

# Современные параметры исследования крови и биологических жидкостей

Шубин С.Л.  
4 июня 2014

## 3-diff, 19 параметров

**mindray**

- RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, RDW-CV, RDW-SD,
- PLT, MPV, PDW, PCT
- WBC, Lymph #, Mid #, Gran #,  
Mid %, Gran %, Lymph %
- Гистограммы WBC , RBC , PLT
- Производительность: 60 образцов в час;
- Автоматическое разведение, лизирование, перемешивание, промывка и очистка от сгустков
- Память с гистограммами;
- Встроенный термопринтер, возможность подключения внешнего принтера, сканера штрих кодов; и т.д. и т.п.



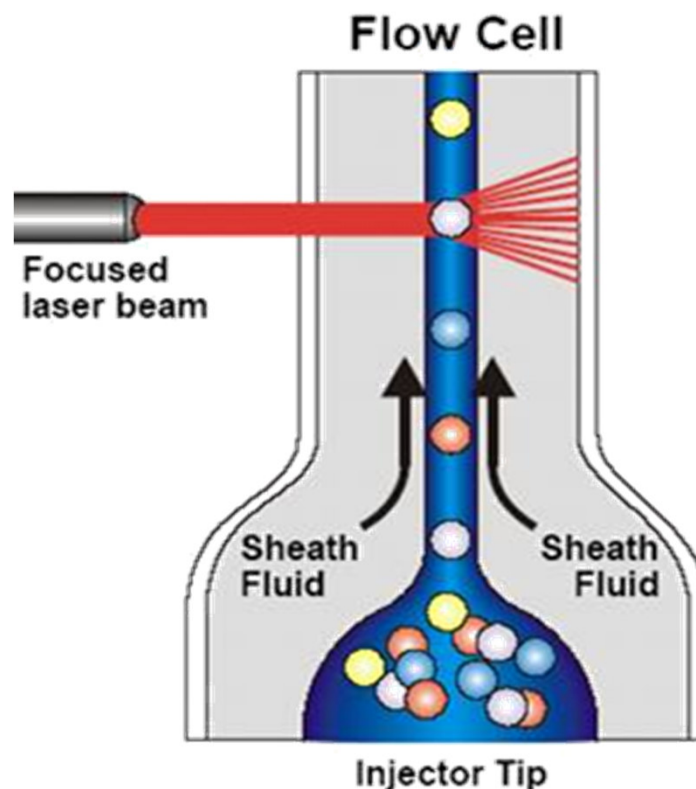
# Проточная цитометрия (FCM)

