



Специфика современного ОАК

Кулакевич Марина Владимировна, врач КЛД

СПБГБУЗ «Николаевская больница»

Межрайонная централизованная клинико-диагностическая лаборатория,

Санкт-Петербург

Гематологический анализатор

Аналитические возможности

- Высокая производительность (до 100-120 проб в час).
- Небольшой объём 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.

Диагностические возможности

- 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.

ОАК в рутинной практике

Автоматизированный анализ крови



Световая микроскопия



«Золотой стандарт»

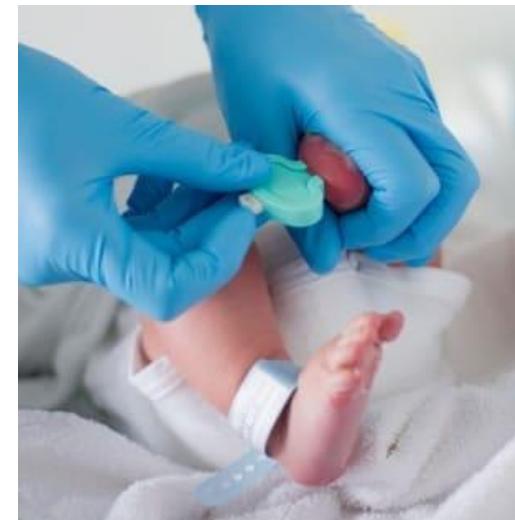
Преаналитический этап

Для новорожденных:

- До 1месяца – пятчная кровь
- Маловесные дети – пятчная кровь
- При весе >4кг – капиллярная кровь
- Использование специальных ланцетов с фиксированной глубиной прокола(до 2мм для пятки, до 0,85 мм для быстrozаживающего прокола у недоношенных детей)
- Не допускать стекание капли крови по коже(активация свертывания)
- Нельзя выдавливать кровь из пальца во избежании спонтанной агрегации тромбоцитов и попадания в пробу межтканевой жидкости
- Кровь берется до кормления

Для беременных:

- нет особенностей преаналитического этапа
- Диспансерное наблюдение в первой половине беременности 1 раз/месяц, во второй половине – 1 раз/2 недели.



Максимальные объемы образцов крови для лабораторных исследований

Вес (кг)	Макс. за 1 раз (мл)	Макс. за 1 месяц (мл)
<2.7 ^a	0.8	2.4
2.7–3.6	2.5	23
3.6–4.5	3.5	30
4.5–6.8	5	40
7.3–18.2	10	60–130
18.6–27.3	20	140–200
27.7–29.5	25	220
30.0–45.5	30	240–350

Объем образцов крови должен ограничиваться 1-5% ООК в течении суток и 10% в течении 8 недель

ООК:

- Недоношенные 115мл/кг
- Доношенные 80-110мл/кг

Аналитический этап

На основании количества определяемых параметров и степени сложности анализаторы можно условно разделить на 3 основных класса:



I класс

3 diff

- До 20 параметров
- Частичная дифференцировка лейкоцитов на 3 популяции
- Кондуктометрический метод
- На выходе WBC-, RBC-, PLT- гистограммы



II класс

5 diff

- До 70 параметров
- Полная дифференцировка лейкоцитов на 5 популяций
- Комбинация методов (светооптика + проточная цитофлюориметрия)
- На выходе WBC-, RBC-, PLT- гистограммы + скатерограммы

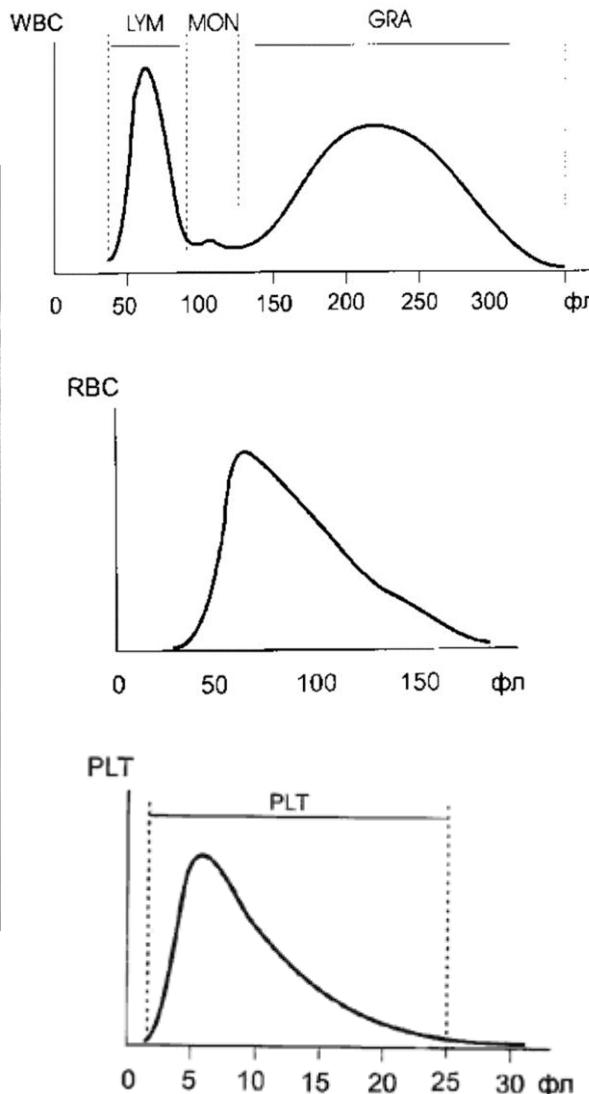


III класс

5 diff+Ret-канал

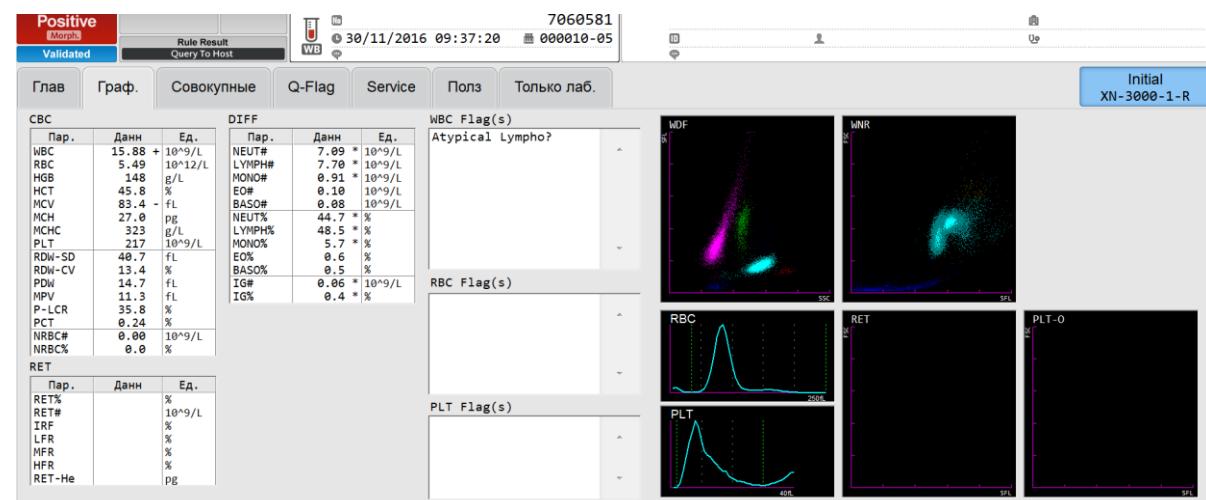
- До 70 параметров
- Полная дифференцировка лейкоцитов на 5 популяций (возможность подсчета Ret, IG, обнаружение активированных лимфоцитов)
- Комбинация методов (светооптика + проточная цитофлюориметрия, дополнительные параметры лазерного сканирования, варианты мембранныго и внутриклеточного окрашивания,
- На выходе WBC-, RBC-, PLT- гистограммы + скатерограммы

3 DIFF



5 DIFF

Метод проточной цитофлюориметрии. Полиметиловый краситель окрашивает нуклеиновые кислоты внутри клетки. Повышенное содержание нуклеиновых кислот в клетке (ДНК или РНК) эквивалентно повышенному флюоресцентному сигналу. Количественная оценка степени зрелости и метаболической активности клеток по НК.



Анализ красной крови

Эритроцитарные индексы

- RBC (количество эритроцитов)
- HGB(концентрация гемоглобина)
- HCT(гематокрит-отражает сумму измеренных объемов эритроцитов в единице объема крови)
- MCV(средний объем эритроцитов)
- MCH(среднее содержание гемоглобина в эритроците, норма 27-32 пг)
- MCHC(средняя концентрация гемоглобина в эритроците, норма 30-38 г/дл)
- RDW-CV(%),RDW-SD(фл) (ширина распределения эритроцитов по объему)

Ретикулоцитарные индексы

- RET# (абсолютное количество ретикулоцитов *10⁹/л)
 - RET% (относительное количество ретикулоцитов в %)
 - LFR% (популяция RET с низкой флюоресценцией) 87-99%
 - MFR%(популяция RET со средней флюоресценцией) 2-12%
 - HFR%(популяция RET с высокой флюоресценцией)1-2%
 - RET-He (содержание гемоглобина в ретикулоцитах, норма 28-36 пг- Sysmex)
 - D-He (разница между RET-He и HGB RBC)
- + объемные параметры ретикулоцитов (MCVr – средний объем RET)

RBC, HGB, HCT

Показатели красной крови у доношенных

Возраст	RBC, *10¹²/л	HGB, г/л	HCT, %
1 сутки	5,8-7	180-240	53-68
5 сутки	4,97-5	176-188	50-64
1 неделя	4,8-5,6	150-195	48-62
4 неделя	3,6-4,7	127-156	32-41

Показатели красной крови у беременных женщин

***	Б без осложнений	Б с сопутствующей патологией
RBC, *10 ¹² /л	4-4,2	3,34-4,2
HGB, г/л	123-126	95-127
HCT, %	35-37	28-35

MCV, MCH, MCHC

MCV- средний показатель объема всей популяции клеток, может иметь нормальное значение при наличии выраженного аизоцитоза (смотрим гистограмму и RDW)

У новорожденных – физиологический макроцитоз

MCH- среднее содержание гемоглобина в эритроците

$$MCH = \frac{\text{гемоглобин (г/л)}}{\text{количество эритроцитов} \cdot 10^{12}/\text{л}} (\text{пг})$$

Норма 27-31 пг. Зависит от размера эритроцита

MCHC- средняя концентрация гемоглобина в эритроците (г/дл)

$$MCHC = \frac{\text{гемоглобин (г/л)}}{\text{гематокрит (\%)}} \cdot 100 (\text{г/дл})$$

Норма 30-38 г/дл. Не зависит от размера эритроцита.

Возраст	MCV, фл	MCHC, г/л
1 сутки	110-128	30-33
5 суток	106-123	28-33
1 неделя	99-131	30-35
4 неделя	92-110	32-37

RDW

- Показатель гетерогенности эритроцитов по объему, характеризует степень аизоцитоза.

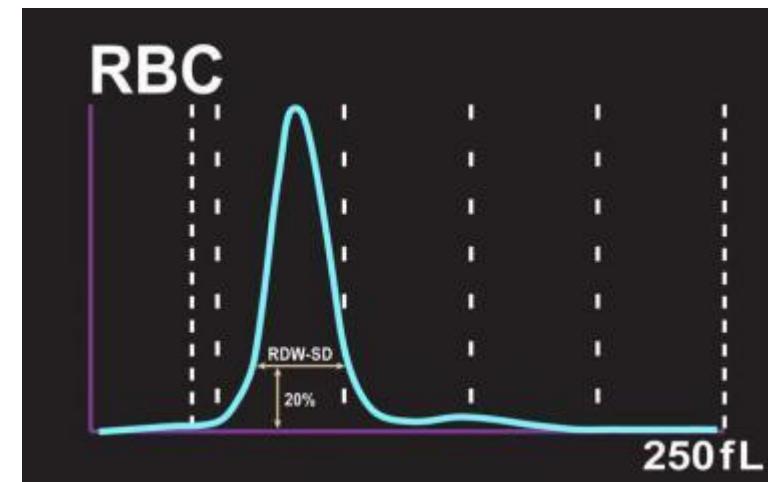
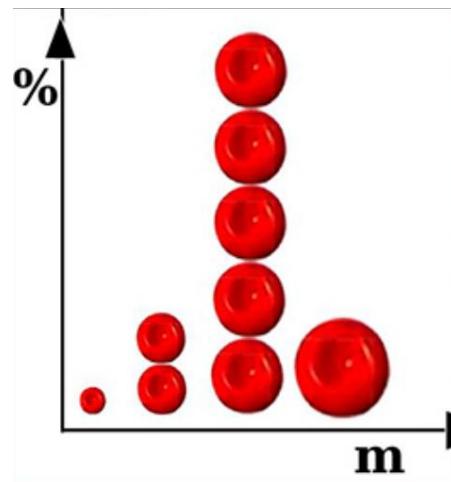
- $$RDW-CV(\%) = \frac{\text{средний диаметр } RBC}{\text{средний объем } MCV}$$

Норма 11,5-14,5% у взрослых, 16,8-18,7% у новорожденных. ↑ RDW-CV-присутствие смешанной популяции

- RDW-SD(Sysmex)

Норма 42 ± 5 фл. Не зависит от MCV. ↑ или ↓ RDW-SD является показателем присутствия минорной популяции макро-, микроцитов. RDW-SD>60фл – ретикулоцитоз.

- Следует оценивать в совокупности с гистограммой



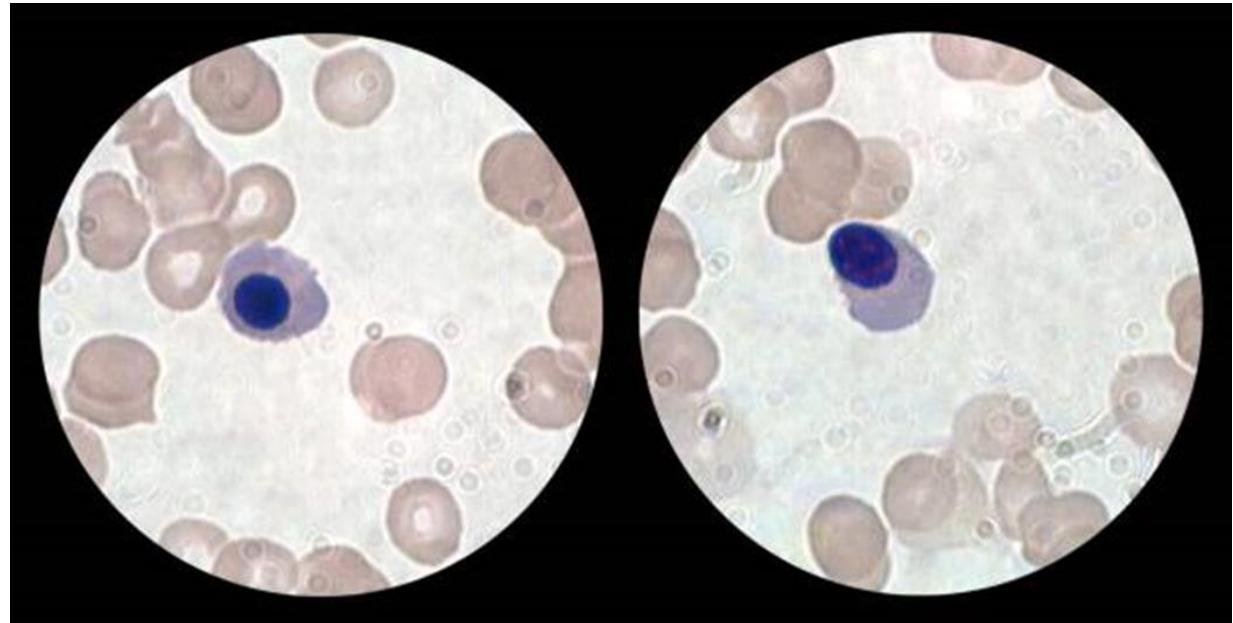
NRBC

Активный эритропоэз новорожденных сопровождается выходом в кровь ядросодержащих эритроцитов – нормобластов.

У недоношенных младенцев до 100 нормбл/100 лейкоцитов.

В образцах крови новорожденных необходимо проведение корректировки подсчета лейкоцитов.

Современные анализаторы производят точный подсчет клеток в числовом выражении (на мкл) и в % (на 100 лейкоцитов). Порог чувствительности определения NRBC <20/мкл, что с помощью микроскопического исследования определить не предоставляется возможным.



Анемия

- Состояние, характеризующееся снижением уровня гемоглобина и количества эритроцитов в единице объема крови

!!! Следует отличать от гемодилюции при беременности, обусловленную разжижением крови и ↑ объема плазмы. Количество RBC и содержание Hb в единице объема снижается при полном сохранении их общей массы.

Критерии диагностики анемии (ВОЗ)

У новорожденных:

При отсутствии острых кровопотерь:

Hb < 150 г/л

RBC < 4,5*10¹²/л

Ht < 40%

!!! Капиллярная кровь

Тяжелые состояния новорожденных:

Hb < 100-125 г/л

RBC < 4,5*10¹²/л

Ht < 35-38%

!!! Венозная кровь

У беременных в III триместре:

Hb < 110 г/л

Ht < 33%

Этиология развития анемического синдрома у детей:

- Антенатальные и интранатальные кровопотери (пуповинные, плацентарные, фетальные)
- Неонатальные кровопотери
- Генетические нарушения гемопоэза и наследственные дефекты мембран эритроцитов
- Инфекции матери
- Лекарства, токсические вещества
- Сенсибилизация к АГ ребенка

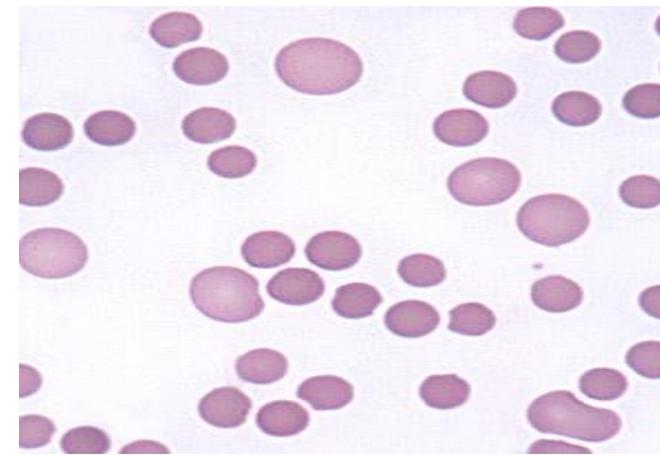
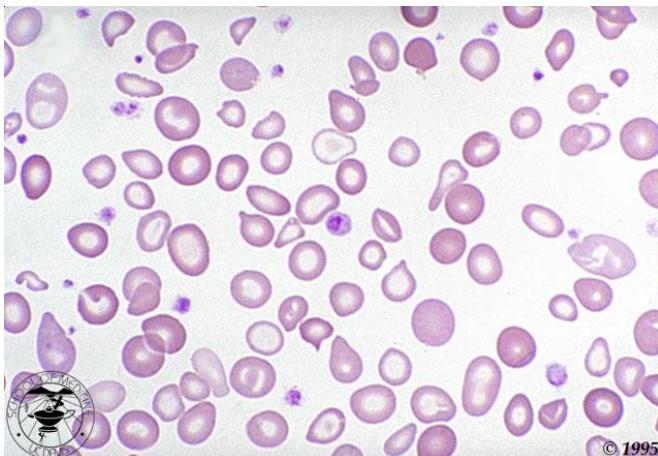
Этиология развития анемии (90% случаев ЖДА) у беременных:

- Увеличение объема циркулирующей крови (за счет ОЦП)
- Уменьшение запасов железа в организме в связи с его расходом на рост плода и плаценты
- Ранний токсикоз (нарушение всасывания Fe)
- Хронические инфекционные заболевания
- Многоплодная беременность

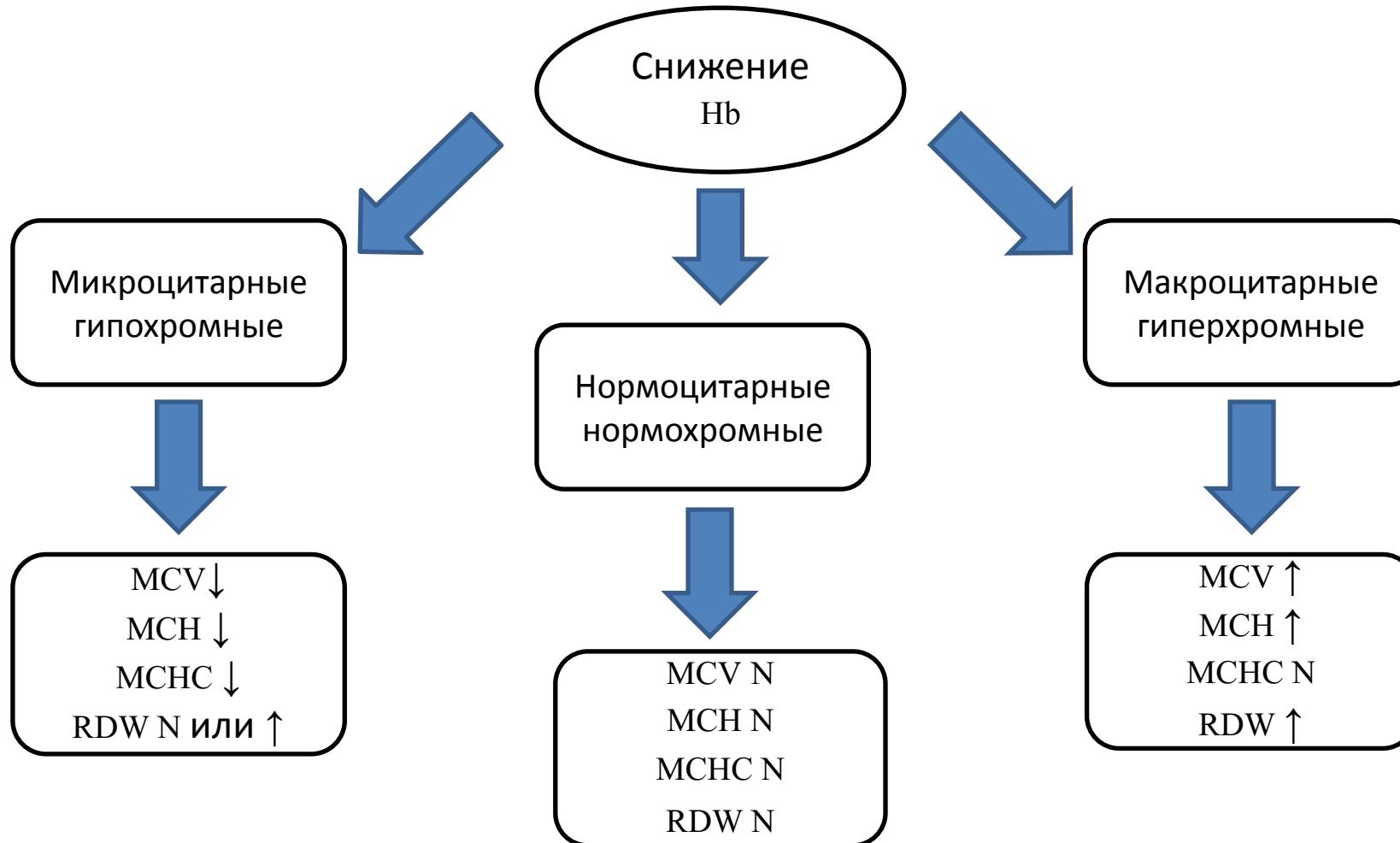
Классификация анемий

По патогенетическому механизму:

- Связанные с острой или хронической кровопотерей (постгеморрагические)
- Обусловленные повышенным разрушением эритроцитов (гемолитические)
- Развившиеся вследствие недостаточности эритропоэза:
 - ✓ Гипохромные (микроцитарные) анемии (ЖДА) – нарушение созревания (дефект метаболизма железа)
 - ✓ Мегалобластные (макроцитарные) анемии – нарушение пролиферации (дефицит В12, фолиевой кислоты)
 - ✓ Гипопластические (нормоцитарные) анемии – нарушение дифференцировки/регенерации (сочетанные дефекты)



На основании эритроцитарных индексов:



По времени возникновения анемического синдрома:

- При рождении (кровопотеря или внутриутробный гемолиз)

До 10% всех анемий составляют:

- кровопотеря
- а) *пренатальная*
- б) *интранатальная*
- ГБН
- угнетение эритропоза внутриутробно*

- Анемии раннего неонатального периода (первые 6 суток жизни):

- кровотечения
- ГБН
- наследственные гемолитические анемии

- Анемии позднего неонатального периода (с 7 по 28 день жизни):

- наследственные гемолитические анемии:
 - а) *нарушение мемран эритроцитов*
 - б) *дефицит ферментов эритроцитов*
 - в) *нарушение синтеза гемоглобина*
- приобретенные гемолитические анемии
- гипо- и апластические анемии

Ретикулоциты

Оценка уровня RET по технологии Sysmex путем проточной гемоцитометрии.

RET% - относительное количество ретикулоцитов.

Норма у женщин 0,59-2,07%, у новорожденных до 51%.

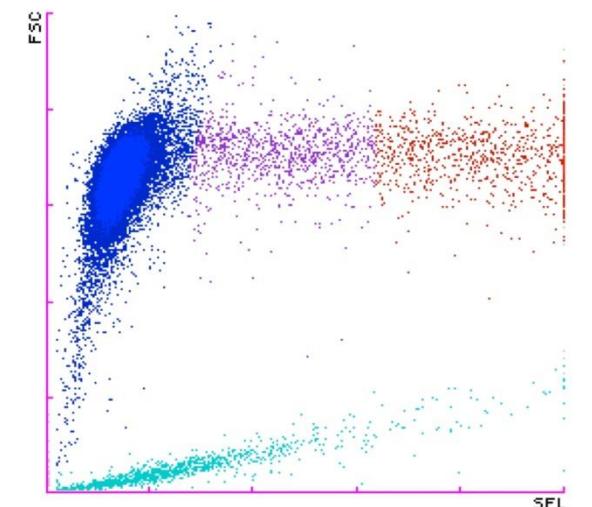
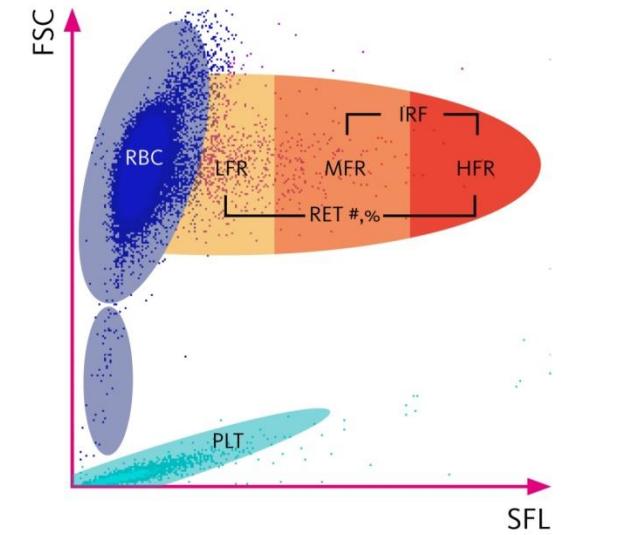
RET# - абсолютное количество ретикулоцитов.

Норма у женщин $22,4-82,9 \cdot 10^9/\text{л}$

IRF(фракция незрелых ретикулоцитов) –

показатель активности эритропоэза. Норма 2-14%. Повышается значительно раньше (на 2-3 дня), чем RET%.

RET-Нe – показатель доступности для КМ. Норма 28-36 пг. Железодефицитный эритропоэз при RET-Нe<28 пг. Ранний показатель оценки ответа на заместительную терапию препаратами Fe (через 48ч от начала терапии). Характеризует эритропоэз последних 7 дней и показывает содержание HGB во вновь образованных клетках.



Уровни оценки эритропоэза:

- **Первый уровень – зрелые эритроциты**

- ✓ Параметры RBC, Ht, MCV, MCH, MCHC
- ✓ История концентрации HGB за последние 120 дней

- **Второй уровень – ретикулоциты**

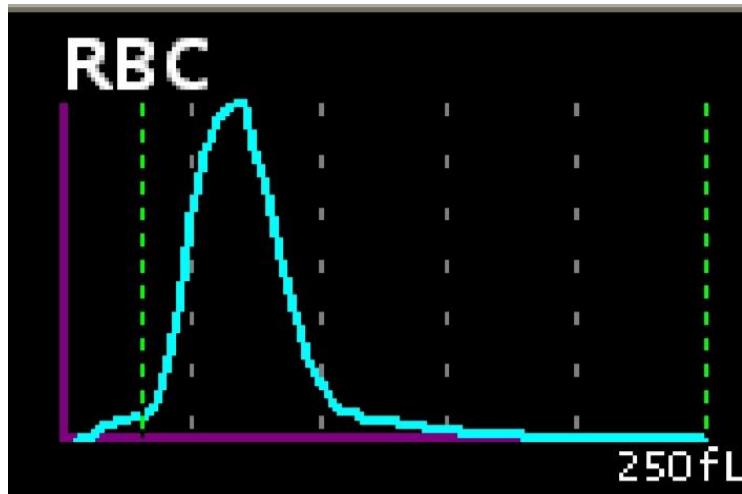
- ✓ Параметры RET%, RET#, IRF
- ✓ Мониторинг количества развивающихся эритроцитов

- **Третий уровень – информация о функции эритроцитов**

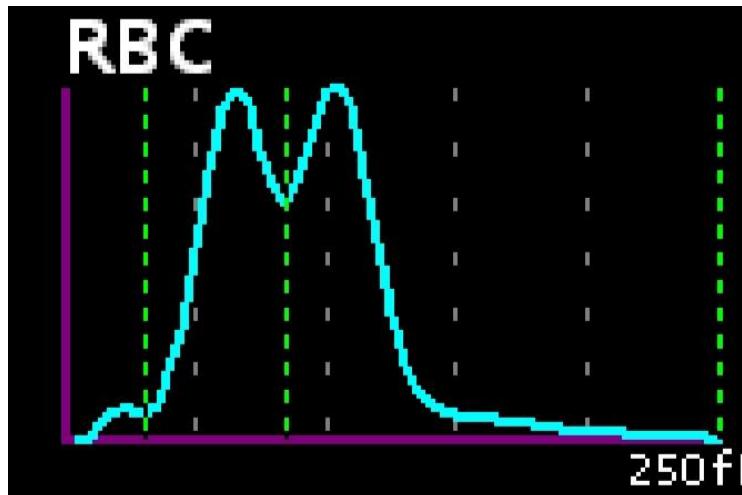
- ✓ Параметр RET-Не (гемоглобинизация ретикулоцитов в пг)
- ✓ Мониторинг активности эритропоэза путем оценки содержания гемоглобина в развивающихся эритроцитах

Динамика RBC-ГИСТОГРАММЫ при лечении ЖДА

MCV 64,3фл
MCH 19,5пг
RET-Не 25пг
HGB 85 г/л



MCV 80,0фл
MCH 25,9пг
RET-Не 32,1пг
HGB 130 г/л



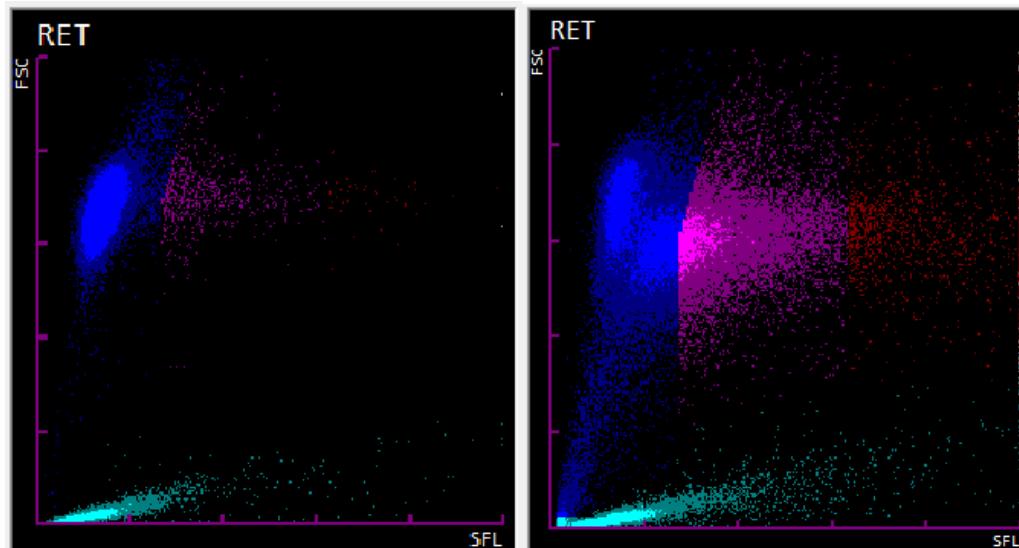
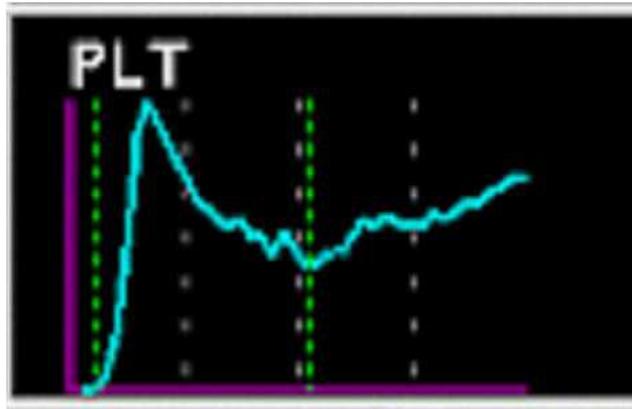
Прием препаратов
Fe→ретикулоцитарный криз 8-12 день→HGB↑ к концу 3-ей недели→нормализация показателей гемограммы к концу 5-8 недели лечения.

Изменение Ret-Не с 3-го дня терапии.

!!! Скорость повышения уровня HGB и Ht у беременных ниже в связи с увеличенным ОЦК.

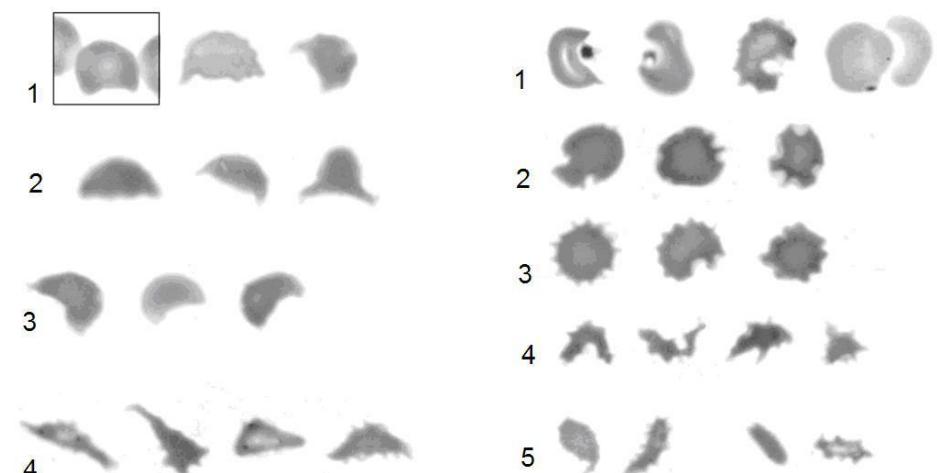
Шистоциты

- До 0,2% у здоровых людей
- До 0,45% у женщин в преэклампсии
- До 2% у новорожденных
- 4,9-5,5% у недоношенных



Фрагменты эритроцитов измененной формы и размера с наличием 2-3 углов и линией разлома

- FRC – fragmented red cells
- Автоматизированный подсчет FRC – полезное дополнение к микроскопической оценке мазка крови (стабильность образца крови ограничивается 24 часами)
- Рекомендации Международного совета по стандартизации и гематологии (ICSH)



Дети неонатального периода:

- **Физиологический эритроцитоз (полицитемия)** в первые сутки- HGB 180-240 г/л и RBC $7,6 \cdot 10^{12}$ /л. В первый часы за счет плацентарной трансфузии и концентрацией крови в связи с потерей могут еще ↑↑. Конец 1-ых суток- начало 2-ых - ↓↓ HGB и RBC, к 15-ому дню - $4,5-6,0 \cdot 10^{12}$ /л и 150-230 г/л
- Аниоцитоз, макроцитоз, пойкилоцитоз, полихромазия, шизоцитоз (исезают в 2-3 месяца)
- Ретикулоцитоз до 51% (к 2 месяцам – 3-15%), нормобластоз
- Длительности жизни RBC в первые дни – 12 дней
- Развитие **физиологической анемии** к 3-м месяцам (HGB 110-130 г/л, RBC $4,5 \cdot 10^{12}$ /л ⇒
- В 3 месяца доношенным ОАК, В 1,5-2 месяца – недоношенным
- СОЭ в первые 2-3 дня – 0-2 мм/час
- Ht 64% и выше, к 2-м месяцам – 42%

- **Физиологический Лейкоцитоз** в первые часы жизни новорожденных до $30 \cdot 10^9$ /л. Сдвиг влево за счет п/я нейтрофилов, метамц, мц (1-17%). К 10-12 дню – $10 \cdot 12 \cdot 10^9$ /л. При рождении neut% 60-70, lymph% 12-28. Со 2-го дня neut↓, lymph↑, исчезают юные формы и п/я нейтрофилы и к 3-7(4) дню **первый перекрест** лейкограммы (40-44% и neut , и lymph)



- Тромбоциты 2-3 день от рождения – $98-370 \cdot 10^9$ /л, с 4 дня – $172-395 \cdot 10^9$ /л.

Беременные женщины:

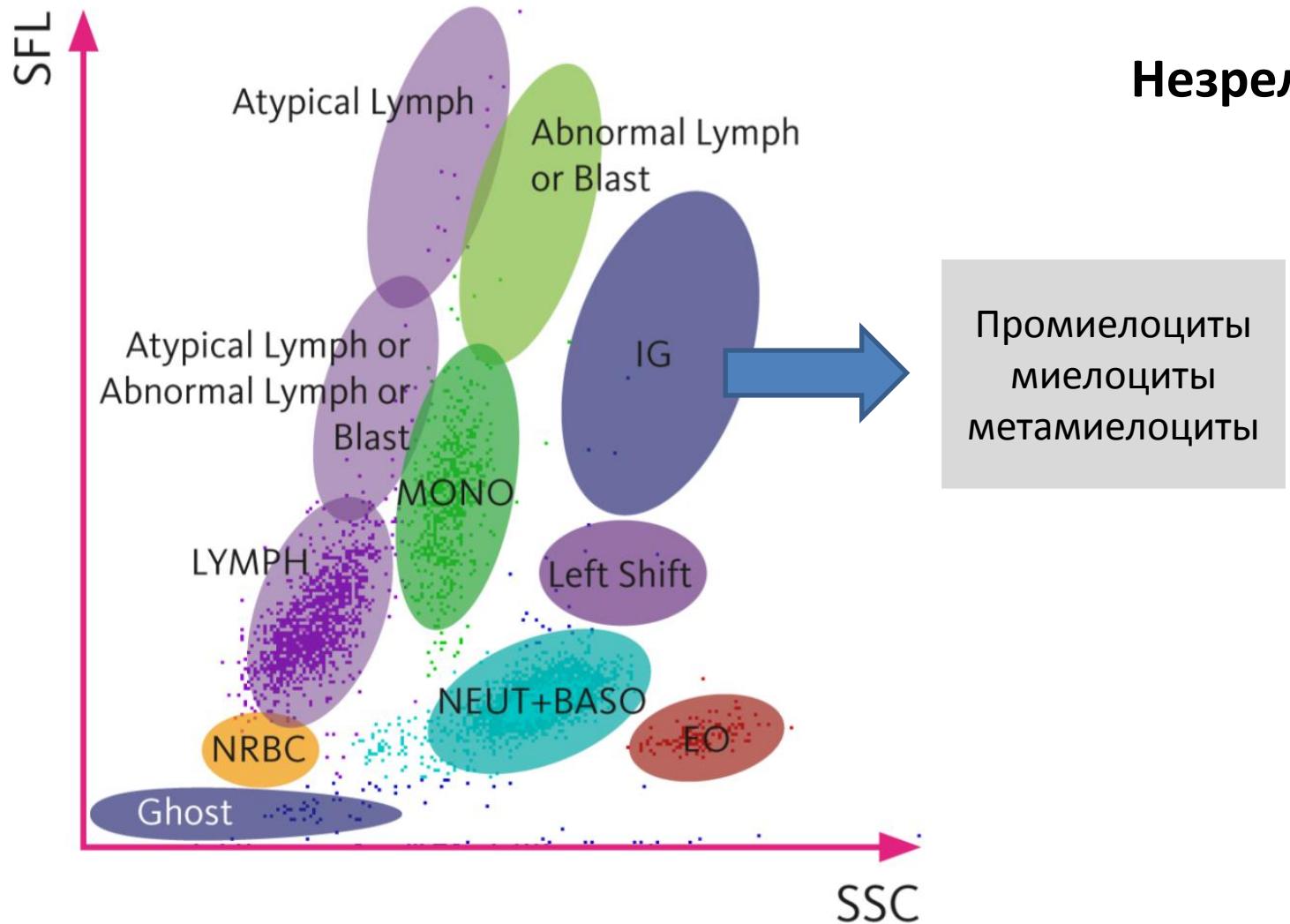
- Умеренная гиперплазия костного мозга под влиянием прогестерона и хориального гонадотропина.
- «Пик» лейкоцитоза на 30 нед. беременности, при физиологическом течении до 15 тыс.
- Нейтрофилез, сдвиг формулы влево до юных форм. **Параметр IG**
- Состояние гиперволемии за счет увеличения ОЦК (нейрогуморальная перестройка)
- Могут встречаться все виды анемий, диагностируемых в популяции.

95% анемий беременных – ЖДА.

Степень тяжести анемии	HGB, г/л	Ht
Легкая	109-90	37-31
Средняя	89-70	30-24
Тяжелая	69-40	23-13
Очень тяжелая	<40	<13



Immature Granulocytes



Незрелые гранулоциты

- Подсчет IG# и IG%

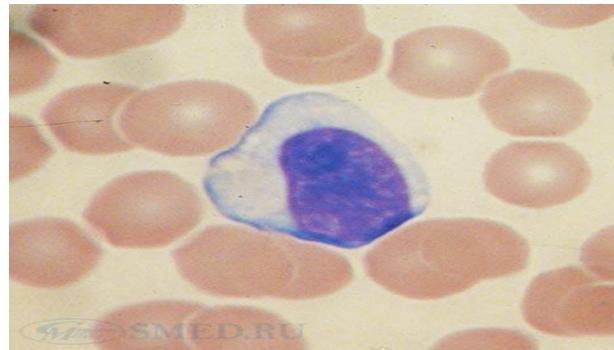
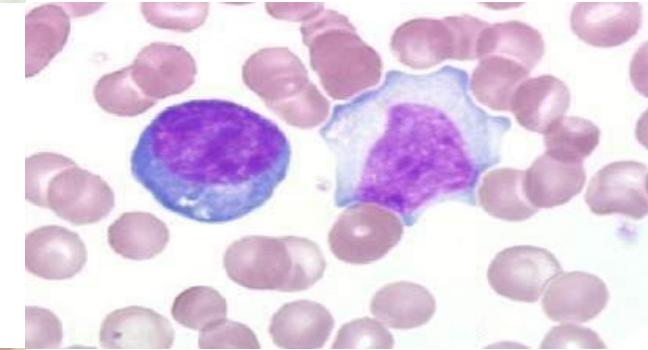
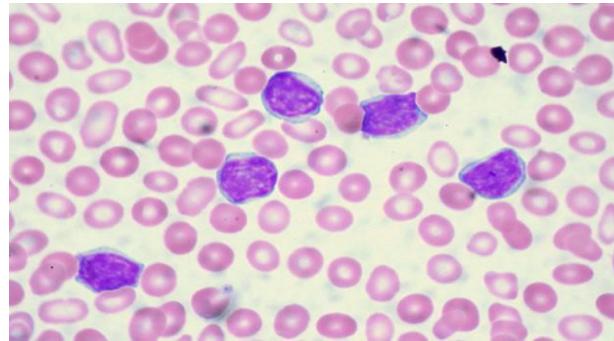
Промиелоциты
миелоциты
метамиелоциты

Оценка морфологии клеток микроскопически

Для детей по окончанию неонатального периода характерен возрастной лимфоцитоз (преобладание фракции лимфоцитов в лейкоформуле и абсолютный лимфоцитоз).

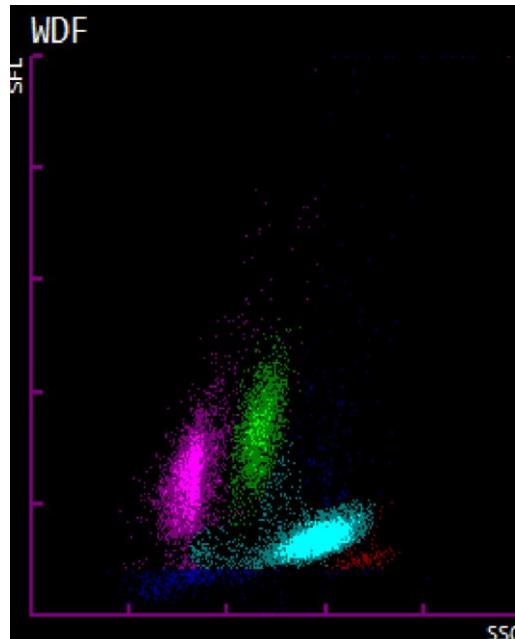
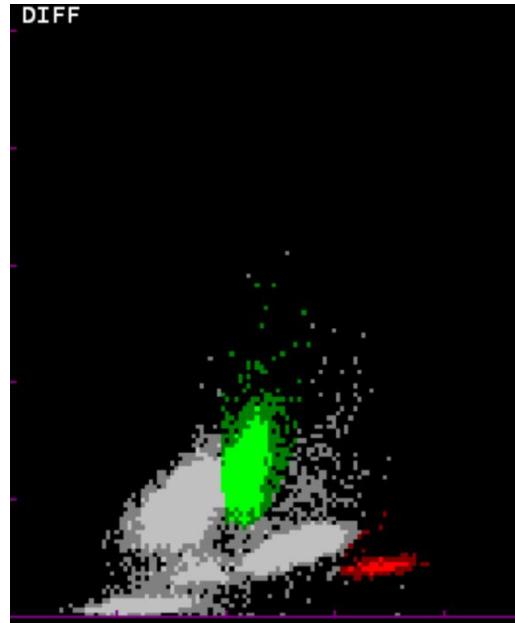
Во всех линиях дифференцировки присутствуют молодые клетки. Лимфоциты реактивные, активированные, с выраженным анизоцитозом и полиморфизмом (различное ЯЦС, разнообразная форма ядра, часто ядро моноцитоидное, сглаженное, хроматин гомогенен, цитоплазма с краевой базофилией и выраженной плазматизацией).

Характерна морфология мазка по типу «лейкемоидной реакции».



Оценка морфологии клеток анализатором:

- У детей почти все лимфоциты флагируются
Abn lymph/Blasts?
Atypical lymph?
Abnormal lymph?
 - Более 70% проб детей неонатального периода имеют «серые» графики, где анализатор не может разделить на популяции лейкоциты (лейкемоидные реакции, лейкоцитоз новорожденных)
 - Около 70% проб детской крови подлежит микроскопии



A close-up, high-contrast image of numerous red blood cells. The cells are spherical with a slightly凹 (concave) center, giving them a biconcave disc shape. They are packed closely together against a solid black background, creating a sense of depth and density.

Спасибо за
внимание!!!