



ОСНАЩЕНИЕ СОВРЕМЕННОЙ ЛАБОРАТОРИИ

В предыдущей статье* мы обсуждали проблему выбора гематологического анализатора с учетом параметров и характеристик, определяющих эксплуатационные свойства анализатора и требующих поэтому особого внимания при выборе прибора. Комплекс таких параметров определяет внешний образ прибора. В настоящей статье мы предлагаем заглянуть внутрь гематологического анализатора и посмотреть, как те или иные технические решения влияют на аналитические и эксплуатационные характеристики прибора, на надежность и производительность. Такое углубленное понимание работы гематологического анализатора позволит специалистам клиничко-диагностических лабораторий сделать свой выбор более обоснованным.

Выбираем гематологический анализатор: технические аспекты

Д.Р. Дылгин

руководитель сервисно-методического отдела АО «Юнимед»

А.Н. Шибанов

генеральный директор, АО «Юнимед»

Аналитический процесс

Современный гематологический анализатор является техническим устройством, которое обеспечивает выполнение аналитического процесса – определение клеточного состава крови человека в автоматическом режиме. На рис. 1 представлена схема этого аналитического процесса.

После ввода в анализатор пробы крови внутри прибора выполняется приготовление двух разведений введенной пробы крови. Первое необходимо для подсчета концентрации лейкоцитов (в нем же после лизиса эритроцитов подсчитывается концентрация гемоглобина), а второе – для подсчета концентрации эритроцитов и тромбоцитов.

Первое разведение крови получается путем дозирования цельной крови (обычно 10–20 мкл) и изотонического разбавителя (5–10 мл) с последующим добавлением лизирующего раствора, который разрушает эритроциты и преобразует все формы гемоглобина к одной.

* См.: Справочник заведующего КДЛ. 2007. № 2.

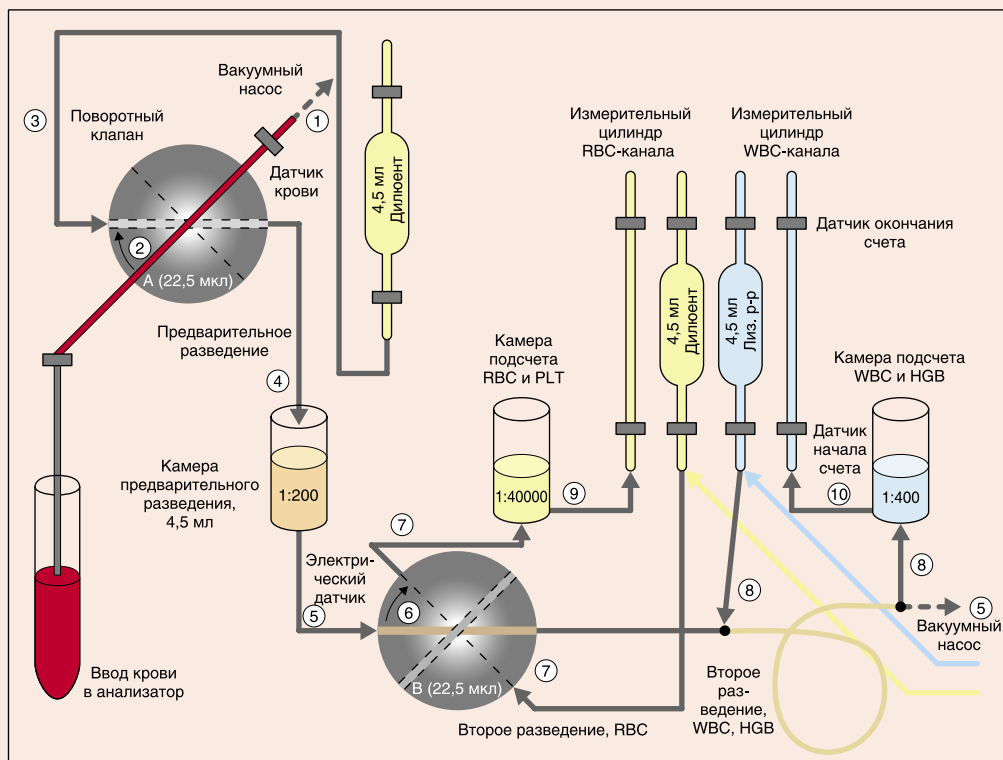


Рис. 1. Схема аналитического процесса подсчета гематологических показателей на современном геманализаторе

Второе разведение крови получается путем дозирования изотонического разбавителя (5–10 мл) первого разведения крови (обычно 50–100 мкл) до добавления в него лизирующего раствора.

