

بررسی ضرورت کنترل کیفی دستگاه‌های شمارنده سلول‌های خونی در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی

^۱ دکتر وحید چنگیزی*، ^۲ سیده معصومه میرعشق ا.، ^۳ دکتر سید جواد قاضی میر سعید

استادیار گروه آموزشی تکنولوژی رادیولوژی و رادیوتراپی دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران
کارشناس علوم آزمایشگاهی، اداره آموزش دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران
استادیار گروه آموزشی کتابداری و اطلاع رسانی پزشکی دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران

چکیده

زمینه و هدف: یکی از شاخص‌های سلامت در انسان، طبیعی بودن تعداد و ابعاد سلول‌های خونی است. بنابراین بررسی تعداد و ابعاد سلول‌های خونی می‌تواند عامل مهمی در تشخیص بیماریها باشد. امروزه دستگاه‌های شمارنده سلول‌های خونی برای شمارش و تعیین غلظت عوامل خونی به طور گسترده استفاده می‌شوند. عدم اجرای کنترل کیفی این سیستم‌ها سبب محاسبات نادرست و ارائه نتایج نادرست و تشخیص اشتباه خواهند شد. هدف از این مطالعه بررسی ضرورت کنترل کیفی دستگاه‌های شمارنده سلول‌های خونی در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی می‌باشد.

روش بررسی: این مطالعه تجربی و در محیط آزمایشگاه به بررسی کنترل کیفی دستگاه‌های شمارنده سلول‌های خونی پرداخت. در این مطالعه میزان گلبول‌های سفید (WBC)، قرمز (RBC)، هموگلوبین (Hb)، هماتوکریت (HCT) و همچنین حجم متوسط سلولی (MCV)، غلظت متوسط هموگلوبین سلولی (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین در حجمی از گلبول‌های قرمز (MCHC) با روش استاندارد Brittin روی شش دستگاه مورد ارزیابی قرار گرفتند. داده‌ها قبل و بعد از اعمال کنترل کیفی جمع‌آوری می‌گشتند و با روش آزمون آماری t- student و نرم افزار SPSS مورد آنالیز می‌شدند.

یافته‌ها: با کنترل مقادیر عوامل خونی شامل میزان گلبول‌های سفید، قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت و همچنین حجم متوسط سلولی، غلظت متوسط هموگلوبین سلولی و غلظت متوسط هموگلوبین در حجمی از گلبول‌های قرمز مرکز انتخابی دارای ناهمگونی جواب در یک با چند عامل تکرار آزمون در دو روز متوالی بودند ($P < 0.05$).

نتیجه‌گیری: با انجام کنترل کیفی دستگاه‌های شمارنده سلول‌های خونی می‌توان عدم صحت جواب دستگاه‌های شمارنده سلول‌های خونی را ارزیابی کرد. بدین ترتیب مسیر تشخیص بیماری را اصلاح کرد. عوامل ایجادکننده خطا در این مطالعه شامل خطا در حجم نمونه، عوامل بیولوژیکی، خطای رقیق‌سازی و به کارگیری محلول نامناسب بودند.

کلیدواژه‌ها: کنترل کیفی - سلول‌های خونی - تست بریتین

وصول مقاله ۸۵/۷/۱۰ اصلاح نهایی ۸۶/۴/۱۵ پذیرش نهایی ۸۶/۶/۲۵

*نویسنده مسئول: دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده پیراپزشکی. e-mail: changizi@sina.tums.ac.ir

مقدمه

یکی از شاخص‌های سلامت در انسان طبیعی بودن تعداد و ابعاد سلول‌های خونی است. بنابراین بررسی تعداد و ابعاد سلول‌های خونی میتواند عامل مهمی در

تشخیص بیماریها باشد.

۱۰-۱٪ وزن کل بدن فرد بالغ را خون تشکیل میدهد که این میزان در افراد میانسال به ۵-۶٪ وزن کل بدن می‌رسد. سلول‌های خونی اعم از گلبول‌های

