

ANALIZZATORE EMATOLOGICO COULTER A^C•TTM 5diff AL

CARATTERISTICHE GENERALI

Coulter A^C•T 5diff AL è un analizzatore ematologico automatico per uso diagnostico in vitro, in grado di effettuare l'analisi di 26 parametri ematologici incluso lo screening di formula leucocitaria a cinque popolazioni con campionatore integrato, lettore barcode e sistema gestionale dedicato.



PARAMETRI DETERMINATI

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

1. Conteggio totale dei Globuli Bianchi (WBC) x 10³/μL
2. Conteggio totale dei Globuli Rossi (RBC) x 10⁶/μL
3. Concentrazione di Emoglobina (Hgb) g/dL
4. Ematocrito (Hct) %
5. Volume cellulare medio (MCV) fL
6. Contenuto cellulare Medio di Emoglobina (MCH) pg
7. Concentrazione Cellulare Media di Emoglobina (MCHC) g/dL
8. Ampiezza della distribuzione volumetrica degli Eritrociti (RDW) %
9. Conteggio totale delle Piastrine (Pit) x 10³/μL
10. Volume medio piastrinico (MPV) fL
11. Piastrinocrito (Pct) %
12. Ampiezza della distribuzione volumetrica delle piastrine (PDW) %
13. Linfociti in percentuale (LI %)
14. Monociti in percentuale (MO %)
15. Neutrofilii in percentuale (NE %)
16. Eosinofili in percentuale (EO %)
17. Basofili in percentuale (BA %)
18. Cellule immature in percentuale (IMM %)
19. Linfociti atipici in percentuale (ATL %)
20. Linfociti in numero assoluto (LI #)
21. Monociti in numero assoluto (MO #)

22. Neutrofili in numero assoluto (NE #)
23. Eosinofili in numero assoluto (EO #)
24. Basofili in numero assoluto (BA #)
25. Cellule immature in numero assoluto (IMM #)
26. Linfociti atipici in assoluto (ATL #)

CADENZA ANALITICA E PROFILI ANALITICI

Il sistema Coulter A^C•T 5diff AL dispone di 2 profili analitici liberamente selezionabili e con **Accesso Random**. Il consumo dei reattivi è diversificato in relazione ai parametri richiesti permettendone l'ottimizzazione dei consumi.

I profili selezionabili e la rispettiva produttività analitica sono I seguenti:

- **CBC** analisi di 12 parametri senza formula leucocitaria 80 campioni/ora
- **CBC+ Diff** analisi di 26 parametri con formula leucocitaria 80 campioni/ora

È inoltre disponibile l'analisi e la refertazione di **Concentrato Piastrinico**.

MODALITÀ DI CAMPIONAMENTO

Le modalità di aspirazione del campione previste sono le seguenti:

1. Aspirazione da provetta chiusa con caricamento in automatico
2. Aspirazione da provetta chiusa con caricamento in manuale
3. Aspirazione da provetta aperta con caricamento in manuale

Il sistema è provvisto di un **campionatore automatico** incorporato, ad alimentazione in continuo, in grado di ospitare fino a 10 cassette da 10 campioni ognuna per un totale di **100 campioni** nella zona di carico e 100 campioni nella zona di scarico.

Il sistema esegue **automaticamente l'agitazione del campione** per inversione completa come richiesto dall'ICSH.



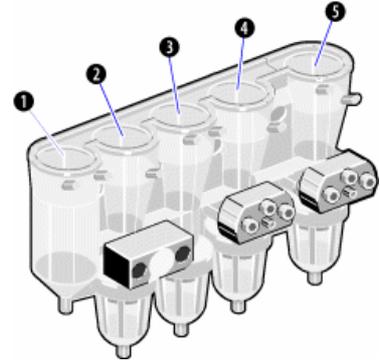
Il **caricamento manuale** utilizza **2 campionatori con 8 posizioni** diverse in grado di accogliere ogni tipo di provetta e/o fiala per soddisfare ogni tipo di esigenza dell'utilizzatore.

Questa modalità di campionamento può risultare particolarmente utile nell'analisi di campioni urgenti, o pediatrici.

Ad ogni ciclo di analisi, il sistema provvede automaticamente al lavaggio interno ed esterno della sonda di aspirazione.

1. PREPARAZIONE DELLE DILUIZIONI SEQUENZIALI

Le diluizioni di sangue intero sono preparate con la massima accuratezza mediante **tecnologia SDS, Sistema a Diluizioni Sequenziali**. Lo strumento provvede ad aliquotare direttamente dalla sonda di aspirazione le specifiche quantità di sangue intero previste per le analisi, preparando automaticamente le diluizioni nelle rispettive camere di diluizione con gli opportuni reagenti dedicati, Per entrambi i profili (CBC e CBC/DIFF) le aliquote di campione vengono erogate nel bagno appropriato usando un flusso tangenziale di reagente che miscela il campione diluito e riduce al minimo i problemi di viscosità.



