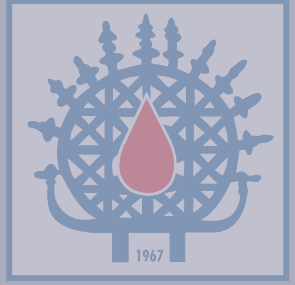


HEMATOLOJİ LABORATUVARI 2014

TAM KAN SAYIMI

II. BÖLÜM

■ TÜRK HEMATOLOJİ DERNEĞİ





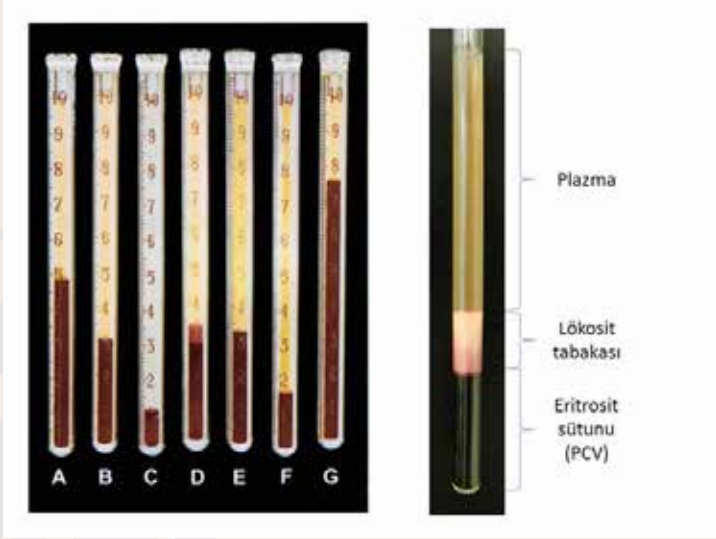
TAM KAN SAYIMI

**Dr. Aykut Köroğlu, Dr. Yücel Tangün, Dr. Hale Ören,
Dr. Özlem Tüfekçi**

Tam kan sayımının (TKS) içeriği kullanılan otomatik kan sayımı cihazlarına ve bunları kullanan laboratuvara göre değişmektedir. Genelde TKS dendiğinde lökosit sayısı, eritrosit sayısı, standart eritrosit indeksleri (MCV, MCHC, MCH, RDW), HGB, HCT ve trombosit sayısı anlaşılır. Gelişmiş kan sayımı cihazı kullanan laboratuvarlarda lökosit formülü, eritroblast sayısı, immatür (Genç =olgunlaşmamış) granülositler, trombosit indeksleri ve retikülosit sayısı TKS raporuna ilave edilmektedir.

Kan sayımı cihazlarında teknik özelliklerine (markalarına) göre çeşitli trombosit ve retikülosit indeksleri ölçülmektedir. Ancak bunların hepsi standardize edilmemiştir, daha çok araştırma amacıyla kullanılmaktadır. Cihazlar ne kadar geliştirilmiş olsa da çevre kan yaymasının (ÇKY) yerini tam olarak alamamıştır, TKS ve ÇKY birbirlerini tamamlamaktadır.

İlk defa **Maxwell Myer Wintrobe** kendi adının verildiği tübü geliştirerek makrohematokrit ölçümünü standardize etmiştir. Bu gün artık kullanılmayan bu tüp gözle incelenerek bazı değerli bilgiler elde edilebilir (Resim 1). Wintrobe, kendi adıyla bilinen indeksleri (MCV, MCH ve MCHC) hesaplamış, anemileri mikrositik, normositik ve makrositik olarak sınıflandırmıştır (Tablo1). Kan sayımının tamamlayıcısı olan ÇKY'ın nasıl inceleneceğini de tarif etmiştir.



Resim 1). Wintrobe'un hematokrit tübünde santrifüj edilmiş çeşitli hastalara ait örnekler görülmektedir. **A)** Normal kan **B)** İnfeksiyon anemisi **C)** Demir eksikliği anemisi **D)** Kronik miyeloid lösemi **E)** İmmün hemolitik anemi **F)** Pernisiyöz anemi **G)** Polisitemi. Çıplak gözle bu tüplerde hematokriti, lökosit tabakasını ve plazmadaki bilirubin miktarını renginden ayırt etmek mümkündür. En sağdaki lökosit sayısı çok yüksek olan hastadan hazırlanmıştır. Makrohematokrit tüpleri gözle bazı bilgilerin doğrulanması açısından önemlidir.

Tablo 1). Wintrobe indekslerinin hesaplanması

MCV (fL) = HCT (%) * 10 / Eritrosit sayısı (Milyon/ μ L)
MCH (pg) = HGB (g/dL) * 10 / Eritrosit sayısı (Milyon/ μ L)
$MCHC$ (g/dL) = HGB (g/dL) * 100 / HCT (%)

Günümüzde manuel kan sayımı nerede ise unutulmuştur, yerini "otomatik kan sayımı cihazları" almıştır. Ancak sonuçları değerlendirebilmek için cihazların özelliklerini anlamak zorunluluk



haline gelmiştir. Manuel yöntemler ve ÇKY incelemesi cihazların kontrolü için kullanıldığından hala önemlidir.

KAN SAYIMI İÇİN ÖRNEK ALINMASI

Antikoagülan Seçimi

TKS ve ÇKY için kan örnekleri potasyum EDTA'lı tüplere alınmalıdır. Oksalatlı kanda lökositlerin sitoplazmasında vakuol, kristal oluşumu ve çekirdeklerinde loblaşma meydana gelir. Heparinli kanda trombositler kümeleşerek yalancı trombositopeni ve yalancı lökositozaya yol açar, ÇKY MGG ile boyandıklarında zeminde istenmeyen mavi-pembe boyanma görülür. Sitrata EDTA'ya bağlı trombosit aglütinasyonu (yalancı trombositopeni) görülen durumlarda doğrulama amacıyla kullanılabilir. Sitrata tüpte kanın seyreltilmesi göz önüne alınarak sonuçların düzeltilmesi gerekmektedir.

Kan Örneği Alma

TKS için venöz kan alınmalı ve standart venöz kan alma yöntemleri kullanılmalıdır. Cilt temizliği için % 70'lik izopropil alkol kullanılır. Kan alırken vakumlu tüp sistemleri tercih edilmelidir. Laboratuvar testleri için kan alınırken vakumlu sistemlerde önce kan kültürü için örnek alınır, sırasıyla sodyum sitratlı tüp, serum tüpü, jelli serum tüpü, heparinli tüp, EDTA'lı tüp, florürlü tüp ve eser element tübü kullanılır.

Damar içi kateterlerden mümkünse kan alınmamalıdır. Kateterden örnek almak zorunda kalınırsa, heparini temizlemek için 5 ml serum fizyolojik ile kateter yıkanır, önce 2-3 ml kan alınır ve atılır. Daha sonra testler için tüp sırasına göre örnekler alınır.

Kılcal kan örneği yenidoğanlar, çocuklar ve geriatri hastalarında tercih edilir. Bunun için EDTA'lı mikrotüpler kullanılmaktadır.



Örneklerin Laboratuvara Kabul Edilmeme Ölçütleri

Laboratuvar sonuçlarının sağlıklı olabilmesi için kanlar daha önceden belirlenmiş kurallara uyularak alınmalı ve laboratuvara gönderilmelidir. Bu kurallar her laboratuvar tarafından yazılı olarak oluşturulur ve bunlara uyulmayan durumlarda örnekler kabul edilmez.

Örneğin;

- Kan tübü ve istek kağıdındaki bilgiler uyuşmadığında,
- Tüplere hasta bilgileri yazılmamış veya barkod yapıştırılmamışsa,
- Eksik veya fazla kan konmuş tüpler,
- Pıhtılı ve hemolizli örnekler,
- Uygun sürede (6 saat içinde) laboratuvara gelmemiş ve aşırı ısınmış veya dondurulmuş EDTA'lı örnekler,
- Tübün dışına ve istek kağıdına kan bulaşmışsa.

Örneklerin Saklanması ve Dayanıklılığı

TKS ve ÇKY için alınan örnekler bekletilmeden en kısa sürede laboratuvara gönderilerek işleme alınmalıdır. Sayım ve yayma işlemi laboratuvarda en geç 6 saat içinde yapılmalıdır.

Bazı zorunlu durumlarda, kan sayımı 3-4 gün sonra yapılabilir. Özellikle lökosit sayısına, eritrosit sayısına, hemoglobin ve trombosit sayısına üç gün kadar beklemiş örneklerde güvenilebilir. Sayımı yapılan örnekler, laboratuvarda gerektiğinde kontrol amacıyla dört gün ağız kapalı tüplerde, oda sıcaklığında veya buz dolabında "şahit numune" olarak saklanır.

Bir günden fazla beklemiş örneklerde lökosit formülü sonuçları ve aynı şekilde eritroblast sayıları da doğru değildir. Aynı gün



sayılamayan örnekler geç sayıldığında bunun raporda "kan sayımı _ günden uzun süre bekletilmiş örnekte çalışılmıştır, sonuçlar bundan etkilenebilir" şeklinde not yazılarak belirtilmelidir.

Soğuk aglutinini ve kriyoglobulini olan veya şüphelenilen hastalardan alınan örnekler 37 °C'de alınır ve laboratuvara gönderilir. Örnekler soğukta beklemişse, 20 dakika 37 °C ısıtıldıktan sonra işleme konur.

MANUEL KAN SAYIMI

Manuel kan sayımı, otomatik kan sayımı cihazlarının yetersiz kaldığı durumlarda alternatif yöntem olarak kullanıldığından önemini korumaktadır.

