

# Ο Γνωριμία με τα εργαστηριακά όργανα

## 1. Ληψή τριχοειδικού αίματος

Το αίμα αυτό λαμβάνεται αφού κρυψώσουμε τη ράχη του δακτύλου με την βοήθεια ειδικής βαμβάκινης αιμολετας. Αυτό επιταχύνεται ως εξής:



A. Απολυμαίνουμε τοπικά τη ράχη του δακτύλου με βαμβάκι εμποτισμένο με οινόπνευμα και τραβάμε την περιοχή με στενό βαμβάκι.

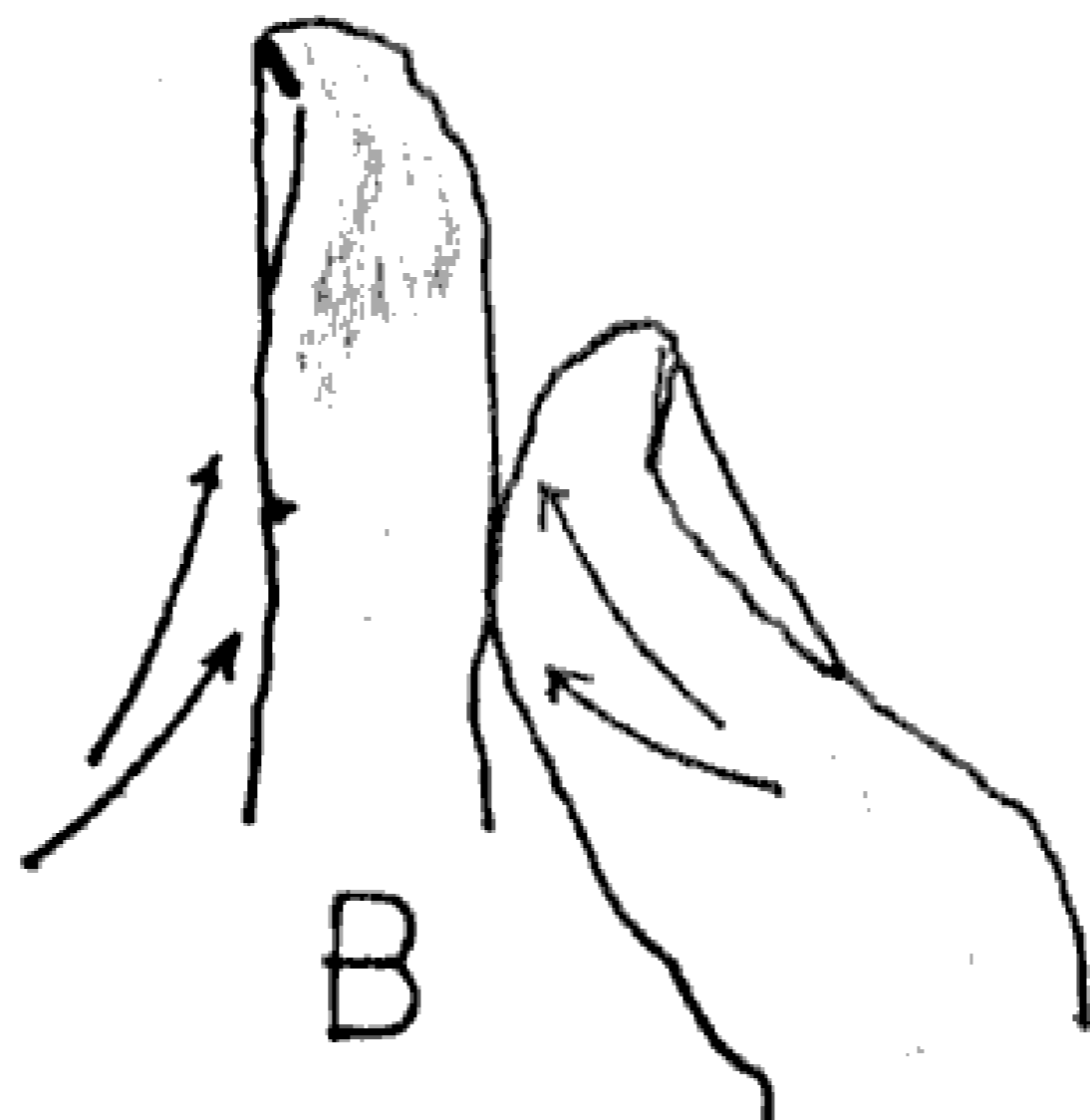
B. Κάνουμε μαλάξεις στο δάκτυλο με φορά προς τη ράχη ώστε να πετύχουμε τοπική υπέρταση.

C. Τρυπάμε την ράχη του δακτύλου με την αιμολετα υψώσαμε σε απόσταση, κάθετα προς την ράχη σε βάθος 2-3 αγγούλια, αφού προηγουμένως έχουμε σταθεροποιήσει το δάκτυλο. Ανασφραγίζουμε την αιμολετα στο προστατευτικό της περίβλημα.

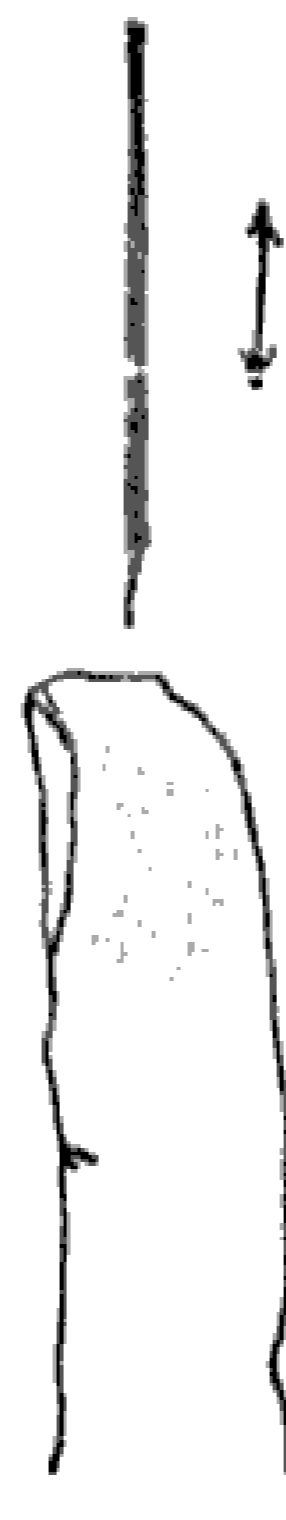
D. Πιέζουμε για να εκπαισώσει σταγόνα. Αναρρίσκουμε τις 2-3 πρώτες σταγόνες, και τραβάμε την επόμενη ευμεγέθη σταγόνα.



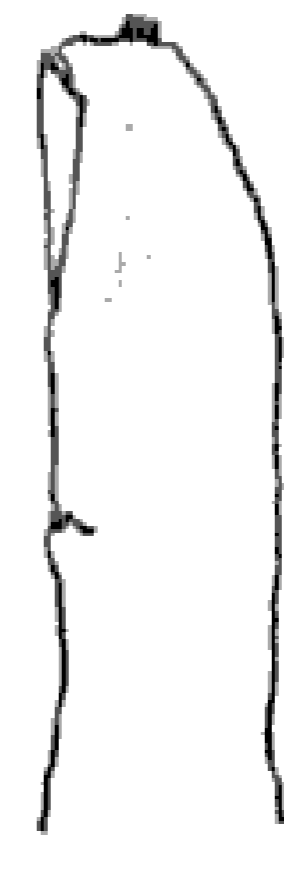
A



B



C



D

## 2. ΕΠΙΣΤΡΩΣΙΣ ΣΕ ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟΦΟΡΟ ΠΛΑΚΑ

Για να κάνουμε μικροσκοπική εξέταση του αίματος πρέπει να επιστρώσουμε βελόνα αίματος πάνω σε αντικειμενοφόρο πλάκα. Χρησιμοποιούμε αντικειμενοφόρο πλάκα και **καλυπτρίδα** \* και έπειτα ως εξής:

\* είτε μια άλλη αντικειμενοφόρο πλάκα

**A.** Τοποθετούμε μια βελόνα καλονιού \* με μέθους στην μια άκρη της αντικειμενοφόρου πλάκας.



A.

\* ούτε μεγάλο μέγεθος, οπότε δημιουργείται παχ επιστρώση διαστάσεων διμικροσκοπική, ούτε μικρό μέγεθος οπότε το μήκος επιστρώσεως να είναι μικρό

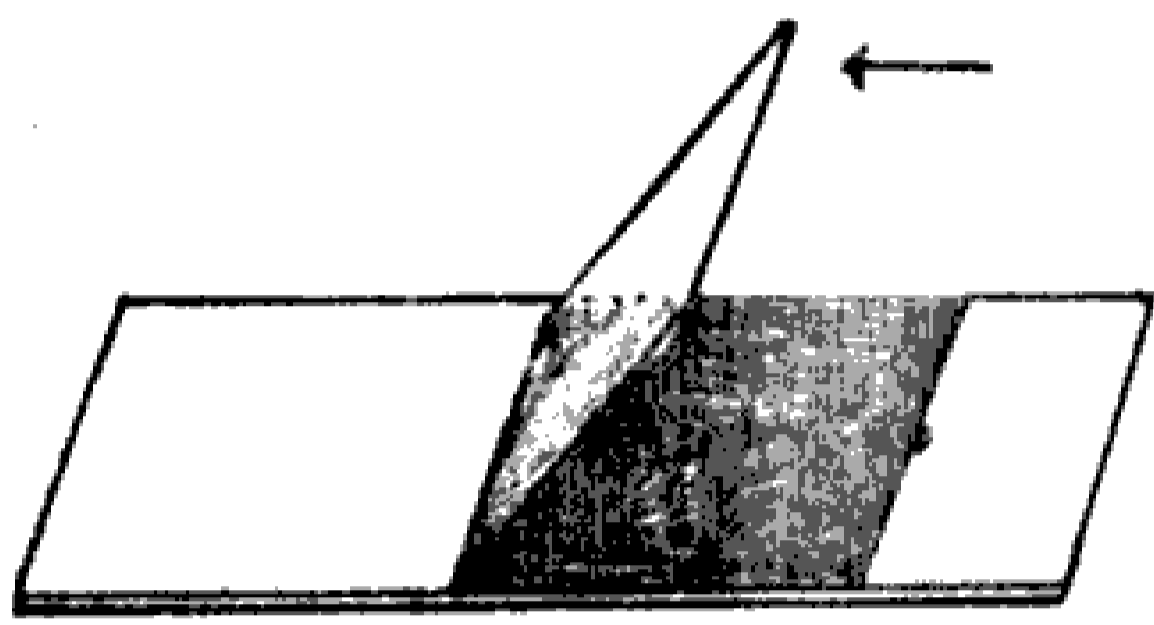
**B.** Τοποθετούμε την μια άκρη της καλυπτρίδας πάνω στη βελόνα κατά τέτοιο τρόπο ώστε να εφάπτεται με την αντικειμενοφόρο πλάκα και να σχηματίζει οξεία γωνία με αυτήν.