2. CONTEGGIO E DIMENSIONAMENTO DI GLOBULI ROSSI E PIASTRINE

Il sangue intero, diluito con la soluzione A^C•T 5diff Diluent, viene inviato nella camera di lettura RBC/Plt per il **conteggio e il dimensionamento di Globuli Rossi e Piastrine utilizzando il Principio Impedenziometrico Coulter**.

Tale principio di analisi consente di contare e dimensionare le cellule sospese in una soluzione conduttiva, rilevando la variazione di impedenza provocata dal loro passaggio attraverso un apposito orifizio della camera di lettura. Ogni cellula sospesa nel diluente agisce da isolante del campo elettrico e attraversando l'orifizio di lettura produce un impulso elettrico che viene registrato e analizzato dallo strumento.

Il numero di impulsi rilevati in un determinato periodo di tempo è proporzionale al numero di cellule presenti nella soluzione, mentre l'ampiezza di ciascun impulso è proporzionale al volume della cellula che lo ha generato.

Per ciascun campione Coulter A^C•T 5diff AL esegue un doppio conteggio della diluizione RBC/Plt e provvede ad un confronto statistico tra i due conteggi effettuati, a garanzia dell'accuratezza di analisi.

L'analisi dimensionale degli impulsi consente l'opportuna classificazione delle cellule e la costruzione delle curve di distribuzione volumetriche.

La **tecnologia "Pulse Edit Circuit"** adottata da Coulter A^C•T 5diff AL verifica e corregge gli impulsi per una più accurata analisi dei volumi cellulari.

Gli impulsi compresi tra 30 fL e 300 fL sono classificati come Globuli Rossi, e distribuiti volumetricamente in un istogramma a 256 canali con una risoluzione per canale pari a 1,05 fL.

Gli impulsi compresi tra 2 fL e 30 fL sono invece classificati come Piastrine, e distribuiti volumetricamente in un istogramma a 256 canali con una risoluzione per canale pari a 0,11 fL.

Un sistema di soglie mobili sulle curve di distribuzione volumetriche consente un'ottimale separazione dei Globuli Rossi dalle Piastrine, anche in presenza di microciti o elementi interferenti (frammenti cellulari, aggregati piastrinici ecc..).

L'analisi interpretativa delle curve di distribuzione effettuata automaticamente da Coulter A^C•T 5diff AL consente di generare segnalazioni di anomalità e sospetto in caso di campioni con anomalie di distribuzione cellulari.

Lo strumento può essere configurato per consentire al software di classificare il campione come "**Concentrato Piastrinico**" sulla base del valore di Hgb e della conta piastrinica.

Il risultato PLT viene quindi segnalato tramite i limiti del range lineare e di refertazione estesi: un allarme "C" apparirà accanto al risultato PLT e il messaggio "**Concentrato PLT**" nella sezione allarmi e messaggi.

3. PRINCIPIO DI MISURA DELLA CONCENTRAZIONE DI EMOGLOBINA

La concentrazione di **emoglobina viene determinata con metodo spettrofotometrico** a una lunghezza d'onda di 550 nm con l'impiego del reagente A^C•T 5diff Hgb Lyse che trasforma l'emoglobina in un pigmento stabile, la cianmetaemoglobina. Un raggio di luce bianca, con lunghezza d'onda pari a 550 nm., viene fatto passare attraverso l'apposita cella di lettura. La quantità di luce assorbita dal campione in esame è direttamente proporzionale alla sua concentrazione di emoglobina.

4. CONTEGGIO DEI GLOBULI BIANCHI E PRINCIPIO DI ANALISI DELLA FORMULA LEUCOCITARIA A CINQUE POPOLAZIONI

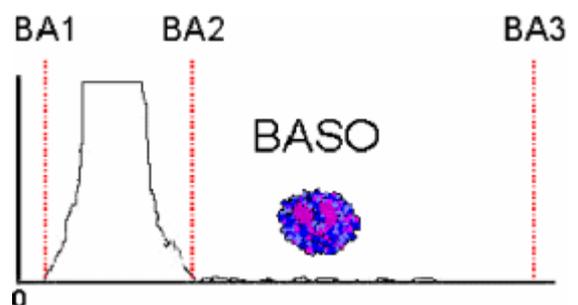
Per il conteggio dei Globuli Bianchi e l'analisi di formula leucocitaria a cinque popolazioni, Coulter A^C•T 5diff AL utilizza due specifici canali di lettura:

