مقاله علمی وفنی

مهندس احسان درخشان نیا
derakhshannia@hotmail.com

اصول سل‌کانترهای هماتولوژی- بخش سوم

بررسی عوامل موثر در شمارش سل‌کانترهای امپدانسی

در این شماره، در ابتدا از نگاه و زاویه‌ای متفاوت نسبت به شماره قبل، اصول سل‌کانترهای امپدانسی را تشریح کرده سپس به بررسی عوامل موثر در شمارش این سل‌کانترها می‌پردازیم.

در شماره آینده روش‌های اپتیکال شمارش سلولی را بررسی خواهیم کرد.

امپدانس الکتریکی عمده‌ترین روش به‌کار گرفته شده در تحلیل‌گرهای مؤلفه‌های خونی (آنالیزرهای هماتولوژی) است. در این روش، سلول‌های خونی (ذرات بیولوژیک نارسانا) در یک رقیق کننده رسانای جریان الکتریکی (الکترولیت) معلق شده و سپس به داخل روزنه شمارش یک استوانه شیشه‌ای کشیده می‌شوند. در محفظه شمارش، یک جریان الکتریکی با فرکانس پایین یعنی جریان مستقیم (DC) بین الکترودهای خارجی که در دو طرف روزنه در الکترولیت معلقند، برقرار است. هنگامی‌که سلولی خونی از منطقه حساس روزنه عبور می‌کند، باعث تغییر ولتاژ الکتریکی شده و ایجاد یک پالس الکتریکی می‌کند که اندازه آن متناسب با حجم سلول است. در حقیقت نمونه خون کامل پس از آسپیره شدن (Aspiration) به داخل دستگاه، با یک رقیق کننده ایزوتونیک (محلول ایزوتون) مخلوط شده و به دو قسمت تقسیم می‌شود. اولین قسمت این خون به جایگاه شمارش اریتروسیت/ پلاکت رفته و قسمت دیگر پس از مخلوط شدن با معرف لیزکننده اریتروسیت‌ها، به جایگاه شمارش گلبول‌های سفید می‌رود. لازم به ذکر است که معرف لیزکننده (Lysing Reagent)، معرفی با خاصیت لیزکنندگی نسبی (Partial Lysis) است و در نتیجه‌ی اثر آن، لکوسیت‌ها در سه دسته کلی سلول‌های بزرگ (عمدتاً نوتروفیل‌ها)، سلول‌های متوسط (عمدتاً مونوسیت‌ها) و سلول‌های کوچک (عمدتاً لنفوسیت‌ها) جای می‌گیرد. این معرف گلبول‌های قرمز را به‌طور کامل تخریب می‌کند.

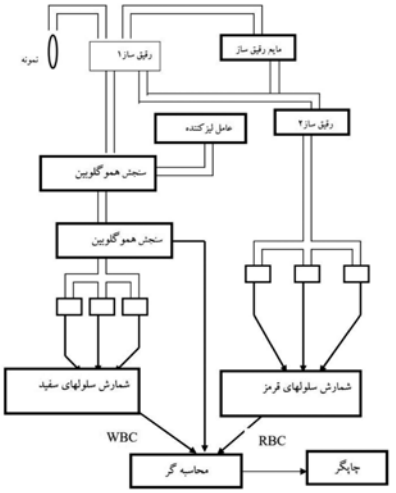
شکل شماره۱، شمای یک دستگاه کولتر نوعS را نشان می‌دهد.

نمونه مورد آنالیز، خونی است که ضد انعقاد شده است. ضد انعقادها موادی هستند که در مکانیزم لخته شدن خون دخالت کرده و از لخته شدن آن جلوگیری می‌کنند. در مرحله اول نمونه خونی، به‌طور خودکار وارد قسمتی از دستگاه می‌شود. سپس نمونه به نسبت ۱/۲۲٤ با یک محلولی که اسمولالیته آن تقریباً مشابه پلاسماست، حل می‌شود. نمونه مورد آنالیز در رقیق ساز اول ، رقیق شده و سپس یک قسمت نمونه رقیق شده به مخلوط‌کن (Mixer) و عامل لیز کننده (Lyzing Agent) و قسمت دیگر آن به رقیق ساز دوم می‌رود. عمل رقیق کردن و لیزکردن بدین شکل است که نمونه را برای اندازه گیری‌های هموگلوبین و گلبول‌های سفید آماده می‌کند. لیزکردن باعث شده که غشای گلبول‌های قرمز پاره شده و هموگلوبین آن به داخل محلول بریزد. برای لیزکردن گلبول‌های قرمز از محلول Drabkin که هموگلوبین را به سیانمت هموگلوبین (Cyanmethemoglobin) تبدیل می‌کند، استفاده می‌شود.

