DOI: 10.22092/vj.2020.128596.1662
شماره ۱۳۰ بهار ۱۴۰۰
تحقیقات دامپزشکی و فرآورده های بیولوژیک

ارزیابی اثرات دما و مدت زمان نگهداری بر پارامترهای خون شناسی سگ با استفاده از آنالایزر هماتولوژی Nihon Kohden MEK–۶۴۵۰

• **گیتا داور**
دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه. ارومیه. ایران
• **وحید محمدی (نویسنده مسئول)**
گروه بیماری های درونی و کلینیکال پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه. ارومیه. ایران
• **آلاله رخشانپور**
گروه بیماری های درونی و کلینیکال پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه. ارومیه. ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸-۰۹-۱۱ تاریخ پذیرش:۱۳۹۸-۱۱-۱۵
Email: v.mohammadi@urmia.ac.ir

چکیده

تاخیر زمانی بین نمونه‌برداری تا آنالیز نمونه‌ها هنگامی می‌تواند اتفاق افتد که نمونه‌های خون از راه‌های دور به آزمایشگاه‌های مرجع ارسال می‌شوند یا هنگامی که آنالیز نمونه‌ها در آزمایشگاه به دلایلی با تاخیر انجام می‌شود. هدف از این مطالعه بررسی پایداری آنالیت‌های خون‌شناسی در نمونه خون سگ با استفاده از آنالایزر هماتولوژیNihon Kohden MEK-۶۴۵۰ در هنگام ذخیره نمونه‌ها تا ۴۸ ساعت در دو دمای ۴ و ۲۴ درجه سانتی‌گراد بود. نمونه‌های خون از ۴۰ قلاده سگ از نظر بالینی سالم در لوله‌های حاوی EDTA جمع آوری شدند و ابتدا در طی یک ساعت از زمان جمع‌آوری با استفاده از آنالایزر Nihon Kohden MEK-۶۴۵۰ مورد بررسی قرار گرفتند. سپس نمونه‌ها در دماهای ۴ و ۲۴ درجه سانتی‌گراد ذخیره شده و در ۳، ۶، ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از جمع‌آوری مجدداً مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. تغییرات قابل توجه و معنی‌دار در آنالیت‌های خونی شناختی در نمونه‌های خون سگ نگهداری شده شامل افزایش HCT و MCV در ۲۴ ساعت در هر دو دما (۴ و ۲۴ درجه) و کاهش MCHC از شش ساعت در دمای ۴ درجه و ۲۴ ساعت در دمای ۲۴ درجه و افزایش MPV در ۶ ساعت در هر دو دما بودند و تعداد پلاکت‌ها از شش ساعت در هر دو دما کاهش یافت. تغییر معنی‌داری در شمارش گلبول قرمز، سفید و غلظت هموگلوبین در طول مدت مطالعه مشاهده نشد. اگرچه بیشتر تغییرات در آنالیت‌های خون شناختی در خون سگ هنگام نمونه‌گیری در دو دمای۴ و ۲۴ درجه از نظر تحلیلی قابل قبول و از نظر بالینی ناچیز و جزئی است، اما بهترین روش در اندازه‌گیری آنالیت‌های خون شناختی در این حیوان، آنالیز به موقع نمونه خون ترجیحا در مدت یک ساعت پس از جمع آوری است.

کلمات کلیدی: خون شناسی، متغیرهای پیش آنالیز، دما، مدت زمان نگهداری، سگ

www.SID.ir

Archive of SID

Veterinary Researches & Biological Products No 130 pp: 87-93

Effects of temperature and storage time on canine hematologic parameters using the Nihon Kohden MEK-6450 hematology analyzer

By: Davar, G., Graduated from Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University. Mohammadi, V., (Corresponding Author) Department of Internal Medicine and Clinical Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University. and Rakhshanpour, A., Department of Internal Medicine and Clinical Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University.

Received: 2019-12-02 **Accepted: 2020-02-04**

Email: v.mohammadi@urmia.ac.ir

Delay between sampling and sample analysis can occur when blood samples are transported to reference laboratories or coincide with holidays. The aim of this study was to evaluate the stability of hematological analytes in canine blood samples using Nihon Kohden MEK-6450 hematology analyzer. Blood samples were collected from 40 clinically healthy dogs in EDTA-containing tubes and examined for 1 hour using Nihon Kohden MEK-6450 analyzer. The samples were then stored at 4 and 24 ° C and re-analyzed at 3, 6, 24 and 48 hours after collection. Significant changes in blood analytes in samples from dogs included, HCT and MCV were increased at 24 h at both temperatures (4 and 24 ° C) and was decreased in MCHC from 6 h at 4 ° C and 24 h at 24 ° C and MPV was increased at 6 h at 4 ° C, respectively. Platelet count was also decreased from 6 h at both temperatures. There were no significant changes in RBC, WBC counts and hemoglobin concentration during the study. Although most changes in hematological analytes were analytically acceptable and clinically insignificant in samples when stored at 4 and 24 ° C, however, the best way to measure hematological analytes is immediate analysis after sampling. The blood samples are preferable to be analyzed within an hour after collection.

