الفصل السادس عشر

عدادات خلايا الدم
BLOOD CELL COUNTERS

(١٦,١) أنواع خلايا الدم
Types of Blood Cells

غالباً ما تترافق التغيرات في قيام عضوية ما بوظيفتها الطبيعية بتغيرات في تعداد خلايا الدم. ولذلك فإن تحديد عدد وحجم خلايا الدم في وحدة الحجم يقدم معلومات قيِّمة من أجل تشخيص دقيق. يشكل الدم ٥-١٠٪ من إجمالي وزن الجسم ويبلغ حجمه في الإنسان البالغ المتوسط (٥-٦) لتر. يتكون الدم من جسيمات معلقة في سائل يسمى بلازما بنسبة تبلغ (٤٥) جزءاً من الجسيمات (الخلايا) و(٥٥) جزءاً من البلازما. تدعى النسبة المئوية للخلايا في الدم بقيمة الهيماتوكريت أو حجم *الخلايا المغلَّفة packed cell volume (PCV)*. غالبية الجسيمات في الدم هي خلايا الدم الحمراء (الكريات الحمر) والجسيمات الأخرى هي خلايا الدم البيضاء (الكريات البيض) والصفيحات (كريات التخثر).

تقسم خلايا الدم إلى مجموعات طبقاً لشكلها ووظيفتها كما هو موضح في الجدول رقم (١٦,١).

الجدول رقم (١٦,١). أنواع خلايا الدم.

أنواع خلايا الدم	عدد الخلايا (في الميليمتر المكعب الواحد)	متوسط حجم الخلية (MCV) (مقيساً بالميكرومتر المكعب)	الجزء النسبي لتعداد خلايا الدم البيضاء المختلفة (تفريقي)
١- الكريات الحمر Erythrocytes	((٤,٨-٥,٥)±١)١٠^{٤}	٩٠	-
٢- الكريات البيض Leucocytes	٥٠٠٠-١٠٠٠٠	-	١٠٠٪
(أ) الصبوغة Neutrophils	٢٠٠٠-٧٥٠٠	٤٥٠	(٥٩±١٨)٪
(ب) الليمفاوية Lymphocytes	١٥٠٠-٤٠٠٠	٢٥٠	(٣٤±١٠)٪
(ج) أليفة الليفي الداخلي Esoinophils	٤٠-٤٠٠	٤٥٠	٢,٥٪
(د) أليفة الأساس Basophils	١٠-١٠٠	٤٥٠	٠,٥٪
(هـ) وحيدات النواة Monocytes	٢٠٠-٨٠٠	٦٠٠	٤٪
٣- الصفيحات Thrombocytes	(١,٥-٤)١٠^{٥}	٨	-

كريات الدم الحمر (RBCs): لخلايا الدم الحمراء شكل قرص ثنائي التقعير بمتوسط قطر حوالي ٧,٥ ميكرومتر وسماكة حوالي ١,٧ ميكرومتر. متوسط مساحة سطح الخلية حوالي ١٣٤ ميكرومتر مربع. هناك حوالي ٥,٥ مليون منها في كل ميليمتر مكعب من الدم لدى الرجال وتقريباً ٥ مليون لدى النساء. هناك في كامل الجسم حوالي ٢٥ بليون كرية حمراء وهي تتحطم بمعدل ثابت ويتم إحلالها بمعدل حوالي ٩٠٠٠ مليون كل ساعة. تستمر خلية الدم الحمراء الطبيعية ١٢٠ يوم قبل أن يتم تحطيمها.

ليس لكريات الدم الحمر نواة. وهي مسؤولة عن حمل الأكسجين من الرئتين إلى الأنسجة وثاني أكسيد الكربون من الأنسجة إلى الرئتين. يمكن لفقر الدم (انخفاض في طاقة الدم على حمل الأكسجين) أن ينشأ من تغير في عدد أو حجم أو تركيز هيموغلوبين كريات الدم الحمراء ناتج عن اختلال في وظيفة نقي (نخاع) العظم ينتج عنه معدل إنتاج منخفض لكريات الدم الحمر (RBCs). ولما كانت هذه التغيرات نوعية فإن قياس حجم الخلايا المغلفة (PCV) وعدد الـ RBCs و الهيموغلوبين Hb مهم جداً.

كريات الدم البيض (WBCs): خلايا الدم البيضاء كروية ولها نواة. هناك عادة ٥٠٠٠-١٠٠٠٠ خلية دم بيضاء في كل ميليمتر مكعب من الدم وعددها يتغير في أثناء اليوم. وهي تعيش من ٧ إلى ١٤ يوماً وهناك تدوير سريع بتحطيم وإحلال ثابتين.

تشكل الكريات البيض آلية دفاع الجسم ضد الالتهاب. وهي نوعان رئيسيان: الصبوغة Neutrophils والليمفاوية lymphocytes. الصبوغة تهضم البكتريا والليمفاوية تهتم بالاستجابة المناعية. يمكن لعدد ونسبة هذه الأنواع من الكريات البيض أن تتغير بشكل واسع في الاستجابة لشروط مرضية مختلفة.

ولمثل هكذا سبب فإن من المهم معرفة التعداد الكلي للكريات البيض. إلا أن التغير مع ذلك من الصغر في الغالب بحيث أن تعداد الكريات البيض يبقى ضمن الحدود الطبيعية، والتعداد التفريقي فقط سوف يشير إلى أي شذوذ.

الخلايا الصبوغة أكبر من الخلايا الحمراء بمرتين تقريباً وتحتوي على نواة مقسمة إلى فصوص عديدة وحبيبات في البروتوبلازما. الخلايا الليمفاوية هي بنفس حجم الخلايا الحمراء ولكنها تحتوي على نواة ملونة كبيرة الكثافة ولا تحتوي على حبيبات. وحيدات االنواة نوع آخر من الكريات البيض أكبر بمرتين من الخلايا الصبوغة. ولها نواة وحيدة كبيرة وليس لها حبيبات.

الصفيحات (كريات التخثير): الصفيحات عبارة عن خلايا دم رقيقة عادة مدورة أو متطاولة أو ذات شكل غير نظامي بمتوسط قطر ٢ ميكرومتر تقريباً. وتلعب هذه الخلايا دوراً مهماً في عملية تخثر الدم. وهناك عادة ٢٥٠-٧٥٠ ألف صفيحة في كل ميليمتر مكعب من الدم.

(١٦,١,١) حساب حجم الخلايا Calculation of Size of Cells

متوسط حجم الخلية (MCV): يتم حسابه من الـ PCV وعدد الخلايا الحمر الموجودة في كل لتر من الدم. فمثلاً إذا كان PCV يساوي ٠,٤٥ بمعنى أن لتراً واحداً من الدم يحتوي ٠,٤٥ لتراً من الخلايا الحمر، وإذا كان هناك ٥x١٠^١٢ خلية حمراء في كل لتر، فعندها يكون:

$$\text{Mean volume of one cell} = \frac{0.45}{5\times10^{12}} = 90\ f/l \qquad f/l = \text{Femto litre}$$

$$1 f/l = 10^{-15}$$

المتوسط الطبيعي لحجم خلية حمراء هو (٨٦±١٠) فيمتو لتر. وفي الحالات المرضية قد يهبط إلى ٥٠ أو يرتفع إلى ١٥٠ فيمتو لتر.

متوسط هيموغلوبين الخلية (MCH): يتم حسابه من الهيموغلوبين وتعداد الكريات الحمر. فمثلاً إذا كان هناك ١٥ غرام هيموغلوبين في كل ديسيلتر (dl) من الدم فسيكون هناك ١٥٠ غرام في كل لتر من الدم. وبافتراض كون عدد الكريات الحمر هو (٥x١٠^١٢) في كل لتر فإن متوسط هيموغلوبين الخلية يساوي:

$$MCH = \frac{150}{5\times10^{12}} = 30\, picogram(pg)$$

يقع متوسط هيموغلوبين الخلية الطبيعي في المجال (٢٩,٥ ± ٢,٥) بيكوغرام. وفي الحالات المرضية قد يرتفع إلى ٥٠ بيكوغرام أو ينخفض إلى ١٥ بيكوغرام.

متوسط تركيز هيموغلوبين الخلية (MCHC): يمكن حسابه إذا كان الـ PCV والـ Hb في كل ديسيلتر معروفين. فمثلاً إذا كان الـ PCV ٠,٤٥ وكان هناك ١٥ غرام Hb في كل ديسيلتر دم فإن متوسط تركيز هيموغلوبين الخلية يساوي:

$$MCHC = \frac{15}{0.45}\, g/dl = 33.3\, g/dl$$

متوسط حجم الصفيحة (MPV): هو نسبة الحجم التكاملي الصفيحي إلى تعداد الصفيحات ويعبر عنه بالفيمتولتر.

العلق الصفيحي (البلاتلتكريت) PCT : هو النسبة المئوية لحجم العينة الكلي المشغول بالصفيحات. ويُعبَّر عن المعلومات عن تعداد الصفيحات (PLT) ومتوسط حجم الصفيحة (MPV) بالمعادلة التالية :

$$PCT\% = \frac{MPV(fl) \times (PLT) \times (10^9/l)}{10}$$

عرض توزع الكريات الحمر (RDW) : هو تعبير عددي عن عرض التوزع الحجمي للكريات الحمر، ويتم اشتقاقه بحساب تماثلي. يتم مسح التعداد الكلي للكريات الحمر بواسطة دارة عتبية متغيرة باستمرار. تُحرَّك العتبة العليا باضطراد إلى الأسفل من مستوى مكافئ لـ ٣٦٠ فيمتولتر حتى يكون لـ ٢٠٪ من الكريات الحمر الموجودة حجم أعلى من قيمة معينة. وتُسجَّل هذه القيمة كقيمة العشرين بالمئة. يتم تحريك العتبة الدنيا إلى الأسفل حتى تصل إلى مستوى يتجاوزه ٨٠٪ من جميع الكريات الحمر. تُسمى هذه القيمة بقيمة الثمانين بالمئة.

يتم التعبير عن دالة عرض توزع الكريات الحمر RDW index بالمعادلة التالية :

$$RDW = \frac{(20th - 80th)percentile_volume}{(20th + 80th)percentile_volume} \times 100 \times K$$

الثابت K هو عامل معايرة لإعطاء نتيجة من ١٠ لسكان طبيعيين.

