

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель министра
Здравоохранения



В.В. Колбанов

4 декабря 2002 г.

Регистрационный № 101-1002

**Метод эритроцитометрии на основе кондуктометрии
для полуавтоматических гематологических анализаторов
(инструкция по применению)**

Учреждение-разработчик: НИИ экологической и профессиональной патологии

Авторы: А.С. Прокопович, канд., мед. наук, доц. Н.Г. Кручинский

[Перейти к оглавлению](#)

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение	3
Показания к применению	4
Перечень необходимого оборудования, реактивов и средств	5
Методика выполнения метода	5
Контроль качества исследования	6
Техника безопасности	6
Принцип интерпретации результатов исследования	6
Уровень использования метода	11

ВВЕДЕНИЕ

Предлагаемый метод позволяет идентифицировать характер изменения размеров (объем) циркулирующего пула эритроцитов (микро- и макроцитоз) при исследовании крови с помощью гематологических полуавтоматических анализаторов.

Метод может быть реализован на гематологических анализаторах, имеющих программу «Селекция клеток в ручном режиме», в частности F-800 фирмы «Sysmex», «Hemacomp-10», «Hemacomp-11» и «Hemat-12» фирмы «Seac», «Medonic CA 530», «Haemascreen-8» и «Haemascreen-10» фирмы «Hospitex».

Это представляется особенно важным при полифакторных анемиях, когда одновременно в кровотоке присутствуют микро- и макроциты. В этом случае показатель среднего объема эритроцита (MCV) из-за наличия анизоцитоза не является информативным. MCV является параметром среднего объема для всей популяции клеток и должен учитываться в комплексе с показателем ширины кривой распределения эритроцитов по объему (RDW-CV) и эритроцитарной гистограммы. Диаметр эритроцита зависит от формы клеток, так микросфероцит имеет диаметр меньше нормы, в то время как средний объем его чаще остается в пределах нормы. Следовательно, независимой характеристикой эритроцита может быть только его объем (Луговская С.А. и соавт., 1996).

Современные гематологические анализаторы работают по принципу кондуктометрии (Почтарь М.Е. и соавт., 1996). Когда поток клеток крови проходит сквозь диафрагму датчика анализатора, увеличивается электрическое сопротивление между электродами. Это и обуславливает изменение напряжения между ними пропорционально изменению величины сопротивления. Объем клетки, проходящей сквозь диафрагму, пропорционален этому изменению напряжения. Математическое выражение этого явления вытекает из закона Ома: $E = I \times R$, где E — напряжение, I — сила тока, R — сопротивление. Поскольку величина силы тока постоянна, то клетки, проходящие сквозь диафрагму датчика, увеличивают сопротивление, т.к. являются помехой для потока электронов. Следовательно, любое увеличение сопротивления будет приводить к возрастанию напряжения пропорционально величине сопротивления, которое в свою очередь пропорционально размеру (объем) клетки (Почтарь М.Е. и соавт., 1996).

Значение количества эритроцитов (RBC), среднего объема эритроцита (MCV) и гистограммы их распределения по объему в диапазоне от 25 до 250 фл позволяет получить показатель ширины кривой распределения эритроцитов (RDW-CV), являющийся фактически коэффициентом вариации по их объему (Луговская С.А. и соавт., 1996).

При использовании программы селекции в ручном режиме (manual discr) во время работы с гематологическими анализаторами путем перемещения курсоров (дискриминаторов) диапазонов измерения возможно выделить на гистограмме распределения клеток субпопуляции микро- (диапазон <80 фл), нормо- (80–100 фл) и макроцитов (диапазон >100 фл) (Киселевский Ю.В. и соавт., 1996).

Предлагаемый в таком виде метод эритроцитометрии является аналогом кривой Прайс-Джонса, однако выгодно отличается от него по следующим признакам:

– во-первых, гематологические анализаторы исследуют на два порядка большее количество клеток (например, установка F-800 «Sysmex» анализирует 50 000 клеток, а анализ с окулярмикроскопом предполагает исследование не менее 100–200 клеток) (Колб В.Г., Дальнова Т.С., Светлицкая С.Г., 1990; Чиркин А.А., Огороков А.Н., Гончарик И.И., 1992).

