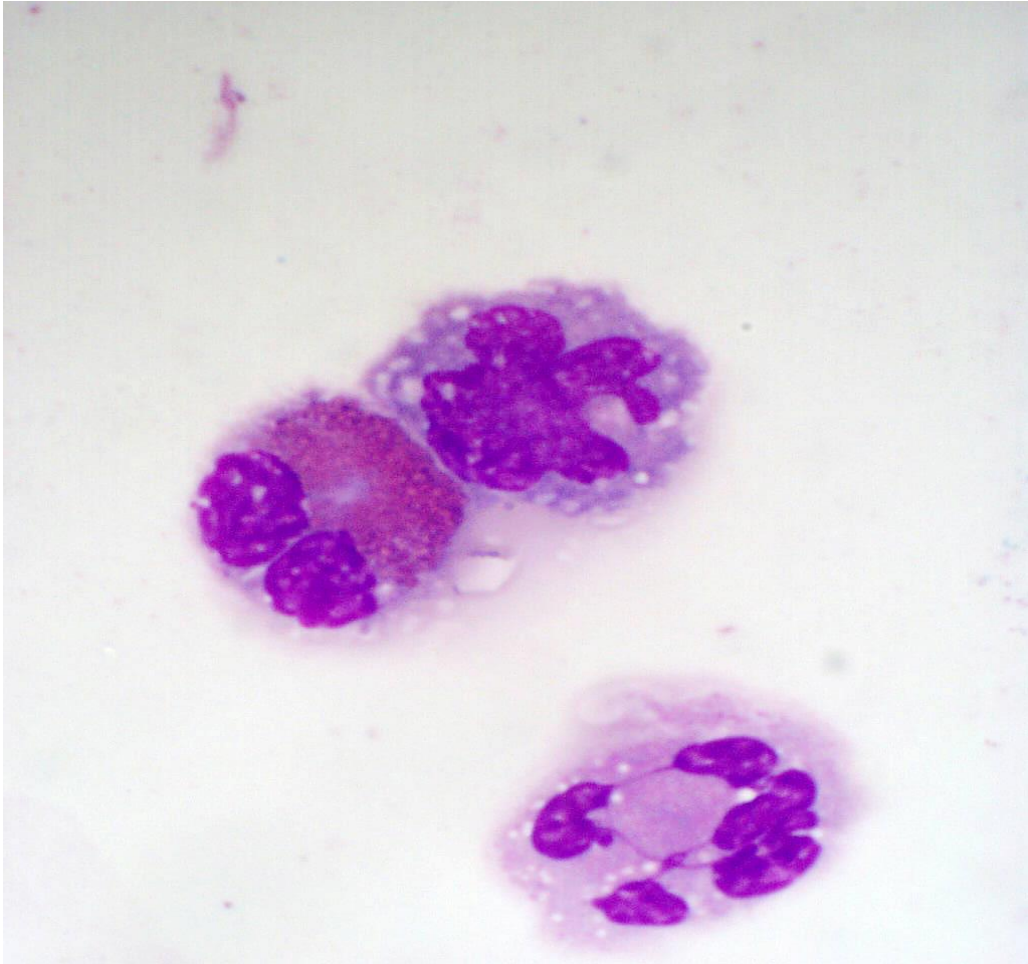


การนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือด



Blood cell count

รองศาสตราจารย์ ดร.นันทรัตน์ ไชยมานะสิน
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ผลลัพธ์การเรียนรู้: เพื่อให้นักศึกษาสามารถ

- ❖ บอกความสำคัญทางคลินิกของการนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาว และเกล็ดเลือดได้
- ❖ อธิบายหลักการ วิธีการ การรายงานผล และการแปลผลการนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาว ฮีโมโกลินและเกล็ดเลือดได้
- ❖ ระบุลักษณะของเซลล์เม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาว ฮีโมโกลิน และเกล็ดเลือดที่พบจากการเจือจางเพื่อนับจำนวนจากกล้องจุลทรรศน์ได้
- ❖ นับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวและเกล็ดเลือดด้วยวิธี manual ได้
- ❖ คำนวณจำนวนต่อหน่วยปริมาตรของเม็ดเลือดแต่ละชนิดที่นับได้
- ❖ ระบุข้อควรระวังและการควบคุมคุณภาพการนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวและเกล็ดเลือดด้วยวิธี manual ได้

ความสำคัญทางคลินิกของ การนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือด



https://thaihcv.blogspot.com/2019/02/blog-post_15.html

การนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดในกระแสเลือด จะช่วย ยืนยัน
หรือ สนับสนุน การวินิจฉัยโรค รวมทั้งการพยากรณ์โรค
และติดตามผลการรักษาโรคได้

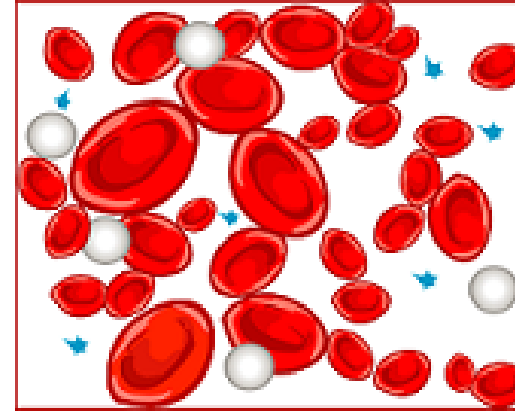
ความสำคัญทางคลินิก

- ❖ การนับจำนวนเม็ดเลือดแดง (RBC count)
- ❖ การนับจำนวนเม็ดเลือดขาว (WBC count)
- ❖ การนับจำนวนอีโอซิโนฟิล (eosinophil count)
- ❖ การนับจำนวนเกล็ดเลือด (platelet count)

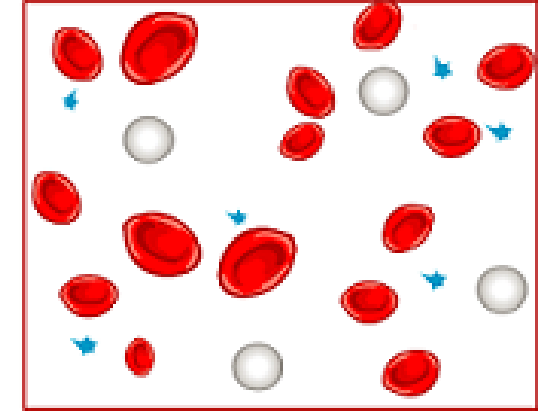
การนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดแดง

<https://www.niddk.nih.gov/health-information/blood-diseases/anemia-inflammation-chronic-disease>

❖ ภาวะเลือดจาง (anaemia)

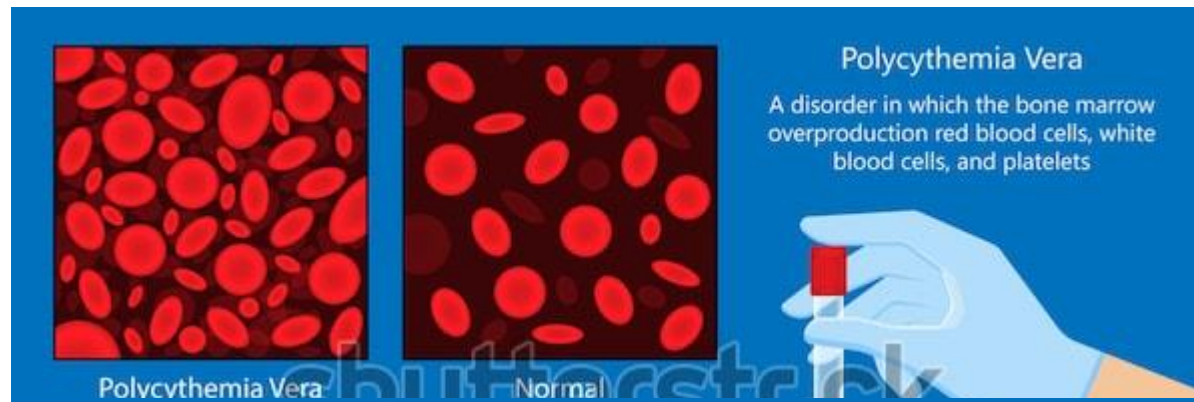


Normal blood



Anemia

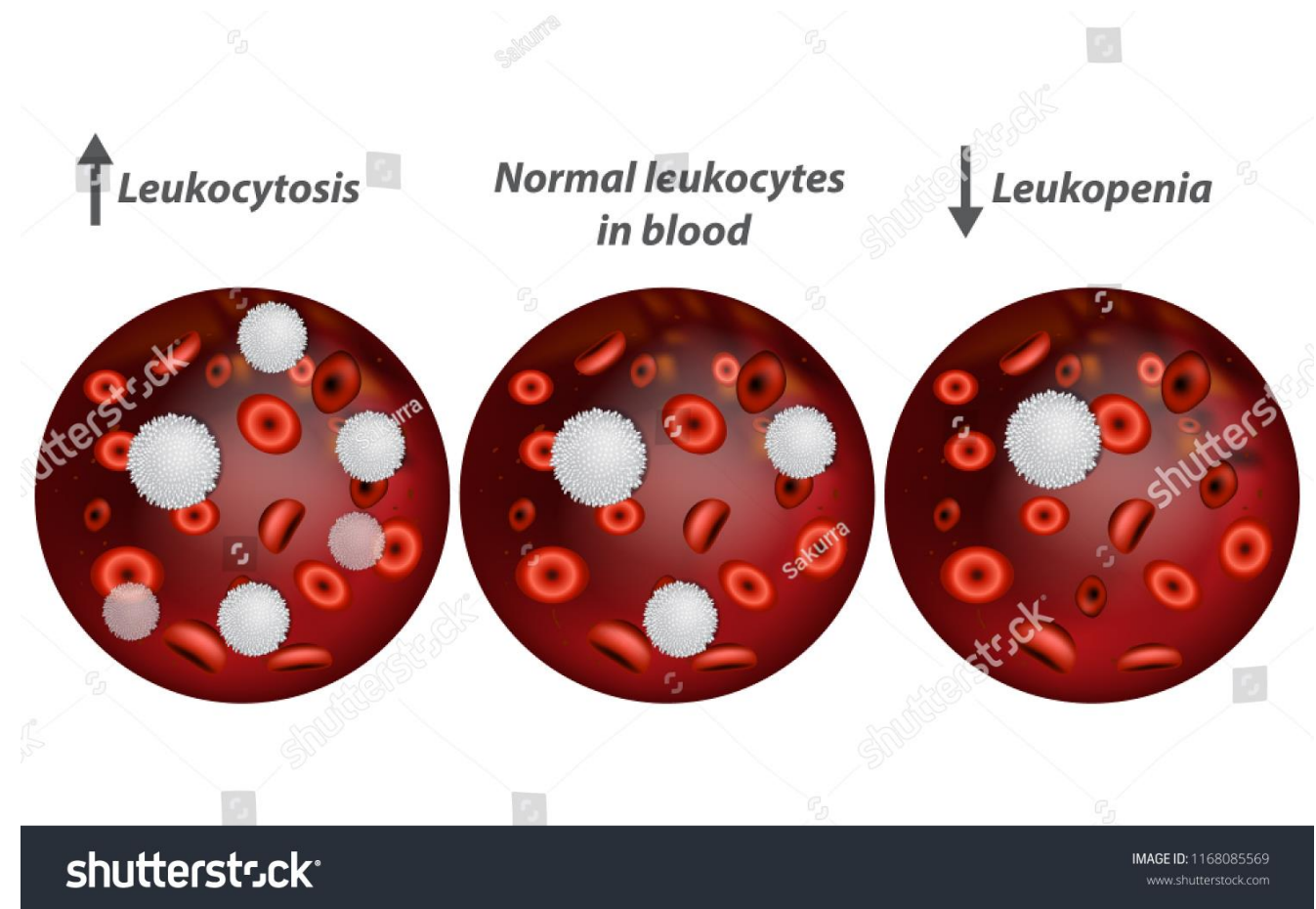
❖ ภาวะเลือดข้น (polycythemia)



www.shutterstock.com · 1390054739

การนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาว

- ❖ ภาวะเม็ดเลือดขาวมากผิดปกติ (leukocytosis)
- ❖ ภาวะเม็ดเลือดขาวต่ำกว่าปกติ (leukocytopenia)

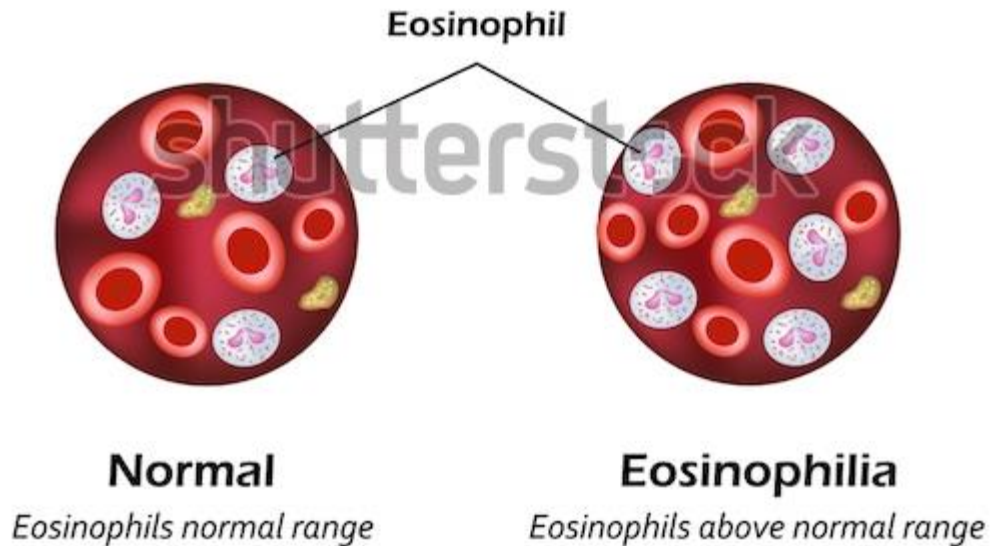


<https://www.shutterstock.com/th/image-vector/leukocytosis-leukopenia-white-blood-cell-count-1168085569>