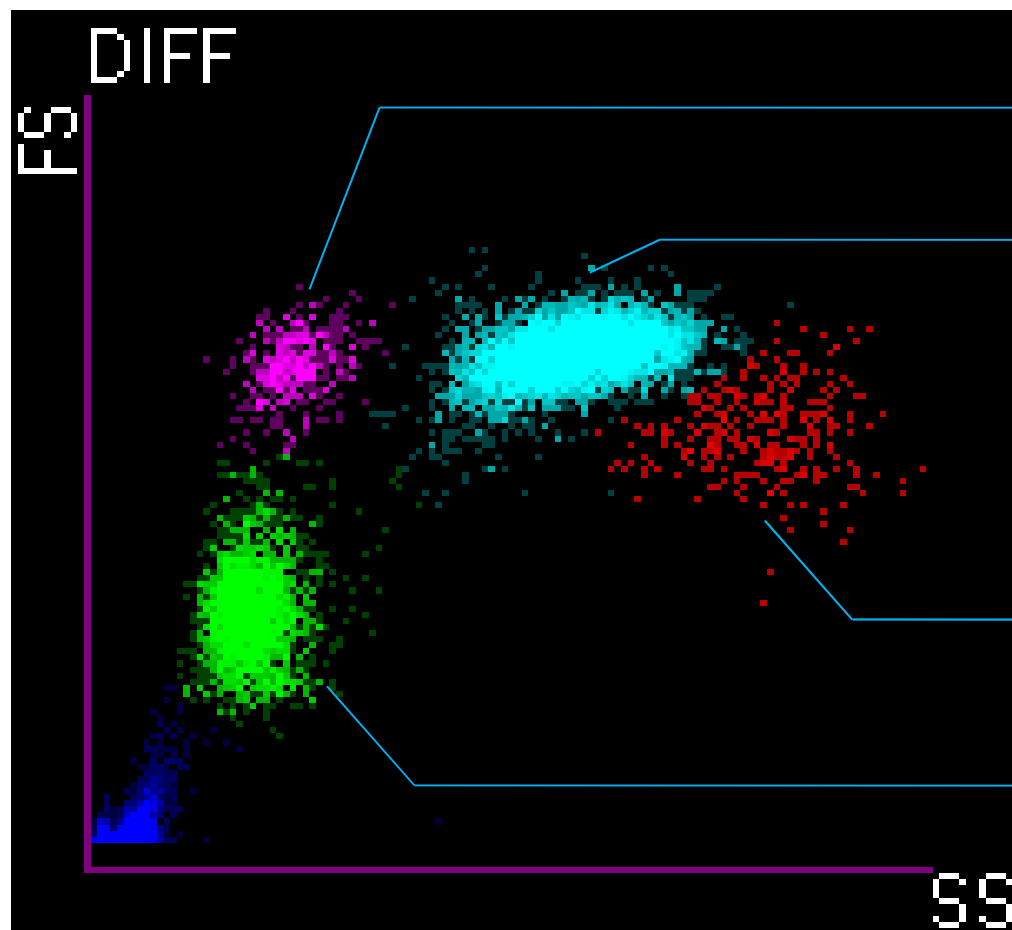
**mindray**

-Клетки вводятся в **проточную ячейку**, расположенную в оптическом пути источника света, обычно лазера;

-Через проточную ячейку проходит поток **фокусирующей жидкости**, который с большой скоростью пронесет исследуемую жидкость мимо источника света;

-Клетки занимают позицию в середине потока благодаря ламинарным характеристикам фокусирующей жидкости и проходят через луч лазера **по одной**





