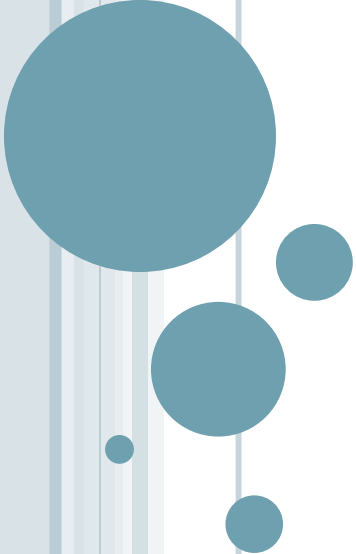




ЧТО ДАЕТ ГЕМАНАЛИЗАТОР ТЕРАПЕВТУ

**Ненашева Ольга Юрьевна,
Кафедра клинической лабораторной
диагностики ПГМУ**

ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗАТОР — ПРИБОР, ПРЕДНАЗНАЧЕННЫЙ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ОБЩЕГО АНАЛИЗА КРОВИ В КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ЛАБОРАТОРИЯХ.



- Гематологический анализатор CELL DYN 3700 (Abbott)

- Гематологический анализатор ADVIA 2120i (Siemens)



Общий анализ крови – набор тестов, направленных на определение количества различных клеток крови, их параметров (размера и др.) и показателей, отражающих их соотношение и функционирование.



СПОСОБЫ ВЫПОЛНЕНИЯ ОБЩЕГО АНАЛИЗА КРОВИ

- «Ручной»
Традиционные показатели

- Автоматизированный
Новые показатели



РУЧНЫЕ МЕТОДЫ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

Анализ крови № _____ « ____ » _____ 20__ г.

Гр. _____ Для врача _____

В учреждение _____ палата _____ № _____
отделение _____ амбулат. _____

Эритроциты	Гемоглобин по Сали	Цветовой показатель	Толстая капля		Ретикулоциты	Тромбоциты	Паразиты
			полихром	базофильн. зернист.			
Норма 4,5–5,5 млн	100%	0,1	+	-	0,5%	250–300 тыс.	

Лейкоциты	Базофилы	Эозинофилы	Нейтрофилы				Лимфоциты	Моноциты	Индекс сдвига
			миелоциты	юные	палочко-ядерные	сегмент			
Норма 6–8000	1	3	-	-	1	63	23	6	1:16

Аниоцитоз _____ Резистент эрит. мин. _____

Пойкилоцитоз _____ макс. _____

Нормобласты _____ Свертыв. крови _____
Начало _____ конец _____

Скорость оседания эритроц. _____

1. Измерение гемоглобина – метод Драбкина (фотометрия)
2. Подсчёт эритроцитов – прямой подсчёт в камере Горяева
3. Измерение гематокрита – центрифугирование в специальных капиллярах с последующим определением по уровню столба эритроцитов
4. Расчёт остальных эритроцитарных показателей (цветовой показатель) по формулам.
5. Подсчёт лейкоцитов – прямой подсчёт в камере Горяева после лизиса эритроцитов.
6. Подсчёт тромбоцитов – прямой подсчёт в камере Горяева после лизиса эритроцитов / подсчет на предметном стекле после окрашивания мазка крови.
7. Лейкоцитарная формула – подсчёт каждого типа клеток в мазке крови при микроскопии

«РУЧНЫЕ» (ВИЗУАЛЬНЫЕ) МЕТОДЫ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

○ Преимущества :

- не требуют дорогостоящего оборудования и реагентов;
- могут быть выполнены в любых условиях.

