



# داندلود بسینم نرم افزاری تاتاک دو از کافه بازار

شمارش دستی رتیلولوسیت ها (Reticulocyte Count):

رتیلولوسیت ها، گلبول های قرمز بدون هسته و ناری بوده که دارای اسید ریبونوکلیئیک (RNA) می باشند .

این سلول ها در شرایط طبیعی، 2-3 روز در مغز استخوان باقی مانده، یک روز هم در جریان خون هستند و پس از آن به گلبول قرمز بالغ تبدیل می شوند.

از شمارش رتیکولوسیت ها برای تعیین فعالیت سنتز گلبول های قرمز در مغز استخوان استفاده می شود بنابراین شمارش آن ها تخمینی خواهد بود از سرعت تولید گلبول های قرمز و نه تخریب آن ها

### روش انجام شمارش دستی:

خون کامل EDTA دار با یکی از رنگ های حیاتی مانند نیومتیلن بلو یا بریلیانت کرزیل بلو مجاور می شود.

برای تهیه این رنگ ها، یک گرم از آن ها را در 100 میلی لیتر بافر فسفات (PBS) با pH=7.4 حل کرده و در ظروف تیره و در دمای یخچال نگهداری کنید.

رنگ ساخته شده در دمای یخچال به مدت یک ماه قابل نگهداری است. دقت شود که قبل از استفاده از رنگ، آن را بوسیله کاغذ واتمن شماره یک، فیلتر کنید.

1. حجم های مساوی از خون را با یکی از رنگ های حیاتی مخلوط کرده و به مدت 20 دقیقه در دمای اتاق انکوبه کنید .

رنگ های حیاتی با عبور از غشاء گلبول های قرمز در حالت زنده، روی ریبوزوم ها و رشته های RNA موجود در رتیکولوسیت ها رسوب کرده و آن ها را به رنگ آبی سیر بصورت رسوبی از گرانول یا فیلامنت، قابل مشاهده می سازد.

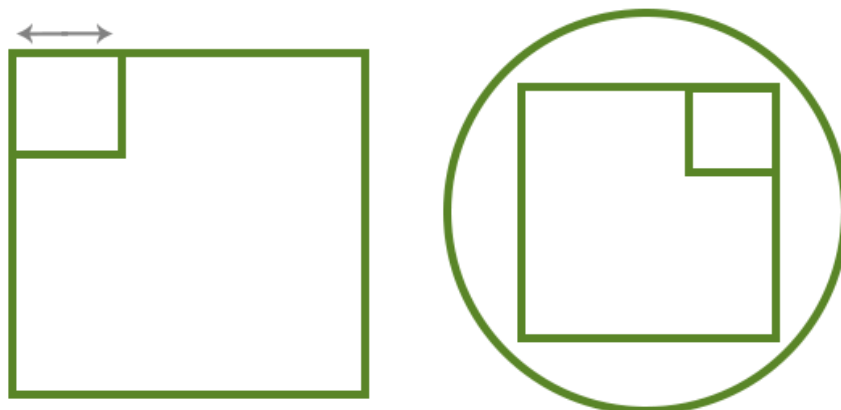
2. دو لام تهیه کرده و پس از خشک شدن، با استفاده از عدسی روغنی، به شمارش رتیکولوسیت ها در مناطقی که پخش یکنواختی از سلول ها وجود دارد، می پردازیم .

گلوبول های قرمز آبی کم رنگ یا آبی متمایل به سبز و رتیکولوسیت ها آبی کم رنگ به همراه موارد رشته ای یا گرانولار به رنگ آبی تیره دیده می شوند. حداقل 1000 گلوبول (گلوبول قرمز و رتیکولوسیت) شمارش می شود و سپس درصد رتیکولوسیت ها را محاسبه می کنیم. برای مثال اگر 15 رتیکولوسیت در بین 1000 گلوبول شمارش شوند، شمارش رتیکولوسیت 1.5 درصد خواهد بود.

