

مقایسه شمارش خودکار با شمارش دستی نوتروفیل‌ها در تشخیص پریتونیت باکتریال خود به خودی

علی راعی عزآبادی^{۱*}، امیرحسین میر افضل^۲، نرگس خانجانی^۳، محمدمهدی حیات بخش عباسی^۴

چکیده

مقدمه: پریتونیت باکتریال خود به خودی (SBP) یک عارضه شایع در بیماران با سیروز و آسیت است که مرگومیر داخل بیمارستانی بالایی، حتی با انجام اقدامات درمانی، دارد. تشخیص این بیماری با نوتروفیل بیشتر یا مساوی ۲۵۰ در هر میلی‌لیتر مایع آسیت مسجل می‌شود. شمارش نوتروفیل‌ها به صورت دستی دشوار، زمان‌بر و هزینه‌بر است و در بسیاری از موارد وابسته به فرد است؛ در مقابل روش شمارش خودکار روشی آسان‌تر، سریع‌تر و بسیار ارزان‌تر است که به پزشک اجازه می‌دهد تا به سرعت درمان را شروع کند. هدف از این مطالعه مقایسه نتیجه نوتروفیل شمارش شده به روش‌های شمارش خودکار و دستی، در مایع آسیت در افراد مشکوک به پریتونیت باکتریال خود به خودی است.

روش بررسی: این مطالعه از نوع بررسی تست‌ها است و نمونه‌گیری به روش نمونه‌گیری آسان در طول یک سال از بیماران مشکوک به SBP که به اورژانس دو بیمارستان شهر کرمان مراجعه کردند انجام گرفت. از ۵۲ بیماری که به مطالعه وارد شدند مایع آسیت کشیده شد و به آزمایشگاه جهت کشت و شمارش نوتروفیل با دو روش سنتی دستی و خودکار (با استفاده از دستگاه) ارسال شد. کشت خون هم‌زمان و شمارش WBC خون وریدی نیز انجام شد.

در شمارش خودکار و دستی تشخیص SBP با نوتروفیل ≤ 250 cells/mm³ گذاشته شد. حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و ارزش اخباری منفی روش شمارش خودکار محاسبه و نتایج مثبت و منفی هر دو روش با استفاده از تست‌های آماری مقایسه گردید. نتایج: میانگین نوتروفیل شمارش شده به روش خودکار و دستی به ترتیب ۴۰۷ و ۴۰۶ بود که تفاوت معنی‌داری نشان نداد ($p < 0.001$). تشخیص SBP بر اساس تعداد نوتروفیل به صورت فرد به فرد به دو روش خودکار و دستی مقایسه شد و همبستگی بین دو روش مشاهده شد ($\text{Kappa}=0.653$, $\text{Pearson correlation}=0.989$).

حساسیت و ویژگی شمارش دستی نوتروفیل‌ها به ترتیب ۸۴/۶۱ و ۸۰/۷۶ درصد و ارزش اخباری مثبت و ارزش اخباری منفی این تست نیز به ترتیب ۸۱/۴۸ و ۸۴ درصد برآورد شد.

نتیجه‌گیری: مطالعه حاضر نشان می‌دهد شمارش خودکار نوتروفیل‌ها در مایع آسیت می‌تواند جایگزین مناسبی برای روش شمارش دستی باشد. با توجه به تعداد کم مطالعات انجام شده در این حوزه، قضاوت قطعی منوط به انجام مطالعات بیشتر با حجم نمونه بالا، دستگاه‌های متفاوت و در نظر گرفتن شرایط انسانی در شمارش دستی می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: پریتونیت باکتریال خودبه‌خودی، شمارش دستی نوتروفیل، شمارش خودکار نوتروفیل

۱- دستیار تخصصی، گروه طب اورژانس، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان

۲- استادیار، گروه طب اورژانس، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان

۳- استادیار، گروه اپیدمیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی کرمان

۴- استادیار، گروه داخلی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان

* (نویسنده مسئول): تلفن: ۰۹۱۳۱۵۸۹۴۴۸، پست الکترونیکی: ali_raee@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۷/۱۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۳/۱۵

مقدمه

دستی است (۴)؛ از جمله این اشتباهات، خطا در تمایز نوتروفیل‌های segmented و نوتروفیل‌های باند و سلول‌های خونی پاتولوژیک است (۱۰) همچنین زمان‌بر و هزینه‌بر است و همیشه در دسترس نیست (۱۱، ۱۲).

