

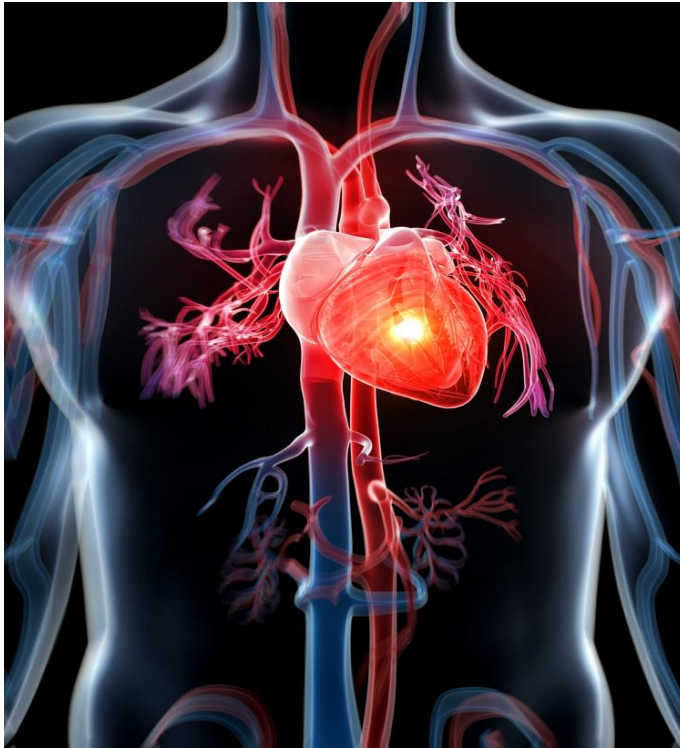


دانشگاه صنعتی سهند

دانشکده مهندسی پزشکی دانشگاه صنعتی سهند

گروه بیوالکتریک و گروه بیومکانیک

دستور کار آزمایشگاه فیزیولوژی



کارشناس آزمایشگاه: مهندس محمد شکوری

کارشناس ارشد مهندسی پزشکی - گرایش بیوالکتریک

نام و نام خانوادگی دانشجو:

## مقدمه

فیزیولوژی به بررسی کارکرد اندام های مختلف بدن می پردازد که در آن برای درک عمیق عملکرد ارگان ها و سیستم های بدن از روابط و اصول فیزیکی و ریاضی استفاده می شود. فیزیولوژی در آموزش پزشکی اهمیت بسیاری دارد و در طی دوره علوم پایه به دانشجویان تدریس می شود. در کنار آناتومی، فیزیولوژی به شکل گیری طرح کلی بدن سالم در ذهن دانشجویان کمک میکند، همچنین برای اطلاع از پاتولوژی بیماری ها فهم فیزیولوژی بسیار مهم و کلیدی است.

در این اثر سعی شده است بیشتر سرفصل های درس فیزیولوژی برای دانشجویان مهندسی پزشکی پوشش داده شود و درک مناسبی از نکاتی که در تجربه عملی ممکن است مورد نیاز باشد، بدست آید. همچنین سعی شده است مطالب پیش زمینه در قسمت تئوری آزمایش گنجانده شود.

انتظار میرود دانشجویان قبل از انجام هر آزمایش، مطالب تئوری مربوط به آن آزمایش را مطالعه کرده و تمرین های اولیه هر آزمایش را انجام دهند. رعایت نظم و قوانین آزمایشگاه و حضور به موقع میتواند به استفاده مفید از جلسات آزمایشگاه کمک نماید.

یک گزارش کار کامل شامل: هدف آزمایش، توضیحات موردنیاز، نحوه انجام آزمایش، نتایج، تحلیل و نتیجه گیری است.

ارزیابی دانشجویان در این آزمایشگاه بر اساس کیفیت کار در آزمایشگاه، گزارش کار، نظم و حضور به موقع در آزمایشگاه و امتحان تئوری و عملی خواهد بود.

امید است دانشجویان با گذراندن این واحد آزمایشگاهی درک مناسبی از علم فیزیولوژی بدست آورند.

## فهرست

- ۱-عنوان آزمایش: اندازه گیری فشار خون ..... ۲
- الف) روش لمسی در اندازه گیری فشار خون ..... ۳
- ب) روش سمعی در اندازه گیری فشار خون ..... ۴
- گزارش کار-۱: ..... ۵
- ۲-عنوان آزمایش: ثبت فعالیت الکتریکی قلب ..... ۶
- گزارش کار-۲: ..... ۱۱
- ۳-عنوان آزمایش: آزمایش تست شنوایی با دیپازون ..... ۱۲
- ۴-عنوان آزمایش: شمارش گلبولهای قرمز ..... ۱۴
- گزارش کار-۴: ..... ۱۶
- ۵-عنوان آزمایش: شمارش گلبولهای سفید خون ..... ۱۷
- گزارش کار-۵: ..... ۱۸
- ۶-عنوان آزمایش: تعیین گروه خونی ..... ۱۹
- گزارش کار-۶: ..... ۲۱
- ۷-عنوان آزمایش: تعیین زمان انعقاد و زمان سیلان خون ..... ۲۳
- گزارش کار-۷: ..... ۲۶
- ۸-عنوان آزمایش: تهیه گسترش خون انسان Blood Film ..... ۲۸
- گزارش کار-۸: ..... ۳۱
- ۹-عنوان آزمایش: تعیین هماتوکریت ..... ۳۲
- گزارش کار-۹: ..... ۳۵

## ۱- عنوان آزمایش: اندازه گیری فشار خون

هدف: تعیین فشار خون سرخرگی

فشار خون عبارت است از نیرویی که توسط خون بر واحد سطح رگ وارد می شود و بر اساس میلی متر جیوه (mmHg) یا سانتی متر آب (cmH<sub>2</sub>O) بیان می شود، مثلاً فشار ۱۲۰ میلی متر جیوه به این معنی است که این فشار در حدی است که می تواند یک ستون جیوه را در داخل یک فشارسنج جیوه ای به طول ۱۲۰ میلی متر جابجا کند.

دو نوع فشار خون در رگ ها قابل اندازه گیری است که فشار خون انتهایی و فشار خون جانبی می باشند. فشار خون انتهایی بطور مستقیم اندازه گیری می شود. در این روش یک سرخرگ را بریده و بطور مستقیم به یک فشار سنج وصل میکنند و فشاری که اندازه گیری می شود ناشی از نیرویی است که ستون خون داخل سرخرگ از جلو به فشار سنج وارد می کند. این روش معمولاً بصورت آزمایشگاهی و روی حیوانات انجام می شود. فشار خون جانبی فشاری است که خون بر دیواره رگ وارد می کند و بطور غیر مستقیم اندازه گیری می شود. در این روش با استفاده از نیرویی که از بیرون به دیواره رگ وارد می شود و اندازه گیری این نیرو، میزان فشار خون داخل رگ اندازه گیری می شود.

قلب بصورت دوره ای کار می کند و دارای دو مرحله سیستول و دیاستول در هر دوره است. در سیستول، قلب دارای بیشترین فشار mmHg ۱۲۰ و در دیاستول چون قلب کاملاً منبسط شده به کمترین حد خود یعنی mmHg ۰ می رسد. سرخرگها نیز از این خاصیت قلب تبعیت کرده، در سیستول بالاترین فشار در سرخرگها mmHg ۱۲۰ می باشد ولی این فشار در طی دیاستول در سرخرگها به علت خاصیت ارتجاعی آنها تا یک حد مشخصی سقوط می کند و به صفر نمی رسد. فشار دیاستولی سرخرگهای بزرگ در حد ۸۰ میلی متر جیوه است.

**وسایل مورد نیاز:**

برای این آزمایش از دستگاه فشار سنج کیسه ای یا Sphygmomanometer استفاده می شود. این دستگاه تشکیل شده از یک کیسه دو جداره قابل باد کردن به اسم کیسه ریوا-روکسی Riva- Rocci که به دور بازوی شخص بسته می شود، اوسیلومتر یا نوسان سنج که داخل کیسه تعبیه شده و نوسانات رگ را حس می کند، فشار سنج یا مانومتر که فشار اندازه گیری شده را بر حسب میلی متر جیوه نشان می دهد. پمپ که با آن می توان کیسه را باد کرد و با باز کردن پیچ آن هوای داخل کیسه خالی می شود. گوشی پزشکی یا استتوسکوپ که دارای گوشی و دیافراگم است.