Manuel Hemoglobin (HGB) Ölçümü

HGB ölçümü fotometreyle (540 nm dalga boyunda) referans olarak kabul edilen siyanmethemoglobin metodu ile yapılır. Bu metotta yapılan iyileştirmeler ve değişiklikler otomatik kan sayımı cihazlarına kısa sürede ölçüm yapacak şekilde uyarlanmıştır.

Hematokrit ve Packed cell volume (PCV)

Geçmişte PCV ve HCT eş anlamlı olarak kullanılmıştır. Bugün PCV'nin yerini HCT almıştır. PCV kan santrifüj edildikten sonra eritrositlerden oluşan kısmın kanın tümüne oranıdır. Sıkıştırılan eritrositlerin bulunduğu sütunda bir miktar hapsolmuş plazma da bulunmaktadır. Kan sayımı cihazlarında HTC, cihaz tarafından doğrudan ölçülen MCV ve eritrosit sayısından hesaplanarak bulunmaktadır. Kan sayımı cihazının ölçtüğü HTC hapsolmuş plazma içermediğinden PCV'ye göre biraz daha düşüktür.

Manuel Eritrosit Sayımı

Manuel eritrosit sayımı hemositometre (Thoma veya Neubauer sayma kamerası) ile yapılmaktadır. Kanın seyreltilmesi, sayımın uzun zaman alması ve sonuçların tekrarlanabilir olmaması manuel



eritrosit sayımının rutin amaçla kullanımını çok zorlaştırmaktadır. İmpedans yöntemi geliştirildikten sonra kan sayımı cihazlarıyla rutin olarak doğru eritrosit sayımı yapmak mümkün olmuştur.

Manuel Trombosit Sayımı

Trombositler, kan %1'lik amonyum okzalat çözeltisinde seyreltildikten sonra faz kontrast mikroskopunda hemositometrede sayılır. MGG ile boyanmış ÇKY'da trombosit sayısı tahmin edilebilir. Eritrosit morfolojisi incelenen (immersiyon objektifi ile yaklaşık 200-250 eritrositin bulunduğu) alandaki trombosit sayısı 20 bin ile çarpılarak yaklaşık olarak hesaplanır.

OTOMATİK KAN SAYIMI CİHAZLARI

Dünyadaki belli başlı kan sayımı cihazı üreticileri "Sysmex", "Beckman Coulter", "Abbott Cell-dyne" ve "Siemens (Bayer) Advia"dır. Bu markalar farklı modellerde ve değişik özelliklerde cihazlar üretmektedir. Kan sayımı cihazlarında İmpedans, Radyo dalgaları ve Optik laser scatter olmak üzere **üç temel teknoloji kullanılmaktadır**. Lökosit formülü yapan cihazlarda floresan boyalar ve sitokimyasal boyalar (peroksidad) bu üç teknoloji ile beraber kullanılmaktadır. Bu teknolojilerin ve yöntemlerin bilinmesi cihaz çkıtlarının değerlendirilmesi açısından önemlidir.

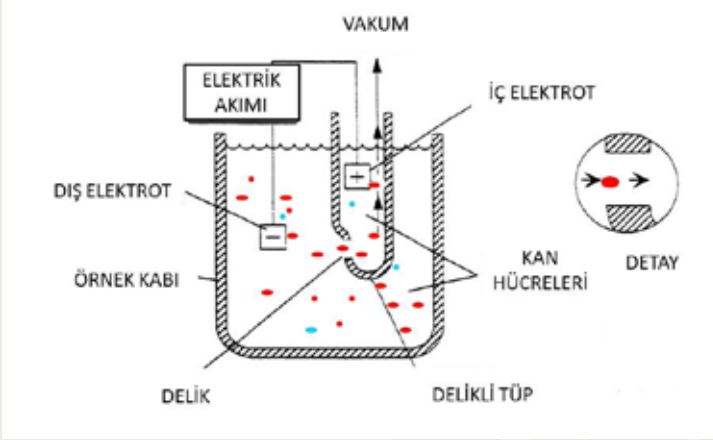
Kan Sayımı Cihazlarında Kullanılan Yöntemler

1. İmpedans Yöntemi

Wallace Coulter 1950 yılında "impedans" yöntemiyle hücre sayımını gerçekleştirmiştir. Bu yöntemde kan hücreleri ve kanın seyreltiği çözeltinin iletkenlik özellikleri kullanılmaktadır. Kan hücreleri yalıtandır. İletken olan izotonik bir sıvıyla seyreltilmiş kan, küçük bir delikle bağlantılı olan ikinci bölüme vakumla çekilmektedir. Deliğin iki tarafında sabit bir elektrik akımının uygulandığı platin elektrotlar bulunmaktadır. Her bir hücrenin delikten geçişi sırasında



içerdeki ve dışarıdaki elektrotlar arasında voltaj azalmaları meydana gelir (Resim 2).

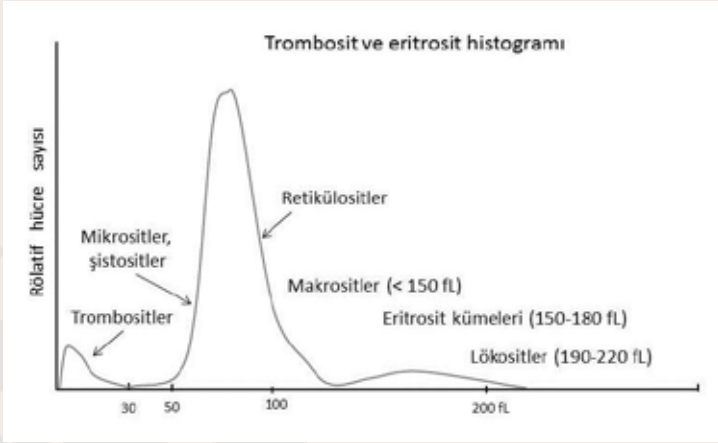


Resim 2). İmpedansla (Coulter yöntemiyle) kan hücrelerinin sayımı sematik olarak görülmektedir.

Voltaj düşüşü hücrelerin büyüklüğü ile orantılıdır. Her bir hücrenin delikten geçerken oluşturduğu sinyalin büyüklükleri ve sayıları bilgisayar aracılığı ile bir histogramda toplanır (Resim 3). Kanın seyreltme katsayısı ve sayım yapılan süspansiyonun hacmi hesaba alınarak hücre sayıları bulunur.

Normal bir kan sayımı histogramında 2-30 fL arasında trombositler bulunmaktadır. Eritrositler histogramda 50-300 fL arasındadır. Normal bir kan sayımında lökositler ve büyük trombositler sayıca az olduğundan, eritrosit histogramında anlamlı değişikliğe neden olmamaktadır (Şekil 3).

Anormal sayımlarda histogramdaki değişiklikler bilgisayar tarafından uyarı (flag) olarak değerlendirilir.



Resim 3). Trombosit ve Eritrosit histogramı

İmpedansla lökosit sayımı, eritrositlerin noniyonik deterjanla parçalandığı ayrı bir bölmede yapılmaktadır. Lökosit sayımının yapıldığı bu süspansiyonda fotometre ile hemoglobin ölçümü de gerçekleştirilir.

2. Radyo Dalgaları

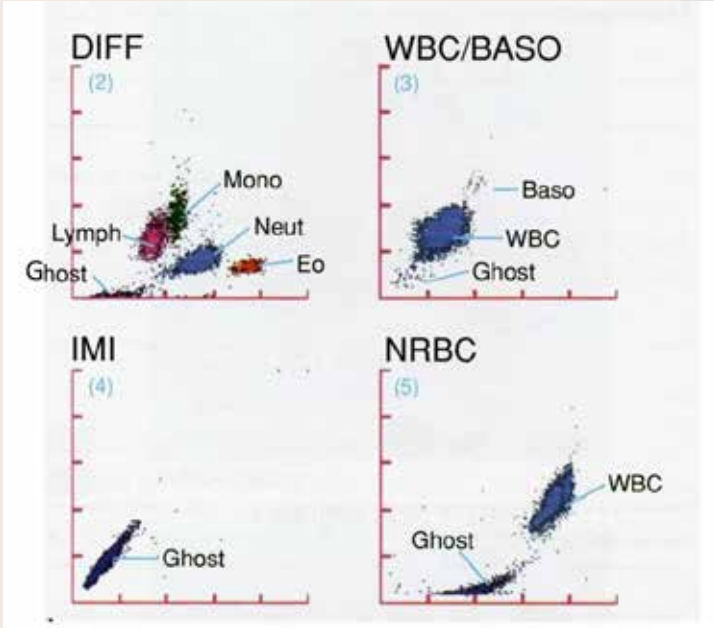
İmpedans ile lökosit sayımı yapılırken aynı anda da radyo dalgalarıyla lökositlerin çekirdek büyüklükleri, yoğunlukları ve sitoplazma granülleri hakkında bilgiler elde edilmektedir. Coulter STKS ve MaxM kan sayımı cihazları bu yöntemi (VCS; volume, conductivity, scatter) lökosit formülü yapmakta kullanmaktadır.

3. Optik Laser Scatter (Optik Yöntem)

Optik laser scatter (lazer ışığının saçılması) kısaca "optik yöntem" ile eritrosit, lökosit ve trombositleri saymak mümkündür. Kan sayımı cihazlarında impedans yöntemi ile birlikte kullanılabilirdiği gibi tek başına da uygulanabilmektedir. Kan hücreleri bir "akış odasında" (flow-cell) lazer kaynağının önünden geçerken lazer



ışığının saçılmasına neden olurlar. Lazer ışığıyla lökosit, eritrosit ve trombosit sayılabildiği gibi, lökositler floresan boylarla boyanarak formül de yapılabilmektedir. Günümüzdeki gelişmiş, çok kanallı kan sayımı cihazları bir kaç yöntemi birlikte kullanmaktadır.



