

Справ

КОМИТЕТ ПО ДЕЛАМ МЕР И ИЗМЕРИТЕЛЬНЫХ ПРИБОРОВ
ПРИ СОВЕТЕ МИНИСТРОВ СССР

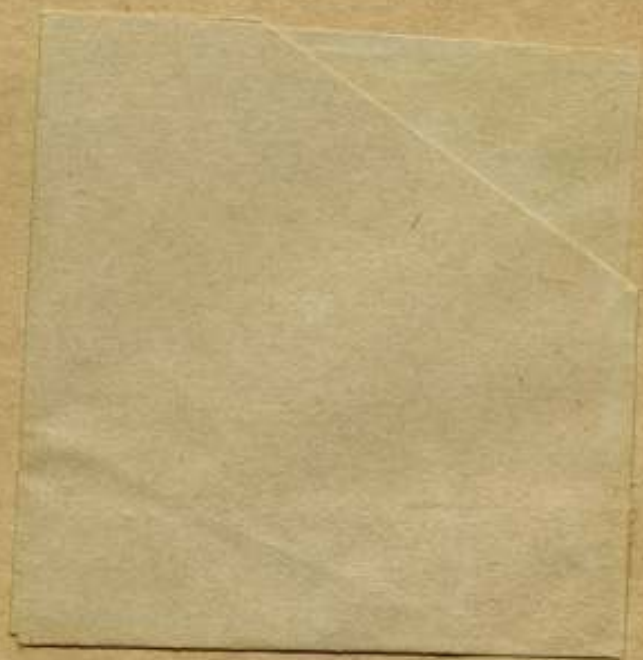
ВСЕСОЮЗНЫЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ИНСТИТУТ МЕТРОЛОГИИ им. Д. И. МЕНДЕЛЕЕВА

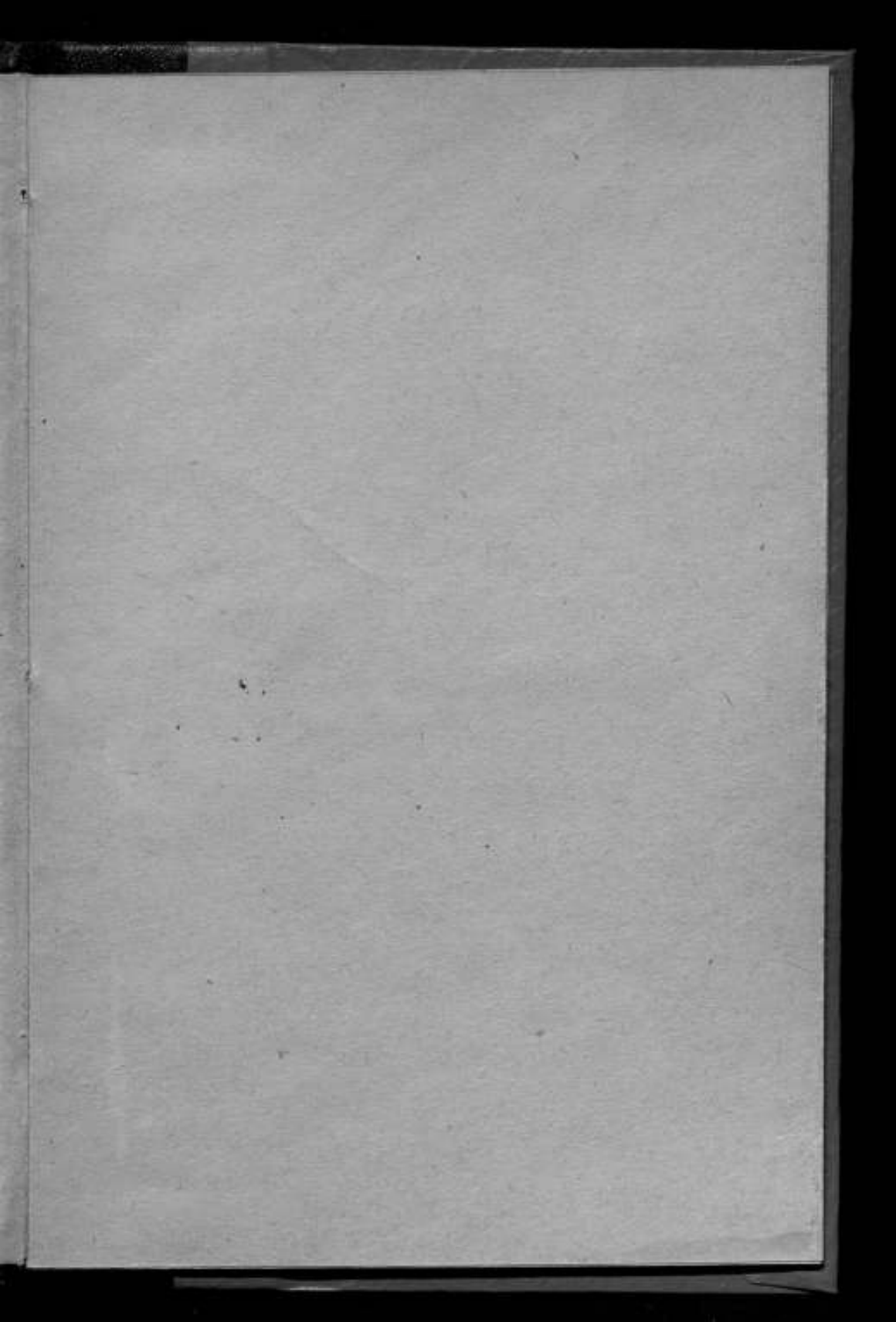
О ПОГРЕШНОСТЯХ МЕТОДОВ
И ПРИБОРОВ, ПРИМЕНЯЕМЫХ
ПРИ КЛИНИЧЕСКОМ ИССЛЕДОВАНИИ
КРОВИ

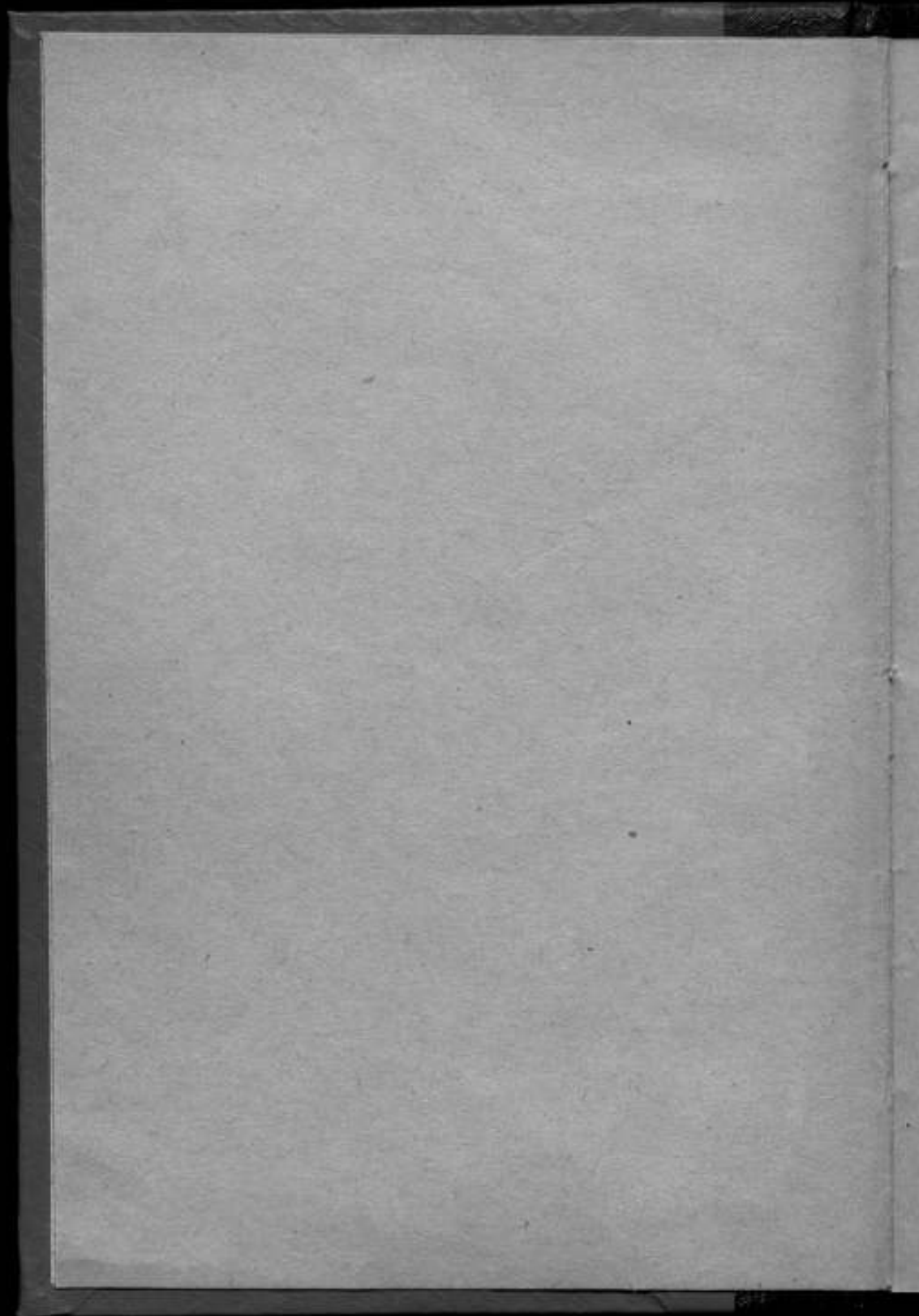
ТРУДЫ ВНИИМ

Выпуск 3(58)

ИЗДАНИЕ ВНИИМ
ЛЕНИНГРАД 1947







КОМИТЕТ ПО ДЕЛАМ МЕР И ИЗМЕРИТЕЛЬНЫХ ПРИБОРОВ
ПРИ СОВЕТЕ МИНИСТРОВ СССР

ВСЕСОЮЗНЫЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ИНСТИТУТ МЕТРОЛОГИИ им. Д. И. МЕНДЕЛЕЕВА

ТРУДЫ ВНИИМ

Выпуск 3(59)

75864

О ПОГРЕШНОСТЯХ МЕТОДОВ И ПРИБОРОВ, ПРИМЕНЯЕМЫХ ПРИ КЛИНИЧЕСКОМ ИССЛЕДОВАНИИ КРОВИ

*под редакцией
проф. С. В. Липина*



ИЗДАНИЕ ВНИИМ
ЛЕНИНГРАД 1947

ОТ РЕДАКТОРА

Клинический анализ крови нашел себе широкое применение в повседневной практике при диагностировании различных заболеваний. Однако недостаточная точность применяемых при этом методов и измерительных приборов не оправдывает огромного значения, которое имеют результаты этих анализов.

