

Общий анализ крови: современная методология, факторы интерференции, оценка достоверности результатов

Часть 1.

Несмотря на интенсивные темпы развития лабораторных методов исследований и появления новых маркеров различных заболеваний, общий анализ крови (ОАК) не теряет своей актуальности по сей день и часто используется в клинической практике. Ценность данного метода очевидна, так как ОАК (в англоязычной литературе CBC – complete blood count) считается одним из важнейших диагностических подходов, позволяющих оценить общую реакцию кроветворных органов и организма в целом на воздействие различных физиологических и патологических факторов. Традиционно ОАК включает в себя определение уровня гемоглобина, количества лейкоцитов, эритроцитов (с расчетом цветового показателя) и тромбоцитов в единице объема крови. Расширенный анализ дополняется подсчетом лейкоцитарной формулы, ретикулоцитов, измерением скорости оседания эритроцитов (СОЭ).

Использование современных лабораторных медицинских технологий позволяет выполнять это достаточно трудоемкое в рутинном варианте исследование автоматически, с применением гематологических анализаторов. Автоматизация ОАК существенно экономит время, улучшает точность подсчета клеток, повышает диагностическую значимость анализа благодаря оценке дополнительных параметров (эритроцитарных и тромбоцитарных индексов, объема клеток, степени анизоцитоза и пр.).

Основными измеряемыми параметрами автоматизированного ОАК являются следующие:

WBC (white blood cells) – количество лейкоцитов ($\times 10^9/\text{л}$);

RBC (red blood cells) – количество эритроцитов ($\times 10^{12}/\text{л}$);

HGB (hemoglobin) – уровень гемоглобина (г/л, г/дл, ммоль/л);

HCT (hematocrit) – гематокрит (%);

PLT (platelets) – количество тромбоцитов ($\times 10^9/\text{л}$);

PCT – тромбоцит (%).

Расчетные параметры:

MCV (mean corpuscular volume) – средний объем эритроцита (мкм³, фл). Определяется путем деления суммарного объема эритроцитов (гематокрита) на количество эритроцитов и умножения результата на 10.

MCH (mean corpuscular hemoglobin) – среднее содержание гемоглобина в эритроцитах (пг, пмоль). Определяется путем деления концентрации гемоглобина в 1 л на количество эритроцитов в том же объеме. По своему значению аналогичен цветовому показателю, но в отличие от него является абсолютным выражением средней массы гемоглобина в эритроците, а не относительным.

MCHC (mean corpuscular hemoglobin concentration) – средняя концентрация гемоглобина в эритроците (г/л, г/дл, ммоль/л, ммоль/дл). Основное отличие от предыдущего показателя заключается в том, что MCHC отражает плотность гемоглобина в 1 эритроците, т. е. содержание гемоглобина в единице объема клетки.

RDW (red cell distribution width) – ширина распределения эритроцитов по объему. Вычисляется как коэффициент вариации среднего объема эритроцитов, отражает степень анизоцитоза и/или пойкилоцитоза.

Для автоматического дифференцированного подсчета клеток крови в современных анализаторах используются несколько различных подходов. Цитометрия в приборах первого поколения основана на кондуктометрическом (импедансном) методе, предложенном Н. Wallace

и J.R. Culter в 1947 г. Он заключается в подсчете количества и определении характера импульсов, возникающих при прохождении клетки через отверстие малого диаметра (апертуру), по обе стороны которого расположены два изолированных друг от друга электрода, находящиеся под постоянным напряжением. Появление клетки в отверстии апертуры повышает сопротивление в электрической цепи, что сопровождается генерацией электрического импульса и регистрируется электронным датчиком. Амплитуда импульса зависит от размера клеток; количество импульсов, генерируемых в единицу времени, – от их концентрации. В первом разведении пробы ведется подсчет эритроцитов и тромбоцитов. На основании полученных данных анализатор строит кривую распределения клеток по объему (аналог кривой Прайс-Джонса), рассчитывает различные коэффициенты. Этот метод позволяет с высокой точностью произвести подсчет эритроцитов и тромбоцитов, значительно различающихся по размерам. Следует помнить о том, что существуют ситуации, когда по тем или иным причинам тромбоциты в пробе склеиваются между собой, и их агрегаты (которые больше по размеру) могут быть ошибочно подсчитаны как эритроциты, что приведет к получению ложнозаниженных значений тромбоцитов и ложнозавышенных значений эритроцитов. Важно также понимать, что при прохождении клеток крови через светную камеру анализатора лейкоциты регистрируются как эритроциты, поскольку они сопоставимы по размеру. Однако тот факт, что в физиологических условиях концентрация эритроцитов примерно в 1000 раз выше, делает погрешность измерения крайне незначительной и позволяет ею пренебречь. Тем не менее эта погрешность резко увеличивается при анемиях, сочетающихся с лейкоцитозом ($\geq 50 \times 10^9/\text{л}$), поэтому трактовать показатели красной крови в подобных ситуациях необходимо с осторожностью.

