

# Otomatik kan sayım sistemleri ve sonuçların değerlendirilmesi

Dr. Mutlu Arat

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, İbni Sina Hastanesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı

## GİRİŞ

1960'lı yıllarda tam kan sayımı (TKS, CBC) 7 parametreden oluşmaktaydı. Bunlar beyaz küre sayısı (BKS, WBC) ve kırmızı küre sayısı (KKS, RBC), hemoglobin (Hgb) ve hematokrit (Htk, Htc) ölçümleri ile ortalama eritrosit hacmi (OEH, MCV), ortalama eritrosit hemoglobini (OEHB, MCH) ve ortalama eritrosit hemoglobin yoğunluğu (OEHY, MCHC) idi. Yetmişli yıllarda otomatik tam kan sayım cihazlarının (OTKSC) gösterdiği teknik ilerleme ile birlikte önce trombosit sayımı (TS, PLT) ve seksenli yılların başında da kırmızı küre dağılım genişliği (KKDG, RDW) ve ortalama trombosit hacmi (OTH, MPV) günlük kullanımda yerini almıştır. Beyaz küre formülü bazı cihazlarda ayrı bazılarında ise entegre olarak sonuçlara eklenmeye başlanmış önce 3' lü (granülosit, mononükleer, lenfosit) sonrasında ise 5'li formül (nötrofil, lenfosit, monosit, eozinofil, bazofil) verebilen, 26 ve daha üstü parametreye bakabilen, saatlik hızları 100-120 kan örneğini çalışmaya elverişli, tam bilgisayar bağlantılı ve otomatik, isteğe bağlı olarak aynı örnekten periferik yayma da yapabilen OTKSC geliştirilmiştir. Son olarak geliştirilen ve günlük klinik kullanıma sokulan parametreler; hemoglobin dağılım genişliği (HDG, HDW), trombosit dağılım genişliği (PDW, PCDW) ve hücresel hemoglobin yoğunluğu ortalaması (HHYO, CHCM), ortalama küreleştirilmiş hücre hacmi (MSCV)'dir. Retikülosit sayımı (#RETIC, retikülosit hacmi (MRV), immatür retikülosit fraksiyonu (IRF), yoğunluğu ve retikülosit hemoglobin içeriği (CHr) gibi parametrelerde artık günlük klinik kullanımda yerlerini bulmaktadırlar. Yeni jenerasyon OTKSC'lerde floresans yöntemi ile hücre canlılığı (viyabilite) bakılması da gerçekleştirilebilmekte ve çekirdekli eritrositler dahi ayrımsanmakta ve sayılabilmektedir.

## Tam kan sayımı işlemi 3 bölümde ele alınabilir;

1- ANALİZ ÖNCESİ DÖNEM: Kanın alınmasındaki hastanın fizyolojik durumundan alınan kan örneğinin laboratuvara ulaşıp OTKSC'de analiz edilinceye kadar geçen dönemi içine almaktadır.

- Fizyolojik (yaş, yükseklik, gebelik, sigara)
- Örnek alınması (bekleme süresi, antikoagülanların etki-

leri, endojen interferans)

2- ANALİTİK DÖNEM: Cihazların çalışma yöntemleri anlatılacaktır.

## 3- SONUÇLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

- Hemoglobin ve hematokrit
- Kırmızı küre sayımı ve indeksler
- Kırmızı küre dağılım genişliği
- Retikülosit sayımı
- Trombosit sayımı ve indeksleri
- Lökosit sayımı ve formül

## 1- ANALİZ ÖNCESİ DÖNEM

a. *Fizyolojik* (yaş, yükseklik, gebelik, sigara).

Deniz seviyesinin 1400m üzerinde Hgb ve Htk değerlerinin %8 daha yüksek olduğu ve bu durumun düşen parsiyel oksijen basıncına sekonder ortaya çıkan reaktif eritrositozdan kaynaklandığı gösterilmiştir.

Uzun süredir sigara içen kişilerde artmış kan karboksihemoglobin düzeyi, bu hemoglobinin oksijene olan artmış afinitesinden dolayı doku oksijenizasyonunu bozar ve Hgb, KKS ve BKS da artış meydana gelir. Bu kişilerde OEH de yüksek bulunmuştur. BKS, sigara içen sağlıklı kişilerde, içmeyen sağlıklı kişilere göre  $1-2 \times 10^9/L$  daha fazla bulunmuştur ve bu değer yıllık sigara tüketiminin artmasıyla daha da yükselmektedir.