На втором этапе прибор определяет концентрации клеток крови в приготовленных разведениях, анализирует индивидуальные характеристики клеток крови – объем, свойства пропускания и рассеяния света; измеряет концентрацию производной формы гемоглобина. Для этого часть первого разведения крови по магистралям анализатора поступает в специальное устройство, которое подсчитывает лейкоциты. Другая часть первого разведения направляется в проточную кювету гемоглобинометра, а второе разведение крови поступает в устройство, которое подсчитывает эритроциты и тромбоциты. Для расчета концентраций клеток при их подсчете измеряется объем разведения крови, прошедшего через устройство подсчета клеток.

На третьем этапе прибор выполняет комплекс вычислений, в результате которых получаются конечные данные анализа, и выводит эти итоги на дисплей и на печать.

Техническая реализация элементов аналитического процесса

В первую очередь выполняется ввод пробы крови в анализатор.

В настоящее время в разных гематологических анализаторах реализованы четыре варианта ввода пробы крови:

1. Ввод цельной крови из открытой пробирки.

Открытая пробирка с венозной или капиллярной кровью (стабилизированной ЭДТА) подносится к заборной игле прибора и поступает в его внутренние магистрали.

2. Ввод цельной крови из герметично закрытой пробирки.

Герметично закрытая резиновой пробкой пробирка с кровью (стабилизированной ЭДТА) устанавливается в специальное устройство в анализаторе. Резиновая пробка автоматически прокалывается специальной иглой, через которую кровь поступает в магистрали анализатора. Этот ввод применяется в тех случаях, когда при взятии крови были использованы вакуумные пробирки, содержащие ЭДТА (вакутейнеры).

3. Ввод предварительно разведенной крови из открытой пробирки.

Данный способ применяется в случаях, когда первое разведение крови выполняется вне анализатора. Для этих целей в приборе имеется дополнительная заборная игла, к которой подносится разведенная кровь и через которую проба поступает в анализатор прямо в емкость для первого разведения крови.

4. Ввод крови из микрокапилляра.

Этот метод применим в том случае, если забор капиллярной крови проводился с использованием специальных микрокапилляров объемом 20 мкл (прецизионные end-to-end капилляры). Микрокапилляр с кровью помещается в специальный адаптер, который затем вставляется в *специальный* разъем гематологического анализатора.

В настоящее время разные фирмы выпускают гематологические анализаторы, в которых реализован только первый метод ввода крови (“Адвия 60”, “Микрос 60”, “Культер АстДиф” и др), первый и второй методы (“Пентра 120”), первый и третий методы (“МЭК 6400”), а также все четыре метода (“Медоник” серии СА620, “Медоник” серии М).

Следующий этап – **дозирование цельной крови для приготовления первого разведения.**

Для выполнения этой операции в гематологическом анализаторе используется один из трех методов:

1. Шприцевой дозатор. (Рис. 2) Игла для ввода цельной крови (первый или второй способ ввода) подключена магистралью к шприцевому дозатору. При перемещении поршня дозатора на определенное расстояние кровь в объеме 10–20 мкл всасывается в иглу. После этого игла перемещается внутрь прибора и за счет движения поршня дозатора в обратном направлении кровь вытесняется из иглы в емкость для первого разведения.

2. Поворотный клапан. (Рис. 3) Кровь через иглу ввода заполняет входную магистраль и имеющий точно заданный объем канала поворотного клапана. Затем канал поворотного клапана, заполненный кровью, автоматически подключается к магистрали, по которой подается изотонический разбавитель.

