

دکتر حسین دارآفرین، مهندس امیر حسین بحرالعلومیان و سایر همکاران
(برگرفته از کتاب مدیریت و کنترل کیفی در آزمایشگاه پزشکی)

الزامات و نکات فنی تجهیزات در آزمایشگاه پزشکی؛ دستورالعمل شمارش گر خودکار سلول های خونی (سل کانتر)

اساس کار دستگاه های شمارشگر خودکار سلولی

اساس کار اکثریت دستگاه های شمارنده سلولی خودکار بر دو مکانیسم مقاومت الکتریکی و پراکندگی نور به شرح زیر استوار است:

- **مقاومت الکتریکی:** این روش اولین بار توسط والاس کولتر در سال ۱۹۵۶ مطرح شد و اساس کار دستگاه هایی نظیر کولتر، بکمن، سیسمکس، ابوت و... قرار گرفت. در این مکانیسم، خون در یک محلول بافری الکتریکی رقیق شده و از بین دو الکترود حامل جریان الکتریکی مستقیم عبور میکند. با عبور هر سلول خونی از این مسیر، مقاومت الکتریکی و یک پالس الکتریکی ایجاد می شود. تغییر در پتانسیل بین الکترودها متناسب با مدت زمانی است که گلبول از فضای بین دو الکترود، که اصطلاحاً دریچه نامیده می شود، عبور می کند. ارتفاع هر پالس نشان دهنده حجم سلول و تعداد پالس نشان دهنده تعداد سلول است.

- **پراکندگی نور:** در این روش، سوسپانسیون رقیق شده سلول ها به صورت یک ردیف سلولی از مقابل منبع نوری عبور می کند و باعث پراکندگی نور می شود. نور پراکنده شده از طریق یک فزاینده نوری یا فوتودیود به پالس های الکتریکی تبدیل می شود که در این حالت، تعداد پالس ها نمایانگر تعداد سلول ها و ارتفاع پالس های الکتریکی، که متناسب با میزان پراکندگی نور بوده، نشان دهنده حجم سلول ها است. منبع نوری بر حسب نوع دستگاه، لیزر یا تنگستن است. هرچه قطر ردیف سلول های عبوری کوچکتر باشد (به اندازه قطر گلبول های قرمز)، نور با دقت بیشتری بر جریان سلول ها تابیده و نتایج دقیقتری حاصل می شود.

در دستگاه های خودکار شمارنده سلولی حداقل دو مجرا طراحی شده است:

- ✓ در مجرای اول، با افزودن رقیق کننده به نمونه خون، اندازه و تعداد گلبول های قرمز و پلاکت ها تعیین می شود، که به منظور جداسازی پلاکت ها از گلبول های قرمز و شمارش آنها در دستگاه دو آستانه جداکننده بالا و پایین تعریف شده است.

- ✓ در مجرای دوم، با افزودن ماده لیزکننده به نمونه و با کمک رقیق کننده، گلبول های قرمز لیز شده و گلبول های سفید که دست نخورده مانده اند، شمارش می شود. در این مجرا، علاوه بر شمارش گلبول های سفید، مقدار هموگلوبین نیز به روش سیان متهموگلوبین اندازه گیری می شود. در دستگاه های جدیدتر برای شمارش افتراقی لکوسیت ها مجراهای دیگری در نظر گرفته شده است.

اندازه گیری هماتوکریت (HCT) و حجم متوسط گلبول قرمز یا (Mean Corpuscular Volume (MCV در دستگاه های خودکار شمارنده سلول کاملاً به یکدیگر وابسته اند. در برخی دستگاه ها، با محاسبه میانگین ارتفاع پالس های حاصل از عبور گلبول های قرمز از دریچه، مقدار MCV مشخص می شود و براساس تعداد گلبول های قرمز شمارش شده، میزان هماتوکریت توسط دستگاه محاسبه می شود. در دستگاه های دیگر، از مجموع پالس های حاصل از عبور گلبول های قرمز، میزان HCT تعیین شده و با استفاده از تعداد گلبول های قرمز، مقدار MCV محاسبه می شود. تقریباً در تمام دستگاه ها سایر شاخصه های گلبول های قرمز مانند (Mean Corpuscular Hemoglobin (MCH و (Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (MCHC از طریق محاسبه و با استفاده از مقادیر هموگلوبین، HCT و تعداد گلبول های قرمز مشخص می شود. میزان پراکندگی اندازه گلبول های قرمز (RDW (Red Cell Distribution Width در دستگاه ها، با استفاده از محاسبه میزان تغییرات ارتفاع پالس های ایجاد شده به دنبال عبور گلبول های قرمز تعیین و به صورت انحراف معیار با واحد فمتولتر یا ضریب انحراف معیار یا واحد درصد ارایه می شود.

چگونگی کاربری

نحوه کاربری دستگاه باید بر اساس نوع دستگاه و کتابچه راهنمای آن، توسط آزمایشگاه مکتوب شود.

نحوه نگهداری

برای نگهداری دستگاه به صورت روزانه، هفتگی، ماهانه و سالانه باید بر اساس کتابچه راهنمای دستگاه عمل شود.

کالیبراسیون

به طور کلی دستگاه های سل کانتر هر شش ماه یکبار می بایست کالیبره شوند ولی انجام این امر در مواردی مانند ابتدای راه اندازی، پس از هر بار تعمیر یا سرویس، قابل قبول نبودن نتایج کنترل کیفی روزانه و یا تعویض محلول ها (در صورتی که موجب تغییر مشخص در نتایج خون کنترل و یا نمونه بیماران شده باشد) نیز ضروری است.

جهت کالیبراسیون سلکانترها، کالیبراتورهای تجاری وجود دارد که مقادیر هدف یا مورد نظر در آنها با روش های مرجع کالیبر شده اند. این سوسپانسیون سلول های خونی، در صورت داشتن تاریخ انقضای معتبر و تاییدیه های لازم و به شرط رعایت دستورالعمل های کارخانه سازنده برای کالیبراسیون دستگاه مناسب هستند. موقعیت روند کالیبراسیون را می توان به وسیله آزمایش نمونه کنترل، مقایسه نتایج دستگاه با انجام روش های مرجع بر روی چند نمونه خون و کنترل دقیق میانگین های متحرک در مورد شاخص های گلبول های قرمز تایید کرد.

در صورت عدم دسترسی به کالیبراتورهای تجاری یا وجود هرگونه شک نسبت به اعتبار آن، استفاده از خون کامل جهت کالیبراسیون ضروری است، برای کالیبراسیون باید از خون طبیعی تازه، استفاده کرد. برای اینکار پارامترهای حداقل ۳ نمونه خون کامل طبیعی دوبار با روش های مرجع دستی و دوبار نیز با سلکانتر (در بعضی مراجع ۵ بار هم ذکر شده است) اندازه گیری شده و پس از محاسبه میانگین هر پارامتر با روش دستی و دستگاهی، با استفاده از فرمول زیر فاکتور کالیبراسیون تعیین می شود.

$$\text{Calibration Factor} = \frac{\text{میانگین روش دستگاهی} - \text{میانگین روش دستی}}{\text{میانگین روش دستگاهی}} \times 100$$

لازم به ذکر است روش های مرجع برای اندازه گیری هموگلوبین، هماتوکریت و شمارش گلبول های سفید به ترتیب سیان مت هموگلوبین، میکروهماتوکریت و استفاده از لام نئوبار است. اخیراً در کتب مرجع کولترهای تک کاناله، به عنوان روش مرجع برای شمارش گلبول های سفید، گلبول های قرمز و پلاکت ها

عنوان شده اند که به علت عدم دسترسی به این تجهیزات در کشور ما کماکان از لام نئوبار برای شمارش سلول های خونی استفاده می شود ولی به علت خطای زیاد در شمارش گلبول های قرمز و پلاکت ها با این روش، بهتر است شرکت پشتیبان به کالیبراسیون این دو پارامتر اقدام نماید.