○ Недостатки :

- трудоёмкость, утомительность;
- субъективность, влияние человеческого фактора;
- профессиональная вредность (напряжение органов зрения);
- целый ряд возможностей для возникновения ошибок:
- *большая статистическая погрешность, связанная с обработкой ограниченной по количеству выборки клеток;*
- *неравномерное распределение клеток в препарате;*
- *неправильное распознавание клеток; ошибки дозирования;*
- *образование сгустка, поглощающего часть клеток;*
- *плохое перемешивание взвеси клеток;*
- *частичный лизис клеток;*
- *нарушение правил работы (недостаточное протирание покровных стекол, неравномерное заполнение счетной камеры, недостаточно хорошее мытье лабораторной посуды)*

- При подсчете клеток в камере Горяева статистическая ошибка, обусловленная случайными вариациями числа клеток, попадающих в площадь сетки, составляет около 7%.
- Суммарная погрешность анализа 10-15% (ОСТ № 91500.13.0001-2003).
- При подсчете тромбоцитов методом фазовоконтрастной микроскопии, используемой в качестве референтного метода, вариация составляет от 10-23%



АВТОМАТИЗИРОВАННОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КЛЕТОК КРОВИ

- высокотехнологические гематологические анализаторы способны измерять одновременно до 32 параметров крови;
- осуществлять полный дифференцированный подсчет лейкоцитов по 5-ти основным популяциям: нейтрофилы, эозинофилы, базофилы, моноциты и лимфоциты, что делает возможным не проводить ручной подсчет лейкоцитарной формулы.
- аналитические возможности гематологических анализаторов:
высокая производительность (до 100 - 120 проб в час)
- анализ большого количества (10 000 тысяч) клеток обеспечивает высокую точность и воспроизводимость
- графическое представление результатов исследований в виде гистограмм;



ПОКАЗАТЕЛИ ОБЩЕГО АНАЛИЗА КРОВИ

Показатель	Единицы измерения
Эритроциты	$10^{12}/л$
Гемоглобин	г/л
Гематокрит	%
средний объем эритроцита (MCV)	фл
среднее содержание Hb (MCH)	пг
средняя концентрация гемоглобина (MCHC)	г/л
индекс анизоцитоза эритроцитов (RDW)	%
тромбоциты (Plt)	$10^9/л$
средний объем тромбоцита (MPV)	фл
индекс распределения тромбоцитов (PDW)	%
тромбоцит (Pct)	$10^{12}/л$
лейкоциты (WBC)	$10^9/л$
Нейтрофилы	%
нейтрофилы, абс.	$10^9/л$
Лимфоциты	%
лимфоциты, абс	$10^9/л$
Моноциты	%
моноциты, абс	$10^9/л$
Эозинофилы	%
эозинофилы, абс	$10^9/л$
Базофилы	%
базофилы, абс	$10^9/л$

Новые показатели:

- Средний объем эритроцитов MCV (фл);
- Среднее содержание гемоглобина в эритроцитах MCH (пг);
- Средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах MCHC (г/л);
- Ширина распределения эритроцитов по объёму RDW (%);
- Средний объем тромбоцитов MPV (пг);
- Тромбоцит PCT (%);
- Лейкоформула (абс. кол-во клеток в л);



ОЦЕНКА ЭРИТРОПОЭЗА

Среднее
содержание
гемоглобина в
эритроците

$$MCH = \frac{Hb \text{ (г/л)}}{RBC \text{ (} 10^{12}/\text{л)}} \times 100$$

27-31 пг

Средняя
концентрация
гемоглобина в
эритроците

$$MCHC = \frac{Hb \text{ (г/л)}}{Ht \text{ (%)}} \times 100$$

320-370 г/л

Показатель
анизцитоза
эритроцитов

$$RDW = \frac{SD}{MCV} \times 100$$

11,5 -14,5 %

Ретикулоциты

RET

0,5-1,2%



ТРОМБОЦИТАРНЫЕ ПАРАМЕТРЫ.

Оценка функционального состояния тромбоцитов.
Анализ скорости тромбоцитобразования.

