

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Красноярский государственный медицинский
университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Кафедра кардиологии, функциональной и клиничко-лабораторной
диагностики ИПО

Зав.кафедрой: профессор, д.м.н.
Матюшин Г.В. Проверил: доцент, к.м.н.
Анисимова Е.Н.

РЕФЕРАТ

**Тема: общий анализ крови.
Исследуемые показатели, методы определения. Клиническое значение
показателей общего анализа крови.**

Выполнил: врач-ординатор Егоров А.А.

Специальность: Клиничко-лабораторная
диагностика

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-
Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации

КАФЕДРА

Кафедра кардиологии, функциональной и клинико-лабораторной диагностики ИПО

Рецензия <доц. КМН Кафедры кардиологии, функциональной и клинико-лабораторной диагностики ИПО Анисимова Елена Николаевна > на реферат ординатора первого года обучения специальности Клиническая лабораторная диагностика Егорова Алексея Андреевича> по теме: < общий анализ крови. Исследуемые показатели, методы определения. Клиническое значение показателей общего анализа крови. >

Рецензия на реферат – это отзыв преподавателя о проведенной самостоятельной работе ординатора, который включает критическое мнение, при оценке учитываются навыки ординатора, такие как: работа с литературой, по выбранной специальности обучения, анализ степени раскрытия выбранной тематики, умение находить и интерпретировать полученную информацию, умение аргументировать основные положения и выводы и так далее. Затем преподавателю необходимо перечислить всевозможные недочеты и дать рекомендации по оценке.

Ознакомившись с рефератом, преподаватель убеждается в том, что ординатор владеет описанным материалом, умеет его анализировать и способен аргументированно защищать свою точку зрения.

Основные оценочные критерии рецензии на реферат ординатора первого года обучения специальности Клиническая лабораторная диагностика :

Оценочный критерий	Положительный/ отрицательный
1. Структурированность	+
2. Наличие орфографических ошибок	-
3. Соответствие текста реферата его теме	+
4. Владение терминологией	+
5. Полнота и глубина раскрытия основных понятий темы	+
6. Логичность доказательной базы	+
7. Умение аргументировать основные положения и выводы	+
8. Круг использования известных научных источников	+
9. Умение сделать общий вывод	+

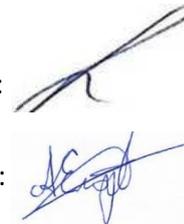
Итоговая оценка: положительная/отрицательная

Комментарии рецензента:

Дата:

Подпись рецензента:

Подпись ординатора:



Содержание:

1. Определение.
2. Преаналитический этап и подготовка к исследованию.
3. Методы исследования клеток крови.
4. Автоматизированное исследование клеток крови.
5. Внутривенный контроль качества автоматизированных исследований.
6. Гематологические параметры общего анализа крови. Основные характеристики, клиническое значение.
7. Источники и используемая литература.
8. Приложение: «Референтные значения основных гематологических показателей»

1. Общий анализ крови – исследование, которое включает в себя определение концентрации гемоглобина, величины гематокрита, концентрации эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов в единице объема крови, расчёт эритроцитарных индексов (MCV, RDW, MCH, MCHC), описание особенностей морфологии клеток крови, оценку лейкоцитарной формулы и измерение скорости оседания эритроцитов (СОЭ).

Кровь состоит из жидкой части (плазмы) и клеточных форменных элементов (эритроциты, лейкоциты, тромбоциты). Состав и концентрация клеточных элементов в крови меняются при различных физиологических и патологических состояниях: обезвоживании, воспалении, бактериальных или вирусных инфекциях, нарушениях в системе кроветворения, кровотечениях, интоксикациях, онкологических заболеваниях и пр.

Общий анализ крови позволяет получить представление об объёмном соотношении клеточных элементов и жидкой части крови (гематокрите), содержании отдельных видов форменных элементов крови (эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов), концентрации гемоглобина, основных характеристиках эритроцитов (эритроцитарные индексы). Общий анализ периферической крови относится к базовым клиническим тестам и назначается всем стационарным больным, входит в стандарты обследования и контроля лечения пациентов с большинством заболеваний, производится при периодических профилактических медицинских осмотрах, медицинском освидетельствовании доноров, в процессе диспансерного наблюдения пациентов и т.д.

2. Преаналитический этап.

Контроль преаналитических факторов в гематологических исследованиях является ключевым для обеспечения качественных результатов тестов. Отклонения от стандартов при взятии пробы, транспортировке и хранении образца, interfering вещества, а также факторы, связанные с пациентом, могут привести к неверным или неточным результатам анализов и, следовательно, к постановке ошибочного диагноза. До 70% лабораторных ошибок связаны именно с преаналитическим этапом исследования крови. За счет снижения числа ошибок на любом этапе преаналитической подготовки можно существенно улучшить качество гематологических анализов, снизить количество повторных проб, сократить расходы рабочего времени и средств на обследование пациентов.

Снижение до минимума возможных ошибок и обеспечение высокого качества гематологических исследований возможно за счет стандартизации преаналитического и аналитического этапов работы.

Взятие крови. На точность и правильность результатов оказывает влияние техника взятия крови, используемые при этом инструменты (иглы, скарификаторы и др.), а также пробирки, в которые берется, а в последующем хранится и транспортируется кровь.

Кровь для клинического анализа берут у пациента из пальца, вены или из мочки уха, у новорожденных - из пяточки. Кровь следует брать натощак (после примерно 12 часов голодания, воздержания от приема алкоголя и курения), между 7 и 9 часами утра, при минимальной физической активности непосредственно перед взятием (в течение 20 - 30 мин.), в положении пациента лежа или сидя. Взятие материала следует проводить в резиновых перчатках, соблюдая правила асептики.

Венозная кровь. Венозная кровь считается лучшим материалом для клинического исследования крови. При известной стандартизации процессов взятия, хранения, транспортировки венозной крови удается добиться минимальной травматизации и активации клеток, примеси тканевой жидкости, при этом всегда имеется возможность повторить и/или расширить анализ, например, добавив исследование ретикулоцитов. Достоверность и точность гематологических исследований, проводимых из венозной крови, во многом определяется техникой взятия крови.

Подготовка пациента к взятию крови из вены включает несколько этапов. Место венопункции нужно продезинфицировать марлевой салфеткой или специальной безворсовой салфеткой, смоченной 70° спиртом, и подождать до полного высыхания антисептика (30-60 секунд). Применение ватных тампонов и других волокнистых материалов подобного рода может привести к засорению волоконной счетной и гемоглобиновой камер, что влечет снижение точности и воспроизводимости измерения. Не рекомендуется использовать 96° спирт, так как он дубит кожу, поры кожи закрываются, и стерилизация может быть неполной.

Не рекомендуется вытирать и обдуть место прокола, пальпировать вену после обработки. Рука пациента должна покоиться на твердой поверхности, быть вытянута и наклонена немного вниз так, чтобы плечо и

Место пункции необходимо просушить естественным способом для удаления остатков спирта, поскольку он может вызвать гемолиз.

Применение ватных тампонов и других волокнистых материалов не рекомендовано, поскольку это приводит к засорению волокнами счетных и гемоглобиновой камер. В результате точность и воспроизводимость измерения падает.

Первую каплю крови, полученную после прокола кожи, следует удалить тампоном, поскольку эта капля содержит примесь тканевой жидкости. Капли крови должны свободно вытекать, нельзя давить на палец и массировать зону вокруг прокола, так как при этом в кровь попадает тканевая жидкость, что существенно искажает результаты исследования. После взятия крови к раневой поверхности прикладывается новый стерильный тампон, смоченный 70° спиртом. Тампон следует удерживать, пока не прекратится кровотечение.

После прокола капиллярная кровь помещается в специальный микрокапилляр или специальные пластиковые пробирки одноразового пользования, обработанные антикоагулянтом K_2EDTA .

При прикосновении края пробирки к месту пункции капли крови начинают стекать в нее под действием капиллярного эффекта. После завершения сбора крови пробирку следует плотно закрыть. Необходимым условием для обеспечения качественной пробы является ее обязательное немедленное перемешивание с антикоагулянтом осторожным переворачиванием пробирки до 10 раз. В случае последовательного взятия капиллярной крови в несколько микропробирок необходимо соблюдать определенный порядок их заполнения. Последовательность взятия крови такова: в первую очередь заполняются пробирки с ЭДТА, затем с другими реактивами и в последнюю очередь заполняются пробирки для исследования сыворотки крови.

Основные рекомендации при работе с капиллярной кровью:

- При взятии крови в пробирку с антикоагулянтом не допускается стекание крови по коже пальца, стенке пробирки и любой другой поверхности, так как мгновенно происходит контактная активация процесса свертывания.
- Кровь самотеком из прокола должна попадать прямо в антикоагулянт, перемешиваясь с ним.
- Нельзя выдавливать кровь из пальца во избежание спонтанной агрегации тромбоцитов и попадания в пробу большого количества межтканевой жидкости (тканевого тромбoplastина).

При взятии капиллярной крови возможен ряд особенностей, которые бывает весьма трудно стандартизировать:

- физиологические - холодные, цианотичные пальцы;
- методические - малый объем исследуемой крови и в связи с этим необходимость разведения образца для анализа на гематологическом анализаторе и др.

Все это приводит к значительным разбросам в получаемых результатах и, как следствие, к необходимости повторных исследований для уточнения результата.

Доставка, хранение и подготовка проб к исследованию

Для обеспечения качественного результата исследований нужно четко контролировать время и условия хранения проб до выполнения анализа.

- Автоматизированное исследование крови необходимо проводить в промежутке 0-5 мин. или через 1 час и позже после взятия крови. В промежутке 5 мин. - 1 час происходит временная агрегация тромбоцитов, что может привести к их ложному снижению в пробе крови.
- Непосредственно после взятия крови исключается возможность спонтанной агрегации тромбоцитов, примерно 25 мин. необходимо для адаптации тромбоцитов к антикоагулянту. При анализе, проведенном позже чем через 6-8 часов после взятия образца, уменьшается достоверность результатов. Более продолжительное хранение крови не рекомендуется, т.к. изменяются некоторые характеристики клеток (сопротивляемость клеточной мембраны), снижается объем лейкоцитов, повышается объем эритроцитов, что в конечном итоге приводит к ошибочным результатам измерения и неправильной интерпретации результатов. Только концентрация гемоглобина и количество тромбоцитов остаются стабильными в течение суток хранения крови.
- Кровь нельзя замораживать. Капиллярную кровь с ЭДТА следует хранить при комнатной температуре и анализировать в течение 4 часов после взятия.
- При необходимости проведения отсроченного анализа (транспортировка на отдаленные расстояния, техническая неполадка прибора и т.д.) пробы крови хранят в холодильнике (4-8 °C) и исследуют в течение 24 часов. Однако при этом следует учитывать, что происходит набухание клеток и изменение параметров, связанных с их объемом. У практически здоровых людей эти изменения не носят критического характера и не сказываются на количественных параметрах, но при наличии патологических клеток последние могут изменяться или даже разрушаться в течение нескольких часов с момента взятия крови.
- Непосредственно перед исследованием кровь должна быть тщательно перемешана в течение нескольких минут для разведения антикоагулянта и равномерного распределения форменных элементов в плазме. Длительное постоянное перемешивание образцов на ротомиксе до момента их исследований не рекомендуется вследствие возможного травмирования и распада патологических клеток.
- Исследование крови на приборе проводится при комнатной температуре. Кровь, хранившуюся в холодильнике, необходимо вначале согреть до комнатной температуры, так как при низкой температуре увеличивается вязкость, а форменные элементы имеют тенденцию к склеиванию, что, в свою очередь,

- Ядра клеток - красно-фиолетовые;
- Эозинофильные гранулы - красновато-коричневые;
- Базофильные гранулы - синие;
- Нейтрофильные гранулы - фиолетовые;
- Цитоплазма лимфоцитов - голубая;
- Эритроциты - бледно-красные;
- Тромбоциты - наружная часть синяя (более светлая); внутренняя - фиолетовая (более темная).

Окраска по Маю-Грюнвальду. Данный метод очень удобен для визуализации гранулоцитов. Для окрашивания применяется готовый раствор эозинметиленового синего по Маю-Грюнвальду. Мазок без предварительной фиксации заливают красителем, через 5 минут промывают и высушивают.