Gebelik sırasında ortaya çıkan vücut plazma hacmi artışı göreceli bir hemodilüsyona yol açar. Gebelerin Hb ve Htk değerlerinin buldukları trimestere göre değerlendirilip anemi açısından gözlemlenmesi gerekir.

b. *Örnek alınması* (bekleme süresi, antikoagülanların etkileri ve endojen interferans)

Kan örnekleri sıklıkla EDTA-K3 içeren Vacutainer adı verilen (içindeki vakum ile uygun ekipman kullanılması halinde içine otomatikman 4,5 ml kan örneği alınır) tüplere konmalı ve olabilecek en çabuk şekilde (doğru hastaya ait olduğu barkodla belirtilmelidir) laboratuvara ulaştırılmalıdır. Örneklerin bekleme süresinin (rotator olmaksızın) 3 saati geçmemesi öne-

**Tablo 1.** Ortalama eritrosit hacmi (OEH) ve kırmızı küre dağılım genişliği (KKDG) verilerine göre anemilerin sınıflandırılması (Bessman JD, et al. Improved classification of anemias by MCV and RDW. Am J Clin Pathol 1983;80:322-326)

OEH AZ.KKDG N	OEH AZ.KKDG ART.	OEH N.KKDG N.	OEH N. KKDG ART	OEH ART. KKDG N.	OEH ART. KKDG ART.
Heterozigot talasemi	Demir eksikliği anemisi	Normal	Bifenotipik anemi	Aplastik anemi	Folat eksikliği
Kronik hastalık	S-β-talasemi	Kronik hastalık	Erken demir veya folat eksikliği anemisi	Prelösemik durumlar	Vit B12 eksikliği
	Hemoglobin H	Kronik karaciğer hastalığı	Anemik hemoglobinopati		İmmun hemoliz
	Fragmentasyon	Hemoglobinopati taşıyıcılığı (S, C)	Miyelofibrozis, Sideroblastik anemi		Soğuk agglutininler
		Transfüzyon			KLL*
		Kemoterapi			
		KLL, KML			
		Hemoraji			
		Hereditör sferositoz			

N.: NORMAL, ART.: ARTMIŞ, AZ.: AZALMIŞ, KLL: KRONİK LENFOSİTER LÖSEMİ, KML:KRONİK MYELOSİTER LÖSEMİ, KOYU ALANLARDA KKDG ARTMIŞTIR.

● KLL'de lökositlerde kırmızı küre dağılımına dahil olabilmektedirler.

**Tablo 2.** Otomatik tam kan sayım cihazlarında ortaya çıkan hatalı sonuçların nedenleri (Combleet J. Spurious results from automated hematology counters. Lab Med 1983;14:509-514)

Ölçüm	Hatalı Yüksek Ölçüm Nedeni	Hatalı Düşük Ölçüm Nedeni
Beyaz Küre Sayımı	Kriyoproteinler Heparin Paraproteinler Çekirdekli eritrositler Trombosit kümeleşmesi "clumping" Tamamlanamamış hemoliz	Pıhtılaşma Ezilmiş hücreler (basket hücreleri) Üremi İmmün baskılayıcı ilaçlar
Kırmızı Küre Sayımı	Kriyoproteinler Dev trombositler BKS> 50x10e9/L	Otoagglutinasyon Pıhtılaşma İn vitro hemolizler
Hemoglobin	Karboksihemoglobin>%10 Kriyoproteinler İn vivo hemoliz Heparin BKS> 50x10e9/L Hiperbilirubinemi Lipemi Paraproteinemi	Pıhtılaşma Sulfhemoglobinemi (?)
Hematokrit	Kriyoproteinler Dev trombositler BKS> 50x10e9/L Hiperglisemi (>600mg/dl)	Otoagglutinasyon İn vitro hemoliz Mikrositer kırmızı küre
Ortalama Eritrosit Hacmi	Otoagglutinasyon BKS> 50x10e9/L Hiperglisemi Kırmızı küre deformabilitesinde azalma	Kriyoproteinler Dev trombositler İn vitro hemoliz Mikrositer kırmızı küre Şişmiş kırmızı küre
Ortalama Eritrosit Hemoglobin Yoğunluğu	Otoagglutinasyon Pıhtılaşma İn vitro hemoliz Hatalı yüksek hemoglobin ölçümü Hatalı düşük hematokrit ölçümü	BKS> 50x10e9/L Hatalı düşük hemoglobin ölçümü Hatalı yüksek hematokrit ölçümü
Trombosit Sayımı	Kriyoproteinler Hemoliz Mikrositer kırmızı küre Kırmızı kürelerde inklüzyon cisimcikleri Beyaz kürelerde fragmentasyon	Pıhtılaşma Dev trombositler Heparin Trombosit kümeleşmesi "clumping" Trombosit satellitizmi