Resim 4). Çok kanallı bir kan sayımı cihazından alınan lökositlerin dağılım grafikleri görülmektedir (Sysmex XT). DIFF kanalında lenfosit, monosit, nötrofil ve eozinofiller ayrılırken; bazofiller (WBC/BASO), olgunlaşmamış granülositler (IMI) ve çekirdekli eritrositler (NRBC) ayrı ayrı kanallarda sayılarak histogramda gösterilmektedir. Her kanalda sayım için kullanılan reaktifler farklıdır. Ghost histogramdaki hücre kalıntılarıdır.

Kan hücrelerinin akış odasında saçtığı lazer ışığı dedektörler tarafından algılanır, bilgisayar tarafından değerlendirilerek scattergramlar (saçılım grafikleri) çizilir (Resim 4). Lökositler saçılım grafiklerinde buldukları yerlere göre nötrofil, eozinofil, lenfosit ve



monosit olarak ayrılmaktadır. Ayrımın yapılamadığı anormal hücre gruplarının bulunduğu durumlarda "Flag" adı verilen uyarıcı bilgiler (Blast, Immatur granülosit, Atypical Lympho, NRBC, Left shift gibi...) verilmektedir. Resimde görüldüğü gibi bazofiller, olgunlaşmamış granülositler ve eritroblastlar ayrı kanallarda değerlendirilmiştir.

Kan Sayımı Cihazlarının Ayarlanması

Kan sayımı cihazlarının ayarları (kalibrasyonları) üretildikten sonra yapılmıştır. Kurulum sırasında mühendisler tarafından kontrolleri yapılır ve gerekirse ayarlanırlar. Büyük tamir ve parça değişiminden sonra veya reaktif değişikliklerinde yeniden ayarlama yapılır. İç ve dış kalite kontrollerinde sorun olmadığı sürece gerek yoktur. Altı ayda bir veya firmanın önerdiği aralıklarla ayarlar kontrol edilip yapılmalıdır.

Kan Sayımı Cihazlarında Kalite Kontrolü

Sağlık Bakanlığının yayımladığı "Hastane Hizmet Kalite Standartları" gereği laboratuvarlar bir "dış kalite kontrolü" programını takip etmelidir. Bu şekilde standart kan sayımı sonuçlarının diğer laboratuvarlarla uyum içinde olduğu belgelenir.

Günlük çalışmadan önce üç farklı (normal , düşük ve yüksek değerlere sahip) "iç kalite kontrolü" ile cihazın doğru çalıştığı gösterilmelidir. Bu kontrol kanları kan sayımı cihazını üreten firma tarafından sağlanır ve sonuçları belirlidir. İç kalite kontrollerinin sonuçları dosyasında saklanmalıdır. Bazı kan sayımı cihazlarının bilgisayarında kalite kontrol programları bulunmaktadır. Kalite belgesi almak isteyen laboratuvar denetimler sırasında iç kalite kontrollerinin sonuçlarını veya grafikleri gösterebilmelidir.

Kan sayımı değerleri bilinen taze kan örnekleri, birden çok kan sayımı cihazı olan bir laboratuvarda kontrol olarak kullanılabilir.

Günde 100 veya daha fazla kan sayımının yapıldığı cihazlarda, varsa "hareketli ortalama" (moving average) takibi yapılabilir.



Özellikle eritrosit indekslerinin hareketli ortalamasının takibi gün içinde cihazın doğru sayım yaptığını gösterir. Hareketli ortalamanın takip edilemediği durumlarda MCHC'nin %30-36 arasında olması sayımın doğru olduğunun göstergesidir. Ağır demir eksikliğinde MCHC'nin normalden düşük, sferositozda ise normalden büyük olabileceği unutulmamalıdır.

ERİTROSİT SAYIMI VE ERİTROSİT İNDEKSLERİ

Eritrosit Sayısı: Kan sayımı cihazlarıyla daha çok hücre sayıldığı (20- 50 bin) için manuel sayıma oranla daha güvenilir sonuçlara ulaşılır. Dolayısıyla manuel eritrosit sayımı ile hesaplanan eritrosit indekslerine göre otomatik kan sayımının hesapladıkları çok daha doğrudur.

Kan sayımı cihazlarının eritrosit histogramlarından da yararlı bilgiler edinilir. Şistositlerin ve mikrositlerin varlığında trombositler ve eritrosit histogramı arasında köprü oluşur. Mikrositozda histogram sağ tarafa kayar. Makrositozda ise sola kayma görülür. İki tepeli eritrosit histogramı, farklı büyüklükte iki popülasyonun olduğunu gösterir. Anemi tedavisi gören hastalarda veya kan transfüzyonu yapılanlarda görülür. Miyelodisplazinin erken bulgusu da olabilir.

MCV (Mean Corpuscular Volume): Ortalama eritrosit hacmi doğrudan impedans veya optik yöntemiyle ölçülmektedir. Wintrobe'un hesapladığı gibi formülle değil kan sayımı cihazı tarafından doğrudan ölçülür. Eritrositlerin ortalama hacimlerinin birimi femtolitredir (fL). Normal eritrositlerin hacimleri 80-100 fL'dir. Mikrositler 80 fL'den küçük, makrositler 100 fL'den büyük eritrositlerdir. Anemiler MCV'ye göre mikrositik, makrositik ve normositik olarak sınıflandırılır.

HGB (Hemoglobin): Siyanmethemoglobin yöntemi ile fotometrik olarak ölçülür. Ancak bu reaksiyon biraz yavaş olduğu için bazı cihazlarda sodyum-lauril-sülfat yöntemi kullanılmaktadır. HGB birimi yaygın olarak g/dL olarak kullanılmaktadır.



HCT (Hematokrit): Kan sayımı cihazlarında hematokrit ölçülmemekte, MCV ve eritrosit sayımından faydalanılarak formülle hesaplanmaktadır.

$$\text{HCT} = \text{MCV (fL)} * \text{Eritrosit sayısı (Milyon/}\mu\text{L)} / 10$$

MCH (Mean Corpuscular Hemoglobin = Ortalama Eritrosit Hemoglobini):

Eritrosit içindeki ortalama HGB miktarını gösterir. Normal değeri 30-34 pikogramdır (pg) 'dır.

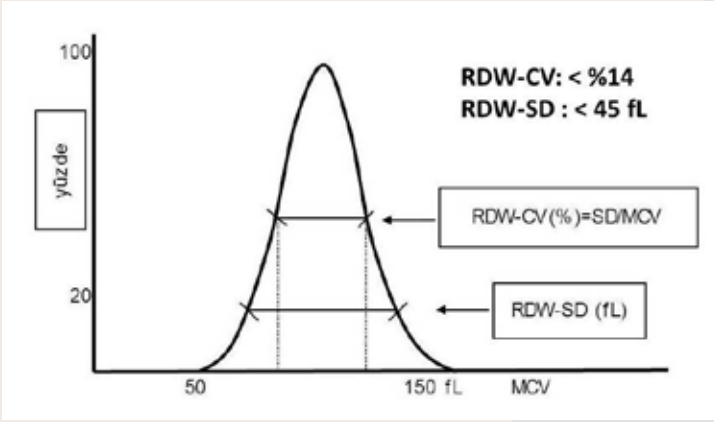
Mikrositik anemilerde hacimleri küçük olan eritrositlerin içerdiği hemoglobin az olduğundan MCH normalden düşük, makrositik anemilerde ise büyüktür.

MCHC (Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration =Ortalama Eritrosit Hemoglobini Konsantrasyonu): Eritrositlerin HGB içeriğinin yüzde olarak ifadesidir. Normal değeri % 30-36 g/dL arasındadır. MCHC kan sayımı cihazlarının kullanılmasıyla önemi ortaya çıkmış bir indekstir. Otomatik kan sayımı cihazlarında HGB, MCV ve eritrosit sayısından hesaplanır. Bu indeks ağır demir eksikliğinde hafif düşük, herediter sferositozda hafif artmış bulunabilir. Bunun dışında neredeyse tüm kan sayımlarında normal değerler içindedir. Bu özelliğinden faydalanılarak kan sayımı cihazlarında MCHC kontrol parametresi olarak kullanılmaktadır. Normal sınırlar içinde değilse HGB, MCV veya eritrosit sayımında bir hata vardır, nedeninin araştırılması gerekir.

RDW (Red Cell Distribution Width): Eritrosit dağılımı genişliği, eritrosit histogramlarından elde edilen istatistiksel bir değerdir. RDW eritrositlerin büyüklüklerinin farkını gösteren bir değerdir, başka bir deyişle ÇKY'daki anizositozun göstergesidir. Klinik olarak anizositozun tek başına bir anlamı yoktur, eritrosit morfolojisine bakılarak teşhis için ipuçları elde edilmelidir. Bundan dolayı, RDW ÇKY'na bakılması için bir ölçüt olarak kullanılmaktadır.



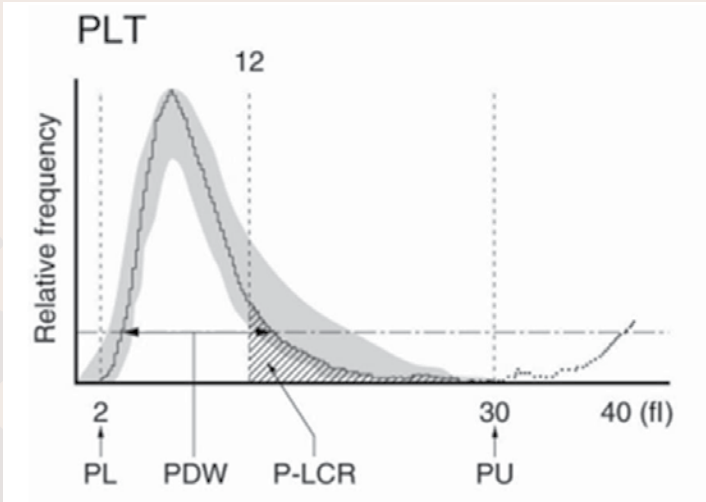
Eritrosit dağılım genişliğini belirtmek için RDW-CV ve RDW-SD olmak üzere iki istatistiksel değer kullanılmaktadır. RDW-SD eritrosit popülasyonundaki makrositik ve mikrositik değişikliklere RDW-CV'den daha duyarlıdır, Sysmex tarafından üretilen cihazlarda hesaplanmaktadır (Resim 5).