การนับจำนวนอีโอซิโนฟิล

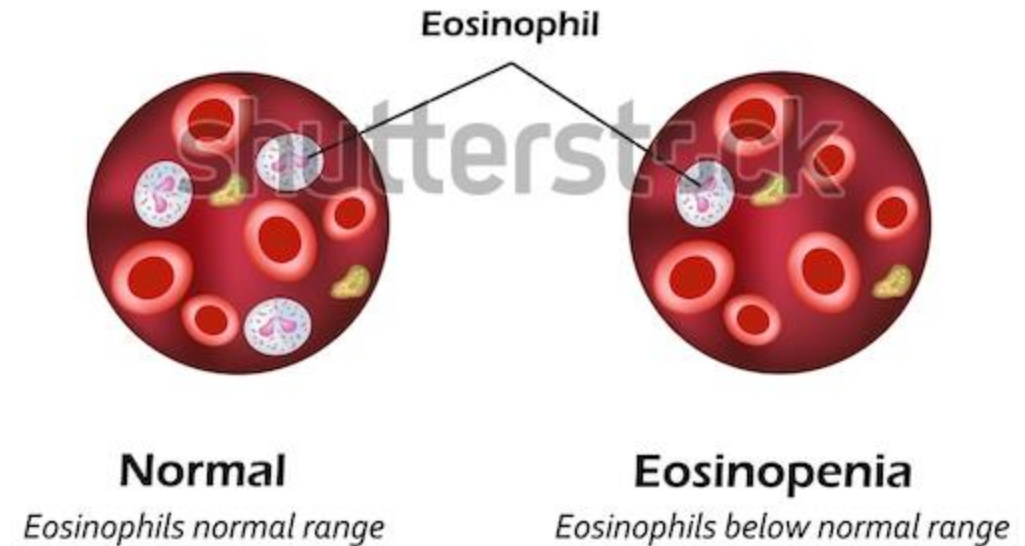
Eosinophilia

(eosinophils above normal range in blood)



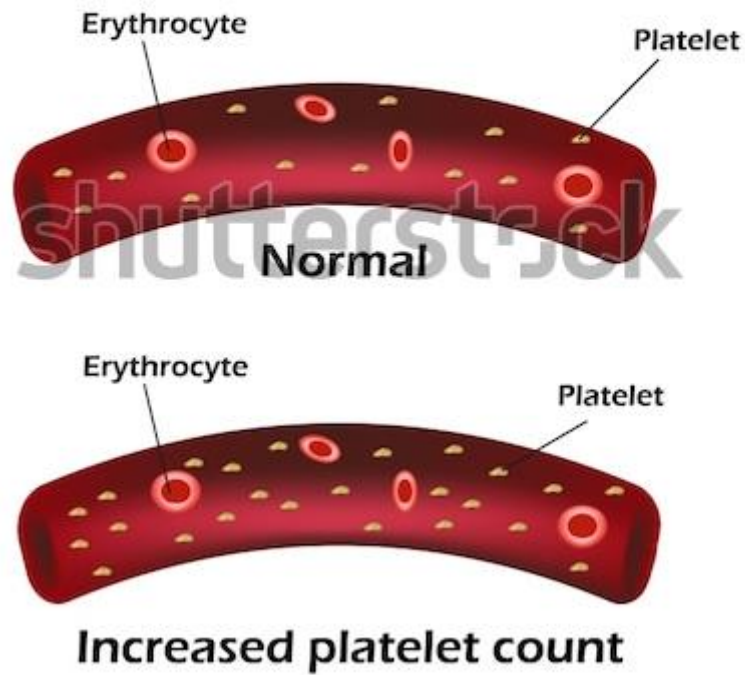
Eosinopenia

(eosinophils below normal range in blood)



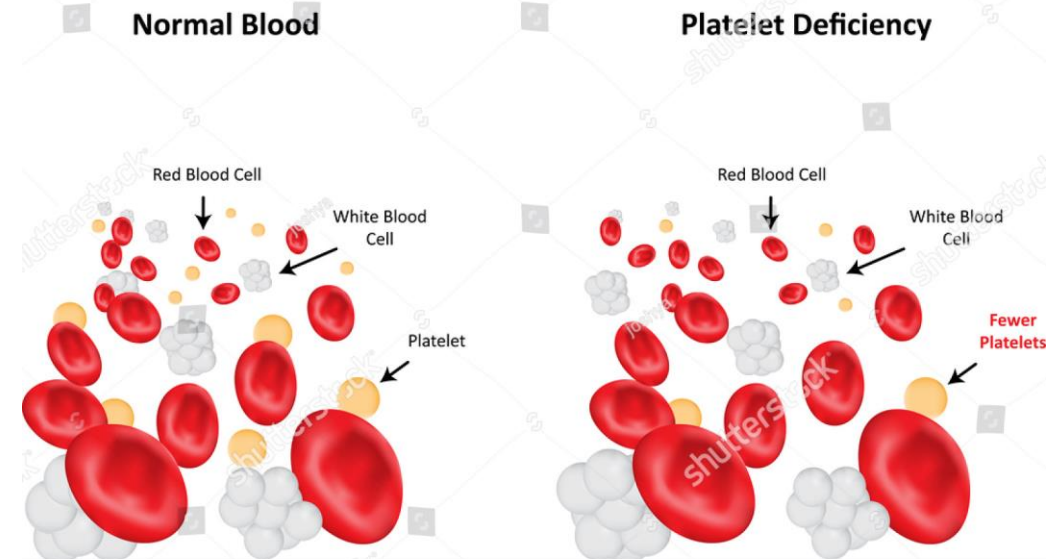
การนับจำนวนเกล็ดเลือด

Thrombocytosis



www.shutterstock.com · 783220240

Thrombocytopenia

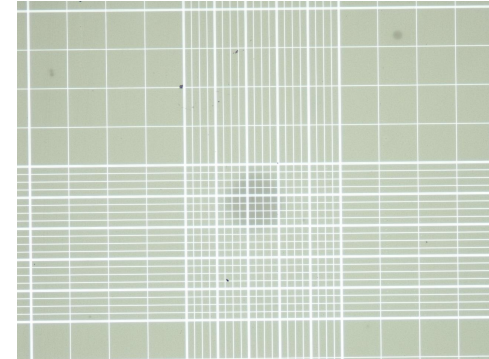


shutterstock

IMAGE ID: 298069364
www.shutterstock.com

หลักการทดสอบ

ทำการเจือจางเลือดและ/หรือทำลาย
เซลล์เม็ดเลือดแดงด้วยน้ำยาใน
อัตราส่วนที่เหมาะสม แล้วนับจำนวน
เซลล์เม็ดเลือดโดยใช้ counting
chamber และกล้องจุลทรรศน์ จากนั้น
คำนวณหาจำนวนเซลล์เม็ดเลือดใน
กระแสน้ำเลือดต่อหน่วยปริมาตร



- ❖ การนับจำนวนเม็ดเลือดแดง
- ❖ การนับจำนวนเกล็ดเลือด
- ❖ การนับจำนวนเม็ดเลือดขาว
- ❖ การนับจำนวนอีโอซิโนฟิล

Dilution

1:200

1:100

1:20

1:10

Objective lens

40X

40X

10X

10X

❖ การนับจำนวนเม็ดเลือดแดง

❖ การนับจำนวนเม็ดเลือดขาว

❖ การนับจำนวนอีโอซิโนฟิล

❖ การนับจำนวนเกล็ดเลือด

Brecher & Cronkite

Rees & Ecker

Diluting solution

Gower solution

Turk solution

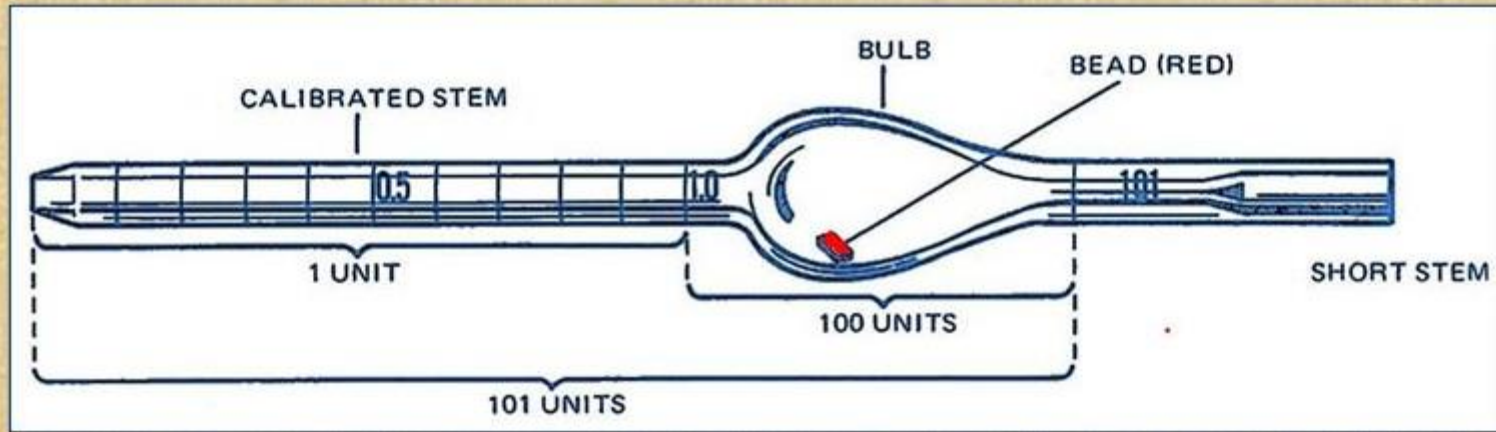
Dunker diluting fluid

- 1% ammonium oxalate

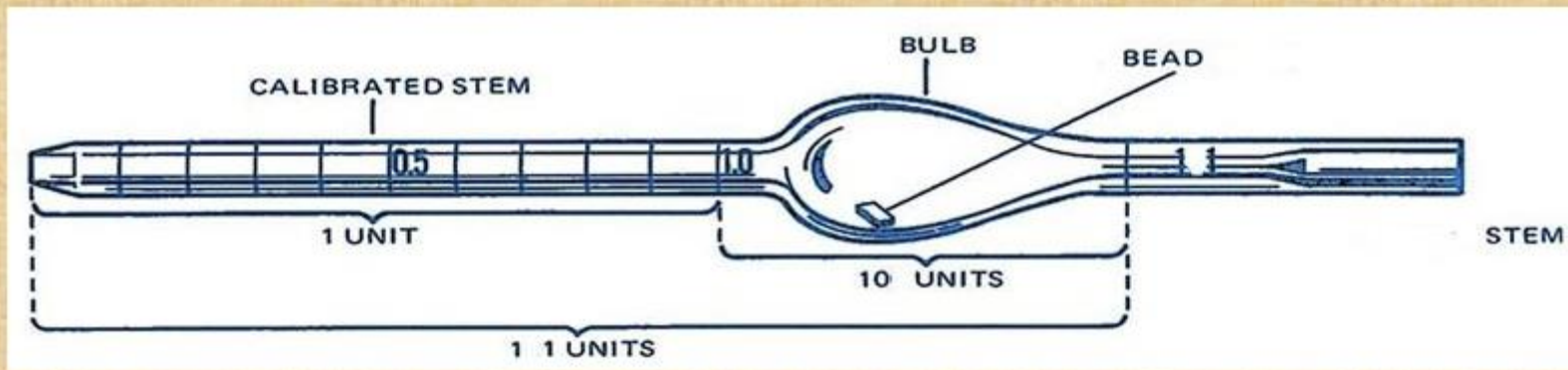
- Diluting solution contains

brilliant cresyl blue

RBC PIPETTE

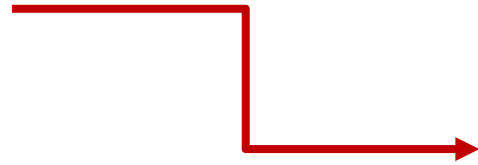


WBC PIPETTE



ตัวอย่าง

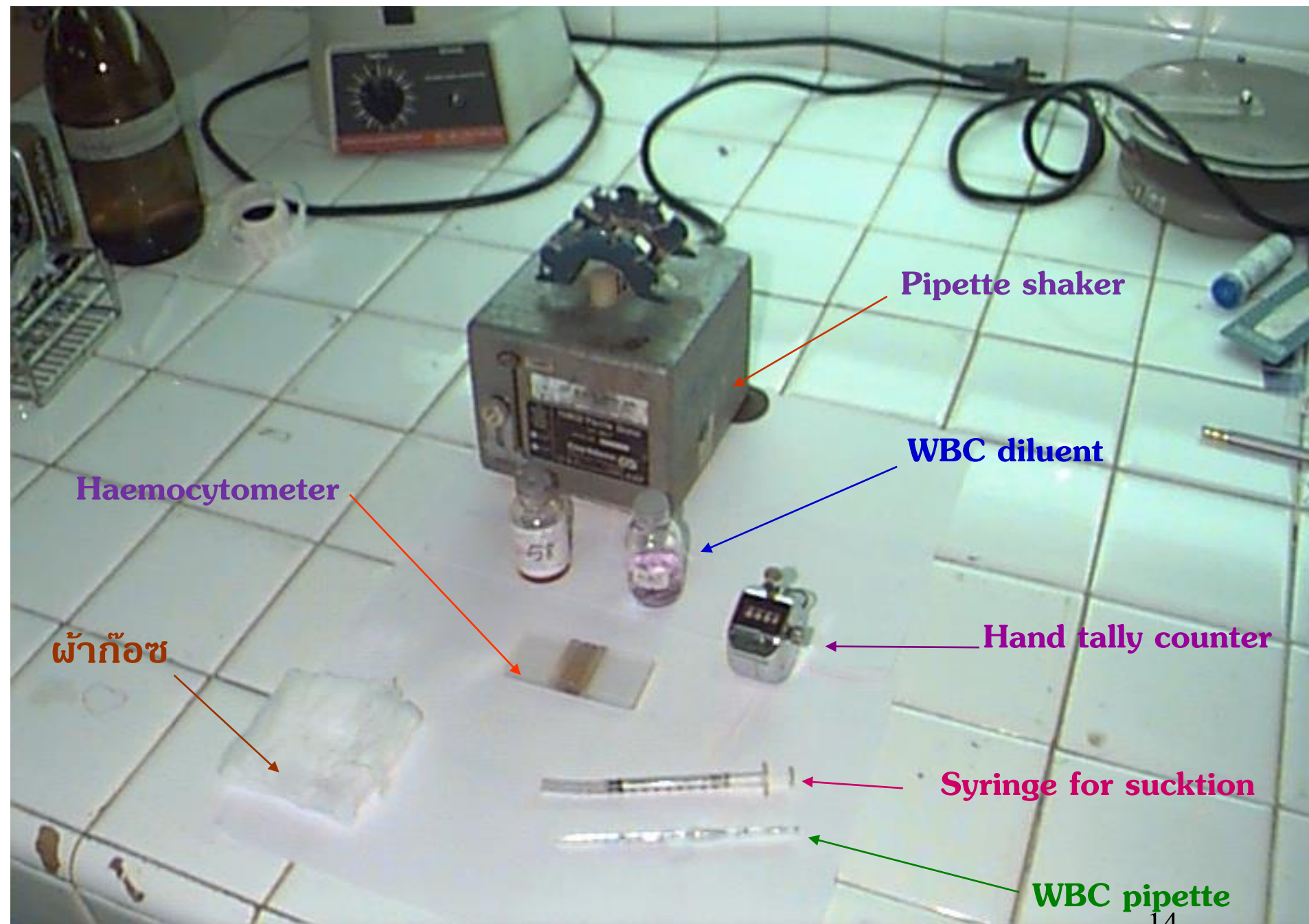
EDTA blood



Body fluids

- **Cerebrospinal fluid (CSF)**
- **Preural fluid**
- **Ascitic fluid**
- **Synovial fluid**