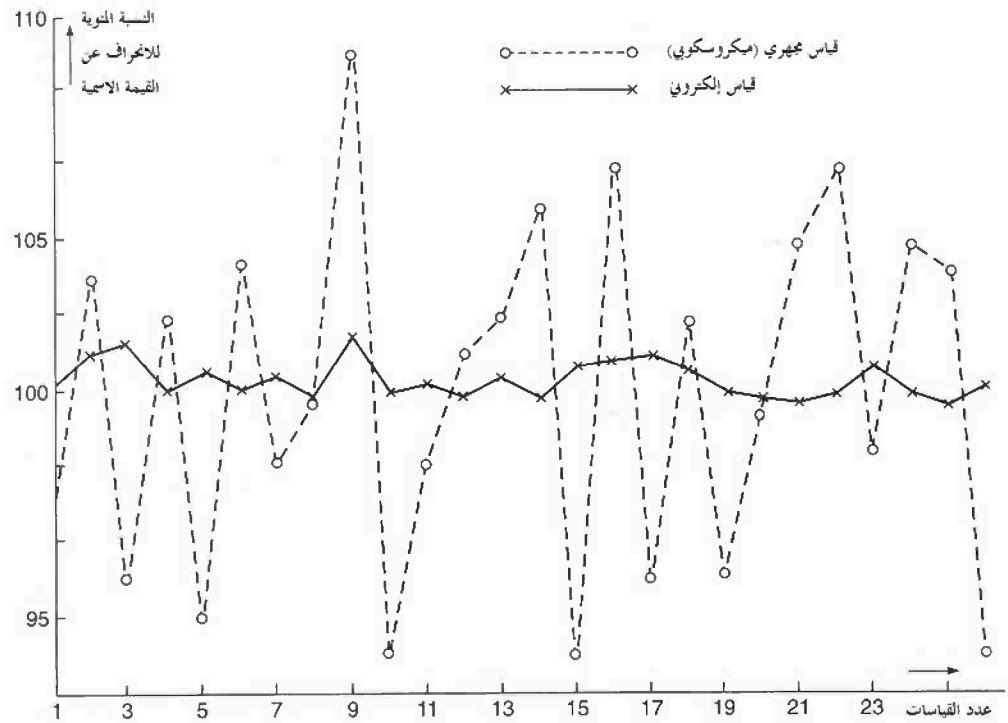
عرض توزع الصفيحات (PDW) : لهذه الدالة علاقة بمجال الحجم المغطى بتلك الصفيحات الواقعة بين النسبتين المئويتين الـ (١٦) والـ (٨٤). هذا هو الانحراف المعياري الهندسي التقليدي لمتوسط الحجم الصفيحي ويتم اشتقاقه من منحني التوزع المبني على البيانات في جهاز تحليل ارتفاع نبضة ذي (٦٤) قناة.

(١٦,٢) طرق عد الخلايا
Methods of Cell Counting

(١٦,٢,١) الطريقة المجهرية Microscopic Method

إن الطريقة الأكثر شيوعاً والمطبقة بشكل روتيني في عد خلايا الدم حتى يومنا هذا خصوصاً في المخبرات الصغيرة هي الطريقة المجهرية والتي يتم فيها تفحص عينة مخففة بصرياً وعد الخلايا. هذه الطريقة معروفة بشكل واسع كتقنية حجرة العد وتعاني من عوائق عديدة شائعة. وبعيداً عن الخطأ المتأصل inherent في النظام الذي يمكن أن يكون حوالي ١٠٪ هناك خطأ شخصي (غير موضوعي) subjective إضافي قدره ±١٠٪ يستتبع تكرارية (إعادة إنتاج) ضعيفة للنتائج. وأكثر من ذلك فإنه ينتج عن الإجراءات الطويلة ذات العلاقة تعب سريع للشخص الذي يقوم بالفحص. وهناك أيضاً استغلال سيئ للوقت والعمل.

هناك مشكلة أخرى مع العد المجهري وهي أن البيانات المجموعة بهذا القياس غير ملائمة مباشرة للتخزين من أجل معالجة وتقييم لاحقين. إضافة إلى ذلك فإن العدد المتزايد للفحوصات التي يتم إجراؤها في سلاسل طويلة في مختبرات مزدحمة يجعل من الضروري تطوير أجهزة أوتوماتيكية لعد جزيئات الدم مع خطأ في العد أقل بشكل واضح من حجرة العد. وقد قام Agoston and Zillich (1971) بمقارنة النتائج من العد المجهري مع تلك المعمولة بعدادات إلكترونية (الشكل رقم (١٦,١)). يمكن أن نرى أنه بدلاً من دقة قياس ±٢٠٪ في العد المجهري فإن العد الإلكتروني يمكن أن يؤمن دقة ±٣٪.



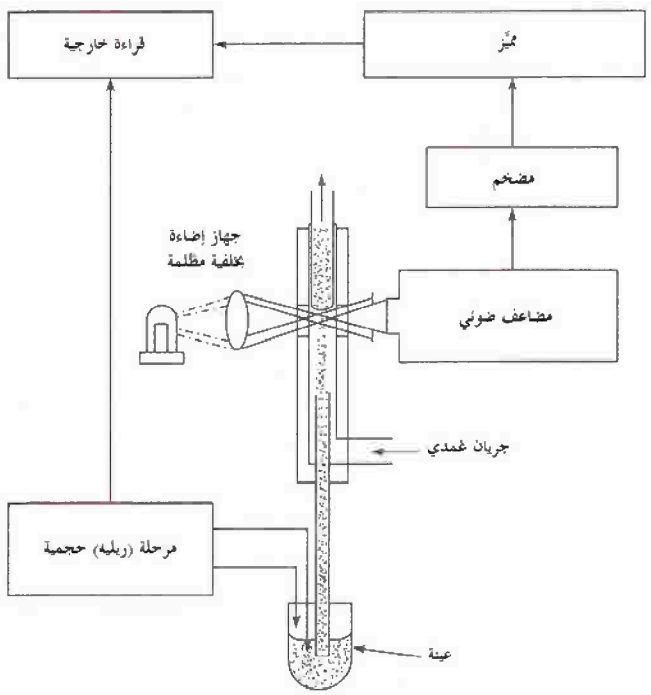
الشكل رقم (١٦,١). مقارنة بين نتائج العد ا هري وتقنيات العد الإلكتروني (طبقاً لـ Agoston and Zillich, 1971)

(١٦,٢,٢) الطريقة البصرية الآلية Automatic Optic Method

الطريقة مبنية على تجميع الضوء المبعثر من خلايا الدم وتحويله إلى نبضات كهربائية للعد. يوضح الشكل رقم (١٦,٢) أحد أنواع الترتيبات من أجل العد السريع لكريات الدم الحمر والبيض باستخدام نظام الكشف البصري. يتم وضع عينة دم مخفف (١ : ٥٠٠ للكريات البيض و١ : ٥٠٠٠٠ للكريات الحمر) في حاوية زجاجية. يتم سحب العينة من خلال حجرة العد التي يتم فيها إنقاص مقطع مجرى الدم بواسطة غمد سائل عالي السرعة متحد المركز.

يؤمن نظام عينة بصري منطقة مضاءة في حقل معتم على المجرى ويتم جمع الضوء المبعثر في الاتجاه الأمامي على مهبط أنبوب مضاعف ضوئي. يتم إنتاج النبضات في أنبوب المضاعف البصري المقابل لكل خلية. يتم تضخيم هذه الإشارات في مضخم عالي ممانعة الدخل وتغذيتها إلى مميز مطالات. يؤمن المميز نبضات بمطال مساوٍ تُستخدم لسواقة إظهار رقمي.

إن الأجهزة المبنية على أساس هذه التقنية تستغرق حوالي (٣٠) ثانية لإكمال العد. ويمكن الحصول على دقة ٢٪. تحتاج الأجهزة إلى عينة دم حجمها ميليلتر واحد.



الشكل رقم (١٦,٢). الطريقة البصرية لعد الخلايا.

(١٦,٢,٣) طريقة الناقلية الكهربائية Electrical Conductivity Method

تُعرف عدادات خلايا الدم التي تعمل على مبدأ تغير الناقلية الذي يحدث في كل مرة تمر فيها خلية عبر الفتحة orifice عموماً بعدادات كولتر. وكان كولتر أخذ في عام ١٩٥٦م براءة اختراع على الطريقة وهي تشكل الأساس لعديد من أجهزة عد الجسيمات المصنَّعة من قبل عدد من الشركات عبر العالم. التقنية مفيدة إلى حد بعيد لتحديد عدد وحجم الجسيمات المعلقة في سائل ناقل كهربائياً.

المبدأ الذي يعتمد عليه القياس هو أن الدم ناقل سيئ للكهرباء بينما بعض المخففات نواقل جيدة. ولذلك فمن أجل عد الخلايا يتم تخفيف الدم وسحب المعلَّق من خلال فتحة صغيرة. وبواسطة مصدر تيار ثابت يتم الحفاظ على تيار مستمر بين إلكترودين موضوعين على جانبي الفتحة. وعندما تُحمَل خلية دم عبر الفتحة فإنها تزيح بعضاً من السائل الناقل وتزيد بذلك المقاومة الكهربائية بين الإلكترودين. وبذلك يتم إنتاج نبضة جهد مطالها متناسب طرداً مع حجم الجسيم. يتم تضخيم سلاسل النبضات الناتجة إلكترونياً وتدريجها وإظهارها على شاشة إظهار مناسبة.

ومن أجل الحصول على أداء أفضل وتمكين علاقة التغير في المقاومة مع حجم الخلية لأن تبقى جيدة فإنه يُنصح بأنه ينبغي أن تكون النسبة بين طول الفتحة وقطرها ١ : ٠,٧٥ ، أي أنه من أجل قطر فتحة قدره ١٠٠ ميكرومتر فإن الطول ينبغي أن يكون ٧٥ ميكرومتر.

تعمل الأجهزة المبنية على أساس مبدأ كولتر أفضل ما يمكن عندما يكون متوسط قطر الجسيمات متراوحاً بين ٢٪ و٤٠٪ من قطر ثقب القياس. ولذلك يجب تحقيق الشرط التالي بالنسبة لمجال القياس :

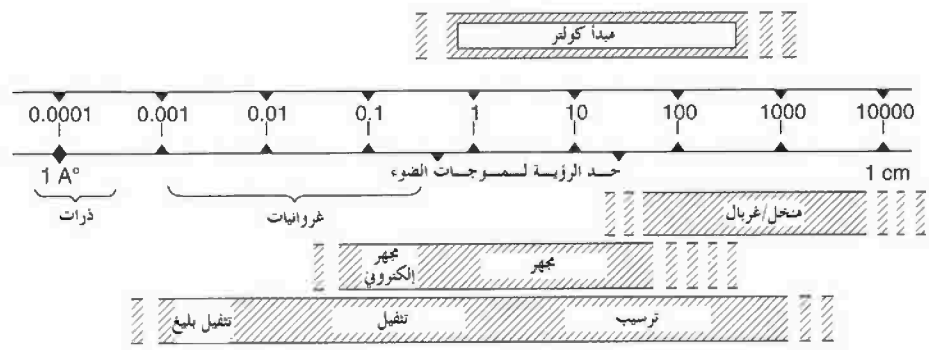
$$D/50 \le d \le D/2$$

حيث d الحجم الأعظمي للجسيم و D قطر فتحة القياس.

