



Laboratorní a zdravotnická technika  
OPTING servis Luboš Ševčík  
Bohumínská 788/61 710 00 Ostrava 10

tel 596 241 785; 596 241 960 tel/fax 596 241 852 GSM 603 464 790

[www.optingservis.cz](http://www.optingservis.cz)

E-mail: [optingservis@optingservis.cz](mailto:optingservis@optingservis.cz)

## POČÍTÁNÍ BUNĚK

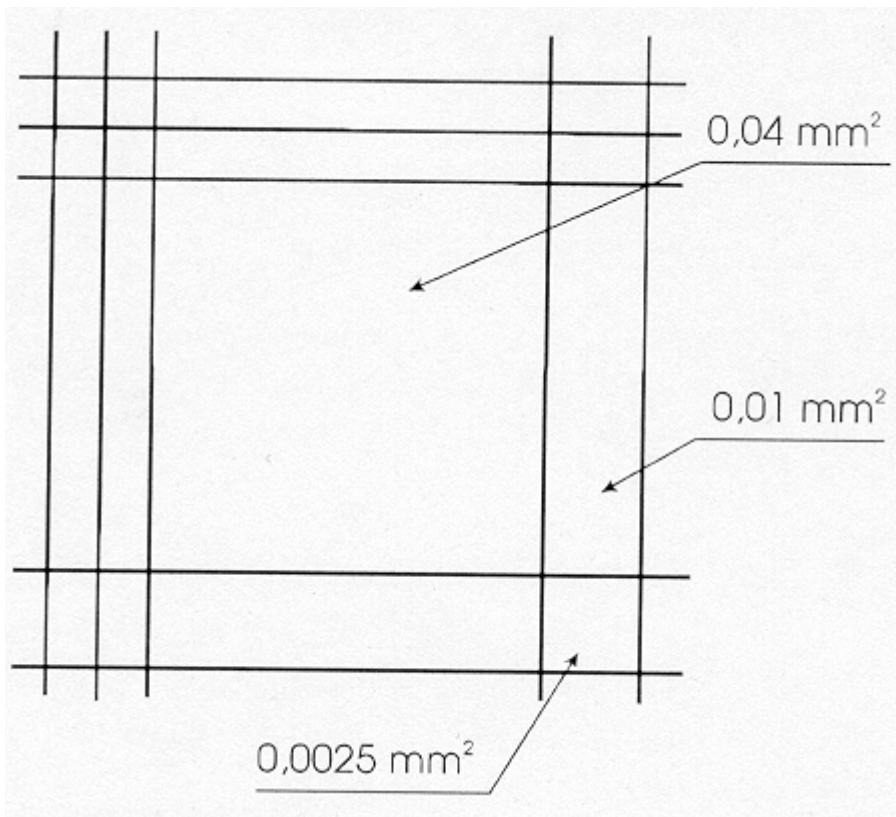
Potřeba spočítat množství buněk vzniká při řešení mnoha biologických otázek. Mnohé z nich mívají rovněž klinický význam (zejména v hematologii je zjišťování počtů krvinek každodenním rutinním vyšetřením). Podle účelu a charakteru buněk mohou být ke spočítání množství buněk použity různé metody. Buňky bývají počítány přímo nebo nepřímo.

*Nepřímo* bývají počítány měřením charakteristik, které na počtu buněk závisejí. Jsou-li vzata v úvahu specifická omezení, která jsou s takovýmto přístupem spojena, může být podobné měření počtu buněk v analyzovaném vzorku nejenom pro daný účel dostatečně přesné, ale mnohdy i mnohem levnější a rychlejší. O počtu buněk svědčí jejich hmotnost, kterou lze zjistit vážením. Množství buněk může být měřeno jako zákal suspenze v kolorimetru (nefelometricky, např. u bakteriální suspenze) nebo jako podíl objemu všech buněk ve vzorku (např. hematokrit pro červené krvinky). Na množství buněk lze usuzovat také dle intenzity metabolické činnosti buněk (např. u mikrobiálních kultur) nebo podle množství některé složky buněk (např. množství hemoglobinu v červených krvinkách). Někdy se podobným způsobem naměřené hodnoty přepočítávají podle kalibrační křivky na počet buněk (např. při nefelometrickém stanovení), jindy se naměřené hodnoty nepřepočítávají (např. hematokrit, který se udává jako poměrné číslo). V mikrobiologii je běžnou metodou zjištění počtu buněk ve vzorku též metoda kultivační. Ta spočívá ve vhodném naředění analyzovaného vzorku, následné kultivaci suspenze na vhodné půdě a spočítání množství narostlých kolonií.

