Stability of complete Blood Count in different storage conditions using the automated hematological analyzers

Dr. Tagrid Kaddar*
Dr. Firas Hussein**
Sana'a Salem***

(Received 6 / 4 / 2022. Accepted 27 / 6 / 2022)

□ ABSTRACT □

Introduction: Complete blood count is routine hematological test used to assess natural and pathological alterations and monitoring therapy, therefore we report the effects of storage temperature and duration on complete blood count results.
Methods: We measured complete blood count in 202 blood samples within hour after blood collection (baseline) and after (4, 24, 48,72) hours of storage at room temperature and at 4°c. The test was performed on Medonic M20 Basic analyzer. The reliability of the results was evaluated by the analytical coefficient of variation (CVa%) within the maximum allowable obtained by the typical error (TE) and ANOVA analysis was used to compare the difference of means of the results in relution to the baseline sample (1 hours). The percentage changes between the results after different storage times and degrees and the results at the initial time were calculated, the mean percentage changes of greater than 8.3% were considered clinically relevant.
Results: RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, RDW-CV and WBC parameters showed stability up to 72 hours at room temperature and at 4°C. The platelets count showed stability up to 72 hours at room temperature and up to 48 hours at 4°C, while MPV was stable up to 4 hours at room temperature and up to 48 hours at 4°C.
Conclusion: The results demonstrate the importance of clinical analyst's knowledge about the behavior of CBC parameters over time under different storage conditions, for the suitable interpretation of results.

Key Word: analytical variation, complete blood count, hematological equipment, storage temperature, storage time.

*Associate Professor, Department of Laboratory Medicine, Faculty of Medicine, Tishreen University, Latakia, Syria. Email: ktagrid@gmil.com
** Associate Professor, Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Tishreen University, Latakia, Syria. Email: drfirashussein@yahoo.com
*** Postgraduate Student, Faculty of Medicine, Tishreen University, Latakia, Syria. Email: sanaasalem36@gmail.com

 Print ISSN: 2079-309X, Online ISSN: 2663-4287

ثباتية تعداد الدم الكلي في ظروف خزن مختلفة باستخدام أجهزة التعداد الدموية الآلية

د. تغريد قدّار *

د. فراس حسين **

سناء سالم ***

(تاريخ الإيداع 6 / 4 / 2022. قُبِل للنشر في 27 / 6 / 2022)

☐ ملخّص ☐

مقدمة: تعداد الدم الكلي عبارة عن اختبار دموي روتيني يستخدم لتقييم التبدلات الطبيعية والمرضية ومراقبة العلاج، لذلك قمنا بدراسة تأثير مدة ودرجة حرارة التخزين على نتائج تعداد الدم الكلي.

مواد البحث وطرائقه : تم إجراء تعداد الدم الكلي على دم 202 مريض خلال ساعة من جمع الدم (الزمن البدئي)، وبعد الحفظ لمدة (4، 24، 48، 72) ساعة بدرجة حرارة الغرفة وبدرجة حرارة 4°م. تم اجراء الاختبار على جهاز التعداد الآلي Medonic M20 Basic. تم تقييم موثوقية النتائج عن طريق معامل الاختلاف التحليلي (CVa%) المسموح به كحد أقصى والمحدد عن طريق الخطأ النمطي (TE) وتم استخدام تحليل ANOVA لمقارنة المتوسطات. تم حساب التبدلات المئوية بين النتائج بعد أزمنة ودرجات الخزن المختلفة والنتائج عند الزمن البدئي، حيث اعتبرت الفروق هامةً سريرياً عندما تتجاوز النسبة المئوية للتبدل مقدار 8.3%.

النتائج: المشعرات الدموية التي أظهرت ثباتية حتى 72 ساعة بدرجة حرارة الغرفة ودرجة 4°م هي (تعداد الكريات الحمر RBC، الخضاب HGB، الهيماتوكريت HCT، الحجم الوسطي للكرية الحمراء MCV، الخضاب الوسطي ضمن الكريات الحمر MCH، تركيز الخضاب الوسطي في الكرية الحمراء MCHC، عرض توزع الكريات الحمر RDW وتعداد الكريات البيض WBC). أظهر تعداد الصفيحات PLT ثباتية لمدة 72 ساعة بدرجة حرارة الغرفة ولمدة 48 ساعة بدرجة 4°م، بينما كان الحجم الوسطي للصفيحات MPV ثابتاً لمدة 4 ساعات بدرجة حرارة الغرفة ولمدة 24 ساعة بدرجة 4°م.

الخلاصة: أظهرت النتائج أهمية معرفة أخصائي المخبر حول سلوك معالم الـ CBC خلال الوقت تحت ظروف خزن مختلفة، من أجل التفسير المناسب للنتائج.

الكلمات المفتاحية: الاختلاف التحليلي، تعداد الدم الكلي، الجهاز الدموي، حرارة الخزن، وقت الخزن.