MON%

NEU%

EOS%

LYM%

5-diff, 29 параметров

**mindray**



**LIC#, LIC%, ALY#, ALY%**

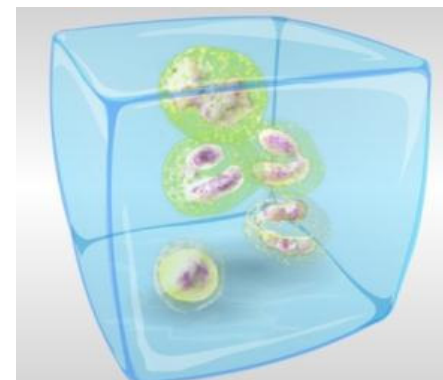
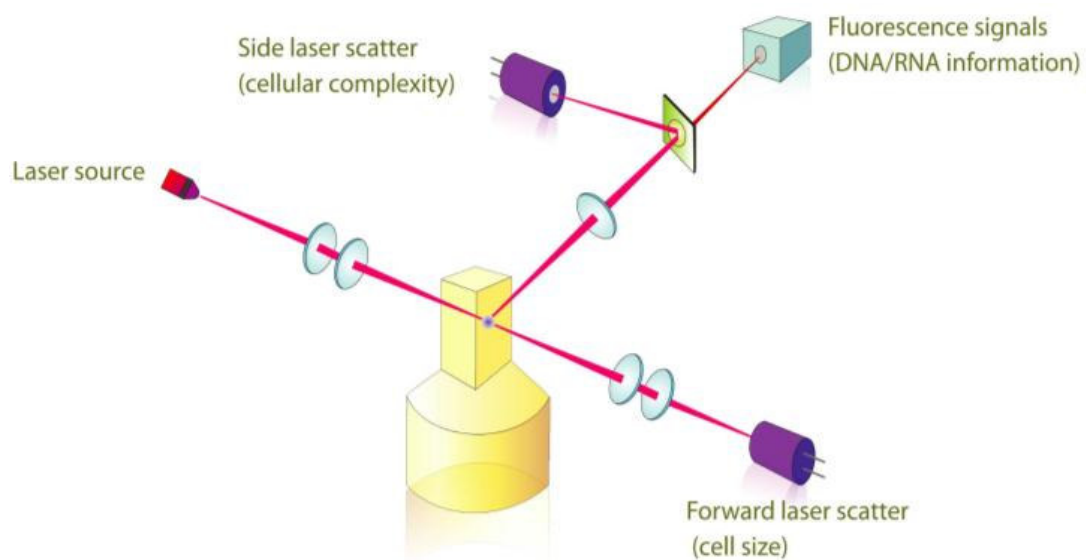
- **Лазер + Химическое окрашивание + Проточная цитометрия**
- **WBC, Lym%, Mon%, Neu%, Bas%, Eos%, Lym#, Mon#, Neu#, Eos#, Bas#,**
- **RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC,**
- **RDW-CV, RDW-SD, PLT, MPV, PDW, PCT, P-LCR, P-LCC**