الحد الأدنى للقياس في النظام محكوم بمصادر الضجيج ذات العلاقة. تتضمن مصادر الضجيج الضجيج الحراري للكاشف والعائد إلى مقاومة السائل الجاري عبر الفتحة والضجيج المتأصل في الدارات الإلكترونية.

الجسيمات ذات الحجم الأكبر من قطر فتحة القياس تستطيع أن تمر عبر الفتحة فقط إذا كان أطول أبعادها موازٍ لمحور فتحة القياس وإلا فإنها سوف تتسبب في انسداد الفتحة. وهكذا فإن الحد الأعلى للقياس يفرضه الحجم المتزايد للجسيمات. عندما يقارب حجم الجسيم قطر الفتحة فإنه يتم إنتاج خطأ خطية مطال. ولذلك فمن أجل عد جسيمات من حجوم مختلفة فإنه يجب اختيار قطر فتحة القياس بطريقة تحقق شروط القياس. تمكِّن إجراءات بسيطة من توسعة المجال حسب الحاجة عن طريق استخدام حجم فتحة تتابعي successive – المجال الكلي المغطى هو من حوالي ٠,٥ ميكرون صعوداً إلى ٥٠٠ ميكرون. ويوضح الشكل رقم (١٦,٣) قابلية تطبيق مبدأ كولتر لقياس جسيمات من حجوم مختلفة.

يتم الإنتاج التجاري لمجال واسع من أجهزة عد الجسيمات المصممة لتلبي تنويعاً واسعاً من الحاجات في مختبر الدمويات. تتراوح هذه الأجهزة ما بين عدادات صغيرة، تُستخدم بشكل أساسي لعد الكريات الحمر والبيض في مستشفيات صغيرة جداً وعيادات، وأجهزة متعددة المعاملات ذات تحكم بمعالج صغري تقوم بالتخفيف الآلي للعينات وطباعة النتائج.

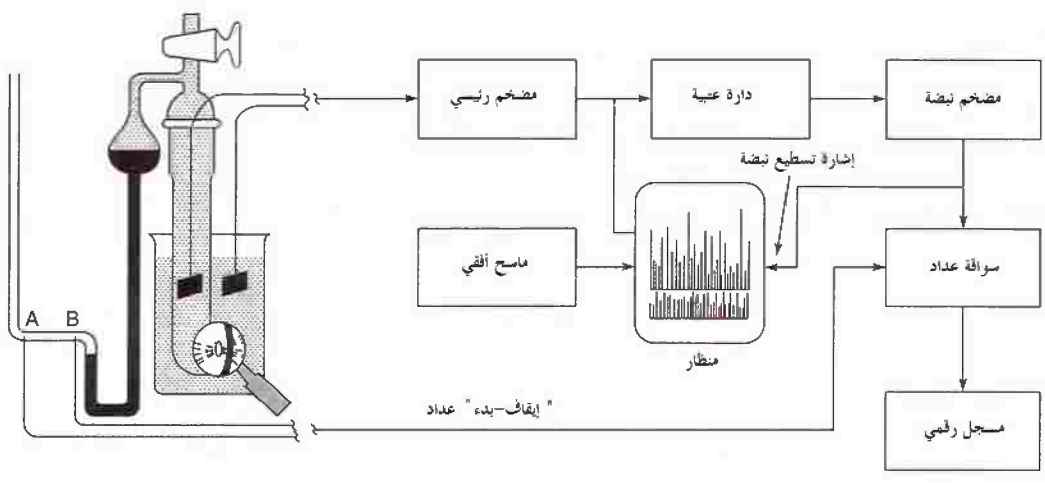


الشكل رقم (١٦,٣). قابلية تطبيق مبدأ كولتر في ا ال من (٠,٥) إلى (٥٠٠) ميكرون.

(١٦,٣) عدادات كولتر

Coulter Counters

يوضح الشكل رقم (١٦,٤) مخططاً صندوقياً يبين مبدأ عداد كولتر. يوضع إلكترود من البلاتين داخل أنبوب الفتحة وإلكترود ثانٍ يتم غمسه في الزجاجة المحتوية على محلول الخلايا المخفف مما ينشأ عنه تيار كهربائي بين الإلكترودين. التيار سوف يسري من أحد الإلكترودين إلى الآخر عبر الفتحة. عندما يُسحب معلق الخلايا عبر الفتحة فإن الخلايا سوف تزيح بمقدار حجمها من الإلكتروليت وتتسبب بتغير في المقاومة يتم تحويله إلى تغير في الجهد وتضخيمه وإظهاره.



الشكل رقم (١٦,٤). مبدأ عداد كولتر.

عملياً يتم سحب معلق الخلايا عبر الفتحة بواسطة مقياس ضغط زئبقي. يتضمن هذا المقياس سلكي تماس بلاتينيين (A وB) موضوعين عبر جدران زجاجية. التماس A سوف يبدأ العد بينما يوقف التماس B العد عندما يكون قد مر ٠,٥ ميليلتر من المخفَّف عبر أنبوب الفتحة. وبذلك فهو يؤمن عداً لعدد الجسيمات في حجم ثابت من المعلَّق. يوضح الشكل رقم (١٦,٥) تتابع بناء النبضة على شكل زيادة في المقاومة عند مواضع مختلفة للخلية بالنسبة للفتحة.

ولتمكين الجهاز من عد تلك النبضات التي تقع ضمن حدود معينة محددة مسبقاً فقط فلا بد من وجود تسهيل عتبي. العتبة ضرورية أيضاً لتمكين الجهاز من إهمال أي ضجيج إلكتروني قد يكون موجوداً في النظام. العتبة الدنيا تضع مستوى جهد كلي يجب تجاوزه من قبل نبضة ما قبل أن يمكن عدها. العتبة العليا سوف لن تسمح بعد النبضات التي تتجاوز مستوى العتبة المحدد مسبقاً.

يتم تزويد عدادات كولتر بمرقاب راسم للذبذبات (مونيتور أوسيلوسكوبي) لإظهار معلومات النبضة التي مرت عبر المضخم ويقوم بالتحقق المرئي من عملية العد مشيراً لحظياً إلى أي خلل وظيفي مثل انسداد الفتحة. وبشكل خاص فهو يؤمن معلومات بخصوص :

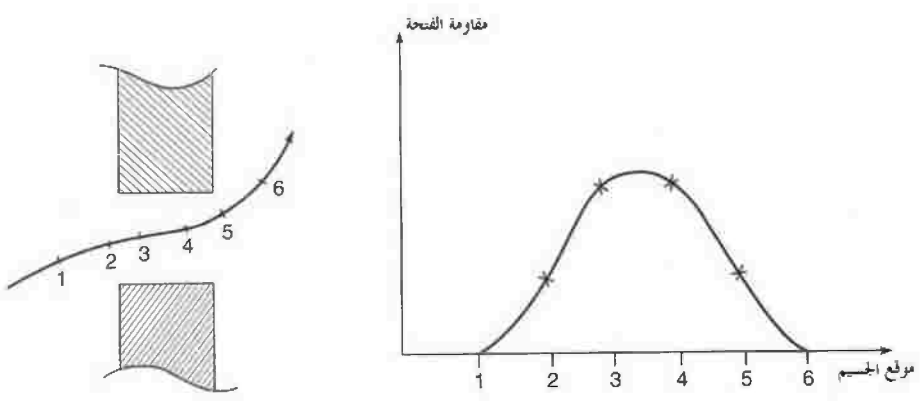
١- الحجم النسبي للخلية.

٢- توزع الحجم النسبي للخلية.

٣- قيم ضبط متحكم مستوى العتبة.

٤- وسائل للتحقق من أداء الجهاز من أجل موثوقية العد.

يتم إظهار نبضات الجهد المنتَجة في كل مرة تمر فيها خلية عبر الفتحة على شاشة راسم الذبذبات على شكل نتوءات عمودية.



الشكل رقم (١٦,٥). تتابع بناء النبضة على شكل تزايد في المقاومة عند أوضاع مختلفة للخلية بالنسبة للفتحة.

تساعد عدادات كولتر أيضاً في إعطاء فكرة عن توزع الحجم لأنواع مختلفة من الخلايا. ولقد أُفيد عن أن ارتفاع النبضة، وبتقريب أولي، متناسب طرداً مع حجم الجسيم. إن تحويل ارتفاع النبضة إلى عدد رقمي من خلال المحول التماثلي الرقمي وتخزينه في الذاكرة يساعد في الحصول مخطط لعدد الخلايا كتابع لحجمها (McGann et al., 1982).