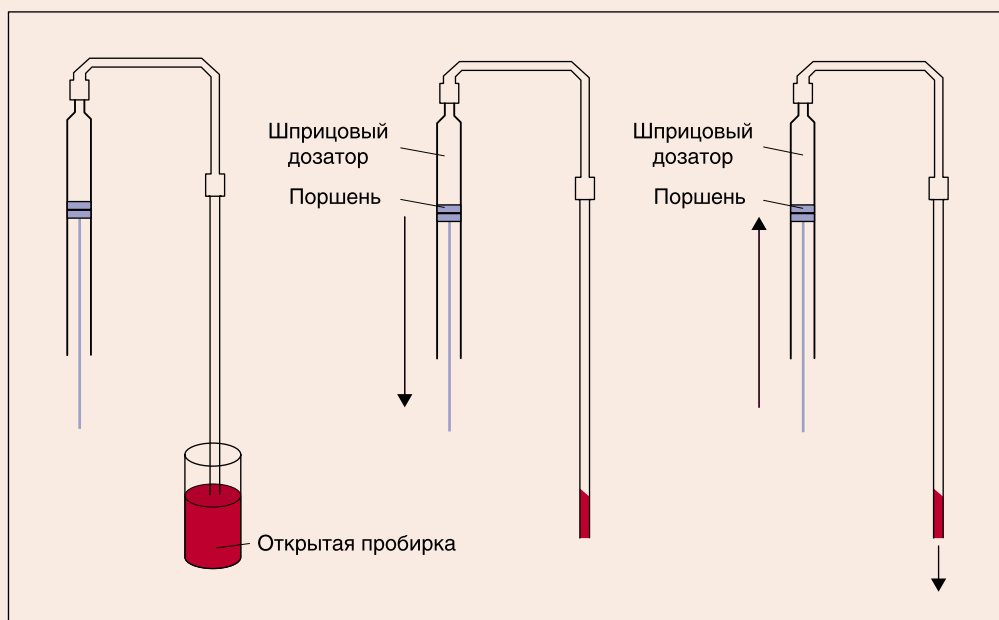


Рис. 2. Шприцевой дозатор

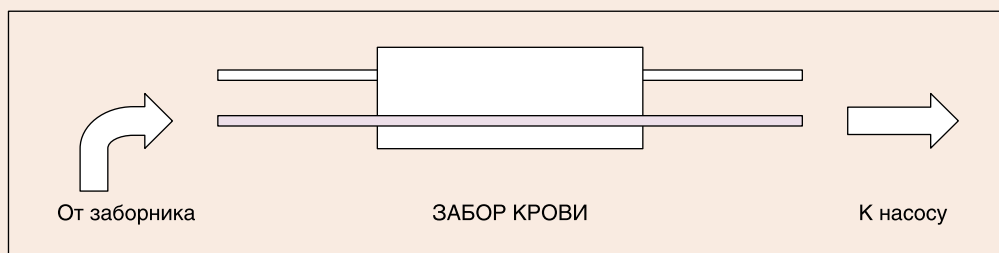


Рис. 3. Поворотный клапан

3. Прецизионный микрокапилляр. Этот метод может применяться, если гематологический анализатор оснащен специальным адаптером для ввода крови из микрокапилляров (четвертый метод ввода пробы). После установки в анализатор адаптера с микрокапилляром по магистрали подается изотонический разбавитель точно заданного объема, который вымывает из капилляра кровь в емкость для первого разведения.

Наиболее точным и надежным при дозировании цельной крови является метод поворотного клапана. Коэффициент вариации объема дозирования менее 1%. При этом минимальный объем крови, который необходимо взять у пациента, составляет 55–150 мкл. Это связано с тем, что кровь должна заполнить магистраль перед каналом поворотного клапана (60–130 мкл) и сам канал поворотного клапана (20 мкл).

Метод прецизионного капилляра позволяет минимизировать объем взятия крови до 20 мкл, что актуально, например, в педиатрии и неонатологии – кровь можно вводить в капилляр непосредственно из места прокола (палец, пяточка). Погрешность дозирования в этом случае определяется точностью изготовления микрокапилляров. Коэффициент вариации обычно не превышает 1,5%.

При использовании шприцевого дозатора в иглу также забирается малый объем крови (10–20 мкл). Однако, поскольку к игле анализатора кровь должна быть доставлена в пробирке, на практике минимальный объем крови составляет 100–200 мкл. Меньшее количество крови забирать нельзя, потому что кровь, как жидкость, обладающую высокой вязкостью после седиментации клеточных элементов, будет практически невозможно перемешать. Отметим, что перемешивание крови перед проведением измерения на гематологическом анализаторе – обязательная процедура преаналитического этапа, необходимая для обеспечения однородности пробы крови по клеточному составу во всем объеме исследуемого образца. Несоблюдение этого правила приводит к существенным искажениям измеряемых параметров. Также следует обратить внимание на то, что шприцевой дозатор является наименее надежным элементом в анализаторе и требует достаточно частого (в зависимости от интенсивности эксплуатации) ремонта. Точность дозирования шприцевым дозатором неизбежно снижается вследствие износа уплотнительных элементов в процессе эксплуатации прибора.