**اندازه گیری فشار خون به دو روش قابل انجام است: روش لمسی و روش سمعی**

**الف) روش لمسی در اندازه گیری فشار خون**

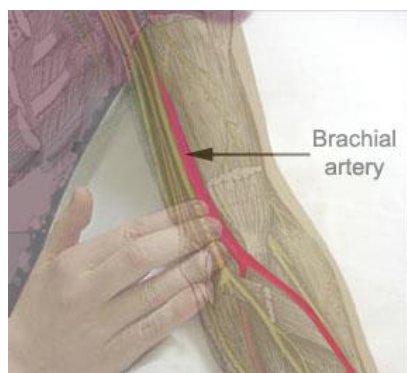
در این روش فقط فشار سیستولی اندازه گیری می شود. کیسه را به دور بازوی شخص بسته و با یک دست نبض دست شخص را پیدا می کنیم و با دست دیگر کیسه را باد می کنیم (تا فشار ۱۵۰-۱۴۰ میلیمتر جیوه) تا حدی که نبض فرد در زیر انگشتانمان قطع گردد. بلافاصله به آرامی پیچ تخلیه را باز می کنیم بطوری که در هر ثانیه ۳-۴ mmHg کاهش فشار داشته باشیم. عقربه مانومتر را نگاه می کنیم در لحظه ای که نبض فرد برقرار می شود عقربه فشار سنج عدد فشار سیستولی را به ما نشان می دهد.



شکل ۱: مراحل انجام روش لمسی در اندازه گیری فشار خون

## ب) روش سمعی در اندازه گیری فشار خون

در این روش به گوشی پزشکی نیاز هست و می توان هم فشار سیستولی و هم فشار دیاستولی را اندازه گرفت. کیسه را به دور بازوی شخص می بندیم. گوشی را در گوش گذاشته و دیافراگم را روی رگ بازو در ناحیه گودی آرنج قرار می دهیم طوری که صداهای لوب- داپ قلب را بشنویم. دیافراگم نباید زیاد زیر کیسه برود. کیسه را باد می کنیم تا حدی که رگ بسته شده و دیگر صدایی شنیده نشود. سپس به آرامی پیچ تخلیه را باز کرده عقربه را نگاه می کنیم به محض برقراری جریان خون اولین صدا به گوش می رسد که صدایی واضح و کوتاه است، در این حالت عقربه نیز تکان کوچکی می خورد این فشار، فشار سیستولی است. همان طور که فشار کم می شود صداها گنگ و خفیف به گوش می رسند در این حالت نیز عقربه لرزش دیگری دارد این فشار، فشار دیاستولی است. فشار طبیعی در محدوده ۱۲-۱۳ روی ۸-۷ می باشد. البته مقدار آن بر حسب سن ، وضعیت جسمی و ... تغییر می کند.



شکل ۲: مراحل انجام روش سمعی در اندازه گیری فشار خون

**نحوه اندازه گیری نبض:**

نبض را با دو انگشت اشاره و میانی بایستی حس کرد. با انگشت شست اقدام به گرفتن نبض نکنید چرا که شست خود دارای نبض است و با نبض سایر نقاط تداخل ایجاد میکند. انگشتان اشاره و میانی باید روی شریان قرار گرفته و با اعمال فشار اندک در برابر یک ساختار محکم نظیر استخوان نبض لمس گردد. برخی از نقاط نبض دار بدن عبارت اند از:

**نبض رادیال و یا زند زبرین (RAIDAL PULSE)** در سمت خارجی مچ دست (سمت شست) واقع شده است.  
**نبض اولنار یا زند زبرین (ULNAR PULSE)** در سمت داخلی مچ (انگشت کوچک) واقع شده است.  
**نبض بازویی یا براکیال (BRACHIALPULSE)** میان عضلات دوسر و سه سر و در قسمت میانی و داخلی آرنج واقع است.

**گزارش کار ۱:**

۱- چرا در روش لمسی فشار دیاستولی قابل اندازه گیری نیست؟

۲- چرا از بازو و سرخرگ بازویی برای اندازه گیری فشار خون استفاده می شود؟

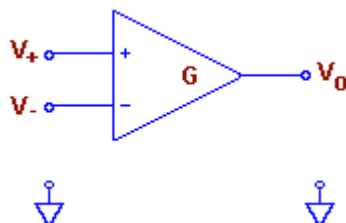
۳- شرایط لازم برای اندازه گیری فشار خون در فرد آزمایش شونده را بنویسید.

## ۲- عنوان آزمایش: ثبت فعالیت الکتریکی قلب

مقدمه:

الکتروکاردیوگراف ( بطور خلاصه ECG یا EKG ) دستگاهی است که فعالیت الکتریکی قلب را در سطح بدن ثبت می کند. منحنی ثبت شده بوسیله دستگاه الکتروکاردیوگراف را الکتروکاردیوگرام می نامند که بطور خلاصه ECG یا EKG نیز گفته می شود. الکتروکاردیوگراف اساساً یک وسیله الکتریکی است که پتانسیل های بسیار ضعیف رسیده به سطح بدن را تشدید می کند، تا این پتانسیل ها بتوانند قابل مشاهده و ثبت کردن باشند. سیگنالها بوسیله الکترودهایی که در موقعیت های خاص و مشخص شده ای از سطح بدن قرار می گیرند، دریافت می شوند.

قسمت اصلی دستگاه الکتروکاردیوگراف یک آمپلی فایر ( تشدید کننده ولتاژ) با دو ورودی است که یکی از آنها مثبت و دیگری منفی است. ولتاژ خروجی متناسب با اختلاف بین ولتاژهای مثبت و منفی ورودی دستگاه است.



$$V_0 = G (V^+ - V^-)$$

$V_0$ : ولتاژ خروجی      gain : آمپلی فایر

ولتاژ یا پتانسیل یک کمیت نسبی است که بر خلاف کمیت های مطلق مانند طول و جرم بطور مستقیم قابل اندازه گیری نبوده و فقط با اندازه گیری اختلاف پتانسیل می تواند اندازه گیری شود. بنابراین  $V^+$  و  $V^-$  هر کدام باید نسبت به یک نقطه مرجع سومی اندازه گیری شوند که پتانسیل آن صفر در نظر گرفته می شود. این نقطه سوم در الکتروکاردیوگرافی بطور قرار دادی پای راست می باشد.



لازم به ذکر است که در الکتروکاردیوگرافی وقتی یک موج دپلاریزاسیون به طرف الکتروود مثبت حرکت کرده و از الکتروود منفی دور می شود، یک موج مثبت در منحنی ثبت می شود و وقتی که موج از الکتروود مثبت دور می شود و به سمت الکتروود منفی حرکت کند، یک موج منفی دیده می شود. اگر موج در جهت عمود بر خط متصل کننده جایگاه دو الکتروود حرکت کند یا موجی ثبت نمی شود یا موج بصورت دو مرحله ای (Biphasic) ثبت می شود.

### منحنی الکتروکاردیوگرام:

شکل زیر یک منحنی ECG معمولی را نشان می دهد. سه ویژگی این موج به راحتی قابل تشخیص است:

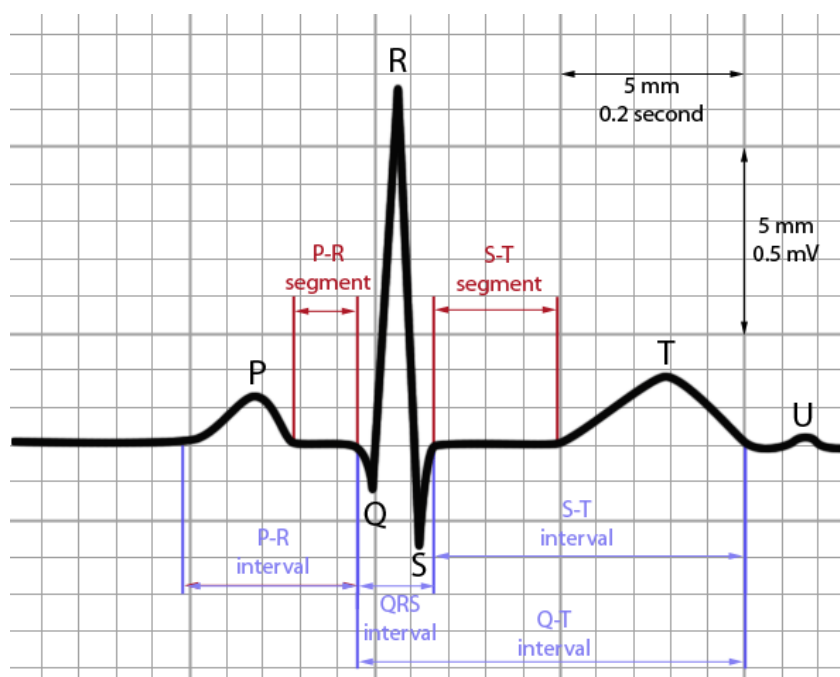
۱- موج P      ۲- موج QRS      ۳- موج T

فاصله P-R : فاصله شروع موج P تا شروع کمپلکس QRS

فاصله QRS : فاصله شروع تا پایان کمپلکس QRS

فاصله QT : فاصله شروع کمپلکس QRS تا پایان موج T

فاصله R-R : فاصله قله یک موج R تا قله موج R بعدی

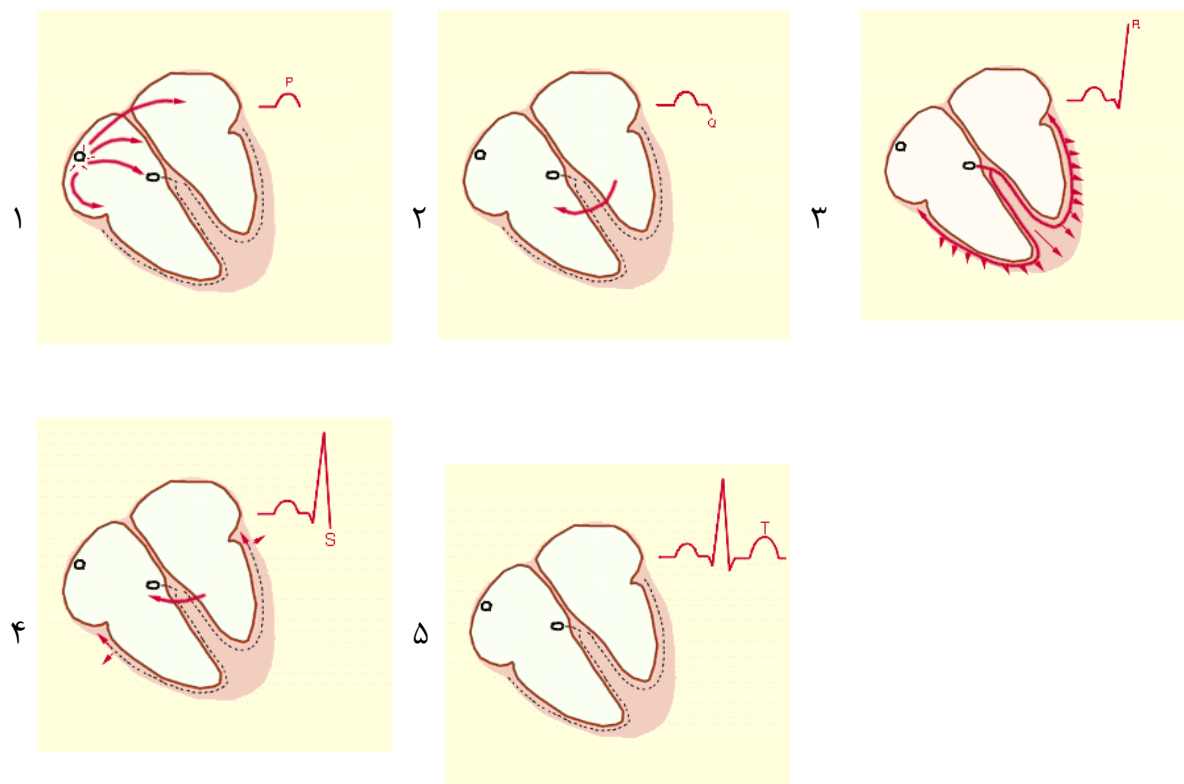


شکل ۳: منحنی ECG و اجزای آن

### بررسی فعالیت الکتریکی قلب و ثبت منحنی الکتروکاردیوگرام:

فعالیت الکتریکی قلب از گره سینوسی - دهلیزی شروع و سپس ایмпالس ها به سرعت در سراسر دهلیزها و به سمت گره دهلیزی - بطنی گسترش می یابد. موج P با دپلاریزاسیون عضله هر دو دهلیز ایجاد می شود. تحریک الکتریکی بطور آهسته ای از گره AV می گذرد، سپس بطور بسیار سریعی از دستجات هیس، انشعابات آن، شبکه پورکینه گذشته و در نهایت به عضلات بطنی می رسد.

اولین ناحیه ای از عضله بطنی که دپلاریزه می شود، دیواره بین بطنی است که از چپ به راست تحریک می شود و موج Q را تولید می کند. در مرحله بعد دیواره های بیرونی بطن چپ و راست که توده عضلانی هر دو بطن را تشکیل می دهند دپلاریزه می شوند. (سطح آندوکارد قبل از سطح اپی کارد یا بیرونی قلب فعال می شود) و موج R ایجاد می شود. در نهایت عضله بطنی رپلاریزه شده و موج T را تولید می کند.

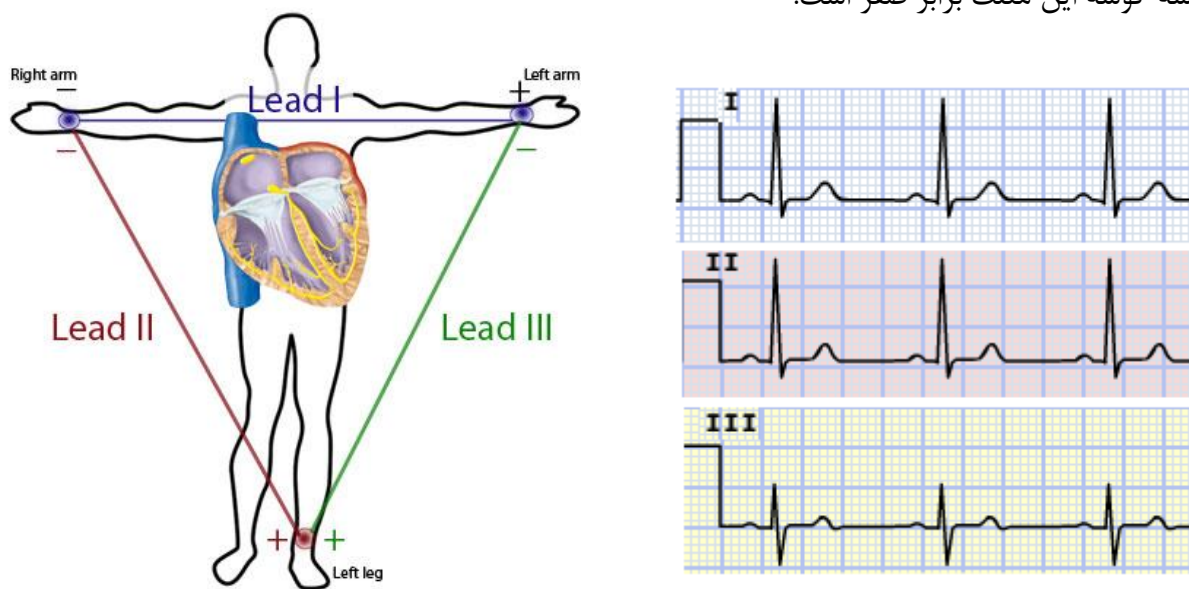


شکل ۴: مراحل ایجاد یک منحنی الکتروکاردیوگرام طبیعی

## انواع لید Lead یا اشتقاق ها در الکتروکاردیوگرام:

الف) لیدهای دو قطبی یا لیدهای سه گانه استاندارد (I, II, III)

بر اساس لیدهای استاندارد در ثبت الکتروکاردیوگرام دو الکتروود فعال (مثبت و منفی) وجود دارد که در لید شماره I الکتروود منفی به دست راست و الکتروود مثبت به دست چپ متصل می شود. در لید شماره II ، الکتروود منفی به دست راست و الکتروود مثبت به پای چپ متصل می شود. در لید شماره III ، الکتروود منفی به دست چپ و الکتروود مثبت به پای چپ متصل می شود. در همه لیدها، الکتروود مرجع به پای راست متصل می شود. مثلث آینتهون: قلب در داخل یک مثلث متساوی الاضلاع قرار می گیرد که مجموع پتانسیل های ثبت شده در سه گوشه این مثلث برابر صفر است.



شکل ۵: محل اتصال الکتروود به بدن در لیدهای سه گانه استاندارد (چپ) و منحنی های ثبت شده برای هر کدام

(راست)

## ب) لیدهای یک قطبی شامل لیدهای تقویت ولتاژی اندامها و لیدهای سینه ای

در لیدهای یک قطبی فقط یک الکتروود فعال وجود دارد و الکتروود دیگر غیر فعال می باشد.

در لید تقویت ولتاژ دست راست (aVR) الکتروود فعال به دست راست متصل شده و الکتروود غیر فعال همزمان به دست چپ و پای چپ متصل می شود.

در لید تقویت ولتاژ دست چپ (aVL) ، الکتروود فعال به دست چپ متصل شده و الکتروود غیر فعال همزمان به دست راست و پای چپ متصل می شود.

در لید تقویت ولتاژ پای چپ (aVF) ، الکتروود فعال به پای چپ متصل شده و الکتروود غیر فعال همزمان به دست راست و چپ متصل می شود.

در لیدهای یک قطبی جلو سینه ای الکتروود فعال به نقطه ای مشخص در جلو سینه متصل شده و الکتروود غیر فعال همزمان به سه اندام دست راست و چپ و پای چپ متصل می شود.

شکل منحنی های بدست آمده در لیدهای مختلف متفاوت بوده و هر کدام موارد کاربرد خاص خود را دارد.