در مرحله بعد، نمونه از ظرف شمارش گلبول‌های سفید که همانند یک کووت است عبور کرده و در این مرحله شمارش گلبول‌های سفید شروع می‌شود. در اینجا برای شمارش سلول‌ها، یک پمپ خلاء توسط یک سوراخ، ورود مایع از ظرف شمارش گلبول‌های سفید را کنترل می‌کند. یک جریان ثابتی از الکترود E_1 عبور کرده و وارد ظرف شمارش گلبول‌های سفید و از آنجا وارد الکترود E_2 می‌شود و از دهانه (اپرچور) عبور می‌کند. هنگامی‌که هر گلبول سفید از روزنه عبور می‌کند حجمی برابر یک گلبول سفید را در محلول جابجا می‌کند. چون مقاومت خون بیشتر از مقاومت مایع بوده، بنابراین دو الکترود در مدار هستند و یک ولتاژی که اندازه آن متناسب و وابسته با حجم گلبول‌های سفید است، تولید می‌شود (شکل۲).

برای اندازه‌گیری دقیق مقادیر، از واحد شمارنده دیگری

به‌طور موازی در سیستم استفاده می‌شود. خروجی هر کدام از این مدارها، به یک آمپلی‌فایر متصل می‌شود که با تقویت ولتاژ آن، از یک مدار آستانه عبور می‌کند و سپس وارد یک مدار انتگرال دیگر می‌شود و یک ولتاژ مستقیم را که متناسب با شمارش گلبول‌های سفید است، تولید می‌کند. از آنجایی که غلظت گلبول‌های قرمز بیشتر از گلبول‌های سفید خون است، نمونه به نسبت ۱ به ۲۲۴ رقیق می‌شود. با توجه به شمارش گلبول‌های سفید و میانگین‌گیری از ولتاژ به دست آمده که متناسب با حجم گلبول‌های قرمز است، می‌توان تعداد گلبول‌های قرمز را به دست آورد.

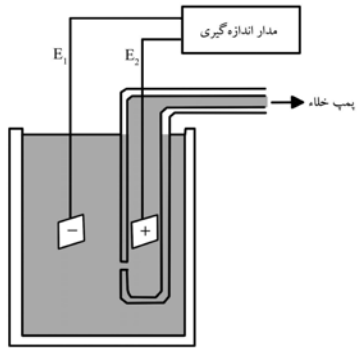


شکل۱. شمای کلی یک کولتر کانتر نوع S.

شمارش گلبول های قرمز و سفید، بر اساس اصولی که در شکل شماره۱ آمده است، در سه واحد شمارش به صورت موازی انجام می‌شود و متوسط این سه مقدار اندازه‌گیری شده گزارش می‌شود، مگر اینکه یکی از نتایج بیش از مقدار از پیش تعیین شده باشد و با دو نتیجه دیگر نیز متفاوت باشد که در چنین مواردی جواب اشتباه، حذف شده و متوسط دو نتیجه دیگر مورد قبول واقع می‌شود.

همانطورکه اشاره شد، این روش بر اساس اندازه‌گیری تغییرات در مقاومت الکتریکی بین دو الکترود مثبت و منفی پایه گذاری شده است. لازم به ذکر است که تغییرات در مقاومت الکتریکی بین دو الکترود، ناشی از عبور ذرات و سلول‌های خونی با اندازه‌های مختلف از روزنه بین الکترودهای مثبت و منفی است. الکترودها در زیر سطح محلول در دو طرف یک روزنه (اپرچور) قرار داده شده‌اند و تشکیل یک مسیر الکتریکی را می‌دهند.