مثال ۱: اگر میانگین اندازه گیری هموگلوبین به روش دستی ۱۴۵ گرم در لیتر و با سل کانتر ۱۴۰ گرم در لیتر باشد، فاکتور تصحیح کالیبراسیون دستگاه با استفاده از فرمول زیر محاسبه می شود:

$$\text{Calibration Factor} = \frac{(145 - 140)}{140 \times 100} = 0.357 = 3.57\%$$

در نتیجه ضریب کالیبراسیون هموگلوبین دستگاه می بایست ۳/۵۷٪ افزایش یابد. به عنوان مثال اگر ضریب کالیبراسیون هموگلوبین دستگاه قبلاً ۱۰۰ بوده، باید مقدار آن ۱۰۳/۵۷٪ افزایش یافته و روی ۱۰۳/۵۷٪ تنظیم شود.

لازم به ذکر است هنگام استفاده از روش میکروهماتوکریت برای کالیبراسیون سل کانتر، می بایست میزان هماتوکریت به دست آمده را اصلاح کرد که این کار با کاستن میانگین میزان پلاسما به دام افتاده (trapped plasma) که در هماتوکریت افراد طبیعی یافت می شود، صورت می گیرد. این میزان که حدود ۱/۵ تا ۳٪ برآورد شده است باید از میانگین هماتوکریت به دست آمده کسر شده و سپس کالیبراسیون انجام شود.

در بعضی از انواع سلکانترها مثل گروه سیسمکس، ضریب کالیبراسیون جدید با استفاده از فرمول کالیبراسیون مندرج در کاتالوگ، مستقیماً به ترتیب زیر محاسبه می شود:

$$\text{New Calibration Factor} = \frac{\text{میانگین روش دستی}}{\text{میانگین روش دستگاهی}} \times \text{فاکتور کالیبراسیون قبلی}$$

• پایداری کالیبراسیون با استفاده از آزمون آماری (T-Brittin)

جهت اطمینان از پایداری کالیبراسیون و کامل شدن روند کنترل کیفی دستگاه، علاوه بر استفاده از خون کنترل میتوان از نمونه های خون تازه طبیعی نیز استفاده کرد. بدین ترتیب که با توجه به پایداری پارامترهایی نظیر WBC، RBC، Hb و بعضی از اندکس های خونی به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴°C، در روز اول حداقل ۵ و ترجیحاً ۱۰ نمونه کاری که دارای مقادیر طبیعی است را پس از آنالیز در یخچال نگهداری کرده و در روز بعد، مجدداً مورد آزمایش قرار داد و وجود اختلاف معنی دار بین مقادیر نمونه های جفت را با استفاده از آزمون آماری T-Brittin محاسبه کرد.

$$SD = \sqrt{\frac{\sum d^2 - \frac{(\sum d)^2}{n}}{n-1}} \quad t_n = \frac{\bar{d}\sqrt{n}}{SD}$$

d: اختلاف بین دو خوانده (روز به روز)

n: تعداد جفت های مورد بررسی

SD: انحراف معیار اختلاف

- انجام آزمایش‌های مضاعف یا دوتایی Duplicate بر روی تعدادی از نمونه‌های بیماران
- انجام آزمایش بازبینی (Check Test) بر روی تعدادی از نمونه‌های بیماران (آزمایش ۴-۳ نمونه از سری کاری قبلی)
- بررسی تفاوت نتایج یک بیمار با آزمایش‌های قبلی خودش (Delta Check)
- محاسبه میانگین اندکس‌های خونی MCV, MCH, MCHC در گروه‌های ۵ تایی، ۱۰ تایی یا ۲۰ تایی
- تعیین محدوده خطی بودن دستگاه
- بررسی کنترل دقت هنگام راهاندازی، پس از سرویس و به صورت ماهانه
- بررسی صحت

• نحوه استفاده از خون کنترل و رسم نمودار کنترل کیفی طبق توصیه‌های مراجع معتبر بین المللی خونشناسی، برای کنترل کیفی دستگاه‌های شمارنده سلولی می‌بایست در هر سری کاری، حداقل از دو نمونه خون کنترل در دامنه طبیعی و غیرطبیعی استفاده شود، بدین ترتیب که در ابتدای هر سری کاری نمونه کنترل طبیعی و غیرطبیعی و در پایان سری کاری نمونه طبیعی با سل کانتر آزمایش شده و نتایج ثبت شود. با توجه به آنکه در کشور ما دسترسی به خون کنترل در دامنه‌های مختلف برای همه آزمایشگاه‌ها به راحتی امکانپذیر نیست، به طور معمول از خون کنترل در یک دامنه استفاده می‌شود.

نمونه خون کنترل هر روز صبح قبل از آزمایش نمونه‌های بیماران و به فواصل در طی روز در صورت نیاز، آزمایش شده و نتایج حاصله بر روی نمودار ثبت می‌شود. برای رسم نمودار، می‌بایست نمونه کنترل، به دفعات و در فواصل مختلف با دستگاه آزمایش شود تا حداقل ۲۰ خوانده برای هر پارامتر حاصل شود. بهتر است این ۲۰ خوانده به صورت ۱ خوانده در هر روز باشد ولی چنانچه تعجیل در کار وجود دارد میتوان این داده‌ها را در طی ۵ روز جمع‌آوری کرد به نحوی که در هر روز در چهار نوبت با فواصل زمانی مناسب، نمونه کنترل را به دستگاه داد. سپس با محاسبه میانگین و انحراف معیارهای $\pm 2SD$, $\pm SD1$ و $\pm SD3$ برای هر پارامتر، مقادیر آنها بر روی محور عمودی و روزها بر روی محور افقی ثبت می‌شود. تفسیر نمودار کنترل کیفی با توجه به طراحی کیفی آزمایشگاه، با استفاده از قوانین لوی جنینگ، سازمان بهداشت جهانی یا قوانین وستگارد انجام می‌شود. نکته مهم پیش از رسم نمودار کنترل کیفی، اطمینان از قابل قبول بودن میزان عدم دقت هر پارامتر در مقایسه با عدم دقت مجاز مربوطه، که در کتب مرجع درج گردیده است، است که در صورت عدم توجه به آن، ممکن است نموداری رسم

مقدار t برای پارامترهای فوق محاسبه گشته که اگر مقدار آن برای ۵ نمونه از ۲/۷۸ و برای ۱۰ نمونه از ۲/۲۶ بیشتر باشد، با اطمینان ۹۵٪ می‌توان گفت که بین مقادیر شمارش شده در دو روز، اختلاف معنی‌دار وجود دارد. وجود اختلاف معنی‌دار برای یک متغیر بیانگر اشکال احتمالی بوده که در صورت تداوم آن جهت رفع اشکال می‌بایست اقدامی صورت گیرد.