برای افزایش دقت، فرد دیگری، اسلاید دیگری از همان بیمار را بررسی کند که اگر اختلاف جواب ها در محدوده 20 درصد باشد شمارش قابل قبول خواهد بود .

با قرار دادن دیسک میلر در قسمت عدسی چشمی، دو مربع در میدان دید ظاهر می شوند که یک مربع نه برابر مربع دیگر بوده و از این طریق، برآورد سریعی از تعداد گلوبول های قرمز امکان پذیر می شود.

در میدان های میکروسکوپی پشت سر هم، رتیکولوسیت ها را در مربع بزرگ و گلوبول های قرمز را در مربع کوچک شمارش می کنند :



دیسک میلر در عدسی چشمی قرار می گیرد. مربع کوچک برای شمارش گلوبول های قرمز و تمام مربع بزرگ برای شمارش رتیکولوسیت ها استفاده می شود.

برای مثال، اگر 150 عدد RBC در چند میدان با پخش یکنواخت در مربع کوچک شمرده شده باشند و تعداد رتیکولوسیت های شمارش شده در مربع بزرگ، 40 عدد باشد:

$$\text{درصد رتیکولوسیت ها} = \frac{\text{تعداد رتیکولوسیت ها در مربع بزرگ}}{\text{تعداد گلبول های قرمز در مربع کوچک}} \times 100$$

$$\%Retic = \frac{40}{150 \times 9} \times 100 = 3\%$$

برای حصول اطمینان بیشتر، بهتر است حداقل 300 گلبول قرمز در مربع کوچک شمارش شود. در این صورت درصد رتیکولوسیت ها در بین حدود 2300 گلبول قرمز محاسبه شده و برآورد مناسب تری را منجر می شود .

### شمارش مطلق رتیکولوسیت ها:

تعداد رتیکولوسیت ها در یک لیتر خون کامل را شمارش مطلق رتیکولوسیت می گویند .

$$ARC = \frac{\%Retic \text{ Count} \times RBC \text{ Count}}{100}$$

\* Absolute Reticulocyte Count (ARC)

میزان طبیعی رتیکولوسیت در بزرگسالان 0.5-1.5 درصد بوده و بنابراین شمارش مطلق طبیعی در بزرگسالان،  $9 \times 10^9 \times 25-75$  بر لیتر می باشد.

میزان رتیکولوسیت در نوزادان شیرخوار 2.5-6.5 درصد بوده که تا اواخر هفته دوم زندگی، تا دامنه مرجع بزرگسالان، افت می کند.

### اندکس تولید روزانه رتیکولوسیت:

رتیکولوسیت هایی که بصورت نارس از مغز استخوان به خون محیطی وارد می شوند، به عنوان رتیکولوسیت های تحت استرس شناخته می شوند. رتیکولوسیت های تحت استرس، بجای اینکه در مدت 1 روز در خون محیطی رشته های خود را از دست بدهند، این کار را در مدت 2-4 روز انجام می دهند، زیرا که زودتر از موعد مقرر وارد خون شده اند .

چنانچه در لام خون محیطی بیمار، سلول های پلی کرومازی یا گلبول های قرمز هسته دار در پاسخ به کمخونی شدید یافت شود، بایستی برای ارزیابی فعالیت روزانه مغز استخوان فرد بیمار نسبت به شخص سالم، از اندکس RPI استفاده شود.

