



Методы измерения в гематологии

Гематология – наука о крови и кроветворных органах.

Кровь

**от 4 до 5 литров
70 мл/кг**

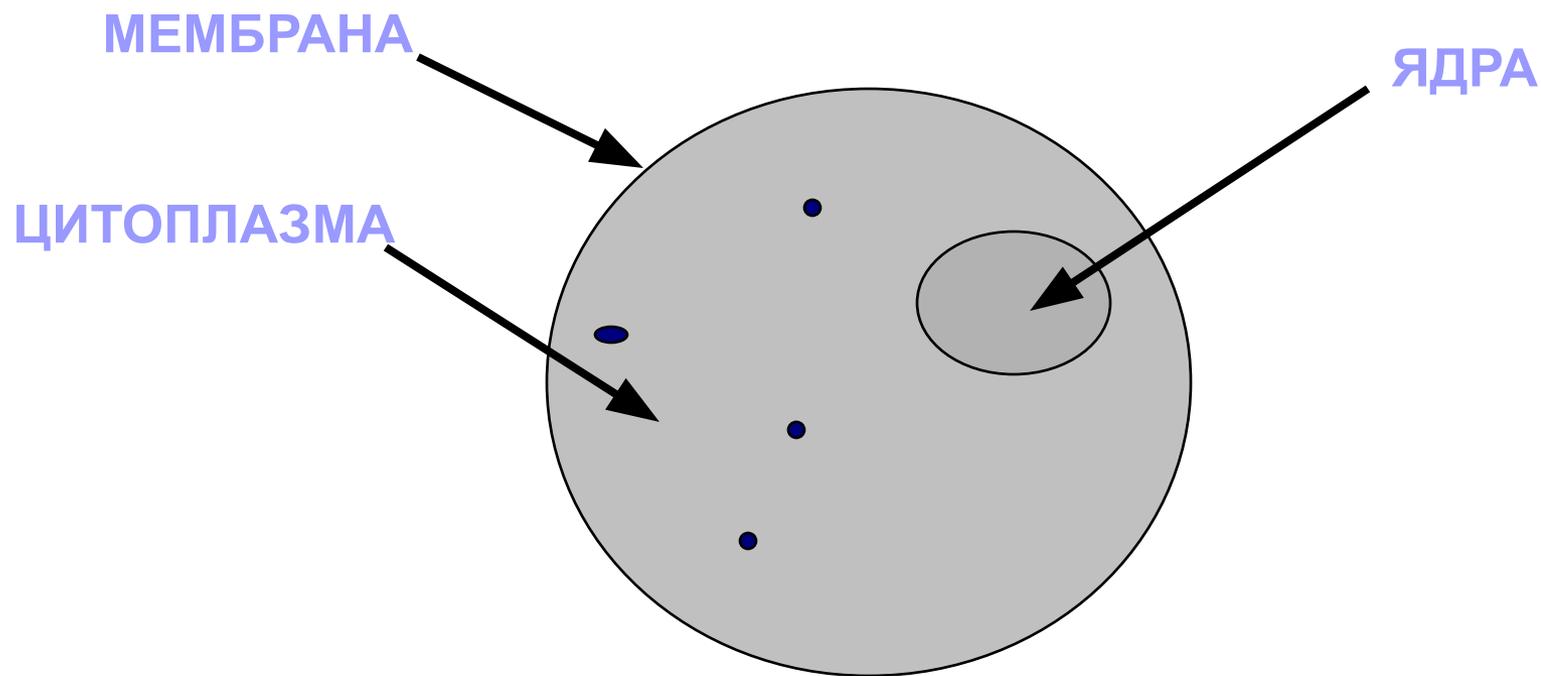
Плазма

(с антикоагулянтом)

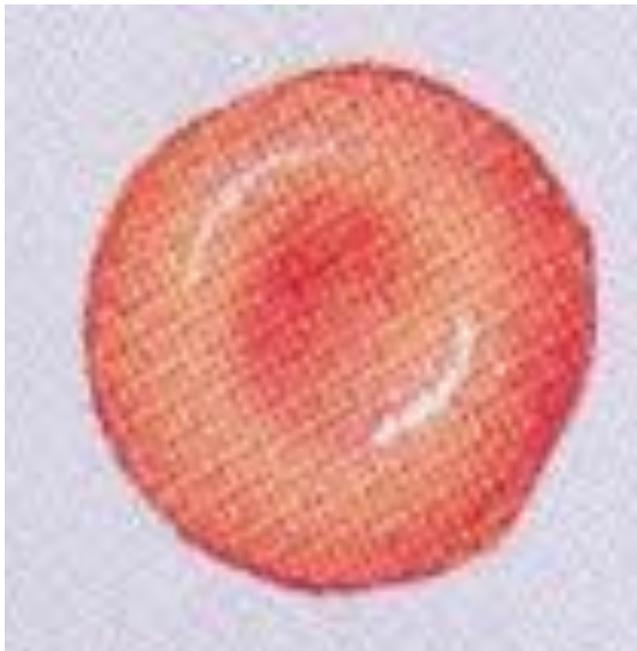
Сыворотка

(без антикоагулянта)

СТРУКТУРА КЛЕТКИ



Эритроциты



Двояковогнутый диск

Безъядерные

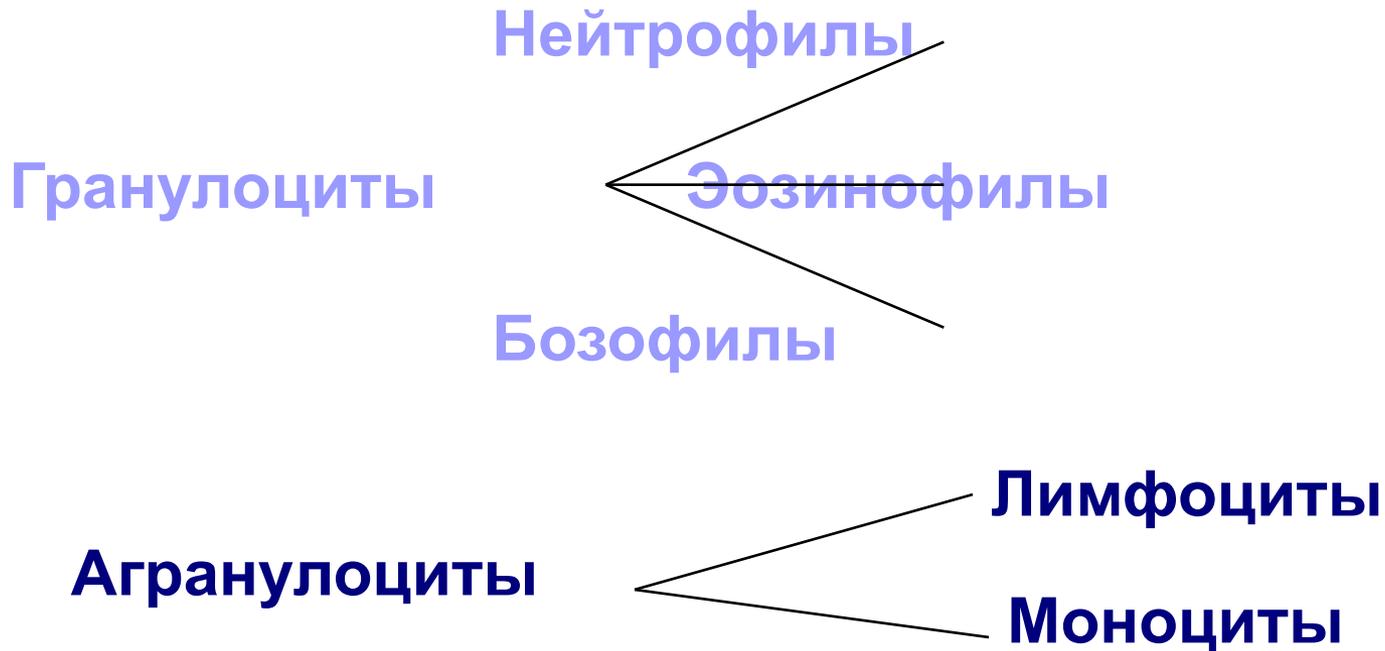
Содержат гемоглобин

7.5 мкм в диаметре

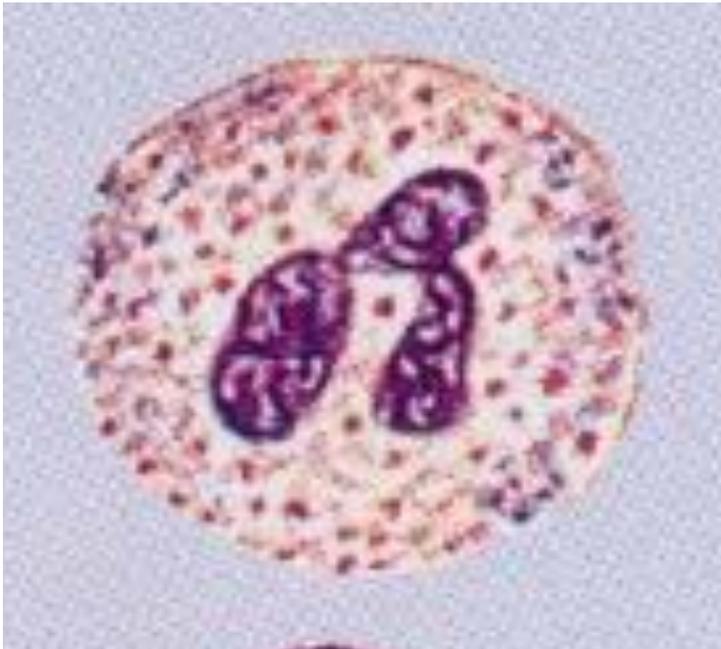
4.5×10^6 клеток/ мкл

Лейкоциты

4-11x10³ клеток/мкл



Нейтрофилы



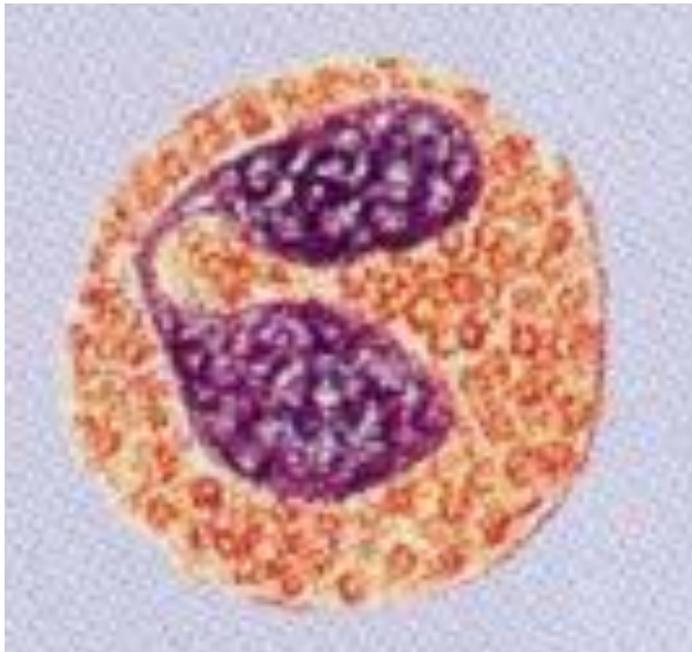
Ядро содержит 2-4 доли

**Красновано-сиреневые /
розовые гранулы**

10 – 12мкм в диаметре

**40-70% от общего числа
лейкоцитов**

Эозинофилы



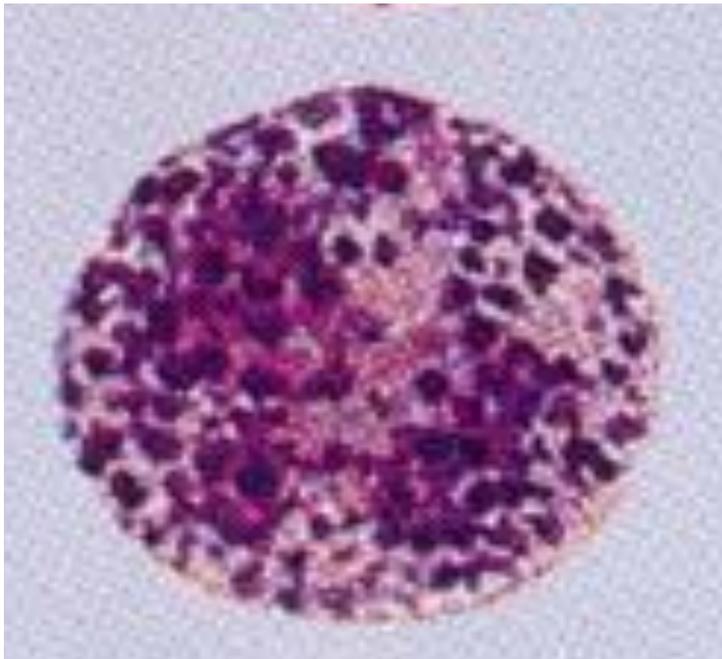
Двудольные ядра

Оранжевые и красные гранулы

11 – 14мкм в диаметре

**1-6% от общего числа
лейкоцитов**

Базофилы



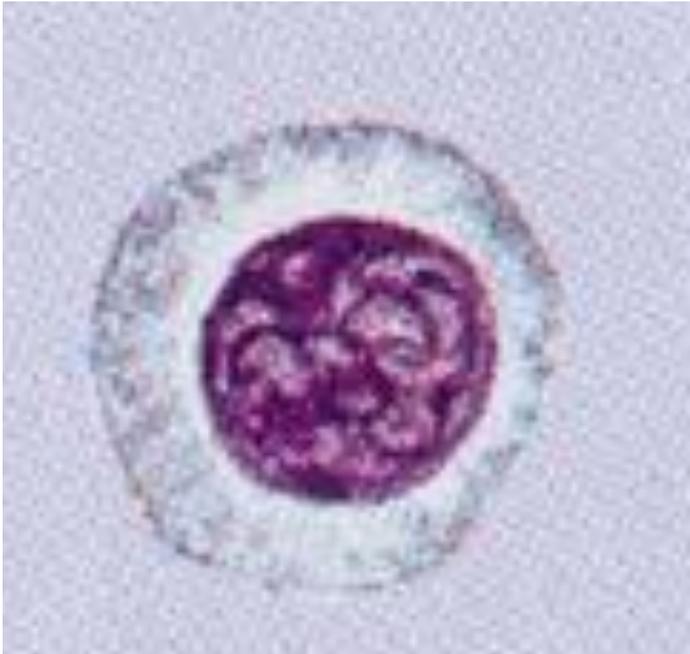
2 нечетких доли

Синие и фиолетовые гранулы

10 – 12мкм в диаметре

**<1% от общего числа
лейкоцитов**

Лимфоциты



Круглые ядра

6-14мкм в диаметре

**20-25% от общего числа
лейкоцитов**

Моноциты



**Круглые, фасоле- и
подковообразные ядра**

12-20мкм в диаметре

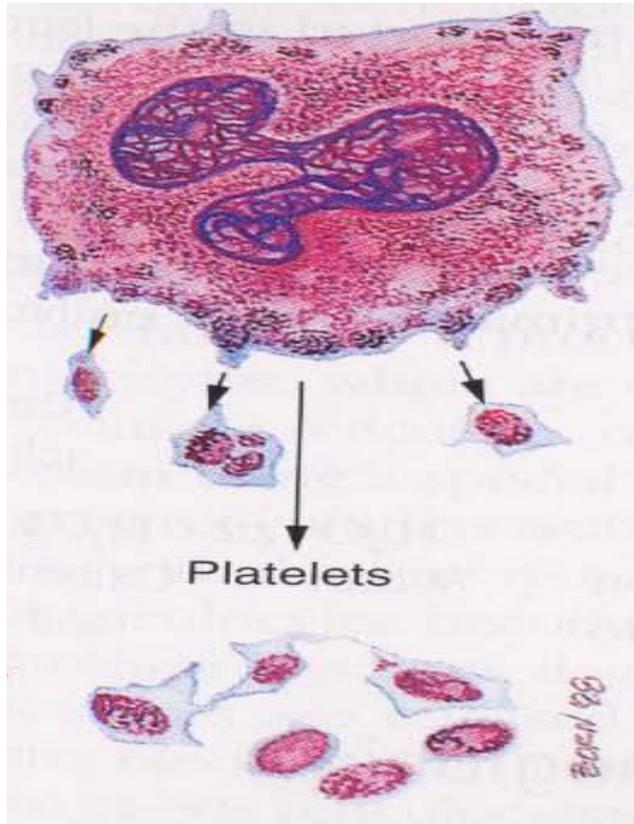
**2-10% от общего числа
лейкоцитов**

Тромбоциты

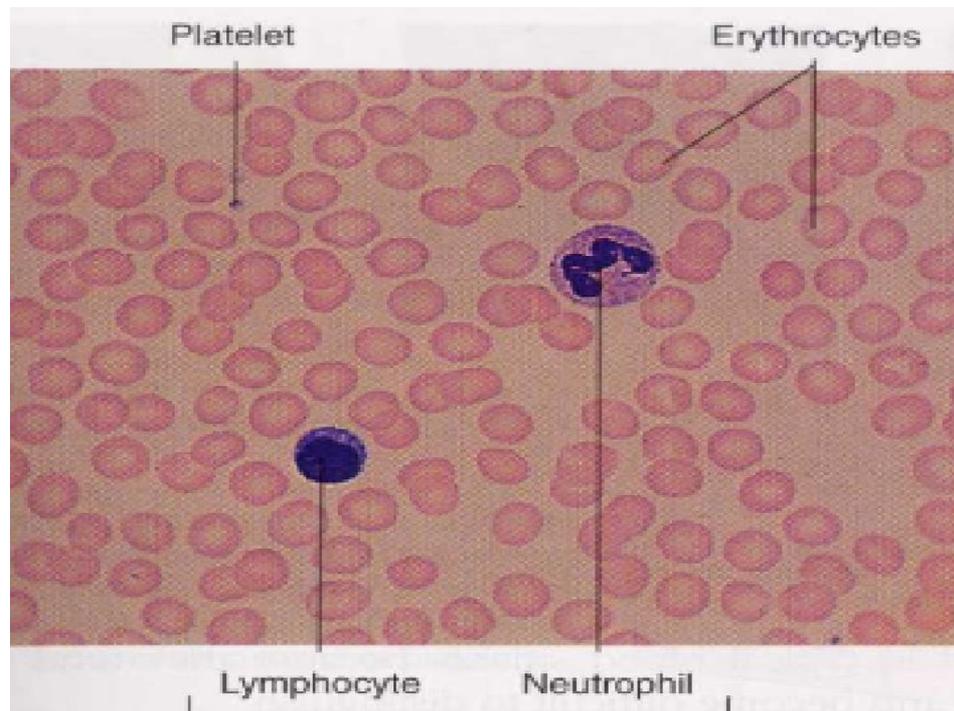
Образованы от мегакариоцитов

Фрагменты окружены плазмой

2 – 4мкм в диаметре



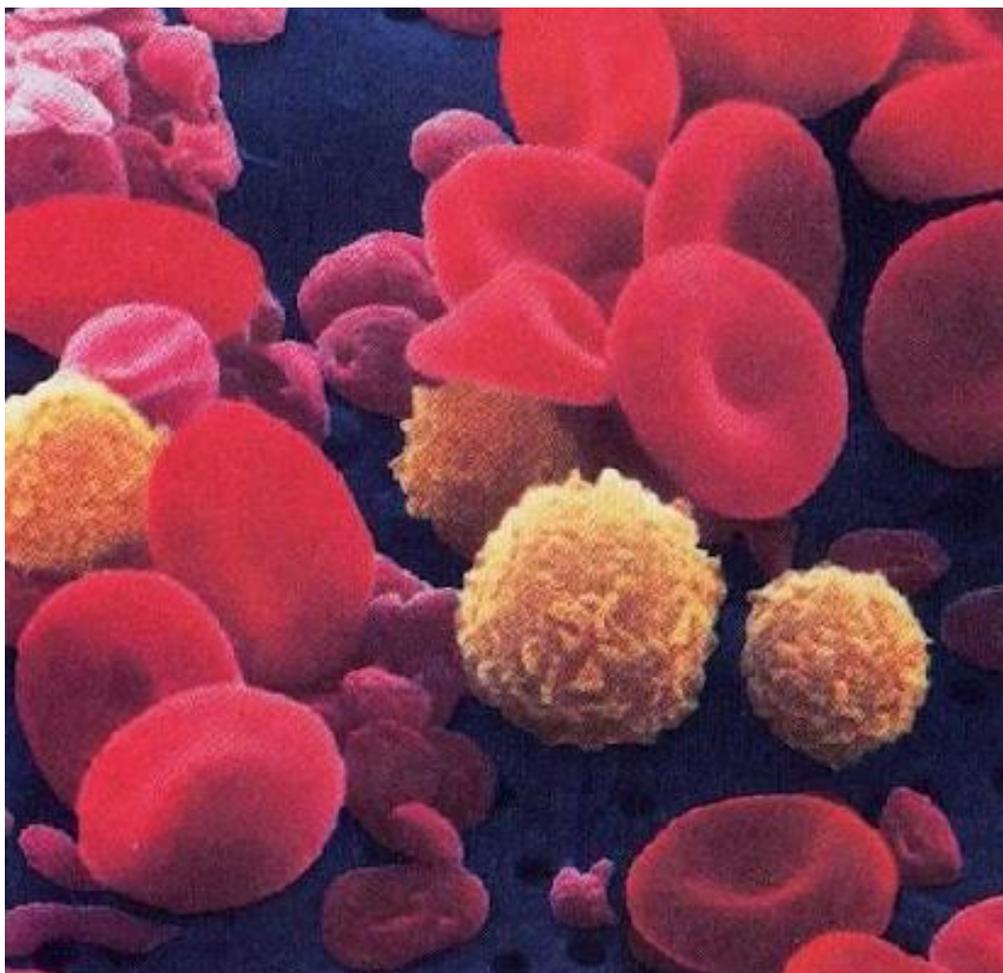
Вид под микроскопом



Основные измеряемые параметры клеток крови

- WBC (white blood cells) — абсолютное содержание лейкоцитов (норма $4,5—11 \times 10^9$ кл/л);
- RBC (red blood cells) — абсолютное содержание эритроцитов (норма $4,3—5,7 \times 10^{12}$ кл/л);
- HGB (Hb, hemoglobin) — концентрация гемоглобина в цельной крови (норма 132—173 г/л).
- HCT (hematocrit) — гематокрит (норма 0,39—0,49);
- PLT (platelets) — абсолютное содержание тромбоцитов (норма $150—400 \times 10^9$ кл/л);

Электронный микроскоп



Основные измеряемые параметры эритроцитов и тромбоцитов

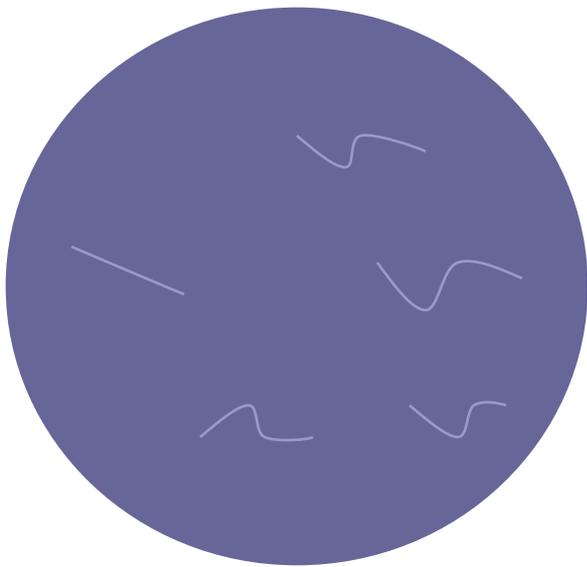
Эритроцитарные индексы (MCV, MCH, MCHC):

- MCV — средний объём эритроцита в кубических микрометрах (мкм) или фемтолитрах (фл)(норма 80—95 фл).
- MCH — среднее содержание гемоглобина в отдельном эритроците в абсолютных единицах (норма 27—31 пг).
- MCHC — средняя концентрация гемоглобина в эритроците (норма 330—370 г/л), отражает степень насыщения эритроцита гемоглобином.

Тромбоцитарные индексы (MPV, PDW, PCT):

- MPV (mean platelet volume) — средний объём тромбоцитов (норма 7—10 фл).
- PDW — относительная ширина распределения тромбоцитов по объёму, показатель гетерогенности тромбоцитов.
- PCT (platelet crit) — тромбокрит (норма 0,108—0,282), доля (%) объёма цельной крови, занимаемую тромбоцитами.

Ретикулоцит



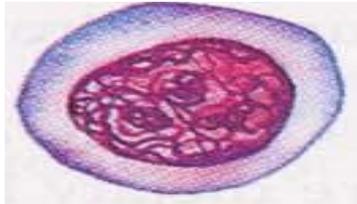
Рибонуклеиновая кислота

РНК

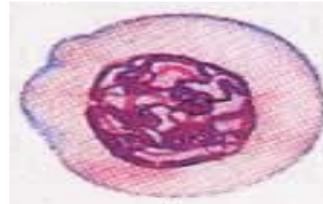
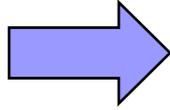
**Среднее значение 1.5% от общего
количества RBC**

Основные параметры лейкоцитов

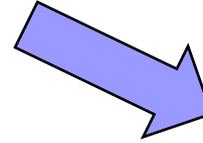
- LYM% (LY%) (lymphocyte) — относительное (%) содержание лимфоцитов.
- LYM# (LY#) (lymphocyte) — абсолютное содержание лимфоцитов.
- MXD% — относительное (%) содержание смеси моноцитов, базофилов и эозинофилов.
- MXD# — абсолютное содержание смеси моноцитов, базофилов и эозинофилов.
- NEUT% (NE%) (neutrophils) — относительное (%) содержание нейтрофилов.
- NEUT# (NE#) (neutrophils) — абсолютное содержание нейтрофилов.
- MON% (MO%) (monocyte) — относительное (%) содержание моноцитов (норма 0,04-0,11).
- MON# (MO#) (monocyte) — абсолютное содержание моноцитов (норма 0,1—0,6 10⁹ кл/л).
- EO% — относительное (%) содержание эозинофилов.
- EO# — абсолютное содержание эозинофилов.
- BA% — относительное (%) содержание базофилов.
- BA# — абсолютное содержание базофилов.
- IMM% — относительное (%) содержание незрелых гранулоцитов.
- IMM# — абсолютное содержание незрелых гранулоцитов.
- ATL% — относительное (%) содержание атипичных лимфоцитов.
- ATL# — абсолютное содержание атипичных лимфоцитов.
- GR% — относительное (%) содержание гранулоцитов.
- GR# — абсолютное содержание гранулоцитов.