Key words: hematology, preanalytical variables, temperature, storage time, canine

مقدمه

هدف از آزمایش‌های خون‌شناسی مشخص کردن مقادیر درست یک آنالیت تشخیصی در نمونه خون در شرایط آنالیز in vitro است بطوریکه تضمین شود ترکیب نمونه طی فاز قبل از آنالیز تغییری نخواهد کرد. به هر حال تعدادی از متغیرهای قبل از آنالیز مانند مدت زمان پس از جمع‌آوری خون تا آنالیز، روش آنالیز و دمای نگهداری نمونه ممکن است آنالیت‌ها را تحت تاثیر قرار دهند. مدت زمان جمع‌آوری نمونه تا آنالیز به علت مسافت انتقال نمونه به آزمایشگاه، هنگام تست دوباره یا هنگامی‌که آنالیز فورا قابل انجام نیست، می‌تواند به تاخیر افتد. تاخیر فراوان در فرایند آزمایش هماتولوژی می‌تواند اعتمادپذیری نتایج را دچار خدشه کند. بواسطه تصمیم‌گیری درست درباره پذیرش یا رد کردن نمونه‌های قدیمی و تفسیر درست نتایج، بایستی تغییراتی که طی مدت نگهداری نمونه خون اتفاق می‌افتد، مورد شناسایی قرار گیرند. در کارهای بالینی دامپزشکی و آزمایشگاه‌های کلینیکال پاتولوژی، آنالیزهای هماتولوژی معمولا در اسرع وقت انجام می‌شوند و یا مانند پزشکی با نگهداری نمونه در دمای ۴ درجه حداکثر طی ۲۴ ساعت انجام خواهند شد. بهرحال در بسیاری از موارد، امکان انجام آزمایش بصورت فوری مهیا نیست و تاخیرهایی تا ۴۸ ساعت بواسطه انتقال نمونه به آزمایشگاه‌های مرجع به علت تعطیلات رسمی یا پایان هفته پیش می‌آید. همه این‌ها سوالاتی راجع به پایداری متغیرهای مورد محاسبه و اعتبار تفسیر نتایج بخصوص در مورد نمونه‌هایی که در دمای اتاق نگهداری شده اند را مطرح می‌کند. بسیاری از آنالیت‌های اندازه‌گیری شده در خون‌شناسی ماده شیمیایی خاصی تولید نمی‌کنند اما سلول‌هایی هستند که ممکن است طی دوره نگهداری تحت اتولیز قرار گیرند. به علاوه محلول‌های مورد استفاده برای رقیق‌سازی یا رنگ‌آمیزی برای این سلول‌های شکننده ممکن است سبب تغییرات مرفولوژیک بیشتری شوند. این بدان معنی است که ثبات یک متغیر ممکن است نه تنها با شرایط پیش از آنالیز بلکه همچنین ممکن است با شرایط حین آنالیز تحت تاثیر قرار گیرد، بنابراین با توجه به دستگاه آنالایزر مورد استفاده تغییرات مشاهده شده ممکن است متفاوت باشند. آنالایزرهای خون‌شناسی شمارنده‌های سلولی تعداد سلول‌ها را در خون اندازه‌گیری، طبقه‌بندی و توصیف می‌کنند. شمارش کامل خون (CBC) شامل مجموعه

www.SID.ir

Archive of SID

آزمایش‌هایی است که در آن کمیت تعداد گلبول‌های قرمز (RBCs)، گلبول‌های سفید (WBCs) و پلاکت‌ها، جزئیات مربوط به اندازه و شکل آن‌ها، میزان محتوای هموگلوبین (Hb) گلبول‌های قرمز، درصد و تعداد مطلق پنج نوع گلبول سفید و سلول‌های خونی نابالغ و غیر طبیعی بررسی می‌شود. شمارنده‌های سلول با استفاده از روش‌های الکتریکی و نوری CBC را با خون کامل بدون لخته (خون کامل با ضد انعقاد) انجام می‌دهند. شمارشگر الکترونیکی سلول‌های خون با فن‌آوری امپدانس یا فناوری کولتر نیز کار می‌کنند و به این صورت که در این روش سلول‌ها در یک محیط الکترولیت مانند سالین که هدایت کننده الکتریسیته است شناور می‌شوند. سلول‌های معلق رسانای نسبتاً ضعیف الکتریسیته هستند. بنابراین، این سلول‌ها مانع از توانایی محیط در هدایت جریان الکتریسیته در یک منطقه حساس که به عنوان دیافراگم معروف است، می‌شوند. با عبور همزمان جریان و سلول‌ها از این فضای کوچک یا دیافراگم انحراف در جریان را می‌توان اندازه‌گیری کرد. علاوه بر این، اندازه سلول متناسب با انحراف حاصل از جریان الکتریسیته است. این افتراق در اندازه حجمی سلول‌ها برای اندازه‌گیری توزیع اندازه گلبول‌های قرمز، تمایز پلاکت‌ها از گلبول‌های قرمز و شمارش تفریقی گلبول‌های سفید مورد استفاده قرار گیرد. آنالایزر خون شناسی MEK-۶۴۵۰ (Nihon Kohden, Tokyo, Japan) از روش امپدانس شمارش سلول استفاده می‌کند. این دستگاه یک آنالیزور فشرده هماتولوژی است که برای آزمایشگاه‌های دامپزشکی طراحی شده است و قابلیت انجام همزمان ۲۰ پارامتر (برای سگ، گربه، گاو و اسب) یا ۱۲ پارامتر (برای رت و موش) را با استفاده از تکنولوژی امپدانس دارد. به طور کلی برای آزمایشگاه‌های با حجم کاری متوسط و به عنوان پشتیبان دیگر دستگاه‌ها در آزمایشگاه‌های تخصصی هماتولوژی مناسب می‌باشد.