در این روش، سلول‌ها در حین عبور از شکافی که جریان الکتریکی در آن برقرار است، تغییراتی در مقاومت الکتریکی پدید می‌آورند که به صورت ولتاژ، شمارش می‌شوند. همان‌طوری که در شکل شماره ۲ نشان داده شده است، سوسپانسیونی ازخون با غلظت دقیق در یک محلول هدایت کننده (نظیر ایزوتون که شکل سلول‌ها را حفظ می‌کند) ساخته می‌شود. این وسیله یک استوانه شیشه‌ای دارد که می‌توان آن را با مایع رسانای جریان الکتریکی پر کرد. در داخل آن یک الکترود (E_2) قرار دارد و روزنه‌ای به قطر ۱۰۰ میکرون در دیواره آن وجود دارد. در سمت خارج استوانه شیشه‌ای یک الکترود دیگر (E_1) قرار گرفته است . استوانه به یک لوله شیشه‌ای U–شکل متصل است که تا حدی با جیوه پر شده است و دو نقطه تماس الکتریکی دارد. استوانه شیشه‌ای در سوسپانسیون سلول‌هایی که باید شمارش شوند غوطه‌ور و از محلول هادی نیز پر می‌شود و دهانه آن توسط یک دریچه بسته می‌گردد. بدین ترتیب جریان از طریق روزنه، بین دو الکترود E_1 و E_2 بر قرار می‌شود. همزمان با حرکت رو به بالای جیوه در لوله، سوسپانسیون سلولی از میان روزنه به استوانه کشیده می‌شود. هر سلولی که از روزنه عبور می‌کند، یک حجم مساوی از مایع رسانا را جابجا می‌کند و از آنجایی که مقاومت آن بسیار بیشتر از محلول رساناست، مقاومت الکتریکی را بالا برده و یک پالس یا ولتاژ پدید می‌آورد. این پالس‌ها که از نظر ارتفاع با حجم سلولها متناسب هستند، شمارش می‌شوند.



شکل۲. قسمت اصلی الکترود اندازه‌گیری مؤلفه‌های خونی که بر اساس مقاومت الکتریکی کار می‌کند.

عوامل موثر در شمارش سل‌کانترهای امپدانسی

در برخی سل‌کانترها اپرچور ویژه شمارش گلبول‌های سفید، ۱۰۰ میکرومتر قطر و ۵۰ میکرومتر طول دارد، درحالی که اپرچور شمارش اریتروسیت–پلاکت، ۵۰ میکرومتر قطر و ۷۰ میکرومتر طول دارد. روزنه‌های شمارش اریتروسیت–پلاکت بدین جهت بلندتر و باریک‌تر تعبیه شده‌اند تا با متمرکز کردن جریان سلولی در وسط اپرچور، حساسیت شمارش پلاکت‌ها افزایش یافته و اطلاعات بهتری نیز از توزیع اندازه سلولی حاصل شود. در ارزیابی میزان دقت و صحت روش‌های امپدانسی عواملی نظیر پدیده‌ی همزمانی و موارد عدم تشخیص حائز اهمیت است که در ادامه مطلب به شرح آنها می‌پردازیم.

پدیده‌ی همزمانی
(Coincidence Phenomen)

چنانچه ذکر شد، در روش امپدانس الکتریکی، عبور ذره از ناحیه حساس اپرچور باعث مقاومت و تغییر جریان الکتریکی بین الکترودهای دو طرف این اپرچور می‌شود. به طور ایده‌آل، چنانچه سلول‌ها، یک به یک از این ناحیه عبور نمایند، تعداد آنها با دقت بیشتری شمارش می‌شود. با این وجود عبور همزمان بیش از یک سلول نیز امکان‌پذیر است. این حالت، پدیده‌ی همزمانی و خطای ناشی از آن را خطای عبور همزمانی می‌گویند. میزان این خطا با:

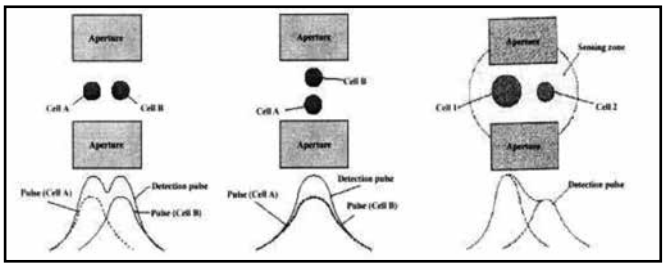
۱- افزایش غلظت سلول‌های معلق در سوسپانسیون سلولی

۲- بزرگی قطر اپرچور

افزایش می‌یابد. این خطا باعث کاهش کاذب شمارش سلولی می‌شود.

