

**«УТВЕРЖДАЮ»**

Заведующий кафедрой клинической  
лабораторной диагностики ГОУ ДПО  
«РМАПО Росздрава» профессор

Долгов В.В.

2005г.



## **Методические рекомендации**

по использованию АНАЛИЗАТОРА АКУСТИЧЕСКОГО КОМПЬЮТЕРИЗИРОВАННОГО АКБа-01-«БИОМ<sup>®</sup>» для определения концентрации гемоглобина, количества эритроцитов, показателя гематокрита, цветового показателя, средней концентрации гемоглобина в эритроцитах, среднего содержания гемоглобина в эритроцитах, среднего объема эритроцитов, скорости оседания эритроцитов

Методические указания вводятся кафедрой Клинической лабораторной диагностики Государственного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия последиplomного образования Росздрава» (заведующий кафедрой В.В.Долгов, разработчик Е.Н.Тамарова).

## Содержание

1. Введение .....	3
2. Назначение изделия.....	3
3. Определение показателей цельной крови .....	3
3.1. Определяемые показатели .....	4
3.2. Требования .....	4
3.3. Пробоподготовка.....	4
3.4. Запуск программного обеспечения. ....	5
3.5. Режим калибровки.....	6
3.6. Рабочий режим «Гематология» (венозная, капиллярная кровь). ....	8
3.7. Работа с базой данных.....	10
3.8. Печать бланков выдачи результатов. ....	15
3.9. Окончание работы.....	18
3.10. Техническое обслуживание.....	18
4. Аналитические характеристики .....	19
4.1. Воспроизводимость. Правильность.....	20
4.2. Линейность.....	20
4.3. Скорость оседания эритроцитов.....	20
5. Контроль качества .....	22
6. Ограничения метода .....	243
7. Особенности метода .....	23

## **1. Введение**

Клинический анализ крови является одним из наиболее распространенных клинико-лабораторных исследований в медицинской практике. Изучение показателей периферической крови проводится как при профилактическом осмотре, так и при динамическом наблюдении за пациентами.

Для подсчета клеток крови с высокой точностью во многих странах с 50-х годов прошлого столетия применяется технология автоматического анализа крови в гематологических анализаторах, что позволяет подвергать исследованию сразу большое количество клеток одного пациента. Однако до сих пор в нашей стране сохраняются ручные методы подсчета клеток крови (эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов) в счетных камерах под микроскопом, что является трудоемким процессом с большим источником ошибок. Более того, не существует методов одновременного определения скорости оседания эритроцитов (СОЭ) и показателей красной крови. Широко применяемый в клинико-диагностических лабораториях метод Панченкова для определения СОЭ не удовлетворяет современным требованиям, так как он не автоматизирован и, следовательно, не оснащен системой автоматического документирования результатов.

Предлагаемый акустический метод позволяет определять показатели крови, благодаря анализу прошедшей ультразвуковой волны через образец и дальнейшей математической обработке информации. Данный метод принципиально отличается по типу получаемого сигнала от биохимических, кондуктометрических и других технологий.

## **2. Назначение изделия.**

Анализатор предназначен для проведения общего клинического анализа крови методами биофизической акустики путем измерения резонансных частот акустических ячеек с цельной кровью.

### **3. Определение показателей цельной крови**

#### **3.1. Определяемые показатели**

- концентрация гемоглобина, г/л;
- количество эритроцитов,  $\cdot 10^{12}/л$ ;
- гематокрит, %;
- цветовой показатель, усл.ед;
- средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах, г/дл;
- среднее содержание гемоглобина в эритроцитах, пг;
- средний объем эритроцитов, фл;
- скорость оседания эритроцитов (СОЭ), мм/ч;

Результаты исследования по каждому пациенту выводятся на экран компьютера, сохраняются в базе данных и могут быть распечатаны в виде бланков в любое время.

#### **3.2. Требования**

Для работы акустического анализатора «БИОМ» необходимо иметь:

- персональный компьютер (ПК) на базе не менее Pentium I (оптимально III или IV) с операционной системой (ОС) Win 98SE, 2000 или XP;
- CD\_R диск с программным обеспечением «БИОМ»;
- принтер
- пипетка цифровая переменного объема 20 – 200 мкл (микродозатор)
- микропробирки типа Эппендорф

Управление анализатором осуществляется при помощи ПК.

#### **3.3. Пробоподготовка**

Исследованию подвергается свежая цельная венозная или капиллярная кровь, стабилизированная К-ЭДТА. Капиллярную кровь помещают **микродозатором** в микропробирку с антикоагулянтом К<sub>3</sub>-ЭДТА (Трилон Б) из расчета 20 мкл на 200 мкл крови (минимально допустимо: 20 мкл трилона Б на 100 мкл крови). Венозную кровь - в специальные пластиковые пробирки

одноразового использования, обработанные К<sub>3</sub>-ЭДТА фирмы «Sarstedt» (возможны аналоги) **строго до заводской метки**. Сразу после взятия пробу крови необходимо тщательно перемешать, перевернув пробирку крышкой вниз не менее 10 раз. Допускается хранение крови для исследования в холодильнике (не более 24 часов при 3-5°C). Перед исследованием кровь всегда необходимо перемешивать с 5% раствором цитрата в соотношении 4:1 (например, 4 мл крови +1 мл цитрата). Цитрат входит в комплект поставки, хранится в холодильнике.

#### **Примечание:**

В случае с капиллярной кровью необходимо учитывать объем антикоагулянта при добавлении цитрата (например, добавлять 55 мкл цитрата к 220 мкл крови с антикоагулянтом).

### **3.4. Запуск программного обеспечения.**

3.4.1. Включить компьютер, акустический анализатор и, при необходимости, принтер. Запустить программное обеспечение «БИОМ» дважды нажав на левую кнопку мыши при положении курсора на ярлыке рабочей программы. После загрузки на экране монитора появится окно рабочей программы (рис.3.1).



*Рис 3.1. Общий вид окна рабочей программы (первый запуск).*

Если прибор не включен, в информационной строке (жёлтая строка внизу, далее инф-строка) надпись зеленым цветом «Анализаторы не обнаружены».

**• Здесь и далее по тексту следуйте внимательно инструкциям инф - строки для успешной работы •**

Если соединение анализатора и компьютера прошло успешно начинается самопрогрев прибора. В инф-строке мигает надпись «Идет самопрогрев анализатора, ...для отмены нажать – Esc» и индицируется обратный отсчет времени (15 мин по умолчанию).

Обратный отсчет времени завершен, инф-строка: "Режим калибровки.

Залейте в каждую ячейку рабочий объем H<sub>2</sub>O и нажмите "Пуск".

Аналогичная реакция при запуске программы, если прибор был уже прогрет (выключения питания 220В не производилось, а программу закрывали).

Справа от инф-строки окно отображающее количество свободных каналов.

### **3.5. Режим калибровки**

Анализатор акустический АКБа – 01 - «БИОМ» имеет 2 ячейки для проведения исследований\*. Калибровка прибора заключается в измерении резонансных частот в обеих ячейках при помещении в них дистиллированной воды. Рабочий объем ячеек (75 – 115) мкл зависит от исполнения прибора (точное значение указывается в Руководстве по эксплуатации РЭ). Необходимо промыть ячейки дистиллированной водой не менее 5 раз, затем залить в ячейки рабочий объем воды, не допуская образования пузырьков.

Нажать кнопку «Пуск» (кнопка находится на панели управления над инф-строкой), в инф-строке: «Идет термостатирование...отмена Esc, пропуск Pause» (по умолчанию термостатирование 40 с). Измерение завершенно.

Строка состояния: «Повторите заливку, нажмите Пуск».

Вторая заливка завершена, термостатирование 30 с, измерение закончено.

После успешного завершения калибровки инф строка «Удал воду, трижды промыть и залить Nb1 в ячейки, нажать Пуск». В случае появления инф-

строки: «Ошибка калибровки! Промойте 5 раз ячейки водой, проведите калибровку сначала!», необходимо проделать калибровку заново. Если проблема повторилась, констатируется неисправность анализатора.

*Для устранения неисправности необходимо вызвать представителя предприятия – изготовителя!*

Если калибровка уже проводилась, и прибор не выключался, при запуске программы появляется в инф-строке: «Удал воду, трижды промыть и залить Hb1 в ячейки, нажать Пуск».

Кнопка «Стоп» производит отмену команды «Пуск».

\*- Производитель может выпускать анализатор в одноканальном исполнении.

### **3.5.1. Калибратор гемоглобина**

После завершения калибровки на воде, удалить воду полностью из обеих ячеек, трижды промыть калибратором Hb1 (гемоглобин патология), залить в каждую ячейку, нажать «Пуск». Началось термостатирование обеих ячеек, затем измерение. Результат проверяется на соответствие заданному программой интервалу  $Hb1 \pm 2,5\%$  (значение Hb1 см на флаконе)\*\*. Если произошло несовпадение, в инф строке «Повторите заливку Hb1 в ячейки, нажмите Пуск». Проверка проводится максимум 3 раза, в случае несоответствия инф строка «Ошибка калибровки Hb1, убедитесь что в ячейках калибр Hb1. Обратитесь к сервисному спец». Если значения попали в заданный диапазон, появляются в базе данных (БД) строки, где вместо ФИО «Калибратор Hb1», значение гемоглобина и номер канала (например, Калибратор Hb1 69 1к / Готово).

