

Автоматизация общего анализа крови

Гематологические анализаторы
Diatron (Австрия)

Автоматические методы

Преимущества автоматического анализа крови:

- высокая производительность (30–100 и более проб в час)
- высокая точность исследования (подсчет многих тысяч клеток вместо сотни)
- небольшой объем крови (25–100 мкл)
- большое количество показателей (12–25 параметров) вместо 10-12 при обычном анализе
- графическое представление распределения клеток (гистограммы)
- повышение объективности исследований (минимум вмешательства оператора)

Автоматические методы

Преимущества автоматического анализа крови:

- облегчение труда лаборантов, устранение монотонных рутинных операций
- скрининговый анализ в клиничко-диагностических лабораториях
- ведение контроля качества (расчет среднего, SD, %CV, построение контрольных карт)
- хранение результатов и формирование отчета
- ведение статистики измерений
- автоматический контроль основных функций анализатора, тест самопроверки

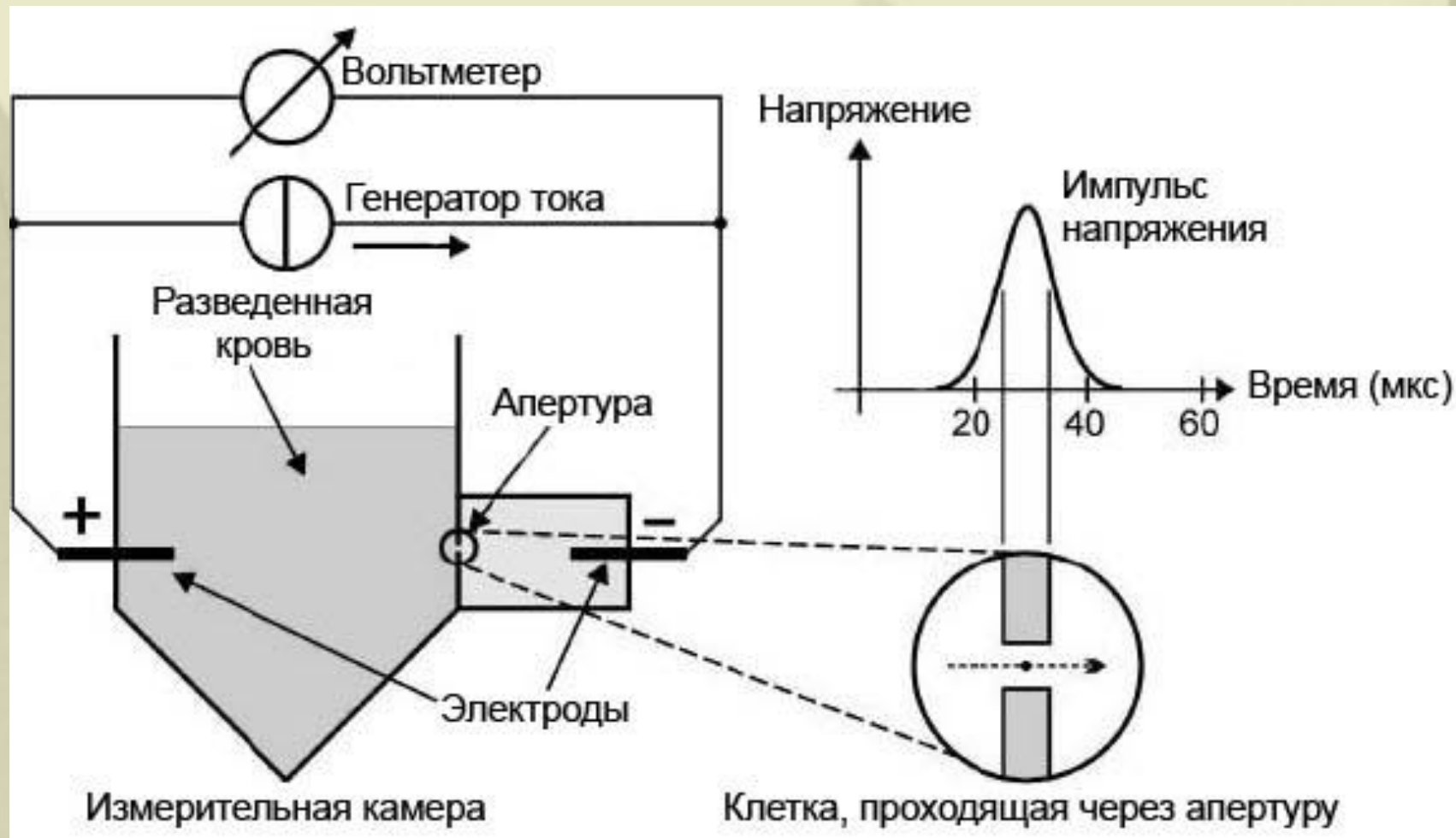
Метод измерения

Работа практически всех современных гематологических анализаторов основана на кондуктометрическом методе, разработанном братьями Coulter еще в 1949 г. С тех пор он значительно усовершенствовался.