วัสดุ อุปกรณ์
และน้ำยา
สำหรับนับ
จำนวนเม็ด
เลือดขาว



วิธีทำ

- ประกอบ Syringe และ WBC pipette เข้าด้วยกัน



- ผสมเลือดให้เข้ากันดี โดยการ**เขย่า**หรือ**หมุนวน**ขวดใส่เลือด



- ดูดเลือดเข้า WBC pipette จนถึงขีด 0.5 พอดี



- ใช้ผ้าก๊อชเช็ดเลือดรอบนอกของ WBC pipette ให้สะอาด



- ดูดน้ำยาเจือจางจนถึงขีด **11** พอดี



- ผสมเลือดและน้ำยาโดยใช้มือเขย่าแบบ ดว่า หงายมือ นาน 1 นาที



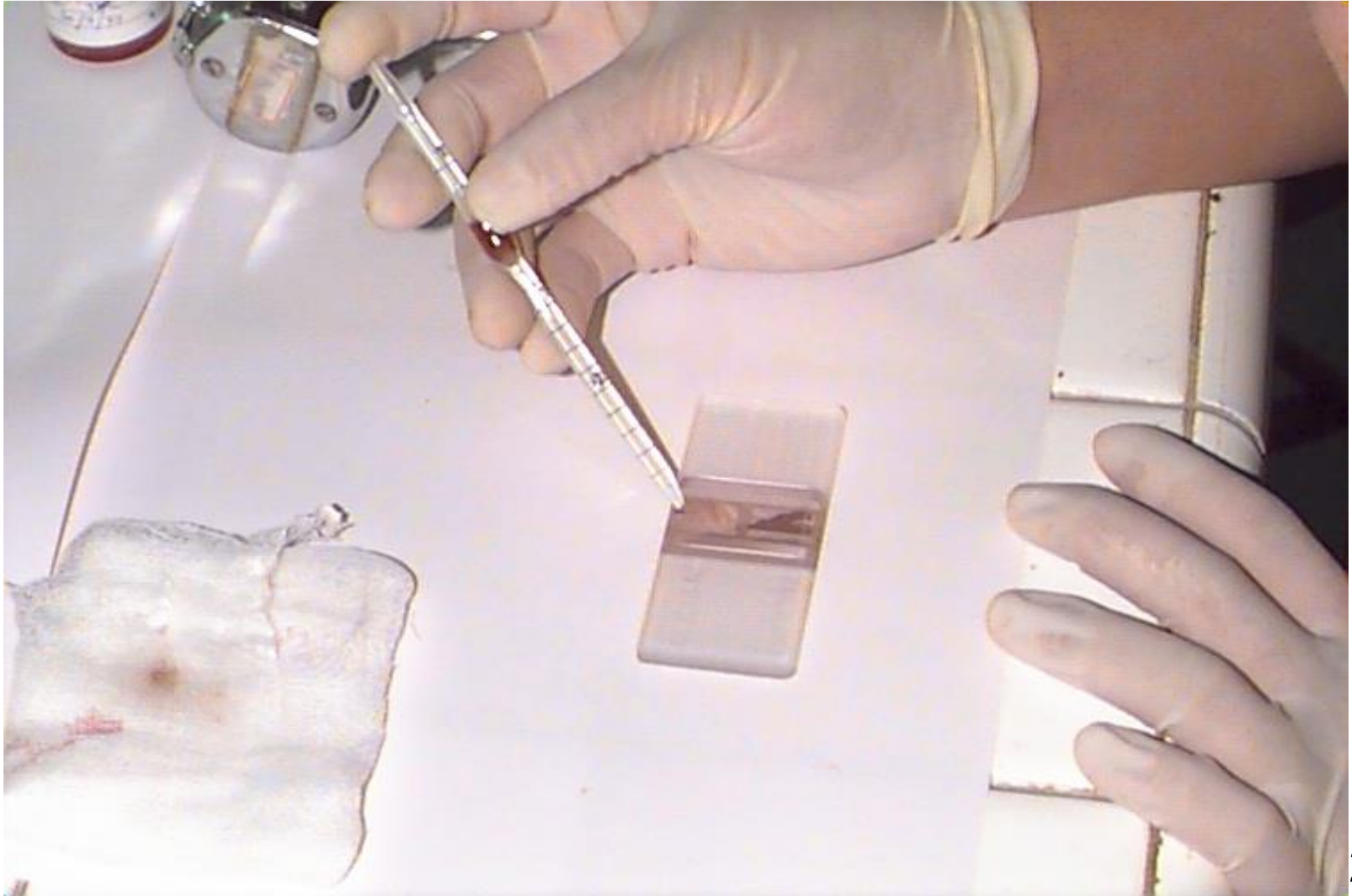
- หรือ ผสมโดยใช้เครื่องเขย่า pipette นาน 45 วินาที



- หยอดส่วนผสม 1 - 2 หยดแรกทิ้งไป



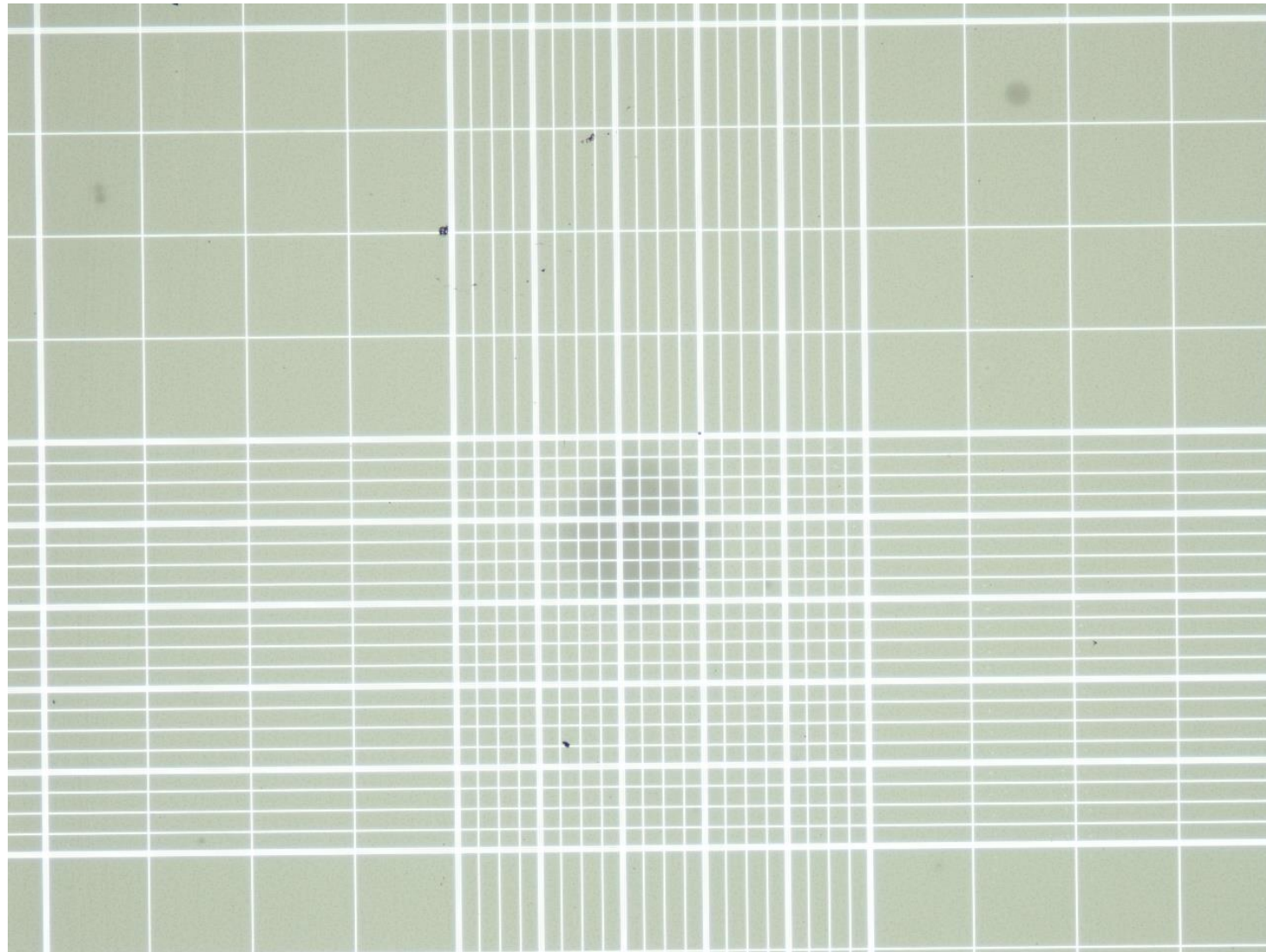
- เติมส่วนผสมเข้าไปใน Haemocytometer ที่จัดเตรียมไว้



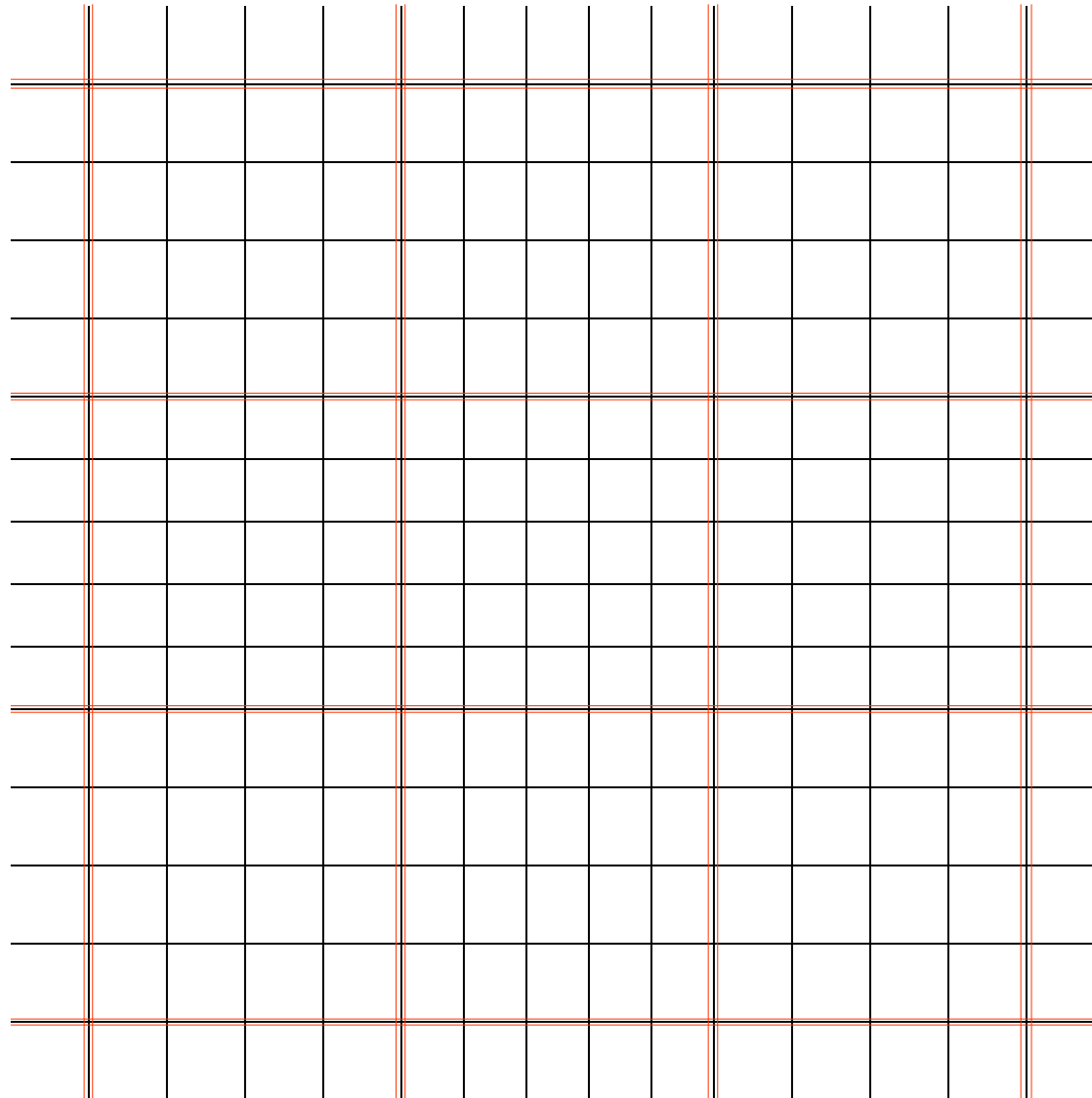
- นำ Haemocytometer ที่เติมส่วนผสมแล้วไปนับจำนวน WBC ด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยใช้ Objective lens 10X



