

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

دعای مطالعه

اَللّٰهُمَّ اَخْرِجْنِيْ مِنْ ظُلُمَاتِ الْوَهْمِ وَاكْرِمْ نِيْ بِنُوْرِ الْفَهْمِ
اَللّٰهُمَّ افْتَحْ عَلَيْنَا اَبْوَابَ رَحْمَتِكَ وَاَنْشُرْ عَلَيْنَا خَزَائِنَ عُلُوْمِكَ
بِرَحْمَتِكَ يَا اَرْحَمَ الرَّاحِمِيْنَ

پروردگارا، خارج کن مرا از تاریکی های فکر و گرامی بدار به نور فهم
پروردگارا، بکشای بر مادرهای رحمت را و بکستران کنج های داشت را به امید رحمت

تو ای مهربان ترین مهربانان

بیایید به حقوق دیگران احترام بگذاریم

دوست عزیز، این کتاب حاصل دسترنج چندین ساله ی مؤلف، مترجم و ناشر آن است. تکثیر و فروش آن به هر شکلی بدون اجازه از پدیدآورنده کاری غیراخلاقی، غیرقانونی، غیرشرعی و کسب درآمد از دسترنج دیگران است، نتیجه ی این عمل نادرست، موجب رواج بی اعتمادی در جامعه و بروز پی آمدهای ناگوار در زندگی و محیط ناسالم برای خود و فرزندانمان می گردد.

الگوریتم میانتبر

الگوریتم هماتولوژی و بانک خون

ویژه‌ی دستیاران داخلی و پاتولوژی- دانشجویان و کارشناسان علوم آزمایشگاهی-
داوطلبین ارشد و دکتری هماتولوژی و بانک خون و فارغ‌التحصیلان رشته هماتولوژی

مولفین:

دکتر سوده نامجو

(دکتری تخصصی هماتولوژی و بانک خون دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی ایران)

لیلا وکیلی

(کارشناس ارشد هماتولوژی و بانک خون سازمان انتقال خون)

مجتبی شفیع

(کارشناس ارشد هماتولوژی و بانک خون دانشگاه علوم پزشکی مشهد)

ویراستار علمی و تحت نظارت: دکتر سوده نامجو



سرشناسنامه	: نامجو، سوده، ۱۳۵۹-
عنوان و نام پدیدآور	: الگوریتم میانبر هماتولوژی و بانک خون ویژه‌ی دستیاران داخلی و پاتولوژی .../ مولفین سوده نامجو، لیلا وکیلی، مجتبی شفیع؛ ویراستار علمی و تحت نظارت سوده نامجو.
مشخصات نشر	: تهران: گروه تألیفی دکتر خلیلی، ۱۳۹۸.
مشخصات ظاهری	: ۱۸۶ص. : مصور، جدول، نمودار.
شابک	: 978-600-422-438-3
وضعیت فهرست نویسی	: فیبا
یادداشت	: عنوان دیگر: میانبر الگوریتم هماتولوژی
موضوع	: خون‌شناسی
موضوع	: Hematology :
موضوع	: بانک خون
موضوع	: Blood banks :
شناسه افزوده	: وکیلی، لیلا
شناسه افزوده	: شفیع، مجتبی، ۱۳۶۷-
رده‌بندی کنگره	: ۱۳۹۷ الف ۷/ن ۶۳۳/RC
رده‌بندی دیویی	: ۶۱۶/۱۵
شماره کتابشناسی	: ۵۴۹۷۷۱۴

نام کتاب: میانبر الگوریتم هماتولوژی و بانک خون

مؤلفین: دکتر سوده نامجو- لیلا وکیلی- مجتبی شفیع

ناشر: گروه تألیفی دکتر خلیلی

نوبت و سال چاپ: اول . ۱۳۹۸

شمارگان: ۱۵۰۰

چاپ: کیمبای قلم - صحافی: شباب

مدیر تولید: اقبال شرقی

مدیر فنی و هنری: مریم آرده

تایپ و صفحه‌آرایی: بیتا اندوژفر

بهاء: ۱۹۹۰۰۰ تومان

(بهاء فوق براساس خرید کاغذ یارانه‌ای از وزارت فرهنگ و ارشاد می‌باشد)

آموزشگاه دکتر خلیلی: ۰۲۱-۶۶۵۶۸۶۲۱

فروشگاه: تهران - خیابان انقلاب- روبه‌روی درب اصلی دانشگاه تهران - پاساژ فروزنده - طبقه همکف - پلاک ۳۳۱

تلفن: ۰۲۱-۶۶۴۸۹۳۷۵ - ۰۲۱-۶۶۴۸۹۳۴۹

مرکز پخش: ضلع جنوب غربی میدان انقلاب- جنب سینما پارس- مجتمع تجاری پارس - طبقه اول

مرکز فروش: ۰۲۱-۶۶۵۶۹۲۱۶

مدیر فروش: ۰۵۰۸۵۸۹-۰۹۱۲



drkhaliligroupbook



www.DKG.ir



@drkhaliligroupbook

یاد دادن، یادگیری دوباره است.

ژوزف ژوبر

طلیعه سخن مؤلف:

به نام او که هستی جان از او یافت

اگر بین برنده شدن و شاد بودن مجبور به انتخاب شدی، همیشه شادی را انتخاب کن چون شاد بودن به صورت خودکار از تو یک برنده می‌سازد ...