– во-вторых, при построении кривой Прайс-Джонса исследуется диаметр эритроцита, который в отличие от его объема зависит также и от адгезивных свойств мембраны. При высыхании эритроцитов в мазке крови их диаметр уменьшается на 15–20%, а в толстых мазках он меньше, чем в тонких. Полностью избавиться от артефактов позволяет применение кондуктометрического метода (Луговская С.А. и соавт., 1996).

– в-третьих, построение кривой Прайс-Джонса является весьма трудоемкой процедурой, которая не может широко применяться в практике ЛПУ всех уровней. Кроме того получаемые результаты напрямую зависят от квалификации специалиста.

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Метод эритроцитометрии на основе измерения объема клеток в заданных диапазонах (кондуктометрия) рекомендуется применять во всех случаях отклонения от нормы ширины кривой распределения эритроцитов.

Это может иметь диагностическую ценность в следующих случаях (Кассирский И.А., Алексеев Г.А., 1970; Колб В.Г., Дальнова Т.С., Светлицкая С.Г., 1990; Киселевский Ю.В. и соавт., 1996; Пятницкий А.М. и соавт., 1997; Чиркин А.А., Огороков А.Н., Гончарик И.И., 1992):

- диагностика и дифференциальная диагностика анемий;
- диагностика железодефицитных состояний;

Метод эритроцитометрии на основе кондуктометрии для полуавтоматических гематологических ...

- контроль за эффективностью лечения анемий и анемических состояний;
- в наркологической практике при тестировании на скрытый алкоголизм (т.к. макроцитоз без морфологических признаков мегалобластной анемии и при минимальном анизоцитозе считается одним из наиболее распространенных признаков).

ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМОГО ОБОРУДОВАНИЯ, РЕАКТИВОВ И СРЕДСТВ

Гематологические анализаторы, имеющие программу «Селекция клеток в ручном режиме» в стандартной комплектации.

Гематологические полуавтоматические анализаторы комплектуются расходными материалами в соответствии с инструкцией по эксплуатации. Дополнительного их доукомплектования и калибровки для выполнения эритроцитометрии не требуется.

МЕТОДИКА ВЫПОЛНЕНИЯ МЕТОДА

Взятие крови, подготовка проб и выполнение гематологического анализа проводится в соответствии с руководством по эксплуатации полуавтоматического анализатора. Затем выбирается программа «Селекция в ручном режиме» и ее параметр RBC. Далее, в соответствии с описанием, изложенным в соответствующем разделе инструкции к анализатору, производится перемещение курсоров диапазонов измерения (например, для полуавтоматического гематологического анализатора F-800 «Sysmex» эта процедура описана в разделе 7.4.2. руководства по эксплуатации, код документа № 461–2127–8).

Аппарат автоматически определяет количество клеток в заданных диапазонах. После выделения соответствующих зон на экране дисплея анализатора появляется цифровое значение количества клеток этого диапазона. Затем оператор вычисляет их процентное содержание по отношению к ранее определенному общему количеству эритроцитов.

Эритроцитометрия на основе измерения объема клеток в заданных диапазонах при помощи гематологических анализаторов является достаточно высокоточным методом. Так, например, при работе на анализаторе F-800 «Sysmex» в режиме RBC, при сравнении с референтным образцом крови точность определения составляет +2%, коэффициент вариации при определении эритроцитов не более 1%, при определении MCV не более 1,5%, а при определении параметра RDW-CV не более 3%.

Контроль качества исследования

Для получения объективных и воспроизводимых результатов необходимо строго соблюдать правило калибровки прибора и процедуры ежедневной проверки в соответствии с руководством по эксплуатации.

Если использовать в качестве диапазона стандартный (минимальный) шаг курсора можно получить более полную характеристику пула циркулирующих эритроцитов. Так, например, при работе с анализатором F-800 в режиме ручной селекции дискриминатор перемещается с минимальным шагом в 5 фл. Это дает возможность определять количество клеток во всех диапазонах от 25 до 250 фл с последующим расчетом их процентного содержания.

Техника безопасности

Правила техники безопасности регламентируются инструкцией по применению гематологического анализатора, правилами техники безопасности при работе в клинично-диагностической лаборатории и нормативными документами по соблюдению санитарно-эпидемиологического режима при работе с биологическими материалами.

