



Faculty of Biological Science and Technology
Zoology and Botanical department
Practical Animal physiology

شمارش حجمی گلبول های قرمز
Red blood cell count (RBC)

By: Shirin Kashfi

Ph.D in Animal Development

Sh.kashfi@staf.ui.ac.ir



هدف از انجام این آزمایش تعیین تعداد گلبول های قرمز موجود در یک میلی متر مکعب از یک نمونه خون است

Massoud Laboratory
آزمایشگاه مسعود

نام پزشک: [Redacted]
شماره اشتراک: EE5976
تاریخ پذیرش: 1398/07/01
سن: 33 سال
(ت اجتماعی)

Full Report
Checked By: Dr. as

Biochemistry - Serum

Test	Result	Reference Intervals(Sex & Age adjusted)
Uric Acid	6.6 mg/dL	Men: 3.6 - 7.7 Women: 2.5 - 6.8

Hematology CBC WBCs - Whole Blood
Checked By: Dr. M

Test	Result	Reference Intervals(Sex & Age adjusted)
WBC	4.8 $10^3/\mu\text{L}$	4-10
Neutrophils #	2.5 $10^3/\mu\text{L}$	1.5-8
Lymphocytes#	1.6 $10^3/\mu\text{L}$	0.8-4.8
Monocyte #	0.4 $10^3/\mu\text{L}$	0.2-1
Eosinophil#	0.3 $10^3/\mu\text{L}$	0.01-0.8
Basophil#	0.0 $10^3/\mu\text{L}$	0-0.2
Neutrophil	53.7 %	38-80
Lymphocyte	32.7 %	18-50
Monocyte	7.5 %	2-10
Eosinophil	5.8 % +	0-5
Basophil	0.3 %	0-2

Hematology CBC - RBCs - Whole Blood

Test	Result	Reference Intervals(Sex & Age adjusted)
RBC	4.41 Million/ μL	3.8-5.4
Hb	13.5 g/dL	11.9-15.9
Hct	41.5 %	35-47
MCV	94.1 fL	80-100
MCH	30.6 pg	27-33
MCHC	32.5 g/dL	32-36
RDW-CV	13.0 %	11.5-14.5

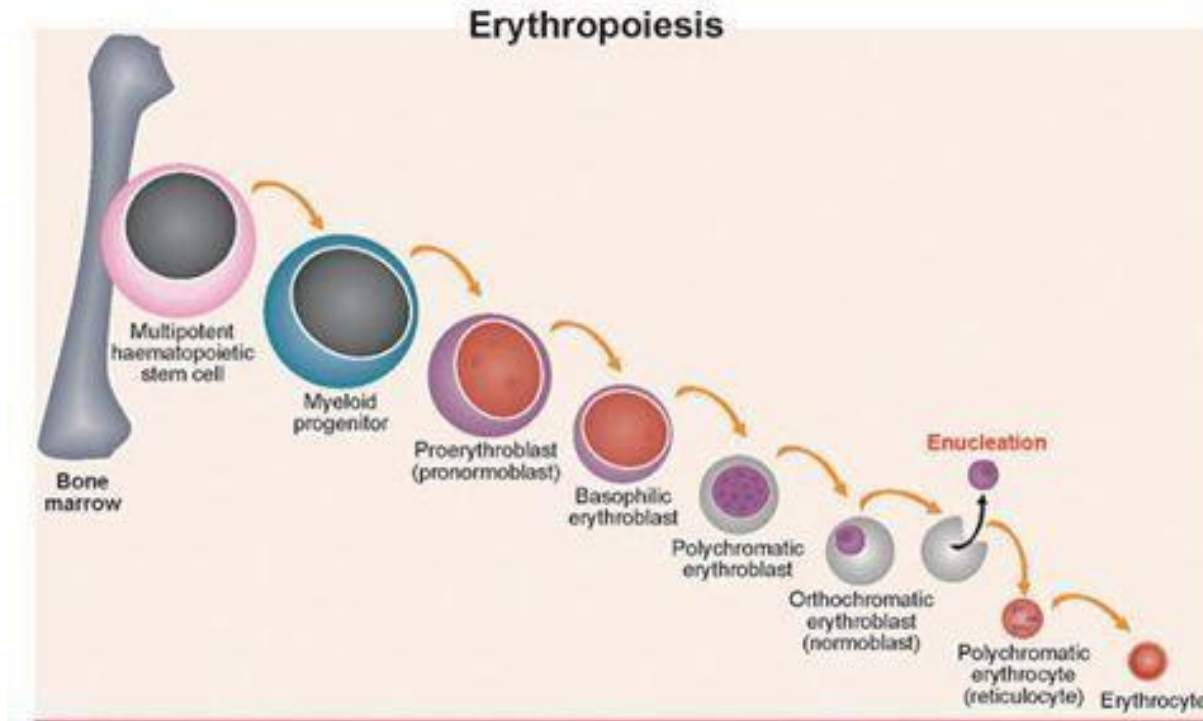
Hematology CBC - Platelets - Whole Blood