از معایب روش شمارش خودکار، دقت پایین آن در تعداد پایین PMN است (۵) همچنین تفاوت‌های بین آزمایشگاهی در diff کردن دیده شده است؛ که به علت تفاوت در ماده خون مصنوعی (synthetic blood material) بکار رفته است. این مشکل را باید با استانداردسازی این ماده رفع نمود تا برای همه شمارشگرهای خودکار سلول خونی سازگار باشد (۱۰).

روش شمارش خودکار روشی قابل اعتماد، آسان‌تر، سریع‌تر، بسیار ارزان‌تر و (شاید) دقیق‌تر در شمارش PMN در اختیار ما می‌نهد (۱۴، ۱۳، ۱۱، ۵). تشخیص SBP باید طی ۱ تا ۴ ساعت از ورود بیمار به اورژانس گذاشته شود (۵). این روش به پزشک اجازه می‌دهد تا سریعاً درمان را شروع کند یا آنتی‌بیوتیک کنونی را تغییر دهد (۱۱). تأخیر در تشخیص و در نتیجه شروع درمان تجربی، شانس حیات بیمار را کاهش می‌دهد (۱۵، ۵). از دیگر فواید شمارش خودکار، در دسترس بودن آن، به طور روتین، در آزمایشگاه‌ها (مثلاً شب‌ها و آخر هفته‌ها) است (۱۱).

عجیب است که چنین موضوع مهم و قاطعی در تشخیص SBP برای زمانی طولانی توسط بسیاری از آزمایشگاه‌ها مغفول مانده است و علیرغم وجود شواهد (که ذکر خواهد شد) به استفاده از روش دستی قدیمی ادامه داده‌اند (۹).

نظر به کاستی‌های روش دستی (همچون دشوار بودن، وابستگی به فرد انجام دهنده، زمان‌بری و پرهزینه بودن) و فواید متعدد روش خودکار (همچون سهولت، سرعت بالا، ارزان و در دسترس بودن) انجام مطالعه ما ضروری به نظر می‌رسد؛ تا در صورت معتبر شناخته شدن روش خودکار جایگزین روش دستی در تشخیص SBP گردد.

هدف از این مطالعه مقایسه نتیجه نوتروفیل شمارش شده به روش‌های شمارش خودکار و دستی، در مایع آسیت در افراد مشکوک به پریتونیت باکتریال خود به خودی است.

پریتونیت باکتریال خود به خودی (spontaneous bacterial peritonitis, SBP) یک عارضه شایع در بیماران با سیروز و آسیت است (۱). طبق تعریف SBP یک عفونت حاد باکتریال مایع آسیت در بیمار با بیماری کبدی، بدون کانون عفونت داخل شکمی یا خارجی قابل رفع با جراحی است (۶-۱).

گرچه بیماری اغلب در سیروز الکلی رخ می‌دهد، ولی می‌تواند در هر بیمار با آسیت ثانویه به سیروز روی دهد. ارگانیسم‌های گرم منفی روده‌ای، در صدر آن‌ها Escherichia coli، شایع‌ترین ارگانیسم در SBP هستند. علائم بالینی متغیر است و طیفی وسیع، از شروع حاد درد شکمی، تب، لرز و ناپایداری همودینامیک تا ناراحتی شکمی با شروع آهسته یا تب خفیف یا انسفالوپاتی کبدی را در بر می‌گیرد (۲). تشخیص بالینی SBP بدون پاراسنتز کافی نیست (۵).

تشخیص با کشت مایع آسیت و $PMN \geq 250 \text{ cells/mm}^3$ گذاشته می‌شود (۵)؛ ولی تصمیم برای درمان نمی‌تواند تا زمان آماده شدن نتایج کشت به تعویق بیفتد (۹، ۶، ۲). همچنین بعضی، کشت مثبت را برای تشخیص الزامی نمی‌دانند چون حساسیت کشت به علت تعداد کم باکتری در مایع آسیت، پایین (حدود ۷۰-۵۰٪) است (۶، ۱).

شمارش نوتروفیل (polymorphonuclear leukocyte, PMN) در مایع آسیت مفیدترین تست در تشخیص SBP است (۸، ۷، ۱) و هنگامی که نوتروفیل برابر یا بیشتر از 250 cells/mm^3 باشد و بالین بیمار با عفونت مایع آسیت همخوانی داشته باشد باید درمان با آنتی‌بیوتیک تجربی بلافاصله شروع شود و سپس بر اساس آنتی‌بیوگرام تنظیم گردد (۳-۱، ۶).