Resim 5). Eritrosit dağılımı RDW-CV ve RDW-SD olmak üzere iki istatistiksel hesapla ifade edilmektedir. RDW-CV, bir standard sapmadaki eritrositlerin histogramdaki genişliğinin MCV'ye bölünmesi ile bulunur. RDW-SD ise eritrosit histogramında eritrosit popülasyonunun % 20'sinin bulunduğu seviyedeki en büyük ile en küçük eritrosit arasındaki hacim farkıdır. RDW-CV'nin normal değeri % 14'ü, RDW-SD'nin ise 45 fL'yi aşmaz.

OTOMATİK KAN SAYIMI CİHAZIYLA TROMBOSİT SAYIMI

Kan sayımı cihazında trombositler impedansla veya optik yöntemle sayılmaktadır. Trombositlerin sayımındaki zorluk küçük olmaları, kısa sürede kümeleşme eğilimleri, EDTA'lı ortamda görülen psödotrombositopeni ve fragmente eritrositlerin, parçalanmış hücre sitoplazmalarının trombositlerle karışmasından kaynaklanmaktadır.



Resim 6). Trombosit sayımının histogramı görülmektedir. Gri bölge alan normal değerleri göstermektedir. Küçük trombositler (PL) 2 fL, büyük trombositler de (PU) 30 fL büyüklüktedir. Büyük trombositlerin hacmi 12 fL'den büyüktür, taralı alandakiler. P-LCR, büyük trombositlerin yüzdesini göstermektedir.

İmpedans ile ölçülerek hazırlanmış trombosit histogramı sola çarpık (lognormal) dağılım gösterir (Resim 6). Trombosit indeksleri (MPV, PDW ve P-LCR) bu histogramdan yararlanılarak hesaplanmaktadır.

Optik yöntemle trombosit sayımı floresan boyalar kullanılarak yapılmaktadır. Trombosit sayısının düşük (< 50 bin/ μ L) ve sistosit sayısının yüksek olduğu durumlarda optik yöntemle sayımın değeri artmaktadır.

İmmünojenik sayım, trombositlerin yüzeyinde bulunan antijenlerin (CD41, CD61) floresan işaretli monoklonal antikorlarla boyanarak, akan hücre ölçerde sayılmasıdır. Özellikle düşük trombosit sayımında immünojenik yöntem en güvenilir olanıdır.

Trombositler megakaryosit sitoplazmasında ilk oluştuklarında RNA içerirler, normale göre büyüktürler ve foksiyonel olarak daha

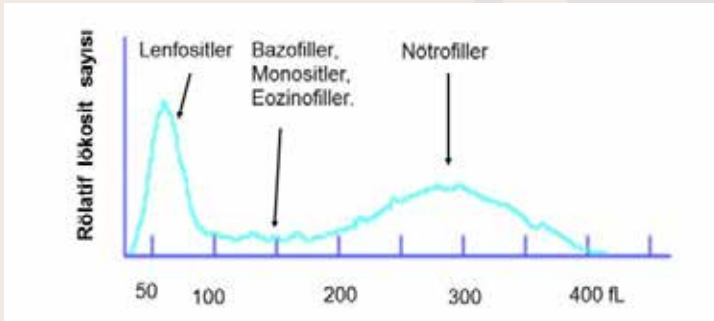


aktiftirler. Yaşam süresi 10 gün olan trombositler yaşlandıkça küçülürler. Eritrosit indekslerine benzer şekilde MPV, PDW ve P-LCR gibi indeksler hesaplanmaktadır. Trombosit indeksleri cihazlara özgü farklılıklar gösterdiğinden, kalite kontrol programlarında da yer almadığından ve EDTA'lı kanda bekledikçe büyüklükleri değiştiğinden rutin amaçla kullanılmamaktadırlar. Standardize edilmemişlerdir, ancak araştırma amacıyla (örn. kronik ITP/kalıtsal trombositopenilerde ayırıcı tanı) ölçülmektedirler [22]. Bu ayırım için mikroskopta MPD (ortalama trombosit çapı) ölçümü de yararlı olabilir [23].

Yeni oluşan trombositler "olgunlaşmamış trombositler" veya "reticulated trombositler" olarak isimlendirilirler. Olgunlaşmamış trombositlerin yüzdesi yıkım artışına bağlı trombositopenilerde artarken, trombosit yapımının azaldığı durumlarda normal sınırlar içinde kalır. Olgunlaşmamış trombositlerin artışı megakaryositlerin aktivitesinin erken göstergesi olarak değerlendirilir.

KAN SAYIMI CİHAZLARI VE LÖKOSİT FORMÜLÜ

İmpedans ile lökosit sayımı sırasında lökositler büyüklüklerine göre üç gruba ayrılabilir. "Üçlü lökosit formülü" ilk defa 1984 yılında gerçekleşmiştir. Lenfosit ve nötrofillerin değerlendirilmesinde bu cihazlar faydalı olmaktadır, veriler lökosit histogramında gösterilir (Resim 7).



Resim 7). Üçlü lökosit formülü, impedansla ölçüm yapan kan sayımı cihazlarında bu özellik vardır.



Akan hücre ölçümü yöntemi ve radyo dalgalarıyla ölçüm geliştirildikten sonra kan sayımı cihazları "**beşli lökosit formülünü**" (nötrofil, eozinofil, bazofil, monosit ve lenfosit) ayırabilir duruma gelmiştir. Bugün kullandığımız geliştirilmiş cihazlar eritroblast ve olgunlaşmamış granüosit (immatur granüosit, IG) sayımı da yapabilmektedir.

Çeşitli firmalara ait kan sayımı cihazları birbirlerinden farklı teknolojileri kullanarak lökosit formülü yapmaktadır. Kullanıcıların cihazların özelliklerini bilmesinde sonuçları değerlendirirken fayda vardır.

- **Abbott Cell-Dyn 1700** – İmpedansla lökosit sayımı sırasında üçlü lökosit formülü yapmaktadır.
- **Abbott Cell-Dyn serisi** - MAPSS teknolojisi ile çeşitli açılardan ışığın kırılmasını ölçerek oluşturduğu dağılım grafiklerinden lökosit formülü yapmaktadır. Lökositler büyüklük, granül, çekirdek yapısı ve loblarına göre beş gruba ayrılmaktadır. MAPSS, Multi Angle Polarized Scatter Separation'ın kısaltmasıdır.
- **Beckman Coulter LH serisi** - VCS Teknolojisi. Hücrelerin hacimi, iletkenliği ve ışığı saçma özelliği aynı anda elektro-optik akan hücre ölçerde yapılmaktadır. Hacim impedans ile ölçülmekte, iletkenlik hücre çekirdeği ve dağılan ışık da hücrenin granülleri hakkında bilgi vermektedir. Bütün bu bilgiler ışığında lökositler beş gruba ayrılmaktadır.
- **Sysmex XE/XT serisi** – Floresan boya ile akan hücre ölçümü, radyo dalgaları ve impedans aynı anda kullanılmaktadır. Hücre büyüklüğü ileriye saçılan ışıkla (forward light scatter), hücre içi DNA/RNA içeriği floresan boya kullanılarak yana saçılan ışıktan (side scatter) ölçülür. Bu veriler radyodalgaları ve impedans ölçülenlerle birleştirilerek oluşturulan dağılım grafiklerinde lökositler beş gruba ayrılır.



- **Siemens (eski Bayer) Advia serisi** – Sitokimyasal boyalarla (peroksidaz enzimi) boyanan lökositler elektro-optik yöntemle akan hücre ölçerde değerlendirilirler. Peroksidaz enzimi içeriğine (boyanma şiddetine) ve büyüklüğüne göre oluşan sitogramda lökositler beş gruba ayrılmaktadır.

OTOMATİK KAN SAYIMI SONUÇLARININ LABORATUVARDA DEĞERLENDİRİLMESİ

Laboratuvarlar her zaman hastalara zarar vermemek (hasta güvenliği) için öncü olmuşlardır. Kan sayımı sonuçlarını etkileyen bir çok faktör vardır. Bunları kısaca analiz öncesi, analiz sırası ve analiz sonrası olmak üzere üç ayrı evrede toplayabiliriz (Tablo 2).

Analiz öncesi ve analiz sonrası yapılan hatalar, kan sayımı cihazlarının yaptığı hatalara göre çok daha fazladır. Özellikle analiz öncesi hataların azaltılması için önlemler alınmalıdır. Teknolojinin gelişmesi sonucu laboratuvarlarda kan sayımı hataları yok denecek kadar azalmıştır. Yine de otomatik kan sayımları bazı durumlarda yanlış sonuçlar verebilir. Laboratuvarlar sayım hatalarını bularak gerekli düzeltmeleri yapmak zorundadır.

Sayım sonuçlarının hatasız ve kısa sürede bildirilmesi hastalar açısından önemlidir ve oluşan hataları takip ederek önleyici tedbirler alınmalıdır. Diğer önemli bir konu da hasta için çok önemli olan kritik (panik) değerlerin hekimlere bildirilmesidir. Panik değerler her laboratuvar tarafından kendi şartlarına göre oluşturulmalıdır.