Test	Result	Reference Intervals(Sex & Age adjusted)
Platelet	212 $10^3/\mu\text{L}$	140-450
PCT	0.24 %	
MPV	11.1 fL	7.2-12
PDW	17.6 %	9.0-20

خون سازی (erythropoiesis)



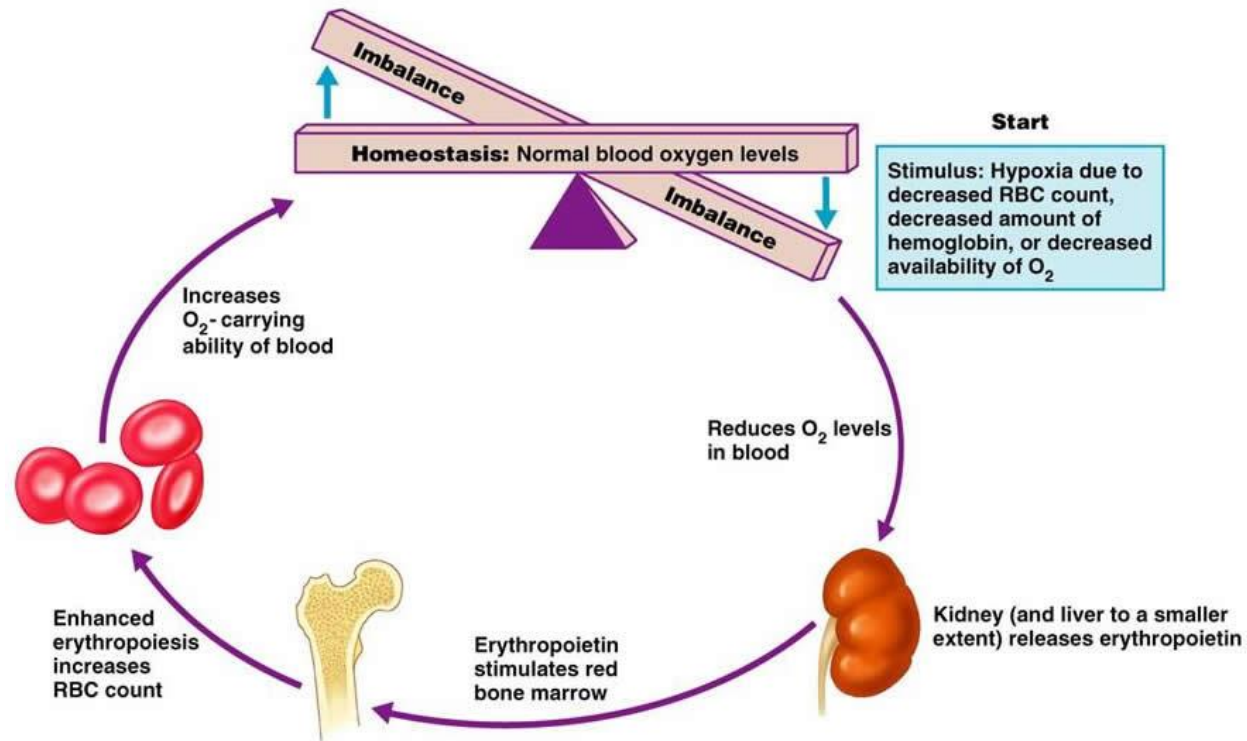
- ▶ خون سازی در انسان بالغ در مغز استخوان انجام می گیرد
- ▶ در دوران جنینی ساخت خون سازی در کیسه زرده، کبد و طحال هم صورت می گیرد که به آن خون سازی خارج از مغز استخوان (extramedullary erythropoiesis) گفته می شود