1. Canale WBC/BASO: per il conteggio contemporaneo dei Globuli Bianchi totali e dei Granulociti Basofili
2. Canale WBC DIFF: per la differenziazione di formula leucocitaria

4.1. CANALE WBC/BASO

Nel canale WBC/BASO, ad una aliquota di sangue intero viene aggiunto il reagente Coulter A^C•T 5diff Lyse che, ad una temperatura stabilizzata di 35°C, lisa completamente i globuli rossi e provoca una lisi differenziale dei Globuli Bianchi. I Granulociti Basofili hanno una maggiore resistenza alla lisi rispetto alle altre popolazioni leucocitarie, e rimangono volumetricamente più grandi rispetto agli altri elementi cellulari.

Per il **conteggio e il dimensionamento delle cellule, viene utilizzato il Principio Impedenziometrico Coulter**: al passaggio di ogni cellula attraverso l'orifizio della camera di lettura si genera un impulso la cui ampiezza è proporzionale al volume della cellula che lo ha prodotto.



L'analisi dimensionale degli impulsi consente l'opportuna classificazione delle cellule e la costruzione delle curve di distribuzione volumetrica WBC/BASO.

Con un sistema di soglie volumetriche, lo strumento separa gli impulsi prodotti dai frammenti dei Globuli Rossi lisati dagli impulsi generati dai Globuli Bianchi.

I Basofili, rimasti volumetricamente più grandi per la maggiore resistenza all'azione del lisante specifico, producono impulsi di dimensioni maggiori rispetto agli altri Globuli Bianchi. In tal modo lo strumento riesce a contare i granulociti Basofili, differenziandoli dai Globuli Bianchi totali.

Per ciascun campione Coulter A^C•T 5diff AL esegue un doppio conteggio della diluizione WBC/BASO e provvede ad un confronto statistico tra i due conteggi effettuati, a garanzia dell'accuratezza di analisi.

L'analisi interpretativa della curva di distribuzione WBC/BASO effettuata automaticamente da Coulter A^C•T 5diff AL consente di generare segnalazioni di anomalità e sospetto in caso di distribuzioni cellulari particolarmente anormali.

4.2. CANALE WBC DIFF

Nel canale di lettura WBC DIFF viene eseguita l'analisi differenziale della Formula Leucocitaria, impiegando due principi di analisi combinati: **Assorbanza di Luce** dopo **colorazione citochimica** delle cellule e **Principio Impedenziometrico Coulter**. Questi due principi di analisi sono meglio definiti e riassunti con il termine **Tecnologia di Analisi A^CV**.

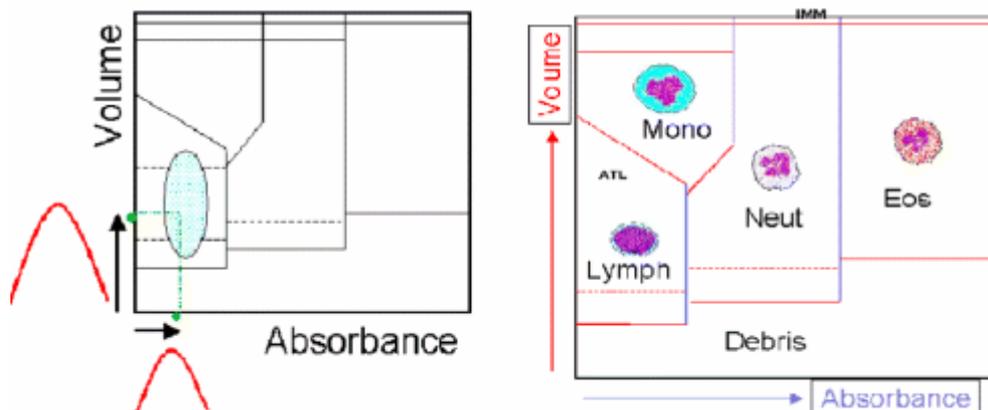
Una specifica aliquota di sangue intero viene miscelata con il colorante citochimico A^C•T 5diff Fix e quindi stabilizzata con il diluente A^C•T 5diff Diluent, alla temperatura costante di 35 °C.

Questa reazione provoca la lisi dei globuli rossi, preserva le dimensioni originali dei leucociti e colora in modo differenziato i granuli dei monociti, dei neutrofili e degli eosinofili. I granuli degli eosinofili si distinguono per la colorazione più intensa. I linfociti rimangono non colorati.