Нередко приходится слышать нарекания на расхождения в результатах анализа крови, полученных в разных лечебных учреждениях.

Во многих случаях эти расхождения обусловлены отсутствием унифицированной методики, в других случаях они вызваны погрешностью применяемых приборов.

Каждому лицу, работающему в области анализа крови, хорошо известно, например, что результаты определения гемоглобина зависят, с одной стороны, от промежутка времени между разбавлением крови соляной кислотой и разбавлением ее до цвета эталона, с другой же стороны, от примененного эталона.

В настоящем сборнике помещены две статьи, содержащие результаты экспериментального и теоретического исследования погрешностей, имеющих место при производстве клинического анализа крови.

Эти статьи имеют целью выяснение погрешностей методов и приборов, применяемых при анализе крови и тех мероприятий, которые могли бы повысить точность получаемых результатов.

О ПОГРЕШНОСТЯХ МЕТОДОВ И ПРИБОРОВ, ПРИМЕНЯЕМЫХ ПРИ КЛИНИЧЕСКОМ ИССЛЕДОВАНИИ КРОВИ

С. В. Липин

Вопрос о недостаточной точности результатов клинического анализа крови неоднократно находил свое отражение в специальной литературе по гематологии. Практические данные показывают, что во многих случаях между результатами анализов, произведенных в различных лабораториях, равно как и между результатами повторных анализов, наблюдаются весьма значительные расхождения. Между тем данные анализа крови являются в настоящее время одним из важнейших диагностических показателей.

В целях установления единообразия измерений в области народного здравоохранения, Комитетом по делам мер и измерительных приборов при Совете Министров СССР еще в 1943 году было поручено автору настоящей статьи обследование методов и приборов, применяемых при анализе крови. Это задание было выполнено автором во время пребывания его в Свердловске при ближайшем участии Областной клинической больницы, Физиотерапевтического института и 2-ой городской поликлиники. Результаты произведенного исследования изложены вкратце в настоящей статье.

В работе охвачены лишь те погрешности определений, которые связаны непосредственно с методикой измерений и с применяемыми при этом приборами, без учета физиологических факторов, могущих оказать влияние на результаты определений, как выходящих за пределы компетенции автора.

Из определений, производимых при анализе крови, в круг исследований вошли определение содержания гемоглобина, числа эритроцитов и лейкоцитов, цветного показателя и скорости оседания эритроцитов.

А. Определение гемоглобина

Результаты исследования точности определения гемоглобина по способу Сали, произведенного автором совместно с проф. М. Ф. Романовой и Н. А. Яковкиным изложены на страницах настоящего сборника.

Исследование показало, что при применении одного и того же эталона средняя квадратичная погрешность определения дости-

гает почти $\pm 4\%$ найденного содержания гемоглобина, а при применении разных эталонов — $\pm 7\%$. При содержании $70\% \text{Hb}^1$ это составляет $\pm 5\%$ *Hb*. Наибольшая погрешность может значительно превысить указанные величины. Этот результат хорошо согласуется с экспериментальными данными, приведенными в таблице 4.

В качестве рекомендуемых мероприятий нами предложено поверять пипетки и пробирки гемометров при выпуске из производства, установить единство применяемых эталонов и унифицировать методику определения гемоглобина.

Для приведения к единообразию эталонов, находящихся в обращении в сети лечебных учреждений Советского Союза нами предложено снабдить их специальными светофильтрами, поглощающими значительную часть видимого спектра. Применение подобных светофильтров сгладит бы одновременно и ту разницу, которая наблюдается между результатами определения гемоглобина, произведенными при дневном и при искусственном освещении.

Б. Определение числа эритроцитов

При определении числа эритроцитов имеют место следующие погрешности:

- а) погрешность разбавления крови в меланжере,
- б) погрешность определения объема, соответствующего квадрату сетки счетной камеры,
- в) погрешность счета эритроцитов.

Формулы для подсчета числа эритроцитов могут быть представлены в следующем общем виде:

$$x = \frac{nk}{5sh}$$

где n —число эритроцитов, подсчитанных в 5 больших квадратах сетки,

k —отношение вместимости меланжера от метки 0,5 или 1 до метки 101 к вместимости его до метки 0,5 или 1 соответственно,

s —площадь большого квадрата сетки камеры Тома-Цейсса,

h —высота в мм от сетки камеры до покровного стекла.

Нетрудно убедиться, что погрешности определения этих величин вызовут нижеследующие относительные частные погрешности результата:

$$\begin{aligned} \text{а) } \frac{\Delta x_k}{x} &= \frac{\Delta k}{k}; & \text{б) } \frac{\Delta x_s}{x} &= \frac{\Delta s}{s}; & \frac{\Delta x_h}{x} &= \frac{\Delta h}{h}; \\ \text{в) } \frac{\Delta x_n}{x} &= \frac{\Delta n}{n}, \end{aligned} \quad (1)$$

¹ Hb—условное обозначение гемоглобина.

где Δk , Δx , Δh и Δl обозначают погрешности определения соответствующих величин.

Для выяснения величины погрешности Δk была произведена поверка пяти меланжеров, взятых из упомянутых выше лечебных учреждений и три новых меланжера производства т-ва „Термометрист“ 1942 года. Результаты поверки приведены в таблице I. Поверка меланжеров произведена взвешиванием со ртутью в соответствии с инструкцией Комитета по делам мер и измерительных приборов. В таблице приведены отношения вместимости меланжеров от меток 0,5 и 1 до метки 101 к вместимости до меток 0,5 и 1 соответственно, то есть отношения:

$$k_{0,5}^{101} = \frac{v_{101} - v_{0,5}}{v_{0,5}} \quad \text{и} \quad k_1^{101} = \frac{v_{101} - v_1}{v_1}.$$

Вышеупомянутой инструкцией Комитета для отношения $k_{0,5}^{101}$ установлен допуск ± 8 , а для отношения k_1^{101} допуск ± 4 . Из таблицы I видно, что ни один из поверенных меланжеров, за исключением одного, не выходит за пределы допуска, установленного для разбавления в 100 раз, но три из них не проходят по допуску, установленному для разбавления в 200 раз, наиболее часто применяемому на практике.¹

Таблица I

Производство	Фабричный № или № пов.	$k_{0,5}^{101}$	Δk	k_1^{101}	Δk
Т-во „Термометрист“	159	203	+ 3	111	+11
„ „ 1937 г.	592	202	- 2	99	- 1
„ „ 1942 г.	3	206	+ 6	102	+ 2
„ „	12	212	-12	104	+ 4
„ „	13	212	-12	104	+ 4
Кустарное ВПК	5	212	-12	101	+ 1
„ „	9	193	- 7	99	- 1
Не указано	15	196	- 4	99	- 1

При соблюдении указанных допусков частная погрешность $\frac{\Delta x_s}{x}$ определения числа эритроцитов, обусловленная погрешностью меланжера, не будет превышать $\pm 4\%$. При норме в 5 мил.

¹ Необходимо отметить, что при насасывании крови до метки I и последующем разбавлении до метки 101 мы имеем разбавление в 101 раз, точно так же при насасывании крови до метки 0,5 и разбавлении до метки 101 имеет место разбавление в 202 раза. Однако ввиду незначительной разницы, для упрощения вычислений, можно принять разбавление соответственно равным 100 и 200.

лионов эритроцитов в 1 куб. мм крови это составит 200 000 эритроцитов.

Для выяснения влияния на результат определения точности нанесения сетки и размеров камеры были поверены две счетных камеры, применявшиеся в одном из упомянутых лечебных учреждений: камера импортного гемацитометра Бюркера №36265 и камера Горяева № 5270 производства оптико-стеклянного комбината в Ленинграде. Размеры сетки были поверены на универсальном микроскопе при увеличении в 30 раз с точностью до $\pm 0,003$ мм. Глубина камеры была поверена интерференционным методом. Результаты поверки показали, что для камеры Бюркера средняя для обеих сеток погрешность площади одного большого квадрата составляет 0,0006 кв. мм, а глубина камеры соответствует номинальной величине в пределах 0,7 микрона. Из этих данных имеем:

$$\frac{\Delta x_x}{x} = \pm \frac{0,0006}{0,0400} = \pm 0,015; \quad \frac{\Delta x_h}{x} = \pm \frac{0,0007}{0,1000} = \pm 0,007.$$

Для камеры Горяева измерение показало, что Δx_x составляет в среднем 0,0020 кв. мм а глубина камеры выдержана в пределах $\pm 0,3$ микрона, откуда

$$\frac{\Delta x_x}{x} = \pm \frac{0,0020}{0,0400} = \pm 0,050; \quad \frac{\Delta x_h}{x} = \pm \frac{0,0003}{0,1000} = \pm 0,003.$$

Что касается погрешности счета эритроцитов, то надо полагать, что при счете в 5 больших квадратах она не превышает 5 эритроцитов и, следовательно, при норме в 5 миллионов эритроцитов она обусловит частную погрешность результата:

$$\frac{\Delta x_n}{x} = \frac{\Delta n}{n} = \pm \frac{5}{500} = \pm 0,01.$$

В неблагоприятном случае, при суммировании всех упомянутых погрешностей и при применении счетной камеры Горяева, погрешность определения числа эритроцитов составила бы:

$$\frac{\Delta x}{x} = \pm \sqrt{\left(\frac{\Delta x_k}{x}\right)^2 + \left(\frac{\Delta x_x}{x}\right)^2 + \left(\frac{\Delta x_h}{x}\right)^2 + \left(\frac{\Delta x_n}{n}\right)^2} \quad (2)$$

или

$$\frac{\Delta x}{x} = \pm \sqrt{0,04^2 + 0,05^2 + 0,003^2 + 0,01^2} = \pm 0,065 = \pm 6,5\%.$$

При 5 миллионах эритроцитов эта погрешность составит $\pm 325\,000$ эритроцитов. Экспериментальные данные, приведенные в таблице 4, показывают, что расхождения в определении числа эритроцитов не выходят за пределы, соответствующие найденной погрешности.

В. Цветной показатель

В некоторых случаях клинической практики в качестве диагностического признака пользуются цветным показателем.

Цветной показатель вычисляют из соотношения:

$$\frac{Hb}{100} = \frac{n}{N},$$

где Hb — найденное содержание гемоглобина,

n — найденное число эритроцитов,

N — нормальное число эритроцитов.

Отсюда цветной показатель равен $\frac{Hb \cdot N}{100n}$.