- Лимфоциты - ядра: сине-фиолетовые; цитоплазма: голубая;
- Моноциты - ядра: сине-фиолетовые; цитоплазма: серо-голубая;
- Гранулоциты - ядра: сине-фиолетовые; гранулы: красные, фиолетовые, темно-синие (зависит от типа);
- Тромбоциты - наружная часть голубая; внутренняя - фиолетовая;
- Эритроциты - розовые.

Окраска по Паппенгейму. Представляет собой комбинацию двух предыдущих методов. Сухие нефиксированные мазки помещаются в кювету с раствором Мая-Грюнвальда на 3-5 минут. После этого контейнер с мазками ополаскивается дистиллированной водой, после чего мазки помещаются в кювету с разведенным раствором Романовского-Гимзы на 20-30 минут. После этого мазки промываются проточной водой и высушиваются.

- Ядра клеток - красно-фиолетовые;
- Цитоплазма лимфоидных клеток - светло-синяя;
- Лимфоидная азуриная грануляция - ярко-синяя;
- Миелоидная азуриная грануляция - фиолетовая;
- Нейтрофильные гранулы - светло-фиолетовые;
- Эозинофильные гранулы - красные, красно-коричневые;
- Базофильные гранулы - темно-фиолетовые, черные;
- Эритроциты - розовые (полихроматофильные эритроциты - синеватые);
- Тельца Жолли - красновато-фиолетовые;
- Тельца Ауэра - ярко-красные.

Окраска по Райту. На сухой нефиксированный мазок наносится 1 мл красителя, через 1 минуту добавляется 1 мл дистиллированной воды. Через 2-3 минуты промывают в дистиллированной воде и высушивают на воздухе. Окраска аналогична предыдущему методу.

Изучение мазка проводится под микроскопом с иммерсионной системой, объектив $\times 90$, окуляр $\times 7$ или $\times 10$; конденсор должен быть поднят, а диафрагма полностью раскрыта.

Оценивают фон и чистоту препарата; клеточность и расположение клеток в препарате, наличие комплексов и агглютинацию; сохранность клеточных границ; размеры и форму клеток; в ядросодержащих клетках – размеры, форму и расположение ядра, ядерно-цитоплазматическое отношение; окраску цитоплазмы и клеточных структур; клеточный состав и соотношение клеток в лейкоцитарном звене. Выявляют (при наличии) патологические морфологические формы клеток, гемопоэтические и бластные клетки, не свойственные периферической крови а также случайные артефакты.

Системы автоматического анализа мазков крови. Системы автоматического анализа мазков крови, состоят из: микроскопов с высококачественной оптикой, настроенной на бесконечность; систем моторизации, обеспечивающей автоматическое перемещение препарата под объективом; программного обеспечения, установленной на компьютер с широкоформатным монитором, которая обеспечивает сбор необходимого количества клеток, анализ изображений, идентификацию и преклассификацию клеток.

В основу идентификации клеток положен компьютерный анализ изображения, полученного с помощью микроскопа. Использование таких систем, позволило совершить «технологический прорыв» в оценке морфологических характеристик клеток крови, сопоставимый с результатами внедрения гематологических анализаторов для оценки «количественных показателей» ОАК периферической крови.

Системы автоматического анализа могут собирать изображения клеток и даже преклассифицировать их в виде галереи. Это позволяет сотруднику лаборатории не тратить время на поиск объектов, а больше времени уделить тщательной оценке морфологии клеток.

4. Автоматизированное исследование клеток крови.

Автоматизированное исследование клеток крови.

Автоматические счетчики крови оценивают размеры, структурные, цитохимические и другие характеристики клеток. Они анализируют около 10000 клеток в одном образце и имеют несколько различных каналов подсчета клеточных популяций и концентрации гемоглобина. На основании количества определяемых параметров и степени сложности их можно условно разделить на 3 основных класса:

- I класс - автоматические гематологические анализаторы, определяющие до 20 параметров, включая расчетные показатели красной крови и тромбоцитов, гистограммы распределения лейкоцитов, эритроцитов и тромбоцитов по объему, а так же частичную дифференцировку лейкоцитов на три популяции - лимфоциты,

трансформированных клеток не соответствует размерам клеток при визуальном просмотре их в окрашенном мазке крови.

Полученные после анализа лейкоциты распределяются на гистограмме следующим образом:

- Область малых объемов (35-90 фл) формируется лимфоцитами, которые под действием гемолитика значительно уменьшаются в объеме.

- Гранулоциты (нейтрофилы, базофилы и эозинофилы), напротив, подвергаются небольшому сжатию и расположены в области больших объемов (120-400 фл).

- Между двумя пиками имеется зона так называемых "средних лейкоцитов" (90-120 фл), которая лучше всего коррелирует с моноцитами (по этой причине в некоторых анализаторах клетки в этой области указываются как моноциты). Однако, учитывая тот факт, что коэффициент корреляции с моноцитами $R = 0,5-0,8$ сравнительно невысок, более корректным является название параметра "средние лейкоциты" или "средние клетки" (MID). Практически в область средних клеток могут частично попадать базофилы, эозинофилы, различные патологические формы.

Высокотехнологические гематологические анализаторы. Высокотехнологические гематологические анализаторы способны осуществлять дифференцированный счет лейкоцитов по 5-ти (5Diff) основным популяциям, используя различные принципы дифференцирования клеток: нейтрофилы, эозинофилы, базофилы, моноциты и лимфоциты, оценивать наличие незрелых гранулоцитов, анализировать ретикулоциты и их субпопуляции, проводить оценку стволовых гемопоэтических клеток и субпопуляций лимфоцитов. Многочисленные функции современных гематологических анализаторов стали возможны, благодаря развитию новых технологий, которые отличаются у разных фирм-производителей. Так, в анализаторах фирмы Beckman-Coulter (LH 500, LH750) (США - Франция) используется трехмерный анализ дифференцировки лейкоцитов (VCS-технология), который включает в себя одновременный компьютерный анализ клеток по объему (Volume), электропроводности (Conductivity) и дисперсии лазерного света (Scatter). Полученные по трем каналам данные с помощью электроники комбинируются и анализируются, в результате чего происходит распределение клеток по дифференцировочным кластерам и, таким образом, лейкоциты разделяются на пять основных популяций: лимфоциты, моноциты, нейтрофилы, эозинофилы и базофилы. Результатом отображения объемного графика на плоскости является лейкоцитарная скатерограмма, на которой каждый тип клеток имеет свою зону расположения. В анализаторах серии Cell-Dyn для дифференцировки лейкоцитов применяется технология MAPSS - Multi Angle Polarized Scatter Separation - мультипараметрическая система лазерного светорассеивания - регистрация интенсивности рассеивания клетками поляризованного лазерного луча под разными углами. Этот метод заключается в компьютерном анализе дисперсии лазерного счета клетками крови. Рассеивание клеткой поляризованного лазерного луча под разными углами дает сведения о таких ее свойствах, как:

- размер клеток - для чего оценивается прохождение поляризованного лазерного луча под малым углом рассеивания (близким к 0 град.);
- структура и степень сложности клеток - оценивается по анализу рассеивания поляризованных лазерных лучей, направленных под углом до 7 град.;
- ядерно-цитоплазматическое соотношение - оценивается по анализу рассеивания поляризованных лазерных лучей, направленных под углом до 10 град.;
- оценка формы клеточного ядра - осуществляется благодаря анализу светорассеивания поляризованных лазерных лучей под углом 90 град.;
- для оценки клеточной зернистости и дифференцировки эозинофилов используется оценка светорассеивания деполяризованного луча под углом в 90 град.

В приборах серии Technicon, ADVIA120, 2120, Pentra DX 120 разработан принцип жидкостной цитохимии (измерение активности пероксидазы в лейкоцитах), который в сочетании с другими методами (кондуктометрический, гидродинамическое фокусирование, оптическая абсорбция) позволяет проводить дифференцировку лейкоцитов. Использование пероксидазной реакции основано на различной ее активности в лейкоцитах. Так, эозинофилы и нейтрофилы имеют интенсивную пероксидазную активность, моноциты - слабую, в лимфоцитах она не выявляется. Проточная цитохимическая техника включает регистрацию рассеянного и поглощенного светового луча. В лейкоцитарном канале после лизиса эритроцитов и стабилизации лейкоцитов происходит цитохимическая реакция, далее лейкоциты дифференцируются по двум признакам: размеру клеток, определяемому методом рассеивания лазерного луча, и пероксидазной активности - по поглощению клеткой светового потока. Дифференцировка базофилов от других гранулоцитов проводится в базоканале. Цитоплазма всех лейкоцитов за исключением базофилов подвергается лизису после обработки пробы специфическим лизатом. Затем в канале осуществляется измерение дисперсии лазерного света под углами 2 град. - 3 град. и 5 град. - 15 град., что позволяет различить клетки в зависимости от формы ядер. Сравнительная информация, получаемую с Pexoh- и Basis-каналов, компьютер осуществляет дифференцировку лейкоцитов на 5 основных популяций, а также сигнализирует в виде флагов о присутствии в крови активированных лимфоцитов, незрелых гранулоцитов, бластов, эритробластов.

В гематологических анализаторах серии XT и XE фирмы Sysmex применяется метод проточной цитофлюориметрии с использованием флуоресцентного красителя полиметина. Этот флуоресцентный краситель связывается с ДНК и РНК неизмененных клеток, что позволяет использовать его как для дифференцировки лейкоцитов по 5-ти параметрам (нейтрофилы, эозинофилы, базофилы, моноциты и лимфоциты), так и для подсчета ретикулоцитов. Анализ клеток происходит в проточной кювете при пересечении

4. Объективным (желательно "шифровать" контрольный материал, чтобы исполнитель не знал, где опыт, а где контроль).

Принцип проведения внутреннего контроля качества

Принцип проведения внутреннего контроля достаточно прост: периодически (в каждой серии) нужно проводить измерение одного и того же контрольного материала, а результаты этих измерений заносить на контрольную карту. Хорошо организованная система внутреннего контроля качества позволяет достаточно эффективно выявлять ошибки, связанные с:

- внешними варьирующими факторами (реагенты, калибраторы, расходные материалы);
- внутренними варьирующими факторами (организация в лаборатории "домашних реактивов", обучение персонала, обслуживание приборов, ведение документации, реакция персонала на возникающие проблемы).

Для оценки качества исследований рассчитываются следующие статистические показатели:

1. Среднее арифметическое значение или средняя арифметическая (X_{cp}):	$X_{cp} = \frac{\sum X_i}{n}$ <p>где: X_i - значения конкретных измерений; n - число измерений.</p>
2. Отклонение от правильного значения, то есть разница между истинной величиной (μ) и средней арифметической, отражает величину систематической ошибки (b) и, соответственно, точность определений (B , %):	$b \text{ (абсолютная величина)} = X_{cp} - \mu$ <p>или</p> $B \text{ (отклонение, \%)} = \frac{X_{cp} - \mu}{\mu} \times 100\%$
3. Стандартное отклонение (сигма - "сигма", SD стандартная девиация, дисперсия): Стандартное отклонение отражает величину случайной ошибки, то есть воспроизводимость конкретного измерения в абсолютной величине.	$\text{сигма} = \sqrt{\frac{\sum (X_i - X_{cp})^2}{n - 1}}$
4. Коэффициент вариации (V или CV):	$CV = \frac{\text{сигма}}{X_{cp}} \times 100\%$

Коэффициент вариации отражает воспроизводимость в относительном значении (процентах). Его легко можно использовать для характеристики и сравнения различных лабораторных показателей. Чем меньше коэффициент вариации, тем выше воспроизводимость результатов.

Внутрилабораторный контроль качества с использованием аттестованной контрольной крови - контроль правильности и воспроизводимости

При проведении контроля качества с использованием аттестованного коммерческого контроля применяются фиксированные стабилизированные клетки крови. Измерение этих клеток по программе, аналогичной программе измерения проб, дает возможность оценить работу прибора. Применяются контроли с низким, нормальным и высоким содержанием исследуемых показателей. Используется этот контрольный материал для оценки правильности. В то же время фиксированные клетки коммерческого контроля нельзя использовать для оценки свойств реактивов (лизатов, изотонических и промывающих растворов), так как эти растворы предназначены для влияния на живые клетки крови, они их модифицируют, но не действуют на фиксированные неживые клетки. Фиксированные клетки в любом растворе будут давать одинаковый результат. В анализаторах заложена данная программа. Она имеет обширную память, автоматически строятся контрольные карты и рассчитываются статистические показатели по всем измеряемым и расчетным параметрам. Такая программа значительно упрощает работу по контролю качества и фактически не требует дополнительных усилий со стороны оператора, в то же время дает определенную уверенность в результатах.

