

616.15.006.2:542.2:578.684

NĚKTERÁ DROBNÁ ZLEPŠENÍ A ÚPRAVY PRÁCE V HEMATOLOGICKÉ LABORATOŘI

RNDr. Miroslav PECKA, MUDr. Jaroslav MALÝ, CSc., pplk. MUDr. Ladislav JEBAVÝ, plk. doc. MUDr. Milan BLÁHA, CSc.

Vojenský lékařský výzkumný a doškolovací ústav JEP, Hradec Králové (náčelník: plk. doc. MUDr. P. Kuna, DrSc.)

II. katedra interních oborů, farmakologie a lékařské biochemie LF UK, Hradec Králové (přednosta: prof. MUDr. V. Pidrman, DrSc.)

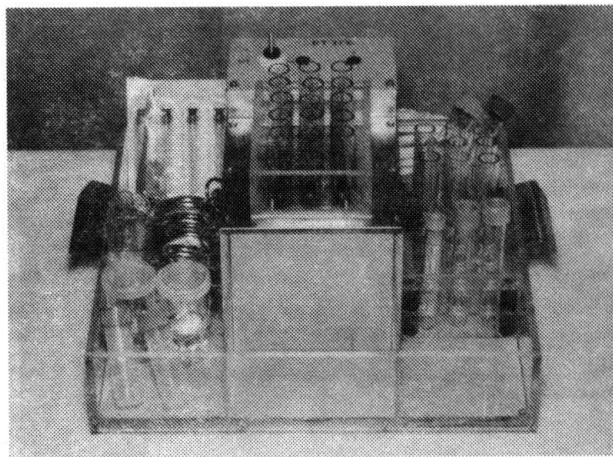
Úvod

Dříve jsme v hematologické laboratoři většinou vystačili s mikroskopem, Bürkerovou komůrkou, temperovanou vodní lázní, ev. několika dalšími jednoduchými přístroji a pomůckami. V dnešní době jsou nároky kladené na laboratoř a její vybavení značně vyšší. Na většině pracovišť by měly být již běžné počítače krevních částic, koagulometry, agregometry, diferenciátory, barvicí automaty, mikropočítače a jiné. Pokud tomu tak není, je to způsobeno většinou ekonomickými obtížemi, hlavně pokud jde o devizovou oblast. Proto je účelné pokusit se o náhradu některých zařízení, přístrojů a pomůcek, které usnadní práci v laboratoři a nejsou náročné na devizové prostředky.

V naší hematologické laboratoři používáme již řadu let některá zařízení, která byla zhotovena ve spolupráci s konstrukčními dílnami VLVDÚ JEP, vedenými ing. Miroslavem Novákem. Jedná se o jednoduchá, nebo složitější elektronická, či mechanická zařízení, která chceme doporučit pro usnadnění a z kvalitnější práce hematologických laboratoří vojenských zdravotnických zařízení.

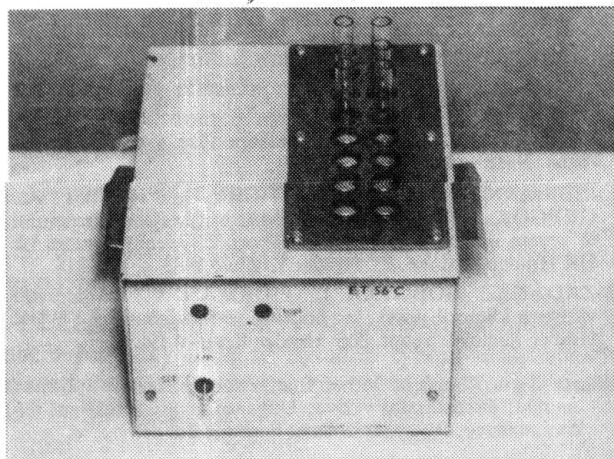
K měření srážlivosti podle Lee-Whitea jsme navrhli **elektronické vyhřívací zařízení**, které udržuje teplotu s přesností $0,1\text{ }^{\circ}\text{C}$ (obr. 1). Zařízení je konstruováno tak, že v jeho střední části je vlastní termostat s durlovým blokem pro 5×3 zkumavky (1). Termostat je

vložen do bloku z organického skla se 3 úchytkami pro ruce a s přihrádkami pro další pomůcky (stopky, náhradní zkumavky, odběrové pomůcky pro odběr kapilární krve atd.). Zařízení je připojeno k síti (220 V, 50 Hz). Při odpojení ze sítě, např. při transportu z jednoho pracoviště na druhé, dochází v termostatu k poklesu teploty o $1\text{ }^{\circ}\text{C}$ za dobu delší než 10 minut.