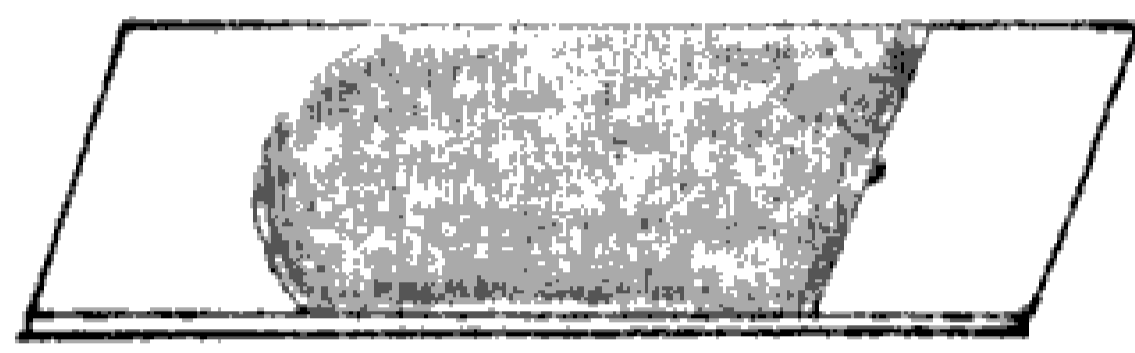
B.

**C.** Αφού η βελόνα επεκταθεί η βελόνη στην εφάπτομένη γραμμή, υφίσταται βαρύνει την καλυπτρίδα τη πινούμε γρήγορα και σταθερά στην επιφάνεια της αντικειμενοφόρου πλάκας, ώστε να σχηματιστεί μια λεπτή ομοιόμορφη, ομοιογενή επιφάνεια αίματος μήκους 3,5 cm περίπου και το τελείωμα της να σχηματίζεται χωρίς κόπο. Πρέπει να αποφύγουμε οποιαδήποτε ανομοιογένεια.

γένεια, πρόληψη της επιφάνειας. Επίσης έχουμε την φροντίδα ώστε η αιμολυσογόμος ταινία να είναι στεγνή και καθαρή. Αφού πετύχουμε μια σωστή επίσχυση, αφήνουμε το παρασκευάσμα να στεγνώσει στην θερμοκρασία του περιβάλλοντος. Το παρασκευασμένο πλέον το ονομάζουμε "ΤΥΠΟ".



C.

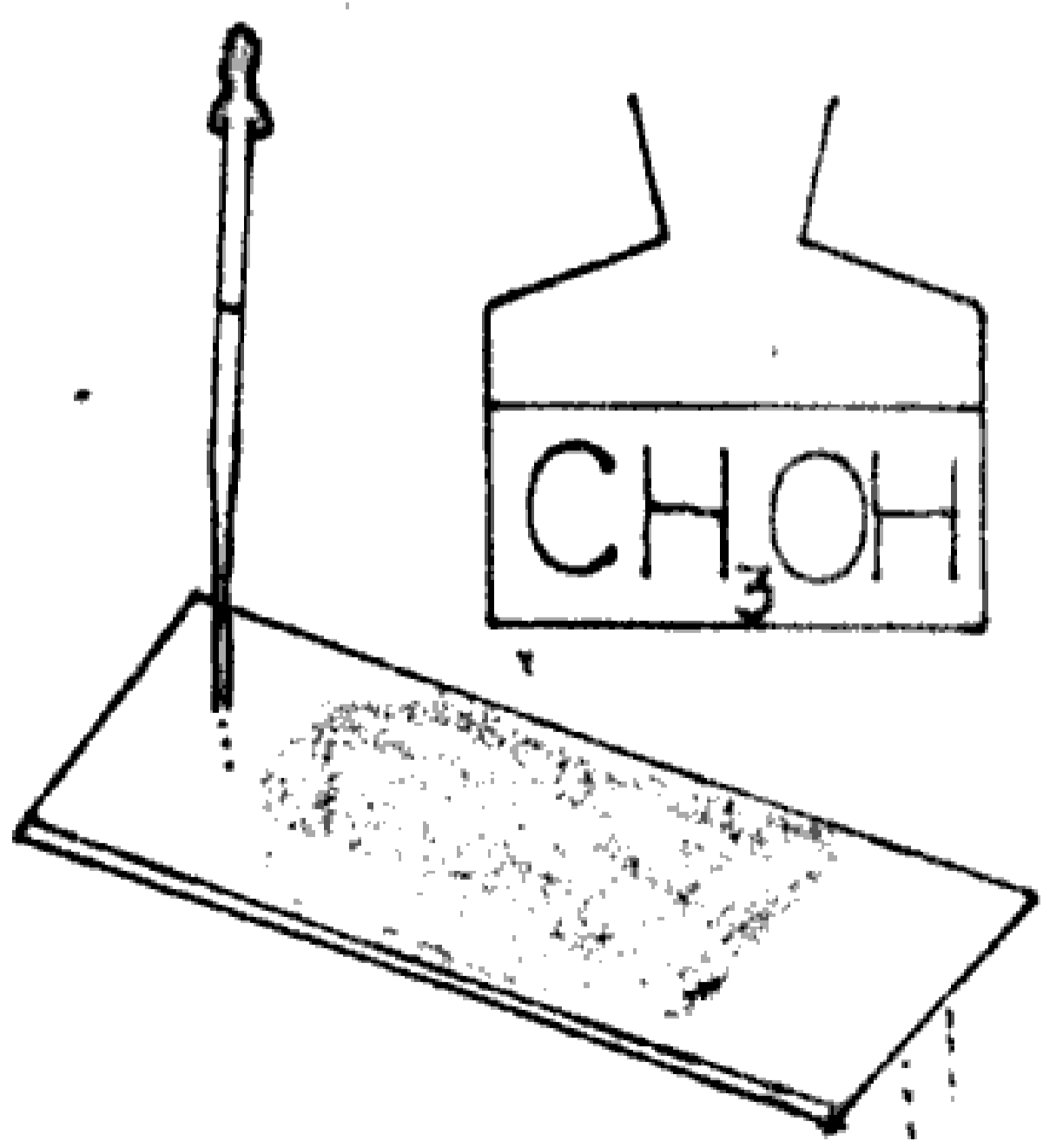


C.

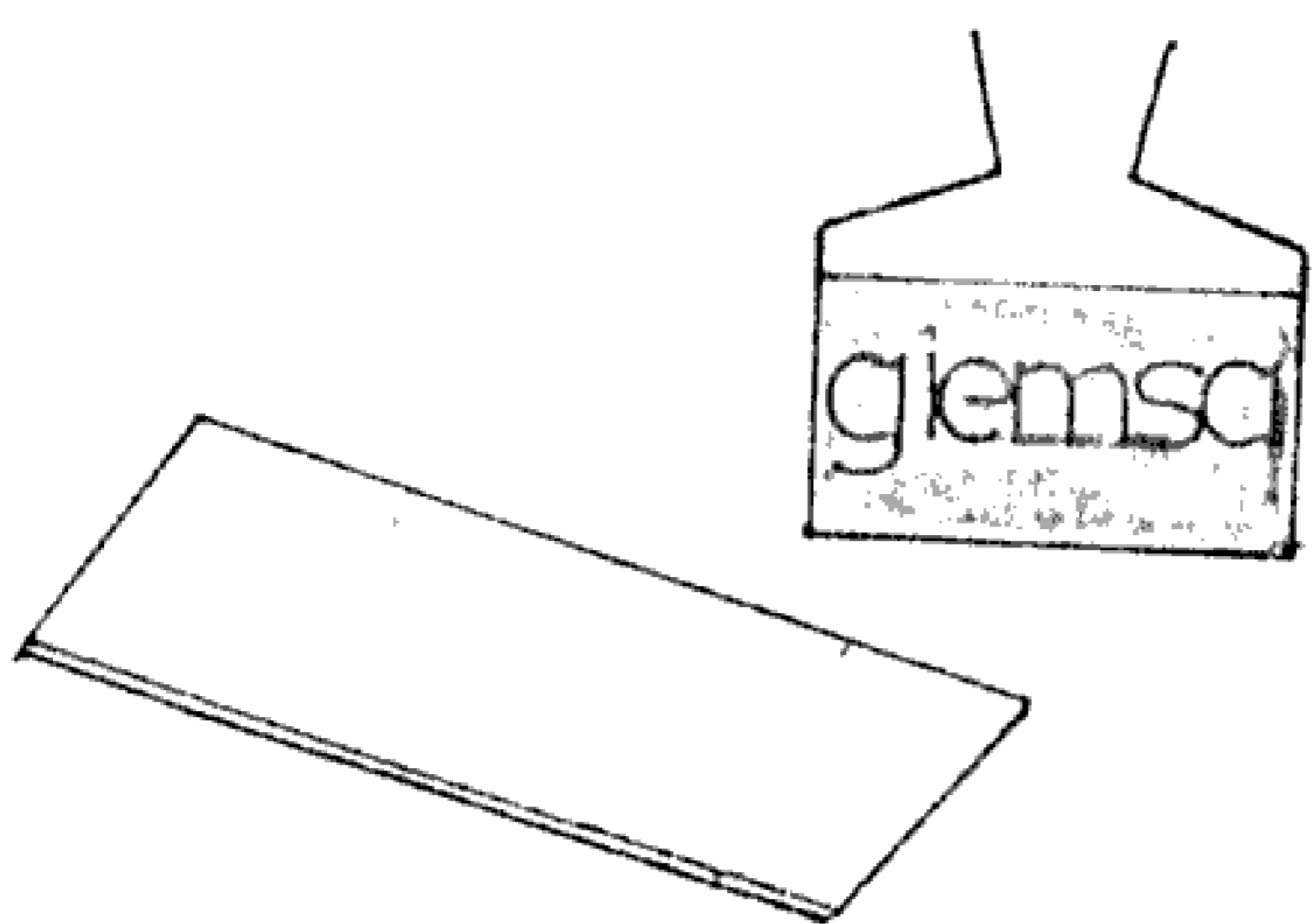
### 3. Χρωσις GIEMSA

Αφού έχουμε στεγνάσει το παρασκευασμα στον αέρα...

A. Το μονιμοποιουμε ως εξής. Με την βοήθεια ενός "pasteur" θάβουμε  $\text{CH}_3\text{OH}$  μεθυστική αλκοόλη στην άκρη της αιμολυσογόμης ταινίας και αφήνουμε το υγρό να ρέει πάνω στο στεγνόν αίμα, ούτως ώστε να αποφευχθεί αήρανη της επιφάνειας του αιμάτος. Γι αυτό ποτέ δεν αφήνουμε το υγρό πάνω στην επιφάνεια του αιμάτος οτιδήποτε. Αφήνουμε την  $\text{CH}_3\text{OH}$  να επιδράσει επί 3 min. (Εάν θέσουμε μετά ξεπλύνουμε με νερό ώστε να φύγει η περίσσεια της μεθυστικής αλκοόλης  $\text{CH}_3\text{OH}$ ).