В последующих модификациях приборов добавлены специальные дифференцирующие гемолитики, лазерное светорассеяние, цитохимия и т.д.

Метод (также может называться – волюметрический метод импеданса) позволяет подсчитать количество клеток и охарактеризовать объем клетки.

Принцип кондуктометрического метода



Принцип кондуктометрического метода

Проба разводится дилуентом (изотонический раствор), который может проводить электрический ток.

Измерительная камера сделана из диэлектрика, в ней расположены два электрода, разделенные перегородкой с малой апертурой (обычно 80 или 100 мкм). Между электродами подается электрический ток.

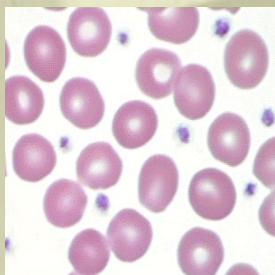
Включается насос, проба крови прокачивается через апертуру. При прохождении клетки через апертуру появляется электрический импульс.

Количество импульсов соответствует количеству клеток в заданном объеме.

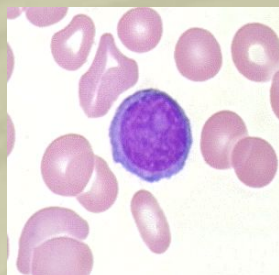
Амплитуда импульсов пропорциональна размеру клеток.

Процесс дифференциального лизиса (1)

PLT & RBC



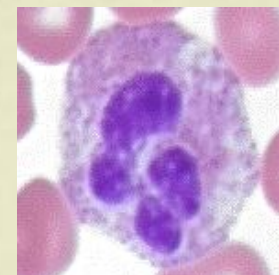
LYM



MID

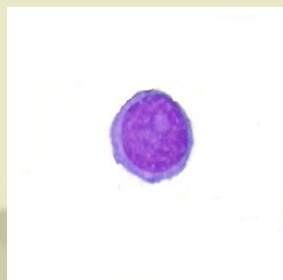
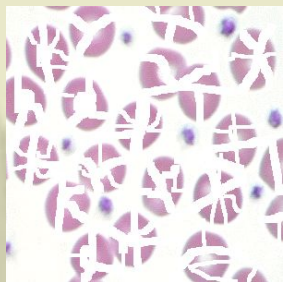


GRN



+ Лизирующий реагент для дифференцировки

Процесс дифференциального лизиса (2)