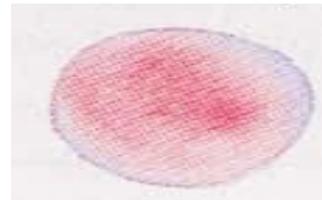
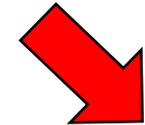
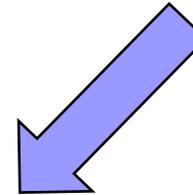
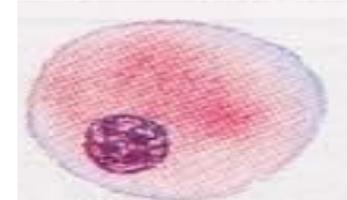
**EARLY
ERYTHROBLAST**



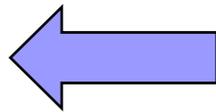
**LATE
ERYTHROBLAST**



**NUCLEATED
RED BLOOD CELL**



RETICULOCYTE

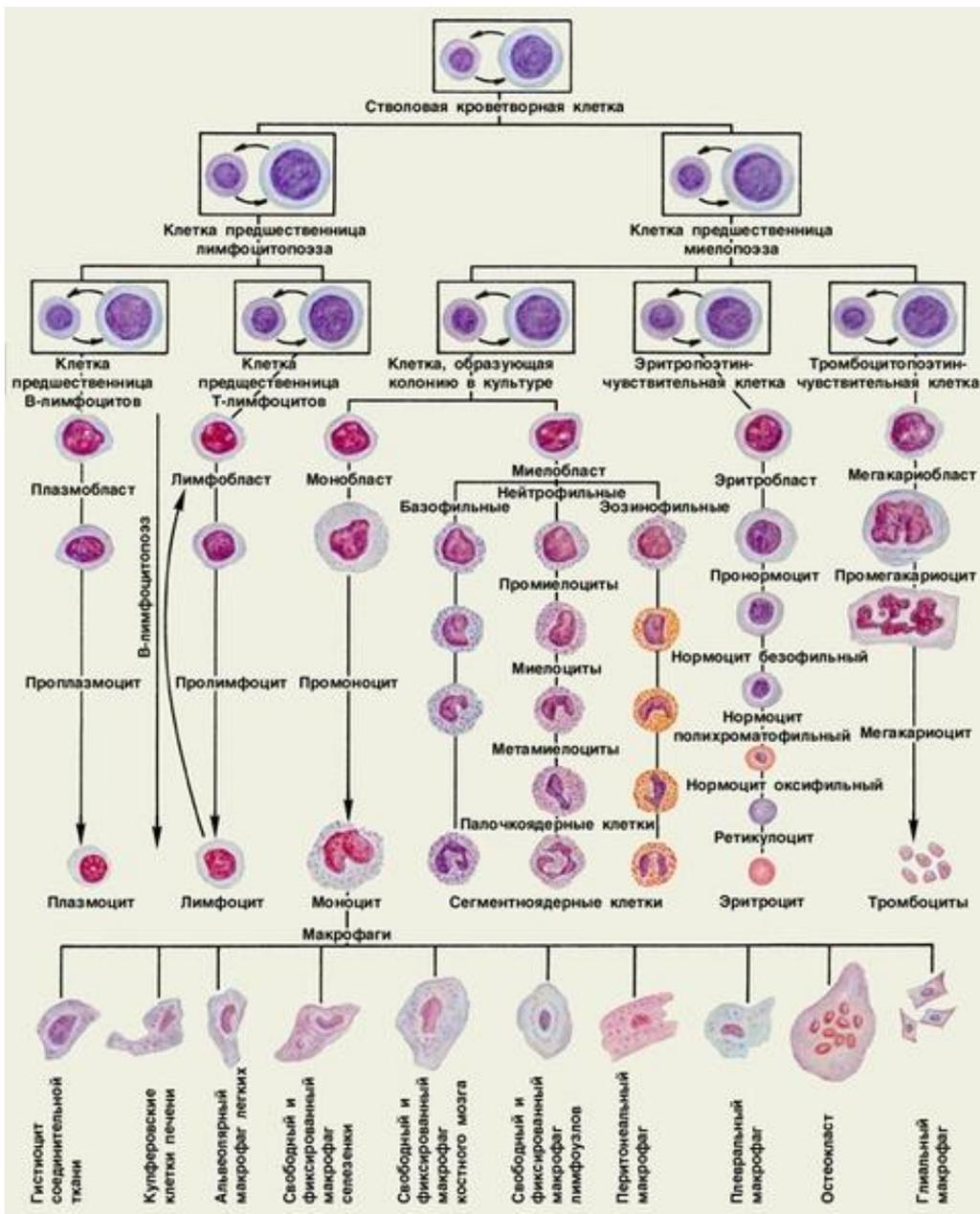


ERYTHROCYTE

Основные измеряемые параметры

- RBC/HCT — средний объем эритроцитов.
- HGB/RBC — среднее содержание гемоглобина в эритроците.
- HGB/HCT — средняя концентрация гемоглобина в эритроците.
- RDW-SD — относительная ширина распределения эритроцитов по объёму, стандартное отклонение.
- RDW-CV — относительная ширина распределения эритроцитов по объёму, коэффициент вариации.
- P-LCR — коэффициент больших тромбоцитов.
- RDW — анизоцитоз эритроцитов, рассчитывается как коэффициент вариации среднего объема эритроцитов (норма 11,5-14,5 %), характеризует колебания объёма эритроцитов и улавливается прибором значительно быстрее, чем при визуальном просмотре мазка крови.
- СОЭ (скорость оседания эритроцитов) — неспецифический индикатор патологического состояния организма (норма 0—10 мм/час).

Гемопозэ



Параметры

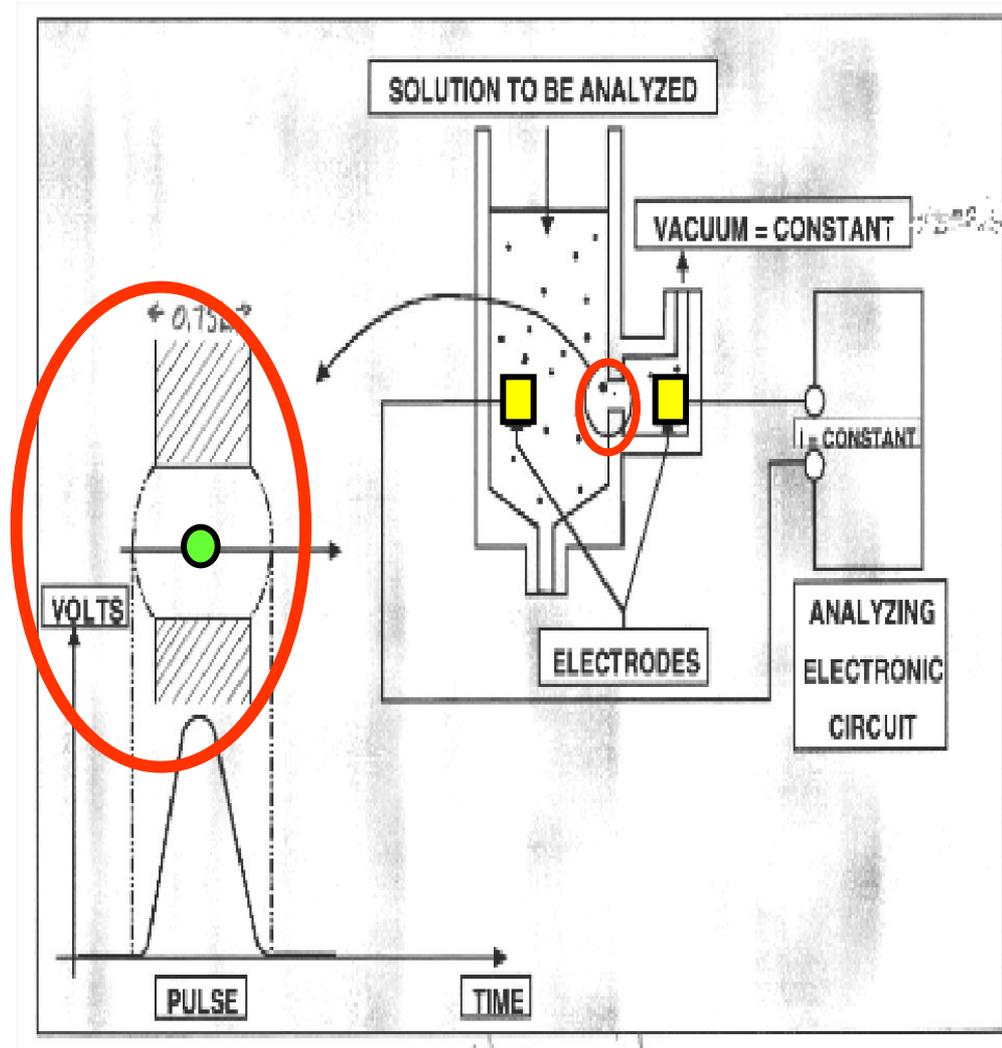
Параметр	Аббревиатура	Международные единицы	Единицы СИ
Лейкоциты	WBC	$10^3/\text{mm}^3$	$10^9/\text{L}$
Лимфоциты	Lym	$10^3/\text{mm}^3$	$10^9/\text{L}$
Клетки средних размеров	Mid	$10^3/\text{mm}^3$	$10^9/\text{L}$
Гранулоциты	Grn	$10^3/\text{mm}^3$	$10^9/\text{L}$
Эритроциты	RBC	$10^6/\text{mm}^3$	$10^{12}/\text{L}$
Гемоглобин	Hb	g/dL	g/L
Гематокрит	Hct	%	L/L
Средний объем эритроцита	MCV	fL	fL
Ширина распределения эритроцитов	RDW	%	%
Среднее содержание гемоглобина в эритроците	MCH	pg	mL/L
Средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах	MCHC	g/dL	g/L
Тромбоциты	Plt	$10^3/\text{mm}^3$	$10^9/\text{L}$
Средний объем тромбоцита	MPV	fL	fL
Ширина распределения тромбоцитов	PDW	%	%

Методы подсчета клеток

- **Микроскопия**
- **Кондуктометрия (импедансометрия)**
- **Оптический метод**

Кондуктометрия (импедансометрия)

- Стабилизированный ток между двумя электродами в дилуенте
- Electrodes are connected through an aperture (80 μ for WBC, 50 μ for RBC and PLT)
- Cells, passing through the aperture, break the circuit
- Cell sizes are determined from signals and their quantity



Проблемы метода

Проблема 1: Совпадения

Более одной частицы проходит через апертурное отверстие в одно и то же время

Это может привести к следующим последствиям:

- a) Занижение количества клеток (две клетки посчитаны как одна)
- b) Несколько малых клеток посчитаны, как большая (расчет MCV будет ошибочным)

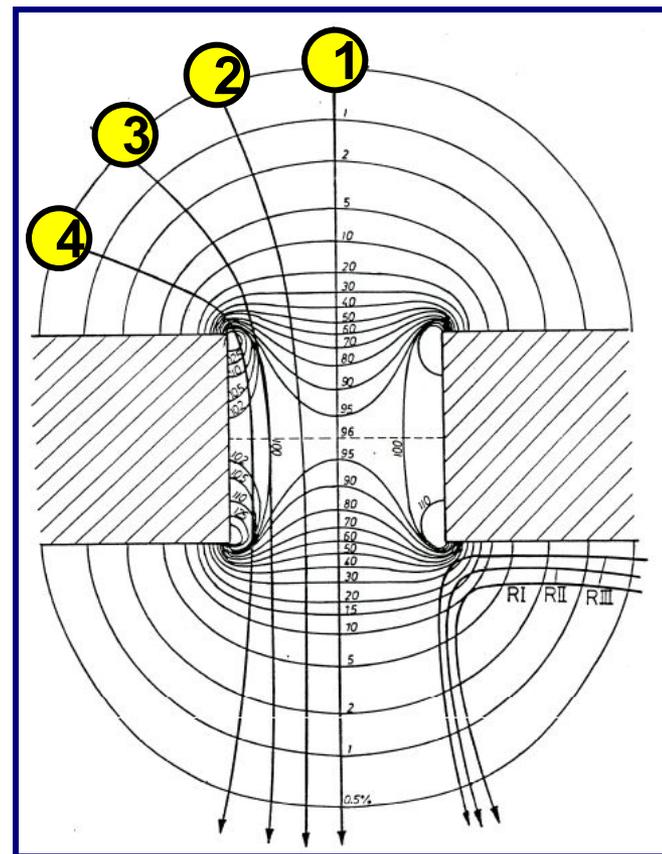
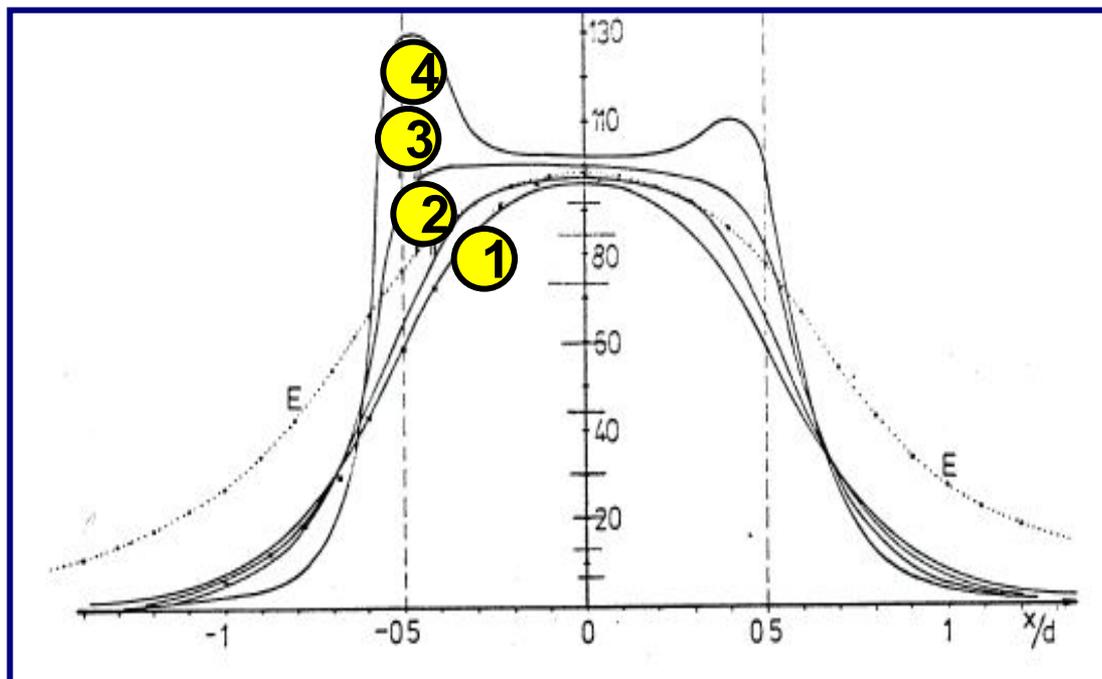
Решение:

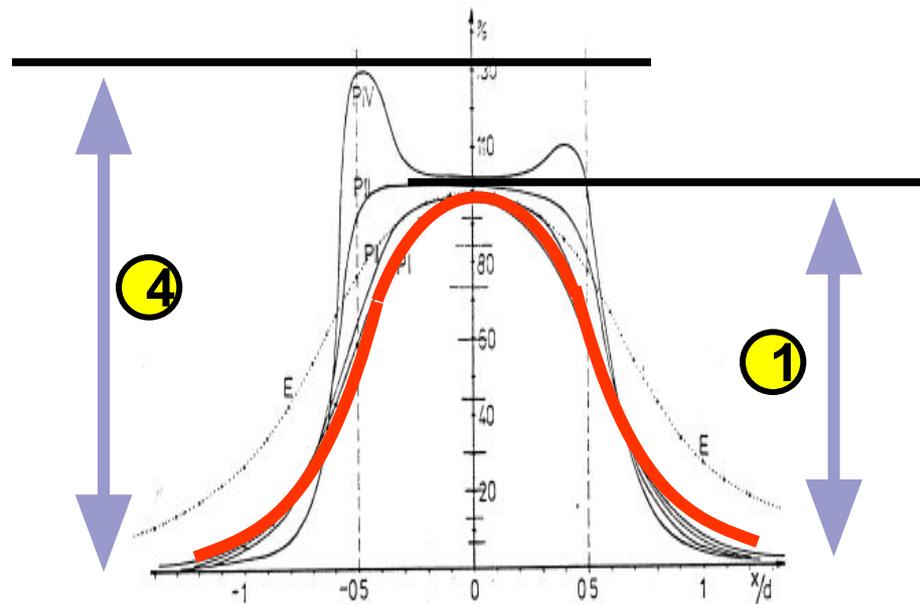
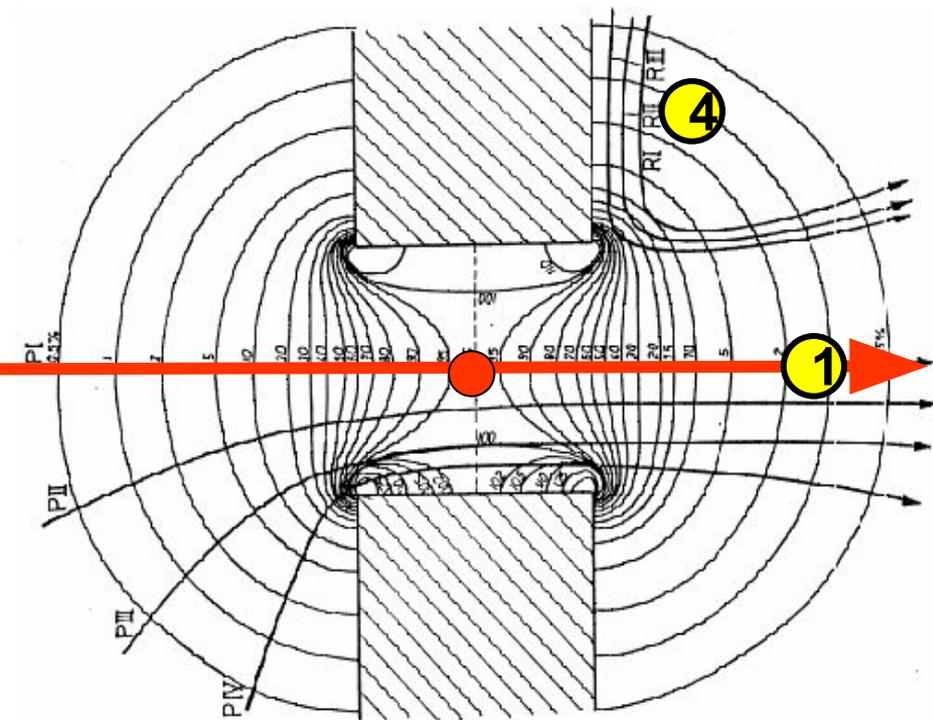
1. Традиционно регистрация и корректировка данных ошибок осуществляется программно при помощи математических выкладок.
2. Используются специальные аппаратные решения на разных приборах различных фирм-изготовителей

Проблема 2:

Клетки одинакового размера вызывают различные импульсы.

Это зависит от зоны прохождения клетки через апертурное отверстие



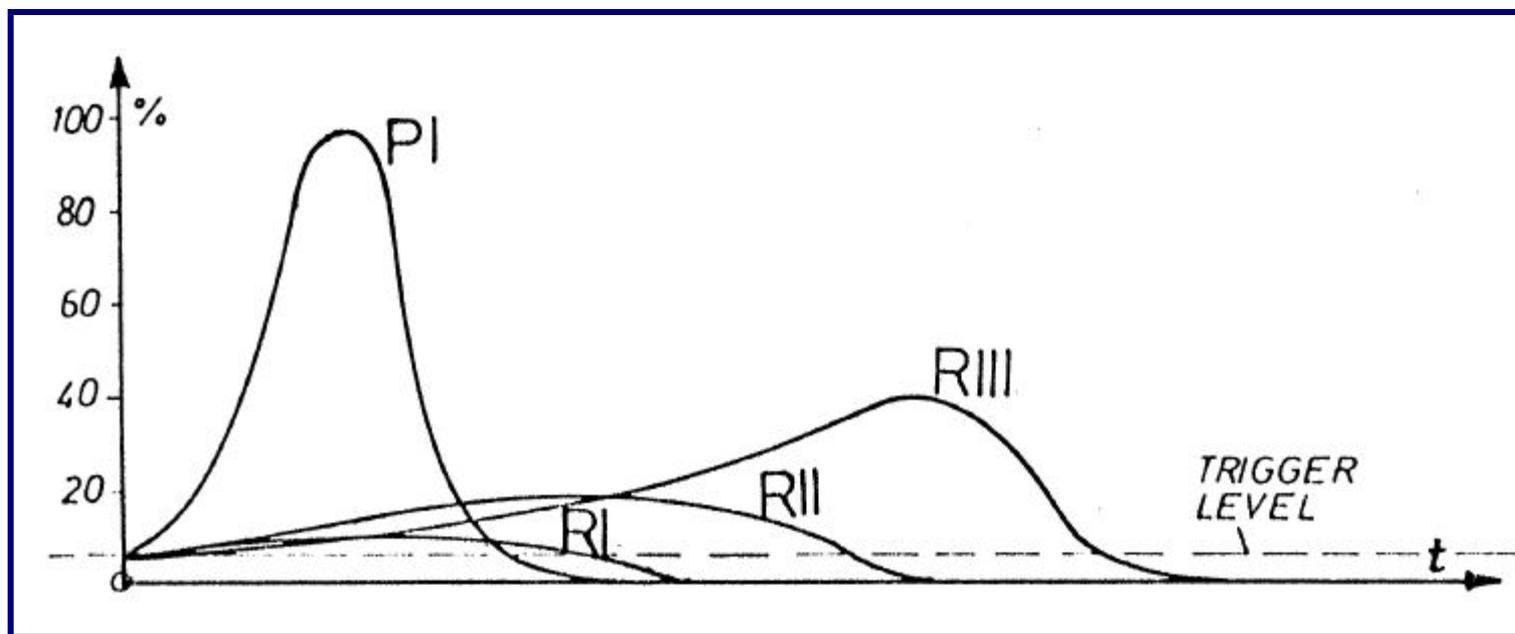


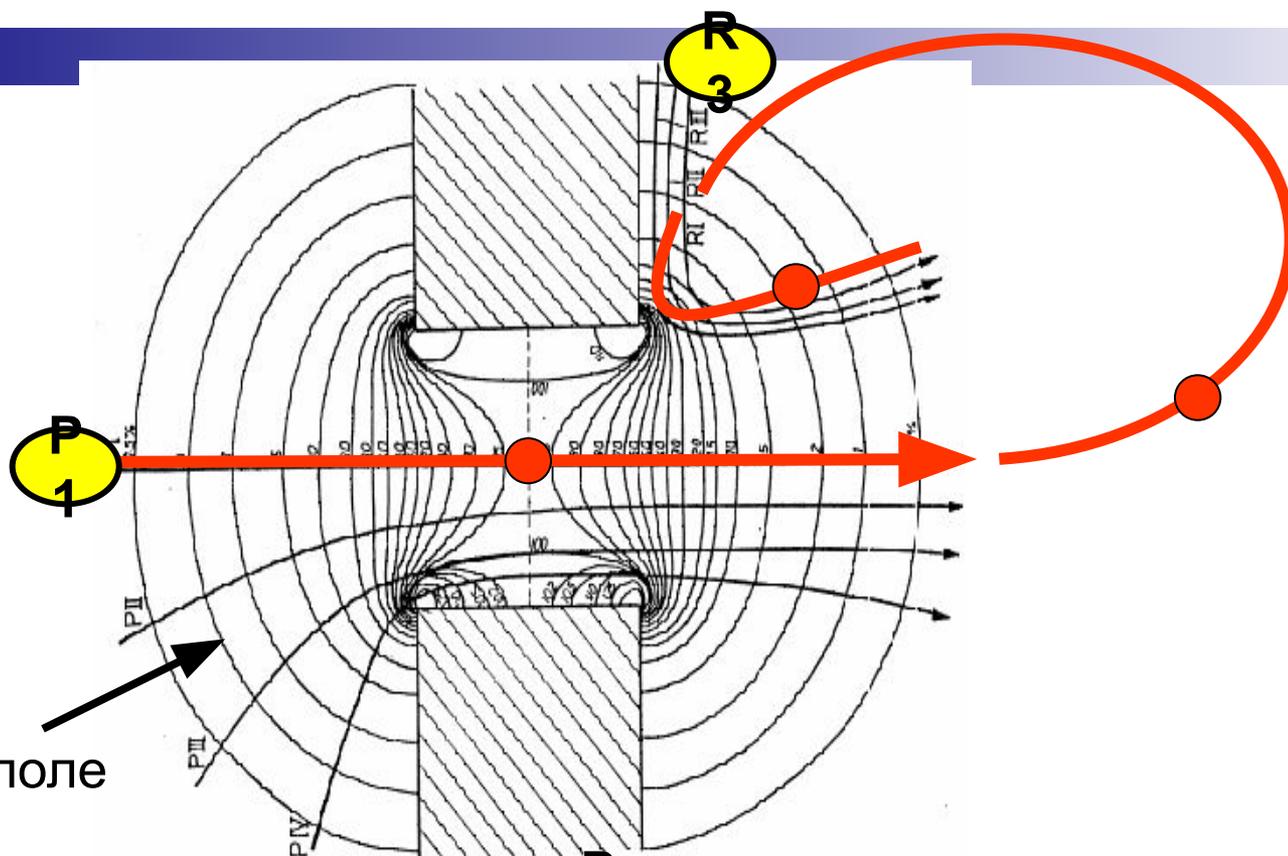
Решение:

Программное редактирование импульсов неравномерной формы.