با عنایت و توفیق از درگاه الهی به همراه جمعی از دانشجویان توانسته‌ایم مجموعه‌ای بسیار مفید جهت جمع‌بندی مطالب گسترده‌ی هماتولوژی و بانک خون گردآوری نماییم. فصول این کتاب، براساس فهرست کتاب هنری دیویدسون طبقه‌بندی شده است که طبق آخرین منابع معرفی شده (هنری- هافبراند) از وزارت بهداشت نگارش شده و جهت یادگیری بهتر شما عزیزان از جداول و نمودارها کمک گرفته شده است. تمام تلاش ما نگارش مجموعه‌ای روان، شیوا و کامل برای درس حجیم و سنگین هماتولوژی و بانک خون بوده است.

امید است که مجموعه‌ی حاضر مورد استفاده‌ی دانشجویان و همکاران گرامی واقع گردد.

Email: nsoodeh@yahoo.com

سوده نامجو

فهرست مطالب

صفحه

عنوان

فصل اول: هماتولوژی عملی و کنترل کیفی	۷
فصل دوم: خون سازی	۲۹
فصل سوم: اختلالات گلبول های قرمز	۴۵
فصل چهارم: اختلالات گلبول های سفید	۷۶
فصل پنجم: پلاکت و بیماری های پلاکتی	۱۰۴
فصل ششم: انعقاد، فیبرینولیز، درمان های ضدترومبوزی	۱۲۲
فصل هفتم: طب انتقال خون	۱۴۰
فصل هشتم: انواع گروه های خونی	۱۶۰

هماتولوژی عملی و کنترل کیفی

خون گیری

اکثر آزمایشات خونی با استفاده از خون وریدی قابل انجام است.
در تعداد معدودی از آزمایشات مانند اندازه گیری گازهای خونی و ارزیابی سطح P_{50} را می توان از خون شریانی استفاده نمود.

از خون مویرگی بیش تر جهت اطفال و نوزادان و افراد دچار سوختگی وسیع استفاده می شود.
بهترین ورید در خون گیری ورید مدیال کوبیتال است.

تقسیم‌بندی از $10^{\circ}G - 30^{\circ}G$	سر سوزن‌ها	اصول خون‌گیری
سر سوزن انسولین دارای $30^{\circ}G$		
سر سوزن‌های ۲ mL دارای $23-24^{\circ}G$		
سر سوزن‌های ۵ mL دارای $21-22^{\circ}G$		
سر سوزن‌های ۱۰ mL دارای $19-20^{\circ}G$		
سر سوزن‌های نمونه‌گیری از B.M دارای $16-18^{\circ}G$		
سر سوزن‌های مورد استفاده در اهدای خون $16-18^{\circ}G$		
اغلب از سر سوزن‌های $19-21^{\circ}G$ برای خونگیری استفاده می‌شود.		
از اسکالپ (سوزن بالدار) جهت نمونه‌گیری از نوزادان و افراد چاق استفاده می‌شود.		
قبل از خونگیری حتما نام بیمار براساس نوع تست روی لوله‌های مخصوص هر تست لیبل شود.		
لوله‌های سیترا ته با درب مشکی ← تست ESR	انواع لوله‌های مورد استفاده	زاویه نمونه‌گیری از رگ وریدی به صورت 30° درجه است.
لوله‌های سیترا ته با درب آبی ← تست PT, PTT		
لوله‌های بدون ضدانعقاد با درب قرمز ← تست‌های بیوشیمی		
لوله‌های K_3EDTA با درب بنفش ← تست CBC		
لوله‌های K_2EDTA با درب سبز ← تست CBC		
		زاویه نمونه‌گیری از شریان به صورت 45° درجه است.
		از الکل 70% جهت ضد عفونی محل نمونه‌گیری استفاده می‌شود.
		جهت انجام کشت خون پس از ضد عفونی با الکل 70% از محلول 10% استفاده می‌شود.

ضدانعقاد

EDTA }
 سیترات سدیم
 هیپارین } انواع ضدانعقاد
 اگزالات سدیم، پتاسیم، آمونیوم
 فلوراید سدیم

ضدانعقاد اختصاصی جهت شمارش و مطالعه سلول‌های خونی
 مکانیسم: شلاته کردن کلسیم
 میزان مورد نیاز: $1/2 \text{ mg}$ به ازای هر mL خون
 ضدانعقاد مناسب جهت مطالعات مولکولی
 به علت اثر تخریبی روی FV و FVIII در تست‌های انعقادی استفاده نمی‌شود.
 موجب از بین بردن پدیده بازوفیلیک استیلینگ روی لام
 به علت ایجاد پدیده اقماری در 10% افراد جهت مطالعه روی پلاکت‌ها استفاده نمی‌شود.
 بهترین نمونه جهت اندازه‌گیری MPV، خون EDTA دار یک تا سه ساعت پس از نمونه‌گیری است.

EDTA }
 انواع نمک‌های EDTA }
 K_2EDTA {
 (به صورت پودر (جامد)
 دارای حلالیت بالا
 تغییرات ناچیز روی خون
 (مورد توصیه شورای بین‌المللی استانداردسازی در هماتولوژی)
 K_3EDTA {
 به صورت مایع
 سبب توم RBC و رقیق شدن خون می‌شود.
 موجب کاهش HCT
 موجب افزایش MCV
 (به عنوان ضدانعقاد جایگزین پس از K_2EDTA)
 Na_2EDTA ← مصرف آن به دلیل pH بالاتر و قدرت حلالیت کم‌تر توصیه نمی‌شود.

