

## بررسی قدرت آزمون شکنندگی اسمزی در تشخیص میکروسیتیک هیپوکرومیا

مهرنوش کوثریان (M.D.)\*\*

محمد رضا مهدوی (D.M.T)\*

### چکیده

**سابقه و هدف:** تشخیص میکروسیتیک هیپوکرومیا در حال حاضر با دستگاه‌های شمارش گلبولی خودکار انجام می‌گردد. تهیه این وسایل محتاج صرف هزینه‌های زیادی می‌باشد و کار کردن با آن‌ها نیاز به تجربه زیادی دارد. آزمون شکنندگی اسمزی برای تشخیص این اختلال گلبولی معرفی شده است. این مطالعه به منظور تعیین بهترین غلظت نمک در آزمون تک لوله‌ای شکنندگی اسمزی، در سال ۱۳۷۸ در آزمایشگاه فجر ساری انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** ۶۹۶ بیمار مراجعه کننده به آزمایشگاه، به طور تصادفی مورد آزمایش همزمان تعیین اندکس‌های گلبولی توسط دستگاه شمارش گر سلولی و آزمون تک مرحله‌ای شکنندگی اسمزی قرار گرفتند. در آزمون شکنندگی اسمزی از آب نمک ۰/۴ درصد استفاده شد و پس از مجاورت ۰/۰۵ میلی لیتر از خون کامل و ۵ میلی لیتر آب نمک به مدت ده دقیقه، سوسپانسیون حاصل سانتریفوژ گردیده و شکنندگی یا عدم شکنندگی گلبولی مورد بررسی قرار گرفت.

**یافته‌ها:** ۳۸۲ نفر از مراجعه کنندگان،  $MCV > 80$  و شکنندگی گلبولی داشتند. ۲۲۸ نفر،  $74 < MCV < 79$  و شکنندگی گلبولی داشتند. ۷۵ نفر،  $MCV < 74$  و عدم شکنندگی گلبولی داشتند و ۵ نفر با  $MCV > 80$  و ۶ نفر با  $74 < MCV < 79$  عدم شکنندگی گلبولی داشتند.

**استنتاج:** از نتایج حاصل چنین برمی آید که آزمون تک مرحله‌ای شکنندگی اسمزی جهت غربالگری جمعیتی، به منظور تشخیص افراد میکروسیتیک هیپوکرومیک، بسیار حساس است، گرچه در تشخیص افتراقی آنمی فقر آهن از تالاسمی مینوز کاربرد ندارد.

**واژه‌های کلیدی:** غربالگری تالاسمی، آزمون تک مرحله‌ای شکنندگی اسمزی

### مقدمه

هموگلوبینوپاتی‌های شایعی مانند بتاتالاسمی مینوز، بتاتالاسمی ماژور و آلفاتالاسمی می‌باشد که در برنامه‌های پیش‌گیری جمعی، بتاتالاسمی ماژور از اهمیت خاصی برخوردار است (۲).

کم‌خونی‌هایی که با کوچکی و کم‌رنگی گلبول‌های سرخ (Microcytic Hypochromia) مشخص می‌شوند از شایع‌ترین کم‌خونی‌ها در سراسر جهان و ایران می‌باشد (۱). مهم‌ترین و شایع‌ترین آن‌ها کم‌خونی ناشی از فقر آهن و

**E** این تحقیق طی شماره ۴۷-۷۶ در شورای پژوهشی دانشگاه ثبت شده و با حمایت مالی دانشگاه مازندران انجام شده است.

\*دکترای علوم آزمایشگاهی عضو هیئت علمی (مری) دانشگاه علوم پزشکی مازندران \* ساری: میدان سلمان فارسی دانشکده پیراپزشکی

\*\* فوق تخصص بیماریهای غدد اطفال، پزشک همکار فدراسیون بین المللی تالاسمی (TIF) عضو هیئت علمی (دانشیار) دانشگاه علوم پزشکی مازندران  
E تاریخ دریافت: ۸۳/۷/۱۴ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۸۳/۱۱/۱۳ تاریخ تصویب: ۸۴/۱/۲۴

تشخیص آزمایشگاهی موارد فوق با درخواست شمارش کامل گلبولی (CBC) و اندکس‌های گلبولی آغاز می‌شود که محتاج دستگاه‌های هماتولوژی خودکار می‌باشد. خریداری، نگهداری و کارکردن بادستگاه‌های فوق در کشورهای در حال توسعه با مشکلات مالی و پرسنلی همراه است (۳). گرچه تشخیص قطعی هر کدام از موارد فوق محتاج بررسی‌های آزمایشگاهی متفاوتی است، برای برآورد بسیاری از مشکلات بهداشتی در سطح وسیع نظیر وجود آنمی‌های میکروسیتیک و هیپوکروم می‌توان از روش‌های راحت‌تر و ارزان‌تر استفاده نمود (۳). مثلاً در منطقه دورافتاده‌ای که هیچ اطلاعی از شیوع کم‌خونی‌های فوق‌الذکر در دست نیست، یک بررسی ساده‌وارزان می‌تواند به مدیران در برنامه‌ریزی‌های دقیق‌تر کمک کند (۳).