می‌توان با کاستن از غلظت سلول‌ها و یا کوچک‌تر کردن اندازه اپرچور، میزان خطای همزمانی را کاهش داد ولی در عین حال، کاستن از غلظت سلول‌ها باعث افزایش خطای ناشی از رقیق کردن نمونه و خطای مربوط به شمارش شده و در صورت آلودگی محلول رقیق کننده با ذرات خارجی، باعث شمارش کاذب می‌شود. با کاستن از اندازه روزنه نیز مشکل مسدود شدن نسبی یا کامل اپرچور با مواد ریز مانند لاشه‌های سلولی و رسوب پروتئینی مسئله‌ساز خواهد شد.

خون کامل حدود ۵×۱۰^{۱۲} سلول در هر لیتر دارد که در برخی آنالیزرها تا ۶۲۵۰ بار توسط محلول ایزوتون رقیق می‌شود. دو مدل ساده از پدیده همزمانی وجود دارد که شامل میانکش افقی و میانکش عمودی هستند. در میانکش افقی دو سلول نزدیک به همدیگر به‌طور افقی از ناحیه حساس عبور می‌کنند که در نتیجه‌ی آن یک سیگنال M-شکل بزرگ حاصل می‌شود. ولی در میانکش عمودی دو سلول نزدیک به هم به طور عمودی از ناحیه حساس روزنه عبور می‌نمایند که در نتیجه‌ی آن یک سیگنال واحد بزرگ ایجاد می‌شود (شکل۳).



شکل۳. (راست): طرح ساده پدیده‌ی همزمانی. (وسط): میانکش عمودی و (چپ): میانکش افقی به همراه نمودارهای حاصل از عبور همزمان آنها.

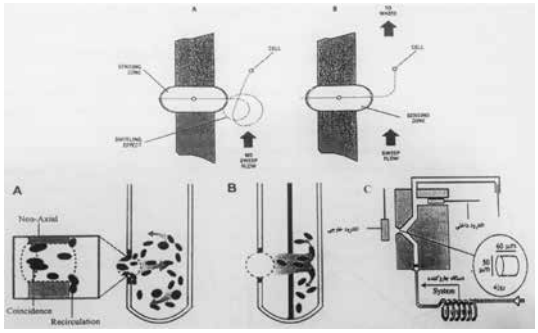
جهت تصحیح میانکش عمودی و یا به حداقل رساندن آن راه‌های گوناگونی وجود دارد. در تعداد زیادی از سل‌کانترهای هماتولوژی، با استفاده از نتایج اندازه‌گیری چندین نمونه با غلظت‌های مختلف و بر اساس قطر اپرچور، یک فرمول تصحیح همزمانی تعیین و این فرمول در پردازشگر سل‌کانتر وارد شده است. در نتیجه شمارش سلولی نهایی پس از تصحیح خطای همزمانی، گزارش می‌شود ولی هیچ راهی جهت تصحیح حجم سلول وجود ندارد. لازم به ذکر است ذراتی که از محور مرکزی روزنه عبور نکرده و از کناره‌های اپرچور عبور می‌کنند (Non Axial Particle Flow)، به دلیل حساسیت بالای نواحی کناری، پالس‌های غیرعادی M-شکل (مشابه آنچه در میانکش افقی پدیده همزمانی رخ می‌دهد) ایجاد می‌کنند. این پالس‌های M-شکل تنها توسط یک ذره تولید شده و تشکیل آنها مستقل از پدیده همزمانی است.

