



ANALIZZATORI EMATOLOGICI Coulter HmX Autoloader

CARATTERISTICHE GENERALI

Il Coulter Hmx con Autoloader (autocampionatore) è un analizzatore ematologico automatico per uso diagnostico in vitro. E' in grado di effettuare l'emocromo, l'analisi differenziale dei leucociti e il conteggio dei reticolociti.



PARAMETRI DETERMINATI

L'analizzatore determina, da sangue intero, i seguenti 26 parametri ematologici :

- 1) Conteggio totale dei Globuli Bianchi o Leucociti (WBC) x $10^3/\mu\text{L}$
- 2) Conteggio totale dei Globuli Rossi o Eritrociti (RBC) x $10^6/\mu\text{L}$
- 3) Emoglobina totale (Hgb) g/dL
- 4) Ematocrito (Hct) %
- 5) Volume cellulare medio (MCV) fL
- 6) Emoglobina media corpuscolare (MCH) pg
- 7) Concentrazione media di emoglobina corpuscolare (MCHC) g/dL
- 8) Ampiezza della distribuzione volumetrica degli Eritrociti (RDW) %
- 9) Conteggio totale delle Piastrine o Trombociti (Pit) x $10^3/\mu\text{L}$
- 10) Volume medio piastrinico (MPV) fL
- 11) Piastrinocrito (Pct) %
- 12) Ampiezza della distribuzione volumetrica delle piastrine (PDW) %
- 13) Linfociti espressi in valore percentuale (Ly%)
- 14) Linfociti espressi in numero assoluto (Ly#)
- 15) Monociti espressi in valore percentuale (Mo%)
- 16) Monociti espressi in numero assoluto (Mo#)
- 17) Neutrofili espressi in valore percentuale (Ne%)
- 18) Neutrofili espressi in numero assoluto (Ne#)
- 19) Eosinofili espressi in valore percentuale (Eo%)
- 20) Eosinofili espressi in numero assoluto (Eo#)
- 21) Basofili espressi in valore percentuale (Ba%)
- 22) Basofili espressi in numero assoluto (Ba#)

- 23) Reticolociti espressi in valore percentuale (Ret %)
- 24) Reticolociti espressi in numero assoluto (Ret #)
- 25) Frazione di Reticolociti Immaturi (IRF)
- 26) Volume Reticolocitario Medio (MRV) fL

CADENZA ANALITICA E PROFILI ANALITICI

Il sistema Coulter HmX Autoloader dispone di 3 profili analitici liberamente selezionabili, con consumo diversificato dei reattivi in relazione ai parametri richiesti.

Di seguito vengono riportati I profili selezionabili e la rispettiva produttività analitica:

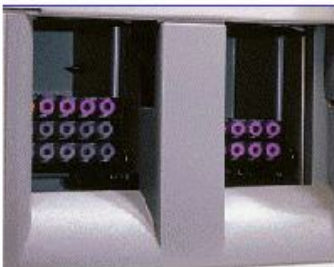
• CBC+ Diff	emocromo con formula leucocitaria	75 campioni/ora
• CBC	emocromo	75 campioni/ora
• RET	reticolociti	30 campioni/ora

MODALITÀ DI CAMPIONAMENTO

Sono previste tre modalità di aspirazione:

1. Aspirazione da provetta chiusa
2. Aspirazione da provetta aperta con sonda autopulente
3. Prediluito con aspirazione da provetta aperta

Il sistema è provvisto di un campionatore automatico incorporato, ad alimentazione in continuo, in grado di ospitare fino a 5 cassette da 5 campioni ognuna (25 campioni nella zona di carico e 25 campioni nella zona di scarico per un totale di 50 campioni).



Il sistema esegue automaticamente l'agitazione del campione.

L'aspirazione da provetta chiusa prevede un sistema automatico di monitoraggio della fase di aspirazione, con segnalazione di eventuali anomalie mediante appositi messaggi di allarme.

Coulter HmX Autoloader è provvisto anche di modalità di aspirazione da provetta aperta con sonda autopulente, ideale per l'esecuzione di campioni urgenti, senza alterare il normale svolgimento della routine.



QUANTITA' DI CAMPIONE ASPIRATO

1. Provetta chiusa: 185 μ L di sangue intero
2. Provetta Aperta: 125 μ L di sangue intero
3. Modalità Prediluito: 50 μ L di sangue intero + 100 μ L di ISOTON III
Il risultato viene automaticamente corretto per il fattore di diluizione.
4. Reticolociti: 50 μ L di sangue intero miscelati con 4 gocce di Reagente A del reattivo Retic Prep, a 2 μ L di questa soluzione vengono aggiunti 2 mL del Reagente B.