Все гематологические анализаторы оценивают следующие параметры:

- **PLT** (*platelet, 10⁹/л*) количество ТЦ
- **MPV** (*mean platelet volume, фл*) средний объем ТЦ
- **PDW** (*platelet distribution width, %*) показатель анизоцитоза ТЦ
- **PCT** (*platelet crit, %*) тромбокрит

**MPV более 7,9 фл свидетельствует о
гипердеструктивной тромбоцитопении**

**MPV ниже 7,4 фл позволяет прогнозировать
гипопродуктивную тромбоцитопению**

Рассчитывается по формуле:
 $PDW = [SD (PV) \div MPV] \times 100\%$

Отражает степень гетерогенности тромбоцитов по размеру

Норма PDW 40,1-65,8 %

PDW с возрастом увеличивается.

Уровень PDW у мужчин выше, чем у женщин.

Величина PDW должна оцениваться в связи с другими параметрами тромбоцитов

PDW	MPV	
↑	↓	Преобладание микротромбоцитов (угнетение тромбоцитопозза)
↑	↑	Увеличение числа макротромбоцитов (усиление продукции тромбоцитов)
↑	N	Одновременное присутствие макро- и микротромбоцитов

- В гематологических анализаторах 5 diff подсчитываются 5 классов лейкоцитов, встречающихся в норме:

нейтрофилы,

лимфоциты,

моноциты,

эозинофилы,

базофилы.

- При отсутствии «сигналов тревоги» лейкоцитарная формула может быть использована без морфологического контроля.
- В случае наличия «сигнала тревоги» - микроскопия окрашенных мазков крови обязательна.

(«Стандартизация аналитических технологий лабораторной медицины.

Выпуск 1», Москва, 2012, с. 18-19)



Пол: Женский

Дата рождения: 05.05.1967

Регистрационный код:



4212101151002532062

ПРИМЕР № 1

Результаты тестирования

Направление:

Организация: Ленина пулка.

Отделение:

Врач: Котовская Елена Юрьевна

Регистрация:

Регистрационный №: 4212101151002532062

Дата регистрации: 21.01.2015

Тест	Результат	Единица измерения	Норма	Инструмент
08.01 Общий анализ крови				
Эритроциты (RBC)	4.88	10x12/л	3.9 - 5.2	CellDyne Ruby
Гемоглобин (HGB)	144	г/л	120 - 157	CellDyne Ruby
Гематокрит (HCT)	43.5	%	34 - 45	CellDyne Ruby
Средний объем эритроцита (MCV)	89.1	фл	80 - 95	CellDyne Ruby
Среднее содержание гемоглобина (MCH)	29.5	пг	27 - 33	CellDyne Ruby
CH (прямое измерение содержания гемоглобина)	29.6	пг	27 - 31	Advia 2120
Средняя концентрация гемоглобина (MCHC)	331	г/л	320 - 360	CellDyne Ruby
CHCM (прямое измерение концентрации гемоглобина в клетке)	334	г/л	320 - 360	Advia 2120
Индекс анизоцитоза эритроцитов (RDW)	13.8	%	9 - 15	CellDyne Ruby
Тромбоциты (PLT)	291	10x9/л	150 - 420	CellDyne Ruby
Средний объем тромбоцитов (MPV)	7.0	фл	8 - 12	CellDyne Ruby
Индекс распределения тромбоцитов (PDW)	56.9	%	8 - 65	CellDyne Ruby
Тромбокрит (Pct)	0.20	10x12/л	0.15 - 0.4	CellDyne Ruby
Лейкоциты (WBC)	5.36	10x9/л	4.2 - 9.1	CellDyne Ruby
Нейтрофилы, % (NEU%)	66.5	%	34 - 72	CellDyne Ruby
Нейтрофилы, абс (NEU)	3.57	10x9/л	1.56 - 6.13	CellDyne Ruby
Лимфоциты, % (LYMF%)	27.4	%	19 - 50	CellDyne Ruby
Лимфоциты, абс (LYMF)	1.47	10x9/л	1.18 - 3.74	CellDyne Ruby
Моноциты, % (MON%)	4.4	%	3 - 12	CellDyne Ruby
Моноциты, абс (MON)	0.24	10x9/л	0.24 - 0.82	CellDyne Ruby
Эозинофилы, % (EOS%)	0.2	%	0.5 - 5	CellDyne Ruby
Эозинофилы, абс (EOS)	0.01	10x9/л	0.04 - 0.54	CellDyne Ruby
Базофилы, % (BAS%)	0.2	%	0 - 2	CellDyne Ruby
Базофилы, абс (BAS)	0.01	10x9/л	0 - 1	CellDyne Ruby
СОЭ по Вестергрену ав то	8	мм/час	2 - 20	TEST-1