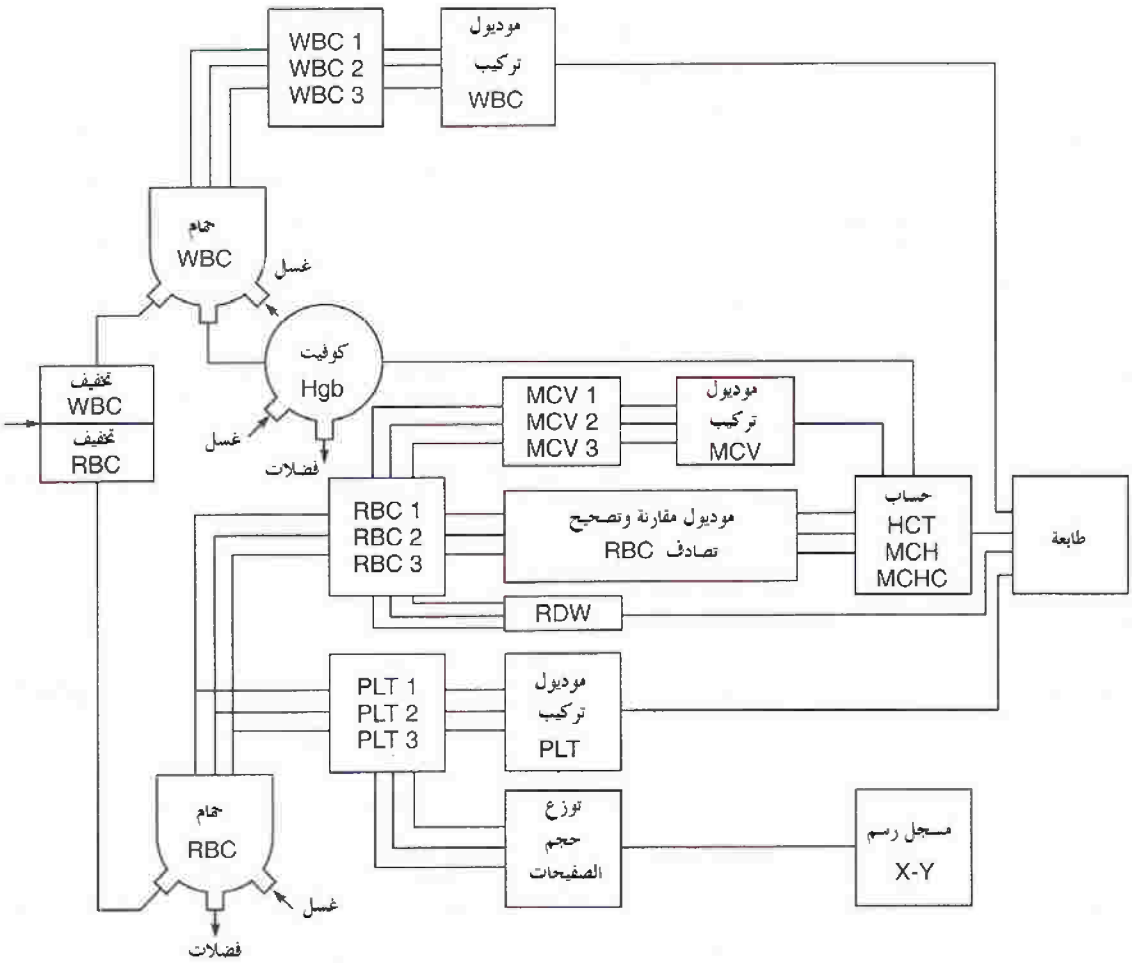
يقترح Taylor (1970) بأن قطر فتحة من ١٠٠ ميكرو متر سيكون مفيداً بشكل عام. ومن أجل مثل هذه الفتحة فإن طولاً من ٢٠٠ ميكرو متر ومعدل تدفق من ٠,٠٤ ميليلتر في الثانية سيكونان مثاليان. يمكن صنع الفتحة باستخدام جواهر ساعة ياقوتية مثبتة إلى سطح زجاجي. ونموذجياً فإن فتحة بقطر ١٠٠ ميكرو متر وطول ٢٠٠ ميكرو متر تفصل محلولي سالين بدارئ فوسفاتي لها مقاومة بحوالي ٢٥ كيلو أوم وسعة ١٢٠ بيكو فاراد. الحد الأدنى لزمن الصعود هو حوالي ٥ ميكرو ثانية. وهذا يعني أنه يجب أن يكون للدارة الإلكترونية استجابة تردد أعلى أكبر من ٧٠ كيلو هرتز. ويجب أن يكون المضخم الأولي المستخدم في عدادات الخلايا ذا ضجيج منخفض جداً ويُفضَّل أن يكون له تيار ضجيج أقل من ٢ نانو أمبير عند عرض الحزمة ٧٠ كيلو هرتز المطلوب.

المعايرة: إن عامل المعايرة ثابت من أجل حجم فتحة معطى وقيمة مقاومة نوعية للإلكتروليت وربح للمضخم محددين. وهو يُستخدم من أجل تحويل قيم العتبات إلى حجوم جسيمات أو جذرها التكعيبي إلى أقطار كروية مكافئة.

يتم عمل المعايرة ببساطة وسرعة بمراقبة العتبة من أجل جسيمات وحيدة الحجم ذات قطر معروف (ضبط مستوى العتبة على ذروات النبضات وحيدة الارتفاع على شاشة الأوسيلوسكوب). ويبدو أن حبيبات الرجيد ragweed pollen (بقطر ١٩ ميكرون) وجسيمات لاتكس البوليستيرين polystyrene latex particles (بقطر ٦-١٤ ميكرون) تحقق هذه المتطلبات. يُفضل لاتكس البوليستيرين من بين الإثنين لأغراض المعايرة (Thom, 1972). عند استخدام الجسيمات فإنها نادراً ما تسد الفتحة. ويمكن الحصول عليها بسهولة في المجال ٥ مليون جسيم في الميليمتر المكعب.

(١٦,٣,١) عداد كولتر متعدد المعاملات (البارامترات) Multi-parameter Coulter Counter

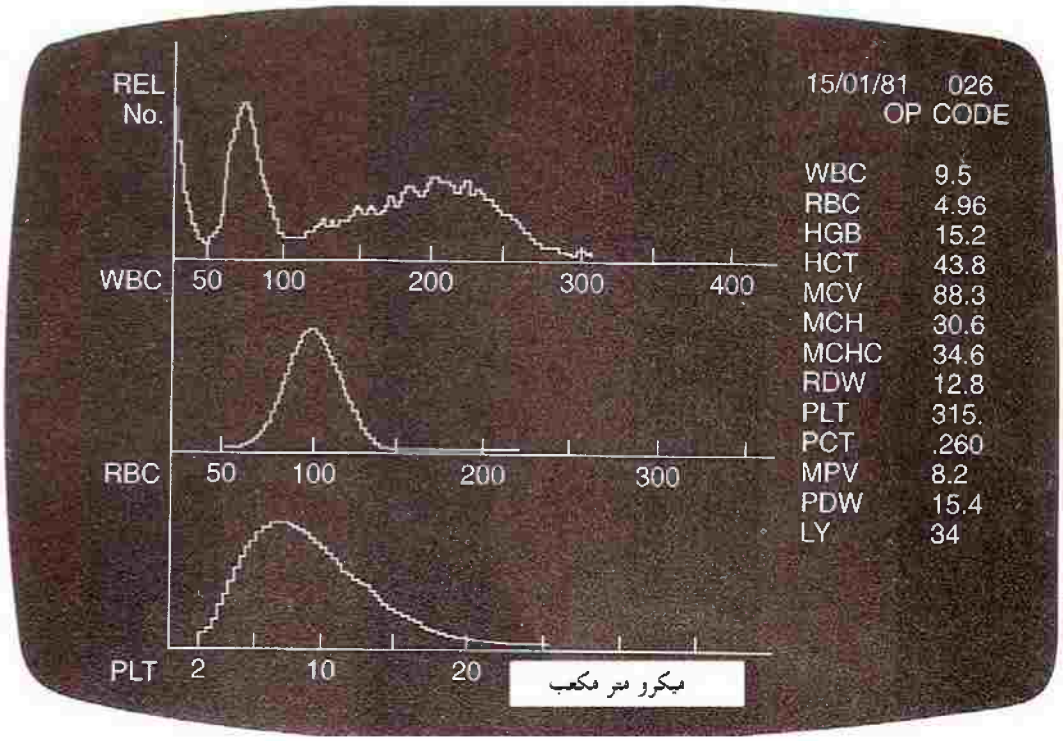
يوضح الشكل رقم (١٦,٦) مخططاً صندوقياً لعداد كولتر متعدد المعاملات (البارامترات). وهو يعطي الصورة profile المقبولة عموماً لتعداد الخلايا البيضاء والحمراء ولمتوسط حجم الخلايا وللهيماتوكريت ولمتوسط تركيز هيموغلوبين الخلية ولمتوسط هيموغلوبين الخلية وللهيموغلوبين. وإلى جانب ذلك تُقدَّم المعاملات الخمسة التالية: تعداد الصفيحات وعرض توزع الخلايا الحمراء ومتوسط حجم الصفيحات وراسب الصفيحات (بلاتلتكريت platletcrit) وعرض توزع الصفيحات. الجهاز ذو تحكم بمعالج صغري ويؤمن مرونة في التعبير بأشكال مختلفة عن التعدادات المتاحة وحجم البيانات المخزنة في الذاكرة.



الشكل رقم (١٦,٦). مخطط صندوقي لعداد كولتر متعدد المعاملات. (بموافقة Coulter Electronics)

جميع المعاملات المقيسة مباشرة مقيسة ثلاث مرات in triplicate والمتوسط هو ما يتم إظهاره. يتم الحصول على جميع المعاملات الـ ١٤ من ١ ميليلتر دم كامل في ٣٤–٥٠ ثانية وذلك تبعاً لعدد الصفيحات الموجودة. يتم التحكم بتخفيف ومزج العينات جميعها عن طريق معالج صغري يراقب في نفس الوقت الجهاز ويتحقق من جميع الدارات الإلكترونية والغازية لتصحيح قيام الجهاز بوظيفته.

يتم تقديم جميع هذه المعلومات في نفس الوقت (الشكل رقم (١٦,٧)) بحيث إنه يمكن مراجعة البيانات بسرعة بمجرد مسح شاشة الإظهار. ولما كان كل توزع عبارة عن متوسط للمعلومات من فتحات القياس الثلاث فإنه يمكن فحص البيانات من أي من الفتحات الثلاث واحدة بعد الأخرى أوتراكبياً واحدة فوق الأخرى من أجل مراجعة مقارِنة.