DIMENSIONI DELLE PROVETTE UTILIZZABILI DAL SISTEMA

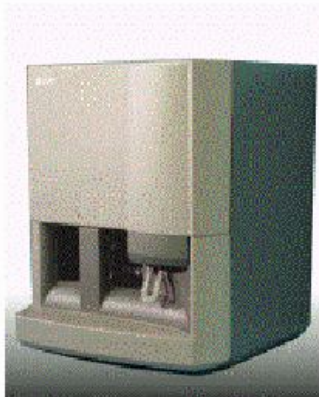
1. Diametro: da 10 a 16 mm
2. Lunghezza: da 47 a 77 mm
3. Capacità: da 2 a 7 mL

CODICI A BARRE DECODIFICABILI

Il lettore di codice a barre per l'identificazione positiva del campione è in grado di decodificare, senza alcuna modifica, i seguenti codici :

1. Codabar o MW 7
2. Code 39® bar code
3. Code 128
4. Interleaved 2-of-5

COMPONENTI DEL SISTEMA Coulter HmX



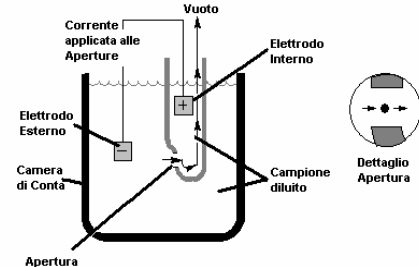
Il sistema comprende I seguenti componenti:

- **Analizzatore**, con alimentatore elettrico e unità pneumatica incorporati
- **Workstation**, composta da:
 - Computer di gestione
 - Monitor a colori ad alta risoluzione
 - Stampante grafica.



1. CONTEGGIO E DIMENSIONAMENTO DI GLOBULI BIANCHI, GLOBULI ROSSI E PIASTRINE

Il **principio impedenziometrico Coulter** permette di contare e dimensionare le cellule sospese in una soluzione conduttiva, rilevandone la variazione di impedenza provocata dal loro passaggio attraverso un apposito orifizio. Ogni cellula sospesa nel diluente agisce come isolante. Quando la cellula attraversa l'apertura viene generata una variazione di resistenza elettrica del campo elettrico prodotto da due elettrodi posizionati in parti opposte sull'apertura.



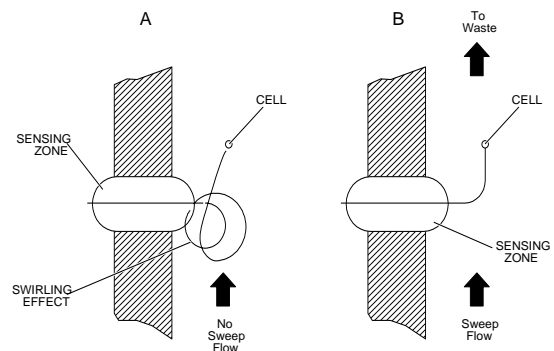
Questo fenomeno provoca un impulso che può essere rilevato e decodificato. Il numero di impulsi rilevati è proporzionale al numero di cellule presenti nella soluzione, mentre l'ampiezza dell'impulso sarà proporzionale al volume della cellula.

Sono presenti due camere di conteggio, una per l'analisi di globuli rossi e piastrine, l'altra per l'analisi dei globuli bianchi, ciascuna dotata di tre orifizi.

Sulle diluizioni presenti nelle camere vengono eseguiti tre conteggi simultanei dei quali la media è il dato refertato. **Il sistema è in grado di estendere automaticamente i tempi di analisi in presenza di campioni citopenici**, con lo scopo di analizzare un numero statisticamente significativo di cellule.

L'analizzatore adotta un sistema automatico unico brevettato chiamato **"Sweep flow system"** per eliminare le interferenze sul conteggio piastrinico. La tecnologia applicata chiamata **"Pulse Edit Circuit"** verifica e corregge gli impulsi utilizzati per la costruzione dell'istogramma di distribuzione volumetrica.

La frequenza della coincidenza del passaggio di più cellule all'interno dell'apertura è proporzionale alla concentrazione della diluizione ed il sistema è quindi in grado di correggere i risultati moltiplicandoli per un fattore di coincidenza.