با توجه به دانسته‌های ما تاکنون میزان پایداری آنالیت‌های خون شناسی در نمونه‌های خون سگ نگهداری شده در دمای ۴ و ۲±۲۴ درجه با استفاده از آنالایزر Nihon Kohden MEK-۶۴۵۰ گزارش نشده است. این پژوهش با هدف ارزیابی میزان پایداری آنالیت‌های خون شناختی در نمونه‌های خون سگ‌های از نظر بالینی سالم که در دمای ۴ درجه و ۲±۲۴ درجه تا ۴۸ ساعت نگهداری شده‌اند، انجام شد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌های خون کامل ۴۰ قلاده سگ سالم از نظر بالینی (از هر حیوان دو نمونه) در لوله‌های حاوی EDTA-K۳ (هر لوله سه میلی‌لیتر) جمع‌آوری می‌شدند و معیار آزمایش نمونه جمع‌آوری شده، پر شدن مقدار حجم کافی خون در لوله بدون وجود لخته قابل مشاهده بود. قبل از انجام آنالیز لوله‌های حاوی خون ۱۵-۱۰ دفعه سر و ته می‌شدند. ابتدا طی نیم تا یک ساعت پس از نمونه‌گیری آنالیز نمونه‌ها توسط دستگاه انالایزر هماتولوژی Nihon Kohden, MEK-۶۴۵۰ (Tokyo, Japan) که از کارخانه سازنده جهت آنالیز هماتولوژیک خون سگ تنظیم شده است، انجام شد. محاسبات شامل اندازه‌گیری غلظت هموگلوبین، HCT، MCHC، MCH، MCV، شمارش تام RBC شمارش تام WBC و شمارش تفریقی گلبول‌های سفید بود. سپس نمونه‌ها در دو دمای ۴ درجه و دمای اتاق (۲±۲۴درجه) نگهداری می‌شدند و هر نمونه دوباره در ساعت‌های ۳، ۶، ۲۴ و ۴۸ پس از جمع‌آوری آنالیز شد (۲). به نمونه‌های نگهداری شده در دمای ۴ درجه قبل از آنالیز، فرصت داده می‌شد تا دوباره گرم شده و با محیط هم دما شوند.

روش تحلیل آماری

داده‌ها بصورت میانگین (±) انحراف معیار گزارش شده است. در این مطالعه از نرم‌افزار آماری SPSS (ver) ۲۳ و آزمون‌های آماری کولموگرف-اسمیرنوف و Repeated measure ANOVA استفاده شد. در کلیه بررسی‌ها مقدار P کمتر از ۰/۰۵ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شده است.

نتایج

نتایج ارزیابی نمونه‌های خون سگ که در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و دمای ۲±۲۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شده و توسط آنالایزر هماتولوژی MEK-۶۴۵۰-Nihon Kohden آنالیز شدند در جدول‌های ۱ و ۲ بصورت میانگین (±) انحراف معیار آورده شده است.

همان‌گونه که در نتایج ارائه شده در جدول‌های ۱ و ۲ نشان داده شده است، افزایش معنی‌دار هماتوکریت و میانگین حجم گلبولی در ۲۴ ساعت در هر دو دما مشاهده شد (P<۰/۰۵). تعداد پلاکت‌ها از ساعت ۶ در هر دو دما کاهش یافت (P<۰/۰۵). میانگین حجم پلاکتی در ساعت ۶ در دمای ۴ درجه افزایش یافت و این افزایش تا ساعت ۴۸ نیز ادامه داشت (P<۰/۰۵) اما در در دمای ۲۴ درجه نیز اگر چه روندی افزایشی داشت اما این افزایش معنی‌داری نبوده است (P<۰/۰۵). شمارش گلبول‌های قرمز و غلظت هموگلوبین تغییر معنی‌داری در دو دما، در ساعات مختلف نداشتند و تعدادشان تا ۴۸ ساعت نسبتا پایدار است. تغییر معنی‌داری در تعداد گلبول‌های سفید و شمارش تفریقی آن‌ها در هر دو دمای ۴ و ۲۴ درجه در ساعت‌های مختلف مشاهده نشد (P<۰/۰۵).

