

کار با دستگاه سل کانتر H1

معرفی

دستگاه H1 دستگاهی تمام اتوماتیک است، که قادر به اندازه گیری ۳۳ پارامتر مختلف خونی فقط با استفاده از ۱۰۰ میکرولیتر خون کامل با سرعت ۸۰-۶۰ نمونه در ساعت می باشد امروزه برای انجام CBC از دستگاههای شمارشگر سلولی استفاده می شود. اولین دستگاههای آنالیزور در خون شناسی که بر مبنای امپدانس الکتریکی عمل می کردند، فقط قادر به اندازه گیری چند پارامتر ساده مانند شمارش تعداد کل WBC، RBC، PLT و اندازه گیری Hb، Hct، MCV، MCH و MCHC بودند. یکی از پیشرفته ترین دستگاههای شمارشگر که تاکنون ساخته شده است دستگاه H1 می باشد که توسط کمپانی Technicon به بازار عرضه گردیده است. با توجه به اینکه خوشبختانه از حدود ۱۵ سال پیش این دستگاه در بیمارستان امام رضا(ع) مشهد موجود بوده و دستگاه پیشرفته ای می باشد که قادر به اندازه گیری پارامترهای متفاوتی در مورد RBC، WBC و پلاکت است که در صورت آشنایی با آنها، تفسیر CBC انجام شده توسط سایر دستگاههای شمارشگر نیز آسان خواهد بود بنابراین بیشتر در مورد پارامترهای تعیین شده توسط دستگاه CBC H1 توضیح داده می شود.

سرعت دستگاه

سرعت دستگاه برای نمونه های آزمایش کامل خون (CBC) ۸۰ نمونه در ساعت و برای نمونه های CBC همراه با شمارش افتراقی گلبول های سفید ۶۰ نمونه در ساعت است. دستگاه H1 دارای چهار کانال جداگانه است که شامل کانال گلبول قرمز- پلاکت، کانال هموگلوبولین، کانال پراکسیداز

آزمایشگاه تشخیص طبی بیمارستان حضرت سید الشهداء (ع)

بخش کنترل کیفی و آموزش

و کانال بازوفیل - لوبولاریته می باشد. اساس کار دستگاه بر مبنای فلوسیتومتری می باشد. سلولهای خونی در FLOW CELL با سرعت زیاد یکنواخت در حرکت هستند. در کانال RBC-Plt و کانال بازوفیل - لوبولاریته از نورلیزر برای بررسی خواص سلولی استفاده می شود. در کانال پراکسیدازو هموگلوبین از یک منبع نورها لوژنی تنگستن جهت آنالیز استفاده می گردد.

از آنجا که گلبولهای سفید در این دستگاه در دو کانال جداگانه (کانال پراکسیدازو و کانال بازوفیل - لوبولاریته) شمارش و آنالیز می شوند

نتایج دو کانال با هم مقایسه می گردد دستگاه برای شمارش افتراقی گلبولهای سفید بسیار دقیق بوده و می تواند دارای هشدارهای مخصوص پلاکت، لنفوسیت آتی پیک، گرانولوسیت نارس (Immature granulocyte)، انحراف به چپ (Sift to Left) و NRB باشد.

کانال RBC - پلاکت

الف) گلبول قرمز

در کانال RBC-Plt، گلبول قرمز از فلوسل عبور و تحت تابش اشعه لیزر قرار می گیرد علاوه بر شمارش تعداد گلبول های قرمز، از پخش نور حاصل در زاویه ۲-۳ درجه (Low angle) جهت تشخیص حجم گلبول های قرمز و زاویه ۱۵-۵ درجه (High angle) جهت تشخیص غلظت Hb گلبول های قرمز استفاده می شود. هماتوکریت در دستگاههای شمارشگر به شکل غیر مستقیم و محاسباتی از ضرب کردن تعداد RBC در MCV بدست می آید.

:MCV

$$MCV = (RBC \times Hct)$$

بیانگر حجم متوسط یک گلبول قرمز است که به طور طبیعی 80-96 فمتولیترا (fl) می باشد. از آنجا که در دستگاههای شمارشگر سلولی، تعداد زیادی از گلبولهای قرمز شمارش می شوند میانگین یا متوسط حجمی سلولها را به عنوان MCV گزارش می کنند.