### روش کار:

شخص بصورت خوابیده به پشت بر روی تخت قرار می گیرد و الکتروودهای مخصوصی به سطح داخلی دو دست در ناحیه بالاتر از میچ دست متصل می شوند و الکتروودهای مخصوص دو پا در بالاتر از پاشنه پا در میچ پا متصل می شوند. دستگاه ECG مدل Carewell 1103 B همزمان میتواند لیدهای دوازده گانه را بطور اتوماتیک و یا بطور جداگانه، لیدهای استاندارد و لیدهای تقویتی اندامها و لیدهای جلوی سینه ای را ثبت کند. در این آزمایش لیدهای دو قطبی استاندارد اندامها و لیدهای یک قطبی تقویت ولتاژی اندامها را ثبت می کنیم.

## گزارش کار-۲:

۱- اجزای منحنی الکتروکاردیوگرام ثبت شده در آزمایشگاه را مطابق شکل ۱۰ مشخص کرده و محاسبه نمائید.

۲- پنج مورد از ناهنجاری های قلبی را که با الکتروکاردیوگرام قابل تشخیص هستند نام برده و تغییر منحنی آنها را ذکر نموده و شکل شماتیکی از آن رسم کنید.

### 3 - عنوان آزمایش: آزمایش تست شنوایی با دیپازون (Tuning Fork)

آزمونهای دیپازونی، آزمونهای غربالگری در ارزیابی عملکرد سیستم شنوایی و تشخیص نوع کم شنوایی هستند. دیپازون، وسیله فلزی U شکلی است که انتهای آن به یک میله (دسته دیپازون) متصل است. با وارد کردن ضربه به هر یک از شاخه های ساختار U شکل، دیپازون به ارتعاش در می آید و بر اثر این ارتعاش، صدایی در فرکانس مشخصی تولید میشود.

دیپازون ها در فرکانس های مختلفی شامل ۲۵۶، ۳۲۰، ۴۲۶ و ۵۱۲ هرتز تهیه میشوند. برای به صدا درآوردن دیپازون، باید آن را به پشت دست خود یا به میز زده و یا با انگشتان شست و اشاره، شاخه های آن را به هم فشار دهید. هدف از آزمون های دیپازونی، تشخیص کم شنوایی حسی - عصبی (وجود مشکل در حلزون گوش داخلی) از کم شنوایی هدایتی (وجود مشکل در گوش خارجی یا گوش میانی) است. تست های شنوایی Rinne و Weber از مهمترین آزمون های دیپازونی هستند:

(۱) **تست وبر:** در تست وبر، قسمت پایه یک دیپازون مرتعش (دیپازون ۲۵۶ هرتز یا ۵۱۲ هرتز) را به مدت ۴ ثانیه به طور عمود در وسط پیشانی یا روی دندان های جلویی یا در بالای سر با فاصله مساوی از گوش های بیمار قرار میدهند و از بیمار درخواست میشود گزارش دهد صدا را چگونه میشنود؛ در حالت نرمال باید صدا به طور مساوی در هر دو گوش یا در وسط سر شنیده شود. اگر صدا در یک گوش بلندتر از گوش دیگر شنیده شود، دو تفسیر دارد: (۱) وجود کم شنوایی هدایتی در گوشی که بهتر می شنود. (۲) وجود کم شنوایی حسی - عصبی در گوشی که کمتر میشنود. در واقع نتیجه غیرطبیعی در تست وبر فقط به پزشک میگوید که یا در گوشی که بهتر میشنود کم شنوایی هدایتی وجود دارد یا در گوشی که کمتر میشنود کم شنوایی حسی - عصبی وجود دارد و برای تعیین دقیق نوع کم شنوایی باید تست رینه نیز انجام شود.

**نکته:** در تست وبر در بیمار مبتلا به کم شنوایی متقارن (کم شنوایی به یک اندازه در هر دو گوش)، صدای دیاپازون مرتعش در هر دو گوش به طور یکسان شنیده میشود بنابراین تست وبر فقط در تشخیص کم شنوایی نامتقارن (یک طرفه) کاربرد دارد.

(۲) **تست رینه:** تست رینه به طور جداگانه برای هر گوش انجام میشود و هنگام انجام تست برای یک گوش بهتر است گوش دیگر را پوشاند یا اصطلاحاً ماسکه کرد. برای انجام تست رینه، بخش U شکل دیاپازون مرتعش را (دیاپازون ۵۱۲ هرتز) روبروی مجرای گوش خارجی قرار میدهند و از فرد درخواست میشود گوش کند تا زمانیکه دیگر صدایی شنیده نشود. سپس به سرعت و بدون ضربه زدن مجدد به دیاپازون، بخش پایه دیاپازون را روی زائده ماستوئید پشت گوش قرار داده و از بیمار میخواهند گوش کند که آیا باز صدایی میشوند یا نه. در حالت نرمال، وقتی دیاپازون مرتعش به روی زائده ماستوئید منتقل میشود، نباید صدایی شنیده شود؛ یعنی هدایت هوایی یا **Air conduction (AC)** باید برابر یا بیشتر از هدایت استخوانی یا **Bone conduction (BC)** باشد. پس از نظر بالینی نتیجه  $AC > BC$  یک نتیجه طبیعی و مثبت برای تست رینه است. اما اگر پس از جابجایی دیاپازون به زائده ماستوئید، بیمار باز هم صدای آن را بشنود، گفته میشود هدایت استخوانی قویتر از هدایت هوایی است و نتیجه را به صورت  $AC < BC$  گزارش میدهند که نشان دهنده **کم شنوایی هدایتی** در آن گوش است.

**نکته:** تست رینه برای تشخیص کم شنوایی حسی-عصبی ایده آل نیست، زیرا هم کم شنوایی حسی-عصبی و هم شنوایی طبیعی باعث مثبت شدن تست رینه میشوند.

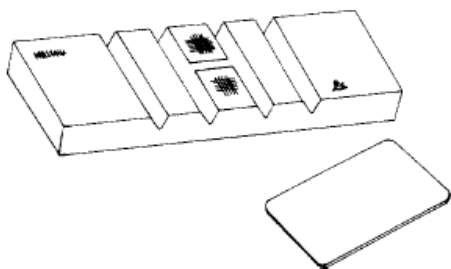
**توجه:** تست های **Rinne** و **Weber** تست های غربالگری میباشند و جایگزین تست های شنوایی سنجی رسمی نیستند.

#### ۴- عنوان آزمایش: شمارش گلبولهای قرمز

هدف: بررسی وجود یا عدم وجود کم خونی

مقدمه: یک روش ساده و ارزان برای شمارش گلبولهای قرمز استفاده از روش هموسیتمتر است. هموسیتمتر یک لام میکروسکوپی ویژه ای است که بر روی آن خطوط دقیقی در داخل یک حفره بصورت برجسته کشیده

شده اند این حفره حجم معینی از خون رقیق شده را در خود جای

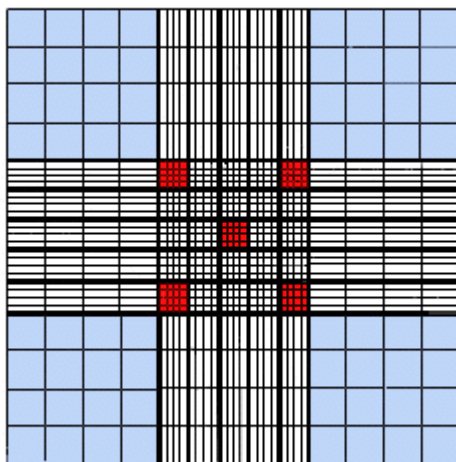


شکل ۶: لام نئوبار و لامل مخصوص آن

شکل زیر ناحیه خط کشی شده داخل حفره موجود بر روی لام را نشان می دهد. ۹ عدد مربع بزرگ از ۱ تا ۹ وجود دارد که محل شمارش گلبولهای سفید خون است. مربع مرکزی ( شماره ۵) برای شمارش گلبولهای قرمز بکار می رود و خود به ۲۵ مربع کوچک تقسیم شده است و هر مربع کوچک نیز به ۱۶ خانه ریزتر تقسیم می

■ areas of the grid where WBC are counted

شود.



■ areas of the grid where RBC are counted

شکل ۷: ناحیه خط کشی شده لام نئوبار و محل شمارش گلبولهای سفید و قرمز

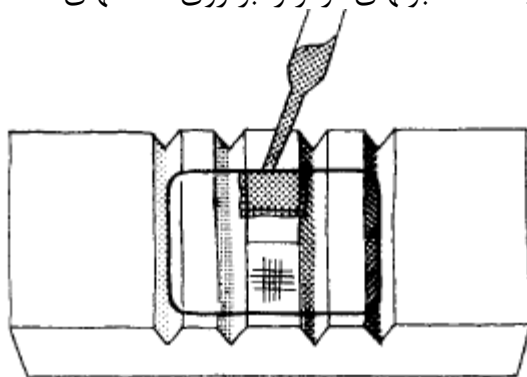


## مواد و وسایل مورد نیاز:

پنبه و الکل، لانست، پیپت ملانژور قرمز، محلول رقیق کننده گلبول قرمز یا محلول هایم Hayem's Solution (۵ گرم سولفات سدیم در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر + یک میلی لیتر محلول فرمالدئید ۱۰٪)، لام نئوبار آینه ای، لامل، میکروسکوپ

## روش کار:

بعد از ضد عفونی کردن انگشت لانست را به نوک انگشت زده و بعد از جمع شدن خون در نوک انگشت، قطره اول را با کاغذ واتمن بردارید. سپس پیپت ملانژور قرمز را بصورت افقی با قطره خون تماس داده تا خون تا عدد ۱ وارد پیپت شود. سپس با استفاده از محلول رقیق کننده گلبولهای قرمز پیپت را تا عدد ۱۰۱ پر می کنیم. پیپت را روی شیکر قرار داده تا محلول رقیق کننده و خون به خوبی با هم مخلوط شوند. سپس لامل مخصوص را بر روی لام نئوبار قرار داده و نوک پیپت ملانژور را بصورت افقی در تماس با لام و لامل نگهداشته تا خون با خاصیت موئینه زیر لامل را پر کند. باید دقت کرد تا شیارهای روی لام پر نشود. سپس لام را زیر میکروسکوپ قرار داده و با استفاده از عدسی ۴ یا ۱۰، گلبولهای قرمز را بر روی قسمتهای مشخص شده از لام نئوبار شمارش می کنیم.