بحث و نتیجه‌گیری

پارامترهای خون‌شناختی برای ارزیابی وضعیت فیزیولوژیکی بیمار و نظارت بر تغییرات بیماری‌زا مهم هستند. در طب انسانی، شاخص‌های مختلفی برای توصیف مرز و دامنه قابل قبول تغییر آنالیت‌ها توصیف شده است. هدف اصلی در هر آزمون آزمایشگاهی ارائه نتایجی است که دقیق و درست باشند. اگر چه به طور معمول توصیه می‌شود که سنجش‌های خون‌شناختی بر نمونه‌ها در کمترین زمان و به سرعت پس از نمونه‌گیری انجام شوند اما اگر این امر امکان‌پذیر نباشد، توصیه می‌شود نمونه‌ها در دمای چهار درجه سانتی‌گراد (یخچال) نگهداری شوند تا تغییرات غیر واقعی به حداقل برسند (۱۶). آنالیز با تاخیر هنگامی ممکن است رخ دهد که به درخواست، نمونه خون به یک آزمایشگاه مرجع فرستاده می‌شود یا به دلایلی دیگر مانند دوری مسافت امکان آنالیز به موقع وجود نداشته باشد. به خوبی شناخته شده است که دستکاری نمونه‌های خون و روش نگهداری و ذخیره آن‌ها می‌تواند بطور قابل توجهی نتایج گمراه کننده‌ای در پی داشته باشد (۵, ۷, ۱۴, ۱۷). علاوه بر این، در هماتولوژی تمرکز بر آنالیز سلول‌هاست، که سلول‌ها

www.SID.ir

Archive of SID

ممکن است در طی ذخیره‌سازی و شرایط آنالیز به دلیل محلول‌های معرف سل کانترهای اتوماتیک هماتولوژی تحت اتولیز قرار گیرند. در نتیجه، تغییرات مشاهده شده ممکن است با توجه به دستگاه مورد استفاده متفاوت باشند (۳). به طور کلی پایداری نمونه به صورت ظرفیت یک نمونه در حفظ مقدار اولیه کمیت سنجش شده در یک دوره زمانی و شرایط نگهداری مشخص توصیف می‌شود (۹). به هرحال پایداری نمونه ممکن است براساس دستگاه آنالایزر مورد استفاده تفاوت داشته باشد زیرا آنالایزرهای هماتولوژی مختلف تکنیک‌های متفاوت را جهت شناسایی و اندازه‌گیری آنالیت‌های هماتولوژیک استفاده می‌کنند. به عنوان مثال، پایداری MCV در خون انسان نگهداری شده در دمای ۴-۸ درجه سانتی‌گراد با استفاده از دستگاه ADVIA ۱۲۰،۱۰ ساعت و با استفاده از (Sysmex XE) Sysmex Kobe Japan-۲۱۰۰۲۴ ساعت و با آنالایزر کولتر LH۷۵۰ ۴۸ ساعت بود. در مطالعه دیگری بر خون انسانی ذخیره شده در دمای چهار درجه، MCV طی ۷۲ ساعت با استفاده از آنالایزر هماتولوژی Abbo++CELL-DYN Saphire پایدار ماند. چون آنالایزر ۶۴۵۰-Nihon Kohden MEK بطور رایج در آزمایشگاه های دامپزشکی معتبر جهان و ایران برای آنالیز خون‌شناسی گونه‌های حیوانی استفاده می‌شود، بررسی پایداری آنالیت‌های خون‌شناختی در نمونه‌های خون گونه‌های مختلف حیوانات با استفاده از این آنالایزر نیز ضروری است. بیشتر آنالیزورهای هماتولوژی مبتنی بر امپدانس، از جمله دستگاهی که در مطالعه حاضر مورد استفاده قرار گرفت، به طور مستقیم میزان RBC و غلظت Hg را اندازه‌گیری می‌کنند. در مقابل، هماتوکریت (Hct) یک متغیر قابل محاسبه است، که دستگاه آنالیزور با استفاده از شمارش گلبول‌های قرمز RBC و میانگین حجم گلبولی (MCV)-پارامتر دیگری که مستقیما اندازه‌گیری می‌شود -آن را محاسبه می‌کند. Hct در هر دو دما (۴ و ۲۴ درجه) از ساعت ۲۴-افزایش یافت، که این رخداد به طور عمده به دلیل افزایش در MCV است. نتایج این پژوهش نشان داد که با ذخیره خون به مدت ۴۸ ساعت در دماهای ۴

جدول ۱- نتایج خون شناسی (میانگین ± انحراف معیار) به دست آمده در مدت زمان یک ساعت پس از جمع آوری خون (آنالیز اولیه) و پس از ذخیره نمونه ها در دمای ۴ درجه به مدت ۳، ۶، ۲۴ و ۴۸ ساعت.