مرگ‌ومیر داخل بیمارستان یک اپی‌زود (حمله) SBP بالاست و با درمان، ۴۰-۲۰٪ (تقریباً به اندازه واریس مری) است (۶، ۱). روش دستی (با استفاده از روش هماتولوژیک سنتی و Bucker chamber) دشوار است و در بسیاری از موارد subjective (وابسته به فرد) است (۹). دقت این روش به طور کلی وابسته به مهارت و علاقه تکنیسین آزمایشگاه است (۵) و اگر کنترل کیفی نشده باشد در معرض اشتباهات انسانی معمول در همه تست‌های

روش بررسی

این مطالعه از نوع «بررسی تست‌ها» است و نمونه‌گیری به روش نمونه‌گیری آسان (convenience sampling) در شیفت‌های کاری پژوهشگر انجام گرفت. جامعه مورد مطالعه شامل افراد مبتلا به آسیت شکمی که از نظر بالین مشکوک به SBP بودند می‌شد. وجود درد و تندرns شکم و یا تب دار بودن در یک بیمار مبتلا به آسیت احتمال SBP را از نظر بالینی مطرح می‌سازد.

با توجه به رفرنس‌های ۱۶ و ۱۷ که نزدیک‌ترین مطالعات بکار ما بودند و به ترتیب ۵۲ و ۷۰ نمونه را مورد بررسی قرار داده‌اند حداقل حجم نمونه ۵۲ نفر تعیین شد.

در این افراد، پس از کسب شرح حال، معاینه فیزیکی و اخذ رضایت آگاهانه از بیمار برای شرکت در مطالعه، ۳۰-۲۰ سی‌سی از مایع آسیت با سوزن شماره ۲۰ تحت شرایط استریل و بدون گاید سونوگرافی از یکی از ۳ محل استاندارد (خط وسط زیر ناف، سمت راست و یا سمت چپ شکم ۵ سانتی‌متر بالای ستیغ خاصره‌ای قدامی فوقانی (ارجح) (۵) کشیده شد و حداقل ۱۰ سی‌سی از آن بلافاصله داخل بطری کشت خون ریخته می‌شد و به آزمایشگاه جهت کشت ارسال می‌گردید (این روش بهینه کشت مایع آسیت است) (۱،۴،۵). ارسال سرنگ یا لوله حاوی مایع آسیت (AF) برای کشت حساسیت کشت را بسیار کاهش می‌دهد چون SBP مثل باکتری می‌کشد عفونت مونومیکروبی با تعداد کلونی پایین است (۵).

بلافاصله پس از پاراستنز سرسوزن (needle) با سرنگ از شکم بیرون کشیده می‌شد، سرسوزن جدا و با سرسوزن استریل جایگزین می‌شد تا رشد فلور پوستی به حداقل برسد (۵). کشت خون هم زمان نیز انجام می‌شد (۱). در دو لوله حاوی EDTA (با درپوش بنفش)، هرکدام ۲ تا ۵ سی‌سی از مایع فرستاده می‌شد تا شمارش تعداد کلی WBC و differential (نوتروفیل) با روش سنتی دستی (چشمی و زیر میکروسکوپ نوری، با بزرگنمایی ۴۰) و نیز با روش خودکار (در هر دو مرکز با استفاده از دستگاه cell counter مدل Sysmex KX-21N، تولید سال ۲۰۰۸) به صورت stat انجام شد. تعداد مطلق PMN با ضرب درصد آن در تعداد کل WBC (تعداد کل سلول‌های هسته‌دار) به دست

می‌آمد. اگر آزمایشگاه diff گسترده (extended differential) انجام می‌داد، یعنی باند یا حتی فرم‌های اولیه‌تر PMN را جدا می‌کرد این اعداد با درصد PMN جمع شدند (۵). ارسال نمونه در لوله بدون ضد انعقاد سبب کاهش WBC شمارش شده می‌گردد (۲۲) پنج سی‌سی از خون وریدی نیز برای شمارش WBC ارسال گردید.

رنگ‌آمیزی گرم برای تشخیص SBP بسیار غیرحساس است و نیز میزان مثبت کاذب بالایی نیز دارد و در این پژوهش انجام نشد (۵). همه نمونه‌هایی که مورد شمارش دستی قرار گرفت صرفاً توسط دو تکنیسین باتجربه و متبحر آزمایشگاه (در هر مرکز یک نفر) انجام شد تا خطا و تفاوت فردی به حداقل برسد.