شکل ۸: نحوه انتقال خون رقیق شده بر روی لام نئوبار

شمارش گلبولهای قرمز شامل شمارش در پنج تا از مربعهای کوچک داخل مربع بزرگ شماره ۵ و سپس بدست آوردن یک عدد میانگین خواهد بود. طول و عرض مربع مرکزی (مربع شماره ۵ بزرگ) ۱ mm است بنابراین

مساحت آن  $1 \text{ mm}^2$  خواهد بود. این مربع بصورت حفره ای بوده که ارتفاع آن  $0.1 \text{ mm}$  است و حجم آن  $0.1 \text{ mm}^3$  یا  $0.1 \mu\text{l}$  خواهد بود و برای بدست آوردن حجم  $1 \text{ mm}^3$  یا  $1 \mu\text{l}$  باید آن را در ۱۰ ضرب نمود. عدد میانگین بدست آمده را که مربوط به تعداد گلبولها در یک مربع کوچک است یکبار در عدد ۲۵ ضرب می کنیم تا تعداد گلبولها برای ۲۵ مربع کوچک یا یک مربع بزرگ بدست آید. چون خون را ۱۰۰ بار رقیق کرده بودیم این عدد جدید را در عدد ۱۰۰ نیز ضرب می کنیم. عدد جدید بدست آمده تعداد گلبولها را در حجم  $0.1 \mu\text{l}$  نشان میدهد. برای تبدیل این حجم به  $1 \mu\text{l}$  باید آن را در عدد ۱۰ نیز ضرب کنیم و بدین ترتیب عدد بدست آمده تعداد گلبولها را در  $1 \mu\text{l}$  از خون شخص نشان میدهد (معمولا به طور آزمایشگاهی و کلینیکی تعداد گلبول ها را در حجم یک میکرولیتر بیان می کنند).

$$\text{تعداد گلبول های قرمز در میکرولیتر خون} = \text{عدد میانگین بدست آمده} \times 25 \times 100 \times 10$$

#### گزارش کار ۴:

۱-تعداد گلبولهای قرمز خودتان را با این روش محاسبه کنید.

۲- اگر در شخصی تعداد گلبول های قرمز طبیعی باشد اما هماتوکریت کمتر از نرمال باشد چه نوع اختلالی را برای او پیش بینی می کنید؟ دلیل بیاورید.

## ۵- عنوان آزمایش: شمارش گلبولهای سفید خون

**مقدمه:** برای این کار نیز از لام نئوبار استفاده می کنیم تنها تفاوتی که این آزمایش با شمارش گلبولهای قرمز دارد در محلول رقیق کننده مورد استفاده و نوع پیپت ملانژور و محللهای شمارش گلبولها بر روی لام نئوبار خواهد بود.

### مواد و وسایل مورد نیاز:

پنبه و الکل، لانست، پیپت ملانژور سفید، محلول رقیق کننده گلبول سفید یا محلول مارکانو (Marcano ۲) میلی لیتر اسید استیک+یک میلی لیتر آبی یا بنفش متیل+۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر)، لام نئوبار آینه ای، لامل، میکروسکوپ

### روش کار:

لانست را به نوک انگشت زده ، پس از جمع شدن خون روی نوک انگشت، نوک پیپت ملانژور سفید را به قطره خون زده و پیپت را تا عدد ۱ از خون پر می کنیم. سپس با استفاده از محلول رقیق کننده مخصوص، پیپت را تا عدد ۱۱ پر می کنیم و خوب به هم می زنیم تا خون و محلول رقیق کننده با هم مخلوط شوند. سپس لامل را روی لام نئوبار قرار داده و نوک پیپت را به آن می زنیم تا خون روی لام پخش شود (شکل-۵). محلول رقیق کننده گلبولهای سفید باید هیپوتونیک باشد تا گلبولهای قرمز لیز شده و از بین بروند و گلبولهای سفید فقط به علت دارا بودن هسته و رنگ گرفتن آنها دیده خواهند شد. محللهای شمارش گلبولهای سفید بر روی لام نئوبار در مربع های بزرگ گوشه های لام یعنی مربع های بزرگ شماره ۱، ۳، ۷، ۹ خواهد بود. از مجموع اعداد گلبولهای چهار خانه میانگین گرفته و عدد میانگین را بدست می آوریم.

روش محاسبه تعداد گلبولهای سفید در میکرولیتر خون:

عدد میانگین بدست آمده را یکبار در عدد ۱۰ ( فاکتور رقت) ضرب کرده و سپس برای تبدیل حجم  $0.1 \mu\text{l}$  مربع بزرگ یکبار دیگر آن را در عدد ۱۰ ضرب می کنیم تا تعداد گلبول ها در حجم  $1 \mu\text{l}$  بدست آید.

تعداد گلبولهای سفید در یک میکرولیتر = عدد میانگین بدست آمده  $10 \times 10 \times 10$

گزارش کار ۵:

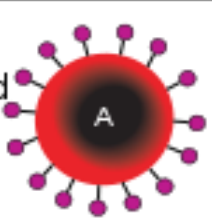
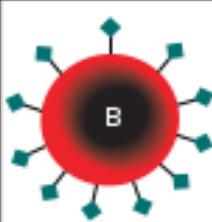
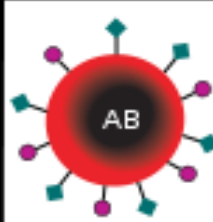
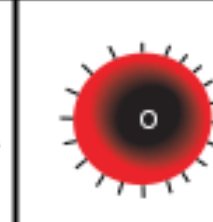


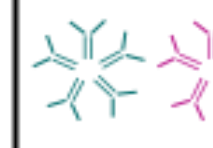
۱- تعداد گلبولهای سفید شمارش شده خودتان را با این روش محاسبه کنید.

۲- دلایلی احتمالی برای زیاد و کم بودن گلبولهای سفید در این آزمایش را بنویسید.

## ۶- عنوان آزمایش: تعیین گروه خونی

مقدمه:

گروه های خونی به وجود آنتی ژنهای اختصاصی (فاکتور های گروه خونی) بر روی گلبول های قرمز خون مربوط می شود. فاکتورهای گروه خونی متعددی بر روی گلبول های قرمز یافت می شوند که یکی از مهمترین گروه از این فاکتورها، سیستم ABO می باشد. در تعیین گروه خونی با استفاده از سیستم ABO بسته به اینکه شخص، یکی یا هر دوی آنتی ژنهای A و B را داشته باشد، چهار گروه خونی متفاوت ایجاد می شود. در داخل پلاسما خون نیز آنتی بادی ها (آگلوتینین ها) برای آنتی ژنهای A و B در پلاسما وجود دارند که به ترتیب آنتی A و آنتی B نامیده می شوند. آنتی ژن و آنتی بادی هم نوع (مثلاً آنتی ژن A و آنتی بادی A) در خون یک شخص بصورت همزمان یافت نمی شوند. نوع آنتی ژنهای موجود بر روی گلبولهای قرمز و آنتی بادی داخل پلاسما در افراد با گروه های خونی چهار گانه در جدول زیر خلاصه شده است:

	Group A	Group B	Group AB	Group O
Red blood cell type				
Antibodies present	 Anti-B	 Anti-A	None	 Anti-A and Anti-B
Antigens present	A antigen	B antigen	A and B antigens	None

**فاکتور Rh:**

بسیاری از مردم همچنین دارای یک فاکتور دیگری بر روی سطح گلبول های قرمز خود هستند. این فاکتور نیز یک آنتی ژن بوده و کسانی که این فاکتور را دارند Rh+ و کسانی که ندارند Rh- گفته می شوند. کسانی که خون Rh- دارند در داخل پلاسما خود آنتی بادی Rh یا بطور خلاصه آنتی Rh ندارند. اما اگر این شخص خون Rh+ را دریافت کند در اثر آنتی ژن Rh بر روی گلبول های قرمز وارد شده، سیستم ایمنی آنتی بادی Rh را در داخل پلاسما ایجاد می کند. شخصی با گروه خونی Rh+ می تواند هم از Rh+ و نیز از Rh- خون دریافت کند.