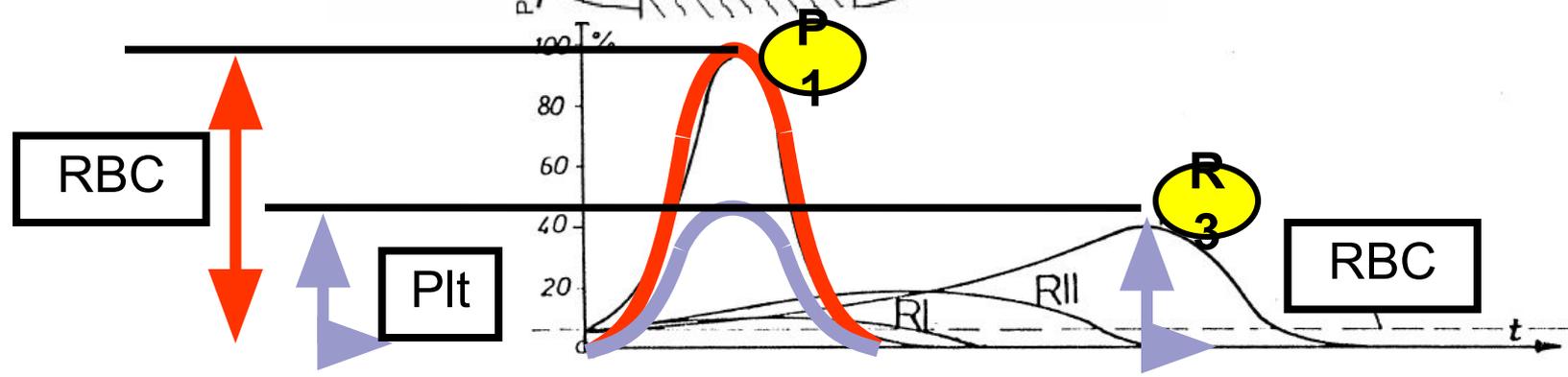
Проблема 3: Рециркуляция

Когда эритроцит проходит через апертерное отверстие, он может попасть в вихревое поле, что становится причиной его повторного прохождения через электрическое поле, что вызывает другой импульс





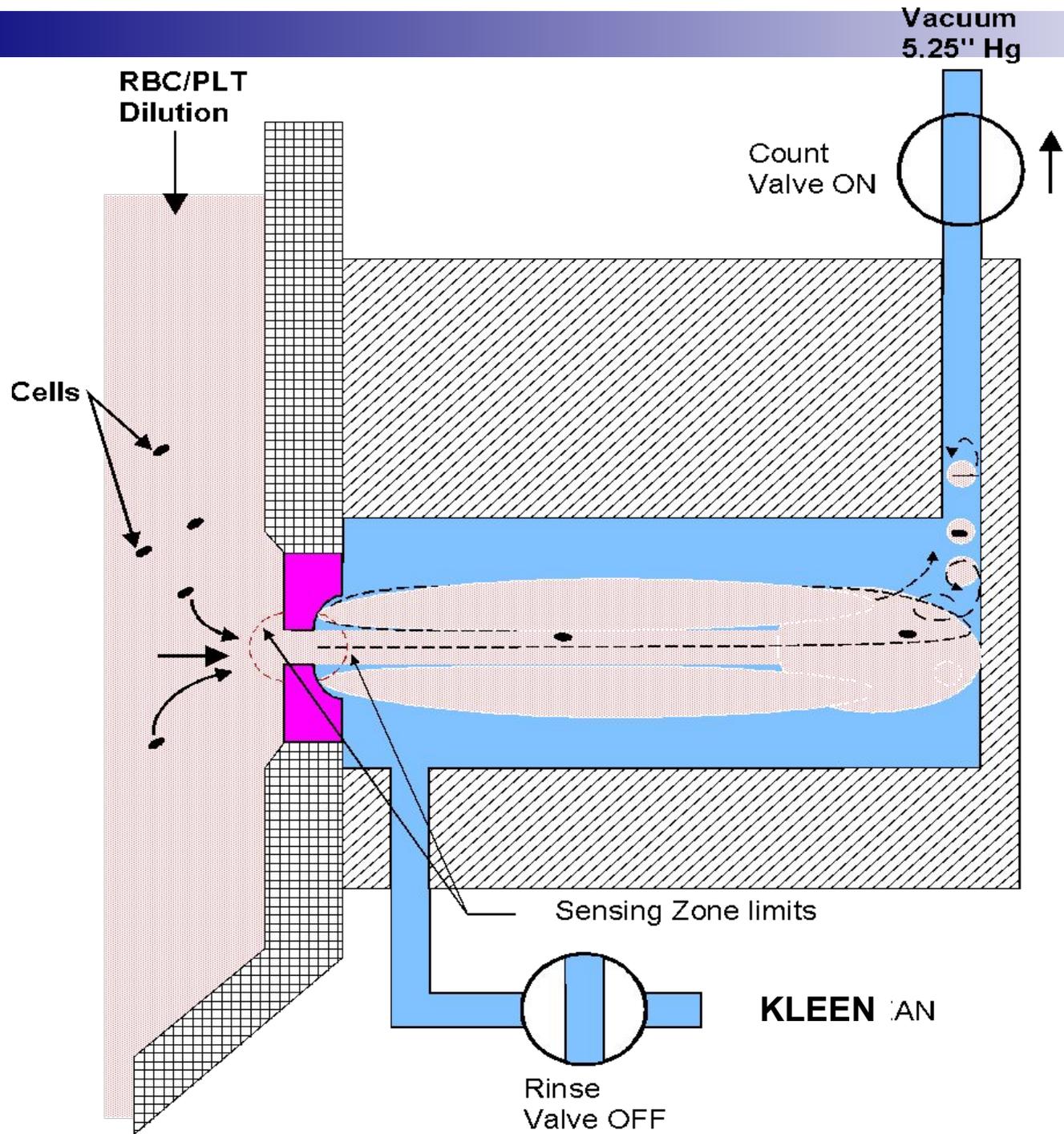
Электрическое поле

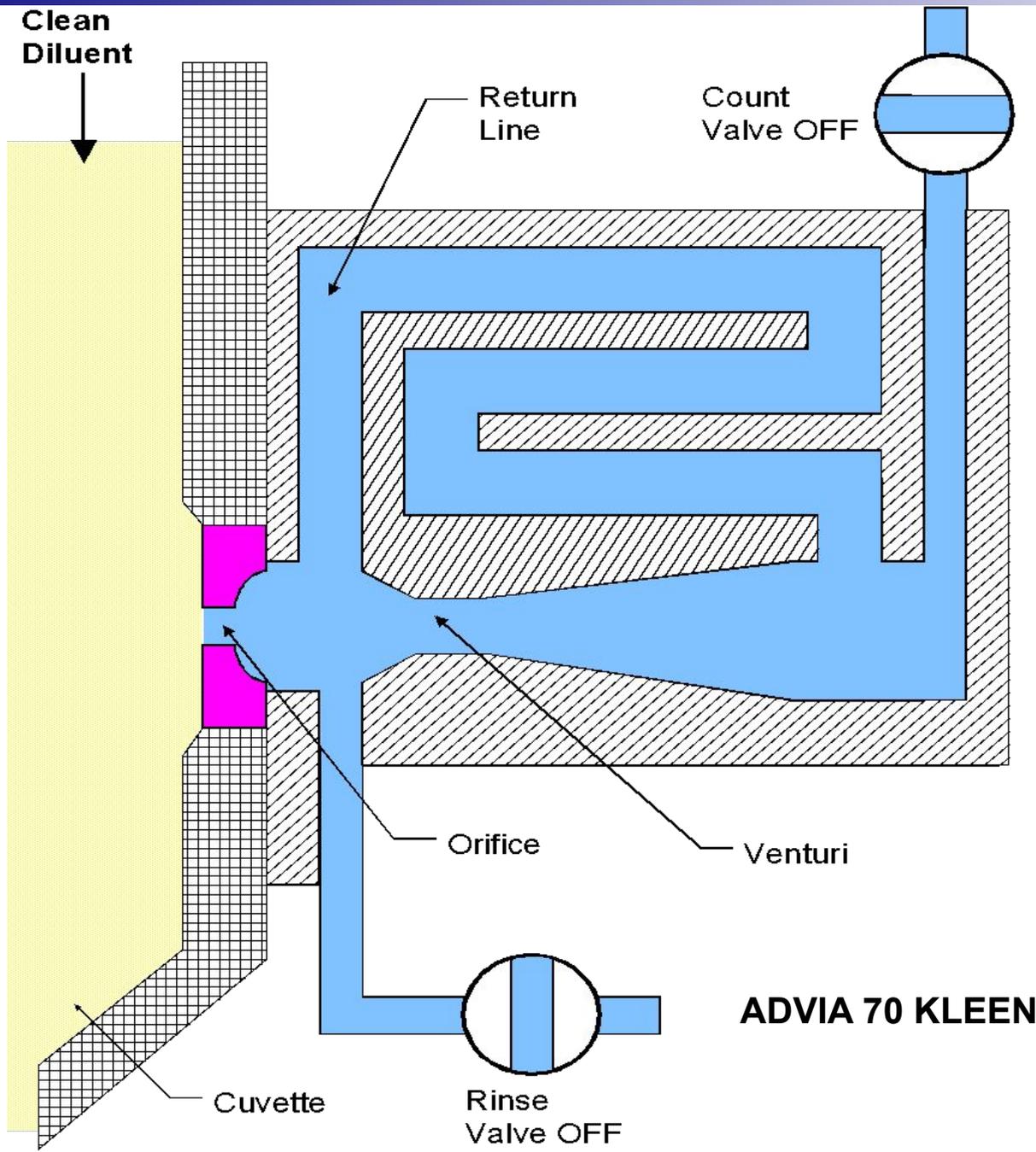


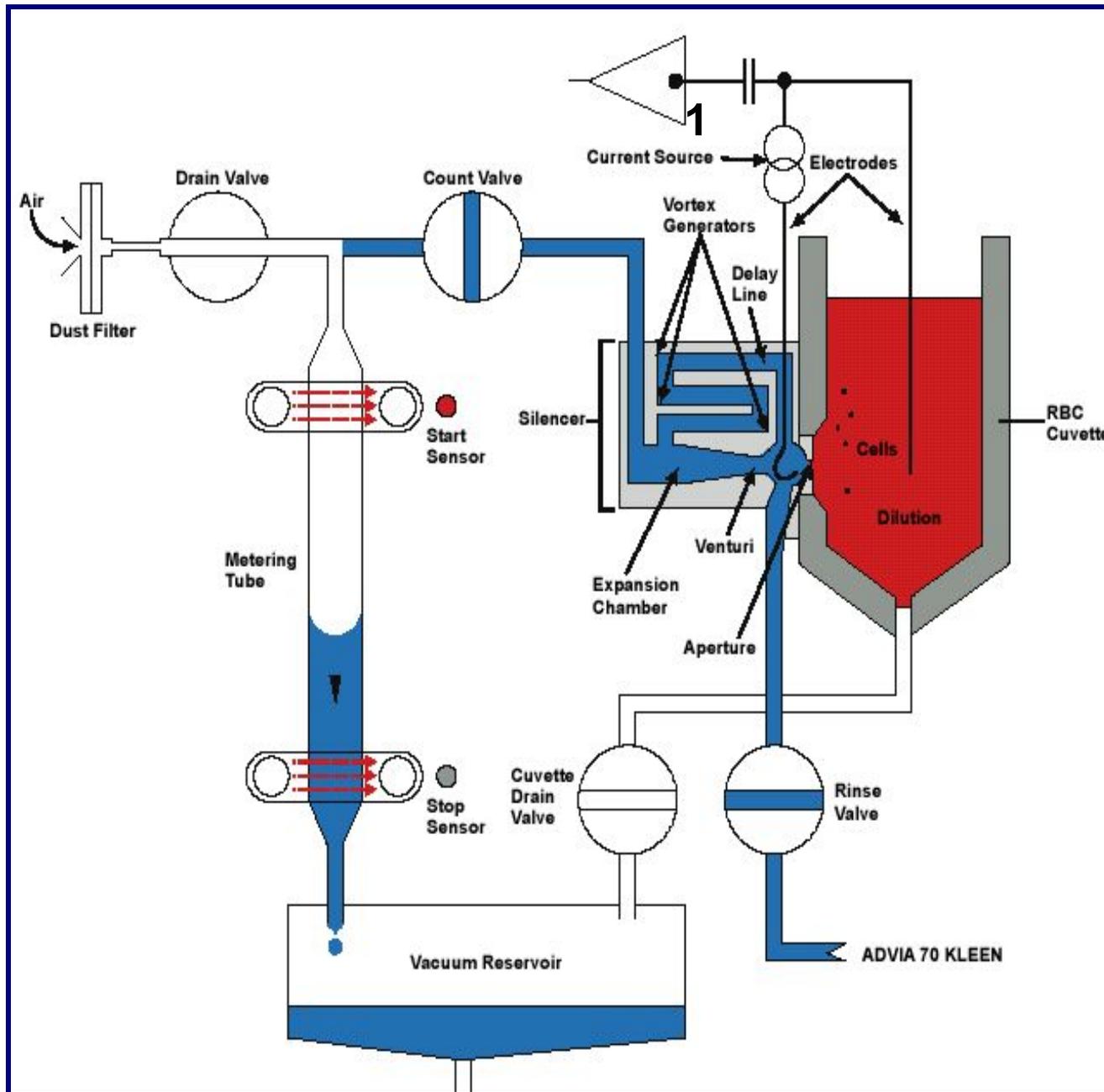
Диапазон между наименьшим тромбоцитом и
наибольшим эритроцитом: **3fL -110fL**

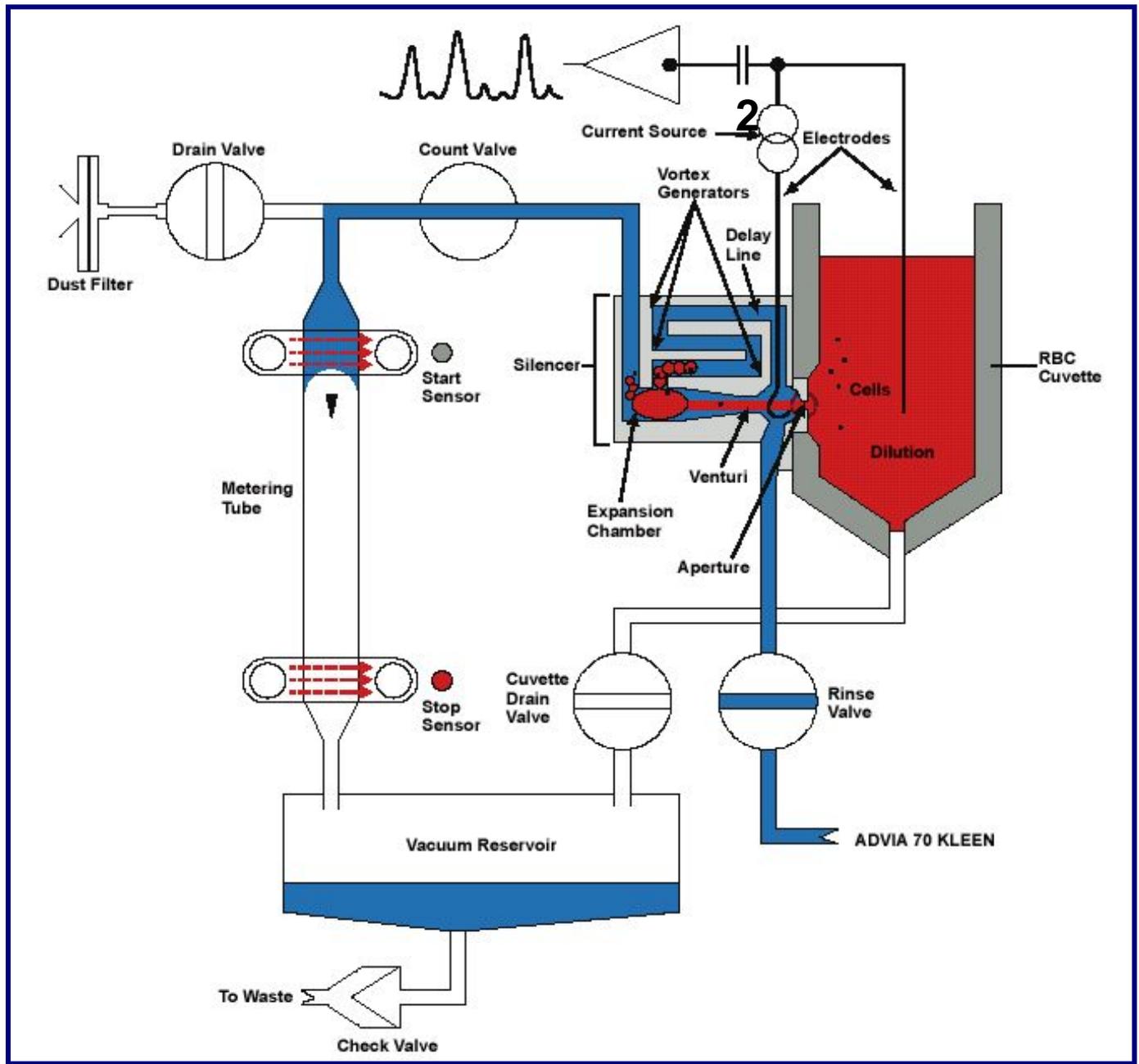
Решение:

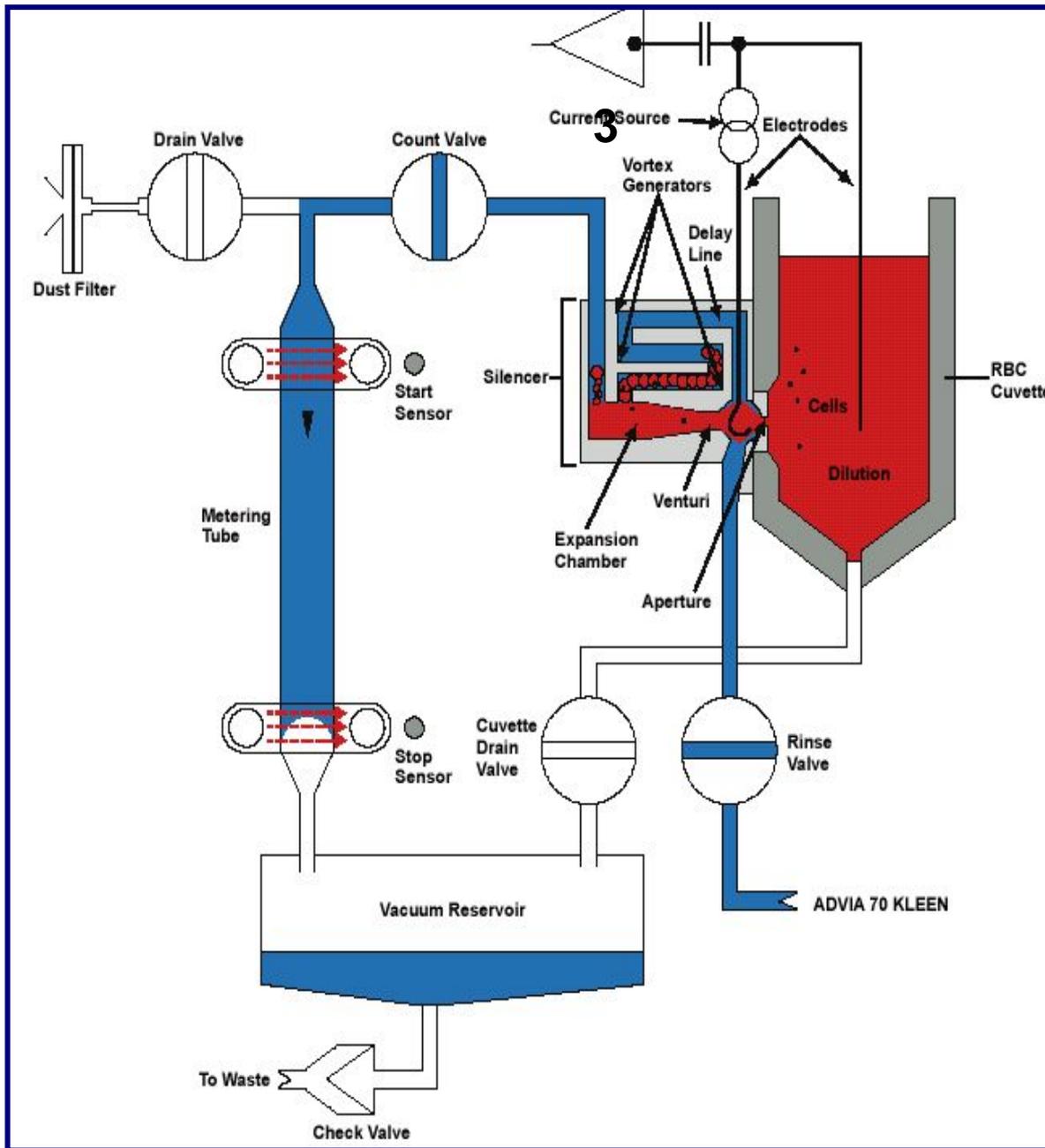
Эта проблема решается при помощи *глушителя Беренса*.
(ADVIA70, EXELL22, COUNTENDER80+)

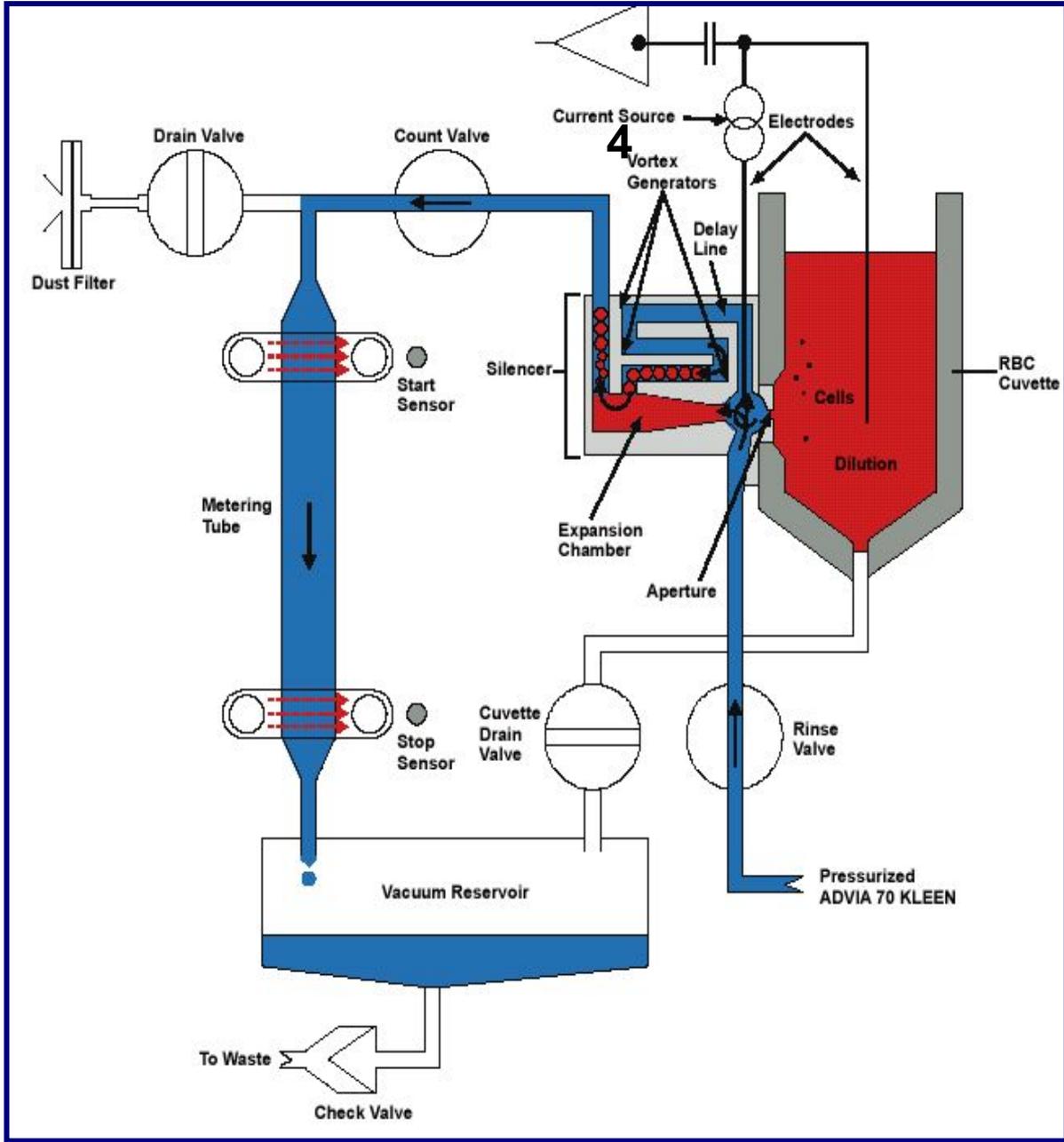


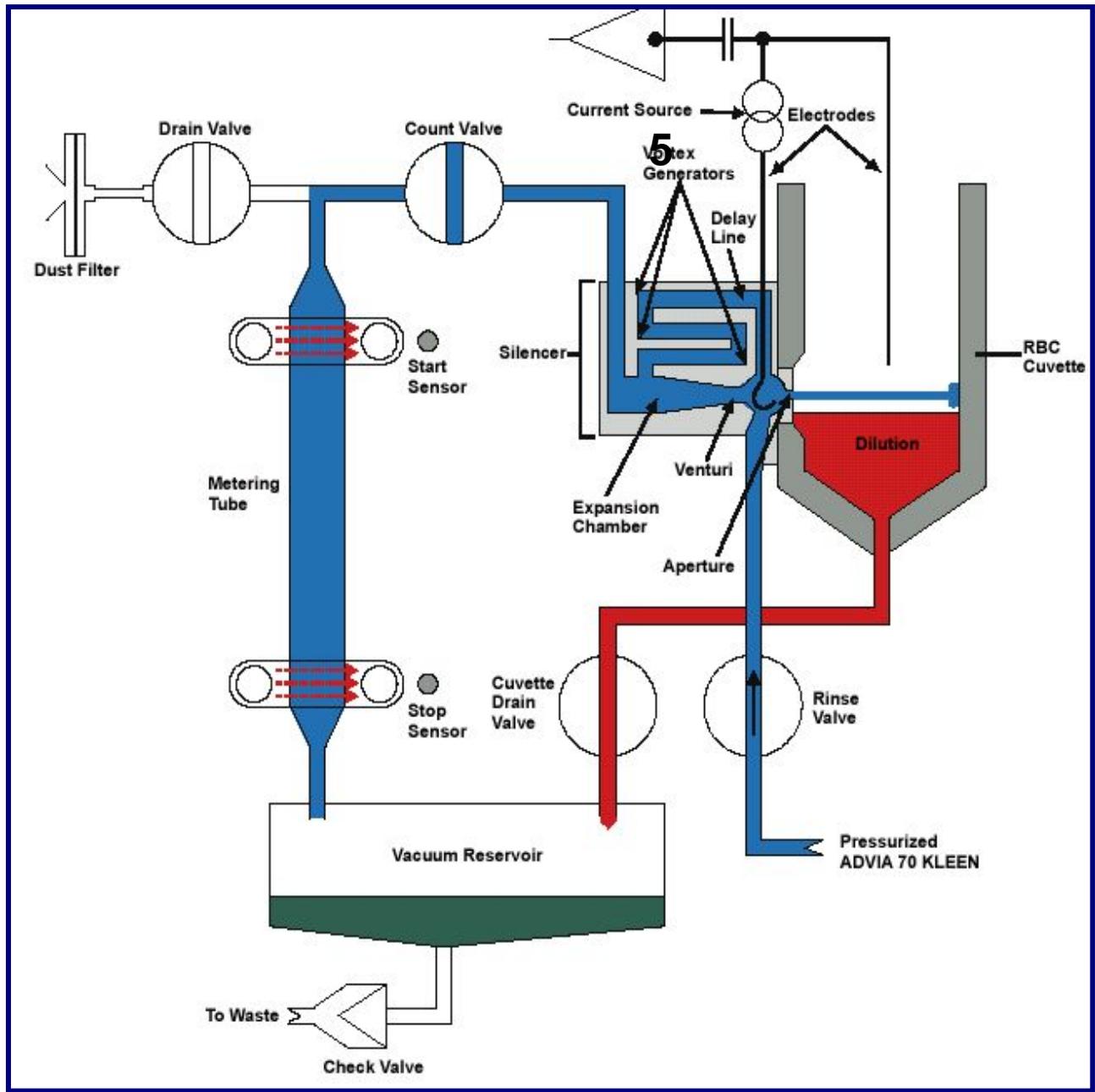


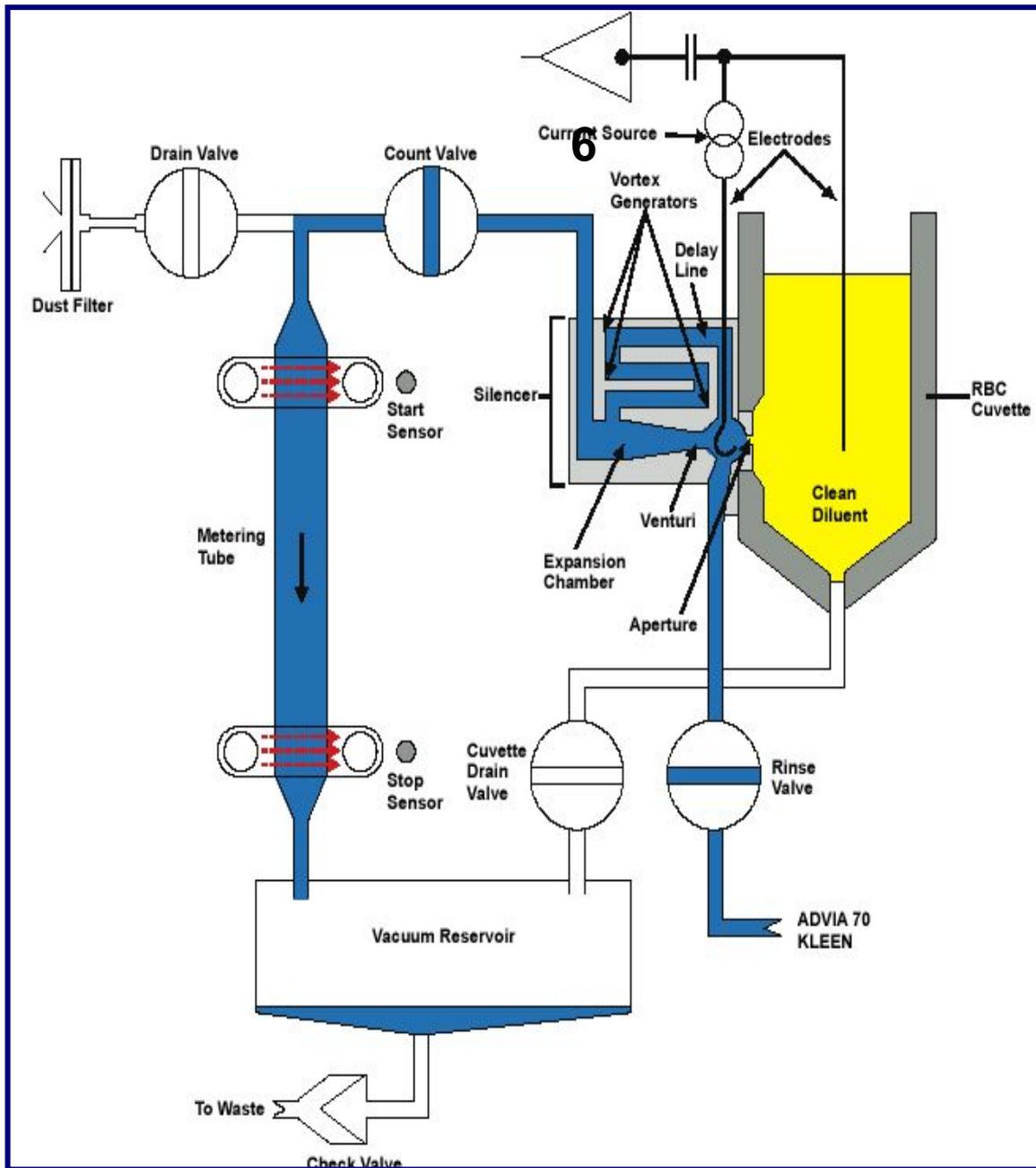




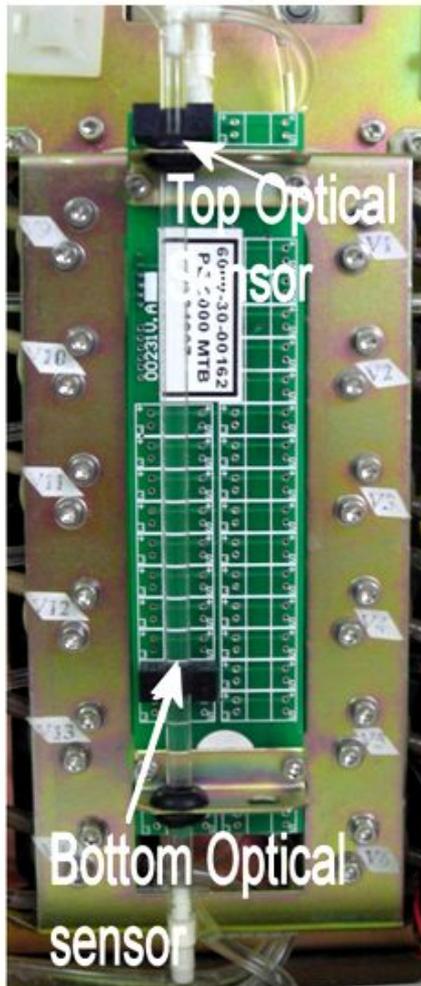








Измерительная трубка



При использовании измерительной трубки контролируется не только время измерения, но и объем пробы, прошедший через апертурное отверстие.