نکته: لازم به ذکر است استفاده از این روش به عنوان تنها روش کنترل کیفی دستگاه، مجاز نیست زیرا توجه به نتایج آن به تنهایی و بدون در نظر داشتن نتایج خون کنترل، گاهی موجب گمراهی کاربر و تغییر بی مورد ضرایب کالیبراسیون دستگاه می‌شود. در حال حاضر با توجه به روش‌های مختلف کنترل کیفی، اساساً استفاده از این روش از طرف بعضی از کارشناسان مورد تردید جدی قرار گرفته است.

مثال ۲: در صورتی که نتایج حاصل از اندازه‌گیری هموگلوبین ۵ نمونه خون با استفاده از یک دستگاه سلکانتر در دو روز متوالی مطابق جدول ۱ باشد، عملکرد دستگاه با کمک فرمول T-Brittin به صورت زیر بررسی می‌شود:

d'	d	مقدار هموگلوبین روز دوم	مقدار هموگلوبین روزاول
۹	-۳	۱۱۹	۱۲۲
۱۶	۴	۱۴۰	۱۳۶
۲۵	۵	۱۸۳	۱۷۸
۲۵	-۵	۱۴۰	۱۴۵
۱۶	-۴	۱۳۶	۱۴۰

جدول ۱: نتایج هموگلوبین (gr/L) در دو روز متوالی

$$\begin{aligned}\sum d &= -3 & (\sum d)^2 &= 9 \\ \sum d^2 &= 91 & \bar{d} = \sum d / 5 &= -3 / 5 = -0.6 \\ SD &= \sqrt{(91 - 9/5) / 4} = 4.72 & t_n &= 0.6 \times \sqrt{5} / 4.72 = 0.28\end{aligned}$$

چون عدد t به دست آمده از ۲/۷۸ (مقدار t برای ۵ نمونه) کمتر است، نتایج هموگلوبین دستگاه قابل قبول است.

کنترل کیفی

عملکرد دستگاه‌های شمارنده سلولی روزانه پیش از انجام آزمایش بر روی نمونه بیماران، باید مورد ارزیابی قرارگیرد که بهترین و قابل قبولترین روش، استفاده از خون کنترل است. درکنار استفاده از خون کنترل، با توجه به وضعیت آزمایشگاه، تعداد نمونه‌ها، نوع سل کانتر به کار رفته، تعداد کارکنان و..... از روش‌های دیگر کنترل کیفی که در زیر آمده است نیز باید استفاده کرد:

- مقایسه روزانه نتایج دستگاه سلکانتر با گسترش خون محیطی
- مقایسه روزانه نتایج دستگاه سلکانتر با وضعیت بالینی بیمار

شود که محدوده قابل قبول آن بیش از حد مجاز بوده و کاربر را در تفسیر نتایج کنترل کیفی به اشتباه بیندازد.

در دستگاه های سل کانتر جدید، نمودار کنترل کیفی برای حداقل یک دورهی یک ماهه توسط دستگاه رسم می شود. بدیهی است دستگاه های با امکانات نرم افزاری، بیشتر توان رسم نمودار کنترل کیفی و ذخیره آن برای انواع خون کنترل تا حداقل یک سال را دارا هستند.

نکته: لازم به ذکر است کنترل کیفی دستگاه، صرفا با منطق بودن نتایج خون کنترل با دامنه ذکر شده در بروشور مربوطه قابل قبول نیست و استفاده از میانگین و دامنه مندرج در بروشور نیز جهت رسم نمودار توصیه نمی شود و هر آزمایشگاه می بایست خود، با استفاده از روش ذکر شده در بالا نسبت به تعیین میانگین و دامنه برای رسم نمودار اقدام کند.

برای آشنایی بیشتر تفسیر نمودار کنترل کیفی براساس قوانین سازمان بهداشت جهانی (WHO) و براساس قوانین وستگارد (Westgard) در جداول ۲ و ۳ به تفکیک و به صورت خلاصه توضیح داده می شود.

نتایج خون کنترل	تفسیر
یک کنترل خارج از محدوده $\pm 2SD$	هشدار، بروز خطای تصادفی یا شروع خطای سیستماتیک
یک کنترل خارج از محدوده $\pm 3SD$	رد نتایج، بروز خطای تصادفی یا سیستماتیک
دو خوانده متوالی همسو و خارج از محدوده $\pm 2SD$	رد نتایج، بروز خطای سیستماتیک
۴ خوانده متوالی و همسو، خارج از محدوده $+1SD$ یا $-1SD$	رد نتایج، بروز خطای سیستماتیک
۶ خوانده متوالی در یک طرف میانگین	هشدار، خطای سیستماتیک

جدول ۲: تفسیر نمودار کنترل کیفی براساس قوانین سازمان جهانی بهداشت WHO

نتایج خون کنترل	تفسیر
۱ ₂ : یک کنترل خارج از محدوده $\pm 2SD$	هشدار، لزوم بررسی سایر قوانین
۱ ₃ : یک کنترل خارج از محدوده $\pm 3SD$	رد نتایج، نشاندهنده خطای تصادفی یا شروع خطای سیستماتیک
۲ ₂ : دو خوانده متوالی همسو و خارج از محدوده $\pm 2SD$	رد نتایج، نشان دهنده خطای سیستماتیک
۴ ₁ : یک خوانده خارج از محدوده $\pm 2SD$ و دیگری خارج از محدوده $\pm 2SD$	رد نتایج، نشانگر خطای رانندوم
۴ ₁ : ۴ خوانده متوالی و همسو، خارج از محدوده $+1SD$ یا $-1SD$	رد نتایج، نمایانگر خطای سیستماتیک
۱۰ ₁ : ۱۰ خوانده متوالی در یک طرف میانگین (بالا یا پایین میانگین و بدون توجه به اندازه انحراف)	رد نتایج، نشانگر خطای سیستماتیک

جدول ۳: تفسیر نمودار کنترل کیفی بر اساس قوانین Westgard

در صورت یافتن هر گونه خطا با استفاده از نمودار، پیش از انجام هراقدامی باید از عدم آلودگی یا خرابی محلول های مورد استفاده و نمونه کنترل اطمینان حاصل کرد. در صورت اطمینان از این امر پیش از برنامه ریزی برای کالیبراسیون دستگاه، باید اقدامات دیگری مانند شستشوی دستگاه، آزمایش مجدد نمونه، آزمایش بر روی نمونه خون کنترل دیگری با همان سری ساخت، بررسی وضعیت محلول های دستگاه و... را مد نظر قرار داد.