Tablo 2). Otomatik Kan sayımı sonuçlarını etkileyen faktörler	
Analiz (sayım) öncesi evresi	
Fizyolojik ve çevresel faktörler	Yaş, cinsiyet, hamilelik, sigara kullanma, yükseklik, egzersiz, stres, kemoterapi, gün içi değişiklikler
Hastanın kimliğinin saptanması	Yanlış hastadan kan alınması
Örnek alınması	<ul style="list-style-type: none">• Tübe yetersiz veya aşırı kan konması• Antikoagülan ile iyi karıştırmamak• Yanlış ve uygun olmayan şekilde etiketlemek• Pıhtılı örnek
Laboratuvara gönderme süresi	Çok uzun olmamalı (< 6 saat)
Sıcaklık	Dondurmakla ve aşırı sıcakta kan bozulur
Analiz evresi hataları	
Sayımdan önce kanın karıştırılması	Beklemiş kanlarda hücreler çökeceğinden sayım öncesi iyice karışması sağlanmalıdır.
Kan sayımı cihazı ile ilgili olanlar	<ul style="list-style-type: none">• Ayarları bozulmuş cihazlar• Kalite kontrolünü geçmeyen cihazlar
Sayımı etkileyen kan kaynaklı faktörler	<ul style="list-style-type: none">• Lipemi• Bilirubinemi• Hemoliz• Soğuk aglutininler ve kriyoproteinler• Lökositlerin stoplazma parçacıkları (Lösemilerde)• Anormal hemoglobinler• Mikrosit ve şistositler• Trombosit kümeleri• Aşırı yüksek lökosit sayısı ve kümeleri• Sayım öncesi uzun süre beklemiş kanlar
Analiz sonrası	
Rapor hataları	Hastalara yanlış sonuçların verilmesi, sonuçların geç verilmesi ve kritik sonuçların bildirilmemesi



Sonuçların doğruluğundan emin olabilmek için öncelikle kan sayımı cihazlarının günlük kalite kontrolleri yapılmış olmalıdır. Hastaya ait daha önceki sayımlarla yeni sonuçlar karşılaştırılır, buna "Delta kontrol" denmektedir. Delta kontrol preanalitik hataların bulunmasında yararlıdır. Bir hastanın MCV ve MCHC değerleri birkaç gün içinde değişmez. Lökosit, trombosit ve eritrosit değerlerindeki büyük değişikliklerin de bir açıklaması olması gerekir.

Daha sonra normal olmayan sayımların histogram ve lökosit dağılım grafikleri incelenir. Örnek alındığı tarih ve saat, miktar, pH'tı, fibrin, hiperlipidemi ve hemoliz açısından kontrol edilir.

Kanın alınmasında ve laboratuvara gönderilmesinde bir sorun yoksa, cihazın verdiği uyarılara göre, gerekirse manuel yöntemlerle kontrol yapılır. Hatalar bulunarak, giderildikten sonra sonuçlar tamamlanır. Hastanın teşhisinin ve uygulanan tedavinin bilinmesi sonuçların değerlendirilmesi sırasında çok önemlidir.

Her laboratuvarın kullandığı kan sayımı cihazına ve ihtiyaçlarına göre kendi oluşturduğu ÇKY inceleme ölçütleri olmalıdır. Aşağıdaki tabloda basitleştirilmiş ÇKY inceleme ölçütleri verilmiştir (Tablo 3). ÇKY incelenmesi cihaz hatalarını düzeltmede yardımcı olduğu gibi, böylece mikroskopta hekimler için tanıda yararlı olabilecek çok değerli bulgulara da ulaşılabilir.

Tablo 3). Kan sayımı sonucuna göre ÇKY inceleme ölçütleri		
Parametre	Ölçüt	İkincil ölçüt
MCV	< 75 fL veya >105 fL	İlk defa sayıldığında
Trombosit sayısı	< 100 bin/ μ L veya >1000 bin/ μ L	Delta kontrolde, üç gün içindeki sonuçları uyumsuz ise
Lökosit sayısı	<4 bin/ μ L veya >30 bin/ μ L	İlk defa sayıldığında
RDW-CV	> % 22	İlk defa sayıldığında



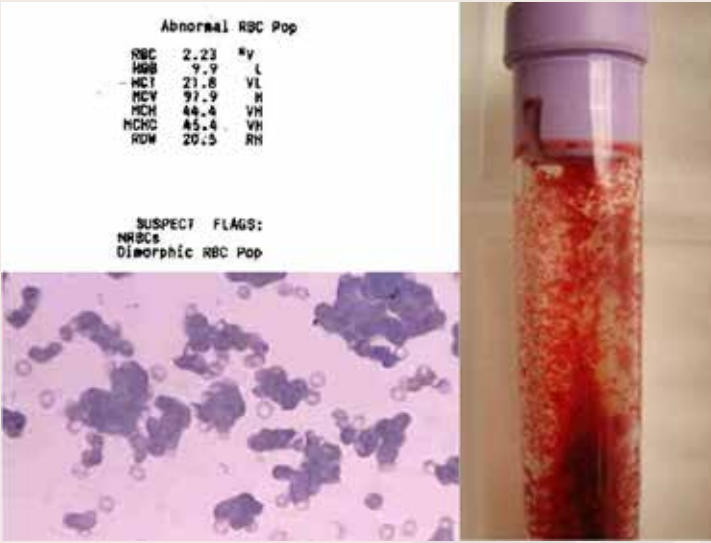
MCHC	< %30 % veya > %38 % g/dL	İlk defa sayıldığında
Lökosit formülü	Cihazın verdiği tüm uyarılarda	
Nötrofil sayısı	<1.0 bin/ μ L veya >20 bin/ μ L	İlk defa sayıldığında
Lenfosit sayısı	>5 bin/ μ L (erişkinlerde) veya < 7 bin/ μ L (12 yaşından küçüklerde)	İlk defa sayıldığında
Monosit sayısı	1.5 bin/ μ L (erişkinlerde)	İlk defa sayıldığında
Eozinofil sayısı	>2.0 bin/ μ L	İlk defa sayıldığında
Bazofil sayısı	>0.5 bin/ μ L	İlk defa sayıldığında
Eritroblast	Sayı önemli değildir	İlk defa sayıldığında

CİHAZLARIN SONUÇLARINI ETKİLEYEN KAN KAYNAKLI FAKTÖRLER

Otomatik kan sayımı cihazları ne kadar doğru kalibre ve kontrol edilmiş olsalar da bazen hastanın kan örneğindeki özelliklerden etkilenerek yanlış ölçüm yapabilmektedir. En sık rastlanan ölçüm hatalarına neden olan durumlar ve örnekleri aşağıda belirtilmiştir:

1. Soğuk aglutininler ve kriyoglobulinemi

Soğuk aglutininler oda ısısında eritrositlerin kümeleşmesine neden olduğundan eritrosit sayısı kan sayımı sırasında olduğundan daha düşük bulunur. Kümeleşen eritrositler MCV'nin büyük ölçülmesine neden olur. Eritrosit indeksleri, özellikle MCHC yanlıştır.



Resim 8). Soğuk aglutininleri olan hastanın kan sayımı sonuçları. Kan örneği tübünde makroskopik olarak eritrosit aglutinasyonu dikkati çekiyor. ÇKY'da eritrositlerin kümeleştiği görülüyor.. Isıtılmamış kan sayımında MCHC % 45,4 olarak bulunmuştur. Kan ısıtılarak sayıldığında HGB 7,7 g /dL, HCT %23,8 ve MCHC de 32,5 olarak saptanmıştır.

Nadir olarak rastlanan kriyoglobulinemilerde soğukta çöken globulinler lökosit sayısının ve trombosit sayısının yüksek çıkmasına neden olurlar. Soğuk aglutininler ve kriyoglobulinemiden kaynaklanan hataları önlemek için hastalardan kan örneği 37 °C'de ısıtılmış enjektörlerle alınarak bekletilmeden sayılmalı veya örnek 37 °C'de 20 dakika bekletildikten sonra sayılmalıdır (Resim 8).

2. Lipemi ve ikter

Lipemik ve ikterik kanları santrifüj ettikten sonra gözle kolaylıkla ayırmak mümkündür. Kan sayımı cihazları bulanıklıktan dolayı HGB'i yüksek bulur. Lipid partikülleri lökosit veya trombositlerle karışabilir. MCV olduğundan daha yüksek bulunur. Kan sayımının yanlış olduğu MCHC'nin anormal çıkmasından anlaşılır. Sayım yapılabilmesi için



kan santrifüj edilerek hücrelerin üzerindeki bulanık plazma alınarak yerine aynı hacimde kan sayımı cihazının seyreltme çözeltisi veya serum fizyolojik ilave edilir, kan iyice karıştırılarak sayım yapılır. Trombosit ve lökosit sayısı ÇKY hazırlanarak kontrol edilebilir.

3. Hemoliz

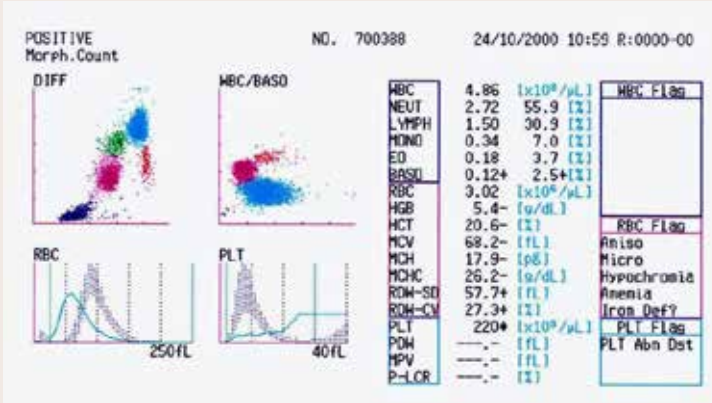
Hemoliz eritrositlerin herhangi bir sebepten parçalanması ve HGB'nin plazmaya geçmesidir. Plazmada HGB 0,4 g/dL aşmadıkça kan sayımı sonucu etkilenmez. Kan grubu uyumsuzluğu sonucu oluşan transfüzyon reaksiyonlarına veya mekanik ve kimyasal etkenlere bağlı aşırı intravasküler (damar içi) hemoliz sayım sonuçlarını etkileyecektir. Parçalanmış eritrositler kan sayımı cihazında sayılmaz. Dolayısıyla HCT olduğundan daha düşüktür. MCHC ise % 36 g/dL' den daha yüksektir. Kan sayımı tübü santrifüj edilerek plazmadaki hemoliz saptanabilir. Hastadan kan örneğinin alınması sırasında da hemoliz oluşabilir. Aşırı hemolizli örnekler karşısında hastadan tekrar kan alınarak sayım yapılmalıdır.