После успешного завершения работы с калибратором Hb1, инф строка «Удал калибр Hb1, трижды промыть и залить Hb2 в ячейки, наж Пуск».

Далее все шаги аналогично Hb1.

Процесс работы с Hb1 и/или Hb2 можно отменить в любой момент времени, нажав кнопку «Esc» на клавиатуре и перейти к работе с кровью.

\*\* - Оператор прибора вводит в программу самостоятельно значения с этикеток на флаконах после получения новой партии калибраторов. Для этого нажать «Меню». Выбрать «Настройки». Ввести в значения Hb1 и Hb2 в соответствующие поля см рис ниже.

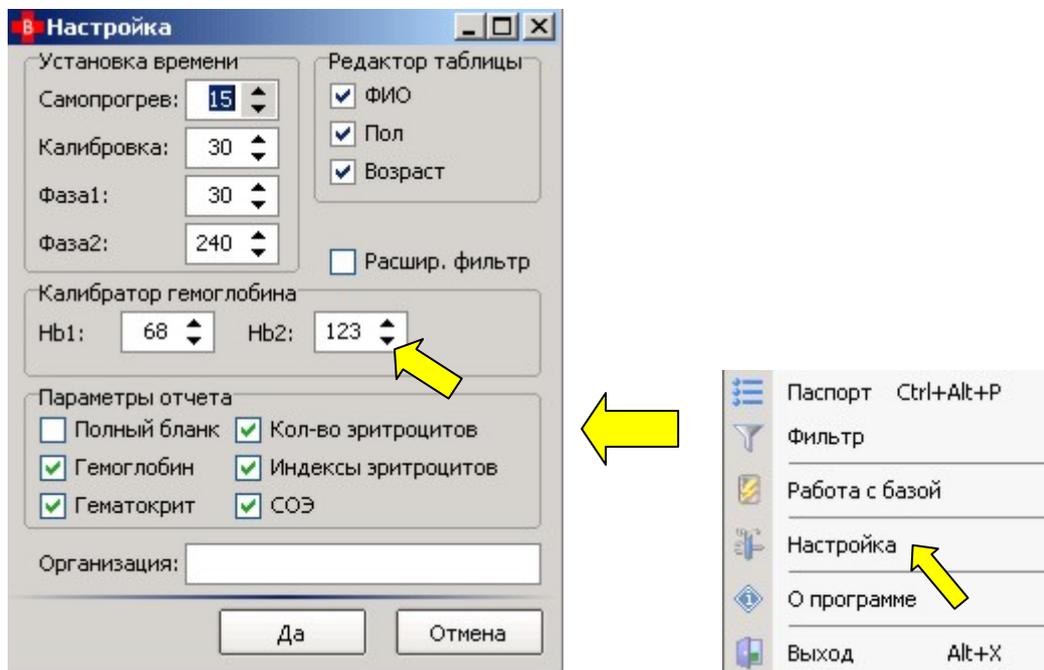


Рис 3.1.1 Меню настройки. Ввод значений калибратора гемоглобина Hb

### 3.6. Рабочий режим «Гематология» (венозная, капиллярная кровь).

Работа с калибраторами Hb1, Hb2 завершена или совершен выход кн. «Esc», инф-строка «Удал калибр, нажать создать запись + ». Нажать кнопку «Создать запись + », в окне БД появляется новая строка с текущей датой и временем, инф-строка: «Запись создана, промыть ячейки физраствором, залить кровь, нажать «Пуск» см рис 3.1.2

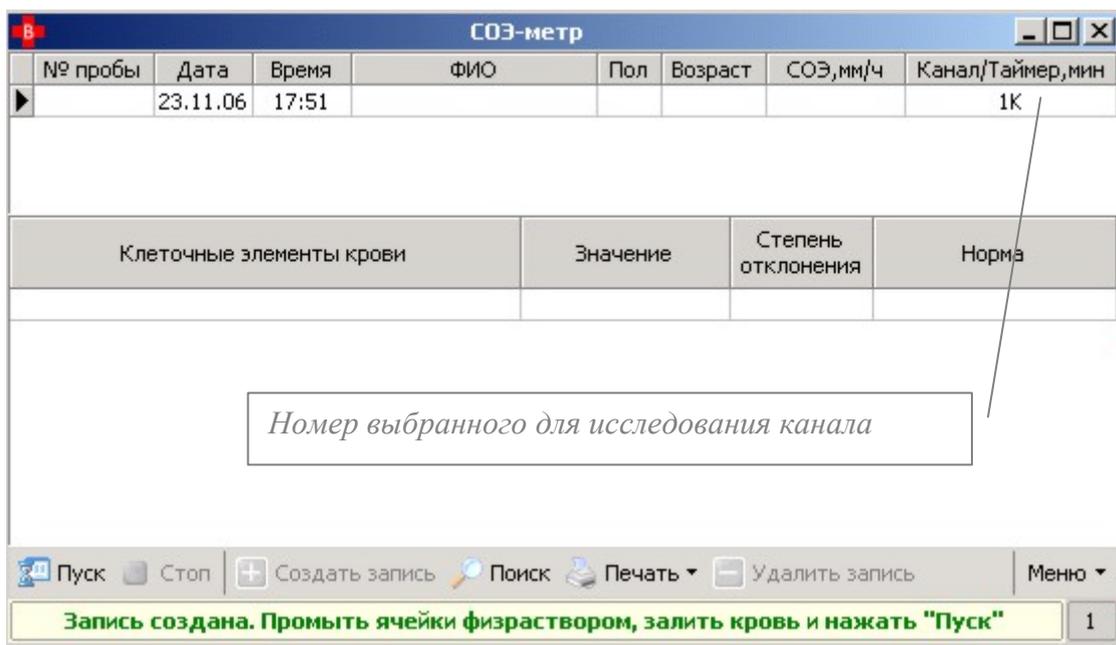


Рис. 3.1.2 Создание записи в БД и выбор канала

Если оба канала свободны, всегда выбирается первый.

• **Заливка крови строго производится в ячейку соответствующую выбранному каналу** • (в данном случае в первую)!

Количество свободных каналов (справа от инф-строки) – один (второй канал). Промыть ячейки физраствором дважды. Удалить полностью физраствор. Заменить наконечник дозатора. Перемешать первую пробу крови в пробирке, залить в яч 1, нажать «Пуск».

**Внимание: рабочий объем пробы не менее 100 – 110 мкл (точное значение сообщает сервисный специалист при обучении и вводе прибора в эксплуатацию).** Началось исследование образца в ячейке 1 (около 4 мин). Возможно редактирование созданной записи во время исследования (ввод данных пациента – номер, пол, возраст). Инф - строка «Идет исследование, создать запись, залить следующую пробу, нажать Пуск». Необходимо создать следующую запись, перемешать следующую пробу, залить в яч 2, нажать «Пуск». Произвести ввод необходимых данных пациента в запись. Результаты исследования появляются в нижнем окне программы рис 3.2

№ пробы	Дата	Время	ФИО	Пол	Возраст	СОЭ, мм/ч	Канал/Таймер, мин
1	23.11.06	17:51	Иванов	М	40	3	1К / Готово

Клеточные элементы крови	Значение	Степень отклонения	Норма
Гемоглобин	116	---	(132-173) г/л
Количество эритроцитов	4.51		(4.3-5.7) * 10 <sup>12</sup> /л
Гематокрит	35.8	--	(39-49) %
Цветовой показатель	0.77	-	(0.86-1.05) усл. ед.
Ср. содержание Hb в эритроцитах	25.73	-	(27-34) пг
Ср. концентрация Hb в эритроцитах	32.41		(30-38) %
Ср. объем эритроцитов	79.37	-	(80-99) фл
Скорость оседания эритроцитов	3		(2-10) мм/ч

Исследование завершено... Создать запись, залить следующую пробу, нажать "Пуск" 2

Рис 3.2. Результаты исследования крови пациента

Третий столбец «Степень отклонения» показывает условное отклонение от нормы вверх +, вниз -. Необходимо для привлечения внимания оператора системы и врача. Количество плюсов или минусов зависит от величины превышения нормы. Для удаления строки в БД необходимо поставить курсор мыши на выбранную запись и нажать кнопку «Удалить запись - ».