سبب محاسبات نادرست و ارائه نتایج نادرست و تشخیص اشتباه خواهند شد. Barnard و همکارانش در سال ۱۹۶۹ ارزیابی وسیعی از کولتر کانتر مدل (S) به عمل آوردند. آنها توسط تکرار آزمایش روی یک نمونه خون قابلیت دستیابی مجدد به پاسخ را تایید کردند. (۲)، England و همکاران در سال ۱۹۷۹ نشان دادند نقص کالیبراسیون باعث خطا در اندازه گیری حجم متوسط سلولی میگردد. (۳)، Beautyman و همکاران در سال ۱۹۸۲ عنوان کردند با عدم انجام کنترل کیفی نتایج کاذب شمارش هماتوکریت و حجم متوسط سلولی حاصل می گردند. (۴)، ارزیابی کنترل کیفی عوامل خونی حتی در تجویز میزان دز تعدادی از داروهای درمانی تاثیر دارند. (۵)، تاکرولیموس برای درمان کم خونی استفاده می شود. Homma و همکاران در سال ۲۰۰۲ مشخص کردند زمانی که سطح هماتوکریت پائین باشد خطا در تعیین غلظت تاکرولیموس رخ می دهد. (۶)، بر این اساس این مطالعه به بررسی ضرورت کنترل کیفی تعدادی از دستگاههای شمارنده سلول های خونی مراکز آزمایشگاهی انتخابی پرداخت.

روش بررسی

این مطالعه تجربی و در محیط آزمایشگاه به بررسی کنترل کیفی دستگاههای شمارنده سلول های خونی پرداخت. در این مطالعه برای بررسی کنترل کیفی دستگاههای شمارنده سلول های خونی میزان گلبول های سفید (WBC)، قرمز (RBC)، هموگلوبین (Hb)، هماتوکریت (HCT) و همچنین حجم متوسط سلولی (MCV)، غلظت متوسط هموگلوبین سلولی (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین در حجمی از گلبول های قرمز (MCHC) مورد ارزیابی قرار گرفتند. در

قرمز (اریتروسیت ها)، گلبول های سفید (لکوسیت ها) و پلاکت ها (ترمبوسیت ها) به صورت معلق در مایعی به نام پلاسما قرار گرفته اند، به طوری که ۴۵٪ خون کامل حاوی سلول های خونی و ۵۵٪ حاوی پلاسما می باشد. گلبول های قرمز خون بدون هسته و به شکل دیسکی با دوسطح مقعر بوده که دارای قطر متوسطی حدود ۷/۵ میکرون و ضخامتی حدود ۱/۷ میکرون هستند. تعداد این سلول ها در مردان حدود ۵/۵ میلیون در هر میلی متر مکعب خون و در زنان حدود پنج میلیون در هر میلی متر مکعب خون است. گلبول های سفید خون سلول های هسته دار کروی شکل هستند که تقریباً در هر میلی متر مکعب خون تعداد پنج تا ده هزار از آنها وجود دارد. پلاکت ها معمولاً ریز، گرد، کشیده و یا به شکل نامنظم با قطر تقریبی دو میکرون می باشند. معمولاً در هر میلی متر مکعب خون ۲۵۰-۷۵۰ هزار پلاکت وجود دارد. (۱)

در گذشته از روشهای دستی جهت شمارش سلول های خونی استفاده می شد، اما به دلیل آنکه این روشها بسیار وقت گیر بوده و از دقت کمی نیز برخوردارند، محققان پس از سالها تلاش توانستند دستگاههای شمارنده سلول های خونی را عرضه دارند. این دستگاهها امروزه به صورت گسترده ای در جهان مورد استفاده قرار می گیرند و اصول کار آنها بر دو اساس استوار است: ۱- جذب و تفرق نور

مانند دستگاههای تکنیکون، H_{1000} و H_1

۲- اختلاف پتانسیل بین دو الکترود در سیستم های مقاومتی مانند انواع کولترکانتر

مزیت استفاده از دستگاههای شمارنده سلول های خونی دقت و سرعت عمل آنها می باشد. اما توجه به این نکته ضروری است که عدم اجرای کالیبراسیون صحیح و عدم بررسی کنترل کیفی این سیستم ها

آماري از آزمون t- Student (paired samples t) و نرم افزار SPSS استفاده شد. با استفاده از این آزمون میانگین نتایج هر عامل در دو روز مقایسه می شدند تا اختلاف آنها از نظر معنا دار بودن ($P < .05$) یا معنا دار نبودن ($P > .05$) مورد ارزیابی واقع گردند. طبعاً با معنا دار بودن اختلاف میانگین ها می توان به بروز اشکال در عملکرد دستگاهها پی برد. آزمون در شش مرکز متفاوت که دارای دستگاههای شمارنده های خونی با مارکهای Coulter-Coulter S1-Sysmex k1000 و AL827-S8 و ABX و برحسب داوطلب بودن آنها صورت گرفت.