---

* مدرس – قسم الطب المخبري – كلية الطب البشري – جامعة تشرين – اللاذقية – سورية.
Email: ktagrid@gmil.com

**أستاذ مساعد – قسم الأمراض الباطنة – كلية الطب البشري – جامعة تشرين – اللاذقية – سورية.
Email: drfirashussein@yaho.com

*** طالبة ماجستير – كلية الطب البشري – جامعة تشرين – اللاذقية – سورية.
Email: sanaasalem36@gmail.com

مقدمة

ثباتية العينة أساسية لتحديد موثوقية النتائج في المخبر السريري [1]. على أي حال، يتم جمع الدم الوريدي غالباً في مكان مختلف عن مكان إجراء التحليل الدموي [2]. بناءً على ذلك، قد يستغرق إجراء تعداد الدم ساعات أو حتى أيام بعد جمع الدم [3]. بالإضافة إلى المشاكل التقنية مع الجهاز الدموي، التي قد تؤدي إلى تأخير الاختبار [3].

هذا التأخير في إجراء CBC، قد يؤثر على ثباتية العينة وبالتالي موثوقية النتائج [2]. تُعرّف ثباتية العينة البيولوجية على انّها القدرة على المحافظة على النتيجة البدئية، لفترة محددة من الزمن، ضمن حدود معينة عندما تُخزّن تحت ظروف محددة [4].

على أي حال، أظهرت الدراسات أنّ حرارة خزن العينة والوقت المنقضي بين جمع الدم والتحليل قد يؤثّر على ثباتية المعالم الدموية المختلفة [5]. وكذلك، قد يتأثّر تفسير CBC بالاختلاف التحليلي للجهاز الدموي [2]. التقييم الكمي للاختلاف التحليلي هو عدم الدقة، والذي يُعرّف على أنّه درجة التوافق بين نتائج التقييمات المستقلة المحددة تحت ظروف معينة، ويُعبّر عنه بالانحراف المعياري [SD] أو معامل الاختلاف [CV = (SD/mean)*100] [6]. على أي حال، من أجل الفهم الأوسع لموثوقية الجهاز الدموي، تُقيّم عدم دقة النتائج عن طريق معامل الاختلاف المُحدد عن طريق الخطأ النمطي، مع الاخذ بعين الاعتبار الانحراف المعياري للاختلافات الفردية لكل عينة [7].

يجب التأكيد على انّ تلقي عينات غير مناسبة يتكرر بشكل نسبي في المختبر، مما يولد نتائج غير موثوقة والتي من المحتمل ألّا تعكس الحالة الصحية الحقيقية للشخص وقد تفرض قرارات سريرية خاطئة [8].

من الضروري معرفة التبدلات الناجمة عن زمن ودرجة حرارة خزن العينة البيولوجية، وكذلك المعرفة الحقيقية للاختلاف التحليلي للجهاز النوعي المستخدم، حيث يُنصح بذلك من أجل التفسير الصحيح للنتائج الدموية.

لذلك، الهدف من هذه الدراسة هو استقصاء موثوقية المعالم الدموية المُحللة على جهاز Medonic M20 Basic في العينات المُخزّنة لمدة 72 ساعة بدرجات حرارة مختلفة.

تنبع أهمية البحث من أنّه أجري للمرة الأولى على جهاز Medonic M20 Basic، وتزداد القيمة السريرية بمعرفة الأخصائي السريري بنتائج البحث عند إجراء تعداد الدم الكلي على هذا الجهاز.

طرائق البحث ومواده

أجري سحب 202 عينة دم وريدي على EDTA K3 بالمخبر المركزي في مشفى تشرين الجامعي، حيث تم جمع العينات في الفترة الممتدة من شهر شباط عام 2020 إلى شهر شباط عام 2021، ثم أجري اختبار CBC على جهاز Medonic M20 Basic خلال 1 ساعة من جمع الدم.

تمت إعادة تحليل العينات بأوقات مختلفة: 4، 24، 48 و72 ساعة في ظروف خزن مختلفة، بدرجة حرارة الغرفة (25°م) و(4°م)، تم إجراء ضبط الجودة الداخلية يومياً على الجهاز الدموي والمعايرة عند الضرورة. أُخذت العينات من مرضى مراجعين لعيادة سحب الدم، تراوحت أعمارهم بين 5 – 80 سنة.

تمّ حفظ كل الأنابيب لمدة 15 دقيقة بدرجة حرارة الغرفة، على جهاز المزج الدموي بسرعة ثابتة حتى 10 دورة/دقيقة، من أجل المزج التام واستقرار حرارة العينة البيولوجية. بعد ذلك، اختُبرت العينات على الجهاز الدموي، Medonic M20 Basic، مع نفس الطبخة من الكواشف.

يستخدم جهاز Medonic M20 Basic تقنية تجمع بين الكيمياء الخلوية والمقاومة للتيار [9]. المعالم الدموية المُجراة هي: (i) RBC، HGB، HCT، MCV، MCH، MCHC وRDW؛ (ii) WBC؛ (iii) PLTs وMPV.