افراد مورد مطالعه از مبتلایان به آسیت شکمی انتخاب شدند که در طول یک‌سال از دی ماه ۹۲ لغایت آذرماه ۹۳ به اورژانس بیمارستان‌های افضل‌پور و باهنر کرمان مراجعه کردند و از نظر بالین احتمال SBP در آن‌ها وجود داشت. افرادی که این شرایط را داشتند از مطالعه حذف شدند (exclusion criteria): بیمارانی که هر منشأ دیگری برای عفونت یا تب در طول دوره بستری برایشان تشخیص داده شود یا در نتیجه کشت مایع آسیت چند ارگانیزم هم‌زمان رشد کند و نیز آن‌هایی که بیمارانی که در چهار هفته گذشته آنتی‌بیوتیک مصرف کرده‌اند از مطالعه خارج شدند.

در مجموع ۵۲ بیمار با میانگین سنی ۶۱/۶۲ سال (با طیف سنی ۳۴ تا ۹۱ ساله و با انحراف معیار ۱۲/۳۶ سال) مورد بررسی مایع آسیت و سایر آزمایش‌ها قرار گرفتند. از این تعداد ۳۰ نفر (۵۷/۶۹٪) مرد و ۲۲ نفر (۴۲/۳۱٪) زن بودند. کسانی که کشت مایع آسیت آن‌ها برای یک نوع باکتری مثبت شود و نیز در شمارش دستی نوتروفیل مایع آسیت آن‌ها ≥ 250 cells/mm³ باشد، به عنوان استاندارد طلایی تشخیص، مبتلا به SBP در نظر گرفته می‌شوند (۴). در شمارش خودکار و دستی تشخیص SBP با نوتروفیل ≥ 250 cells/mm³ گذاشته شد. حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و ارزش اخباری منفی روش شمارش خودکار محاسبه گردید. همچنین نتایج مثبت و منفی هر دو روش بالا در تشخیص SBP، با استفاده از تست‌های آماری (همبستگی

(با انحراف معیار ۴۱۷) بود که تفاوت معنی‌داری نشان نمی‌دهد ($P < 0.001$).

بر اساس شمارش نوتروفیل‌ها به روش خودکار ۵۱/۹۲٪ (۲۷ از ۵۲) و به روش دستی ۵۰٪ (۲۶ از ۵۲) بیماران به پریتونیت باکتریال خودبه‌خودی دچار بودند. بر اساس تفسیر نتیجه شمارش نوتروفیل به صورت فرد به فرد نیز همبستگی بین دو روش خودکار و دستی مشاهده شد ($Kappa=0.653$, Pearson correlation=0.989) (جدول ۱).

جدول ۱: نتایج شمارش نوتروفیل‌های مایع آسیت به روش دستی و خودکار

نتیجه تست بر اساس شمارش دستی

	+	-	کل
نتیجه تست بر اساس شمارش خودکار	۲۲	۵	۲۷
	۴	۲۱	۲۵
کل	۲۶	۲۶	۵۲

سابقه آسیت در ۷۸/۸۵٪ (۴۱ بیمار) وجود داشت که میانگین دوره ابتلا ۱۹/۲۷ ماه (با انحراف معیار ۲۳/۴۸ ماه) بود. علل آسیت به ترتیب شیوع، سیروز (۴۶/۱۵٪)، کانسر (۲۳/۰۸٪)، نارسایی احتقانی قلب (۹/۶۲٪)، بیماری کلیوی مرحله پایانی (ESRD) (۷/۶۹٪) و سایر علل شامل سندروم نفروتیک، هیپاتیت مزمن، توبرکلوزیس، پانکراتیت مزمن و کارسینوماتوز صفاق (هرکدام کمتر از پنج درصد) بودند (جدول ۲).

۲۵٪ بیماران (۱۳ بیمار) سابقه پریتونیت باکتریال خودبه‌خودی مثبت داشتند.

جدول ۲: علل آسیت در جمعیت مورد مطالعه

علت آسیت	تعداد	درصد
سیروز	۲۴	۴۶/۱۵
کانسر	۱۲	۲۳/۰۸
نارسایی احتقانی قلب	۵	۹/۶۲
نارسایی کلیه	۴	۷/۶۹
سندرم نفروتیک	۲	۳/۸۵
هیپاتیت مزمن	۲	۳/۸۵
کارسینوماتوز صفاق	۱	۱/۹۲
توبرکلوزیس	۱	۱/۹۲
پانکراتیت مزمن	۱	۱/۹۲
کل	۵۲	۱۰۰

محاسبه Kappa، ضریب همبستگی [Pearson correlation] و P-value در نرم‌افزار SPSS-20 مقایسه گردید.