برای اینکه بتوانیم MCV را درست تفسیر کنیم باید تغییرات آن را در طول زندگی بدانیم. نوزادان در بدو تولد به طور طبیعی MCV معادل 104-118fl دارند. پس به طور نرمال نوزادان دارای گلبولهای قرمز ماکروسیتیک می باشند به موازات رشد، MCV کاهش می یابد و در یکسالگی به کمترین مقدار خود می رسد و میزان آن $78 \pm 8 \text{ fl}$ می باشد بعد از یکسالگی MCV افزایش می یابد تا به حد بالغین می رسد.

با استفاده از MCV می توان گلبولهای قرمز را از نظر حجم در گروههای نرموسیتیک ($MCV=80$)، میکروسیتیک ($MCV < 80 \text{ fl}$) و ماکروسیتیک ($MCV < 96 \text{ fl}$) تقسیم بندی کرد که در طبقه بندی آنمی استفاده می شود. در صورتیکه بیمار مبتلا به آنمی بوده و گلبول های قرمز میکروسیت هستند بیشتر به نفع آنمی فقر آهن، تالاسمی مینور، کم خونی سیدروبلاستیک و در بعضی موارد در آنمی بیماریهای مزمن نیز گلبولهای قرمز میکروسیت هستند. در صورتیکه گلبولهای قرمز ماکروسیتیک باشند می تواند بیانگر آنمی مگالوبلاستیک باشد اگر چه سایر حالاتی که می توانند منجر به ماکروسیتوز بدون تغییرات مگالوبلاستیک شوند مثل همولیز، هیپوتیروئیدیسم، بیماری کبدی و آنمی

آزمایشگاه تشخیص طبی بیمارستان حضرت سید الشهداء (ع)

بخش کنترل کیفی و آموزش

آپلاستیک را نیز باید در نظر داشت. چنانچه گلبولهای قرمز نورموسیتیک باشند بیشتر به نفع آنمی بیماریهای مزمن، آنمی آپلاستیک، کم خونی حاد بدنبال خونریزی و آنمی های همولیتیک می باشد.

:MCH

بیانگر میانگین محتوای هموگلوبین در گلبولهای قرمز می باشد در دستگانههای شمارشگر هماتولوژی MCH یک اندکس محاسباتی است که با استفاده از غلظت Hb و شمارش گلبول قرمز محاسبه می شود.

$MCH = \frac{Hb}{RBC}$ (بر حسب تعداد سلول در لیتر) / (بر حسب گرم در لیتر)

میزان طبیعی MCH، ۲۷-۳۱ پیکوگرم (Picogram=10-12) است.

مثال: در بیماری هموگلوبین ۱۵ گرم در دسی لیتر و شمارش RBC 5×10^{12} در لیتر می باشد پس در

یک لیتر خون دارای ۱۵۰ گرم هموگلوبین است که در تعداد 5×10^{12} توزیع شده است در این

صورت MCH برابر

$$MCH = \frac{150 \text{ g}}{5 \times 10^{12}} = 30 \times 10^{-12} \text{ g} = 30 \text{ Pg}$$

گلبولهای قرمز را می توان از روی MCH به سه دسته نرمو کروم (MCH=۲۷-۳۱ Pg)،

هیپو کروم (MCH کمتر از ۲۷ پیکوگرم) و هیپر کروم (MCH بیشتر از ۳۱ پیکوگرم) تقسیم بندی

نمود. معمولاً در آنمی های میکروسیتی، گلبولهای قرمز هیپو کروم بوده و در آنمی

مگالوبلاستیک RBC ها هیپر کروم و در آنمی ناشی از بیماریهای مزمن، گلبولهای قرمز نرمو کروم و یا

هیپو کروم هستند.

MCHC (Mean Cell Hemoglobin Concentration):

غلظت متوسط Hb در حجم معینی از گلبولهای قرمز فشرده (که همان هماتوکریت می باشد) است و با استفاده از غلظت Hb و HCT محاسبه می شود.

$$\text{MCHC} = \frac{\text{Hb (g/dl)}}{\text{Hct}}$$

میزان طبیعی MCHC ۳۷-۳۳ گرم در دسی لیتر می باشد.

این پارامتر در آنمی فقر آهن کاهش می یابد در آنمی مگالوبلاستیک MCHC اکثراً طبیعی و یا کاهش یافته می باشد. MCHC به طور مشخص در اسفروسیتوز افزایش می یابد.