Nella camera di conta RBC **gli impulsi compresi tra 24 e 360 fL sono classificati come globuli rossi** e distribuiti volumetricamente in 256 canali con una risoluzione per canale pari a 1,3 fL. Questa classificazione permette la costruzione dell'istogramma RBC.

Nella stessa camera RBC **il sistema classifica come piastrine gli impulsi tra i 2 e i 20 fL** utilizzando 64 canali, con una risoluzione per canale pari 0.28 fL.

Nella stessa camera RBC **il sistema classifica come piastrine gli impulsi tra i 2 e i 20 fL** utilizzando 64 canali, con una risoluzione per canale pari 0.28 fL.

Viene applicato per la massima accuratezza del conteggio e del dimensionamento piastrinico un procedimento automatico denominato **"Curve Fitting Process"**. Per prevenire la formazione di depositi proteici al termine di ogni ciclo analitico si attiva un circuito automatico di pulizia elettronica degli orifizi chiamato **"Burn Circuit"**.

2. LETTURA DELLA CONCENTRAZIONE DI EMOGLOBINA

La **concentrazione emoglobinica viene misurata per via fotometrica** con l'impiego di un reagente specifico.

A seconda del sistema di reagenti scelto, l'analizzatore Coulter HmX utilizza una metodica con cianuri (reagente Lyse S III Diff) o **senza cianuri** (Lyse S 4 Diff) che lisano in modo completo i globuli rossi.

A) Metodica senza cianuri: l'emoglobina è trasformata in un emocromogeno, formando un prodotto di reazione stabile la cui assorbanza, misurata a 525 nm, è proporzionale alla concentrazione di emoglobina.

L'accuratezza del metodo utilizzato (HemoChrom-S, HC-S) è uguale al metodo di riferimento della Cianmetaemoglobina raccomandato per l'emoglobinometria dal ICSH, con valori di Correlazione (R^2) pari a 0.994.

B) Metodica con cianuri: il sistema segue il metodo di riferimento della Cianmetaemoglobina raccomandato per l'emoglobinometria dal ICSH: l'emoglobina rilasciata è trasformata in cianmetaemoglobina, la cui assorbanza, misurata a 525nm, è direttamente proporzionale alla concentrazione di emoglobina.

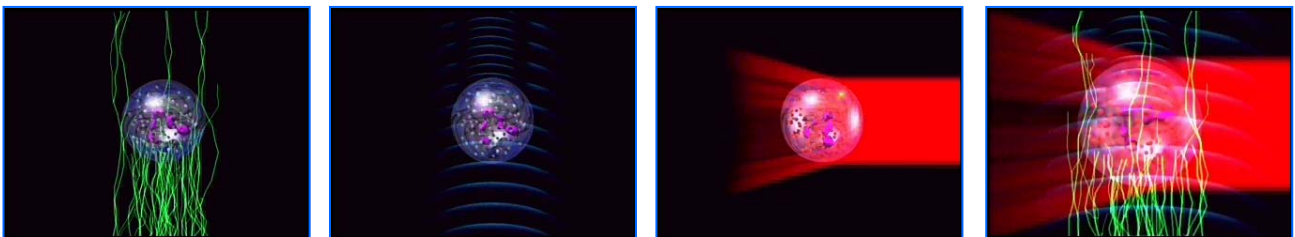
Il reagente utilizzato in tale metodica contiene radicali cianidrici in concentrazione così ridotte da rendere il **reagente etichettato come non tossico o nocivo**, in virtù delle normative vigenti.

3. ANALISI DI FORMULA LEUCOCITARIA

L'analizzatore utilizza la **Tecnologia VCS**, ossia un'analisi simultanea e multiparametrica dei leucociti allo stato nativo in un singolo canale di rilevazione dove le cinque popolazioni leucocitarie sono tutte determinate direttamente. Il sistema effettua tre misurazioni per ognuna delle cellule che transitano attraverso un cella a flusso in quarzo ottico, con focalizzazione idrodinamica.

Le misure effettuate sono:

1. Una corrente a bassa frequenza misura la variazione di impedenza, provocata dal passaggio delle cellule determinandone il **volume** totale.
2. Una corrente ad alta frequenza misura la **conduttività** cellulare fornendo informazioni sui costituenti chimici e fisici interni della cellula (grandezza e densità del nucleo, rapporto nucleo/citoplasma).
3. Lo **scatter** della luce emessa da un laser neon-elio fornisce informazioni sulla forma, la membrana e la granularità della cellula.



Prendendo in considerazione contemporaneamente le tre analisi, si ottiene una distribuzione tridimensionale della popolazione leucocitaria.