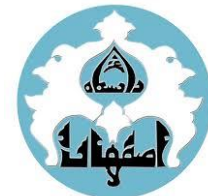




عوامل موثر بر تولید گلبول های قرمز

- ▶ در شرایط معمول تعداد گلبول های قرمز تولید شده با تعداد گلبول های قرمزی که از جریان خون حذف می شوند برابر است
- ▶ هیپوکسی مهمترین فاکتور اثر گذار بر تولید و رهاسازی گلبول های قرمز است
- ▶ هورمون اریتروپوئیتین در تنظیم تولید گلبول های قرمز دخالت دارد





سایر فاکتورهای موثر بر تعداد گلبول های قرمز

جنسیت ▶

- ▶ در خانم ها ۴/۵-۵/۲ میلیون در میلی متر مکعب خون
- ▶ در آقایان ۴/۵-۶/۳ میلیون در میلی متر مکعب خون

سن ▶

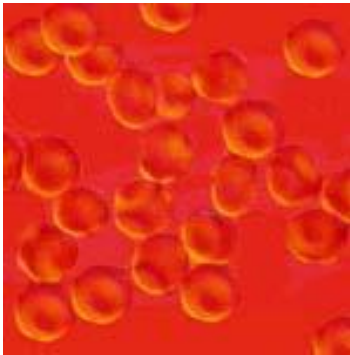
- ▶ در نوزادان تعداد گلبول های قرمز بیشتر است

- ▶ ارتفاع محل سکونت از سطح دریا



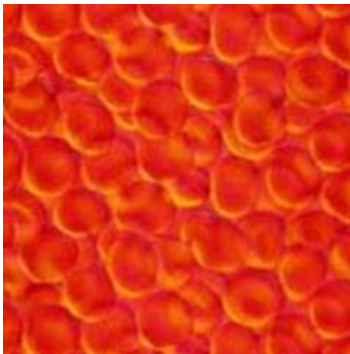
کم خونی و پلی سیتمی (anemia & polycythemia)

- ▶ آنمی (کم خونی) به حالتی گفته می شود که تعداد گلبول های قرمز در هر میلی متر مکعب خون یا میزان هموگلوبین در هر دسی لیتر خون کاهش یابد

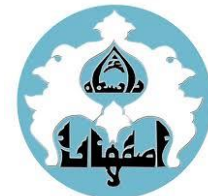


- ▶ انواع آنمی را می توان در سه دسته کلی تقسیم بندی نمود:
 - ▶ از دست رفتن مقدار زیادی خون (مانند خونریزی های شدید)
 - ▶ تخریب زودرس و زیاد گلبول های قرمز خون (hemolysis) بر اثر عوامل ژنتیکی (مانند آنمی داسی شکل یا اکتسابی (مانند مالاریا)
 - ▶ اشکال در تولید گلبول های قرمز خون (ineffective hematopoiesis) بر اثر عوامل ژنتیکی (مانند تالاسمی) یا اکتسابی (مانند فقر آهن)

- ▶ پلی سیتمی به حالتی گفته می شود که در آن تعداد گلبول های قرمز در هر میلی متر مکعب خون افزایش یافته باشد
- ▶ انواع پلی سیتمی :



- ▶ پلی سیتمی اولیه (primary) یا حقیقی (vera) یا اریترمی (erythremia)
- ▶ پلی سیتمی ثانویه (secondary)
- ▶ پلی سیتمی نسبی (relative) یا کاذب



روش شمارش حجمی گلبول های قرمز

► مواد و وسایل مورد نیاز:

خون کامل (مخلوط شده با ضد انعقاد)، محلول هایم، لوله آزمایش، سمپلر و سر سمپلر مناسب، پیپت 10 ml، پنبه و الکل، لام شمارش حجمی (هموسیتومتر) نئوبار همراه با لامل مخصوص (لامل سنگین) و میکروسکوپ

■ در صورتی که خون در لوله آزمایش رقیق نشود از پیپت ملانژور قرمز برای رقیق کردن خون جهت شمارش حجمی گلبول های قرمز استفاده می شود