Частные погрешности определения цветного показателя, обусловленные погрешностями определения гемоглобина Hb и числа эритроцитов n , будут соответственно равны $\frac{\Delta Hb}{Hb}$ и $\frac{\Delta n}{n}$, а погрешность определения цветного показателя в неблагоприятном случае составит:

$$\pm \sqrt{\left(\frac{\Delta Hb}{Hb}\right)^2 + \left(\frac{\Delta n}{n}\right)^2}.$$

При применении для определения гемоглобина различных эталонов и при найденной выше погрешности определения числа эритроцитов это составит:

$$\pm \sqrt{7,3^2 + 6,5^2} = \pm 9,8\%$$

от найденного значения цветного показателя. При цветном показателе, равном 0,80, это составляет $\pm 0,08$. Для случая, приведенного в таблице 4, расхождения даже превышают величину, соответствующую этой погрешности.

Из приведенных данных можно заключить, что цветной показатель не может служить сколько-нибудь надежным критерием в области диагностики.

Г. Определение числа лейкоцитов

При определении числа лейкоцитов имеют место те же погрешности, что и при определении числа эритроцитов. Для выяснения величины этих погрешностей и их влияния на результат определения служат данные поверки 10 меланжеров для лейкоцитов, приведенные в таблице 2, и результаты поверки счетных камер, приведенные выше.

Упомянутой выше инструкцией Комитета по делам мер и измерительных приборов для отношения вместимости меланжеров от метки 0,5 до метки 11 к вместимости его до метки 0,5 установлен допуск $\pm 0,8$, а для разбавления 1:10 — допуск $\pm 0,4$. Из приведенных данных видно, что, за исключением одного, все поверенные меланжеры лежат в пределах допуска, установлен-

Результаты поверки мезажеров для лейкоцитов

Производство	Фабричный № или № пов.	$K_{0,5}^{II}$	ΔK	K_1^{II}	ΔK
Лабормед	2293	20,7	+0,7	11,1	+1,1
Кустарное ВПК	2	20,9	+0,9	9,9	-0,1
.	4	21,9	+1,9	10,4	+0,4
НК	14	20,8	+0,8	9,8	-0,2
Т-во „Термометрист“	57	22,2	+2,2	10,1	+0,1
.	1942 г.	1	20,1	10,0	$\pm 0,0$
.	8	20,6	+0,6	9,7	-0,3
.	10	21,7	+1,7	9,8	-0,2
.	11	20,9	+0,9	9,9	-0,1
Рейхерт (Вена)	34117	20,8	+0,8	9,8	-0,2

ного для разбавления 1 : 10, но лишь четыре из них одновременно проходят и по допуску для разбавления 1 : 20.¹

Погрешность мезажеров, лежащая в пределах установленных допусков, обуславливает погрешность определения числа лейкоцитов, не превышающую те же 4⁰/₁₀₀, что и при определении числа эритроцитов. При содержании 7000 лейкоцитов в 1 куб. мм крови это составляет ± 280 лейкоцитов. Погрешность мезажера № 57, находившегося в обращении в одном из лечебных учреждений, вызвала погрешность определения числа лейкоцитов в 22%, что составляет при нормальном содержании их около 1500 лейкоцитов.

В камере Тома-Шейсса счет лейкоцитов ведут на площади равной 25 большим квадратам, в камере Бюркера и в камере Горяева — на площади 50 квадратов. Если обозначить через n число лейкоцитов, сосчитанных на этой площади, то формула расчета при разбавлении 1:20 будет иметь вид, аналогичный формуле для расчета числа эритроцитов, а именно — для камеры Тома-Шейсса:

$$x = \frac{nk}{25 sh} = \frac{n \cdot 20}{25 \cdot 16 \cdot 1/400 \cdot 1/10} = 200 n,$$

для камер Бюркера и Горяева:

$$x = \frac{nk}{50 sh} = 100 n.$$

¹ Необходимо отметить, что, как и при определении числа эритроцитов (см. сноску на стр. 5) принимают, что в мезажере для лейкоцитов кровь разбавляется в 20 и в 10 раз соответственно при насаживании ее до меток 0,5 или 1; в действительности же мы имеем разбавление в 22 и в 11 раз. Ввиду столь грубого округления, определение числа лейкоцитов может иметь лишь условный характер.

Относительная погрешность определения числа лейкоцитов в обоих случаях будет выражаться уравнением (2), а частные погрешности — уравнениями (1). Численные значения частных погрешностей $\frac{\Delta x_e}{x}$, $\frac{\Delta x_r}{x}$ и $\frac{\Delta x_n}{x}$ будут те же, что и при определении числа эритроцитов. Если принять, что относительная погрешность счета лейкоцитов (или эритроцитов) не зависит от рабочей площади сетки и попрежнему составляет 1%, то погрешность определения числа лейкоцитов будет иметь ту же величину, что и погрешность определения числа эритроцитов, то есть $\pm 6,5\%$ для камеры Горяева и $\pm 4,4\%$ для камеры Бюркера. При содержании 7000 лейкоцитов в 1 куб. мм крови это составит 450 и 300 лейкоцитов соответственно.

Однако правильнее принять, что абсолютная погрешность счета лейкоцитов растет не пропорционально числу их, а несколько медленнее и относительная погрешность счета их будет уменьшаться. В этом случае камеры с большей рабочей площадью сетки, например камеры Предтеченского, будут иметь преимущество, но влияние это будет незначительно и повысит точность определения числа лейкоцитов лишь в пределах десятых долей процента.

Данные, приведенные в таблице 4, в одном случае не укладываются в пределах найденной погрешности. По всей вероятности, это следует объяснить применением не поверенных мелажеров.

Само собою разумеется, что приведенные погрешности определения числа эритроцитов и числа лейкоцитов, установленные на основании немногочисленных наблюдений, не являются их точными значениями, но они вполне характеризуют порядок величины.

Д. Реакция оседания эритроцитов

Реакции оседания эритроцитов посвящено очень много работ. Большая часть из них касается однако биологической стороны реакции и вопросов диагностики. Значительная часть работ посвящена и вопросам лабораторной техники, но базируются они, главным образом, на клиническом материале. Тем не менее некоторые вопросы техники определения РОЭ получили освещение в этих работах.

Не касаясь влияния свойств и состава крови и физиологических факторов на результаты определения РОЭ, следует отметить влияние трех следующих факторов:

- а) природы вводимого антикоагулятора,
- б) температуры и
- в) формы и размеров капилляра Панченкова.

а) В некоторых клинических лабораториях вместо разбавления крови раствором лимоннокислого натрия применяют споласкивание капилляра антикоагулятором, пользуясь для этого щавелевокислым калием или другими веществами [2]. Если рассматривать систему эритроциты — плазма, как коллоидную

систему, то коагуляция, обуславливающая свертывание крови, должна происходить более или менее интенсивно в зависимости от температуры и среды и будет зависеть в сильной степени от присутствия того или иного антикоагулятора. Видоизмененные условия реакции должно приводить к нарушению единообразия результатов определения и делать их несравнимыми между собой. Этот вывод вполне подтверждается экспериментальным путем в работах Шмелева и Соколовой [3].

б) Влияние температуры на результат определения РОЭ отмечалось Балаховским, Граммом, Газельгорстом, Кригером и Калишом и другими [2]. По наблюдениям некоторых поликлиник в зимнее время при взятии крови у больного на дому и последующем определении в лаборатории наблюдаются неправильные результаты. В последнее время Пирогов и Ибрагимов [4] нашли, что связь между скоростью реакции оседания эритроцитов при температуре t и при 16° выражается уравнением:

$$v_{16} = v_t + 0,7(t - 16).$$

Эта формула может служить для приведения результатов определения РОЭ к одной и той же температуре (16°). Однако целесообразнее принять в качестве стандартной температуры 20° , узаконенную в СССР в качестве нормальной температуры при различных измерениях [5]. Это потребовало бы лишь пересчета коэффициента в приведенном уравнении.

в) Зависимость результатов определения РОЭ от диаметра капилляра была исследована Маневичем [6]. Он нашел, что при диаметре капилляра от 0,85 до 1,65 мм результаты определения лежат в пределах ~ 4 мм/час. При более узком капилляре реакция бывает замедленной.

Результаты определения РОЭ могут зависеть также и от правильности и равномерности сечения капилляра.

Для выяснения качества капилляров Паяченкова, применяемых в наших клиниках из лабораторий упомянутых выше учреждений были взяты три капилляра различного происхождения, дающие, по данным этих учреждений, удовлетворительные результаты определения. Все три капилляра были прокальброваны ртутью; кроме того у них была проверена равномерность шкалы и измерен внутренний диаметр обоих концов в двух взаимно перпендикулярных направлениях. Результаты измерений приведены в таблице 3.

Из данных, приведенных в этой таблице видно, что капилляры имеют достаточно постоянное сечение и шкала их весьма равномерна. Внутренний диаметр их лежит в пределах, указанных Маневичем, как обеспечивающих достаточное постоянство показаний. Сопоставление размеров диаметра капилляра с результатами калибровки их, приведенными в последней строке таблицы, показывает, что промер внутреннего диаметра капилляра с обоих концов обеспечивает достаточно постоянное сечение и, следовательно, для отбора капилляров для РОЭ может служить метод измерения внутреннего диаметра с помощью микроскопа, при-

Таблица 3.

Результаты проверки капилляров для РОЭ

Производство	Т-во „Термометрист“ 1942 г., № 247	Т-во „Термометрист“ 1936 г., № 274	Импортные
Средняя длина деления, в мм	0,939	1,002	1,002
Диаметр верхнего отверстия, в мм	1,06	1,09	1,07
Диаметр нижнего отверстия, в мм	1,07	1,10	1,10
Отношение среднего диаметра интервала к среднему диаметру всего капилляра	0,988—1,016	0,993—1,008	0,988—1,002

меняемый при сортировке капилляров для медицинских термометров.

В таблице 4 приведены результаты анализа крови, произведенного двум лицам одновременно четырьмя лабораториями различных лечебных учреждений.

Таблица 4

Лаборатория	2-й городской поликлиника	Областной клинической больницы	Физ.-тер. института	Донорской группы 2-й поликлиники
Объект	С. В. Л.			
Гемоглобин	71	79	73	80
Число эритроцитов	5 140 тыс.	4 440 тыс.	4 390 тыс.	—
Цветной показатель	0,69	0,89	0,83	—
Число лейкоцитов	5600	6400	5800	—
РОЭ	11	7	6	—
Объект	И. М. В.			
Гемоглобин	69	75	77	79
Число эритроцитов	4 580 тыс.	5 050 тыс.	—	—
Цветной показатель	0,75	0,74	—	—
Число лейкоцитов	5800	6600	5300	—
РОЭ	6	5	6	—

Как видно из этой таблицы, за исключением одного случая определения числа лейкоцитов и одного случая определения цветного показателя, приведенные результаты укладываются в пределах, соответствующих найденным выше погрешностям. Причина первого из этих расхождений лежит, повидимому, в применении не

поверенных меланжеров, во втором случае причина осталась не выясненной.