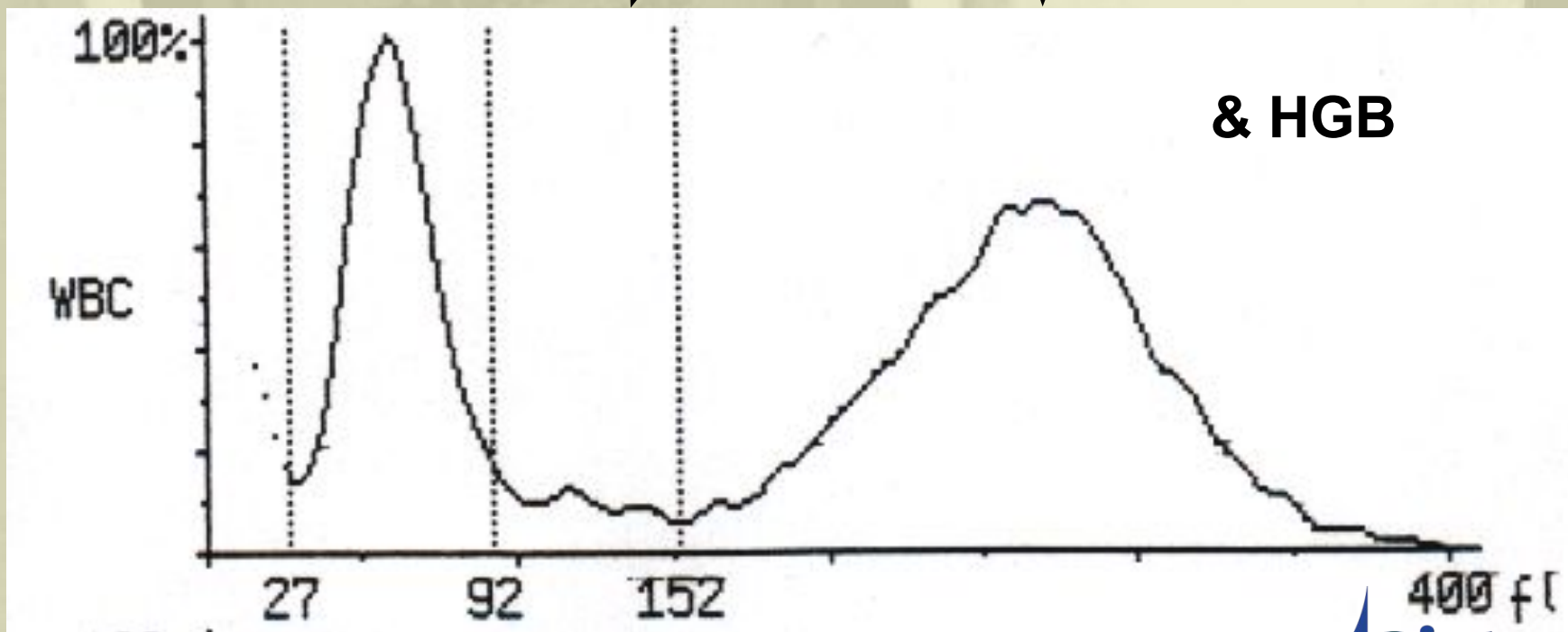
LYM



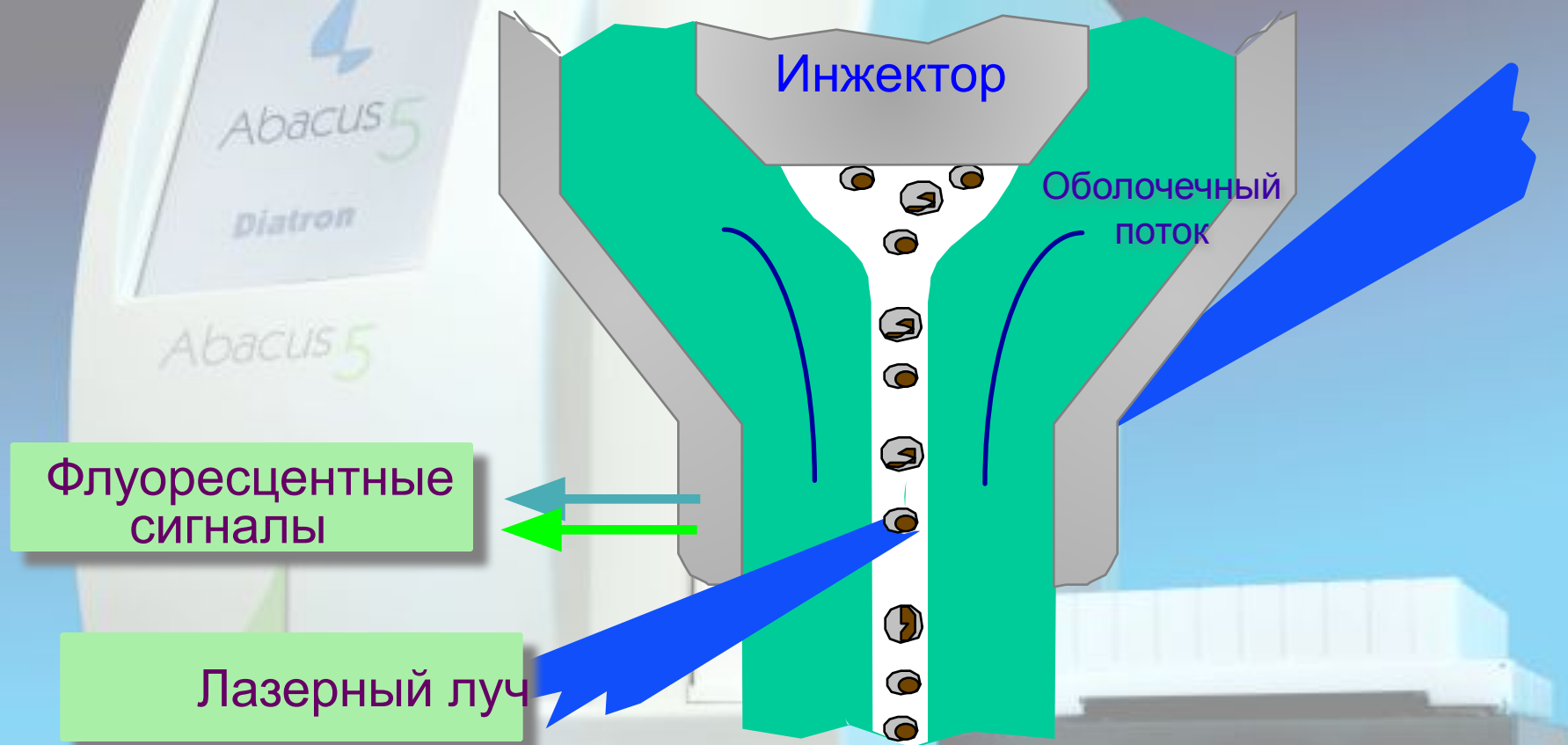
MID



GRA

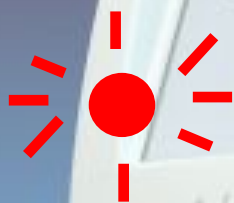


Принцип оптического (лазерного) метода дифференцировки лейкоцитов



Рассеивание клетками лазерного пучка

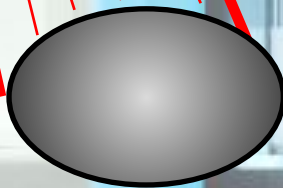
Лазер



Abacus5

Diatron

Abacus5

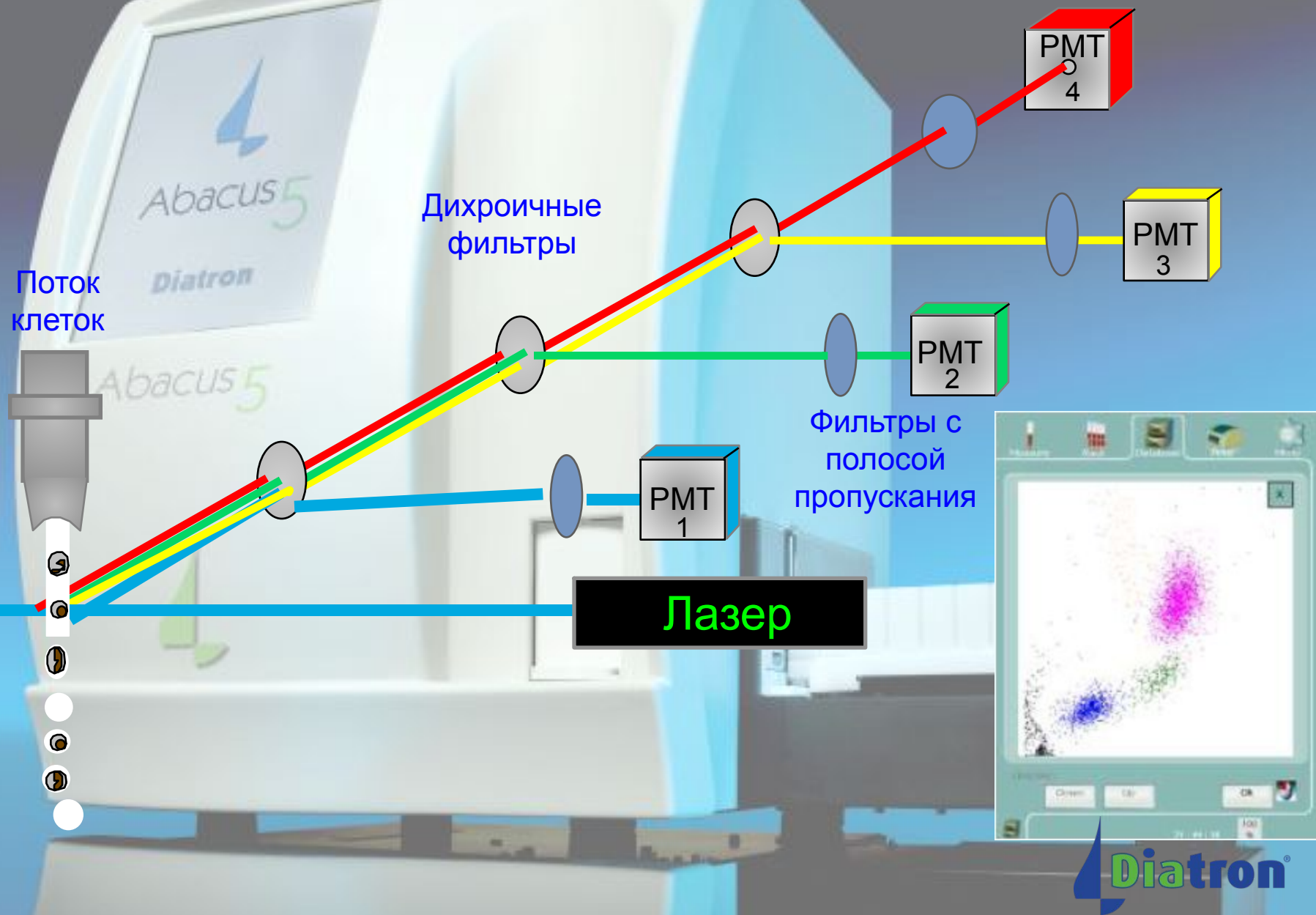


90° сенсор излучения

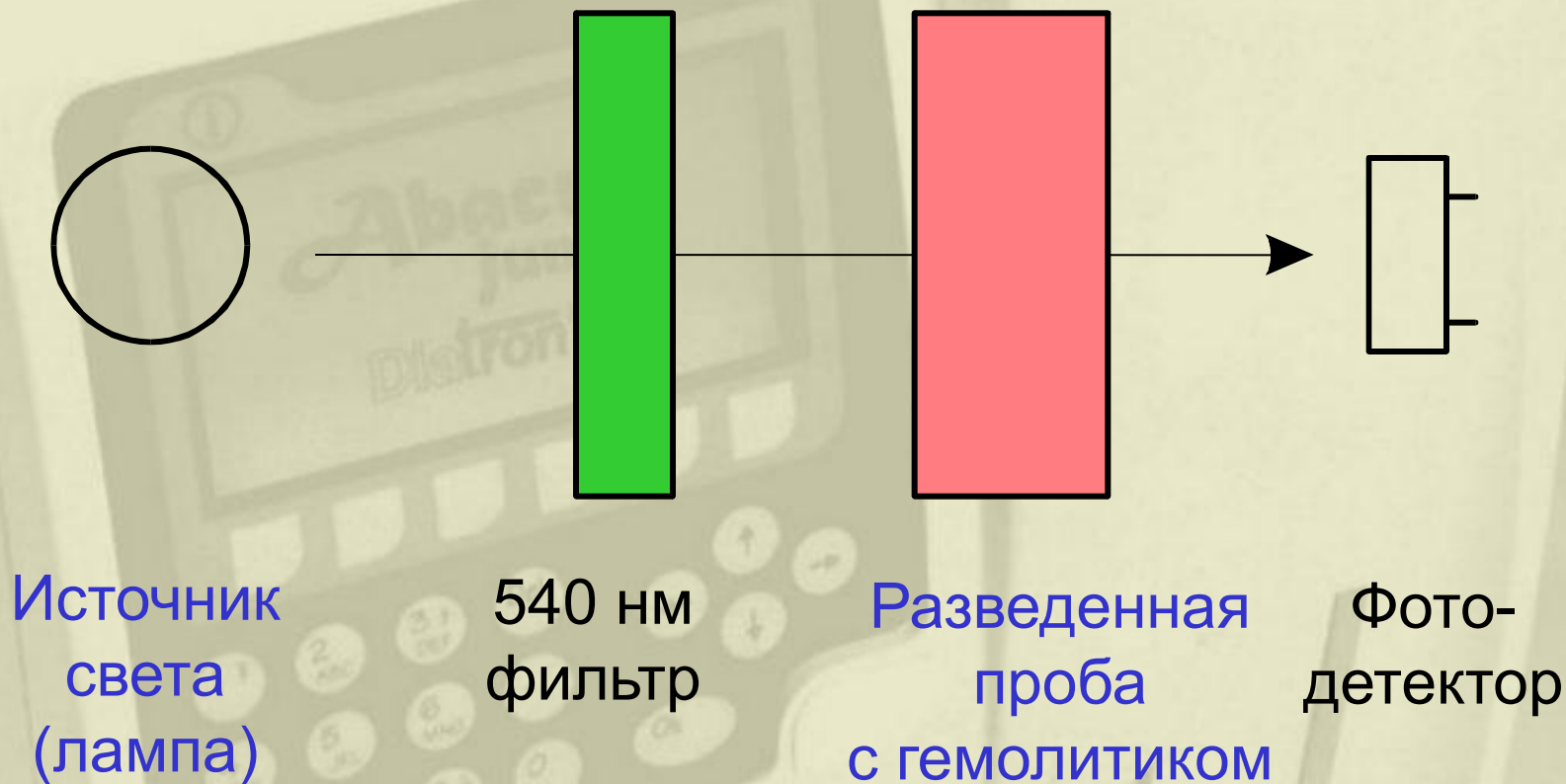
Сенсор прямого излучения



Схема лазерной проточной цитометрии



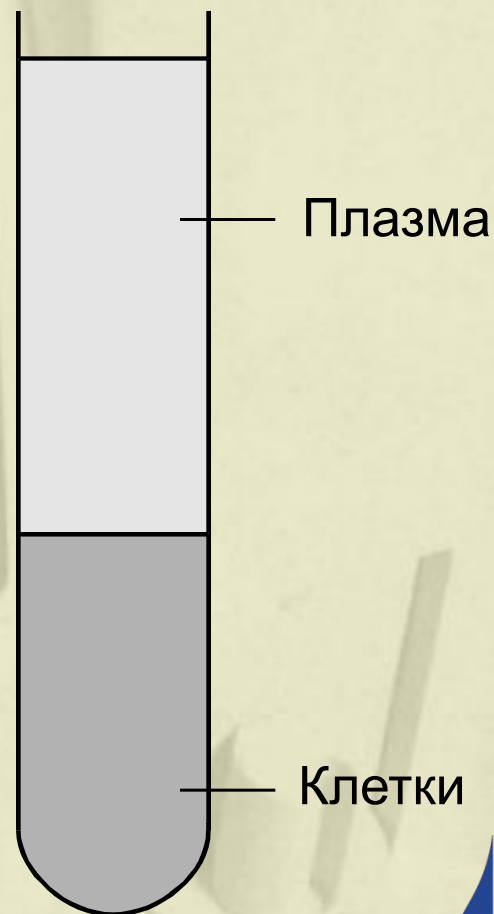
Измерение гемоглобина



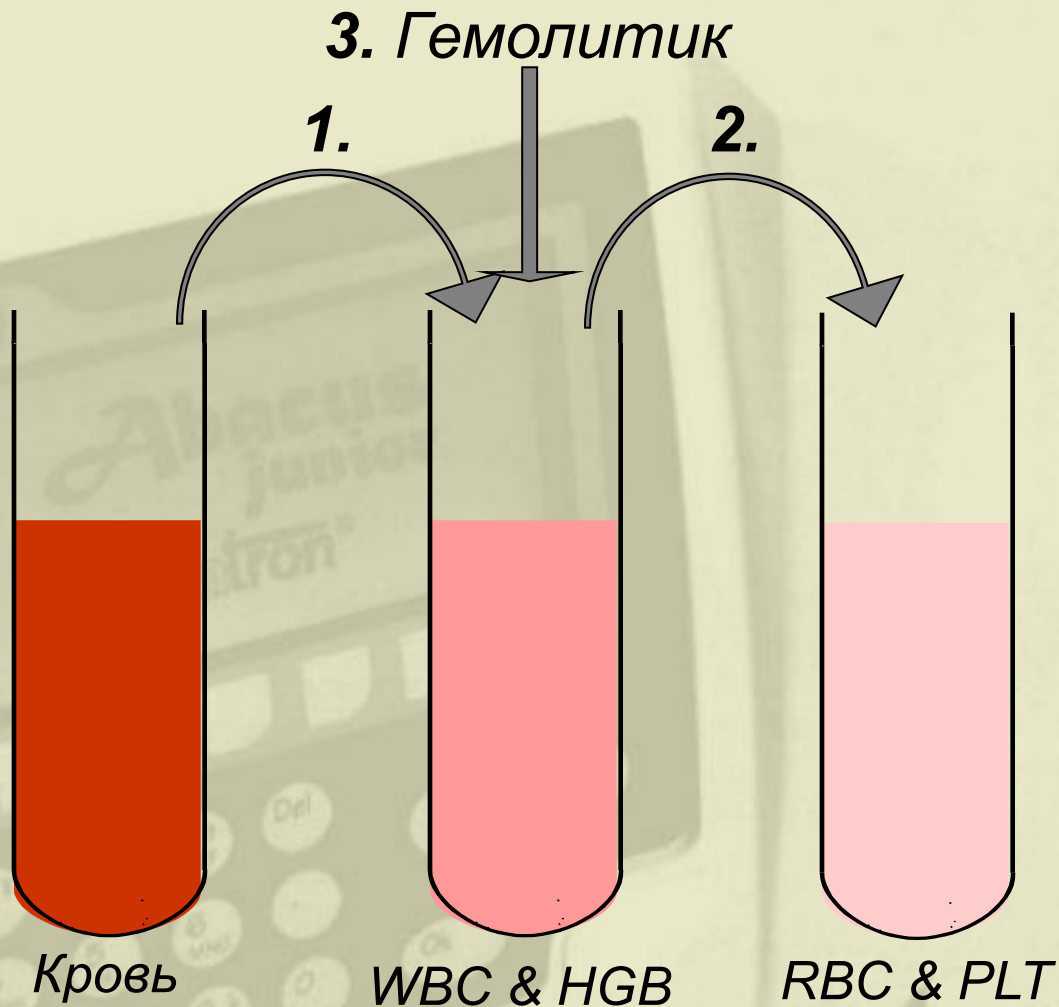
Пробы крови

Без антикоагулянта

С антикоагулянтом ЭДТА