• مقایسه نتایج دستگاه سلکانتر با گسترش خون محیطی و یافته های بالینی

به توصیه سازمان بهداشت جهانی، بررسی نتایج دستگاه و مقایسه و مطابقت آنها با مشاهده میکروسکوپی گسترش خونی و نیز یافته های بالینی بیمار می بایست از برنامه های دایم کنترل کیفی آزمایشگاه باشد. بدین ترتیب هر گونه نتیجه غیر قابل انتظار حاصل از دستگاه نظیر لکوسیتوز، لکوپنی، ترومبوسیتوپنی، هموگلوبین خیلی پایین یا بالا، اندکس های غیر طبیعی و... می بایست پیش از گزارش، با مشاهده گسترش خون محیطی و یا بررسی وضعیت بالینی یا سابقه بیمار تایید شود.

با مشاهده لام خون محیطی می توان به طور نسبی شمارش گلبول های سفید یا پلاکت دستگاه را نیز مورد ارزیابی قرار داد. در جدول ۴ ارتباط میانگین تعداد سلول های شمارش شده در گسترش خون محیطی با تعداد تخمینی سلول ها نشان داده شده است. به عنوان مثال اگر در گسترش خون محیطی با عدسی شینئی ($\times 40$) ۶-۳ گلبول سفید دیده شود، تعداد گلبول های سفید بین ۱۰-۷ هزار خواهد بود.

میانگین تعداد گلبول های سفید شمارش شده در هر میدان دید (با بزرگنمایی زیاد (دید روغن X100))	میانگین تعداد پلاکت های شمارش شده در هر میدان دید (پلاکت ها (X10 ⁹))	تعداد تخمینی
۲-۳	۳-۷	۵۰-۱۰۰
۴-۶	۷-۱۰	۱۰۰-۱۵۰
۷-۱۰	۱۰-۱۳	۱۵۰-۲۵۰
۱۱-۲۰	۱۳-۱۸	۲۵۰-۵۰۰

جدول ۴: کنترل کیفی میکروسکوپی شمارش سلول های خونی با استفاده از یک گسترش خونی مناسب

• آزمون دوتایی (Duplicate)

در صورت عدم امکان انجام تمامی آزمایش ها به صورت دوتایی (Duplicate)، می بایست در هر سری کاری به ازای هر ۲۰ نمونه یک نمونه به صورت مضاعف (Duplicate) آزمایش شود تا با بررسی اختلاف خوانده ها از طریق محاسبات آماری از وجود خطاهای تصادفی آگاه شویم. برای انجام آزمایش براساس برنامه کنترل کیفی آزمایشگاه در دوره زمانی مشخص یا بعد از کالیبراسیون و یا سرویس، ابتدا حداقل ۳۰ نمونه به صورت دوتایی به دستگاه داده می شود و از فرمول زیر SD و CV به دست می آید. افزایش اختلاف بین دو خوانده بیش از 2SD (و یا 2CV)، احتمال وجود خطای تصادفی را مطرح می نماید. فرمول زیر طریقه محاسبه SD نمونه های دوتایی را نشان می دهد:

$$SD = \sqrt{\frac{\sum d^2}{2n}}$$

$$CV = \frac{SD}{\sum X / 2n}$$

لازم به ذکر است SD و CV حاصل از حداقل ۳۰ داده دوتایی در ابتدای یک دوره زمانی یا پس از سرویس یا کالیبراسیون به عنوان معیار قرار می‌گیرد. CV و SD به دست آمده تا زمانی که دستگاه از کالیبر خارج نشده است، معیار قابل قبولی است. سپس در هر سری کاری به ازای هر ۲۰ نمونه، بایستی حداقل یک نمونه به صورت دوتایی مورد سنجش قرار گیرد.

در مثال ۳ برای سهولت فقط ۵ نمونه مورد ارزیابی قرار گرفته است.

	اندازه گیری اول (gr/L)	اندازه گیری دوم (gr/L)	D	d'
	۱۱۸	۱۲۰	۲	۴
	۱۶۰	۱۶۲	۲	۴
	۱۰۵	۹۵	۱۰	۱۰۰
	۱۳۰	۱۳۰	۰	۰
	۱۴۰	۱۳۸	۲	۴
مجموع	$\Sigma X1 = 653$	$\Sigma X2 = 645$	$\Sigma X = \Sigma X1 + \Sigma X2 = 1298$	$\Sigma d^2 = 112$

$$SD = \sqrt{\frac{\sum d^2}{2n}} = \sqrt{112/10} = 3.35 \quad \text{rSD} = 6/17 \quad \sum X = 129.4 \quad CV = \frac{SD}{\sum X/2n} = 3.35/(129.4/10)$$

برای دو تایی اول مقدار $d_1 = 103 - 98 = 5$ است که این مقدار از $SD_2 = 67$ کمتر است و جواب قابل قبول خواهد بود. همچنین در صورت استفاده از $CV = \frac{2(X_1 - X_2)}{X_1 + X_2} = \frac{4}{99} = 4/99$ مقدار $D_1 = (100 \times \frac{2(X_1 - X_2)}{X_1 + X_2}) = 4$ که از $CV_2 = 5\%$ کمتر است بنابراین، این دوتایی در هر دو روش قابل قبول است.

اما در مورد دوتایی دوم مقدار $d_2 = 107 - 100 = 7$ که در صورت استفاده از SD این مقدار از $SD_2 = 67$ بیشتر است که در صورت

از مقادیر ذکر شده در جدول ۶ نشان دهنده خطا است.

شاخص	دامنه اختلاف غیرقابل قبول
Hb	۲ gr/dL
HCT	۵ %
MCV	>۶ fL
MCH	>۵ pg
WBC	طبیعی به غیرطبیعی
Platelets	کاهش یا افزایش بیش از ۵٪

جدول ۶: مقادیر خطا در آموزه دلتا چک براساس شاخص های مختلف

• میانگین متحرک

به دلیل ثابت بودن مقادیر میانگین شاخص های گلبولی MCH، MCV و MCHC در فواصل روزها و هفته ها، می توان از این شاخص ها به منظور ارزیابی کیفیت عملکرد دستگاه شمارنده در آزمایشگاه هایی که حداقل روزی ۱۰۰ نمونه CBC پذیرش می کنند، استفاده کرد. بررسی ها نشان می دهد، در صورتی که نمونه های CBC مورد آزمایش در روزهای مختلف از نظر میزان اندکس های خونی تفاوت مشخصی با یکدیگر نداشته باشد که به تاثیر بارز بر میانگین ها منجر شود، مانند پذیرش نمونه های افراد مبتلا به فقر آهن یا تالاسمی در یک روز خاص در هفته که باعث کاهش شاخص های گلبولی می شود، هرگونه تغییر مشخص در میانگین اندکس ها نشان دهنده تغییر در کالیبراسیون یا اختلال عملکرد دستگاه است. برای استفاده از این روش، ابتدا باید میانگین $\pm SD$ اندکس های MCH، MCV و MCHC حداقل ۳۰۰ تا ۵۰۰ نمونه را محاسبه و سپس نمودار کنترل کیفی را رسم کرد. در صورت مراجعه بیمارانی که اندکس های خونی طبیعی ندارند، مانند مبتلایان به بیماری های ذکر شده، نتایج اندکس های گلبولی آنها نباید در محاسبه میانگین لحاظ شود. پس از رسم نمودار، نمونه های بیماران را روزانه به گروه های بیست تایی (ده تایی و یا پنج تایی) تقسیم کرده و پس از محاسبه میانگین شاخص های گلبولی این گروه و ثبت این میانگین روی نمودار، هرگونه انحراف از مقادیر مجاز ($SD2$) را می توان نمایانگر عملکرد نامناسب دستگاه دانست. برای اطمینان از درست بودن این روش، انتخاب گروه های بیست تایی (دهتایی یا...) نمونه ها، باید به صورت تصادفی باشد و در هر دسته نیز بیش از ۷ نمونه دارای شرایط بالینی یکسان نباشند. این روش کنترل کیفی به صورت برنامه های نرم افزاری روی بعضی دستگاه ها نصب شده است. پیشنهاد می شود هر مرکز، مقادیر جمع آوری شده طبیعی در بازه زمانی دلخواه را به صورت تجمعی، جایگزین میانگین و SD اولیه نماید تا محاسبات دقیق تری به دست آید.