یکی از خصوصیات فیزیکی گلبول‌های سرخی که از میزان طبیعی کوچک‌تر هستند، تفاوت آن‌ها در برابر محیط‌های کم‌نمک (Hypotonic) می‌باشد (۴، ۵). این آزمایش که به شکنندگی گلبولی معروف است برای تشخیص اسفروسیتو ارثی هم کاربرد دارد که در آن لازم است غلظت‌های بسیار دقیق و متفاوتی از کلرورسدیم تهیه شود. در این بیماری، گلبول‌ها شکنندگی بیش‌تری نشان می‌دهند. اما در آنمی فقر آهن و تالاسمی مینور، گلبول‌ها مقاومت بیش‌تر یا به عبارت دیگر، شکنندگی کم‌تری دارند (۶).

در این مطالعه به منظور مقایسه قدرت تشخیصی آزمون تک‌مرحله‌ای (یک لوله‌ای) شکنندگی اسمزی در سال ۱۳۷۸ در آزمایشگاه فجر ساری طراحی گردید.

## مواد و روش‌ها

در این مطالعه ۶۹۶ بیمار مراجعه‌کننده به آزمایشگاه فجر شهرستان ساری، مورد آزمایش همزمان تعیین اندکس‌های گلبولی توسط دستگاه شمارش‌گر سلولی

کوئتر نوع S ساخت آمریکا و آزمون تک‌مرحله‌ای شکنندگی اسمزی قرار گرفتند. پس از انجام مطالعه آزمایشی، بهترین غلظت نمک ۰/۴ درصد تعیین شد. فردی که آزمون شکنندگی را انجام می‌داد از نتایج دستگاه شمارش‌گر مطلع نبود. در آزمون تک‌مرحله‌ای شکنندگی اسمزی، از آب نمک ۰/۴ درصد استفاده شد و پس از مجاورت ۰/۰۵ میلی‌لیتر از خون کامل و ۵ میلی‌لیتر آب نمک به مدت ده دقیقه، سانتریفوژ سوسپانسیون حاصل، نتیجه آزمایش به سه دسته تقسیم شد: الف) در مایع فوقانی، شکنندگی گلبولی مشاهده نگردید. (مایع شفاف) ب) در مایع فوقانی، شکنندگی گلبولی کمی مشاهده گردید. ج) در مایع فوقانی، شکنندگی گلبولی کامل مشاهده گردید.

جهت بررسی آماری، گروه ب و ج در یک طبقه (به عنوان گروهی که شکنندگی گلبولی را نشان دادند) قرار داده شد. شکنندگی گلبولی به منزله مورد منفی و عدم شکنندگی گلبولی، به منزله مورد مثبت در نظر گرفته شد. سپس میزان شکنندگی و عدم شکنندگی گلبولی با اندکس MCV آزمایش‌شوندگان، توسط دستگاه شمارش‌گر سلولی مقایسه شد.

## یافته‌ها

۳۸۲ نفر از مراجعه‌کنندگان،  $MCV > 80$  داشته و در لوله آزمون‌شان، شکنندگی گلبولی مشاهده شد که به عنوان موارد منفی گزارش شد.

۳۲۸ نفر  $74 < MCV < 79$  داشته و در لوله آزمون‌شان، شکنندگی گلبولی کمی مشاهده شد که به عنوان موارد مشکوک گزارش شد.

۷۵ نفر،  $MCV < 74$  داشته و در لوله آزمون‌شان، عدم شکنندگی گلبولی مشاهده شد که به عنوان موارد مثبت گزارش شد.

تایلند انجام شد، این نتیجه حاصل گردید که بافر ۰/۳۶ درصد سالین، بیشترین حساسیت را داشته و ۹۶ الی ۱۰۰ درصد در شناسایی بتاتالاسمی هتروزیگوت موثر بوده است (۷).