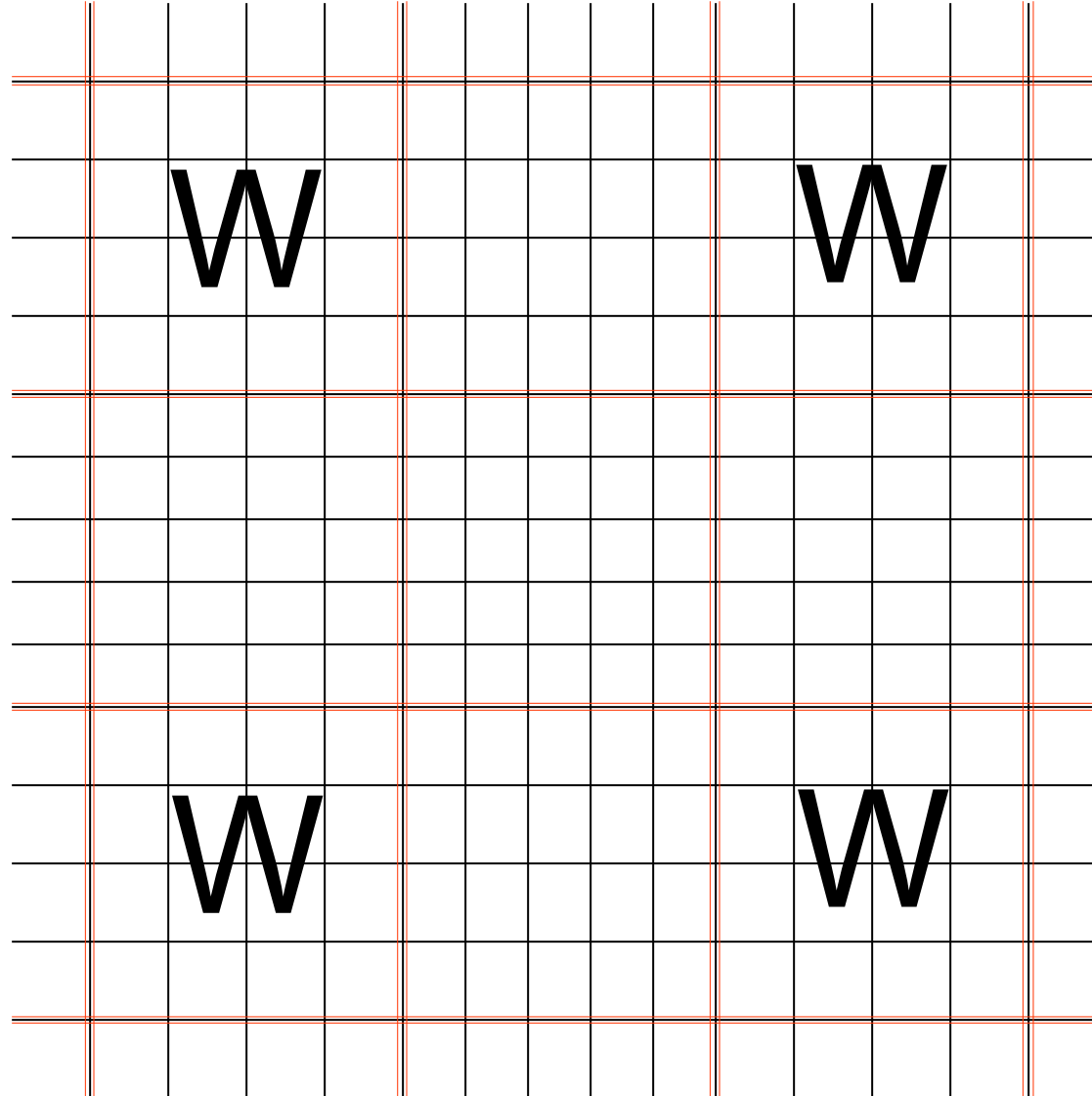
ตารางของ Haemocytometer ที่จะมองเห็นจากกล้องจุลทรรศน์