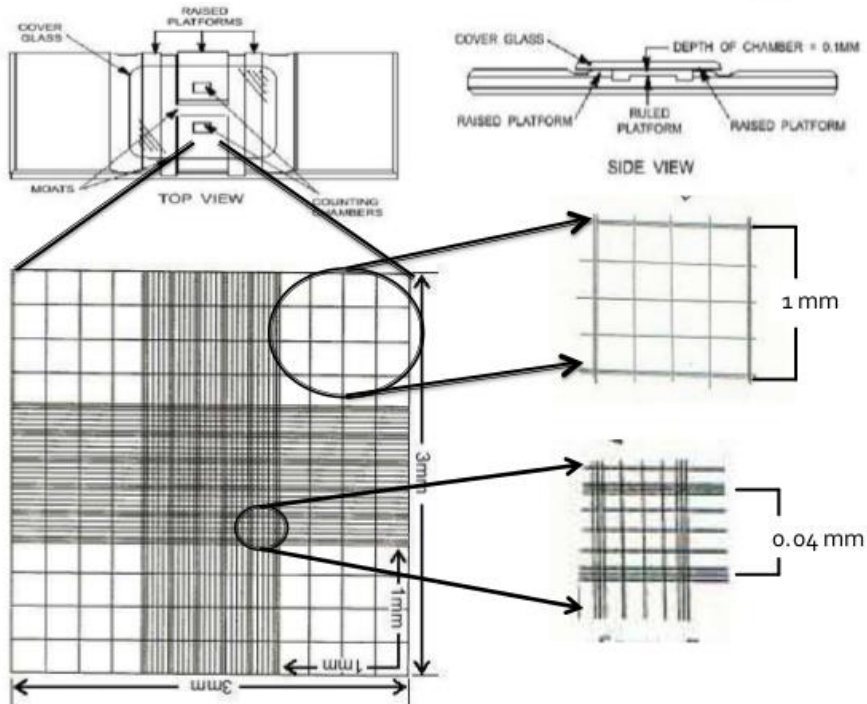


محلول هایم (Hayem's solution)

- ▶ محلول هایم حاوی کلرید سدیم، سولفات سدیم و کلرید جیوه می باشد
- ▶ کلرید سدیم موجود در این محلول به فراهم آوردن یک محیط ایزوتونیک برای حفظ گلبول های قرمز کمک می کند، سولفات سدیم از چسبیدن سلول ها به یکدیگر ممانعت می کند و کلرید جیوه از رشد قارچ ها و باکتری ها در این محیط جلوگیری می کند

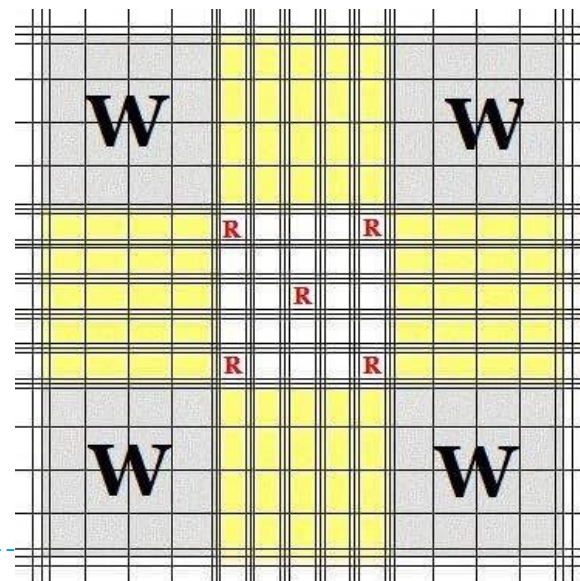


لام هموسیتومتر نئوبار اصلاح شده (Improved Neubauer haemocytometer)



- مربع ۱ در ۱ میلیمتر مرکزی برای شمارش گلبول های قرمز به کار می رود
- مربع مرکزی در لام نئوبار اصلاح شده به ۲۵ مربع متوسط تقسیم شده است. جدا شدن این مربع ها توسط خطوط سه گانه است
- هر مربع متوسط به ۱۶ مربع کوچکتر تقسیم شده است
- برای شمارش گلبول های قرمز پنج مربع متوسط مطابق شکل زیر انتخاب و شمارش می شوند؛ یعنی چهار مربع از کناره ها و یک مربع در وسط انتخاب می شوند