نتایج

در این مطالعه ۵۲ بیمار با میانگین سنی ۶۱/۶۲ سال (با انحراف معیار ۱۲/۳۶ سال) مورد بررسی مایع آسیت و سایر آزمایش‌ها قرار گرفتند. از این تعداد ۳۰ نفر (۵۷/۶۹٪) مرد و ۲۲ نفر (۴۲/۳۱٪) زن بودند. میانگین نوتروفیل شمارش شده به روش خودکار ۴۰۷ (با انحراف معیار ۹۴۱) و به روش دستی ۴۰۶

حساسیت و ویژگی شمارش دستی نوتروفیل‌ها به ترتیب ۸۴/۶۱٪ و ۸۰/۷۶٪ بود. ارزش اخباری مثبت (PPV) و ارزش اخباری منفی (NPV) این تست به ترتیب ۸۱/۴۸٪ و ۸۴٪ بود. میانگین گلبول سفید خون محیطی بیماران ۵۶۳۷ (با انحراف معیار ۳۱۳۳) بود. کشت خون در شش بیمار (۱۱/۵۴٪) مثبت شد که نتیجه کشت در پنج بیمار *Escherichia coli* و در یک بیمار *Streptococcus faecalis* بود. کشت مایع آسیت در ۱۳ مورد (۲۵٪) مثبت شد؛ که در نه مورد *E.coli*، در سه مورد *Streptococcus faecalis* و در یک مورد *Aeromonas liquefaciens* بود.

بحث

۹۵/۵٪) و می‌توان آزمایش بیشتری برای تشخیص SBP انجام داد. با این حال در این مطالعه توصیه شده است در صورت عدم قطعیت بالینی، می‌بایست تست‌های آزمایشگاهی استاندارد هم انجام شود (۸).

حساسیت و ویژگی و ارزش اخباری مثبت و منفی در مطالعه ما هرچند قابل قبول، ولی کمتر از مطالعات فوق‌الذکر به دست آمد؛ که می‌تواند ناشی از تفاوت دستگاه‌های مورد استفاده در شمارش سلول‌ها باشد.

در مطالعه‌ای، به علت اختلاف (discrepancy) در شمارش سلول به دو روش دستی و خودکار، مرز (cut off) پایین‌تری (عدد ۲۰۰) برای شمارش خودکار در تشخیص SBP توصیه شده است. اخیراً استفاده از نوارهای واکنشگر (reactive strips or reagent strips) برای تشخیص سریع SBP مطرح شده‌اند. مثلاً تست نواری لکوسیت استراز روش سریعی برای تشخیص SBP در کنار تخت بیمار (bedside) فراهم می‌کند (۱۵). با این حال در مطالعه‌ای بزرگ و چندمرکزی کارایی تست نواری ادراری در تشخیص و غربالگری SBP رد شده است (۱۱).

در مطالعه‌ای بر روی ۲۵۰ پاراسنتز انجام شده، روش شمارش خودکار و نوارهای واکنشگر برای تشخیص SBP مقایسه شد. روش شمارش خودکار تست غربالگری بهتری در تشخیص SBP بود چون validity score بالاتر و میزان منفی کاذب پایین‌تری دارد (۱۲). نوارهای واکنشگر حساسیت پایین‌تری نسبت به شمارش PMN در تشخیص SBP دارند (۱). گرچه مطالعات ارزیابی روش خودکار به عنوان روش تشخیصی محدود است ولی بسیار امیدوارکننده است (۱۱).

مطالعاتی نیز جهت مقایسه روش شمارش دستی با شمارش اتوماتیک WBC و انواع آن (differential) در سایر مایعات بدن انجام گرفته است:

تفاوت PMN شمارش شده به روش دستی و خودکار در خون محیطی اندک است و روش شمارش خودکار به عنوان تست غربالگری در آزمایشگاه بسیار مفید است؛ چون دقت (precision) و صحت (accuracy) بالایی برای نمونه‌های نرمال دارد. با این

نتایج مطالعه ما نشان داد که بین دو روش شمارش خودکار و دستی نوتروفیل، نه از نظر میانگین نوتروفیل شمارش شده و نه از نظر تفسیر این عدد به عنوان تشخیص ابتلا یا عدم ابتلا به SBP، تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. این نتایج با نتایج چند مطالعه قبلی مطابقت دارد:

در مطالعه Angeloni و همکاران که بر روی ۱۳۰ نمونه مایع آسیت که از ۷۴ بیمار سیروتیک به صورت متوالی جمع‌آوری شد، محققان دریافتند که روش دستی و خودکار شمارش PMN تطابق خوبی در تشخیص SBP دارند و شمارشگر خودکار سلول‌های خونی یک روش قابل اتکا برای تشخیص سریع SBP است. روش خودکار از حساسیت ۹۴٪، ویژگی ۱۰۰٪، ارزش اخباری مثبت و منفی ۱۰۰٪ و ۹۹/۱٪ برخوردار بود (۳،۷،۱۶).

