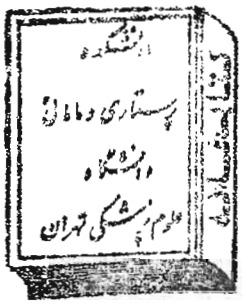
چگونه از داده‌های دستگاههای شمارندهٔ سلولهای خونی* استفاده کنیم؟



دکتر میرطاهر شعبانی‌راد متخصص کلنیکال پاتولوژی- دانشگاه علوم پزشکی تهران

خون بافت سیالی است که از جمعیّت سلولی هتروژنی تشکیل شده‌است. هر یک از رده‌های سلولهای خونی وظایف متفاوتی را بر عهده دارند و به علت گردش مداوم خون در عروق با بافتهای متفاوت بدن تماس حاصل کرده و از پدیده‌های مختلفی که در طی پروسه‌های متابولیک رخ می‌دهند، تأثیر می‌پذیرند و به همین علّت روندهای غیرطبیعی و بیماریزا در بدن موجب بروز واکنشهای سلولهای خونی می‌گردند که این واکنشها از نظر کمیّت و کیفیت بر حسب عامل محرّک با یکدیگر متفاوتند.

از طرف دیگر چون سلولهای‌خونی در انجام وظایف مهمّی نظیر اکسیژناسیون بافتها محیطی و مرکزی، ایفای رل در سیستم ایمنی هموستاز، انعقاد و بسیاری وظایف دیگر نقش اساسی و حیاتی دارند و این طرق به طور متقابل بر روی کلیه سیستمهای بیولوژیک حیاتی بدن تأثیر می‌گذارند، بر مبنای چنین اثرات دو جانبه‌ای است که مطالعهٔ سلولهای خونی می‌تواند در بررسیهای تشخیصی و درمانی مورد استفاده قرار گیرد.

از آنجا که واکنشهای ناشی از هر گونه پدیدهٔ عفونی و یا التهابی در بدن، سریعاً می‌توانند اثرات خود را بر روی سلولهای خونی پدیدار سازند، بنابراین دقّت، صحّت و سرعت در آنالیزهای کمّی و کیفی این سوسپانسیون بافتی می‌تواند در جای خود بسیار کمک کننده باشد.

پیشرفتهای تکنولوژیک روز به روز بر میزان دقت، صحت و سرعت آنالیز دستگاههای شمارندهٔ خونی می‌افزاید و علاوه بر آن می‌تواند داده‌های بیشتر و اندکسهای جدیدی را در ارزیابی یافته‌های خونی عرضه کند. (اندکسهای جدیدی نظیر Myeloperoxidase RDW , HDW , سیتوگرامها و نمودار پراکندگی (Scatter diagram) از جملهٔ این داده‌ها به شمارمی‌روند.)

* Hematologic couter's data

جهت تفسیر داده‌های ماشینهای شمارندهٔ سلولهای خونی و چگونگی استفاده از این داده‌ها ضرورت دارد از مواردی که این دستگاهها به علت مکانیسمهای خاصشان دچار اشتباه می‌گردند آگاهی داشته باشیم. برای ورود به این بحث لازم است ابتدا مروری کوتاه بر مسائلی نظیر نمونه‌گیری (Sampling)، نگهداری (Preservation)، روشهای دستی شمارش سلولهای خونی، مکانیسمهای دستگاههای شمارندهٔ خونی، نحوهٔ محاسبهٔ اندکسهای خونی در این دستگاهها و سایر مراحل پروسه‌های تکنیکی داشته باشیم.

۱- نمونه‌گیری (Sampling)، نگهداری (preservation) و سایر مراحل تکنیکی:

شمارش سلولهای خونی یک تست آزمایشگاهی است و به همین دلیل نظیر تمام پروسه‌های آزمایشگاهی دارای مراحل متفاوتی است. بروز خطا در هر یک از این مراحل و تجمع خطاها از نمونه‌برداری تا گزارش نتیجهٔ آزمایش می‌تواند جواب آزمایش را دچار اختلالات فاحشی نماید.

نمونه‌گیری بایستی در وضعیت خوابیده و پس از حداقل ۲۰- ۱۵ دقیقه استراحت در محیط آزمایشگاه انجام بگیرد. نمونه‌گیری در حالت ایستاده به علت خروج مایع داخل عروقی از رگها موجب تغلیظ خون شده و هماتوکریت را حدود ۱۵- ۱۰٪ بیشتر از مقدار واقعی نشان می‌دهد.

