ZESZYTY NAUKOWE POLITECHNIKI ŚLĄSKIEJ 1975

Seria: AUTOMATYKA z. 33 Nr kol. 450

Leszek Markiewicz, Ewa Markiewicz

METODY OZNACZANIA HEMATOKRYTU

Streszczenie. Artykuł zawiera przegląd metod oznaczania hematokrytu. Omówiona została metoda wirówkowa, rezystancyjna i rezystancyjno-impulsowa. Metody te zostały porównane z punktu widzenia błędów i skomplikowania aparatury oraz możliwości zastosowania w praktyce.

Jednym z ważniejszych parametrów krwi jest stosunek objętości masy morfotycznej a głównie krwinek czerwonych do objętości próbki krwi pełnej. Wielkość ta, zwana hematokrytem (PCV - "packed cell volume"), ma istotne znaczenie dla diagnostyków. Określa ona ilość osocza zmienną np. w ostrych stanach zapalnych. Na podstawie wartości hematokrytu można ocenić również ostrą utratę krwi krążącej chorego.

Najpowszechniejszą metodą oznaczania hematokrytu jest metoda wirówkowa. Polega ona na odwirowaniu krwi pełnej pobranej z dodatkiem środka zapobiegającego krzepnięciu do kapilary. Krwinki czerwone pod wpływem siły odśrodkowej przesuwają się wzdłuż promienia do końca kapilary. Wyznaczona w ten sposób wartość hematokrytu obarczona jest błędem niedokładnego odwirowania i tak zmiana siły odśrodkowej spowodować może błąd do 1% [1], natomiast uwięziona wśród masy krwinkowej plazma może dawać błąd 2% do 3% a w pewnych przypadkach anemii nawet więcej [2]. Ważną rzeczą jest również miejsce, z którego pobrana została krew. Rozróżnia się dwa rodzaje hematokrytu - żylny i kapilarny. Standardowe odchylenie między nimi wynosi $\pm$ 2,9% [1].

Oznaczenie hematokrytu metodą wirówkową jest bardzo uciążliwe, ponieważ wymaga zatopienia jednego końca kapilary nad ogniem, wirowania na wirówce (minimum 5 minut) a następnie odczytania wartości na specjalnym czytniku. Uniemożliwia to stosowanie tej metody oznaczania hematokrytu w terenie, co jest szczególnie ważne w czasie ostrych wypadków, gdy niemożliwy jest transport chorego, a także podczas działań wojennych. Pomimo tych wszystkich wad metoda ta jest najpopularniejsza i uznana przez lekarzy za metodę standardową.

Wzrastające zastosowania elektronicznej techniki pomiarowej ułatwiło proces oznaczania hematokrytu. Stwierdzono, że przewodność elektryczna krwi jest mniejsza niż przewodność osocza i maleje w miarę wzrostu koncentracji krwinek czerwonych. Przy przyjęciu modelu krwi jako wielu kulistych

brył (modelujących krwinki czerwone) zawieszonych w przewodzącym medium (osoczu) można w oparciu o teoretyczny wzór Maxwella podać zależność na wartość hematokrytu [3].

$$h = \frac{G_o - G_k}{G_o + 0,5\, G_k}, \qquad (1)$$

gdzie:

h - hematokryt,

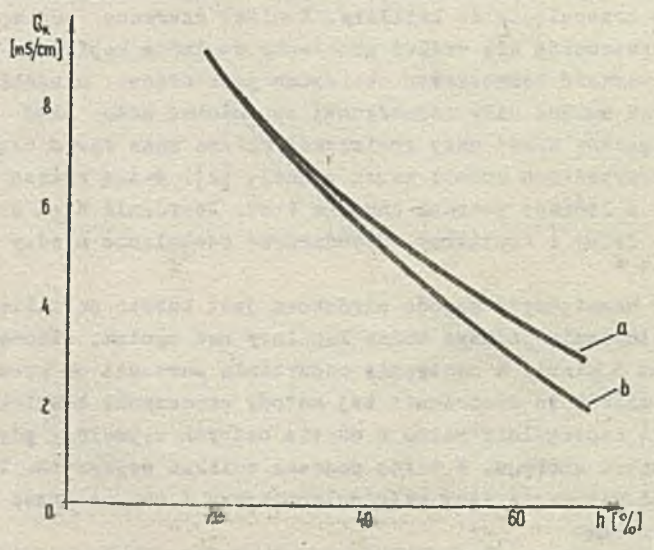
G_o - przewodność osocza zmienna w granicach $\pm$ 10%,