ılmaktadır. Nötrofiller EDTA ile bekledikleri zaman morfolojik değişikliklere uğramaktadırlar. Nötrofiller zamanla şişmekte ve lobuler yapılarını yitirmektedirler. Eğer kan alımı eksik yapıldı ise bu durum daha hızlı gelişmektedir. Aynı şekilde zamana ve EDTA yoğunluğuna bağlı bozunma mononükleer hücrelerde de gözlenir. Trombositlerde şişme gözlenir ve dev trombositler oluşur. Bu dev trombositlerin fragmentasyonu sonucu ortaya çıkan parçacıkların OTKSC tarafından sayılması sonucu, yalancı trombosit sayısı artışı gözlenebilir. EDTA lı solüsyonlarda trombositlerin diskoid şekillerinin sferik yapıya dönüşmeleri OTH ölçümlerinin güvenilirliğini etkilemektedir.

EDTA'ya bağlı psödotrombositopeni, bazı kişilerin trombosit membranı üzerindeki GPIIb/IIIa yüzey antijeninin EDTA-bağımlı IgG otoantikörler tarafından bağlanıp kümeleşmesi sonucu ortaya çıkar. OTKSC kümeleşmiş trombositleri beyaz küre olarak algılar ve bunun sonucunda yalancı trombositopeni ve lökositöz gözlenir. Günümüzde modern OTKSC bu durumu uyarı mesajı ile bildirmektedir. Örneklerin tekrar 37 °C'ye getirilmesi yada örneğin tekrar sitrat ile alınması durumunda bu durum ortadan kalmaktadır.

Trombosit satellitizmi, yine EDTA-bağımlı IgG otoantikörlerin hem trombositlerde GPIIb/IIIa kompleksi ve nötrofillerde FC-gama reseptör III'e bağlanması sonucu trombositlerin nötrofillerin etrafında adeta bir çiçek oluşturmasına dizilmesidir. İn vitro ve oda sıcaklığında oluşur, aşırı olduğunda psö-

dotrombositopeni yapabilir.

Tablo 2'de OTKSC' de gözlenebilecek yalancı artış ve düşüşlerin nedenleri belirtilmiştir.

## 2- ANALİTİK DÖNEM

Otomatik tam kan sayım cihazları başlıca 5 yöntemle çalışmaktadırlar. Fakat zamanla değişik yöntemler birarada kullanılarak cihazlar daha mükemmel hale getirilmiştir. Tablo 3' de bazı OTKSC ve kullandıkları yöntemler belirtilmiştir.

### Kullanılan yöntemler;

- **Empedans yöntemi:** Hücreler dar bir aralıktan geçerken doğru akımda meydana getirdikleri empedans (elektrik direnci) değişimi ile sayı ve büyüklükleri belirlenir. Voltaj değişiklikleri hücre büyüklüğü ile doğru orantılıdır.
- **Optik sistem:** Bu cümleyi sizin önerinizle şu şekilde değiştirdim; Hücrelerine üzerin gelen lazer ışını değişik yönlere yansır. Dar açı ile meydana gelen yansımalar hücre büyüklüğü ve geniş açı ile ortaya çıkanlar ise hücre yapısının (granularite ve çekirdek yapısı) saptanmasında kullanılırlar.
- **Işık absorpsiyonu:** Histokimyasal boya (örn. peroksidaz) hücrelere verilir ve sonrasında meydana gelen ışık absorpsiyonuna göre hücre granüllerindeki peroksidaz aktivitesi saptanır. Bazı cihazlarda optik sistemle birlikte 5 li beyaz küre formülü oluşturulması için kulla-

**Tablo 3.** Kan sayım cihazlarını etkileyen durumlar, neden ve çözümleri (A. Köroğlu, Hematoloji 1. Basamak Eğitim Kursu Kitabından)