Buňky lze počítat v různě upravených preparátech pod mikroskopem, nebo elektronicky v suspenzi. Pod mikroskopem lze použít počítací *komůrky* a suspenzi buněk (např. mikrobiální kultury nebo vzorek krve) umístit do ní, nebo trvalý preparát (např. hematologický, histologický). Trvalý preparát pro počítání buněk lze někdy zhotovit ze známého objemu suspenze (např. 10  $\mu$ l), který rozetřeme na definovanou plochu (např. 1  $\text{cm}^2$ ) a po vysušení, fixaci a barvení buňky spočteme. K *elektronickému* počítání buněk se používají speciální počítače, jejichž principem je to, že suspenze buněk (v elektrolytu) o přesném objemu je nasávána úzkým otvorem (do elektricky nevodivé trubice) mezi dvěma elektrodami a přístroj registruje průchod každé buňky jako jeden impuls. Nejrozšířenější jsou v tomto směru počítače krvinek.

## Část mřížky Bürkerovy komůrky.

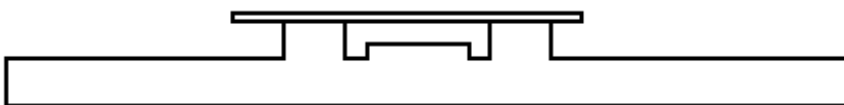
Výška prostoru, v němž jsou buňky nad mřížkou počítány, je  $0,1 \mu\text{m}$



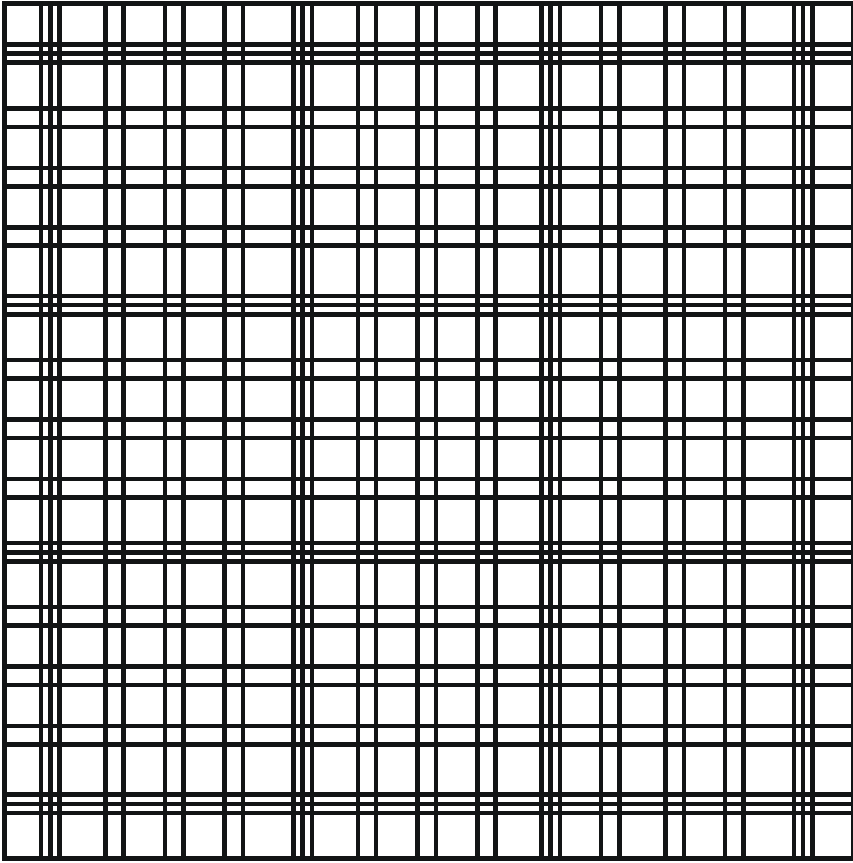
## Stanovení počtu buněk, jejich viability a metabolické aktivity

Řada postupů při práci s tkáňovými kulturami vyžaduje přesné stanovení počtu buněk ve vzorku. V praxi se běžně používají dvě metody přímého stanovení počtu buněk: ruční počítání v kalibrované komůrce pod světelným mikroskopem a poloautomatické počítání pomocí průtokového počítáče částic.

Počítání buněk v komůrce je nejjednodušší a mnohdy i nejpřesnější metoda. U nás se obvykle používá **Bürkerova** komůrka. Na jednom mikroskopickém sklíčku jsou vybroušená dvě pole hluboká přesně  $0,1 \text{ mm}$ , na jejichž dně je síťovitý obrazec (vzdálenosti jednotlivých čar jsou uvedeny na obrázku).



Bürkerova komůrka – počítací pole a pohled z boku



0,2 mm      1 mm      0,05 mm