فواصل مرجع ۹۵٪ در افراد بزرگسال طبیعی برای MCV، MCH و MCHC به قرار زیر

است MCV برابر ۸۰ تا ۹۰ فمتولیترا، MCH برابر با ۲۷ تا ۳۱ پیکوگرم و MCHC برابر با ۳۳ تا ۳۶

گرم در دسی لیتر. در یک فرد سالم، تغییرات اندکس های گلبول قرمز جزئی است و در هیچ یک از

شاخص ها بیشتر از ۱ واحد تغییر وجود ندارد مثلاً اگر MCV فردی ۸۵ فمتولیتراست با آزمایشهای

متعدد (البته در صورتیکه دستگاههای اندازه گیری دقت یکسانی داشته باشند) باید بین ۸۶-۸۴ فمتولیترا

باشد و در صورت خارج شدن از این محدوده نیاز به Follow up و بررسی دارد.

RDW (Red Cell Distribution Width):

بیانگر دامنه پراکنندگی حجم گلبولهای قرمز حول محور میانگین می باشد مقدار طبیعی آن ۱۵-۱۱/۵٪

بوده و دستگاه از روی تغییرات RDW قادر به گزارش درجه آنیزوسیتوز (تفاوت اندازه حجم

گلبولهای قرمز) می باشد.

$$RDW = SD/MCV \times 100$$

RDW معیاری جهت آنیزوسیتوز می باشد و هر گاه میزان RDW بیشتر از نرمال شود نشاندهنده یکدست نبودن گلبولها قرمز می باشد. RDW به عنوان یک پارامتر سودمند همراه با MCV و تعداد گلبول قرمز در افتراق بین تالاسمی مینور بدون عارضه و کمبود آهن استفاده می شود. در تالاسمی مینور، تعداد گلبولهای قرمز افزایش، MCV کاهش و RDW در محدوده طبیعی میباشد در حالیکه در آنمی فقر آهن، تعداد گلبولهای قرمز کاهش، MCV پایین و RDW بالا می باشد. (بیشتر از ۱۶ f) به نظر می رسد RDW اولین معیاری است در جریان کم خونی فقر آهن غیر طبیعی می شود. از RDW می توان در افتراق آنمی های ماکروسیتی هم استفاده نمود. در صورتیکه بیمار مبتلا به کم خونی و MCV افزایش یافته دارای RDW بالا باشد بیشتر به نفع آنمی مگالوبلاستیک و یا همولیز می باشد. در حالیکه در آنمی آپلاستیک و یا کم خونی ناشی از بیماری کبدی معمولا RDW در محدوده طبیعی می باشد.

هر گاه میزان RDW بین ۱۶-۱۸ باشد دستگاه به عنوان آنیزوسیتوز +۱، اگر RDW بین ۱۸-۲۲ باشد به عنوان آنیزوسیتوز +۲ و اگر بیش از ۲۲ شود به عنوان آنیزوسیتوز +۳ گزارش می کند.

۲- کانال WBC :

شمارش گلبولهای سفید در ۲ کانال پراکسیداز و بازوفیل لوبولاریته اندازه گیری میشوند و بنابراین دقت بالایی در افتراق این سلول ها از یکدیگر دارد. در کانال پراکسیداز سلولها بر اساس فعالیت پراکسیدازی و اندازه از یکدیگر جدا میشوند. فعالیت پراکسیدازی روی محور X و سایز سلولی روی محور Y

آزمایشگاه تشخیص طبی بیمارستان حضرت سید الشهداء (ع)

بخش کنترل کیفی و آموزش

مشخص میشود. در نمودار حاصله در ستون اول لنفوسیت ها قرار میگیرند که فاقد فعالیت پراکسیدازی بوده و سایز کوچکی دارند بنابر این لنفوسیت های نرمال در گوشه سمت چپ و پایین قرار میگیرند، سلولهای نابالغ این رده و LUC در همین ستون ولی بر اساس سایز بالاتر قرار میگیرند. در ستون دوم نمودار حاصله منوسیتها و بازوفیل ها که دارای فعالیت پراکسیدازی کمی بوده بر اساس سایز قرار میگیرند. در ستون سوم نوتروفیل ها قرار میگیرند، که این سلولها فعالیت پراکسیدازی بالایی دارند و در نهایت در ستون آخر سلولهایی با حداکثر فعالیت پراکسیدازی یعنی ائوزینوفیل ها قرار دارند. در هر ستون سلولهای نابالغ همان رده در سطوح بالایی به علت سایز بالاتر تشکیل میشوند.

در این کانال افتراق خوبی بین نوتروفیل و بازوفیل داده نمیشود ولی در کانال بازوفیل توسط یک نوع سورفاکتانت سیتوپلاسم همه سلولها از بین رفته به جز بازوفیل بنابراین سایر سلولها بر اساس تک هسته ای و چند هسته ای جدا شده ولی بازوفیل از اینها جدا شده و در قسمت جداگانه ای قرار میگیرد.