La Formula Leucocitaria viene ottenuta analizzando approssimativamente 8192 leucociti per ogni campione.

Il sistema di rilevazione della Formula Leucocitaria è dotato di sensore di temperatura e relativa zona di termostatazione. Indipendentemente dalla temperatura esterna, la lettura avviene sempre in condizioni standard.

I dati accumulati durante l'analisi di migliaia di cellule sottoposte alle 3 tecnologie disegnano un'immagine tridimensionale grafica delle popolazioni cellulari. L'immagine ottenuta viene visualizzata sottoforma di 3 scatterplot bidimensionali (DF1 – DF2 - DF3) ognuno dei quali tiene conto di un diverso punto di vista. La densità delle popolazioni è evidenziata da una diversa intensità di colorazione che è modulata dal blu (valore più basso) al giallo (densità superiore) passando dal verde al rosso.

4. ANALISI DEI RETICOLOCITI

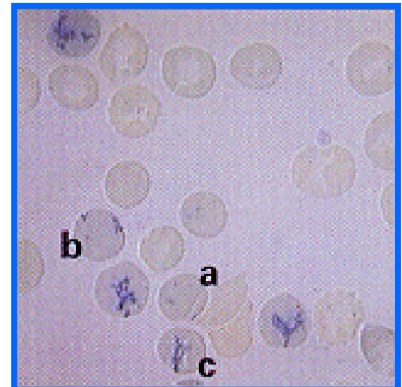
L'analisi dei Reticolociti viene preceduta da un trattamento del sangue intero per mettere in evidenza le differenze esistenti tra gli eritrociti ed i reticulociti.

Il campione viene incubato a temperatura ambiente con il colorante sopravvitali Nuovo Blu di Metilene, e chiarificato con una soluzione ipotonica che sfericizza gli elementi cellulari.

Di seguito il campione viene analizzato in modalità secondaria e l'analisi viene effettuata con tecnologia VCS (Volume, Conduttività e Scatter della Luce Laser) attraverso una cella a flusso con focalizzazione idrodinamica, nella quale vengono contate più di 32.000 elementi cellulari. I Reticolociti marcati dal colorante Nuovo Blu di Metilene, e differenziati dagli elementi cellulari in base alla diversa risposta alla diffrazione di luce Laser, al volume cellulare e alla complessità citoplasmatica.

Vengono forniti due scatterplot bidimensionale, in cui le singole popolazioni sono facilmente identificabili.

Il campione può essere analizzato a temperatura ambiente sino a 8 ore dal prelievo, o sino a 24 ore dal prelievo se refrigerato.



Oltre ai parametri di conteggio (RET% e RET#) il sistema Coulter HmX può fornire anche i seguenti parametri di maturità:

- **IRF** Frazione di Reticolociti Immaturi
- **MRV** Volume Reticolocitario Medio

SISTEMA DI GESTIONE – SPECIFICHE TECNICHE DELL'HARDWARE

- ◆ Personal Computer RADISYS
- ◆ Microprocessore Pentium 100 Mhz
- ◆ 16 MB di memoria RAM
- ◆ 32 bit Architecture
- ◆ 1.080 GB Hard-Disk
- ◆ Scheda grafica VGA ad elevata risoluzione
- ◆ Drive per floppy-disk da 3.5"
- ◆ Monitor a colori LCD da 17" colori ad alta risoluzione
- ◆ Interfaccia utente: tastiera, mouse
- ◆ Software in lingua italiana