G_k - przewodność krwi pełnej.

Z uwagi na pewne różnice w wartości hematokrytu wyznaczonego analitycznie i doświadczalnie, wynikające z różnego od założonego kształtu krwinek, na podstawie pomiarów przy pomocy metody najmniejszych kwadratów została określona zależność:

$$h = \frac{G_o - G_k}{G_o + 1,8261\, G_k - 0,2457\, G_k^2 + 0,0153\, G_k^3} \qquad (2)$$

Na rys. 1 przedstawione są krzywe określające zależność przewodnictwa krwi i hematokrytu.



Rys. 1. Zależność przewodnictwa krwi (G_k) od hematokrytu (h)
a. teoretyczna wg wzoru (1), b. doświadczalna

Na podstawie analizy powyższych wzorów można dojść do wniosku, że aby dokonać pomiaru hematokrytu nieobarczonego błędem zmienności przewodnic-

twa osocza, należy bądź to ustabilizować przewodnictwo osocza, bądź to mierzyć zarówno przewodność osocza jak i krwi pełnej. Obie te metody są bardzo trudne do realizacji praktycznej.

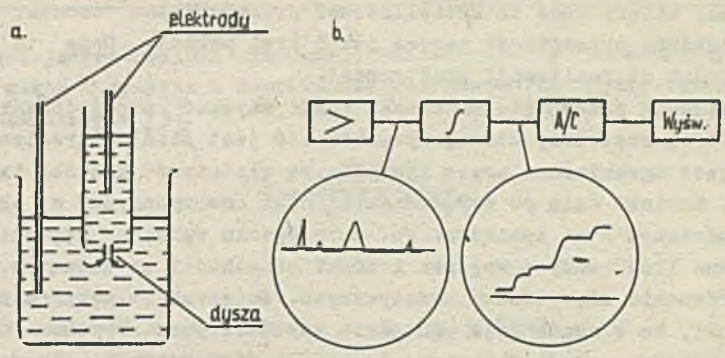
Stabilizację przewodnictwa osocza można uzyskać przez dodanie do krwi pewnej ilości roztworu, którego przewodność jest ściśle określona. Możliwość ta jest ograniczona przez specyficzną właściwość krwinek tzw. izotoniczność. Krwinki dążą do wyrównania ciśnień osmotycznych w płynie wewnątrzkomórkowym i na zewnątrz. Np. w przypadku wzrostu stężenia na zewnątrz pewna ilość wody z wnętrza komórki przechodzi na zewnątrz, aż do momentu wyrównania się ciśnień osmotycznych. Związane to jest z kurczeniem się krwinki, co w sumie daje obniżenie wartości hematokrytu.

Druga metoda, metoda dwukrotnego pomiaru zarówno krwi pełnej jak i osocza, ma również ograniczone zastosowanie z uwagi na konieczność oddzielenia osocza od krwi. Metoda naturalnego opadu jest bardzo czasochłonna (wymaga kilku godzin do uzyskania częściowego rozdziału), przyspieszenie opadu można uzyskać przez dodanie do krwi odpowiednich surowic anty M i anty N.