هنگامی که رتیکولوسیت بسیار نارس (آکنده از رشته های ریپوزم و ریونوکلیک اسید) بر اثر تحریک هورمونی از مغز استخوان وارد خون محیطی می شود، نسبت به حالت نرمال به زمان زیاد تری برای بالغ شدن نیاز دارد. زمان بلوغ برای فردی با هماتوکریت %45 ، یک روز است و هر %10 که از میزان هماتوکریت کم شود، نصف روز به زمان بلوغ اضافه می شود :

<15	15 - 24	25 - 34	35 - 39	40 - 45	%HCT
3	2.5	2	1.5	1	Maturation Time

با توجه به جدول بالا، شاخص تولید رتیکولوسیت از طریق فرمول زیر محاسبه می شود :

$$\text{RPI} = \frac{\% \text{Retic (patient)} \times \text{HCT (patient)}}{\text{HCT (normal)} \times \text{MT}}$$

\* Reticulocyte Production Index (RPI)

\* Maturation Time (MT)

برای مثال، چنانچه درصد شمارش رتیکولوسیت فردی، 7.8 درصد و هماتوکریت وی 30 درصد باشد :

$$\text{RPI} = \frac{7.8 \times 30}{45 \times 2} = 2.6$$

عدد بدست آمده بدین مفهوم است که مغز استخوان این بیمار، 2.6 برابر فرد نرمال فعالیت اریتروپوئز دارد .

## نکات مهم در رنگ آمیزی و شمارش رتیکولوسیت:

- نمونه خون بایستی تازه باشد و حداکثر 6-8 ساعت از نمونه گیری آن در دمای اتاق گذشته باشد. زیرا با گذشت زمان رتیکولوسیت ها ممکن است به RBC تبدیل شوند .
- ICSH توصیه می کند که تعیین میزان رتیکولوسیت بلافاصله پس از نمونه گیری صورت بگیرد.
- خون بیمار بایستی هموژن بوده و به خوبی مخلوط شود تا رتیکولوسیت ها در نمونه خون بصورت یکنواخت و مناسب پخش شوند. بعد از رنگ آمیزی و انکوباسیون و قبل از تهیه گستره نیز نمونه خون بایستی به خوبی مخلوط شود.
- رنگ آمیزی رتیکولوسیت نیازی به فیکساسیون ندارد.
- خشک شدن سریع گستره رنگ شده برای بهبود وضوح تصویر سلول ها توصیه می شود. خشک شدن آهسته و ضعیف گستره و وجود رطوبت در لام، باعث ایجاد آرتیفکت های رفلکس دار و براق (مشابه واکوئل) در سطح سلول ها می شود که گاهی به علت شباهت به رتیکولوم های رسوب کرده در سلول، به عنوان رتیکولوسیت شمارش می شوند. در صورت کار کردن با پیچ میکرو در میکروسکوپ، بدلیل براق بودنشان به راحتی از رتیکولوسیت ها قابل تفکیک هستند.
- در نمونه های آنمیک بجای برداشت 100  $\mu$ خون، از حجم 150  $\mu$ و در نمونه های پلی سایتمیک از حجم 50  $\mu$ استفاده می شود.
- انکوباسیون طولانی تر از مقدار استاندارد، باعث رسوب غیر اختصاصی رنگ بر روی RBC ها شده و به اشتباه رتیکولوسیت شمارش می شوند.
- رنگ آمیزی با نیومتیلن بلو گرانول های آبی پررنگ تر و هموژن تری را در مقایسه با بریلیانت کرزیل بلو ایجاد می کند و بنابراین از اولویت بالاتری برخوردار می باشد.

لینک دانلود از کافه بازار

<https://cafebazaar.ir/app/com.ttak2.mahdi/?l=fa>



## نرم افزار جامع و تخصصی علوم آزمایشگاهی با بیش از ۱۱۰۰ تصویر

- ✓ خون گیری ✓ تجهیزات
- ✓ بیوشیمی ✓ هماتولوژی
- ✓ سرولوژی ✓ ایمونولوژی
- ✓ باکتری شناسی ✓ انگل شناسی
- ✓ قارچ شناسی ✓ کنترل کیفی

یادگیری را با ما آغاز کنید.

نرم افزار جامع و کاربردی تفسیر تست های آزمایشگاهی کلینیکی (تتاک دو)