При использовании коммерческой контрольной крови можно сразу оценивать результаты. В этом случае так называемое должное значение для используемой модификации метода, указанное в инструкции к контрольному материалу, следует принять за среднюю арифметическую (X_{cp}), доверительный предел - за предел $X_{cp} \pm 1$ сигма и самостоятельно рассчитать два других предела ($X_{cp} \pm 2$ сигма и $X_{cp} \pm 3$ сигма), необходимых для построения контрольной карты. В инструкции к коммерческой аттестованной контрольной крови все эти пределы указаны.

В гематологических анализаторах заложена программа внутреннего контроля качества с автоматическим построением карты Шухарта. Однако строиться такая карта будет только в том случае, если при измерении

- Требуют значительных материальных затрат
- Контрольные материалы имеют ограниченный срок действия (нестабильны)
- Контрольные материалы могут быть неадекватными по своим характеристикам образцам пациентов
- Контролируется только этап анализа, игнорируются преаналитическая и постаналитическая стадии

Для России существенными недостатками контрольной крови для контроля качества являются:

- дороговизна контрольной крови;
- сложность регулярных поставок импортных материалов;
- ограниченность срока действия;
- невозможность по этому контрольному материалу оценить качество отечественных реагентов, предлагаемых взамен "родных реактивов" к импортным гематологическим анализаторам.

Ниже приводятся некоторые способы проведения внутреннего контроля без использования контрольных материалов. Создание адекватной системы внутреннего контроля качества без приобретения хороших контрольных материалов невозможно, описанные ниже способы можно рекомендовать только как дополнительные.

Внутрилабораторный контроль качества без контрольной крови

Карта по ежедневным средним (контроль правильности)

Для многих исследований в качестве дополнительного можно рекомендовать контроль по ежедневным средним, в котором используются образцы или результаты исследования образцов пациентов. Преимуществами этого метода является то, что он, с одной стороны, не требует специального контрольного материала, с другой стороны, позволяет выявлять ошибки не только на аналитическом этапе, но и некоторые ошибки, возникающие на преаналитическом этапе (например, связанные с взятием или предварительной обработкой проб пациентов).

Данный метод имеет ряд ограничений. Прежде чем начинать ведение карты по ежедневным средним, нужно принять во внимание следующее:

- Обследуемый изо дня в день контингент должен быть достаточно однородным (т.е. не должно быть сильных изменений количественных и качественных изменений обследуемых лиц).
- Если в лаборатории в определенные дни происходит смена обследуемого контингента (например, в один из дней обследуются только новорожденные или только больные диабетом), то средние значения по этим дням в расчет принимать не следует.
- Если усреднять все полученные значения, то даже один сильно патологический результат может существенно изменить среднее значение. Поэтому в расчет должны приниматься только те значения, которые укладываются в определенные пределы (диапазон усреднения).
- Пределы усреднения могут быть установлены достаточно произвольно. Как правило, рекомендуется использовать нормальный диапазон или брать шире его в 1,2-2,0 раза.
- Диапазон усреднения не должен быть слишком узким, так как это снижает чувствительность данного метода контроля к выявлению ошибок, но и не должен быть слишком широким, так как при этом будет большой разброс средних изо дня в день.
- Минимальное количество усредняемых ежедневно результатов должно быть не менее 15, лучше 50 - 70, это зависит от теста и от нагрузки в лаборатории.
- Большая часть пациентов должна иметь результаты в области усреднения. Не имеет смысла вести контроль качества по ежедневным средним, если результаты данного теста сильно патологические (например, результаты исследования лейкоцитов в гематологическом отделении).
- Необходимо обрабатывать достаточно большие массивы данных. Ручной расчет очень трудоемок, желательно проводить автоматизированный контроль.

Карты по ежедневным средним анализируются по тем же правилам, что и карты по контрольным материалам.

Для построения карт по ежедневным средним (карты аналогичные картам Шухарта) необходимо выполнить следующие действия:

1. В течение 20 дней ежедневно рассчитывать среднее по результатам пациентов, попавших в диапазон усреднения;
2. По этим значениям рассчитать среднюю, дисперсию и коэффициент вариации;
3. Если коэффициент вариации (CV) будет существенно больше, чем CV, получаемый изо дня в день по контрольным материалам, значит, количество усредняемых в день результатов пациентов недостаточно (при условии однородности контингента обследуемых). В этом случае будет очень большой разброс точек на карте, и интерпретировать ее будет затруднительно. Надо увеличивать количество усредняемых результатов, иначе ведение карты по ежедневным средним теряет смысл.

При ведении такого контроля следует иметь в виду, что этот метод позволяет вести контроль правильности только на уровне среднего значения по пациентам. Контроль на более высоком и более низком уровнях значений нужно вести другими методами.

Карта по дубликатам (контроль воспроизводимости)

Контроль воспроизводимости. Контроль воспроизводимости предусмотрен на основе повторных анализов от пациента (донора, можно использовать лабораторных животных или просроченные образцы коммерческих контролей). В гематологических анализаторах имеется "Программа сохраненного образца", которая

МЗ РФ N 220 от 26 мая 2003 г. - отраслевой стандарт ОСТ "Правила проведения внутривлабораторного контроля качества количественных методов клинических лабораторных исследований с использованием контрольных материалов".

Ошибки аналитического периода

Приступая к работе на гематологическом анализаторе, внимательно прочитайте руководства по эксплуатации и обратите внимание на границы линейности измерения анализируемых параметров. Оценка проб со значениями анализируемых параметров, превышающих границу линейности измерения, чревата получением ошибочных результатов. В большинстве случаев при анализе проб с гиперцитозами анализатор вместо значения измеряемого параметра выдает значок "--D", что указывает на необходимость разведения пробы и повторного измерения. Разведение необходимо проводить до тех пор, пока не будут получены схожие итоговые результаты при двух ближайших разведениях.

Концентрация гемоглобина в большинстве гематологических анализаторов определяется фотометрически. Различное влияние липидемии на определение гемоглобина в приборах связано с техническими особенностями, а не с методологией. Величина результирующей ошибки сильно зависит от оптической геометрии прибора: размера выходного отверстия из кюветы для образцов и расстояния до фотодиода.

Контролем за правильностью измерения концентрации гемоглобина может служить величина МСНС, которая рассчитывается приборами путем деления концентрации гемоглобина в г/100 мл на гематокрит и умножения на 100. Чаще всего увеличение МСНС свидетельствует об ошибках, допущенных при измерении пробы (погрешности определения гемоглобина или MCV). Таким образом, данный параметр может быть использован и как индикатор ошибок, допущенных на аналитическом или преаналитическом этапах работы.

Основные рекомендации по обеспечению качества гематологических исследований на анализаторах

1. Внимательно изучите инструкцию к гематологическому анализатору и работайте на анализаторе согласно этому документу.
2. Используйте для анализа кровь, стабилизированную К-ЭДТА в рекомендованной пропорции для конкретной соли. Лучшие результаты достигаются при использовании одноразовых коммерческих пробирок для гематологических исследований (красная крышечка).
3. Запускайте прибор, соблюдая все стадии промывки, добейтесь нулевых (фоновых) значений показателей по всем каналам.
4. Выполните процедуру контроля качества по соответствующей программе. Оцените полученный результат.
5. В качестве реактивов используйте рекомендованные фирмой - поставщиком прибора. При смене реактивов на другого производителя будьте предельно внимательны на всем протяжении работы на этих реактивах, нарушения работы прибора могут возникнуть не сразу.
6. Перед анализом осторожно, но тщательно перемешайте пробирку с кровью. Лучше для этой цели использовать ротомикс.
7. Работайте осмысленно, сопоставляя получаемые результаты с клинической характеристикой проб пациента.
8. Обращайте внимание на сообщения прибора о вероятных систематических ошибках. Помните, что увеличение МСНС выше нормальных значений, - как правило, результат ошибки измерения.
9. При выявлении ошибки обязательно устраните причину, не работайте на неисправном приборе.
10. После окончания измерений тщательно промойте анализатор, не перекладывайте эту работу на других.
11. При остановке прибора на длительный срок обязательно выполните все процедуры консервации. Лучше эту работу выполнить вместе с сервис-инженером.
12. При возникновении технических проблем дождитесь сервис-инженера, авторизованного фирмой - поставщиком. Не доверяйте работать на приборе и копаться в нем необученному персоналу.
13. Добейтесь от администрации заключения с фирмой-поставщиком контракта на постоянное сервисное обслуживание. Следите, чтобы фирма-поставщик вовремя проводила профилактическое обслуживание прибора.

Гематологические анализаторы позволяют не только автоматизировать процесс подсчета клеток крови, повысить производительность труда в лабораториях, улучшить качество и точность измерения, но и получить дополнительные, высоко информативные характеристики клеток крови. Для правильной их интерпретации специалисты клинической лабораторной диагностики, а также врачи других специальностей должны иметь представление о нормальном кроветворении, знать клиническую симптоматику различных заболеваний и патологических процессов, возможные причины, приводящие к отклонениям в гемограмме, ориентироваться в системе расстановки флагов, имеющейся в каждом анализаторе, гистограммах и скатерограммах. При анализе гемограммы следует учитывать возможные причины ложных результатов. Только в этом случае можно профессионально прокомментировать и при необходимости помочь клиницистам в интерпретации полученных результатов исследования крови.

6. Гематологические параметры общего анализа крови.

Гемоглобин (HGB, hemoglobin) – дыхательный пигмент крови, который содержится в эритроцитах и участвует в транспортировке кислорода и углекислоты. Гемоглобин составляет приблизительно 98% белков цитоплазмы эритроцита. Состоит из белковой части – глобина, и железосодержащей части – гема. Гемоглобин представляет собой гетеродимерный тетрамер, состоящий из двух цепей глобина типа α и двух цепей глобина другого типа (β , γ или δ), соединённых с четырьмя молекулами гема. Гем – это молекула протопорфирина IX,

прочное соединение гемоглобина с кислородом. Имеет коричневую окраску. При образовании в больших количествах приводит к гипоксии. В норме составляет 0,8% от общего гемоглобина.

Средняя концентрация гемоглобина определяемая в венозной крови: у мужчин — 132-164 г/л, у женщин — 115-145 г/л, у детей до 1 года — 110-130 г/л, у детей до 10 лет — 115-148 г/л.

Определение концентрации Hb в крови играет важнейшую роль в диагностике анемий. При анемиях концентрация Hb варьирует в широких пределах и зависит от её формы и степени выраженности. При железодефицитной анемии у большинства больных снижение Hb относительно умеренное (до 85–114 г/л), реже более выраженное (до 60–84 г/л). Значительное снижение концентрации Hb в крови (до 50–85 г/л) характерно для острой кровопотери, гипопластической анемии, гемолитической анемии после гемолитического криза, витамин B12-дефицитной анемии. Концентрация Hb 30–40 г/л — показатель выраженной анемии, при которой необходимы неотложные мероприятия. Минимальная концентрация Hb в крови, совместимая с жизнью, — 10 г/л.

Концентрация Hb в крови может повышаться (до 180–220 г/л и выше) при миелопролиферативных заболеваниях (эритремия) и симптоматических эритроцитозах, сопровождающих различные состояния.

Заболевания и состояния, сопровождающиеся изменением концентрации Hb в крови.

Повышение концентрации Hb	Сниженная концентрации Hb
Первичные и вторичные эритроцитозы	Все виды анемий, связанных:
Эритремия	- с кровопотерей;
Обезвоживание	- с нарушением кровообразования;
Чрезмерная физическая нагрузка или возбуждение	- с повышенным кроверазрушением
Длительное пребывание на больших высотах	Гипергидратация
Курение	

Гемоглобин A_{1c} - гемоглобин A, модифицированный ковалентным присоединением к нему глюкозы (так называемый гликированный гемоглобин) используется как показатель уровня и длительности гипергликемии у больных сахарным диабетом, и в норме составляет < 6% от общего гемоглобина.

Методы определения концентрации гемоглобина.

Метод Сали. В методе Сали измеряется гематин, образовавшийся при взаимодействии гемоглобина с соляной кислотой. Метод основан на визуальной оценке содержания гемоглобина путем сравнения окраски исследуемой пробы со стандартными растворами солянокислого гематина. Ошибка метода достигает ~ 30%, на результаты определения влияют многие факторы: время реакции между гемоглобином и соляной кислотой, которое может колебаться от 2 до 40 мин в зависимости от содержания белков крови; оттенок цвета геминхлорида, зависящий от содержания билирубина в крови; характера освещения и пр.

