

## 6. Contagem celular

1. Tripsinizar as células como de rotina. Individualizá-las com auxílio de pipeta, aspirar e desprezar 10 vezes.
2. Ressuspender as células com meio, utilizar a metade do volume usado no cultivo.
3. Montar a câmara de Neubauer da seguinte forma: limpá-la com álcool 70° GL e colocar a lamínula.
4. Diluir as células 1:5 e acrescentá-las no espaço entre a câmara e lamínula. Cuidar para que a solução se distribua uniformemente e deixar sedimentar por 1 ou 2 minutos.
5. Com auxílio do microscópio, contar as células presentes nos quadrantes laterais externos (ver figura abaixo). Não contar às células que estiverem sobre a linha limite ou fora dos quadrantes.
6. Contar as células em cada um dos 4 quadrantes e fazer a média.
7. A suspensão foi inicialmente diluída 1:5, então o fator de correção será 5 e deve ser multiplicado pela média dos quadrantes.
8. Para obter o número de células/mL deve-se multiplicar por 10.000. Pois,  $1\text{ mL} = 1\text{ cc}$ ;  $1\text{ cc} = 10 \times 10 \times 10 = 1.000\text{ mm}^3$ . O volume de cada quadrante com a lamínula corresponde a  $0,1\text{ mm}^3$ , então devemos multiplicar por 10, portanto  $10 \times 1.000 = 10.000$ .
9. Assim teremos:  
Número total de células/mL = médias dos quatros quadrantes x fator de diluição x 10.000