Для подсчета лейкоцитов в автоматических счетчиках используют дополнительную обработку крови лизирующими агентами, разрушающими эритроциты, с повторным проведением пробы по тому же принципу. Необходимо понимать, что ядерные формы эритроцитов (нормобласты) деструкции не подвергаются и регистрируются как лейкоциты, попадая, как правило, в область лимфоцитов. Именно поэтому при состояниях, сопровождающихся выраженным нормобластозом (например, в неонатальный период, при гематологических и онкологических заболеваниях), концентрация лейкоцитов будет ложно завышена. Для определения истинного лейкоцитоза в этих случаях необходимо исследовать мазок периферической крови с подсчетом количества нормобластов и перерасчетом такового лейкоцитов.

Под действием лизирующих (трансформирующих) растворов сами лейкоциты также претерпевают определенные изменения (сжатие) разной степени выраженности в зависимости от вида клетки, размера ядра, наличия гранул. Эта закономерность лежит в основе их разделения на три основные популяции (анализаторы типа 3-Diff): гранулоциты, лимфоциты и средние клетки (рис.). В область малых объемов (35–90 фл) попадают лимфоциты, которые под воздействием реагента значительно уменьшаются в размере. Гранулоциты (нейтрофилы, эозинофилы, базофилы), напротив, подвергаются небольшому сжатию и расположены в области больших объемов (120–400 фл). Между двумя пиками имеется зона так называемых средних клеток, которая лучше всего соотносится с моноцитами (по этой

причине в некоторых анализаторах эти клетки указываются как моноциты). Однако при подсчете клеток кондуктометрическим методом в зону средних клеток могут попадать также базофилы и эозинофилы, особенно если они частично или полностью дегранулированы, поэтому более корректным названием параметра является термин «средние клетки» (MID), а не «моноциты». Этот факт необходимо учитывать при работе с результатами ОАК, полученными на анализаторе типа 3-Diff без морфологического изучения формулы крови.

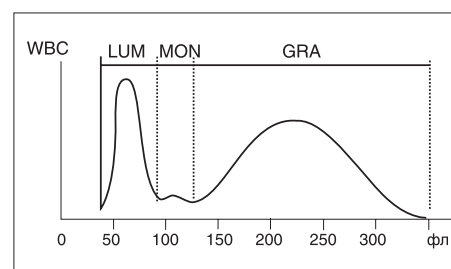


Рис. 3-Diff-гистограмма лейкоцитов (LYM – лимфоциты, MON – моноциты (соответствует MID), GRA – гранулоциты)

Более современные анализаторы наряду с кондуктометрической апертурой оснащены устройствами для оценки рассеяния луча лазера (англ. laser light scattering), что дает возможность строить скаттерграммы, т. е. диаграммы распределения клеток по их способности рассеивать свет луча лазера. Это позволяет более четко выделять различные группы клеточных популяций (нейтрофилы, эозинофилы, базофилы, лимфоциты и моноциты), отличающиеся не только по размеру, но и по зернистости. Такие анализаторы относятся к типу 5-Diff. В анализаторах последнего поколения используются различные дифференцировочные лизаты, радиочастотный анализ, иммуноцитохимический метод (окрашивание на миелопероксидазу), что значительно расширяет возможности исследования и позволяет определять до 50 параметров крови, включая полный анализ лейкоцитарной формулы, подсчет количества ретикулоцитов, нормобластов, юных клеток. Однако следует понимать, что во всех анализаторах (за исключением систем компьютерного анализа изображений) подсчет и оценка клеток крови основаны на получении косвенных данных, зависящих от их биологических, физических и химических характеристик. Поэтому ни один из самых современных приборов не может заменить изучение морфологии клеток в окрашенном препарате крови опытным специалистом.