Химические и спектрофотометрические методы имеют высокую точность и рекомендуются в качестве референсных, но из-за трудоемкости и значительной стоимости анализа для рутинных определений не применяются.

Для рутинных лабораторных исследований наиболее предпочтительны колориметрические методы, как наиболее дешевые, простые и быстрые в исполнении. Кровь человека - это нормальная смесь производных гемоглобина с различными спектрами поглощения. При количественном определении гемоглобина колориметрическими методами возникает проблема в выборе реагента, который превращал бы все производные гемоглобина только в одну форму перед фотометрическим анализом. Лучшими методами, количественно превращающими гемоглобин в его производные, оказались гемиглобинцианидный (HbCN), гемихромный (HbChr) и гемиглобиназидный (HbN3), которые при фотометрировании дают наименьшую ошибку определения среди других методов анализа. Однако, некоторые данные не позволяют использовать гемиглобиназидный метод в качестве альтернативного в силу следующих причин: конечный продукт превращения гемоглобина - HbN3 имеет слабый пик поглощения при $\lambda = 540$ нм, что не дает возможности использовать фотометры с широкополосными фильтрами; иногда возникают проблемы, связанные с мутностью растворов; и наконец, раствор HbN3 не хранится при комнатной температуре. Напротив, гемиглобинцианидный и гемихромный методы лишены этих недостатков и при дальнейших исследованиях им было отдано предпочтение.

Гемиглобинцианидный метод. Принцип гемиглобинцианидного метода основан на переводе всех форм гемоглобина в одну - гемиглобинцианид. Перевод гемоглобина в гемиглобинцианид осуществляется при его взаимодействии с трансформирующим раствором, содержащим феррицианид калия, цианид калия, дигидрофосфат калия и неионный детергент. Дигидрофосфат калия поддерживает уровень pH, при котором реакция проходит за 3-5 минут. Детергент усиливает гемолиз эритроцитов и предотвращает мутность, связанную с белками плазмы. Феррицианид калия окисляет все формы гемоглобина в метгемоглобин, который образует с цианистым калием гемиглобинцианид, имеющий красноватый цвет, интенсивность окраски которого прямо пропорциональна концентрации гемоглобина в пробе. Гемиглобинцианидный метод, разработанный в 1936 г Драбкиным, был одобрен Международным Комитетом по стандартизации в гематологии (ICSH) в 1963 г. Основные достоинства гемиглобинцианидного метода:

- HbCN является стабильным производным гемоглобина, и все имеющиеся в крови формы гемоглобина могут быть быстро и количественно превращены в HbCN;

Ложное понижение

- резистентные к лизису эритроциты
- образование микросгустков в пробе крови

Эритроциты (красные кровяные клетки, red blood cells, RBC) — наиболее многочисленные форменные элементы крови, основное содержание которых составляет гемоглобин.

Эритроциты образуются в красном костном мозге из клеток предшественников. Для нормального развития эритроцитов необходимы витамин В12, фолиевая кислота и достаточное поступление железа. Образование эритроцитов стимулируется эритропоэтином, который вырабатывается в почках. Уровень эритропоэтина повышается при гипоксии тканей.

Зрелые эритроциты — безъядерные клетки, имеющие двояковогнутую дисковидную форму. Плоский диск лучше всего адаптирован к транспорту различных веществ как из клетки, так и внутрь нее, а также к диффузии газов к центру клетки. Площадь поверхности диска в 1,7 раза больше поверхности соответствующей по объему сферы и может умеренно изменяться без растяжения мембраны клетки. Цитоскелет эритроцитов отличается от цитоскелета ядерных клеток. Он представляет собой поверхностную сеть миофиламентных белков, связанных с внутренней стороной мембраны, и обеспечивает эритроциту специфическую двояковогнутую форму. С изменениями цитоскелета эритроцита связаны некоторые формы гемолитических анемий — наследственный эллиптоцитоз, пиропойкилоцитоз, отдельные варианты наследственного микросфероцитоза. Цитоскелет эритроцита играет важную роль в его способности к деформации. Высокая пластичность и деформируемость мембраны позволяет эритроциту проходить через капилляры диаметром 2 – 4 мкм, проникать через стенки синусоидов, возвращаясь после этого к исходным параметрам. В билипидный слой мембраны эритроцита встроены гликопротеины, углеводная часть которых образует надмембранный слой — гликокаликс. Гликопротеиновые комплексы мембраны организованы таким образом, что отрицательно заряженные участки (чаще всего сialовые группы полисахаридов) обращены наружу, придавая поверхности эритроцита отрицательный заряд. Эритроцит не имеет митохондрий и его энергетическое обеспечение зависит от гликолиза. Прекращение гликолиза ведет к «метаболической смерти» - процессу, конечным результатом которого является гемолиз. В эритроцитах осуществляется множество ферментативных реакций. Они адсорбируют аминокислоты, липиды, токсины, благодаря гемоглобиновому буферу, участвуют в регуляции кислотно-основного равновесия. За счет избирательной проницаемости для ионов, они участвуют в регуляции ионного состава плазмы. Кроме того, эритроциты обладают антигенными свойствами, участвуют в иммунных процессах и гемостазе. Основная их роль — транспорт кислорода из лёгких к тканям и углекислоты от тканей в лёгкие.

Средний срок жизни эритроцитов в сосудистом русле — 120 дней. Целостность эритроцитов поддерживается за счет их осмотической стойкости. Со временем снижается устойчивость эритроцитов к осмотическому гемолизу, к аутогемолизу, к механической травме, меняются физикохимические свойства эритроцитов, снижается способность к обратимой деформации. Старые эритроциты разрушаются в ретикуло-эндотелиальной системе и селезёнке, а железо гемоглобина используется для образования новых эритроцитов. За сутки обновляется около 1% эритроцитов. В 1 литре крови в норме у мужчин содержится 4×10^{12} – $5,5 \times 10^{12}$ эритроцитов, у женщин $3,9 \times 10^{12}$ – $4,7 \times 10^{12}$. Увеличение количества эритроцитов выше нормальных показателей называется эритроцитозом, снижение количества эритроцитов (и гемоглобина) — эритроцитопенией или анемией. Степень эритроцитопении при различных анемиях широко варьирует. При железодефицитной анемии на почве хронических кровопотерь количество эритроцитов может быть нормальным или сниженным умеренно — 3 – $3,6 \times 10^{12}/л$. При острой кровопотере, В12-дефицитной анемии, гипопластической анемии, гемолитических анемиях после гемолитического криза количество эритроцитов в крови может снижаться до 1 – $1,6 \times 10^{12}/л$, что считают показанием для проведения неотложных лечебных мероприятий. Количество эритроцитов, помимо анемий, снижается при увеличении объёма циркулирующей крови — беременности, гиперпротеинемии, гипергидратации.

Эритроцитоз (более $6 \times 10^{12}/л$ у мужчин и $5 \times 10^{12}/л$ у женщин — один из характерных лабораторных признаков эритремии. Эритроцитоз может быть абсолютным (увеличение массы циркулирующих эритроцитов, вследствие усиления эритропоэза) и относительным (вследствие уменьшения объёма циркулирующей крови).

Шизоциты – мелкие фрагменты эритроцитов, либо дегенеративно изменённые клетки неправильной формы диаметром 2,0 – 3,0 мкм. Они встречаются в мазках крови при ангиопатической гемолитической анемии, васкулитах, гломерулонефритах, уремии, гемоглобинопатиях, ДВС-синдроме, миелодиспластическом синдроме и других заболеваниях.

Анизоцитоз – присутствие в мазках крови эритроцитов, различающихся по размеру и диаметру. Степень выраженности обычно выражается в крестах. Для более детального анализа строится кривая Прайс-Джонса, отражающая распределение эритроцитов в крови по диаметру. При микроцитозе кривая сдвигается влево, она становится ассиметричной, ширина ее увеличивается. При макроцитозе кривая Прайс-Джонса сдвигается вправо, уплощается, основание ее расширяется.

Анизоцитоз наблюдается при железодефицитной анемии как в начальном периоде заболевания, так и как следствие проводимой терапии, железом, в результате чего в крови появляются эритроциты, богатые гемоглобином, сформировавшиеся в период восстановления уровня железа в крови, и одновременно циркулируют эритроциты малого размера, которые образовались до начала лечения. Анизоцитоз имеет место при заболеваниях, характеризующихся наличием в организме как патологически измененного, так и нормального пула эритроцитов. При гипопластической анемии, пароксизмальной ночной гемоглобинурии, миелопролиферативных заболеваниях, талассемии присутствуют как микроциты, так и нормоциты, а также макроциты.

2. Изменение формы эритроцитов.

Пойкилоцитоз – это разнообразное изменение формы эритроцитов (вытянутые, звездчатые, грушевидные и т. п.), которое рассматривается как признак неполноценной регенерации эритроцитов в костном мозге. Пойкилоцитоз встречается при всех типах анемий, причем в некоторых случаях форма эритроцитов может служить важным критерием диагностики определенного типа анемий. Немногие типы эритроцитов оказываются специфически характерными для конкретных патологий. Это наследственные заболевания: наследственный сфероцитоз – болезнь Минковского-Шоффара (микросфероциты), серповидно-клеточная анемия (серповидные клетки). Остальные формы могут появляться при различных патологических состояниях.

Варианты изменения формы эритроцитов

Акантоциты (шпороклеточные, листообразные) – эритроциты с выпячиваниями различной величины, расположенными на разных расстояниях друг от друга в количестве от 3 до 12. Акантоциты имеют звездчатую форму и не имеют паллора. Встречаются при афлипопротеинемии, тяжелых заболеваниях печени (токсический гепатит, цирроз, алкогольное поражение печени), наследственном дефиците пируваткиназы, наследственном сфероцитозе (тяжелые формы), при нарушении обмена липидов, гепаринотерапии, реже – при нервной анорексии. Незначительное число акантоцитов можно встретить у пациентов после спленэктомии.

Эхиноциты (шишковидные, ягодоподобные, зубчатые) – клетки, напоминающие по форме морского ежа, имеют шипы (спикулы) одинаковых размеров, располагающиеся равномерно по поверхности эритроцита в количестве до 30 – 50. Соотношение поверхности к объёму остаётся нормальным. Встречается при наследственном дефиците пируваткиназы, фосфоглицераткиназы, уремии, трансфузии крови, содержащей старые эритроциты, раке желудка, пептической язве, осложненной кровотечением, гипофосфатемии, гипомагниемии. Часто встречается как артефакт.

Овалоциты (эллиптоциты) – эритроциты овальной или удлинённой формы, бледность в центре не прослеживается. Изменение формы эритроцита обусловлено аномалиями мембраны или гемоглобина. В небольшом количестве (около 1%) встречаются и у здоровых людей. Увеличение числа овалоцитов в препарате до 10% наблюдается при эллипсовидноклеточной анемии, талассемии, мегалобластной анемии, железодефицитных анемиях, при циррозах печени, анемиях, связанных с дефицитом глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, глутатиона. Если овалоциты однородны и составляют более 25%, то это более характерно для наследственного овалоцитоза. Может встречаться как артефакт (в утолщении мазка).

Дрепаноциты (серповидные клетки) – удлинённые, полулунные эритроциты, похожие на серп или на листья остролиста. Характерны для серповидноклеточной анемии. Содержат гемоглобин S, способный полимеризоваться и деформировать мембрану, особенно при низком содержании кислорода в крови.

Сфероциты – эритроциты, утратившие свою двояковогнутую форму. Имеют шаровидную форму, большую толщину, у них отсутствует паллор. Сфероциты – клетки, готовые к гемолизу. Сфероцитоз наблюдается при гемолитических анемиях, септицемии, несовместимости крови по системе АВ0, синдроме диссеминированного внутрисосудистого свертывания, при имплантации искусственных клапанов сердца, ожогах, аутоиммунной болезни. Различают сфероциты обычных размеров и микросфероциты, диаметр которых 4-6 мкм.

Микросфероциты – мелкие гиперхромные клетки, у которых отсутствует просветление в центре, характерное для нормальных эритроцитов. Микросфероцитоз является патогномоничным признаком для анемии Минковского – Шоффара (наследственный микросфероцитоз). В небольшом количестве микросфероциты могут встречаться у здоровых людей и при других гемолитических анемиях.