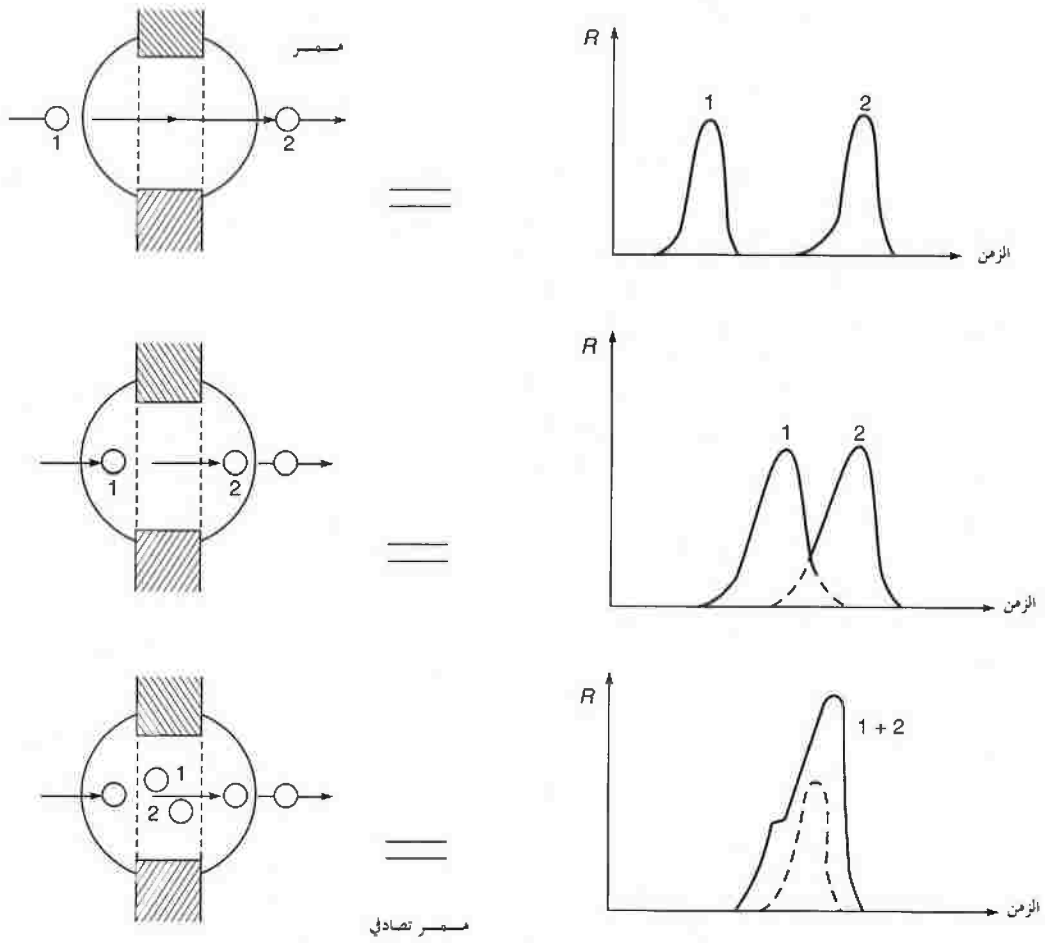


الشكل رقم (١٦,٧). الإظهار الآني لبيانات الخلايا البيضاء الطبيعية ومنحني توزع الخلايا الحمراء على النهاية الطرفية للبيانات لعداد كولتر موديل (S-plus).

معاوضة التصادف: يحدث خطأ التصادف عندما يتواجد أكثر من جسيم في منطقة التحسس في نفس الوقت. سوف ينشأ عن ذلك أن الجهاز يكشف جسيمات أقل من المتواجدة فعلياً. كما ينشأ عن ذلك أيضاً أن الجهاز سوف يضيف النبضات إلى بعضها ليعطي نبضة وحيدة أطول بكثير (الشكل رقم (١٦,٨)).

وبما أن الجهاز يكشف نبضات أقل من الموجودة فعلياً فإنه من الضروري إضافة النبضات "المضيَّعة" بسبب التصادف من أجل جعل التعداد الكلي صحيحاً. لقد تم تحديد المعدل الذي يحدث فيه ذلك رياضياً. يقوم الموديل (s-plus) من عداد كولتر بمعاوضة هذا الضياع أوتوماتيكياً. هناك مع بعض الأجهزة مخطط تصحيح correction chart متاح من أجل السماح بتصحيح العدد المراد تحديده. ومن أجل تعداد كلي تحت ١٠٠٠٠ نبضة فإن التصادف الأولي مهمل ويمكن تجاهله.

لعدادات كولتر عائق جدي يرتبط بترتيبة مقياس الضغط الزئبقي. يتسخ سطح الزئبق وكنتيجة لذلك فإن التماس المتاخم للحجم يصبح غير أكيد مما قد يجعل القيم المقيسة غير أكيدة. يوسخ الزئبق أيضاً الجدران الزجاجية المجاورة مما يسبب بدوره عدم موثوقية في العد. وإضافة إلى ذلك فإنه لا يمكن نقل الجهاز وتخزينه إلا بعد إزالة الزئبق منه.

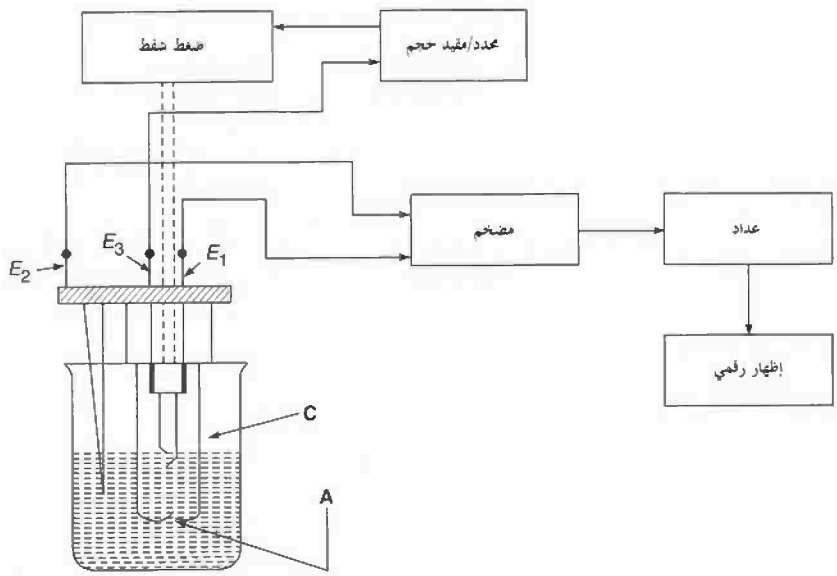


الشكل رقم (١٦,٨). وجود أكثر من جسيم واحد في الفتحة ينشأ عنه ضياع في بعض النبضات ذات الصلاحية.

(١٦,٣,٢) جهاز البيكو سكيل Picoscale

هناك جهاز عد خلايا آخر معروف باسم بيكوسكيل وهو مبني على أساس نفس مبدأ كشف التغير في الناقلية بوجود خلية في الفتحة لأنبوب قياس. هذا الجهاز لا يستعمل مقياس ضغط زئبقي لتثبيت الحجم ملغياً بذلك المشاكل المترافقة مع استعماله.

المقصود من هذا الجهاز بالأساس عد كريات الدم الحمراء والبيضاء والصفيحات، وهو مصنوع من قبل شركة MEDICOR في بودابست. في هذا الجهاز (الشكل رقم (١٦,٩)) يتم غمس أنبوب قياس زجاجي C مزود بفتحة A في المعلَّق. يسحب فرق الضغط المُحدَث بين جانبي الفتحة المعلَّق ليجري عبر الفتحة. ويتم توليد فرق الضغط هذا بمضخة ميكانيكية بسيطة مكونة من حقنة syringe ومرحِّل relay وأجزاء أخرى.



الشكل رقم (١٦,٩). مخطط صندوقي لعداد خلايا دم نوع بيكوسكيل picoscale.

يتم عادة تمرير تيار ثابت بين الإلكترودين E_1 و E_2. ولذلك فإن مقاومة السائل الكهربائية المقيسة بين هذين الإلكترودين تتغير بسرعة عندما يمر عبر الفتحة جسيم له ناقلية تختلف عن ناقلية الإلكتروليت. وهذا ينشأ عنه توليد نبضة جهد يتم تضخيمها في مضخم أولي عالي الربح وذي مستوى ضجيج منخفض. تذهب إشارة خرج هذه المرحلة إلى مميِّز discriminator يقارن مطال النبضة الواصلة إلى دخله مع مستوى قدح مضبوط مسبقاً. يعطي المميِّز نبضة ذات شكل ومطال ثابتين إذا تجاوزت إشارة الدخل مستوى القدح. تذهب هذه النبضات إلى دارة عد من أجل إظهار المعامل (البارامتر) المقيس.

يتم تزويد أنبوب القياس C بإلكترود ثالث E_3 يساعد في مراقبة الشفط لحجم محدود من المعلَّق. عندما يصل مستوى السائل إلى E_3 فإن المضخة تبدل من طور الشفط إلى طور الضغط. تحدث عملية العد أيضاً أثناء الزمن الذي يتم فيه إجبار الإلكتروليت على الخروج من أنبوب القياس. وبعد فقدان السائل للتماس مع الإلكترود E_1 يتوقف العد أوتوماتيكياً وتصبح الوحدة جاهزة مرة ثانية للعمل. ينصح المصنعون بأنه من أجل زيادة موثوقية النتائج فإنه يُفضَّل تكرار القياسات عدة مرات وحساب القيمة المتوسطة بناء على هذه القياسات.

إحدى الميزات الكبيرة لهذا الجهاز تكمن في أن انسداد الشعيرات ملغي إلى حد كبير بتطبيق جريان ثنائي الاتجاه أثناء عملية القياس. يتم تحديد عدد الجسيمات N في وحدة الحجم من العلاقة:

$$N = \frac{H \times L \times E}{V}$$

حيث H هو عامل التخفيف و L عامل تدريج scaling factor للعداد و V الحجم المقيس و E النتيجة المظهَرة على الإظهار الرقمي.

فمثلاً إذا كان عامل التخفيف هو ٦٣٠٠٠ (نموذجي من أجل عد الخلايا الحمراء في هذا الجهاز) و٢٥٠ هو ما يظهر على الإظهار الرقمي وأن L تساوي ٦٠ وV تساوي ٠,٣٧٨ سنتيمتر مكعب فإن:

$$N = \frac{(6.3\times10^4)\times(60)\times(5.20\times10^2)}{(3.78\times10^2)}$$

$$N = 5.20\times10^6 \text{ per mm}^3$$

وبكلمات أخرى فإن المحلول يحتوي على ٥,٢ مليون خلية دم في كل ميليمتر مكعب.

قطر الأنبوب الشعري من أجل عد خلايا حمراء هو (٧٢) ميكرومتر وعامل التخفيف هو (٦٣٠٠٠). القطر من أجل الخلايا البيض هو ١٠٢ ميكرومتر وعامل التخفيف هو ٦٣٠. أما من أجل عد الصفيحات فإن قطر الأنبوب الشعري هو (٧٢) ميكرومتر وعامل التخفيف هو ٦٣٠٠.

(١٦,٣,٣) الأخطاء في العدادات الإلكترونية Errors in Electronic Counters

هناك عدد من الأخطاء التي يمكن أن تحدث في تقنية عد الخلايا الإلكتروني. واختصاراً يتم تصنيف هذه الأخطاء كما يلي:

انسداد الفتحة: الانسداد الجزئي لفتحة القياس يؤثر بشكل سيئ على نتائج العد. فقطر الفتحة يصبح مقلَّصاً وحتى أن جسيمات صغيرة لم يكن مقصوداً عدها يتم تضمينها في العد النهائي. كما أن زمن العد يصبح أيضاً أكبر. تتم إزالة الانسداد بتنظيف الفتحة باستخدام دورة شفط–ضغط عن طريق مضخة.