در بیمارانی که دارای کاتترهای وریدی می‌باشند، نمونه‌گیری بایستی در بخشی از ورید که نسبت به کاتتر در وضعیت دیستال قرار دارد انجام بگیرد. در خونگیری مویرگی که بیشتر در نوزادان انجام می‌شود بایستی از فشار بر روی موضع خونگیری خودداری گردد. زیرا موجب ترقیق خون شده و هماتوکریت را به طور کاذب پایین‌تر از مقدار واقعی نشان می‌دهد. ضمناً تجمع پلاکتها در محل نیش لانست، شمارش پلاکت را در این نوع خونگیری دچار اختلال می‌سازد.

پس از نمونه‌گیری بایستی خون را در ظروف شیشه‌ای و یا پلاستیکی که حاوی مادهٔ ضد انعقاد می‌باشد، نگهداری نمود. نوع مادهٔ ضد انعقادی و غلظت آن بایستی با نوع آزمایش مورد نظر و مکانیسمهای سیتوشیمی دستگاه شمارنده و حجم خون نمونه‌گیری شده متناسب باشد.

EDTA مناسبترین مادهٔ ضد انعقاد جهت شمارش سلولهای خونی و تهیهٔ لام خون محیطی است.

ستیرات مادهٔ ضد انعقاد مناسبی جهت انجام آزمایشات انعقادی است و در آزمایشاتی نظیر اسموتیک فراژیلیتی (Osmotic frgility test) که مبنای تغییر اسمولالیته محیط آزمایش می‌باشد بایستی از مادهٔ ضد انعقادی نظیر هپارین استفاده کرد زیرا تغییرات اسمولالیتهٔ ناشی از آن در خون نمونه‌گیری شده بسیار کم است. غلظت مادهٔ ضد انعقاد نیز عامل مهمی در حفظ مرفولوژی سلولهای خونی است.

معمولاً ویالهای شیشه‌ای که جهت انتقال خون به آزمایشگاه مورد استفاده قرار می‌گیرد حاوی مادهٔ ضدانعقاد مناسب جهت ۵-۳ میلی‌لیتر خون می‌باشد. بنابراین حجمهای کمتر از این مقدار موجب می‌شود که مادهٔ ضد انعقاد با غلظت بالاتری در نمونه موجت تغییرات اسمولالیته نمونهٔ خون و اختلالات مرفولوژیک در نمونهٔ مزبور گردد که اثرات ناشی از این پدیده در بخش مربوط به اثرات

اسمولالیته بر روی اندکسهای خونی مورد بحث قرار خواهد گرفت.

استفاده از هپارین در دستگاههایی که مبنای شناخت بازوفیلها بر مبنای رنگ‌پذیری گرانولهای حاوی هپارین به وسیلهٔ Alcian blue می‌باشد، (Hemalog D) ایجاد اختلال می‌کند.

سلولهای خونی پس از نمونه‌گیری تا زمان انجام آزمایش دچار تغییرات کمی و کیفی می‌گردند که بسته به اهمیّت پارامترهای موردنظر بایستی مسئلهٔ گذشت زمان را مد نظر داشت.

سلولهای خونی پس از ۳ ساعت اول نمونه‌گیری دچار تغییرات مرفولوژیک می‌گردند که منجر به افزایش حجم گلبولهای قرمز(MCV) می‌گردد، که این تغییر موجب افزایش کاذب هماتوکریت و کاهش MCHC می‌شود. بنابراین جهت بررسی مورفولوژی سلولی، لام خون محیطی (Peripheral blood smear)بایستی در ساعات اولیه(در ۳-۲ ساعت اوّل) تهیه گردد.

در نمونه‌هایی که از EDTA به عنوان مادهٔ ضد انعقاد استفاده می‌شود، حجم متوسط پلاکتی(MPV) در عرض یک‌ساعت اوّل به مدت ۲۰٪ افزایش می‌یابد و این حجم تا مدّت سه ساعت پس از نمونه‌برداری ثابت می‌ماند. پس در مواقع بررسی فونکسیون و اندکسهای پلاکتی آزمایش بایستی در لحظات اولیه پس از نمونه‌گیری انجام پذیرد.

در صورتی که نمونهٔ خون در یخچال ۴ درجه نگهداری شود، تعداد سلولها تا ۲۴ ساعت ثابت می‌ماند بنابراین شمارش سلولهای خونی حداکثر تا ۲۴ ساعت پس از نمونه‌گیری با رعایت غلظت مادهٔ ضد انعقاد، ارزشمند خواهد بود.

نمونه‌های خون قبل از شمارش بایستی هموژن و یکنواخت گردند و به همین دلیل نمونه‌های خون باید مخلوط شوند. در صورت وجود دستگاه Mixer، ویال حاوی نمونه را به مدت ۲ دقیقه در روی Mixer قرار می‌دهیم. در صورت مخلوط کردن با دست، ویال حاوی خون بایستی ۶۰ بار با حرکات آرام دست، سروته شده و از نظر وجود لختهٔ خون کنترل شود. زیرا وجود لخته هم موجب اختلال در شمارش سلولی خون شده و هم موجب بستن منافذ دستگاهها می‌گردد.