Specyfika badanego medium - "żywej krwi" - narzuca również pewne wymagania odnośnie użytego przyrządu do pomiaru przewodnictwa. Aby krwinki nie zostały uszkodzone podczas pomiaru prąd płynący przez roztwór musi mieć małą gęstość (0,50 $\frac{mA}{mm^2}$). Dyskredytuje to konduktometry pracujące w oparciu o prąd stały. Również częstotliwość, przy której pracuje konduktometr, ma istotne znaczenie. Przy dużych częstotliwościach, przy malejącym błędzie spowodowanym przez polaryzację elektrod następuje pojemnościowe przewodzenie membran otaczających krwinki, których wnętrze jest również przewodzące. Przy odpowiednio dużej częstotliwości przewodnictwo będzie wypadkowym osocza, płynu wewnątrzkomórkowego i hematokrytu. Objętość próbki pomiarowej powinna być stosunkowo mała. Dokładność obu metod uwarunkowana jest dokładnością konduktometru.

Innym sposobem oznaczania hematokrytu jest metoda rezystancyjno-impulsowa [4]. W tym przypadku wykorzystywany jest przyrząd do liczenia cząstek. W liczniku tym przez dyszę (rys. 2a) o małym świetle ($\phi \leqslant 100\,\mu m$) przepływa roztwór z krwinkami czerwonymi. Po obu stronach dyszy znajdują się elektrody. W momencie, gdy w świetle dyszy pojawi się krwinka następuje wzrost oporności, który ma odzwierciedlenie w impulsie prądu. Wielkość tego impulsu - jego amplituda i czas trwania - jest proporcjonalna do objętości krwinki oraz szybkości przepływu. Przy zachowaniu stałości przepływu, scałkowanie impulsów umożliwia oznaczenie hematokrytu. Schemat blokowy przystawki do obliczania hematokrytu przedstawia rys. 2b.

Metoda ta wymaga układu rozcieńczenia krwi w stosunku rzędu $1 : 10^4$ ($1 : 10^5$). Istotny jest tutaj również dobór cieczy rozcieńczającej z uwagi na izotoniczność. Pomiar może być fałszowany przez banieczki gazu rozpuszczonego we krwi uwalniającego się w trakcie przepływu przez dyszę.



Rys. 2. Pomiar hematokrytu metodą rezystancyjno-impulsową
a. czujnik, b. układ elektroniczny

Przyrząd pracujący w oparciu o tę metodę został zbudowany między innymi przez firmę Coulter Electronics GMBH. Dokładność jego wynosi 1% i zależy w dużej mierze od układu całkującego.

Podsumowując ten przegląd metod oznaczania hematokrytu można stwierdzić, że metoda wirówkowa, aczkolwiek wymagająca wielu czynności manualnych, jest najtańsza.

Elektroniczne przyrządy do pomiaru hematokrytu mogą być budowane przede wszystkim jako elementy składowe analizatorów hematologicznych, w których pewne operacje, którym podlega krew, są wykorzystywane do innych pomiarów. Do budowy samodzielnego przyrządu nadaje się jedynie metoda pomiaru ze standaryzacją przewodnictwa.

LITERATURA

[1] Richterich R.: Chemia kliniczna PZWL Warszawa 1971.

[2] Jules A. Kern, M.D. Harold Wurcel, M.D. Robert Okada, PH.D: New Elektronic method for measuring hematocrit. Clinical evakuation. 1961.

[3] Okada R.H., Schwan H.P.: An Electrical Method to Determine Hematocrits. 1960.

[4] Coulter Counter - prospekt 1972.

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЕМАТОКРИТА

Р е з ю м е

Статья содержит обзор методов определения гематокрита. Обсуждаются следующие методы: центрифужную, безреактивную, безреактивно - импульсную.

Методы эти сравнивается о точки зрения ошибок, сложности аппаратуры, а также возможности их практического применения.

METHODS OF DETERMINING THE AMOUNT OF HEMATOCRITE

S u m m a r y

This article is a digest of the methods of measuring hematocrite. It describes the centrifuge method, the resistant and pulse-resistant methods. The methods mentioned above are compared with one another from the point of view of errors, of the complesity of the apparatus, and of the possibilites of their application in practice.