پدیده‌ی بازگشت سلول‌ها
(Re Circulation of cells)

گاهی سلول‌هایی که از خروجی اپرچور یا روزنه خارج می‌شود ممکن است دچار حرکت گردابی یا بازگردشی شده و با نزدیک شدن مجدد به روزنه پالس‌هایی با دامنه کوتاه ایجاد نمایند که معادل پالس‌های ناشی از پلاکت‌ها بوده و در نتیجه باعث خطا در شمارش اتوماتیک پلاکت‌ها می‌شوند. سلول‌های مذکور حتی ممکن است وارد روزنه شده و مجددا شمارش شوند و بدین ترتیب باعث افزایش کاذب شمارش اریتروسیت‌ها شود.

بر این اساس، در برخی از دستگاه‌ها یک جریان روبنده یا جاروبگر-sweep flow در پشت ناحیه حساس روزنه اریتروسیت به کار گرفته می‌شود تا جریان مذکور، سلول‌های عبور کرده از روزنه را جارو کرده و با دفع در فاضلاب از اپرچور دور کند. برخی از دستگاه‌ها هم سیستم تصحیح پالس را در ترکیب با صفحه Von Behrenz به کار می‌گیرد که بازگردش سلول‌ها را به حداقل می‌رساند. در این روش جریان پیوسته سلول‌های شمارش شده به یک صفحه دیگر با روزنه ثانویه هدایت شده و بدین ترتیب سلول‌ها در پشت صفحه ممانعت کننده Von Behrenz به دام افتاده و نمی‌توانند به روزنه شمارش برگردند (شکل٤).

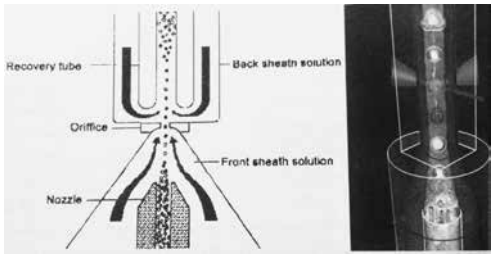
راه دیگر برای کاهش توأم بازگردش و پدیده همزمانی، به‌کارگیری تکنولوژی تمرکز هیدرودینامیک-Hydro Dynamic Focusing Method است. در این روش از دو لوله‌ی تو در تو استفاده می‌شود به‌طوری که از لوله خارجی جریان پیوسته‌ای از یک مایع غلیظ به



شکل٤. تصویر بالا: (A) حرکت گردابی و حالت بازگردشی سلول‌ها و (B) جریان روبنده‌ی کاهش دهند آن. تصویر پایین: (A) نمایی از بازگردش سلول‌ها و (B) استفاده از صفحه‌ی Von Behrenz و (C) دستگاه جریان روبنده

نام مایع sheath و از لوله‌ی داخلی، سوسپانسیون سلولی بیمار عبور می‌کند. لوله داخلی قطر کم و طول بلند داشته و درنتیجه سوسپانسیون حین عبور از آن به صورت یک جریان باریک با سلول‌های تکی و پشت سرهم تبدیل می‌شود.

حرکت مایع sheath همانند غلاف مایع و غلیظی است که مسیر جریان سوسپانسیون را احاطه کرده، از پخش کردن سلول‌ها جلوگیری کرده و باعث حرکت مستقیم ولی به ترتیب سلول‌ها از اپرچور چمبر می‌شود. طی این پروسه، سوسپانسیون سلولی و مایع sheath به صورت یک جریان باریک به ورودی روزنه تزریق می‌شود ولی سوسپانسیون به علت اختلاف چگالی و غلظت و همچنین به علت لامینار بودن هر دو لایه، با مایع sheath مخلوط نمی‌شود. طول بلند لوله به علاوه سوسپانسیون رقیق سلول‌ها باعث می‌شود تا سلول‌ها یکی یکی و پست سرهم در ادامه یکدیگر حرکت کنند، لذا در یک سیستم تمرکز هیدرودینامیک، هیچ ذره‌ای به نزدیکی دیواره و یا زاویه ورودی روزنه (مناطقی که تراکم بالایی از جریان وجود دارد) راه نمی‌یابد. بنابراین تمامی سیگنال‌ها یا پالس‌های M–شکل ناشی از جریان غیرمحوری ذرات، حذف شده و تنها سیگنال‌های M–شکل حاصل از میانکش افقیِ پدیده‌ی همزمانی باقی می‌مانند که اینها را نیز می‌توان با انتخابِ رقت مناسبی از نمونه به‌طور قابل توجهی کاهش داد (شکل۵).