Riggio و همکاران در مطالعه بر روی ۱۱۲ نمونه مایع آسیت از ۵۲ بیمار سیروتیک متوالی که ۱۶ تای آنها مبتلا به SBP بودند، شمارشگر خودکار، حساسیت ۱۰۰٪ و ویژگی ۹۷/۷٪ در تشخیص SBP و حساسیت ۹۱٪ و ویژگی ۱۰۰٪ در ارزیابی درمان آنتی‌بیوتیکی داشت. دو روش دستی و خودکار، تطابق کاملی در تشخیص رفع عفونت داشتند. در نتیجه شمارشگرهای اتوماتیک نه تنها دقت تشخیصی بالایی داشتند، بلکه در پایش درمان آنتی‌بیوتیکی و زمان بهبودی هم بسیار مؤثر بودند (۱۷).

مطالعه Cerato و همکاران نیز حساسیت و ویژگی بالای این روش را نشان داد (۱۸). در مطالعه Paris و همکاران، همخوانی (correlation) بالایی بین روش‌های خودکار و دستی در شمارش سلول‌های مایع آسیت و در کل مایع پریتونیل وجود داشت (۲۴).

Link و همکاران در مطالعه‌ای بر روی ۶۱۱ پاراسنتز متوالی از ۱۷۹ بیمار مبتلا به آسیت به هر دلیل (سیروز، کارسینوم هپاتوسلولار، کارسینوماتوز پریتونیل و سایر علل) از شمارش خودکار WBC برای کنار گذاشتن SBP در بیماران آسیتی استفاده کردند. مشاهده شد که اگر سلول‌های هسته‌دار شمارش شده توسط دستگاه کمتر از ۱/۰g/L باشد، ریسک کمی برای miss کردن تشخیص SBP وجود دارد (ارزش اخباری منفی

روش شمارش دستی باشد. با توجه به تعداد کم مطالعات انجام شده در این حوزه، قضاوت قطعی منوط به انجام مطالعات بیشتر با حجم نمونه بالا و دستگاه‌های متفاوت و در نظر گرفتن شرایط انسانی در شمارش دستی است.

از کاستی‌های مطالعه حاضر به نکات زیر می‌توان اشاره کرد: به علت تفاوت تعداد بیماران اورژانس در ساعات مختلف روز، مدت زمان گرفتن نمونه تا خواندن آن زیر میکروسکوپ متفاوت بود. با توجه به عمر کم نوتروفیل‌ها هرچه این زمان کوتاه‌تر باشد دقت تشخیصی بالاتر خواهد بود.

حساسیت با افزایش مقدار مایع کشت داده شده افزایش می‌یابد (مثلاً حساسیت در کشت ۱۰ تا ۲۰ میلی‌لیتر ۹۳٪ و در کشت یک میلی‌لیتر ۵۳٪ بوده است) (۵). جهت کاهش تأثیر این موضوع، باید در همه افراد مورد مطالعه مقدار معین و ترجیحاً بالایی از مایع آسیت برای کشت استفاده شد.

هر دو روش دستی و خودکار پیش از بکارگیری نیاز به کنترل کیفیت دارند (۱۰) که در حال حاضر با توجه به امکانات موجود، برای مطالعه ما امکان‌پذیر نیست.

حال دستگاه قادر به تشخیص سلول‌های بلاست و نئوبلاستیک از سلول‌های تک هسته‌ای (مونونوکلوئر) نیست، پس اگر علت تومورال مطرح باشد باید از روش دستی شمارش بهره گرفت (۲۴، ۲۱-۱۹).

در مطالعه‌ای دیده شد تعداد کل WBC شمارش شده با روش خودکار و دستی، در مایع پلور، بسیار به هم نزدیک و در نتیجه قابل اعتماد است (۲۴-۲۲) ولی differential لکوسیت‌ها در مایع پلورال در روش اتوماتیک (خودکار) غیردقیق بود؛ که احتمالاً به علت مشکل بودن جداسازی نوتروفیل از مونوسیت و یا سلول مزوتلیال توسط دستگاه است (۲۲).