### 3.7. Работа с базой данных (БД)

#### ○ Редактирование.

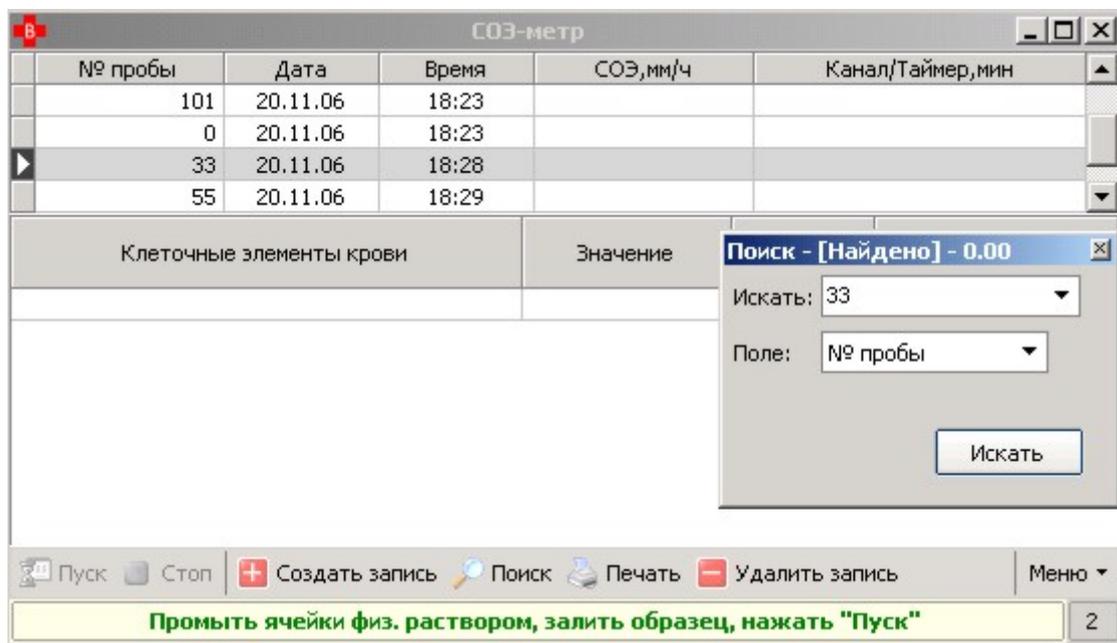
База данных предназначена для постоянного хранения данных пациентов. База организована в виде таблицы. Данные по каждому пациенту располагаются на одной строке. Доступные для заполнения данные: номер исследуемого образца; фамилия; имя; отчество пациента, пол (М / Ж), возраст. После ввода символов в любое из перечисленных полей БД обязательно нажимать клавишу «Enter» для сохранения. Навигация по БД осуществляется как с помощью мыши, так и клавиш на клавиатуре (Up, Down, Left, Right, Home, End, Page Up, Page Down).

○ **Функция «Поиск» записи в БД.**

Возможен поиск созданной записи по нескольким параметрам.

- по номеру пробы:

Нажать кнопку «Поиск». Появится соответствующее окно см рис 3.3



*Рис. 3.3 Окно «Поиск» по номеру пробы.*

Ввести с клавиатуры номер интересующей пробы. Нажатьискать. Поиск начинается с первой записи в БД. Если необходимо найти номер пробы в определенном временном интервале, сначала сформировать временную выборку, используя фильтр.

- по дате исследования:

Ввести с клавиатуры требуемую дату. Нажать «Искать» рис 3.4. Найдется первая запись в БД за искомую дату, при этом выборка не формируется, происходит лишь навигация по всей БД.

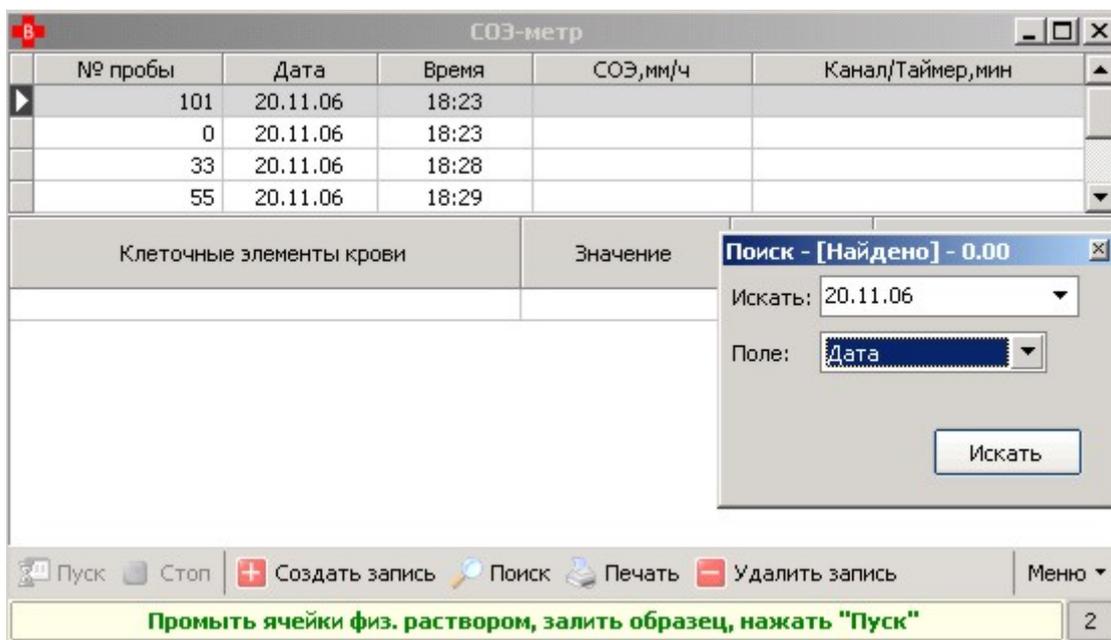


Рис. 3.4 Окно «Поиск» пробы по дате исследования.

- по фамилии пациента:

Ввести с клавиатуры фамилию пациента, нажать «Искать». Найдется первая запись в БД с подходящей фамилией. Если требуется просмотр всех имеющихся записей с такой фамилией нажать повторно «Найти» и т.д.

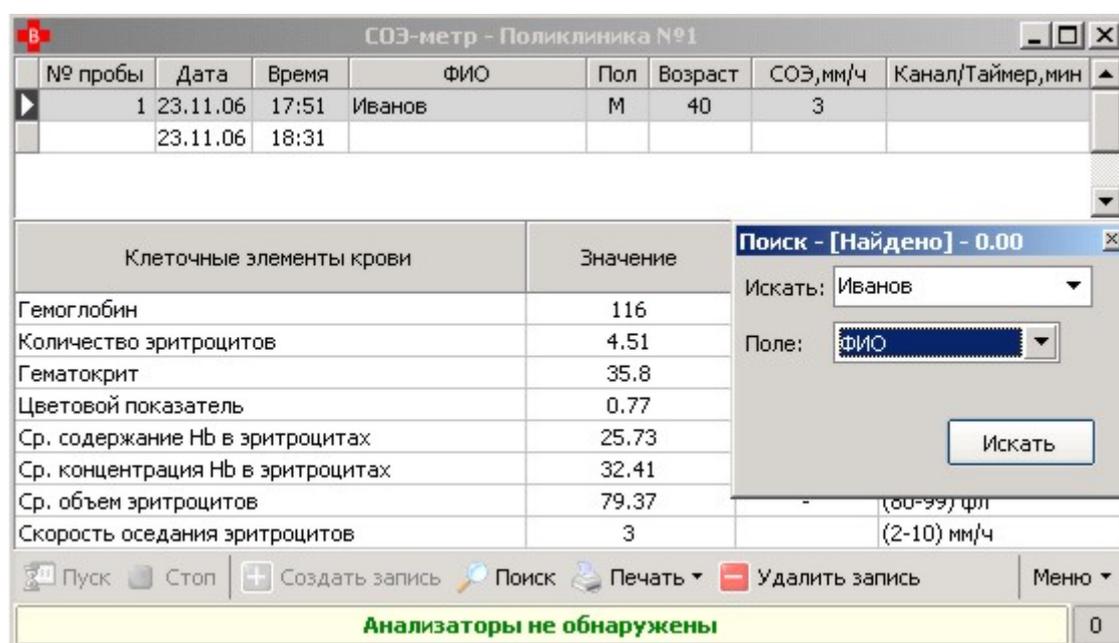


Рис. 3.4.1 Окно «Поиск» записи по фамилии пациента.

- **Создание выборки.**

Позволяет формировать выборку из полной БД за конкретный день.

Нажать «Меню», выбрать «Фильтр». Выбрать начальную и конечную дату выборки. Нажать «да».

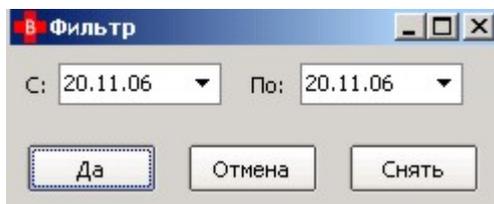


Рис 3.5 Создание выборки БД с помощью фильтра

В БД будут присутствовать только записи сформированные фильтром.

Выход из программы или нажатие кнопки «Снять» восстанавливает отображение всех записей БД.

- **Архивация, восстановление, очистка.**

Нажать «Меню», выбрать «Работа с БД».

Из появившегося окна выбрать постановкой флажка требуемую операцию, нажать «Начать». Последняя строка показывает общее количество исследований в базе данных на текущий момент (не включает записи калибратора гемоглобина).