اگر نسبت EDTA به خون زیاد باشد }
 افزایش MCHC
 کاهش HCT و MCV
 افزایش کاذب در شمارش پلاکت
 افزایش حجم پلاکت و دگرانوله شدن پلاکت‌ها
 تخریب سلولی و انقباض RBC و WBC
 ایجاد پدیده اقماری (satelitism)

از جنس موکوپلی ساکارید
 به طور طبیعی در گرانول‌های بازوفیل‌ها موجود است.
 مکانیسم: اتصال به آنتی ترومبین و مهار فاکتورهای انعقادی
 هیپارین }
 پنتاساکارید
 دارای انواع }
 HMWH ← پرمصرف‌ترین نوع
 LMWH

موارد کاربرد }
 { آنالیز گازهای خونی (ABG)
 تست شکنندگی اسمزی (OFT)
 تست‌های ایمنوفوتایپینگ
 آزمایشگاه شیمی
 موارد عدم کاربرد }
 { تهیه لام‌های خونی به دلیل ایجاد رنگ پس زمینه آبی
 آزمایشات PCR به دلیل مهار آنزیمی
 شمارش سلولی به دلیل ایجاد تجمع سلولی
 عدم رنگ‌پذیری Dohle body در گسترش‌های خونی توسط هپارین

هپارین

مناسب‌ترین ضد انعقاد جهت مطالعات انعقادی و انجام ESR
 در تست‌های انعقادی به نسبت $\frac{1}{9}$ با خون مخلوط می‌شود.
 در تست ESR به نسبت $\frac{1}{4}$ با خون مخلوط می‌شود.

سیترات سدیم

به علت کاهش حجم سلول‌ها عدم استفاده در آزمایشگاه هماتولوژی
 { آنالیزات سدیم، پتاسیم، آمونیم
 مکانیسم: شلاته کردن Ca

فلورید سدیم (NaF) ← مناسب جهت اندازه‌گیری قند خون

تورم گلبول‌ها و $MCV \uparrow$
 ایجاد واکوئل در نوتروفیل‌ها
 محو گرانول نوتروفیل‌ها
 متلاشی شدن گرانولوسیت‌ها
 اگر خون در EDTA بیش از ۶ ساعت بماند موجب

رنگ‌آمیزی گسترش خونی

رنگ‌های آنیلینی دو جز دارند }
 { جز قلیایی مانند متیلن بلو
 جز اسیدی مانند اتوزین

هسته، هستک، DNA، RNA، کروماتین
 ریبوزوم
 ساختارهای بازوفیلیک }
 { هاول ژول، بازوفیلیک استیپلینگ، پاپن هایمر

هموگلوبین
 هیستون
 کابوت رینگ
 گرانول‌ها
 ساختارهای اتوزینوفیلیک }

ساختارهای نوتروفیلیک ← خنثی دوست هستند و هر دو رنگ را به خود می‌گیرند.

رایت }
 گیمسا } بررسی انگل‌های مالاریایی
 بررسی تک‌یاخته‌های پروتوزوایی }
 لیشتن }
 جنر } رنگ‌های رومانوفسکی شامل
 مای گرانوالد ← جهت تهیه اطلس‌های هماتولوژی
 مکنیل }
 و... }

با استفاده از رنگ‌های نیومتیلن بلو و متیلن کریزل بلو- بریلیان کرزیل بلو- آزر B }
 رتیکلوسیت‌ها }
 جهت رنگ‌آمیزی } هانیز بادی
 H بادی }

گسترش‌های ضخیم
 افزایش زمان رنگ‌آمیزی
 تاخیر در رنگ‌آمیزی پس از لام کشیدن
 شستشوی ناکافی
 زیاد قلبایی بودن رنگ یا محلول رقیق کننده
 در معرض نور قرار گرفتن رنگ در زمان طولانی
 نمونه‌های هپارینه
 افزایش پاراپروتئین‌ها در بیماری‌ها
 افزایش بیش از حد بلاست‌ها
 ناکافی بودن زمان رنگ‌آمیزی
 طولانی بودن زمان شستشو
 مقدار زیاد EDTA
 چسباندن لام‌ها پیش از خشک شدن
 pH پایین بافر یا متانول در اثر ماندن زیاد و اکسیداسیون آن
 افزایش قدرت اسیدیته رنگ یا بافر به‌علت در معرض قرار گرفتن آن با بخارهای اسیدی
 عدم خشک شدن کامل لام
 وجود آب در الکل و یا ناخالصی الکل
 کهنه بودن رنگ
 پاشیدن آب روی گستره
 رطوبت محیط
 لام‌های کثیف
 خشک شدن رنگ در طول دوره رنگ‌آمیزی
 شستشوی ناکافی
 افقی نگهداشتن لام حین شستشو
 نشستن غبار روی لام و گسترش
 علل صورتی شدن
 بیش از حد لام
 مشکلات رنگ‌آمیزی
 دلایل بروز واکوئل براق در سطح گلبول‌های قرمز
 دلایل وجود رسوب روی گسترش

اصول شمارش سلول‌های خونی

اندازه‌گیری هموگلوبین (Hb)

سنجش توسط روش سیان مت هموگلوبین (HiCN) روشی آسان اکثر اشکال Hb به جز SHb (سولف Hb) با این روش قابل اندازه‌گیری است. SHb قابل تبدیل به HiCN نیست. دارای محلول استاندارد پایدار معرف: محلول درابکین که با دترجنت اصلاح شده است. استاندارد HiCN در قسمت‌های مختلف به‌طور روزانه استفاده می‌شود و باید در تاریکی نگهداری شود. اندازه‌گیری در طول موج 540 nm واحد سنجش بر حسب $\frac{\text{gr}}{\text{dL}}$

$$\text{Hb} = \frac{\text{OD تست}}{\text{OD استاندارد}} \times \frac{\text{غلظت استاندارد}}{100 \frac{\text{mg}}{\text{gr}}} \times 251$$