یافته ها

روش Brittin روی شش دستگاه شمارنده سلول خونی انجام شد و نتایج طی جداول ۱ تا ۴ به تفکیک دستگاههای تحت آزمون مرتب و نشان داده شده اند. شایان ذکر است دستگاهها با نام مشابه با کدهای ۱ و ۲ تفکیک گشته اند. در این جداول میزان گلبول های سفید (WBC)، قرمز (RBC)، هموگلوبین (Hb)، هماتوکریت (HCT) و همچنین حجم متوسط سلولی (MCV)، غلظت متوسط هموگلوبین سلولی (MCH) و غلظت متوسط هموگلوبین در حجمی از گلبول های قرمز (MCHC) قبل و بعد از اعمال کنترل کیفی مورد ارزیابی قرار گرفته اند. براساس میزان P value می توان دریافت که شش دستگاه تحت آزمون در یک یا چند عامل خارج از استاندارد عمل می نمایند ($P < 0.05$).

ارزیابی کنترل کیفی عوامل حجم متوسط سلولی، غلظت متوسط هموگلوبین سلولی و غلظت متوسط هموگلوبین در حجمی از گلبول های قرمز به صورت زیر تعریف می گردند.

۱- حجم متوسط سلولی (MCV) با نسبت حجم سلولی فشرده به تعداد گلبول های قرمز در یک لیتر خون مشخص میشود.

۲- غلظت متوسط هموگلوبین سلولی (MCH) عبارت از نسبت میزان هموگلوبین (گرم بر دسی لیتر) به تعداد گلبولهای قرمز خون در یک لیتر خون میباشد.

۳- غلظت متوسط هموگلوبین در حجمی از گلبولهای قرمز (MCHC) به صورت نسبت میزان هموگلوبین (گرم بر دسی لیتر) به حجم سلولی فشرده تعریف می گردد.

در این مطالعه کنترل کیفی دستگاههای شمارنده سلول خونی با روش استاندارد Brittin صورت پذیرفت. روش Brittin با این اصل انجام می گیرد که میزان گلبول های سفید، قرمز، هموگلوبین، هماتو-کریت، MCV، MCH و MCHC در نمونه خون حاوی EDTA در دمای چهار درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت پایدار هستند. بر این اساس می توان در روز اول حداقل پنج نمونه و ترجیحاً ده نمونه را که دارای مقادیر هماتولوژیک طبیعی هستند، انتخاب کرده و در یخچال نگهداری کرد. سپس در روز دوم آزمایش را تکرار نمود. برای به دست آوردن نتایج آماری بهتر در این پروژه تعداد ده نمونه انتخاب گردید و برای ارزیابی

جدول ۱: نتایج میانگین عوامل کنترل کیفی در روزهای اول و دوم برای دستگاه Sysmex k1000 در مراکز با کدهای ۲و۱

نوع عامل کنترل کیفی	نتایج روز اول برای ۱۰ نمونه		نتایج روز دوم برای ۱۰ نمونه		مقدار P
	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	
WBC	(۱) ۷/۴۸	۱/۸۸	(۱) ۷/۳۵	۱/۷۴	$P > .05$
	(۲) ۶/۰۷	۰/۹۴	(۲) ۵/۸	۰/۹۸	$P > .05$
RBC	(۱) ۴/۷۷	۰/۴۹	(۱) ۴/۷۹	۰/۴۸	$P > .05$
	(۲) ۴/۹۱	۰/۲۶	(۲) ۴/۷	۰/۴۵	$P < .05$
Hb	(۱) ۱۳/۲۹	۲/۳۶	(۱) ۱۳/۲۹	۲/۳۳	$P > .05$
	(۲) ۱۴/۳	۱/۰۶	(۲) ۱۳/۸	۱/۳۳	$P > .05$
HCT	(۱) ۴۰/۱۳	۶/۰۸	(۱) ۴۰/۲۶	۵/۶۵	$P > .05$
	(۲) ۴۱/۷	۲/۹	(۱۱) ۴۰/۱	۴/۴	$P < .05$
MCV	(۱) ۸۴/۹۶	۲/۶۴	(۱) ۸۴/۰۸	۲/۵۸	$P > .05$
	(۲) ۸۴/۸	۳/۶۱	(۲) ۸۴/۴	۳/۶۹	$P > .05$
MCH	(۱) ۲۷/۷	۱/۰۳	(۱) ۲۷/۶۶	۱/۰۸	$P > .05$
	(۲) ۲۹/۱۲	۱/۶۶	(۲) ۲۹/۲۷	۱/۷	$P > .05$
MCHC	(۱) ۳۳	۰/۴۴	(۱) ۳۲/۸۴	۰/۵۲	$P > .05$
	(۲) ۳۴/۳	۰/۷۷	(۲) ۳۴/۶۸	۱/۱۶	$P > .05$