Результаты тестирования				
Направление:		Регистрация:		
Организация: Ленина пуля.		Регистрационный №: 4212101151001052030		
Отделение:		Дата регистрации: 21.01.2015		
Врач:				
Тест	Результат	Единица измерения	Норма	Инструмент
08.01 Общий анализ крови				
Эритроциты (RBC)	4.06	10x12/l	3.9 - 5.2	CellDyne Ruby
Гемоглобин (HGB)	135	г/л	120 - 157	CellDyne Ruby
Гематокрит (HCT)	41.4	%	34 - 45	CellDyne Ruby
Средний объем эритроцита (MCV)	102.0	фл	80 - 95	CellDyne Ruby
Среднее содержание гемоглобина (MCH)	33.2	пг	27 - 33	CellDyne Ruby
СН (прямое измерение содержания гемоглобина)	34.2	пг	27 - 31	Advia 2120
Средняя концентрация гемоглобина (MCHC)	326	г/л	320 - 360	CellDyne Ruby
CHCM (прямое измерение концентрации гемоглобина в клетке)	337	г/л	320 - 360	Advia 2120
Индекс анизоцитоза эритроцитов (RDW)	13.5	%	9 - 15	CellDyne Ruby
Тромбоциты (PLT)	78	10x9/l	150 - 420	CellDyne Ruby
Средний объем тромбоцитов (MPV)	7.8	фл	8 - 12	CellDyne Ruby
Индекс распределения тромбоцитов (PDW)	64.6	%	8 - 65	CellDyne Ruby
Тромбокрит (Pct)	0.06	10x12/l	0.15 - 0.4	CellDyne Ruby
Лейкоциты (WBC)	2.30	10x9/l	4.2 - 9.1	CellDyne Ruby
Нейтрофилы, % (NEU%)	45.4	%	34 - 72	CellDyne Ruby
Нейтрофилы, абс (NEU)	1.05	10x9/l	1.56 - 6.13	CellDyne Ruby
Лимфоциты, % (LYMF%)	35.6	%	19 - 50	CellDyne Ruby
Лимфоциты, абс (LYMF)	0.82	10x9/l	1.18 - 3.74	CellDyne Ruby
Моноциты, % (MON%)	10.0	%	3 - 12	CellDyne Ruby
Моноциты, абс (MON)	0.23	10x9/l	0.24 - 0.82	CellDyne Ruby
Эозинофилы, % (EOS%)	3.0	%	0.5 - 5	CellDyne Ruby
Эозинофилы, абс (EOS)	0.07	10x9/l	0.04 - 0.54	CellDyne Ruby
Базофилы, % (BAS%)	0.5	%	0 - 2	CellDyne Ruby
Базофилы, абс (BAS)	0.01	10x9/l	0 - 1	CellDyne Ruby
СОЭ по Вестергрену ав то	12	мм/час	2 - 30	TEST-1
сегментоядерные нейтрофилы	56	%	44 - 61	
палочкоядерные нейтрофилы	4	%	0 - 3	
лимфоциты	29	%	19 - 50	
моноциты	10	%	3 - 12	
эозинофилы	1	%	0.5 - 5	



ЧТО ДАЁТ АВТОМАТИЗАЦИЯ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

- повышение точности результатов исследований: суммарная погрешность ручного метода 10-15% (не рекомендовано ОСТом №91500.13.0001-2003).
- Погрешность геманализатора 1-3% (коэффициент вариации при подсчете лейкоцитов – 1-3%, эритроцитов 1-2%, тромбоцитов около 5%);
- возможность получения новых диагностических показателей;
- снижение субъективного фактора;
- повышение производительности работы лаборантов;
- повышение уровня доверия клиницистов;
- улучшение рабочей атмосферы в КДЛ;
- изменение статуса КДЛ в медучреждении в лучшую сторону, повышение престижа клиники в целом.



