الجلسة العملية رقم (4)

العد التمييزي للكريات الدموية البيض (الصيغة الكريوية)

Distinguished counting of white blood cells

العد التمييزي : هو النسبة المئوية ، لكل نوع من أنواع الكريات البيض، نسبةً إلى مجموع العدد الإجمالي لهذه الكريات . ويتم إجراء العد التفريقي بعد 100 كرية بيضاء ، على شريحة دموية مصبوغة ، وتصنف هذه الكريات في جدول ثم يتم حساب نسبة عدد كل منها ، إلى المجموع العام للرقم المعدود .

ارتفاع المجموع للكريات البيض في الدم يعطينا فكرة بأن إصابة أو التهاباً، يتطور سريعاً ، في مكان ما من الجسم . أما قلة الكريات البيض في الدم ، فتدل على وجود نزيف في القوى الدفاعية للجسم ، قد يكون على شيء من الخطورة .أما زيادة أحد أنواع الكريات البيض،على حساب نوع آخر فلها دلالات تشخيصية محددة فمثلا :

زيادة نسبة الكريات العدلة ، في حالة الالتهابات الحادة ، وفي حالة الإجهاد وبعد المجهود البدني .

زيادة نسبة الحمضة ، في حالات الحساسية ، مثل الأكزيما والربو وفي حالة الإصابة بالطفيليات .

زيادة نسبة القعدة ، في حالات الجدري ، وتليف الكبد وغيرها زيادة نسبة الوحيدات ، في حالات الالتهابات المزمنة ، مثل السل والملاريا .

زيادة نسبة اللمفاويات في حالات الأورام والسرطانات .

الهدف من التجربة : تعلم الطالب ، كيفية تحضير مسحة دموية ، وكيفية صبغها ، وكذلك كيفية تمييز كل نوع من أنواع الكريات البيض ، وبالتالي العد وتحديد الصيغة الكريوية .

ـ المطلوب لتحضير مسحة دموية ، وصبغها ، وتحديد الصيغة الكريوية :

1 ـ المجهر

2 ـ شرائح زجاجية نظيفة .

3 ــ كحول ــ قطن ــ شاش ــ واخزة معقمة .

4 ــ صبغة من أجل صبغ الشرائح الدموية المحضرة :

(صبغة رايت ــ جيمسا ، ملون الصيغة الدموية السريع)

5 ــ ماء مقطر

6 ــ زيت الأرز .

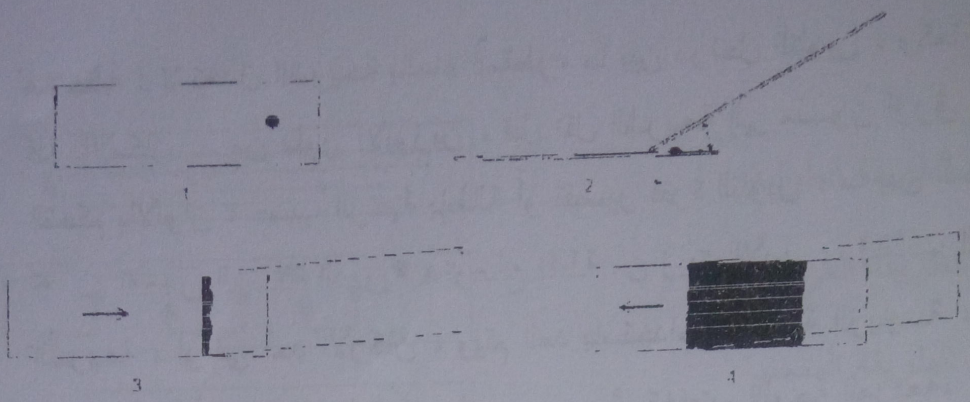
7ــ عينة دم.

ــ طريقة تحضير المسحة الدموية :

1 ــ نأخذ عينة الدم ، بإحدى الطرق المذكورة ، في جلسة أخذ عينات الدم . وتستخدم عينة الدم ، بعد السحب مباشرة ، أما في حال عدم القدرة على الاستخدام المباشر ، فيتم إضافة مادة مانعة للتخثر(E DTA) ، تمزج مع الدم بشكل جيد لمدة لا تقل عن 3 دقائق ، قبل التحضير ، وقبل مد المسحة الدموية

2 ــ نأخذ شريحتين زجاجتين نظيفتين ، ثم نضع نقطة دم ، على أحد أطراف إحدى الشريحتين ، ثم نضع حافة الشريحة الأخرى ، والتي تسمى بالشريحة الفاردة، أمام نقطة الدم بزاوية 45 درجة ، ثم تسحب إلى الخلف ، حتى تلامس نقطة الدم ، حيث نلاحظ فرد نقطة الدم ، على حافة الشريحة الفاردة الملامسة لها ، ثم تدفع الشريحة الفاردة إلى الأمام بسرعة مناسبة ومنتظمة بهدف الحصول على مسحة دموية رقيقة ، الدم موزع عليها توزيعاً متجانساً ، تتراوح سماكته من 7 ــ 8 ميكرون ، والمسحة الجيدة يجب أن تكون بسمك كرية واحد ، من بداية المسحة إلى نهايتها .(الشكل 38)

3 ــ تجفف المسحة الدموية ، بتحريكها في الهواء بسرعة ، لتجنب تركيز الأملاح الموجودة بالدم ، حول الكريات الحمر ، وبالتالي تغير من شكلها وحجمها، نتيجة خروج الماء منها .