Разведение: дилуэнт, гемолитик



Анализаторы подготавливают два разведения проб крови.

Пробоподготовка крови

Так как между сбором проб и их анализом обычно проходит какое-то время, необходимо предупредить свертывание крови с помощью антикоагулянта для предотвращения образования больших групп клеток в сгустках и закупорку такими сгустками апертуры камеры измерения.

Выбор антикоагулянта очень важен, так как некоторые антикоагулянты влияют на форму и размер клеток крови. Обычно только один антикоагулянт рекомендуется для использования с гематологическими анализаторами – это **EDTA (ЭДТА, трилон Б)**, предпочтительнее соль натрия или калия.

Следует соблюдать осторожность при использовании самостоятельно приготовленных контейнеров с ЭДТА. Если контейнер не наполнен до нужного уровня, отношение EDTA к цельной крови будет слишком большим, вследствие чего из-за повышения осмотического давления происходит сжатие эритроцитов (RBC).

Пробы крови

Обычно мы рекомендуем использование пробирок для проб с необходимым количеством ЭДТА, произведенных фабричным способом, также необходимо наполнять их кровью до указанного на них уровня.

Отношение EDTA к цельной крови не должно превышать 3 мг/мл.

Концентрация ЭДТА: 2,0 мг на 1 мл цельной крови
(допустимый разброс: 1,5–3,0 мг/мл).

Пример соотношения:

Капиллярная кровь: 100 мкл крови + 10 мкл 2% раствора ЭДТА

Венозная кровь: 10 мл крови + 100 мкл 20% раствора ЭДТА

Сразу перемешать!

Стабильность проб:

- при комнатной температуре – 4 часа
- при 2-8°C – сутки

Клетки крови

Название	RBC, Red Blood Cell	WBC, White Blood Cell	PLT, Platelet
Другие названия	Эритроциты	Лейкоциты	Тромбоциты
Ядра	Зрелые клетки не имеют ядер	Ядерные	Неядерные фрагменты
Популяция	4,5-5,5 млн/мкл	5-10.000/мкл	150-300.000/мкл
Субпопуляции	RBC, NRBC (эритроциты и ядерные эритроциты)	Полиморфноядерные клетки (нейтрофилы, эозинофилы, базофилы) Лимфоциты Моноциты	
Средний диаметр	7-8 мкм толщина ≈1,8-2,0 мкм	NEU ≈ 13 мкм EOS ≈ 16 мкм BAS ≈ 14 мкм LYM ≈ 8-15 мкм MON ≈15-25 мкм	2-4 мкм
Средний объем	≈90 фл	различный	≈12 фл

