مجله پیاورد سلامت / دوره ۱ / شماره ۱ / پائیز ۱۳۸٦، ۳۹-٤٤

تحقیقی

بررسی ضرورت کنترل کیفی دستگاههای شمارنده سلول های خونی در آزمایشگاههای تشخیص طبی

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

[۱]استادیار گروه آموزشی تکنولوژی رادیولوژی و رادیوتراپی دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران
[۲]کارشناس علوم آزمایشگاهی، اداره آموزش دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران
[۳]استادیار گروه آموزشی کتابداری واطلاع رسانی پزشکی دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران

Downloaded from payavard.tums.ac.ir at 20:28 IRST on Thursday October 19th 2017

چکیده

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

روش بررسی: این مطالعه تجربی و در محیط آزمایشگاه به بررسی کنترل کیفی دستگاههای شمارنده سلول های خونی پرداخت. در این مطالعه 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) با روش استاندارد Brittin روی شش دستگاه مورد ارزیابی قرار گرفتند. داده ها قبل و بعد از اعمال کنترل کیفی جمع آوری می گشتند و با روش آزمون آماری t- student و نرم افزار SPSS مورد آنالیز می شدند.

یافته ها: با کنترل مقادیرعوامل خونی شامل میزان گلبول های سفید، قرمز ، هموگلوبین ، هماتوکریت و همچنین حجم متوسط سلولی ، غلظت متوسط هموگلوبین سلولی و غلظت متوسط هموگلوبین در حجمی از گلبول های قرمزشش مرکز انتخابی دارای ناهمگونی جواب در یک با چند عامل تکرار آزمون دردو روز متوالی بودند($P<./۰۵$).

نتیجه گیری: با انجام کنترل کیفی دستگاههای شمارنده سلول های خونی می توان عدم صحت جواب دستگاههای شمارنده سلول های خونی را ارزیابی کرد. بدین ترتیب مسیر تشخیص بیماری را اصلاح کرد. عوامل ایجاد کننده خطا در این مطالعه شامل خطا در حجم نمونه، عوامل بیولوژیکی ، خطای رقیق سازی و به کارگیری محلول نا مناسب بودند.

کلید واژه ها: کنترل کیفی- سلول های خونی- تست بریتین

وصول مقاله ۸۵/۷/۱۰ اصلاح نهایی ۸٦/٤/۱۵ پذیرش نهایی ۸٦/٦/۲۵

***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 سلول های خونی است. بنابراین بررسی تعداد و ابعاد سلولهای خونی میتواند عامل مهمی در تشخیص بیماریها باشد.

۵٪-۱۰٪ وزن کل بدن فرد بالغ را خون تشکیل میدهد که این میزان در افراد میانسال به ۵٪-٦٪ وزن کل بدن می رسد. سلول های خونی اعم از گلبول های

Downloaded from payavard.tums.ac.ir at 20:28 IRST on Thursday October 19th 2017

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 ٤٥٪ خون کامل حاوی سلول های خونی و ٥٥٪ حاوی پلاسما می باشد. گلبول های قرمز خون بدون هسته و به شکل دیسکی با دوسطح مقعر بوده که دارای قطر متوسطی حدود ٧/٥ میکرون و ضخامتی حدود ١/٧ میکرون هستند. تعداد این سلول ها در مردان حدود ٥/٥ 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 تقریبا در هر میلی متر مکعب خون تعداد پنج تا ده هزار از آنها وجود دارد. پلاکت ها معمولا ریز، گرد، کشیده و یا به شکل نامنظم با قطر تقریبی دو میکرون می باشند. معمولا در هر میلی متر مکعب خون ٢٥٠- ٧٥٠ هزار پلاکت وجود دارد. (١)

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: ١- جذب و تفرق نور مانند دستگاههای تکنیکون، H_1 و H_{1000}