## ■ Технология SF Куб

**S-Scatter** ( рассеивание на малых и больших углах)----размеры и комплексность клеток

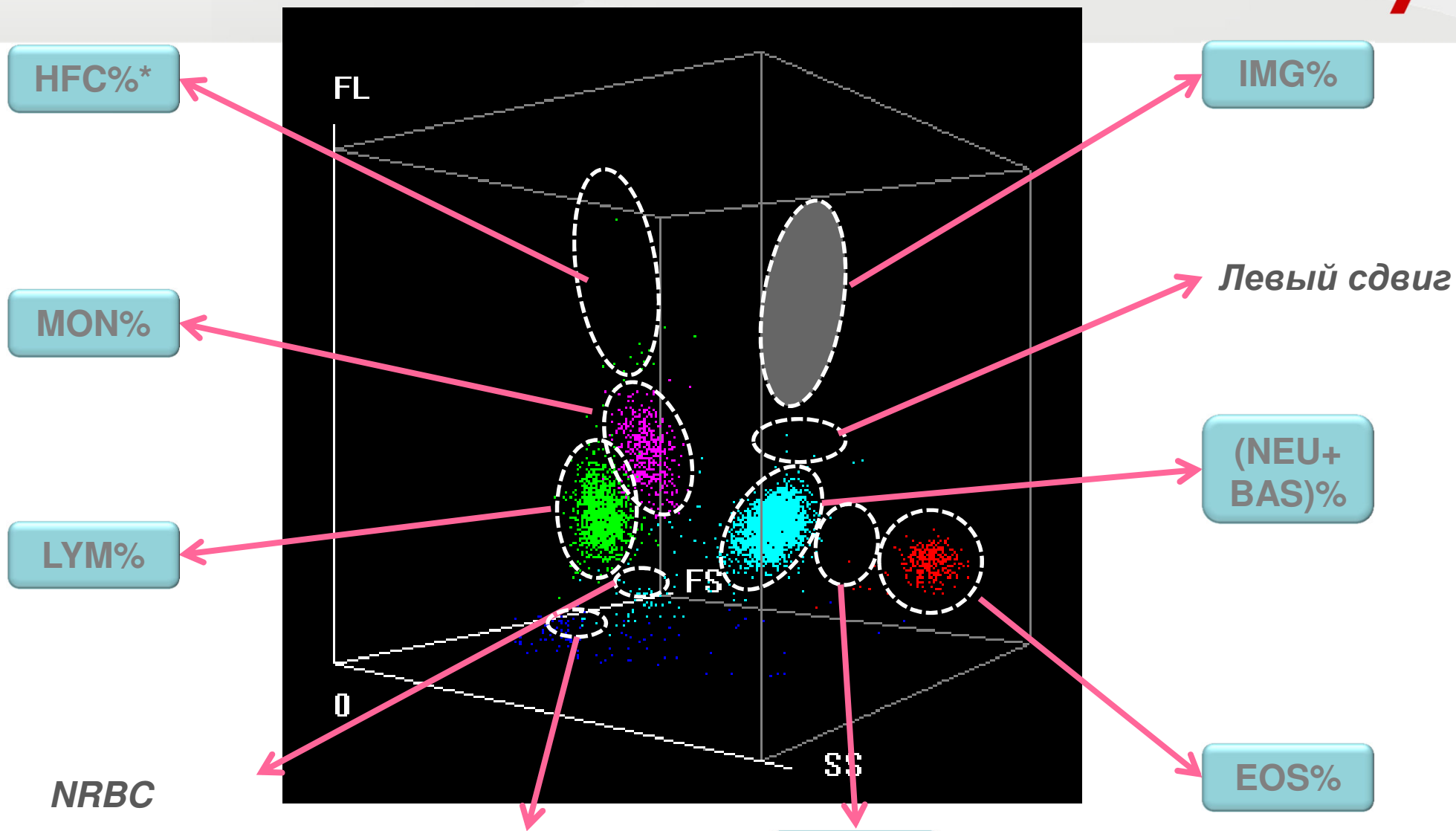
**F-** Флуоресценция----содержание ДНК/РНК