جدول ۲: نتایج میانگین عوامل کنترل کیفی در روزهای اول و دوم برای دستگاههای Coulter S1 و Coulter S8 در مرکز به ترتیب با کدهای

۲و۱

نوع عامل کنترل کیفی	نتایج روز اول برای ۱۰ نمونه		نتایج روز دوم برای ۱۰ نمونه		مقدار P
	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	
WBC	(۱) ۸/۷	۵/۳	(۱) ۹/۱	۵/۸	$P < .05$
	(۲) ۶/۴۴	۱/۳	(۲) ۷/۰۴	۱/۴۷	$P < .05$
RBC	(۱) ۴/۵۲	۰/۳۵	(۱) ۴/۶	۰/۴	$P < .05$
	(۲) ۴/۹	۰/۱۳	(۲) ۵/۰۴	۰/۲۲	$P > .05$
Hb	(۱) ۱۳/۹	۰/۶۹	(۱) ۱۳/۴	۰/۷۳	$P < .05$
	(۲) ۱۴/۱۳	۰/۹۱	(۲) ۱۴/۴۹	۱/۷۱	$P > .05$
HCT	(۱) ۴۱/۷	۲/۱۷	(۱) ۴۱/۳	۲/۸۵	$P > .05$
	(۲) ۴۱/۷۶	۲/۷	(۲) ۴۲/۴	۵/۳	$P > .05$
MCV	(۱) ۹۴/۴	۴/۱	(۱) ۹۷/۵	۳/۸	$P < .05$
	(۲) ۸۵/۴۵	۳/۸	(۲) ۸۵/۵۵	۳	$P > .05$
MCH	(۱) ۲۹/۹	۱/۲۹	(۱) ۲۹/۹۲	۱/۱۷	$P > .05$
	(۲) ۲۸/۹۲	۱/۵	(۲) ۲۸/۹۱	۱/۴۷	$P > .05$
MCHC	(۱) ۳۰/۲	۳/۵	(۱) ۳۰/۳۸	۰/۴	$P > .05$
	(۲) ۳۳/۸۶	۰/۶۴	(۲) ۳۴/۲۱	۰/۳۸	$P > .05$

جدول ۳: نتایج میانگین عوامل کنترل کیفی در روزهای اول و دوم برای دستگاه AL827 در مرکز با کد ۴

نوع عامل کنترل کیفی	نتایج روز اول برای ۱۰ نمونه		نتایج روز دوم برای ۱۰ نمونه		مقدار P
	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	
WBC	۷/۳۹	۲/۶۹	۹/۴۹	۲/۶۸	$P < .05$
RBC	۴/۶۸	.۳۵	۵/۱۸	.۴۴	$P < .05$
Hb	۱۳/۷۶	.۴۱	۱۵/۱۷	.۸۸	$P < .05$
HCT	۴۲/۷	۱/۱۵	۴۵/۶	۲/۷	$P < .05$
MCV	۹۱/۵	۶/۵۲	۸۸/۳	۵/۱	$P > .05$
MCH	۲۴/۵۱	۲/۵	۳۰/۱	۳/۵	$P > .05$
MCHC	۳۲/۲۱	.۹۸	۳۳/۱۶	.۵	$P < .05$

جدول ۴: نتایج میانگین عوامل کنترل کیفی در روزهای اول و دوم برای دستگاه ABX در مرکز با کد ۵

نوع عامل کنترل کیفی	نتایج روز اول برای ۱۰ نمونه		نتایج روز دوم برای ۱۰ نمونه		مقدار P
	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	
WBC	۷/۶۶	۲/۴۶	۷/۹۹	۲/۵۳	$P < .05$
RBC	۴/۷۶	.۳۵	۵/۱۴	.۳۹	$P < .05$
Hb	۱۵/۰۵	.۳۹	۱۴/۹۸	.۳۳	$P > .05$
HCT	۴۴/۷۶	۱/۷۶	۴۶/۸۵	۱/۵۱	$P < .05$
MCV	۹۴/۴	۵/۹	۹۱/۸	۶/۲۱	$P > .05$
MCH	۳۱/۶۷	۲/۱	۲۹/۲۶	۱/۹	$P < .05$
MCHC	۳۳/۶۲	۱/۲	۳۱/۹۴	.۶۴	$P < .05$

بحث

عدم وجود نتایج مطلوب در چهار دستگاه مورد آزمون حاکی از این موضوع است که کیفیت عملکرد دستگاههای شمارنده سلول های خونی به دلیل عدم توجه به کنترل کیفی آنها می باشد. نتایج این مطالعه مشابه تحقیق Barnard و همکارانش. (۲)، نشان داد در صورت انجام کنترل کیفی با تکرار آزمون می توان به نتایج مشابهی دست یافت. همچنین همانند England و همکاران و Beautyman و همکاران. (۳-۴)، نشان داده شد که عدم