B.



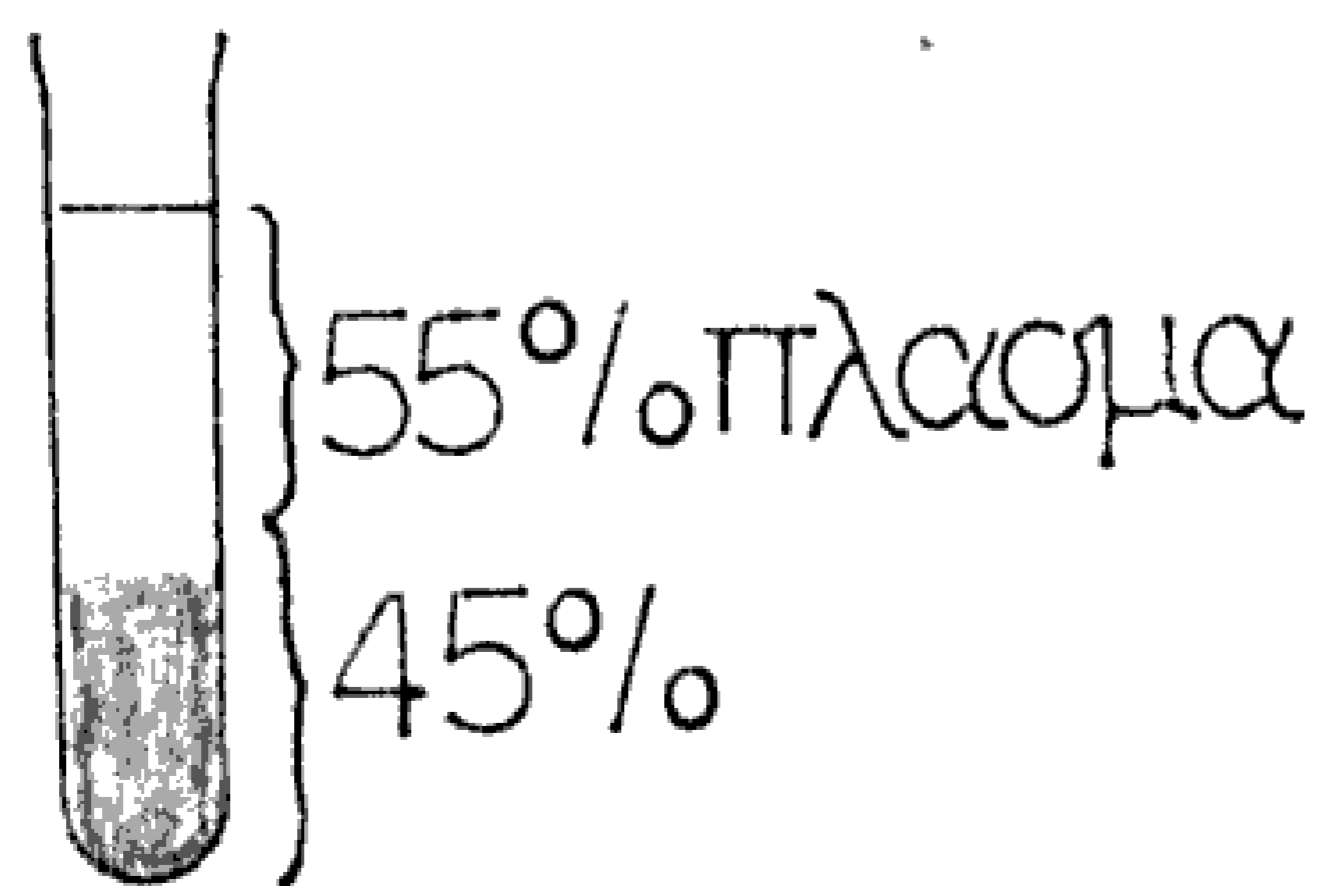
Εάν δεν υπάρχει έτοιμο το υδατικό διάλυμα Giemsa\*, το φτιάχνουμε έμεις χρησιμοποιώντας μικρού διάλυμα Giemsa και (ἀνεσταγμένο) νερό. Αραιώνουμε 10 ml μικτού διαλύματος Giemsa σε 100 ml νερό.

Με την βοήθεια ενός πιστόρι βαζάμε το χρωματικό διάλυμα πάνω στον κύπο και αφήνουμε για 20'. Κατόπιν ξεπλένουμε με με νερό πολύ ισοθεμικα διώει ή περιέσει χρωματικής διαλύει τον κύπο και αφήνουμε να στεγνώσει στην θερμοκρασία του δωματίου. \* πάντα χρησιμοποιούμε πρόσφατο χρωματικό διάλυμα διαφορετικά κατά τη διάρκεια τα έτη παραμένουν στο τύπο.

#### 4. Προσδιορισμός Αιματοκρίτη

Αιματοκρίτης είναι η ευστασιαία αναλογία των ερυθρών συστατικών του αίματος. Επειδή όμως το 99% των ερυθρών αποτελούν τα ερυθρά αιμοσφαίρια (ένω το 1% των ερυθρών αποτελούν τα θρομβοκύτταρα και αιμοπετάλια), μπορούμε να θεωρήσουμε ως αιματοκρίτη την ευστασιαία αναλογία των ερυθρών αιμοσφαιρίων στο αίμα.

Τιμή αιματοκρίτη : 45% δηλαδή έχουμε 45% ερυθρά (ερυθρά) και 55% πλάσμα. Τα 99% του 45% είναι ερυθρά, ενώ το υπόλοιπο 1% είναι 0,6% αιμοπετάλια και 0,4% θρομβοκύτταρα.



Όταν αφήσουμε μέσα σε δοκιμαστικό σωλήνα μια ποσότητα αίματος (με ἀναιησιωτικό), μετά από ύφεση ύψος παρατηρούμε στατιστικό των διαφόρων συστατικών.

αιμών του. Αυτό οφείλεται στο διαφορετικό είδος βίβας τους.  
Έτσι τα έρυθρα αιμοσφαίρια ως βαρύτερα ιαλιζάνουν, ακολουθούν  
τα λευκά και τα αιμοπετάλια και τέλος έλθουμε το πλάσμα  
ως ελαφρύτερο (το φαινόμενο ονομάζεται ιαίσησις).

Η όραση που εφαρμόζεται ο προσδιορισμός είναι η φυγοκέντριση.  
Υπάρχουν 2 μέθοδοι: α) του μαυρο-αιμοσφαιρίτη  
β) του μαυρο-αιμοσφαιρίτη

Στην μέθοδο του μαυρο-αιμοσφαιρίτη χρησιμοποιούμε τον  
εωρίτη **Wintrobe**, όπου έχουμε ορισμένη ποσότητα αίματος  
σταθερομένου δια φρεβουενόλης, ενώ ειδικά βαθμονομημένο σωλήνα  
αφού προηγουμένως έχουμε προσθέσει στο αίμα αντίστοιχο Wintrobe ε.σ.

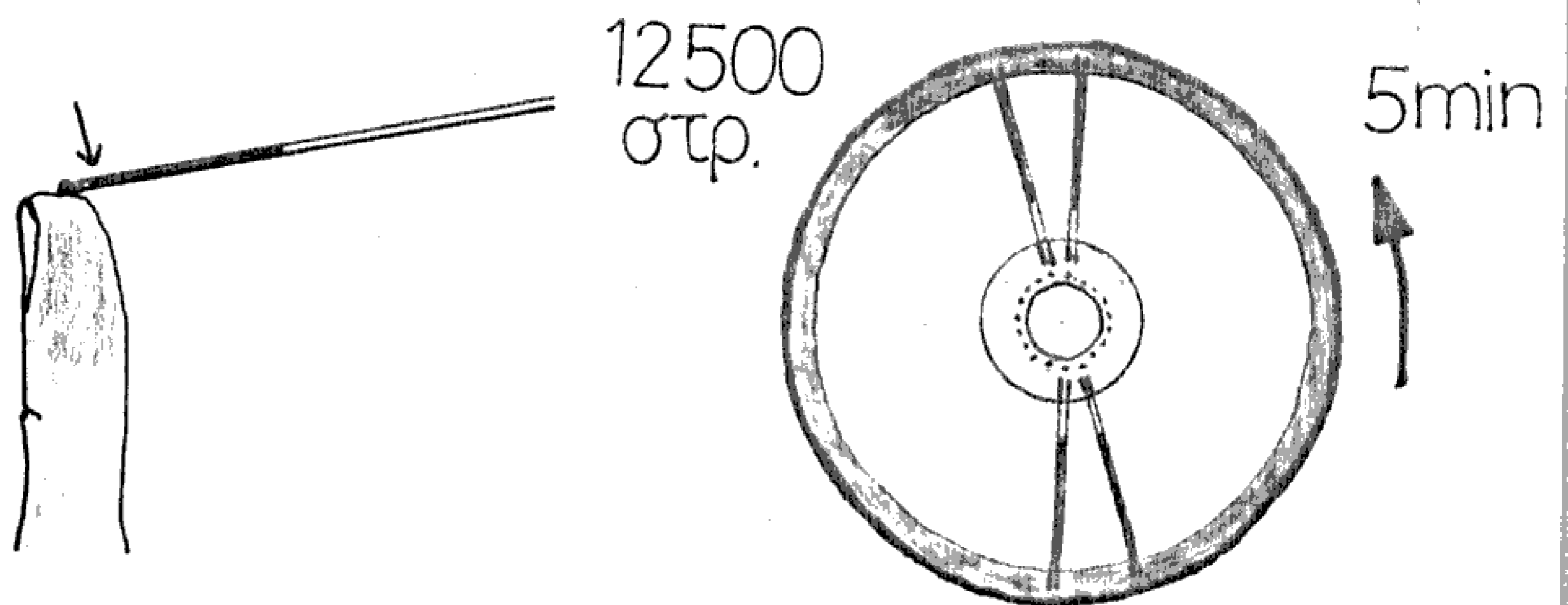
I) όξαλιο αμμώνιο 1,2 gr (  $H_4NOOC-COONH_4$  )

II) όξαλιο κάλιο 0,8 gr (  $KOOC-COOK$  )