شکل۵. تکنولوژی تمرکز هیدرودینامیک

با به کارگیری تکنولوژی تمرکز هیدرودینامیک،

۱- تمامی پالس‌های بزرگ ناشی از میانکش عمودی پدیده ی همزمانی

۲- پالس‌های M–شکل ناشی از جریان غیرمحوری ذرات

۳-پالس‌های ناشی از جریان ذرات نزدیک نواحی ورودی/خروجی روزنه

٤- پالس‌های ناشی از بازگردش سلول‌ها به داخل روزنه

۵- پالس‌های ناشی از انباشته شدن پروتئین و انسداد نسبی ناشی از آن در روزنه

حذف می‌شوند. استفاده از این تکنیک باعث شده تا قطر اپرچورها نیز کمتر تعبیه شده و اختلالات ناشی از آن کمتر و نامحسوس‌تر شود. تمرکز دقیق جریان مایع Sheath در ناحیه حساس اپرچور، نیاز به یکسری اجزاء حساس و تکنولوژی پیشرفته کنترل مایعات داشته و تولید هرگونه حباب هوا در نزدیکی ناحیه حساس، تمرکز دقیق جریان را مختل و ایجاد مزاحمت یا نویز الکتریکی می‌کند. به همین دلیل در اغلب سل‌کانترها در مایع sheath نوعی سورفکتانت– Surfactant ویژه به کار گرفته می‌شود که به ندرت ایجاد حباب می‌کند و چنانچه حبابی نیز تولید شود به‌سرعت از این منطقه برداشته می‌شود.

شرکت سیسمکس در سال ۱۹۸۰ آنالیزرهای تمام اتوماتیک سریE خود را روانه بازار کرد که نخستین سیستم امپدانسی تمام اتوماتیک به کارگیرنده‌ی تکنولوژی تمرکز هیدرودینامیک در دنیا بود. این تکنولوژی بعدها در سری‌های بعدی تولید شده در این شرکت و برخی دیگر از شرکت‌های سازنده سل‌کانتر هماتولوژی نیز بکار گرفته شد و درحال حاضر تمامی دستگاه‌های فلوسایتومتری ایمونولوژیک نیز از این تکنولوژی استفاده می‌کنند.

یکی از مزیت‌های این تکنولوژی، بهبود چشمگیر در وضوح و رزولیشن نمودارهای توزیع حجم سلولی است. پارامتر MCHC محاسبه شده در سیستم های حاوی تکنولوژی تمرکز هیدرودینامیک، یک پارامتر مفید در کنترل کیفی و نیز ارزیابی‌های بالینی است درحالیکه MCHC محاسبه شده در سیستم‌های مبتنی بر تصحیح پالس را تنها می‌توان به عنوان یک پارامتر مفید در کنترل کیفی به‌کار برد.

به هنگام استفاده از تکنولوژی تمرکز هیدرودینامیک جهت شمارش اریتروسیت‌ها، بین پلاکت و اریتروسیت‌ها تمایز آشکاری ایجاد می‌شود. این تکنولوژی شناسایی تغییرات جزیی ایجاد شده در نمودار توزیع حجم اریتروسیت‌ها در بیماران مبتلا به آنمی فقر آهن (IDA) که تحت درمان هستند را نیز ممکن می‌سازد و همچنین با فراهم آوردن مقادیر صحیحی از MCV و MCHC در دسته‌بندی دقیق آنمی‌ها کمک کننده خواهد بود.