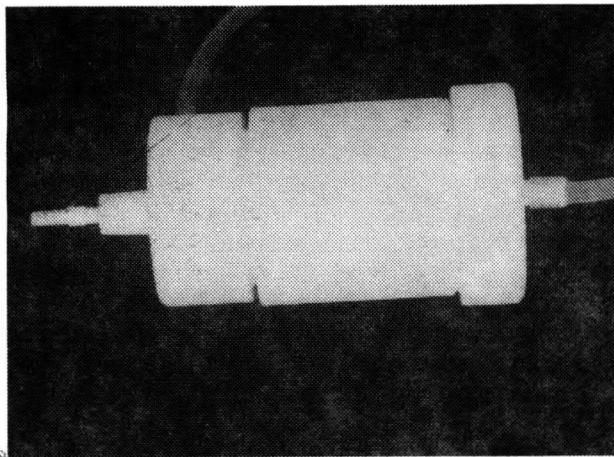
Obr. 1 Elektronické vyhřívací zařízení k měření srážlivosti podle Lee-Whitea

Výhoda tohoto zařízení je nesporná v porovnání s běžně užívanými vodními lázněmi. Dále vyzdvihujeme: standardní podmínky (teplota, stejný průměr a síla zkumavek) a možnost provést více vyšetření najednou. V budoucnu uvažujeme o náhradě mechanických stopek stopkami digitálními.



Obr. 2 Termostat ke stanovení fibrinogenu nefelometrickou technikou

Pro stanovení fibrinogenu nefelometrickou technikou (3) jsme navrhli **termostat vyhříváný na 56 °C** (obr. 2). Zařízení má dvě optické kontrolky. Jedna z kontrolky informuje obsluhu, že přístroj je pod napětím, druhá, že termostat se vyhřívá. Termostat se za 60 minut vyhřeje na provozní teplotu. Princip nefelometrické metody spočívá v tom, že se naředí plazma v určitém poměru s MES (2- /N-morpholino/ – Ethane suphonic acid) pufrem a změní se na nefelometru před a po zahřátí na 56 °C – k ohřevu slouží popsaný termostat. Při zahřívání dojde za specifických podmínek k vysrážení fibrinogenu a zákal se měří nefelometrem. Výhody tohoto zařízení oproti vodnímu termostatu vidíme zejména v tom, že zařízení udrží sklo čisté, a tím se urychlí vlastní vyšetření.



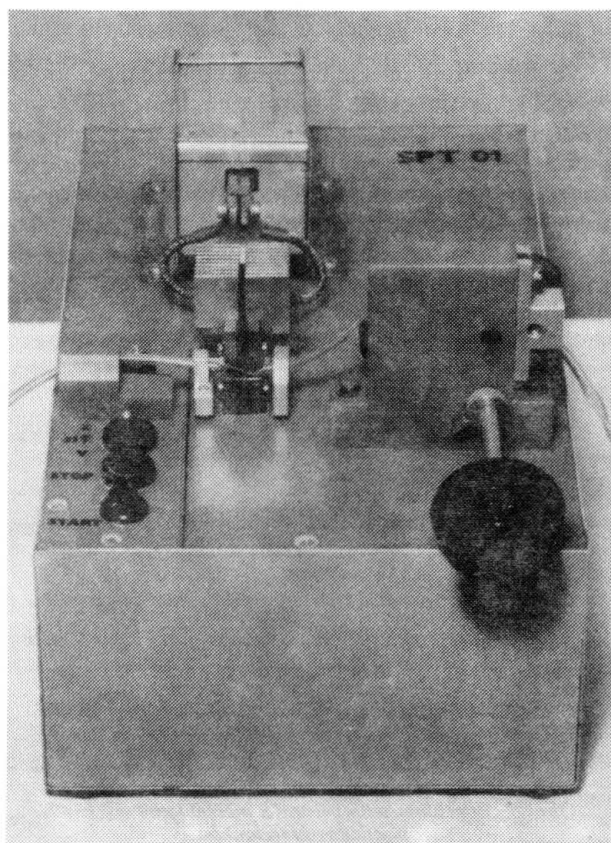
Obr. 3 Ultrafiltrační podtlaková jednotka k filtraci roztoků pro elektronické čítače částic