Измерительные камеры

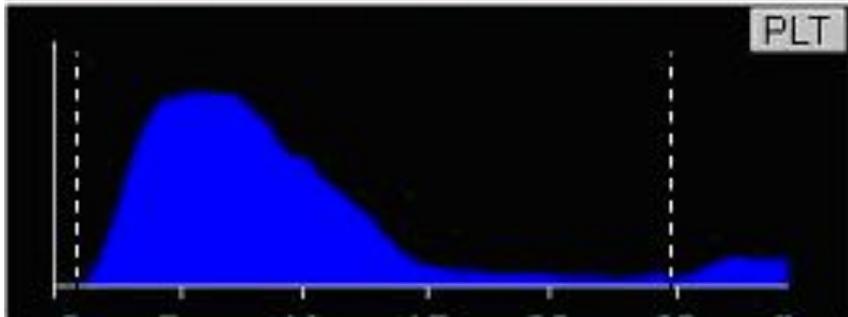
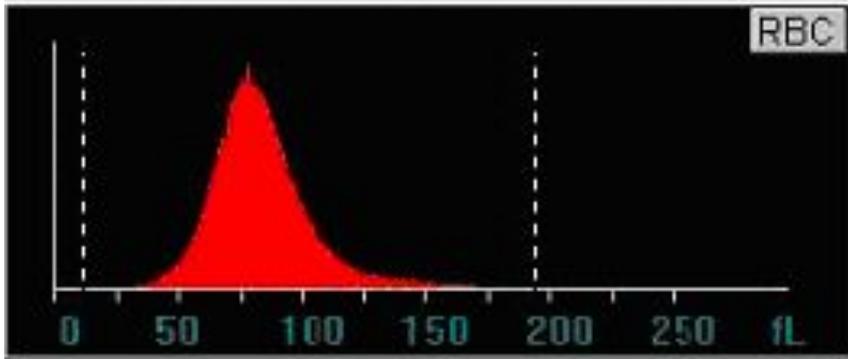
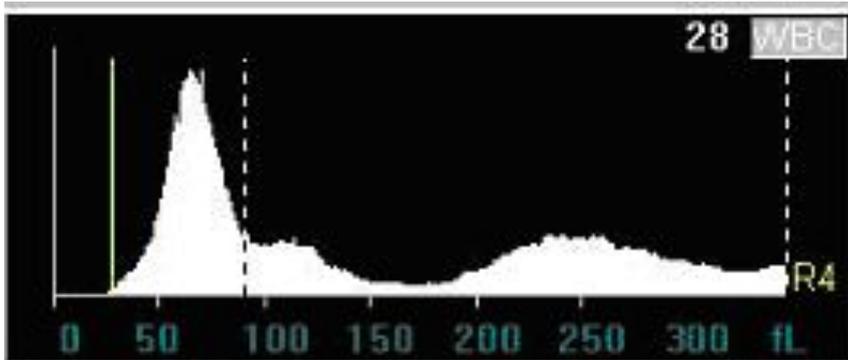
Перемешивание пузырьками воздуха



Механическое перемешивание

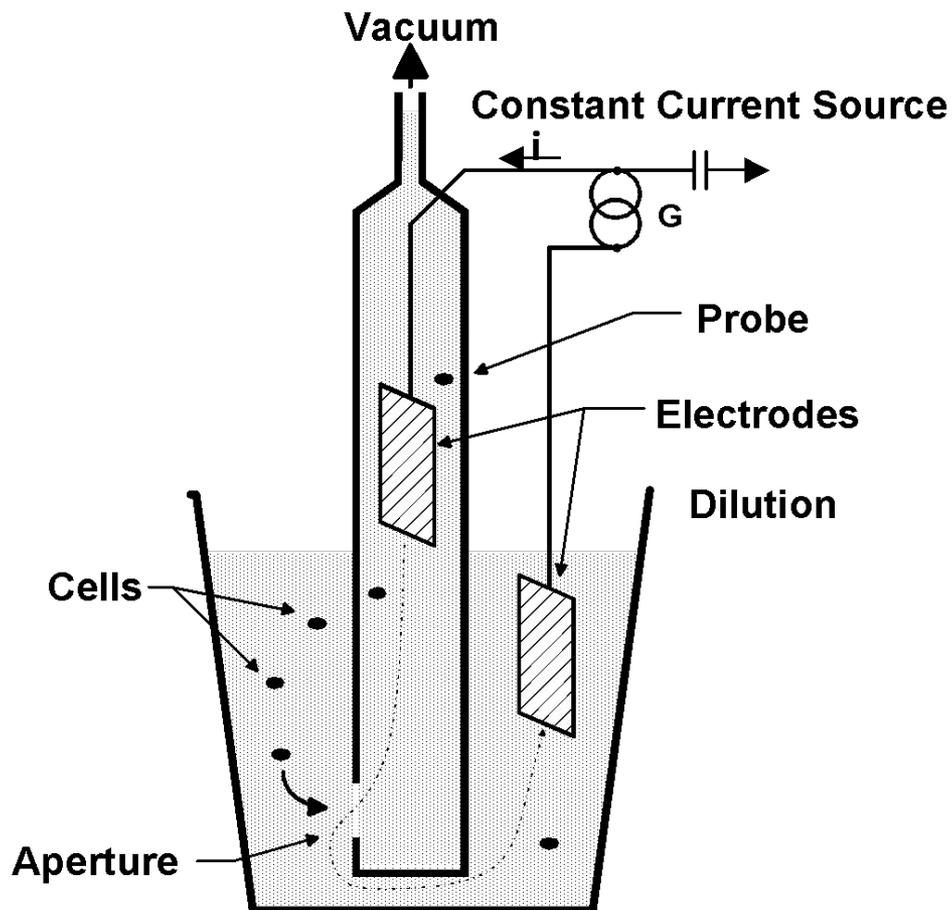


Гистограммы

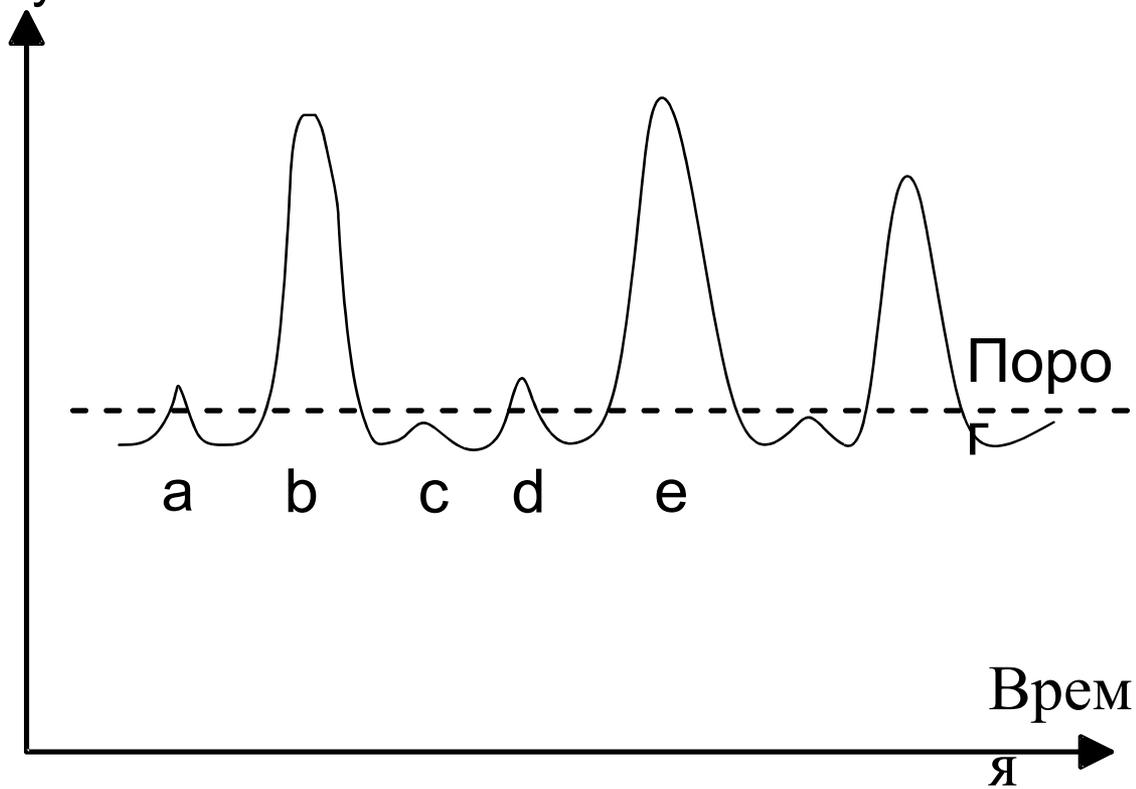


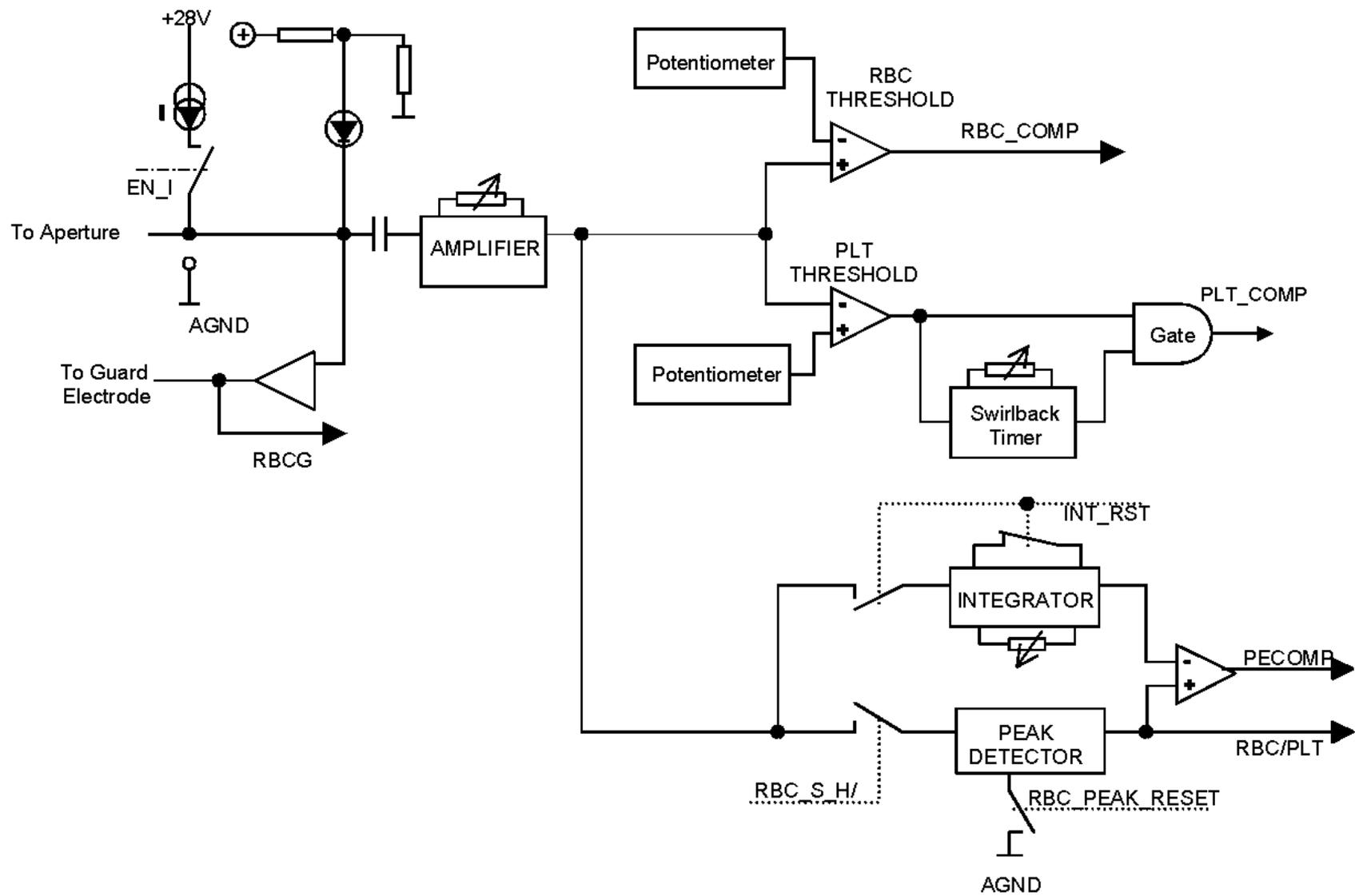
- Wbc 30 - 460 фл
 - Rbc 25 - 300 фл
 - Plt 2 - 33 фл
-
- Lymphocytes 30 - 100 фл
 - Monocytes 100 - 150 фл
 - Granulocytes 150 - 460 фл

Импедансный метод подсчета (Метод Культера)