آنالیت	آنالیز اولیه	۳ساعت	۶ساعت	۲۴ ساعت	۴۸ساعت
گلبول قرمز ($\times10^6$ µl)	۶/۸۸ ۱±/۱۷	۶/۱±۹۰/۲۵	۶/۸۱±۱/۲۹	۶/۸۴±۱/۱۶	۶/۷۱±۱/۱۳
هموگلوبین (g/dl)	۱۵/۰۹ ۳±/۱۳	۱۵/۴۸±۲/۹۶	۱۵/۱۳±۳/۲۳	۱۵/۴۶±۲/۸۷	۱۴/۹۸±۲/۹۲
هماتوکریت (٪)	۴۶/۵۳ ۸±/۳۰	۴۶/۵۶±۸/۶۳	۴۶/۴۶±۸/۷۹	۴۷/۹۵±۸/۶۷*	۴۸/۴۶±۸/۷۴
MCV(fl)	۶۷/۵۶ ۱±/۹۰	۶۷/۵۳±۲/۳۷	۶۷/۴۷±۲/۰۱	۶۹/۴۳±۲/۷۹*	۶۹/۵۰±۲/۹۳
MCH(pg)	۲۲/۳۸ ۱±/۲۹	۲۲/۴۱±۰/۹۶	۲۲/۱۷±۰/۸۶	۲۲/۵۴±۱/۰۱	۲۲/۲۵±۱/۱۷
MCHC(g/dl)	۳۳/۱۰ ۱±/۲۴	۳۳/۲۴±۱/۰۷	۳۲/۴۵±۱/۱۰*	۳۲/۲۲±۱/۲۳	۳۲/۲۲±۱/۶۲
RDW (٪)	۱۲/۷۹ ۱±/۱۵	۱۳/۰۲±۱/۴۶	۱۳/۶۳±۱/۳۶	۱۴/۰۸±۱/۸۱	۱۳/۹۸±۱/۷۳
پلاکت ($\times10^3$ µl)	۳۶۷/۰۰ ۱۶۷±/۵۲	۳۶۰/۴۲±۱۵۸/۱۶	۳۱۹/۵۷±۱۴۹/۰۹*	۳۱۷/۵۶±۱۴۶/۹۸	۲۹۶/۷۲±۱۴۷/۶۸
MPV(fl)	۶/۳۷ ۰±/۹۱	۶/۵۸±۱/۱۰	۷/۹۵±۱/۰۲*	۷/۹۱±۱/۱۶	۷/۹۹±۱/۰۶
گلبول سفید ($\times10^3$ µl)	۱۱/۰۶ ۳±/۱۹	۱۱/۴۳±۳/۰۹	۱۱/۴۶±۳/۲۸	۱۱/۷۸±۳/۱۴	۱۲/۱۱±۲/۹۷
نوتروفیل ($\times10^3$ µl)	۸/۲۸±۳/۰۹	۸/۲۴±۲/۹۵	۸/۵۷±۳/۵۳	۸/۰۸±۲/۷۶	۸/۱۵±۲/۹۴
لمفوسیت ($\times10^3$ µl)	۲/۴۵±۰/۹۰	۲/۳۵±۰/۹۹	۲/۳۲±۱/۰۵	۲/۶۵±۱/۰۵	۲/۸۶±۰/۹۴
مونوسیت ($\times10^3$ µl)	۰/۳۶±۰/۱۶	۰/۴۲±۰/۱۷	۰/۳۴±۰/۱۷	۰/۴۶±۰/۲۴	۰/۴۸±۰/۲۹
ائوزینوفی ($\times10^3$ µl)	۰/۰۸±۰/۰۶	۰/۰۹±۰/۰۸	۰/۱۲±۰/۰۹	۰/۱۴±۰/۱۳	۰/۲۰±۰/۱۹

* در هر ردیف بیانگر وجود اختلاف معنی دار ($p < ۰/۰۵$) است.

www.SID.ir

Archive of SID

و ۲۴ درجه، شمارش گلبول‌های قرمز و غلظت هموگلوبین بدون تغییر باقی ماند که با نتایج بسیاری از مطالعات گذشته مطابقت دارد (۲, ۶, ۸, ۱۰). MCV شاخص حجم گلبول‌های قرمز است. در مطالعه حاضر، MCV پس از ۲۴ ساعت از ذخیره‌سازی در هر دو دما افزایش یافته است. این تغییر با تورم گلبول‌های قرمز و پس از آن افزایش در MCV ارتباط دارد، که در مطالعات مشابه، از جمله در موش‌ها، سگ‌ها و انسان نیز گزارش داده شده است (۶, ۸, ۱۱).