**Куб**—трехмерный анализ клеток



# IMG# & IMG% (Незрелые гранулоциты)

**mindray**



\* Параметры только для исследовательских целей

Агрегаты PLT

InR%\*

ABC Параметры  
ABC Флаги

■ **Подсчет большого числа IMG:** При ручном подсчете считаются малые количества IG, особенно в лейкопенических пробах или при наличии их в малых количествах. При стандартном подсчете до 100 клеток они могут быть вообще пропущены

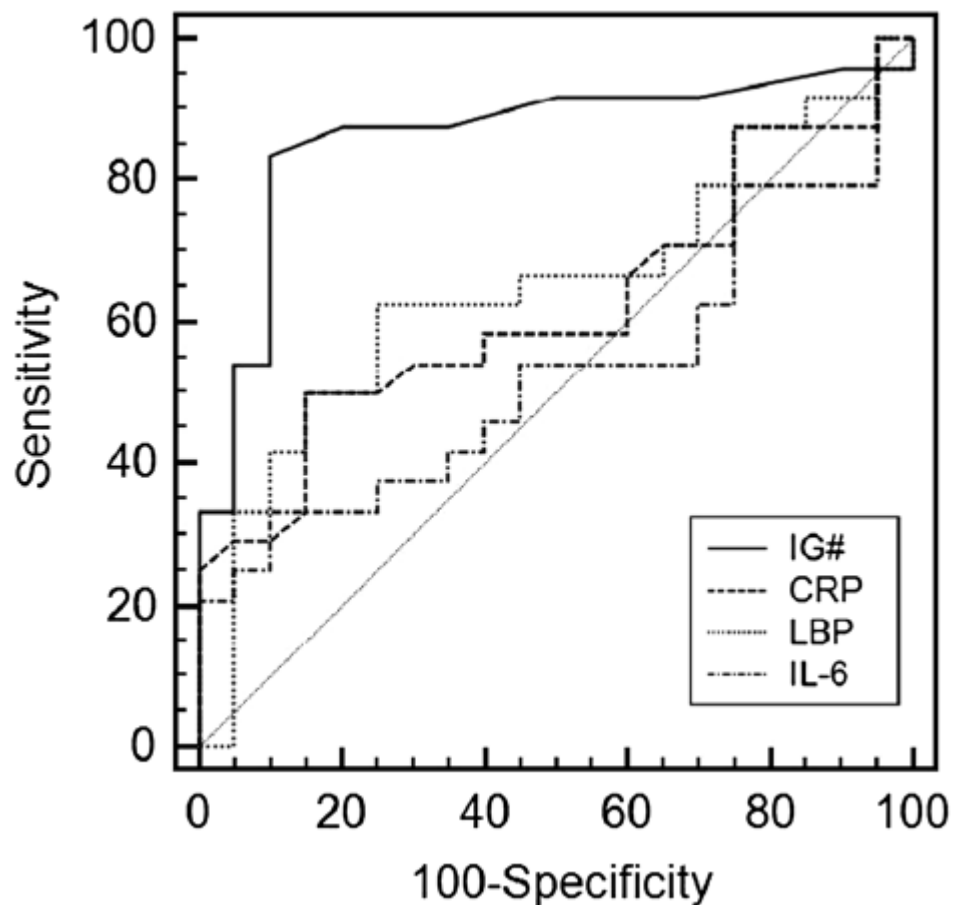


■ **Нет разницы в морфологической идентификации и зависимости от искусства морфолога**





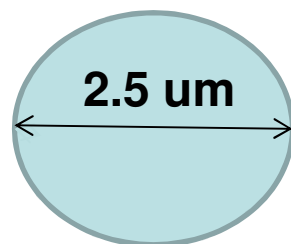
- Подсчет незрелых гранулоцитов (IMG) полезный в сравнении с другими маркерами маркер для ранней диагностики сепсиса.



**ROC (Receiver operating characteristic) кривые и площадь под кривой (AUC) вычислялись для сравнения способности различных клинических параметров по диагностики инфекций**

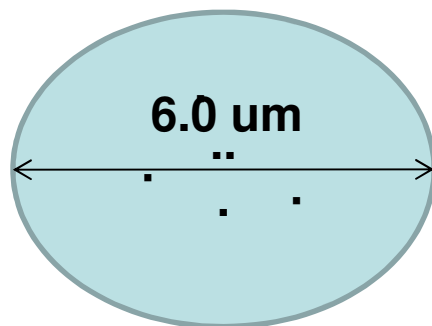
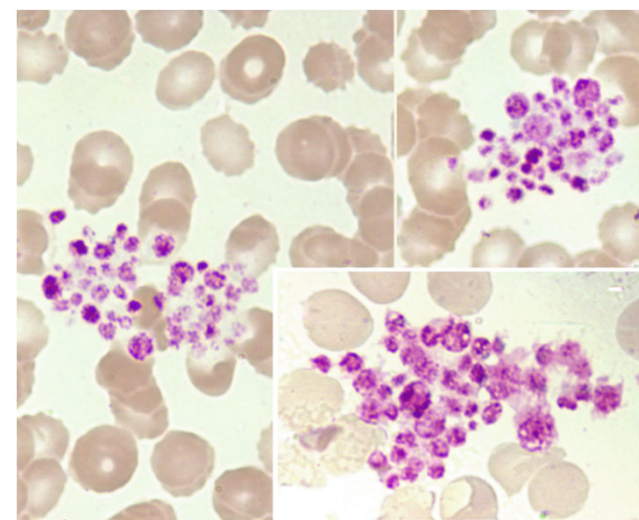
**CRP, С-реактивный белок;  
LBP, белок, связывающий  
липополисахариды;  
IL-6, интерлейкин-6.**