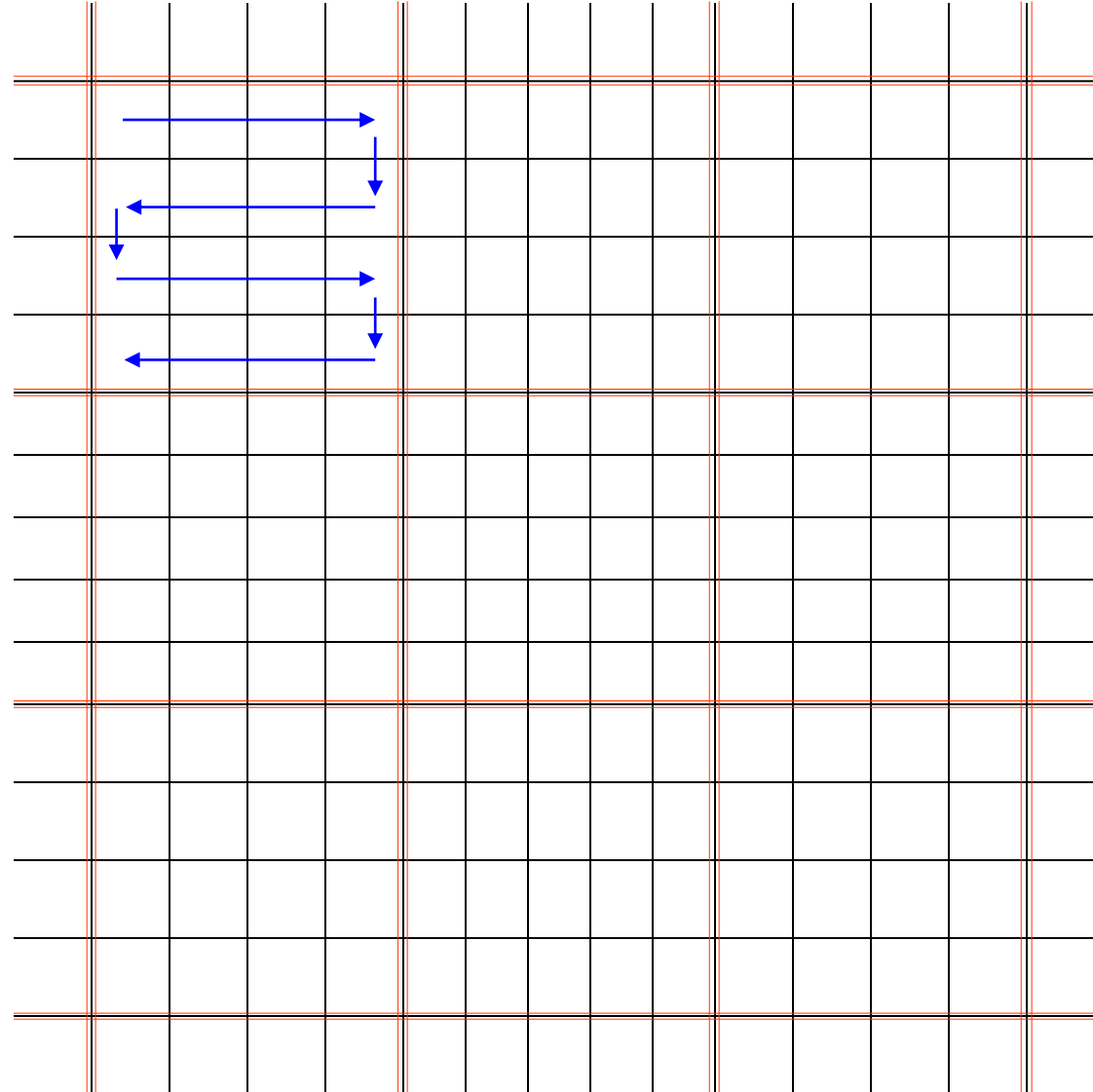
ลักษณะของตารางบน Haemocytometer



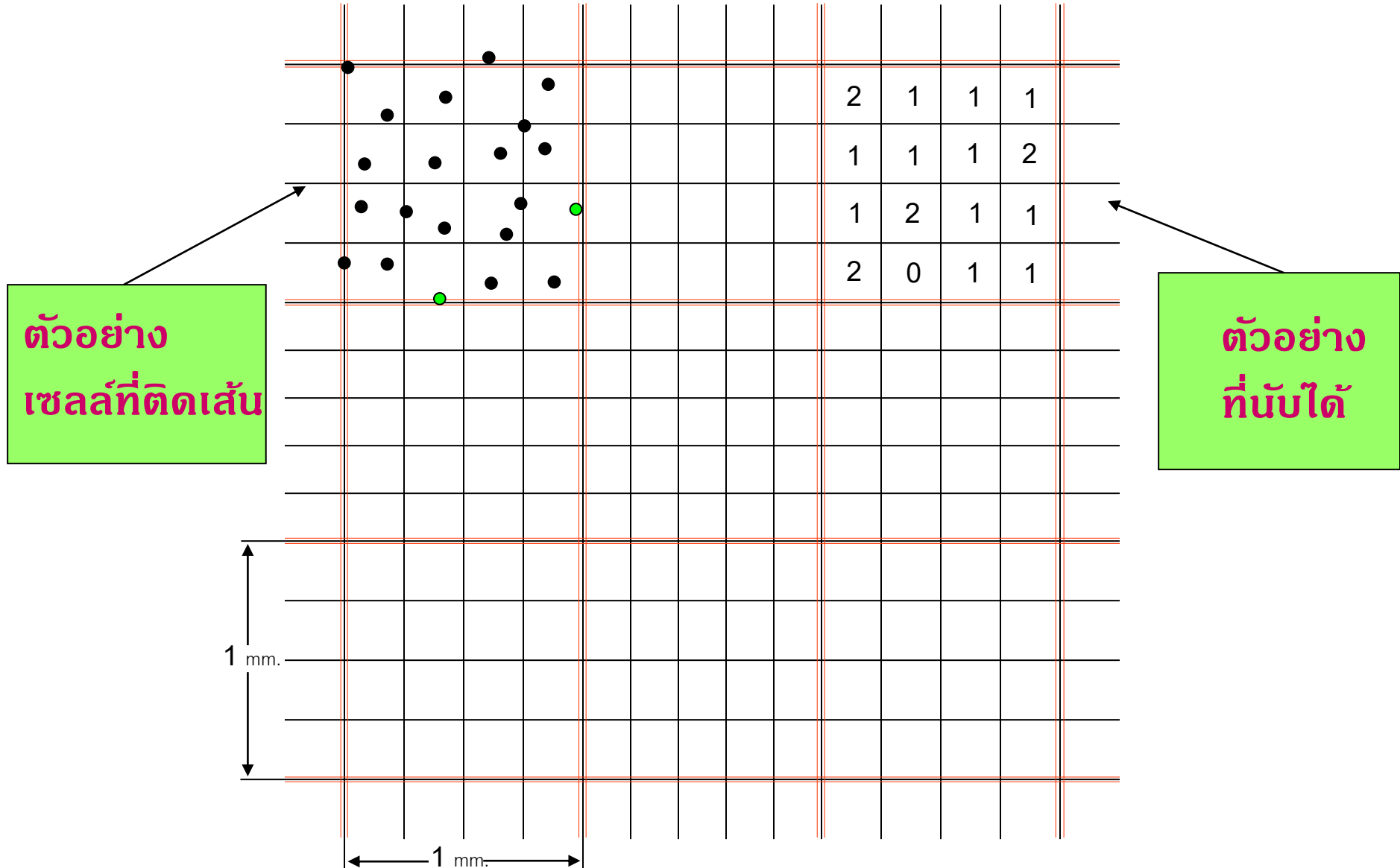
ให้นับจำนวน WBC ที่ปรากฏใน 4 ช่อง W

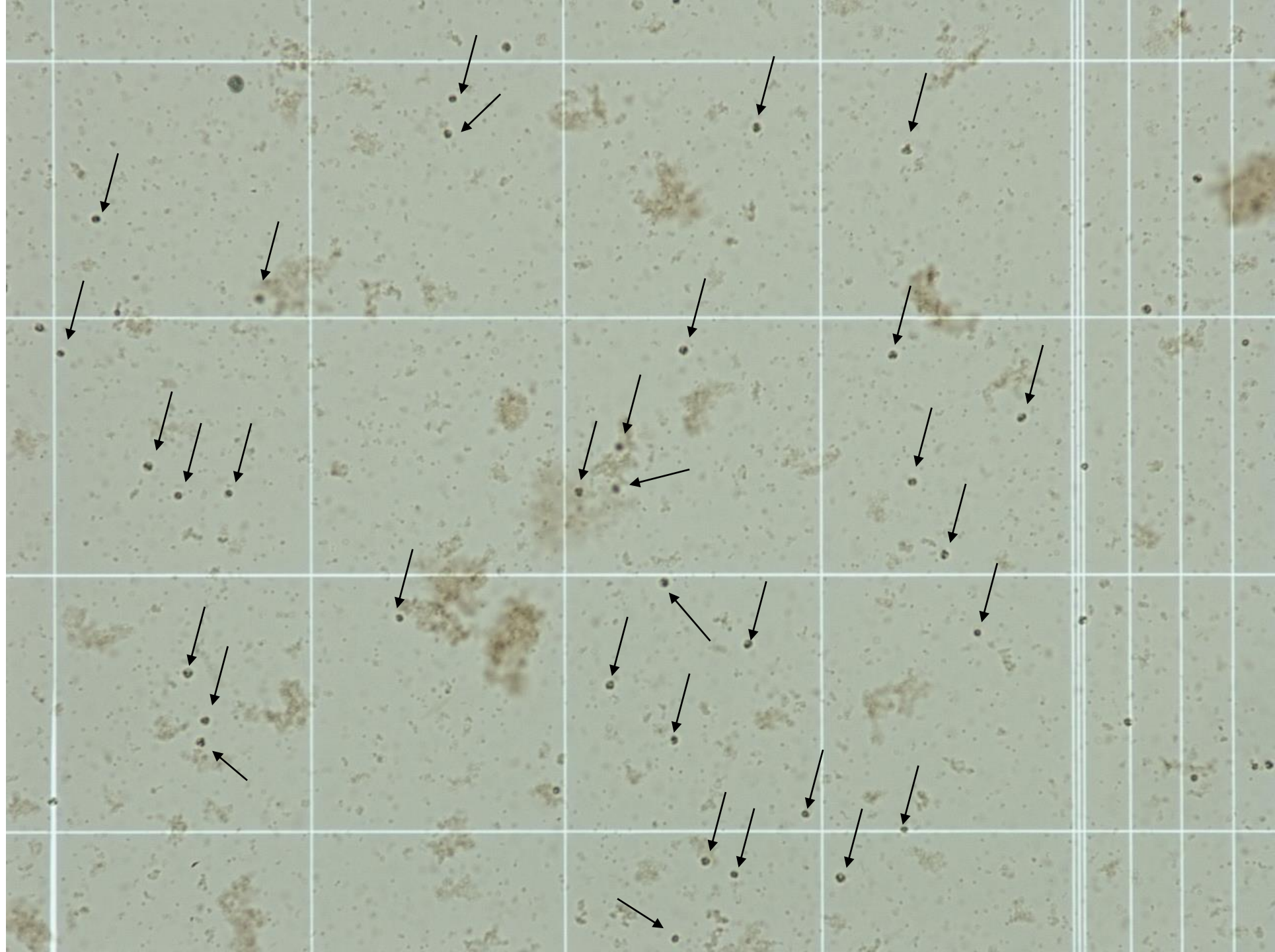


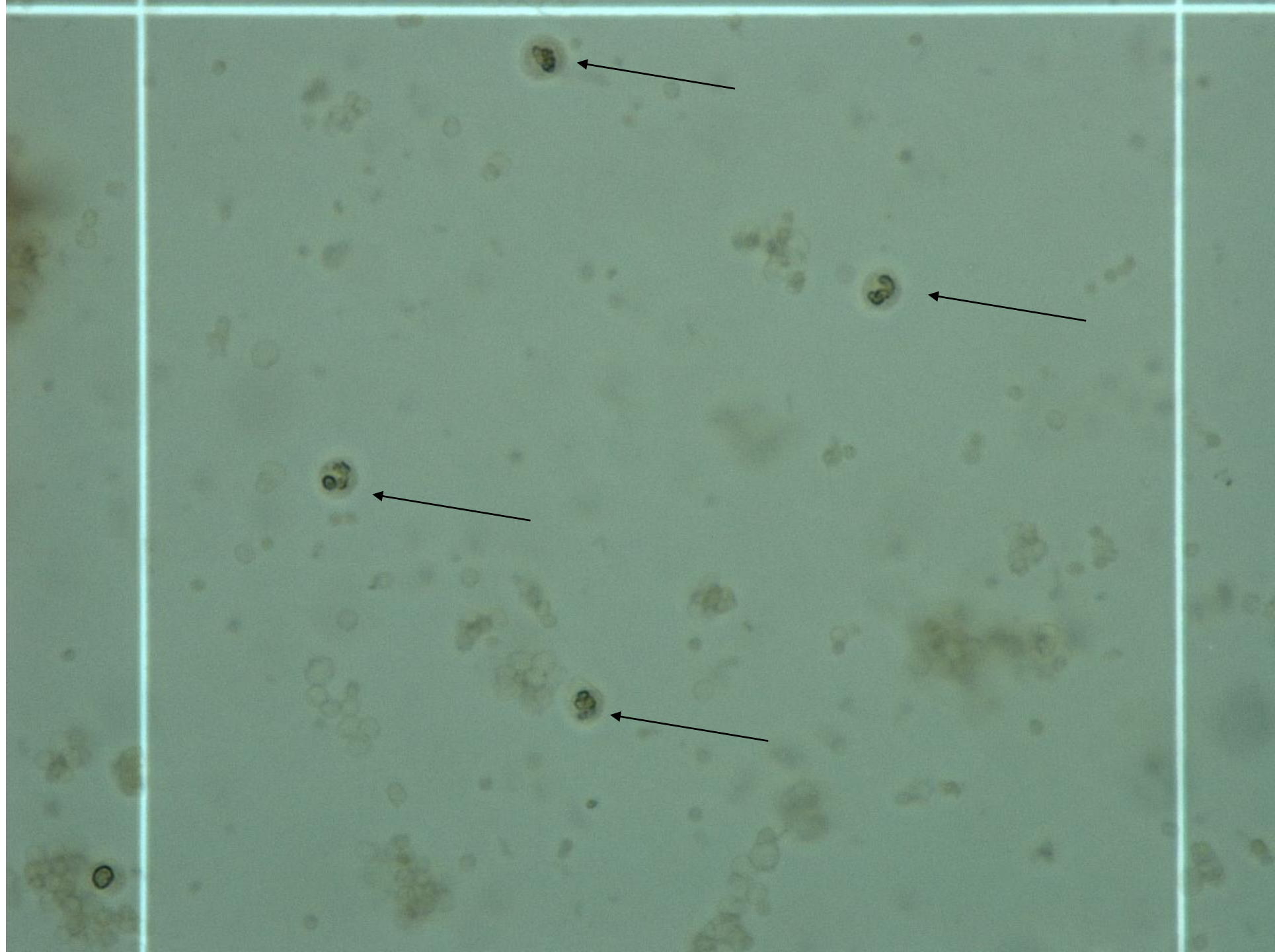
ให้เริ่มนับเซลล์เม็ดเลือด**ตามแบบ**ที่แสดงไว้ในรูป



เซลล์ที่ติดเส้นในแต่ละช่อง ให้นับเฉพาะเซลล์ที่ติดเส้นบนและซ้ายเท่านั้น
 ช่องที่มี 3 เส้น ให้ใช้เส้นกลางเป็นหลัก







สูตรคำนวณ

จำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาว/ลบ.มม. (หรือไมโครลิตร) =

จำนวนเซลล์ที่นับได้ X Dilution factor

ปริมาตรที่ใช้ในการนับ (ลบ.มม.)



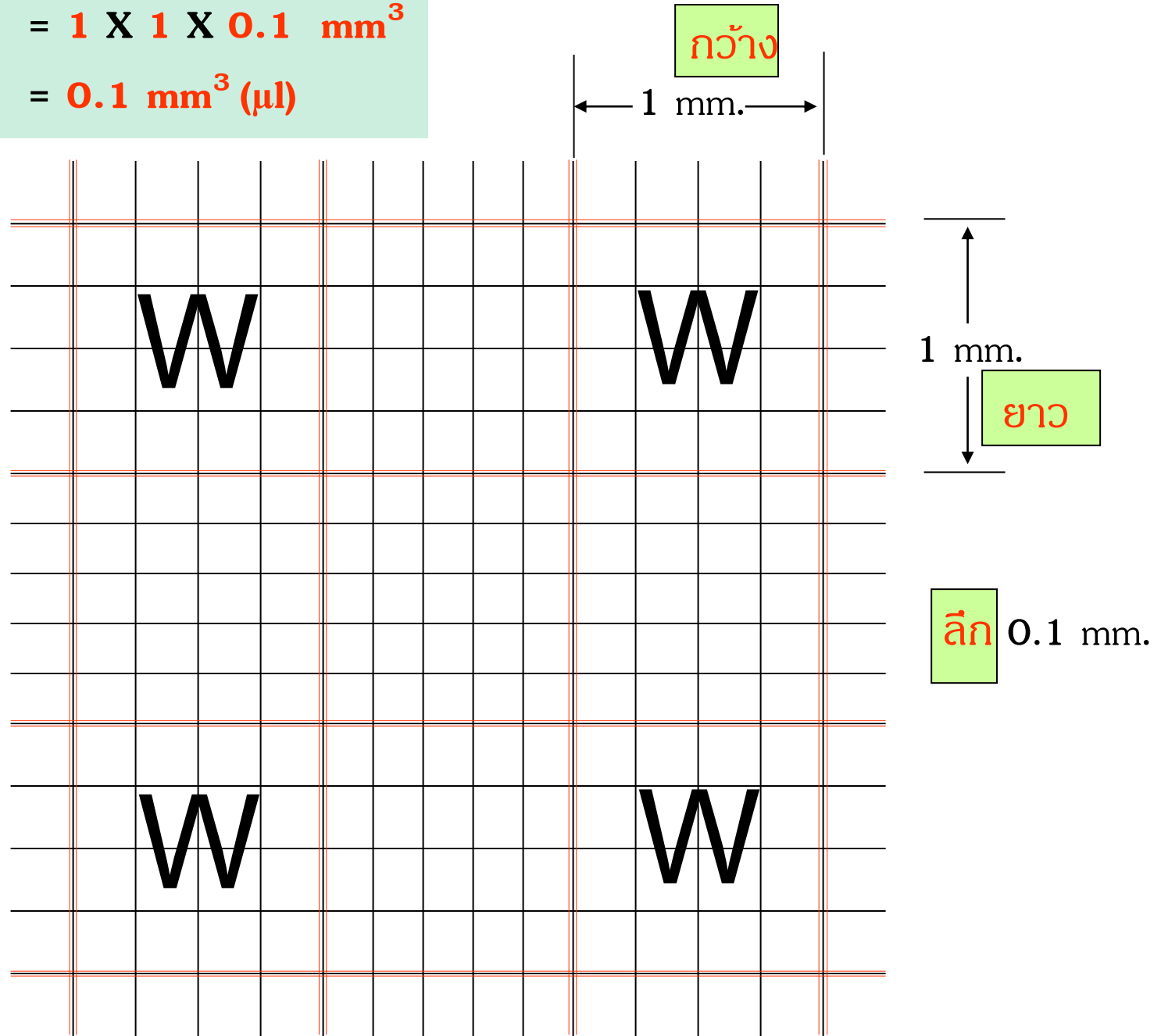
Dilution factor :

ติดเฉพาะส่วนผสมในกระเปาะ
เลือด 0.5 ส่วน + น้ำยาเจือจาง 9.5 ส่วน

$$\text{Dilution} = 0.5:10 = 1:10$$

ดังนั้น Dilution factor = 20 เท่า

ปริมาตร 1 ช่อง W = กว้าง X ยาว X ลึก
= 1 X 1 X 0.1 mm³
= 0.1 mm³ (μl)



ตัวอย่าง

- สมมตินับได้ 80 เซลล์
- เจือจางเลือดไป 20 เท่า
- ปริมาตรที่ใช้นับคือ $4W = 4 \times 0.1$ ลบ.มม. (μl)

ปริมาตร $0.4 \mu\text{l}$ นับเม็ดเลือดขาวได้ 80 เซลล์

ถ้าปริมาตร $1 \mu\text{l}$ นับเม็ดเลือดขาวได้ $80 \times 1/0.4$ เซลล์

แต่เลือดถูกเจือจางไป 20 เท่า

ดังนั้นจำนวนเม็ดเลือดขาวในเลือดที่ไม่ถูกเจือจาง = $80 \times 20/0.4$ เซลล์/ไมโครลิตร

1 ลิตร = 10^6 ไมโครลิตร หรือ 1 ไมโครลิตร = 10^{-6} ลิตร

ปริมาตร $1 \mu\text{l}$ นับเม็ดเลือดขาวได้ $80 \times 20/0.4$ เซลล์

ปริมาตร $10^6 \mu\text{l}$ (1 ลิตร) นับเม็ดเลือดขาวได้ $\frac{80 \times 20}{0.4} \times 10^6$ เซลล์/ลิตร

ค่าอ้างอิง

5,000 - 10,000 เซลล์/ไมโครลิตร

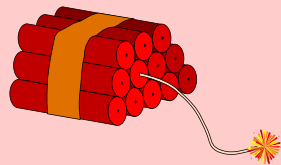
ค่าสูง พบได้ใน

- ไข้ตั้งอักเสบ
- โรคติดเชื้อจากจุลชีพ (ส่วนมาก)
- มะเร็งเม็ดเลือดขาว เป็นต้น

ค่าต่ำ พบได้ใน

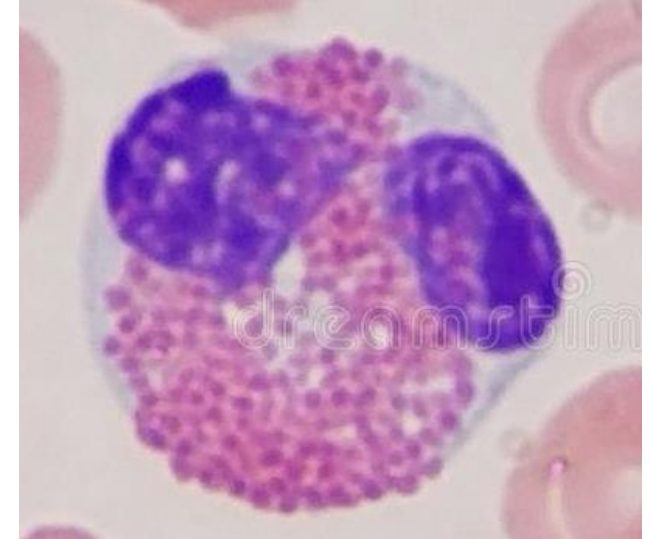
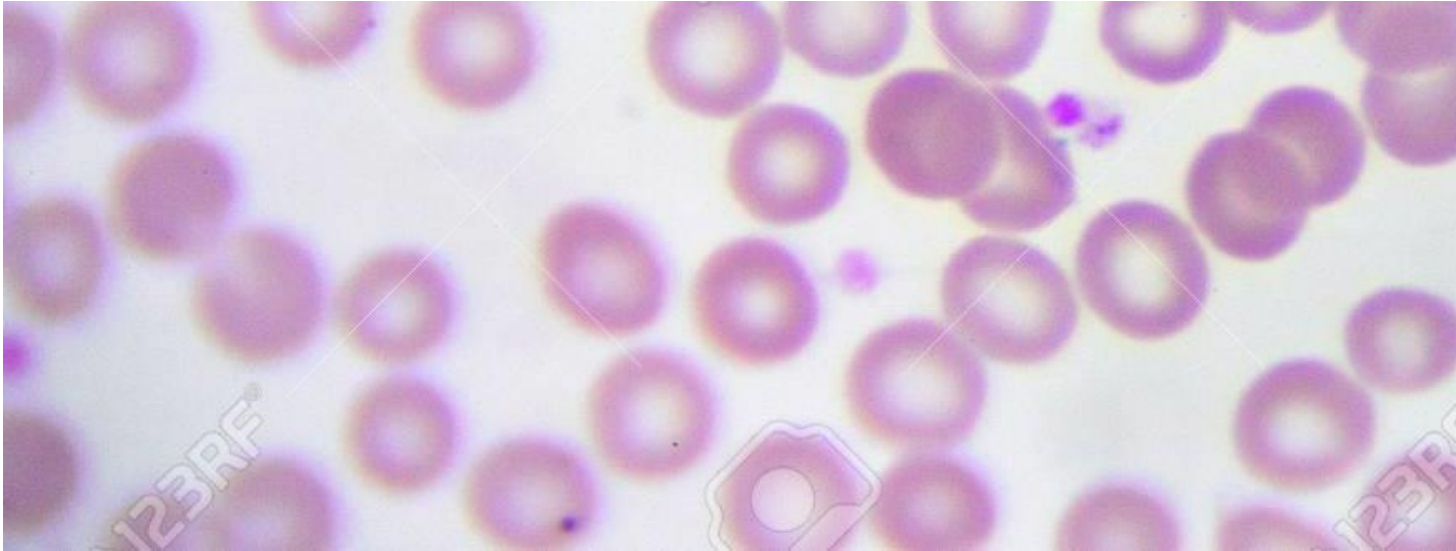
- Aplastic anemia
- Pancytopenia
- ผู้ป่วยได้รับ Chemotherapy เป็นต้น