انواع گروه خونی در سیستم ABO با احتساب فاکتور Rh در جدول زیر خلاصه شده است:

ARh+	BRh+	ABRh+	ORh+
ARh-	BRh-	ABRh-	ORh-

**مواد و وسایل لازم:**

پنبه و الک، لانست، لام سه حفره، آنتی سرم های A، B و Rh

**روش کار:**

سه قطره خون را در سه جایگاه لام سه حفره ای قرار داده و به ترتیب از چپ به راست به قطره اول آنتی بادی A، به قطره وسط آنتی بادی B و به قطره سوم آنتی بادی Rh اضافه می کنیم. با یک میله چوبی قطره خون و آنتی بادی را مخلوط می کنیم. اگر قطره اول آگلوتینه شود (گلبول های قرمز به هم بچسبند) گروه خونی A خواهد بود. اگر قطره دوم آگلوتینه شود، گروه خونی B و اگر هر دو آگلوتینه شوند، گروه خونی AB خواهد بود. اگر هیچکدام آگلوتینه نشود گروه خونی O خواهد بود. در هر کدام از موارد فوق، آگلوتینه شدن قطره سوم نشان دهنده Rh+ بودن و در غیر این صورت Rh- خواهد بود.

## گزارش کار ۶:

۱- گروه خونی خودتان را یادداشت کنید.

۲- موارد لزوم تعیین گروه خونی را بنویسید.

۳- جداول زیر را که جداول سازگاری پلاسما و گلبول قرمز در انتقال خون نامیده میشوند، کامل کنید.

## الف) جدول سازگاری پلاسما:

گیرنده یا Recipient	دهنده یا Donor			
	O	A	B	AB
O				
A				
B				
AB				

## ب) جدول سازگاری گلبول قرمز خون:

گیرنده یا Recipient	دهنده یا Donor							
	O-	O+	A-	A+	B-	B+	AB-	AB+
O-								
O+								
A-								
A+								
B-								
B+								
AB-								
AB+								



## ۷- عنوان آزمایش : تعیین زمان انعقاد و زمان سیلان خون

### Bleeding Time (BT) و Clotting Time (CT)

هدف: تشخیص اختلالات انعقادی خون

مقدمه:

منظور از انعقاد خون، لخته شدن خون و چسبیدن پلاکت ها به هم و در نتیجه بستن محل خروج خون (خونریزی) است که با اصطلاح هموستاز نیز بیان می شود. پلاکتها اجسام کروی یا بیضوی به قطر ۲ تا ۴ میکرون و فاقد هسته بوده که از قطعه قطعه شدن سلولهای بزرگی در مغز استخوان به نام مگاکاریوسیت بوجود می آیند. در مهره داران پست سلولهایی به نام ترومبوسیت معادل پلاکتها عمل می کنند و گاهی پلاکتها را ترومبوسیت نیز می نامند. عمر آنها ۸ تا ۱۱ روز است. آنتی ژنهای گروههای خونی ABO بر روی غشاء پلاکت ها نیز وجود دارند.

### پلاکت ها حاوی دو نوع گرانول هستند:

۱- گرانولهای آلفا: حاوی فیبرینوژن و پروتئین های دخیل در انعقاد خون و فاکتور رشد مشتق از پلاکت (PDGF)

۲- گرانولهای بتا: حاوی کلسیم و ADP و ATP و سروتونین

عوامل دخیل در انعقاد خون که در خون و بافتها یافت می شوند شامل مواد انعقادی Procoagulant و مواد ضد انعقادی Anticoagulant است که انعقاد خون بستگی به تعادل بین این دو گروه دارد. در حالت عادی مواد ضد انعقادی غالب بوده و خون بطور طبیعی در داخل بدن لخته نمی شود ولی در هنگام پارگی رگ، مواد انعقادی در محل آسیب دیده فعال شده و لخته خون تشکیل می شود.

## مسیرهای انعقاد خون:

۱- مسیر داخلی **Intrinsic pathway**: در داخل رگها یا لوله آزمایش اتفاق می افتد و علت نامگذاری آن این است که تمام عوامل انعقادی در داخل مایع خون وجود دارند.

۲- مسیر خارجی **Extrinsic pathway**: در خارج از رگها (مایع میان بافتی) اتفاق افتاده و بعضی از عوامل انعقادی در خارج از خون قرار دارند.

در هر دو مسیر داخلی و خارجی مکانیسم عمومی انعقاد خون شامل سه مرحله است:

- ۱- فعال شدن یک سری فاکتورهای انعقادی در نهایت منجر به تشکیل ماده فعال کننده پروترومبین می شوند.
- ۲- ماده فعال کننده پروترومبین باعث تبدیل پروترومبین به ترومبین می شود.
- ۳- ترومبین به عنوان یک آنزیم عمل می کند و فیبرینوژن محلول را به رشته های فیبرین نامحلول تبدیل می کند.

## موارد کاربرد آزمایش های انعقادی:

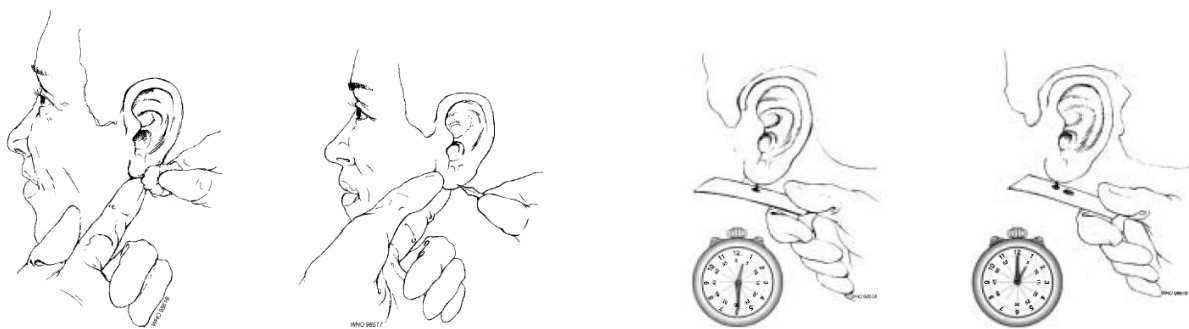
- ۱- قبل از اعمال جراحی
  - ۲- قبل از خونگیری از کبد و طحال
  - ۳- قبل از زایمان و سزارین
- تست های انعقادی شامل آزمایشهای BT، CT، PT و PTT بوده که ما دو آزمایش BT و CT را انجام میدهیم.

## الف) آزمایش زمان سیلان خون (BT)

مواد و وسایل لازم: پنبه، الکل اتانول، لانست استریل، کرومومتر، کاغذ صافی

## روش آزمایش BT:

- ۱- پس از تمیز کردن لاله گوش با لانست ضربه ای به آن وارد کرده و بلافاصله کروномتر را به کار می اندازیم.
- ۲- هر نیم دقیقه یکبار، کاغذ صافی را با محل ضربه تماس مختصری می دهیم. تا زمانی که خون بند نیامده است، بر اثر تماس کاغذ صافی با آن محل، یک لکه قرمز بر روی کاغذ به جا می ماند. هر گاه لکه ای به جا نماند دلیل بر بند آمدن خون است و در آن زمان کروномتر را متوقف می کنیم و زمان را یادداشت می کنیم.
- برای محاسبه زمان سیلان خون یا مستقیماً از روی کروномتر زمان را تعیین می کنیم یا از تقسیم تعداد لکه های خون بر دو ( چون هر دو لکه نمایانگر یک دقیقه است) زمان را بدست می آوریم.
- این روش به روش یا متد Duke معروف است. زمان سیلان برای انگشت ۳-۱ دقیقه و برای لاله گوش ۵-۱ دقیقه است.



شکل ۹: مراحل انجام آزمایش BT در لاله گوش

(ب) آزمایش زمان انعقاد خون (CT)

مواد و وسایل لازم: پنبه، الک، لانست استریل، لام شیشه ای، کروномتر، پتری دیش

## روش آزمایش CT :

- ۱- مقداری پنبه را با آب خیس کرده داخل پتری دیش قرار می دهیم. سپس در ب آنرا می بندیم تا بدین وسیله هوای داخل پتری دیش از بخار آب اشباع شود.
  - ۲- پس از تمیز کردن انگشت با پنبه و الکل، با لانسست ضربه ای می زنیم.
  - ۳- یک قطره خون را روی لام قرار داده، کرونومتر را روشن می کنیم و لام را در پتری دیش قرار می دهیم تا خون خشک نشود.
  - ۴- هر دقیقه یکبار لام را در آورده، در جلوی نور آنرا کج نموده و حرکت قطره خون را بر روی لام مشاهده می کنیم. هر گاه پس از سرازیر کردن لام، قطره خون روی لام ثابت بماند، انعقاد حاصل شده است و زمان را از روی کرونومتر ثبت می کنیم.
- نتیجه طبیعی: در این روش زمان انعقاد با درجه حرارت و میزان رطوبت تغییر می کند و برای خون مویرگی این زمان بین ۴ تا ۹ دقیقه است.