## Незрелые тромбоциты/ретикулированные тромбоциты



### Зрелые тромбоциты

MPV достигает 8-10fl

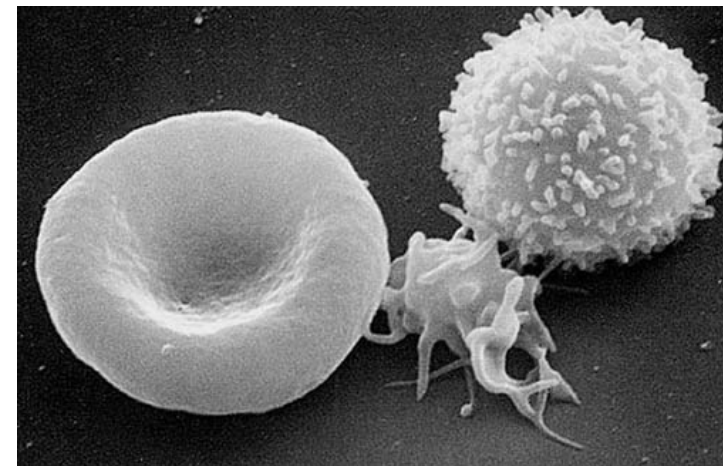


### Ретикулированные тромбоциты

MPV достигает 12-14fl

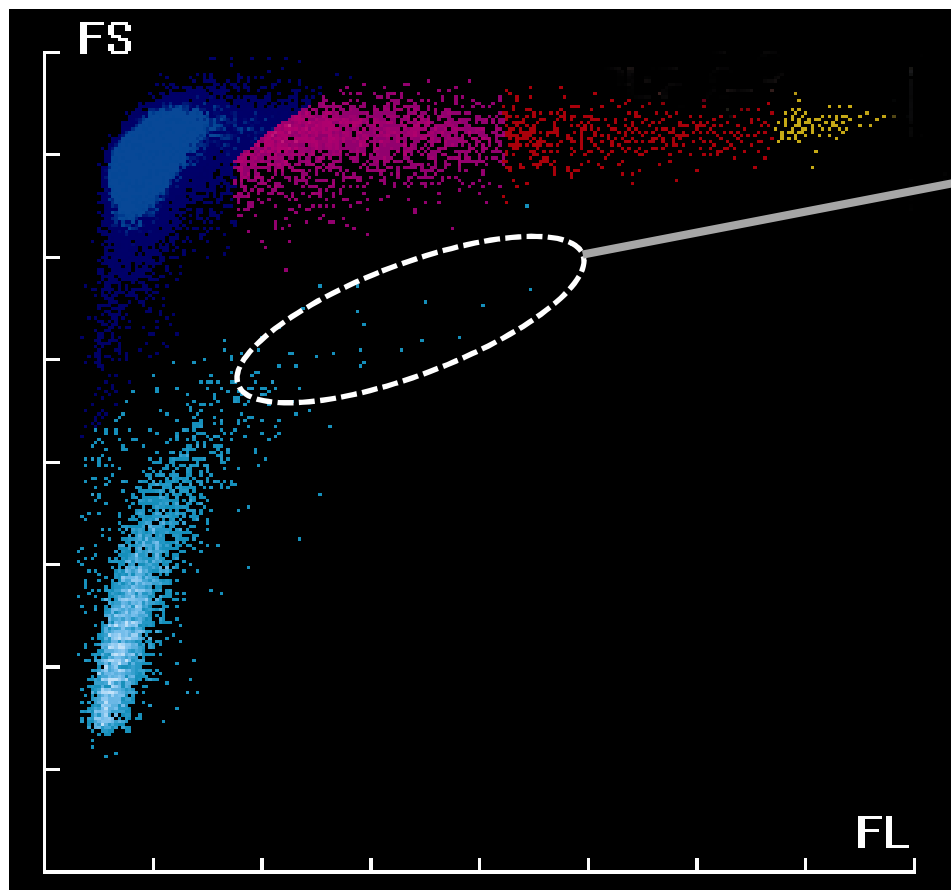
## Незрелые тромбоциты/ретикулированные тромбоциты

- Ретикулированные тромбоциты, также известные как тромбоциты стресса, появляются при компенсации тромбоцитопении.
- Ретикулированные тромбоциты содержат свободные рибосомы и фрагменты грубого эндоплазматического ретикулума, аналогично ретикулоцитам, вызывая предположения, они появляются из за раннего и быстрого расширения и высвобождения предшественников.