در مطالعات دیگری MCV در خون انسان و خرگوش به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد بدون تغییر باقی مانده است. باید در نظر گرفته شود که افزایش MCV از این جهت مهم است که تغییرات غیر واقعی در MCV می تواند میکروسیتوز را پنهان کند یا منجر به تشخیص نادرست ماکروسیتوز شود. متورم شدن اریتروسیت‌ها به علت نگهداری نمونه خون می‌تواند بر سایر پارامترهای هماتولوژیک تأثیر گذارد. آبشی و همکاران بطور مشابه در مورد MCV دریافتند که مقدار MCV در هر دو دمای ۴ و ۲۲ درجه پس از ۶ساعت نگهداری در آنالیز با آنالایزر vet ۲۸۰۰-BC افزایش یافت (۱).

MCHC، تخمینی از میانگین غلظت هموگلوبین در گلبول‌های قرمز است. در مطالعه حاضر، MCHC با گذشت زمان نگهداری کاهش یافته است. نتایج این پژوهش نشان داد که برخی پارامترهای RBC مانند MCV و MCHC که در طبقه‌بندی و تشخیص تفریقی آنمی‌ها استفاده می‌شوند نسبت به تغییر به واسطه نگهداری و ذخیره نمونه حساس هستند. در مطالعه حاضر در ساعت ۲۴ در دمای ۲۴ درجه پس از جمع‌آوری نمونه افزایش معنی‌دار MCV مشاهده شد و MCHC در ۲۴ساعت بعد از خون‌گیری در دمای ۲۴ درجه کاهش معنی‌داری یافت. افزایش MCV و کاهش MCHC در بیشتر موارد به واسطه نفوذپذیری سلول نسبت به مولکول‌های آنالیت کوچک طی زمان نگهداری نمونه در آزمایشگاه است که سبب متورم شدن گلبول قرمز به صورت وابسته به زمان می‌شود. محققین دیگری چنین

جدول ۲- نتایج خون شناسی (میانگین ± انحراف معیار) به دست آمده در مدت زمان یک ساعت پس از جمع آوری خون (آنالیز اولیه) و پس از ذخیره نمونه ها در دمای ۲۴±۲ درجه به مدت ۳، ۶، ۲۴ و ۴۸ ساعت.

آنالیت	آنالیز اولیه	۳ساعت	۶ساعت	۲۴ ساعت	۴۸ساعت
گلبول قرمز ($\times10^6$ µl)	۶/۸۸ ۱±/۱۷	۶/۱±۹۳/۲۳	۶/۸۲±۱/۲۰	۶/۸۳±۱/۱۲	۶/۸۶±۱/۰۸
هموگلوبین (g/dl)	۱۵/۰۹ ۳±/۱۳	۱۵/۶۳±۱/۱۹	۱۵/۴۴±۲/۹۹	۱۵/۴۰±۳/۱۳	۱۵/۶۷±۲/۹۲
هماتوکریت (٪)	۴۶/۵۳ ۸±/۳۰	۴۷/۰۹±۸/۸۰	۴۷/۱۲±۸/۴۴	۴۷/۷۰±۸/۲۴*	۴۸/۶۷±۸/۷۵
MCV(fl)	۶۷/۵۶ ۱±/۹۰	۶۷/۸۳±۲/۴۲	۶۷/۵۳±۲/۳۰	۶۹/۷۲±۳/۱۲*	۷۰/۶۹±۳/۲۴
MCH(pg)	۲۲/۳۸ ۱±/۲۹	۲۲/۴۴±۱/۰۸	۲۲/۵۴±۱/۱۱	۲۲/۴۱±۱/۴۳	۲۲/۷۴±۱/۲۸
MCHC(g/dl)	۳۳/۱۰ ۱±/۲۴	۳۳/۰۸±۱/۰۸	۳۳/۵۲±۱/۴۰	۳۲/۱۶±۱/۷۵*	۳۲/۲۲±۱/۸۳
گلبول سفید ($\times10^3$ µl)	۱۱/۰۶ ۳±/۱۹	۱۱/۹۵±۳/۵۲	۱۱/۴۲±۳/۵۵	۱۲/۳۵±۳/۳۹	۱۱/۷۶±۳/۳۸
نوتروفیل ($\times10^3$ µl)	۸/۲۸±۳/۰۹	۸/۶۴±۳/۰۹	۸/۹۲±۴/۶۰	۸/۲۹±۳/۰۸	۷/۸۸±۲/۸۵
لمفوسیت ($\times10^3$ µl)	۲/۴۵±۰/۹۰	۲/۱۶±۰/۸۵	۲/۸۱±۰/۷۶	۳/۳۷±۱/۳۱	۳/۵۳±۱/۴۸
مونوسیت ($\times10^3$ µl)	۰/۳۶±۰/۱۶	۰/۳۸±۰/۲۰	۰/۲۴±۰/۰۷	۰/۴۲±۰/۱۶	۰/۴۷±۰/۴۰
ائوزینوفی ($\times10^3$ µl)	۰/۰۸±۰/۰۹	۰/۱۱±۰/۰۹	۰/۲۰±۰/۱۸	۰/۲۲±۰/۲۱	۰/۵۳±۰/۴۹
پلاکت ($\times10^3$ µl)	۳۶۷/۰۰ ۱۶۷±/۵۲	۳۷۴/۵۲±۱۶۸/۷۶	۳۶۰/۳۳±۱۷۱/۶۹*	۳۱۹/۵۸±۱۷۲/۶۱	۲۸۸/۱۷±۱۶۵/۲۸
MPV(fl)	۶/۳۷ ۰±/۹۸	۶/۶۳±۰/۸۹	۷/۹۳±۰/۷۱*	۷/۹۷±۱/۱۲	۷/۹۲±۱/۱۵
RDW (٪)	۱۲/۹۷±۱/۱۵	۱۳/۱۹±۱/۲۵	۱۳/۵۰±۱/۲۸	۱۳/۶۹±۱/۳۳	۱۳/۷۱±۱/۵۵