4. Anormal hemoglobinler

Litik ajanlara dirençli eritrositler (hemoglobin S, C, F), üremi ve yenidoğan eritrositleri optik yöntemle ile sayım yapan cihazlarda problem olmaktadır. Lökosit sayısı ve hemoglobin miktarı yüksek bulunur.

5. Mikrosit ve sistositler

Küçük eritrositler (<50 fL) eritrosit histogramında yer almazlar, trombosit histogramına dahil olabilirler. Bu durumda eritrosit sayısı olduğundan düşüktür, daha önemlisi trombosit sayısı yalancı olarak daha yüksek bulunur (Resim 9). ÇKY'da fragmantasyon görülmesi hasta açısından çok önemlidir (TTP, YDİP).



Resim 9). Ağır demir eksikliği anemisi (HGB 5,4 g/dL) olan hastaya ait kan sayımı çıktısı. Lökosit formülü grafiğinde dağılım normal görülmektedir. Eritrosit uyarıları demir eksikliği olabileceğini göstermektedir. Çok küçük eritrositler histogramda trombositlerle karışmış. Ağır demir eksikliği anemisinde MCH düşük olabilir. Eritrosit ve trombosit histogramı incelendiğinde (mavi çizgi hastanın histogramını, gri taralı alan normal dağılımı göstermektedir) küçük eritrositler ve trombosit histogramı üst üste çakışmıştır. İncelenen ÇKY'da cihazdaki sonucun (220 bin/uL) aksine trombosit sayısının 30 bin civarında olduğu görülmüştür.

6. Eritroblast ve megakaryosit parçaları

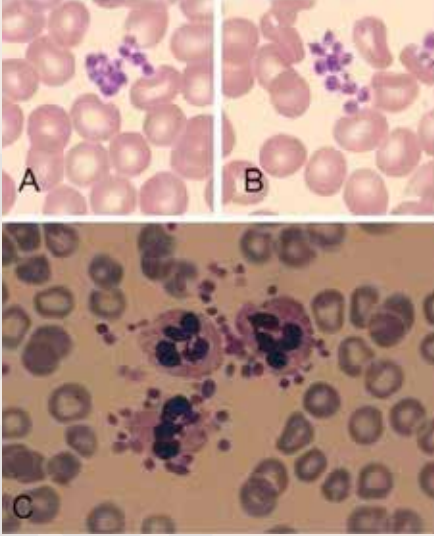
Eritroblastlar ve megakaryosit parçaları impedansla lökosit sayımı sırasında yalancı olarak lökosit sayısının yüksek bulunmasına neden olabilir. Bu durumda ÇKY incelenerek gerçek lökosit sayısı hesaplanabilir. Eritroblast sayısını lökosit sayısından düşerek sonucu düzeltmek gerekir. Eritroblast sayan cihazlarda lökosit sayısını düzeltmeye gerek yoktur.

7. Trombosit kümeleri

EDTA'lı kan örneklerinde normalde trombositler küme oluşturmazlar. Bazı hastaların trombositleri EDTA'lı ortamda antikörelere bağlı olarak kümeleşebilir (psödötrombositopeni).



Bazen de kümeleşen lökositlerin etrafında dizilirler. Bu durumlarda trombositler yanlışlıkla düşük sayılır (Resim 10). Bir diğer nadir psödotrombositopeni nedeni de trombositlerin granülosit veya monositler tarafından fagosite edilmesidir.



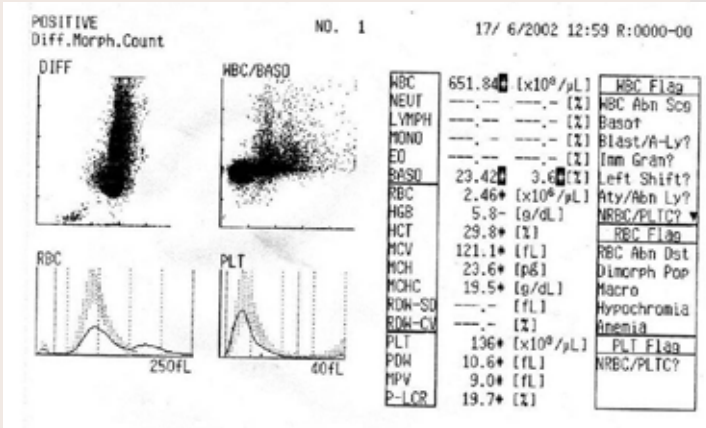
Resim 10). A ve B) ÇKY'da trombosit kümeleri. Yayma kapiller kandan hazırlanmıştır. Antikoagülsüz kan örnekleri bekletilmeden hazırlanan yaymalarda trombositler tek tek durmaz ve irili ufaklı kümeler yapar. Trombositlerin agregasyon işlevlerinin bozulduğu **Glanzmann hastalığında** trombositler kümeleşemez. Normal kişilerde %0.1 sıklığında karşılaşılan doğal antikörler, EDTA'lı ortamda trombositleri kümeleştirir. Trombositleri impedans yöntemiyle sayan cihazlar bu kümeleri, büyüklükleri nedeniyle, trombosit olarak algılayamaz (**psödotrombositopeni**), lökosit olarak sayar, **C)** Nötrofil parçalı lökositlerin çevrelerine yapışmış trombositler (**trombosit satellitizmi**) bir diğer yalancı trombositopeni nedenidir.

8. Lökosit sayısı > 50 bin/ μ L

Lökosit sayısı 50 bin/uL geçtiğinde MCV ve HCT olduğundan daha büyük bulunur. Kan sayımı sonucunda MCHC'nin normalden düşük olduğu görülür. Lökosit sayısının fazla olması HGB ölçümünde



bulanıklıktan dolayı artışa neden olur. Bu durumda manuel HGB ölçümü yapılabilir. Bulanıklığı önlemek için lökositler santrifüj ile çöktürülür, sonra fotometrede okuma işlemi yapılır (Resim 11).



Resim 11). Bulgular lökosit sayısı çok yüksek olan KLL'li bir hastaya ait. Lökosit sayısı bazı cihazların sayamayacağı kadar yüksek, eritrosit histogramında 200-250 fL arasında ikinci bir pik oluşmuş. Dolayısıyla yalnız olarak MCV 121,1 fL olarak görülüyor. Bundan HTC de etkilenmiş, MCHC'nin 19,5 olması da sayım sonucunun yanlış olduğunun göstergesi. Manuel HTC ve HGB ölçümü yapılmalıdır. ÇKY hazırlanarak lökosit formülü incelenmeli ve trombosit sayısı kontrol edilmelidir. Lökosit veya trombosit sayısı cihazın sayabileceğinden fazla ise kan seyreltilerek sayım yapılabilir.

9. Lösemi

Lösemi tedavisi sırasında ve bazı kan hastalıklarında lökositler parçalanarak trombosit sayısının yüksek bulunmasına neden olabilir. Bu durumda gerçek trombosit sayısı için optik trombosit sayımı veya monoklonal antikörlerle (CD41, CD61) trombosit sayımı yapılır.

10. Uzun süre bekletilmiş kan

İdeal olarak EDTA'lı kan örnekleri 6 saat içinde sayılmalıdır. Kan bekletildikçe eritrositler şişebilir (MCV artar), trombositler bozulur



ve sayıları düşer. Lökositler de EDTA içinde çabuk bozulurlar. ÇKY bir saat içinde hazırlanmalıdır. Donmuş ve aşırı ısınmış örnekler kan sayımı için uygun değildir.

RETİKÜLOSİT SAYIMI

Retikülositler olgunlaşmasını tamamlamamış eritrositlerdir. Eritrositler, çekirdeklerini kaybettikten sonra bir süre daha bünyelerinde RNA artıkları bulundurmaktadır, bunlar birkaç gün içinde kaybolur. Retikülositler “Krezil mavisi” veya “yeni metilen mavisi” ile boyandığında RNA artıkları mikroskopta görülebilir. İmmatür (olgunlaşmamış) retikülositlerde daha çok RNA bulunduğundan mavi boyanmış iplikçikler şeklindedir, olgunlaşanlarda RNA azalarak nokta şeklinde görülür ve daha da sonra kaybolur. Retikülosit sayısı kemik iliğinin hematopoetik aktivitesi hakkında bilgi verir.

Manuel Retikülosit Sayımı

Manuel retikülosit sayımı için EDTA veya heparinli kan kullanılabilir. Kan sekiz saatten fazla bekletilmemelidir. Retikülositleri boyamak için bir tübe (12x75mm) beş damla krezil mavisi (serum fizyolojikte hazırlanmış %1'lik çözelti) ve üzerine aynı miktarda kan ilave edilerek iyice karıştırılır. Oda ısısında 5-10 dakika bekletildikten sonra 3-4 yayma preparat hazırlanır. İmmersiyon objektifi ile eritrositlerin tek tek görüldüğü alanda bin eritrosit sayılarak retikülositle rin eritrositlere oranı yüzde olarak hesaplanır.