III)  $H_2O$  απεσταγμένο ως 20 ml  $H_2O$

Κατόπιν φυγοκέντρωση για 30' σε 3.000 στροφές / 1 min

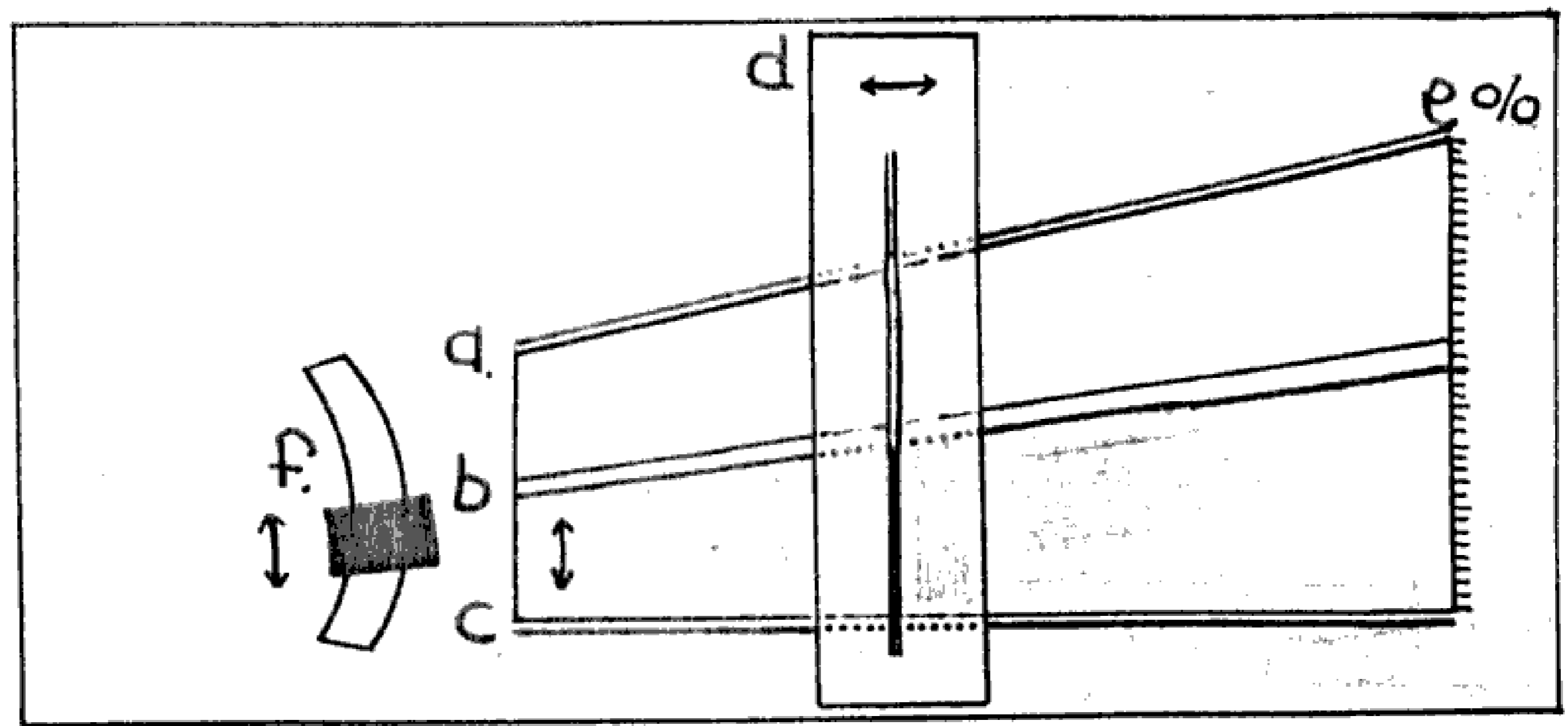
Στην μέθοδο του μαυρο-αιμοσφαιρίτη χρησιμοποιούμε **τριχοειδή**  
υπαριθμένα (δύο περίπου ως αντίστοιχο συμπύκνωμα ημοσφαιρίτη)  
όπου το χρωμάτισμα ως 3/4 με τριχοειδικό αίμα. Κατόπιν  
υψεινουμε την μία πλευρά με ηλαβερίνη ή στο έλεγχος.  
Επομένως το τριχοειδές στην ειδική φυγοκέντρωση (μαυρο-  
αιμοσφαιρίτη) για 5' (είναι προσδιορισμένες στροφές 12.500 στροφ / 1 min)



Η φυγοκέντρωση έχει ειδικές διαστάσεις για τα  
τριχοειδή σωληνάκια

Το κόρο δείχνει την ελάτωση η οποία υπολογίζεται από την ελάτωση  
τριχοειδούς σταθερομένου αίματος

Μετά τα 5' βγάψω τα κριαιόδη από την φυγόκεντρο και τα κοπύδα στο ειδικό ηγαιείο προσδιορισμού μικροαιματοκρίτη.



Θέτουμε το κριαιόδες πάνω στο κεντρικό ηγαιείο d στην ειδική θέση, ώστε η μία άκρη της στήλης αίματος μέσα στο κριαιόδες να βρίσκεται πάνω στην γραμμή c.

Κινούμε το ηγαιείο d έτσι ώστε να βρεθεί η άλλη άκρη της στήλης αίματος πάνω στην γραμμή a.

Κινούμε τέλος το ωροβίο f ώστε η μετακινούμενη γραμμή να βρεθεί πάνω από το επίπεδο που διαχωρίζονται τα έμφρα συστατικά από το ηγαιείο μέσα στο κριαιόδες. Αυτή η γραμμή b μας δείχνει πάνω στον βαθμολογημένο πίνακα των αιματοκρίτη

Φυσιολογικές τιμές Ht : I) άνδρες : 40-54 %  
II) γυναίκες : 38-47 %

(Οι Φ.Τ και Ht διαφέρουν κατά φύλο και ηλικία)

Η μέθοδος του μικροαιματοκρίτη έχει τα εξής μειονεκτήματα:

- α) απαιτείται μεγάλη ποσότητα αίματος.
- β) ο σωφίνας Wintrobe μπορεί να ενδοει λόγω κακής κλίσεως.
- γ) απαιτείται περίοδος για ανακινωμένους διαστήματα.
- δ) ενδοει χρόνο (30')

Η μέθοδος του μικροαιματοκρίτη έχει τα εξής βασικά πλεονεκτήματα:

α) απαιτείται ελαχίστη ποσότητα αίματος

β) έχουμε κέρως χρόνου (μόνο 5')

Επειδή απαιτείται ελαχίστη ποσότητα αίματος, προσδιορίζεται σε 2 τρισείδη ώρες να έχουμε μεγαλύτερη ακριβεία.

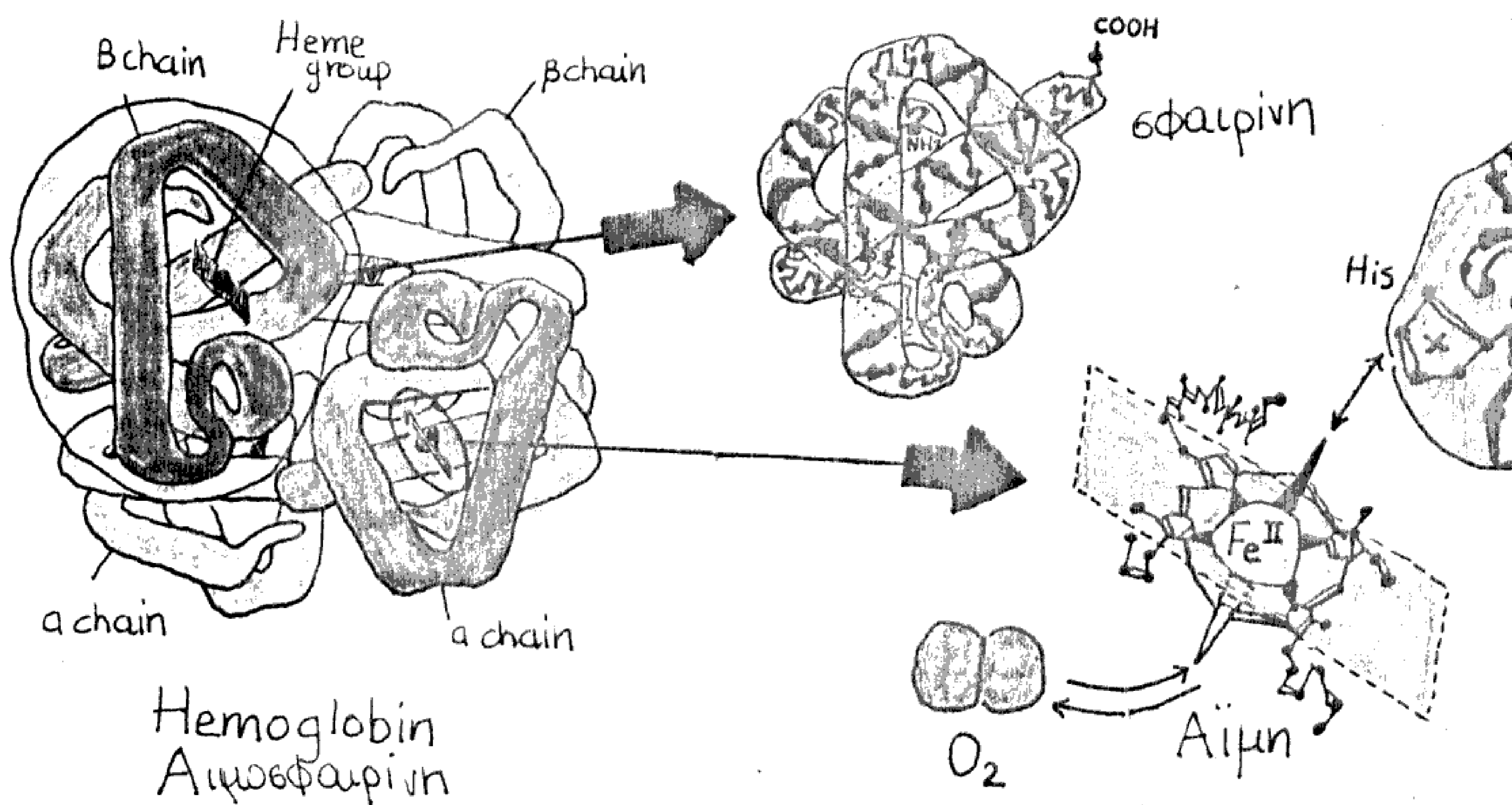
Ο προσδιορισμός του αιματοκρίτη είναι μία από τις πιο ακριβείς και αναμφισβήτες εργασίες αίματος.

## 5. Προσδιορισμός Αιμοσφαιρίνης

Η αιμοσφαιρίνη εύχεται ένα αμινοξύ και είναι σύνθετο ζεύγος (αμινοξωπρωτεΐνη), συντίθεται στο μυοκύτταρο ζευκώματος (εφαρίνη) και εδνηφύται στην αιμία (αίμη).