* در هر ردیف بیانگر وجود اختلاف معنی دار ($p < ۰/۰۵$) است.

www.SID.ir

Archive of SID

تغییراتی را در دمای چهار درجه در نمونه خون انسان، سگ و اسب آنالیز شده با آنالایزر ADVIAI۲۰ گزارش کرده‌اند (۴, ۶, ۸, ۱۱). در مطالعه حاضر، شمارش پلاکت‌ها پس از ذخیره‌سازی در دمای ۴ و ۲۴ درجه از ساعت شش بطور معنی‌داری کاهش یافت و تا ساعت ۴۸ این کاهش ادامه داشت. این یافته‌ها با سایر مطالعات در سگ‌ها و انسان سازگار بود (۱۳). در مطالعه دیگری، تعداد پلاکت‌ها در نمونه‌های خون میمون، خرگوش، موش و رت با ذخیره‌سازی در دمای چهار درجه سانتی‌گراد تا ۷۲ ساعت بدون تغییر باقی ماندند (۲). کاهش شمارش پلاکت‌ها در هنگام ذخیره‌سازی به تجمع پلاکت‌ها ارتباط داده می‌شود. برای به حداکثر رساندن دقت شمارش پلاکت‌ها، آن‌ها باید در اسرع وقت پس از جمع‌آوری خون شمارش شوند؛ زیرا شمارش آن‌ها پس از ذخیره‌سازی نمونه خون در هر دو دمای اتاق و دمای یخچال پس از ۶ ساعت کاهش معنی‌دار داشته است. در این مطالعه MPV در شش ساعت در هر دو دما به طور معنی‌داری افزایش یافت. افزایش قابل توجه در MPV در نمونه‌های خون انسانی ذخیره شده در چهار درجه به مدت ۲۴ یا ۷۲ ساعت پس از جمع‌آوری و نمونه خون میمون در ۲۴ ساعت و خون خرگوش در ۴۸ ساعت و نمونه خون اسب پس از ۲۴ ساعت با استفاده از آنالایزر ADVIA ۱۲۰ گزارش شده است (۶, ۱۱, ۱۲). افزایش MPV احتمالا به دلیل بزرگ شدن پلاکت‌ها در نمونه‌های ذخیره شده است. از آنجا که MPV معمولاً به عنوان شاخص فعال شدن پلاکت و ترومبوپوئز استفاده می‌شود، نتایج تورم غیر واقعی پلاکت‌ها سبب پیچیده و اشتباه شدن تفسیر یافته‌های MPV می‌شود. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که بهتر است MPV در مدت زمان یک ساعت پس از خون‌گیری اندازه‌گیری شود. تعداد کل و تفریقی گلبول‌های سفید در مدت زمان ذخیره‌سازی ۴۸ ساعته به طور قابل توجهی تغییر نکرد، در مطالعات دیگری بر نمونه‌های خون میمون تا ۷۲ ساعت در دمای چهار درجه و در نمونه‌های خون اسب تا ۴۸ ساعت در دو دمای ۴ و ۲۴ درجه با استفاده از دستگاه ADVIA ۱۲۰ تغییر قابل توجهی مشاهده نشده است (۲, ۶). کاهش تعداد WBC در خون سگ‌های ذخیره شده در دمای اتاق گزارش شده که با استفاده از آنالایزر ADVIA ۱۲۰ مورد ارزیابی قرار گرفتند، که این امر به لیز شدن گلبول‌های سفید در طی ذخیره‌سازی ارتباط داده شده است (۸, ۱۵). -در گزارش‌های پیشین، غلظت هموگلوبین و تعداد گلبول‌های قرمز سگ به عنوان پایدارترین آنالیت‌های خون که تا سه روز در دمای اتاق بدون تغییر باقی مانده‌اند گزارش شده است (۱۳). در مطالعه حاضر نیز غلظت هموگلوبین و تعداد گلبول‌های قرمز تا ۴۸ ساعت در هر دو دما پایدار باقی ماند.