ข้อควรระวัง



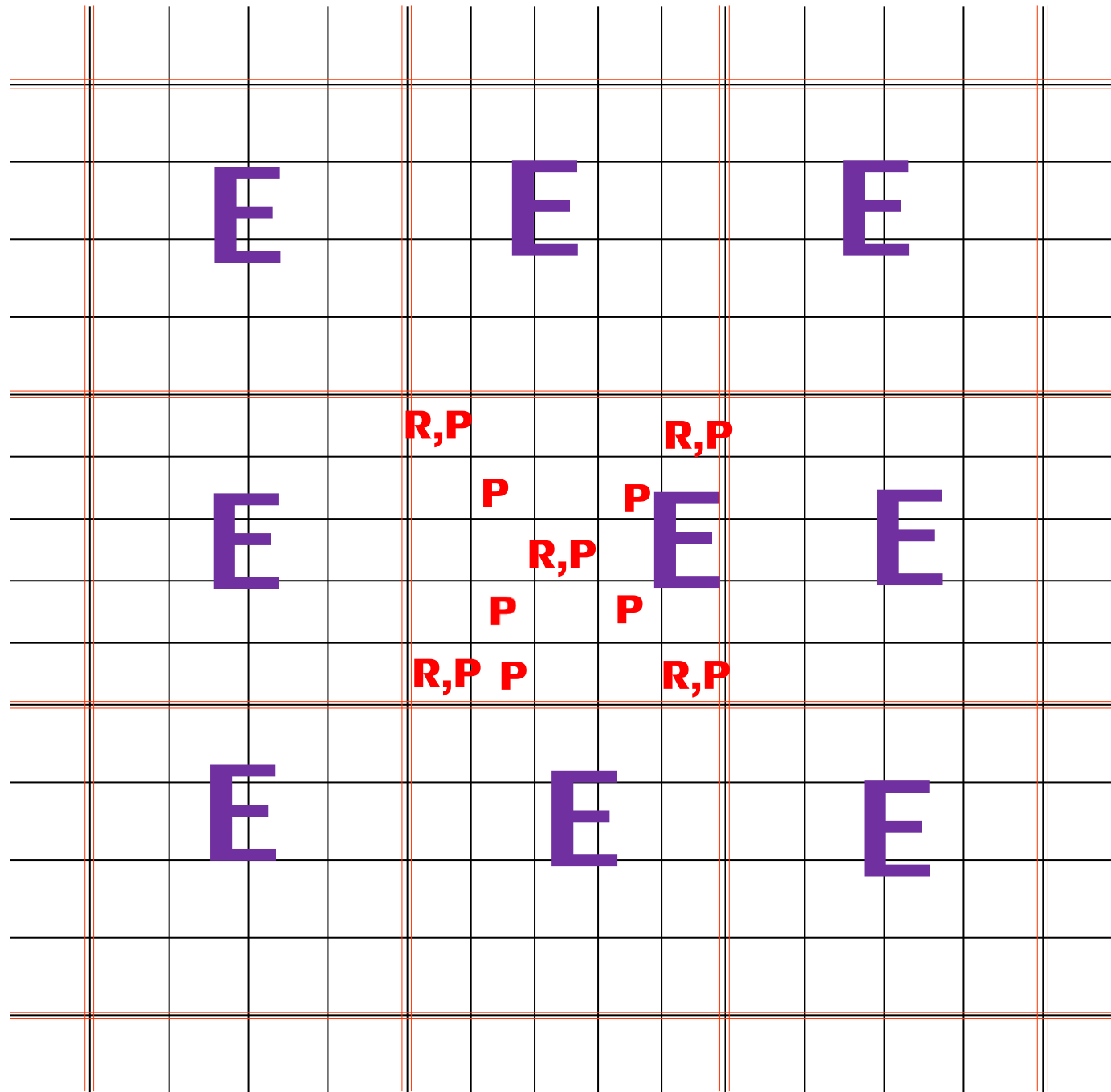
- ผสมเลือดให้เข้ากันดี ก่อนลงมือทำ
- เช็ดคราบเลือดที่เปื้อนด้านนอก pipette ก่อนดูดน้ำยาเจือจาง
- ปรับปริมาตรเลือด และน้ำยาเจือจางให้ถึงขีดพอดี
- ก่อนเติมส่วนผสมลงใน counting chamber ต้องเขย่าให้ส่วนผสมเข้ากันดีและหยุดทิ้งก่อน 1 - 2 หยด เสมอ

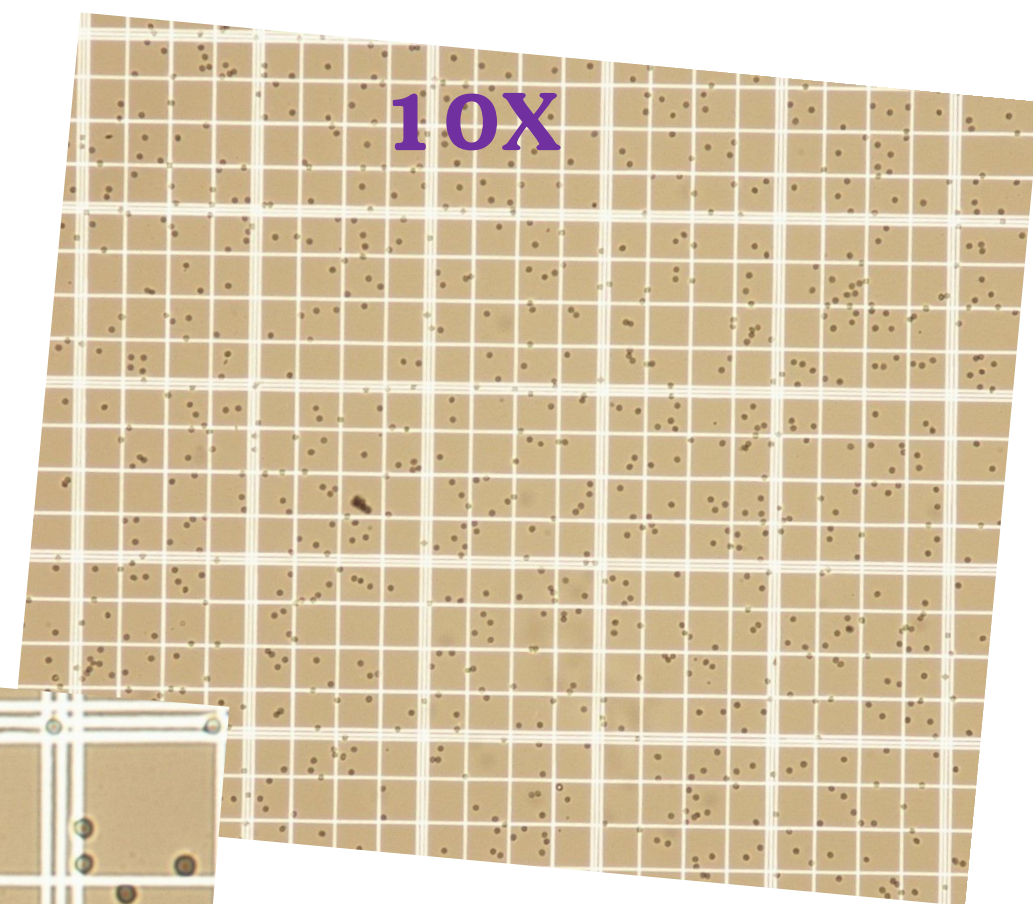
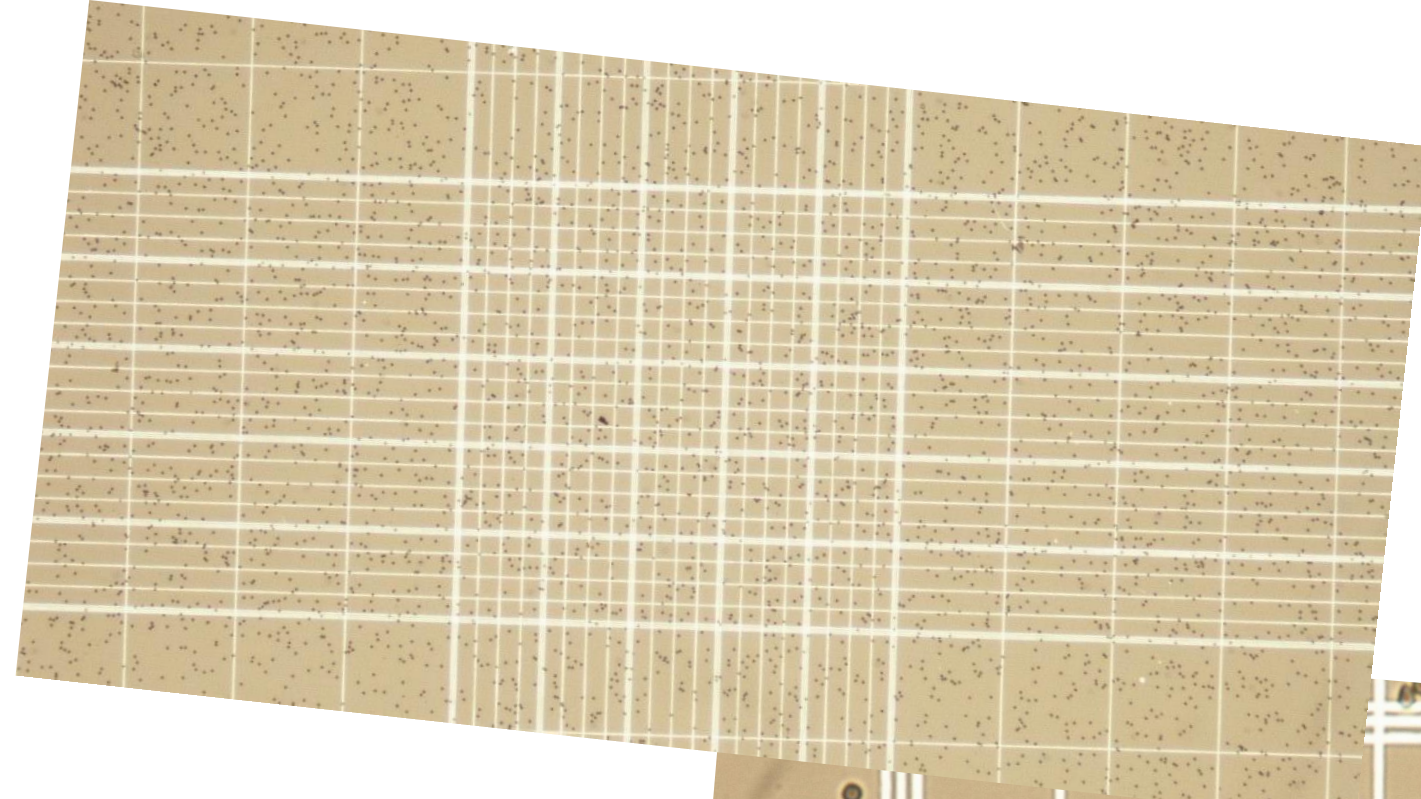
การนับเซลล์เม็ดเลือดชนิดอื่น



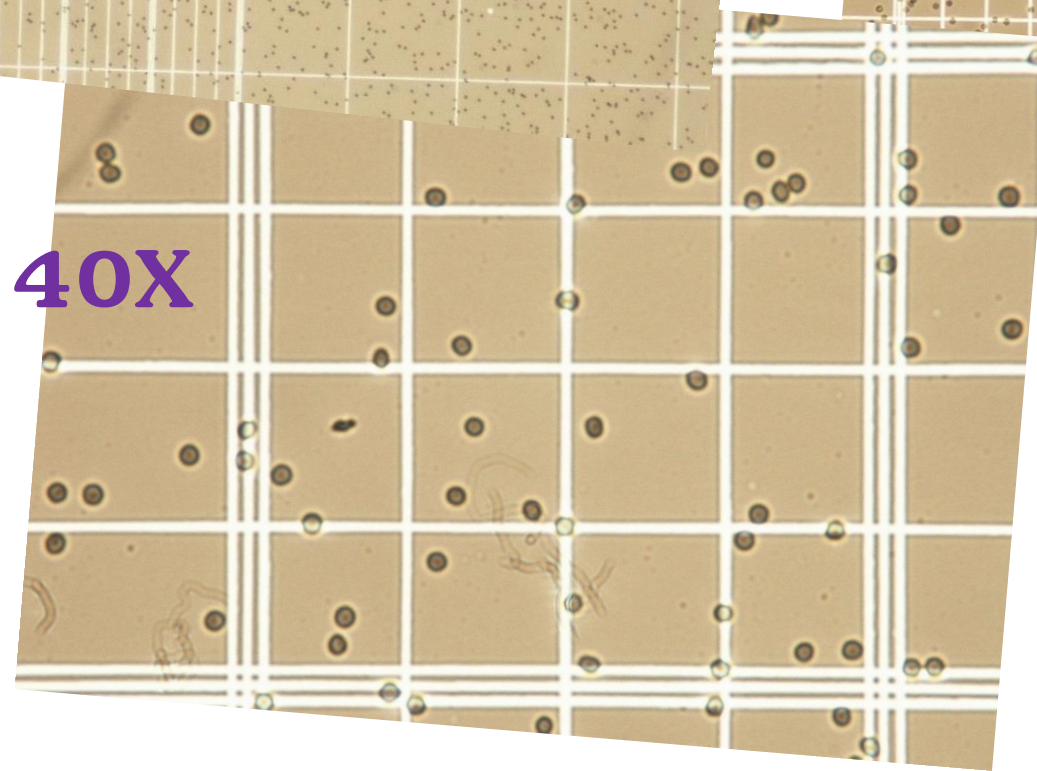
น้ำยาเจือจาง

คุณสมบัติ/ส่วนประกอบ	เม็ดเลือดแดง	วิธีซีโนฟิลา	เกล็ดเลือด
Isotonic	✓		Brecher & Cronkite ✓
Hypotonic		✓	Rees & Ecker ✓
Cytoplasmic component stain		✓	Rees & Ecker ✓