في التحليل الإحصائي، تمّ تقييم البيانات عن طريق اختبار Kolmogorov–Smirnov. لم تُظهر معظم المتغيرات (RBC,MCV, MCH, MCHC, RDW, WBC,PLT) توزعاً طبيعياً، باستثناء HGB وMPV وتم استخدام الاختبارات غير المعلمية. قُيّمت عدم دقة النتائج عن طريق CV%، المُحدد عن طريق (TE)، الذي يتوافق مع الانحراف المعياري للاختلافات الفردية بين العينة القاعدية (1 ساعة) والأوقات المختلفة: 4، 24، 48 و72 ساعة ضمن أشكال خزن مختلفة، بدرجة 25°م و4°م، مقسّمة على الجذر التربيعي لـ 2. يُقدّر معامل الاختلاف التحليلي CV% على أنّه النسبة بين TE ومتوسط القيم الملاحظة تالياً لتوصيات Hopkins [9]. من أجل تقييم معامل الاختلاف التحليلي الأعظمي المسموح به، CV% الحالية المستخدمة من أجل المطابقة: بالنسبة لـ RBC 1.1%، HGB 1.1%، HCT 1.4%، MCV 0.8%، MCH 1.5%، MCHC 0.9%، RDW 2%، WBC 2.5%، PLT 3% وMPV 2.5%، [10، 11].

تم استخدام تحليل ANOVA لمقارنة اختلاف متوسطات النتائج بالنسبة للعينة القاعدية (1 ساعة)، حيث اعتبرت الفروق عند مستوى المعنوية (P< 0.05) ذات أهمية إحصائية.

تم حساب التبدلات المئوية بين النتائج بعد أزمنة ودرجات الخزن المختلفة والنتائج عند الزمن البدئي، حيث اعتبرت الفروق هامةً سريرياً عندما تتجاوز النسبة المئوية للتبدل مقدار8.3% (أو 1/12) [10،12].

النتائج

تمّ سحب 202 عينة دم من أشخاص بأعمار تتراوح بين 5–80 سنة، مع متوسط عمر 39 ±17. حُللت جميع العينات 9 مرات بمجموع 1818 نتيجة دموية.

التفاوت التحليلي للجهاز الدموي بين العينات القاعدية (1 ساعة) وأوقات الخزن المختلفة (4، 24، 48 و72) ساعة بحرارة الغرفة و4°م، وفقاً لـ CV% المُحللة، بشكل مطابق لتوصيات المصنعين، موجودة في الجدول (1 و2).

جدول (1): الاختلاف التحليلي للجهاز الدموي بين العينة البدئية (1 ساعة)
وظروف الخزن المختلفة (4، 24، 48 و72) ساعة بدرجة حرارة الغرفة وفقاً لقيم CVa%.

	CVa (%) Maximum allowed		Room temperature			
			Storage time			
Parameters	Current state- of- the- art	Medonic	4 h TE (CV%)	24 h TE (CV%)	48 h TE (CV%)	72 h TE (CV%)
RBC(Million/µl)	1.1	2.2	0.07(1.5)[a]	0.07(1.5)[a]	0.07(1.6)[a]	0.09(2.0)[a]
Hemoglobin(g/dL)	1	1.8	0.15(1.19)[a]	0.16(1.24)[a]	0.16(1.26)[a]	0.19(1.44)[a]
Hematocrit(%)	1.4	-	0.7(1.7)[a]	0.7(1.9)[a]	0.9(2.3)[a]	1.0(2.6)[a]
MCV(fL)	0.8	1.8	0.5(0.6)	0.8(1)[a]	1.1(1.3)[a]	1.3(1.4)[a]
MCH(pg)	1.5	-	0.3(1.2)	0.4(1.3)	0.4(1.3)	0.4(1.3)
MCHC(g/dL)	0.9	-	0.5(1.3)[a]	0.5(1.6)[a]	0.7(2.0)[a]	0.7(2.0)[a]
RDW(%)	2.0	-	0.2(1.4)	0.2(1.9)	0.3(2.3)[a]	0.3(2.6)[a]
WBC(10^3 cell/ µl)	2.5	4.2	0.18(2.4)	0.20(2.7)[a]	0.22(3)[a]	0.20(2.7)[a]
Plateletes(10^3cell/ µl)	3.0	5.8	10.8(4.0)[a]	12.9(4.9)[a]	13.1(5.0)[a]	13.8(5.4)[a]
MPV(fL)	2.5	4	0.2(2.6)[a]	0.3(3.0)[a]	0.3(3.1)[a]	0.3(3.2)[a]

CVa، معامل الاختلاف التحليلي؛ TE، الخطأ المعياري

[a] عدم ثباتية العينة، (%)CVa أكبر من الحد المسموح به حالياً

جدول (2): الاختلاف التحليلي للجهاز الدموي بين العينة البدئية (1 ساعة)

وظروف الخزن المختلفة (4، 24، 48 و72) ساعة بدرجة حرارة (4°م) وفقاً لقيم %CVa.