V laboratoři dále využíváme **ultrazvukovou vanu TESLA UC 405 BJ-1** k odstraňování zbytků proteinů a mechanických nečistot z tvarově složitých nádobek a součástek z různých materiálů (kov, sklo, plastická hmota). Ultrazvuková čistička sestává z víka, vany z antikorozivního materiálu a ultrazvukového generátoru uloženého pod vanou. Čištění probíhá vlivem tzv. kavitačních sil, kdy na povrchu materiálu vznikají v mikroskopických rozměrech tlaky až několika set atmosfér. Sklo čistíme při teplotě lázně 70 °C. Používá se roztok ISOTERGE (10 ml v 1 l destilované vody). Následuje trojí oplach destilovanou vodou. Při každém úkonu pracuje čistička po dobu asi 2 minut. Umělou hmotu čistíme obdobným způsobem, ale používáme lázně vyhřáté na 40 °C. Před vlastním čištěním se mechanicky (nejlépe špejlí) odstraní krevní nebo plazmatické koagulum. Naše zkušenosti ukazují, že tímto způsobem čištění nádobky lze použít vícekrát bez zjevných známek mechanického poškození a poškrábání stěn. V čističce můžeme velmi dobře čistit i skleněné kyvety spektrofotometru, filtry k hemoglobinometru (Coulter Counter ZF 6) a jiná zařízení, která jsou nepřístupná pro mechanickou očistu.

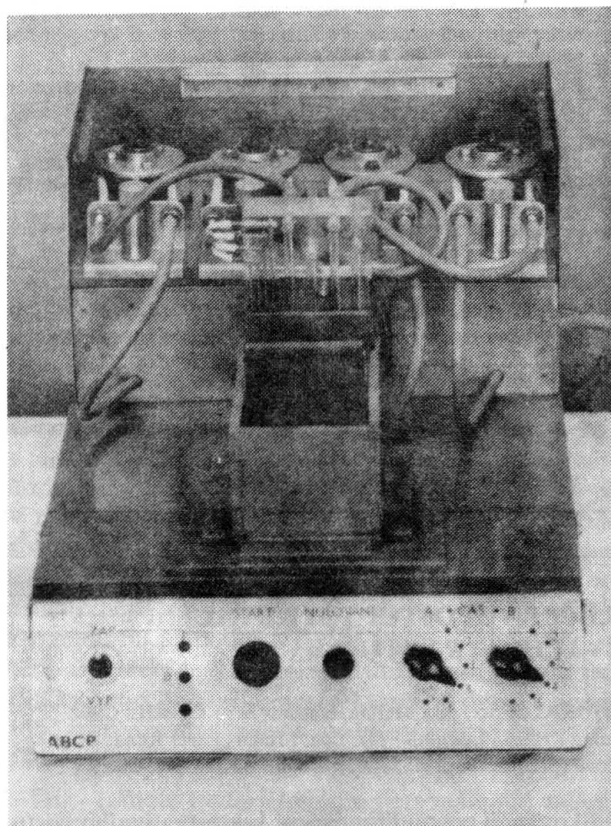
K filtraci roztoků pro elektronické počítače krevních částic používáme **ultrafiltrační podtlakovou jednotku** s membránovými filtry Synpor (0,40 μm, průměr 50 mm, výrobce: VCHZ Synthesia, n. p., Pardubice Semtín, závod Uhřetěves). Zařízení je jednoduché a lze ho umístit na jakoukoliv silnostěnnou nádobu s přiměřeným průměrem hrdla, která se nedeformuje vytvořeným podtlakem (obr. 3). Zařízení zfiltruje za 20 minut 5 l tekutiny na pozadí zbytkových částic 0,4 μm. Jednotky lze s výhodou využít k filtraci blankového roztoku k hemoglobinometru – HEMOTERGE (Coulter El.), lyzačního a transformačního přípravku ZAPOGLOBIN (Coulter El.) a přípravku ISOTON (Coulter El.).

Trombocyty počítáme v destičkách bohaté plazmě na počítači krevních destiček Thrombocounter C. Plazmu bohatou na destičky připravujeme sedimentací krve stabilizované EDTA v polyetylénových trubičkách na jednom konci zatavených, tzv. „platelet kit technikou“. Trubičky si zhotovujeme sami na vhodně uzpůsobeném zařízení (obr. 4). Obsluha přístroje není náročná. Po stisknutí kolíku „Start“ dojde samovolně k přitlačení a zapnutí topných článků. Po prohřátí a spojení materiálu odskočí čelisti a trubičku je možné posunout o další úsek na místo dalšího zátavu. Jeden spoj se svaří za 30 sekund. Po rozstřížení v místě spoje získáme 2 trubičky. **Zařízení k zatavování trubiček** má podavač, který provádí posun trubičky a zároveň měří délku mezi jednotlivými zátavy. Ke zhotovení trubiček lze použít odpadních materiálů z běžných transfúzních setů (koncové trubičky atd.), případně v distribuční síti dostupného materiálu.

