

АВТОМАТИЗИРОВАННЫЕ СИСТЕМЫ АНАЛИЗА МАЗКОВ КРОВИ. СТАНДАРТИЗАЦИЯ ПРЕАНАЛИТИЧЕСКОГО ЭТАПА

Д.Ю. Соснин, О.Ю. Ненашева, М.М. Антинов, С.А. Бабушкин, Б.Ф. Фалков, А.В. Миколук, Курс клинической лабораторной диагностики ФПК и ППС ГБОУ ВПО «ЛГМА им. ак. Е.А. Вагнера» МЗ РФ, ООО «West Medica» г. Москва

Морфологический анализ периферической крови остается незаменимым источником диагностической информации, особенно при выявлении отклонений в результатах, полученных на гематологических анализаторах. Применение цифровых систем автоматизированного анализа мазков крови способствует стандартизации и объективизации исследований морфологии клеток крови. Однако их использование предъявляет более высокие требования к стандартизации приготовления мазков.

Цель работы — отработать протокол подготовки крови, позволяющий с высокой воспроизводимостью обеспечить получение качественных мазков. Для анализа используется венозная, стабилизированная ЭДТА кровь, взятая вакуумными системами. Перед приготовлением мазков кровь инкубируется не менее 60 минут и не более 4 часов при комнатной температуре. Непосредственно перед приготовлением мазков кровь перемешивается на автоматическом встряхивателе или вручную при комнатной температуре 10-20 раз. Для приготовления мазков применяются предметные стекла с полем для записи или аналогичные им одноразовые предметные стекла. Стекла перед использованием обязательно промываются в дистиллированной воде и тщательно обезжириваются 96% этиловым спиртом. Маркировка стекол производится либо наклейкой штрих-кода, либо нанесением надписи фломастером в части стекла, предназначенной для маркировки. Для приготовления мазков используется устройство V-Sampler. С помощью автоматического дозатора с разовыми пластиковыми наконечниками на предметное стекло наносится 5 ± 0,5 мкл крови. Настройку и регулировку V-Sampler осуществляют таким образом, чтобы мазок имел длину 3,7-4,5 см и заканчивался метелочкой на расстоянии 0,7-0,9 см от конца стекла. После приготовления мазка он должен быть высушен при комнатной температуре. Мазки окрашиваются по методу Романовского—Гимза (в зарубежной литературе Май-Грюнвальд—Гимза, MGG) в автоматическом приборе для окраски предметных стекол V-Chromer. Для приготовления реактивов используется дистиллированная вода с pH 6,9 ± 0,1. Фиксация мазков осуществляется в красителе-фиксаторе Май-Грюнвальда в течение 3 минут. Краситель Романовского—Гимза готовится по модифицированной методике непосредственно перед использованием. Необходимость модификации обусловлена тем, что при использовании традиционного метода на поверхности мазка образуются многочисленные преципитаты красителя, создающие грязный фон и затрудняющие работу автоматизированных систем анализа мазков крови (*Фото 1*).

Решение этой проблемы достигнуто добавлением к водному раствору краски 10% от общего объема 96 % этилового спирта. Окраска осуществляется в течение 15 минут на автомате для окраски мазков V-Chromer. После окраски мазки высушивают. Данный протокол позволяет приготовить качественные мазки с низким содержанием грязи и отсутствием преципитатов краски (*Фото 2*).

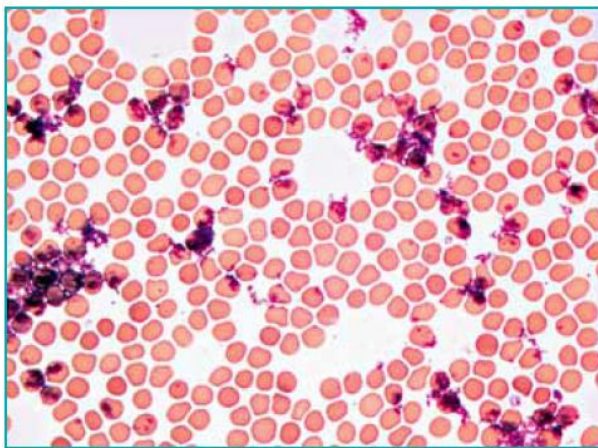


Фото 1. Преципитаты краски при окрашивании традиционным методом Романовского — Гимза (x500)

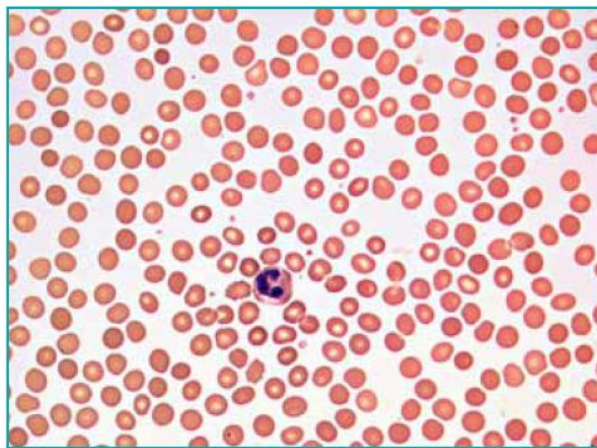


Фото 2. Мазок крови, окрашенный по модифицированной методике Романовского — Гимза (x500)

Использование данного протокола для подготовки мазков крови повысило эффективность работы автоматизированной системы анализа мазков крови Vision Hema. Увеличение производительности работы связано с ускорением сбора галерей клеток в качественном мазке и более правильной их преклассификацией по типам. В мазках крови с нормальным лейкоцитозом система в среднем затрачивала 2,7 Г} 1,14 минут для сбора изображений 100 лейкоцитов. Чувствительность обнаружения ядросодержащих клеток крови составила 98,4 Г} 1,2%. Специфичность распознавания клеток также увеличилась. Процент ручной коррекции в мазках с нормальной лейкоцитарной формулой составил 4,9 Г} 3,2% при подсчете 100 клеток. Таким образом, стандартизация преаналитического этапа увеличивает эффективность и производительность работы автоматизированных систем анализа мазков крови и является залогом успешного их использования в практической деятельности КДЛ.