فری سیانید پتاسیم $(\text{K}_3\text{Fe}[\text{CN}]_6)$ را به همی گلوبین (metHb) یا Hi اکسید می‌کند. سیانید پتاسیم (KCN): تامین CN جهت شکل‌گیری Hi دی‌هیدروژن پتاسیم فسفات KH_2PO_4 : کاهش زمان تبدیل Hb به HiCN شوینده غیریونی مانند استروکس SE یا تریتون X_{100} : افزایش تخریب RBC، کاهش کدورت ناشی از رسوب آب مقطر

خونگیری نامناسب منجر به غلیظ شدن یا همولیز خون (از نوک انگشت یا مویرگ) همولیز (در محیط آزمایشگاه) کربوکسی هموگلوبین $> 10\%$ کرایوگلوبولین، کرایو فیبرینوژن هیپارین $\text{WBC} > 50000$ هیپر بیلی روبینمی همولیز لیپمی پروتئین‌های منوکلونال

علل افزایش کاذب

منابع خطا در سنجش Hb

علل کاهش کاذب

لخته شدن سولف هموگلوبین

فصل اول

میزان Hb در افراد مذکر به دلیل تاثیر آندروژن ها در تحریک تولید اریتروپوئیتین ۱ تا ۲ gr/dL بیش تر است. اگر فرد از حالت خوابیده به حالت ایستاده در آید، Hb، Hct، RBC چندین درصد افزایش می یابد. فعالیت عضلانی شدید به علت از دست دادن آب پلاسما منجر به افزایش Hb، Hct، RBC می شود. Hb در صبح بالاترین میزان و در غروب به کم ترین میزان خود می رسد. Hb، Hct، RBC در افرادی که در ارتفاعات زندگی می کنند نسبت به افرادی که در سطح دریا زندگی می کنند افزایش دارد.

* MDHL (دانشسته متوسط Hb در لیتر): $\frac{MCH}{MCV} \times RBC$

تغییرات Hb

PCV = Hct
Hct انعکاسی از غلظت RBC ها است نه توده ی تام آن ها
واحد L/L (واحد SI و کاربردی) یا درصد (%) (روش مرسوم)

روش سنجش } مستقیم } سانتریفوژ کردن (روش میکرو یا ماکرو)
در Hct بالای ۵۰٪، ۵ دقیقه به مدت ۱۲g-۱۰ هزار
(غیر مستقیم: محاسبه در دستگاه های خودکار: $MCV \times RBC$)

روش میکروهماتوکریت روش مرجع در کالیبراسیون دستگاه های خودکار شمارش سلولی از لوله موئینه هیارین دار جهت جمع آوری مستقیم خون مویرگی استفاده می شود. طول لوله موئینه میکرو ۷cm و قطر آن ۱mm است.

(Hct) هماتوکریت دستگاهی
ضدانعقاد های قابل استفاده EDTA } هپارین خشک

Hct خون وریدی و مویرگی برابر است و هر دو از Hct کل بدن بیش تر است. نگهداری خون بین ۶ تا ۲۴ ساعت در دمای اتاق سبب تورم RBC و افزایش Hct و MCV می شود. شمارش سلولی و اندیس های در دمای ۴ درجه به مدت ۲۴h پایدار است.

مقادیر مرجع } مردان ۴۱٪ تا ۵۱٪
 } زنان ۳۶٪ تا ۴۵٪

مقادیر کم تر از مرجع نشان دهنده ی کم خونی و مقادیر بیش تر از مرجع نشان دهنده ی پلی سایتمی است. Hct به دلیل افزایش حجم خون در حاملگی کاهش و در شوک همراه با تغلیظ خون افزایش می یابد.

زمان و سرعت سانتریفوژ

منابع خطا در سنجش Hct دستگاهی } بستگی دارد.
میزان پلاسما به دام افتاده در حالت نرمال طی سانتریفوژ ۱-۳٪ است. هیپوناترمی سبب افزایش کاذب Hct می شود.

علل کاهش کاذب Hct } همولیز
 } چروکیدگی سلول در اثر EDTA اضافی
 } هیپوناترمی
 } لخته شدن

میزان پلاسما به دام افتاده در کم خونی داسی شکل به درجه داسی شدن و سخت شدن سلول ها

واحد: فمتولیتتر (fL) 10^{-15} یا میکرومتر مکعب رنج نرمال: ۸۰-۹۶ fL $MCV = \frac{Hct \times 1000}{RBC}$ میلیون در میکرولیتر { آگلوتیناسیون خودبه خودی آگلوتینین سرد $WBC > 50000$ هیپرگلیسمی کاهش تغییر شکل پذیری RBC ها تورم حاد کرایوگلوبولین، کرایو فیبرینوژن پلاکت غول آسا همولیز در آزمایشگاه RBC میکروسیت RBC متورم شده }	علل افزایش کاذب در دستگاه های شمارش سلولی	میانگین حجم سلولی (MCV)
MCH همان محتوای وزن Hb متوسط RBC ها است. $MCH = \frac{Hb}{RBC}$ میلیون در میکرولیتر واحد: پیکوگرم (pg) 10^{-12} $WBC > 50000$ Hb بالا کاذب RBC پایین کاذب Hb پایین RBC بالا به طور کاذب }	علل افزایش کاذب MCH دستگاهی علل کاهش کاذب MCH دستگاهی	میانگین هموگلوبین سلولی (MCH)
MCHC غلظت متوسط Hb در حجم معینی از RBC است. $MCHC = \frac{Hb}{Hct} \times 100$ واحد: گرم در دسی لیتر ($\frac{gr}{dL}$) رنج نرمال: $33-36 \frac{gr}{dL}$ { هیپوکرم داسی شکل ماکروسیت اسفروسیتوز }	در کم خونی های	میانگین غلظت هموگلوبین سلولی MCHC
MCHC $>$ دستی	به دلیل افزایش به دام افتادن پلاسما MCHC دستی	
می تواند به همولیز یا هایپرلیپیدمی در CBC پی برد.		