◄ فاکتور شکل و انعطاف سلولی

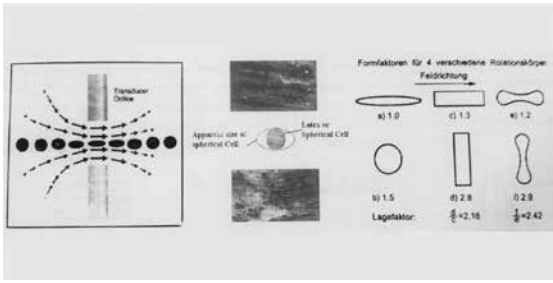
شکلی که سلول به هنگام عبور از روزنه به خود می‌گیرد می‌تواند حجم ظاهری اندازه‌گیری شده توسط دستگاه را تحت تاثیر قرار دهد. ذراتی که دارای شکل متفاوت ولی حجم تئوریک یکسان هستند، پالس‌هایی با ارتفاع متفاوت تولید می‌کنند. بنابراین، هنگامی‌که یک جسم کروی سخت (مثل اسفروسیت– Spherocytes) از ناحیه حساس اپرچور می‌گذرد، ایجاد پالسی می‌کند که ارتفاع آن برابر با ارتفاع پالس حاصل از یک جسم بزرگ تر بیضی شکل است. اریتروسیت‌های طبیعی و تازه که فیکس نشده‌اند، به شدت انعطاف‌پذیر بوده و هنگام عبور

از اپرچور به شکل دوکی و با بیضی درمی‌آیند. در این حالت، سلول‌های مذکور یک سایه‌ی الکترونیکی بیضی شکل ایجاد می‌کنند که حجم آن به حجم فیزیکی سلول بسیار نزدیک است.

در واقع به محض آنکه سوسپانسیون سلولی به اپرچور نزدیک می‌شود، سرعت جریان آن به شدت افزایش یافته و باعث افزایش فشار شار وارد شده بر دیواره‌ی اپرچور می‌شود. این فشار در اثر برخورد به دیوار اپرچور بازگشته و به طرفین سلول‌ها فشار ثانویه‌ای را وارد کرده و بسته به انعطاف سلول، آن را به شکل بیضی درمی‌آورد که ارتفاع یا ضخامت سلول مربوطه به عنوان ملاکی از حجم سلول درنظر گرفته می‌شود. در نتیجه ممکن است یک سلول اسفروسیت میکروسیت و غیرمنعطف، ارتفاعی برابر با یک سلول نورموسیت- Normocyte و منعطف داشته باشد و از اینرو سل‌کانترها MCV ی بیماری اسفروسیتوز ارثی- Hereditary Spherocytosis (یکی از انواع کم خونی‌ها) را به طور کاذب نرمال نشان می‌دهند.

به‌جز فشار شار، ازآنجا که مایع sheath فاقد سلول بوده و در مقایسه با سوسپانسیون سلولی سرعت بیشتری دارد، لذا حین عبور از اپرچور باعث ایجاد یک فشار غلافی می‌شود که به موازات نیروی شار به سلول ها وارد شده و باعث حداکثر تغییر شکل سلولی در ناحیه حساس می‌شود. به طور کلی در این حالت یک پالس الکتریکی ایجاد می‌شود که بیشتر متناسب با شکل و نمای سلول بوده و متفاوت از حجم واقعی خود سلول است.

تغییر شکل پذیری و انعطاف اریتروسیت‌ها ثابت نبوده و با تغییر ویسکوزیته داخل سلولی که درواقع توسط MCHC تعیین می‌شود، تغییر می‌یابد. اسفروسیت‌هایی با MCHC واقعی بالا، ویسکوزتر بوده و تغییر شکل‌پذیری کمتری دارند. به همین دلیل به هنگام عبور از روزنه، منطقه گسترده‌تری از مقطع عرضی روزنه را اشغال کرده و درنتیجه MCV آنها بیشتر از میزان واقعی برآورد می‌شود و این موضوع از نظر محاسباتی باعث اشتباه در گزارش MCHC نیز می‌شود. در حالت عکس، اریتروسیت‌های با ویسکوزیته یا MCHC پایین مثل گلبول‌های قرمز الپتوسیت- Elliptocytes و اوالوسیت- Ovalocytes، تغییر شکل پذیری بیشتری نسبت به اریتروسیت‌های طبیعی نشان داده و درنتیجه در سیستم‌های امپدانسی،MCV آنها کمتر از میزان واقعی برآورد می‌گردد. متعاقب این حالت، میزان هماتوکریت نیز کاهش یافته و درنتیجه پارامتر MCHC هم که در تشخیص آنمی اهمیت دارد، به طور کاذب افزایش می‌یابد. چنانچه یک ذره لاتکس سخت و کروی از ناحیه حساس اپرچور عبور کند شکل کروی خود را حفظ می‌کند اما یک سایه الکترونیک دوکی شکل و کشیده که ۱.۳ تا ۱.۵ برابر حجم واقعی خود لاتکس است را ایجاد می‌کند که از این خاصیت برای تولید خون‌های کنترل استفاده