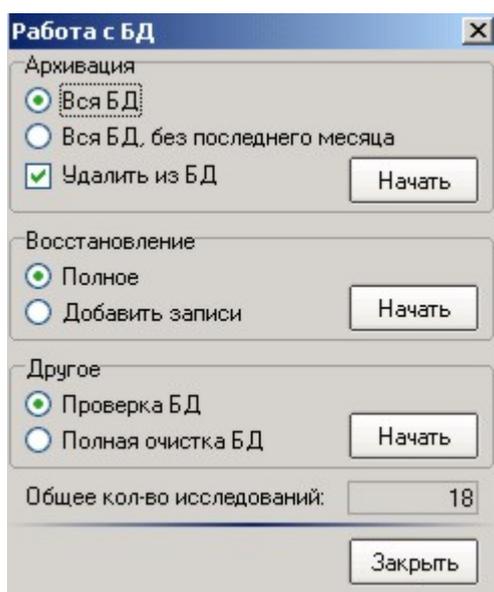


Рис. 3.6 Утилита работы с БД

- **Экспорт данных.**

Возможность экспортировать БД в MS Excel для дальнейшей обработки. Если необходимо экспортировать БД полностью, нажать «Меню» выбрать «Экспорт базы», ввести имя для создаваемого файла в появившемся окне, нажать «Сохранить». Можно экспортировать часть БД в виде созданной с помощью фильтра выборки.

- **Построение таблицы БД**

По желанию оператора системы, возможно изменение количества столбцов в БД. Если не требуется вывод на печать бланка с фамилией, возрастом и полом пациента, нажать «Меню», выбрать «Настройки», снять флажки с соответствующих строк, нажать «Да». БД будет иметь вид рис 3.6.1. Эта функция пригодится, если вести только протокол исследования только одного параметра, например СОЭ.

№ пробы	Дата	Время	СОЭ, мм/ч	Канал/Таймер, мин
	23.11.06	17:51	3	
	23.11.06	18:31		

Клеточные элементы крови	Значение	Степень отклонения	Норма
Гемоглобин	116	---	(132-173) г/л
Количество эритроцитов	4.51		(4.3-5.7) * 10 <sup>12</sup> /л
Гематокрит	35.8	--	(39-49) %
Цветовой показатель	0.77	-	(0.86-1.05) усл. ед.
Ср. содержание Нb в эритроцитах	25.73	-	(27-34) пг
Ср. концентрация Нb в эритроцитах	32.41		(30-38) %
Ср. объем эритроцитов	79.37	-	(80-99) фл
Скорость оседания эритроцитов	3		(2-10) мм/ч

Пуск   Стоп   Создать запись   Поиск   Печать   Удалить запись   Меню

**Анализаторы не обнаружены**   0

*Рис 3.6.1. Минимально возможная таблица БД.*

### 3.8. Печать бланков выдачи результатов.

Вывод результатов исследования на печать в виде бланков производится нажатием на кнопку «Печать». Открывается меню диспетчера печати рис 3.7.

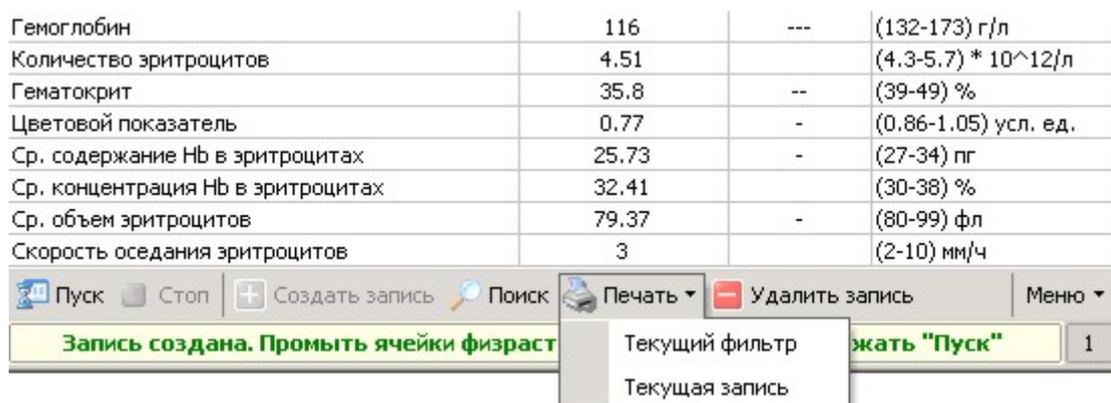


Рис. 3.7 Печать результатов исследования

Возможен вариант распечатки каждого пациента по отдельности. Для этого необходимо установить в поле БД мышью на нужную запись нажать «Печать», выбрать «Текущая запись». Откроется окно предварительного просмотра (демонстрирует выводимый на печать бланк). Если все правильно нажать верхнюю левую кнопку см рис 3.7.1, затем Ок».

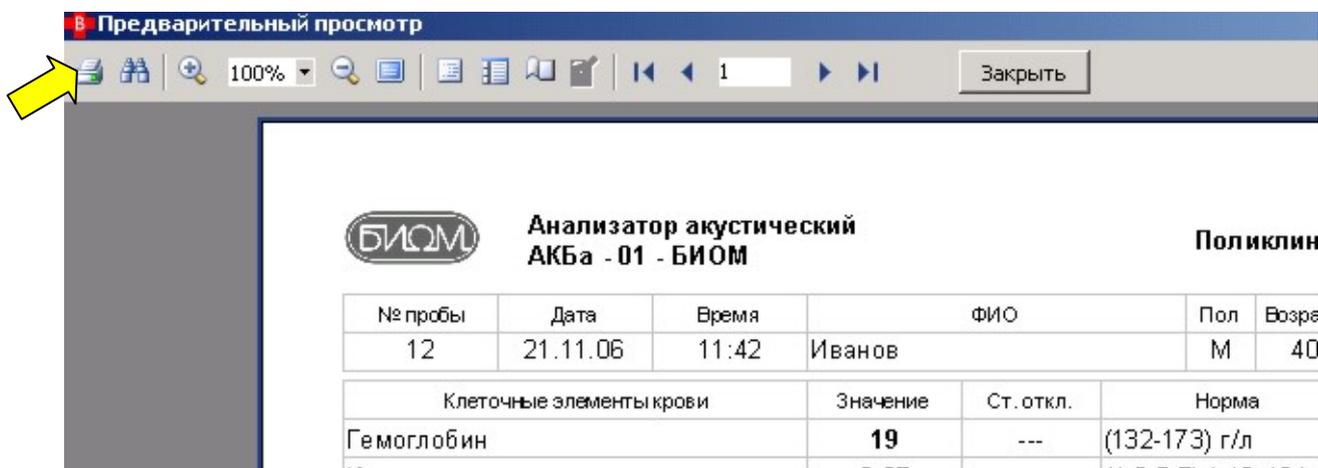


Рис 3.7.1. Фрагмент режима предварительного просмотра вывода результата на печать

Если требуется распечатать бланки всех пациентов за день, необходимо с помощью фильтра создать выборку БД за этот день, нажать «Печать», выбрать «Текущий фильтр». Далее аналогично вышеописанному.

Форма бланка показана на рис 3.8. На листе формата А4 убирается 3 бланка.

Рис 3.8. Стандартный бланк выдачи результатов.

○ **Формирование бланка исследования**

• **Полный бланк** включает поля для ввода с клавиатуры ПК количества лейкоцитов, тромбоцитов и лейкоцитарной формулы (полученных с помощью микроскопа), ФИО лечащего врача, комментария для каждой пробы см рис 3.9.

		Анализатор акустический АКБа - 01 - БИОМ ®			Поликлиника № 1					
Дата	22.03.07		Данные пациента			Время	17:12			
№	Фамилия	Пол	Возраст	Отделение	Диагноз	Врач	№ ист. бол.			
5	Иванова И.И.	Ж	27			Сидоров С.С.				
Результаты исследования										
№ п/п	Клеточные элементы крови		Значение	Степень отклонения	Норма, единицы измерения					
1	Гемоглобин		121		(117-155) г/л					
2	Количество эритроцитов		3.88		$(3.8-5.1) \cdot 10^{12}/л$					
3	Гематокрит		36.5		(35-45) %					
4	Ср. содержание Hb в эритроцитах		31.21		(27-34) пг					
5	Ср. концентрация Hb в эритроцитах		33.11		(30-38) %					
6	Ср. объем эритроцитов		94.26		(81-100) фл					
7	Скорость оседания эритроцитов		32	++	(2-15) мм/ч					
8	Кол-во лейкоцитов		7.5		$(4.0-8.8) \cdot 10^9/л$					
9	Кол-во тромбоцитов		260		$(180-400) \cdot 10^9/л$					
Лейкоформула						Образец содержит сгустки				
Бласты	Миелоциты	Метамиелоц.	Палочкояд.	Сегментнояд.	ЭОЗ			БАЗ	МОН	ЛИМФ
0	0	0	1-6	45-70	0-5			0-1	2-9	18-40
<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>3</b>	<b>50</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>5</b>	<b>35</b>	Подпись: _____ / _____ /	

Рис. 3.9 Полный бланк выдачи результатов.

Количество лейкоцитов и тромбоцитов вводится следующим образом, курсор мыши устанавливается в ячейку «Значение», вводится число, нажимается кнопка «Enter» клавиатуры ПК.