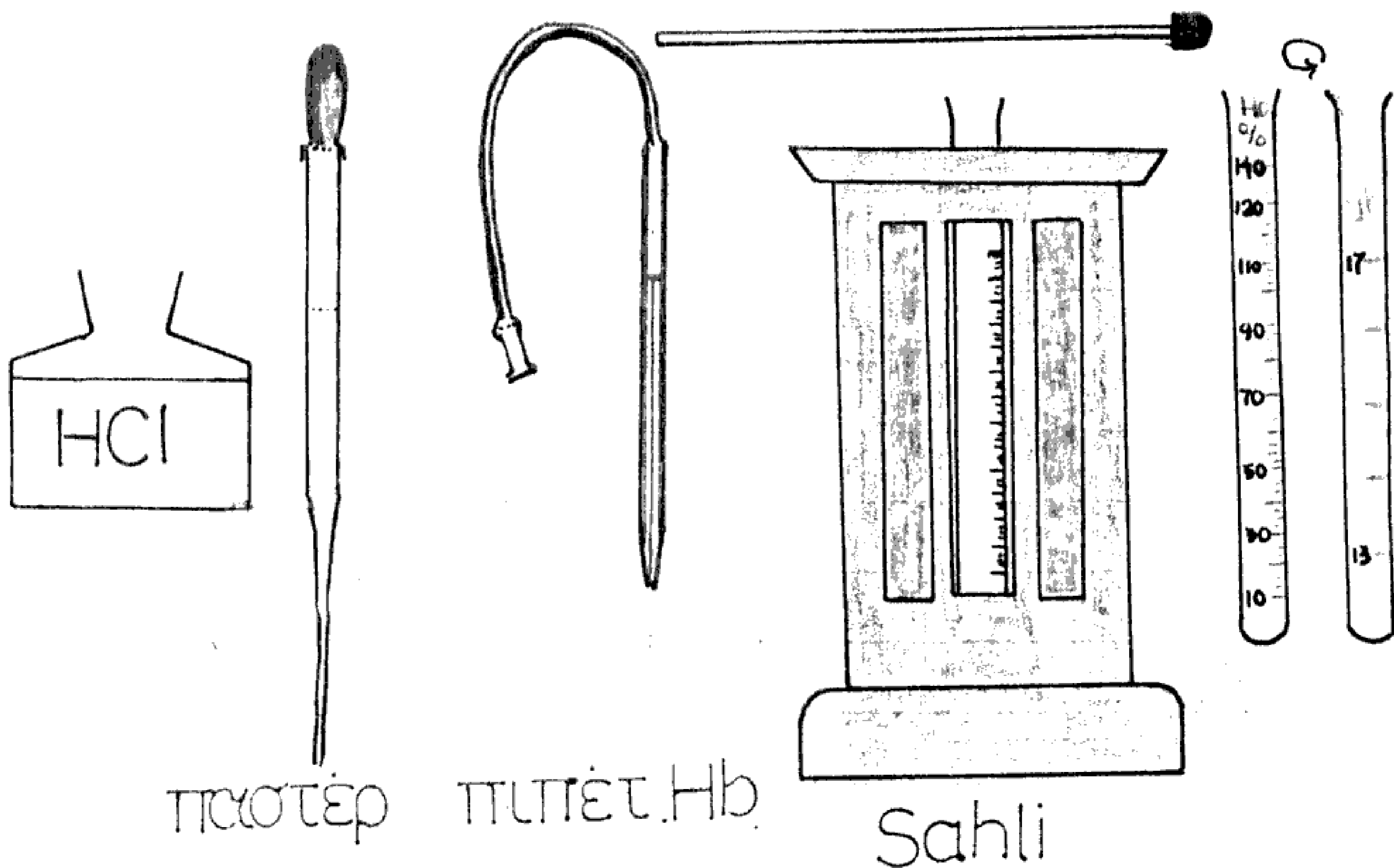
Το ζεύγος της αιμοσφαιρίνης αποτελείται από τέσσερα πολυπεπτιδικά αμινοξω (2α και 2β) με σύνολο 574 αμινοξω (αιμοσφαιρίνη).

Η αίμη αποτελείται από τέσσερων δακτυλίων πυρροξυμ (πρωτεΐνη αμινοξω), ενδεοδερύνω μεταξύ σπυ αμινοξω και αιμοσφαιρίνη. Η αιμία της αιμοσφαιρίνης περιέχει 4 μίμω αίμης.



Για τον προσδιορισμό της αιμοσφαιρίνης χρησιμοποιούμε την μέθοδο Sahli και η αρχή της μεθόδου στηρίζεται στην μέτρηση της αιμοσφαιρίνης Hb σε όξινη αιμασίνη υπό επίδραση υδροχλωρικού οξέος (HCl).

Η χρώση του αίματος γίνεται από την ραβία του δακτύλου με την βοήθεια της ΠΙΠΤΕΤΑΣ α/s αιμοσφαιρίνης, η οποία φέρει σωληνίσκο που υποδεικνύει ποσότητα αίματος θα πάρουμε (0,02 ml). Το όργανο με το όνομα μετράμε την αιμοσφαιρίνη ονομάζεται αιμοσφαιρινομετρο Sahli και αποτελείται εξ ενός εδράνου που φέρει 3 σωληνίσκους. Ο μέσσιος σωληνίσκος μπορεί να εφερτεται επί του εδράνου και έχει διπλή κλίμακα, μία αναφερόμενη στο gr Hb/100 ml αίματος και άλλη η οποία αναφέρεται με την κλιμακωδοστική του οργάνου αναφ στο ποσοστό της ευστο Hb (πχ 14,8 gr Hb/100 ml αίμ : 100% Hb). Οι άλλοι 2 σωληνίσκοι είναι σταθεροί και περιέχουν όξινο αιμασίνη το οποίο ως όνοια είναι αναπαισθητιστόν



ΠΙΠΤΕΤ. Ηb

ΠΙΠΤΕΤ. Ηb

Sahli



Μέθοδος:

A. Με την βοήθεια της αιμολίας αρπάζουμε την ράγα ενός δαικούλου και πιέζουμε ώστε να αναμειχθεί σταγόνα αίματος. Κατόνιν βυθίζοντας την άμρη της πιπέτας της αιμοσφαιρίνης εις την σταγόνα του αίματος και έχοντας το άηχο στόμα του γαστριένιου σωλήνα εφ' εσάμα αναφορῶμε μέρινα ημφιδεί ποσότητα αίματος εις την στάθμη του σωλήνα που ευρίσκεται ή απαράτη (ακριστούτα δέ 0,02 ml)

B. Στον υερό αφυδρωμένο σωλήνα του αιμοσφαιρινομέτρου Σαίηλι με την βοήθεια ενός pasteur βάζουμε δικά  $HCl\ 0,1N$  μέρι της απαράτης 20. Κατόνιν φέρουμε την πιπέτα της αιμοσφαιρίνης εφ' εσά του σωλήνα και άδειάζουμε την ποσότητα του αίματος που έχει ημφιδεί. Έκταθέντε την πιπέτα 2-3 φορές ώστε να αναμειχθούν τα δύο υγρά. Αφήνουμε το μείγμα περιησυγεί 40' (ώστε να έχουμε αιόληση του αίματος εφ' εσά  $HCl$ ).

C. Εποναστοθετούμε αν σωλήνα στην θέση του και με την βοήθεια ενός pasteur ηροδύσκουμε σταγόνα-σταγόνα από τσά διάλυμα  $HCl\ 0,1N$  ύδατος το διάλυμα του σωλήνα να ήάβει το ίδιο κρώμα με τοίς δύο άλλους σωλήνες που θεωρούνται ως standards (όριαιμι). Μετά από καθε ηροδέσει αναδειύουμε ηροσειαυά με τον άιδευτη ρα που διαθέσει το όργανο ώστε να ηεώσκουμε όμοιηεία εσά διά γρωμα (Φυδωά ηροέσκουμε ώστε να ηην έμιοδίζουμε την φωτεινός και ηίεω. από το όργανο δίσαι ώστε ό ο ηρωματωμώσιωδός βλέρουμε τσά είναι έσφαυμένος). Ο ηρωματωμώσιωδός του διαλύματος του σωλήνα όδειγεται εσάν ηεωαπορηή της αιμοσφαιρίνης μετσά του  $HCl$  δέ όηηνν αιμαίνην.

D. Όσαι ηλέον ηεώσκουμε τσάν ίδιο ηρωματωμώ, το διάλυμα δσά έσει ημσά όριωμένη στάθμη μετσά τσάν σωλήνα ή όποία δσά αναέσκουε δέ ημσά όριωμένη απαράτη. Δέ αυτάν την απαράτη δσά ύπαίρη ημσά ένδει ηην α της ηήημαυας gr Hb/400 ml αίμ. (α gr Hb/100 ml αίμ).

- Βέβαια αυτή η μέθοδος έχει ορισμένα μειονεκτήματα:
- ο υποκειμενικός παράγοντας δια της εύκριση του προσώπου με το υπό κρίσιν εργαλείο
  - η αβροσία του αβρώματος του προσώπου

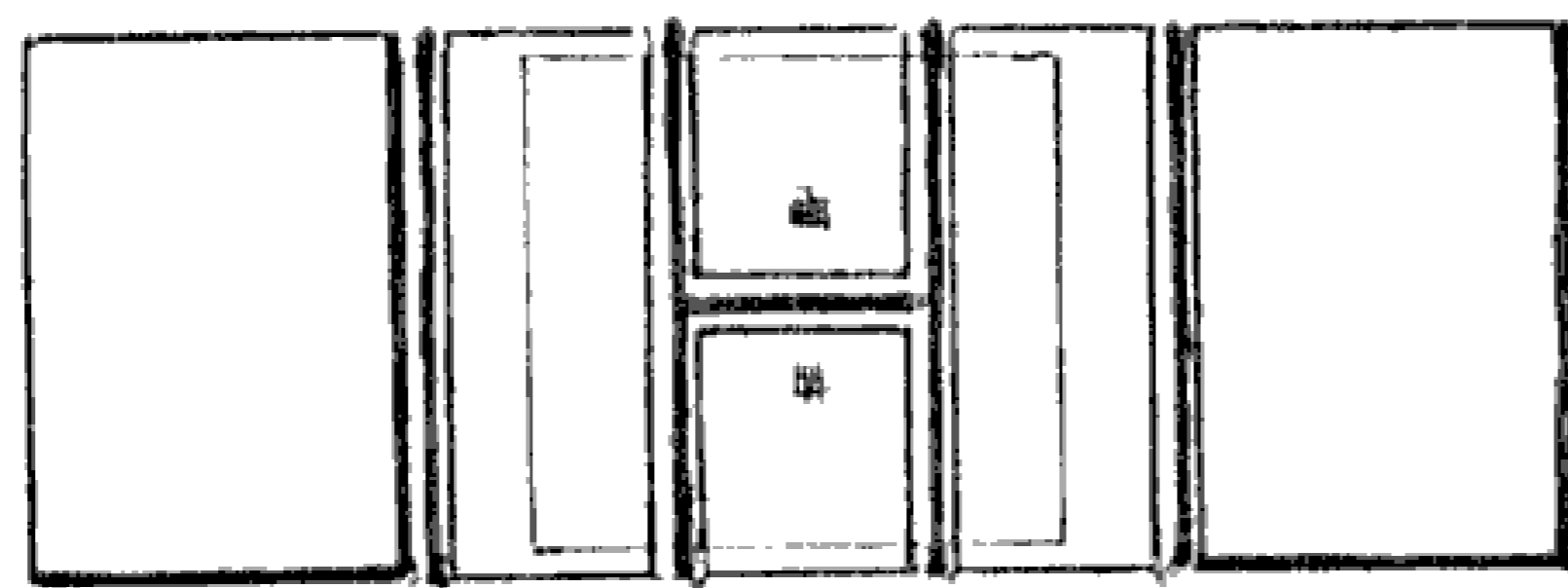
Φυσιολογικές Τιμές HB: I) άνδρες: 14-16 gr HB %  
 II) γυναίκες: 12-14 gr HB %  
 III) νεογνά: 18 gr HB %