آگلوتیناسیون خودبه‌خودی لخته شدن همولیز در آزمایشگاه و در بدن افزایش Hb به‌طور کاذب کاهش Hct به‌طور کاذب هیپرلیپیدمی اسفروسیتوز، زیروسیتوز $WBC > 50000$ کاهش کاذب Hb افزایش کاذب Hct	علل افزایش کاذب در MCHC علل کاهش کاذب در MCHC	میانگین غلظت هموگلوبین سلولی MHC
--	--	-------------------------------------

پهنای انتشار حجم RBC (نشان‌دهنده‌ی تغییرات اندازه RBCها)
 افزایش RDW نشان‌دهنده‌ی آنیزوسیتوز و تغییر در اندازه سلول‌هاست

$$\left. \begin{array}{l} RDW - CV \leftarrow \text{رنج نرمال } 11-14\% \\ RDW - SD \leftarrow \text{رنج نرمال کم‌تر از } 47\text{fl} \end{array} \right\} \text{RDW انواع}$$

$$RDW - SD = \frac{SD \times 100}{MCV}$$

پهنای انتشار Hb در RBCها
 جهت بررسی میزان آنیزوکروم در RBC
 رنج نرمال: $1/82 - 2/64$

$$\left. \begin{array}{l} \text{جهت بررسی میزان آنیزوکروم در RBC} \\ \text{رنج نرمال: } 1/82 - 2/64 \end{array} \right\} HDW$$

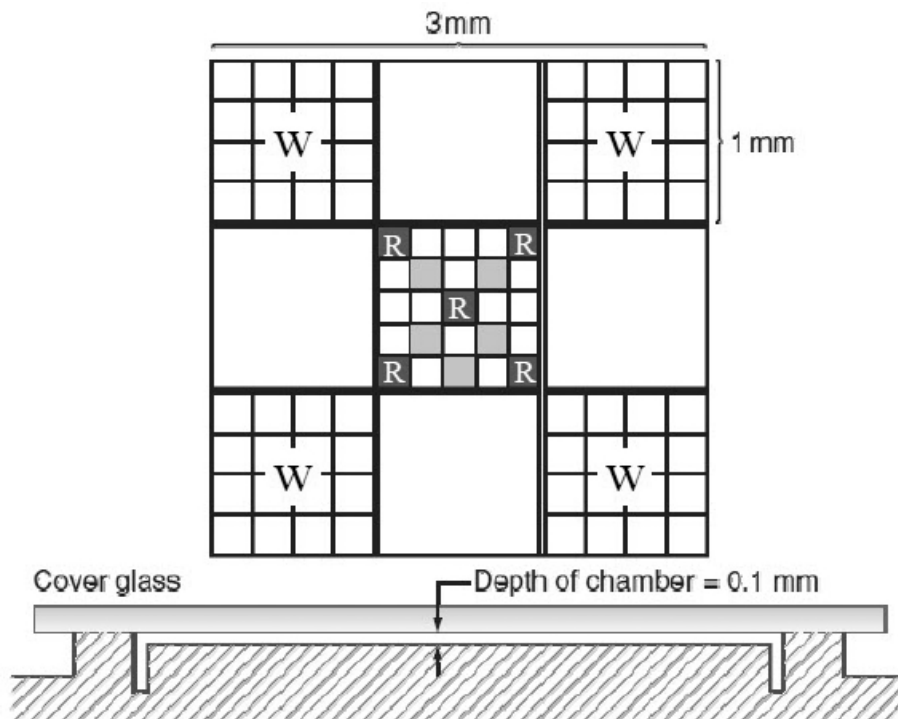
$$HDW = \frac{SD \times 100}{MCH}$$

پهنای انتشار حجم پلاکت‌ها
 در برخی بیماری‌های پلاکتی مانند ITP و TTP، DIC و سوختگی شدید افزایش دارد.

$$\left. \begin{array}{l} \text{پهنای انتشار حجم پلاکت‌ها} \\ \text{در برخی بیماری‌های پلاکتی مانند ITP و TTP، DIC و سوختگی شدید افزایش دارد.} \end{array} \right\} PDW$$

شمارش دستی سلول‌های خونی

جهت تایید شمارش لکوسیت‌ها در بیماران مبتلا به لکوپنی و شمارش پلاکت در ترومبوسیتوپنی شدید
 در نمونه‌های همراه با تداخل در شمارش پلاکت (RBCهای بیماری میکروسیت)
 موارد استفاده از هماسیتومتر
 شمارش سلولی در مایعات بدن
 ارزیابی اعتبار روش‌های دستگاهی برای کالیبره کردن دستگاه
 به عنوان یک روش کمکی



رقیق کردن خون
 مراحل شمارش سلول‌های فونی به روش دستی
 نمونه‌برداری از سوسپانسیون رقیق شده در یک حجم مشخص
 شمارش سلول‌ها در همان حجم

استفاده از رقیق کننده ایزوتونیک مانند سرم فیزیولوژی یا محلول Gower یا محلول لوئیس- دیسی اسید استیک موجود در محلول Gower از ایجاد رولوفرمیشن و آگلتناسیون جلوگیری می‌کند. محلول لوئیس- دیسی یک محلول ابداعی و محتوی فرمالین است که موجب حفظ حالت مقعرالطرفین RBC و عدم آگلتناسیون خودبه‌خودی آن می‌شود. در صورت اتواگلتناسیون در بیمار، نباید از محلول حاوی فرمالین به‌علت تثبیت وضعیت آگلتناسیون RBC استفاده کرد.