Ancak retikülosit yüzdesi eritrosit sayısının azaldığı durumlarda yanıltıcı olabileceğinden “**mutlak retikülosit sayısı**” ve “**düzeltilmiş retikülosit sayısı**” hesaplanmalıdır.

Mutlak retikülosit sayısı = Eritrosit sayısı (milyon/uL) x Retikülosit yüzdesi

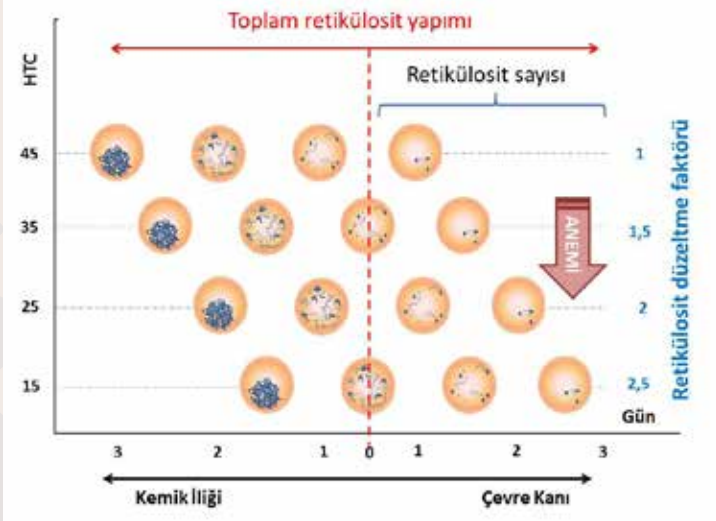
Düzeltilmiş retikülosit yüzdesi = Retikülosit yüzdesi x HCT ÷ 45



Retikülosit sayısının referans değerleri		
	Oran %	Mutlak sayı (bin/uL)
Erkek	0.5 - 2.5	18 - 158
Kadın	0.5 - 4.0	18 - 158
Yenidoğan	1.8 - 8.0	220 - 420

Retikülositler ilikte yaklaşık 3-3.5 gün kaldıktan sonra ÇK'a geçerler ve çevrede eritrosit olmadan önce ortalama bir gün daha dolaşırlar. Anglosakson literatüründe, ilikten erken ayrılıp ÇK'da daha uzun süre kalan retikülositlere "shift retikülositler" (çevre kanına kaymış retikülositler) denir. Normal çalışan bir ilikte, retikülositlerin ÇK'a erken çıkması artmış eritropoetin uyarısına uygun bir yanıttır. Örneğin kronik hemolitik anemilerde ilik eritrosit yapımını 6, hatta 7 kata kadar artırabilir. Ancak, bazen çevreye erken çıkışta, ilik yapısındaki bütünlüğü bozan, miyelofibrozu, tümör enfiltrasyonu, granülomlar gibi patolojiler sorumludur (miyeloftizik anemiler) (Resim 12).

Retikülositlerin ÇK'a kemik iliğinde kalacakları süreyi doldurmadan çevreye geçtiği, dolayısıyla ÇK'da yaşamlarını bir günden fazla sürdürdükleri anemilerde, ilikte yapımın gerçekten arttığını, ya da artmış ise ne derece olduğunu saptamak için ikinci bir düzeltme yapılarak retikülosit yapım indeksi (RYİ) hesaplanır.



Resim 12). Kemik iliğinde ve çevre kanında retikülositlerin olgunlaşması ve çevre kanına kayması. HTC düştükçe çevre kanında retikülositlerin yer değiştirmesi sonucu çevre kanında geçirdikleri gün sayısı artar (Shift retikülositler = çevre kanına kaymış retikülositler). "Retikülosit düzeltme faktörü" retikülositlerin çevre kanında geçirdiği gün sayısıdır.

RYİ, düzeltilmiş retikülosit yüzdesi "retikülosit düzeltme faktörüne" bölünerek hesaplanır, birimi yoktur. MGG ile boyanmış ÇK yaymalarında olgunlaşmamış retikülositler MGG ile polikromazik (tam pembe yerine biraz daha mavimsi) boyanır. Polikromazinin görülmediği durumlarda RYİ hesabının yapılmasına gerek yoktur.

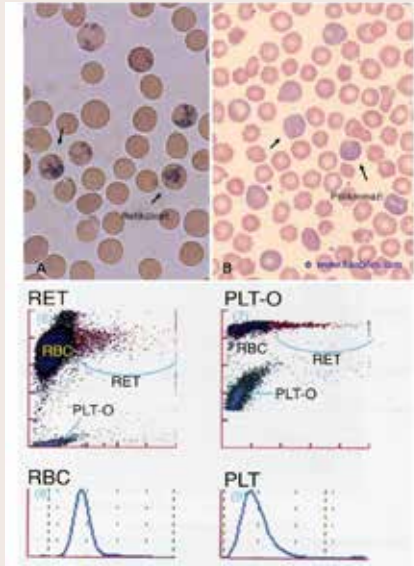
Normalde RYİ 1.0 ile 2.0 arasında olmalıdır. RYİ > 2.0 ise ilikte eritrosit yapımının arttığını gösterir. Örneğin hemoliz ve akut kan kaybı. RYİ < 1.0 ise ilikte eritrosit yapımının azaldığını gösterir. Örneğin demir eksikliği anemisi, aplastik anemi.

Otomatik Retikülosit Sayımı

Otomatik retikülosit sayımı 1990 yılında gerçekleşmiştir. Kan sayımı cihazları olgunlaşmamış retikülositlerin (**Immature**



Reticulocyte Fraction, IRF) sayımına olanak sağlamıştır. Olgunlaşmamış retikülositlerin artışı kemik iliğinin eritrosit yapımına başladığının ilk göstergesidir. IRF, eritropoetin tedavisinde ve kemik iliği naklinde hastaların izleminde kullanılmaktadır. Sysmex XT kan sayımı cihazında retikülosit sayımında kullanılan floresan boya aynı zamanda trombositleri de boyadığından bu kanalda optik olarak trombosit sayısını da belirlemek mümkündür (Resim 13).



Resim 13). Retikülosit sayımı ve polikromazi: Retikülositler normal eritrositten biraz daha büyüktür. **A)** Sitoplazmadaki RNA kalıntıları krezil mavisi ile supravital boyama. **B)** MGG ile boyanmış yaymalarda normal eritrositlerden biraz daha büyük olan retikülositler mavi-pembe-grimsi renkte boyanırlar (polikromazi). Yukardaki resimler retikülosit sayısı yüksek hastadan hazırlanmıştır. Altaki grafikte retikülosit sayımı (RET) ve optik trombosit sayımı (PLT-O) sonuçları görülmektedir.

Bazı cihazlar retikülositlerin HGB miktarını ölçebilmektedir. CHR (reticulocyte Hb content) Siemens, RET-He (reticulocyte Hb equivalent) Sysmex cihazlarında saptanmaktadır. Retikülosit HGB' i



değerleri her iki cihaz için de aynıdır: Ortalama 30.8 pg, normalin alt sınırı ise 28 pg'dir. Retikülosit HGB miktarı klinikte özellikle fonksiyonel demir eksikliğinin değerlendirilmesinde kullanılmaktadır. Eritropoezi uyarıcı ilaçlarla tedavi sırasında (örneğin kronik böbrek hastalığı anemisi) 28 pg'ın altı fonksiyonel demir eksikliğini gösterir. Tedaviye yanıt alınabilmesi için i.v. demir tedavisi gereklidir. Eritropoezin uyarılması birkaç gün içinde retikülosit HGB'deki artış ile kendini gösterir.

NORMAL KAN SAYIMI DEĞERLERİ

Normal kan sayımı değerleri çok çeşitli faktörden etkilenmektedir. Kan alma yöntemi, zamanı, örneklerin laboratuvara gönderilmesi, saklanması, hasta ile ilişkili faktörler (yaş, cinsiyet, egzersiz, stres, hamilelik) ve kullanılan cihazların farklılığı önemli faktörlerdir. Her laboratuvar kendi normal kan sayımı değerlerini kullandıkları yöntemlere ve cihazlara göre oluşturmaktadır. Aşağıdaki normal kan sayımı tablosu (Tablo 4) örnek olarak verilmiştir (19).

Tablo 4). Erişkinlerde Normal Kan Sayımı Değerleri		
	Erkek	Kadın
Lökosit sayısı (bin/ μ L)	7,8 [4,4-11,3]	
Eritrosit sayısı (milyon/ μ L)	5,21 [4,52-5,90]	4,60 [4,10-5,10]
Hemoglobin (g/dL)	15,7 [14,0-17,5]	13,8 [12,3-15,3]
Hematokrit (%)	46 [42-50]	40 [36-45]
MCV (fL)	88,0 [80-96,1]	
MCH (pg)	30,4 [27,5-33,2]	
MCHC (g/dL)	34,4 [33,4-35,5]	
RDW-CV (%)	13,1 [11,5-14,5]	
Trombosit sayısı (bin/ μ L)	311 [172-450]	
Retikülosit sayısı (bin/ μ L)	88 [18-158]	



ÇOCUKLARDA TAM KAN SAYIMI DEĞERLENDİRMESİ

Tam kan sayımı sonuç belgelerinde kan değerlerinin düşük veya yüksek olarak belirtilmesi erişkin normal değerlerine göredir. Tam kan sonuçlarının çocukta kendi yaş grubunun normallerine göre değerlendirilmesi gerekir (Tablo 6, Tablo 7, Resim 14). Hemogloblin, hematokrit ve eritrosit sayısı yaş dışında adolesan çağından itibaren cinsiyete göre de değişiklik gösterir. Trombosit sayısı ise yaşa göre farklılık göstermez, tüm yaş grupları için aynıdır.