10X

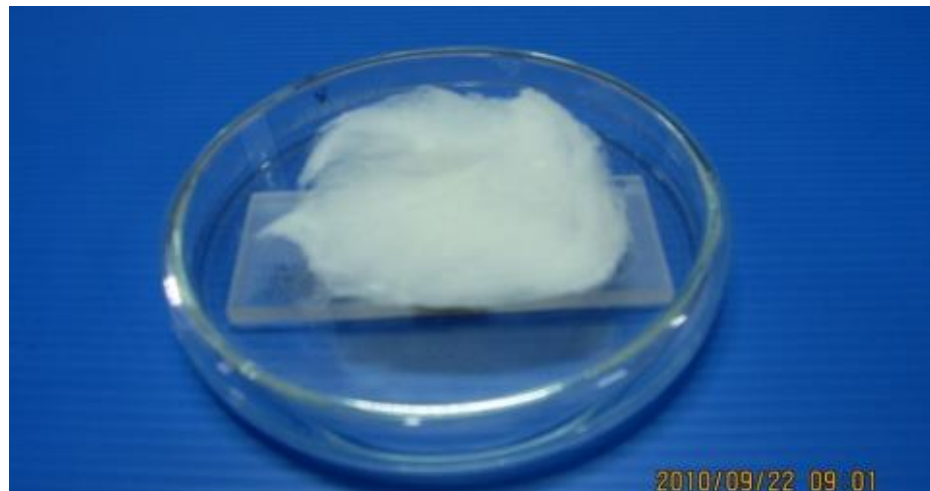
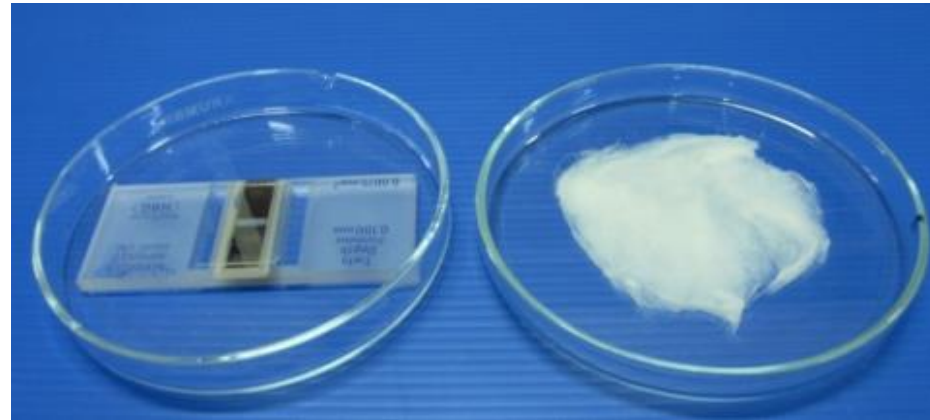
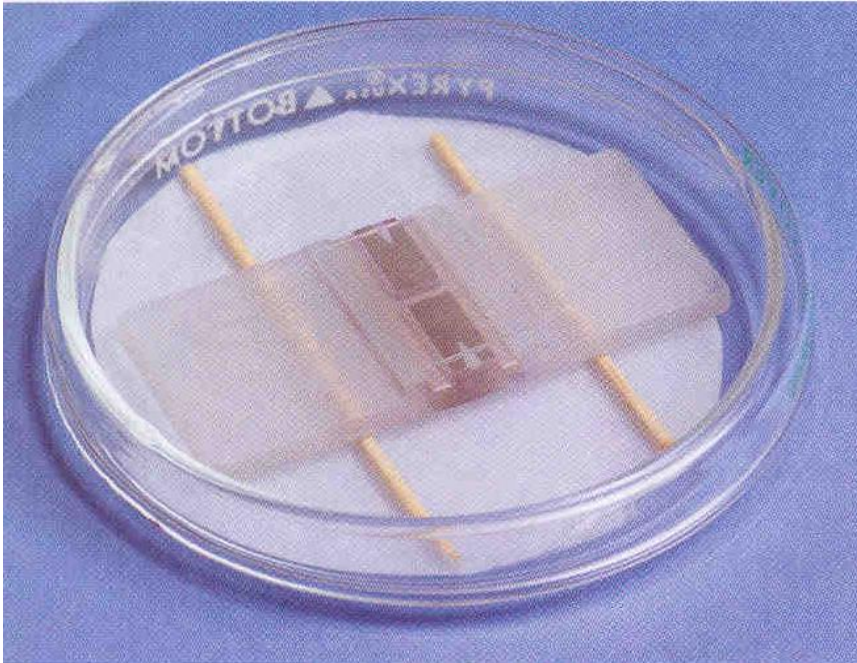


40X

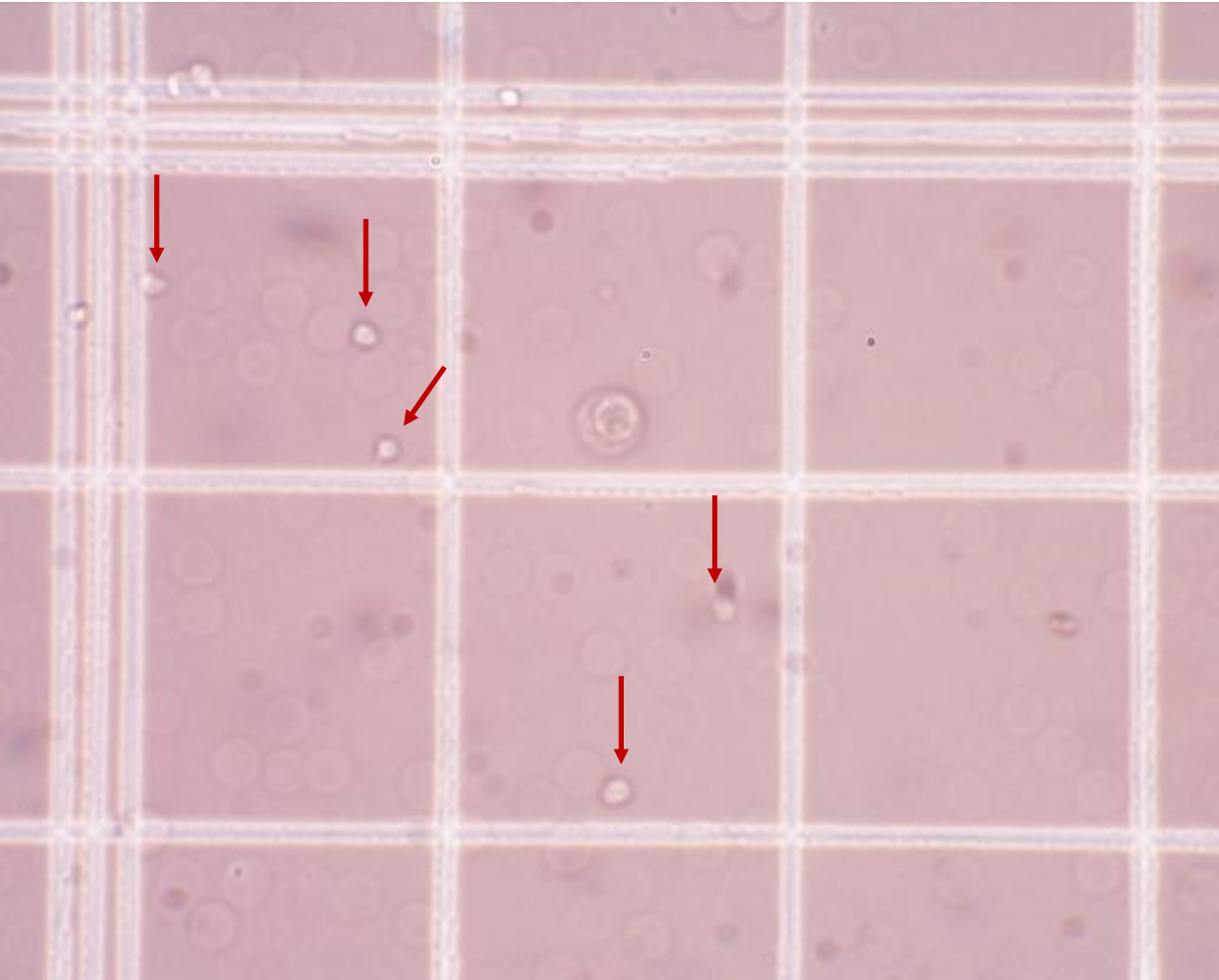
➤ Moist chamber for eosinophil and platelet count