K barvení nativních krevních nátěrů Papenheimovou barvicí technikou byl pracovníky konstrukčních dílen VLVDÚ JEP zkonstruován **elektronický barvicí automat** (obr. 5). Do kyvety přístroje se vloží sklíčka s krevními nátěry a stiskne se přepínač



Obr. 4 Zařízení k zatavování sedimentačních trubiček při platelet kit technice u Thrombocounteru C



Obr. 5 Elektronický přístroj k barvení nativních krevních náterů Pappenheimovou technikou

„Start“. Kyvetový blok se pohybem peristaltického čerpadla naplní fixačním roztokem. Doba fixace se může nastavit v rozmezí 3–8 minut. Následuje proplach pufrovanou vodou a barvení. Dobu barvení lze volit v rozsahu 10–20 minut. Cyklus se ukončí dvojitým proplachem destilovanou vodou (pufrovanou) a krátký akustický signál oznámí ukončení cyklu.

Při přípravě plazmy bohaté na destičky, dále u gradientové sedimentace leukocytů atd. se s výhodou využívá nízkých konstantních otáček centrifugy. Odstředivky dostupné v ČSSR tyto úpravy nemají. Tuto nepříznivou situaci jsme se pokusili řešit **úpravou centrifugy T 52-1** (MLW, NDR) (5.). U centrifugy byla vhodným způsobem upravena elektronika tak, aby na zařízení bylo možné jednoduchým způsobem a s dostatečnou přesností nastavit **nízké otáčky** (obr. 6). Hodnota stupnice byla překalibrována bezdotykovým stroboskopickým otáčkoměrem PU 420 pro rozsah 0–1000 otáček/min. Stupnici ukazatele otáček lze pak použít pro dva rozsahy, které měníme změnou polohy přepínače:

poloha I – původní rozsah 0–10 000 otáček/min.

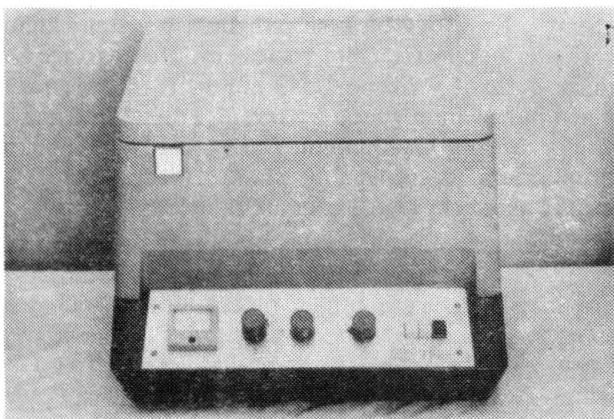
poloha II – rozsah pro nízké otáčky 0–1000 otáček/min.

Úprava dle našeho názoru může být použita i pro jiné typy odstředivek.

U některých typů agregometrů s jednoduchou konstrukcí a nízkou cenou nejsou zabudované předehřívací bloky. Proto jsme navrhli termostatované vyhřívací zařízení pro předehřívání plazmy bohaté na krevní destičky před agregací stimulovanou kolagenem (obr. 7). Jde o **víceúčelový elektronický termostát** s možností volby teploty v rozmezí 31–43 °C s přesností nastavení $\pm 0,1$ °C (2). V duralovém bloku termostatu jsou tři řady po šesti vyhřívacích místech, celkem pro 18 kyvet. Zařízení může pracovat ve dvou nastavitelných režimech:

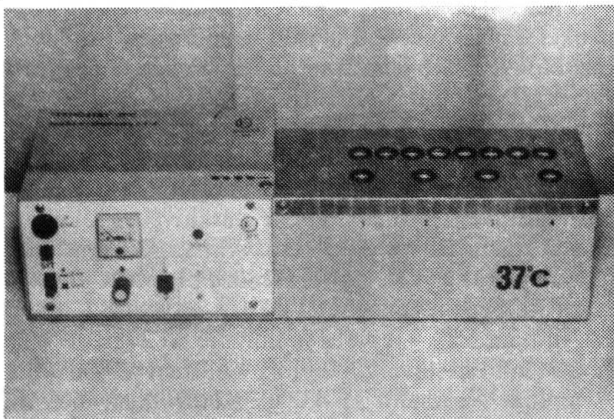
1. Automaticky – teplota se udržuje na $37 \pm 0,1$ °C.
2. S ručním nastavením teploty – nastaví se libovolná teplota v rozsahu 31–43 °C. Kontrolka vyhřívání svítí, pokud se nedosáhne požadované teploty. Po zhasnutí kontrolky udržuje termostát teplotu s přesností $\pm 0,1$ °C.