В заключение автор считает своим приятным долгом выразить свою благодарность доценту доктору Е. М. Ермиловой и докторам Д. И. Павлову и И. М. Великсон за оказанное содействие и помощь, а также сотрудникам Всесоюзного научно-исследовательского института метрологии Н. М. Рудо, И. Р. Лепину и А. В. Григорьевой за организацию и выполнение поверки исследованных приборов.

В ы в о д ы

Произведенное исследование привело автора к следующим практическим выводам:

1. В результатах анализов крови, повседневно производимых в лабораториях лечебных учреждений, отсутствует необходимое единообразие.

2. Причина отсутствия единообразия лежит, с одной стороны, в отсутствии унифицированной методики, с другой стороны в применении не поверенной измерительной аппаратуры.

3. Для установления этого единообразия необходимо:

а) унифицировать методику определения гемоглобина и стандартизовать гемометры Сали в соответствии с выводами цитированной выше работы автора совместно с проф. М. Ф. Романовой и Н. А. Яковкиным;

б) стандартизовать меланжеры для эритроцитов и для лейкоцитов, установив допуск на соотношение объемов в 4% как для разбавления 1:100, так и для разбавления 1:200;

в) унифицировать методику определения РОЭ и в первую очередь в отношении установления нормальной температуры и применяемого антикоагулятора и стандартизовать капилляры Панченкова, установив для них внутренний диаметр $1,0 \pm 0,1$ мм;

г) установить обязательную поверку гемометров Сали при их выпуске из производства;

д) повысить качество нанесения сетки в счетных камерах отечественного производства, не снижая достигнутой высокой точности соблюдения глубины камеры.

4. Вследствие больших погрешностей определения гемоглобина и числа эритроцитов и накопления этих погрешностей при вычислении цветного показателя, последний не может служить надежным критерием в диагностике.

Л и т е р а т у р а

1. С. В. Лилин, М. Ф. Романова и Н. А. Яковкин, О погрешностях определения гемоглобина по способу Сали, настоящий сборник стр. 13
2. Балаховский, Реакция оседания эритроцитов (1928).
3. Шмелев и Соколова, Лабораторная практика вып. 5, 14 (1940).
4. Пирогов и Ибрагимов, *Ibid.*, вып. 2, 19 (1941).
5. ОСТ 349.
6. Маневич, Лабораторная практика вып. 5, 16 (1940).

О ПОГРЕШНОСТЯХ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЕМОГЛОБИНА ПО СПОСОБУ САЛИ

С. В. Литин, М. Ф. Романова и Н. А. Яковкин

Определение гемоглобина в гемометре Сали получило в СССР и в некоторых других странах почти исключительное распространение. Достоинствами этого метода являются простота применяемой аппаратуры и быстрота определения. Однако по своей точности этот метод несомненно уступает методу сравнения цвета препарата крови с цветом эталона в колориметре Ньюкомера [1] и в колориметрах других систем [2]. В последние годы вместо визуального метода сравнения окраски начали применять фотоколориметрический метод [3].

Недостаточная точность определения гемоглобина по методу Сали неоднократно отмечалась в специальной отечественной и иностранной литературе. Расхождения между результатами определений, произведенных в различных лечебных заведениях, достигают 10, а в некоторых случаях и 20% *Hb*. Замена гемометров Сали более совершенным прибором при наличии огромной сети лечебных учреждений в СССР, потребовала бы много времени и больших затрат. Между тем большое значение определения гемоглобина в клинической диагностике является общепризнанным и имело особое значение в условиях военного времени.

Настоящая работа имеет задачей исследование источников погрешностей, имеющих место при определении гемоглобина по методу Сали и изыскание методов их устранения в целях установления единообразия получаемых результатов.

Определение гемоглобина по методу Сали основано, как известно, на образовании солянокислого гематина при смешении крови с разбавленной соляной кислотой и на последующем колориметрическом определении его путем разбавления полученного раствора до цвета эталона.

Анализ методики определения гемоглобина в крови показывает, что при выполнении этого определения могут иметь место следующие погрешности:

- а) погрешности, связанные с химизмом реакции образования солянокислого гематина,
- б) погрешности, связанные с измерительной аппаратурой,

- в) погрешность визуального сравнения окраски препарата крови с окраской эталона,
- г) погрешности, вводимые эталоном и
- д) случайные погрешности, вводимые при отборе и разбавлении крови, при отсчете по шкале пробирки и пр.

Погрешности, связанные с химизмом реакции

Погрешности, связанные с химизмом реакции образования солянокислого гематина, обусловлены двумя факторами, которым на практике уделяют недостаточно внимания.

Первым из этих факторов является промежуток времени между смешением крови с соляной кислотой и ее разбавлением до цвета эталона. Реакция образования солянокислого гематина протекает в течение некоторого промежутка времени, постепенно замедляясь по мере образования гематина и уменьшения концентрации непрореагировавшего гемоглобина. По Ньюкомеру [1] поправка на неполноту развития окраски гематина может быть вычислена в процентах найденного содержания гемоглобина по формуле:

$$\xi = \frac{40}{100t}$$

где t — время в минутах, прошедшее после смешения крови с соляной кислотой.

Таким образом, например, при содержании $Hb = 70\%$ по прошествии 10 минут $\xi = 0,04$, и поправка составляет $0,04 \times 70 = +2,8\% Hb$. Следовательно, чем больше промежуток времени между смешением крови с соляной кислотой и ее разбавлением, тем интенсивнее окраска солянокислого гематина и тем выше найденное содержание гемоглобина. Это вполне подтверждается спектрофотометрическими данными, приведенными ниже. Спектральная кривая препарата крови двухдневной давности имела тот же вид, что и для свежего препарата, но лежала на всем протяжении значительно выше. Поэтому разбавление препарата крови до цвета эталона следует производить через промежуток времени, на который рассчитан применяемый эталон. Однако, как мы убедились, на практике это не всегда соблюдают и разбавляют препарат через промежутки времени от 5 минут до 1 часа.

Вторым химическим фактором является состав жидкости, служащей для разбавления препарата крови до окраски эталона. Иногда вместо дистиллированной воды для этого применяют разбавленную соляную кислоту. Мессинен [4] приводит данные относительно развития окраски солянокислого гематина применительно к этому случаю.

Из сопоставления этих данных и вышеприведенных данных Ньюкомера видно, что скорость образования солянокислого гематина в обоих случаях не одинакова. Поэтому при применении

для разбавления препарата различными жидкостями, результаты определения гемоглобина через одинаковые промежутки времени все же несравнимы между собой.

Погрешности измерительной аппаратуры

В качестве измерительной аппаратуры при определении гемоглобина в гемометре Сали служат капиллярная пипетка для отбора крови, вместимостью в 20 куб. мм и пробирка гемометра.

Для выяснения погрешностей этих приборов и их влияния на результат определения из разных лечебных учреждений было взято по 5 пипеток и пробирок. Пипетки были поверены взвешиванием со ртутью, пробирки — взвешиванием с водой через каждые 10 делений шкалы. Результаты поверки приведены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1

Результаты поверки пипеток для отбора крови

Производство	Фабричный №	Вместимость в мм ³	Погрешность в мм ³
Т-во „Термометрист“ 1942 г.	20	19,6	-0,4
.....	23	19,0	-1,0
Не указано	214	17,3	-2,7
Т-во „Термометрист“ 1942 г.	144	19,7	+0,3
Импортная	—	19,8	+0,2

Из данных таблицы 1 видно, что относительная погрешность пипеток составляет от 1 до 5%, достигая в одном лишь случае 13,5% вместимости пипетки.

Погрешности пробирок, приведенные в таблице 2, относятся к вместимости их до соответствующего деления и выражены в куб. мм и в делениях шкалы с округлением до 0,1 деления. Из приведенных данных видно, что лишь у пробирки № 24 погрешность на протяжении всей шкалы не превышает одного деления. У пробирки № 47 и у импортной пробирки погрешность не превышает одного деления в интервале от 0 до 100, т. е. в интервале наиболее широкого применения. В остальных пробирках погрешности превышают указанную величину и в этом интервале.

Точность визуального сравнения интенсивности окраски препарата крови и эталона.

Для определения величины погрешности, происходящей при визуальном сравнении окраски раствора крови с окраской эталона, были произведены следующие опыты. Одним и тем же лаборантом (А. В. Яковенко, 2-я городская поликлиника) были произведены две серии определений гемоглобина у одного и того же лица — при дневном и при искусственном освещении по одному и тому же эталону (№ 382). После разбавления препа-

Результаты поверки вместимости пробирок гомеометров Сали

Деление шкалы	Номинальная вместимость в мл ^в	Т-во Термометр- рису 1042 г., № 24		Т-во Термометр- рису 1042 г., № 47		Неизвестного происхождения № 462		Неизвестного происхождения, без №		Импортир, без №	
		Погрешность	делений шкалы	Погрешность	делений шкалы	Погрешность	делений шкалы	Погрешность	делений шкалы	Погрешность	делений шкалы
10	200	+11,8	+0,6	+18,4	+0,9	+17,5	+0,9	+41,4	+2,1	-3,0	-0,2
20	400	± 0,0	± 0,0	+ 6,7	+0,3	± 0,0	± 0,0	+45,5	+2,3	+ 1,5	+0,1
30	600	- 3,1	-0,2	+ 9,4	+0,5	- 4,0	-0,2	+53,2	+2,7	+ 8,0	+0,4
40	800	- 4,9	-0,2	+14,1	+0,7	-10,5	-0,5	+53,9	+2,7	+ 4,5	+0,2
50	1000	- 3,4	-0,2	+ 5,4	+0,2	- 8,5	-0,4	+54,9	+2,7	+ 8,5	+0,4
60	1200	- 8,1	-0,4	- 1,2	-0,1	-24,0	-1,2	+54,4	+2,7	+ 7,5	+0,4
70	1400	- 5,4	-0,3	+ 9,1	+0,5	-28,0	-1,4	+54,2	+2,7	+ 9,0	+0,4
80	1600	- 4,8	-0,2	+ 9,1	+0,5	-39,5	-2,0	+58,9	+2,9	+17,5	+0,9
90	1800	- 2,5	-0,1	+18,8	+0,9	-46,0	-2,3	+63,8	+3,2	+15,0	+0,8
100	2000	- 3,3	-0,2	+20,5	+1,0	-54,5	-2,7	+71,3	+3,6	+18,4	+0,9
110	2200	- 5,1	-0,2	+29,9	+1,5	-62,5	-2,8	+76,5	+3,8	+24,0	+1,2
120	2400	+ 0,1	± 0,0	+37,6	+1,9	-59,5	-3,0	+83,1	+4,2	+21,0	+1,0
130	2600	+ 0,4	± 0,0	+38,5	+1,9	-67,0	-3,3	+84,1	+4,2	+33,0	+1,2
140	2800	+ 4,5	+0,2	+45,9	+2,3	-84,5	-4,2	+84,5	+4,2	+33,0	+1,0