- مربع مرکزی در برخی از لام های هموسیتومتر به ۱۶ مربع متوسط تقسیم شده است که در اینصورت برای شمارش گلبول های قرمز پنج مربع متوسط به صورت L انتخاب و شمارش می شوند



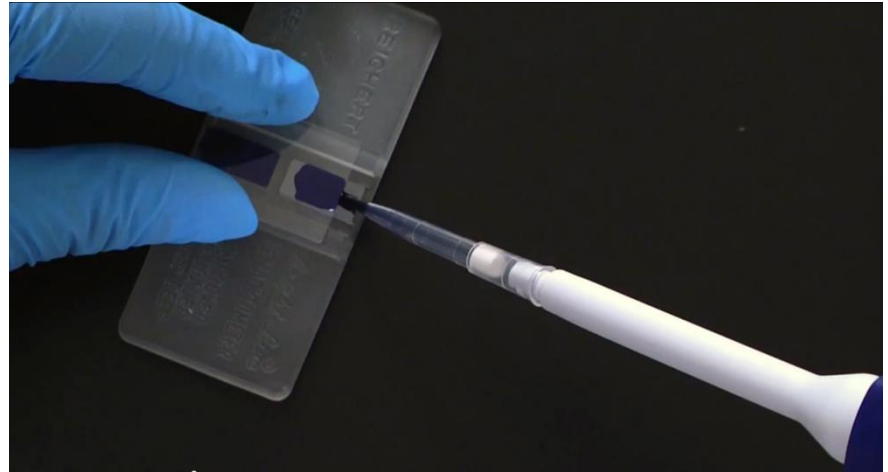


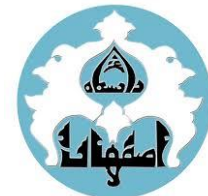
رقیق کردن خون جهت شمارش حجمی گلبول های قرمز

- ▶ برای رقیق کردن خون بدون استفاده از پیپت ملانژور قرمز به روش زیر عمل کنید:
- ▶ در یک لوله آزمایش ۵ ml محلول هایم با کمک پیپت سرنگی بریزید
- ▶ با استفاده از یک سمپلر مناسب ۲۵µl از محلول هایم داخل لوله آزمایش را دور بریزید
- ▶ ۲۵µl از خون کامل مخلوط شده با ماده ضد انعقاد را به کمک سمپلر بردارید. اطراف سرسمپلر را از خون اضافه پاک کرده و محتویات آن را به محلول هایم داخل لوله آزمایش اضافه کنید
- ▶ در لوله آزمایش را با پارافیلیم مسدود کرده و لوله را سر و ته کنید تا خون و هایم به خوبی با یکدیگر مخلوط شده و سوسپانسیون سلولی یکنواختی به دست آید. در این حالت خون ۲۰۰ بار رقیق شده است

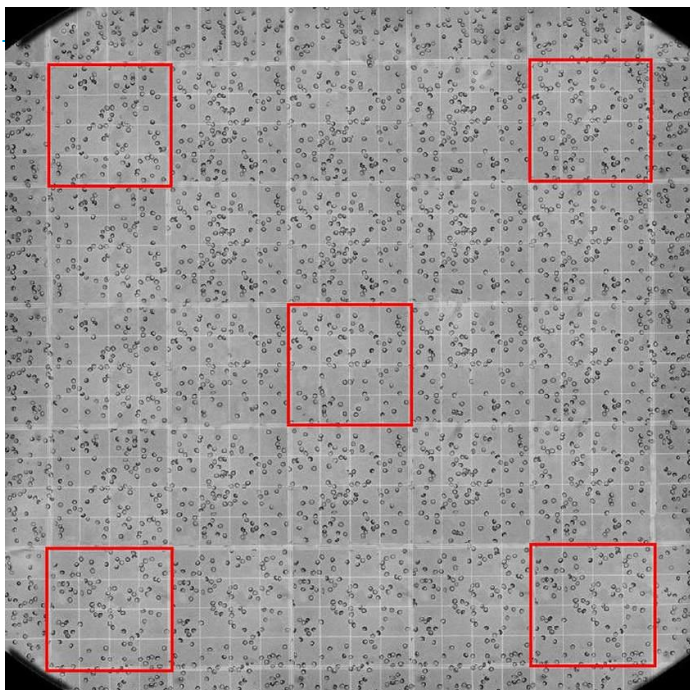


- ▶ برای انتقال خون و محلول هایم روی لام هموسیتومتر دقیقاً مانند شمارش حجمی گلبول های سفید عمل می شود
- ▶ خون و محلول طبق خاصیت موینگی زیر لامل پخش می شوند