شك عتبة المميِّز: شك القدح عند مستوى عتبة وبطاء العتبة يعنيان أن جسيمات من نفس الحجم أحياناً يتم عدها وأحياناً لا يتم عدها. بالإضافة إلى هذا فإن خطأ شك عتبي يمكن أن يتم إدخاله إذا كان لأنبوب القياس الشعري قطر أكبر من المقنَّن لأن مرور خلايا في أنبوب شعري ذي قطر أكبر سوف ينشأ عنه تغيرات أصغر في المقاومة.

خطأ التصادف: يشاهَد خطأ التصادف إذا مر أكثر من جسيم واحد عبر فتحة القياس في نفس الوقت. ولحساب هذا الخطأ يتم افتراض توزع بواسون poisson حيث يمكن بواسطته تحديد الاحتمالية لـ (1,2,3,...n) جسيم داخل إلى أنبوب القياس الشعري أثناء الزمن الذي يتم فيه إنتاج عد وحيد. يعتمد ضياع التصادف على طول وقطر الفتحة وعلى عدد الجسيمات في وحدة الحجم وعلى نسبة التخفيف. وفي العادة فإن الأجهزة تتضمن تصحيحاً لضياع التصادف.

خطأ الترسب: ينشأ هذا الخطأ بسبب ترسب الجسيمات في المحلول والنتيجة هي أن القياسات تبدي ميلاً تناقصياً مع الوقت. إذا تم أخذ القراءات خلال ٤–٥ دقيقة فإن خطأ الترسب يكون أقل من ١٪.

الخطأ الإحصائي: لنفترض أنه تم أثناء الزمن t اكتشاف n جسيماً. بعد ذلك، وأثناء زمن إضافي t، فإن عدد الجسيمات المكتشفة سوف يكون $n \pm \sqrt{n}$. ولذلك فإن متوسط الخطأ الإحصائي يساوي $\sqrt{n}$ والخطأ النسبي يساوي $\pm 100/\sqrt{n}\%$. وبافتراض توزع طبيعي (غاوصي Gassian) فإن متوسط الخطأ الإحصائي يعني أن ٦٧٪ من الاختبارات تقع في الفترة $n \pm \sqrt{n}$ مع ٣٣٪ من القياسات أكبر من ذلك. ولحساب الخطأ الإحصائي فإنه ينبغي ضرب قراءة الجهاز بعامل تدريج العداد. وهذا سوف يعطي قيمة n.

الخطأ في حجم العينة: ينبغي لحجم القياس أن يكون دقيقاً ما أمكن لأن قيمة حجم القياس تؤثر على دقة القياس. وكلما كان حجم العينة أكبر كلما كانت النتيجة أكثر دقة. وينبغي لقطر أنبوب القياس أن يكون دقيقاً جداً لأنه يظهر مرفوعاً للقوة ٢ في حسابات الحجم.

الخطأ الناتج عن تغير درجة الحرارة: تزداد ناقلية الإلكتروليت بارتفاع درجة الحرارة. وبالتالي فإن المقاومة النوعية للمحلول تنقص مما ينتج عنه تخفيض في مطال النبضة المولَّدة بالجسيم. ومن أجل نتائج دقيقة فإنه ينبغي المحافظة على درجة حرارة المحلول ثابتة.

العوامل البيولوجية: إن عواملاً مثل تشوه الخلايا في المحلول المخفِّف أثناء مرورها عبر الفتحة وأثر تحلل الدم تحت تأثير الحقول الكهربائية ووجود البكتيريا ... الخ كلها تدخل أخطاء في عملية القياس.

أخطاء التخفيف: للحصول على قياسات دقيقة فإنه ينبغي تحضير المعلَّق المحتوي على جسيمات بأقصى حذر وبأدنى خطأ ممكن. ينبغي عمل التخفيفات بدقة وينبغي للمحلول أن يكون من طبيعة بحيث أن الخلايا لا تنكمش ولا تنتفخ.

الأخطاء العائدة إلى اضطرابات خارجية: قد يتداخل حقل مغناطيسي عالي الشدة في جوار الجهاز مع القياس. وقد يكون من الضروري حجب screen الجهاز بمادة مغناطيسية ما.

إن مصادر الأخطاء التي تم تعدادها أعلاه ناشئة عن عوامل عشوائية، ولأن النتائج أيضاً سوف تحتوي على أخطاء عشوائية فإنه قد تشاهَد نتائج مختلفة في اختبارات مكررة. ولذلك فإنه ينبغي تحديد القيمة الفعلية مع الاعتبار اللازم للتغيرات وضياعات القياس وظروف أخرى.

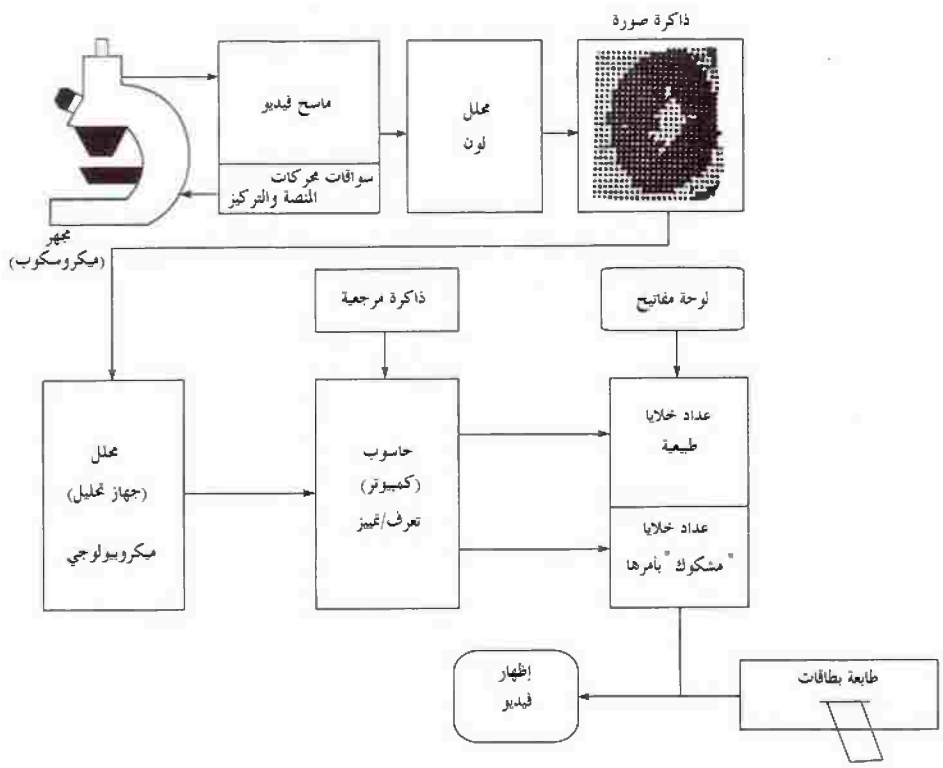
(١٦,٤) التمييز الآلي والعد التفاضلي للخلايا
Automatic Recognition and Differential Counting of Cells

إلى جانب الأجهزة المؤتمتة من أجل الحصول على تعداد الكريات الحمر والبيض والصفيحات كان هناك اهتمام معتبر في تطوير تقنيات مؤتمتة لتحديد وعد أنواع مختلفة من الخلايا ضمن صنف معطى. أمثلة لهذا يمكن أن تكون عد الخلايا الحمراء غير المكتملة immature والعد التفريقي للكريات البيض وتمييز الخلايا الطبيعية عن المريضة في أنواع خلايا أخرى. وتؤثر أمراض مختلفة على آلية معلومات خلايا الدم بطرق مختلفة. وبشكل خاص فإن النسب المئوية للكريات البيض الخمس الرئيسية مقياس حساس للإشارة إلى والمساعدة في تشخيص أمراض مختلفة. وأكثر من ذلك فإن بعض الأمراض تتسبب في أن أشكالاً غير مكتملة تكون عادة موجودة في النسيج المشكل للدم تظهر في

الدم الطرفي. بعض الأمراض تؤثر في شكل (مورفولوجية) الخلايا الحمراء وبالتالي فإن تقريراً نوعياً عن الخلايا الحمراء يشكل أيضاً جزءاً من التعداد التفريقي. وهكذا فهناك حاجة لأتمتة اقتباس وتفسير البيانات في تعداد خلايا تفريقي إكلينيكي روتيني. ولقد استخدمت مقاربات عديدة في السعي وراء أتمتة التقنيات.

وصف Miller (1976) مصنِّفاً تفريقياً لخلايا الدم البيضاء مبنياً على أساس مقاربة ماسح بقعة طيارة ثلاثي الألوان three-colour flying spot scanner. وهو يستخدم معاملات (بارامترات) تعرُّف مبنية على مبدأ التوابع الاحتمالية الهندسية geometrical probability functions التي يتم توليدها بسرعة عالية في حاسوب مخصص لذلك. يستخدم النظام مجهراً تقليدياً بحركة منصة ومحرق (بؤرة) آاليين.

ويوضح الشكل رقم (١٦,١٠) مخططاً صندوقياً لخطوات تحديد الخلايا في النظام. النظام مبني حول مجهر نوع زايس Zeiss بقطعتين عينيتين بتكبير (١٥) وقطعة جسمية ذات غمر زيتي وتكبير ٤٠ مع تركيز ذي تحكم بالحاسوب. يظهر مرقاب تلفزيوني البيانات ويوضح الوضع النسبي للخلايا في كل حقل. تتم موضعة الشريحة بدقة على الناقل للسماح بإعادة التحميل، ويتم تزويد الزيت من خزان، كما يتم مركزة العدسة الجسمية. يولِّد أنبوب أشعة مهبطية بقعة طيارة تجتاز الشريحة في مسحات عرضها ١ ميكرومتر.



الشكل رقم (١٦,١٠). مخطط صندوقي لنظام تمييز (التعرف إلى) الخلايا.

وعندما يتم تحديد موقع نواة خلية يتم في الحال تخزين إحداثيات الحزمة. يتم تثبيت نافذة بأبعاد ٢٤ في ٣٢ ميكرومتر حول مركز الخلية ذات النواة، ويتم إعادة الماسح إلى وضع البداية ليمسح المنطقة بممرات عرضها ٠,٢٥ ميكرومتر. يتم فصل الضوء المار عبر الخلية وإرساله إلى ثلاث مرشحات لتقسيمه إلى مكوناته الحمراء والخضراء والزرقاء مع أنابيب مضاعف ضوئي عالية الحساسية تكتشف الإشعاع الناتج. يحسِّن هذا النظام تصنيف الخلايا ويسمح باستخدام الشرائح المحشورة wedged كما يسمح باستخدام الشرائح الملولبة spun.