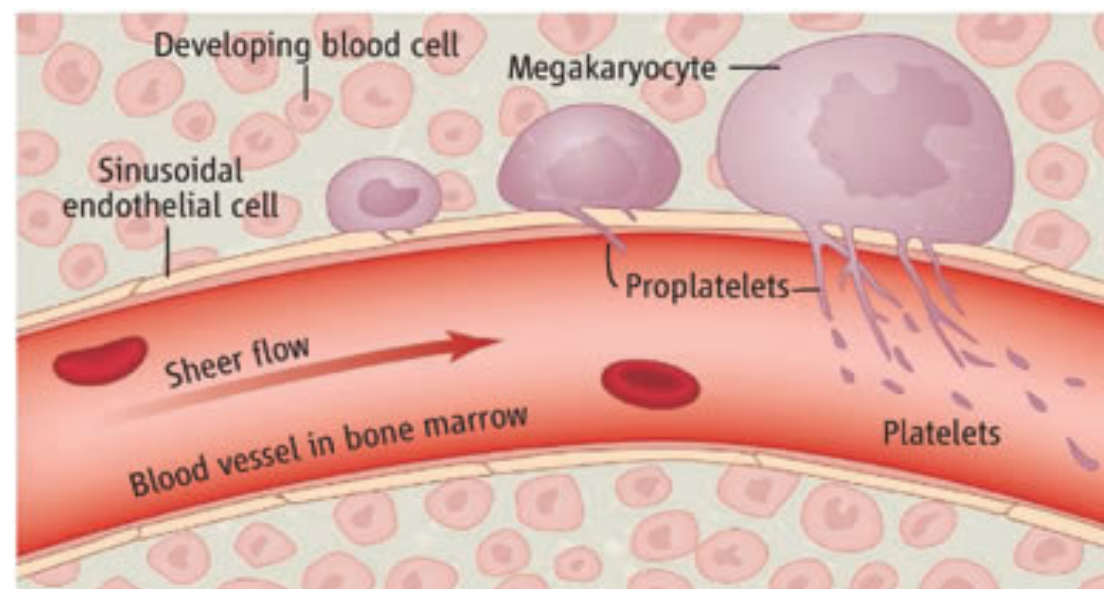
# Фракция незрелых тромбоцитов

**mindray**



**IPF**

Фракция незрелых тромбоцитов



IPF

=

$$\frac{\text{Число PLT в области IPF}}{\text{Общее число PLT}}$$

×

100%

## Клиническое применение

- У пациентов с тромбоцитопенией вызванной разрушением тромбоцитов, (*автоиммунная тромбоцитопения и ДВС*) наблюдаются очень высокие уровни HFPF%(IPF%)
- Повышенные значения HFPF%(IPF%) также наблюдаются у пациентов с восстанавливающимся костным мозгом вследствие химиотерапии или пересадки костного мозга, однако, эти уровни существенно ниже, чем при разрушении тромбоцитов.