	CVa (%) Maximum allowed		Refrigerator (4°C)			
			Storage time			
Parameters	Current state- of- the- art	Medonic	4 h TE (CV%)	24 h TE (CV%)	48 h TE (CV%)	72 h TE (CV%)
RBC(Million/µl)	1.1	2.2	0.06(1.3)[a]	0.08(1.7)[a]	0.1(2.2)[a]	0.09(1.9)[a]
Hemoglobin(g/dL)	1	1.8	0.14(1.08)[a]	0.17(1.33)[a]	0.23(1.79)[a]	0.23(1.79)[a]
Hematocrit(%)	1.4	-	0.5(1.4)	0.7(1.9)[a]	0.9(2.3)[a]	0.8(2.1)[a]
MCV(fL)	0.8	1.8	0.5(0.6)	0.7(0.8)	0.7(0.8)	0.8(1.0)[a]
MCH(pg)	1.5	-	0.4(1.3)	0.4(1.4)	0.4(1.3)	0.3(1.2)
MCHC(g/dL)	0.9	-	0.5(1.3)[a]	0.5(1.5)[a]	0.5(1.5)[a]	0.5(1.5)[a]
RDW(%)	2.0	-	0.2(1.5)	0.2(1.9)	0.2(1.9)	0.3(2.3)[a]
WBC(10^3 cell/ µl)	2.5	4.2	0.2(2.4)	0.3(4.5)[a,b]	0.4(5.8)[a,b]	0.4(6.1)[a,b]
Plateletes(10^3cell/ µl)	3.0	5.8	11.9(4.6)[a]	14.1(5.6)[a]	16.9(6.8)[a,b]	18.7(7.7)[a,b]
MPV(fL)	2.5	4	0.2(2.3)	0.3(3.0)[a]	0.3(3.4)[a]	0.3(3.6)[a]

CVa، معامل الاختلاف التحليلي؛ TE، الخطأ المعياري

[a] عدم ثباتية العينة، CVa(%) أكبر من الحد المسموح به حالياً

[b] عدم ثباتية العينة، CVa(%) أكبر من الحد المسموح به على جهاز Medonic M20 Basic

يبين (الجدول 1 و2) أنّ المعالم الدموية التي كانت قيمتها ثابتة حتى 72 ساعة، بغض النظر عن ظروف الخزن، هي MCH حيث بقيت CVa% ضمن المتوقع.

أظهر RDW نتائج ثابتة حتى 24 ساعة بدرجة حرارة الغرفة، وحتى 48 ساعة بالدرجة (4)°م.

أما MCV فقد أظهر نتائج ثابتة حتى 4 ساعات بدرجة حرارة الغرفة، وحتى 48 ساعة بالدرجة (4)°م، وأظهر HCT نتائج ثابتة حتى 4 ساعات بالدرجة (4)°م فقط. أظهر MCHC نتائج غير ثابتة في كلا ظروف الخزن.

لم تُظهر RBC، HGB وMCHC نتائج ثابتة في كلا ظروف الخزن. بينما أظهر WBC نتائج ثابتة حتى 4 ساعات فقط، بغض النظر عن حرارة الخزن.

أظهرت الصفيحات نتائج غير ثابتة خلال كامل وقت الخزن في كلا ظروف الخزن. أظهر MPV نتائج غير ثابتة خلال كامل وقت الخزن بدرجة حرارة الغرفة، بينما كانت النتائج ثابتة لمدة 4 ساعات فقط بالدرجة (4)°م.

مقارنة المتوسطات لأوقات وظروف الخزن المختلفة معروضة في الجدول (3 و4).

جدول (3): مقارنة المتوسطات بين العينة البدئية (1 ساعة) وظروف الخزن المختلفة (4، 24، 48 و72) ساعة بدرجة حرارة الغرفة

درجة حرارة الغرفة					
Parameters	0 h Mean ± SD	4 h Mean ± SD (P-value)	24 h Mean ± SD (P-value)	48 h Mean ± SD (P-value)	72 h Mean ± SD (P-value)
RBC (Millions/µl)	4.51±0.59	4.57±0.59 (<0.0001)*	4.58±0.59 (<0.0001)*	4.57±0.59 (<0.0001)*	4.55±0.6 (<0.0001)*
Hemoglobin (g/dl)	12.80±1.50	13.01±1.53 (<0.0001)*	12.99±1.52 (<0.0001)*	12.96±1.51 (<0.0001)*	12.93±1.53 (<0.0001)*
Hematocrit (%)	37.25±4.46	37.9±4.45 (<0.0001)*	38.16±4.46 (<0.0001)*	39.07±4.53 (<0.0001)*	40.05±4.8 (<0.0001)*
MCV (fL)	83.09±8.18	83.36±8.23 (<0.0001)*	83.79±8.15 (<0.0001)*	86.09±8.45 (<0.0001)*	88.53±8.67 (<0.0001)*
MCH (pg)	28.64±3.01	28.67±3.05 (0.35)	28.58±2.99 (0.12)	28.61±3.01 (0.39)	28.64±3.06 (0.89)
MCHC (g/dl)	34.46±1.42	34.38±1.42 (0.59)	34.09±1.33 (<0.0001)*	33.23±1.42 (<0.0001)*	32.35±1.48 (<0.0001)*
RDW (%)	12.31±1.29	12.43±1.29 (<0.0001)*	12.46±1.28 (<0.0001)*	12.75±1.27 (<0.0001)*	12.89±1.23 (<0.0001)*
WBC (10^3 cell/µl)	7.3±2.1	7.4±2.2 (<0.0001)*	7.4±2.2 (<0.0001)*	7.3±2.2 (0.08)	7.2±2.1 (<0.0001)*
Plateletes (10^3cell/µl)	265±75	267±75 (0.5)	266±76 (0.45)	263±76 (0.12)	257±76 (<0.0001)*
MPV (fl)	8.43±0.78	8.94±0.79 (<0.0001)*	9.26±0.81 (<0.0001)*	9.62±0.84 (<0.0001)*	9.94±0.81 (<0.0001)*