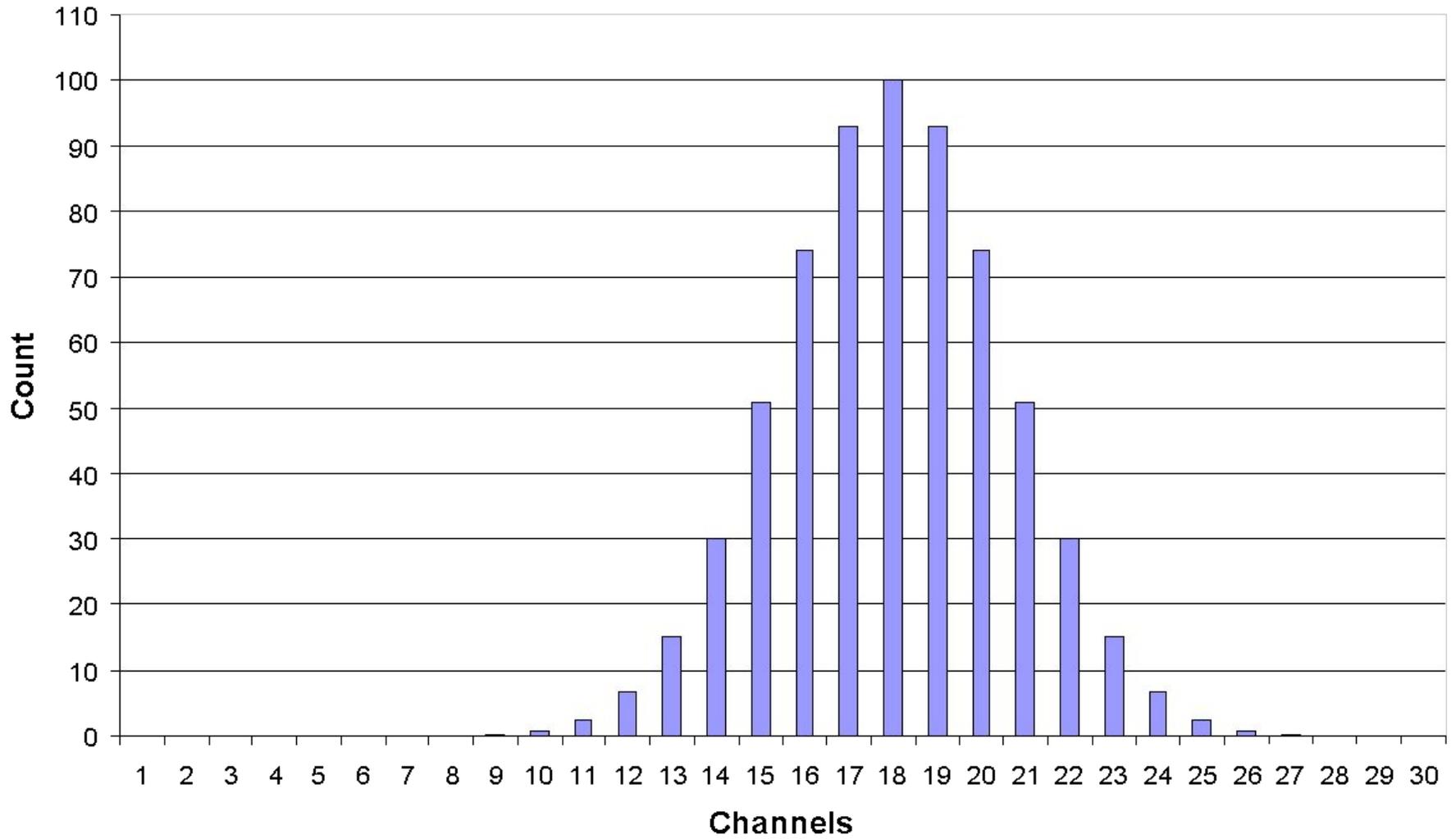


Амплитуда
электрических
импульсов

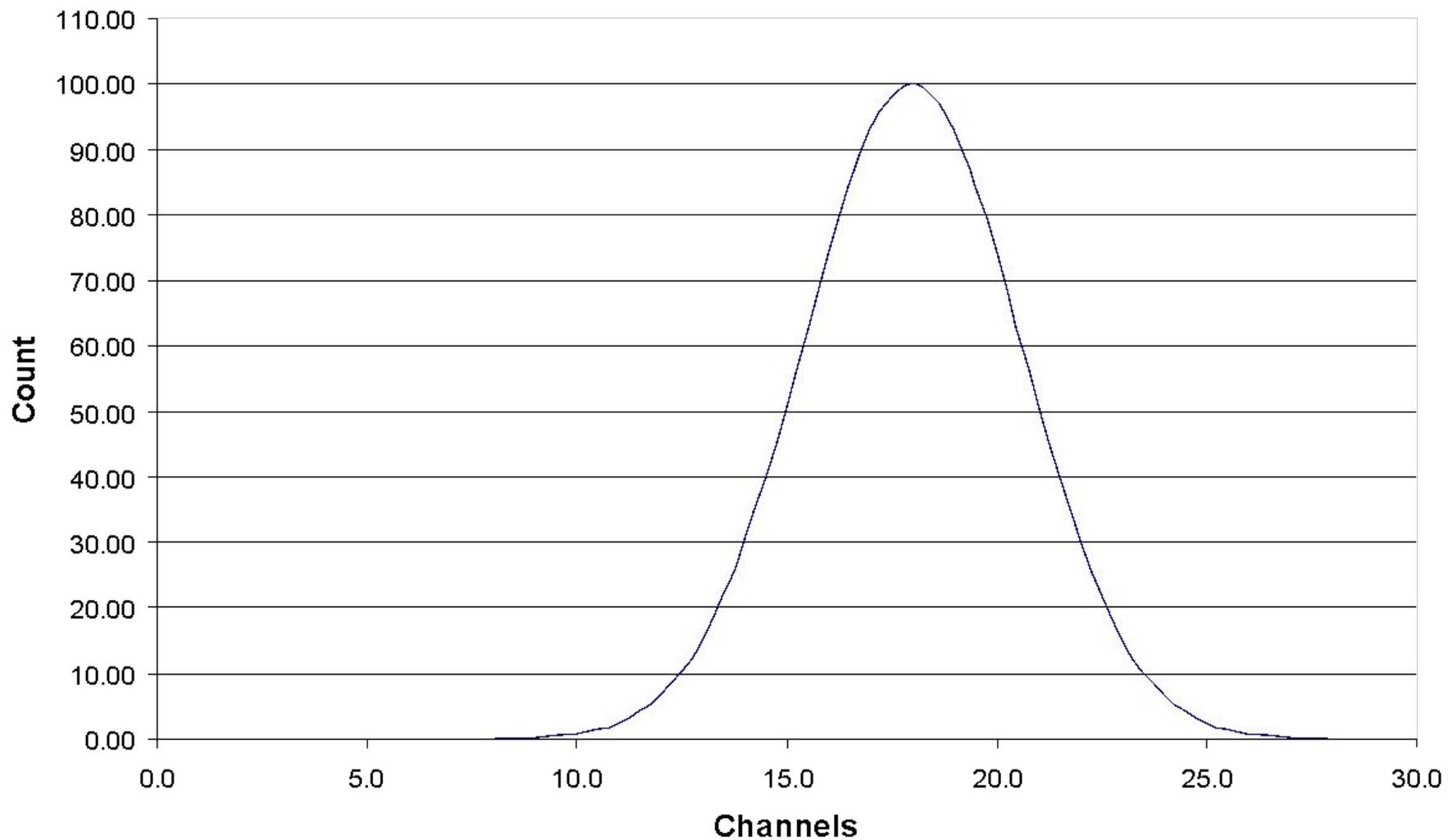




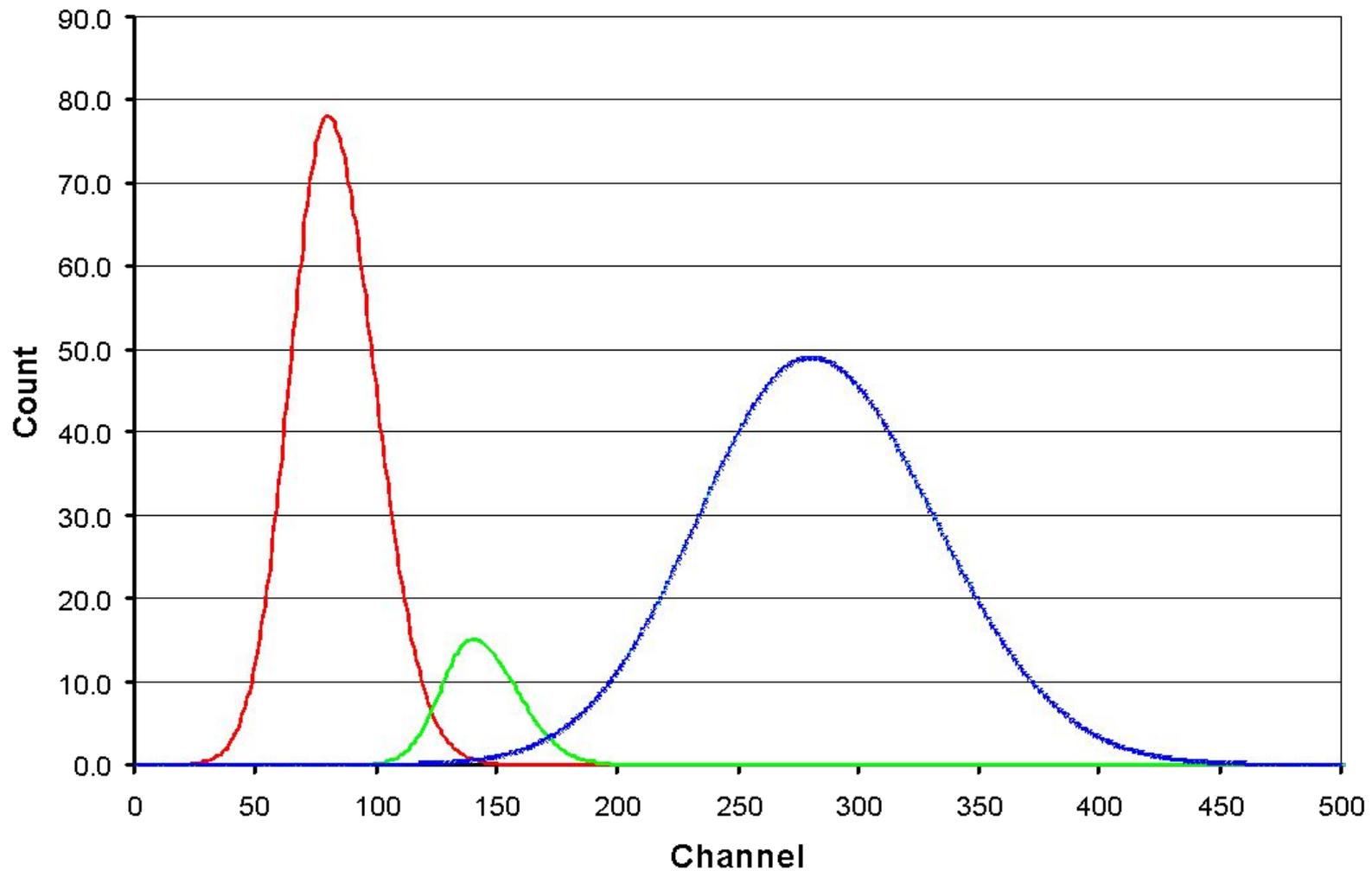
Raw Histogram



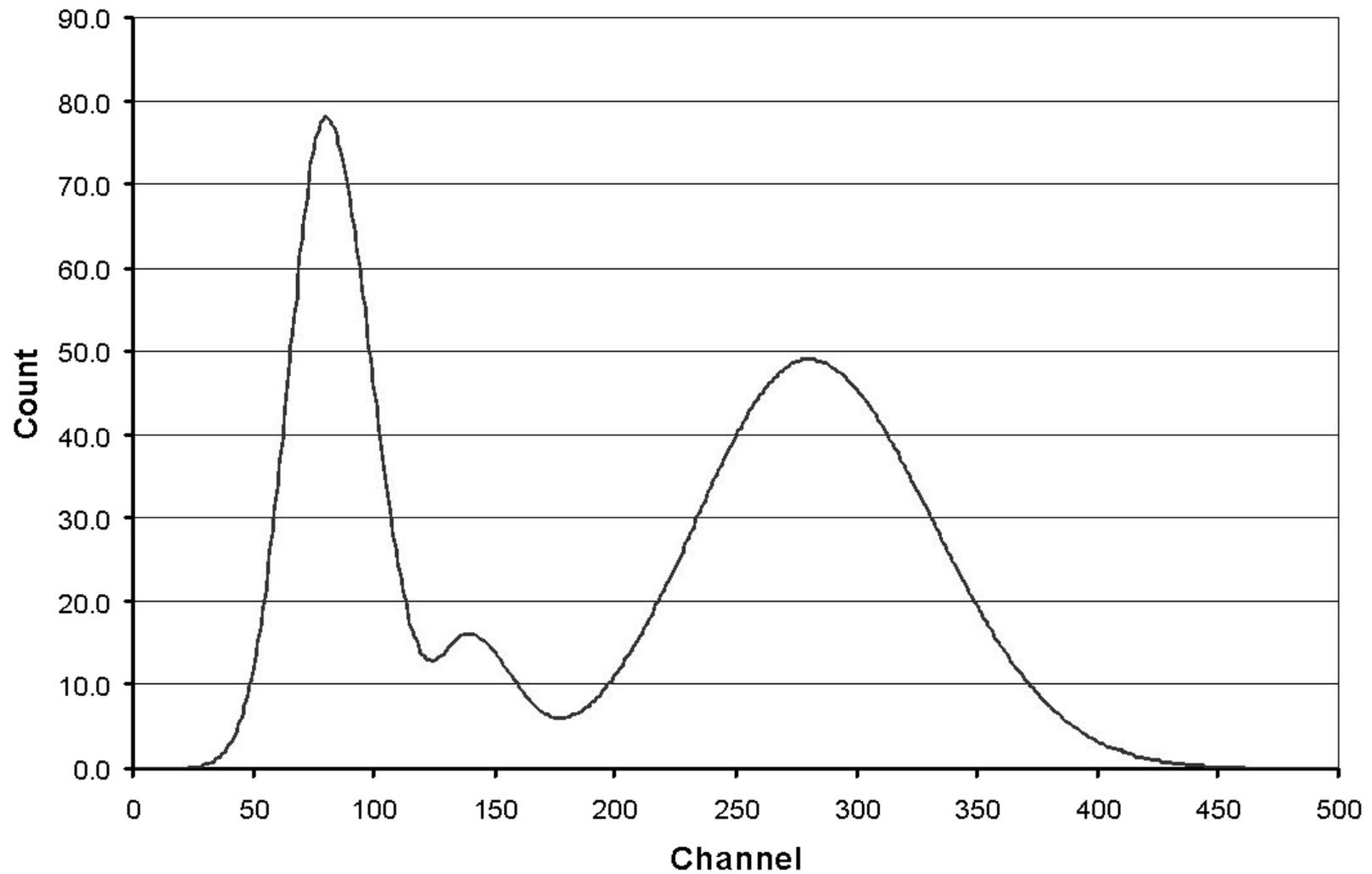
Smoothed Histogram



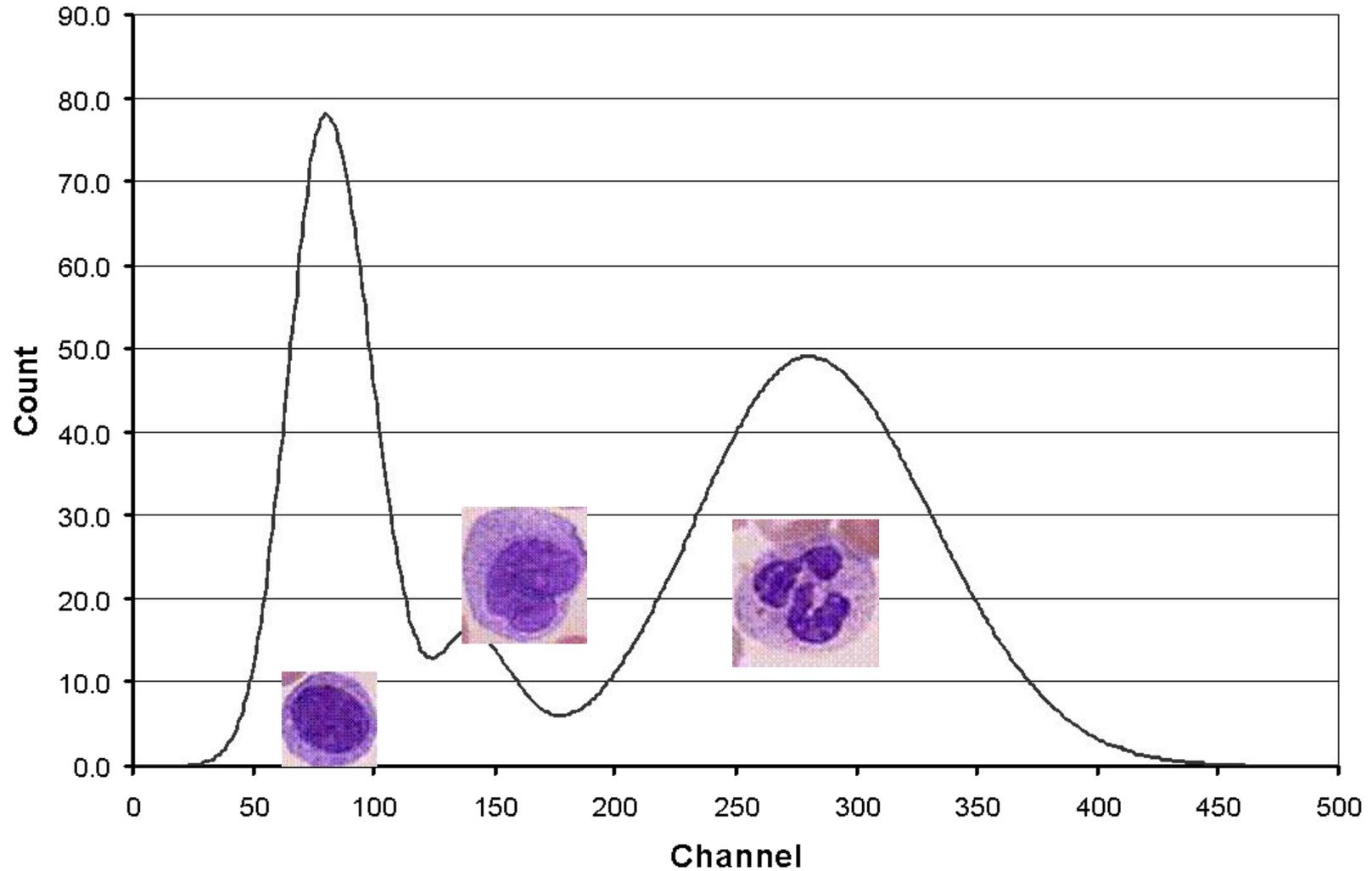
WBC, 3 Individual Populations



WBC Composite Histogram



WBC Composite Histogram



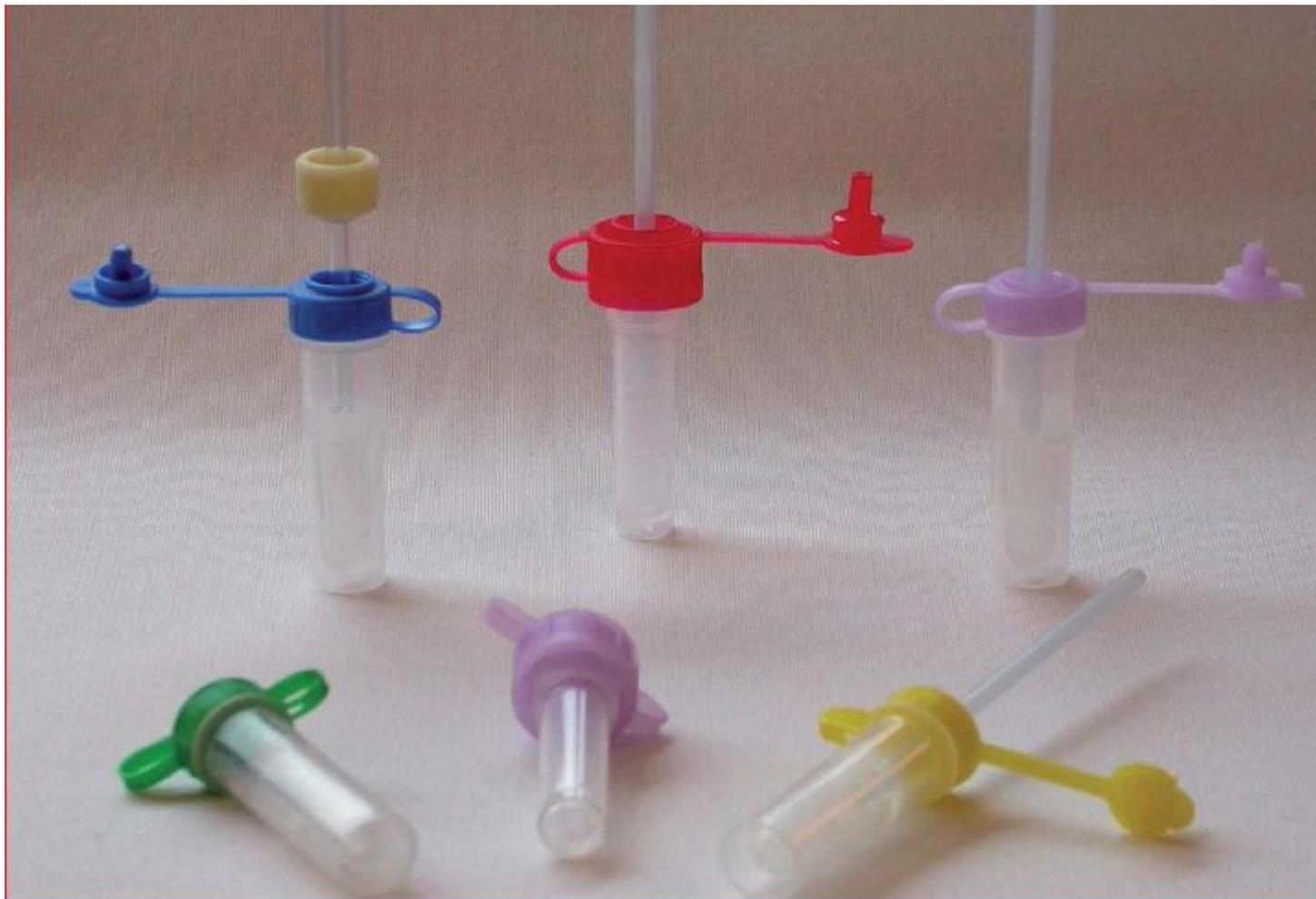
Сомнительные результаты

- Микроциты 20 - 30 fL
- Агрегаты тромбоцитов 16 - 20 fL
(могут быть фрагментами эритроцитов или шизоцитами)
- Малые клетки 2- 3 fL
- Ядросодержащие эритроциты 30 to 60 fL
(или атипичные лимфоциты)
- Лимфобласты, миелоциты, базофильные эритроциты 130 to 160 fL
- Эозинофильные эритроциты, миелоциты 160 to 220 fL
- Анормальный вид лейкоцитов, старая кровь, гидравлические проблемы или проблемы с лизисом 250 fL
- Метамиелоциты >400 fL

Измерение гемоглобина

- Измерение производится в лейкоцитарной камере
- Опорное значение (Ref Blank) измеряется во время цикла Start Up («начало дня») или перед каждым циклом измерения
- Другое значение измеряется во время каждого цикла измерения и сравнивается с опорным значением (Ref Blank)
- Hgb измеряется спектрофотометром обычно на длине волны 540-550 нм

Системы для взятия капиллярной крови



Dreh- und Kipp-Verschluss
Twist and Turn Closure

Eingeprägte Graduierungen zur
einfachen Erkennung der Blutmenge
*Numerical gradations help easily track
specimen collection rate*

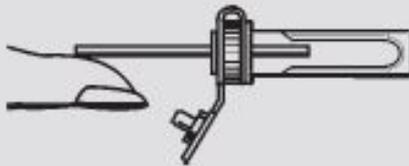


Kapillarvolumen <i>Capillary Volume</i>	Präparation <i>Additive</i>	Farbcode <i>Colour Code</i>	REF.-Nr.	Farbcode <i>Colour Code</i>	REF.-Nr.
~ 75 µl	EDTA	rot / red	670755	lla / llac	680755
~ 100 µl	EDTA	rot / red	671005	lla / llac	681005
~ 150 µl	EDTA	rot / red	671505	lla / llac	681505
~ 200 µl	EDTA	rot / red	672005	lla / llac	682005
~ 250 µl	EDTA	rot / red	672505	lla / llac	682505

Порядок взятия капиллярной пробы

Gebrauchsanweisung / Using Instructions:

1. Kapillare bis zum Ende mit Blut füllen
Fill the capillary tube to the end



2. Probenröhre senkrecht stellen.
Nach Ablauf des Blutes Kapillare leicht ausschütteln.

*Stand collection tube upright.
After draining lightly shake remaining
blood out of the capillary.*



3. Kapillare entfernen und verwerfen.
Remove the capillary and discard it.

*Gefäß mit anhängendem Stopfen
verschließen und gut mischen.
Close the container with the attached
stopper and mix well immediately.*





Рис. 10

Предназначены для более удобного введения иглы и безопасного присоединения пробирки.

Многоразовый держатель оснащен кнопкой, при нажатии на которую происходит высвобождение иглы.

2.3. Пробирки BD Vacutainer®

Пробирки BD Vacutainer® соответствуют международному стандарту ISO 6710 для вакуумных пробирок для взятия крови (рис. 11). Пробирки производятся из стекла и прозрачного безлатексного полиэтилентерефталата (ПЭТ), который легче стекла и практически не бьется. Система BD Vacutainer® выпускается готовой к использованию и не требует предварительной подготовки пробирок и дозирования реагентов. Пробирки защищены



Рис. 11

безлатексными крышками, имеющими цветные коды в соответствии с назначением пробирок и типом содержащихся в них химических реагентов (таб. 1).

Пробирки BD Vacutainer® снабжены этикетками, содержащими информацию о реактиве, объеме отбираемой пробы, номере партии, сроке годности и т.п. (рис. 12)



Рис. 12

Виды и назначение пробирок BD Vacutainer®

Таб. 1

Цвет крышки	Наполнитель	Назначение
	Активатор свертывания	Анализ сыворотки
	Активатор свертывания, разделительный гель	Анализ сыворотки
	Гепарин	Анализ плазмы
	Гепарин и разделительный гель	Анализ плазмы
	Цитрат (соотношение с кровью 1:9) СТАД	Анализ гемостаза
	ЭДТА	Анализ цельной крови в гематологии
	Фторид натрия + Оксалат калия, Литий йодоацетат - Литий гепарин	Анализ глюкозы
	Цитрат (соотношение с кровью 1:4)	Определение СОЭ методом Вестергрена
	Тромбин	Анализ сыворотки в экстренной медицине
	ЭДТА, Без наполнителя	Определение микро-элементов и токсических веществ
	ЭДТА + Апротинин	Исследование нестабильных гормонов
	Кислый цитрат декстрозы (АСД)	Исследование морфологии клеток крови, цитохимические тесты
	Активатор свертывания, ЭДТА, Без наполнителя	Перекрестная проба при переливании крови
	ЭДТА и разделительный гель	Исследование плазмы в молекулярной биологии: ПЦР, вирусная нагрузка
	Натрий-гепарин или	Исследование

Piercing block maintenance

na - not applicable.

nc - not communicated.

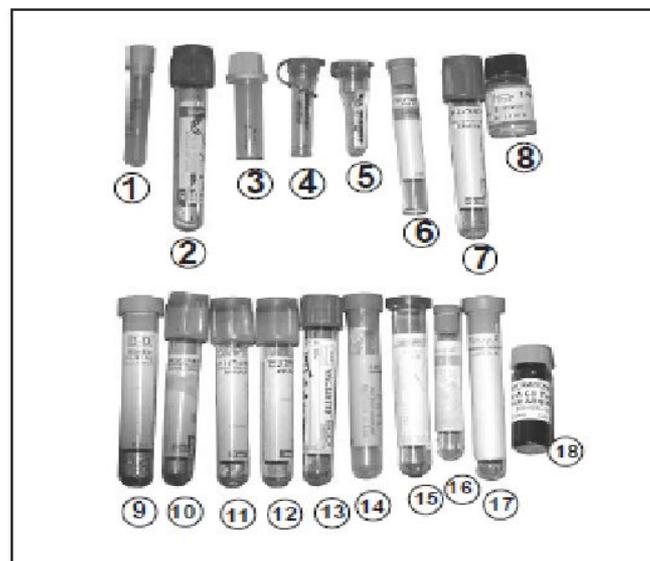
(1) - The standard adjustment positions the needle at the bottom of the tube holder, when mentioned "with tube", the presence of the tube is mandatory for the adjustment.

(2) - More information about sample tube is available in the user manual, section 3 "SPECIFICATIONS", point 3.4.2.

(3) - The thickness of the tube stopper blocks the tube into the piercing mechanism.

(4) - These volumes have been calculated; not measured.

(5) - The "dead volume" is determined after the manual adjustment of the sampling depth and increased by 20%, except in the pediatric tubes where a 30µl volume has been fixed arbitrarily for security.



Diag.10

NOTE

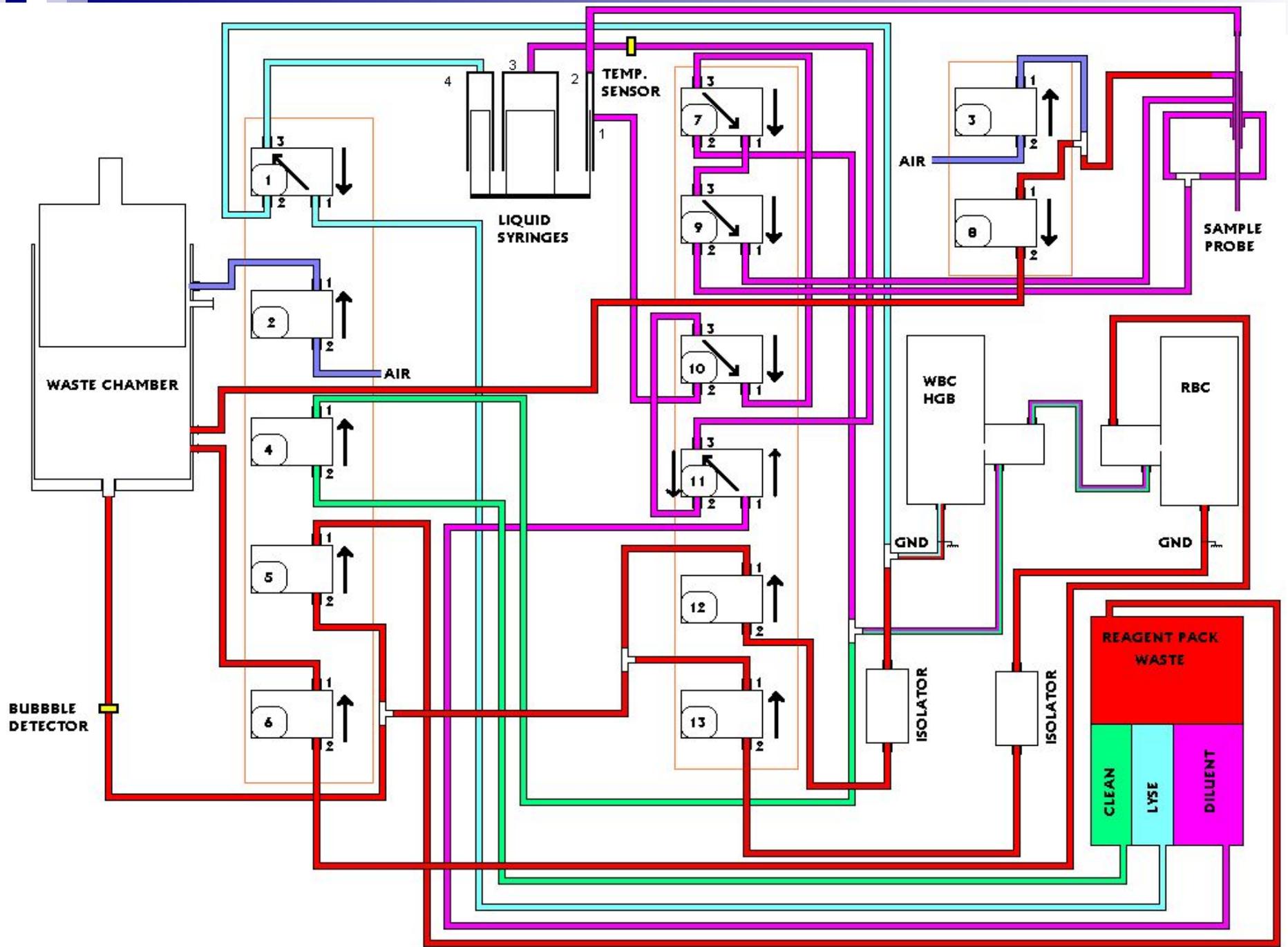
The needle height adjustments is explained in the procedure RAS 176 A.

ADVIA 60 (Siemens M. S. D.)

- 14 кг
- 100 - 240 В, 50 - 60 Гц
- 18 - 32°С
- 16 параметров
- 55 проб в час
- 10мкл цельной крови
- Подсчет клеток методом импедансометрии
- Гемоглобин - цианметгемоглобин



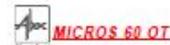
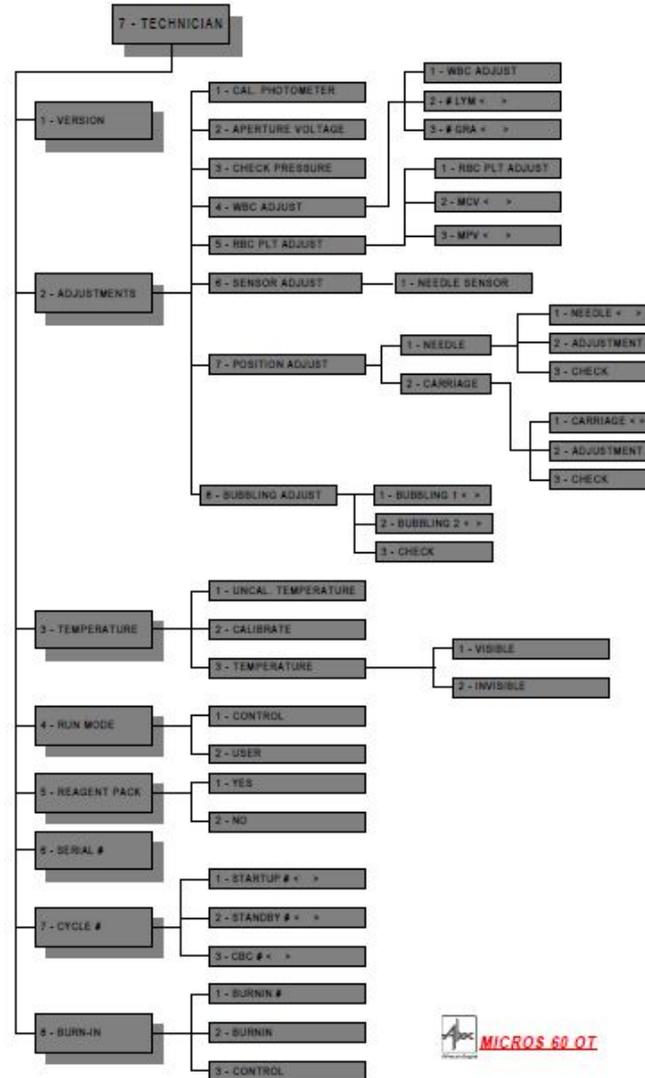
ADVIA™60
HEMATOLOGY SYSTEM



MICROS 60 OT

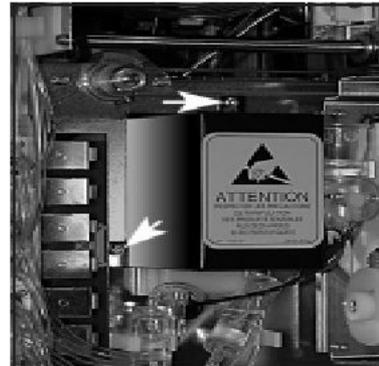
TECHNICIAN FUNCTION

• PROCEDURE



INSTALLATION

Unscrew slightly the 2 screws of the WBC/HGB chamber protection cover (diag 6). Remove the cover and check that both chambers (RBC/PLT, WBC/HGB) are fixed properly in their clips and the electrode blocks are attached firmly to the chambers (Diag. 7).

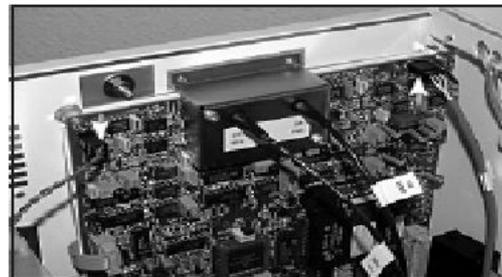


Diag.6



Diag.7

Re-install the HGB/WBC chamber cover.



Diag.8

Check that the connectors on the printed circuit board are securely in place (Diag. 8).

Re-install the instrument cover.

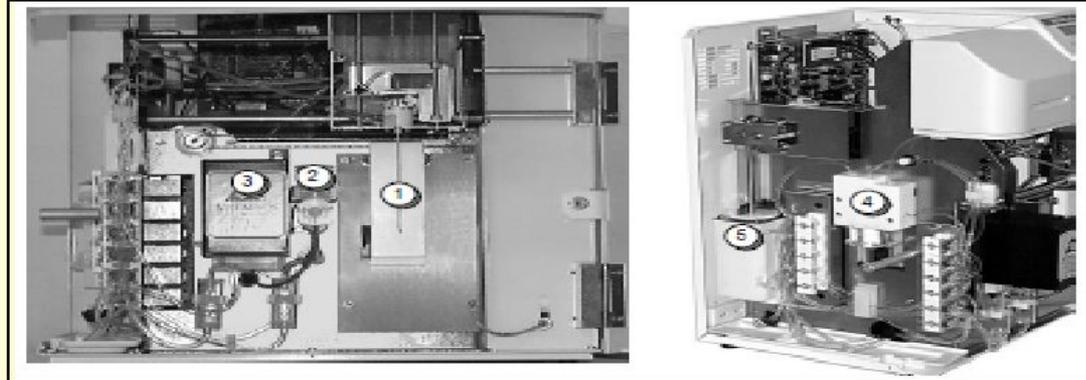


Diag.9

Remove the fuse holder from its location on the rear panel pressing on the holder lock (Diag.9) and check the fuse characteristics : they should be 1 Ampere, 250 Volts Slow-Blow.

HYDRAULIC CYCLE CHECKUP

- PROCEDURE



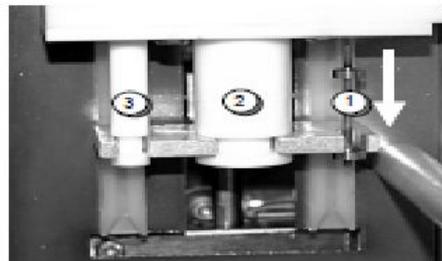
Diag. 1

1 - Cycle start condition

- Needle ① in the sampling position (diag 1).
- RBC chamber ② filled with 2.5ml of diluent.
- WBC/HGB chamber ③ filled with 2.5ml of diluent.
- Liquid syringes ④ in standby position.
- Vacuum/waste syringe ⑤ in the lower position.