Значения лейкоцитарной формулы вводятся аналогично. После завершения ввода всех ячеек формулы нажать кнопку  $\checkmark$  (правый нижний угол) рис 3.9.1. После ввода комментария так же необходимо нажать кнопку  $\checkmark$ .

№ пробы	Дата	Время	ФИО	Пол	Возраст	СОЭ, мм/ч	Канал/Таймер, мин
5	22.03.07	17:12	Иванова И.И.	Ж	27	32	
2	22.03.07	17:12	СОЭ 45	Ж	27	43	
	22.03.07	17:33					
	22.03.07	17:35					
	22.03.07	17:38	test				

Клеточные элементы крови	Значение	Степень отклонения	Норма
Гемоглобин	121		(117-155) г/л
Количество эритроцитов	3.88		(3.8-5.1) * 10 <sup>12</sup> /л
Гематокрит	36.5		(35-45) %
Ср. содержание Hb в эритроцитах	31.21		(27-34) пг
Ср. концентрация Hb в эритроцитах	33.11		(30-38) %
Ср. объем эритроцитов	94.26		(81-100) фл
Скорость оседания эритроцитов	32	++	(2-15) мм/ч
Кол-во лейкоцитов	7.5		(4.0-8.8) * 10 <sup>9</sup> /л
Кол-во тромбоцитов	260		(180-400) * 10 <sup>9</sup> /л

Лейкоформула									Комментарий Образец содержит сгустки
Бласты	Миелоциты	Метамиелоциты	Палочкояд.	Сегментно-ядерные	ЭОЗ	БАЭ	МОН	ЛИМФ	
0	0	0	1-6	45-70	0-5	0-1	2-9	18-40	
<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>3</b>	<b>50</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>5</b>	<b>35</b>	

Врач: Петров П.П.

Пуск   Стоп   + Создать запись   Поиск   Печать   - Удалить запись   WBC   PLT   Меню

**Анализаторы не обнаружены**   0

Рис. 3.9.1 Вид рабочей программы при активной функции «Полный бланк».

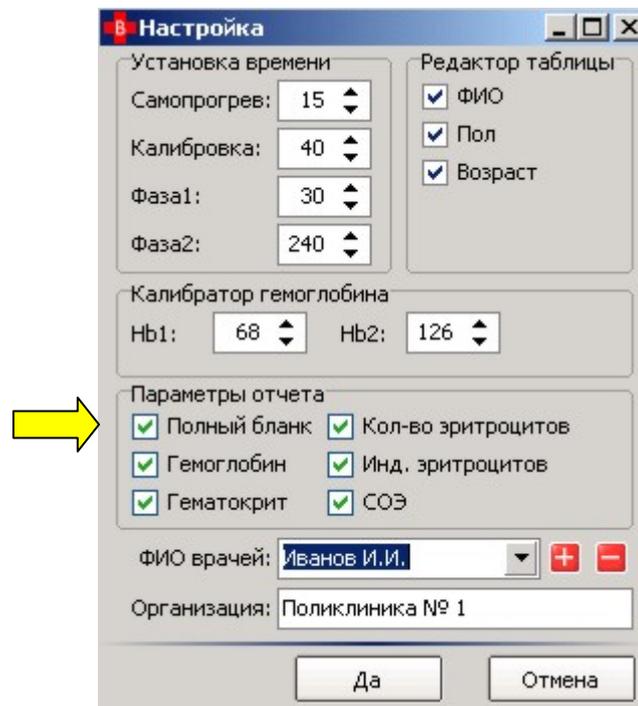


Рис 3.10. Настройки формирования бланка

Для вывода полного бланка необходимо поставить флажок напротив строки «Полный бланк» рис 3.10.

Наименование ЛПУ вводится с клавиатуры ПК в поле «Организация», нажать «Да».

Список лечащих врачей формируется путем нажатия кнопки +, затем вводится в пустое поле ФИО, нажимается «Enter». Нажать «Да». Удалить ФИО из списка нажатием кнопки - .

- **Частичный вывод** результатов на печать. Для этого необходимо убрать соответствующие флажки с названий элементов крови рис 3.10. Например, если пациенту нужно выдать только гемоглобин, убрать все флажки кроме гемоглобина, нажать «Да». Результат бланка рис 3.11.

БИОМ      Анализатор акустический      Поликлиника № 1  
АКБа - 01 - БИОМ ®

Дата: 22.03.07      Данные пациента      Время: 17:12

№	Фамилия	Пол	Возраст	Отделение	Диагноз	Врач	№ ист. бол.
5	Иванова И.И.	Ж	27			Сидоров С.С.	

Результаты исследования

№ п/п	Клеточные элементы крови	Значение	Степень отклонения	Норма, единицы измерения
1	Гемоглобин	121		(117-155) г/л

Подпись: \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ /

*Рис. 3.11 Усеченный бланк выдачи результата*

После повторного выхода из программы сделанные установки флажков сбрасываются на исходные.

Ежедневные результаты работы с калибратором гемоглобина на печать не выводятся.

### 3.9. Окончание работы.

Удалить образцы крови из акустических ячеек. Промыть ячейки дистиллированной водой не менее 10 раз и поместить в каждую двойной рабочий объем воды. Нажать кнопку «Меню», выбрать «Выход» для закрытия программы. Выключить компьютер и анализатор.

### **3.10. Техническое обслуживание.**

- Санитарную обработку корпуса, соединительного шнура и сетевого шнура в необходимых случаях осуществляют смесью 3% раствора перекиси водорода с 0.5 % раствором моющего средства типа “Лотос” (не допускать попадания в ячейки!).
- После завершения работы промыть каждую ячейку дистиллированной водой 5 раз (удалить из заливной горловины остатки биологических объектов ватной палочкой). Удалить воду. Для дезинфекции, можно промыть каждую ячейку рабочим объемом медицинского спирта 70% один раз, затем промыть 5 раз дистиллированной водой. Оставить в каждой ячейке по двойному объему дистиллированной воды до следующего дня. Накрыть ячейки полоской бумаги для предотвращения попадания внутрь пыли и др. механических частиц.

В конце рабочей недели после пятикратной промывки водой для удаления белковых отложений, залить в каждую ячейку по одному рабочему объему на 3 мин децинормальную соляную кислоту (0,1N HCl). Удалить кислоту.

Промыть 5 раз дистиллированной водой и оставить 2 объем воды.

Накрыть ячейки полоской бумаги для предотвращения попадания внутрь пыли и др. частиц.

- После длительного простоя анализатора (более 10 дней) без воды, перед началом работы (за 12 часов) следует залить в ячейки двойной объем дистиллированной воды.

- **Категорически запрещается использовать в качестве дезинфицирующего средства перекись водорода!**

- Меры безопасности

При работе с анализатором должны соблюдаться «Правила техники безопасности при эксплуатации электроустановок».

## 4. Аналитические характеристики

### 4.1. Воспроизводимость. Правильность

На сегодняшний день не существует аттестованных контрольных материалов специально для акустического метода определения гематологических показателей крови. Традиционные же контрольные материалы не могут быть применены для акустического метода ввиду принципиального отличия метода, поэтому была проведена специальная оценка аналитических характеристик. При этом **воспроизводимость** определялась в одном и том же образце крови пациента путем десятикратного повторного измерения и общепринятого расчета коэффициента вариации ( $CV_{10}$ ). Общая аналитическая воспроизводимость не определялась, так как цельную кровь нельзя хранить более 6-8 часов. **Правильность** оценивали по смещению среднего значения от показателя, полученного на гематологическом анализаторе высокого класса Pentra XL 80 (фирма АВХ) в том же образце крови. Результаты представлены в таблице 4.1. Полученные при исследовании значения коэффициента вариации и смещение соответствовали нормативным документам по контролю качества.

Таблица 4.1. Коэффициенты вариации и смещения, полученные при определении показателей красной крови путем десятикратного повторного измерения образца крови акустическим методом на приборе «БИОМ».