المتوسط ± الانحراف المعياري

* الاختلاف هام بين العينة القاعدية (1 ساعة) وأوقات الخزن المختلفة بدرجة حرارة الغرفة ($P < .05$)

نلاحظ من الجدول (3) أنّ هناك فرق هام إحصائياً في قيم (MPV ،RDW ،MCV ،HCT ،HGB ،RBC) في جميع الأزمنة، وفي قيم MCHC عند (24، 48، 72) ساعة، وفي قيم WBC عند (4، 24، 72) ساعة وفي قيم PLT عند (72) ساعة. لم يلاحظ وجود فرق هام إحصائياً في قيم MCH في جميع الأزمنة (4، 24، 48 و72) ساعة، وفي قيم MCHC عند (4) ساعات، وفي قيم WBC عند (48) ساعة، وفي قيم PLT عند (4، 24، 48) ساعة.

جدول (4): مقارنة المتوسطات بين العينة البدئية (1 ساعة) وظروف الخزن المختلفة (4، 24، 48 و72) ساعة بدرجة حرارة (4°)م.

درجة حرارة (4)°م					
Parameters	0 h Mean ± SD	4 h Mean ± SD p-value	24 h Mean ± SD p-value	48 h Mean ± SD p-value	72 h Mean ± SD p-value
RBC(Millions/µl)	4.51±0.59	4.52±0.59 (0.05)	4.52±0.60 (0.42)	4.50±0.60 (0.18)	4.47±0.59 (<0.0001)*
Hemoglobin(g/dL)	12.80±1.50	12.91±1.49 (<0.0001)*	12.91±1.51 (<0.0001)*	12.84±1.52 (0.17)	12.81±1.54 (0.96)
Hematocrit(%)	37.25±4.46	37.32±4.38 (0.18)	37.24±4.45 (0.86)	37.41±4.45 (0.06)	37.55±4.52 (0.0002)*
MCV(fL)	83.09±8.18	83.04±8.23 (0.24)	82.95±8.02 (0.05)	83.69±8.11 (<0.0001)*	84.44±8.09 (<0.0001)*
MCH(pg)	28.64±3.01	28.80±3.08 (<0.0001)*	28.82±3.06 (<0.0001)*	28.78±3.04 (<0.0001)*	28.85±3.00 (<0.0001)*
MCHC(g/dl)	34.46±1.42	34.67±1.46 (<0.0001)*	34.73±1.44 (<0.0001)*	34.37±1.43 (<0.0001)*	34.16±1.38 (<0.0001)*
RDW(%)	12.31±1.29	12.33±1.29 (0.2)	12.23±1.24 (0.028)*	12.18±1.25 (0.004)*	12.25±1.20 (<0.0001)*
WBC (10^3 cell/µl)	7.3±2.1	7.3±2.2 (<0.0001)*	7.2±2.1 (0.3)	7.1±2.1 (0.0001)*	7.0±2.1 (<0.0001)*
Plateletes (10^3cell/µl)	265±75	259±73 (<0.0001)*	252±77 (<0.0001)*	249±79 (<0.0001)*	241±77 (<0.0001)*
MPV(fL)	8.43±0.78	8.73±0.78 (<0.0001)*	9.04±0.83 (<0.0001)*	9.30±0.84 (<0.0001)*	9.56±0.85 (<0.0001)*

المتوسط ± الانحراف المعياري

* الاختلاف هام بين العينة القاعدية (1 ساعة) وأوقات الخزن المختلفة بدرجة حرارة (4)°م ($P < .05$).

نلاحظ من الجدول (4) أنّ هناك فرق هام إحصائياً في قيم (MCH، MCHC، PLT، MPV) في جميع الأزمنة، وفي قيم RBC عند (72) ساعة، وفي قيم HGB عند (4، 24) ساعة، وفي قيم HCT عند (72) ساعة، وفي قيم MCV عند (48، 72) ساعة، وفي قيم RDW% عند (24، 48، 72) ساعة، وفي قيم WBC عند (4، 48، 72) ساعة. لم يلاحظ وجود فرق هام إحصائياً في قيم RBC عند (4، 24، 48) ساعة، وفي قيم HGB عند (48،72) ساعة، وفي قيم HCT عند (4، 24، 48) ساعة، وفي قيم MCV عند (4، 24) ساعة، وفي قيم RDW عند (4) ساعات، وفي قيم WBC عند (24) ساعة.

لا بدّ من التنويه إلى أن الفروق الهامة إحصائياً قد لا تكون هامة سريرياً، فبالنسبة للمشعرات الدموية تعتبر الفروق في النتائج هامة سريرياً عندما تتجاوز النسبة المئوية للتبدل مقدار 8.3%. وبناءً على ذلك قمنا بدراسة ثباتية العينة من خلال حساب التبدلات المئوية للقيم المقاسة بعد أزمنة التخزين ودرجات الحرارة المختلفة.