وبناء على عدد أوضاع الشبكة وعلى الألوان الثلاثة يملك النظام أكثر من ٣ ملايين قيمة بيانية لاستخدامها في كل تعرُّف على خلية. وهذه تستخدم لتحديد المكان وتمييز النوى بناء على الحجم والتقطيع segmentation. إن باستطاعة النظام تحديد الخلايا المقتطعة الصبوغة Neutrophils والرابطة bands وأليفة الليفي الداخلي Esoinophils وأليفة الأساس Basophils والليمفاوية Lymphocytes ووحيدات النواة Monocytes وأيضاً الخلايا غير الطبيعية مثل الخلايا الليمفاوية غير النموذجية والذوابل blasts والخلايا الحمراء ذات النواة والخلايا الحبيبية granulocytes غير المكتملة.

إضافة إلى ذلك فإن النظام يقوم بتحديد شكل الخلية الحمراء وتقييم الحجم والشكل واللون ويعد الخلايا الشبكية reticulocytes ويخمن عدد الصفيحات ويرسم توزع أقطار الخلايا الحمراء. يؤدي الجهاز لذلك جميع الوظائف المتوقع من إنسان يجلس إلى مجهر أن يفعلها. إلا أن النظام أسرع بكثير من تكنولوجي إنساني حيث إنه يستطيع أن يعالج ١٠٠ شريحة في الساعة.

إذا ما تم تحديد الخلية كواحدة من أنواع الخلايا الطبيعية الستة فإنه يتم عدها وإلا فإنه ينظر إليها كخلية شك يجب تحديدها من قبل المشغّل. يتم تفتيش نفس الحقل مرة ثانية من أجل خلايا أخرى غير ذات نواة. فإذا لم يتم إيجاد أخرى فإنه يتم تحريك سواقة المنصة ويستأنف البحث الإلكتروني في الحقل الجديد المقدَّم للنظام.

تعمل آلية المركزة الأوتوماتيكية من معلومات فيديو عالية التردد كإشارة خطأ لموضعة سواقة محرق كهروضغطية. تضبط البلورة الكهروضغطية مجموعة العدسة من أجل زيادة محتوى التردد العالي للإشارة الفيديوية إلى الحد الأقصى.

لقد تم تطوير برنامج التعرف على النمط pattern recognition من ٢١٠٠٠ خلية طبيعية وغير طبيعية وخوادع ومن ٧٠٠ أناس مختلفين وتم تخزينه على شريط مغناطيسي. ولقد شوهد أن درجة التوافق بين الجهاز الذي تم تطويره (هيماتراك Hematrak، ماركة تجارية مسجلة لشركة Geometric Data Corporation, Wayne, PA,19087) والتكنولوجي كانت ٩٨٪. وكان الوقت المطلوب لأداء تعداد تفريقي على الجهاز صغيراً بما فيه الكفاية ليعطي انتاجية من ٤٠ شريحة في الساعة. إن نظام الـ "diff-3" المشروح أدناه مثال على نظام تمييز وعد آليين للخلايا.

(١٦,٤,١) النظام ثلاثي التفريق (نظام الـ "diff-3") "diff-3 System"

فكرة النظام: نظام الـ "diff-3" (Perkin-Elmer, USA) نظام آلي بالكامل من أجل تقييم الخلايا الإنسانية الحمر والبيض والصفيحات. يتفحص النظام إلكترونياً شرائح لطخات دم مجهرية تقليدية ويستخدم تقنيات تمييز أنماط بصرية للحصول على ما يلي:

- يعد ويفرق بين سبع فئات مهمة لخلايا الدم الحمراء (الكريات الحمر)، ثلاث بناء على الحجم واثنتان على اللون وواحدة على الشكل وواحدة تغطي الخلايا الحمراء بنوى (خلايا حمر ذات نواة).
- يعد الخلايا البيضاء (الكريات البيض) ويصنفها تفريقياً في العشر فئات الطبية الأكثر دلالة ويخمن عددها الكلي.
- يفحص حجم الصفيحات (كريات التخثير) وكفايتها.

النظام مصمم لتحليل شرائح معيارية بمعدل (٣٥) إلى (٤٠) شريحة في الساعة. مهمة التحليل الفعلية تأخذ فقط ٩٠ ثانية. وفي الحقيقة فإن النظام ينسخ إلى حد كبير ميكانيكياً وإلكترونياً ضوئياً العمليات اليدوية المتبعة أثناء فحص لطخات الدم بالمجهر.

عمل النظام: أولاً يتم تحويل عينة الدم إلى شريحة تقليدية بواسطة مدوّر شرائح يضمن طبقة وحيدة من الخلايا على الشريحة. حوالي ٢٠٠ ميكرو من العينة يتم شفطها عن طريق ماصة مخفّفة داخل الجهاز built-in ومنحها إلى وحدة شرائح ثلاثية (1x3) معيارية بأبعاد ٢٥ في ٧٥ ميليمتر موسَّمة مسبقاً وموضوعة في وحدة تدوير شرائح. سوف تدور الشريحة تحت دوران بطيء ٣٢٠٠ د/د لمدة ٠,٦ ثانية وتتوقف.

وبينما تدور الشريحة تُغسل الماصة آلياً لمنع نقل العينة carry over. سرعة التدوير البطيئة وقصر زمن التدوير يساعدان في إبداع شرائح عالية الجودة باتساق مع مورفولوجية ممتازة وتوزع خلايا عشوائي. بعدها تُزال الشرائح باليد وتُؤخذ إلى وحدة تلوين الشرائح (استخدام لون Wright وملوِّن Ames Hema Tek الآلي يساعدان في ضمان ثبات اللطخات الملونة). وإذا كان ذلك ضرورياً فإن النظام يقوم آلياً بمعاوضة التغيرات الطبيعية في اللون. يتم بعد تلوين الشرائح تحميلها إلى مخزن. يراقب النظام المخزن ورقم الموضع لضمان تحديد صحيح لهوية المريض.

بعد التحميل تذهب الشرائح إلى جزء تحليل لطخات الدم الذي هو عبارة عن وحدة سطح مكتب مفتوح على شكل حرف L. ومن ضمن النظام هناك مجهر بقطعة عينية ثنائية بزاوية من أجل سهولة المراقبة من قبل المشغل وشاشات تلفزيون سهلة القراءة وجهاز معالجة إشارة.

يتم تحريك الشرائح المدخلة إلى محلِّل اللطخات على منصة مجهر ثنائي العينية (400x1.0N.A. Zeiss Optics) متلقية قطرة من الزيت من أجل العدسة الجسمية للمجهر من نوع الغمر عند تحركها من مؤخرة breech التحميل إلى المنصة. وبشكل آلي تتم مركزة الشريحة من أجل نظام التحليل الإلكتروني. يتم تقسيم الضوء من الشريحة المضاءة بين وحدة تمييز النمط الإلكتروني والقطعة العينية للمجهر من أجل الرؤية. تحرك منصة المجهر المتحركة الشريحة في نمط

مسح مبرمج إلى الوراء وإلى الأمام على مدى الشريحة. يتم إيقاف حركتها بناء على التعرف إلى خلايا بيضاء. وفي كل توقف يدرس النظام خلايا بيضاء وحمراء وصفيحات معزولة.

وبهذا فإن كل خلية بيضاء توجد تكون معزولة عن محيطها عن طريق مسح صورة إلكتروني وتقنيات رقمية. ومن هذه النقطة وما يليها يتسلم معالج صورة نوع (Golay Logic Processor) المهمة ويقوم بما مجمله ٥٠ قياساً على الخلايا البيضاء. هذه القياسات هي تلك الشائعة الاستعمال في الممارسة اليدوية (أي تقييم حجم الخلية ولون السيتوبلازما وعدد الفصوص النووية ... الخ). وعلى أساس هذه القياسات يتم التفريق بين خلايا الدم وعدها. وبينما يتم عدها فإن الخلايا البيضاء يتم تصنيفها كواحد من الأنواع العشر التالية:

١- خلايا صبوغة مقتطعة segmented.

٢- خلايا صبوغة مرتبطة (مقيدة) bonded.

٣- الخلايا أليفة الليفي الداخلي.

٤- الخلايا أليفة الأساس.

٥- خلايا حبيبية غير مكتملة.

٦- خلايا ليمفاوية.

٧- خلايا وحيدة النواة.

٨- خلايا ليمفاوية غير نمطية.

٩- الخلايا الذوابل.

١٠- خلايا أخرى (عموماً غريبة bizarre وعادة أقل من ١٪ من الخلايا التي يتم التحقق منها).

متاح في المطبوع النهائي أيضاً تخمين لعدد كريات الدم البيضاء في كل ميليمتر مكعب.

وفي نفس الوقت الذي تُدرس فيه الخلايا البيضاء فإن الخلايا الحمراء يتم عزلها وفحصها. حوالي ٢٠ قياساً يتم إجراؤه على كل خلية حمراء منفردة بحيث أنه يمكن تصنيف كريات الدم الحمراء حسب الشكل والبنية في خمس مجموعات أولية مع عدة تقسيمات فرعية:

١- خلايا دم حمراء بنواة: يتم الإفادة عنها كـ NRBCs لكل مئة خلية بيضاء.

٢- الخلايا الشاحبة (ناقصة اليحمور) hypochromic

٣- الخلايا متعددة الاصطباغ polychromatophilic

٤- توزع الحجم: المطبوع يشير إلى النسبة المئوية للخلايا الحمراء التي تكون صغيرة أو طبيعية أو كبيرة.

٥- الخلايا المشوهة mis-shaper. وهذه سوية مع الخلايا الحمراء الكروية spherocytes والخلايا المستهدفة تُجمع تحت مصطلح الخلايا الحمراء غريبة الشكل poikilocytes.

يتم فحص حجم الصفيحات وكفايتها. تتم الإفادة عن الصفيحات العملاقة كعدد لكل مئة كرية دم بيضاء بينما يعطى تعداد الصفيحات لكل ميليمتر مكعب. يتم تخمين كفاية الصفيحات كمنخفضة أو طبيعية أو مرتفعة.