Мишеневидные клетки (кодоциты) – плоские бледные эритроциты с окрашенной периферией (наружным ободком) и окрашенным центром (центральным скоплением гемоглобина в виде мишени) и находящимся между ними кольцом просветления. Если смотреть на клетку сбоку, то она похожа на две соединённые мексиканские шляпы. Регистрируются при талассемии, механической желтухе, свинцовом отравлении, после спленэктомии.

Дакриоциты (слезоподобные, клетки «падающей капли») – клетки напоминают каплю или головастика. Обычно являются микроцитами, часто содержат включение – тельце Гейнца. Выявляются при миелофиброзе,

Эритроцитарные параметры.

RBC (red blood cells) - количество эритроцитов крови ($\times 10^{12}/л$).

Определение количества эритроцитов осуществляется путем вычитания из общего числа клеток в цельной крови тромбоцитов и лейкоцитов. Для исключения из счета тромбоцитов, которые имеют существенно меньшие размеры по сравнению с эритроцитами и лейкоцитами, используются пороговые значения. Считаются все частицы размером более 36 фл. Лейкоциты считаются в лизате после разрушения эритроцитов. Коэффициент вариации для данного параметра составляет 1-2%, а в некоторых приборах - менее 1%. Следует отметить, что иногда лейкоциты включаются в подсчет вместе с эритроцитами, так как их влияние в норме незначительно. Их количество на 3 порядка (несколько тысяч) существенно меньше числа эритроцитов (несколько миллионов). В случаях гиперлейкоцитоза при таком способе ошибка измерения эритроцитов возрастает.

Присутствие криоглобулинов может вызвать увеличение WBC, RBC или PLT и концентрации HGB. В таких случаях следует прогреть образец крови до 37 °C в течение 30 минут и немедленно провести измерение. Криоглобулинемия может наблюдаться у больных миеломой, макроглобулинемией Вальденстрема, злокачественными новообразованиями, лейкозом, лимфопролиферативными и аутоиммунными заболеваниями, вирусным гепатитом, сахарным диабетом.

Агглютинация эритроцитов может привести к занижению показателей RBC, увеличению MCV. Это можно проверить по повышенным значениям MCH и MCHC.

Возможные ошибки измерения эритроцитов

Ложное повышение

- гигантские тромбоциты (с объемом более 30 фл)
- криоглобулинемия
- высокий лейкоцитоз (более $50 \times 10^9/л$)

Ложное понижение

- агглютинация эритроцитов
- гемолизованные образцы крови
- выраженный микроцитоз эритроцитов

Нормобласты (NRBC) - большинство гематологических анализаторов подсчитывает все ядродержащие клетки, поэтому при наличии нормобластов в периферической крови они определяются как лейкоциты и могут быть причиной увеличения WBC и лимфоцитов, т.к. нормобласты имеют размер малого лимфоцита. В этих случаях необходим строгий визуальный контроль и коррекция истинного количества лейкоцитов.

Нормобласты появляются в периферической крови при онкогематологических заболеваниях, анемиях (гемолитические, В₁₂- и фолиеводефицитные), тяжелых септических состояниях и интоксикациях. Появление нормобластов в послеоперационном периоде является плохим прогностическим признаком, предсказывающим возможный летальный исход. Наличие в крови нормобластов может расцениваться как маркер гипоксии и воспаления.

Эритроцитарные индексы (MCV, RDW, MCH, MCHC) – индексы, позволяющие количественно оценить основные морфологические характеристики эритроцитов.

Средний объем эритроцита. MCV (mean corpuscular volume) измеряют в фемтолитрах (фл) или кубических микрометрах. В гематологических анализаторах MCV вычисляют делением суммы клеточных объемов на количество эритроцитов. Этот также параметр можно рассчитать по формуле: $Ht (\%) \times 10 / RBC (10^{12}/л)$. Значения MCV, находящиеся в пределах 80–100 фл, характеризуют эритроцит как нормоцит, меньше 80 фл — как микроцит, больше 100 фл — как макроцит. MCV меняется в течение жизни: у новорожденных достигает 128 фл, в первую неделю снижается до 100-112 фл, к 1 году составляет 77-79 фл, в возрасте 4-3 лет нижняя граница нормы (80 фл) стабилизируется.

Клиническое значение MCV аналогично значению однонаправленных изменений цветового показателя и содержания Hb в эритроците (MCH), так как обычно макроцитарные анемии являются одновременно гиперхромными (или нормохромными), а микроцитарные — гипохромными. MCV используют главным образом для характеристики типа анемии. Изменения MCV могут дать полезную информацию о нарушениях водноэлектролитного баланса. Повышение MCV свидетельствует о гипотоническом характере нарушений водноэлектролитного баланса, тогда как понижение — о гипертоническом характере.

Различия между двумя последними индексами заключаются в том, что МСН указывает на массу гемоглобина в одном эритроците и выражается в долях грамма (пикограммах) а МСНС показывает концентрацию гемоглобина в одном эритроците, т.е. соотношение содержания гемоглобина к объему клетки. В отличие от МСН МСНС не зависит от клеточного объема и является чувствительным показателем нарушения процессов гемоглобинообразования.

МСНС используют для дифференциальной диагностики анемий. Снижение МСНС характерно для гипохромных железодефицитных анемий, повышение — для гиперхромных. Снижение МСНС наблюдают при заболеваниях, сопровождающихся нарушением синтеза Hb. Величина МСНС позволяет диагностировать характер нарушений водно-электролитного баланса. При этом следует анализировать направленность изменения значений МСНС, а не их абсолютные величины, так как анализаторы измеряют эритроциты в искусственной изотонической среде.

Повышение МСНС выше 38 г/дл встречается редко (врожденный сфероцитоз), т.к. это может закончиться кристаллизацией гемоглобина и гемолизом эритроцита. Чаще всего увеличение МСНС свидетельствует об ошибках, допущенных при измерении пробы (погрешности определения гемоглобина или MCV). Поэтому данный параметр часто используется в качестве индикатора ошибок, допущенных на аналитическом или преаналитическом этапах работы.

Заболевания и состояния, сопровождающиеся изменением МСНС

Повышение МСНС	Снижение МСНС (менее 31 г/л)
Гиперхромные анемии: сфероцитоз; овалоцитоз	Гипохромные анемии: железодефицитные; сидеробластические; талассемии
Гиперосмолярные нарушения водно-электролитного обмена	Гипоосмолярные нарушения водно-электролитного обмена

Показатель распределения эритроцитов по объёму (RDW, red cell distribution width) характеризует вариабельность объёма эритроцитов. Референтные величины RDW — 11,5–14,5%. Анизоцитоз улавливается прибором значительно быстрее, чем при визуальном просмотре мазка крови, так как прибор измеряет непосредственно объем клеток, а морфолог под микроскопом видит клетку в плоскости и может пропустить начальные изменения объема. Кроме того, оценка степени анизоцитоза под микроскопом сопровождается целым рядом ошибок. При высыхании в мазках диаметр эритроцитов уменьшается на 10-20%. В толстых препаратах он меньше, чем в тонких. Показатель RDW характеризует колебания объема клеток внутри популяции и не связан с абсолютной величиной объема эритроцитов. Поэтому при наличии в крови популяции эритроцитов с измененным, но достаточно однородным размером (например, микроциты), значения RDW могут быть в пределах нормы. В то же время при выраженном анизоцитозе эритроцитов показатель MCV, характеризующий средний объем всей клеточной популяции, является нормальным, а RDW будет повышенным. Таким образом, сочетанное использование двух параметров - RDW и MCV - позволяет точнее характеризовать изменения в периферическом звене эритронов.

Высокое значение RDW означает гетерогенность популяции эритроцитов или наличие в пробе крови нескольких популяций эритроцитов (например, после переливания крови). RDW следует анализировать вместе с гистограммой эритроцитов, которую представляют гематологические анализаторы.

Классификация анемий по показателям RDW и MCV

Показатели	MCV меньше нормы (микроцитарные)	MCV в норме (нормоцитарные)	MCV выше нормы (макроцитарные)
RDW в норме (гомогенные)	β-Талассемия	Хронические заболевания	Болезни печени
	Хронические заболевания	Острая кровопотеря Гемолитическая анемия вне криза	Апластическая анемия
RDW выше нормы (гетерогенные)	Дефицит железа	Дефицит железа	Дефицит витамина В ₁₂ и фолиевой кислоты
		Гемоглобинопатии	Гемолитический криз
		Миелодиспластический синдром	Агглютинация эритроцитов
	Миелофиброз		Лейкоцитоз выше 50×10 ⁹ /л

Гистограмма - это графическое распределение различных видов клеток по их количеству и объему. Для построения гистограмм гематологические анализаторы подсчитывают миллионы клеток в одном образце,

Ложное понижение

- агглютинация эритроцитов
- выраженный микроцитоз эритроцитов (< 36 фл)

Цветовой показатель. Цветовой показатель отражает относительное содержание Hb в эритроците, клинически аналогичен MCH и коррелирует с MCV. Определяется как соотношение утроенного гемоглобина к первым трём цифрам числа эритроцитов без запятой. По величине цветового показателя анемии принято делить на гипохромные (<0,8), нормохромные (0,85 – 1,05) и гиперхромные (> 1,1). Гипохромия (снижение цветового показателя) может быть следствием либо уменьшения объёма эритроцитов (микроцитоз), либо малой насыщенности нормальных по объёму эритроцитов Hb. Гипохромия — истинный показатель дефицита железа в организме (железодефицитная анемия) или железорефрактерности, то есть нарушения усвоения железа нормобластами красного костного мозга, приводящего к нарушению синтеза гема (талассемия, некоторые гемоглобинопатии, нарушения синтеза порфиринов, отравление свинцом). Гиперхромия (повышение цветового показателя) зависит только от увеличения объёма эритроцита, а не от повышенного насыщения его Hb, поэтому гиперхромия всегда сочетается с макроцитозом. К гиперхромным анемиям относятся мегалобластные (при дефиците витамина B12 и фолиевой кислоты), гипопластические (в том числе при гемобластозах и диссеминации злокачественных заболеваний), многие хронические гемолитические, сидеробластные (при миелодиспластическом синдроме), острые постгеморрагические, сопутствующие циррозу печени, при гипотиреозе, приёме цитостатиков, пероральных контрацептивов, противосудорожных препаратов.

Ретикулоциты (Reticulocytes) – непосредственные предшественники зрелых эритроцитов. Это молодые эритроциты с остатками РНК, выявляемой при специальной суправитальной окраске (бриллиант-крезиловой синью, метиленовым синим). В отличие от эритроцитов, в которых при световой микроскопии не выявляются внутриклеточные структуры в ретикулоцитах обнаруживаются гранулярные и нитевидные образования (ретикулофиламентозная субстанция). Ретикулоциты образуются в костном мозге из эритробластов после потери ими ядра (энуклеации), где дозревают ещё в течение 36 – 44 ч., после чего поступают в периферическую кровь. Время созревания ретикулоцитов до зрелых эритроцитов в периферической крови около 24 – 30 ч. У взрослых в норме встречается от 1,5 до 15 ретикулоцитов на 1000 эритроцитов. При ускорении эритропоэза доля ретикулоцитов возрастает, при замедлении снижается. В случае усиленного разрушения эритроцитов доля ретикулоцитов может превышать 50%. Ретикулоциты обнаруживаются у новорожденных в большем количестве чем у взрослых. Количество ретикулоцитов отражает скорость производства эритроцитов в костном мозге. При напряженном эритропоэзе в кровь попадают молодые ретикулоциты, которые продолжают дозревать в периферической крови. Резкое снижение эритроцитов в крови может привести к искусственному завышению числа ретикулоцитов, так последние рассчитываются в % от всех эритроцитов. Поэтому для оценки тяжести анемии целесообразно использовать абсолютное количество ретикулоцитов и «индекс продукции ретикулоцитов», который выражается по формуле: $\% \text{ ретикулоцитов} \times \text{гематокрит пациента} / 45 \times 1,85$, где 45 – нормальный гематокрит, а 1,85 – количество суток, необходимых для поступления новых ретикулоцитов в периферическую кровь. Индекс < 2 свидетельствует о гипорегенераторном характере эритропоэза, > 2-3 – об увеличении образования эритроцитов. **Гипо(а)регенераторный** тип характерен для гипо(а)пластических анемий, лейкомий, апластических кризов при тяжелых гемолитических анемиях, панмиелофтизе. В отсутствие лечения при мегалобластной анемии количество ретикулоцитов в крови пониженное. **Гиперрегенераторный** характер как ответ на повышенную потребность в новых эритроцитах свойственен гемолитическим анемиям; его выраженность увеличивается после острых эпизодов гемолиза (содержание ретикулоцитов до 200-250%, а иногда и выше). **Ретикулоцитоз** (60-100% и более) сопровождается острым кровотечением (наблюдается на 3-4-й день после кровотечения).