الشكل (38)

مراحل تحضير شريحة دموية

1 ــ وضع قطرة الدم على طرف الشريحة . 2 ــ وضع الشريحة الفاردة بزاوية 45 ^{0} درجة مئوية ثم سحبها إلى الخلف حتى تلامس نقطة الدم . 3 ــ انتشار نقطة الدم أمام الفاردة .4 ــ دفع الشريحة الفاردة إلى جهة اليسار باتجاه السهم لتشكيل فلم من الدم سماكته تعادل 7 ــ 8 ميكرون .

4 ــ إذا لم تصبغ المسحة في حينها : نضع 3 نقاط من الكحول الإيثيلي المطلق، ثم تترك لتجف ، ويكتب على طرف الشريحة البيانات الخاصة بها ، ثم تحفظ في صندوق الشرائح .

5 ــ تصبغ الشريحة :

هناك العديد من الصبغات منها:

آ ــ صبغة رايت ــ جيمسا :

تغطى المسحة الدموية بالصبغة (عدد محدد من القطرات) ، لمدة 2 ــ 3 دقائق ، ثم نضع عدداً محدداً من قطرات الماء المتعادل ، مساوياً لعدد قطرات الصبغة، وتترك لمدة 10 ــ 15 دقيقة ، ثم تغسل الشريحة تحت تيار خفيف من ماء الصنبور، وتجفف بورق الترشيح .

ب ــ ملون الصيغة الدموية السريع يتألف من ثلاث عبوات :

ــ العبوة الأولى مثبت (R1) كحول : تغطس به الشريحة الدموية لمدة 5 ثا .

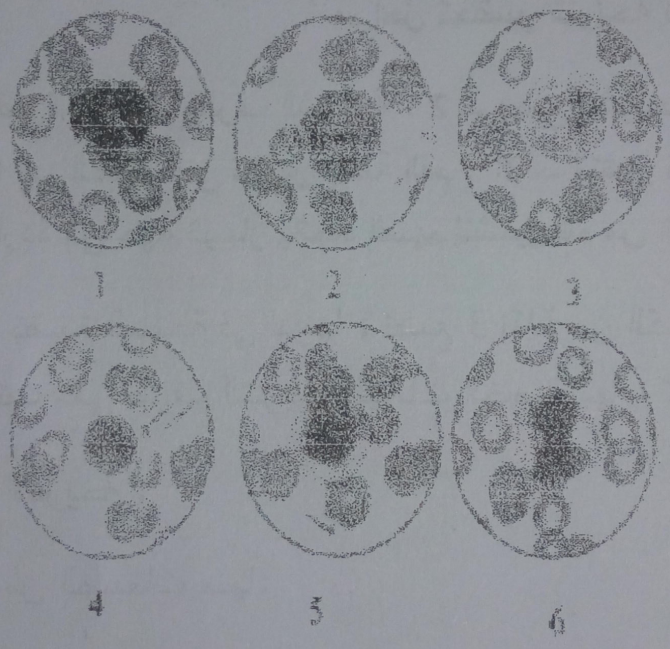
ــ العبوة الثانية أيوزين (R2) : تغطس به الشريحة الدموية لمدة 10 ثا .

ــ العبوة الثالثة أزرق المثيلين (R3) : تغطس به الشريحة الدموية لمدة 20 ثا .

ــ تغسل الشريحة بالماء الجاري غير الغزير وتترك لتجف بالهواء .

ملاحظة : لا تغسل الشريحة بالماء المقطر، ما بين مراحل التلوين ، وكما يجب التخلص ـ قدر الإمكان ـ من ملون الأيوزين ، قبل نقل الشريحة إلى ملون أزرق المثيلين ، ويمكن التحكم بالألوان ، حسب الرغبة بإطالة أو تقصير فترة التلوين ، ما بين الملونين .