Ke sledování změn odolnosti kapilár používáme vhodně konstruované zařízení tzv. **petechiometer** (obr. 8). Zařízením se vytváří podtlak na určité části pokožky. V tomto místě dochází k mechanickému namáhání kapilár a následné tvorbě petechií. Technika neklade velké nároky na čas (45 sekund). Vznik petechií lze sledovat na různých místech lidského těla. Nejčastěji se vyšetřuje na kůži předloktí v oblasti loketní jamky nebo v podklíčkové krajině. Princip přístroje je poměrně jednoduchý (4). Podtlak se vytváří v pístové vývěvě pohybem kovového pístu ve skleněném válci. Silou vratné pružiny se píst navrací do výchozí polohy. Je-li v této době uzavřen zavzdušňovací šroub, vytváří se podtlak v přísavné nádobce, která přilne ke kůži. Pístová vývěva je spojena s přísavnou nádobkou z plexiskla o průměru 0,02 m pomocí elastických hadiček. Do přísavné nádobky je vestavěna



Obr. 6 Úprava centrifugy Janetzki T-52.1 pro nízké otáčky

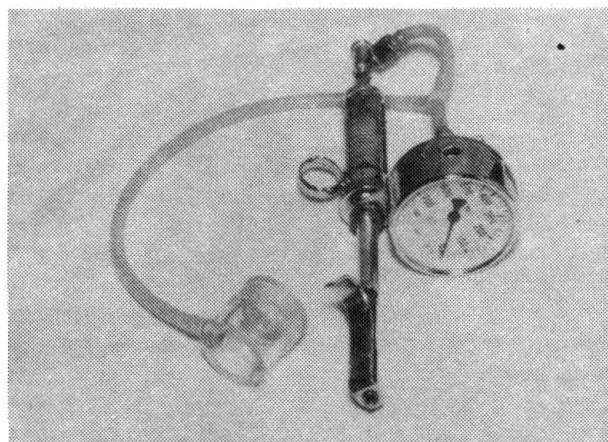
lupa, která slouží k přesnějšímu odečítání petechií. Přístroj šetří čas, vyšetření kapilární rezistence je jinak prováděno metodou podle Rumpel-Leedehe, která trvá podstatně déle. Časová úspora je výhodná zejména při práci v hematologické poradně, kde ambulantně vyšetřujeme v jednom dni 20–30 nemocných.



Obr. 7 Víceúčelový elektronický termostat pro některé typy agregometrů

Souhrn

Ve svém krátkém sdělení informujeme o některých zařízeních, pomůckách a postupech, které používáme na II. interní klinice v Hradci Králové a v hematologické laboratoři VLVDÚ JEP. Všechna uvedená zařízení a přístroje máme v podobě prototypů v hematologické laboratoři. Tato zařízení podle našich zkušeností mohou zjednodušit a zpříjemnit práci v hematologické laboratoři.



Obr. 8 Petechiometer – přístroj k měření lomivosti kapilár podtlakovou technikou

Literatura

1. BEJČEK, K. – PECKA, M. – MALÝ, J.: Přenosné elektronické vyhřívací zařízení ke stanovení srážlivosti krve. Služba zdravotníkům, 1986, č. 3/4, s. 84–85.
2. BEJČEK, K. – PECKA, M. – MALÝ, J.: Elektronický termostat pro některé typy agregometrů. Služba zdravotníkům, 1983, č. 3, s. 159–160.
3. PECKA, M. – ŠIROKÝ, O. – BLÁHA, M. – VÁCHA, K.: Stanovení fibrinogenu v plazmě nefelometrem Thorp Mark IV. Čas. Lék. čes., 120, 1981, č. 18, s. 550–552.
4. PECKA, M. – VAŇÁSEK, J. – MALÝ, J. – BLÁHA, M. – ŠIROKÝ, O. – JEBAVÝ, L.: Sledování změn fragility kapilár petechiometrem. Vnitř. Lék., 27, 1981, č. 3, s. 256–262.
5. ZAVŘEL, V. – PECKA, M. – MALÝ, J.: Úprava centrifugy pro nízké otáčky k přípravě plazmy bohaté na krevní destičky.

Klíčová slova: Laboratorní přístroje; Hematologická laboratoř; Termostaty.