٢- 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 سبب محاسبات نادرست و ارائه نتایج نادرست و تشخیص اشتباه خواهند شد. Barnard و همکارانش در سال ١٩٦٩ 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. (٢)، England و همکاران در سال ١٩٧٩ نشان دادند نقص کالیبراسیون باعث خطا در اندازه گیری حجم متوسط سلولی میگردد. (٣)، Beautyman و همکاران در سال ١٩٨٢عنوان کردند با عدم انجام کنترل کیفی نتایج کاذب شمارش هماتوکریت و حجم متوسط سلولی حاصل می گردند. (٤)، ارزیابی کنترل کیفی عوامل خونی حتی در تجویز میزان دز تعدادی از داروهای درمانی تاثیر دارند. (٥)، تاکرولیموس برای درمان کم خونی استفاده می شود. Homma و همکاران در سال ٢٠٠٢ مشخص کردند زمانی که سطح هماتوکریت پائین باشد خطا در تعیین غلظت تاکرولیموس رخ می دهد. (٦)، 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

Downloaded from payavard.tums.ac.ir at 20:28 IRST on Thursday October 19th 2017

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 ٢٤ ساعت پایدار هستند. بر این اساس می توان در روز اول حداقل پنج نمونه و ترجیحا 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 آماری 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< ./.٥) یا معنا دار نبودن (P> ./.٥) مورد ارزیابی واقع گردند. طبعا با معنا دار بودن اختلاف میانگین ها می توان به بروز اشکال در عملکرد دستگاهها پی برد. آزمون در شش مرکز متفاوت که دارای دستگاهای شمارنده های خونی با مارکهای Coulter –Coulter S1–Sysmex k1000 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 ٤ به تفکیک دستگاههای تحت آزمون مرتب و نشان داده شده اند. شایان ذکر است دستگاهاا 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 میزانP value می توان دریافت که شش دستگاه تحت آزمون در یک یا چند عامل خارج از استاندارد عمل می نمایند ($P<$ ۰/۰۵).

Downloaded from payavard.tums.ac.ir at 20:28 IRST on Thursday October 19th 2017

جدول ۱: نتایج میانگین عوامل کنترل کیفی در روزهای اول و دوم برای دستگاه Sysmex k1000 در مراکز با کدهای ۱و۲

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*>۰/۰۵
	(۲)۶/۰۷	۰/۹۴	(۲) ۵/۸	./۹۸	*P*>۰/۰۵
RBC	(۱) ۴/۷۷	./۴۹	(۱) ۴/۷۹	./۴۸	*P*>۰/۰۵
	(۲)۴/۹۱	./۲۶	(۲) ۴/۷	./۴۵	*P*<۰/۰۵
Hb	(۱)۱۳/۲۹	۲/۳۶	(۱)۱۳/۲۹	۲/۳۳	*P*>۰/۰۵
	(۲) ۱۴/۳	۱/۰۶	(۲) ۱۳/۸	۱/۳۳	*P*>۰/۰۵
HCT	(۱)۴۰/۱۳	۶/۰۸	(۱)۴۰/۲۶	۵/۶۵	*P*>۰/۰۵
	(۲)۴۱/۷	۲/۹	(۱۱)۴۰/۱	۴/۴	*P*<۰/۰۵
MCV	(۱)۸۴/۹۶	۲/۶۴	(۱)۸۴/۰۸	۲/۵۸	*P*>۰/۰۵
	(۲)۸۴/۸	۳/۶۱	(۲) ۸۴/۴	۳/۶۹	*P*>۰/۰۵
MCH	(۱)۲۷/۷	۱/۰۳	(۱)۲۷/۶۶	۱/۰۸	*P*>۰/۰۵
	(۲)۲۹/۱۲	۱/۶۶	(۲)۲۹/۲۷	۱/۷	*P*>۰/۰۵
MCHC	(۱)۳۳	./۴۴	(۱)۳۲/۸۴	./۵۲	*P*>۰/۰۵
	(۲)۳۴/۳	./۷۷	(۲)۳۴/۶۸	۱/۱۶	*P*>۰/۰۵

جدول۲: نتایج میانگین عوامل کنترل کیفی در روزهای اول و دوم برای دستگاههای Coulter S1 و Coulter S8 در مرکز به ترتیب با کدهای ۱و۲