Le cellule contenute nella miscela di reazione sono fatte passare in una specifica cella di lettura, mediante un Flusso Idrodinamico a Doppia Focalizzazione (Tecnologia DFF).

Una prima guaina fluidica focalizza il campione attraverso l'orifizio impedenziometrico per il dimensionamento volumetrico delle cellule con il Principio Impedenziometrico Coulter.

Una seconda guaina fluidica focalizza le cellule (in uscita da suddetto orifizio) a passare attraverso una finestra ottica, dove le cellule sono esposte ad una sorgente di luce emessa



da una lampada alogena al tungsteno. Il sistema misura così su ciascuna cellula la quantità di luce assorbita dal colorante citochimico che si è fissato, ottenendo informazioni in merito al suo contenuto cellulare (quantità e tipo di granulazioni primarie, contenuto e dimensione nucleare).

Tali informazioni, unite al dimensionamento volumetrico delle cellule eseguito con metodo impedenziometrico Coulter, consentono al sistema Coulter A^C•T 5diff AL di separare in modo ottimale le seguenti popolazioni leucocitarie: Linfociti, Monociti, Neutrofili, Eosinofili. Le popolazioni leucocitarie sono visualizzate nel grafico DiffPlot.

L'analisi interpretativa del grafico DiffPlot effettuata automaticamente da Coulter A^C•T 5diff AL consente di generare segnalazioni di anormalità e sospetto in caso di distribuzioni cellulari anomale, o in caso di presenza di cellule immature o atipiche. Due aree distinte del grafico DiffPlot consentono di separare e contare tali sottopopolazioni: ATL (Linfociti Atipici) e IMM (cellule Immature).

SISTEMA DI GESTIONE – SPECIFICHE TECNICHE DELL'HARDWARE

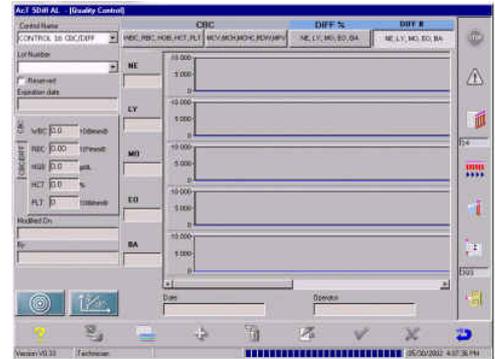
- ◆ Personal Computer
- ◆ Microprocessore Pentium 4 1,6 GHz
- ◆ Piattaforma operativa Windows NT
- ◆ 128 MB di memoria RAM
- ◆ 20 GB Hard Disk
- ◆ Scheda grafica VGA ad elevata risoluzione
- ◆ Drive floppy disk da 3,5" 1.44 MB
- ◆ CD Rom
- ◆ Monitor a colori 15"
- ◆ Interfaccia utente: tastiera, mouse
- ◆ Laser Printer

SISTEMA DI GESTIONE – CARATTERISTICHE DEL SOFTWARE

- ◆ Identificazione del paziente tramite: Patient ID, Sample ID o numerazione progressiva sequenziale
- ◆ **Programmazione di Liste di Lavoro** tramite l'inserimento di informazioni riguardanti le generalità del campione (sesso, età, reparto, eventuali commenti, ecc.) oppure tramite ricezione da Host Computer
- ◆ Possibilità di programmare i campioni secondo il test richiesto
- ◆ Possibilità di selezionare il **Rerun automatico** per flag, risultati e limiti paziente.
- ◆ Possibilità di abilitare la funzione per il **Concentrato Piastrinico** con **linearità estesa**
- ◆ **Database** in grado di memorizzare **10.000 risultati** inclusi istogrammi e Diffplot



- ◆ **Ricerca automatica** dei campioni in memoria **per nome del paziente** o identificativo **(ID) paziente**.
- ◆ **20 range di normalità**, di cui 8 range di default, differenziati in base a sesso ed età del paziente, e 12 programmabili dall'operatore
- ◆ Impostazione dei valori di riferimento dei controlli e del calibratore tramite l'utilizzo di floppy disk
- ◆ **20 range di azione** programmabili con messaggi interpretativi
- ◆ **24 file di archiviazione dei controlli di qualità** (12 per CBC + 12 per CBC/DIFF) da 100 posizioni ognuno, con la visualizzazione dei grafici Levey-Jennings
- ◆ Programma di **Calibrazione automatica** con l'uso di specifico sangue di calibrazione
- ◆ Programma di verifica automatica della **Riproducibilità e del CarryOver**
- ◆ Unità di misura selezionabili tra 5 diversi formati
- ◆ Possibilità di configurare **3 diversi profili di referto** compresi di dati anagrafici
- ◆ Possibilità di interfaccia seriale di tipo RS 232 per collegamento al Sistema Informatico del Laboratorio con modalità bidirezionale
- ◆ **Presenza del diario di bordo** che consente di monitorare on line i reagenti, gli startup, le calibrazioni, l'elenco degli errori e delle manutenzioni.
- ◆ Manuale per l'operatore presente nel software con possibilità di visionarlo e/o stamparlo
- ◆ Penna ottica (opzionale) per la lettura dei codici a barre dei campioni caricati manualmente