شمارش دستی
 اریتروسیت‌ها
 در حالت عادی خون به نسبت ۱ به ۲۰۰ رقیق می‌شود.
 در موارد آنمی خون به نسبت ۱ به ۱۰۰ رقیق می‌شود.
 ۲۵ مربع مرکز لازم هماسیتومتر مخصوص شمارش اریتروسیت‌هاست.
 جهت شمارش حداقل باید ۵ مربع ۱۶ تایی شمارش شود.
 سلول‌هایی که روی اضلاع مربع قرار دارند تنها به‌صورت L (دو ضلع مجاور) شمارش می‌شوند
 (edge role) نه تمام اضلاع مربع

$$\text{RBC تعداد} = \left[\text{مجموع RBC های شمارش شده در } 5 \times 200 \times 10 \right] \times 5 \text{ مربع مرکز}$$

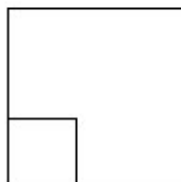
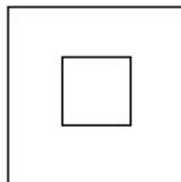
شمارش رتیکلوسیت‌ها

میزان رتیکلوسیت بیانگر سرعت تولید RBC و فعالیت موثر B.M و پایش پاسخ به درمان در آنمی‌ها است. اصول شمارش: رسوب کمپلکس رنگی ریبونوکلئوپروتئین پس از انکوباسیون در محلول نیومتیلن بلو یا آبی کریزل درخشان و مشاهده این کمپلکس به صورت شبکه‌ای یا به صورت گرانول‌های آبی تیره شمارش مطلق یا شاخص تولید رتیکلوسیت سودمندتر از درصد آن است. در آنمی‌ها سرعت آزاد شدن رتیکلوسیت‌ها بیش‌تر است. معرف: محلول نیومتیلن بلو ۱٪ یا برلیانت کریزل بلو یا آزرور B در رقیق کننده سیترات/ سالین [آزرور B از همه بهتر است]. شمارش دستی رتیکلوسیت کنترل به صورت تجاری در دسترس است، البته در روش ابراهیم- رایان که در ۲ ساعت زمان، کنترل چندسطحی که چند ماه پایدار است ایجاد می‌شود. دیالیز هیپوتونیک RBC در حضور RNA و پس از آن دیالیز هایپرتونیک جهت درگیری منافذ غشای RBC سبب ایجاد حدوداً ۲۰٪ RBC‌ها به صورت رتیکلوسیت صناعی همراه با مقادیر متنوعی از RBC کپسول‌دار می‌شود. در روش دستی درصد Retic حداقل با شمارش ۱۰۰۰ RBC تعیین می‌شود.

با قرار دادن یک دیسک میلر در قسمت عدسی چشمی، دو مربع در میدان دید ظاهر می‌شود. مربع بزرگ‌تر ۹ برابر مربع دیگر است. در میدان‌های میکروسکوپی پشت سر هم، Retic را در مربع بزرگ و RBC را در مربع کوچک می‌شماریم. دیسک میلر حدود ۳۰۰ RBC باید شمارش شود. با این روش درصد Retic بین ۲۷۰۰ RBC برآورد می‌شود.

$$\text{درصد Retic} = \frac{\text{تعداد Retic در مربع بزرگ}}{\text{تعداد RBC در مربع کوچک}} \times 100$$

برای به دست آوردن شمارش مطلق Retic باید درصد Retic در تعداد کل RBC ضرب شود.



$$100 \times \frac{\text{میانگین تعداد رتیکلوسیت}}{\text{کل RBC}} = \text{درصد رتیکلوسیت}$$

درصد Retic می‌تواند در اثر افزایش مقدار رتیکلوسیت یا کاهش تعداد RBC افزایش یابد.

درصد Retic ارتباط بین میزان RBC و رتیکلوسیت در حال تولید را مشخص نمی‌کند.

برای ارزیابی اریتروپوئیس سفارش مطلق و شمارش اصلاح شده‌ی رتیکلوسیت محاسبه می‌شود.

$$\text{تعداد کل RBC} \times \text{درصد Retic} = \text{شمارش مطلق Retic}$$

$$\text{درصد رتیکلوسیت} = \frac{\text{Hct بیمار}}{\text{Hct نرمال}} \times \text{شمارش اصلاح شده Retic}$$

به منظور دریافت میزان اریتروپوئیز موثر B.M و همچنین علت آنمی‌ها از شاخصی به نام RPI (شاخص تولید رتیکلوسیت) استفاده می‌شود.

محاسبه

میزان رتیکلوسیت

$$\text{RPI} = \frac{\text{درصد رتیکلوسیت بیمار}}{\text{زمان بلوغ رتیکلوسیت}} \times \frac{\text{Hct بیمار}}{45}$$

Hct نرمال ۴۵٪ و زمان بلوغ آن ۱ روز در نظر گرفته می‌شود.

Hct برابر با ۳۵٪، ۲۵٪، ۱۵٪ به ترتیب دارای زمان بلوغ ۱/۵، ۲، ۲/۵ روز است.