شکل۶. (چپ)، تغییر شکل بیضوی اریتروسیت‌ها حین عبور از روزنه، (وسط)، سایه بیضوی الکترونیکی یم جسم لاتکس حین عبور از روزنه و (راست)، فاکتور شکل انواع مختلف اشکال

می‌شود. در خون‌های کنترل به جای RBC از ذرات لاتکس و به جای لکوسیت از گلبول‌های قرمز پرندگان که هسته‌دار هستند استفاده می‌شود. در نتیجه لاتکس‌های حتی کوچکتر از یک اریتروسیت، به دلیل عدم لیز و پایداری طولانی و به دلیل عدم انعطاف خود، پالس بزرگتر ولی هم اندازه RBC ایجاد می‌کنند که در استفاده طولانی‌مدت از خون کنترل تکرارپذیری و دقت خود را حفظ می‌کنند. ذراتی با اشکال دیگر حتی سایه‌های الکترونیک پیچیده‌تری تولید می‌نمایند.

نسبت حجم الکترونیکی سلول به حجم هندسی آن، تحت عنوان فاکتور شکل شناخته می‌شود. برای اریتروسیت‌های طبیعی فاکتور شکل تقریباً برابر با یک و برای ذرات کروی سخت برابر ۱,۵ است. این فاکتور بسته به اندازه‌ی روزنه و ویژگی‌های فیزیکی سلول خونی، به میزان اندکی تفاوت دارد که در شکل زیر به آنها اشاره شده است (شکل ٦).

یک مشکل عمده روش امپدانس الکتریکی حتی با به کارگیری تکنولوژی تمرکز هیدرودینامیک نقص در افتراق پلاکت‌های درشت از اریتروسیت‌های بسیار میکروسیتیک و یا فراگمانته می‌باشد. قابلیت افتراق این سلول‌ها از هم در روش‌های مبتنی بر پراکنش نور بسیار بالاست که در شماره آینده مجله به آن می‌پردازیم.

با این وجود روش امپدانس الکتریکی می‌تواند دقیق‌تر از روش پراکنش نور حجم سلول را اندازه‌گیری کند.

منابع

۱- کتاب اصول فیزیکی دستگاه‌های آزمایشگاهی تالیف دکتر داریوش شهبازی گهرویی، انتشارات دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

۲- کتاب هماتولوژی سلولی و ملکولی تالیف دکتر نادر وظیفه‌شیران

۳- کتاب فرآورده‌های بیولوژیک خون و داروهای بیولوژیک موثر بر خون، تالیف دکتر محمد ربانی، دکتر وجیهه اکبری، انتشارات دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

٤- کسری پورنگ، « شمارش و طبقه‌بندی سلول‌ها به روش اندازه گیری امپدانس »، پایان‌نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته مهندسی برق گرایش طراحی مدارات مجتمع آنالوگ، دانشکده مهندسی برق و کامپیوتر دانشگاه تبریز.

۵- عرفان دژآگاه، «بازشناسی خودکار گلبول‌های سفید خون با استفاده از تصاویر میکروسکوپی»، پایان‌نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته مهندسی برق- الکترونیک، دانشکده مهندسی برق و کامپیوتر دانشگاه خواجه نصیرالدین طوسی.

6- Bhardwaj, J., Ashraf, H. and McQuarrie, A. Dry Silicon Etching for MEMS. Symposium on Microstructures and Microfabricated Systems. May 4-9, Montreal, Canada.

7-Barbara J.Bain. Blood Cells: a Practical Guide. 4th ed.

8- Richard A. McPherson MD, Matthew R. Pincus MD PhD- Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods, 22nd Edition -Saunders (2011)