يبين الجدول (5) النسب المئوية للتبدل في قيم المشعرات الدموية بعد الحفظ لمدة (4، 24، 48، 72) ساعة بدرجة حرارة الغرفة وبدرجة حرارة 4°م. بالنسبة للمشعرات الدموية التالية: (RBC، HGB، HCT، MCV، MCH، MCHC، RDW-CV وWBC) كانت نسبة التبدل أقل من 8.3% عند كل الأزمنة وبكل درجات حرارة التخزين، أما بالنسبة لقيم (PLT) فكانت نسبة التبدل أقل من 8.3% للقيم المقاسة بعد الحفظ لمدة (4، 24، 48 و72) ساعة بدرجة حرارة الغرفة و لمدة (4، 24 و48) ساعة بدرجة حرارة 4°م وكانت نسبة التبدل أعلى من 8.3% للقيم المقاسة بعد الحفظ لمدة 72 ساعة بدرجة حرارة 4°م. بالنسبة لقيم (MPV) فكانت نسبة التبدل أقل من 8.3% للقيم المقاسة بعد الحفظ لمدة (4) ساعات بدرجة حرارة الغرفة و لمدة (4 و24) ساعة بدرجة حرارة 4°م وكانت نسبة التبدل أعلى من 8.3% للقيم المقاسة بعد الحفظ لمدة (24، 48 و72) ساعة بدرجة حرارة الغرفة ولمدة (48 و72) ساعة بدرجة حرارة 4°م.

جدول(5) يبين النسب المئوية لتبدل قيم المشعرات الدموية بعد الحفظ لمدة (4، 24، 48 و72) ساعة بدرجة حرارة الغرفة وبدرجة حرارة 4°م

	حرارة الغرفة				حرارة (4)°م			
المشعرات الدموية	4 ساعات	24 ساعة	48 ساعة	72 ساعة	4 ساعات	24 ساعة	48 ساعة	72 ساعة
RBC	1.33	1.55	1.33	0.88	0.22	0.22	-0.22	-0.88
HGB	1.64	1.48	1.25	1.01	0.85	0.85	0.3	0.07
HCT	1.74	2.44	4.88	7.51	0.18	0.02	0.42	0.8
MCV	0.32	0.84	3.61	6.54	-0.06	-0.16	0.72	1.62
MCH	0.1	-0.2	-0.1	0	0.55	0.62	0.48	0.73
MCHC	-0.23	-1.07	-3.56	-6.12	0.6	0.78	-0.26	-0.87
RDW%	0.97	1.21	3.57	4.71	0.16	-0.64	-1.05	-0.48
WBC	1.36	1.36	0	-1.36	0	-1.36	-2.73	-4.1
PLT	0.75	0.37	-0.75	-3.01	-2.26	-4.9	-6.03	-9.05*
MPV	6.04	9.84*	14.11*	17.91*	3.55	7.23	10.32*	13.4*

* النسبة المئوية للتبدل (أعلى من 8.3%) بين العينة القاعدية (1 ساعة) وأوقات الخزن المختلفة بدرجة حرارة الغرفة ودرجة حرارة (4)°م.

المناقشة

يعتبر اختبار تعداد الدم الكلي أساسياً من أجل التشخيص الصحيح، تقييم الخطورة، علاج ومتابعة مرضى الاضطرابات الدموية [13]. تمّت دراسة ثباتية المعالم الدموية بظروف خزن مختلفة من قبل العديد من أخصائيي المخبر [14].

في هذه الدراسة قمنا بإجراء تعداد الدم الكلي CBC خلال ساعة من جمع العينة (الزمن البدئي) ومن ثم تمت إعادة إجراء نفس الاختبار بعد (4، 24، 48، 72) ساعة وذلك عند حفظ الدم بدرجة حرارة الغرفة وبدرجة حرارة 4°م وأثبتت نتائج الدراسة الحالية أنه توجد فروق هامة إحصائياً لدى مقارنة هذه النتائج مع النتيجة المقاسة عند الزمن البدئي لكن هذه الفروق لم تكن ذات أهمية سريرية لأن النسب المئوية لتبدل قيم (RBC، HGB، HCT، MCV، MCH، MCHC، RDW-CV وWBC) كانت أقل من 8.3% عند كل الأزمنة وبكل درجات حرارة التخزين، أما بالنسبة لقيم (PLT) فكانت النسب المئوية للتبدل أقل من 8.3% للقيم المقاسة بعد الحفظ لمدة (4، 24، 48 و72) ساعة بدرجة حرارة الغرفة و لمدة (4، 24 و48) ساعة بدرجة حرارة 4°م وكانت نسبة التبدل أعلى من 8.3% للقيم المقاسة بعد الحفظ لمدة 72 ساعة بدرجة حرارة 4°م. بالنسبة لقيم (MPV) فكانت النسب المئوية للتبدل أقل من 8.3% للقيم المقاسة بعد الحفظ لمدة (4) ساعات بدرجة حرارة الغرفة و لمدة (4 و24) ساعة بدرجة حرارة 4°م وكانت نسبة التبدل أعلى من 8.3% للقيم المقاسة بعد الحفظ لمدة (24، 48 و72) ساعة بدرجة حرارة الغرفة ولمدة (48 و72) ساعة بدرجة حرارة 4°م.