Границы норм (человек)



ПАРАМЕТРЫ	Neonate новорожден ный	Baby младенец 3 месяца	Toddler ребенок 1 год	дети 1-6 лет	Child дети 6-14 лет	Male мужчина	Female женщина
WBC 10 ⁹ /л	9-30	5-19	5-19	5-19	4.8-10.8	5-10	4-10
RBC 10 ¹² /л	4-6	3.8-4.8	3.9-5.3	3.9-5.3	4-5.2	4.5-5.5	4-5
HGB г/л	145-245	100-173	95-140	95-140	103-140	120-165	115-150
HCT %	44-64	35-49	36-44	30-42	32-42	45-52	36-48
MCV фл	98-110	83-97	70-84	70-84	73-87	84-96	76-96
MCH пг	34-40	27-33	23-31	23-29	32-36	30-35	30-35
MCHC г/дл	33-37	31-35	30-35	31-35	30-35	31.5-36	31.5-36
RDW-CV %	<16	<16	<16	<16	<16	<16	<16
PLT 10 ⁹ /л	140-300	150-450	150-450	150-450	150-450	150-400	150-400
MPV фл	8-15	8-15	8-15	8-15	8-15	8-15	8-15
NEU% %	40-80	20-46	18-44	18-44	37-65	50-68	50-68
EOS% %	0-4	0-3	0-3	0-3	0-3	1-3	1-3
BAS% %	0-1	0-1	0-1	0-1	0-1	0-1	0-1
LYM% %	26-68	42-72	46-72	46-76	27-57	25-40	25-40
MON% %	0-9	0-6	0-6	0-5	0-5	3-7	3-7

Гематология – раздел медицины, изучающий строение и функции системы крови:

- самой крови
- органов кроветворения
- органов кроверазрушения

Гематология изучает причины и механизмы развития болезней крови и разрабатывает методы их распознавания, лечения и профилактики.

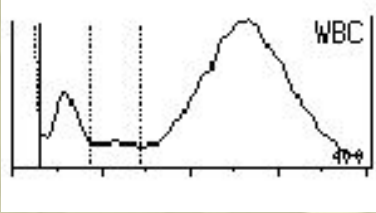
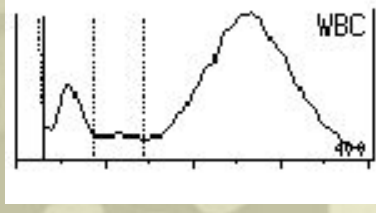
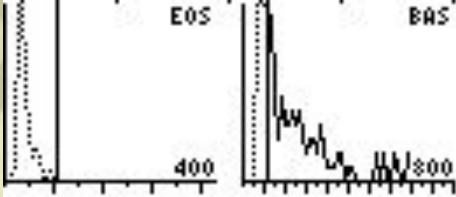
Назначение гематологических анализаторов

Гематологические анализаторы применяются для диагностики болезней, как кроветворной системы, так и всего организма человека, и предназначены для скринингового анализа в клиничко-диагностических лабораториях.



Основные части анализатора

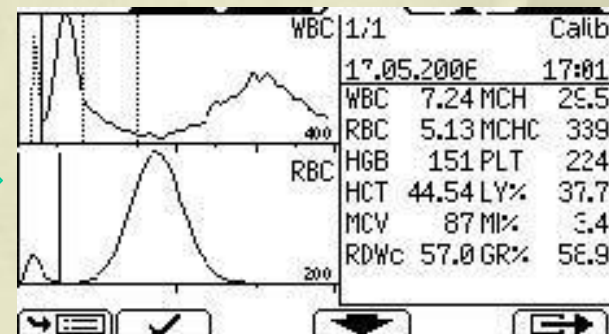


<p>Лейкоциты – WBC (клеток/л, клеток/мкл)</p>	<p>Количество лейкоцитов. WBC = WBCcal x (клеток/л или клеток/мкл)</p>
<p>Дифференцировка лейкоцитов на 3 части:</p> <ol style="list-style-type: none"> LYM, LY%: лимфоциты MID, MID%: моноциты и некоторые эозинофилы GRA, GR%: нейтрофилы, эозинофилы и базофилы 	<p>Абсолютные значения подсчитываются по каналам, заданным по трем дискриминаторам лейкоцитов (WBC): Проценты рассчитываются по абсолютным значениям WBC.</p>  <ol style="list-style-type: none"> RBC-LYM discriminator LYM-MID discriminator MID-GRA discriminator
<p>Дифференцировка лейкоцитов на 5 частей:</p> <ol style="list-style-type: none"> LYM, LYM%: лимфоциты MON, MON%: моноциты и некоторые эозинофилы NEU, NEU% нейтрофилы 	<p>Абсолютные значения подсчитываются по каналам, заданным по трем дискриминаторам лейкоцитов (WBC): Проценты рассчитываются по абсолютным значениям WBC.</p>  <ol style="list-style-type: none"> RBC-LYM discriminator LYM-MID discriminator MID-GRA discriminator
<ol style="list-style-type: none"> BAS, BAS% базофилы EOS, EOS% эозинофилы 	<p>Каждая кривая распределения представляет данную популяцию лейкоцитов.</p> 