Показатели крови	Кровь пациента		ОСТ 91500.13.0001-2003	
	$CV_{10}, \%$	$B_{10}, \%$	$CV_{10}, \%$	$B_{10}, \%$
HGB	0,5	-1,25	4	$\pm 5$
RBC	0,6	-4,3	4	$\pm 7$
HCT	0,5	+6,8		
MCH	1,9	+0,8		
MCHC	1,9	-7,5		
MCV	0,1	+9,6		

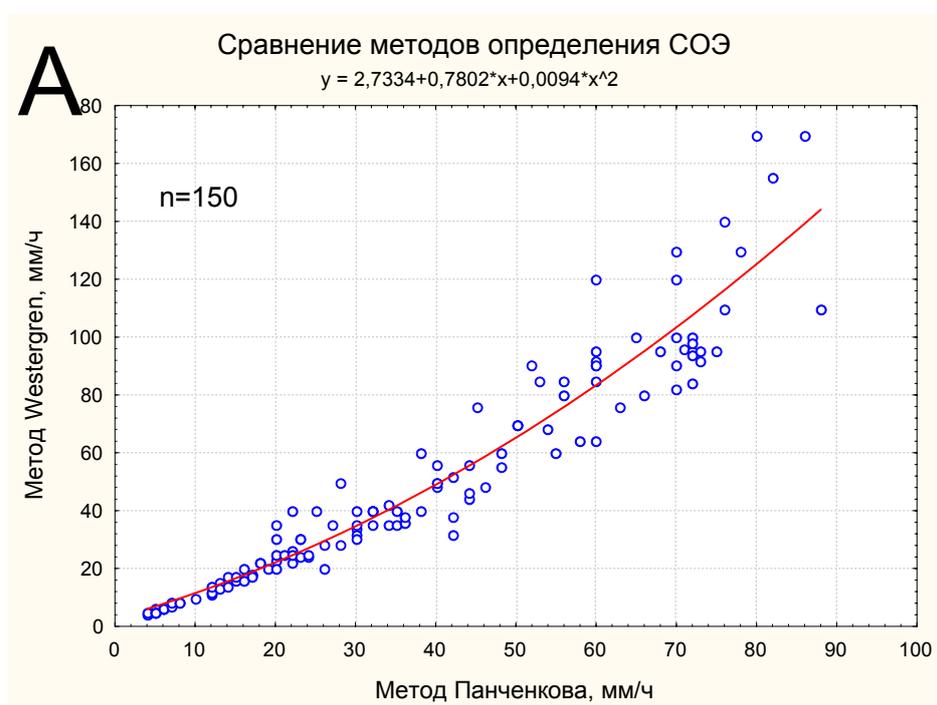
В образцах крови значения коэффициентов вариации и смещения соответствуют биологически обоснованным нормам аналитической точности по ОСТ 91500.13.0001-2003 (приказу №220 МЗ РФ от 26.05.03).

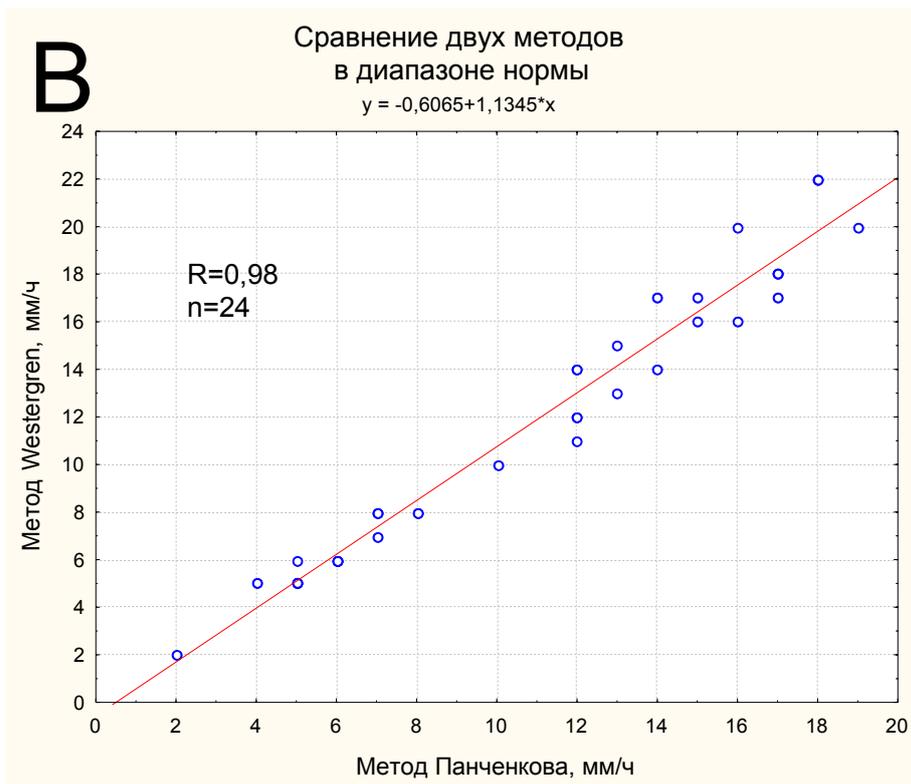
## 4.2. Линейность

Линейность метода при определении концентрации гемоглобина сохранялась в диапазоне значений 20-180 г/л.; при определении количества эритроцитов – в диапазоне значений  $(0,6-5,6) \cdot 10^{12} / л$ ; при определении гематокрита – в диапазоне 14-50%

## 4.3. Скорость оседания эритроцитов

При разработке акустического способа определения СОЭ (скорости оседания эритроцитов) сравнение нового метода проводилось с традиционным методом Панченкова и рекомендованным Международным комитетом по стандартизации (ICSH) методом Westergren. Эти методы определения СОЭ дают отличающиеся друг от друга значения, однако, проведенные эксперименты по сравнению их (рис.4.1) указывают на то, что методы Панченкова и Westergren хорошо коррелируют, а в диапазоне нормальных значений (1-20 мм/ч) зависимость линейная.





*Рис.4.1. Сравнение между собой методов Панченкова и Westergren: А – во всем диапазоне значений, В – в диапазоне нормы (1-20 мм/ч). При увеличении СОЭ метод Westergren дает более высокие цифры (до 200 мм/ч). Метод Панченкова имеет измерительную шкалу лишь до 100 мм/ч. Было решено принять в качестве референтного метод Westergren, так как именно он используется во всем мире как референтный. Коэффициент корреляции по СОЭ при этом составил 0,89 (рис.4.2). Ложноположительных результатов выявлено не было.*

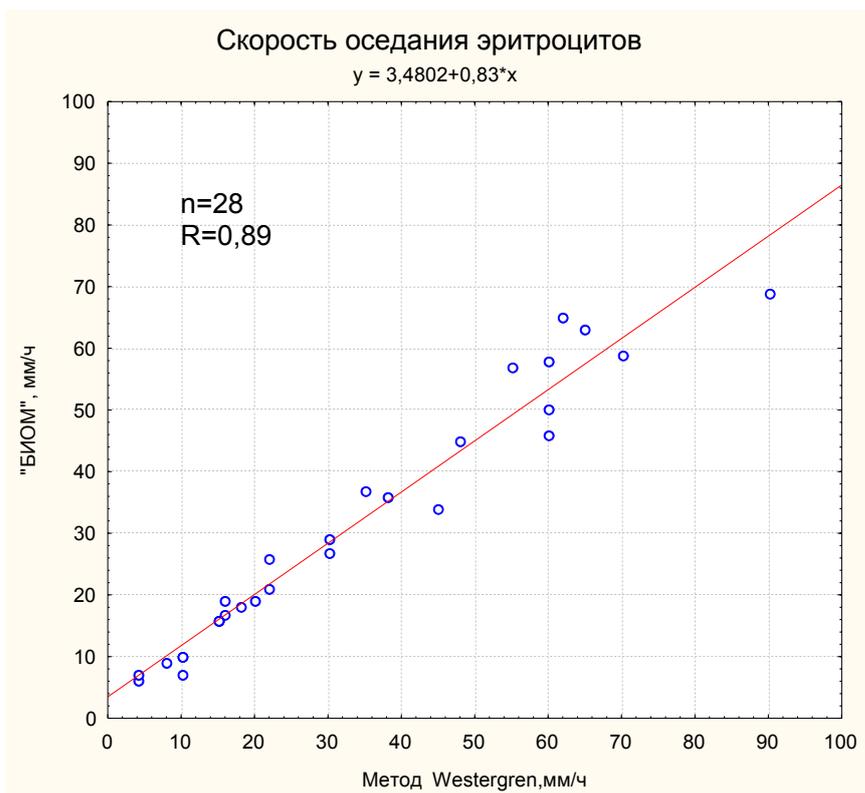


Рис.4.2. Сравнение акустического метода и метода Westergren. ( $R=0,89$ ;  $p<0,05$ ).

Ценностью акустического метода, наряду с возможностью определять СОЭ одновременно с другими показателями, является то, что определение скорости оседания эритроцитов становится автоматизированным, появляется возможность немедленного документирования данных в базе данных, что невозможно при проведении анализа методом Панченкова.

### 5. Контроль качества

Калибровка прибора проводится ежедневно перед началом работы при помощи дистиллированной воды и калибраторов гемоглобина, при этом программа не позволяет пропустить этот шаг в работе. Не существует аттестованных контрольных материалов для акустического метода определения гематологических показателей. Рекомендуем для проведения контроля качества проводить сравнительное измерение на гематологическом анализаторе высокого класса или рутинными ручными методами.

## **6. Ограничения метода**

- Для исследования применяется только свежая цельная кровь, стабилизированная ЭДТА.

## **7. Особенности метода**

- Метод позволяет с высокой точностью проводить исследования анемических состояний.
- Возможность одновременного определения концентрации гемоглобина, подсчета количества эритроцитов, определения гематокрита, основных эритроцитарных индексов и скорости оседания эритроцитов в одном образце крови в течение 2 минут.
- Для определения показателей красной крови не требуется реагентов, промывочных растворов и др. типовых для гематологических анализаторов расходных материалов.
- Необходимо избегать попадания инородных частиц и пузырьков воздуха в акустические ячейки при исследовании цельной крови.