На третьем этапе аналитического процесса происходит **дозирование изотонического разбавителя и лизирующего раствора**.

В большинстве гематологических анализаторов (“Микрос 60”, “Культер Аст-Диф”, “Адвия 60” и др.) эти процедуры осуществляются с помощью шприцевых дозаторов. Поскольку объемы дозирования довольно велики – несколько миллилитров, то проблемы обеспечения достаточной точности дозирования нет. Однако, как уже отмечалось выше, надежность шприцевых дозаторов невысока – из-за движения штока и коррозии под воздействием изотонического и лизирующего растворов детали дозатора изнашиваются и требуют периодической замены. В новых конструкциях гематологических анализаторов (“Сисмекс КХ21”, “Медоник” серии М) применяются специальные устройства, представляющие собой стеклянную пипетку, оснащенную оптическими датчиками уровня жидкости. Отсутствие в этих устройствах движущихся частей значительно повышает их надежность.

Очередной шаг – **подсчет клеток крови и анализ их характеристик**.

Для выполнения этой процедуры в подавляющем большинстве типов гематологических анализаторов используется **кондуктометрический метод**, основанный на эффекте изменения электрического сопротивления микроотверстия (трансдьюсера) при прохождении через него клетки крови. Величина изменения сопротивления пропорциональна объему клетки. Это позволяет различать тромбоциты и эритроциты при их одновременном подсчете. Для подсчета лейкоцитов предварительно производится лизис эритроцитов. Устройство трансдьюсера во всех современных гематологических анализаторах практически одинаковое.

Концентрация клеток вычисляется как отношение числа подсчитанных клеток к объему разведения пробы, которое прошло через трансдьюсер. Для определения объема пробы, прошедшей через трансдьюсер, при подсчете клеток используется один из двух методов:

1. Метод фиксированного времени. По обе стороны трансдьюсера создается разность давлений точно заданной величины. При этом предполагается, что за определенное время через микроотверстие проходит точно известное количество пробы. Для чистого раствора это предположение абсолютно верно. Однако при исследовании разведенной крови иногда возникают засоры микроотверстия, что приводит к ошибкам в определении концентрации клеток. Чаще всего это происходит при подсчете лейкоцитов. Кроме того, по мере износа вакуумного насоса в процессе эксплуатации, разность давлений по обе стороны трансдьюсера изменяется, что влияет на количество измеряемой пробы. Этот метод реализован в анализаторах “Адвия 60”, “Микрос ОТ8/18”, “Микрос 60”, “Сисмекс КХ-21”, “Культер АстДиф” и др.

2. Метод измерительного цилиндра. Этот метод требует использования специального устройства, которое позволяет точно фиксировать объем пробы, прошедшей через трансдьюсер. В данном случае небольшое изменение пропускной способности трансдьюсера из-за засорения микроотверстия не влечет за собой ошибку в определении концентрации, а приводит лишь к увеличению времени, в течение которого измеряется концентрация клеток.