SISTEMA DI GESTIONE – CARATTERISTICHE DEL SOFTWARE

- ◆ Monitoraggio del carico di lavoro.
- ◆ Possibilità di **memorizzare 5000 profili pazienti completi** di istogrammi e scatterplots. Programma di autocancellazione automatico.
- ◆ Possibilità di archiviazione degli stessi dati numerici dei pazienti su floppy disk.
- ◆ Programmazione della **lista di lavoro** tramite l'inserimento di informazioni riguardanti le generalità del campione (sesso, età, reparto, medico richiedente, eventuali commenti) oppure tramite ricezione da Host Computer.
- ◆ Possibilità d'identificazione positiva alfanumerica dei campioni anche per l'esecuzione in modalità secondaria.
- ◆ Possibilità di programmare i campioni secondo il test richiesto.
- ◆ Possibilità di correzione (editing) dei risultati dei campioni memorizzati con aggiunta di eventuali commenti.
- ◆ **Ricerca automatica dei campioni in memoria** per data, ora, numero, nome del paziente, condizioni di normalità o anormalità del campione.
- ◆ **Memorizzazione dei dati dei controlli** in 20 file da 100 posizioni ognuno con la possibilità di visualizzare e/o stampare i grafici Levey-Jennings.
- ◆ Collegamento con il Sistema Informatico del laboratorio mediante interfaccia seriale RS232 in modo bidirezionale.
- ◆ Programma di **impostazione dei valori di normalità** della popolazione per i 26 parametri determinati.
- ◆ Programma di **calibrazione automatica** con l'uso di specifico sangue di calibrazione.
- ◆ Programma di verifica automatica della Riproducibilità e del Carry-Over.
- ◆ Autodiagnosi continua del sistema durante il ciclo operativo.
- ◆ **Segnalazione dei valori oltre il limite di accettabilità.**
- ◆ Impostazione dei valori di riferimento dei controlli 5C e Retic C tramite l'utilizzo di dischetto da 3.5" .

- ◆ **Programma di Controllo di Qualità XB** (Algoritmo di Bull), eseguito automaticamente sui campioni che compongono la routine.
- ◆ Possibilità di inserimento dei Reparti e dei Medici.
- ◆ Unità di misura selezionabili tra 6 diversi formati.
- ◆ Possibilità di configurare e memorizzare differenti profili di referto.
- ◆ Possibilità di collegare una seconda stampante.

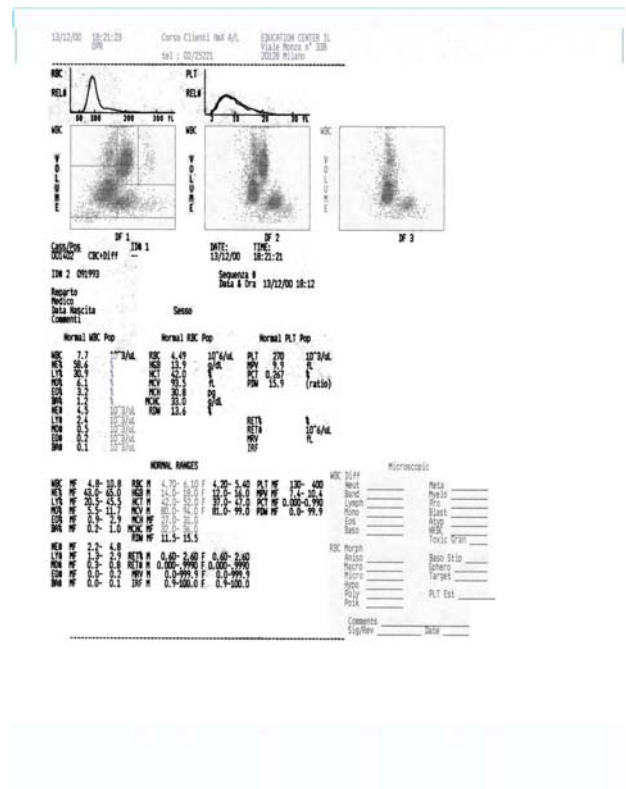
STAZIONE ANALITICA

- ◆ Ago completamente incapsulato.
- ◆ Nella modalità di aspirazione primaria (provetta chiusa) presenza di un blood detector in grado di evidenziare e segnalare eventuali anomalie del campione.
- ◆ Lettore di barcode.
- ◆ Lavaggio automatico della sonda di aspirazione del sistema per campioni eseguiti da provetta aperta.

REFERTAZIONE DEI RISULTATI

Per ogni campione analizzato, viene fornito un profilo paziente comprensivo di:

- ◆ 26 parametri ematologici.
- ◆ Curva di distribuzione dei Globuli Rossi.
- ◆ Curva di distribuzione delle Piastrine.
- ◆ 4 scatterplot di distribuzione dei Globuli Bianchi.
- ◆ 2 scatterplot di distribuzione dei Reticolociti.
- ◆ Eventuali messaggi interpretativi al referto stesso.
- ◆ Range di normalità differenziati a seconda del sesso e dell'età.
- ◆ Unità di misura selezionabili dall'operatore.
- ◆ Sezione per introdurre eventuali osservazioni microscopiche ottenute manualmente.