Таким образом, акустический метод и акустический анализатор «БИОМ» может применяться для определения концентрации гемоглобина, подсчета количества эритроцитов, определения гематокрита, основных эритроцитарных индексов и скорости оседания эритроцитов в поликлиническом звене лабораторной службы и других лечебных учреждениях для наблюдения за пациентами в динамике и при первичном обследовании.

**Режим «Исследование лейкоцитов» (цельная венозная кровь)****1. Пробоподготовка**

Исследованию подвергается свежая цельная венозная, стабилизированная  $K_3$ -ЭДТА. Кровь помещают **микродозатором** в микропробирку с антикоагулянтом  $K_3$ -ЭДТА (Трилон Б) из расчета 50 мкл на 2,5 мл крови (минимально допустимо: 30 мкл трилона Б на 500 мкл крови) или в специальные пластиковые пробирки одноразового использования, обработанные  $K_3$ -ЭДТА фирмы «Sarstedt» (возможны аналоги) **строго до заводской метки**. Сразу после взятия пробу крови необходимо тщательно перемешать, перевернув пробирку крышкой вниз не менее 10 раз.

Допускается хранение крови для исследования в холодильнике (не более 24 часов при 3-5°C). Перед исследованием кровь всегда необходимо перемешивать с 5% раствором цитрата в соотношении 4:1 (например, 4 мл крови +1 мл цитрата). Цитрат входит в комплект поставки, хранится в холодильнике.

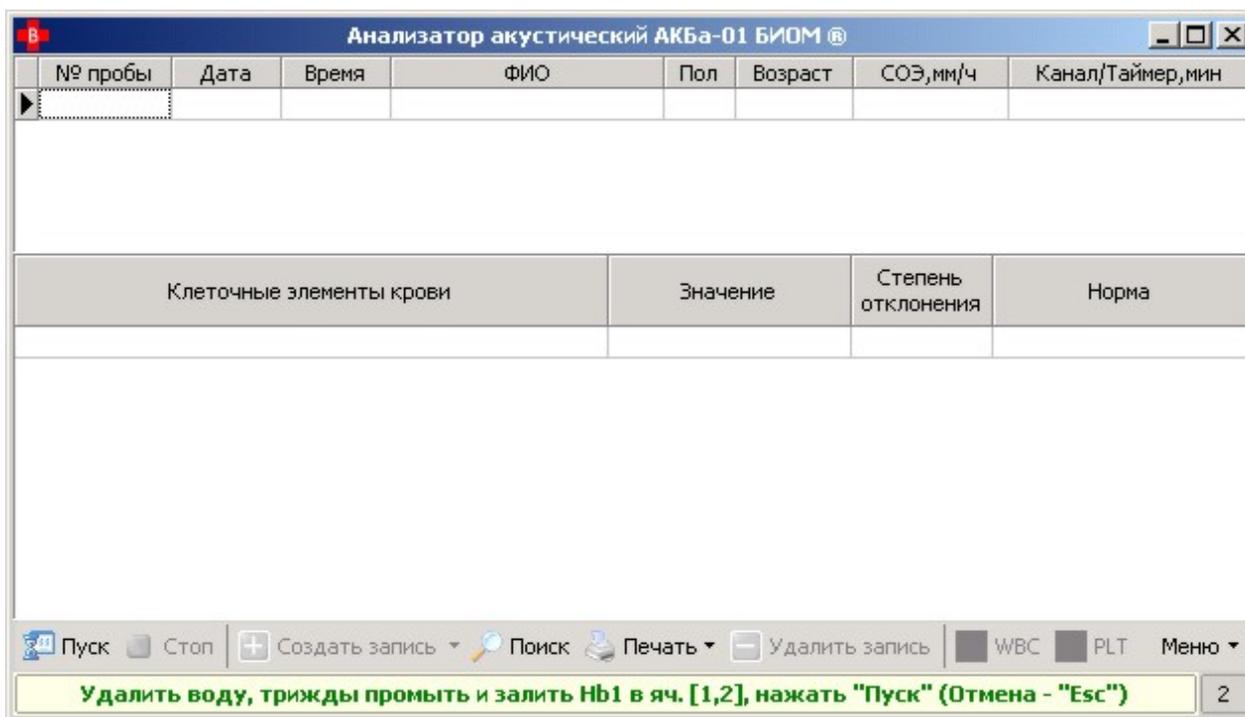
Дозатором переменного объема 100-1000 мкл поместить в чистую сухую микропробирку объемом 1.7 мл типа Эппендорф 500 мкл подготовленной крови для приготовления лейкоцитарной суспензии:

- Дозатором добавить в эту микропробирку 950 мкл лизирующего раствора (входит в комплект поставки), перемешать переворачиванием. Пометить маркером.
- Центрифугировать 2 мин на скорости 2000 об-1 в горизонтальных отверстиях ротора РУ36×1,5.
- Слить надосадочную жидкость из пробирки в емкость для утилизации.
- Дозатором 100-1000 плавно добавить / удалить 1000 мкл дистиллированной воды 3 раза (не поднимать осадок).
- В процессе 3 –го удаления убрать надосадочную жидкость до верхнего края числа  $\bar{0},\bar{1}$  мл микропробирки.

- Дозатор 20-200 установить в положение 70 мкл и взбить осадок в микропробирке, не допуская образования пузырей.

## 2. Исследование лейкоцитов

После успешного завершения калибровки по дистиллированной воде можно начать исследование лейкоцитов. Вид рабочей программе см рис 2.1.



*Рис. 2.1 Рабочая программа после завершения калибровки по воде.*

Отказаться от работы с калибраторами гемоглобина, нажав клавишу Esc клавиатуры ПК. Кнопка WBC – переход к исследованию лейкоцитарной суспензии – стала доступной для активации см рис 2.2. При наведении на кнопку WBC манипулятора мышью, кнопка подсветится. Однократное нажатие и положительный ответ на вопрос, переведет программу в режим «Исследование лейкоцитов» см рис 2.3.

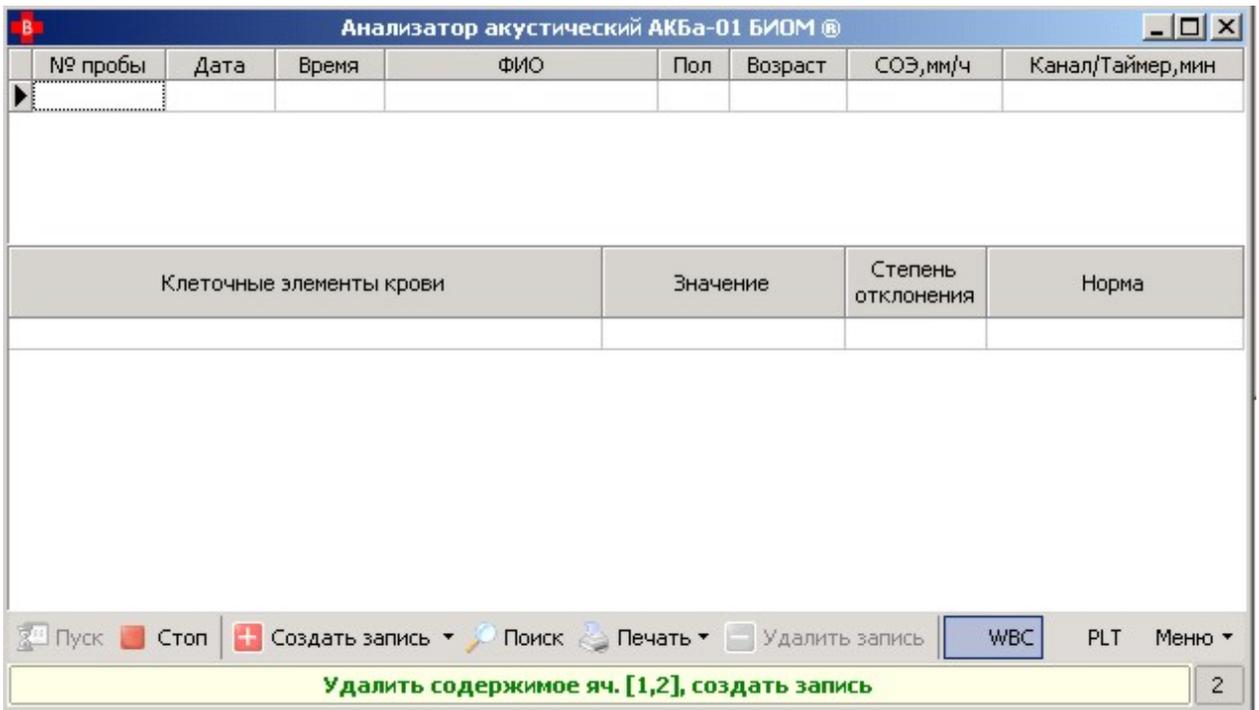


Рис 2.2 Программа готова к переходу в режим «Исследование лейкоцитов».