نحوهٔ شمارش سلولهای خونی به متد دستی:

ابتدا خون توسط مکش به داخل میکروپیپتهای خاصی(ملانژور)، توسط نرمال سالین رقیق می‌گردد و سپس مخلوط و بخشی از خون رقیق شده بر روی لامهای هماتوسیتومتر(لام نئوبار) قرار داده می‌شود. لام بایستی به مدت ۲ دقیقه در زیر میکروسکوپ بی‌حرکت باقی بماند تا سلولها بر روی لام ساکن شوند و پس از آن شمارش سلولها انجام می‌پذیرد. هر گونه کوتاهی در مخلوط کردن نمونه و یا عدم دقت در رقیق کردن آن موجب اختلال در جواب آزمایشهای بیمار می‌گردد. هر چند استفاده از دستگاههای اتوماتیک خطاهای ناشی از رقیق شدن نمونه‌ها و خطاهای آماری روشهای دستی را کاهش می‌دهند ولی حفظ روشهای سنتی و ممارست در آنها امری ضروری است. زیرا گاهی اوقات به دلایل مختلف کالیبره کردن

دستگاههای اتوماتیک به کمک روشهای دستی انجام می‌پذیرد و از طرف دیگر به هنگام خرابی دستگاهها، آزمایشگاه جهت انجام آزمایشهای بیماران محتاج روشهای دستی است. افتراق گلبولهای سفید (Diff) با مطالعه میکروسکوپی لامهای تهیه شده از نمونهٔ موردنظر پس از رنگ‌آمیزی انجام می‌شود. ۱۰۰ سلول گلبول سفید در بزرگنمایی ۱۰۰۰x شمرده شده و نسبت رده‌های مختلف سلولی (نوتروفیل، لنفوسیت و...) و مرفولوژی گلبولهای قرمز و سفید گزارش می‌گردد. تعداد پلاکتها نیز بر اساس میانگین تعداد پلاکتها در میدانهای متفاوت و از روی یک جدول مخصوص تعیین می‌گردد.(برای اطلاعات بیشتر به کتب مرجع مراجعه گردد.)

هر اندازه میزان سلولهای شمارش شده جهت افتراق گلبولهای سفید(Diff) بیشتر باشد میزان درصد گزارش شده با ضریب تغییرات کمتر، صحت(Accuracy) بیشتری پیدا می‌کند. به طوری که اگر ۱۰۰۰۰ سلول خونی جهت انجام Diff شمارش شوند درصد گزارش شده با احتمال خطاهای بسیار ناچیزی، درصد واقعی آن سلولها خواهد بود. در مواردی که تعداد سلول شمارش شده کم باشد، برای مثال در شمارش ۱۰۰ سلول گلبول سفید، اگر درصد سلولی صفر گزارش شود، در صد واقعی آن سلول می‌تواند بین ۳۰۶-۰ درصد متغییر باشد و علّت گزارشات متفاوتDiff سلولی برای یک نمونه در زمانهای مختلف و یا در یک زمان توسط افراد متفاوت و یا در دفعات متعدد توسط یک فرد، ناشی از اختلالات آماری و عوامل فیزیولوژیک دیگر می‌باشد.(جدول شماره ۱)

دستگاههای اتوماتیک با شمردن تعداد فراوان سلول انحرافات آماری را به میزان قابل ملاحظه‌ای کاهش می‌دهند از طرف دیگر به علت مشکلات ناشی از مکانیسمهای دستگاههای شمارنده چک کردن نتایج حاصل از دستگاهها در لام خون محیطی توسط تکنسین مجرّب امری ضروری است و ادغام نتایج حاصل در انجام آزمایشات شمارش سلولهای خونی را به حداقل می‌رساند.

Reference:

1. Clinecal Diagnosis and management by laboratory methods 1991 J.B. Henry
2. Laboratory Hematology, 1. Chanarin 1989
3. Clinical lab. medicine fifth. Edition RICHARD RAVEL
4. Manual catalog of coulter systems
5. Reference catalog of H1(Techru'con)
6. Text book of thematology, willians 1990

حضرت رسول اکرم (ص)

هیچ جامعه‌ای از سه کس بی‌نیاز نیست که در کار دنیا و آخرت بدانها پناه برد
فقیه دانشمند پارسا، حکمرانی خیرخواه و فرمانروا و طبیبی حاذق و مورد اعتماد.

معاونت امور فرهنگی. حقوقی و مجلس
وزارت بهداشت. درمان و آموزش پزشکی

بمناسبت برگزاری اولین کنگره بین‌المللی اخلاق پزشکی
۲۵-۲۳ تیرماه ۱۳۷۲