Durum	Etkilenen Parametre	Açıklama	Çözüm
Soğuk aglütininler	RBC↓, OEHT↑, OEHY↑	RBC histogramda iki farklı eritrosit popülasyonu, özellikle sağa kayma	Kan ısıtılarak (37 derece) tekrar sayılır
Lipemik (hipertriglisideremi) veya ikterik kan	Hb≠, OEHT↑, OEHY↑	Bulanıklık fotometrede Hb değerinin yüksek okunmasına neden olur	Kan santrifüj edilerek plazması değiştirilir, sonra sayım yapılır
Hemolizli kan	KK↓, Hct↓, OEHYv	Hemoliz olan eritrositler kan sayım cihazında sayılmaz	Tekrar örnek alınır
Litik ajanlara dirençli eritrositler (anormal hemoglobinler)	BK↑, Hb↑	HbS, C ve F taşıyan eritrositler litik ajanlara dirençli olabilir. Bu durumda lökosit olarak sayılırlar	Litik ajanla manuel dilüsyon yapılarak, lizis için yeterince beklenir
Mikrosit ve şistositler	KK↓	Küçük eritrositler normal eritrosit popülasyonu içine dahil edilemezler	Eritrosit popülasyonunda sola kayma ve uyarı mesajı görülür. PY incelenir
Eritroblastlar ve megakaryosit parçaları	BK↑	Eritroblastlar ve megakaryosit parçaları lökosit olarak sayılırlar	Her 100 lökosit başına düşen eritroblast veya megakaryosit parçası PY de sayılarak, lökositler hesapla düzeltilirler
Trombosit kümeleri ve trombosit satellitizmi	PltØ, BK↑	Büyük trombosit kümeleri lökosit olarak sayılır. Lökositlerin etrafına dizilen trombositler lökositlerle birlikte sayılırlar	PY incelenir, Sitratlı kan alınarak tekrar sayım yapılır.
BK>50x10e9/L	Hb≠, KK↑, hatalı Htc ve anormal indeksler	Bulanıklıktan dolayı Hb fotometrede yüksek okunur. Lökosit sayısı fazla olduğu için eritrosit histogramında görülürler.	Mikrohematokrit bakılır, manuel Hb bakılırken supernatan kullanılır. Eritrosit sayımı düzeltilir, indeksler hesaplanır
Bekletilmiş kan örneği (>3 saat)	OEHT↑, OTH↑, Plt↓	Eritrositler bekledikçe şişebilir, trombositler dejenere olurlar. Lökositler uzun süre EDTA'da beklediğinde bozulurlar. Lökosit histogramında anormal hücre popülasyonları ortaya çıkar.	Kanların sayım için bekletilebileceği maksimum süre her laboratuvar tarafından tespit edilmelidir. Bu süre 3 saati geçmemelidir. PY 1 saat içinde yayılmalıdır.

PY: periferik yayma

nılmaktadır.

- **İletkenlik:** Düşük frekanslı akım (empedans), yüksek frekanslı elektromanyetik enerji ve optik sistem (VCS) ile beyaz kürelerin çekirdek yapısı ayrıntılı olarak tanımlanabilmekte ve 5'li lökosit formülü oluşturulmaktadır.
- **Flöresans:** Flöresan ışığın emisyonunun ölçümü ile değişik hücre serileri tanımlanabilmekte ve artık cihazlarda akım sitometrik yöntemler ile diğer yukarıda belirtilen teknikler değişik kombinasyonlarda kullanılarak daha hassas ve güvenilir sonuçların elde edilmesine çalışılmaktadır.

Kullanılan yöntemlerin güvenilirliği uluslararası kuruluşlarca belirlenmiş kılavuzlara göre değerlendirilmektedir. Varyasyon katsayısı (VK; CV, coefficient of variation) standart sapmanın ortalama değere bölündükten sonra 100 ile çarpılmasından elde edilen bir istatistik parametredir. Özellikle laboratuvar cihazlarının hassasiyetlerinin ölçümlerinde ve değişik cihazların aynı örnekten yaptıkları ölçümlerin karşılaştırılmasında sıkça bu parametreye başvurulur normal dağılıma göre "Gaussian", yapılan ölçümün ne kadar sapma gösterdiği anlaşılabilir. Varyasyon katsayısının %5'in altında olması beklenmektedir. Manuel yöntem "hemasitometre" ile OTKSC arasındaki fark, aynı örnekten yapılan ölçümlerin tekrar elde edilebilirliği (2 VK), aşağıdaki tabloda belirgin bir şekilde görülmektedir.