• کنترل دقت

بررسی دقت دستگاه به دوصورت قابل انجام است. در صورت استفاده از خون کنترل، میتوان با استفاده از نتایج حاصله از نمونه کنترل که طی روزهای متوالی با دستگاه آزمایش شده، CV هر پارامتر را محاسبه کرد. در صورت عدم دسترسی به خون کنترل، باید از نمونه های روزانه برای این امر استفاده کرد، بدین ترتیب که هر ماه دو یا بیشتر نمونه را حداقل ده بار به صورت متوالی با سل کانتر آزمایش کرده و از نتایج بدست آمده CV هر پارامتر را محاسبه کرد. توصیه می شود بررسی عدم دقت دستگاه خصوصا هنگام نصب و راه اندازی، با استفاده از نمونه هایی با دامنه های طبیعی و غیرطبیعی صورت گیرد. برای تهیه نمونه غیرطبیعی پایین، می توان پلاسماي نمونه طبیعی را جدا نموده و با اضافه نمودن آن به حجمی از همان نمونه، نسبت به رقیق نمودن آن اقدام کرد. نمونه خون با دامنه غیرطبیعی بالا را نیز می توان با نگهداری ظرف نمونه به مدت ۲ ساعت با زاویه 45° و برداشتن نیمی از پلاسماي رویی پس از این مدت و مخلوط کردن کامل خون تهیه کرد. در صورت عدم مطابقت CV، هر پارامتر با ادعای دستگاه که در کاتالوگ مربوطه آمده است تماس با شرکت پشتیبان ضروری است.

مثال ۴: اگر نتایج شمارش گلبول های سفید یک نمونه توسط دستگاه سل کانتری به قرار زیر باشد، میزان عدم دقت دستگاه برای شمارش مورد فوق به روش زیر محاسبه می شود:

WBC count	$(x - \bar{x})$	$(x - \bar{x})^2$
۷/۶	-۰/۰۳	۰/۰۰۰۹
۷/۵	-۰/۱۳	۰/۰۱۷
۷/۸	۰/۱۷	۰/۰۲۹
۷/۶	-۰/۰۳	۰/۰۰۰۹
۷/۵	-۰/۱۳	۰/۰۱۷
۷/۹	۰/۲۷	۰/۰۷۳
۷/۵	-۰/۱۳	۰/۰۱۷
۷/۶	-۰/۰۳	۰/۰۰۰۹
۷/۵	-۰/۱۳	۰/۰۱۷
۷/۸	۰/۱۷	۰/۰۲۹
$\Sigma x = ۷۶/۳$ $\bar{x} = ۷/۶۳$		$\Sigma(x - \bar{x})^2 = ۰/۲۰۱$

$$SD = \sqrt{\frac{\Sigma(x - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

$$SD = \sqrt{0.201 / 9} = 0.148$$

$$CV\% = \frac{SD \times 100}{\bar{x}}$$

$$CV = (0.148 / 7.63) \times 100 = 1.9\%$$

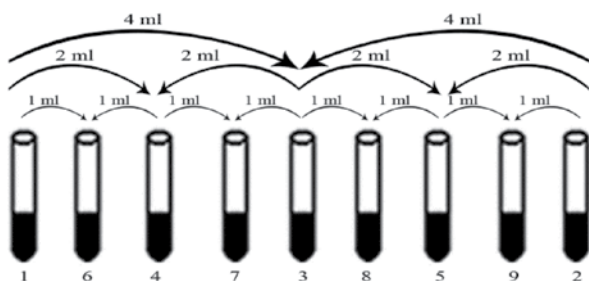
جدول ۷: نتایج شمارش گلبول های سفید برای محاسبه عدم دقت در مثال ۴

• تعیین محدوده خطی بودن دستگاه

از آنجا که در شمارش نمونه هایی که تعداد سلول های خونی آنها بسیار بالاست، پدیده خطای همزمانی (Coincidence Error)

مسواوی) در لوله شماره ۳ ریخته کاملاً مخلوط نمایید. به ترتیب ۲ میلی لیتر از لوله شماره ۳ و لوله شماره ۱ (حجم مساوی) در لوله شماره ۴ و به همین مقدار از لوله شماره ۲ و ۳ در لوله شماره ۵ ریخته و مجدداً به طور کامل مخلوط نمایید. سپس ۱ میلی لیتر از لوله شماره ۱ و ۴ در لوله شماره ۶ و همین حجم (۱ میلی لیتر) از لوله های شماره ۳ و ۴ در لوله شماره ۷ و همین مقدار از لوله های شماره ۵ و ۳ در لوله شماره ۸ و از لوله های شماره ۲ و ۵ در لوله شماره ۹ ریخته و به خوبی مخلوط کنید.

خلاصه مراحل فوق در شکل ۱ بیان شده است.



شکل ۱: مراحل تهیه نمونه های رقیق شده جهت بررسی آزمون خطی بودن

حجم های ذکر شده پیشنهادی است و هر مرکز می تواند با توجه به امکانات از حجم های کمتر یا بیشتر استفاده نماید. اما اصل اساسی این است که حجم های برداشتی به صورت مساوی بوده و مراحل کار به صورت کامل اجرا شود، به طوری که اختلاف مقادیر مورد انتظار در لوله های متوالی با هم برابر باشد. در این حالت شاخص های لوله میانی (لوله شماره ۳) را به عنوان مبنا قرار داده و میانگین اختلاف آنها با لوله شماره ۵ و ۴ را بر دو تقسیم کرده و این عدد اختلاف مقادیر مورد انتظار با یکدیگر در لوله های متوالی است که باید از لوله میانی به ترتیب در سمت راست به هر یک از لوله ها اضافه و در سمت چپ از هر یک لوله ها کم نمایید.