در صورتی که RPI کم‌تر از ۲ باشد نشان‌دهنده‌ی پاسخ غیر موثر و هیپروپرولیفراسیون B.M است.

در صورتی که RPI بیش‌تر از ۲ باشد نشان‌دهنده‌ی پاسخ مناسب B.M است.

$$\left. \begin{array}{l} \text{رنج نرمال درصد} \\ \text{رتیکلوسیت} \end{array} \right\} \begin{array}{l} \text{در بزرگسالان } 1/5 - 0.5\% \text{ یا } 84 \times 10^9 / L \\ \text{در نوزادان شیرخوار } 6/5 - 2/5\% \end{array}$$

(میزان رتیکلوسیت از اواخر هفته دوم تا دامنه بزرگسالان افت می‌کند.)

براساس اضافه کردن یک رنگ برای آشکارسازی محتوی RNA هر RBC است

نیومتیلن بلو (NMB)

اکسازین

اورامین O

پلی متیلن

تیازول نارنجی

رنگ‌های استفاده شده

روش‌های شناسایی شامل: امیدانس، پراکنش نور، جذب و شدت فلورسانس است.

بخش‌های رتیکلوسیتی براساس میزان RNA جدا می‌شوند.

سلول‌های نابالغ‌تر حاوی مقادیر رتیکلوم بیش‌تری هستند.

بخش رتیکلوسیت‌های نارس (IRF) از نظر کمی جوان‌ترین رتیکلوسیت‌ها با بیش‌ترین شدت

رنگ‌پذیری هستند.

شمارش

رتیکلوسیت دستگاهی

قبل از افزایش شمارش Retic و Hb و RBC است

شیمی درمانی

کمک به شناسایی زود هنگام افزایش

خون‌سازی در پاسخ B.M در

پایند

پاسخ به درمان با Epo

اولین نشانه یک پیوند موفق است.

افزایش IRF

IRF می‌تواند در کنار شمارش مطلق Retic برای دسته‌بندی کم‌خونی به کار رود.

$\left. \begin{array}{l} \text{CHr یک شاخص حساس برای شناسایی RBCهای هیپوکرومیک است.} \\ \text{CHr به صورت He-RET نیز گزارش می شود.} \\ \text{CHr و He-RET در ارزیابی کمبود آهن در بدخیمی ها مفید است.} \end{array} \right\} \begin{array}{l} \text{محتوای هموگلوبین} \\ \text{رتیکلوسیت (CHr)} \end{array}$

شمارش لکوسیت ها

قبل از شمارش WBC ها ابتدا باید RBC ها لیز شوند.
 جهت لیز RBC ها و رقیق سازی خون از محلول تورک یا مارکانو یا اسید استیک ۲٪ یا اسید کلریدریک ۱٪ استفاده می کنیم.
 خون به نسبت $\frac{1}{20}$ رقیق می شود.
 در لکوپنی $WBC < 2000$ خون به نسبت $\frac{1}{10}$ رقیق می شود.
 در لکوسیتوز خون به نسبت $\frac{1}{100}$ تا $\frac{1}{200}$ رقیق می شود.
 شمارش دستی لکوسیت ها

$$10 \times \text{فاکتور رقت} \times \frac{\text{تعداد کل لکوسیت}}{\text{تعداد مربع های بزرگ شمارش شده}} = \text{تعداد لکوسیت}$$
 در مواردی که تعداد زیادی NRBC در گستره خونی دیده شود جهت تصحیح شمارش WBC ها از فرمول زیر استفاده می شود:

$$\frac{WBC \times 100}{\text{تعداد NRBC} + 100} = \text{شمارش صحیح لکوسیت ها}$$
 در این فرمول NRBC تعداد گلبول های قرمز هسته دار است که در خلال شمارش ۱۰۰ لکوسیت شمرده شده اند.
 ضد انعقاد مناسب جهت شمارش لکوسیت ها EDTA است.
 هپارین جهت شمارش لکوسیت ها مناسب نیست.

منابع خطا در شمارش WBC دستگاهی

کرایوگلوبولین، کرایوفیبرینوژن هپارین پروتئین های منوکلونال NRBC توده ای شدن پلاکت ها RBC های لیز نشده لخته شدن سلول های اسماج (Smudge) اورمی همراه با سرکوب کننده های ایمنی	علل افزایش کاذب علل کاهش کاذب
---	----------------------------------

شمارش WBC در بعد از ظهر در بالاترین سطح و در صبح دارای کمترین میزان است.
 تغییرات WBC } ورزش، سیگار کشیدن سبب لکوسیتوز نسبی می شود.
 در دوران قاعدگی شاهد کاهش خفیف در تعداد نوتروفیل و منوسیت هستیم

