# Stanovení počtu erytrocytů

##  Klíčová slova

Erytrocyty, leukocyty, trombocyty, diferenciální počet, retikulocyty, anémie, erytrocytopenie, polyglobulie, hematokrit, icterus neonatorum.

## Pracovní část

### Potřeby

Bürkerova komůrka, krycí sklíčko, mikroskop, banička se zátkou, dávkovací mikropipety, kapátko s jemným hrotem, Hayemův roztok, emitní miska.

### Postup práce

Striktní zásada práce s krví:

Pracujte pouze na vybraných místech. Pracujte pouze v gumových rukavicích a plášti**.**

**Pracujte pouze v gumových rukavicích a plášti!**

1. Nasaďte si rukavice a odměřte mikropipetou 4950 µl Hayemova roztoku. Roztok aplikujte do připravené baňky. Použitou špičku z mikropipety odstraňte do emitní misky. Uzavřete Hayemův roztok a odložte.
2. Krouživými pohyby opatrně promíchejte nádobu s krví tak, aby se erytrocyty v kapalině rovnoměrně rozložili. Pomocí druhé mikropipety přeneste 25 µl krve do baňky s Hayemovým roztokem. Použitou špičku z mikropipety odstraňte do emitní misky, uzavřete nádobu s krví a odložte.
3. Baňku s Hayemovým roztokem a krví uzavřete a krouživými pohyby promíchejte její obsah (důvodem je snaha předejít vzniku bublin). Dbejte na to, aby se roztok nedostal do kontaktu se zátkou baňky.
4. Nachystejte si Bürkerovu komůrku. Ta obsahuje pohyblivá ramena a aretační šroubky, pomocí kterých upevníte krycí sklíčko na střed komůrky. Pohledem proti světlu se ujistěte, že komůrka a sklíčko jsou čisté. V případě potřeby je přetřete buničitou vatou.
5. Kapátko s jemným hrotem umístěte ke hraně krycího sklíčka. Malý tlakem na mikropipetu aplikujte krev mezi dno Bürkerovy komůrky a sklíčko. Vizuálně ověřte, že kapalina vyplnila celou část mezi sklíčkem a komůrkou (Obrázek 1‑1).

Obrázek 1‑1 Názorná ukázka aplikace vzorku krve na Bürkerovu komůrku.

1. Komůrku se vzorkem umístěte na vyhrazené místo na mikroskopu, nastavte okulár na maximální zvětšení (100x) a začněte ostřit. Dávejte si pozor, abyste sklíčko nepromáčkli. Na obrazovce počítače by se měly objevit erytrocyty a hrany vyrytých čtverců počítací mřížky (Obrázek 1‑2).

1/400 mm2

Obrázek 1‑2 Ukázka mřížky Bürkerovy komůrky s udanou plochou malého čtverce.

1. Erytrocyty počítejte na 80 malých čtverečcích. Výsledek z každého čtverce zaneste do tabulky ve výsledcích.
2. Počítání provádějte podle pravidla horní/pravý nebo dolní/levý – tj. budete počítat ty erytrocyty, které se nachází uvnitř čtverce a dotýkají se zvenku horní a pravé hrany čtverce nebo ty, které se zvenku dotýkají dolní a levé hrany čtverce.
3. Stanovte průměrný počet erytrocytů v jednom čtverečku a přepočítejte ho na objem 1 litr.

##  Hodnocení a výsledky

|  |
| --- |
| 1.Výpočet počtu erytrocytů přímou metodou |
| Zaznamenávejte napočítané erytrocyty z každého čtverečku z Bürkerovy komůrky.  |
|  | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| 1 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 2 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 3 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 4 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 5 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 6 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 7 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 8 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 1.a Údaje potřebné pro výpočet |  |
| Celkový počet napočítaných erytrocytů: | **…….....................** |
| Průměrný počet erytrocytů v jednom čtverečku: | **………………………..** |
| Obsah čtverce: | 1/400 mm2 |
| Hloubka komůrky (prostor mezi komůrkou a sklíčkem): | 0,1 mm |
| Koeficient zředění: | 1:200 |
| Udávaná chyba metody: | +/- 200 000 erytrocytů v 1 mm3 |
| 1.b Výpočet |
| $$Počet erytrocytů na l=\frac{\frac{Celkový počet erytrocytů}{Počet čtverečků}}{Obsah čtverečku ∙ Hloubka mezi sklíčkem a komůrkou\*koeficient zředění}∙přepočet na 1 lit$$$$Počet erytrocytů na l=\frac{\frac{………………}{80 }}{0,04∙0,1∙0,005}∙10^{6}$$ |
| Místo pro výpočet: |
| Výsledný počet erytrocytů: | ……………………………………ery/l |

###

### Impedanční metoda

Srovnejte vaši vypočtenou hodnotu s hodnotou z impedančního měření.

|  |
| --- |
| Výpočet počtu erytrocytů impedanční metodou |
| Zaneste výsledky získané z automatického analyzátoru a porovnejte je s vašimi naměřenými výsledky. |
| Impedanční měření [ery/l] | **Přímá metoda počítání [ery/l]** |
| ……………………………………………..[ery/l] | ……………………………………………..[ery/l] |
| Jaké mohou být důvody rozdílu mezi vašimi výsledky a naměřenými výsledky z automatu? |

## Závěr

Shrňte všechny naměřené výsledky a stručně popište fyziologické jevy, které se s nimi pojí. Pokud jste naměřili jiné než fyziologické hodnoty, zamyslete se nad možnými příčinami. Jaká je příčina rozdílu počtu erytrocytů u žen a mužů?