Чего не могут гематологические анализаторы?

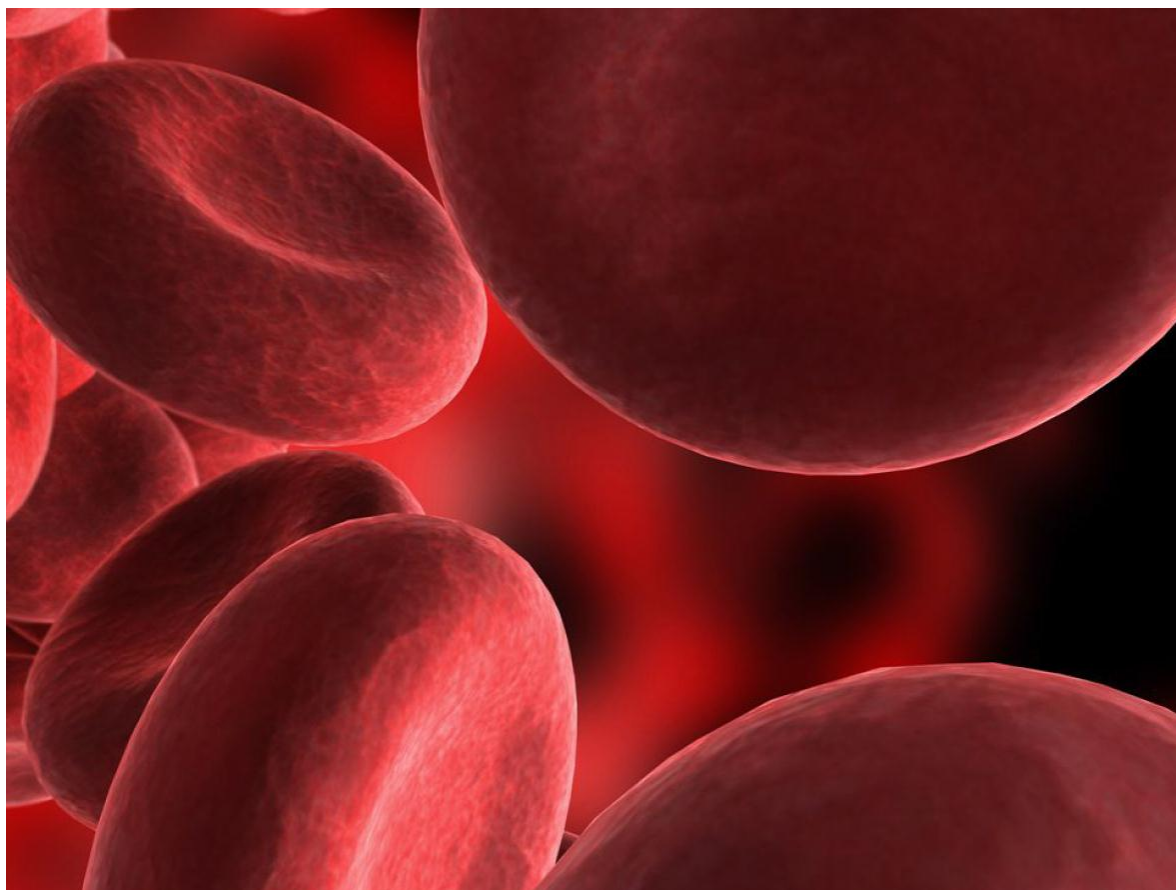
1. Точно дифференцировать и подсчитать незрелые формы гранулоцитов
2. Подсчитать бластные клетки
3. Обучаться, то есть сделать больше того, что в них заложено конструктором и программистом
4. Полностью заменить микроскоп и мазок крови



- Какой-то один показатель автоматизированного анализа крови не даёт возможности адекватно оценить нарушения гемопоэза, тем более, поставить специфический диагноз.
- Только несколько данных гемограммы ***В СОВОКУПНОСТИ*** могут быть использованы в дифференциальной диагностике патологии форменных элементов крови, с тем, чтобы более дорогостоящие и трудоёмкие подтверждающие тесты были выполнены осознанно и целенаправленно.



СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ



ИССЛЕДОВАНИЕ РЕТИКУЛОЦИТОВ ИСПОЛЬЗУЕТСЯ ДЛЯ:

- оценки активности эритропоэза при состояниях, сопровождающихся гемолизом или кровопотерей;
- детекции нарушения регенераторной способности костного мозга при дефиците железа, витаминов B_{12} , B_6 , фолатов, меди и мониторинга соответствующей терапии;
- оценки состояния эритропоэза на фоне лечения эритропоэтином;
- оценки способности костного мозга к регенерации после цитотоксической терапии и трансплантации костного мозга;
- оценки восстановления синтеза ЭПО после трансплантации почки;
- допингового контроля у спортсменов (прием ЭПО – Ret>2,4%, Ht>47%)



РЕТИКУЛОЦИТЫ НА ГЕМАТОЛОГИЧЕСКОМ АНАЛИЗАТОРЕ

Классические параметры ретикулоцитов

RET% - относительное количество ретикулоцитов (в %);

RET# - абсолютное количество ретикулоцитов ($\times 10^9/\text{л}$);

Ложное повышение

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

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

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

Объемные

MCVr (Mean Cell Volume Reticulocytes) -

средний объем ретикулоцитов (фл);

MSRV (Mean Sphered Reticulocyte Volume) -

средний объем сферических

ретикулоцитов, фл.

- Низкий объем ретикулоцитов объясняет появление микроцитов в периферической крови.
- Объемные показатели ретикулоцитов могут использоваться в диагностике ЖДА, мониторинге ответа на терапию железосодержащими препаратами, фолиевой кислотой, витамином B_{12} .
- Изменение MSRV у спортсменов указывает на злоупотребление препаратами, стимулирующими эритропоэз.

Характеризующие степень зрелости ретикулоцитов

LFR% - популяция малых зрелых RET (87 - 99%);

MFR% - популяция средних RET (2 - 12%);

HFR% (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.

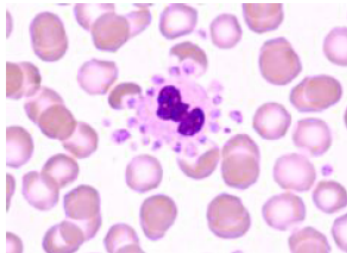
Увеличение фракции незрелых ретикулоцитов свидетельствует об ускоренном выбросе незрелых клеток из костного мозга. Фракция незрелых ретикулоцитов повышается значительно раньше (как правило, на 2 дня) RET% и может служить наиболее чувствительным маркером в мониторинге за состоянием эритропоэтической активности костного мозга и эффективности лечения витамином B_{12} , фолиевой кислотой препаратами железа и ЭПО.

Ретикулоцитарные индексы (RPI и CRC)

ВОЗМОЖНЫЕ ОШИБКИ ИЗМЕРЕНИЯ

Ложное повышение

- Микроцитоз
- Криоглобулинемия
- Гемолизированные образцы крови
- Наличие фрагментов эритроцитов и лейкоцитов



Ложное понижение

- Агрегация или агглютинация тромбоцитов
- Тромбоцитарный "сателлизм" (прилипание тромбоцитов к лейкоцитам)
- Гигантские тромбоциты
- Агглютинация эритроцитов
- Тромбообразование
- Взятие крови с гепарином
- Гипертромбоцитоз (более $1.000 \times 10^9/\text{л}$)