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	۰/۰۵*P*<
	(۲) ۶/۴۴	۱/۳	(۲)۷/۰۴	۱/۴۷	۰/۰۵*P*<
RBC	(۱)۴/۵۲	./۳۵	(۱)۴/۶	./۴	۰/۰۵*P*<
	(۲)۴/۹	./۱۳	(۲)۵/۰۴	./۲۲	۰/۰۵*P*>
Hb	(۱)۱۳/۹	./۶۹	(۱)۱۳/۴	./۷۳	۰/۰۵*P*<
	(۲)۱۴/۱۳	./۹۱	(۲)۱۴/۴۹	۱/۷۱	۰/۰۵*P*>
HCT	(۱)۴۱/۷	۲/۱۷	(۱)۴۱/۳	۲/۸۵	۰/۰۵*P*>
	(۲)۴۱/۷۶	۲/۷	(۲)۴۲/۴	۵/۳	۰/۰۵*P*>
MCV	(۱)۹۴/۴	۴/۱	(۱)۹۷/۵	۳/۸	۰/۰۵*P*<
	(۲)۸۵/۴۵	۳/۸	(۲)۸۵/۵۵	۳	۰/۰۵P>
MCH	(۱)۲۹/۹	۱/۲۹	(۱)۲۹/۹۲	۱/۱۷	۰/۰۵*P*>
	(۲)۲۸/۹۲	۱/۵	(۲)۲۸/۹۱	۱/۴۷	۰/۰۵*P*>
MCHC	(۱)۳۰/۲	۳/۵	(۱)۳۰/۳۸	./۴	۰/۰۵*P*>
	(۲)۳۳/۸۶	./۶۴	(۲)۳۴/۲۱	./۳۸	۰/۰۵*P*>

Downloaded from payavard.tums.ac.ir at 20:28 IRST on Thursday October 19th 2017

جدول ٣: نتایج میانگین عوامل کنترل کیفی در روزهای اول و دوم برای دستگاه AL827 در مرکز با کد ٤

نوع عامل کنترل کیفی	نتایج روز اول برای ١٠ نمونه		نتایج روز دوم برای ١٠ نمونه		مقدار *P*
	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	
WBC	٧/٣٩	٢/٦٩	٩/٤٩	٢/٦٨	*P*<٠/٠٥
RBC	٤/٦٨	./٣٥	٥/١٨	./٤٤	*P*<٠/٠٥
Hb	١٣/٧٦	./٤١	١٥/١٧	./٨٨	*P*<٠/٠٥
HCT	٤٢/٧	١/١٥	٤٥/٦	٢/٧	*P*<٠/٠٥
MCV	٩١/٥	٦/٥٢	٨٨/٣	٥/١	*P*>٠/.٥
MCH	٢٤/٥١	٢/٥	٣٠/١	٣/٥	*P*>٠/.٥
MCHC	٣٢/٢١	./٩٨	٣٣/١٦	./٥	*P*<٠/.٥

جدول ٤: نتایج میانگین عوامل کنترل کیفی در روزهای اول و دوم برای دستگاه ABX در مرکز با کد ٥

نوع عامل کنترل کیفی	نتایج روز اول برای ١٠ نمونه		نتایج روز دوم برای ١٠ نمونه		مقدار *P*
	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	
WBC	٧/٦٦	٢/٤٦	٧/٩٩	٢/٥٣	*P*<٠/٠٥
RBC	٤/٧٦	./٣٥	٥/١٤	./٣٩	*P*<٠/٠٥
Hb	١٥/٠٥	./٣٩	١٤/٩٨	./٣٣	*P*>٠/.٥
HCT	٤٤/٧٦	١/٧٦	٤٦/٨٥	١/٥١	*P*<٠/٠٥
MCV	٩٤/٤	٥/٩	٩١/٨	٦/٢١	*P*>٠/٠٥
MCH	٣١/٦٧	٢/١	٢٩/٢٦	١/٩	*P*<٠/٠٥
MCHC	٣٣/٦٢	١/٢	٣١/٩٤	./٦٤	*P*<٠/٠٥

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. (٢)، 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. (٣-٤)، 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 Halideوهمکاران. (٥) وHomma و همکاران. (٦)، نقش صحیح بودن داده های خروجی در درمان را ذکرکردند، 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

Downloaded from payavard.tums.ac.ir at 20:28 IRST on Thursday October 19th 2017

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 (فاکتورهایی 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.

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 معنا داری را نشان میدهند. در نهایت این مطالعه نشان دادانجام کنترل کیفی برای بررسی کیفیت عملکرد دستگاههای شمارنده سلول های خونی و صحییح 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.

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.