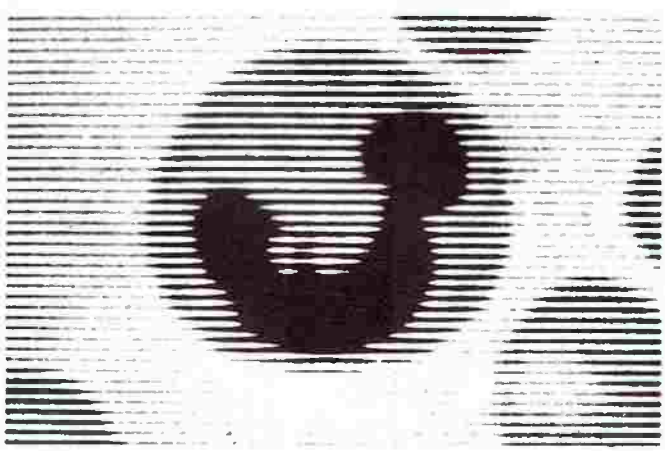
معالج الصورة: يستخدم النظام حاسوبين. حاسوب صغير (ميني كمبيوتر) للأغراض العامة يشغّل ويتحكم بالنظام ويجعله بشكل متأصل أكثر مرونة من الأنظمة التي تستخدم المنطق الموصل سلكياً (الثابت) hard-wired. الحاسوب الثاني حاسوب تعرُّف على الأنماط للأغراض الخاصة وهو معالج بمنطق غولاي Golay Logic Processor (Golay, 1969) يمكّن النظام من تحويل معلومات التعرف على نمط الخلية إلى نتائج تفريقية.

يمكّن منطق غولاي (Preston et al., 1979) النظام من أن "يرى" خلية ما تماماً بنفس الطريقة التي يراها بها التكنولوجي. فمثلاً هو يقيم في تصنيف الخلايا ذات النواة مساحة الخلية والمساحة النووية واللون النووي والتكتلات النووية واللون السيتوبلازمي واللون الحبيبي وتعداد الفصوص النووية وحوالي أكثر من ٣٥ قياس آخر. وبشكل مشابه يقوم النظام من أجل مورفولوجية الخلايا الحمراء بتقييم مساحة الخلية ومساحة الشحوب المركزي والكثافة البصرية لمجمل الخلية والتقعرات وعدم الانتظام في الشكل وحوالي ١٠ قياسات أخرى.

وفي قيامه بالتصنيف فإنه يضع الخلية ذات النواة في حقل أبعاده ٥٠ في ٥٠ ميكرومتر. يُمسح هذا الحقل كـ ٤٠٩٦ نقطة بيانات منفصلة تدعى عناصر الصورة. الفاصل بين نقاط البيانات هو ٠,٨ ميكرومتر. يُستخدم هذا المسح ذو دقة التمييز المنخفضة من أجل الضبط الآلي للتركيز الدقيق ولتأكيد أنه قد تم إيجاد خلية مناسبة وليس قذارة dirt أو فضلات debris. بعدها يتم التبديل أوتوماتيكياً إلى دقة تمييز أعلى ويتم مسح حقل أبعاده ٢٥ في ٢٥ ميكرومتر وفحص ٤٠٩٦ نقطة بيانات أخرى بدقة تمييز ٠,٥ ميكرومتر. ويحمل كل عنصر صورة ممثل نقطة بأبعاد ٠,٤ في ٠,٤ ميكرومتر عدداً رقمياً يمثل كثافتها البصرية عند طولي موجة مختلفين. ويتم تخزين هذه الصورة في ذاكرة الحاسوب (الشكل رقم ((أ) ١٦,١١)).

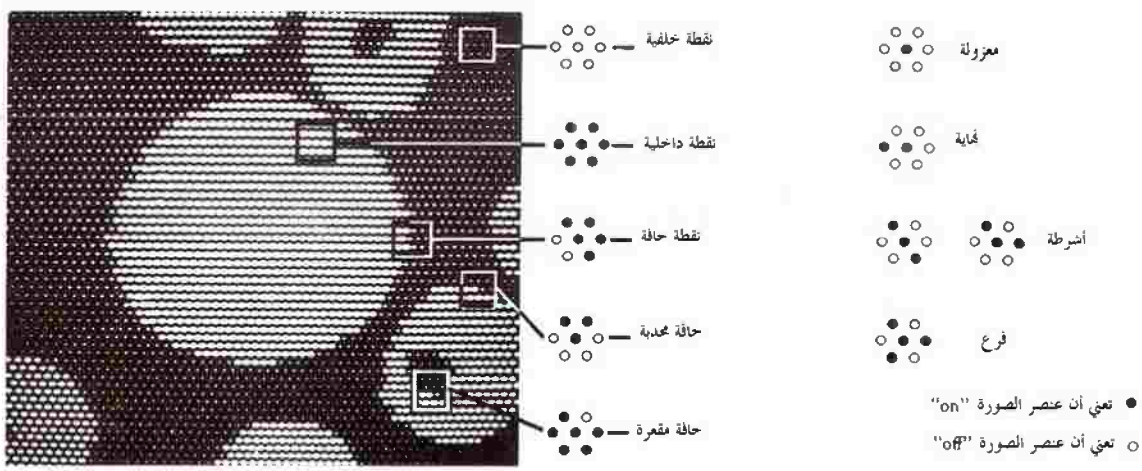
تتم معالجة محتويات الذاكرات الفيديوية بواسطة حاسوب التعرُّف على الأنماط للأغراض الخاصة والذي يتفحص هذه الصور. تبدأ العملية بتوليد صور مبسَّطة منفصلة لأجزاء منفصلة للخلية مثل سيتوبلازما النواة والحبيبات ... الخ. يتم عمل الصور بتطبيق مبدأ أن عناصر الصورة ذات نفس الإرسال transmission تقريباً تكون على الأغلب متموضعة في نفس الأجزاء من الخلية.

فمثلاً جميع عناصر الصورة الغامقة جداً والتي لها قيم إرسال منخفضة عند طول موجة معين تكون على الأغلب في النواة وهكذا دواليك. كل عنصر صورة يتم بعدها "فصله off" أو "وصله on" عندما يقع ضمن مجال كثافة بصرية تحت الفحص. تشبه الصور الناتجة رسم خطوط رئيسية line drawings أو صور ظليلة silhouettes لأجزاء من الخلية.



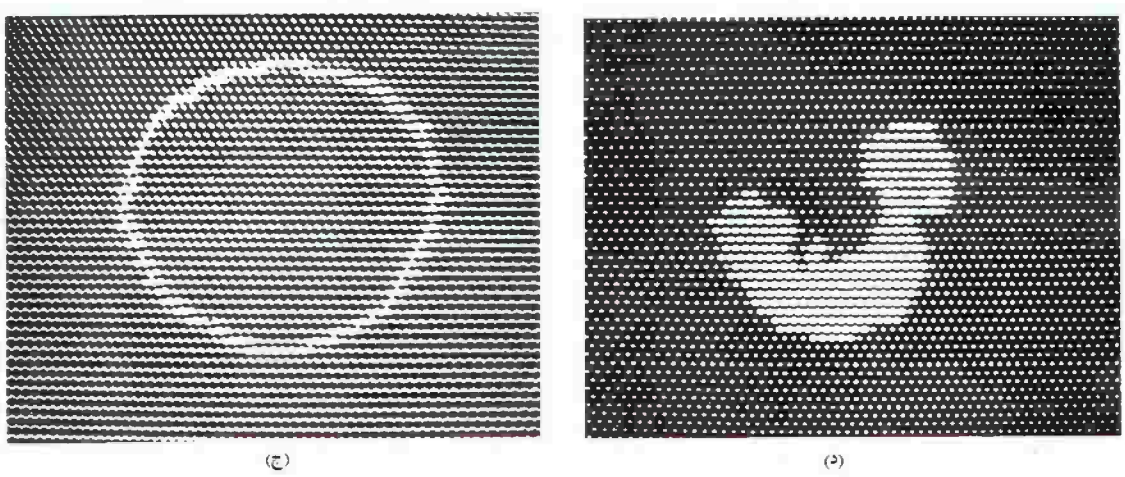
الشكل رقم ((أ),١٦,١١). صورة خلية صبوغة رابطة والخلايا الحمراء المحيطة كما تحفظ في ذاكرة صورة فيديوية.

يتفحص المعالج المنطقي حالة "الوصل on" و"الفصل off" لكل عنصر صورة وجيرانه الستة الأقرب إليه عند مستويات كثافة بصرية عديدة. وبهذه الطريقة يعيد بناء الصورة التي تم مسحها من أجل تحديد الهوية. فمثلاً سيتم الحكم على نقطة ما بأنها "نقطة داخلية" إذا ما تم إقرار أن النقطة وجيرانها الستة الأقربين أيضاً "on". ومن أجل نقطة الخلفية فسيتم الحكم على النقاط السبعة جميعها بأنها "off". يتم التعرف على النقطة التي على الحافة على أنها مزيج من نقاط "on" و "off". وككل هناك ١٤ تجميع ممكن لتعريف عناصر مثل حواف محدبة وحواف مقعرة وخيوط وفروع ونقاط نهاية (الشكل رقم ((ب),١٦,١١)).



الشكل رقم ((ب),١٦,١١).أمثلة لنقاط يتم التعرف عليها بمعالج منطق غولاي.

يمكن للمعالج أن يتفحص الخطوط الخارجية لخلية بـ "وصل" نقاط الحافة للسيتوبلازما فقط. الصورة الممثلة في الشكل رقم ((ج),١٦,١١) ستكون النتيجة. وبـ "وصل" النقاط الداخلية للنواة فقط فستكون النتيجة هي الشكل رقم ((د),١٦,١١). وبعزله لخلية وحيدة يقوم المعالج بتقييم نواة وسيتوبلازما الخلية فيما يخص الشكل واللون والنسيج وعناصر أخرى.



الشكل رقم ((ج)١٦,١١). خط خارجي لخلية كاملة يتم عمله بـ. "وصل" نقاط الحافة فقط في صورة لكامل الخلية. (د) صـ. ورة للـ. واة مقتطعة بـ. "وصل" النقاط الداخلية للنواة فقط.

وبالإضافة إلى التفحص الكلي لكل خلية فإن على المعالج أيضاً أن يضمن أنه يتم في كل مرة تقييم خلية واحدة فقط. وتُستخدم أيضاً قياسات مساحة الخلية واللون النووي ... الخ في معادلات رياضية لتقرير نوع الخلية الموجودة. يتم إجراء المقارنات على كل خلية وهناك حاجة لعدد من الشروط المطلوبة قبل أن يتم التصنيف في أي فئة. وإذا لم تستوف أي فئة عدداً كافياً من الشروط فسيتم تصنيف الخلية على أنها "أخرى". وهذا يمكن أن يحدث مع بعض التكرار في العينات الشاذة ولكنه يحدث بين الفينة والأخرى فقط في العينات الطبيعية.

وفي كل خطوة مراقبة يبين الجهاز الخلية التي تتم دراستها على شاشة تلفزيون تماماً كما لو أن التكنولوجي ينظر في مجهر في نفس الوقت. كما أن نتائج الفحوصات يتم بيانها بعد إتمام التحليل على شاشة التلفزيون. تتم طباعة النتائج النهائية على ثلاث نسخ على بطاقة بأبعاد ٨ في ٢٢,٥ سنتيمتر.