2 - Sampling

- Aspiration of 10µl of blood sample

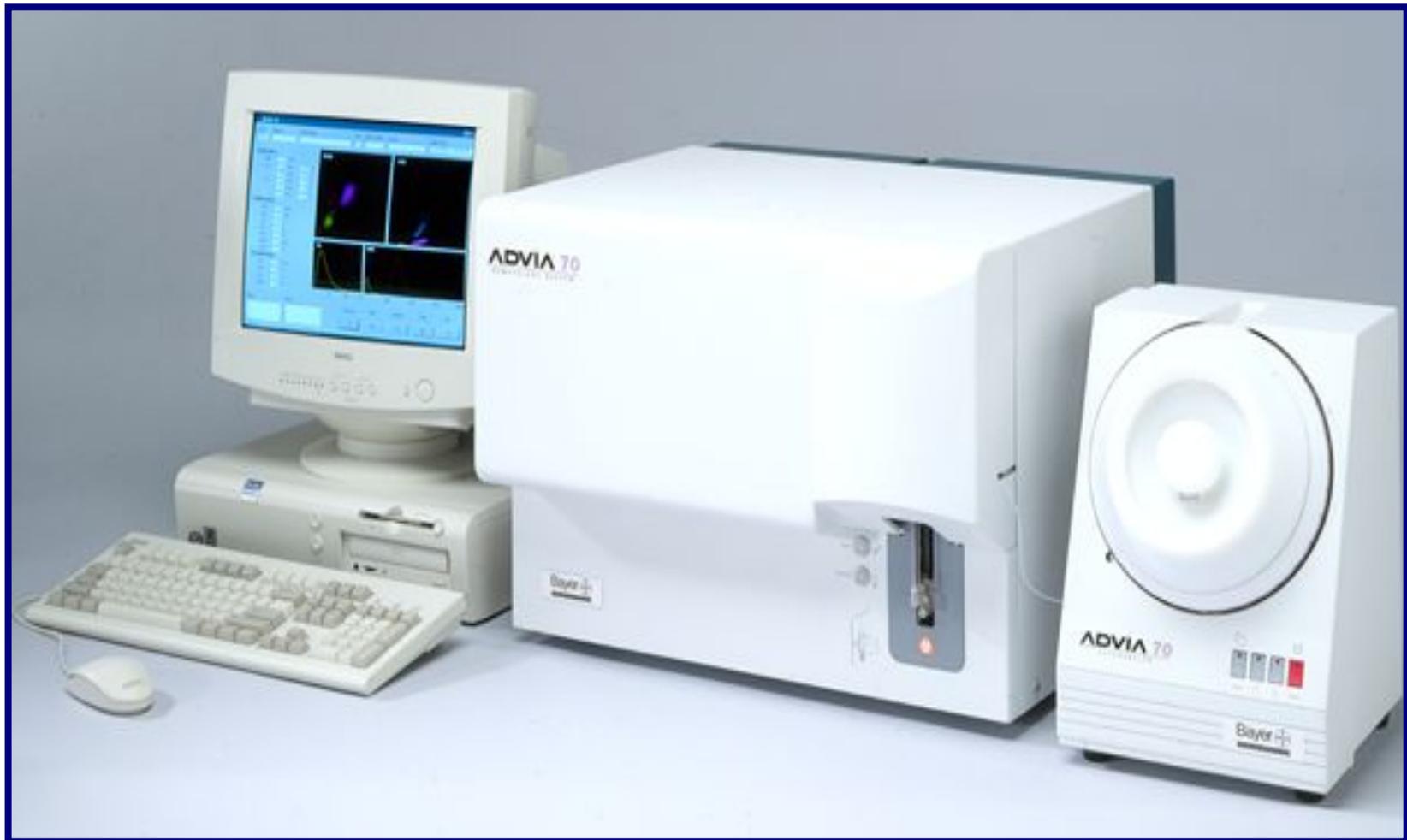


Diag. 2

Causes

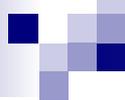
The liquid syringes assembly moves down (diag 2) and pulls down the micro sampling syringe ①.

Гематологический анализатор ADVIA70



ADVIA70

- Гематологический анализатор
- 5 Diff
- Проточная цитометрия
- Высота: 42 CM
- Длина: 58 CM
- Ширина: 50 CM
- Вес: 32.5 KG



22 параметра

>72 пробы в час

**180 мкл цельной крови в режиме Direct
(Прямое измерение)**

**90 мкл цельной крови в режиме Sample
Saver(Экономный режим)**

На 100 000 результатов база данных

Программа по QC

Подсчет общего количества WBC

Подсчет формулы или популяций лейкоцитов

NEUTROPHILS(% и #), LYMPHOCYTES (% и #),

MONOCYTES (% и #),

EOSINOPHILS (% и #), BASOPHILS (% и #)

RED BLOOD CELL COUNT(RBC)

HAEMOGLOBIN(HGB)

HAEMATOCRIT(HCT)

MCV

MCH

MCHC

RDW

PLT

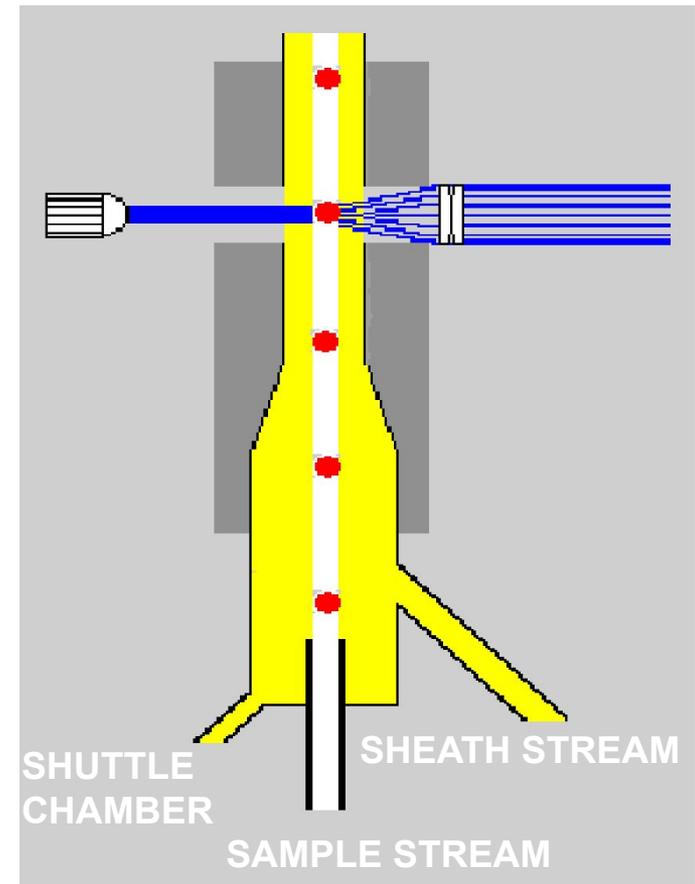
MPV

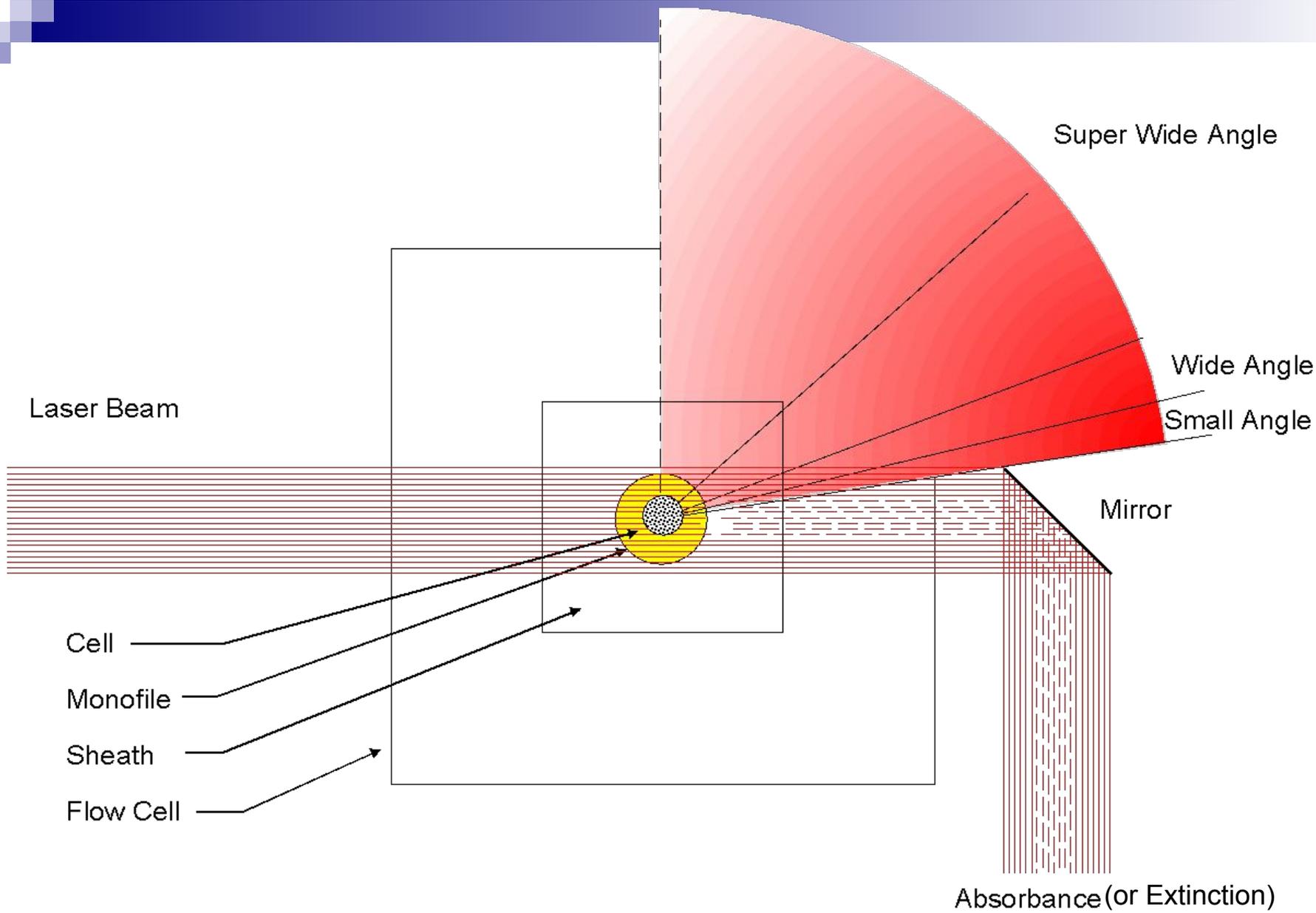
PCT*

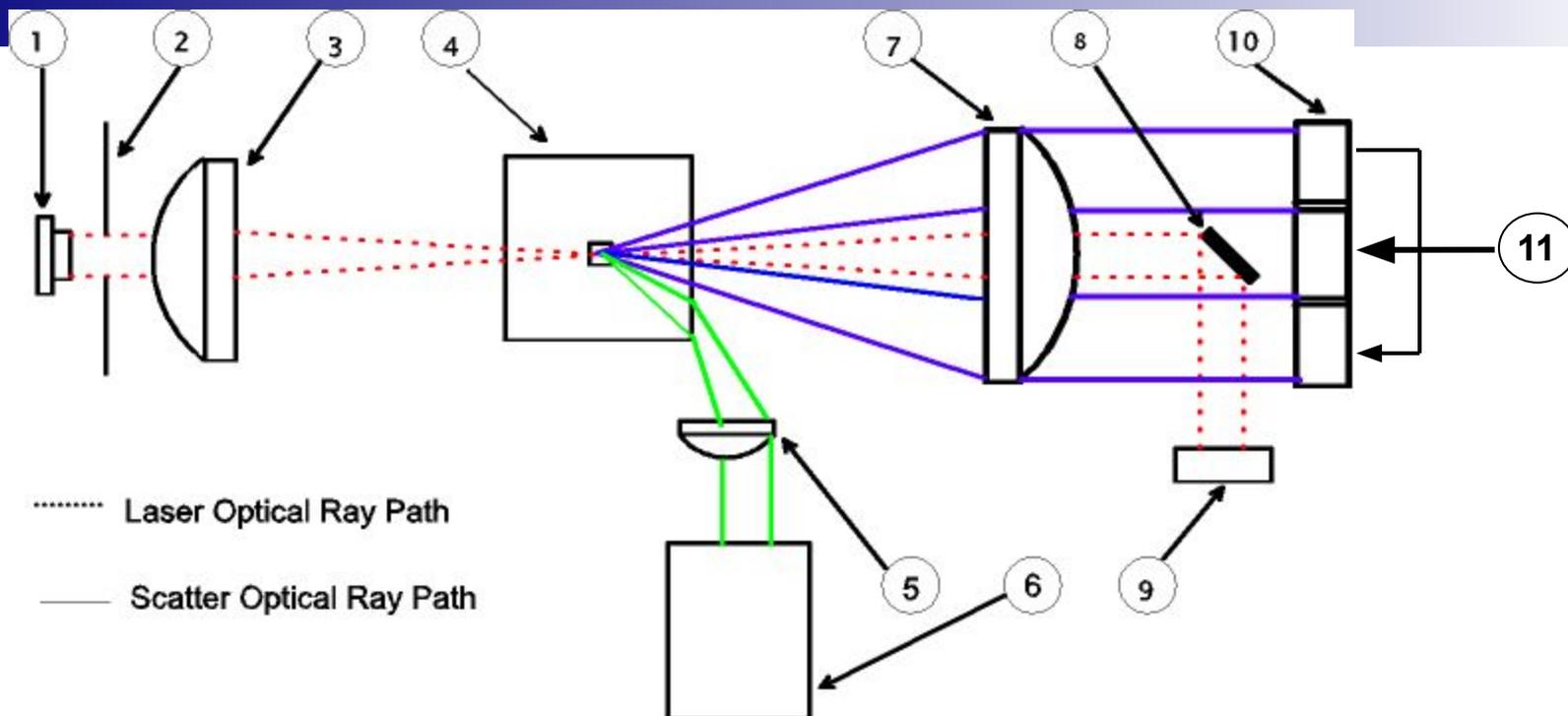
PDW*

Оптический метод подсчета

- Клетки, взвешенные в дилуенте, прокачиваются через стеклянную ячейку, на которой сфокусирован луч света
- Клетки пересекают с лучом (свет рассеивается и поглощается)
- Сигналы интерпретируются как количество, размер, концентрация







1 Диодный лазер (2.5 мВт / 630 нм)

2 Щель (апертура)

3 Плосковыпуклая линза

4 Проточная кювета (щель 150 микрон)

5 Система линз SWA

6 Фотоумножитель PMT 90°/SWA (42°-43° Scatter)

8 Блокиратор луча (зеркало)

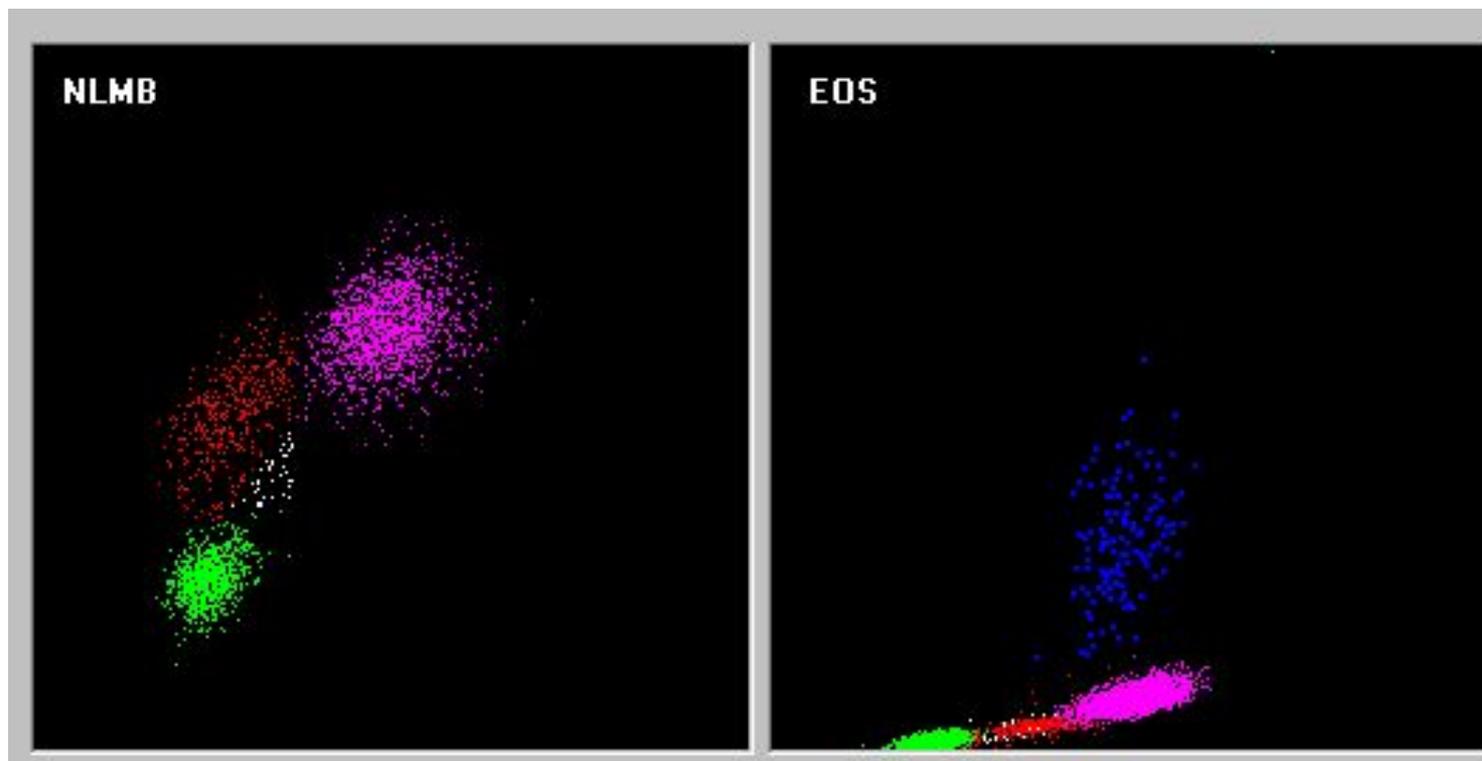
9 Датчик экстинкции (Поглощение, величина)

10 Датчик широкого угла (ядерный состав, гранулы) 5-11°

11 Датчик малого угла (Размер) 2-5°

Нормальная диаграмма рассеяния

Малый угол (размер)



Сверхширокий угол
(ядерная основа)

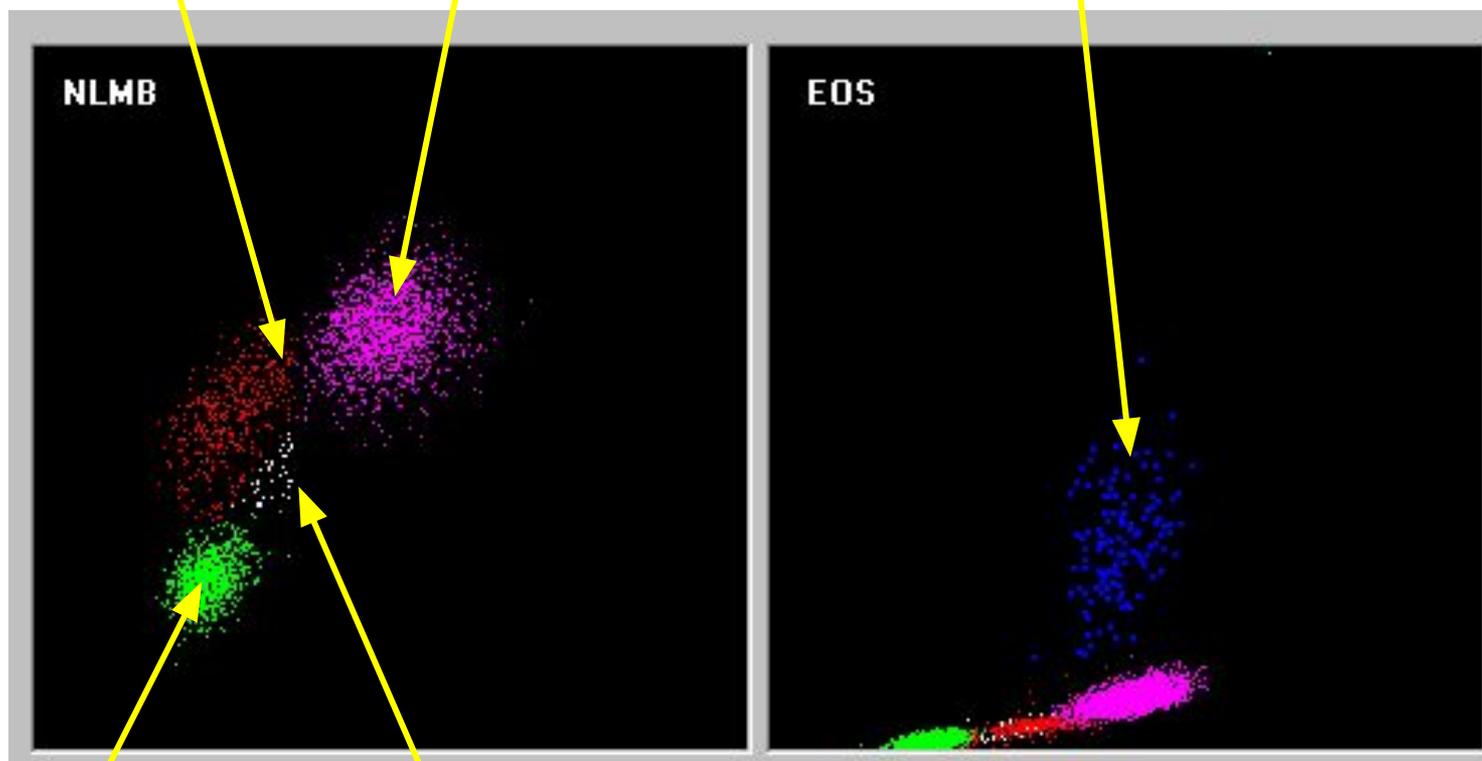
Широкий угол
(ядерный состав)

Экстинкция/поглощение
(размер)

Моноциты

Нейтрофилы

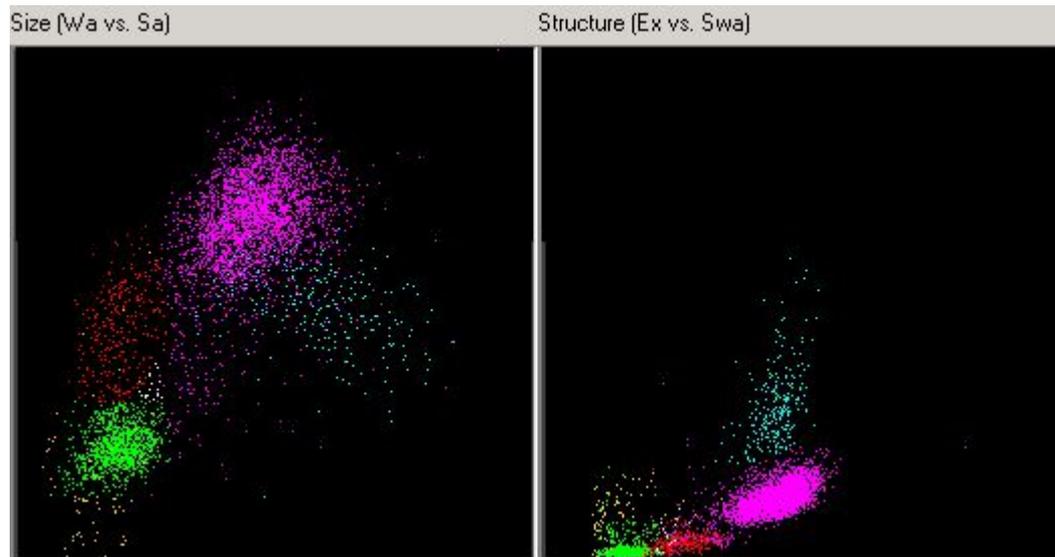
Эозинофилы



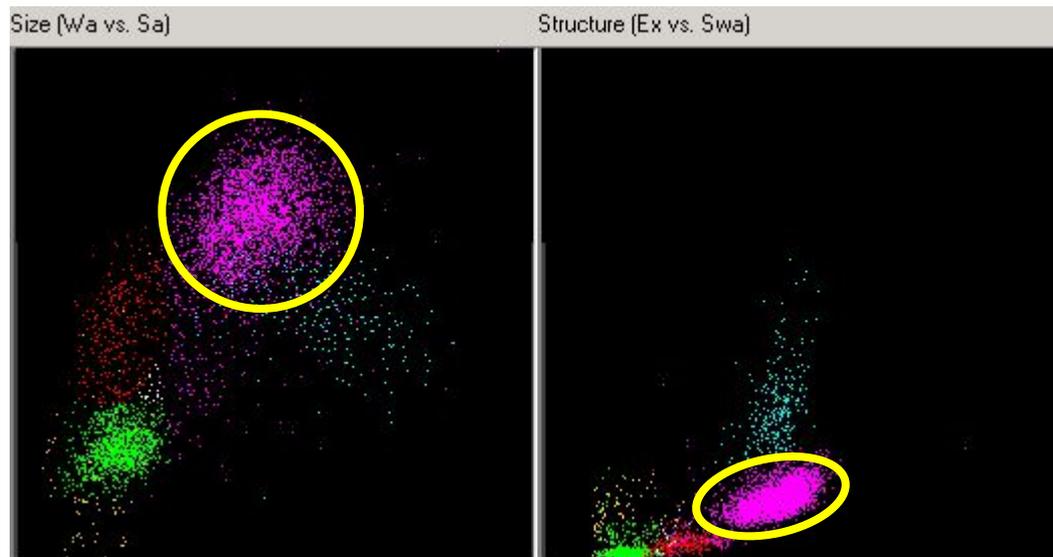
Лимфоциты

Базофилы

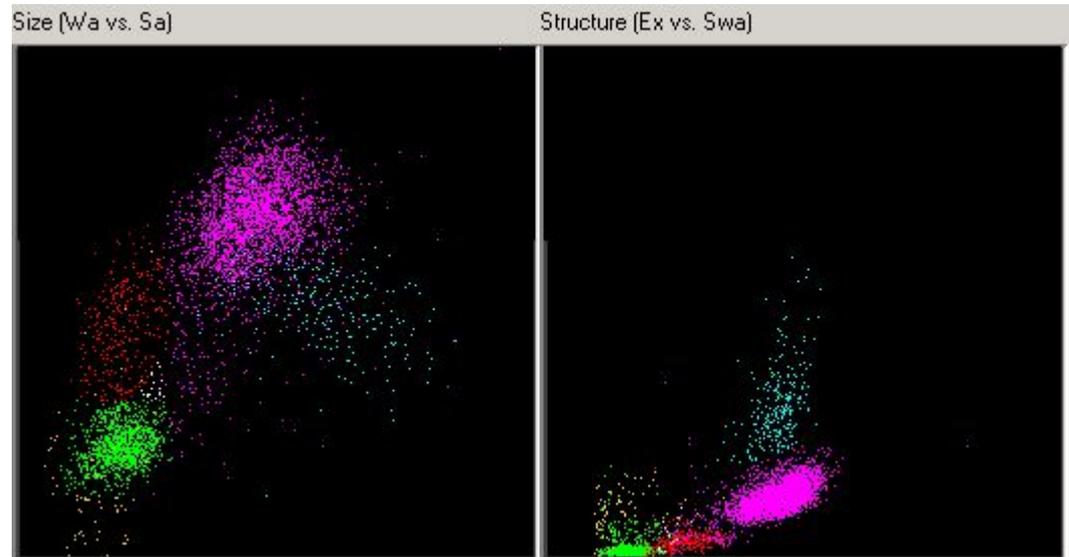
Норма



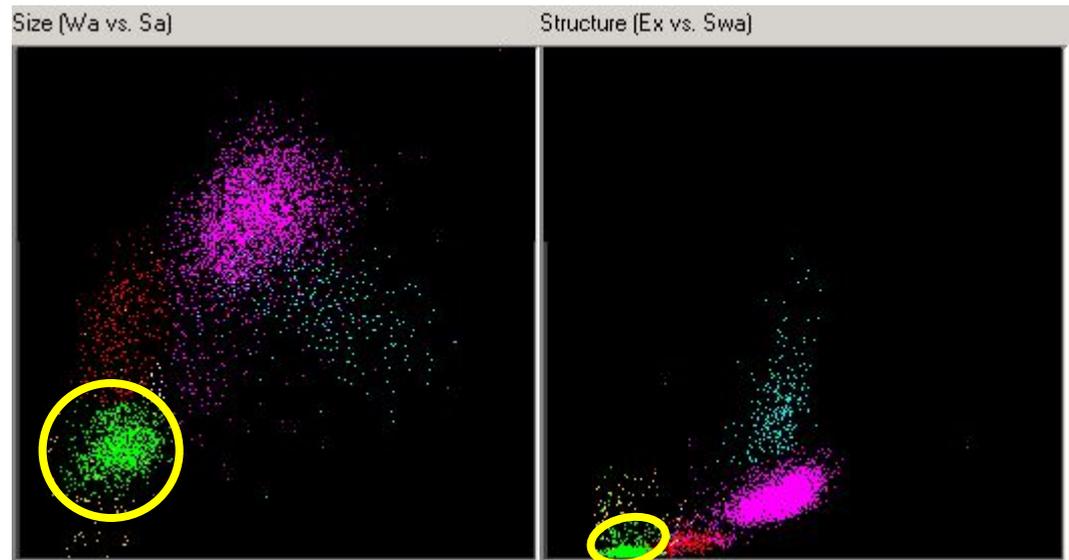
Нейтрофилы



Норма

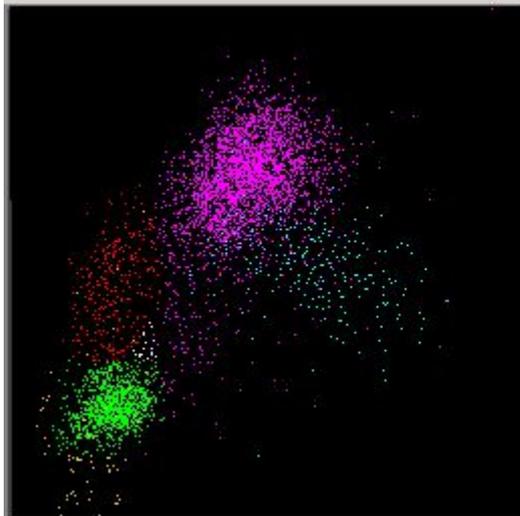


Лимфоциты

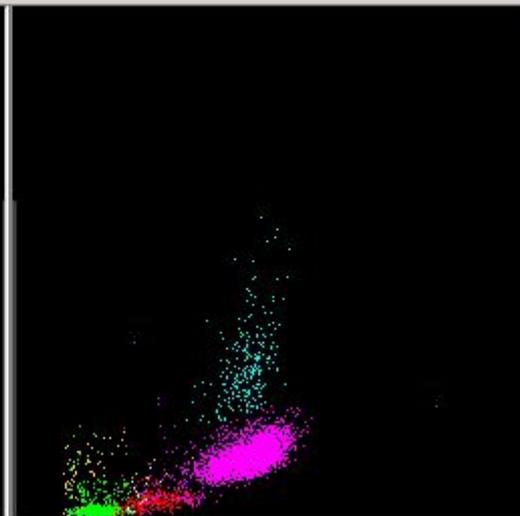


Норма

Size (Wa vs. Sa)