REFERTAZIONE DEI RISULTATI

I risultati sono stampati da Coulter A^C•T 5diff AL secondo tre formati di referto personalizzabili a scelta del laboratorio.

I referti selezionabili possono avere le seguenti caratteristiche:

- ◆ Dati numerici, unità di misura e range di riferimento dei 26 parametri ematologici
- ◆ Dati numerici, unità di misura, range di riferimento, grafico Diffplot di distribuzione delle popolazioni leucocitarie, istogramma di distribuzione volumetrica dei Granulociti Basofili e WBC Totali, dei Globuli Rossi e delle Piastrine
- ◆ Dati numerici, unità di misura, range di riferimento, grafico Diffplot di distribuzione delle popolazioni leucocitarie, istogramma di distribuzione volumetrica dei Granulociti Basofili e WBC Totali, dei Globuli Rossi e delle Piastrine. Area per l'inserimento di commenti al referto e note cliniche di valutazione morfologica del campione in esame



REAGENTI

Coulter A^C•T 5diff AL utilizza i seguenti reagenti:

1. **Coulter A^C•T 5diff Diluent**, soluzione diluente, confezionato in tanica da 20 litri. Usato per la conta e la differenziazione delle cellule ematiche. È trasparente ed inodore.
2. **Coulter A^C•T 5diff Fix**, colorante citochimico usato per la lisi eritrocitaria e la fissazione leucocitaria e la colorazione dei granuli monociti, neutrofili ed eosinofili. Confezionato in bottiglia da 1000 ml, è una soluzione acquosa di colore blu scuro.
3. **Coulter A^C•T 5diff WBC Lyse**, usato per la lisi eritrocitaria ai fini della conta leucocitaria totale e per la differenziazione dei basofili polinucleati. Confezionato in bottiglia da 1000 ml, è una soluzione acquosa incolore.
4. **Coulter A^C•T 5diff Hgb Lyse**, per la determinazione della concentrazione di Emoglobina. Confezionato in bottiglia da 400 ml, è una soluzione acquosa trasparente
5. **Coulter A^C•T 5diff Rinse**, per il lavaggio della fluidica interna. Confezionato in bottiglia da 1000 ml è un liquido trasparente.

Tutti i reagenti (tranne il reattivo A^C•T 5diff Diluent) sono alloggiati all'interno dello strumento, in un apposito vano frontale.

Il volume dei reagenti è monitorato calcolando il consumo del singolo reagenti per ciclo analitico.

Specifici messaggi indicanti l'esaurimento appariranno per ogni reagente al momento opportuno. Lo strumento inoltre visualizza a display in tempo reale il volume residuo di ciascun reagente.



CONTROLLI E CALBRATORI

Per la verifica delle prestazioni di precisione e accuratezza strumentale, sono a disposizione i seguenti controlli e calibratori ematologici, dedicati al sistema Coulter A^C•T 5diff:

1. Controllo ematologico **Coulter A^C•T 5diff Control Plus** a 3 livelli analitici (Basso-Normale-Alto) con ampio range di valori per I parametri analizzati. Il prodotto è confezionato in fiale con tappo perforabile ed etichetta di codice a barre per l'identificazione positiva. L'inserimento dei valori attesi dei controlli viene effettuata automaticamente via software, tramite floppy-disk.
2. **Coulter A^C•T 5diff CAL**, calibratore ematologico con valori assegnati per I parametri ematologici che richiedono la calibrazione. Frequenza di calibrazione consigliata dal produttore: ogni sei mesi. Il prodotto è confezionato in fiale con tappo perforabile ed etichetta di codice a barre. L'inserimento dei valori attesi dei controlli viene effettuata automaticamente via software, tramite floppy-disk.

PROCEDURE DI MANUTENZIONE

Assenza completa di manutenzione ordinaria grazie a:

- ❖ Procedure di inizio routine (Startup) e di lavaggio a fine routine (Shutdown) completamente automatiche e programmabili dall'operatore. È inoltre selezionabile una procedura di lavaggio di tutta la parte fluidica, con frequenza programmabile in base alla routine giornaliera.