Ретикулоцитарные параметры. В связи с появлением высокотехнологичных гематологических анализаторов стало возможным получать, помимо классических, дополнительные информативные ретикулоцитарные параметры. Аббревиатура ретикулоцитарных показателей в анализаторах различных фирм-производителей различна.

Классические параметры ретикулоцитов: RET% - относительное количество ретикулоцитов (в %); RET# - абсолютное количество ретикулоцитов ($\times 10^9/\text{л}$);

Ложное повышение:

- включения в эритроцитах (тельца Жолли, малярийные паразиты)
- высокий лейкоцитоз
- аномальные формы гемоглобина
- гипертромбоцитоз
- гигантские тромбоциты

Ретикулоцитоз с резким увеличением фракции незрелых ретикулоцитов на фоне активного эритропоэза отражает повышенную регенераторную способность костного мозга. Сохраняющийся ретикулоцитоз может свидетельствовать о продолжающемся кровотечении.

Ретикулоцитопения - индикатор угнетения эритропоэза. Нормализация абсолютного количества ретикулоцитов (RET#) - показатель восстановления пролиферативной активности нормобластов.

протезировании клапанов сердца, экстракорпоральном кровообращении; при ночной пароксизмальной гемоглобинурии (болезнь Маркнифавы–Микели).

Тромбоцитопении, вызванные секвестрацией тромбоцитов: секвестрация в гемангиоме, секвестрация и разрушение в селезёнке (гиперспленизм при болезни Гоше, синдроме Фелти, саркоидозе, лимфоме, туберкулёзе селезёнки, миелопролиферативных заболеваниях со спленомегалией и др.).

Тромбоцитопении, вызванные повышенным потреблением тромбоцитов: синдром диссеминированного внутрисосудистого свёртывания (ДВС) крови, тромботическая тромбоцитопеническая пурпура и др.

Количество тромбоцитов в крови, при котором необходима коррекция:

- ниже $10-15 \times 10^9/\text{л}$ — при отсутствии других факторов риска кровотечения;
- ниже $20 \times 10^9/\text{л}$ — при наличии других факторов риска кровотечения;
- ниже $50 \times 10^9/\text{л}$ — при хирургических вмешательствах или кровотечении.

Тромбоцитарные параметры

PLT (platelet) - количество тромбоцитов ($\times 10^9/\text{л}$). В отличие от ручного подсчета тромбоцитов, где проводится предварительный лизис эритроцитов, автоматические счетчики крови анализируют тромбоциты и эритроциты без предварительной обработки. Это создает проблему дифференцирования больших форм тромбоцитов (макротромбоцитов) и сравнимых с ними по объему эритроцитов (микроцитов), их фрагментов (шизоцитов), а также фрагментов цитоплазмы лейкоцитов (клеточный дебрис). Существует несколько механизмов, предупреждающих подсчет одних элементов вместо других. Например, в приборах, использующих кондуктометрический метод, анализируется не только высота электрического импульса, но и его форма. Существует система дискриминаторов, определяющих высоту электрического сигнала, пропорциональную размеру частицы, и ширину (длительность) импульсов. Все импульсы, соответствующие размерам частиц от 1,8 до 30,0 фл, подсчитываются как тромбоциты.

При агглютинации или агрегации эритроцитов тромбоциты могут оказаться внутри агрегатов, что приводит к снижению количества PLT. Гипертромбоцитоз (более $1,000 \times 10^9/\text{л}$) может превышать допустимый порог измерения PLT, что приведет к занижению показателя PLT. Это зависит от пределов линейности конкретного прибора. Гемолизированные образцы крови содержат струму эритроцитов, что приводит к повышению показателей PLT. При взятии крови с использованием гепарина или цитрата натрия в качестве антикоагулянта отмечается более выраженная агрегация тромбоцитов, что приведет к заниженному значению PLT.

Многие исследователи предлагают использовать только один стандартный антикоагулянт - K_2 ЭДТА в концентрации 1,5 - 2,2 мг на 1 мл крови. Однако и это не спасает от появления артефактов. При наличии аутоантител к тромбоцитам ЭДТА индуцирует агрегацию тромбоцитов, что проявляется псевдотромбоцитопенией. Тщательно выполненный подсчет тромбоцитов методом фазово-контрастной микроскопии обычно используется в качестве референсного метода, но и он характеризуется большим коэффициентом вариации - 7-23%. Для большинства современных гематологических анализаторов коэффициент вариации подсчета PLT не превышает 2-4%.

Возможные ошибки измерения тромбоцитов

Ложное повышение	<ul style="list-style-type: none"> • микроцитоз • криоглобулинемия • гемолизированные образцы крови • наличие фрагментов эритроцитов и лейкоцитов
Ложное понижение	<ul style="list-style-type: none"> • агрегация тромбоцитов • тромбоцитарный "сателлизм" (прилипание тромбоцитов к лейкоцитам) (рис. 41 - не приводится) • гигантские тромбоциты • агглютинация эритроцитов • тромбообразование • взятие крови с гепарином или цитратом • гипертромбоцитоз (более $1,000 \times 10^9/\text{л}$)

MPV (mean platelet volume) - средний объем тромбоцитов выражается в фемтолитрах (фл) или куб. мкм. Референтные величины среднего объема тромбоцита — от 7,4 до 10,4 фл или 3,6–9,4 мкм³ имеет тенденцию к увеличению с возрастом: с 8,6 - 8,9 фл у детей 1 - 5 лет до 9,5 - 10,6 фл у людей старше 70 лет. "Молодые" кровяные пластинки имеют больший объем, поэтому при ускорении тромбоцитопозеза средний объем тромбоцитов возрастает. В течение первых двух часов после взятия крови с ЭДТА происходит набухание тромбоцитов с изменением их объема и соответственно увеличением MPV. При наличии макротромбоцитов порог измерения для тромбоцитов может быть превышен, и они не подсчитываются, что приводит к занижению MPV. Небольшие фрагменты эритроцитов и лейкоцитов могут препятствовать измерению MPV. Тромбоциты

- судорожный синдром способствует росту количества лейкоцитов;
- инъекции адреналина способствуют лейкоцитозу, особенно нейтрофилии;
- приступы пароксизмальной тахикардии способствуют лейкоцитозу;
- боль, тошнота, рвота, возбуждение способствуют лейкоцитозу при отсутствии инфекции за счет перераспределения маргинальных клеток в кровотоки;
- анестезия эфиром способствует лейкоцитозу, а наркоз производными барбитуратов обычно снижает уровень лейкоцитов;
- в период овуляции может появиться небольшой лейкоцитоз и эозинопения;
- во время беременности появляется легкий лейкоцитоз, а нейтрофилия отчетливо выражена при приближении срока родов, так и во время родов.

Количество лейкоцитов в крови зависит от скорости притока клеток из красного костного мозга и скорости выхода их в ткани. Увеличение количества лейкоцитов в периферической крови выше $10 \times 10^9/\text{л}$ называют лейкоцитозом, уменьшение ниже $4 \times 10^9/\text{л}$ — лейкопенией. Увеличение или уменьшение количества отдельных видов лейкоцитов в крови может быть абсолютным или относительным в зависимости от общего содержания лейкоцитов — нормального, повышенного или пониженного. Определить абсолютное содержание отдельных видов лейкоцитов в единице объема крови можно по формуле: $A (\%) \times \text{WBC} (10^9/\text{л}) / 100\%$, где A — содержание определённого вида лейкоцитов в %. Например, увеличение процентного содержания лимфоцитов (60%) при сниженном общем количестве лейкоцитов ($2 \times 10^9/\text{л}$) означает относительный лимфоцитоз, так как абсолютное количество этих клеток ($1,2 \times 10^9/\text{л}$) в пределах нормального диапазона.

Наиболее часто лейкоцитоз развивается вследствие острых инфекций, особенно вызванных кокками (стафилококком, стрептококком, пневмококком, гонококком), кишечной палочкой, палочкой дифтерии и др. При этих инфекциях количество лейкоцитов обычно составляет $15-25 \times 10^9/\text{л}$. Выраженный лейкоцитоз $20-40 \times 10^9/\text{л}$ характерен для больных с пневмококковой пневмонией, скарлатиной, сильными ожогами. Лейкоцитоз развивается в течение 1–2 ч после начала острого кровотечения, он особенно выражен при кровоизлиянии в брюшную полость, плевральное пространство, сустав или в непосредственной близости от твердой мозговой оболочки. При прерывании трубной беременности количество лейкоцитов может повышаться до $22 \times 10^9/\text{л}$, после разрыва селезёнки — до $31 \times 10^9/\text{л}$. Лейкоцитоз обычно сопровождает острую атаку подагры (до $31 \times 10^9/\text{л}$). У большинства больных острым аппендицитом уже в самом начале заболевания отмечают повышение количества лейкоцитов в крови. При катаральной форме аппендицита содержание лейкоцитов в крови находится в пределах $10-12 \times 10^9/\text{л}$, изменений в лейкоцитарной формуле крови обычно не наблюдают. При флегмонозном аппендиците количество лейкоцитов в крови достигает $12-20 \times 10^9/\text{л}$, наблюдают регенеративный сдвиг нейтрофилов с высоким содержанием палочкоядерных форм (до 15%). При гангренозной форме аппендицита количество лейкоцитов значительно снижается или находится в пределах нормы — $6-8 \times 10^9/\text{л}$, но воспалительный сдвиг в лейкоцитарной формуле крови может достигать значительной степени [содержание палочкоядерных форм 15–20% и более, возможно появление юных нейтрофилов (4–6%) и даже миелоцитов (2%)].

Ложное увеличение количества лейкоцитов, подсчитанное с помощью автоматического анализатора, возможно при наличии криоглобулинемии, сгустков или агрегации тромбоцитов или в присутствии ядерных форм клеток красной крови (эритробластов) или незлированных эритроцитов, которые будут сосчитаны как лейкоциты.

Целый ряд острых инфекций (тифы, паратифы, сальмонеллёзы и др.) может в отдельных случаях привести к лейкопении. Особенно это характерно для истощения костномозговых резервов нейтрофилов в результате применения современных химиотерапевтических средств, при пищевом дефиците или общей ослабленности организма. Некоторые бактерии и определённые вирусы (жёлтой лихорадки, кори, краснухи, ветряной оспы и др.), риккетсии и простейшие способны вызвать лейкопению у прежде совершенно здоровых людей.

Образование лейкоцитов (лейкопоэз) происходит в костном мозге и органах лимфатической системы.

Заблуждения и состояния, сопровождающиеся изменением количества лейкоцитов

Лейкоцитоз	Лейкопения
Инфекции (бактериальные, грибковые, вирусные и др.)	Аплазия и гипоплазия красного костного мозга
Воспалительные состояния	Повреждение костного мозга химическими средствами, ЛС
Злокачественные новообразования	Ионизирующее излучение
Травмы	Гиперспленизм (первичный, вторичный)
Лейкозы	Острые лейкозы
Уремия	Миелофиброз
Результат действия адреналина и стероидных гормонов	Миелодиспластические синдромы
	Плазмоцитомы
	Метастазы новообразований в костный мозг
	Болезнь Аддисона–Бирмера
	Сепсис
	Тиф и паратиф
	Анафилактический шок
	Коллагенозы
	ЛС (сульфаниламиды и некоторые антибиотики, нестероидные противовоспалительные средства, тиреостатики, противоэпилептические препараты и др.)

Лейкоцитарные параметры

мазка. Если количество лейкоцитов в крови менее $2 \times 10^9/\text{л}$, то некоторые лаборатории производят подсчет менее 100 клеток. Однако при этом резко снижается точность, поэтому такой подсчет не рекомендуется. Если не удастся найти в мазке 100 клеток, предлагается делать лейкоконцентрат, однако следует помнить, что при приготовлении последнего происходят морфологические изменения лейкоцитов и неравномерное распределение типов клеток.