در مطالعاتی دیده شد شمارش خودکار WBC در مایع سینوویال نیز قابل اعتماد و اتکا است (۲۵، ۲۴، ۱۴، ۱۳). مطالعه بر روی مایع مغزی نخاعی (CSF) نیز نتایج مشابهی در پی داشت (۲۴).

نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر و چند مطالعه ذکر شده نشان می‌دهد شمارش خودکار نوتروفیل‌ها در مایع آسیت می‌تواند جایگزین خوبی برای

References:

1. Barreales M, Fernández I. [Spontaneous bacterial peritonitis.] Rev Esp Enferm Dig 2011; 103(5): 255-63.
2. Guss DA and Oyama LC. *Disorders of the Liver and Biliary Tract. In: Rosen's emergency medicine: concepts and clinical practice.* Marx J A, Hockberger R S, Walls R M. 7th ed. Elsevier; 2010: 1162.
3. Runyon BA; AASLD. *Introduction to the revised American Association for the Study of Liver Diseases Practice Guideline management of adult patients with ascites due to cirrhosis 2012.* Hepato 2013; 57(4): 1651-3.
4. Runyon BA. *Strips and tubes: improving the diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis.* Hepatology 2003; 37(4): 745-47.
5. Runyon BA. *Diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis In: UpToDate, Lindor KD.* (Ed), UpToDate, Waltham, MA, 2013.
6. Mowat C, Stanley AJ. *Review article: spontaneous bacterial peritonitis--diagnosis, treatment and prevention.* Aliment Pharmacol her 2001; 15(12): 1851-9.

7. Angeloni S, Nicolini G, Merli M, Nicolao F, Pinto G, Aronne T, et al. *Validation of automated blood cell counter for the determination of polymorphonuclear cell count in the ascitic fluid of cirrhotic patients with or without spontaneous bacterial peritonitis*. Am J Gastroenterol 2003; 98(8): 1844-8.
8. Link BC, Ziske CG, Schepke M, Schmidt-Wolf IG, Sauerbruch T. *Total ascitic fluid leukocyte count for reliable exclusion of spontaneous bacterial peritonitis in patients with ascites*. Eur J Gastroenterol Hepatol 2006; 18(2): 181-6.
9. Koulaouzidis A, Bhat S, Saeed AA. *Spontaneous bacterial peritonitis*. World J Gastroenterol 2009; 15: 1042-49.
10. Takubo T, Tatsumi N. *Quality control in a manual and an automated leukocyte differential count*. Southeast Asian J Trop Med Public Health 1999; 30 Suppl 3: 66-74.
11. Riggio O, Angeloni S. *Ascitic fluid analysis for diagnosis and monitoring of spontaneous bacterial peritonitis*. World J Gastroenterol 2009; 15(31): 3845-50.
12. Rerknimitr R, Limmathurotsakul D, Bhokaisawan N, Kongkam P, Treeprasertsuk S, Kullavanijaya P. *A comparison of diagnostic efficacies among different reagent strips and automated cell count in spontaneous bacterial peritonitis*. J Gastroenterol Hepatol 2010; 25(5): 946-50.
13. Salinas M, Rosas J, Iborra J, Manero H, Pascual E. *Comparison of manual and automated cell counts in EDTA preserved synovial fluids. Storage has little influence on the results*. Ann Rheum Dis 1997; 56(10): 622-6.
14. De Jonge R, Brouwer R, Smit M, de Frankrijker-Merkestijn M, Dolhain RJ, et al. *Automated counting of white blood cells in synovial fluid*. Rheumatology (Oxford) 2004; 43(2): 170-3.
15. Sapey T, Mena E, Fort E, Laurin C, Kabissa D, Runyon BA, et al. *Rapid diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis with leukocyte esterase reagent strips in a European and in an American center*. J Gastroenterol Hepatol 2005; 20(2): 187-92.
16. Runyon BA. *The evolution of ascitic fluid analysis in the diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis*. Am J Gastroenterol 2003; 98(8): 1675-7.
17. Riggio O, Angeloni S, Parente A, Leboffe C, Pinto G, Aronne T, et al. *Accuracy of the automated cell counters for management of spontaneous bacterial peritonitis*. World J Gastroenterol 2008 7; 14(37): 5689-94.
18. Cereto F, Genescà J, Segura R. *Validation of automated blood cell counters for the diagnosis of spontaneous bacterial peritonitis*. Am J Gastroenterol 2004; 99(7): 1400.
19. Parham DM, Ready R, Stine K, Quiggins C, Becton D, North P. *Comparison of manual and automated leukocyte counts for determination of the absolute neutrophil count: application to a pediatric oncology clinic*. Med Pediatr Oncol 2002; 38(3): 183-6.