مثال ۵: اگر مقادیر هموگلوبین در آزمون خطی بودن لوله های شماره ۳ و ۵ و ۴ به ترتیب ۱۲gr/dL، ۱۶gr/dL و ۸gr/dL پس از اندازه گیری با دستگاه باشد، شاخص هموگلوبین و مقادیر مورد انتظار در تمامی لوله ها به صورت زیر محاسبه می شود:

مقدار مبنا برابر با مقدار اندازه گیری شده در لوله شماره ۳ و به عبارتی برابر با ۱۲ gr/dL است. همچنین تفاوت هموگلوبین لوله های ۴ و ۵ با لوله شماره ۳ به ترتیب ۳/۹ و ۴/۱ گرم در دسی لیتر است که میانگین آن ۴ gr/dL خواهد بود و نصف آن ۲ gr/dL می شود. این مقدار، تفاوت میزان هموگلوبین در لوله های متوالی است که اگر از لوله میانی یعنی

که شامل عبور چند سلول با یکدیگر از دریچه است، افزایش می یابد و نتایج کمتر نشان داده می شود و همچنین در نمونه های بسیار رقیق نسبت سیگنال های زمینه به سیگنال های واقعی زیاد شده و نتیجه بیش از مقدار واقعی اندازه گیری می شود، بنابراین باید محدوده خطی بودن دستگاه را در نظر بگیریم. برای تعیین این محدوده از سه روش زیر استفاده می شود.

لازم به ذکر است این آزمون باید پس از هر بار تعمیرات اساسی دستگاه و پس از هر بار سرویس انجام شود.

۱- خون کنترل را در رقت های مختلف تهیه کرده و نتایج آنرا با نتایج مورد انتظار بررسی کنید. البته این روش فقط برای بررسی خطی بودن در صورت رقیق شدن نمونه مناسب است.

۲- مقداری خون با حجم کافی را سانتریفیوژ کرده، بخشی از پلاسما آن را خارج کنید سپس با محلول ایزوتونیک یا با پلاسما خود فرد رقت های مختلفی از خون را تهیه کنید جهت بررسی صحت، رقیق سازی غلظت هموگلوبین هر نمونه باید با روش سیان مت هموگلوبین انجام شده و با مقدار مورد انتظار مقایسه شود. با توجه به تشابه ماتریکس، استفاده از پلاسما فرد نسبت به محلول ایزوتونیک خطای رقیق سازی را کاهش خواهد داد، لذا پیشنهاد می شود در این مورد حتی المقدور از پلاسما استفاده شود.

سپس تمامی رقت های تهیه شده را به دستگاه داده و با مقادیر مورد انتظار مقایسه و محدوده خطی بودن را تعیین کنید. در این روش نمونه مبنا، نمونه میانی است. نحوه محاسبه مقادیر مورد انتظار و تفسیر آن، در بخش محدوده خطی بودن دستگاه خودکار شیمی (اتوآنالایزر) به صورت کامل بیان شده است. یکی از اشکالات عمده در این روش، اشکال در تهیه رقت دوم و سوم به دلیل عدم برداشت مناسب و درست از نمونه غلیظ (RBC و بافیکوت) به دلیل غلیظ بودن آنهاست. به همین دلیل روش سوم به عنوان روش کاربردی پیشنهاد شده است.

۳- روش سوم مشابه روشی است که در برنامه نرم افزاری Multiqc درمبحث خطی بودن اتوآنالایزر ارایه شده است و اگرچه در منابع معتبر خونشناسی، مستندی در این خصوص بیان نشده اما خوشبختانه گروهی از نویسندگان این مجموعه با آزمایش عملی در مراکز مختلف از درستی این روش اطمینان یافته اند. برای سادگی بیشتر و کاربردی بودن، مقادیر زیر به صورت پیشنهادی ارایه می شود.

در ابتدا مقدار ۳۰ میلی لیتر خون از فرد طبیعی تهیه می شود. خون را سانتریفیوژ کرده و به آرامی ۹ میلی لیتر از پلاسما و به همین میزان محلول ته نشین شده RBC و بافیکوت را به ترتیب در دو لوله ۱ و ۲ بریزید.

سپس از هر یک از لوله های ۱ و ۲، مقدار ۴ میلی لیتر (حجم

لوله شماره ۳ به بالا به ترتیب اضافه کنید اعداد ۱۲، ۱۴، ۱۶، ۱۸ و ۲۰ و اگر در لوله های سمت چپ کم کنید به ترتیب اعداد ۱۰، ۸، ۶ و ۴ به دست می آید، این اعداد مقادیر مورد انتظار هریک از لوله ها است. حال در صورت دسترس بودن نرم افزار مذکور صرفا مقادیر اندازه گیری شده را وارد نموده و محدوده خطی دستگاه را تعیین نمایید. در صورت عدم دسترسی به این نرم افزار مقادیر مورد انتظار و اندازه گیری شده را با یکی از روش های ذکر شده که در بخش محدوده خطی بودن دستورالعمل فنی اتوآنالایزر بیان شده است، محاسبه و در نهایت این محدوده را تعیین کنید.

• بررسی Carry Over

در بسیاری از دستگاه ها معمولا وقتی یک نمونه با غلظت بالا و به دنبال آن نمونه دیگری با غلظت پایین مورد سنجش قرار می گیرد، مقداری انتقال ناخواسته از نمونه با غلظت بالا به غلظت پایین وجود دارد که به آن Carry Over گفته می شود. این انتقال بسته به نوع دستگاه و آنالیت انواع مختلفی دارد که در قسمت اتوآنالایزر به طور کامل بحث شده است. اما انتقال ناخواسته از نوع نمونه به نمونه در دستگاه های شمارنده سلول های خونی، بیشتر مورد توجه قرار می گیرد. لذا پیشنهاد می شود آزمایشگاه ها میزان اثر Carry Over را در ابتدای راه اندازی و پس از هر سرویس محاسبه و با مقدار درج شده در کتابچه راهنمای دستگاه مقایسه کنند. بدیهی است میزان اثر Carry Over به دست آمده بایستی از مقدار اثر Carry Over مندرج در کتابچه کمتر باشد. روش محاسبه این آزمون در مبحث آزمون Carry Over اتوآنالایزر به طور کامل مورد بررسی قرار گرفته است.

• بررسی صحت

روش های ذکر شده جزئی از برنامه های کنترل داخلی کیفیت هستند و به منظور بررسی تکرارپذیری مناسب آزمایش ها انجام می شوند، ولی تکرارپذیری مناسب همواره نشان دهنده صحت نتایج نیست. برای ارزیابی صحت عملکرد تجهیزات و روش های آزمایش، باید از روش های دیگری نظیر استفاده از استاندارد، کالیبراتور و یا شرکت در برنامه های کنترل خارجی کیفیت استفاده کرد. باتوجه به عدم دسترسی به کالیبراتور و استانداردهای مناسب در کشور، در حال حاضر شرکت در برنامه ارزیابی خارجی کیفیت، مهمترین روش بررسی صحت است. هدف برنامه ارزیابی خارجی کیفیت، ایجاد هماهنگی بین نتایج آزمایشگاه ها است. در این برنامه، نمونه های مجهول از مرکز اجرای برنامه به آزمایشگاه های شرکت کننده فرستاده می شود. آزمایشگاه ها پس از انجام آزمایش های لازم روی نمونه ها، نتایج را جهت پردازش به مرکز اجرای برنامه ارسال

می نمایند. پس از حذف نتایج خارج از محدود $\pm 2SD$ تا $\pm 3SD$ میانگین، در مرکز ذکر شده نتایج مورد پردازش آماری قرار میگیرد به نحوی که نتایج هر آزمایشگاه با میانگین نتایج کل آزمایشگاهها مقایسه و به صورت DI (Deviation Index) گزارش می شود:

$$DI = \frac{x - \bar{x}}{SD}$$

× : میانگین گروه

× : نتیجه هر آزمایشگاه

SD : انحراف معیار مجاز هر پارامتر

نحوه تفسیر:

$DI > 1$ = نتیجه مناسب

$DI > 2$ = قابل قبول اما بینابینی

$DI > 3$ = نیاز به بررسی روش آزمایش و یا کالیبراسیون

$DI < 3$ = نیاز به اقدام فوری

وجود علائم جبری مثبت و منفی در کنار مقدار کمی DI ، نشاندهنده پایین بودن یا بالا بودن نتایج آزمایشگاه نسبت به میانگین آزمایشگاه ها است.