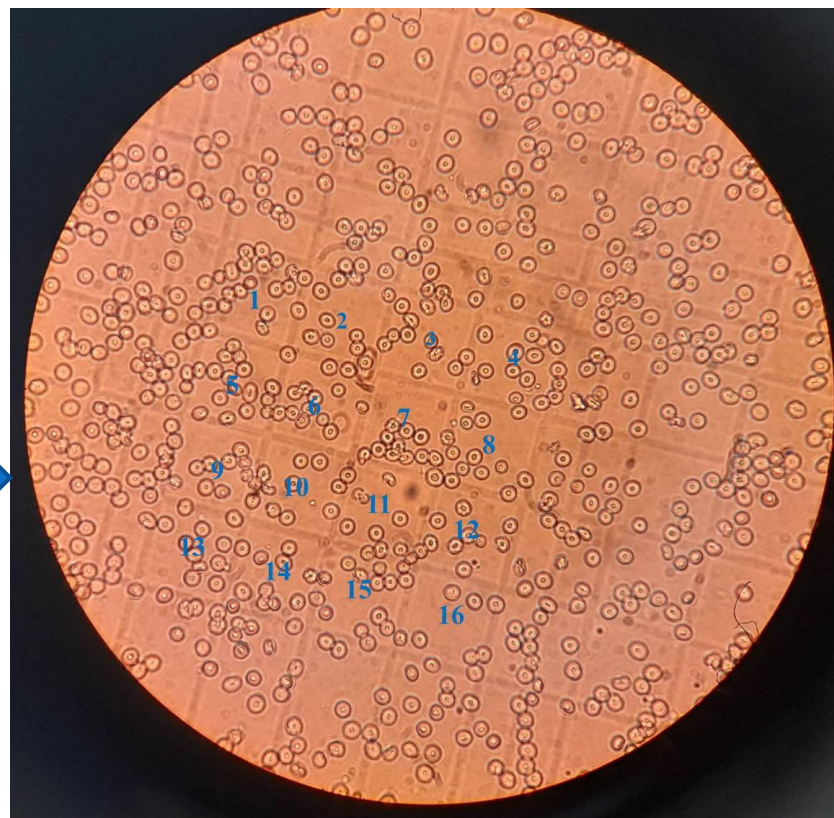




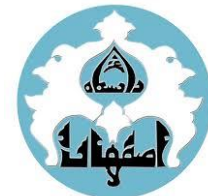
روش شمارش گلبول های قرمز با استفاده از لام هموسیتومتر



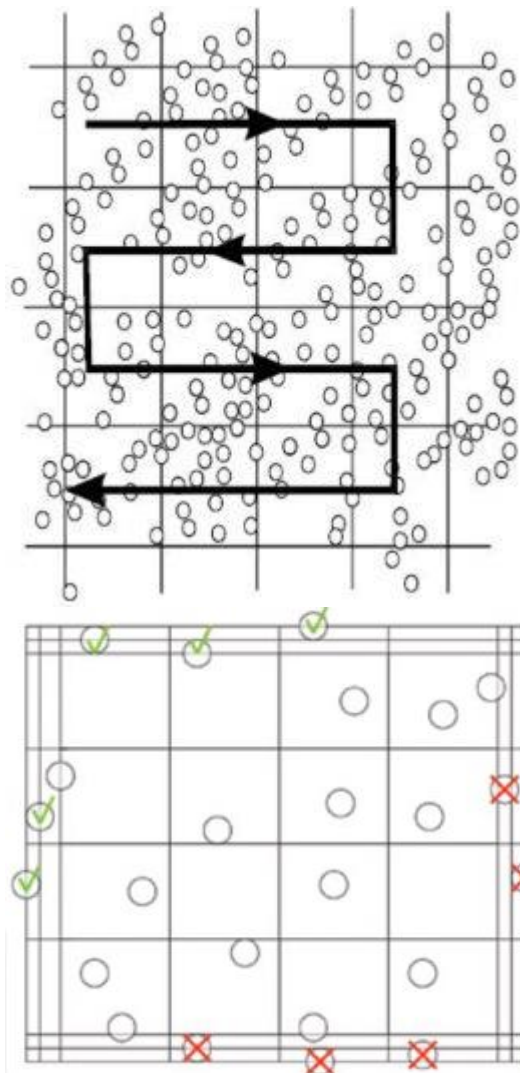
- ▶ برای شمارش گلبول های قرمز از عدسی شیئی ۴۰ استفاده کنید
- ▶ برای مشاهده بهتر حتما باید نور و کندانسور میکروسکوپ را تنظیم کنید