20. Sugiuchi H, Ando Y, Manabe M, Nakamura E, Mizuta H, Nagata S, et al. *Measurement of total and differential white blood cell counts in synovial fluid by means of an automated hematology analyzer*. J Lab Clin Med 2005; 146(1): 36-42.
21. Takubo T, Tatsumi N. *Further evolution and leukocyte differential using an automated blood cell counter*. Rinsho Byori 1995; 43(9): 925-30.
22. Conner BD, Lee YC, Branca P, Rogers JT, Rodriguez RM, Light RW. *Variations in pleural fluid WBC count and differential counts with different sample containers and different methods*. Chest 2003; 123(4): 1181-7.
23. De Jonge R, Brouwer R, van Rijn M, van Acker BA, Otten HJ, Lindemans J. *Automated analysis of pleural fluid total and differential leukocyte counts with the Sysmex XE-2100*. ClinChem Lab Med 2006; 44(11): 1367-71.
24. Paris A, Nhan T, Cornet E, Perol JP, Malet M, Troussard X. *Performance evaluation of the body fluid mode on the platform Sysmex XE-5000 series automated hematology analyzer*. Int J Lab Hematol 2010; 32(5): 539-47.
25. Dieppe P, Swan A. *Automated counting of white blood cells in synovial fluid*. Rheumatology (Oxford) 2004; 43(9): 1201; author reply 1201-2.

Comparison of Automated Versus Manual Count of Neutrophils in Diagnosis of Spontaneous Bacterial Peritonitis

Ali Raei Ezzabadi (MD)*¹, Amir-Hoseyn Mir-Afzal (MD)², Narges Khanjani (PhD)³
 Mohammad-Mahdi Hayatbakhsh Abbasi (MD)⁴

^{1, 2} Department of Emergency Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran.

³ Department of Epidemiology, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran.

⁴ Department of Gastroenterology, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran.

Received: 5 June 2015

Accepted: 6 Oct 2016

Abstract

Introduction: Spontaneous bacterial peritonitis (SBP) is a prevalent complication in the patients with cirrhosis and ascites, which leads to high intrahospital mortality. Diagnosis is made when ascetic fluid neutrophils is ≥ 250 cells/mm³. Manual counting of neutrophils is time-consuming, technically difficult, expensive and in many cases individual-dependent. In contrast, automated counting is an easier, faster and much cheaper method, which enables earlier treatment. The objective of this study was comparing the automated vs. manual neutrophil counting in ascetic fluid in the patients suspected to have SBP.

Methods: Fifty two patients, clinically-suspected to SBP, were selected via convenience sampling in two emergency departments of Kerman city during one year. Their ascetic fluid neutrophils counted by conventional manual and automated (by cell counter) methods. Simultaneous ascetic and blood culture and peripheral WBC count were performed. SBP diagnosis was made when neutrophil count was ≥ 250 cells/mm³. Sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value of manual test were measured. Additionally, positive and negative results of these two methods were compared.

Results: Mean value of neutrophil count was 406 and 407 by automated and manual method, respectively; which showed no significant difference ($p < 0.001$). Correlation was detected between two methods based on interpretation of neutrophil count in each patient (Kappa=0.653, Pearson correlation=0.989). Sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value of manual test was 84.61%, 80.76%, 81.48% and 84%, respectively.

Conclusion: This study shows that automated neutrophil count can well substitute manual count. Considering the limited studies on this issue, definite judgment necessitates further studies with higher sample volumes, various devices and considering role of humanistic conditions on manual count.

Keywords: Spontaneous Bacterial Peritonitis; Automated Neutrophil Count; Manual Neutrophil Count

This paper should be cited as:

Ali Raei Ezzabadi, Amir-Hoseyn Mir-Afzal, Narges Khanjani, Mohammad-Mahdi Hayatbakhsh Abbasi. *Comparison of Automated Versus Manual Count of Neutrophils in Diagnosis of Spontaneous Bacterial Peritonitis*. J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2016; 24(9): 748-56.

*Corresponding author: Tel: 09131589448, email: ali_raei@yahoo.com