LI یا اندکس لوبولاریته:

دستگاه H1 براساس توانائی خود در کانال بازوفیل لوبولاریته قادر است گلبولهای سفید را به دو دسته سلولها با هسته یک لوبوله یا تک هسته ای (لنفوسیت و منوسیت) و سلولها با هسته چند لوبوله (ائوزینوفیل و نوتروفیل) تقسیم نماید و نسبت سلولهای با هسته چند لوبوله به سلولهای تک هسته ای را تعیین نماید.

تعداد سلولهای تک هسته ای / تعداد سلولهای چند هسته ای = L.I

مقدار طبیعی LI بین ۳-۱/۹ می باشد. هر گاه این نسبت کاهش قابل توجه بیاید دستگاه به عنوان Sift

to Left و یا افزایش نسبی لنفوسیت ها و منوسیت های خون محیطی است در صورتیکه نوتروفیلها و یا

آزمایشگاه تشخیص طبی بیمارستان حضرت سید الشهداء (ع)

بخش کنترل کیفی و آموزش

اثرزینوفیل‌های خون محیطی افزایش داشته باشند LI افزایش می‌یابد (باید توجه نمود که Sift to Left در استفاده روتین به عنوان وجود سلول‌های غیر بالغ رده میلوئیدی که شامل باند، متامیلوسیت و ... در خون محیطی می‌باشد که معمولاً در جریان عفونت‌ها دیده می‌شود و با Shit to left مورد نظر در دستگاه H1 متفاوت است).

اخطارها (Merphology Flags):

دستگاه H1 قادر است که تغییرات گلبول قرمز را از نظر اندازه و میزان هموگلوبین و اختلالات گلبول‌های سفید را از نظر انحراف به چپ و یا وجود سلول‌های بلاست و آتی پیک در به شکل Flag مشخص نماید در حالت طبیعی و بدون هیچ تغییر مورفولوژی این Flag به شکل چهار صفر در کنار هم (0000) نمایش داده می‌شوند.

RBC Flag:

همان‌طور که گفته شد در حالت طبیعی به شکل چهار صفر مشخص می‌شود که بیانگر نرموسیتیک و نرموکرومیک بودن گلبول‌های قرمز است. در صورت تغییرات در اندازه و میزان هموگلوبین گلبول قرمز براساس شدت تغییر صفرها تغییر خواهند کرد.

به ترتیب از سمت چپ صفر اول در صورت آنیزوسیتوز تغییر خواهد کرد، که میزان این آنیزوسیتوز که از روی RDW محاسبه می‌شوند. عدد دوم از سمت چپ براساس تغییر MCV خواهد بود. که در صورتیکه بیشتر از ۲/۵٪ گلبول‌های قرمز دارای حجم کمتر از fl_{60} یا بیشتر از fl_{120} داشته باشند صفر

آزمایشگاه تشخیص طبی بیمارستان حضرت سید الشهداء (ع)

بخش کنترل کیفی و آموزش

دوم تغییر خواهد کرد. صفر سوم از سمت چپ در صورت آنیزوکرومی تغییر خواهد کرد که از شدت آن از روی تغییرات HDW مشخص می شود و صفر چهارم از سمت چپ تغییرات آن بیانگر هیپوکرومازی پاهیپروکرومازی است که از روی مقدار پارامتر CHCM که دستگاه مستقیماً در کانال RBC محاسبه می کند بدست می آید. گلبولهای قرمزی که میزان CHCM کمتر از ۲۸ g/dl دارند به عنوان هیپوکروم و گلبولهای قرمزی که میزان CHCM آنها بیشتر از ۴۱ g/dl است به عنوان هیپرکروم تشخیص داده می شوند.

:WBC Flag

به ترتیب از سمت چپ تغییر صفراول بیانگر Shift to Left، تغییر صفر دوم بیانگر وجود لنفوسیت آتی پیک، تغییر صفر سوم بیانگر وجود بلاست و تغییر صفر چهارم بیانگر وجود سایر موارد یا Other مانند NRBC یا هاول ژولی می باشد که می تواند ایجاد اخطار نماید.

در گزارش ها ۲ مورد تحت عنوان OTHER وجود دارد مورد اول مربوط به وجود گلبولهای قرمز هسته دار است که اگر در جلوی آن N تایپ شده باشد بیانگر وجود این سلولها است که البته در صورت وجود لنفوسیتهای کوچک این سلولها با NRBC اشتباه میشوند و OTHER دوم بیانگر وجود سایر اشکال غیر طبیعی مثل گرانولوسیتهای نابالغ IG میباشد