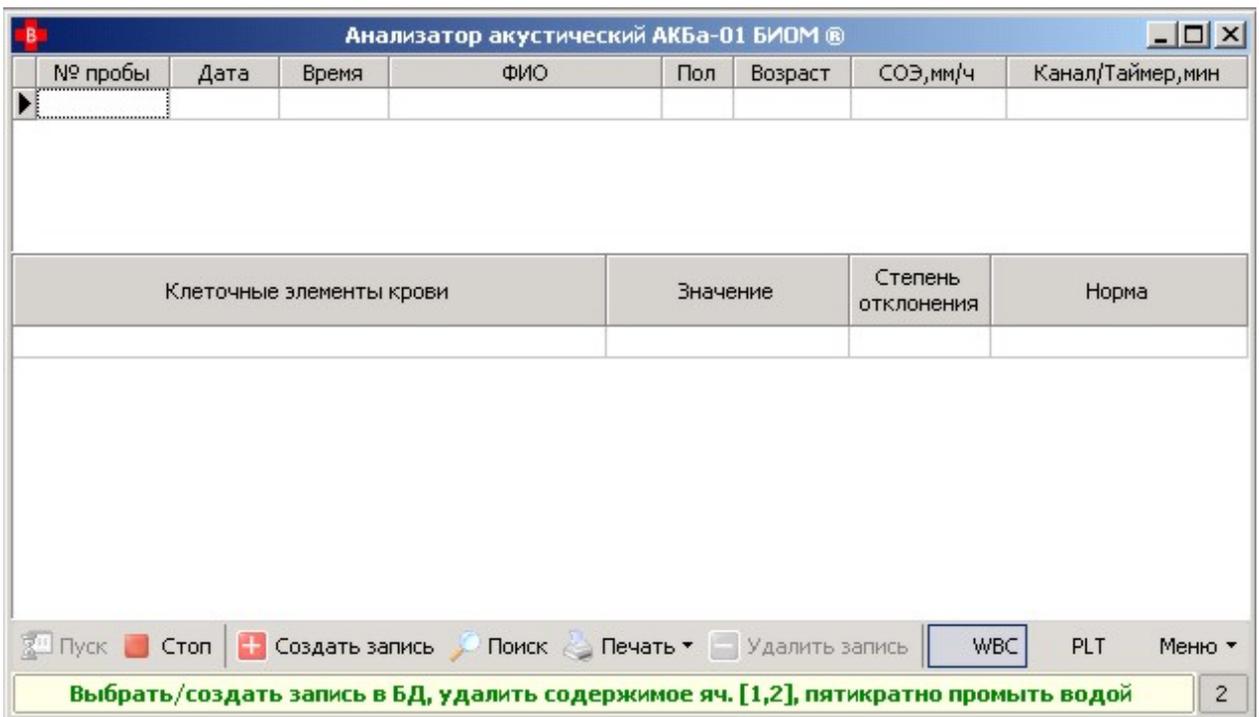


Рис 2.3 Режим «Исследование лейкоцитов».

Если в БД не созданы записи пациентов за текущий день (исследования красной крови - определение концентрации гемоглобина, количества эритроцитов, показателя гематокрита, эритроцитарных индексов, скорости

оседания эритроцитов не проводились текущим днем), необходимо нажать «Создать запись».

Если переход в режим «Исследование лейкоцитов» совершен после исследования красной крови, в БД созданы записи пациентов, выбрать манипулятором мышью запись соответствующую исследуемому образцу (установить на нее курсор, нажать левую кнопку). Промыть ячейки дистиллированной водой, удалить из ячейки 1 воду полностью, в ячейку 2 залить рабочий объем воды (см РЭ анализатора). В ячейку 1 залить рабочий объем лейкоцитарной суспензии первого пациента. В ячейке 2 дистиллированная вода. Нажать «Пуск». При необходимости заполнить свободные поля созданной записи БД. После завершения термостатирования (40 с по умолчанию) в окне «Клеточные элементы крови» появится строка «Кол – во лейкоцитов» с измеренным значением рис 2.4.

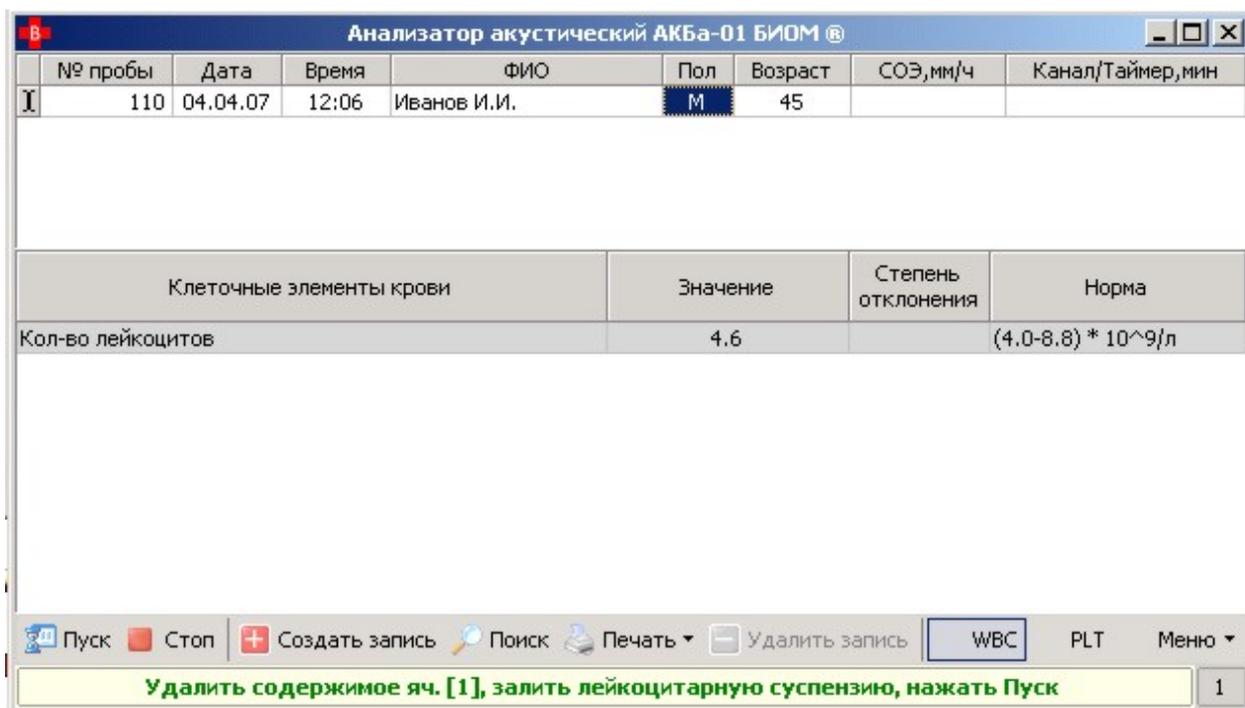


Рис 2.4 Исследование лейкоцитарной суспензии первого пациента завершено

Для исследования следующего образца необходимо создать новую запись в БД, удалить содержимое яч 1, залить лейкоцитарную суспензию следующего пациента, нажать «Пуск».

Для перехода к исследованию красной крови (определение концентрации гемоглобина, количества эритроцитов, показателя гематокрита, средней концентрации гемоглобина в эритроцитах, среднего содержания гемоглобина в эритроцитах, среднего объема эритроцитов, скорости оседания эритроцитов) нажать кнопку WBC, положительно ответить на вопрос.

Для перехода к исследованию тромбоцитов нажать PLT.

Для завершения работы «Меню», выбрать «Выход». Удалить содержимое яч 1, 2, пятикратно промыть дист. водой, залить двойной раб объем, выключить анализатор.

**Режим «Исследование тромбоцитов» (цельная венозная кровь)****1. Пробоподготовка**

В чистую, сухую микропробирку типа Эппендорф 2,0 мл залить **1,9 мл** подготовленной крови (подготовка крови см Приложение 1 Режим «Исследование лейкоцитов»). Центрифугировать 7 мин на 1000 об<sup>-1</sup> *во внешних угловых отверстиях* ротора РУ36×1,5.

Дать отстояться в течение 20 мин.

Отобрать **700 мкл** надосадочной жидкости (не допускать попадания эритроцитов) и поместить в чистую сухую микропробирку 1,7 мл типа Эппендорф.

Центрифугировать 3 мин на 5000 об-1 в горизонтальных отверстиях ротора РУ36×1,5. Слить надосадочную жидкость из микропробирки в емкость для утилизации. В наклонном положении дозатором смыть остатки плазмы дистиллированной водой и убрать остатки воды со стенок. Осадок используется для приготовления **тромбоцитарной суспензии**:

- Дозатором 100-1000 мкл плавно добавить / удалить 1 мл дистиллированной воды 3 раза (не поднимать осадок).
- Слить надосадочную жидкость из пробирки в емкость для утилизации после 3<sup>-й</sup> промывки.
- Дозатором 20-200 добавить **100 мкл** дистиллированной воды.
- Дозатор 20-200 установить в положение 75 мкл и взбить осадок в микропробирке, не допуская образования пузырей.

**2. Исследование тромбоцитов**

Исследование приготовленной тромбоцитарной суспензии проводится аналогично п.2 Приложения 1. Программа переводится в режим исследования тромбоцитов нажатием кнопки PLT.