شمارش پلاکت

- پلاکت‌ها دارای قطر ۲ تا ۴ میکرومتر و حجم ۵ تا ۷ فمتولیتتر هستند.
 عملکرد پلاکت در تداوم یکپارچگی مرگ‌ها و مشارکت در فرآیند انعقاد است.
 مقدار مرجع در شمارش $150 - 450 \times 10^9 / L$ plt
 مقدار مرجع MPV در بزرگسالان ۶/۵-۱۲ fL
 زنان در مقایسه با مردان شمارش WBC, Plt, Neu بالاتری دارند.
 تجمع پلاکتی و ترومبوسیتوپنی کاذب در موارد استفاده از EDTA به احتمال ۱/۰٪ وجود دارد.
 تا یک ساعت اول افزایش می‌یابد.
 MPV در خون حاوی EDTA از ۱ ساعت تا ۳ ساعت بعد نسبت ثابت است.
 پس از ۳ ساعت افزایش بیش‌تری نشان می‌دهد.
 در پرکاری تیروئید و بیماری‌های میلوپرولیفراتیو افزایش دارد.
 MPV در خون دارای EDTA نسبت به خون سیتراته به‌علت تغییر شکل پلاکت از دیسکوئید به کروی افزایش
 بیش‌تری دارد.
 روش گلداندارد جهت شمارش plt، فلوسایتومتری با استفاده از Ab منوکلونال اختصاصی ضدپلاکت (ضد
 CD_{41} / CD_{61}) است.
 روش استاندارد به‌تایید پلاکت از تداخل‌کننده‌هایی همچون RBC میکروسیت، قطعات WBC و میکروارگانیسم و ... کمک می‌کند.
 پلاکت‌های رتیکوله، پلاکت‌هایی هستند که به‌تازگی در گردش خون رها شده‌اند و دارای بقایای RNA هستند.
 شمارش پلاکت‌های رتیکوله برآوردی از ترومبوپوئز است.
 ITP
 پرکاری تیروئید
 نوزادان نارس
 بازبایی B.M پس از شیمی درمانی در AML
 آپلازی
 سیروز کبدی
 افزایش پلاکت‌های رتیکوله در
 کاهش پلاکت‌های رتیکوله در
 از اگزالات آمونیوم ۱٪ در آب مقطر به‌عنوان محلول رقیق‌کننده استفاده می‌شود.
 خون به نسبت $\frac{1}{100}$ رقیق می‌شود.
 شمارش
 دستی پلاکت

$$\frac{250 \times \text{رقت} \times \text{تعداد سلول‌های شمارش شده}}{\text{تعداد مربع‌های شمارش شده}} = \text{شمارش PLt در هر میکرولیتر}$$
 روش چشمی انتخابی جهت شمارش plt استفاده از میکروسکوپ فاز کنتراست می‌باشد.
 کرایوگلوبولین، کرایوفیبرینوژن
 همولیز در آزمایشگاه و در بدن
 غلبول‌های قرمز میکروسیت
 انکلوژیون‌های RBC
 تکه‌های WBC
 منابع خطا شمارش
 پلاکت به روش دستگاهی
 * در موارد افزایش کاذب باید از روش هماسیتومتر فاز کنتراست استفاده کرد.
 لخته شدن
 پلاکت‌های غول‌آسا
 غل کاهش کاذب استفاده از هیپارین به‌عنوان ضدانعقاد
 توده‌ای شدن plt (حضور آگلوتینین‌ها)
 اقماری شدن plt (Satellitism)

فصل اول

سرعت رسوب گلوبول‌های قرمز در واحد زمان برحسب میلی‌متر بر ساعت (mm/h)

شاخصی غیراختصاصی از وجود التهاب پنهان

RBCها به دلیل داشتن پتانسیل زتا دارای سرعت رسوب طبیعی هستند.

کاهش پتانسیل زتا سبب افزایش تشکیل رولو فورمیشن و افزایش ESR می‌شود.

هیچ رابطه مطلقی بین ESR و اجزای پلاسما وجود ندارد.

سرعت ESR با وزن تجمعات نسبت عکس دارد.

میکروسیت‌ها به دلیل کاهش نسبت سطح به حجم نسبت به ماکروسیت‌ها آهسته‌تر رسوب می‌کنند.

۱. تشکیل رولو در 10° دقیقه اول

۲. رسوب RBC با سرعت ثابت در 40° دقیقه بعد

۳. کاهش سرعت رسوب به خاطر انباشتگی سلول‌ها در 10° دقیقه آخر

ESR

توصیه ICSH به عنوان روش مرجع که در آن از خون کامل رقیق نشده استفاده می‌شود.

در این روش هماتوکریت نباید بالای 35% باشد.

لوله وسترگرین به طول 30 cm و قطر داخلی $2/5\text{ mm}$ است و از 0° تا 200° درجه بندی شده است.

ضدانعقاد مورد استفاده سیترات سدیم است.

به علت این که از خون لوله CBC نیز می‌توان استفاده کرد روشی آسان‌تر از وسترگرین است.

به جای سیترات از EDTA استفاده می‌شود.

جهت افزایش دقت باید 2 mL خون EDTA دار با 5 mL سیترات سدیم $3/8\%$ رقیق شود.

روش‌های
اندازه‌گیری ESR

استفاده از EDTA به عنوان ضدانعقاد

لوله وینتروب لوله‌ای به طول 10 cm با قطر داخلی $2/5\text{ mm}$ که از 0° تا 100° درجه بندی

شده است.

در روش وسترگرین شیوه موثری جهت تصحیح کم‌خونی وجود ندارد ولی در روش

وینتروب این اقدام قابل انجام است.

دارای شیب 18° که سبب کاهش زمان انجام تست از 1 h به 25 دقیقه و از

2 h به 45 دقیقه می‌شود.

استفاده از حس‌گرهای اپتوالکتریک که به‌طور خودکار سطح رسوب

RBC را می‌خواند.

دستگاه VES-MATIC 20

روش مبتنی بر سانتیفریوژ که توسط لیزر مادون قرمز سطح تماس پلاسما و RBC

را شناسایی می‌شود.

با رسم منحنی توسط الگوریتم نتیجه را نشان می‌دهد.

نسبت به وسترگرین به حجم کمی از نمونه نیاز دارد و سریع‌تر است.

خطاهای این روش مانند روش وسترگرین است (مستعد خطای انسانی (نیاز به 15

بار سروته کردن نمونه)

دستگاه STAT plus

روش‌های جایگزین
جهت سنجش ESR