تصویر روبرو در آزمایشگاه فیزیولوژی جانوری دانشگاه اصفهان تهیه شده است و ۱۶ مربع کوچک مربوط به یکی از مربع های ۲۵ تایی مربع وسط را نشان می دهد. خون پس از رقیق سازی روی لام هموسیتومتر منتقل شده است و در تصویر گلبول های قرمز را مشاهده می کنید. بزرگنمایی X40



روش شمارش گلبول های قرمز



- ▶ برای شمارش گلبول های قرمز در هر مربع متوسط که از ۱۶ مربع کوچکتر تشکیل شده است، از مربع کوچک سمت چپ اولین ردیف شروع کرده و پس از شمارش هر ردیف، شمارش را در مربع کوچک سمت چپ آخرین ردیف خاتمه دهید
- ▶ فقط گلبول های قرمزی شمارش می شوند که کاملاً در داخل مربع متوسط واقع شده باشند (ملاک خط وسط است)
- ▶ آن دسته از گلبول های قرمزی که روی خطوط مرزی بالا و سمت چپ قرار دارند شمارش می شوند. در صورتی که لام نئوباری که استفاده می کنید دارای خطوط سه گانه مرزی است خط وسط ملاک عمل است



روش محاسبه تعداد گلبول های قرمز در یک میلی متر مکعب خون

- ▶ گلبول های قرمز موجود در ۵ مربع متوسط را شمارش نموده و تعداد کل آنها را معلوم کنید
- ▶ در صورتی که خون را ۱۰۰ مرتبه رقیق کرده اید، عدد به دست آمده را در ۵۰۰۰ و در صورتی که خون را ۲۰۰ مرتبه رقیق کرده اید، عدد به دست آمده را در ۱۰۰۰۰ ضرب کنید تا تعداد کل گلبول های قرمز در یک میلی متر مکعب از نمونه خون مورد نظر به دست آید

$$\text{تعداد گلبول های قرمز} = (n1+n2+n3+n4+n5) * 10000 / \text{mm}^3$$

- ▶ به طور مثال اگر تعداد کل گلبول های قرمز شمارش شده از پنج مربع متوسط مرکزی ۴۵۰ عدد باشد، خواهیم داشت:

$$450 * 10000 = 4500000 / \text{mm}^3$$



چگونگی به دست آوردن ضریب ۱۰۰۰۰

- ▶ در این آزمایش از مجموع ۲۵ مربع متوسط (مجموع آن یک مربع بزرگ به مساحت ۱ میلیمتر مربع است) تنها ۵ مربع شمارش شد؛ یعنی یک پنجم مساحت یک مربع بزرگ. بنابراین ضریب تعداد ۵ است (ضریب سطح)
- ▶ چون ارتفاع لام از لامل ۰/۱ میلیمتر است، پس حجم زیر آن در محفظه شمارش برابر با ۰/۱ میلیمتر مکعب است. چون می خواهیم تعداد گلبول های قرمز را در حجم یک میلیمتر مکعب به دست آوریم، بنابراین تعداد در عدد ۱۰ ضرب می شود (ضریب حجم)
- ▶ از طرفی خون ۲۰۰ بار رقیق شده است؛ بنابراین برای محاسبه تعداد گلبول های قرمز در خون رقیق نشده باید آن را در ۲۰۰ ضرب کرد (ضریب رقت)
- ▶ پس خواهیم داشت:

$$۵ * ۱۰ * ۲۰۰ = ۱۰۰۰۰$$