Sayılan hücre tipi	2 Varyasyon katsayısı	
	Hemasitometre	Ot. Tam Kan Sayım Cihazı
Kırmızı küreler	±%11	±%1
Beyaz küreler	±%16	±%1,5
Trombositler	±%22	±%2
Retikülositler	±%33,9	±%5

Cihazlarda belirli zamanlarda referans tüplere göre kalibrasyon yapılmaktadır. Yine laboratuvar içi "internal kalite kontrolü" kontrolde aynı tam kan örneğinden tekrarlanarak yapılan ölçümlerin VK'sının %5'in altında olması beklenmektedir.

Aynı zamanda fazla işlem kapasitesine sahip olan ya da referans niteliğindeki laboratuvarlar "eksternal kalite kontrolü" programları ile laboratuvarlarındaki OTKSC'leri yurtdışından gönderilen referans kan örnekleri ile kontrol etmeli ve sonuçlar diğer merkezlerdeki cihazların sonuçları ile karşılaştırıldığında normal dağılım eğrisinin içinde ve düşük VK'ya sahip olmalıdırlar.

### 3- SONUÇLARIN YORUMLANMASI

Günlük klinik ve poliklinik hizmetinde çok fazla kullanılan OTKSC ve onların bize verdiği sonuç olan TKS yorumu, cihazlardaki teknik gelişmeler ile hassasiyet ve güvenilirliğin artmış olmasına rağmen, önemini korumaktadır. Değişik büyüklük, işlem kapasitesi ve çalışma özelliklerine sahip olmalarına rağmen TKS sonuçları 6 ana bölümde incelenmiştir.

Öncelikle çalışma prensibi ve yöntem anlatılacak sonrasında ise yorumlanmasından bahsedilecektir. Ortaya çıkan hatalar ve nedenleri ise Tablo 2'de belirtilmektedir.

Genelde OTKSC kan örneğini özel antikoagülanlı tüpten aspire eder ve örneğin bir kısmındaki kanı lizise uğratarak Hgb ve BK analizi yapar. Kalan kısım ise hemolize uğratılmadan kırmızı küre ve trombosit analizi için kullanılır.

Sonuçlarla birlikte kırmızı küre, trombositler veya lökosit formülü için basılmış olan histogramlar da (eğer çıktıda varsa) ayrıntılı olarak incelenmelidir.

#### a. Hemoglobin ve hematokrit

Hemoglobin, hem optik hem de elektrik empedans yönteminde potasyum ferrisiyanür ile siyanmethemoglobine dönüştürülmekte ve hemoglobinin yoğunluğu, 540 nm.deki adsor-

**Tablo 3.** Otomatik tam kan sayımı cihazları ve kullandıkları analiz yöntemleri

Üretici firma	Model	Kullanılan Metod
ABBOTT	CELL-DYN 4000	Optik ve akım sitometrik iRBC ve Plt sayımı impedans
	CELL-DYN 3500	Optik
KOBE	CELL-DYN 3000	Optik
	SYSMEX SE-9000	Empedans, radyofrekans, selektif
	SYSMEX SE-8000	lizis
	SYSMEX XE-2100	
BAYER DIAGNOSTICS	ADVIA 120	Işık absorpsiyonu
	TECHNICON H-6000	Işık absorpsiyonu ve empedans
	TECHNICON H*1	Işık absorpsiyonu ve empedans
	TECHNICON H*2	Işık absorpsiyonu ve empedans
	TECHNICON H*3	
COULTER	LH 750	Empedans, VCS (Hacim, iletkenlik, optik)
	Gen-S	
	STKS	
	MaxM	
	S Plus IV, V, VI	

Hb ölçümü tüm cihazlarda spektrofotometrik olarak yapılmaktadır.

bansın spektrofotometrik olarak ölçülmesi ile hesaplanmaktadır. Htk optik sistemle direkt olarak hesaplanabilirken, elektrik empedans yönteminde indirekt olarak KKS ve KK hacmi üzerinden hesaplanmaktadır.

Korpusküler Hemoglobin Yoğunluğu Ortalaması (CHCM): Advia 120 ile hücre tabanlı direkt ölçümle hesaplanan bir parametredir (MCHC, aritmetik yöntemle indirekt hesaplanmaktadır). Hb (cellular, hücresel): CHCM X KKS (RBC) X OEH (MCV) şeklinde eritrosit içi Hb'i gösterir. Kolorimetrik yöntemle elde edilen Hb (total) olarak adlandırılabilir ve tüm eritrositlerin lizise uğratılması sonucu ortaya çıkar. Eğer verilen örnekte eritrosit dışı Hb varsa Hb (ekstrasellüler): Hb(total) - Hb(cell) olarak hesaplanarak, hemoliz miktarı hesaplanabilir. Hemoliz olmayan durumlarda Hb(total) ve Hb(cell) lineer korelasyon içindedir.