Широкое распространение для оценки выраженности эндогенной интоксикации получил **лейкоцитарный индекс интоксикации (ЛИИ)**, референтная величина для которого составляет приблизительно 1,0. Формула расчета следующая: $\text{ЛИИ} = [4(\text{миелоциты}) + 3(\text{метамиелоциты}) + 2(\text{палочкоядерные нейтрофилы}) + (\text{сегментоядерные}) \times (\text{плазмциты}+1)] / [(\text{лимфоциты}+\text{моноциты}) \times (\text{эозинофилы}+1)]$. Колебания ЛИИ у больных с инфекционными и септическими заболеваниями объективно соответствуют изменениям клинической картины и степени выраженности эндогенной интоксикации. Повышение ЛИИ до 4–9 свидетельствует о значительном бактериальном компоненте эндогенной интоксикации, умеренное повышение (до 2–3) — либо об ограничении инфекционного процесса, либо об очаге некробиотических изменений ткани. Лейкопения с высоким ЛИИ — тревожный прогностический признак. ЛИИ можно использовать для оценки эффективности проводимого лечения.

Автоматический подсчет лейкоцитарной формулы.

Многие современные гематологические анализаторы определяют от 6 до 10 показателей лейкоцитарной формулы с учетом относительного и абсолютного количества клеток, так называемые 3Diff или 5Diff.

Гематологические анализаторы, определяющие 18 параметров крови, дифференцируют все WBC на три популяции (3Diff) и определяют как относительное, так и абсолютное их содержание:

- Лимфоциты, %, - LYM% или LY%;
- Лимфоциты, кл/мкл, - LYM или LY#;
- Гранулоциты, %, - GRN% или GR%;
- Гранулоциты, кл/мкл, - GRN или GR#;
- Моноциты, %, - MON% или MO%;
- Моноциты, кл/мкл, - MON или MO#.

Главным преимуществом автоматического подсчета лейкоцитарной формулы является повышение точности результатов за счет измерения большого количества клеток по сравнению с микроскопическим исследованием. Ограниченное число клеток, анализируемое при подсчете мазка крови, неравномерное распределение лейкоцитов в препарате, использование нестандартных методов подсчета являются главными причинами расхождения результатов обоих методов. В то же время при микроскопическом исследовании врач дифференцирует лейкоциты не только по их размерам, но и оценивает в полном объеме морфологию клетки (ядерно-цитоплазматическое отношение, структуру распределения хроматина и особенности окраски ядра, наличие зернистости в цитоплазме), что позволяет ему с гораздо большей точностью отнести клетку к тому или иному виду лейкоцитов.

Для получения наиболее точных результатов дифференциального анализа лейкоцитов рекомендуется исследование образцов крови проводить в промежутке времени от 30 минут до 5 часов после взятия материала. При использовании предварительного разведения крови - от 5 минут до 1 часа.

На дифференциальный подсчет популяций лейкоцитов влияют те же факторы, что и на общее количество лейкоцитов. Появление "сигналов тревоги" указывает на наличие патологических изменений в исследуемом образце и требует микроскопии окрашенного мазка крови.

Некоторые факторы, влияющие на дифференциальный подсчет лейкоцитов:

- LY и LY%: нормобластоз, резистентные к лизису эритроциты (например, эритроциты, содержащие малярийный плазмодий) могут быть причиной ошибочного измерения LY.
- MON и MON%: крупные лимфоциты, атипичные лимфоциты, бластные клетки и избыточное количество базофилов могут оказывать влияние на точность подсчета MO.
- GRN и GRN%: избыток эозинофилов, метамиелоцитов, промиелоцитов, бластных клеток и плазматических клеток может быть причиной ошибочного подсчета GR и GR%.

Лейкоцитарная гистограмма

На лейкоцитарной гистограмме показано распределение клеток по объему после обработки лейкоцитов специальным лизатом и лизиса эритроцитов. Субпопуляции лейкоцитов попадают в три главные области гистограммы распределения WBC, которые отделены с помощью пороговых значений (дискриминаторов). Если результаты подсчета попадают в область нормальных значений, то никаких маркеров, предупреждающих о возможной патологии, не появляется.

Форма гистограммы изменяется при нарушении распределения лейкоцитов по популяциям или недостаточном лизисе эритроцитов.

Таким образом, гематологические анализаторы позволяют выявлять патологические состояния, однако не способны их дифференцировать. Необходимо учитывать, что 3Diff-анализаторы в некоторых случаях (например, при микроформах бластов) не в состоянии отличить патологические клетки от нормальных клеток и поэтому не могут быть использованы для скрининга нормы. Гематологические анализаторы, дифференцирующие лейкоциты на три популяции (3Diff), могут с успехом использоваться для динамического наблюдения за состоянием крови пациентов.

анафилактический шок; спленомегалия различного происхождения Наследственные формы (циклическая нейтропения, семейная доброкачественная нейтропения и др.)

Нейтропения — содержание нейтрофилов в крови ниже $1,5 \times 10^9/\text{л}$.

При анализе причин нейтропений необходимо помнить и о редких заболеваниях, сопровождающихся снижением количества нейтрофилов в крови:

- Нейтропения Костманна — аутосомно-рецессивное наследственное заболевание, обусловленное дефектом рецептора колониестимулирующего фактора. Характеризуется тяжёлой нейтропенией (нейтрофилов или совсем нет, или их содержание не превышает 1–2%) и сопровождается различными инфекциями, вначале гнойничками на теле — фурункулами и карбункулами, в дальнейшем — повторными пневмониями, абсцессами лёгких. Симптомы заболевания появляются на 1–3-й неделе после рождения, если дети не умирают на 1-м году жизни, то в дальнейшем тяжесть инфекционных процессов несколько уменьшается, наступает относительная компенсация болезни. Общее количество лейкоцитов в крови обычно в пределах нормы (за счёт увеличения количества моноцитов и эозинофилов), нейтропения очень глубокая, содержание нейтрофилов менее $0,5 \times 10^9/\text{л}$.
- Доброкачественная наследственная нейтропения — семейное заболевание, клинически часто не проявляющееся. У большинства пациентов общее количество лейкоцитов в норме, нейтропения умеренная (до 20–30%), другие показатели крови в норме.
- Циклическая нейтропения — заболевание, характеризующееся периодическим (обычно через довольно точный интервал — от 2–3 нед до 2–3 мес, у каждого больного индивидуальный) исчезновением из крови нейтрофилов. До возникновения «приступа» кровь больного имеет нормальный состав, а при исчезновении нейтрофилов увеличивается содержание моноцитов и эозинофилов.

Агранулоцитоз — резкое уменьшение количества гранулоцитов в периферической крови вплоть до полного их исчезновения, ведущее к снижению сопротивляемости организма к инфекциям и развитию бактериальных осложнений. В зависимости от механизма возникновения различают миелотоксический и иммунный агранулоцитоз. Миелотоксический агранулоцитоз возникает в результате действия цитостатических факторов. Ему свойственно сочетание лейкопении с тромбоцитопенией и нередко с анемией (то есть панцитопения). Иммунный агранулоцитоз бывает главным образом двух типов: гаптенный и аутоиммунный, а также аутоиммунный.

Эозинофилы — клетки, фагоцитирующие комплексы Ag-AT, представленные главным образом IgE. После созревания в костном мозге эозинофилы несколько часов (около 3–4) находятся в циркулирующей крови, а затем мигрируют в ткани, где продолжительность их жизни составляет 8–12 дней. Для эозинофилов характерен суточный ритм колебания в крови, самые высокие показатели отмечаются ночью, самые низкие — днём. Действие эозинофилов проявляется в сенсibilизированных тканях. Они вовлекаются в реакции гиперчувствительности немедленного и замедленного типа.

Эозинофилия — повышение количества эозинофилов в крови (более $0,4 \times 10^9/\text{л}$ у взрослых и $0,7 \times 10^9/\text{л}$ у детей). При некоторых состояниях (фибропластический парietальный эндокардит Лефлера, узелковый полиартериит, лимфогранулематоз) возможны гиперэозинофильные лейкомоидные реакции с эозинофильной гиперплазией красного костного мозга и инфильтрацией эозинофилами тканей. Наиболее часто сопровождаются эозинофилией паразитарные инвазии и atopические заболевания. Инвазия глистными паразитами — причина длительной эозинофилии; реже эозинофилию вызывают простейшие. При инвазии кишечными паразитами эозинофилия редко бывает выраженной. Тем не менее увеличение содержания эозинофилов до 10–30% и даже до 69% возможно при стронгилоидозе. При аллергических состояниях эозинофилия обычно умеренная — от $0,2$ до $1,5 \times 10^9/\text{л}$, но в некоторых случаях может быть и выше, например, при бронхиальной астме или ангионевротическом отёке. Выраженную и стабильную эозинофилию (от 10 до 60%) наблюдают при пемфигусе и при герпетиформном дерматите Дюринга. Кроме того, эозинофилия сопровождает узелковый полиартериит (у 18% больных содержание эозинофилов достигает 84%), ревматоидный артрит, осложнённый васкулитами и плевритами. Также встречается гиперэозинофильный синдром, при котором лейкоцитоз достигает $138 \times 10^9/\text{л}$, при этом на эозинофилы приходится 93%.

Заболевания и состояния, сопровождающиеся эозинофилией

Основные причины	Клинические формы
Аллергические заболевания	Бронхиальная астма, сенная лихорадка, аллергический дерматит, лекарственная аллергия
Инвазии паразитов	Аскаридоз, токсокароз, трихинеллёз, эхинококкоз, шистозомоз, филяриоз, стронгилоидоз, описторхоз, анкилостомидоз, лямблиоз
Опухоли	Гемобластозы (острые лейкозы, хронический миелолейкоз, эритремия, лимфомы, лимфогранулематоз), другие опухоли, особенно с метастазами или с некрозом
Иммунодефициты	Синдром Вискотта–Олдрича

Моноциты образуются в красном костном мозге из монобластов. После выхода из костного мозга, где в отличие от гранулоцитов они не формируют костномозговой резерв, моноциты циркулируют в крови от 36 до 104 ч, а затем уходят в ткани. Из крови в ткани за 1 ч уходят 7×10^6 моноцитов. В тканях моноциты дифференцируются в органо- и тканеспецифичные макрофаги. Внесосудистый пул моноцитов в 25 раз превышает циркулирующий.

Система мононуклеарных фагоцитов объединяет различные типы клеток, участвующие в защитных реакциях организма. Макрофагам принадлежит важнейшая роль в процессах фагоцитоза. Они удаляют из организма отмирающие клетки, остатки разрушенных клеток, денатурированный белок, бактерии и комплексы Ag–АТ. Макрофаги участвуют в регуляции кроветворения, иммунном ответе, гемостазе, метаболизме липидов и железа.

Моноцитоз — увеличение количества моноцитов в крови более $0,8 \times 10^9/\text{л}$ — сопровождается целым рядом заболеваний. При туберкулезе возникновение моноцитоза считают доказательством активного распространения туберкулезного процесса. При этом важным показателем является отношение абсолютного количества моноцитов к лимфоцитам, которое в норме составляет 0,3–1,0. Это отношение бывает более 1 в активную фазу заболевания и снижается при выздоровлении, что используют для оценки течения туберкулеза.

При инфекционном эндокардите, вялотекущем сепсисе возможен значительный моноцитоз, который нередко наблюдают в отсутствие лейкоцитоза. Относительный или абсолютный моноцитоз отмечают у 50% больных с системными васкулитами. Кратковременный моноцитоз может развиваться у больных с острыми инфекциями в период реконвалесценции.

Заболевания и состояния, при которых возможен моноцитоз

Основные причины	Клинические формы
Инфекции	Подострый инфекционный эндокардит; период выздоровления после острых инфекций; вирусные (инфекционный мононуклеоз), грибковые, риккетсиозные и протозойные инфекции (малярия, лейшманиоз)
Гранулематозы	Туберкулез, особенно активный; сифилис; бруцеллез; саркоидоз; язвенный колит
Болезни крови	Острый монобластный и миеломонобластный лейкозы; хронические моноцитарный, миеломоноцитарный и миелолейкоз; лимфогранулематоз
Коллагенозы	СКВ, ревматоидный артрит, узелковый полиартериит

Моноцитопения — уменьшение количества моноцитов менее $0,09 \times 10^9/\text{л}$. Снижение количества моноцитов в крови наблюдают при гипоплазии кроветворения.