၁၂

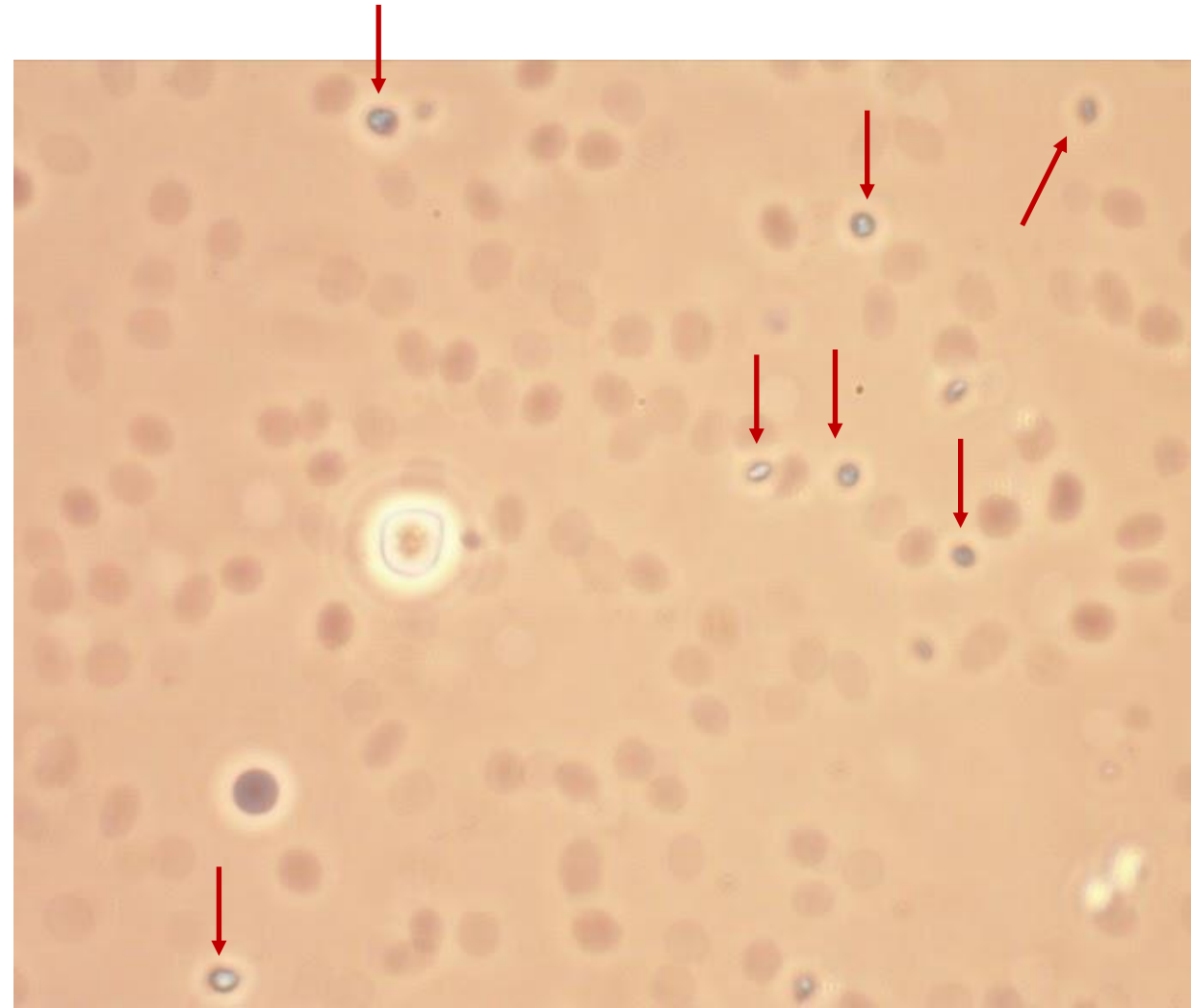
၈



platelet count (Brecher & Cronkite) 40X

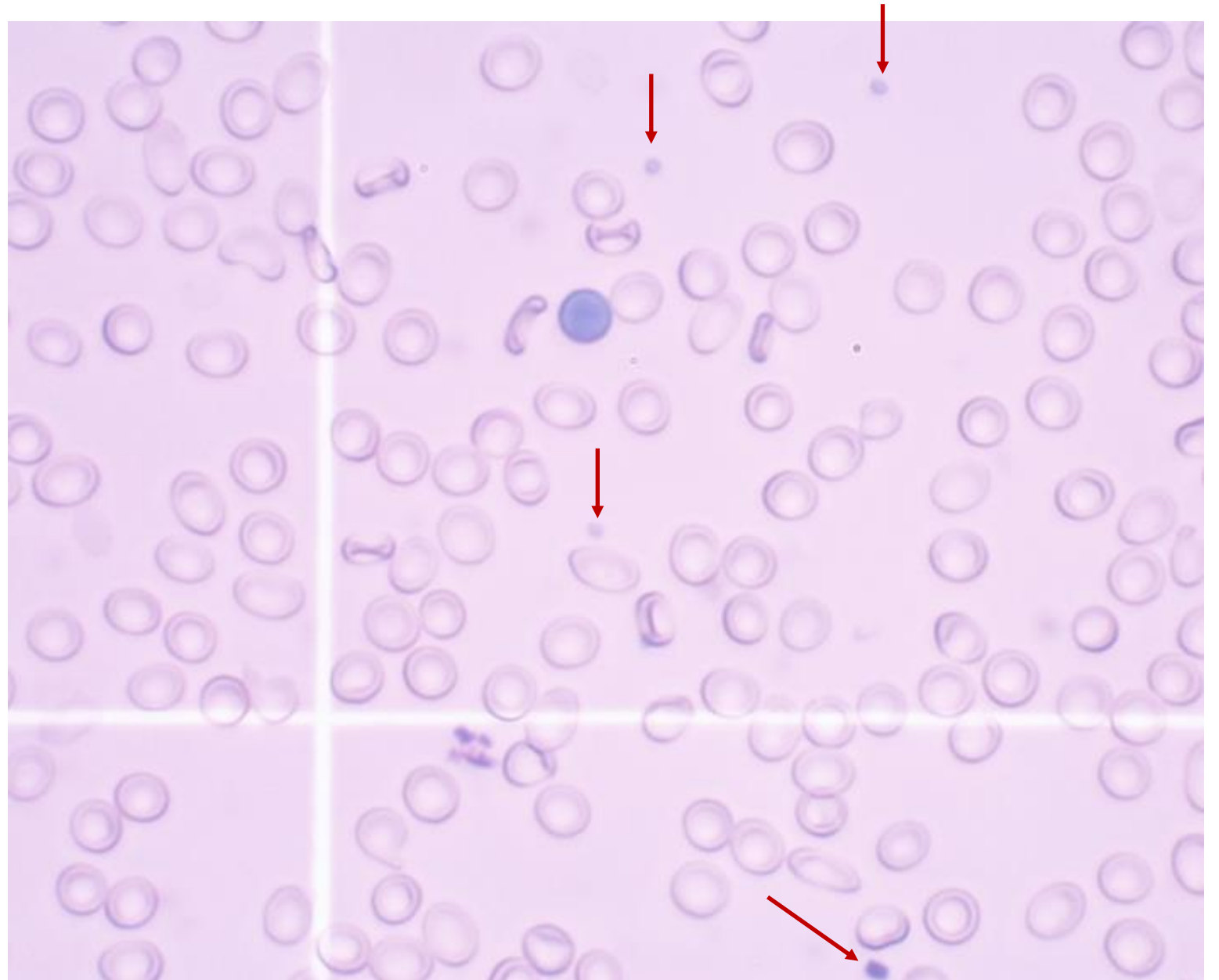


Light microscope

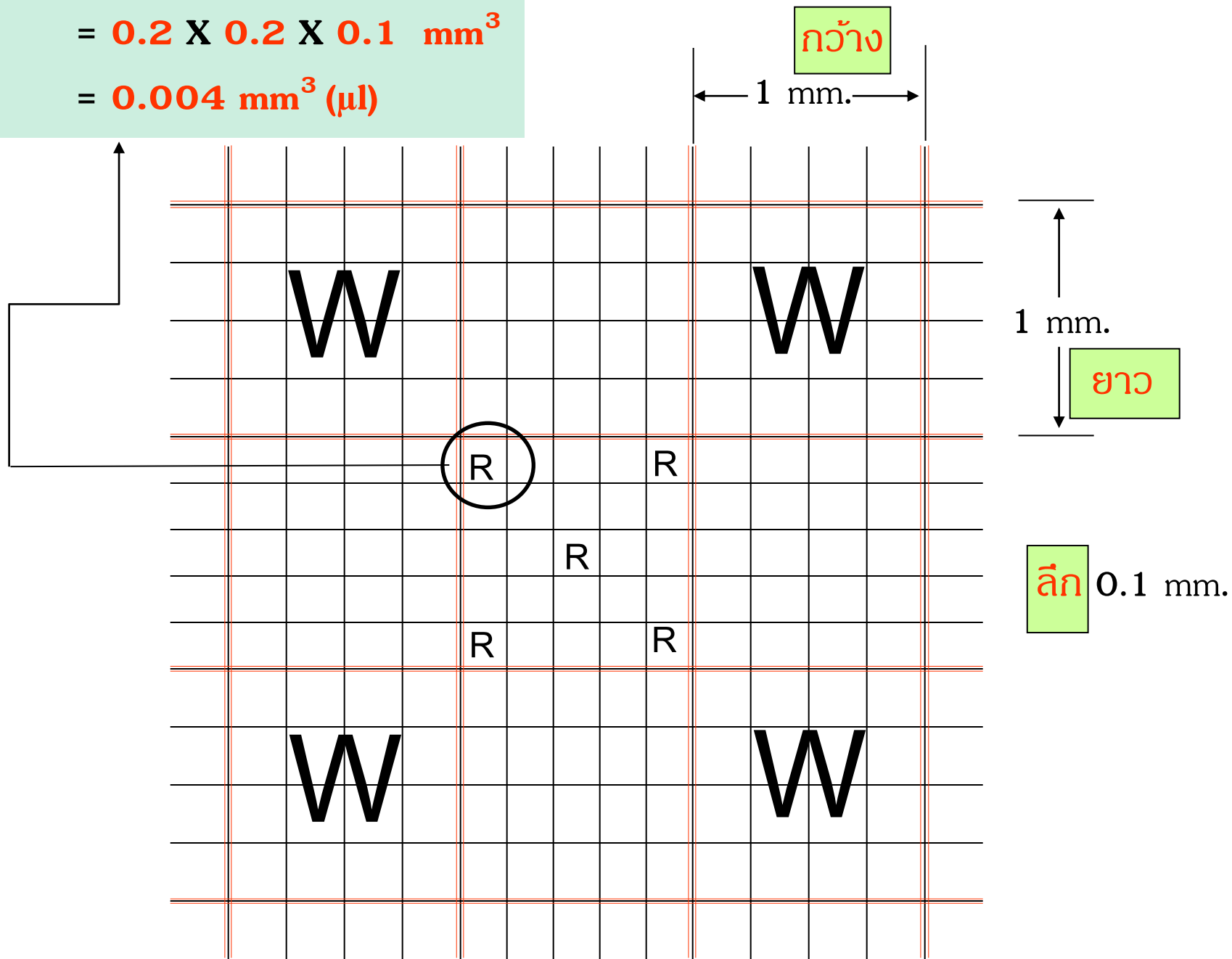


Phase contrast microscope

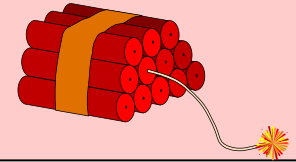
**platelet count (Rees
& Ecker) 40X**



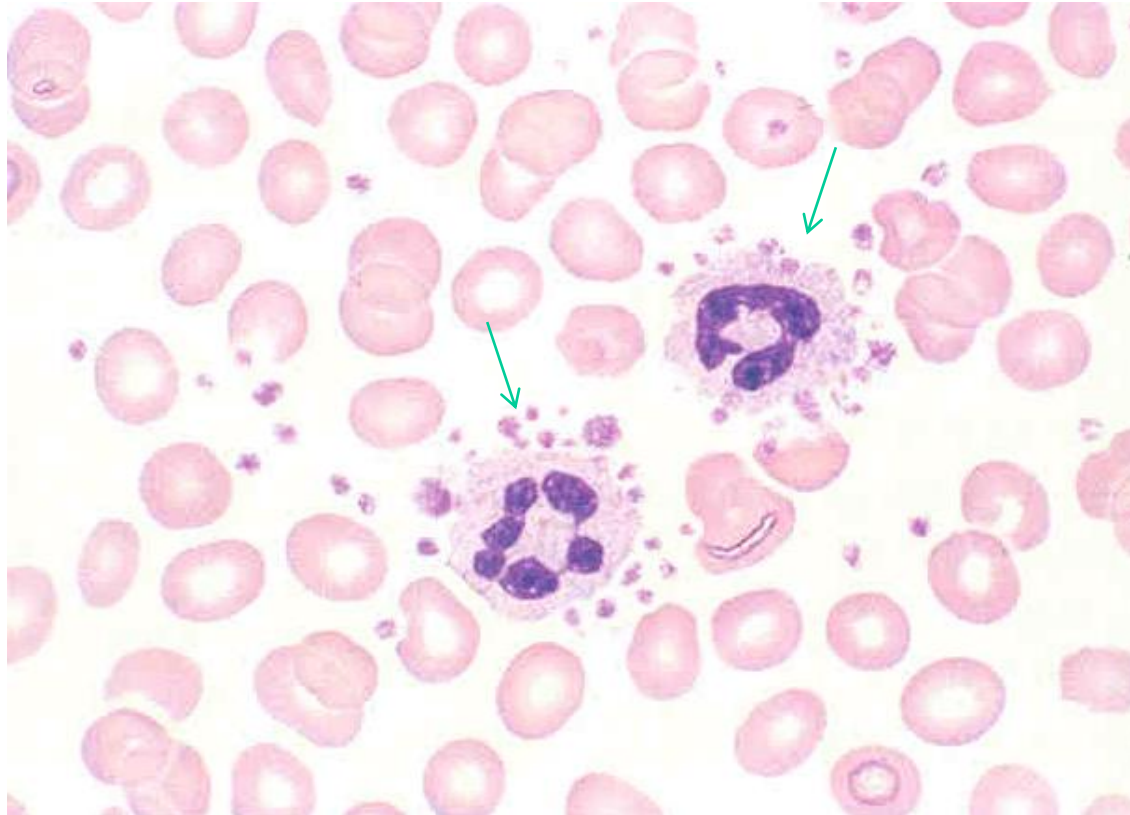
ปริมาตร 1 ช่อง R หรือ P = กว้าง X ยาว X ลึก
 = 0.2 X 0.2 X 0.1 mm³
 = 0.004 mm³ (μl)



ข้อควรระวังของการนับจำนวนเกล็ดเลือด



- ❖ ในการนับจำนวนเกล็ดเลือดโดยวิธีตรงทุกครั้ง ควรจะทำสเมียร์เลือดแล้วย้อมด้วยสียไรท์ เพื่อเป็นการตรวจสอบผลการนับจำนวนเกล็ดเลือดโดยวิธีตรง ซึ่งค่าจากทั้งสองวิธีควรสอดคล้องกัน

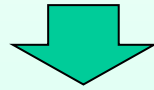


platelet satellitism

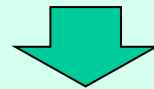
เกล็ดเลือดเกาะอยู่รอบ ๆ นิวโทรฟิล
ซึ่งมีผลทำให้นับจำนวนเกล็ดเลือดได้
ต่ำกว่าปกติ

❖ เกล็ดเลือดมีขนาดเล็ก ลักษณะแยกได้ยากจากฝุ่น เศษเซลล์ หรือแบคทีเรีย

อุปกรณ์ที่ใช้ได้แก่ haemocytometer และ cover chamber จะต้องสะอาดปราศจากฝุ่น



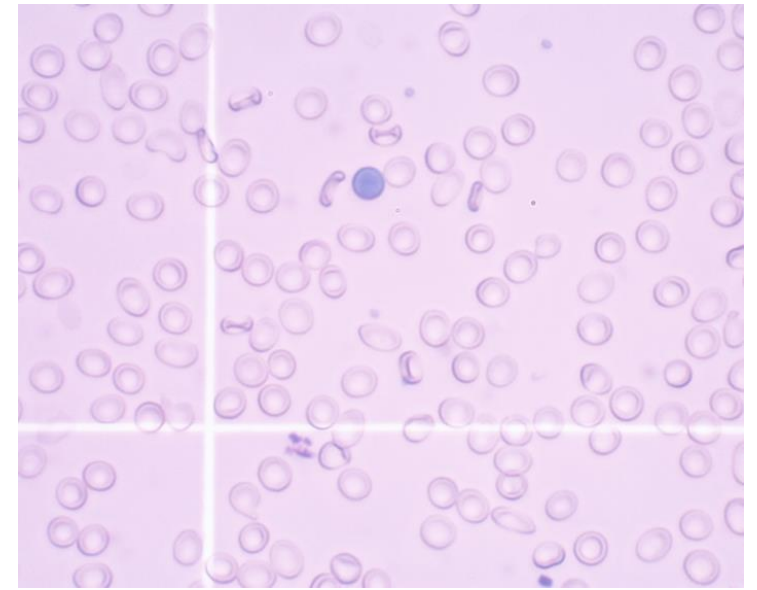
ก่อนการหยดสารละลาย ควรเช็ดด้วยแอลกอฮอล์เข้มข้น 95% แล้วเช็ดให้แห้งด้วยผ้าก๊อชที่สะอาดก่อนเสมอ ตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์โดยใช้เลนส์ใกล้วัตถุกำลังขยาย 40X



หากพบว่ายังมีการปนเปื้อน ให้ทำความสะอาดซ้ำ หรือเพิ่มขั้นตอนการทำความสะอาดด้วยน้ำสบู่ก่อนเช็ดด้วย 95% แอลกอฮอล์

น้ำยาที่ใช้จะต้องกรองก่อนใช้ทุกครั้ง และเก็บไว้ในตู้เย็นที่มีอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อป้องกันไม่ให้ค่าที่ได้สูงกว่าค่าที่แท้จริง

❖ ในการนับเกล็ดเลือดโดยวิธี Rees-Ecker ควรจะเห็นเม็ดเลือดแดงด้วย ถ้าพบว่าเม็ดเลือดแดงแตก แสดงว่าน้ำยาเจือจางเสื่อมคุณภาพ ต้องเตรียมน้ำยาใหม่



❖ ในการนับจำนวนเกล็ดเลือดโดยวิธี Brecher-Cronkite ควรใช้กล้องจุลทรรศน์ชนิด phase contrast ถ้าใช้กล้องจุลทรรศน์ชนิดธรรมดาต้องปรับแสงให้เหมาะสม ไม่สว่างเกินไป และนับด้วยความระมัดระวัง