نکته: هر آزمایشگاه علاوه بر تهیه دستورالعمل کنترل کیفی داخلی و چگونگی تفسیر و استفاده از نتایج آن، باید دستورالعملی نیز برای انجام آزمایشهای ارزیابی خارجی کیفیت و بر خورد با نتایج آن تدوین نماید.

خطاهای دستگاه های شمارشگر خود کار سلول های خونی

اگرچه استفاده از دستگاه های شمارنده سلولی در آزمایشگاه ها در مقایسه با روش های دستی، تکرارپذیری یا دقت نتایج حاصل را به میزان قابل توجهی بهبود بخشیده است، ولی صحت نتایج حاصل ممکن است به دلایل گوناگون همواره قابل اطمینان نباشد. بنابراین، کاربر دستگاه علاوه بر آشنایی با نحوه کار، نگهداری، کالیبراسیون و کنترل کیفی دستگاه، باید از تمام عللی که منجر به خطا در شمارش یا اندازه گیری پارامترهای خونی توسط دستگاه شمارنده می شود، نیز آگاه باشد. گروهی از این خطاها ناشی از نحوه طراحی دستگاه ها برای شمارش سلول ها است، به طور مثال عبور همزمان دو سلول از بین دو الکتروود که به ایجاد یک پالس و در نتیجه، شمارش یک سلول به جای دو سلول منجر می شود یا مواردی که سلول ها پس از عبور از بین دو الکتروود و شمارش اولیه، مجدداً وارد سیکل شمارش شده و دوباره شمارش می شود. در شرایطی نیز که بنا به دلایل مختلف آگلوتیناسیون گلبول های قرمز رخ می دهد، گلبول های به هم چسبیده در دستگاه

به عنوان یک سلول بزرگ شمارش می شوند. شمارش حباب های هوا، قطرات چربی، میکروارگانیسم ها یا ذرات خارجی به عنوان یک سلول نیز از موارد دیگر خطا در دستگاه ها هستند.

در زیر به موارد دیگری که ممکن است بالقوه موجب اختلال در شمارش دستگاه شوند، اشاره می شود:

● افزایش شمارش گلبول های سفید بیش از $30 \times 10^9/L$ معمولاً به دلیل ایجاد کدورت باعث افزایش کاذب، ولی جزئی در هموگلوبین و همچنین، افزایش کاذب هماتوکریت و MCV می شود.

● افزایش غلظت گلوکز (بیش از 400 mg/dL) و افزایش اسمولالیه خون ناشی از سایر علل ممکن است سبب افزایش کاذب MCV و هماتوکریت و کاهش MCHC شود. برای رفع این خطا، خون باید پیش از انجام آزمایش ده دقیقه با ایزوتون انکوبه شود.

● آگلوتینین های سرد با تیتراهای بالا، به طور کاذب باعث کاهش شمارش گلبول های قرمز و افزایش MCV و MCHC میشود که با گرم کردن خون یا استفاده از محلول رقیق کننده، این مشکل حل می شود.

● در بعضی از انواع لوسمی ها که گلبول های سفید شکننده هستند، شمارش آنها به طور کاذب کاهش نشان می دهد که در این موارد، شمارش با هماسیتومتر کمک کننده است.

● سطوح بسیار بالای چربی، باعث کدرشدن پلاسما و در نتیجه افزایش کاذب مقدار هموگلوبین، MCH و MCHC می شود. برای حل این مشکل، اندازه گیری هموگلوبین باید به روش دستی و با افزودن حجم مناسبی از پلاسمای بیمار به بلانک و صفرکردن دستگاه اسپکتروفتومتر با آن انجام شود.

در ادامه به موارد بیشتری از خطاها اشاره می شود که ممکن است به نادرست بودن نتایج دستگاههای شمارنده سلولی خودکار منجر شوند. کاربر دستگاه علاوه بر آشنایی با موارد مندرج در جدول های ۱ تا ۱۳ باید از نحوه رفع این خطاها نیز آگاه باشد.

نوع خطا	علت خطا
افزایش کاذب هموگلوبین	۱- تعداد زیاد گلبول های سفید ۲- افزایش چربی خون آندوزن یا به دلیل تغذیه از راه ورید ۳- کرایوگلوبولینمی ۴- پاراپروتئین یا هیپرگاماگلوبولینمی

جدول ۸: برخی از دلایل افزایش کاذب هموگلوبین

نوع خطا	علت خطا
خطا در جمع آوری یا ذخیره نمونه	۱- نمونه گیری از بیمار دیگر ۲- نمونه خون با برگه درخواست بیمار دیگر ۳- رقیق بودن نمونه ۴- استفاده از EDTA بسیار غلیظ ۵- غلیظ بودن نمونه به علت استفاده طولانی مدت از تورنیکه ۶- لخته شدن قسمتی از نمونه ۷- همولیز نمونه ۸- بیش از حد گرم یا منجمد کردن نمونه ۹- نمونه خون کهنه ۱۰- نمونه آلوده به چربی زیر جلد
خطا در مکش نمونه توسط دستگاه	۱- خطا در شست و شو و آماده سازی دستگاه ۲- مخلوط شدن ناکافی نمونه ۳- انسداد مسیر پروپ دستگاه (به طور مثال، توسط لخته که از نمونه قبلی به جای مانده است) ۴- تداخل نمونه بسیار غیریطیمی قبلی با نمونه فعلی (این مورد در دستگاه های جدید به حداقل رسیده است)
خطا در کالیبراسیون	۱- استفاده از مواد کنترل به عنوان کالیبراتور یا خطا در تعیین مقادیر پارامترها برای کالیبراسیون
علل منجر به اختلال در عملکرد دستگاه	۱- نکه داری نامناسب دستگاه ۲- استفاده از منبع برق نامناسب ۳- عدم استفاده از سیم ارت مناسب ۴- خراب شدن معرف ها به دلایل مختلف
عدم صحت اندازه گیری دستگاه ها به دلیل ماهیت برخی روش های اندازه گیری که برای دستگاه طراحی شده	۱- تعیین میزان MCV کمتر از مقدار واقعی در صورت وجود گلبول های قرمز هیپوکروم در دستگاه های امپدانس ۲- ناتوانایی شناسایی سلول ها در صورت کمبود آنزیم پراکسیداز
عدم صحت عملکرد دستگاه به دنبال وجود ویژگی های خاص در نمونه	۱- خطا در تعیین میزان هموگلوبین و اندکس های گلبولی به دلیل وجود آگلوتینین های سرد با افزایش چربی خون ۲- نوتروپنی کاذب در صورت کمبود آنزیم پراکسیداز