#### b. Kırmızı küre sayımı ve indeksler

Her 2 sistemde KKS kuantitatif olarak yapılabilirken, elektrik empedans yönteminde OEH, OEHB ve Hct elde edilen Hgb, KKS ve KK hacmi üzerinden indirekt olarak aşağıdaki formüllere göre hesaplanmaktadır.

OEHB(MCH): Hgb (g/L) / KKS (10e6/mcL)

OEHY(MCHC): Hgb (g/L) / Hct (%)

OEH (MCV)(fL): Htk (%) / KKS (10e6/mcL)

Hct: OEH (fL) X KKS (10e6/mcL)

Optik sistemlerde kırmızı küre sayısını ve KK hacmini "isovolumetrik küreleştirme" yöntemi ile ölçmekte ve bu şekilde eritrosit indeksleri direkt olarak ölçülebilmektedir. Bu şekilde tüm OTKSC'lerde olmayan korpusküler hemoglobin yoğunluğu (KHY; CHC) ve bu değerlerin VK olan hemoglobin dağılım genişliği (HDG; HDW) saptanabilmektedir.

OEH klinik ve tanısal yararı en fazla olan eritrosit indeksidir. OEHB genelde OEH ile paralellik gösterir ve klinik yararı kısıtlıdır. OEHY demir eksikliği anemisinde diğer mikrositer anemilere göre daha sık olarak düşük bulunmakta fakat bu değişiklik geç dönemlerde ortaya çıkar. Artmış OEHY sıklıkla herediter sferositozda ortaya çıkar fakat her zaman gözlenemez.

#### c. Kırmızı küre dağılım genişliği

KKDG aslında KK hacim dağılımının varyasyon katsayısıdır (CV) ve yüzde şeklinde belirtilmektedir. Her cihazın farklı üst sınır değerleri olmasına rağmen % 14'ün üzerinde olması patolojik olarak kabul edilmektedir. KKDĞ KK'ların büyüklüklerindeki değişiklikler (anisositoz) konusunda bilgi ver-

**Tablo 4.** Retikülosit olgunlaşma indeksi (ROI): Yeni bir tanısal yardımcı

Hastalık	Retikülosit Sayımı	ROI
Aplastik Anemi	Düşük	Düşük
Aplastik Kriz	Düşük	Düşük/Normal
Hipoplastik Anemi	Düşük	Düşük/Yüksek
Kemik İliği Rejenerasyonu	Düşük	Düşük/Yüksek
Kronik Hastalık	Düşük/Normal	Normal
Demir Eksikliği	Düşük/Normal	Yüksek
Talasemi	Normal/Yüksek	Normal/Yüksek
Miyelodisplastik Sendromu	?	Normal/Yüksek
Folat/B12 eksikliği	Düşük/Normal	Yüksek
Hemolitik Anemi	Yüksek	Yüksek
Kan Kaybı (kanama)	Normal/Yüksek	Yüksek

mekte ve periferik yaymanın mikroskopik incelemesi dahi KK'lerin anormal alt gruplarının saptanmasında KKDG kadar bilgi verici olmamaktadır. Bu parametrenin artışının, nütrisyonel eksikliklere bağlı gelişen anemilerde ve özellikle de demir eksikliği anemisinde (anemi gelişmeden demir eksikliği durumunda dahi) ilk bulgu olduğuna dair yayınlar vardır. Talasemi taşıyıcılığı ile demir eksikliği anemisi olan olguların ayrımında kullanılabilirliği de vurgulanmaktadır.

#### d. Retikülosit sayımı

OTKSC'lerinde metilen mavisi veya floresan RNA bağlayıcı boyalarla retikülosit sayısının mutlak değeri saptanabilmekte ve özellikle manuel yöntemin yetersiz kaldığı düşük-normal retikülosit değerleri belirlenebilmektedir. "Mutlak retikülosit sayısı" (= %Ret x Htk / 45) eldesi, düzeltilmiş retikülosit yüzdesi (= %Ret x Htk / 45) kavramına gereksinimi ortadan kaldırmaktadır. Bu şekilde hematopoietik kök hücre nakli sonrası eritroid engrafman da monitörize edilebilmektedir. Retikülosit olgunlaşma indeksi (ROI, RMI), genç retikülositlerin (yüksek parlaklık veya ışık yansımaları gösteren) olgun olanlara oranı (Immatür retikülosit fraksiyonu, IRF) ve bu değerlerin 0,4 ü geçmesi eritroid ve takip eden myeloid engrafmanın habercisi olarak kullanılmaktadır. ROI ve mutlak retikülosit sayısının tanısal önemi Tablo 4'de gösterilmiştir.