نتیجه‌گیری کلی

بطور کلی، نمونه‌های خون سگ ذخیره شده در دمای یخچال یا اتاق تا مدت ۱ روز، برای شمارش سلولی معمول، غلظت هموگلوبین و MCV مناسب هستند. نتایج تایید کردند که تغییرات خون شناختی بسیار جزیی و بدون اهمیت بالینی در این مدت زمان و دما در آنالیز نمونه‌ها با دستگاه Nihon Kohden MEK-۶۴۵۰ رخ می‌دهند. به هر حال، بهتر است در این گونه حیوانی آنالیت‌های خون شناختی در کمترین مدت زمان پس از جمع‌آوری، ترجیحا تا یک ساعت، آنالیز شوند. هنگامی که تجزیه و تحلیل نمونه به تأخیر می‌افتد، برای جلوگیری از سوء تفسیر تغییرات مصنوعی در آنالیت‌های خونی به عنوان تغییرات پاتولوژیک، آنالیت‌های حساس تر به پیری، ترجیحا باید در نظر گرفته نشوند و عدم اطمینان در مورد نمونه‌ای که برای آنالیز آن تأخیر شده بود، گزارش شود.

پاورقی‌ها

1. Aperture.
2. Aging.

منابع مورد استفاده

1- Abeshi, J., E. Dimco, G. Dhamo, E. Lika and E. Ozuni. 2014. Effects of Storage at Room and Refrigerator Temperatures on Dogs Blood Parameters. *Albanian Journal of Agricultural Sciences* 13.

2- Ameri, M., H. A. Schnaars, J. R. Sibley and D. J. Honor. 2011. Stability of hematologic analytes in monkey, rabbit, rat, and mouse blood stored at 4 degrees C in EDTA using the ADVIA 120 hematology analyzer. *Vet Clin Pathol* 40: 188-193.

3- Bourges-Abella, N. H., A. Geffre, P. L. Deshuillers, J. P. Braun and C. Trumel. 2014. Changes in hematology measurements in healthy and diseased dog blood stored at room temperature for 24 and 48 hours using the XT-2000iV analyzer. *Vet Clin Pathol* 43: 24-35.

4- Bourner, G., J. Dhaliwal and J. J. L. h. o. p. o. t. I. S. f. L. H. Sumner. 2005. Performance evaluation of the latest fully automated hematology analyzers in a large, commercial laboratory setting: a 4-way, side-by-side study. 11: 285-297.

5- Buttarello, M. J. C. C. A. 2004. Quality specification in haematology: *the automated blood cell count*. 346: 45-54.

6- Clark, P., T. D. Mogg, H. W. Tvedten and D. Korcal. 2002. Artifactual changes in equine blood following storage, detected using the Advia 120 hematology analyzer. *Vet Clin Pathol* 31: 90-94.

7- Cohle, S. D., A. Saleem and D. E. J. A. j. o. c. p. Makkaoui. 1981. Effects of storage of blood on stability of hematologic parameters. 76: 67-69.

8- Furlanello, T., S. Tasca, M. Caldin, E. Carli, C. Patron, M. Tranquillo, G. Lubas and L. Solano-Gallego. 2006. Artifactual changes in canine blood following storage, detected using the ADVIA 120 hematology analyzer. *Vet Clin Pathol* 35: 42-46.

9- Guder, W. J. S. j. o. c. and l. investigation. 1999. Preanalytical factors and their influence on analytical quality specifications. 59: 545-549.

www.SID.ir

Archive of SID

10- Gulati, G. L., L. J. Hyland, W. Kocher, R. J. A. o. p. Schwarting and l. medicine. 2002. Changes in automated complete blood cell count and differential leukocyte count results induced by storage of blood at room temperature. 126: 336-342.

11- Imeri, F., R. Herklotz, L. Risch, C. Arbetsleitner, M. Zerlauth, G. M. Risch and A. R. J. C. c. a. Huber. 2008. 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. 397: 68-71.

12- Lippi, G., G. L. Salvagno, G. P. Solero, M. Franchini, G. C. J. J. o. L. Guidi and C. Medicine. 2005. Stability of blood cell counts, hematologic parameters and reticulocytes indexes on the Advia A120 hematologic analyzer. 146: 333-340.

13- Medaille, C., A. Briend-Marchal and J. P. Braun. 2006. Stability of selected hematology variables in canine blood kept at room temperature in EDTA for 24 and 48 hours. *Vet Clin Pathol* 35: 18-23.

14- Meyer, D. and J. J. S. L. Harvey. 2004. Veterinary laboratory medicine: interpretation & diagnosis. Saunders.

15- Prins, M., M. W. van Leeuwen and E. Teske. 2009. Stability and reproducibility of ADVIA 120-measured red blood cell and platelet parameters in dogs, cats, and horses, and the use of reticulocyte haemoglobin content (CH(R)) in the diagnosis of iron deficiency. *Tijdschr Diergeneeskd* 134: 272-278.

16- Thrall, M. A., G. Weiser, R. Allison and T. Campbell. 2012. Veterinary hematology and clinical chemistry. John Wiley & Sons.

17- Wood, B. L., J. Andrews, S. Miller and D. E. J. A. j. o. c. p. Sabath. 1999. Refrigerated storage improves the stability of the complete blood cell count and automated differential. 112: 687-695.

www.SID.ir