جدول ۹: برخی از دلایل خطا در شمارش های سلولی دستگاه های

خودکار شمارنده سلولی

نوع خطا	علت خطا
افزایش کاذب MCH	۱- افزایش کاذب هموگلوبین ۲- کاهش کاذب تعداد گلبول های قرمز ۳- همولیز داخل عروقی یا هموگلوبین آزاد در پلاسما
افزایش کاذب MCHC	۱- افزایش کاذب هموگلوبین ۲- همولیز داخل عروقی یا هموگلوبین آزاد در پلاسما یا لیز گلبول های قرمز خارج بدن ۳- کاهش کاذب هماترکریت، MCV یا گلبول های قرمز ۴- شرایط هیپواسمولار
کاهش کاذب MCHC	۱- افزایش کاذب MCV (غیر از مواردی که علت آن آگلوتینین های سرد باشد) ۲- افزایش کاذب تعداد گلبول های قرمز به دلیل وجود تعداد زیاد پلاکت های ژانت ۳- شرایط هیپراسمولار

جدول ۱۰: برخی از دلایل ایجاد خطا در تعیین مقادیر MCH و MCHC

نوع خطا	علت خطا
پایین بودن کاذب شمارش پلاکت ها	۱- لخته شدن نسی نمونه ۲- فعال شدن پلاکت ها در حین خون گیری و تجمع آنها ۳- تجمع پلاکتی ایجاد شده توسط EDTA ۴- Platelet Satellitism ۵- پلاکت های ژانت که اندازه آنها از آستانه تعیین شده برای پلاکت ها بیشتر باشد
بالا بودن کاذب شمارش پلاکت ها	۱- گلبول های قرمز میکروسیت یا تکه تکه شده ۲- گلبول های سفید خرد شده ۳- بیماری هموگلوبین H ۴- کرایوگلوبولین ۵- هیپرتری گلیسریدمی یا هیپرلیپیدمی ۶- وجود میکروارگانیسم ها در نمونه خون ۷- گرم کردن ناخواسته خون

جدول ۱۱: برخی از دلایل ایجاد خطا در شمارش پلاکت

نوع خطا	علت خطا
افزایش کاذب تعداد گلبول‌های قرمز	1- وجود پلاکت‌های درشت به تعداد زیاد 2- افزایش چربی خون (ناپایدار) 3- کرایوگلوبولینمی 4- کرایوفیبرینوژنمی
کاهش کاذب تعداد گلبول‌های قرمز	1- پان‌آگلوتیناسیون ناشی از ایجاد آگلوتینین‌های سرد وابسته به EDTA 2- لیز گلبول‌های قرمز خارج از بدن به دنبال نگهداری نامناسب نمونه با وجود گلبول‌های قرمز غیرطبیعی 3- میکروسیتوز بسیار شدید یا تکه تکه شدن گلبول‌های قرمز در بعضی بیماری‌ها
افزایش کاذب MCV	1- نگهداری خون در دمای اتاق 2- آگلوتینین‌های سرد و آگلوتیناسیون گلبول‌های قرمز وابسته به EDTA 3- تعداد زیاد گلبول‌های سفید 4- شرایط هیپراسمولار 5- K2EDTA اضافی
کاهش کاذب MCV	1- گلبول‌های قرمز هیپوکرومیک 2- افزایش دمای اتاق 3- شرایط هیپراسمولار 4- مخلوط کردن مکرر نمونه که باعث افزایش اکسیژناسیون گلبول‌های قرمز می‌شود
افزایش کاذب هماتوکریت	1- افزایش کاذب MCV (غیر از مواقعی که به دنبال آگلوتینین‌های سرد رخ می‌دهد) 2- کاهش کاذب تعداد گلبول‌های قرمز
کاهش کاذب هماتوکریت	1- کاهش کاذب میزان MCV 2- کاهش کاذب گلبول‌های قرمز به دلیل میکروسیتوز بسیار شدید یا لیز گلبول‌های قرمز خارج بدن 3- آگلوتینین سرد 4- مخلوط کردن مکرر نمونه که باعث افزایش اکسیژناسیون گلبول‌های قرمز می‌شود

جدول ۱۲: برخی از دلایل ایجاد خطا در شمارش گلبول‌های قرمز،

میزان هماتوکریت و MCV

ایمنی

- دستگاه به طور منظم و پس از استفاده روزانه شستشو شود.
- در محیط اطراف دستگاه نبایستی ارتعاشی وجود داشته باشد.
- دستگاه باید دور از گرد و خاک قرار گیرد.
- در هنگام کار با دستگاه بایستی از دستکش یکبار مصرف استفاده شود.
- به منظور پیشگیری از اثرات نوسانات جریان الکتریکی لازم است که:

➤ دستگاه به سیستم تثبیت کننده ولتاژ برق (Voltage Regulator) یا سیستم تامین‌کننده برق اضطراری (UPS) که دارای تثبیت کننده ولتاژ داخلی است، متصل شود.

➤ سیستم برق دستگاه باید دارای سیم اتصال به زمین مناسب (ارتدار) باشد.

نوع خطا	علت خطا
افزایش کاذب تعداد گلبول‌های سفید	۱- وجود گلبول قرمز هسته‌دار ۲- پلاکت‌های ژانت به تعداد زیاد ۳- لیز نشدن گلبول‌های قرمز ۴- اورمی ۵- نمونه از جنین یا نوزاد ۶- هموگلوبین‌های غیرطبیعی (مثل AA,SS,AC,AE,AD,AO-Arab) ۷- بیماری‌های کبدی ۸- آگلوتینین‌های سرد ۹- سندرم‌های میلودیسلستیک ۱۰- آنمی مگالوبلاستیک ۱۱- بعد از برداشتن طحال ۱۲- تجمع پلاکتی ۱۳- کرایوگلوبولینمی و کرایوفیبرینوژنمی ۱۴- پاراپروتئینمی ۱۵- وجود رشته‌های فیبرین ۱۶- افزایش چربی خون ۱۷- آلوده شدن نمونه به چربی زیرجلدی ۱۸- وجود انگل مالاریا ۱۹- هموگلوبین‌های ناپایدار
کاهش کاذب تعداد گلبول‌های سفید	۱- لیز سلول‌ها به دلیل ماندن خون بیش از ۳ روز ۲- نگهداری نمونه در دمای اتاق به مدت ۲۴ ساعت ۳- تجمع گلبول‌های سفید یا گلبول‌های سفید و پلاکت‌ها به دنبال وجود آنتی‌بادی یا تغییر در غشاء سلولی یا وجود سلول‌های نئوپلاستیک با ویژگی‌های غیرطبیعی (نظیر تجمع نوتروفیلی با واسطه آنتی‌بادی، تجمع سلول‌های لنفومی و یا سلول‌های نئوپلاستیک پلاسما سلی) ۴- آگلوتینین‌های سرد قوی

جدول ۱۳: برخی از دلایل افزایش و کاهش کاذب تعداد گلبول‌های سفید