Retikülosit hemoglobin içeriği (CHR); özellikle ferritin'in akut faz reaktanı olması nedeni ile demir eksikliğinin ayırt edilemediği durumlarda, soluble Transferin reseptörü/log Ferritin oranı (sTfR-F) le beraber kullanıldığında demir eksikliği anemisi CHR<28pg olan olgularda büyük bir güvenilirlikle konmaktadır. Aynı zamanda pediatrik ve erişkin hemodiyaliz hastalarının iv. demir tedavilerinin takiplerinde ve rHuEPO sonrası ortaya çıkan fonksiyonel DEA'da çok önemli bir takip parametresidir.

#### e. Trombosit sayımı ve indeksleri

Tam kandan trombosit sayımı, trombositlerin küçük boyutları, değişken büyüklükleri ve agregasyona eğilimleri nedeni ile her zaman VK değerleri yüksek (%22 ye varabilmektedir) ve problem çekilen ölçümler olmuştur. Genelde trombosit

**Tablo 5.** Hangi tam kan sayımı sonuçlarının periferik yayma ile beraber değerlendirilmesi gereklidir? Önerilen alt ve üst sınırlar. (Payne BA, et al. Am J Clin Pathol 1987;88:51-57)

Değişken	Alt Sınır	Üst Sınır
Lenfositler (x10e9/L)	<1,0	>50,0
Eritrositler (x10e12/L)	<2,0	>8,0
Hemoglobin (g/L)	<50	>200
OEH (fL)	<60	>110
OEHB (pg)	<20	>37
OEHY (%)	<25	>37
KKDG (%)		>20
Trombositler* (x10e9/L)	<40	>1000

\* Trombosit histogramının bazal seviyesine dönmemesi ve trombosit sonucu alınamaması durumunda mutlaka periferik yayma değerlendirilmesi yapılmalıdır.

**Tablo 6.** Cihazların uyarı mesajlarının karşılaştırmalı dökümü ve klinik değerleri

Uyarı Mesajı (Flag)	Coulter STKS/Gen-S	Bayer ADVIA 120	Abbott Cell-Dyn 4000
Img1, Left Shift (sola kayma), band (çomak)	<15 çomak >83 Segment	<10 Çomak >80Segment	<10 Çomak >80 Segment
Img2, Ig	>15 çomak, >90 Segment, klinik önemli	>10 çomak, >85 segment, klinik önemli	>0,7 güvenilirlik, klinik önemli
Blast	Blast, majör sola kayma, artmış bazofili	Majör sola kayma, blastlar, lizise dirençli hücre varlığı	Anormal lenfositler, blastlar, artmış monositler
Var Lym, aty lym, vary	>4 atipik lenfosit, anormal/immatür lenfositler, blast	>7 atipik lenfosit, anormal lenfosit, blast	Atipik lenfosit, anormal/immatür lenfosit, blast
Nrbc, rstrbc	Trombosit yığınları ve sistositler, büyük trombositler	Nrbc, den trombositler, trombosit yığınları	Hedef hücreler, orak hücreleri, dirençli kırmızı küreler
Giant Plt, plt clumps	Fibrin ağları, dev trombositler, trombosit yığınları,	trombosit yığınları, fibrin ağları	trombosit yığınları, fibrin ağları
R flag	Spesifik olmayan		
LUC, FP		Atipik lenfosit, variant lenfosit, blast	

Img: immatür granülosit, nrbc: çekirdekli eritrosit, FP: flöresans veren popülasyon, rstRBC: lizise dirençli eritrosit

sayımı ile OTH ters orantılıdır. Değerlendirme yaparken trombosit sayısına göre bir referans cetveline bakarak karar vermek uygun olacaktır. TDG'nin trombosit sayısı ve OTH ile birlikte reaktif ile primer trombositozun ayırıcı tanısında kullanılabilirliği savunulmaktadır.

Günümüz cihazlarında 3000x10<sup>9</sup>/L ye kadar hassas sayım yapılabilmektedir (LH750) ve akım sitometrik olarak yüksek oranda korelasyon göstermektedirler (r=0,941, LH750).