أظهر RBC وHGB ثباتية لمدة 72 ساعة في كلا درجات الحرارة، بشكل مشابه للدراسة البرازيلية التي قام بها الباحث (L. R. Oliveira)، حيث أظهرت أنّ نتائج RBC وHGB ثابتة لمدة 72 ساعة في كلا درجات الحرارة [15].

أظهر HCT ثباتية لمدة 72 ساعة في كلا درجات الحرارة، العديد من الدراسات السابقة بينت موثوقية نتائج HCT فقط بالنسبة للعينات المخزنة بدرجة 4°م [16]. على أي حال، زمن الخزن للحفاظ على ثباتية HCT بالدرجة 4°م يتغير بالاعتماد على نوع الجهاز المستخدم: LH750 وSysmex XE5000 حتى 72 ساعة، و Sysmex XE2100 حتى 48 ساعة وAdvia 120 حتى 24 ساعة [16،17].

أظهر MCV ثباتية لمدة 72 ساعة في كلا درجات الحرارة. أوضحت العديد من الدراسات السابقة زيادة هامة في MCV مع الوقت بحرارة الغرفة اعتباراً من 24 ساعة [3،17،18]. حيث تختلف ثباتية MCV عند 4°م وفقاً للجهاز الدموي المستخدم، بالنسبة لجهاز Advia 120 حتى 10 ساعات، Sysmex XE2100 حتى 24 ساعة، LH 750 حتى 48 ساعة وSysmex XE5000 حتى 72 ساعة [16،17].

أظهر MCH ثباتية لمدة 72 ساعة في كلا درجات الحرارة. وهذا يفسر بوجود تركيز ثابت من RBC وHGB، حيث يُحسب من المعادلة [MCH = (Hb/No.erythrocytes) * 100] [9،19].

أظهر MCHC ثباتية لمدة 72 ساعة في كلا درجات الحرارة. وهذا يُفسّر بوجود تركيز ثابت من HGB وHCT عندما يُحسب MCHC من المعادلة: [MCHC = (Hb/Ht) * 100] [9،19]. النتائج التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة كانت مخالفة لتلك التي تم الحصول عليها من قبل Pinter وآخرين الذين أوضحوا تغيرات هامة في MCHC في العينات المحفوظة بحرارة الغرفة عند 72 ساعة وبالدرجة 4°م عند 48 ساعة [20].

أظهر RDW ثباتية لمدة 72 ساعة في كلا درجات الحرارة. بشكل مخالف لدراسة Daves وآخرون (2016) حيث أظهروا اختلافات هامة بعد 24 ساعة من الخزن في كلا درجات الحرارة [8].

أظهر WBC ثباتية لمدة 72 ساعة في كلا درجات الحرارة. أظهرت الدراسات السابقة أنّ WBC مستقر بالدرجة 4°م لمدة 72 ساعة في الأجهزة الدموية المختلفة [16،17]، لكن بدرجة حرارة الغرفة، هناك اختلاف حسب الجهاز، حيث تكون الثباتية حتى 48 ساعة على جهاز Advia 120، حتى 24 ساعة على Sysmex XE2100 [16] وحتى 72 ساعة على Sysmex XE-5000 [17].

أظهرت الصفيحات ثباتية لمدة 72 ساعة بدرجة حرارة الغرفة ولمدة 48 ساعة بالدرجة (4)°م. هذه النتائج متناقضة مع الدراسات السابقة، والتي تبين نقص تعداد الصفيحات لمدة 72 ساعة بغض النظر عن حرارة الخزن [15].

أظهر MPV ثباتية لمدة 4 ساعات بدرجة حرارة الغرفة ولمدة 24 ساعة بالدرجة (4)°م. يُستمد MPV بشكل مباشر من منحني توزع تعداد الصفيحات المأخوذ بطريقة المقاومة للتيار في جهاز Medonic M20 Basic [9]، التفسير المحتمل للزيادة في الدرجة 4°م قد يكون ناتجاً عن "أذيات الخزن المحرضة بالبرد" التي تؤدي إلى تغيرات في الشكل، من الشكل القرصي إلى الشكل الكروي، مع وجود نتوءات شوكية على سطح الصفيحة [21]. أظهرت الدراسات السابقة عدم ثباتية MPV في كلا درجات الحرارة [8،20]. حيث حدثت زيادة في MPV (من 7.9% في 30 دقيقة إلى 13.4% بعد 24 ساعة) عندما قُيمت بطريقة المقاومة للتيار بشكل تالٍ لأذيات الخزن. بالمقابل، عندما قُيّمت MPV بالطريقة الضوئية، كان هنالك انخفاضاً بمقدار 10 % تقريباً، من المحتمل أنّه ناتج عن تمديد محتوى البلاسما مع نقص مشعر الانكسار [22].

التوصيات

وفقاً لتوصيات ICSH، يجب إجراء CBC خلال 4 – 8 ساعات بعد جمع الدم، باستثناء تلك العينات المستخدمة لتقييم الثباتية التي يجب أن تحلل بعدة أوقات خلال 72 ساعة. في حال احتمال حدوث أي تأخير يُفضل التبريد بالدرجة (4°م).

على أي حال، هناك حالات في المخبر السريري مثل المشاكل التقنية مع الأجهزة الدموية أو تأخير وصول العينة البيولوجية، التي من الممكن أن تؤدي إلى تأخير إجراء CBC بعد جمع الدم، وهذا يؤكد أهمية الدراسة الحالية التي تحلل موثوقية النتائج حتى 72 ساعة.