## گزارش کار ۷ :

- ۱- زمان BT و CT بدست آمده در این آزمایش را یادداشت کنید.
- ۲- چند مورد از آزمایش‌های دیگری که برای تعیین انعقاد خون وجود دارند، نام ببرید و مختصراً توضیح دهید.

۳- اگر زمان BT بیش از محدوده طبیعی باشد نشانه چه اختلالی در بدن است؟

۴- اگر زمان CT بیش از محدوده طبیعی باشد چه مشکلی در بدن وجود دارد؟

۵- کدامیک از آزمایشهای BT و CT بهتر می تواند فرد دارای بیماری هموفیلی را مشخص کند؟ چرا؟

## ۸- عنوان آزمایش: تهیه گسترش خون انسان Blood Film

هدف: مطالعه مورفولوژی (شکل ظاهری) گلبولهای خون

مقدمه:

خون بافت همبند تخصص یافته ای است که حدود ۷ تا ۸ درصد وزن بدن انسان را تشکیل می دهد و مقدار آن در یک فرد بالغ ۷۰ کیلویی، پنج لیتر است. ۵۵٪ خون را مایع پلاسما و ۴۵٪ آن را سلولهای خونی تشکیل می دهند.

سلول های خونی شامل:

۱- اریتروسیت ها Erythrocyte یا گلبولهای قرمز (RBC) Red Blood Cell

۲- لوکوسیت ها Leukocyte یا گلبولهای سفید (WBC) White Blood Cell

۳- پلاکت ها Platelet

**اریتروسیت ها:** سلولهایی بدون هسته، مقعر الطرفین، با قطر متوسط حدود ۷ میکرون می باشند. اگر اندازه آنها از ۶ میکرون کمتر باشد میکروسیت خوانده می شوند و اگر بیشتر از ۹ میکرون باشند ماکروسیت گفته می شود. تعداد RBC در زنان از ۳/۶ تا ۵/۵ میلیون در هر میکرولیتر خون و در مردان از ۴/۱ تا ۶ میلیون در هر میکرولیتر خون، بسته به سن، وضعیت سلامت شخص و محیط زندگی متغیر است.

**گلبولهای سفید:** سلولهایی هسته دار و متحرک می باشند و تعداد آنها ۶ تا ۱۰ هزار در هر میکرولیتر خون است. گلبولهای سفید به دو دسته گرانولوسیت ها و آگرانولوسیت ها تقسیم می شوند. گرانولوسیت ها را پلی مورفونوکلئار و آگرانولوسیت ها را مونونوکلئار نیز می گویند.

**گرانولوسیت ها** شامل نوتروفیل، بازوفیل و ائوزینوفیل می باشد. هسته نوتروفیل بصورت ۲ تا ۵ لوبه دیده می شود و ۶۰ تا ۷۰ درصد گلبولهای سفید را نوتروفیلها تشکیل می دهند. هسته در بازوفیل ها بصورت U شکل و یا ۲ لوبه بوده و سیتوپلاسم آنها گرانول های درشت دارند. ۴ تا ۵ درصد گلبولهای سفید از این نوع هستند.

هسته ائوزینوفیل نیز بصورت دو لوبه بوده اما در سیتوپلاسم آن گرانول های ریز وجود دارد و ۲ تا ۴ درصد گلبولهای سفید را تشکیل می دهند.

**آگرانولوسیت ها** نیز شامل لنفوسیت ها و مونوسیت ها می باشند. لنفوسیت ها هسته ای متراکم و مدور دارند که قسمت اعظم سیتوپلاسم را اشغال می کند. لنفوسیت ها ۲۰٪ گلبولهای سفید را تشکیل می دهند. مونوسیت ها هسته ای بیضی، لوبیایی و یا نعل اسبی شکل دارند که ۵ تا ۷ درصد گلبولهای سفید را تشکیل می دهند. پلاکت ها نیز اجسام کروی یا بیضی شکل و فاقد هسته می باشند و تعداد آنها ۲۰۰ تا ۴۰۰ هزار در هر میکرولیتر خون می باشد.

#### موارد کاربرد تهیه گسترش خونی :

- ۱- برای تعیین تعداد لوکوسیت ها
- ۲- مشخص کردن اریتروسیت های غیرطبیعی
- ۳- مشخص کردن انگلهای ویژه در خون
- ۴- تخمین تعداد پلاکت ها

#### مواد و وسایل مورد نیاز:

لام ساده، لانست، پنبه، الکل، رنگ گیمسا ۱۰٪، تشتک رنگ آمیزی، الکل متانول یا اتانول، آب مقطر و چراغ

الکلی

#### روش کار:

- ۱- بر چسپ زدن به لام
- ۲- ضد عفونی کردن نوک انگشت و زدن لانست به آن و انتقال خون بر روی یک گوشه لام
- ۳- تهیه گسترش خون با استفاده از لام گسترش دهنده
- ۴- خشک کردن ( بهتر است سریع انجام گیرد مثلا با پنکه کوچک یا حرارت ملایم چراغ الکلی)

۵- تثبیت با متانول یا اتانول به مدت ۱۰ تا ۲۰ دقیقه و سپس دور ریختن الکل اضافی

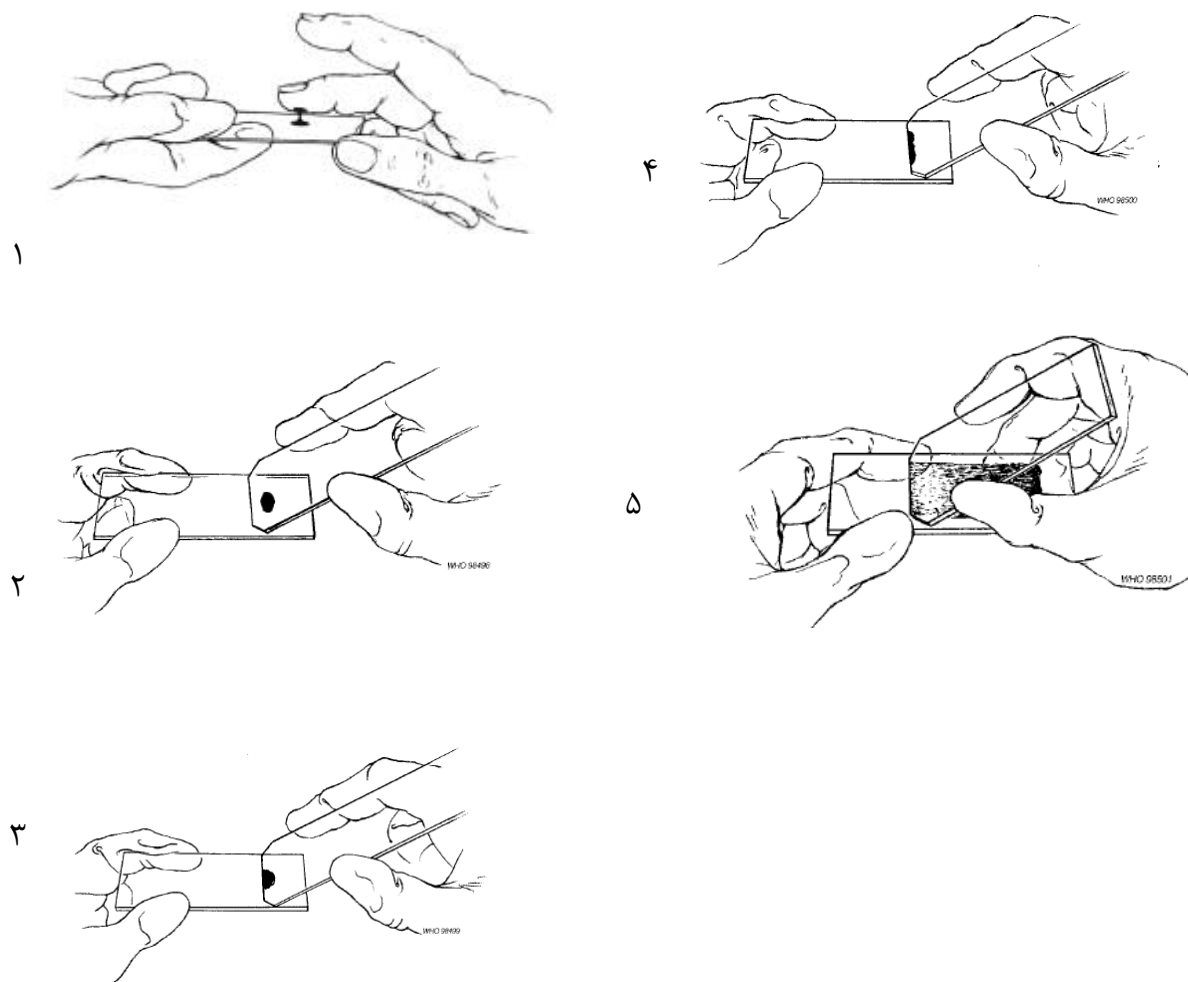
۶- خشک کردن الکل اضافی

۷- رنگ آمیزی با رنگ گیمسا Giemsa ( متیل آزور + ائوزین ) به مدت ۲۰ تا ۳۰ دقیقه

۸- ریختن رنگ اضافی

۹- شستشو با آب مقطر، خشک کردن و مشاهده لام آماده شده در زیر میکروسکوپ

برای تهیه گسترش خونی، با دست چپ لام اصلی را نگه داشته و با دست راست لام گسترش دهنده را با زاویه حدود ۳۰ درجه از لبه دیگر لام به طرف قطره خون کشیده و به محض برخورد آن با قطره خون آن را در جهت دور شدن از قطره خون بر روی لام می کشیم بطوریکه گسترش صحیح بصورت شعله شمعی در می آید.