Результаты определения гемоглобина у одного лица
Эталон № 382. Коэффициент пропускания эталона 50,7% J_0

№ определения	№ пробирки	Визуальные наблюдения в %	Содержание Hb, исправленное в %	±	Коэффициент пропускания	
					±	±
При дневном освещении						
1	47	64	67	+1,2	42,3	-0,3
2	24	60	63	-2,8	42,3	-0,3
3	47	62	65	-0,8	43,4	+0,3
4	24	63	66	+0,2	42,4	-0,7
5	47	65	68	+2,2	45,2	+2,1

Среднее $M = 65,8$

43,1

$$\sigma = \pm \sqrt{\frac{\sum p^2}{n-1}} = \pm 1,9\% \text{ Hb} \quad \pm 1,2\% J_0$$

$$D = \frac{100\sigma}{M} = \pm 2,9\% \quad \pm 2,8\%$$

При искусственном освещении						
1	24	70	73	+2,8	42,7	-0,6
2	24	67	70	-0,2	41,3	-2,0
3	47	65	68	-2,2	42,5	-0,8
4	24	69	72	+1,8	44,9	+1,6
5	47	65	68	-2,2	45,3	+2,0

Среднее $M = 70,2$

43,3

$$\sigma = \pm \sqrt{\frac{\sum p^2}{n-1}} = \pm 2,4\% \text{ Hb} \quad \pm 1,7\% J_0$$

$$D = \frac{100\sigma}{M} = \pm 3,3\% \quad \pm 4,0\%$$

рата крови до цвета эталона, каждый раз при помощи фотоэлемента был измерен коэффициент пропускания полученного раствора в монохроматическом свете ($\lambda = 600 \text{ м}\mu$).

В каждой серии было произведено по 5 определений, причем при разбавлении раствора шкала пробирки была повернута в сторону от наблюдателя. Отбор крови был произведен во всех случаях одной и той же пипеткой (№ 23), погрешность которой составляла—1,0 куб. мм т. е. 5% номинальной вместимости.

При определении служили пробирки №№ 24 и 47. Результаты определений приведены в таблице 3. В таблице помещены данные непосредственных наблюдений и результаты, исправленные на погрешность пипетки, составляющую 5% найденного содержания *Hb*. Погрешности пробирок в расчет не приняты, ввиду их незначительной величины.

В качестве критерия точности наблюдений нами вычислена средняя квадратичная погрешность ряда, указанная в таблице.

Из приведенных данных видно, что эта погрешность составляет около 2% *Hb* (по шкале Сали), причем при искусственном освещении она больше, чем при естественном свете. Кроме того результаты определения при искусственном освещении при применении упомянутого эталона на 5% *Hb* выше, чем при дневном свете. Несколько большая величина относительной погрешности *D* при оценке с помощью фотоэлемента, чем при визуальном отсчете при искусственном освещении, объясняется, по всей вероятности, недостаточным числом наблюдений.

Для суждения о точности визуального метода сравнения интенсивности окраски раствора крови и эталона может также служить ряд определений гемоглобина у разных лиц по тому же

Таблица 4

Результаты определения гемоглобина и коэффициента пропускания растворов у разных лиц

Эталон № 382. Коэффициент пропускания эталона 50,7% J_0

№ определения	Объект	Содержание <i>Hb</i> найденное в ‰	Содержание <i>Hb</i> исправленное в ‰	Коэффициент пропускания	
1	Л.К.К.	62	65	44,8	- 0,3
2	"	59	62	44,8	- 0,3
3	"	58	61	43,0	- 2,1
4	Н.Х.Р.	60	63	42,8	- 1,3
5	Т.Л.М.	61	64	45,6	+ 0,5
6	А.М.К.	60	63	46,7	+ 1,6
7	И.В.Д.	61	64	46,7	+ 1,6
8	М.Ф.Р.	50	52	46,2	+ 1,1
9	П.А.Я.	69	73	44,7	- 0,4

Среднее $M = 45,1$

$$\sigma = \pm \sqrt{\frac{\sum p^2}{n-1}} = \pm 1,3^0/\text{‰ } J_0$$

$$D = \frac{100\sigma}{M} = \pm 2,9^0/\text{‰}$$

эталоны и последующего фотометрического определения коэффициента пропускания раствора разбавленного до цвета эталона крови.

Результаты этих определений приведены в таблице 4. В этой таблице указано найденное содержание гемоглобина, содержание его, исправленное на погрешность пипетки, коэффициент пропускания раствора разбавленного до цвета эталона в % и результаты обработки последних данных.

Относительная погрешность D этого ряда наблюдений хорошо согласуется с результатами, приведенными в таблице 3 для определений, произведенных при дневном освещении. Необходимо отметить, что в найденную погрешность входят и другие случайные погрешности, упомянутые в п. д.

Таким образом, против ожидания оказалось, что визуальный способ определения интенсивности окраски растворов сравнением с эталоном оказался достаточно точным и мог бы удовлетворить требуемой на практике точности определения гемоглобина при отсутствии других источников погрешностей.

Влияние различных эталонов

Единообразие результатов определения гемоглобина в значительной степени нарушается отсутствием единства применяемых эталонов. Первоначально в качестве эталонов к гемометру Сали служили исключительно ампулы с раствором солянокислого гематина. Концентрация этого раствора, соответствующая нормальному содержанию гемоглобина, была установлена Сали равной 17,3 г в 100 мл раствора. Впоследствии эта концентрация была изменена различными авторами и составляет по Ньюкомеру — 16,92 г, по Вильямсону — 15,5 г по Бюркеру лишь 13,8 г в 100 мл раствора. В результате этого в обращении оказались эталоны с растворами различных концентраций. В СССР изготовляли в последнее время эталоны, содержащие 16,0 г солянокислого гематина на 100 мл раствора.

Растворы солянокислого гематина не стойки и постепенно выцветают. Это обстоятельство побудило искать замены стандартных растворов гематина другими эталонами. В качестве таковых стали применять импортные (преимущественно германские) стеклянные эталоны. Наряду с этим в СССР стали выпускать эталоны со стандартными растворами других веществ. Сюда относятся эталоны д-ра Панченкова, д-ра Павлова и др. В результате этого в лечебных учреждениях в обращении оказались различные по своему составу эталоны, частично недостаточно стойкие, частично же недостаточно проверенные, в результате чего отсутствует единая основа для определения гемоглобина.

Для выяснения влияния различных эталонов на результаты определения их в различных лечебных учреждений нами были взяты для исследования нижеследующие эталоны:

№№ 382, 105, 651, 48 и 784 — стандартные растворы неизвестного происхождения и состава, предположительно растворы

солянокислого гематина. Эталон № 382 — рабочий эталон одного из лечебных учреждений, остальные эталоны — вышедшие из употребления, вследствие их ненадежности.

№№ 269 и 289 — стандартные растворы производства кооперативного т-ва „Термометрист“ выпуска 1936 г.; предположительно это стандартные растворы д-ра Панченкова.

№ 669 — стандартный раствор д-ра Павлова, производства т-ва „Термометрист“; 5 минутный эталон.

№№ 58-2 и 68-2 — стандартные растворы того же производства выпуска 1942 г.

№ 5-Н — новый стандартный раствор д-ра Павлова проверенный им, но не переданный еще в производство; часовой эталон.

№№ 1 и 2 — стеклянные импортные эталоны.

Для сравнения этих эталонов между собой были изучены их спектральные кривые пропускания как функции длины волны в области 500—700 $m\mu$. Для получения этих кривых служила установка, состоящая из селенового фотозлемента чувствительностью в 350 mA/lm , зеркального гальванометра чувствительностью около 1×10^{-9} А/мм, монохроматора Фюсса с входной щелью шириной в 0,2 мм и выходной щелью в 0,3 мм и лампы накаливания в 96 W. В области вблизи 600 $m\mu$ применяемый метод обеспечивал точность в $\pm 1\%$. В областях вблизи 500 и 700 $m\mu$ — около $\pm 5\%$.

Коэффициент пропускания был определен как отношение отклонения гальванометра при прохождении света через эталон к отклонению в случае отсутствия его и выражен в процентах. Коэффициент пропускания определен для всех перечисленных

Таблица 5

Коэффициент пропускания эталонов и препарата крови как функция длины волны

λ	№№ эталонов											Препарат крови		
	382	105	651	48	784	269	289	659	58-2	68-2	†		2	5-Н
499	5,7	8,6	2,9	11,4	2,9	2,9	2,9	11,4	8,6	8,6	25,7	25,7	14,3	14,3
533	20,5	21,8	11,5	24,4	11,5	14,1	15,4	24,4	21,8	19,2	46,2	47,4	20,5	17,9
555	29,0	30,6	25,7	33,1	26,5	24,8	28,2	32,3	29,0	26,5	57,1	59,5	24,0	21,5
578	38,3	40,0	37,8	42,2	40,0	35,0	37,8	41,2	38,3	36,1	67,7	69,2	33,9	35,0
600	47,0	47,4	47,0	50,4	49,6	43,5	45,2	50,0	47,0	45,2	69,8	72,5	47,0	48,7
625	56,3	57,4	58,2	58,7	55,1	52,8	54,0	57,5	55,6	51,7	73,7	73,8	53,6	52,5
660	63,4	65,5	61,8	65,4	61,8	64,0	63,2	66,1	64,7	59,7	71,2	69,8	55,4	40,3
695	69,0	69,2	61,0	69,0	65,0	73,0	69,0	69,0	69,0	69,0	69,0	69,0	58,0	65,0

эталонов в 8 точках, соответствующих узким спектральным областям со средней длиной волны, указанной в таблице 5. Параллельно была определена спектральная кривая солянокислого

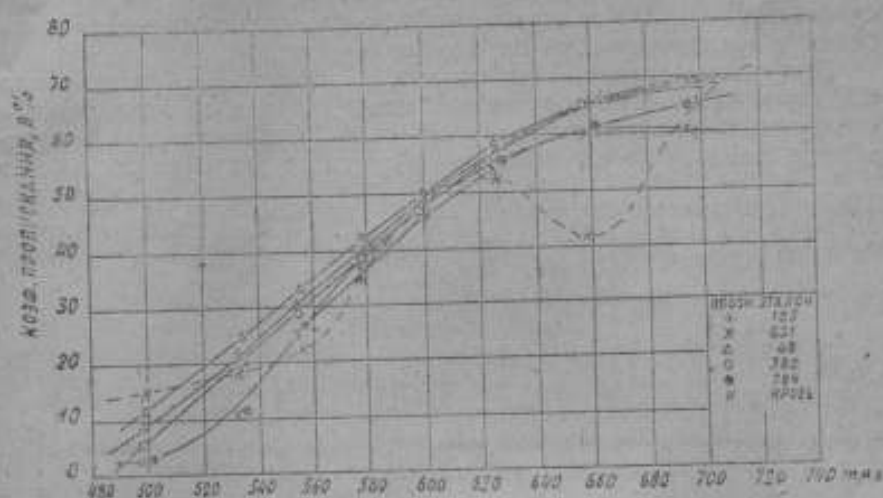


Рис. 1.