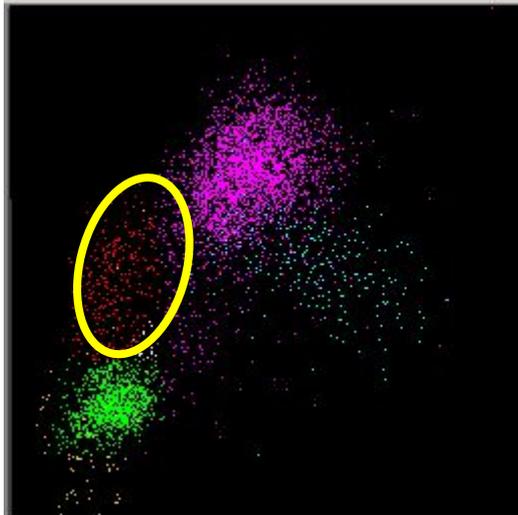


Structure (Ex vs. Swa)

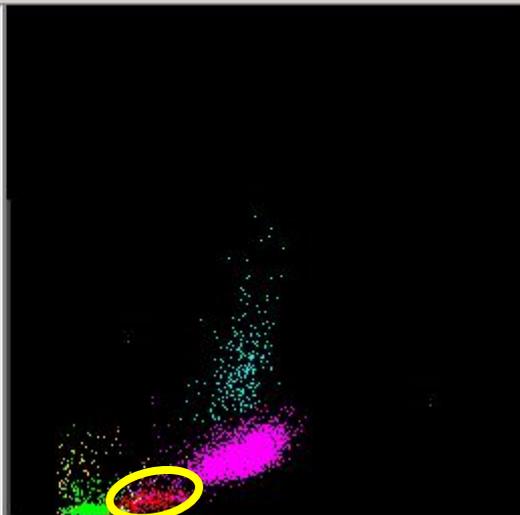


Моноциты

Size (Wa vs. Sa)

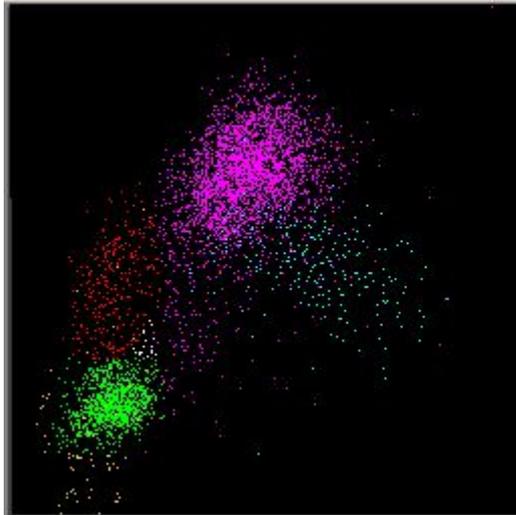


Structure (Ex vs. Swa)

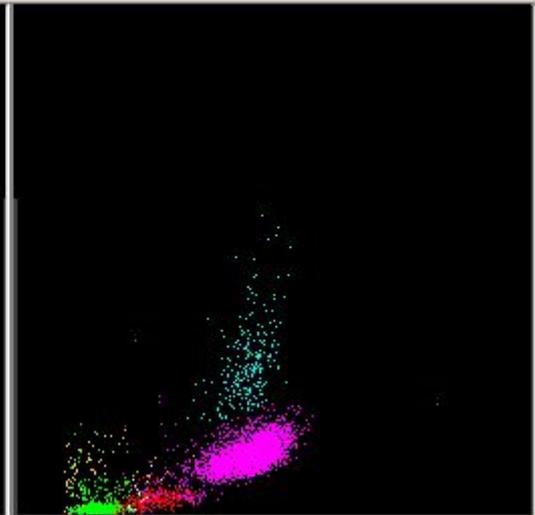


Норма

Size (Wa vs. Sa)

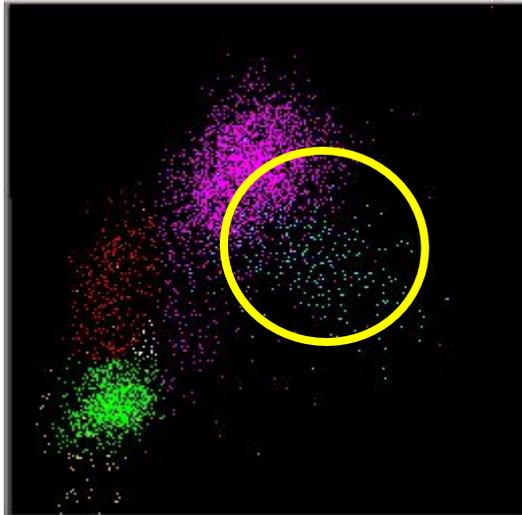


Structure (Ex vs. Swa)

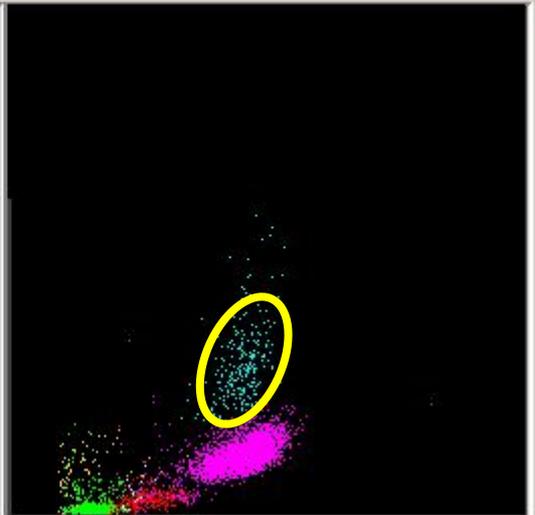


Эозинофилы

Size (Wa vs. Sa)

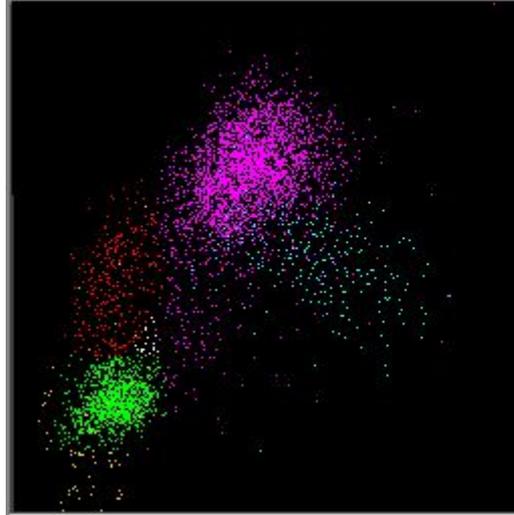


Structure (Ex vs. Swa)

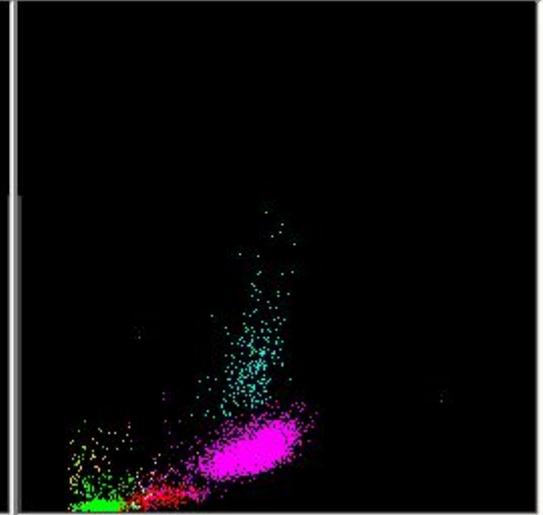


Норма

Size (Wa vs. Sa)

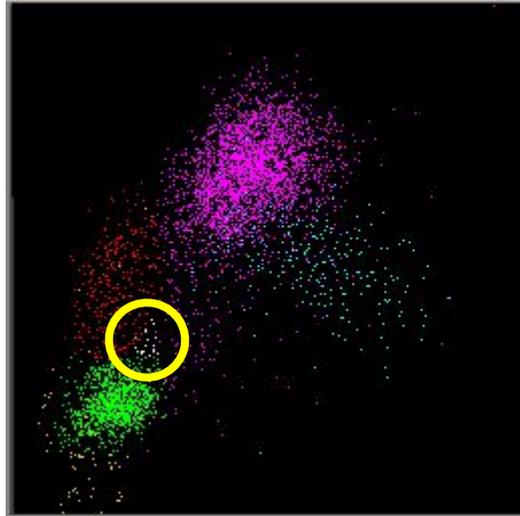


Structure (Ex vs. Swa)

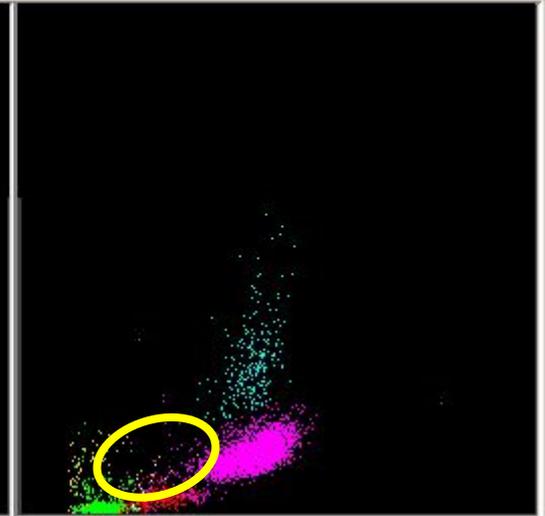


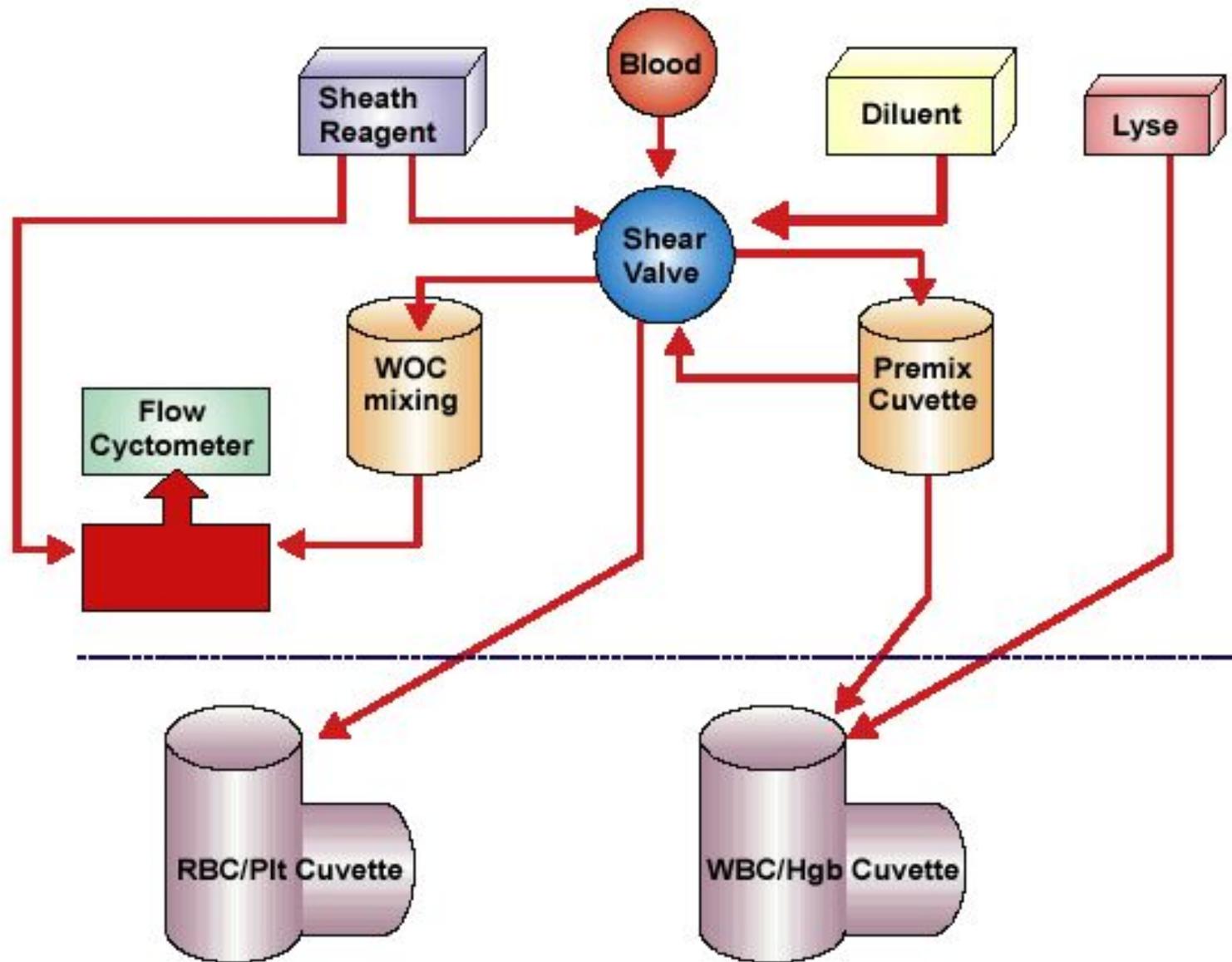
Базофилы

Size (Wa vs. Sa)

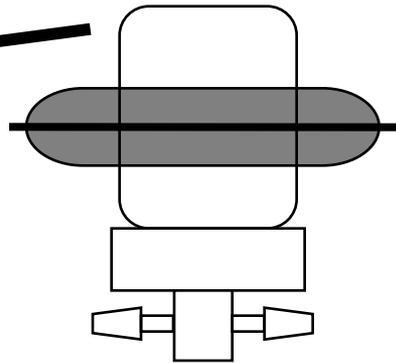
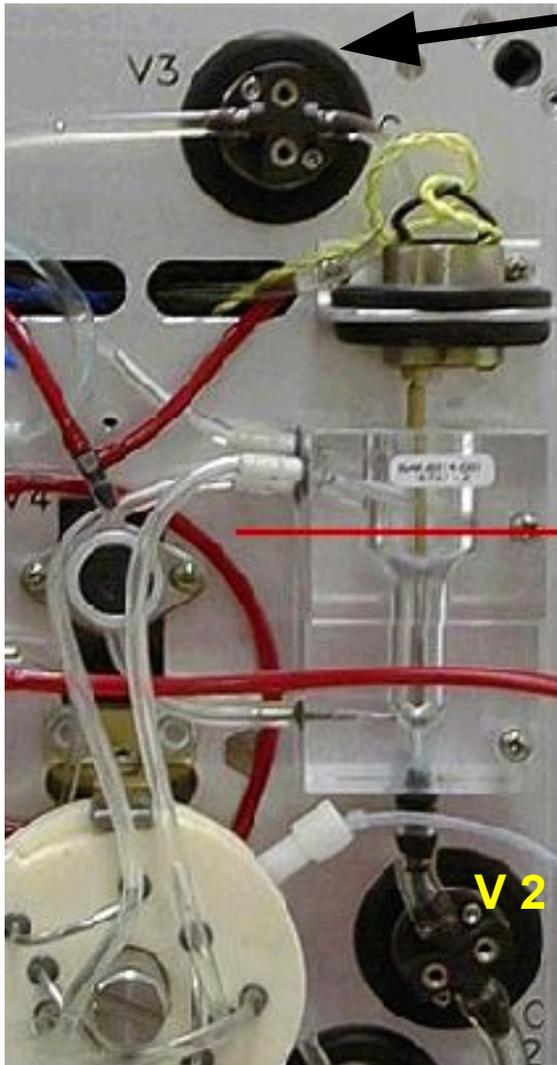


Structure (Ex vs. Swa)

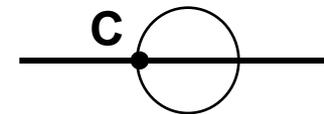
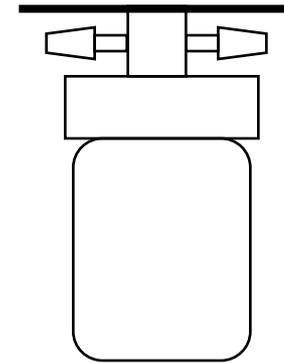




Клапан двухходовой

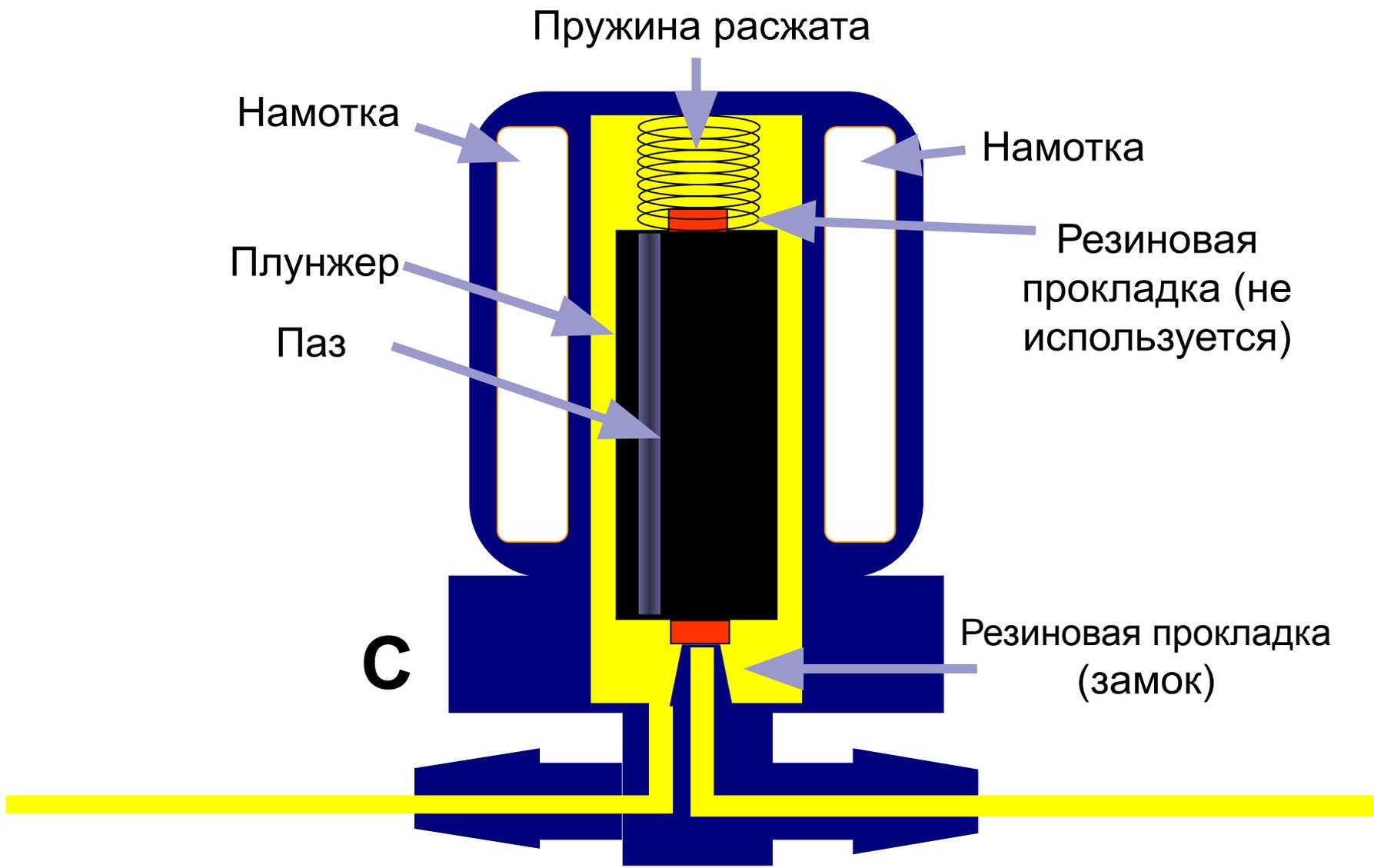


OFF = нет потока

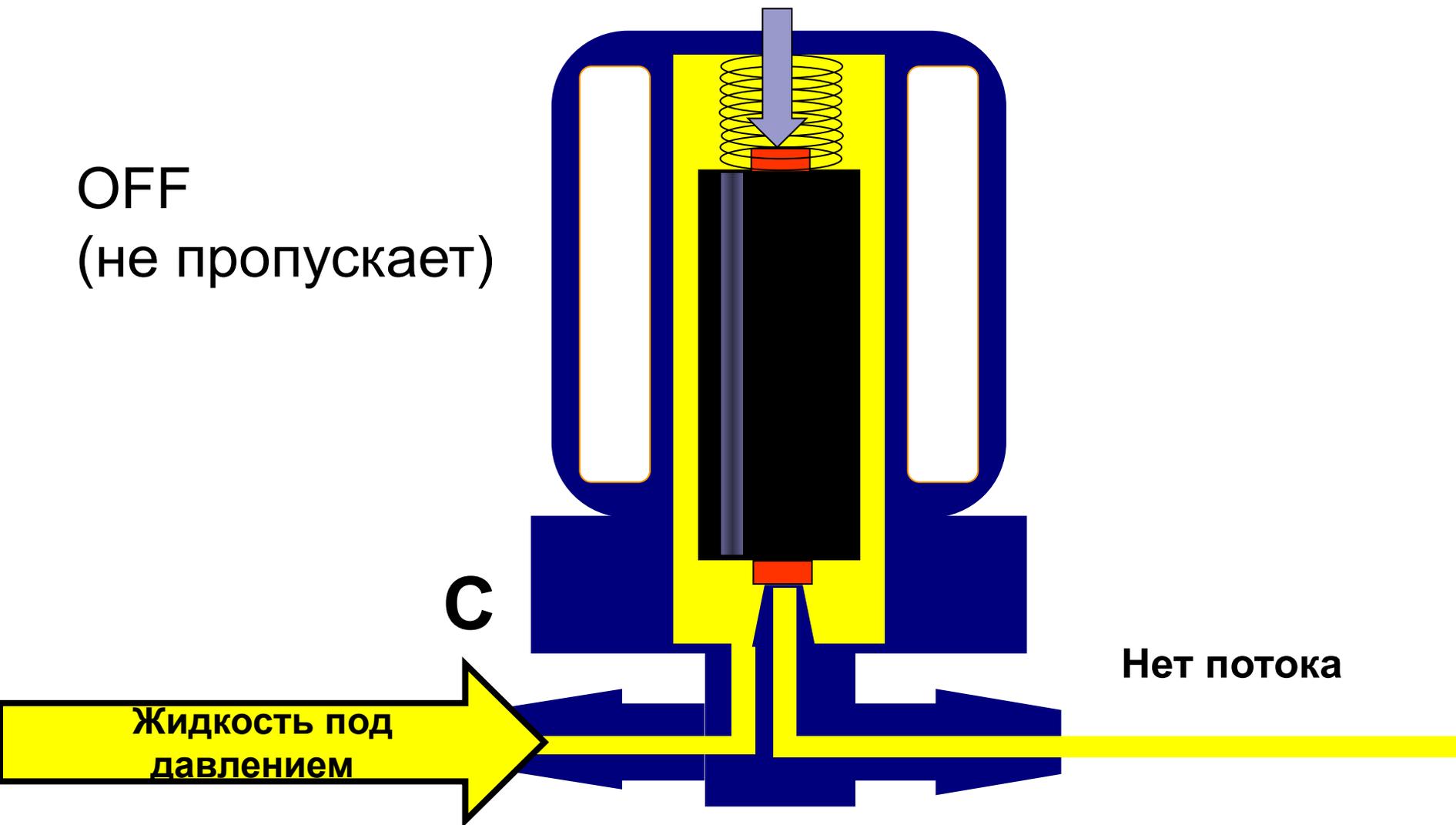


ON = есть поток

- Заполняется чистящими растворами
- Может закрыться после долгого ожидания (солевые отложения)
- Очищается деионизированной водой
- Внутренний плунжер может быть переставлен при износе
- Может использоваться в обоих направлениях