نکته مهمی که باید به آن اشاره نمود، این است که عوامل متعددی در آزمایشگاه جهت به دست آوردن غلظت بافرسالین دخالت دارند. PH آب مقطر، درجه خلوص نمک مورد استفاده و حساسیت توزین از جمله عواملی هستند که سبب حصول غلظت‌های متفاوت بافرسالین می‌شود. بنابراین پیشنهاد می‌شود که هر آزمایشگاه، غلظت آب نمک مورد نیاز جهت این آزمایش را مستقلاً به دست آورد. در مجموع با توجه به نتایج به دست آمده به نظر می‌رسد که آزمون تک‌مرحله‌ای شکنندگی اسمزی با استفاده از بافرسالین با غلظت ۰/۴ درصد نمک و با حساسیت ۹۸ درصد، جهت غربالگری جمعیتی و به منظور تشخیص میکروسیتیک هیپوکرومیا که قدم اول در شناسایی مبتلایان به تالاسمی است، بسیار حساس می‌باشد. هم‌چنین این آزمون جهت بیماریابی در مناطق روستایی و دورافتاده که فاقد امکانات آزمایشگاهی از جمله دستگاه شمارش‌گر سلولی هستند، به عنوان روشی باارزش و قابل اعتماد و در عین حال ساده و ارزان مورد استفاده قرار گرفته و در حداقل زمان می‌توان بیماران را غربالگری نمود.

### سپاسگزاری

از معاون محترم پژوهشی دانشگاه که در انجام این مطالعه همکاری نموده‌اند، تشکر و قدردانی می‌شود.

۵ نفر،  $MCV > 80$  و ۶ نفر  $79 < MCV < 74$  داشته و در لوله آزمون‌شان، عدم شکنندگی گلبولی مشاهده گردید. پس از انجام محاسبات آماری، نتایج به شرح ذیل حاصل گردید.

حساسیت آزمون (Sensitivity)، ۹۸ درصد  
ویژگی آزمون (specificity)، ۲۶ درصد  
کارایی (Efficiency)، ۶۶ درصد

جدول شماره ۱: توزیع نمونه‌ها برحسب اندازه MCV و وجود شکنندگی گلبولی در آزمایش شکنندگی اسمزی تک‌لوله‌ای

حجم متوسط گلبولی	شکنندگی	شکنندگی	جمع
$MCV > 80 (F)$	۵	۳۸۲	۳۸۷
$MCV < 80 (f)$	۸۱	۲۲۸	۳۰۹
جمع	۸۶	۶۱۰	۶۹۶

### بحث

تحقیق نشان داد که آزمون یک لوله‌ای شکنندگی گلبولی برای  $MCV > 80$  فمتو لیتر دارای حساسیت ۹۰ درصد می‌باشد. نتایج تحقیقی در خصوص آزمون غربالگری شکنندگی اسمزی با غلظت متفاوت سالین، در جداسازی ناقلین بتاتالاسمی که در دانشگاه شیراز انجام گرفت، نشان داده است قدرت شناسایی بافر ۰/۳۷ درصد سالین، در موارد ناقلین بتاتالاسمی، ۹۸ درصد و در موارد آنمی شدید فقر آهن ۳۳/۳ درصد بوده است. در این تحقیق، حساسیت و ویژگی بافر سالین به ترتیب، ۹۸ و ۹۶ درصد بوده است. براساس این نتایج، آن‌ها معتقدند که بافر ۰/۳۷ درصد سالین، روشی باارزش و قابل اعتماد برای استفاده به عنوان آزمون واحد در مناطق با کمبود امکانات آزمایشگاهی و منابع اقتصادی می‌باشد (۶). در تحقیقی دیگر با عنوان آزمون تک‌مرحله‌ای شکنندگی اسمزی در بررسی اختلالات هموگلوبینی و ناقلین تالاسمی که در بیمارستان کولانگ

## فهرست منابع

1. Pearson HA, Mephedran PO, Brien RT. Comprehensive for thalassemia triat. *Ann NY Acad Sc* 1974; 232: 135- 44.
2. Thomas S, Sirvastava A, Jeyaseelan L, ennison D, chandy M. Nesroft as a screening test, the detection of thalassemia and common hemogolobinopathies- an evaluation against aghigh performance liquid cheromatografic method. *Indian J Med Res* 1996; 194- 7.
3. Habibzadeh F, Yadollahiw M, Merat A, Haghshenas M: Thalassemia in Iran An Overview. *Arch Irrn Med* 1998;1(1):27- 33.
4. Silvestroni E, Bianco I. A highly cost effective method of mass screening for thalassemia. *Br Med J* 1983; 286: 1007- 9.
5. kattamis C: *Screening for hemoglobinophatics* (thalassemia and other abnormal hemoglobin). In Bichel h, Guthric R, Hammeersen G, cds. Neonatal Screening for Inborn Errors of Metabolosm. NEW York: Springer Verlag, 1980; 133- 47.
6. Setoudeh Maram E, Mohtasham Amiri Z, Haghshenas M: Effectiveness of osmotic fragility screening with varing saline concentration in detecting bete thalassemia trait. *Irrn J Med Sci* 2000; 25 ( 1& 2): 56- 58.
7. Kattamis C, Efremov G, Pootrakul S. Effectiveness of one tube osmotic fragility sreening in detecting beta- thalassemia trait. *J Med Genetics* 1981; 18: 266- 270.