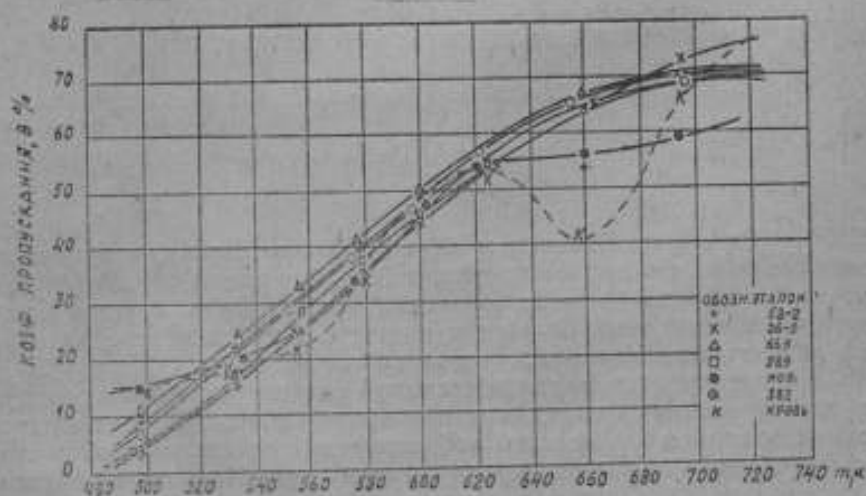


Рис. 2.

препарата крови. Полученные данные приведены в таблице 5 и изображены в виде кривых пропускания на рис. 1, 2 и 3.

На рис. 1 изображены кривые пропускания эталонов первой группы, содержащие предположительно растворы солянокислого

тематина, на рис. 2 — кривые пропускания эталонов д-ра Панчева, д-ра Павлова и одного из эталонов выпуска 1942 г. Наконец, на рис. 3 нанесены спектральные кривые стеклянных эталонов и второго эталона выпуска 1942 г. Кроме того на всех рисунках помещены для сравнения кривые пропускания эталона №382 и препарата крови двукратной давности.

При рассмотрении этих кривых видно, что в области около 600 $m\mu$ коэффициент пропускания всех эталонов, за исключением стеклянных, дежит в пределах 43—50 %, причем среднее квадратичное отклонение от некоторого среднего значения составляет

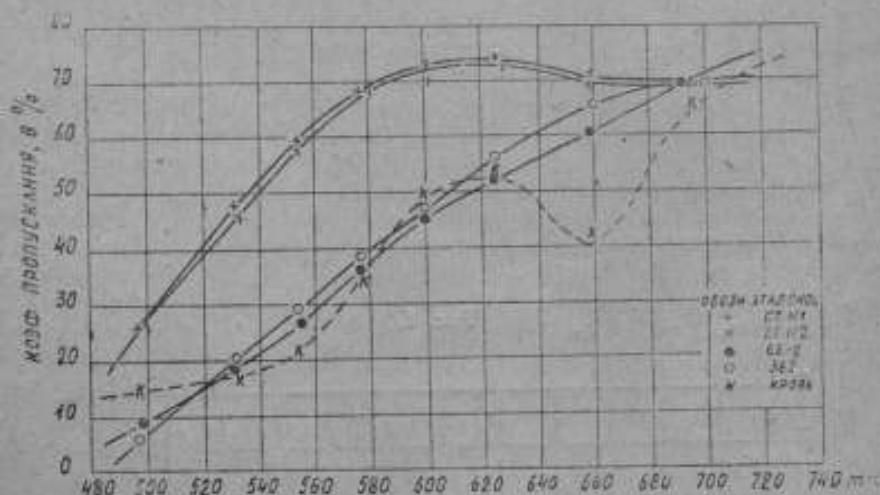


Рис. 3.

2,2 %. В областях близких к 500 и к 700 $m\mu$ разница в пропускании различных эталонов достигает 12 %, а в одном случае (№ 269) и 15 %. Однако в этих областях погрешность примененного метода значительно больше и может оказать заметное влияние на результаты измерений.

Кривые пропускания всех эталонов сильно расходятся со спектральной кривой пропускания препарата крови. Из всех жидкостных эталонов ближе всего воспроизводят спектральную кривую пропускания препарата крови эталон д-ра Павлова и эталоны № № 651 и 784. Однако в области вблизи максимума поглощения солянокислого гематина (659 $m\mu$) для эталона д-ра Павлова разница составляет 15 %, а для эталонов № 651 и 784 она достигает 21 %.

Кривая пропускания свежего препарата крови, разбавленного дистиллированной водой через 5 минут после смешения с соляной кислотой имеет тот же вид, но смещена на всем своем протяжении на 10 % ниже.

Для стеклянных эталонов в области 560—700 $m\mu$ кривые пропускания по своему внешнему виду довольно хорошо воспроизводят кривую пропускания крови, но они сдвинуты вверх относительно последней приблизительно на 10%. Это может быть обусловлено выцветанием стекол.

Переходя к анализу влияния отдельных погрешностей на результат определения гемоглобина, следует упомянуть, что это определение, как и всякое колориметрическое определение, основано на равенстве интенсивности света, проходящего через испытуемый раствор и через эталон (стандартный раствор), выражаемом уравнением:

$$J_0 e^{-A l c} = J_0 e^{-A l_x c_x},$$

где J_0 — интенсивность падающего света,
 A — коэффициент поглощения раствора,
 l — толщина слоя раствора,
 c — концентрация раствора солянокислого гематина,
 причем индексом x отмечены величины, относящиеся к исследуемому раствору. Из этого уравнения имеем:

$$A l c = A l_x c_x.$$

При применении в качестве эталона стандартного раствора солянокислого гематина и при одинаковом диаметре пробирки с исследуемым раствором и ампулы со стандартным раствором уравнение принимает вид:

$$c = c_x.$$

Концентрация раствора c пропорциональна количеству гемоглобина m и обратно пропорциональна объему раствора V :

$$c = k \frac{m}{V},$$

где k — множитель пропорциональности, а V выражено в условных единицах шкалы пробирки, откуда:

$$\frac{m_x}{V_x} = \frac{m}{V} \quad \text{и} \quad m_x = \frac{m V_x}{V}.$$

Погрешность определения солянокислого гематина и пропорционального ему количества гемоглобина будет равна:

$$\Delta m_x = \frac{m}{V} \Delta V_x.$$

Относительная погрешность определяется соотношением:

$$\frac{\Delta m_x}{m_x} = \frac{\Delta V_x}{V_x}, \quad \text{откуда} \quad \Delta V_x = \frac{\Delta m_x}{m_x} V_x, \quad (1)$$

следовательно, погрешность Δm_x , обуславливаемая погрешностью пипетки, вызовет погрешность определения гемоглобина ΔV_x .

Например, для пипетки № 24 $\frac{\Delta m_x}{m_x} = \frac{1}{20}$ и погрешность определения гемоглобина составит $\Delta V_x = \frac{1}{20} V_x$, т. е. 5% найденного содержания гемоглобина.

Влияние на результат определения концентрации солянокислого гематина находим следующим путем. Выше мы имели:

$$\frac{V_x}{V} = \frac{m_x}{m},$$

откуда для стандартных растворов различных концентраций получим:

$$\frac{V_{x1}}{V_1} = \frac{m_x}{m_1} \quad \text{и} \quad \frac{V_{x2}}{V_2} = \frac{m_x}{m_2}.$$

Но V_1 и V_2 — разбавление, соответствующее принятому нормальному содержанию гемоглобина m , следовательно, $V_1 = V_2 = V$. Тогда:

$$m_x = \frac{V_{x1}}{V} m_1 = \frac{V_{x2}}{V} m_2, \quad \text{или} \quad \frac{V_{x1}}{V_{x2}} = \frac{m_2}{m_1}. \quad (2)$$

Если вместо концентрации стандартного раствора гематина, равной 17,3 г, применять рекомендуемый Бюркером раствор, содержащий лишь 13,8 г в 100 мл, то в приводимом уравнении $m_1 = 17,3$, $m_2 = 13,8$ и

$$V_{x1} = \frac{m_2}{m_1} V_{x2} = \frac{13,8}{17,3} V_{x2} = 1,25 V_{x2},$$

т. е. при применении эталона по Бюркеру результат определения окажется на 25% выше, чем при стандартном растворе солянокислого гематина по Салв.

Уравнения (1) и (2) применимы лишь к стандартным растворам гематина. Для того чтобы установить влияние иных эталонов, необходимо найти связь между содержанием гемоглобина и коэффициентом пропускания эталона.