Оценка уровня гемоглобина в большинстве гематологических анализаторов осуществляется фотокolorиметрически. Наиболее распространенным является гемоглобинцианидный метод, выбранный в настоящее время референтным. Поэтому при условии правильной калибровки результаты измерения гемоглобина, полученные в разных лабораториях и на разных приборах, наиболее точны при сопоставлении среди всех параметров ОАК.

Для оценки СОЭ используют два основных метода: метод Панченкова, известный во всем мире (за исключением стран бывшего СССР) как метод Винтроба (Wintrobe), и метод Вестергрена (Westergren), реализация которого возможна как в рутинном варианте (ручном), так и с использованием автоматических систем. В основе обоих методов лежит одинаковый принцип: разделение в градуированном капилляре разведенной цитратом крови на плазму и форменные элементы в течение определенного промежутка времени (обычно 1 ч) с выражением результата в мм/ч. Различие методов состоит в использовании

разных шкал – 100 мм (Панченкова) и 200 мм (Вестергрена). Оба метода хорошо коррелируют между собой, а в области нормальных значений (1–20 мм/ч) зависимость между результатами линейная. В патологическом диапазоне различия довольно существенны, например 70 мм/ч по Панченкову соответствует 100 мм/ч по Вестергрена (данные приблизительны, точного коэффициента пересчета не существует). Эти различия следует иметь в виду при интерпретации показателя СОЭ, также необходимо учитывать, каким методом пользуется лаборатория.

Даже на самом современном анализаторе можно получить некорректный результат, что связано с нарушениями техники получения и подготовки образца крови.

По многим причинам венозная кровь считается более предпочтительным материалом для ОАК, чем капиллярная. Процедура получения капиллярной крови сложнее поддается стандартизации, она более травматична для клеток крови (ввиду гемолиза, активации тромбоцитов), возможно попадание в образец межклеточной жидкости (наблюдается искусственное разведение образца) и тканевого тромбопластина (возможно образование микротромбов), что приводит к ошибкам при подсчете клеток крови и измерении уровня гемоглобина. Минимальный объем пробы часто не позволяет тщательно перемешать кровь с антикоагулянтом сразу после взятия образца и хорошо гомогенизировать перед процедурой измерения. Не всегда количество капиллярной крови позволяет расширить диапазон исследования или повторить тесты, вызывающие сомнения. Поэтому использовать капиллярную кровь рекомендуют только в тех случаях, когда получение венозной крови невозможно (у новорожденных и маленьких детей, ожоговых больных, при выраженном ожирении, необходимости постоянного мониторинга у онкогематологических больных во время химиотерапии с целью минимизации кровопотерь).

Однако и при получении венозной крови нарушение процедуры ее взятия приводит к серьезным погрешностям в анализе. Наиболее грубые ошибки в подсчете связаны с разведением крови при доступе через венозный катетер. Гепарин или физиологический раствор, используемые для его промывания, могут попадать в образец, вызывая существенное разведение крови и снижение концентраций клеточных элементов. Кроме того, гепарин, являясь высокомолекулярным белком, резко увеличивает СОЭ (вплоть до предельных цифр). Физиологический раствор, напротив, заметно снижает СОЭ, это связано со значительным разведением фибриногена и тем фактом, что СОЭ на 60% зависит именно от его концентрации.

Менее грубые, но не менее распространенные ошибки измерения возникают при исследовании гемолизированной крови (это может быть обусловлено частичным тромбообразованием иглы с последующим повреждением в ней клеток, грубым перемешиванием, воздействием на образец экстремальных температур), при наличии микротромбов (вследствие плохого перемешивания образца с антикоагулянтом), при длительном наложении жгута, вызывающего временную гемоконцентрацию в месте венопункции.

В продолжении этой статьи в следующем номере будут подробно рассмотрены факторы, влияющие на правильность автоматического подсчета гематологических показателей, и существующие способы оценки полученных результатов клиницистом.

Подготовила Александра Яковец