Akım sitometrik olarak tiyazol orange boyası ile RNA boyanarak genç (retiküllü) trombositler belirlenebilir ve bunların genel trombosit sayısına yüzdesi destrüktif trombositopenilerde ve kök hücre nakli sonrası engrafmanın erken habercisi olarak kullanılabilirler.

#### f. Lökosit sayımı ve formül

Son çıkan cihazlarda artık direkt olarak (sulandırma yapılmaksızın) güvenilir bir şekilde 400x10<sup>9</sup>/L ye kadar sayım yapılabilmektedirler.

Anemiye yaklaşım ön planda olduğu için ayrıntılara girilmemiştir.

Tablo 5' de hangi durumlarda periferik yaymanın değerlendirilmesi gerektiği vurgulanmıştır. Klinisyen eğer hematolojik bir bozukluğun tanısını koyacaksa, mutlaka periferik yaymayı da incelemeli ve OTKSC çıktısındaki histogramı gözden geçirmelidir.

#### g. Hata mesajları

TKSC'nin çoğunluğu otomatik olarak kendilerine önceden tanımlanmış olan algoritmalar çerçevesinde uyarı mesajları ve (flag) dediğimiz hata mesajlarını vermektedirler. Mutlaka lenfositoz genel olarak "# Lenfositoz" olarak gösterilirken lenfositoz olmaksızın lenfosit hakimiyeti "% lenfositoz" olarak belirtilmektedir. Diğer "flag" mesajların anlamları ve ne zaman ortaya çıkabilecekleri Tablo 6'da verilmiştir.

#### SONUÇ

OTKSC zaman içinde teknik gelişim göstermiş ve yeni klinik yardımcı değerleri günlük kullanıma kazandırmışlardır. Fakat gelişmeler ne olursa olsun laboratuvar sonucun değerlendirilmesi de bir bilgi birikimi, hatalı sonuçların nedenleri-

nin ve bunlara karşı alınacak önlemlerin bilinmesini gerektirmektedir. Pratisyen hekimden, hematoloğa, genel cerrahi uzmanından iç hastalıkları uzmanına kadar, TKSC verilerinin genel değerlendirilmesi ve tanı ve tedavi algoritmasında yeni çıkan parametrelerin yararını öğrenmesi çok önemlidir.

1- Tam kan sayımında rutin istemler ve takiplerde 12 parametre yeterlidir, yeni tanı olgularda +22 parametre istenmesi daha uygundur,

2- Tam kan sayım cihazlarındaki gelişmelere rağmen çoğu sonucun periferik yayma ile birlikte doğrulanması gerekmektedir,

3- Cihazların verdiği hata mesajları (flag), cihazın çıktısındaki dağılım eğrileri de göz önüne alınarak değerlendirilmelidir,

4- Parametrelerin klinik yansımaları ve vaka tartışmaları sunuda bildirilecektir.

#### KAYNAKLAR

- Hoffman: Principles and practice of hematology  
 Handin&Stossel: Blood  
 Lee RG, et al.: Wintrobe's clinical hematology 10th edition  
 Bessman JD, et al. Improved classification of anemias by MCV and RDW. Am J Clin Pathol 1983;80:322-326  
 Combleet J. Spurious results from automated hematology counters. Lab Med 1983;14:509-514  
 Gulati GL, Hyun BH. The automated CBC: A current perspective. Hematol Oncol Clin NA 1994;8(4):593-603  
 Krause JR. The automated white blood cell differential: A current perspective. Hematol Oncol Clin NA 1994;8(4):605-616  
 Davis BH, Bigelow NC. Automated reticulocyte analysis. Clinical practice and associated new parameters. Hematol Oncol Clin NA 1994;8(4):617-630  
 Narayanan S. The preanalytic phase: An important component of laboratory medicine. Am J Clin Pathol 2000  
 Winkelman JW. Noninvasive Blood Cell Measurements by Imaging of the Microcirculation  
 Fernandez T et al. Performance evaluation of the Coulter LH750 hematology analyzer. Laboratory Hematology 2001;7:217-228  
 Veillon DM, et al. Decision dilemma: How we choose a new hematology analyzer? Lab Hematol 2000;6:151-156  
 International council in hematology expert panel on cytometry. Guidelines for the evaluation of blood cell analyzer including those used for differential leukocyte and reticulocyte counting and cell marker applications. Clin Lab Haematol 1994;16:157-174