أظهرت نتائج الدراسة الحالية أهمية معرفة الأخصائي السريري حول سلوكية معالم CBC خلال الوقت تحت ظروف مختلفة، وبشكل أساسي عدم دقة الجهاز الدموي المستخدم، من أجل التفسير المناسب للنتائج. من هذا المنطلق، تأخير إجراء العينة البيولوجية مع تحديد التغيرات في النتائج، والتي لا تعكس الحالة الصحية الحقيقية للشخص وقد تضلل القرار السريري، يجب أن تكون معلومة في التقرير من قبل المخبر. من خلال النتائج التي توصلت إليها هذه الدراسة نقترح إجراء دراسة مستقبلية تدرس تأثير حفظ الدم على نتائج تعداد الدم الكلي المُجرى على أجهزة دموية مختلفة، باستخدام موانع تخثر مختلفة ، ونقترح كذلك، توسيع الأبحاث وإجراء دراسة موسعة تتضمن المزيد من المشعرات الدموية.

Reference

1. Ikeda K, Ichihara K, Hashiguchi T, et al. Evaluation of the short-term stability of specimens for clinical laboratory testing. *Biopreserv Biobank*. 2015;13:135-143.
2. Buttarello M. Quality specification in haematology: the automated blood cell count. *Clin Chim Acta*. 2004;346:45-54.
3. Lippi G, Salvagno GL, Solero GP, Franchini M, Guidi GC. Stability of blood cell counts, hematologic parameters and reticulocytes indexes on the Advia A120 hematologic analyzer. *J Lab Clin Med*. 2005;146:333-340.

4. Ricós C, Alvarez V, Cava F, et al. Integration of data derived from biological variation into the quality management system of medical laboratories. *Accredit Qual Assur*. 2004;9:128-131.
5. Zini G. Stability of complete blood count parameters with storage: toward defined specifications for different diagnostic applications. *Int J Lab Hem*. 2014;36:111-113.
6. Fraser CG. Test result variation and the quality of evidence-based clinical guidelines. *Clin Chim Acta*. 2004;346:19-24.
7. Hopkins WG. Measures of reliability in sports medicine and science. *Sports Med*. 2000;30:1-15.
8. Daves M, Zagler EM, Cemin R, et al. Sample stability for complete blood cell count using the Sysmex XN haematological analyser. *Blood Transfus*. 2015;13:576-582.
9. Medonic. (2016). *Medonic M-Series User's Manual*. Boule Medical AB.
10. Ricós C, Alvarez V, Cava F, et al. Current databases on biological variation: pros, cons and progress. *Scand J Clin Lab Invest*. 1999;59:491-500.
11. Vis JY, Huisman A. Verification and quality control of routine hematology analyzers. *Int J Lab Hem*. 2016;38:100-109.
12. Deutsche Bundesärztekammer. Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung quantitativer laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen. Deutsches Aerzteblatt, vol. 98; 2001. A2747-59/, B2356-67.
13. Müller MM. Implementation of reference systems in laboratory medicine. Clin Chem 2000;6:1907–9.
14. Buoro S, Mecca T, Seghezzi M, Manenti B, Cerutti L, Dominoni P, et al. Assessment of blood sample stability for complete blood count using the Sysmex XN-9000 and Mindray BC-6800 analyzers. Rev Bras Hematol Hemoter. 2016;38:225–39.
15. Oliveira LR, Simionatto M, Cruz BR, et al. Stability of complete blood count in different storage conditions using the ABX PENTRA 60 analyzer. *Int J Lab Hem*. 2018;40:359–365.
16. Imeri F, Herklotz R, Risch L, et al. Stability of hematological analytes depends on the hematology analyser used: a stability study with Bayer Advia 120, Beckman Coulter LH 750 and Sysmex XE 2100. *Clin Chim Acta*. 2008;397:68-71.
17. Joshi A, Mcvicker W, Segalla R, Favaloro E, Luu V, Vanniasinkam T. Determining the stability of complete blood count parameters in stored blood samples using the SYSMEX XE-5000 automated haematology analyser. *Int J Lab Hem*. 2015;37:705-714.
18. Gulati GL, Hyland LJ, Kocher W, Schwarting R. Changes in automated complete blood cell count and differential leukocyte count results induced by storage of blood at room temperature. *Arch Pathol Lab Med*. 2002;126:336-342.
19. Zandecki M, Genevieve F, Gerard J, Godon A. Spurious counts and spurious results on haematology analysers: a review. Part II: white blood cells, red blood cells, haemoglobin, red cell indices and reticulocytes. *Int J Lab Hem*. 2007;29:4-20.
20. Pintér E, László K, Schüszler I, Konderák J. The stability of quantitative blood count parameters using the ADVIA 2120i hematology analyzer. *Pract Lab Med*. 2016;4:16-21.
21. Shrivastava M. The platelet storage lesion. *Transfus Apher Sci*. 2009;41:105-113.
22. Buttarello M, Plebani M. Automated blood cell counts: state of the art. *Am J Clin Pathol*. 2008;130:104-116.