Порядок работы

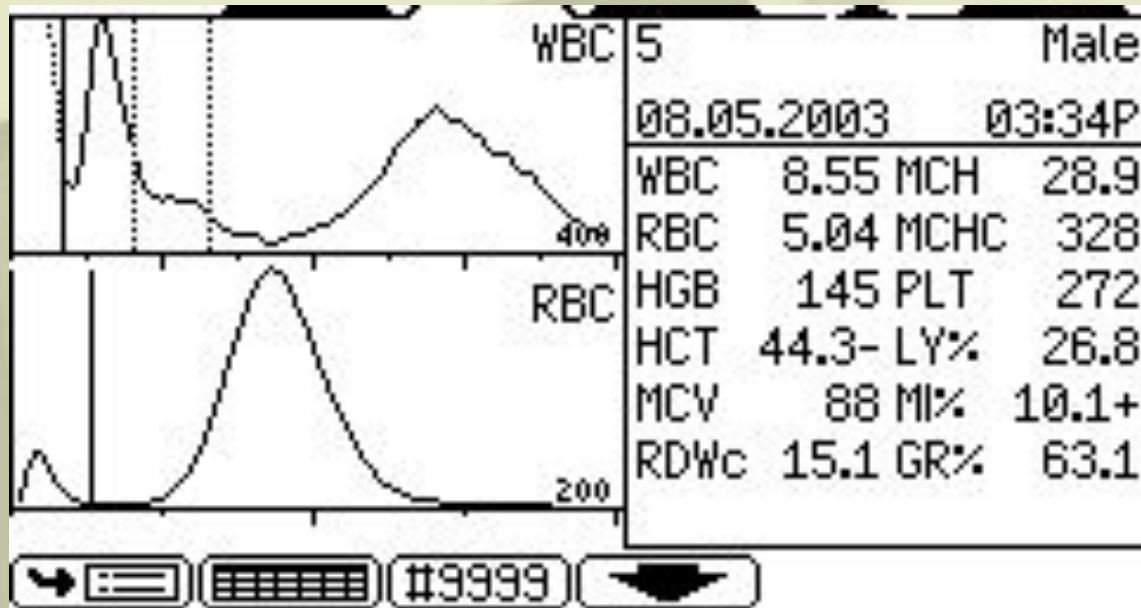


1. Забор крови и смешивание крови с соответствующим антикоагулянтом (ЭДТА).
2. Включение анализатора (выполнение автоматических процедур перед началом работы: проверка, заполнение реагентами, измерение бланка).
3. Установка пробирки с кровью в анализатор.
4. Запуск измерения (кнопка START).
5. Автоматический анализ пробы и выдача результатов на дисплей или принтер.



Вывод результатов на дисплей

По окончании измерения появится следующий экран со всеми измеренными и подсчитанными параметрами и гистограммами WBC, RBC и PLT



Результаты и гистограммы будут сохранены автоматически в памяти без специального подтверждения пользователя.

Если установлены границы, параметры будут сравнены с ними и помечены:

- + если значение больше указанного диапазона,
- если значение меньше указанного диапазона.

Печать результатов

Patient ID: _____
 Name: _____
 Birth/Sex: 08.08.2008 / -
 Mode: Human
 Doctor: _____
 Sample ID: 26
 Test date: 23.04.2003
 Test time: 11:41
 Report date: 08.07.2003

Test	Result	Reference Range
WBC	6.98	$10^9/l$
LYM	3.96	$10^9/l$
MD	8.05	$10^9/l$
GRA	4.89	$10^9/l$
LY%	44.5	+ %
MP%	0.6	%
GR%	54.9	- %
RBC	4.74	$- 10^{12}/l$
HGB	131	g/l
HCT	48.2	%
MCV	85	+ fl
MCH	28.6	+ pg
MCHC	337	g/l
RDWc	18.1	%
PLT	262	$10^9/l$
PCT	0.19	%
MPV	7.3	fl
PDWc	36.2	%

Abacus Junior

Patient ID: _____
 Name: _____
 Birth/Sex: 08.08.2008 / -
 Mode: Human
 Doctor: _____
 Sample ID: 26
 Test date: 23.04.2003
 Test time: 11:41
 Report date: 08.07.2003

Test	Result	Reference Range
WBC	6.98	$10^9/l$
LYM	3.96	$10^9/l$
MD	8.05	$10^9/l$
GRA	4.89	$10^9/l$
LY%	44.5	+ %
MP%	0.6	%
GR%	54.9	- %
RBC	4.74	$- 10^{12}/l$
HGB	131	g/l
HCT	48.2	%
MCV	85	+ fl
MCH	28.6	+ pg
MCHC	337	g/l
RDWc	18.1	%
PLT	262	$10^9/l$
PCT	0.19	%
MPV	7.3	fl
PDWc	36.2	%