Для интенсивности проходящего света имеем выражение:

$$J = J_0 e^{-Alc}.$$

Из этого выражения получаем:

$$\frac{\partial}{\partial V} \left(\frac{J}{J_0} \right) = -Al \frac{\partial c}{\partial V} e^{-Alc},$$

но выше было принято, что $c = k \frac{m}{V}$, откуда $\Delta c = -km \frac{\partial V}{V^2}$. Под-

ставляя в последнее выражение $m = \frac{cV}{k}$, находим:

$$\Delta c = -\frac{c}{V} \Delta V \quad \text{или} \quad \frac{\Delta c}{c} = -\frac{\Delta V}{V}.$$

Подставляя это значение в найденное выше выражение для $\frac{\partial}{\partial V} \left(\frac{J}{J_0} \right)$, находим:

$$\frac{\partial}{\partial V} \left(\frac{J}{J_0} \right) = \frac{Akc}{V} e^{-Akc} = \frac{1}{V} \ln \left(\frac{J}{J_0} \right) e^{-Akc} = \frac{1}{V} \left(\frac{J}{J_0} \right) \ln \left(\frac{J}{J_0} \right),$$

откуда:

$$\Delta \left(\frac{J}{J_0} \right) = \frac{1}{V} \left(\frac{J}{J_0} \right) \ln \left(\frac{J}{J_0} \right) \Delta V$$

и

$$\frac{\Delta V}{V} = -\frac{1}{\ln \left(\frac{J}{J_0} \right)} \cdot \frac{\Delta \left(\frac{J}{J_0} \right)}{\left(\frac{J}{J_0} \right)}. \quad (3)$$

При $\frac{J}{J_0} = 0,5$ уравнение (3) принимает вид:

$$\begin{aligned} \frac{\Delta V}{V} &= -\frac{1}{\ln 0,5} \cdot \frac{\Delta \left(\frac{J}{J_0} \right)}{0,5} = -\frac{1}{\lg_{10} 0,5 \cdot \lg_{10} e} \cdot \frac{\Delta \left(\frac{J}{J_0} \right)}{0,5} = \\ &= 2,86 \Delta \left(\frac{J}{J_0} \right). \end{aligned} \quad (3a)$$

Подставляя в это уравнение приведенное выше значение среднего квадратичного отклонения исследованных эталонов $\Delta \left(\frac{J}{J_0} \right) = 0,022$, находим значение $\frac{\Delta V}{V} = 2,86 \times 0,022 = 0,0629$ или 6,3%. Принимая во внимание найденную выше погрешность визуального определения гемоглобина, составляющую при дневном свете 2,9%, находим, что разница в коэффициенте пропускания эталонов может обусловить относительную погрешность определения гемоглобина

$$\frac{\Delta Hb}{Hb} = \pm \sqrt{6,3^2 + 2,9^2} = \pm 6,9\%$$

При $Hb = 70\%$, это составит:

$$\Delta Hb = 0,069 \times 70 = 4,9\%.$$

В таблице 6 приведены результаты определения гемоглобина у одного и того же лица с 8 разными эталонами из числа исследованных и результаты определения коэффициента пропускания препарата, после разбавления до цвета соответствующего эталона.

Средняя квадратичная погрешность определения для жидкостных эталонов составляет $\pm 5,3\%$ Hb и хорошо согласуется с вычисленным значением ($\pm 4,9\%$). Средняя квадратичная погрешность определения коэффициента пропускания $\pm 1,7\%$ J_0 несколько выше приведенной в таблице 3.

Из таблицы 6 видно, что результаты определения гемоглобина при искусственном освещении выше, чем при дневном свете, что подтверждает данные таблицы 3. В противоречии с этим выводом находятся лишь результаты определения с эталоном №669, однако последнее связано, по всей вероятности, с ошибкой отсчета по шкале пробирки или с неточностью разбавления. Последнее предположение подтверждается большим расхождением коэффициента пропускания при двух повторных определениях.

Принимая, на основании данных таблицы 1, среднюю погрешность пипетки равной $0,5 \text{ мл}^3$, т. е. $2,5\%$ и относительную погрешность визуального определения при дневном свете равной $2,9\%$, находим, что средняя относительная погрешность определения гемоглобина при одном и том же эталоне, но при приме-

Таблица 6

Результаты определения гемоглобина с различными эталонами

№ эталона	Содержание Hb исправленное в %			Коэффициент пропускания в %		
	1	2	среднее	1	2	среднее
При естественном освещении						
382	74	73	74	38,9	41,8	40,4
651	70	82	65	38,2	40,1	39,2
784	63	69	66	39,5	37,9	38,7
669	76	79	78	42,2	43,7	43,0
58-2	68	69	68	41,8	42,3	42,0
289	65	67	66	39,2	41,5	40,4
5-Н	73	79	76	43,9	42,2	43,0
Стекл. 1	100	94	97	50,3	51,2	50,8
При искусственном освещении						
669	75	73	74	44,7	42,8	43,8
58-2	71	73	72	44,8	42,9	43,8
289	67	71	69	42,2	39,7	41,0

нении разных пипеток может быть равна:

$$\frac{\Delta Hb}{Hb} = \pm \sqrt{2,5^2 + 2,9^2} = \pm 3,8\%$$

а при применении разных эталонов:

$$\frac{\Delta Hb}{Hb} = \pm \sqrt{2,5^2 + 2,9^2 + 6,3^2} = 7,3\%$$

найденного содержания гемоглобина.

При содержании гемоглобина 70% в последнем случае это составит $0,073 \times 70 = \pm 5,1\%$ *Hb*.

Практика клинических исследований показывает, что в большинстве случаев результаты определения гемоглобина укладываются в эти пределы. Эти пределы хорошо согласуются также и с результатами специально поставленных определений гемоглобина, произведенных двум лицам одновременно четырьмя лабораториями:

Объект 1 и Объект 2

Свердловский физ.-терапевт. институт . . .	73%	77%
" Обл. клиническая больница . . .	79 .	75
Лаборатория 2-й городской поликлиники . . .	71 .	69
Донорская группа 2-й городской поликлиники	80 .	79

Теоретические исследования показали, что разница в диаметрах пробирки гемометра и ампулы со стандартным раствором также оказывает большое влияние на результат определения гемоглобина. Поэтому, ввиду технологических трудностей изменения формы ампулы и замены пробирок сосудом другой формы, на диаметр их должно быть обращено соответствующее внимание.

Практику клинических лабораторных исследований удовлетворяла бы воспроизводимость результатов определения гемоглобина в пределах 5%. Для достижения этих результатов необходимыми мероприятиями явилась бы стандартизация приборов, служащих для определения гемоглобина, и унификация применяемой методики определения. Первый из этих вопросов неоднократно подымался в иностранной, а в последние годы и в советской периодической литературе [5]. Однако на практике этим вопросам не уделялось должного внимания.

В качестве выводов настоящего исследования вытекают нижеследующие мероприятия, могущие обеспечить единообразие результатов определения гемоглобина.

1) Пипетки для отбора крови должны поверяться при выпуске их взвешиванием со ртутью, и для них должен быть установлен допуск на вместимость не более $\pm 1\%$, т. е. 0,2 куб. мм, соответствующий одному делению шкалы пробирки при нормальном содержании *Hb*.

В
у од
дова
преп
лона
С
стны
вычи
ност
выш
И
бина
что
водо
одна
счета
след
коэф
П
ности
греш
2,9%
лени

Р

№ 371

382
651
784
666
58-
289
5-1
Стек.

669
58-2
289

2) Поверке на вместимость должны подвергаться и пробирки гемометров, для которых погрешность по всей длине шкалы не должна превышать одного деления.

3) Внутренние диаметры пробирок гемометров и ампул со стандартным раствором должны быть одинаковы в пределах $\pm 0,1$ мм.

4) Для изготовления эталонов, ввиду недостаточной стойкости раствора солянокислого гематина, должен быть подобран раствор другого вещества, воспроизводящий с достаточной точностью спектральную кривую препарата крови. Коэффициент пропускания этого раствора должен выдерживаться с точностью, соответствующей относительной погрешности определения гемоглобина, не превышающей 1%. Эта точность определяется для

$\frac{J}{J_0}$ около 0,5 из формулы (3а):

$$\Delta\left(\frac{J}{J_0}\right) = 0,35 \frac{\Delta V}{V} = 0,35 \times 0,01 = \pm 0,004.$$

В качестве стандартного раствора мог бы быть взят раствор разработанный в последнее время д-ром Д. И. Павловым (Свердловская Областная клиническая больница).

5) Для установления единообразия измерений при помощи эталонов, находящихся в обращении в настоящее время, необходимо снабдить все гемометры Сали светофильтрами, поглощающими свет с длиной волны $\lambda < 580$ и $\lambda < 640$ м μ . Применение подобных светофильтров устранило бы в дальнейшем и разницу в результатах определения при дневном и искусственном свете.

6) Методика определения гемоглобина должна быть унифицирована, а применяемые гемометры стандартизованы.

В первую очередь должны быть унифицированы: а) промежуток времени между смешением крови с соляной кислотой и ее разбавлением и б) применяемая для разбавления жидкость (дистиллированная вода или разбавленная соляная кислота определенной концентрации).

Промежуток времени между смешением крови с соляной кислотой и ее разбавлением должен быть согласован с применяемыми эталонами и указан в свидетельстве, прилагаемом к каждому эталону.

Литература

1. Newsome, Journ. Biol. Chem., 37, 465 (1910); И о у. Фото-метрический химический анализ, т. 1, стр. 449.
2. Haden, Journ. Lab. Chim. Med., 16, 68 (1930); Tittel, Münch. Wschr., 80, 409 (1933).
3. Scheard a. Stanford, Journ. Lab. Chim. Med., 14, 558 (1928).
4. Месинев, Лабор. практика, вып. 5, 16 (1941).
5. Данилов, *Ibid.*, вып. 3, 91 (1940); Гавенко и Абрамов, *Ibid.*, вып. 10-11, 14 (1941).