شکل ۱۱: مراحل تهیه گسترش خون



برای رنگ آمیزی سلولهای خونی از رنگهای رومانوفسکی استفاده می شود که مخلوطی از رنگهای متیل بلوی بازی+ ائوزین اسیدی است. این رنگها دارای یک بخش بازی یا کاتیونی است که به بخش فسفات DNA و RNA هسته متصل می شود و رنگ آبی تا بنفش دارد، گرانولهای بازوفیل و نوتروفیل را نیز رنگ می کند. همچنین یک بخش اسیدی یا آنیونی رنگ، هموگلوبین و گرانولهای ائوزینوفیل را به رنگ قرمز تا نارنجی در می آورد.

### گزارش کار ۸ :

از گسترش خونی تهیه شده شکلی رسم کنید و هریک از سلول های خونی را به تفکیک و در اندازه بزرگتر کشیده و نامگذاری کنید.

**۹- عنوان آزمایش: تعیین هماتوکریت****هدف:** تشخیص میزان گلبول های قرمز خون**مقدمه:**

تعریف هماتوکریت عبارت است از حجم گلبولهای قرمز به حجم کل خون بر حسب درصد. مقادیر کم هماتوکریت در بیمارانی که از آنمی رنج می برند دیده می شود. و مقادیر بالا در موارد از دست دادن پلاسما، سوختگی ( از دست دادن آب بدن در بیماریها مانند اسهال و استفراغ) و لوسمی های خونی و ندرتا در پلی سیتی دیده می شود دیده می شود. لذا با توجه به سن و جنس و موقعیت جغرافیایی شخص و انواع بیماریها میزان هماتوکریت تغییر می کند.

**مواد و وسایل مورد نیاز:**

لانست، پنبه و الک، لوله موئینه (هپارینه یا غیر هپارینه)، خمیر هماتوکریت، دستگاه سانتریفوژ میکروهماتوکریت

اگر از خون وریدی استفاده شود باید در شیشه های محتوی خون، ماده ضد انعقاد EDTA ۱۰٪ وجود داشته باشد تا از لخته شدن خون جلوگیری شود. در این صورت می توان از لوله های موئینه ساده استفاده کرد. ولی اگر با استفاده از لانست نمونه خون مویرگی ( انگشت، لوب گوش، پاشنه پا در نوزادان) گرفته شود حتما باید از لوله های موئینه هپارینه استفاده کرد که دارای یک حلقه قرمز رنگ در یک انتهای آن می باشد.

**روش کار:**

۱-نوک یک انگشت دست را با پنبه و الک تمیز کرده و با لانست بطور عمودی ضربه ای به آن وارد می کنیم. خون باید به راحتی یا با کمی فشار به انگشت جریان پیدا کند. قطره اول را با کاغذ جاذب (کاغذ واتمن) برمی داریم.

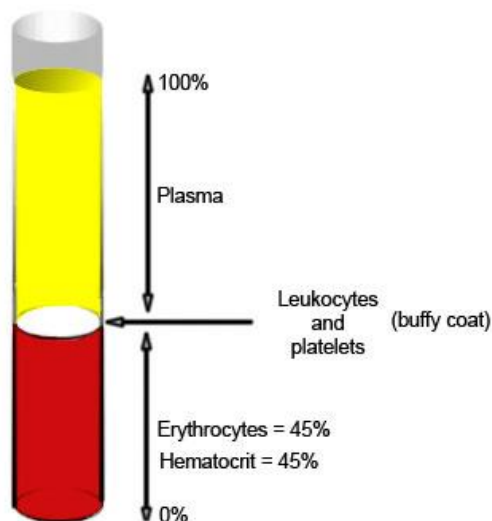
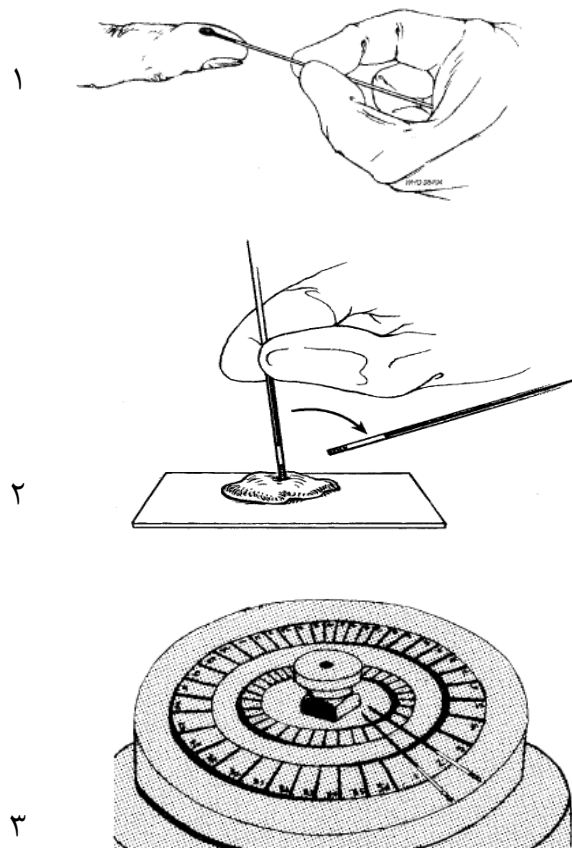
۲- انتهای لوله موئینه را که دارای حلقه قرمز است به صورت افقی با قطره خون تماس داده تا خون بوسیله خاصیت موئینگی وارد لوله شود. در حدود سه چهارم لوله موئینه باید پر از خون شود.

۳- انتهای دیگر لوله را در خمیر هماتوکریت زده و آن را می بندیم. عمق خمیر نفوذ کرده به داخل لوله موئینه باید در حدود چند میلی متر باشد.

۴- چند دقیقه اجازه می دهیم تا خمیر خشک شود.

۵- نمونه ها را در داخل شیارهای دستگاه (با ثبت شماره شیار برای هر نفر) گذاشته و دستگاه را روی دور ۷۰۰۰ و زمان ۱۰ دقیقه تنظیم میکنیم و دکمه Start را می زنیم.

بعد از سانتریفوژ شدن، لوله ها را از دستگاه بیرون آورده مشاهده می شود که گلبول های خون از پلاسما جدا شده اند: در قسمت بالای لوله موئینه ستون پلاسما بصورت شفاف و در وسط یک لایه نازک شامل لوکوسیت ها که به آن **Buffy coat** یا پوشش سفت گفته می شود، وجود دارد و در پایین ستون اریتروسیت ها یا گلبول های قرمز خون رسوب می کنند.



شکل ۲: مراحل پر کردن لوله موئینه و نتیجه آن پس از سانتریفوژ و جدا شدن بخشهای مختلف خون سپس با استفاده از خط کش مخصوص دستگاه، ابتدا و انتهای کل ستون خون داخل لوله موئینه را به ترتیب روی صفر و صد یکی از خطوط صفحه مدرج تنظیم می کنیم و پس از آن طول رسوب گلبول های قرمز را از روی عدد مقابل آن بدست می آوریم. این عدد نسبت گلبول های قرمز خون یا هماتوکریت را برحسب درصد نشان می دهد.

محدوده طبیعی هماتوکریت بر اساس گروههای سنی مختلف در جدول زیر آمده است:

محدوده هماتوکریت %	سن	ردیف
50- 58	نوزادان تازه متولد شده	۱
35-40	بچه های تا سه ماهه	۲
38-44	بچه های تا پنج ساله	۳
36-46	زنان	۴
42-52	مردان	۵

### گزارش کار ۹:

۱- میزان هماتوکریت بدست آمده برای خودتان را نوشته و طبیعی بودن و غیر طبیعی بودن آن را بررسی کنید.

۲- زیاد بودن میزان هماتوکریت در اثر زندگی در ارتفاعات و در اثر سوختگی را بطور جداگانه تفسیر کنید.

۳- برای تفاوت میزان هماتوکریت در زنان و مردان چند دلیل بیاورید.

۴- اگر مغز استخوان تعداد بالایی سلول قرمز خونی ایجاد کند، چه اتفاقی در میزان هماتوکریت می افتد

جلسه:

تاریخ: