

A microscopic view of numerous red blood cells, which are biconcave discs, filling the frame. They are a deep red color with a slightly textured surface. The cells are in various positions, some in sharp focus and others blurred in the background, creating a sense of depth.

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»

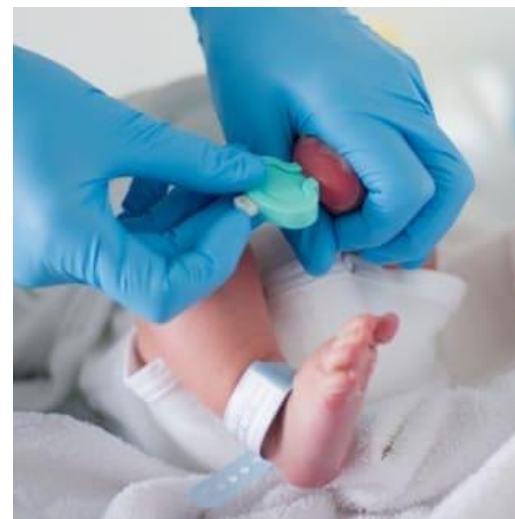
Преаналитический этап

Для новорожденных:

- До 1месяца – пяточная кровь
- Маловесные дети – пяточная кровь
- При весе >4кг – капиллярная кровь
- Использование специальных ланцетов с фиксированной глубиной прокола(до 2мм для пятки, до 0,85 мм для быстрозаживающего 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

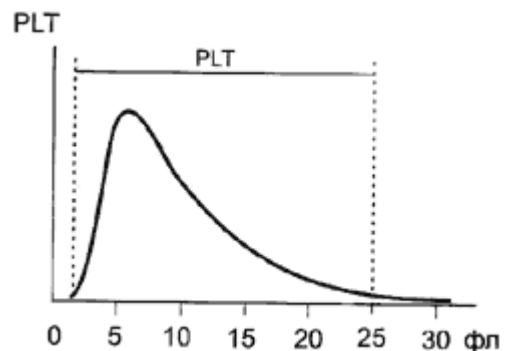
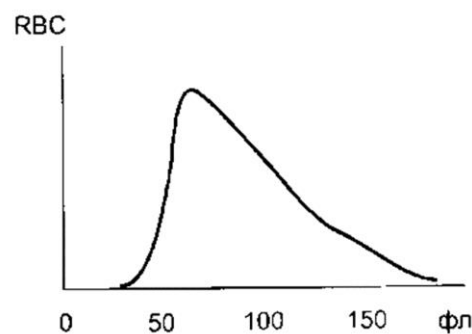
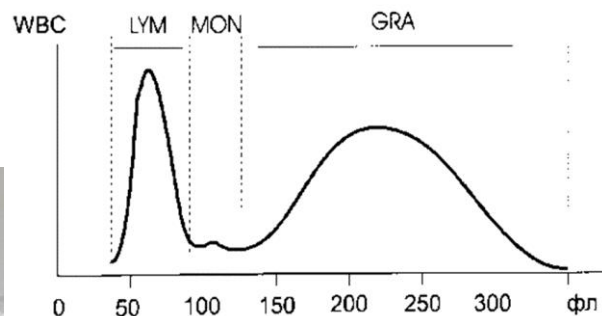
- До 70 параметров
- Полная дифференцировка лейкоцитов на 5 популяций
- Комбинация методов (светооптика + проточная цитофлуориметрия)
- На выходе WBC-, RBC-, PLT-гистограммы + скатерограммы



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 цитофлуориметрия, дополнительные параметры лазерного сканирования, варианты мембранного и внутриклеточного окрашивания,
- На выходе WBC-, RBC-, PLT-гистограммы + скатерограммы

3 DIFF

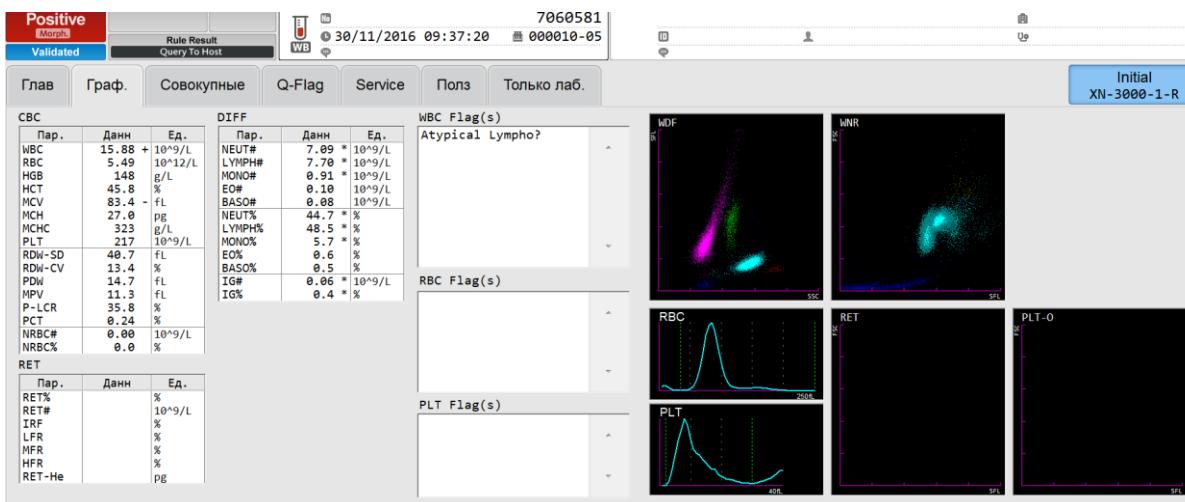


5 DIFF

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

5,9-186-0,53-300

No.	6655287
Date	13/07/2016
Time	12:05
Mode	WB
WBC	+ 18.4 × 10 ⁹ /L
RBC	4.69 × 10 ¹² /L
HGB	152 g/L
HCT	0.414
MCV	88.3 fL
MCH	32.4 pg
MCHC	367 g/L
PLT	+ 624 × 10 ⁹ /L
LYM%	+0.591
MXD%	0.081
NEUT%	-0.328
LYM#	10.9 × 10 ⁹ /L
MXD#	1.5 × 10 ⁹ /L
NEUT#	6.0 × 10 ⁹ /L
RDW-SD	- 36.4 fL
RDW-CV	-0.100
PDW	- 8.2 fL
MPV	10.3 fL
P-LCR	0.193



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 * 10^9 /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, *10 ¹² /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 анизоцитоза (смотрим гистограмму и RDW)

У новорожденных – физиологический макроцитоз

MCH- среднее содержание гемоглобина в эритроците

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

Норма 27-31 пг. Зависит от размера эритроцита

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

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

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

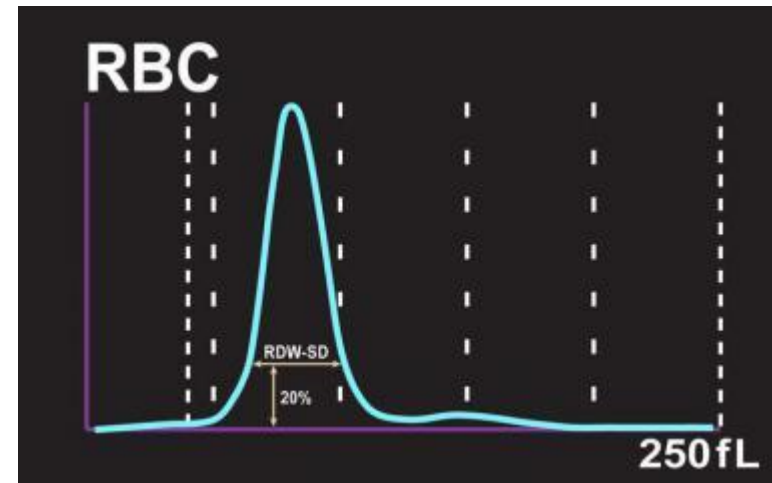
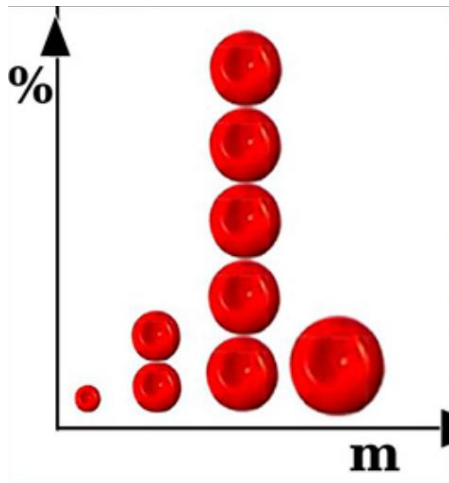
- Показатель гетерогенности эритроцитов по объему, характеризует степень анизоцитоза.
- $$\text{RDW-CV}(\%) = \frac{\text{средний диаметр RBC}}{\text{средний объем MCV}}$$

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

- RDW-SD(Sysmex)

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

- Следует оценивать в совокупности с гистограммой



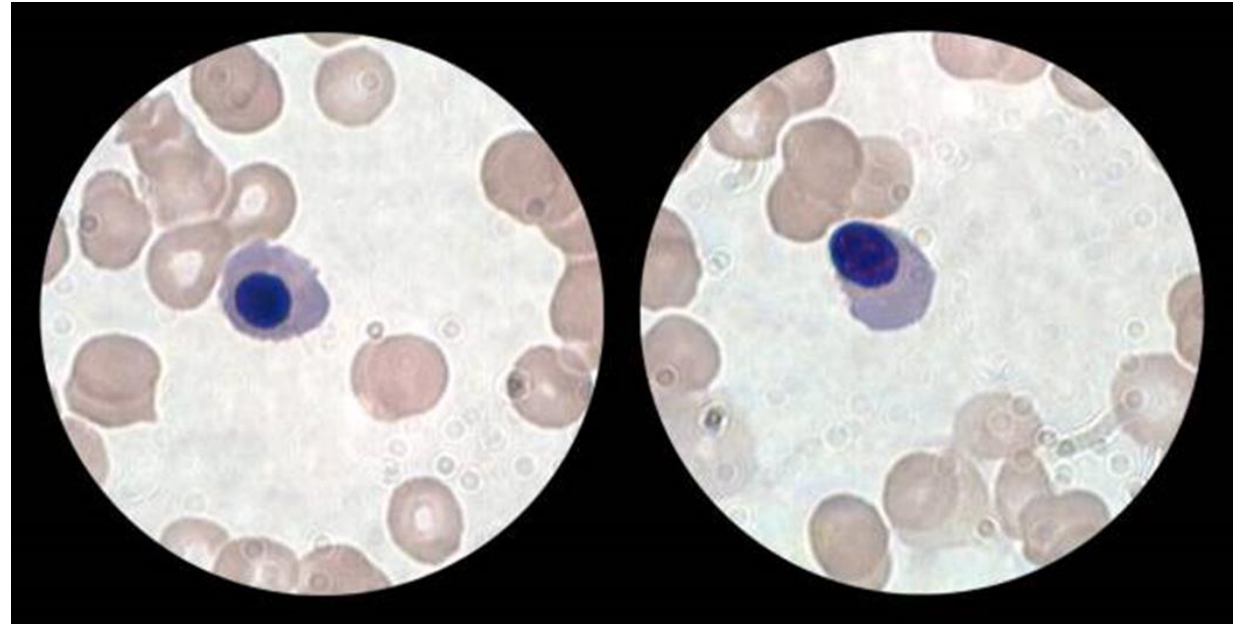
NRBC

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

У недоношенных младенцев до 100 нрмбл/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 $<20/\text{мкл}$, 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 < $4,5 \cdot 10^{12}/л$

Ht < 40%

!!! Капиллярная кровь

Тяжелые состояния новорожденных:

Hb < 100-125 г/л

RBC < $4,5 \cdot 10^{12}/л$

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
- Сенсбилизация к АГ ребенка

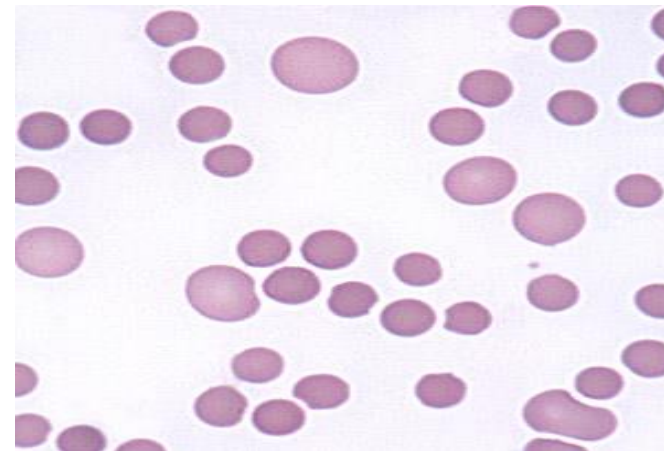
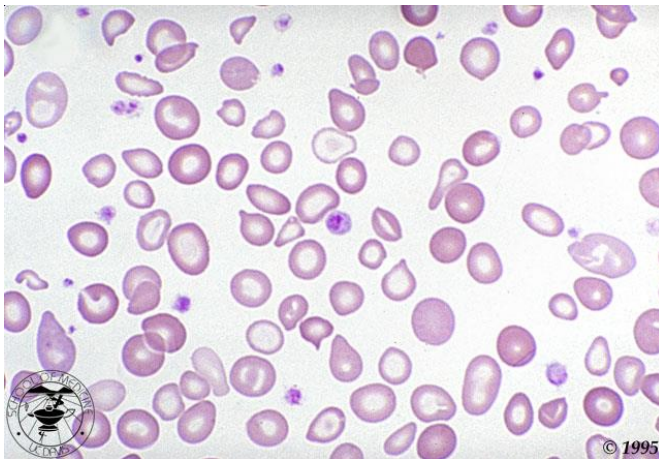
Этиология развития анемии (90% случаев ЖДА) у беременных:

- 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

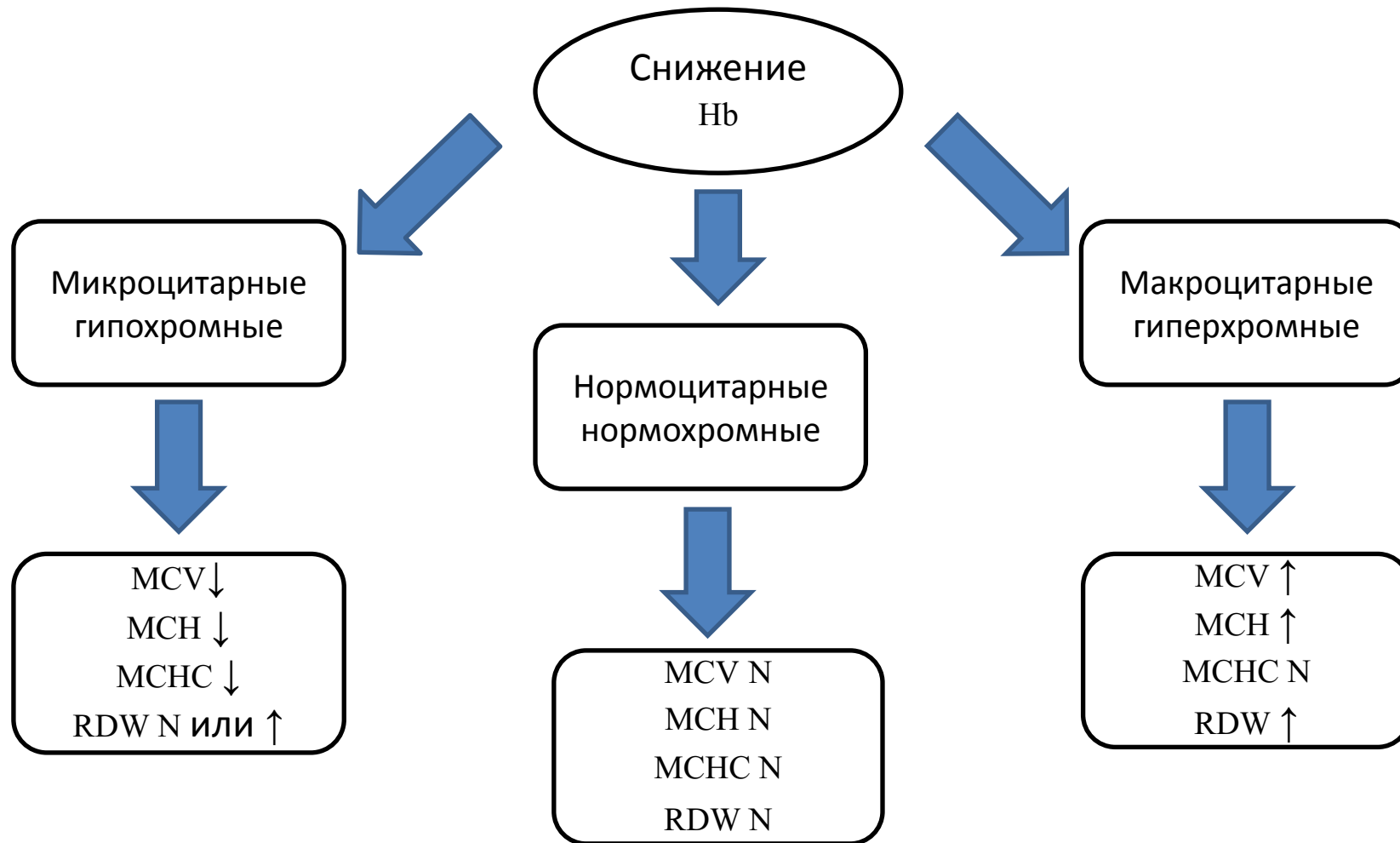
Классификация анемий

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 B12, фолиевой кислоты)
 - ✓ Гипопластические (нормоцитарные) анемии – нарушение дифференцировки/регенерации (сочетанные дефициты)



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 эритропоэза 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 мембран эритроцитов

б)дефицит ферментов эритроцитов

в)нарушение синтеза гемоглобина

-приобретенные гемолитические анемии

-гипо- и апластические анемии

Ретикулоциты

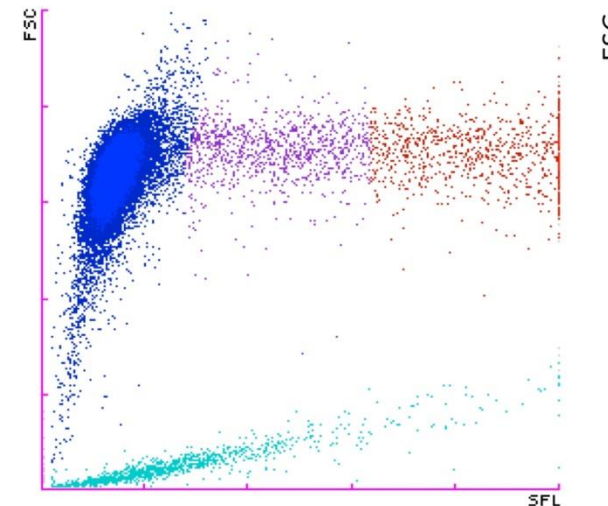
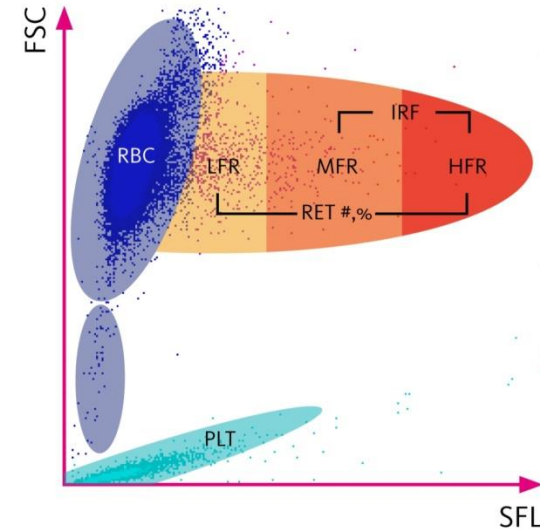
Оценка уровня RET по технологии Sysmex путем проточной гемоцитометрии.

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-He – показатель доступности для КМ. Норма 28-36 пг. Железодефицитный эритропоэз при $\text{RET-He} < 28$ 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**

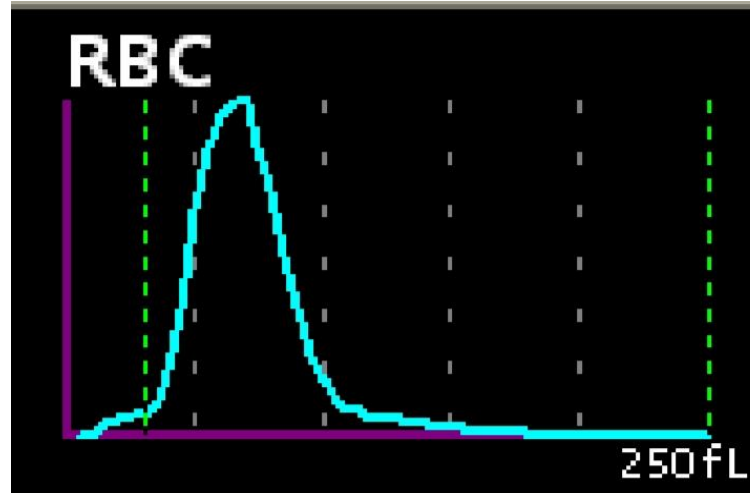
- ✓ Параметры RET%, RET#, IRF
- ✓ Мониторинг количества развивающихся эритроцитов

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

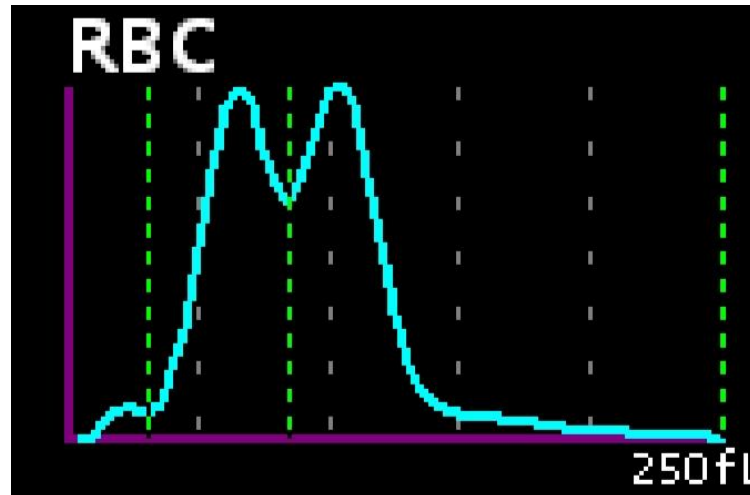
- ✓ Параметр RET-He (гемоглобинизация ретикулоцитов в пг)
- ✓ Мониторинг активности эритропоэза путем оценки содержания гемоглобина в развивающихся эритроцитах

Динамика RBC-ГИСТОГРАММЫ при лечении ЖДА

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



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



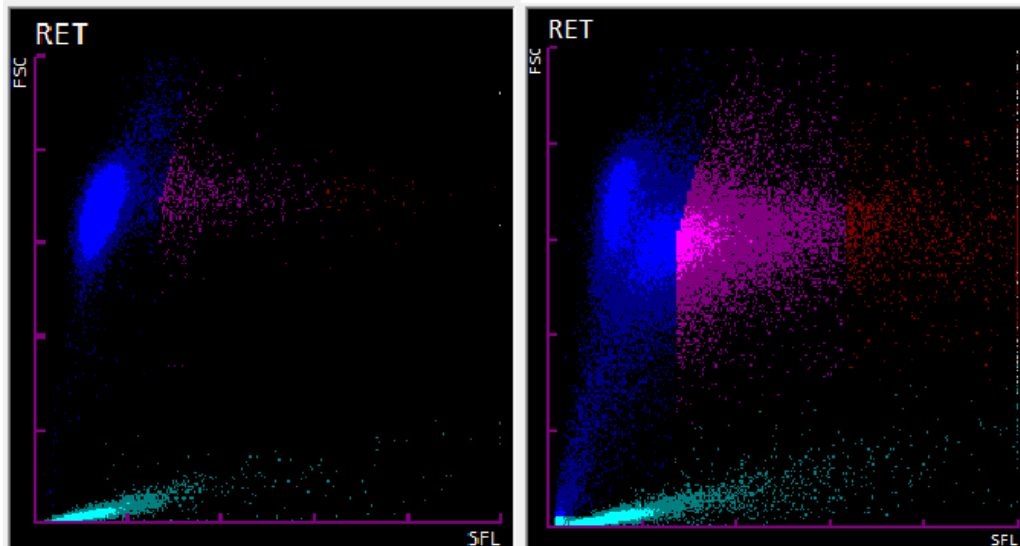
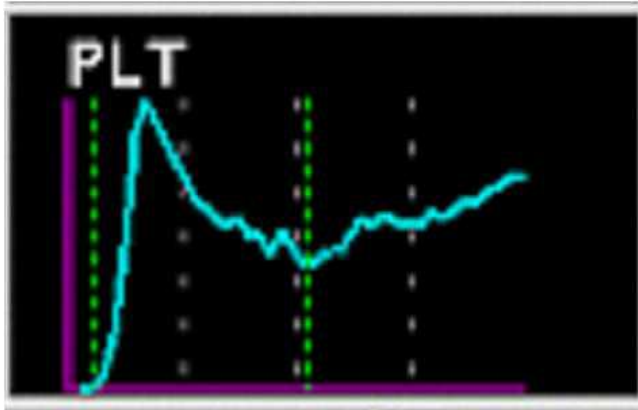
Прием препаратов
Fe→ретикулоцитарный криз 8-
12 день→HGB↑ к концу 3-ей
недели→нормализация
показателей гемограммы к
концу 5-8 недели лечения.

Изменение Ret-He с 3-го дня
терапии.

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

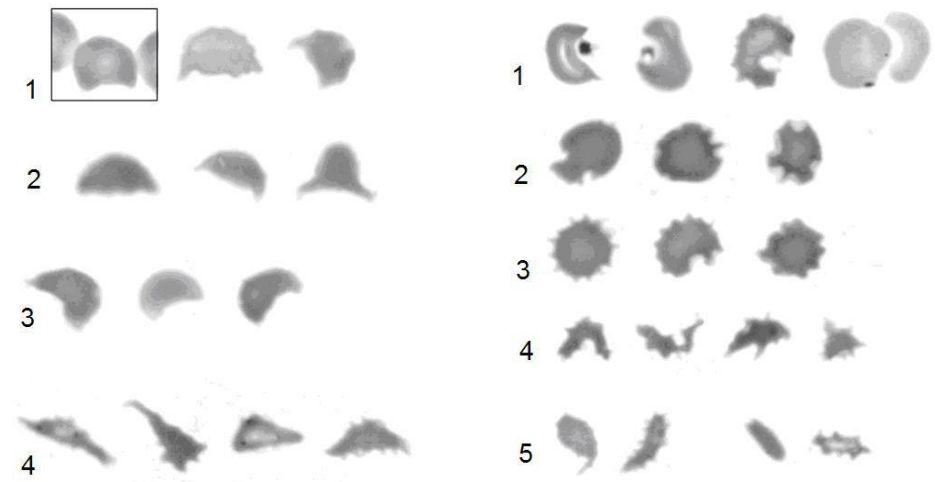
Шистоциты

- 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

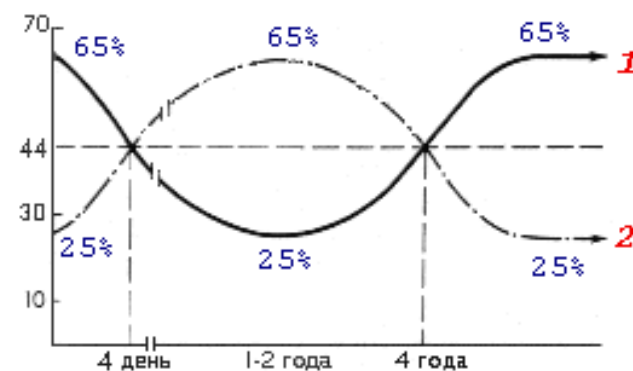
- FRC – fragmented red cells
- Автоматизированный подсчет FRC – полезное дополнение к микроскопической оценке мазка крови(стабильность образца крови ограничивается 24 часами)
- Рекомендации Международного совета по стандартизации и гематологии (ICSH)



Дети неонатального периода:

- **Физиологический эритроцитоз (полицитемия)** в первые сутки- HGB 180-240 г/л и RBC $7,6 \cdot 10^{12}/\text{л}$. В первый часы за счет плацентарной трансфузии и концентрацией крови в связи с потерей могут еще $\uparrow\uparrow$. Конец 1-ых суток- начало 2-ых - $\downarrow\downarrow$ HGB и RBC, к 15-ому дню - $4,5-6,0 \cdot 10^{12}/\text{л}$ и 150-230 г/л
- Анизоцитоз, макроцитоз, пойкилоцитоз, полихромазия, шизоцитоз (исчезают 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 $4,5 \cdot 10^{12}/\text{л} \Rightarrow$
- 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 $30 \cdot 10^9/\text{л}$. Сдвиг влево за счет п/я нейтрофилов, метамц, мц (1-17%). К 10-12 дню – $10^*-12 \cdot 10^9/\text{л}$. При рождении neut% 60-70, lymph% 12-28. Со 2-го дня neut \downarrow , lymph \uparrow , 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 – $98-370 \cdot 10^9/\text{л}$, с 4 дня – $172-395 \cdot 10^9/\text{л}$.

Беременные женщины:

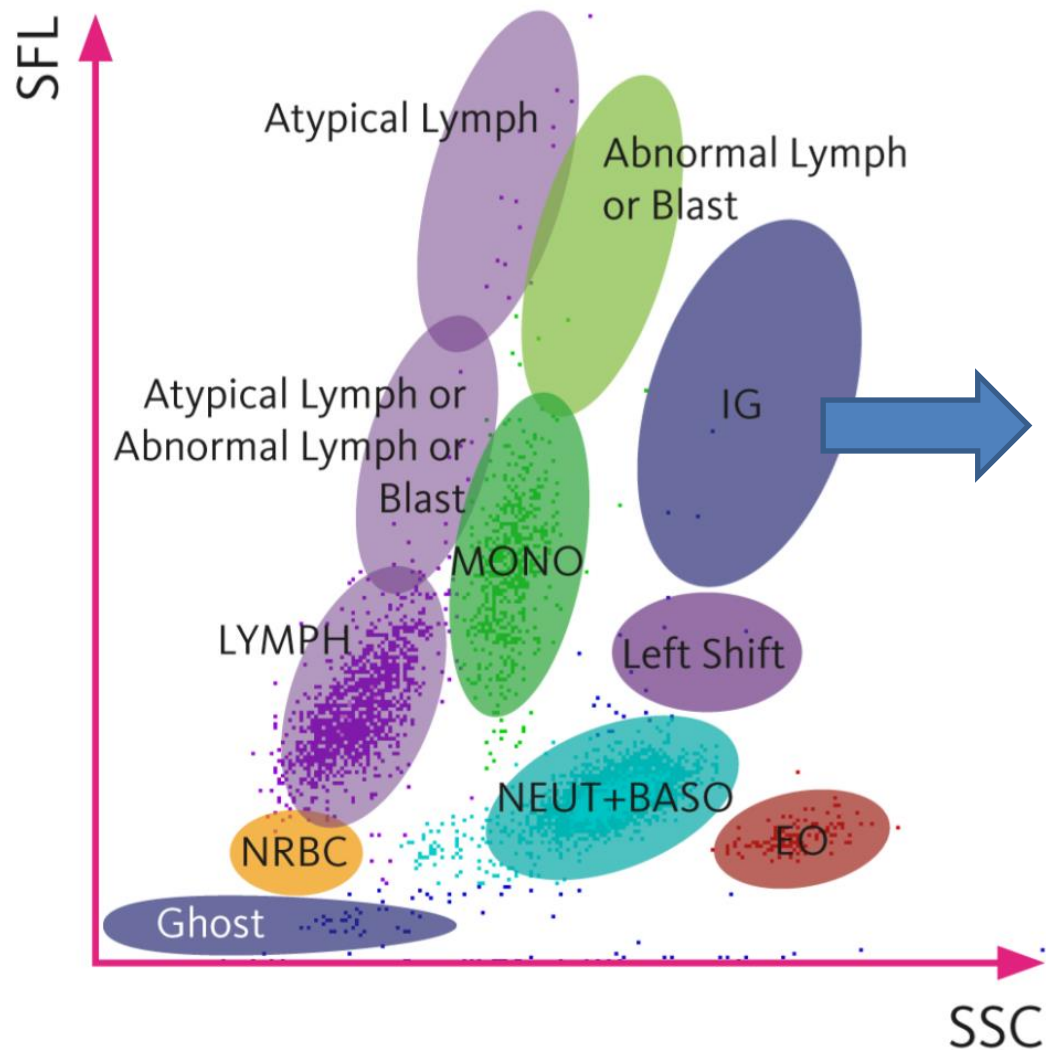
- Умеренная гиперплазия костного мозга под влиянием прогестерона и хориального гонадотропина.
- «Пик» лейкоцитоза на 30 нед. беременности, при физиологическом течении до 15 тыс.
- Нейтрофилез, сдвиг формулы влево до юных форм. **Параметр IG**
- Состоянии гиперволемии за счет увеличения ОЦК (нейрогуморальная 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%

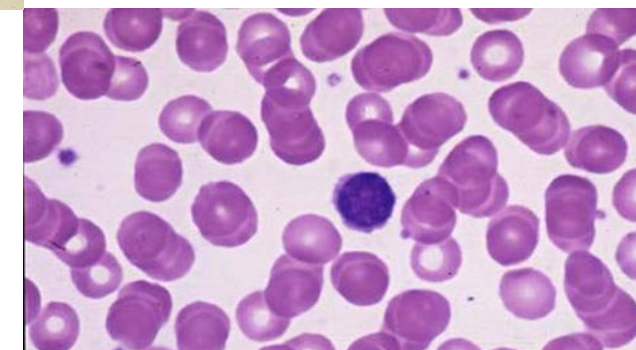
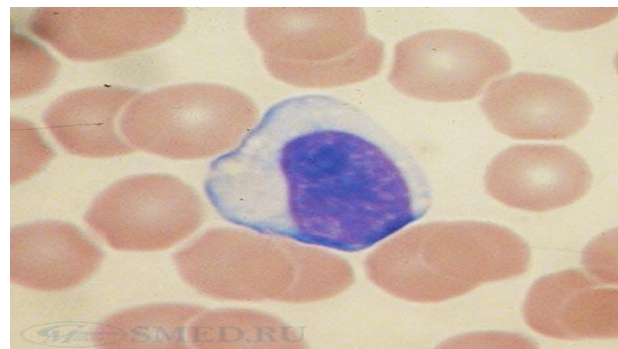
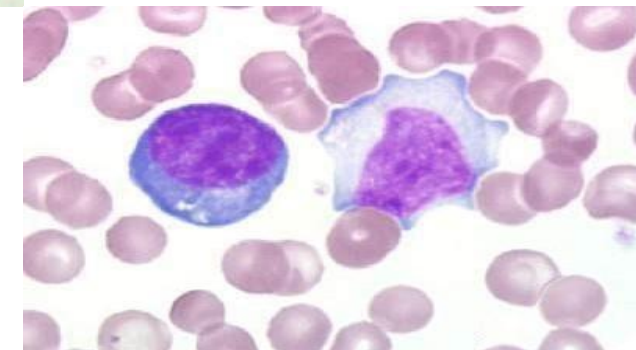
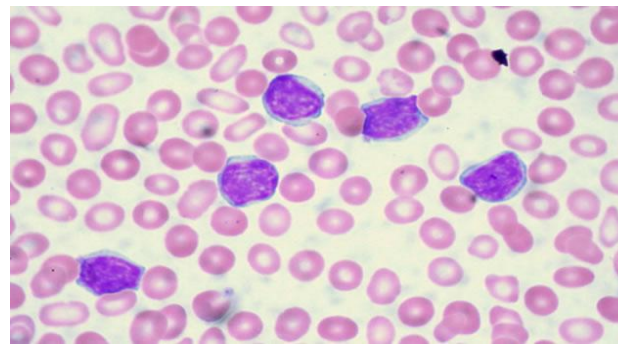
Промиелоциты
миелоциты
метамиелоциты

Оценка морфологии клеток микроскопически

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

Во всех линия 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:

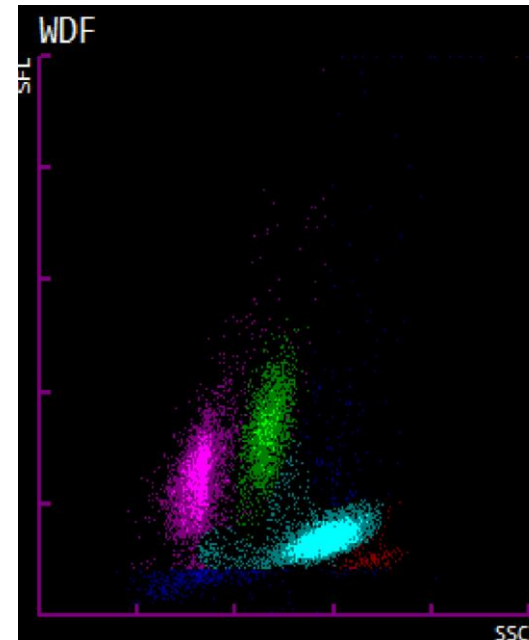
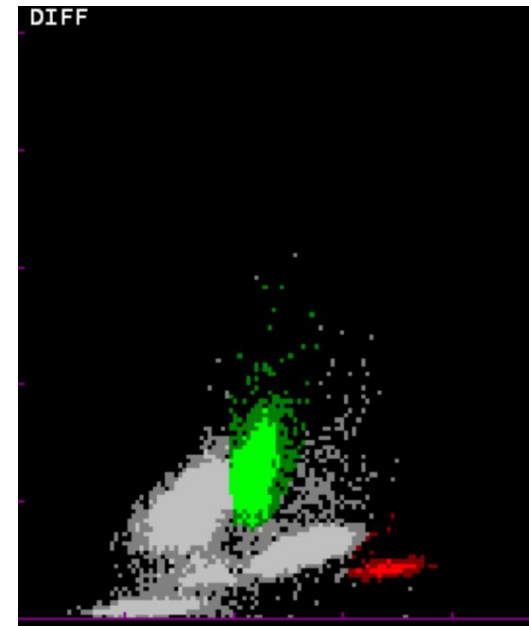
- У детей почти все лимфоциты
флагируются

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 microscopic view of numerous red blood cells, which are biconcave and reddish in color, filling the background. The cells are in various positions, some in sharp focus and others blurred, creating a sense of depth.

**Спасибо за
внимание!!!**