Принцип интерпретации результатов исследования

Сравнение определения исходных параметров метода эритроцитометрии с референтным образцом крови показало, что точность определения эритроцитов составляет +2%, коэффициент вариации при определении эритроцитов — не более 1%, при определении MCV — не более 1,5%, а при определении параметра RDW-CV — не более 3%.

Основным результатом внедрения метода эритроцитометрии на основе измерения объема клеток в заданных диапазонах является улучшение качества диагностики микро-, макро- и нормоцитарных анемий, особенно при их смешанных формах. Это существенно расширяет возможности контроля эффективности лечения, позволяя, в ряде случаев, отказаться от дорогостоящих биохимических, радиоиммунных и иммуноферментных методов анализа.

Примеры полученных результатов использованной методики эритроцитометрии на основе кондуктометрии для полуавтоматических гематологических анализаторов представлены на рис. 1 и 2. Данные эритроцитометрии вносятся затем в компьютерную базу с последующей распечаткой и внесением в историю болезни пациента, что показано в табл. 1 и 2.

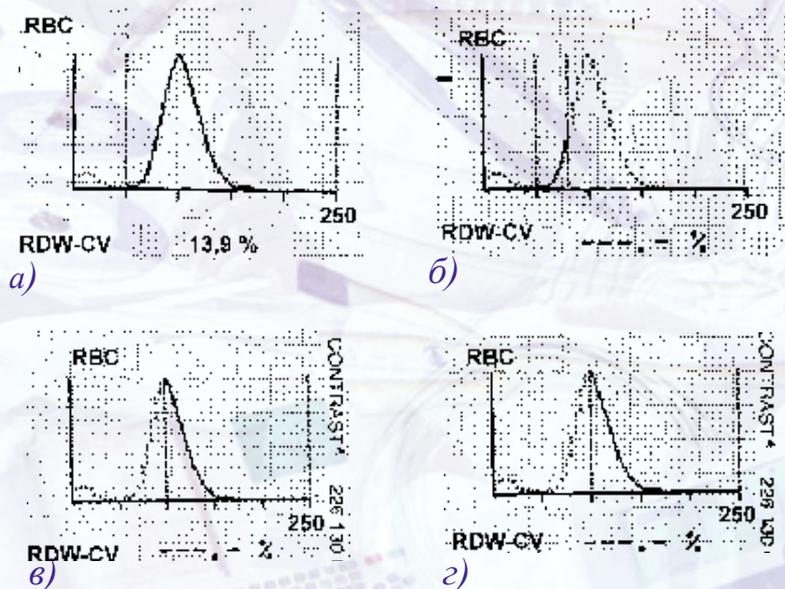


Рис. 1. Гранулометрическое распределение эритроцитов по объему у больной К.: а) распределение общего количества эритроцитов; б) распределение общего количества эритроцитов с выделением субпопуляции микроцитов; в) распределение общего количества эритроцитов с выделением субпопуляции нормоцитов; г) распределение общего количества эритроцитов с выделением субпопуляции макроцитов