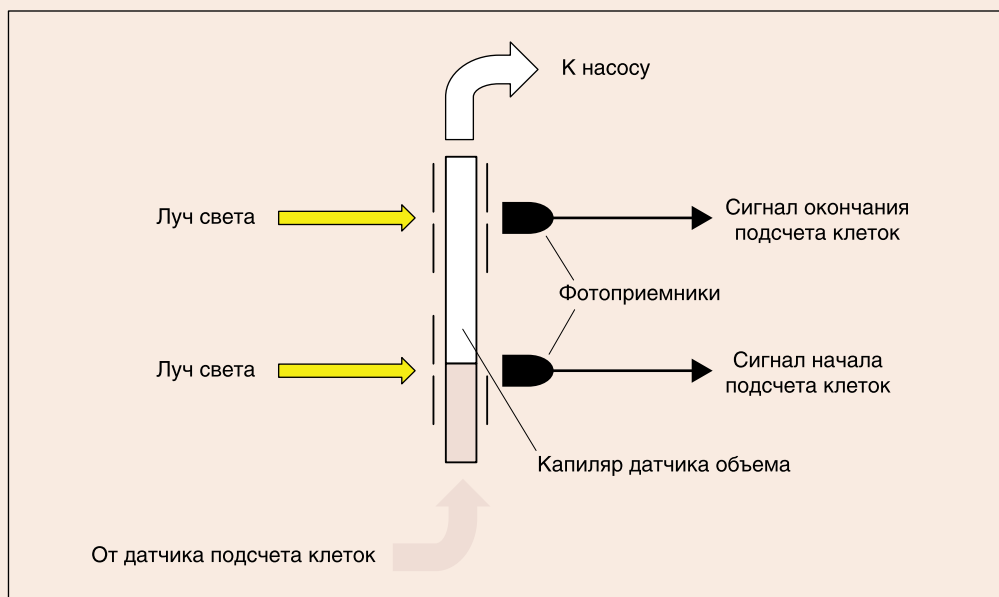


Рис. 4. Принцип работы датчика объема

При значительных засорениях измерительного отверстия происходит заметное увеличение времени счета. В этом случае прибор выдает сообщение о засорении трансдьюсера, и измерение следует повторить после очистки данного устройства. Этот метод реализован в гематологических анализаторах серии “Сисмекс К-1000”, “Диджиселл”, “СеллДин 900”, “Медоник”.

Проблема засорения микроотверстия трансдьюсера присутствует во всех гематологических анализаторах. Поэтому технология очистки микроотверстия постоянно совершенствуется. Один из наиболее часто применяемых способов

– способ обратного потока. При засорении микроотверстия через него под достаточно большим давлением в обратном направлении пропускается поток изотонического разбавителя. Это приводит к вымыванию засорения из микроотверстия. Осадок белков и липидов на стенках микроотверстия не всегда отмывается потоком изотонического разбавителя. В этом случае необходимо применять специальный очищающий раствор, содержащий детергенты и протеолитические ферменты. В качестве очищающего раствора иногда применяют гипохлорид натрия.

Относительно недавно был изобретен принципиально новый метод очистки микроотверстия трансдюсера, основанный на пропускании через микроотверстие электрического тока высокой частоты. При этом в объеме отверстия выделяется большое количество энергии, температура жидкости превышает точку кипения и возникает микровзрыв, что приводит к механическому удалению со стенок трансдюсера частиц и отложений. Этот способ впервые был применен в гематологических анализаторах “Медоник” серии СА530.

Кондуктометрический метод позволяет отдельно подсчитывать эритроциты, тромбоциты, лейкоциты. Измерение объема каждой прошедшей через трансдюсер частицы позволяет получить гистограммы распределения клеток по объему, определить средний объем эритроцитов и тромбоцитов, рассчитать гематокрит и тромбоциты. При использовании специально подобранных лизирующего раствора и изотонического разбавителя можно несколько модифицировать различные субпопуляции лейкоцитов – лимфоциты уменьшаются в объеме практически до ядер, а гранулоциты, напротив, увеличивают свой объем. Пример такой гистограммы распределения лейкоцитов по объему показан на рис. 5.

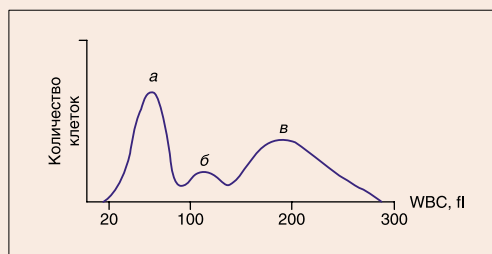


Рис. 5. Трехкомпонентная гистограмма распределения лейкоцитов по объему
а – концентрация, б – средняя фракция, в – гранулоциты

В заключение хотелось бы еще раз подчеркнуть, что выбор модели гематологического анализатора – очень ответственная задача для каждой лаборатории. Оптимальное решение невозможно без внимательного анализа большого количества характеристик. В данной и предыдущей статьях (Справочник заведующего КДЛ, №2 за 2007 г., стр. 29–34), основываясь на большом собственном опыте оснащения лабораторий современным оборудованием, мы попытались изложить основные особенности устройства гематологических анализаторов, которые существенно влияют на их эксплуатационные характеристики и техническую надежность. Полагаем, что это поможет специалистам КДЛ правильно выбрать прибор.