Fizyolojik Anemi

Süt çocukluğu döneminde minimal Hb değerleri prematürelde 3-6 haftada 7-9 g/dL'ye kadar düşebilir. Term bebeklerde ise 8-12 haftada 9-11 g/dL'ye kadar düşebilir. Bu durum fizyolojik anemi olarak adlandırılır.

Fizyolojik Lenfositoz

Erişkinde lökositler %50-70 nötrofil, % 20-40 lenfosit, %2-6 monosit, % 2-4 eozinofil, % 0-1 bazofil olarak dağılım gösterir. Ancak çocuklarda ilk 5 yaşta erişkinin tersine LENFOSİT hakimiyeti (%50-70) görülür.

Klinik Yaklaşımında:

- İyi bir öykü
- Tam bir fizik muayene
- Tam kan sayımı
- Çevre kan yayma değerlendirmesi
- Bunların değerlendirilmesiyle ileri tetkiklerin istenmesi önemlidir.

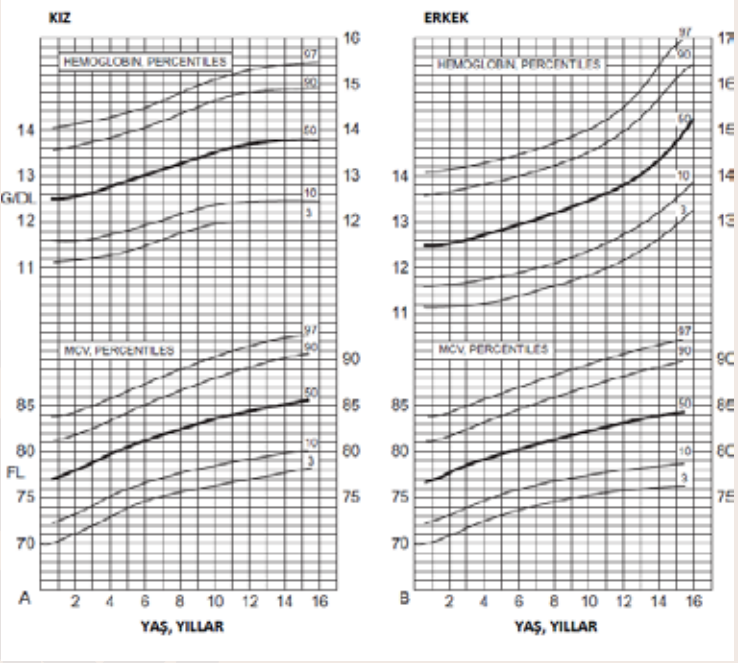


Tablo 5]. Çocuklarda yaşa göre hemoglobin, hematokrit ve eritrosit değerleri : Ortalama ve alt limit (-2SD)

Yaş	Hemoglobin (g/dL)		Hematokrit (%)		Eritrosit (milyon/ μ L)		MCV (fL)		MCH (pg)		MCHC (g/dL)		Retikülosit (bin/ μ L)	
	Ortalama	-2SD	Ortalama	-2SD	Ortalama	-2SD	Ortalama	-2SD	Ortalama	-2SD	Ortalama	-2SD	Ortalama	-2SD
Doğum (kord kanı)	16,5	13,5	51	42	4,7	3,9	108	98	34	31	33	30	3,2	1,8
1-3 gün	18,5	14,5	56	45	5,3	4	108	95	34	31	33	29	3,0	1,5
1 hafta	17,5	13,5	54	42	5,1	3,9	107	88	34	28	33	28	0,5	0,1
2 hafta	16,5	12,5	51	39	4,9	3,6	105	86	34	28	33	28	0,5	0,2
1 ay	14,0	10,0	43	31	4,2	3,0	104	85	34	28	33	29	0,8	0,4
2 ay	11,5	9,0	35	28	3,8	2,7	96	77	30	26	33	29	1,6	0,9
3-6 ay	11,5	9,5	35	29	3,8	3,1	91	74	30	25	33	30	0,7	0,4
0,5-2 yaş	12	10,5	36	33	4,5	3,7	78	70	27	23	33	30	1	0,2
2-6 yaş	12,5	11,5	37	34	4,6	3,9	81	75	27	24	34	31	1,0	0,2
6-12 yaş	13,5	11,5	40	35	4,6	4,0	86	77	29	25	34	31	1,0	0,2
12-18 yaş	14	12,0	41	36	4,6	4,1	90	78	30	25	34	31	1,0	0,2
Kız	14,5	13,0	43	37	4,9	4,5	88	78	30	25	34	31	1,0	0,2
Erkek														



	Toplam lökosit sayısı		Nötrofil		Lenfosit		Monosit		Eozinofil			
	Ortalama	(değer aralığı)	Ortalama	(değer aralığı)	%	Ortalama	(değer aralığı)	%	Ortalama	%		
Doğum	18,1	(9,0-30,0)	11,0	(6,0-26,0)	61	5,5	(2,0-11,0)	31	1,1	6	0,4	2
12 saat	22,8	(13,0-38)	15,5	(6,0-28,0)	68	5,5	(2,0-11,0)	24	1,2	5	0,5	2
24 saat	18,9	(9,4-34,0)	11,5	(5,0-21,0)	61	5,8	(2,0-11,5)	31	1,1	6	0,5	2
1 hafta	12,2	(5,0-21)	5,5	(1,5-10,0)	45	5,0	(2,0-17,0)	41	1,1	9	0,5	4
2 hafta	11,4	(5,0-20)	4,5	(1,0-9,5)	40	5,5	(2,0-17,0)	48	1,0	9	0,4	3
1 ay	10,8	(5,0-19,5)	3,8	(1,0-9,0)	35	6,0	(2,5-16,5)	56	0,7	7	0,3	3
6 ay	11,9	(6,0-17,5)	3,8	(1,0-8,5)	32	7,3	(4,0-13,5)	61	0,6	5	0,3	3
1 yaş	11,4	(6,0-17,0)	3,5	(1,5-8,5)	31	7,0	(3,0-9,5)	61	0,6	5	0,3	3
2 yaş	10,6	(5,5-15,5)	3,5	(1,5-8,5)	33	6,3	(2,0-8,0)	59	0,5	5	0,3	3
4 yaş	9,1	(5,0-14,5)	3,8	(1,5-8,5)	42	4,5	(1,5-7,0)	50	0,5	5	0,3	3
6 yaş	8,5	(4,5-13,5)	4,3	(1,5-8,0)	51	3,5	(1,5-6,8)	42	0,4	5	0,2	3
8 yaş	8,3	(4,5-13,5)	4,4	(1,5-8,0)	53	3,3	(1,5-6,5)	39	0,4	4	0,2	2
10 yaş	8,1	(4,5-13,0)	4,4	(1,8-8,0)	54	3,1	(1,2-5,2)	38	0,4	4	0,2	2
16 yaş	7,8	(4,5-11)	4,4	(1,8-8,0)	57	2,8	(1,0-4,8)	35	0,4	5	0,2	3



Resim 14). Kız ve erkek çocuklarda yaşa göre MCV persentil eğrileri



YARARLANILAN KAYNAKLAR

1. Bain B j: Performing a blood count. In Bain BJ: Blood Cells, A practical Guide, Blackwell Publishing, 2006
2. Coulter Electronics: Coulter Maxm Operator's Guide (PN 423745-B) . Miami, FL Coulter Corporation: 1996
3. Hastane Hizmet Kalite Standartları, T.C. Sağlık Bakanlığı, Performans Yönetimi Kalite Geliştirme Daire Başkanlığı, Ankara 2011
4. Miers MK, Exton MG, Daniele C: Cell-Counting and Coagulation Instrumentation. In Bernadette F R (ed): Diagnostic Hematology, Philedelphia WB Saunders, 1995:599-631.
5. Sysmex corporation: Operator's Manual SF-3000: 1999
6. Sysmex: Proceedings of the sysmex European Haematology Symposium, May 14-15, 2009, İstanbul.
7. Sysmex: Proceedings of the sysmex European Haematology Symposium, 2003.
8. www.uptodate.com, George TI, Automated hematology instrumentation, 2012
9. www.uptodate.com, Shrier SE, Mean Corpuscular Volume, 2012
10. www.uptodate.com, Rosenthal D S, Evaluation of the perifepheral blood smear, 2013
11. Ryan D H: Examination of Blood Cells. In Williams Hematology, Mc Graw Hill, Eighth edition, 2010
12. www.kanbilim.com
13. www.islh.org
14. Perkins S L; Principle of Hematologic examination. In Wintrobe's Clinical Hematology, 10th edition.
15. Zandecki M, Genevieve F, Gerard J, Godon A : Spurious counts and spurious results on haematology analysers: a review. Part I: platelets, Int. Jnl. Lab. Hem. 2007, 29, 4-20
16. 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. Jnl. Lab. Hem. 2007, 29, 21-41



17. Kottke-Marchant K, Davis B H : Laboratory Hematology Practice, Wiley-Blackwell, 2012.
18. Bain BJ: Diagnosis from the Blood Smear. N Engl J Med 2005; 353: 498-507
19. Beutler E, : Examination of the blood. In Williams Hematology Mc Graw Hill, Sixth edition, 2001.
20. Gulati G L, Alomari M, Kocher W, Schwarting R : Criteria for Blood Smear Rewiev. Lab Medicine 2002 33:374-377
21. Hematological Reference Values. In: Lanzkowsky P, ed. Manual of Pediatric Hematology and Oncology 5th ed. SanDiego, CA, 2011; s. 971,973,981.
22. Noris P, Klersy C, Gresele P et al. Platelet size for distinguishing between inherited thrombocytopenias and immune thrombocytopenia: a multicentric real life study. Brit J Haematol 2013; 162: 112-9.
23. Noris P, Biino G, Pecci A et al. Platelet diameters in inherited thrombocytopenias: analysis of 376 patients with all known disorders. Blood; 2014; 124 (6): e4-e10.