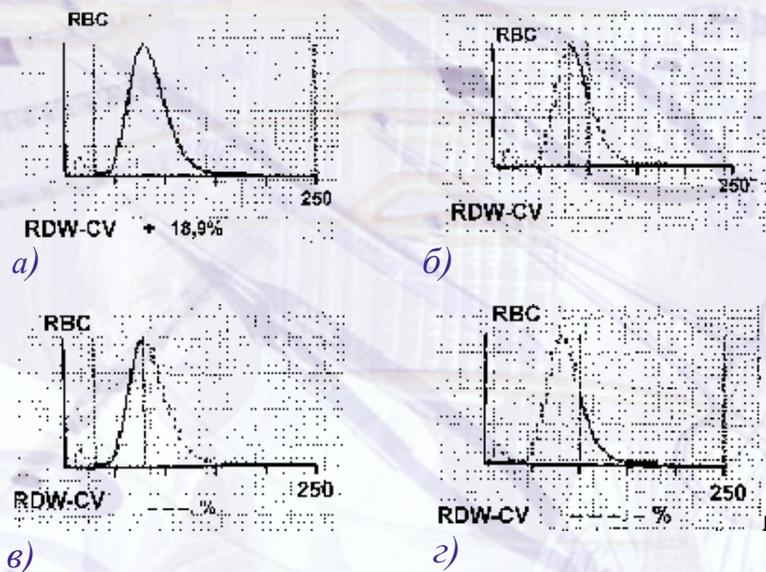


Рис. 2. Гранулометрическое распределение эритроцитов по объему у больной Б.: а) распределение общего количества эритроцитов; б) распределение общего количества эритроцитов с выделением субпопуляции микроцитов; в) распределение общего количества эритроцитов с выделением субпопуляции нормоцитов; г) распределение общего количества эритроцитов с выделением субпопуляции макроцитов

Вид анализа	Эритроцитометрия		
Лечебное учреждение	№ анализа в базе данных	Дата анализа	
Клиника НИИ ЭПП	725	22.02.2002 г.	
Ф.И.О.	Пол	Возраст	
Б.Л.Ю.	ж	42	
Отделение	Диагноз		
2-е терапевтическое	Язвенная болезнь 12-перстной кишки		
Параметр	Норма	Результат	Оценка (увеличение “+”; снижение “-”)
Эритроциты, $1 \times 10^9/\text{л}$	3,7–4,7	6,68	+
Гематокрит, л/л	0,36–0,48	0,56	+
Гемоглобин, г/л	120–140	169,0	+
MCV, фл	80,0–95,0	84,1	
MCH, пг	27,0–34,0	25,4	-
MCHC, г/дл	30,0–35,0	30,2	
RDW-CV, %	11,0–16,0	18,9	+
Макроцитоз эритроцитов	-	+	
Микроцитоз эритроцитов	-	++	
Количество микроцитов, %	до 12,5	40	+
Количество нормоцитов, %	до 75	40	
Количество макроцитов, %	до 12,5	20	+
Тромбоциты, $1 \times 10^{12}/\text{л}$	160–360	517,0	+
Заключение	Выраженный микроцитоз, незначительный макроцитоз на фоне повышенных показателей количества эритроцитов, содержания гемоглобина и увеличенного гематокрита		
Рекомендации	Исключить эритремию, дополнительно провести исследование на латентный дефицит железа (содержание сывороточного железа, ОЖСС, ферритин)		

Вид анализа	Эритроцитометрия		
Лечебное учреждение	№ анализа в базе данных	Дата анализа	
Клиника НИИ ЭПП	611	22.02.2002 г.	
Ф.И.О.	Пол	Возраст	
К.М.М.	ж	45	
Отделение	Диагноз		
1-е терапевтическое	Гипертоническая болезнь II ст.		
Параметр	Норма	Результат	Оценка (увеличение “+”; снижение “-”)
Эритроциты, $1 \times 10^9/\text{л}$	3,7–4,7	3,73	+
Гематокрит, л/л	0,36–0,48	0,38	
Гемоглобин, г/л	120–140	138,0	
MCV, фл	80,0–95,0	109,2	+
MCH, пг	27,0–34,0	37,0	+
MCHC, г/дл	30,0–35,0	35,9	+
RDW-CV, %	11,0–16,0	13,9	+
Макроцитоз эритроцитов	–	++	
Количество микроцитов, %	до 12,5	8,0	
Количество нормоцитов, %	до 75	35,0	
Количество макроцитов, %	до 12,5	57,0	+
Тромбоциты, $1 \times 10^{12}/\text{л}$	160–360	234,0	
Заключение	Выраженный макроцитоз на фоне увеличения среднего объема эритроцита, среднего содержания гемоглобина в эритроците и концентрации гемоглобина в эритроците		
Рекомендации	Исключить дефицит витамина B ₁₂ и фолиевой кислоты		

УРОВЕНЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА

Предлагаемый метод эритроцитометрии на основе кондуктометрии целесообразно использовать в клиничко-диагностических лабораториях центральных районных, городских и областных больниц, территориальных медицинских объединений, оснащенных гематологическими анализаторами.

Возможные осложнения при разработке методики не выявлены.

Противопоказания к применению метода не установлены, поскольку метод относится к клинической лабораторной диагностике.