REAGENTI

Il sistema Coulter HmX utilizza i seguenti reagenti:

1. **ISOTON IV**, soluzione isotonica, confezionato in tanica da 20 litri. Usato per la diluizione dei campioni di sangue intero e per il conteggio e il dimensionamento degli elementi cellulari.
2. **LYSE S IV**, soluzione lisante **senza cianuri** utilizzata per il conteggio e il dimensionamento dei Globuli Bianchi, degli eritroblasti e la determinazione spettrofotometrica dell'emoglobina. Confezionato in bottiglia da 1000 ml.
3. **ISOTON III**, soluzione isotonica, confezionato in tanica da 20 litri. Usato per la diluizione dei campioni di sangue intero, per il conteggio e il dimensionamento degli elementi cellulari e per la differenziazione di formula leucocitaria a 5 popolazioni.
4. **LYSE S III diff**, soluzione lisante utilizzata per il conteggio e il dimensionamento dei Globuli Bianchi e per la determinazione spettrofotometrica dell'emoglobina. Confezionato in bottiglia da 1000 ml
5. **Coulter HmX PAK**, confezione comprende due reagenti. Erytroylyse, per la lisi selettiva delle membrane cellulari dei Globuli Rossi e lo Stabilyse soluzione protettiva e stabilizzante delle membrane cellulari dei Globuli Bianchi, per la conservazione del volume e della morfologia delle cellule leucocitarie.
6. **Coulter RETIC PREP**, la confezione contiene due reagenti distinti. Un Reagente A - Colorante (Nuovo Blu di Metilene) per la colorazione sopravvitala della sostanza ribosomiale e un Reagente B - Agente Clearing soluzione ipotonica per la sfericizzazione degli elementi eritrocitari e la chiarificazione del contenuto interno cellulare.
7. **Coulter CLENZ**, soluzione detergente, confezionato in tanica da 5 litri. Usato per il mantenimento dell'efficienza delle componenti interne che vengono a contatto con il sangue intero dei campioni.

CONTROLLI E CALBRATORI

Per la verifica delle prestazioni di precisione e accuratezza strumentale, sono a disposizione i seguenti controlli e calibratori ematologici:

1. **COULTER 5C CELL CONTROL**: controllo ematologico a 3 livelli analitici (Patologico-Basso, Normale, Patologico-Alto), con valutazione di tutti i parametri ematologici. Confezionati in provette dotate di codici a barre (identificazione positiva), che permettono la loro rapida identificazione e la loro analisi simultanea con i campioni della routine (automatizzazione dei controlli ematologici). All'interno della confezione è presente un floppy-disk per caricare



automaticamente I range di accettabilità dei controlli. Segnalazione dei valori oltre il limite di accettabilità.

2. **S-CAL CALIBRATOR**: calibratore per i parametri emocromocitometrici. La calibrazione è responsabilità dell'operatore. Il produttore consiglia di verificare la calibrazione ogni tre/quattro mesi.
3. **COULTER LATRON PRIMER & CONTROL**: una sospensione di particelle di lattice per la verifica delle misurazioni di Volume-Conduktivität-Scatter (Controllo prestazioni Formula Leucocitaria, Reticolociti)
4. **RETIC C CELL CONTROL**: un controllo ematologico a 3 livelli analitici per il conteggio dei reticolociti.

PROCEDURE DI MANUTENZIONE

Assenza completa di manutenzione ordinaria per la presenza di:

- ❖ Valvola campionatrice autopulente.
- ❖ Pulizia automatica della cella a flusso per la determinazione della formula.
- ❖ Circuito di bruciatura elettronica (Burn Circuit) degli orifizi di conteggio, al termine di ogni ciclo analitico, per prevenire la formazione di eventuali depositi proteici.
- ❖ L'utilizzo del detergente Coulter Clenz a base enzimatica per la rimozione dei depositi proteici, provvede a mantenere operativi i capillari e la fluidica del sistema.
- ❖ Ago campionatore autopulente.
- ❖ Sistema automatico di lavaggio in controcorrente di tutta la parte fluidica, al termine di ogni ciclo analitico, per la prevenzione del Carryover.
- ❖ Procedure di inizio routine (Start up) e di lavaggio a fine routine (Shutdown) completamente automatiche.
- ❖ Le valvole e i tubi sono di forma e materiali particolari per prevenire problemi di incollamento e rapida usura.
- ❖ È presente una sonda di aspirazione separata per l'introduzione della soluzione disinfettante.

OPZIONI DISPONIBILI

- Collegamento a Hematology Manager, software di gestione dei dati di ematologia.
- Integrazione con software VALAB, sistema di validazione esperta dei referti ematologici.
- Possibilità di partecipare a titolo gratuito al Programma Controllo di Qualità Interlaboratorio.