6 ـ افحص المسحة الدموية ، ترضع نقطة من زيت الأرز ، (خشب السيدر) على حافة الشريحة ، أو في أحد الأركان ، ويتم العد باستخدام العدسة الزيتية ، (× 100) بحيث تغطس العدسة في نقطة الزيت ببطء وحذر ، ثم تخفض اللوحة المربعة، بحيث ترفع العدسة الزيتية لمسافة 1 مم تقريبا ، مما يبقيها ملامسة للزيت ، بسبب قوة التوتر السطحي . (الشكل 39) .

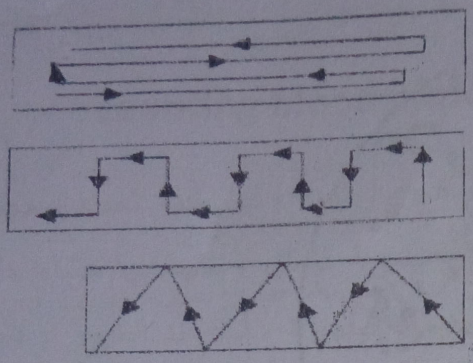


1- BASOPHIL **2- EOSINOPH L**

3 - NEUTROPHIL **4 – SMALL LYMPHOCYTE**

5- LARGE LYMPHOCYTE **6 – MONOCYTE**

7 ـ نعد 100 كرية بيضاء ، نراها تحت المجهر ، وتقسم حسب نوعها في جدول . كما في الشكل 41 . مع مراعاة تحريك الشريحة ، بإحدى الطرق التالية : وذلك لتفادي عد الكرية أكثر من مرة ، كما في(الشكل 40) .



1 ــ الطريقة الطولية

2ــ الطريقة العرضية

3 ــ الطريقة المنحنية

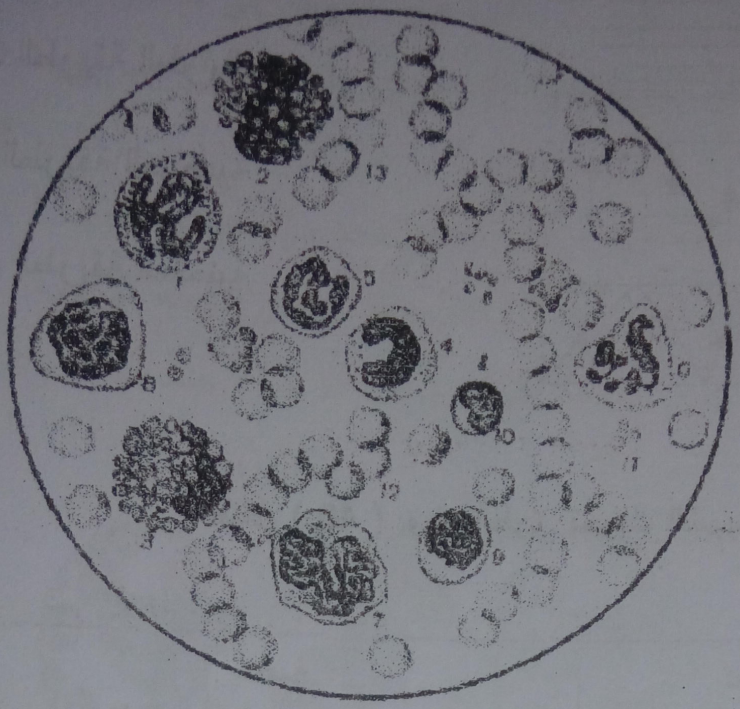
الشكل (40) يوضح طرق تحريك الشريحة

محببة			غير محببة	
عدلة	حمضية	قعدة	وحيدة	لمفاوية

الشكل (41)

الشكل 40 جدول يوضح الكريات البيض المعدودة

الشرائح الدموية الجيدة ، التي يراد الاحتفاظ بها ، تغطى بسواتر زجاجية شفافة، ويتم ذلك بوضع نقطة من زيت بلسم كندا ، على المسحة الدموية المراد الاحتفاظ بها ، ثم تسقط الساترة عليها ، ويُضغط على الساترة وتترك ، لتثبت فوق المحضَّر ، الذي يمكن استعماله بشكل متكرر ، لسنوات عديدة . كما في الشكل (42).



الشكل 42

عناصر الدم الخلوية عند الحصان : 1 ــ كريات بيضاء قعدة . 2 ، 3 ــ كريات بيضاء حمضة . 4 ــ كريات بيضاء عدلة ناشئة .5 ــ كريات بيضاء عدلة عصبية النواة . 6 ــ كريات بيضاء عدلة مفصصة النواة . 7ــ كريات بيضاء وحيدة . 8 ــ كريات بيضاء لمفاوية كبيرة .9 ــ كريات بيضاء لمفاوية متوسطة . 10 ــ كريات بيضاء لمفاوية صغيرة . 11 ــ صفيحات دموية . 12 ، 13 ــ كريات حمراء .

ارسم الجدول الذي يبين الكريات البيض المعدودة بأنواعها المختلفة