## 6. Προσδιορισμός Αριθμού Λευκών αιμ.

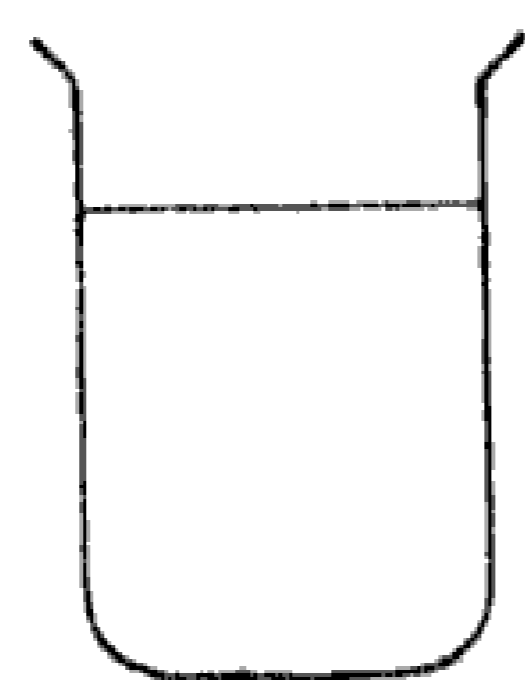
Για να κάνουμε αριθμηση των λευκών αιμοσφαιρίων χρησιμοποιούμε τα εξής:

- πλακιά Neubauer
- πιπέτα λευκών-ερυθρών
- διάγραμμα Türk

δηλαδή I) ισομόρφων όξιων όξυ 3 ml ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ )  
 II)  $\text{H}_2\text{O}$  απεσταγμένο ως 100 ml

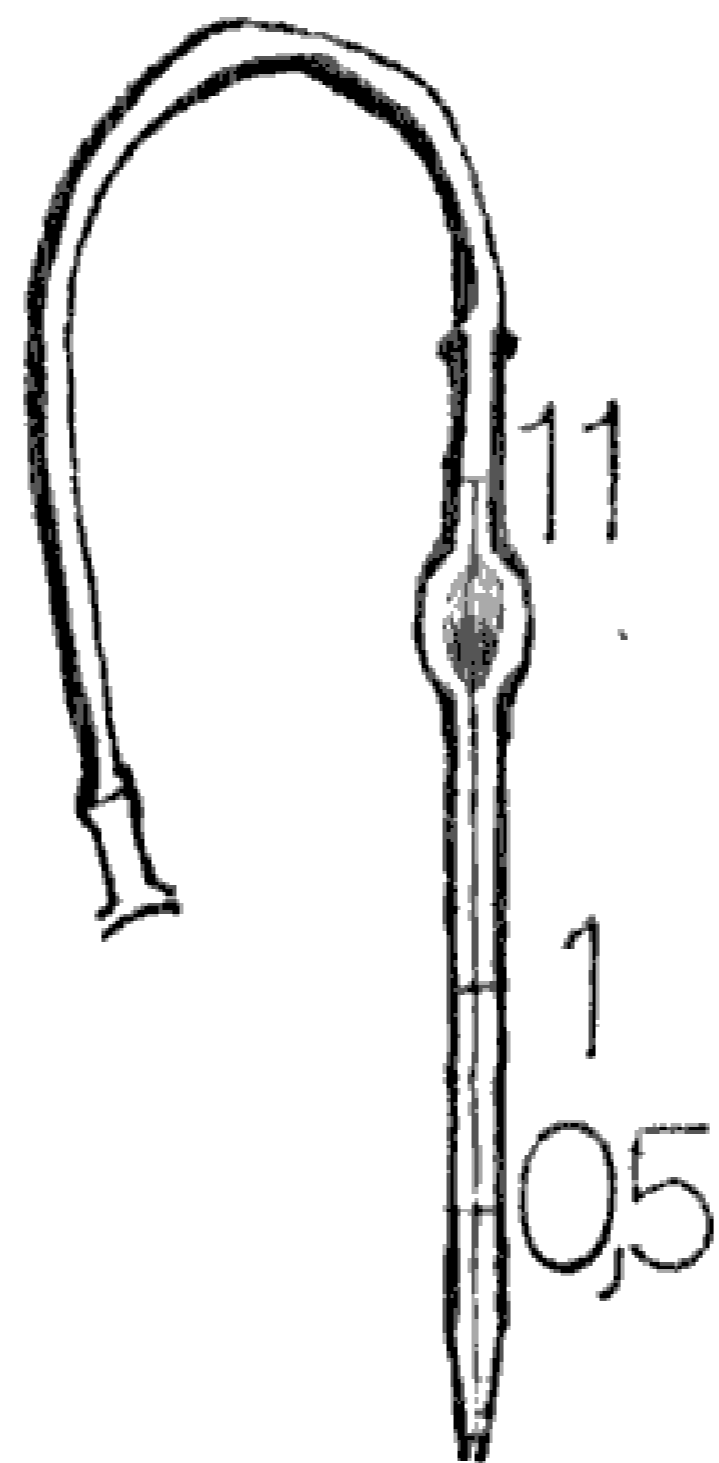


Neubauer



Türk

ΠΙΠΕΤ.  
ΛΕΥΚ.

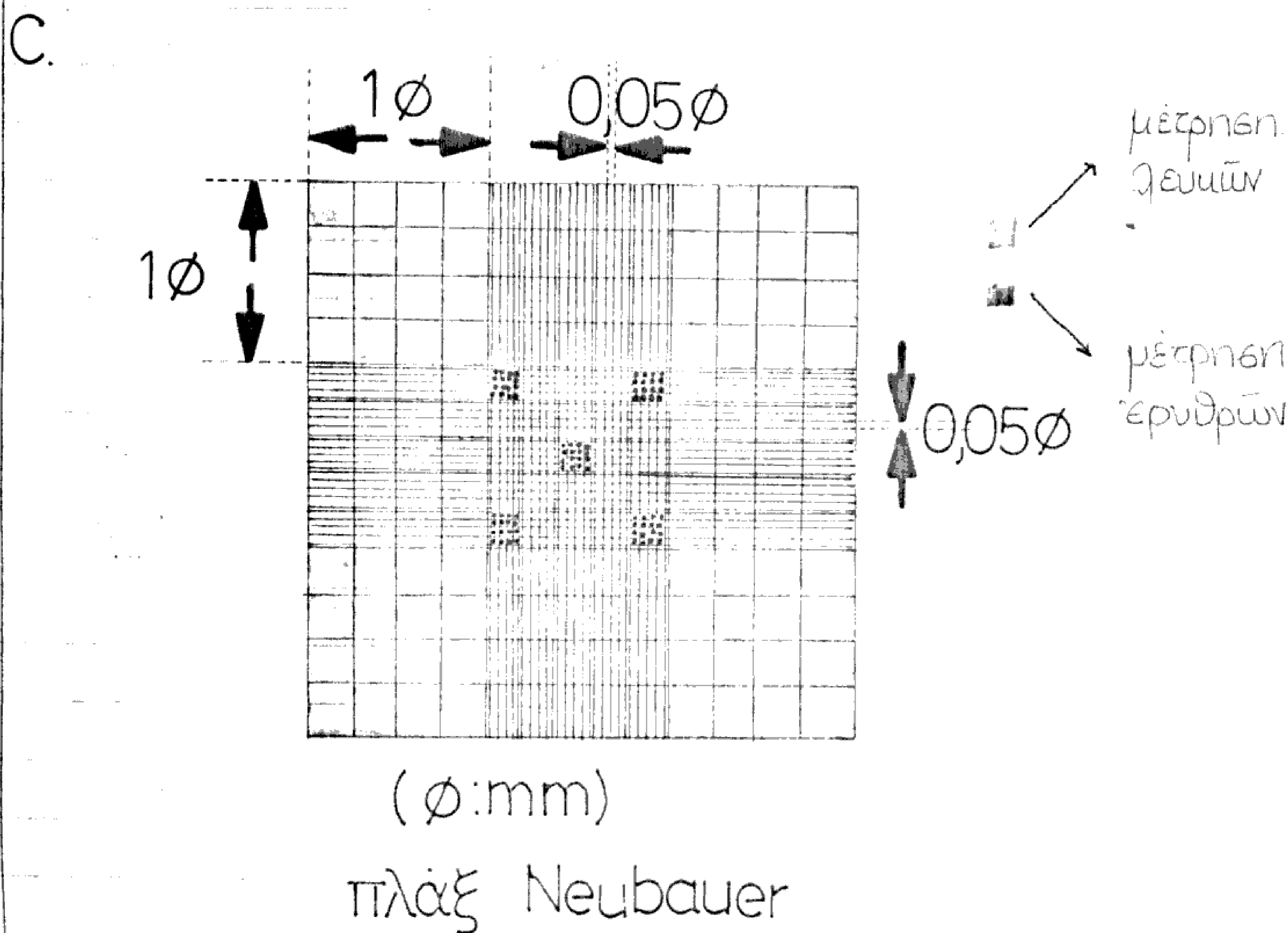


Μέθοδος:

A. Με την βοήθεια της αιμολέκρυπταμε την ραχιά ενός δακτύλου πιέζουμε για να βγει αίμα. Καθίζοντας την άκρη της πιπέτας λευκών στην βραχίονα του αίματος έχουμε το άλλο στόμιο του γυάλινου σωλήνα στο στόμα αναρροφούμε μέχρι να απφύσει ποσότητα αίμα την εστίαση του σωλήνα που και τη καθαρίζ με την ένδεση Κοτόνιν καθίζοντας την αιμοκύτταρα μέσα στο

Εικόνα Türk αναφορουμε, ώστε να φτάσει η σκωπική μέχρι την αερο-  
 ροή με την ένδειξη 11. Ταυτόχρονα το υγρό βρίσκεται μέσα στην ειδική  
 κοιλότητα της πιπέτας και ανασηκούμε αργά ώστε να διαφυλαχθεί το  
 αέρα με το διάγραμμα Türk (Το διάγραμμα Türk προοιχεί από την-υπό-  
 στροφή των έρυσθρων σπινθηροειδών- υπό-πλάσι την μικροσκοπική ή αρ-  
 θμική των αερίων να είναι πιο εύκολη).

B. Τοποθετούμε πάνω στην πλάκα Neubauer μία ταχυμετρίδα. Τοποθετώ-  
 ντας την άκρη της πιπέτας των γενιτών αέρα στο βυθίο της πλάκας  
 Neubauer φουσκώνουμε από αέρα ώστε μια έφαση ποσότητα  
 του μείγματος να έλθωσει μεταξύ της πλάκας και της ταχυμετρίδας.  
 (μία μικρή στρογγυλή). Προτιμούμε έξω από την ύψιστον φυσική αέρα  
 αέρα, διότι δημιουργούει κανά υατά την μικροσκοπική, και επίσης η  
 στόχοι να μην έχει μεγάλη διαφορά με την έφαση του  
 βυθίου. Αφήνουμε να ήρεμώσει για 2' και τοποθετούμε την  
 πλάκα Neubauer στο μικροσκόπιο. Χρησιμοποιούμε ζυγό φακώ  
 βρίσκουμε πεδίο και αρχίζουμε την παραμέτρηση ως εξής:



Μικροσκοπικά παρατηρούμε ότι η πλάκα Neubauer είναι χωρισμένη σε **9 μεγάλα** τετράγωνα.

Τα 4 περιφερειακά τετράγωνα (κάθε ένα από αυτά δηλαδή) είναι χωρισμένο σε **16 μεσαία** τετράγωνα.

Το κεντρικό τετράγωνο είναι χωρισμένο σε **25 μεσαία** τετράγωνα και το καθένα από αυτά είναι χωρισμένο σε **16 μικρά** τετράγωνα.

Η αρίθμηση των ρευμάτων γίνεται στα **4 μεγάλα** περιφερειακά τετράγωνα (ή και μόνο στο 1 από αυτά).

Ακριβέστερα μετράμε το αριθμό των ρευμάτων που υπάρχουν στο υαθένα από τα **16 μεσαία** τετράγωνα που βρίσκονται στα υαθένα από τα 4 περιφερειακά.

Ο υπολογισμός γίνεται ως εξής:

$$l_{\text{μεγ. τετραγώνου}} = 1 \text{ mm}$$

(μήκος πλευράς μεγάλου)

$$S_{\text{μεγ. τετραγώνου}} = 1 \text{ mm} \times 1 \text{ mm} = 1 \text{ mm}^2$$

(επιφάνεια μεγάλου)

$$d \text{ (απόσταση πλάκας } N = \text{υαθυπερίδας)} = 0,1 \text{ mm}$$

$$V_{\text{μεγ. τετραγώνου}} = 1 \text{ mm}^2 \times 0,1 \text{ mm} = 0,1 \text{ mm}^3$$

(όγκος μεγάλου)

Μετράμε είτε σε α) **16** μεσαία δηλαδή **1** μεγάλο τετράγωνο  
είτε σε β) **64** μεσαία δηλαδή **4** μεγάλα τετράγωνα

$$\text{Συνεπώς έχουμε α) } V_{\text{υγρ.}} = 1 \text{ μεγάλο} \cdot V_{\text{μεγ.}} = 0,1 \text{ mm}^3 = \frac{1}{10} \text{ mm}^3$$

(όγκος υγρού)

$$\text{β) } V_{\text{υγρ.}} = 4 \text{ μεγάλα} \cdot V_{\text{μεγ.}} = 0,4 \text{ mm}^3 = \frac{4}{10} \text{ mm}^3$$

(όγκος υγρού)

Η αραιώση είναι  $\frac{1}{20}$  γιατί στις 11 μονάδες υγρού οι 0,5 μονάδες είναι αίμα.

$$\text{Συνεπώς έχουμε α) } V_{\text{αίμ.}} = \frac{1}{20} \times \frac{1}{10} = \frac{1}{200} \text{ mm}^3$$

$$\text{β) } V_{\text{αίμ.}} = \frac{1}{20} \times \frac{4}{10} = \frac{4}{200} = \frac{1}{50} \text{ mm}^3$$

(όγκος αίματος σε α) 1 μεγ. τετράγωνο  
β) 4 μεγ. τετράγωνα)

Συνεπώς έχουμε:

Σε  $V_{\text{αιμ}} = \alpha) \frac{1}{200} \text{ mm}^3$  υπάρχουν  $Y$  λευκά αιμοσφαίρια

$\beta) \frac{1}{50} \text{ mm}^3$  ( $Y =$  λευκά που έχουμε μετρήσει επί  $4 \text{ m}^3$  στο  $1$  μεγάλο τετράγωνο).

Σε  $V_{\text{αιμ}} : 1 \text{ mm}^3$  υπάρχουν  $X_I$ ; λευκά αιμοσφαίρια  
 $X_{II}$ ;

Ουσιαστικά

$X_I = 200 Y =$  λευκά /  $\text{mm}^3$  αιματος (όταν μετράμε σε 1 τετ)

$X_{II} = 50 Y =$  λευκά /  $\text{mm}^3$  αιματος (όταν μετράμε σε 4 τετ.)

Φυσιολογικές τιμές: 5.000 - 9000 λευκά /  $\text{mm}^3$  αιματος.

Η μὲν αὐξησὴ τοῦ ἀριθμοῦ τῶν λευκοκυττάρων ἐκ τοῦ φυσιολογικοῦ καλεῖται **Λευκοκυτταρῶση**, ἡ δὲ μείωσις καλεῖται **Λευκοπενία**.

## 7. Προσδιορισμός Λευκοκυτταρικοῦ Τύπου

Λευκοκυτταρικός Τύπος καλεῖται ἡ ἑμιασσιαία ἀνάθεσις τῶν διαφόρων εἰδῶν τῶν λευκοκυττάρων μεταξύ τους (Στὴν ἐξέτασιν περιλαμβάνονται καὶ τῆ ἐξέταση μετρηχίαισερυθρίων καὶ θρομβοκυτταρίων συμπερίσπασμα μὲς τῶν ἀριθμῶν τῶν λευκῶν.)

A. Πολυμορφοπυρήνα (12  $\mu$ )

→ Ηωσινοφιλα	1-4 %
→ Ουδετεροφιλα	50-65 %
→ Βασεοφιλα	0,5-1 %

B. Λεμφοκυτταρα

→ μεγάλα
→ μικρά

30-40%

C. Μεγάλα Μονοπυρήνα 5-9%  
(30  $\mu$ )

Μέθοδος:

A. Δημιουργία Τύπου (επίστρωση αντιμεινωφόρου ηλίου με

B. Έκτελούμε Χρωση (ώστε κατά την μικροδομή να  
διευκολυνθεί η άνευρεση καθώς και η  
αφαιριστικότητα των γεμοκυττάρων)  
(εδώ χρησιμοποιήσαμε την Giemsa)

C. Μικροσκοπήση

Έφρον το παραθεώμα είναι βαμμένο χρησιμοποιούμε  
καταδυτικό φακό. (-) έχουμε ανάσφα)

Βρίσκουμε όπτιο πεδίο και εξετάζουμε κινώντας την  
τράπεζα κατά τα έξης:



a) κατά παρατηρήτους γραμμές

b) κατά Μέανδρο

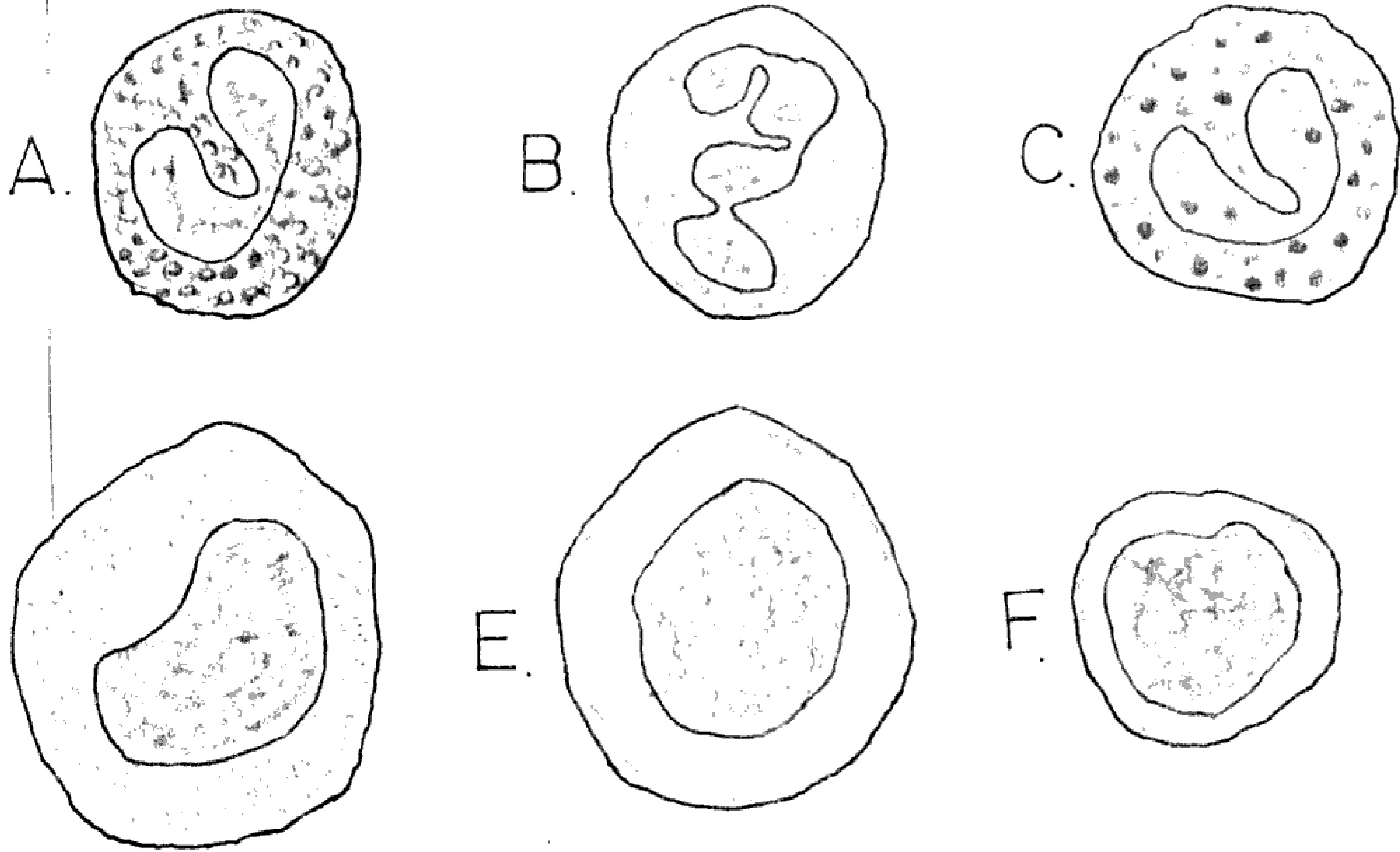
(αυτό γίνεται ώστε να έχουμε μια πιο όφιστική εικόνα του  
γεμοκυτταρίου τύπου, διότι εάν περίπτωση όπου δεν έχουμε  
ομοιομερή επίστρωση στον τύπο (μήσε ομοιοπακή) ή κατανομή  
των κυττάρων είναι άνιση με τόση τα μεγάλα κύτταρα  
βρίσκονται στις άκρες του επιχρίσματος ενώ τα μικρότερα  
στο κέντρο.

Μικροσκοπούμε 100 γεμοκύτταρα, διαχωρίζοντας τα ταυτό  
ώμια με τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά τους.

(Για να έχουμε γενική όπτιση επαφή με το επιχρίσμα  
και συνάρα κακαγραφή των διαφόρων γεμοκυττάρων)

αρθροποιούμε την ειδική μηχανή καταγραφής των θηλαίων).

Στον διαχωρισμό των ειδών των θηλασικών μας βοηθάει η διαφορετική μορφολογία τους, συγκεκριμένα:



A. Ηλωιδία: έντονα υψώματα μεταξύ υψώματων στο  
υπεραρτηριακό

B. Ουδερόφια: ελαφρά ροή κυκαρτηριακού και πυρηνικού πυρήνα  
(2-5 δόμοι)

C. Βασείφια: έντονα σωήκα μεταξύ υψώματων

D. Μεγάλα γονοπύρινα: νεφροειδής πυρήνας και αζουρόφια υσκήα.

E, F: Λεμφόκυτταρα: σκουρικό κυκαρτηριακό, πυκνό διευκυσ  
αρωματικό, βρογχικό ή νεφροειδής πυρήνας.

Διάρκεια ζωής A-B-C: 3-5 ημέρες  
D-E-F: 3-4 εβδομάδες.

Διαφορές στην μορφολογία	M Μονοκυττάρων	- M Λεμφοκυττάρων
A Ψή τεύχνα	Ζεστά ερυθρά	Ψηλά τεύχνα, έτοιμα
B Πυρηνική μεμβράνη	Ζεστή	Περίεσοτερο ερυθρά
Γ Κυτταρόπλασμα	Ψυχρό, αφύσικο μέγεθος	Αξονόμοια κ
	Ζεστά ερυθρά	
	μοια	

## 8. Προσδιορισμός Αριθμού Ερυθρών αιμ.

Για να κάνουμε ἀριθμηση των ἐρυθρῶν αἰμοσφαιρίων χρησιμοποιούμε τὰ ἑξῆς:

I) Πλακά Neubauer

II) ΠΙΠΕΤΑ

III) διάλυμα Hayem

δηλαδή

- I) Διαχωριστικό υδαρμένο 1,25 gr ( $HgCl_2$ )
- II) υδροθειώδες νάτριο 25 gr ( $Na_2SO_4$ )
- III) χλωριούχο νάτριο 5 gr ( $NaCl$ )
- IV)  $H_2O$  ἀπεσταγμένο ὡς 1 lt.

Μέθοδος:

A. Με τὴν βοήθεια τῆς αἰμολέκτρης τραβᾶμε τὴν ράχα εἰς δακτύλιο καὶ πιέσουμε γιὰ νὰ βγῆ αἷμα. Κατόπιν βυθίζοντας τὴν αἵψη τῆς πιπέτας τῆς αἰμοσφαιρίνης εἰς σταγόνα τοῦ αἵματος ἀναρροῦμε μὲν τὴν ἀνάγκη ποσότητας αἵματος ὥστε ἡ σταθμὴ αὐτοῦ νὰ εἶναι κορεσμένη. Κατόπιν βάζουμε τὸ αἷμα εἰς σωληνάριο ποσότητας περίπου  $4cm^3$  διαλύματος Hayem καὶ ἀναμεινόμεν κατὰ τὸ διάλυμα Hayem κατασφραγίζουμε τὰ θεσμὰ αἰμοσφαιρίων. Λαμβάνουμε μὲ τριχοειδὲς μὴ σταγόνα ἀπὸ τὸ ἀραιωμένο αἷμα τὴν ὁποία ἐπιθέτουμε εἰς βυθιστὴ τῆς πλάκας Neubauer καὶ ἐπιθέτουμε τὴν καλυπτήριδα.



B.

Η αρίθμηση των έρυθρων γίνεται στα 5 μέσα τετραγώνια (4 περιφερικά και 1 κεντρικό) του κεντρικού μεγάλου τετραγώνου.

Ακριβέστερα μετράμε τον αριθμό των ερυθρών που υπάρχουν στο φάσμα από τα 16 μικρά τετραγώνια που βρίσκονται στο κέντρο από τα 5 μέσα.

Ο υπολογισμός γίνεται ως εξής:

$$l_{\text{μικ. τετραγώνου}} = \frac{1}{20} \text{ mm}$$

(μήκος πλευράς μικρού)

$$S_{\text{μικ. τετραγώνου}} = \frac{1}{20} \text{ mm} \times \frac{1}{20} \text{ mm} = \frac{1}{400} \text{ mm}^2$$

(επιφάνεια μικρού)

$$d \text{ (απόσταση ανάμεσα Ν-καρδιοπεριόδων)} = \frac{1}{10} \text{ mm}$$

$$V_{\text{μικ. τετραγώνου}} = \frac{1}{400} \text{ mm}^2 \times \frac{1}{10} \text{ mm} = \frac{1}{4000} \text{ mm}^3$$

(όγκος μικρού)

Μετράμε σε 80 μικρά δηλαδή 5 μέσα τετραγώνια.

$$\text{Συνεπώς έχουμε } V_{\text{υγρ.}} = 80 \text{ μικρά} \cdot V_{\text{μικ.}} = 80 \cdot \frac{1}{4000} = \frac{1}{50} \text{ mm}^3$$

(όγκος υγρού)

Η όραση είναι  $\frac{1}{200}$  γιατί

$$\text{Συνεπώς έχουμε } V_{\text{αψ.}} = \frac{1}{200} \times \frac{1}{50} = \frac{1}{10.000} \text{ mm}^3$$

(όγκος αιμάτος = 80 μικρά τετραγώνια)

Συνεπώς:

$$\text{Σε } V_{\text{αψ.}} = \frac{1}{10.000} \text{ mm}^3 \text{ υπάρχουν } Y \text{ έρυθρά αιμοσφαίρια}$$

(Y = έρυθροί ερυθροί μετράμε σε 80 μικρά τετ.)

$$\text{Σε } V_{\text{αψ.}} = 1 \text{ mm}^3 \text{ υπάρχουν } X \text{ έρυθρά αιμοσφαίρια}$$

$$\text{όρα } X = 10.000 \cdot Y = \text{έρυθρά/mm}^3 \text{ αιμάτος.}$$

Φυσιολογικές Τιμές : α) άνδρες :  $4,5 \cdot 10^6 - 6,5 \cdot 10^6 / \text{mm}^3$  αίματος  
β) γυναίκες :  $3,9 \cdot 10^6 - 5,6 \cdot 10^6 / \text{mm}^3$  αίματος  
γ) νεογέννητα  $\approx 6 \cdot 10^6 - 7 \cdot 10^6 / \text{mm}^3$  αίματος.

Η εξάρθρωσις του αριθμού των ερυθρών υαίων του φυσιολογικού ονομάζεται **αναιμία**, ή δέ αύξις ερυθροκυτταρώση.

## 9. Προσδιορισμός : α) Χρονου Ροής β) Χρονου Πηξέως

Μέθοδος προσδιορισμού χρόνου ροής :

Αφού καθαρίσωμε τὸ **λωβίον** τοῦ αἵματος, μὲ τὴν βοήθειαν μιᾶς αἰμολέκτου κρητάρου αὐτό. Παρατηροῦμε ὅτι σχηματίζεται μιὰ ποτὶ μικρὰ σταγόνα αἵματος. Μὲ τὴν βοήθειαν **διηθητικοῦ χαρτοῦ** ἀπορροφῶμε τὴν σταγόνα. Κάθε 15" περίπου ἀπορροφῶμε καθεὶ καὶ μιὰ σταγόνα αἵματος ποὺ σχηματίζεται. Κάποια στιγμή ἀκουμπῶμε τὸ διηθητικὸ χαρτὶ ἐπὶ τὸ λωβίον παρατηροῦμε ὅτι δὲν σχηματίζεται καμμίαν βουλήν δὲν ἐξέρχεται αἷμα ἀπὸ τὸ λωβίον. Ὁ χρόνος ἀπὸ τὴν στιγμήν ποὺ κρητάρωμε τὸ λωβίον μέχρι τὴν στιγμήν ποὺ δὲν ἐξέρχεται αἷμα ἀπὸ τὸ λωβίον ὀνομάζεται χρόνος ροῆς. (Τὸ λωβίον τοῦ αἵματος εἶναι τὸ καλὸν μακροβόλον μέρος γὰρ αὐτὸν τὸν προσδιορισμὸν δὲν εἶναι φλέβες ἢ ἀρτηρίες).

Επίσης, ὁ προσδιορισμὸς, μπορεῖ νὰ γίνῃ καὶ ἐπὶ τὸν πήχυν (ἀνεβαίνει ἐπὶ τὸ σημείον τοῦ δερματος ὅπου δὲν ὑπάρκουν φλέβες ἢ ἀρτηρίες) ἀπὸ τὴν στιγμήν ποὺ κρητάρωμε εἰδικὴ βελόνα.

Οἱ φυσιολογικαὶ τιμὲς εἶναι 1-3 min

Χρόνος ροῆς μεγαλύτερος τοῦ κανονικοῦ υποδηλώνει ἐλάττωμα τοῦ αριθμοῦ τῶν ερυθροκυττάρων ἢ αἰμοπεταλίων ἢ αἵμα τῶν φυσιολογικῶν ὁρίων.

## Μέθοδος προσδιορισμού χρόνου πήξης:

Με την βοήθεια μιας αιμοστάτας τυπώμε την ραβία ενός δαικώλου και πιάσουμε για να σχηματιστεί σταγόνα αίματος. Τυπώσουμε την σταγόνα αίματος στο νερό μιας αναστημένοφωρου μήτσης και βάζο μας την άμυα μιας αιμοστάτας στην σταγόνα και αναποστρώμε προς τα πάνω. Αλλά αν βγυρή το αίμα έλυνται ύδατι μισή δέν έληπει γει " την έλδο της αιμοστάτας. Ανακαταμείλουμε αμέη την διεργασία για μισή ώρα σταθερά. Σε χρόνο τ σχηματίζεται οίωμο ύδατος της σταγόνας αίματος και παρατηρούμε ότι μετά της έλδο της αιμοστάτας έμ της σταγόνας το πήγμα έγει προσκολληθεί στην άμυα της αιμοστάτας. Αίως ό χρόνος τ ονομάζεται χρόνος πήξης

Οι φαινοτυπικές τιμές είναι 3-5 min