Плазмоциты — клетки лимфоидной ткани, продуцирующие иммуноглобулины (Ig) и развивающиеся из В-лимфоцитов через более молодые стадии (плазмобласт и проплазмоцит). У здорового человека в периферической крови плазмоциты присутствуют очень редко. Они могут появляться при плазмоцитоме, вирусных инфекциях (корь, краснуха, ветряная оспа, инфекционный мононуклеоз, инфекционный гепатит), длительной персистенции Ag (сывороточная болезнь, сепсис, туберкулез, актиномикоз, коллагенозы, аутоиммунные болезни), состояниях после облучения, новообразованиях.

Изменения морфологии лейкоцитов

Токсогенная зернистость нейтрофилов — грубая тёмно-красная зернистость, появляющаяся в результате физико-химических изменений цитоплазмы под влиянием инфекционного агента. Считают, что токсогенная зернистость либо отражает нарушение процессов созревания нейтрофилов, в результате чего грубая зернистость сохраняется в зрелых клетках, либо является результатом поглощения токсических веществ. Эти изменения лейкоцитов возможны при гнойно-септических заболеваниях (нередко появляются раньше ядерного сдвига и является неблагоприятным прогностическим признаком), крупозной пневмонии (в период рассасывания воспалительного инфильтрата зернистость бывает особенно грубой), скарлатине, распаде опухолевых тканей после лучевой терапии.

Вакуолизацию цитоплазмы выявляют реже, чем токсогенная зернистость, однако она имеет не меньшее диагностическое значение. Эти изменения лейкоцитов можно выявить при сепсисе (особенно вызванном анаэробной инфекцией), абсцессах, острой дистрофии печени.

Тельца Князькова–Деле — крупные бело-голубые участки цитоплазмы различной формы, свободные от специфических гранул. Эти изменения лейкоцитов можно обнаружить при воспалительных заболеваниях, инфекциях (корь, скарлатина), сепсисе, ожогах.

Гиперсегментация ядер нейтрофилов — наличие более 5 сегментов в ядрах нейтрофилов. Эти изменения лейкоцитов могут отражать наследственную конституциональную особенность, а также дефицит витамина B₁₂ и фолиевой кислоты. Врожденная гиперсегментация не сопровождается какими-либо клиническими симптомами.

Аномалия лейкоцитов Пельгера — доминантно наследуемое нарушение созревания гранулоцитов, характеризующееся уменьшением сегментации ядер нейтрофилов. Наиболее часто зрелые нейтрофилы содержат двухсегментное или несегментированное ядро, редко — трёхсегментное. По своим физиологическим свойствам такие клетки не отличаются от нормальных,

группами сиаловых кислот на эритроцитарной мембране, который способствует взаимному отталкиванию эритроцитов и поддержанию их во взвешенном состоянии.

Повышение уровня белков острой фазы, сопровождающее воспалительный процесс, индуцирует повышение СОЭ. Фибриноген, С-реактивный белок, орозомиукоид, альфа 1-анти-трипсин, церулоплазмин и гаптоглобин играют принципиальную роль в формировании агрегатов эритроцитов при остром воспалении.

При хроническом воспалении увеличение СОЭ связано с повышением уровня фибриногена, моно- и поликлональных иммуноглобулинов в крови. На Z-потенциал и оседание эритроцитов влияют: рН и ионный состав плазмы, содержание желчных кислот и желчных пигментов (увеличение их количества уменьшает СОЭ), липиды крови, вязкость крови (при ее увеличении СОЭ уменьшается), наличие изо- и аутоагглютининов.

Число эритроцитов оказывает влияние на СОЭ. Уменьшение числа эритроцитов ускоряет, а увеличение - замедляет оседание.

Некоторые морфологические варианты эритроцитов также могут оказывать влияние на СОЭ. Анизцитоз и сфероцитоз ингибируют агрегацию эритроцитов. Макроциты имеют заряд, соответствующий их массе, и оседают быстрее. При анемии дрепанциты оказывают влияние на СОЭ так, что даже при воспалении СОЭ не возрастает.

Значение СОЭ зависит от пола и возраста. У новорожденных СОЭ очень замедлена - около 2мм, что связано с высокой величиной гематокрита и низким содержанием глобулинов. Через 4 недели СОЭ слегка ускоряется, к 2 годам она достигает 4-17 мм. У взрослых и детей старше 10 лет СОЭ составляет от 2 до 10 мм для мужчин и от 2 до 15 мм для женщин, что может быть объяснено разным уровнем андрогенных стероидов. У пожилых людей нормальный уровень СОЭ колеблется в пределах от 2 до 38 у мужчин и от 2 до 53 у женщин.

СОЭ увеличивается при беременности, стрессе, интоксикации, воспалительных, инфекционных и онкологических заболеваниях. Многие стероидные гормоны (эстрогены, глюкокортикоиды) и некоторые лекарственные вещества (салицилаты) повышают СОЭ. В основном измерение СОЭ рассматривают как предварительное исследование, ее подъем может быть связан с разными заболеваниями и может являться первым признаком неблагополучия.

При острых воспалительных и инфекционных процессах ускорение СОЭ наступает через 24 часа или через несколько дней после повышения температуры и увеличения числа лейкоцитов.

При остром ревматизме СОЭ является верным отражением активности воспалительного процесса. В острой стадии заболевания СОЭ сильно возрастает. При отсутствии сильного или сравнительно сильного увеличения СОЭ с большой вероятностью можно исключить острый ревматический полиартрит.

СОЭ имеет важное прогностическое значение при туберкулезе. Со значительным увеличением СОЭ протекают гнойные заболевания. При злокачественных опухолях СОЭ повышается в зависимости от степени диспротеинемии. СОЭ возрастает при заболеваниях почек, в особенности при нефрозах. СОЭ достигает наибольших значений при различных видах парапротеинемии (множественная миелома, макроглобулинемия Вальденстрема, острый плазмобластный лейкоз, криоглобулинемия и др.). Если СОЭ по Вестергрену в первые 15 мин превышает 70 мм, нужно заподозрить парапротеинемию. При заболеваниях печени СОЭ может показывать противоречивые данные. При остром гепатите, пока не наступило значительное понижение фибриногена, оседание эритроцитов ускоряется в соответствии с уменьшением соотношения альбумины/глобулины. При наступлении выраженной фибриногенемии СОЭ замедляется.

При сердечных заболеваниях, несмотря на диспротеинемию, СОЭ часто замедляется вследствие полицитемии, увеличенной концентрации СО₂ в крови.

Однако для мужчин старше 45 лет с заболеванием сердечно-сосудистой системы увеличение СОЭ более 22 мм/ч рассматривается как фактор риска заболеваний коронарных сосудов.

Метод определения СОЭ сложен для стандартизации, что затрудняет внедрение новых способов измерения. Использование автоматических систем, показывающих удовлетворительную корреляцию с методом Вестергрена, позволило улучшить воспроизводимость, снизить влияние некоторых внешних факторов, увеличить производительность выполнения метода.

7. Источники и используемая литература.

1. «Гематологические анализаторы. Интерпретация анализа крови» Методические рекомендации от 21 марта 2007 г. N 2050-РХ.
2. «Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство» под ред. В. В. Долгова, В. В. Меньшикова, 2012 г.
3. «Руководство по лабораторным методам диагностики» А. А. Кишкун, 2007 г.
4. «Атлас клеток крови и костного мозга» под ред. Г. И. Козинца, 1998 г.
5. «Определение гемоглобина крови» Пупкова В. И. Информационно-методическое пособие Кольцово, 2001
6. «Патофизиология крови» Фред Дж. Шиффман, перевод с англ., под ред. Ю.В. Наточина, 2001 г.
7. «Автоматизированные системы анализа мазков крови и гематологические анализаторы – конкуренты или партнеры» Д. Ю. Соснин, О. Ю. Ненашева, О. Г. Кубарев Журнал «ЛАБОРАТОРИЯ ЛПУ» Спецвыпуск № 4, 2014 г.
8. «ИНВИТРО лабораторная диагностика» Справочник под. ред. Е. А. Кондрашевой, 2007 г.

20-29 лет	110-152	130-172
30-39 лет	112-150	126-172
40-49 лет	112-152	128-172
50-59 лет	112-152	124-172
60-65 лет	114-154	122-168
Более 65 лет	110-156	122-168

Референтные величины количества эритроцитов в крови

Возраст	Женщины, $\times 10^{12}/л$	Мужчины, $\times 10^{12}/л$
Кровь из пуповины	3,9-5,5	3,9-5,5
1-3 дня	4,0-6,6	4,0-6,6
1 нед	3,9-6,3	3,9-6,3
2 нед	3,6-6,2	3,6-6,2
1 мес	3,0-5,4	3,0-5,4
2 мес	2,7-4,9	2,7-4,9
3-6 мес	3,1-4,5	3,1-4,5
0,5-2 года	3,7-5,2	3,4-5
3-12 лет	3,5-5	3,9-5
13-16 лет	3,5-5	4,1-5,5
17-19 лет	3,5-5	3,9-5,6
20-29 лет	3,5-5	4,2-5,6
30-39 лет	3,5-5	4,2-5,6
40-49 лет	3,6-5,1	4,0-5,6
50-59 лет	3,6-5,1	3,9-5,6
60-65 лет	3,5-5,2	3,9-5,3
Более 65 лет	3,4-5,2	3,1-5,7

Референтные величины Ht

Возраст	Женщины, %	Мужчины, %
Кровь из пуповины	42-60	42-60
1-3 дня	45-67	45-67
1 нед	42-66	42-66
2 нед	39-63	39-63
1 мес	31-55	31-55
2 мес	28-42	28-42
3-6 мес	29-41	29-41
0,5-2 года	32,5-41	27,5-41
3-6 лет	31-40,5	31-39,5
7-12 лет	32,5-41,5	32,5-41,5
13-16 лет	33-43,5	34,5-47,5
17-19 лет	32-43,5	35,5-48,5
20-29 лет	33-44,5	38-49
30-39 лет	33-44	38-49
40-49 лет	33-45	38-49
50-65 лет	34-46	37,5-49,5
Более 65 лет	31,5-45	30-49,5

Референтные величины MCV

Возраст	Женщины, фл	Мужчины, фл
Кровь из пуповины	98-118	98-118
1-3 дня	95-121	95-121
1 нед	88-126	88-126
2 нед	86-124	86-124

24 ч	9,4–32,2
1 мес	9,2–13,8
12 мес–3 года	6,0–17,5
4 года	6,1–11,4
6 лет	6,1–11,4
10 лет	6,1–11,4
21 год	4,5–10,0
Взрослые	4–8,8

Референтные показатели лейкоцитограммы

Клетки	Содержание, %				
	взрослые	при рождении	1 день	4 дня	2 нед
Миелоциты	–	0,5	0,5	–	–
Метамиелоциты	–	4	4	2,5	1,5
Нейтрофилы палочкоядерные	1–5	27	26	7	3
Нейтрофилы сегментоядерные	40–70	34	34	39	25
Лимфоциты	20–45	22,5	24	36,5	55
Моноциты	3–8	8	9,5	11	11,5
Эозинофилы	1–5	3	2	3,5	3
Базофилы	0–1	0,75	0,25	–	0,5
Плазмоциты	–	0,25	0,25	0,5	0,5

Референтные величины абсолютного и относительного содержания эозинофилов в крови

Возраст	Абсолютное количество, $\times 10^9/\text{л}$	Относительное количество, %
12 мес	0,05–0,7	1–5
4 года	0,02–0,7	1–5
10 лет	0–0,60	1–5
21 год	0–0,45	1–5
Взрослые	0–0,45	1–5

Референтные величины абсолютного и относительного содержания базофилов в крови

Возраст	Абсолютное количество, $\times 10^9/\text{л}$	Относительное количество, %
12 мес.	0–0,2	0,4
4–6 лет	0–0,2	0,6
10 лет	0–0,2	0,6
21 год	0–0,2	0,5
Взрослые	0–0,2	0,5

Референтные показатели абсолютного и относительного содержания нейтрофилов в крови

Возраст	Абсолютное количество, $\times 10^9/\text{л}$	Относительное количество, %
12 мес	1,5–8,5	30–50
4 года	1,5–8,5	35–55
10 лет	1,8–8,0	40–60
21 год	1,8–7,7	45–70
Взрослые	1,8–7,7	45–70

Референтные величины абсолютного и относительного содержания лимфоцитов в крови

Возраст	Абсолютное количество, $\times 10^9/\text{л}$	Относительное количество, %
12 мес	4–10,5	61
4 года	2–8	50
6 лет	1,5–7	42
10 лет	1,5–6,5	38