СОДЕРЖАНИЕ

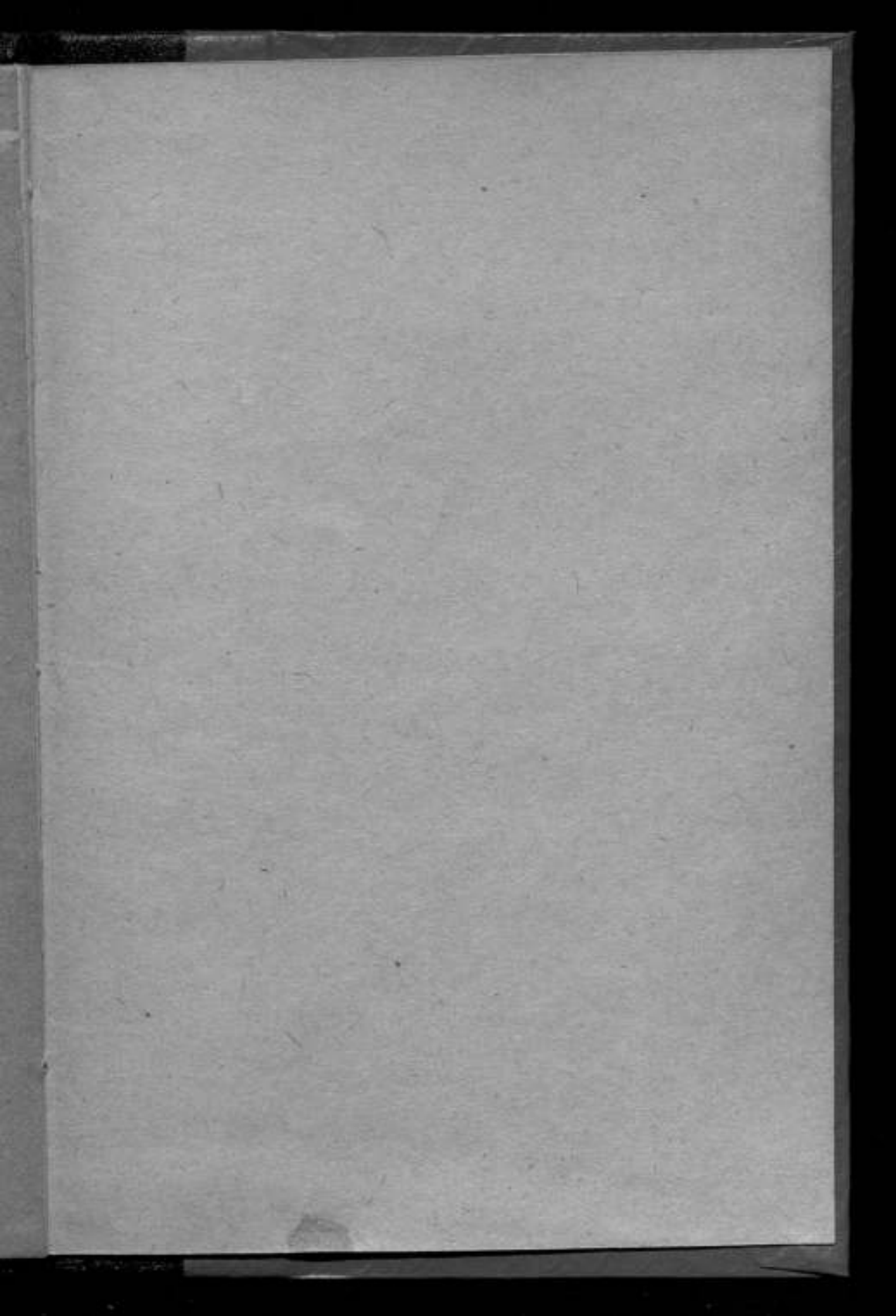
	Стр.
<i>С. В. Липин.</i> О погрешностях методов и приборов, применяемых при клиническом исследовании крови	3
<i>С. В. Липин, М. Ф. Романова и Н. А. Яковкин.</i> О погрешностях определения гемоглобина по способу Салли	13

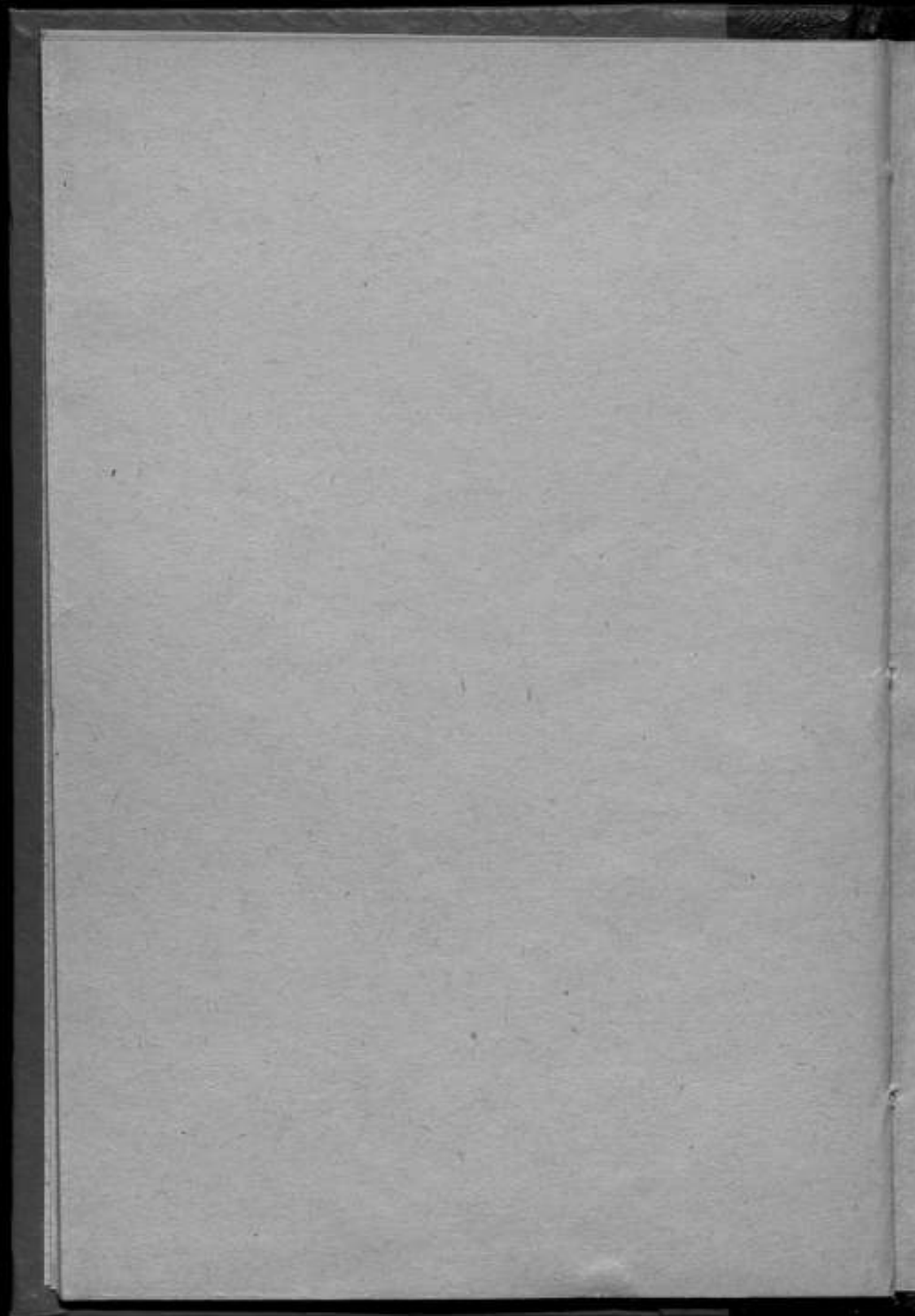
Ответственный редактор *С. В. Липин*. Технический редактор *С. Д. Водолазина*
Корректор *Е. К. Балковская*

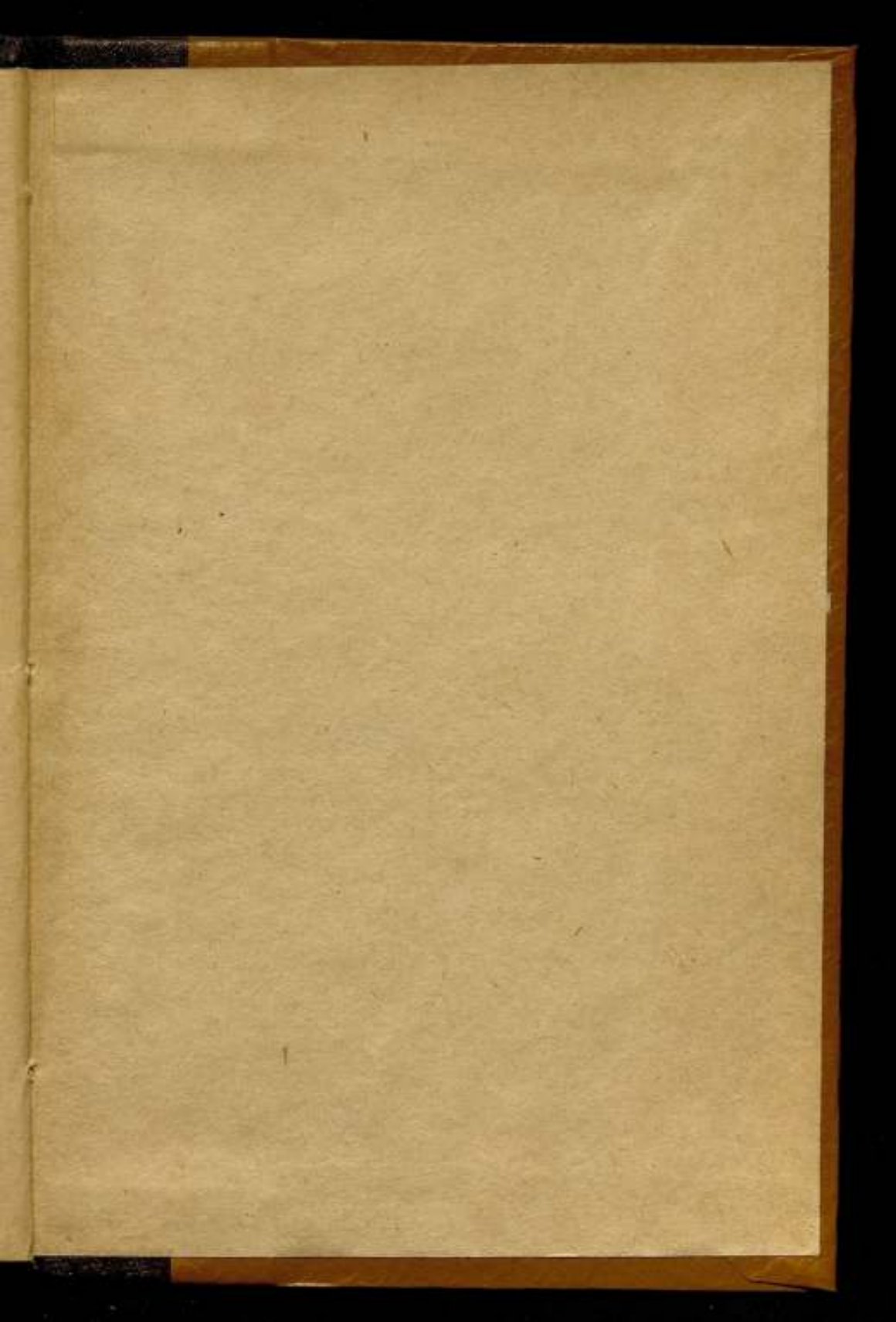
М03244. Сдано в набор 30.4.1947 г. Подписано к печати 3.6.1947 г. Тираж 1500
Формат бумаги 62×94. Уч.-изд. лист. 1,85. Печ. лист. 1³/₄. Заказ № 720
Типо-лит. ЛКВВИА.

Цена 3 руб.

Склад изданий: Ленинград, Международный, 19. ВНИИМ.









2