Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования

«Красноярский государственный медицинский университет имени проф. в.ф. Войно-ясенецкого»

Министерства здравоохранения Российской федерации

**Реферат**

На тему: «Клиническое значение автоматических гематологических анализаторов»

Выполнила: Врач-ординатор

Клинической лабораторной диагностики

Малкова Т.С.

Красноярск, 2020 г

**План реферата:**

1. Введение.
2. Классификация.
3. Кондукторометрические гематологические анализаторы.
4. Подсчет эритроцитов и тромбоцитов, расчет величины гематокрита, эритроцитарных и тромбоцитарных индексов.
5. Подсчет и дифференцировка лейкоцитов.
6. Высокотехнологические гематологические анализаторы.
7. Обозначения.
8. Достигаемые результаты и их клиническое значение.
9. Список использованной литературы.

**Введение**

Общий анализ крови (ОАК) предоставляет клиницистам важнейшую информацию, так как характеризует физиологическое состояние организма, изменяющееся под воздействием различных внешних и внутренних факторов, и является неотъемлемой частью диагностического процесса и последующего мониторинга на фоне проводимой терапии.   
С тех пор, как в 1895 году швейцарский врач Сали впервые предложил колориметрический метод определения концентрации гемоглобина в крови, прошло более 100 лет, однако до сих пор общий анализ крови не потерял значимости и актуальности. Развитие прикладных медицинских наук усовершенствовало подход к этому исследованию, но не изменило его сути. По-прежнему врачей интересует концентрация гемоглобина, количество эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов в единице объема крови, скорость оседания эритроцитов (СОЭ) и лейкоцитарная формула. Однако на смену рутинному подсчету клеток в счетной камере и визуальному определению гемоглобина в гемометре Сали пришли новые технологии, реализованные в гематологических анализаторах. Помимо общеизвестных показателей, использование анализаторов позволило пополнить ОАК новыми диагностически значимыми параметрами, которые расширили понимание процессов, происходящих в крови в норме и при той или иной патологии. В эру использования современных технологий автоматизированного анализа крови стало реальным предоставлять значительно больше клинической информации о состоянии кроветворной системы и реагировании ее на различные внешние и внутренние факторы. Анализ результатов исследования крови составляет неотъемлемое звено в диагностическом процессе и последующем мониторинге на фоне проводимой терапии.

Высокотехнологичные гематологические анализаторы способны измерять более 32 параметров крови, осуществлять полный дифференцированный подсчет лейкоцитов по 5 основным популяциям: нейтрофилы, эозинофилы, базофилы, моноциты и лимфоциты, что делает возможным в случае отсутствия их изменений не проводить ручной подсчет лейкоцитарной формулы.

Аналитические возможности гематологических анализаторов:

* Высокая производительность (до 100-120 проб в час).
* Небольшой объем крови для анализа (12-150 мкл).
* Анализ большого количества (десятки тысяч) клеток.
* Высокая точность и воспроизводимость.
* Оценка 18-30 и более параметров одновременно.
* Графическое представление результатов исследований в виде гистограмм, скатерограмм.

Гематологические анализаторы имеют систему обозначения – «флаги», или «сигналы тревоги», указывающую на отклонение параметров от установленных границ. Они могут касаться как увеличения или уменьшения количества тех или иных клеток. Во всех этих случаях необходим строгий визуальный контроль окрашенных препаратов с соответствующими комментариями.

Диагностические возможности гематологических анализаторов:

* Оценка состояния гемопоэза.
* Диагностика и дифференциальная диагностика анемий.
* Диагностика воспалительных заболеваний.
* Оценка реактивных изменений крови.
* Оценка эффективности проводимой терапии.
* Мониторинг за мобилизацией стволовых клеток из костного мозга.

Несмотря на все достоинства, даже самые современные гематологические анализаторы обладают некоторыми ограничениями, которые касаются точной морфологической оценки патологических клеток (например, при лейкозах), и не в состоянии полностью заменить световою микроскопию.

Применение автоматических анализаторов в корне изменило работу гематологических лабораторий. С расширением автоматизации исследований потребность в ручном труде в лабораториях все больше сокращается, благодаря чему характер деятельности лабораторных работников изменяется. Это дает им дополнительные возможности для повышения качества анализов, точности морфологических исследований и для освоения постоянно усложняющейся техники. Оператор и технолог автоматического оборудования должны уметь интерпретировать результаты исследований. Кроме того, от оператора требуется умение точно дифференцировать разные типы клеток крови, поскольку в проверяемых им лейкоцитарных формулах обычно имеются патологические изменения.

Современные гематологические анализаторы обладают широкими возможностями благодаря наличию:

* Встроенной программы контроля качества.
* Программы проверки различий.
* Системы оповещения о выходе измеряемого параметра за установленные границы.
* Программы подготовки образца, его исследования для расчета лейкоцитарной формулы и представления результатов.
* Автоматической системы технического обслуживания (некоторые модели).

**Классификация:**

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, моноциты и гранулоциты. К анализаторам I класса относятся гематологические анализаторы, поставляемые в клинико-диагностические лабораторий амбулаторно-поликлинического звена здравоохранения: МЕК-6400J/K фирмы Nihon Kohden (Япония), Advia 60 фирмы Bayer (Германия), Coulter Ac\*T фирмы Beckman Coulter (Франция).  
 **II класс** – высокотехнологичные гематологические анализаторы, позволяющие проводить развернутый анализ крови, в том числе полную дифференцировку лейкоцитов по 5-ти параметрам (нейтрофилы, эозинофилы, базофилы, моноциты и лимфоциты), создавать гистограммы распределения лейкоцитов, эритроцитов и тромбоцитов по объему, скатерограммы (Pentra 60, Cell-Dyn 3700, MEK-8222).

**III класс** – сложные аналитические системы, выполняющие не только развернутый анализ крови с дифференцировкой лейкоцитов по 5 параметрам, но и подсчет и анализ ретикулоцитов, некоторых субпопуляций лимфоцитов; при необходимости комплектуются блоком для автоматического приготовления и окраски мазков из заданных образцов крови (Sysmex XE-2100, Coulter LH750, Advia 2120, Pentra 120).

В основе работы анализаторов I-го класса лежит кондуктометрический метод. Анализаторы II и III-го классов используют в своей работе комбинации разных методов.

**Кондуктометрические гематологические анализаторы**

Технология автоматического подсчета клеток была разработана в 1947 г. Wallace Н. и Joseph R. Coulter. Апертуро-импедансный метод (метод Культера или кондуктометрический метод) основан на подсчете числа и определении характера импульсов, возникающих при прохождении клеток через отверстие малого диаметра (апертуру), по обе стороны которого расположены два изолированных друг от друга электрода. Если через узкий канал, заполненный электропроводящим раствором, проходит клетка крови, то в этот момент сопротивление электрическому току в канале возрастает (рис. 1).



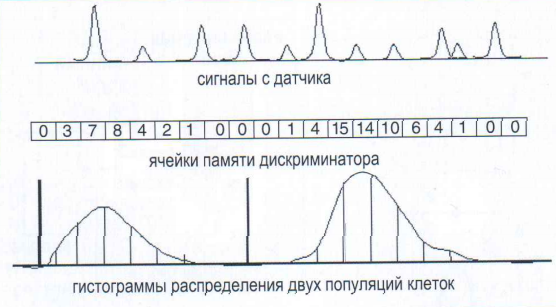
Рис. 1. Принцип кондукторометрического метода подсчета клеток крови.

Несмотря на то, что изменение сопротивления невелико, современные электронные приборы легко его улавливают. Каждое событие – прохождение клетки через канал, сопровождается появлением электрического импульса. Чтобы определить концентрацию клеток, достаточно пропустить определенный объем пробы через канал и подсчитать число электрических импульсов, которые при этом генерируются. Если в один и тот же момент в канале находятся две клетки, они регистрируются в виде одного импульса, что приведет к ошибке подсчета клеток. Во избежание этого, проба крови разводится до такой концентрации, при которой в канале датчика всегда будет не больше одной клетки.

Апертуро-импедансный метод позволяет определять большинство эритроцитарных и тромбоцитарных показателей, связанных с объемом клеток (НСТ, MCV, МСН, МСНС, MPV), а также является основой для дифференцировки лейкоцитов по трем параметрам.

**Подсчет эритроцитов и тромбоцитов, расчет величины гематокрита, эритроцитарных и тромбоцитарных индексов**  
  
 Разделение эритроцитов и тромбоцитов в современных анализаторах проводится по измерению амплитуды электрического сигнала: тромбоциты (небольшие по размеру клетки) при прохождении измерительного канала генерируют электрические импульсы низкой амплитуды, а сравнительно большие клетки – эритроциты и лейкоциты – импульсы высокой амплитуды (Рис. 2). После добавления лизирующего реагента происходит лизис эритроцитов и в суспензии остаются лейкоциты. Проба подсчитывается повторно и из первого счета импульсов высокой амплитуды (эритроциты + лейкоциты) вычитают импульсы высокой амплитуды второго счета (лейкоциты). Разница импульсов высокой амплитуды до и после лизиса соответствует количеству эритроцитов – RBC (Red Blood Cells).

Устройство, которое разделяет импульсы по величине амплитуды, называется дискриминатор. В современных анализаторах применяются многоканальные дискриминаторы, позволяющие получить детальную информацию о размерах клеток в виде гистограмм, поскольку каждый канал соответствует определенному объему клеток.

  
Рис. 2. Принцип работы анализатора объема частиц. При прохождении через датчик частицы определенного объема появляется импульс определенной амплитуды и в соответствующую ячейку памяти добавляется единица.

При суммировании амплитуд импульсов, получаемых при подсчете количества эритроцитов, получается величина, отражающая общий объем, занимаемый эритроцитами, то есть гематокрит Hct (hematocrit). Разделив гематокритную величину на концентрацию эритроцитов (RBC), получается полезная характеристика эритроцитов – средний объем MCV (mean corpuscular volume).  
 Очевидно, что аналогичные показатели можно получить и для тромбоцитов: концентрация тромбоцитов – PLT (platelet), тромбокрит – РСТ (platelet crit), средний объем тромбоцитов – MPV (mean platelet volume).

Поскольку в норме концентрация эритроцитов в крови на 3 порядка превышает концентрацию лейкоцитов, то вклад лейкоцитов в общее количество подсчитываемых клеток пренебрежимо мал по сравнению с эритроцитами, поэтому в некоторых анализаторах за количество эритроцитов принимают общее подсчитанное количество клеток. Такое допущение справедливо, за исключением случаев с гиперлейкоцитозом.

**Подсчет и дифференцировка лейкоцитов**

Определение количества лейкоцитов возможно только после лизиса эритроцитов. Эта задача оказалась легко решаемой, так как свойства мембран эритроцитов и лейкоцитов существенно различаются. Эритроциты легко лизируются под воздействием многих поверхностно-активных веществ, при этом лейкоциты, хотя и претерпевают некоторые изменения, остаются целыми. Поэтому при подсчете лейкоцитов, прежде чем пропустить разведенную суспензию крови через апертуру датчика, к ней добавляют лизирующий раствор или гемолитик, эритроциты разрушаются до очень мелких фрагментов, которые при подсчете лейкоцитов генерируют электрические импульсы очень низкой амплитуды, не влияющие на результат анализа.

Разделение неизмененных лейкоцитов кондуктометрическим методом на основные субпопуляции невозможно в виду близости их объемов, однако можно подобрать такую композицию растворителя и гемолитика, что различные формы лейкоцитов претерпевают изменения размеров в разной степени и, благодаря этому, могут разделяться данным методом. Изменение объема клетки зависит от многих факторов, включающих величину и форму ядра, объем цитоплазмы, наличие внутриклеточных включений, а также особенности лизирующего реагента, поэтому размер трансформированных клеток не соответствует размерам клеток при визуальном просмотре их в окрашенном мазке крови (рис.3, 4).

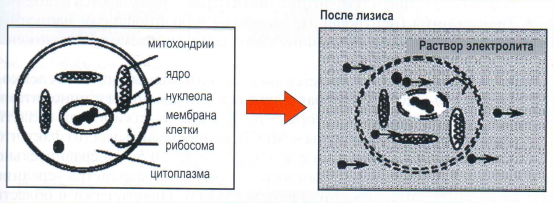
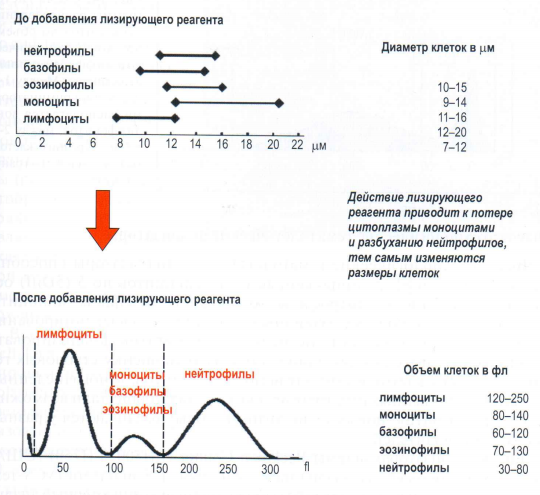


Рис.3. Принцип действия лизирующего реагента.

Рис.4. Изменение размеров клеток под действием лизирующего реагента в анализаторах фирмы Sysmex.

Полученные после анализа лейкоциты распределяются на гистограмме следующим образом (рис. 5):

- Область малых объемов (35-90 фл) формируется лимфоцитами, которые под действием гемолитика значительно уменьшаются в объеме.  
  
- Гранулоциты (нейтрофилы, базофилы и эозинофилы), напротив, подвергаются незначительному уменьшению в объеме и расположены в области больших объемов (120-400 фл).

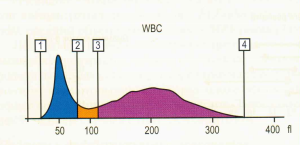
- Между двумя пиками имеется зона так называемых «средних лейкоцитов» (90-120 фл), которая лучше всего коррелирует с моноцитами (по этой причине в некоторых анализаторах клетки в этой области указываются как моноциты – MON). Однако, учитывая тот факт, что коэффициент корреляции с моноцитами R = 0,5-0,8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

Рис.5. Схема гистограммы распределения лейкоцитов по объему при кондукторометрической дифференцировке лейкоцитов. Между 1-м и 2-м дискриминаторами располагается зона лимфоцитов, между 2-м и 3-м – «средних» клеток, между 3-м и 4-м – гранулоцитов.

**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 Bekman-Coulter (LH 500, LH750) (США) используется трехмерный анализ дифференцировки лейкоцитов (VCS-технология), который включает в себя одновременный компьютерный анализ клеток по объему (Volume) (Рис. 6), электропроводности (Conductivity) (Рис.7) и рассеянии лазерного луча (Scatter) (Рис.8).

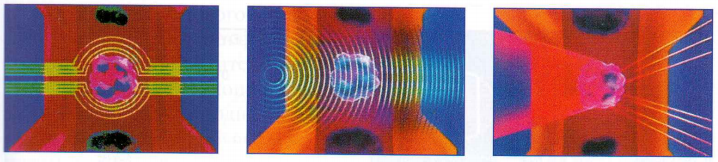
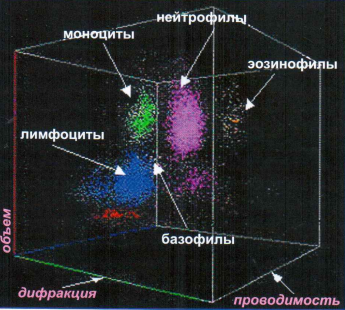


Рис.6. Объем клеток определяет сопротивление (импеданс) для тока низкой частоты

Рис.7. Величина и плотность внутренних структур клетки определяют электропроводность клеток для тока высокой частоты

Рис.8. Комбинированную информацию о размере клетки, ее гранулярности, поверхностной топографии несет отражение, поглощение и рассеяние лазерного луча

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 (Рис.9).

Рис.9. VCS-куб, определяющий лейкоцитарную скатерограмму. Клеточные кластеры размещаются на цветной объемной диаграмме, где по оси Х – нормированная рассеивающая способность, по оси Y- объем клеток, по оси Z – структурная электропроводимость.

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 рассеяния лазерного счета клетками крови (рис.10, а, б).

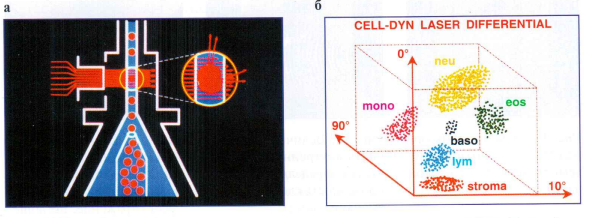


Рис.10. Принцип мультипараметрической системы лазерного светорассеяния (а) и лейкоцитарная скатерограмма (б), получаемая на гематологических анализаторах Cell-Dyn

Рассеяние 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 (степень сложности клеток)* – оценивается по анализу рассеяния 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 светорассеяния 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 (рис.11).

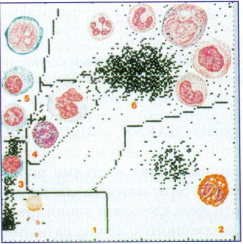


Рис.11. Лейкоцитарная скатерограмма, получаемая на гематологическом анализаторе Tehnicon

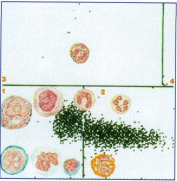
 Дифференцировка базофилов от других гранулоцитов проводится в базоканале. Цитоплазма всех лейкоцитов за исключением базофилов подвергается лизису после обработки пробы специфическим лизатом. Затем в канале осуществляется измерение дисперсии лазерного света под углами 2-30 и 5-150, что позволяет различить клетки в зависимости от формы ядер (рис.12).

Рис. 12. Скатерограмма базоканала

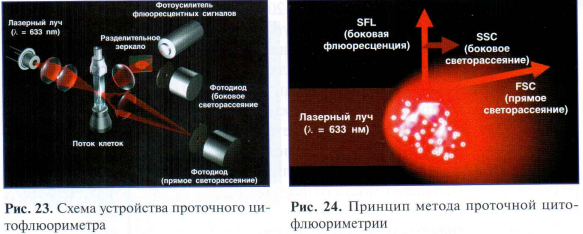
Сравнивая информацию, получаемую с Perox- и Baso-каналов, компьютер осуществляет дифференцировку лейкоцитов на 5 основных популяций, а также сигнализирует в виде «флагов» о присутствии в крови активированных лимфоцитов, незрелых гранулоцитов, бластов, эритробластов.

В гематологических анализаторах серии XT и ХЕ фирмы Sysmex применяется метод проточной цитофлюориметрии с использованием флюоресцентного красителя полиметина. Этот флюоресцентный 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 (рис.13).



Рис. 13. Распределение флюоресцентного красителя полиметина в различных клетках крови. В эритроцитах и тромбоцитах флюоресценция отсутствует, наиболее высокая флюоресценция отмечается в лейкоцитах.

Анализ клеток происходит в проточной кювете при пересечении луча лазера длиной 633 нм (рис.14). После контакта лазерного луча с окрашенной клеткой происходит рассеяние последнего под большим и малым углами и возбуждение флюоресцентного красителя. Данные сигналы улавливаются фотоумножителями и регистрируются в виде трех параметров (рис.15):

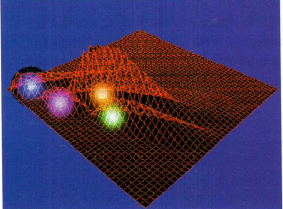


1. **Светорассеивание под малым углом (FSC)** – отклонение лазерного луча под малым (до 10 град.) углом, которое зависит от размера (объема, только при условии сферической формы частицы) и формы клетки.

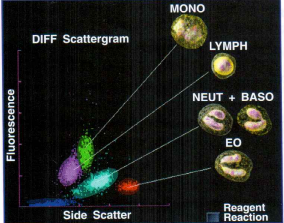
2. **Боковое светорассеивание (SSC)** – рассеивание под углом до 90 град. Зависит от рефрактерного индекса (или плотности) клетки и характеризует сложность внутриклеточных структур.

3. **Детекция специфического флюоресцентного сигнала (SFL)**, который регистрируется параллельно с боковым светорассеянием и позволяет судить о содержании РНК/ДНК в клетках.

На основании полученных сигналов все клетки распределяются по соответствующим кластерам (зонам) в соответствии с их размером, структурой и количеством ДНК (рис.16).

Рис. 16. Распределение лейкоцитов по кластерам.

Таким образом, происходит дифференцировка лейкоцитов на 4 популяции: лимфоциты, моноциты, эозинофилы и нейтрофилы вместе с базофилами (рис.17).

Рис. 17. Лейкоцитарная скатерограмма

Разделение нейтрофилов и базофилов происходит в базоканале, где используется метод специфического химического лизиса, основанный на предварительной обработке лейкоцитов реактивом, осуществляющим лизис всех клеток, за исключением базофилов (рис.18), с последующим дискриминантным анализом всех элементов по размеру и сложности структуры и количеству ДНК.

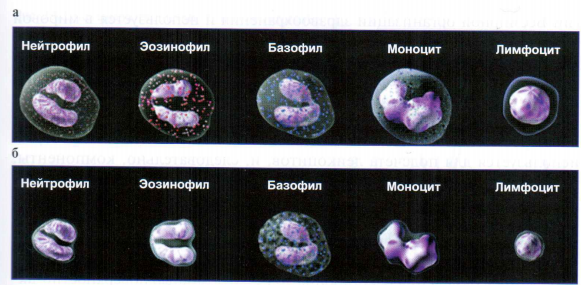


Рис. 18. Вид клеток до (а) и после (б) обработки специфическим дифференцирующим лизатом. После взаимодействия с реагентом все лейкоциты, за исключением базофилов, сморщиваются, благодаря чему становится возможным выделение последних на основании данных каналов светорассеяния и флюоресценции

Кроме того, приборы оборудованы каналом для выделения незрелых гранулоцитов и атипичных лимфоцитов.

Таким образом, использование приборов с полным дифференцированным подсчетом лейкоцитов (5Diff) позволяет повысить точность дифференциального подсчета лейкоцитов, провести скрининг нормы и патологии, динамический контроль за лейкоцитарной формулой и резко сократить ручной подсчет лейкоцитарной формулы, оставляя примерно до 15-20% образцов крови для световой микроскопии.

**Обозначения**

В гематологических анализаторах используются следующие обозначения показателей крови:

## 1. Эритроцитарные параметры

**RBC** *(red blood cells)* - Количество эритроцитов крови (х1012/л).

**NRBC** – Нормобласты.

**HGB** *(hemoglobin)* - Концентрация гемоглобина (г/дл или г/л)

**HCT** *(hematocrit)* – гематокрит, отражает долю объема цельной крови, занимаемую эритроцитами.

**MCV** *(mean corpuscular volume)* - Средний объем эритроцита, выражается в кубических микрометрах (мкм3) или в фемтолитрах (1фл = 1мкм3 или 1х10 -15/л).

**MCH** *(mean corpuscular hemoglobin)* - Среднее содержание гемоглобина в эритроците (пг). Рассчитывается по формуле:



**MCHC** *(mean corpuscular hemoglobin concentration)*  - Средняя концентрация гемоглобина в эритроците (г/дл). Вычисляется по формуле:



**LHD** (low hemoglobin density),% - Гемоглобин низкой плотности.

**Hypo %** – Процент гипохромных эритроцитов.

**RDW** *(red cell distribution width)* - Показатель гетерогенности эритроцитов по объему, характеризует степень анизоцитоза. вычисляется на основании гистограммы распределения эритроцитов, как коэффициент вариации объема эритроцитов:

 .

**FRC –** *(fragment red cells) (RBC-F) -*Подсчет фрагментов эритроцитов.

**Гистограмма** – Графическое распределение различных видов клеток по их количеству и объему.

## 2. Ретикулоцитарные параметры

RET% - Относительное количество ретикулоцитов (в %);

RET# - Абсолютное количество ретикулоцитов (х109/л);

**MCVr** (Mean Cell Volume Reticulocytes) – Средний объем ретикулоцитов, (фл);

**MSRV** (Mean Sphered Reticulocyte Volume) – Средний объем сферических клеток, включающих эритроциты и ретикулоциты , фл;

LFR% - Популяция малых зрелых RET (87-99%),

MFR% опуляция средних RET (2-12%),

HFR% (1-2%) – популяция больших незрелых RET.

**IRF (*Immature Reticulocyte Fraction) (***MFR+HFR) - Фракция незрелых ретикулоцитов (2-14%).

## 3. Тромбоцитарные параметры

**PLT** *(platelet)* - Количество тромбоцитов (х109/л).

**MPV** (mean platelet volume) - Средний объем тромбоцитов выражается в фемтолитрах (фл) или мкм3.

**PDW** (platelet distribution width), % - Ширина распределения тромбоцитов по объему.

**PCT** (platelet crit), % - - тромбокрит, отражает долю объема цельной крови, занимаемую тромбоцитами.

**IPF-** (Immature Platelet Fraction) - Фракция незрелых тромбоцитов.

**MPC** – (mean platelet component) – Средний тромбоцитарный компонент. характеризует плотность и гранулярность тромбоцитов. Норма -259±6,6.

## 4. Лейкоцитарные параметры

**WBC** *(white blood cells)* - Количество лейкоцитов крови (х109/л).

Лейкоцитарные параметры, определяемые на различных типах гематологических анализаторов

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Лейкоцитарная формула 3 diff:** | | **Лейкоцитарная формула 5 diff:** | |
| Лимфоциты, % | LYM% или LY% | Нейтрофилы, % | NEUT% или NE% |
| Лимфоциты, кл/мкл | LYM или LY# | Нейтрофилы, кл/мкл | NEUT# или NE# |
| Моноциты, %  (средние клетки) | MON%илиMO%  (MID) | Эозинофилы, % | EOS% или EО% |
| Моноциты, кл/мкл  (средние клетки) | MON или МО#  (MID) | Эозинофилы, кл/мкл | EOS% илиEO# |
| Гранулоциты,% | GRN% или Gr % | Базофилы, % | BASO% или BA% |
| Гранулоциты,% кл/мкл | GRN# или Gr # | Базофилы, кл/мкл | BASO # ли BA# |
|  |  | Моноциты, % | MON% или MO% |
|  |  | Моноциты, кл/мкл | MON или МО# |
|  |  | Лимфоциты, % | LYM% или LY% |
|  |  | Лимфоциты, кл/мкл | LYM или LY# |

П р и м е ч а н и е ─ В зависимости от конструкции анализаторов количество параметров может варьировать.

## Достигаемые результаты анализа клеточного состава крови и их интерпретация

## 1. Эритроцитарные параметры

RBC (red blood cells) - количество эритроцитов крови (х1012/л). Коэффициент вариации данного параметра составляет 1-2%, в некоторых приборах - менее 1%. К эритроцитам относятся все частицы размером более 36 фл. Поскольку размеры лейкоцитов близки к размерам эритроцитов, они неизбежно будут влиять на подсчет числа эритроцитов. Однако за исключением явных лейкоцитозов (>50х109/л), это влияние будет незначительным, так как в норме количество эритроцитов в крови в тысячи раз превышает число лейкоцитов. В случаях гиперлейкоцитоза ошибка измерения эритроцитов возрастает.

Присутствие криоглобулинов может вызывать увеличение показателей крови. В таких случаях следует прогреть образец крови до 37°С в течение 30 минут и немедленно провести измерение образца. Криоглобулинемия может наблюдаться у больных миеломной болезнью, макроглобулинемией Вальденстрема, злокачественными новообразованиями, лейкозом, лимфопролиферативными и аутоиммунными заболеваниями и др.

Агглютинация эритроцитов может привести к занижению показателей RBC, увеличению MCV. Это можно проверить по повышенным значениям MCH и MCHC. В этих случаях также следует прогреть образец крови до 37°С в течение 30 минут и немедленно провести измерение образца.

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

*П р и м е р ─ Общее количество лейкоцитов при подсчете в анализаторе - 45х109/л. В лейкоцитарной формуле на 100 лейкоцитов имеется 50 нормобластов. Рассчитываем истинное количество лейкоцитов в крови:*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| *150 клеток (общее количество лейкоцитов и нормобластов, полученное при подсчете лейкоцитарной формулы)* | ** | *45 х 109/л (количество клеток в 1 л, полученное при подсчете в камере или на анализаторе)* |
| *100 клеток (лейкоциты)* | ** | *Х (истинный лейкоцитоз крови)* |



*Таким образом, истинное число лейкоцитов в крови составляет 30  109/л.*

П р и м е ч а н и е 1 ─ В некоторых типах анализаторов при наличии нормобластов в крови, коррекция лейкоцитов проводится автоматически.

П р и м е ч а н и е 2 ─ Нормобласты появляются в периферической крови при онкогематологических заболеваниях, анемиях (гемолитические, В12- и фолиеводефицитные), метастатическом поражении костного мозга, тяжелых септических состояниях и интоксикациях.

HGB (hemoglobin) - концентрация гемоглобина (г/л) в большинстве гематологических анализаторов определяется фотометрически гемиглобинцианидным или гемихромными методами. Коэффициент вариации при этом не превышает 2%.

Основные причины завышения результатов определения концентрации гемоглобина обусловлены мутностью образца крови, которая может быть следствием:

- гиперлипидемии и гипербилирубинемии

- присутствия нелизированных эритроцитов

- гиперлейкоцитоза.

Для снижения ошибки измерения рекомендуется обработать кровь

лизатом, отцентрифугировать образец и провести измерение гемоглобина в надосадочной жидкости фотометрическим методом.

П р и м е ч а н и е 3 ─ Повышение концентрации гемоглобина наблюдается при эритроцитозах, обезвоживании. Снижение концентрации гемоглобина имеет место при анемиях, гипергидратации.

HCT (hematocrit) – гематокрит. Показатель отражает долю объема крови, занимаемую эритроцитами; выражается в %; вычисляется как сумма прямо измеренных объемов эритроцитов в единице объема крови по формуле: RBC x MCV. Коэффициент вариации для автоматического метода - менее 1%.

Выраженная агглютинация эритроцитов в образце крови может привести к получению неправильных значений HCT, т.к. агглютинаты эритроцитов могут восприниматься прибором как лейкоциты и не учитываться при расчете гематокрита. В таких случаях рекомендуется определение гематокрита на гематокритной центрифуге. При наличии микросгустков проба непригодна для исследования.

При гипергликемии и диабетическом кетоацидозе отмечается гиперосмолярность плазмы крови. При разведении крови in vitro изотоническим раствором происходит быстрое набухание эритроцитов, что и вызывает завышение HCT. В этих случаях определение гематокрита на гематокритной центрифуге является более точным.

П р и м е ч а н и е 4 ─ Повышение гематокрита наблюдается при эритроцитозах, уменьшении объема циркулирующей плазмы (ожоговая болезнь, дегидратация). Снижение гематокритной величины имеет место при анемиях, гипергидратации.

MCV (mean corpuscular volume) - средний объем эритроцита, выражается в кубических микрометрах (мкм3) или в фемтолитрах (1фл = 1мкм3 или 1х10 -15/л). MCV является измеряемым показателем, он определяется большинством гематологических анализаторов благодаря прямой зависимости амплитуды электрического импульса от объема клетки. Вычисляется MCV делением суммы клеточных объемов на число эритроцитов.

В то же время MCV - это средний показатель объема всей популяции эритроцитов, содержащихся в диапазоне от 36-360 фл. Поэтому необходимо иметь в виду, что MCV может иметь нормальное значение при наличии у пациента одновременно выраженного макро- и микроцитоза, большом количестве аномальных эритроцитов (например, при серповидноклеточной анемии, микросфероцитозе, выраженном пойкилоцитозе). В этом случае особую диагностическую важность приобретает анализ эритроцитарной гистограммы и морфология клеток в мазках крови.

При наличии холодовой агглютинации эритроцитов в образце крови прибор воспринимает их как одну большую клетку, если размер их меньше верхнего порога эритроцитарного канала, что приводит к увеличению MCV. Сохранение крови in vitro и измерение таких проб при 37oС способствует получению правильных результатов.

MCV является важным показателем в дифференциальной диагностике анемий. В норме MCV составляет 80-100 фл. На основании MCV анемии разделяют на нормоцитарные (MCV 80-100 фл), микроцитарные (MCV менее 80 фл) и макроцитарные (MCV более 100 фл).

MCV – показатель, отражающий изменения, возникающие в эритроцитах при длительном хранении крови. Изменения в мембране эритроцитов возникают раньше, чем в лейкоцитах и тромбоцитах, поэтому хранение крови более 8 часов вызывает увеличение MCV.

MCH (mean corpuscular hemoglobin) - среднее содержание гемоглобина в эритроците (пг). Рассчитывается анализатором по формуле:



MCH характеризует среднее содержание гемоглобина в отдельном эритроците в абсолютных единицах. В норме MCH составляет 27-31 пг. МСН - более объективный параметр, чем устаревший цветовой показатель, который не отражает содержание гемоглобина в эритроците.

Возможные ошибки измерения. Параметр MCH является расчетным, поэтому к ложнозавышенным результатам приводят все факторы, влияющие на увеличение значений гемоглобина и снижение количества эритроцитов. Ложнозаниженные результаты MCH получаются вследствие ошибок, связанных с неправильным определением числа эритроцитов (завышения их количества) и занижения концентрации гемоглобина.

Изменения MCH лежат в основе разделения анемий на нормохромные (MCH – 27-31 пг), гипохромные (MCH менее 27 пг) и гиперхромные (MCH более 31 пг). Снижение MCH наблюдается при анемиях обусловленных нарушеннием синтеза гемоглобина (железодефицитной анемии, порфирии и др.), повышение – при макроцитарных и особенно мегалобластных анемиях.

MCHC (mean corpuscular hemoglobin concentration) - средняя концентрация гемоглобина в эритроците (г/дл). Вычисляется по формуле:



Различия между двумя последними индексами заключаются в том, что MCH указывает на массу гемоглобина в одном эритроците и выражается в долях грамма (пикограммах). MCHC показывает концентрацию гемоглобина в одном эритроците, т.е. соотношение содержания гемоглобина к объему клетки. Он отражает насыщение эритроцита гемоглобином и в норме составляет 30-38 г/дл. В отличие от МСН МСНС не зависит от клеточного объема и является чувствительным показателем нарушения процессов гемоглобинообразования. Практически он отражает содержание HGB в эритроцитарной массе после удаления из образца плазмы.

Возможные ошибки измерения. Поскольку параметр MCHC является расчетным, то к ложнозавышенным результатам приводят все факторы, влияющие на завышение значений гемоглобина и занижение гематокрита (последний связан с занижением объема эритроцитов). Ложнозаниженные результаты MCHС получаются вследствие неправильного определения MCV (завышения их значения) и занижения концентрации гемоглобина.

Снижение значения MCHC наблюдается при заболеваниях, сопровождающихся нарушением синтеза гемоглобина. Повышение МСНС выше 38 г/дл встречается редко (врожденный сфероцитоз), т.к. это может закончиться кристаллизацией гемоглобина и гемолизом эритроцита. Чаще всего увеличение MCHC свидетельствует об ошибках, допущенных при измерении пробы (погрешности определения гемоглобина, RBC или MCV). Поэтому, данный параметр часто используется в качестве индикатора ошибок, допущенных на преаналитическом этапе работы или систематических ошибок аналитического этапа.

Некоторые гематологические анализаторы непосредственно измеряют концентрацию гемоглобина в каждом отдельном эритроците и строят гистограммы распределения клеток не только по объему, но и по концентрации гемоглобина. При этом возрастает точность определения этого параметра и вводится новый показатель - ширина распределения эритроцитов по концентрации гемоглобина (HDW - hemoglobin distribution width), который характеризует гетерогенность эритроцитарного пула.

RDW (red cell distribution width) - показатель гетерогенности эритроцитов по объему, характеризует степень анизоцитоза. Этот показатель вычисляется большинством современных гематологических анализаторов на основании гистограммы распределения эритроцитов, как коэффициент вариации (CV) объема эритроцитов:

 ,

где SD – стандартное среднеквадратическое отклонение объема эритроцита от среднего значения. На величину RDW влияет значение MCV, поэтому как при микроцитозе, так и при макроцитозе отмечается тенденция к увеличению RDW-CV.

В некоторых типах гематологических анализаторов имеется еще один расчетный показатель RDW - это RDW-SD, который независим от MCV и представляет собой прямое измерение ширины эритроцитарной гистограммы на уровне 20% пика кривой. При этом высота пика RBC-гистограммы принимается за 100%. Норма RDW-SD -42±5 фл. Клинически значимо увеличение RDW- SD выше 60 фл.

Оба показателя RDW определяют вариабельность эритроцитов по объему. Повышение RDW предполагает присутствие смешанной популяции клеток, их гетерогенность (нормоциты и микроциты или макроциты и нормоциты и т.п.). RDW-SD является более чувствительным показателем при наличии минорной популяции макроцитов или микроцитов, т.к. он измеряет нижнюю часть кривой распределения эритроцитов по объему. В то же время этот показатель будет изменяться при высоком ретикулоцитозе в силу большого объема ретикулоцитов, что расширяет основание кривой распределения эритроцитов. RDW-CV менее чувствителен к присутствию небольшой популяции микроцитов или макроцитов или ретикулоцитов, но лучше отражает общие изменения в размере эритроцитов при макроцитарной или микроцитарной анемии.

Анизоцитоз улавливается прибором значительно точнее, чем при визуальном просмотре мазка крови. 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. В то же время, 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 (11,5-14,5%). 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 эритрона.

Эритроцитарная гистограмма - графическое распределение клеток по их количеству и объему. Как правило, регистрируемая кривая подчиняется закону нормального (гауссова) распределения. Гистограмма должна начинаться и заканчиваться на базовой линии и между нижним и верхним дискриминатором. По горизонтали откладывается объем измеряемой клетки в фл (1фл=10-15 /л), вертикальная ось на графике фиксируется как 100% шкала. Нормальная эритроцитарная гистограмма имеет симметричную (куполообразную) форму. При появлении патологических или нескольких популяций эритроцитов форма гистограммы меняется. Несмотря на то, что пороговое значение для эритроцитов составляет 36 фл, дополнительная область от 24 до 36 фл позволяет выявить клетки небольших размеров.

RET% - относительное количество ретикулоцитов (в %);

RET# - абсолютное количество ретикулоцитов (х109/л);

Возможные ошибки измерения ретикулоцитов: ложное завышение. Причины данной ошибки следующие:

- наличие включений в эритроцитах (тельца Жолли, малярийные паразиты;

- высокий лейкрцитоз;

- наличие аномальных форм гемоглобина;

-гипертромбоцитоз

- наличие гигантских тромбоцитов.

Ретикулоцитоз на фоне активного эритропоэза отражает повышенную регенераторную способность костного мозга.

П р и м е ч а н и е 5 ─ Ретикулоцитоз выражен при гемолитических и острой постгеморрагической анемиях, а также при адекватном лечении дефицитных анемий. Сохраняющийся ретикулоцитоз может свидетельствовать о продолжающемся кровотечении или гемолизе.

Ретикулоцитопения - индикатор угнетения эритропоэза.

П р и м е ч а н и е 6 ─ Относительная ретикулоцитопения (ниже 2‰ или «нормальное» (2-12‰) содержание их при анемии) характерно для любой недостаточности эритропоэза (при гипоплазиях гемопоэза любого генеза, в том числе при острых лейкозах и метастатическом поражении костного мозга, а также при мегалобластной и железодефицитной анемиях, анемиях при хронических болезнях и заболеваниях почек).

Более информативным и однозначным является показатель абсолютного содержания ретикулоцитов (RET#), его нормализация свидетельствует о восстановлении пролиферативной активности эритрокариоцитов

MCVr (Mean Cell Volume Reticulocytes) – средний объем ретикулоцитов, (фл);

MSRV (Mean Sphered Reticulocyte Volume) – средний объем сферических клеток, включающих эритроциты и ретикулоциты , фл;

Низкий объем ретикулоцитов отражает появление микроцитов в периферической крови.

П р и м е ч а н и е 7─ Показатели объема ретикулоцитов могут использоваться в диагностике железодефицитной анемии, мониторинге ответа на терапию железосодержащими препаратами, фолиевой кислотой, витамином В12

Повышение MSRV у спортсменов указывает на злоупотребление препаратами, стимулирующими эритропоэз.

LFR% (Low Fluorescence Ratio)- популяция малых зрелых RET (87-99%),

MFR% (Middle Fluorescence Ratio) - популяция средних RET (2-12%),

HFR% (High Fluorescence Ratio) (1-2%) – популяция больших незрелых RET.

MFR+HFR определяется как фракция незрелых ретикулоцитов - IRF (Immature Reticulocyte Fraction) (2-14%). Фракция незрелых ретикулоцитов может служить индикатором активности эритропоэза. Она повышается значительно раньше, чем процент ретикулоцитов и может служить наиболее чувствительным маркером в мониторинге за состоянием эритропоэтической активности костного мозга и эффективности лечения витамином В12, фолиевой кислотой препаратами железа и ЭПО. Появление незрелых ретикулоцитов в крови соответствует явлению полихромазии эритроцитов в окрашенном мазке крови

Ret-He (CHr) -содержание Hb в ретикулоцитах (норма 28,2 –32-36,4 пг ).

## 2. Тромбоцитарные параметры

PLT (platelet) - количество тромбоцитов (х109/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). Для большинства современных гематологических анализаторов коэффициент вариации тромбоцитов не превышает 4-5%.

При холодовой агглютинации или агрегации эритроцитов в исследуемом образце крови тромбоциты могут оказаться в них, что приводит к снижению количества PLT. Гипертромбоцитоз (более 1000х109/л) может превышать допустимый порог измерения PLT, что приведет к занижению показателя PLT. Это зависит от пределов линейности конкретного прибора. Гемолизированные образцы крови содержат строму эритроцитов, что обусловливает повышение показателей PLT. При взятии крови с использованием гепарина или цитрата натрия в качестве антикоагулянта отмечается более выраженная агрегация тромбоцитов, что результируется занижением значения PLT.

У некоторых пациентов может наблюдаться небольшая спонтанная агрегация тромбоцитов или реже, так называемая, К2ЭДТА-зависимая псевдотромбоцитопения (иммунного характера), причем эти явления прогрессируют по мере увеличения времени, прошедшего после взятия крови.

MPV (mean platelet volume) - средний объем тромбоцитов выражается в фемтолитрах (фл). В норме этот показатель варьирует от 7,4 до 10,4 фл. “Молодые” кровяные пластинки имеют больший объем, поэтому при ускорении тромбоцитопоэза средний объем тромбоцитов возрастает. В течение первых двух часов после взятия крови с К2ЭДТА 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 могут быть в агглютинатах эритроцитов, что приведет к ошибочным результатам MPV. Наличие агглютинатов в образце крови можно определить по аномальным значениям MCH и MCHC.

П р и м е ч а н и е 1 ─ Увеличение MPV наблюдается при идиопатической тромбоцитопенической пурпуре, гипертиреозе, атеросклерозе, сахарном диабете, у курильщиков и лиц, страдающих алкоголизмом. Крупные тромбоциты с аномальной морфологией появляются при миелопролиферативных заболеваниях.

Уменьшение этого показателя отмечается после спленэктомии и при синдроме Вискотта-Олдрича.

PDW (platelet distribution width), % - ширина распределения тромбоцитов по объему. Этот параметр определяется на основании гистограммы распределения тромбоцитов. PDW количественно отражает гетерогенность популяции этих клеток по размерам (степень анизоцитоза тромбоцитов). В норме этот показатель составляет 10-20%.

Увеличение PDW может быть признаком присутствия молодых тромбоцитов, агрегатов тромбоцитов, микроэритроцитов, фрагментов эритроцитов.

П р и м е ч а н и е 2 ─ PDW изменяется при миелопролиферативных заболеваниях.

PCT (platelet crit - тромбокрит), % - является параметром, который отражает долю объема цельной крови, занимаемую тромбоцитами. В норме тромбокрит составляет 0,15-0,40%.

IPF- (Immature Platelet Fraction) - фракция незрелых тромбоцитов. В норме составляет 1,0-10,3%.

Фракция незрелых тромбоцитов отражает состояние костномозгового тромбоцитопоэза.

Тромбоцитарная гистограмма. В норме тромбоцитарная кривая характеризуется унимодальностью и ассиметричностью. Гистограмма должна начинаться с базовой линии в области значений менее 2 фл и заканчиваться в зоне 20-30 фл.

Наличие в пробе патологических тромбоцитов (макро- или микро-), шизоцитов, микроэритроцитов, фрагментов лейкоцитов меняет форму тромбоцитарной гистограммы, что требует определенной корректировки получаемых результатов. Анизоцитоз тромбоцитов не влияет на результаты счета числа тромбоцитов. Множественные пики на тромоцитарной гистограмме могут наблюдаться при агрегации тромбоцитов, при этом результат подсчета тромбоцитов может быть ложно занижен. Для исключения ошибочного результата рекомендуется повторить исследование с цитратом натрия, который предотвращает свертывание крови в случае несовместимости образца с К2ЭДТА.

При выявлении патологической тромбоцитарной гистограммы следует анализировать окрашенный мазок крови.

## 3. Лейкоцитарные параметры

WBC (white blood cells) - количество лейкоцитов крови (х109/л). Измерение числа лейкоцитов проводится после полного лизиса эритроцитов специальным реактивом. Все частицы размером более 35 фл считаются как лейкоциты. Тромбоциты, размер которых меньше порогового значения 35 фл, исключаются из подсчета. Коэффициент вариации (CV) при автоматическом определении этого показателя составляет 2-3%.

При наличии резистентных к лизису эритроцитов они определяются как лейкоциты и вызывают повышение числа WBC. В этих случаях следует обратить внимание на изменение формы RBC гистограммы.

**4. 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 .

4.1 Гематологические анализаторы, определяющие 18 параметров крови, дифференцируют все WBC на три популяции (3Diff). В основе работы анализаторов 3Diff лежит принцип кондуктометрии. Клетки дифференцируются по объему на 3 категории: лимфоциты, нейтрофилы и средние клетки, состоящие преимущественно из моноцитов с добавлением эозинофилов и базофилов. Определяется как относительное (%),, так и абсолютное их содержание (клетки/л).

Автоматические гематологические анализаторы, определяющие 26 и более параметров крови, дифференцируют WBC на пять популяций (5Diff). В основе работы анализаторов 5Diff используется комбинация кондуктометрического метода с другими технологиями, такими как: метод лазерного светорассеивания, радиочастотный анализ, использование дифференцирующих лизатов, цитохимический метод.

Автоматический дифференцированный счет лейкоцитов должен выполняться в день взятия крови. Для получения наиболее точных результатов дифференциального анализа лейкоцитов рекомендуется исследование образцов крови проводить в промежуток времени от 30 минут до 5 часов после взятия материала, при значительном лейкоцитозе после предварительного разведения крови – от 5 минут до 1 часа.

После 24-часового интервала изменения, возникшие при хранении, могут воздействовать на систему «сигналы тревоги» и искажать результат. На дифференциальный счет популяций лейкоцитов влияют те же факторы, что и на общее число лейкоцитов. Появление «сигналов тревоги» указывает на наличие патологических изменений в исследуемом образце и требует микроскопического исследования окрашенного мазка крови.

4.2 Некоторые факторы, влияющие на дифференциальный счет лейкоцитов в гематологических анализаторах 3Diff

LY и LY%: микроформы бластов, нормобласты, резистентные к лизису эритроциты (например, эритроциты, содержащие малярийный плазмодий) могут быть причиной ошибочного измерения числа LY.

MO и MO%: крупные лимфоциты, атипичные лимфоциты, плазматические клетки, бластные клетки и избыточное количество базофилов могут оказывать влияние на точность подсчета МО. Часть эозинофилов также может просчитываться в данном канале.

GR и GR%: избыток эозинофилов, метамиелоцитов, промиелоцитов, бластных клеток и плазматических клеток могут быть причиной ошибочного подсчета GR и GR%.

На лейкоцитарной гистограмме в анализаторах 3Diff 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 3Diff в большинстве случаев позволяют выявлять изменения лейкоцитарной формулы крови, однако не способны проводить полную дифференцировку лейкоцитов. При наличии микроформ бластных клеток, по своему размеру сходных с лимфоцитами, анализаторы, принцип измерения которых основан только на кондуктометрическом методе, будут относить их к популяции мелких клеток (лимфоцитов).

4.3 В гематологических анализаторах 5Diff подсчитываются все 5 классов лейкоцитов, встречающихся в норме: нейтрофилы, лимфоциты, моноциты, эозинофилы и базофилы. Использование одновременно нескольких методов анализа позволяет значительно улучшить качество дифференцировки клеток и, следовательно, работу анализатора. В анализаторах данного типа более сложная система «сигналов тревоги», позволяющая уточнить наличие патологических клеток (незрелых нейтрофилов, атипичных лимфоцитов, бластных клеток, нормобластов). При плохом качестве материала анализаторы выдают дополнительные «сигналы тревоги», такие, например, как сгустки тромбоцитов, фрагменты эритроцитов-призраков. Они снабжены соответствующими программами обнаружения незрелых клеток, активированных лимфоцитов, бластных клеток.

Обозначения флагов дифференциальных параметров зависят от фирмы-производителя анализатора.

Это могут быть: LIC (Large Immature Cells), которые, в свою очередь, подразделяются на:

- IMG (Immature Granulocytes), незрелые гранулоциты,

- IMM (Immature Monocytes) незрелые моноциты,

- IML (Immature Lymphocytes) незрелые лимфоциты,

- LS (Left Shift) – левый сдвиг, указывающий на возможность левого сдвига в формуле крови (палочкоядерные нейтрофилы)

При наличии более 2,5% LIC рекомендовано микроскопическое

исследование мазка крови.

При лимфоцитозах или наличии измененных по объему лимфоцитов появляются следующие флаги:

- Аtipical Lymphocytes, Variant

- Lymphocytes, Reactive

- Lymphocytes, Abnormal Lymphocytes

Большинство гематологических анализаторов 5Diff имеют жесткую систему как внутреннего, так и внешнего контроля качества, что делает их работу более надежной.

Несмотря на все достоинства, даже самые современные гематологические анализаторы обладают некоторыми ограничениями, которые касаются точной морфологической оценки патологических клеток (например, при лейкозах), и не в состоянии полностью заменить световую микроскопию.

**Список использованной литературы:**

1. МР «Гематологические анализаторы. Интерпретация анализа крови». Луговская С.А., Почтарь М.Е., Долгов В.В. Москва, 2007г.
2. «Руководство по лабораторной гематологии», Бетти Сисла (Перевод с английского под общей редакцией Воробьева А.И.), Москва,2011г.
3. «Клинико-лабораторные аналитические технологии и оборудование». Под редакцией профессора Меньшикова В.В. Москва, 2007г.