اجرای کنترل کیفی خطا در داده های خروجی را سبب خواهد شد. با این نتایج می توان دریافت همان طور که Halide و همکاران. (۵) و Homma و همکاران. (۶)، نقش صحیح بودن داده های خروجی در درمان را ذکر کردند، عدم انجام کنترل کیفی می تواند در منحرف کردن درمان نیز نقش داشته باشد. با بررسیهای انجام شده مشخص شد که بعضی از کارکنان از ضرورت و نحوه انجام کنترل کیفی دستگاههای شمارنده سلول های خونی اطلاعی ندارند. بدین ترتیب

نتیجه گیری

با انجام کنترل کیفی با روش Brittin روی شش دستگاه شمارنده سلول های خونی در شش مرکز آزمایشگاه تشخیص طبی مشخص گردید میزان گلبول های سفید (WBC) در چهار دستگاه، گلبول های قرمز (RBC) در چهار دستگاه، هموگلوبین (Hb) در دو دستگاه، هماتو-کریت (HCT) در سه دستگاه و همچنین حجم متوسط سلولی (MCV) در یک دستگاه، غلظت متوسط همو-گلوبین سلولی (MCH) در یک دستگاه و غلظت متوسط هموگلوبین در حجمی از گلبول های قرمز (MCHC) در دو دستگاه با تکرار آزمون اختلاف معنی داری را نشان می دهند. در نهایت این مطالعه نشان داد انجام کنترل کیفی برای بررسی کیفیت عملکرد دستگاههای شمارنده سلول های خونی و صحیح بودن داده های خروجی آنها کاملا ضروری است و تشخیص بیماری در مسیر صحیح قرار می گیرد. در این خصوص طراحی جداول لازم برای ثبت نتایج کنترل کیفی با درج تاریخ انجام توصیه می شود.

ضرورت برگزاری کارگاههای کنترل کیفی ضروری به نظر می رسد. ارزیابی دستگاهها در حین اجرای آزمون های کنترل کیفی نشان دادند که عوامل مهم ایجاد خطا در نتایج نهایی عبارت از خطا در حجم نمونه، عوامل بیولوژیکی (فاکتورهای مانند تغییر شکل سلول ها در محلول های رقیق شده)، خطای رقیق سازی می باشند. با وجود این خطا ها با تکرار آزمایشها نتایج متفاوتی مشاهده می گردیدند. در مورد خطای رقیق سازی عدم دقت لازم در تهیه سوسپانسیون حاوی ذرات را عامل مهمی می توان نام برد. بنابراین توصیه می گردد سوسپانسیون ذرات با دقت بالا تهیه شود. ضمن اینکه محلول ها باید طبیعی باشند تا سلول ها چروکیده یا متورم نشوند. زیرا این پدیده می تواند خطای عوامل بیولوژیکی را افزایش دهد. دو دستگاه تغییرات MCV را با تکرار آزمون نشان دادند. از آنجا که به کارگیری محلول های نامناسب از نظر ایزوتون نبودن، PH و مقاومت الکتریکی می تواند علت این خطا باشد، بررسی استاندارد بودن محلول به کارگیری شده توصیه میشود.

REFERENCES

1. Khandpour RS. Handbook of Biomedical Instrumentation, Sixth edition. TATA McGraw Hill Company, 1993.
2. Barnard DF, Carter AB, Crosland P.J. An Evaluation of the Coulter Model S. J. Clin. Path. 1969; 22: 26-29.
3. England JM, Bashford CC, Hewer MG, Hughes-Jones NC, Fimlt MC. Semiautomatic Instrument for Estimating the Differential Leucocyte Count. Biomed Eng. 1975; 10(8):303-4.
4. Helleman PW, Benjamin CJ. The Toa micro cell counter. I: A study of the correlation between the volume of erythrocytes and their frequency distribution curve. Scand J Haematol 1969; 6(1):69-76.
5. Akbas SH, Ozdem S, Caglar S, Tuncer M, Gurkan A, Yucetin L, Senol Y, Demirbas A, Gultekin M, Ersoy FF, Akaydin M. Effects of some hematological parameters on whole blood tacrolimus concentration measured by two immunoassay-based analytical methods. Journal of Clinical Biochemistry, 2005; 38(6):552-7.
6. Homma M, Tomita T, Yuzawa K, Takada Y, Kohda Y. False positive blood tacrolimus concentration in microparticle enzyme immunoassay. Biol Pharm Bull. 2002; 25(8):1119-20.