را در مربع‌ها انتخاب کنید به صورتی که شمارش نهایی چیزی حدود ۱۰۰ سلول شود. این مقدار برای شمارشی که از نظر آماری درست باشد مناسب است. برای سلول‌های بزرگ به راحتی می‌توانید تنها سلول‌های

موجود در چهار مربع بزرگ کناری و میانی را شمارش کنید. برای یک مجموعه سلولی ریز و متراکم می‌توانید سلول‌هایی را که در چهار مربع خارجی و داخلی مربع وسطی قرار می‌گیرند شمارش کنید و یا اینکه یک محلول رقیق‌تر آماده سازید.

به یاد داشته باشید که سلول‌هایی که خط بالایی و یا راستی یک مربع را قطع می‌کنند در شمارش خود وارد کنید اما سلول‌هایی که خط پایینی را قطع می‌کنند نشمارید. ناحیه میانی و هر یک از مربع‌های کناری یک میلی‌متر در ۱ میلی‌متر می‌باشند که برابر با ۱ میلی‌متر مربع است و عمق هر مربع ۰/۱ میلی‌متر است. حجم نهایی هر مربع در این عمق می‌شود ۱۰۰ نانو لیتر. هنگامی که شمارش تمامی سلول‌ها را انجام دادید غلظت سلولی می‌تواند به وسیله فرمول زیر محاسبه شود:

$$\text{Total cells/ml} = \frac{\text{Total cells counted} \times \text{dilution factor} \times 10,000 \text{ cells/ml}}{\# \text{ of Squares}}$$

of squares = تعداد مربع‌ها

dilution factor = میزان رقیق شدگی

به‌عنوان مثال اگر شما نمونه خود را به نسبت ۱:۱ با تریپان بلو رقیق کرده باشید و ۳۲۵ سلول را در ۴ مربع کناری و مربع بزرگ وسطی شمارش کرده باشید تعداد کل سلول‌ها در هر میلی‌لیتر برابر است با:

$$\frac{325 \text{ cells} \times 2(\text{dilution factor}) \times 10,000 \text{ cell/ml}}{5 \text{ Squares}} = 130 \times 10^4 \text{ cells/ml}$$

اگر می‌خواهید میزان کل سلول‌ها را در نمونه خود محاسبه کنید تنها تعداد سلول‌های به‌دست آمده را در حجم نمونه خود ضرب کنید. به‌عنوان مثال اگر حجم نمونه اصلی شما ۵ میلی‌لیتر باشد تعداد نهایی سلول‌های شما برابر خواهد بود با:

$$130 \times 10^4 \text{ cells/ml} \times 5 \text{ml} = 650 \times 10^4 \text{ cells}$$