OFF
(не пропускает)

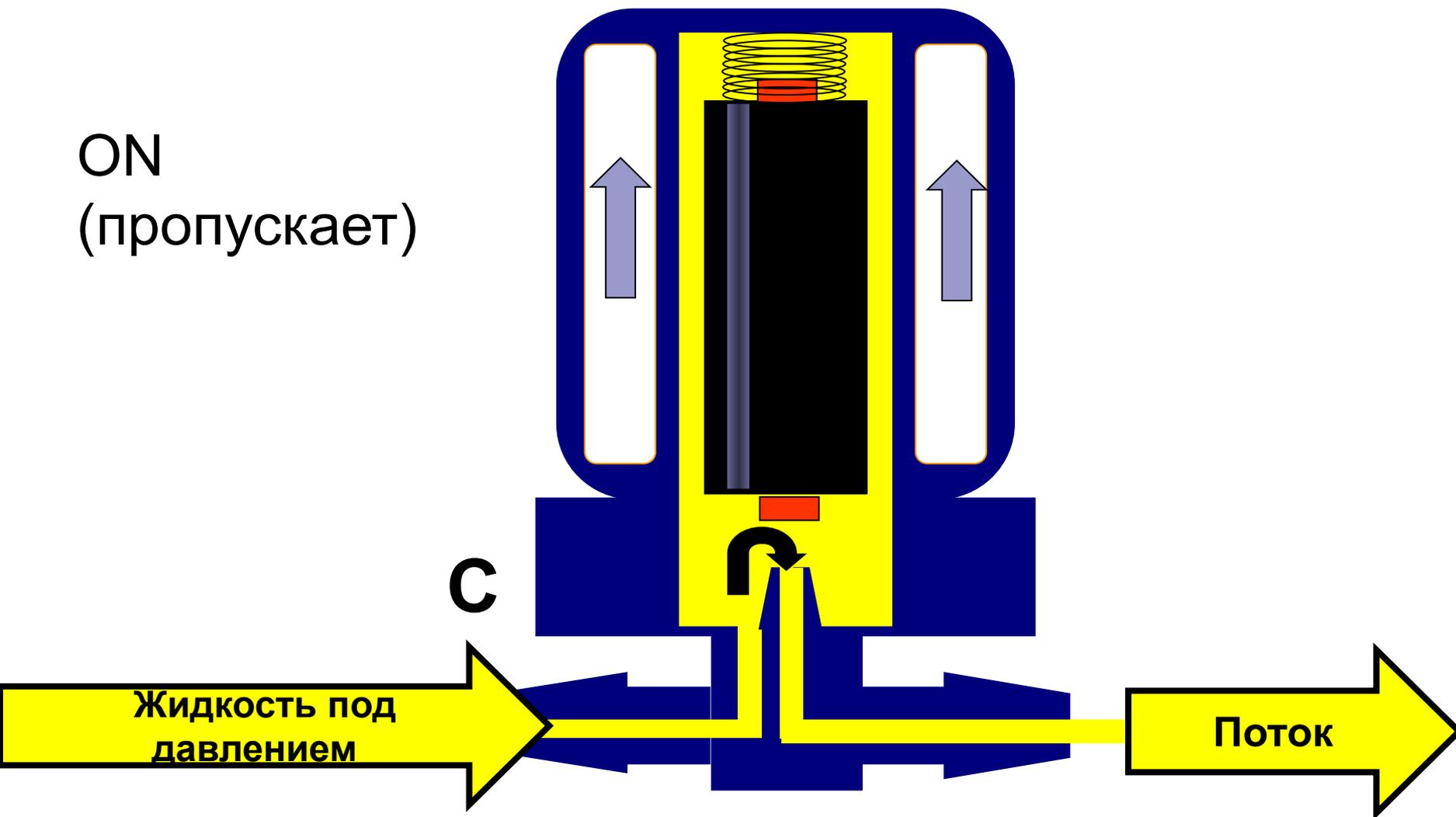


C

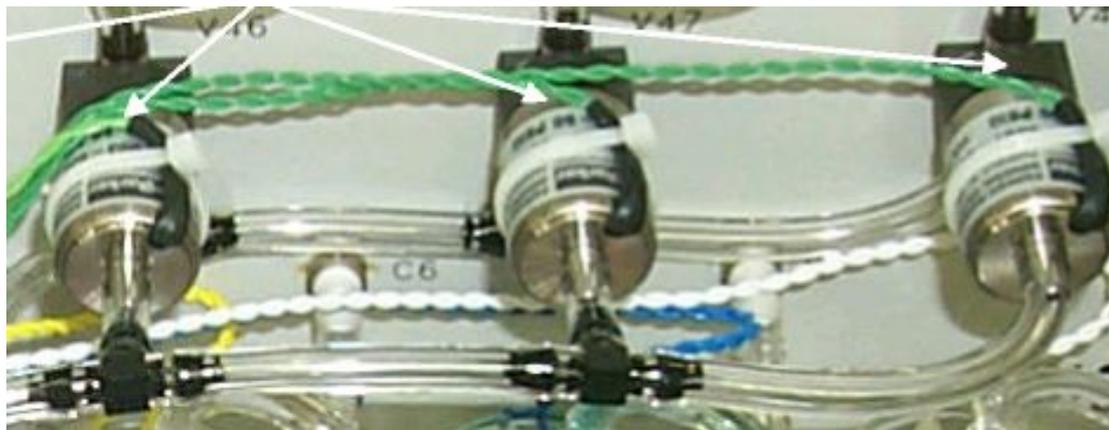
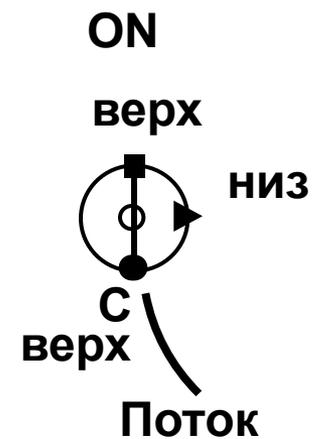
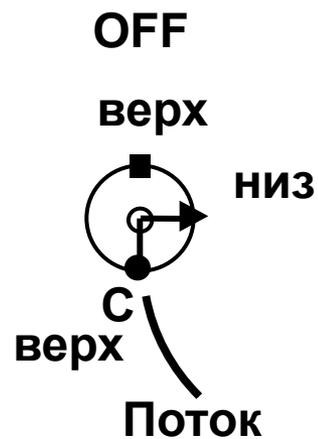
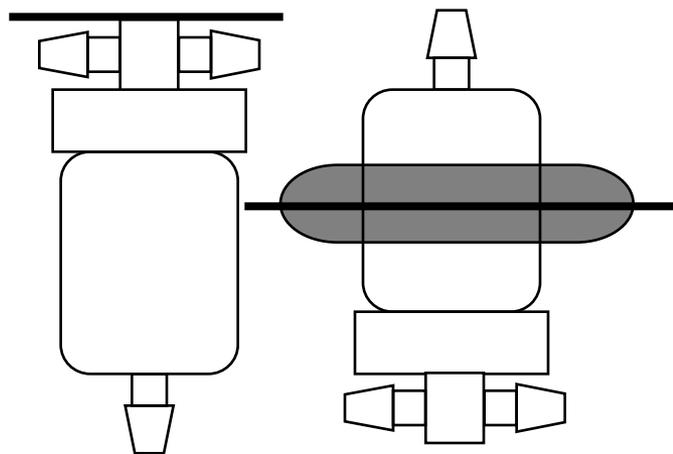
Нет потока

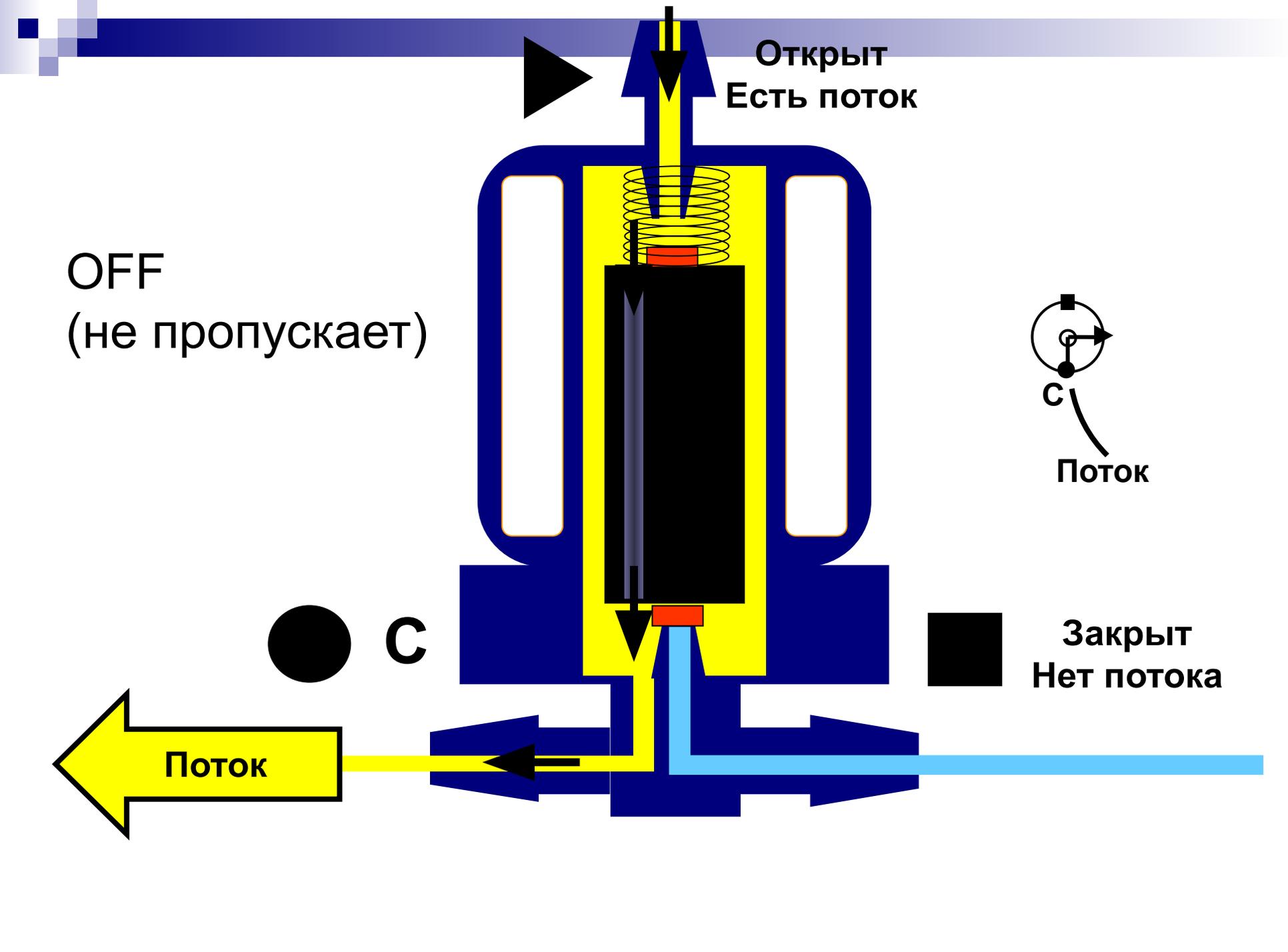
Жидкость под
давлением

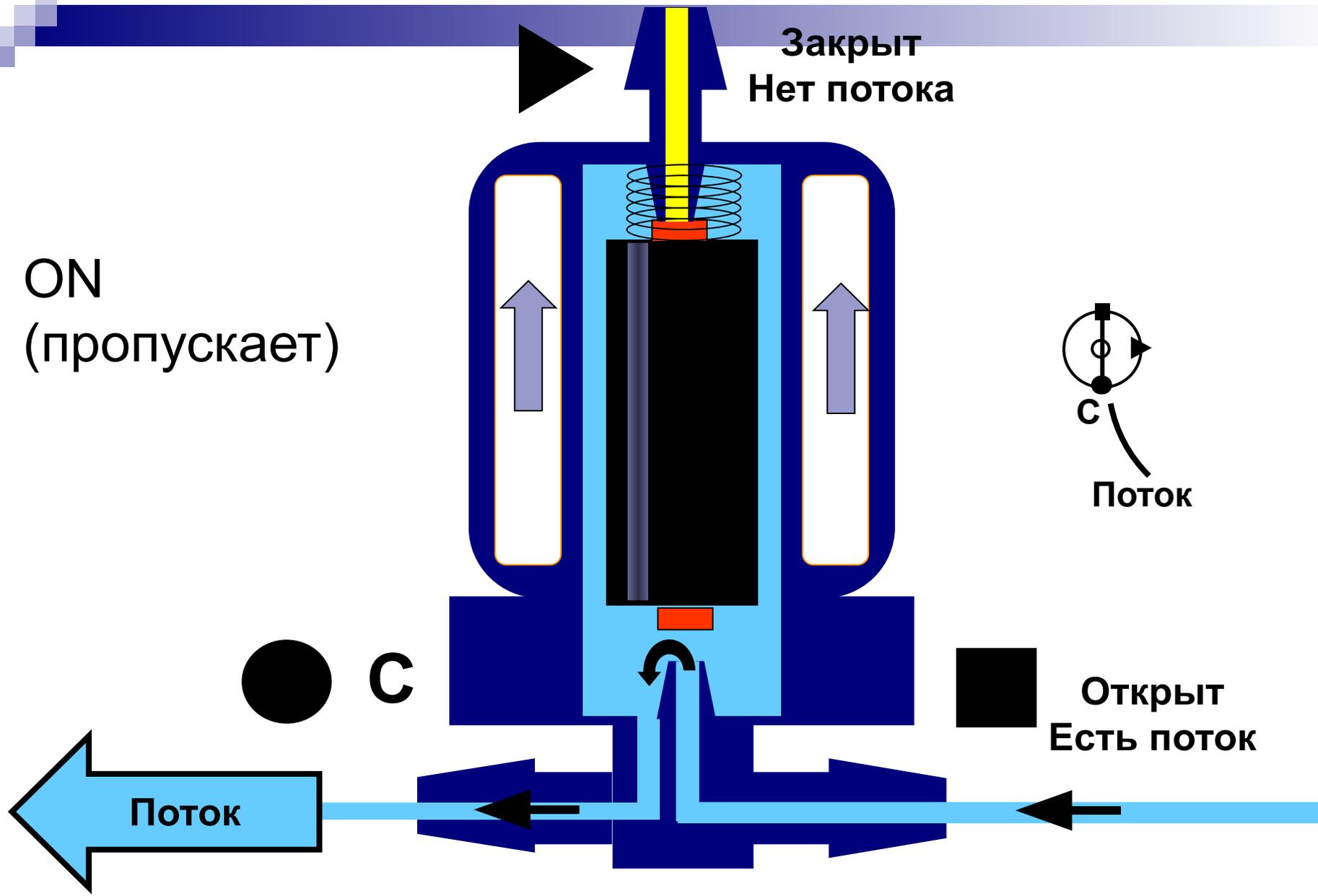
ON
(пропускает)



Клапан трехходовой

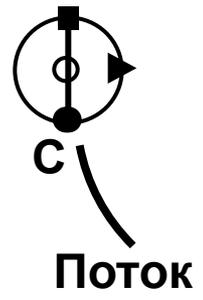




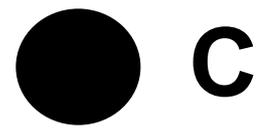


ON
(пропускает)

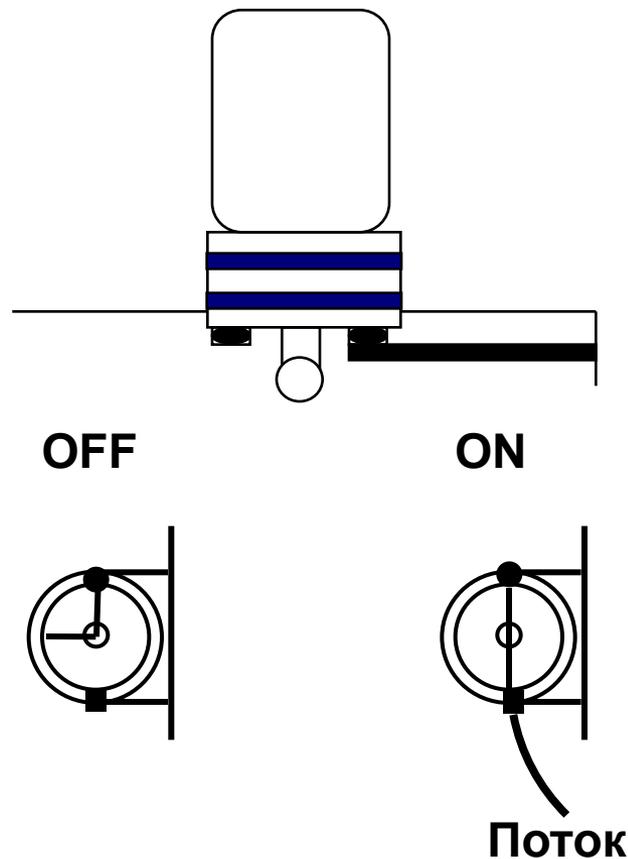
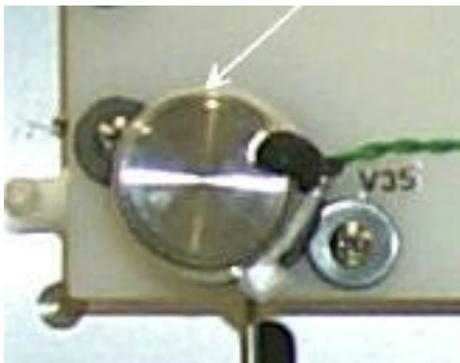
Закрыт
Нет потока



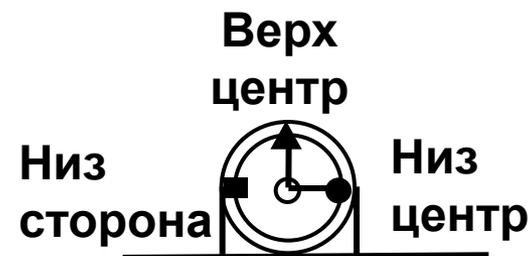
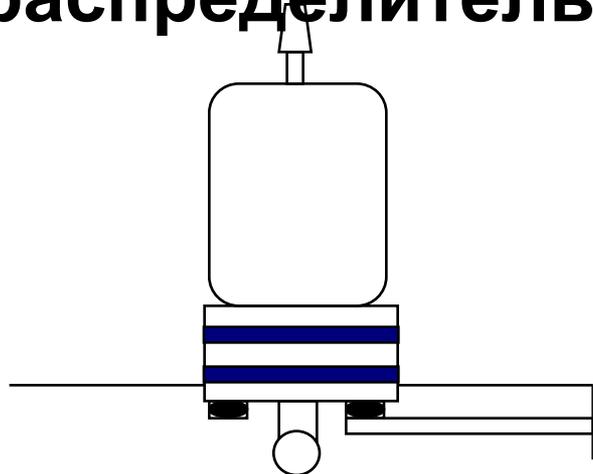
Открыт
Есть поток



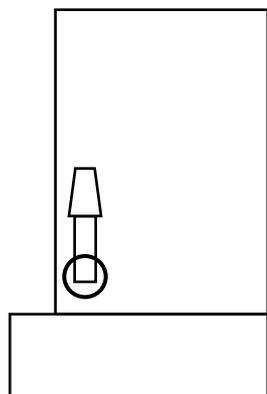
Клапан двухходовой распределительный (распределительная гребенка)



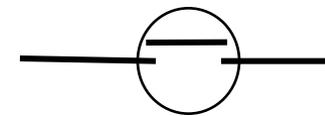
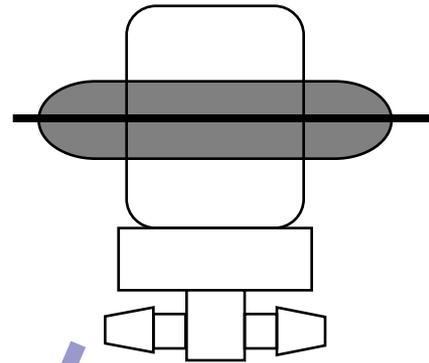
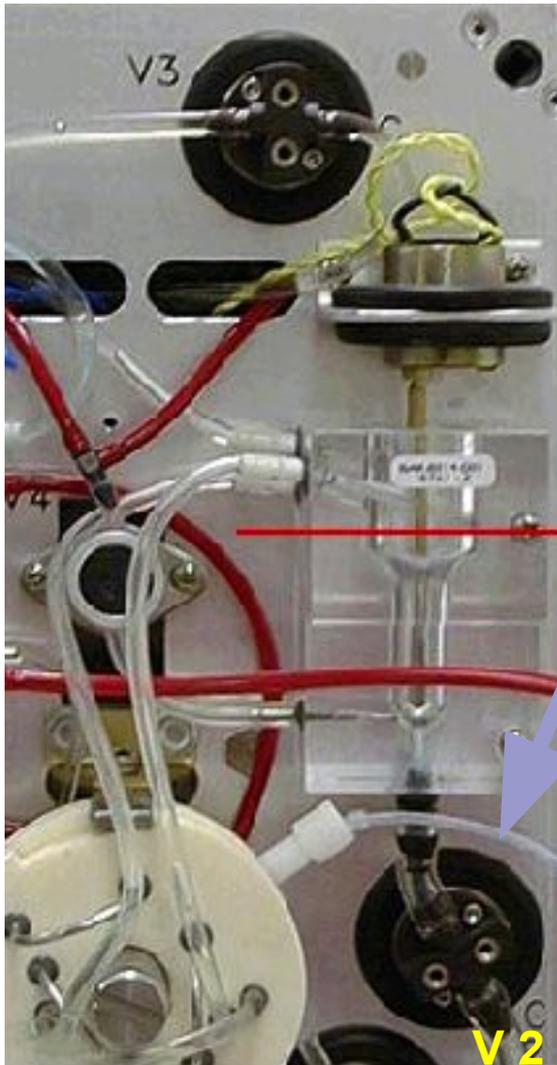
Клапан трехходовой распределительный



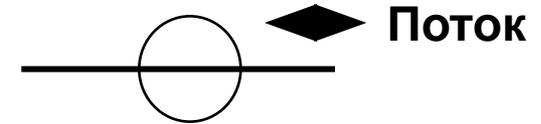
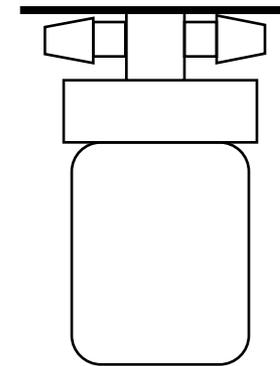
Клапан трехходовой распределительный катушечный



Клапан двухходовой мембранный

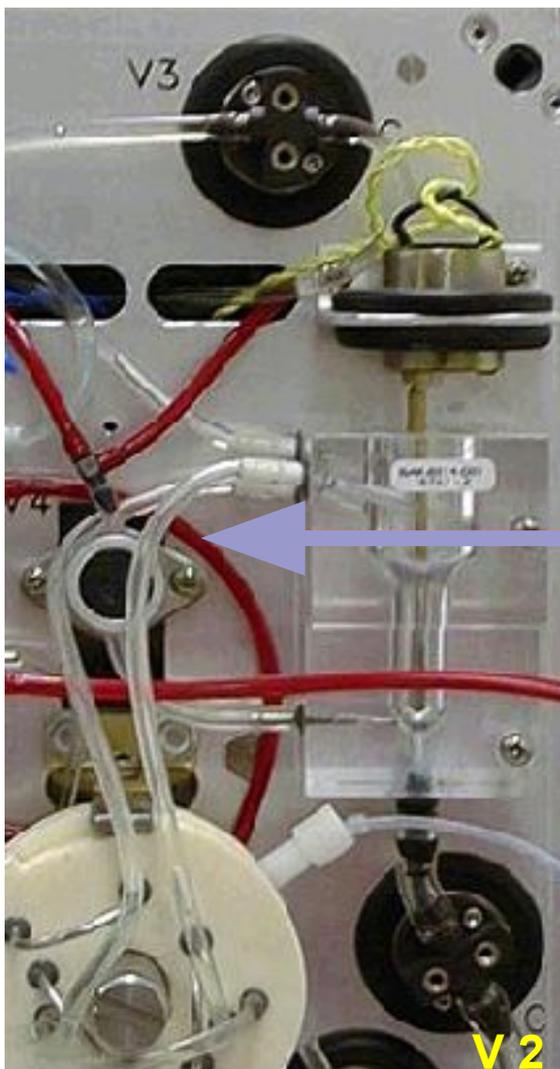


OFF = нет потока

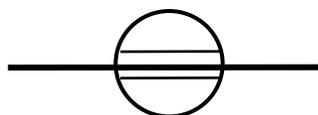
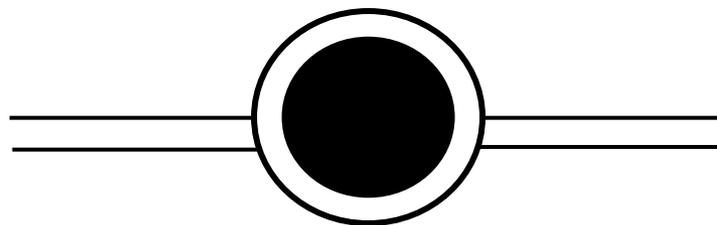


ON = есть поток

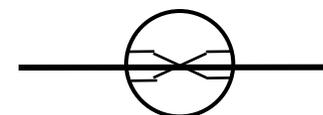
- Клапаны слива («грязные»)
- Более высока вероятность отказа
- Может заблокироваться в закрытом состоянии
- Может использоваться в обоих направлениях



Клапан пережимной (нормально закрытый)

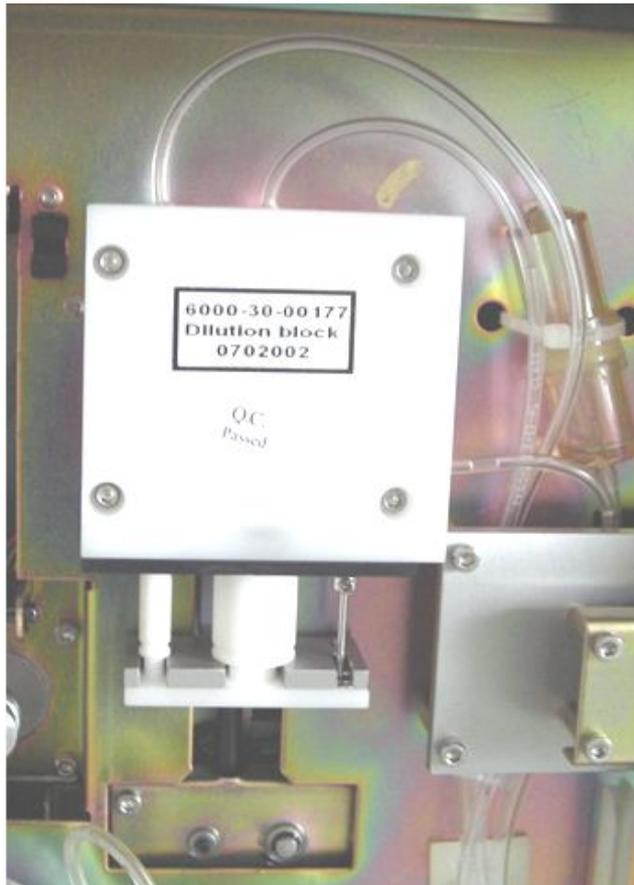


Трубка открыта
(ON)



Трубка закрыта
(OFF)

Шприцевые дозаторы



Вакуумная помпа