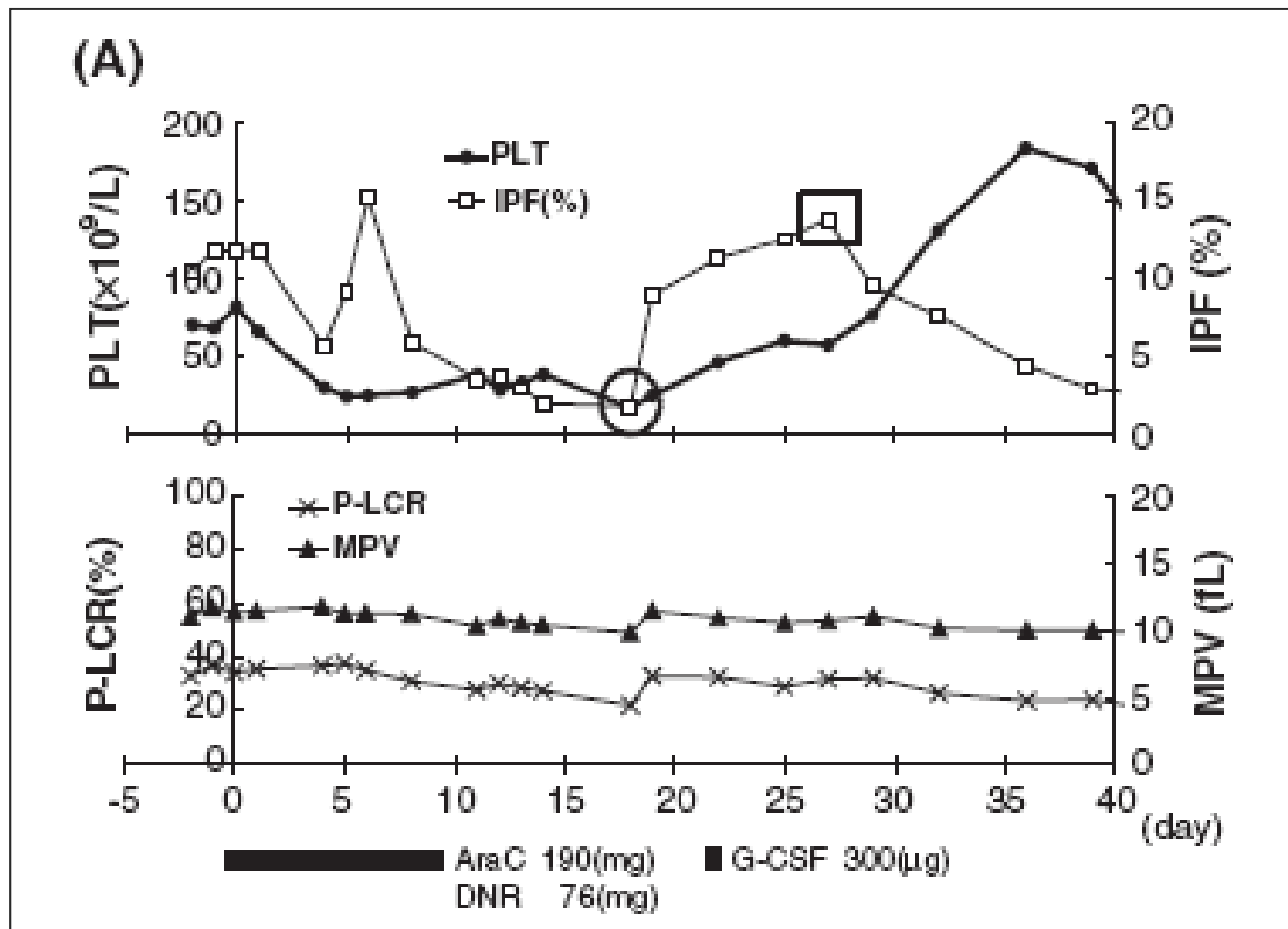
Источник: A Clinical Evaluation of High Fluorescent Platelet Fraction Percentage in Thrombocytopenia. *Thomas S. Kickler, MD, Sinichiro Oguni, and Michael J. Borowitz, MD, PhD.* Am J Clin Pathol 2006;125:282-287

## Клиническое применение

- ФНП существенно повышена у пациентов с идиопатической тромбоцитопенической пурпурой и восстановительной фазой после химиотерапии
- ФНП существенно снижены в надире после химиотерапии,
- в норме у пациентов с полной ремиссией ИТР и пациентов с апластической анемией (АА).

Источник: A simple technique to determine thrombopoiesis level using immature platelet fraction (IPF). Yasunori Abe a, Hideo Wada b,\*.  
Thrombosis Research (2006) 118, 463—469

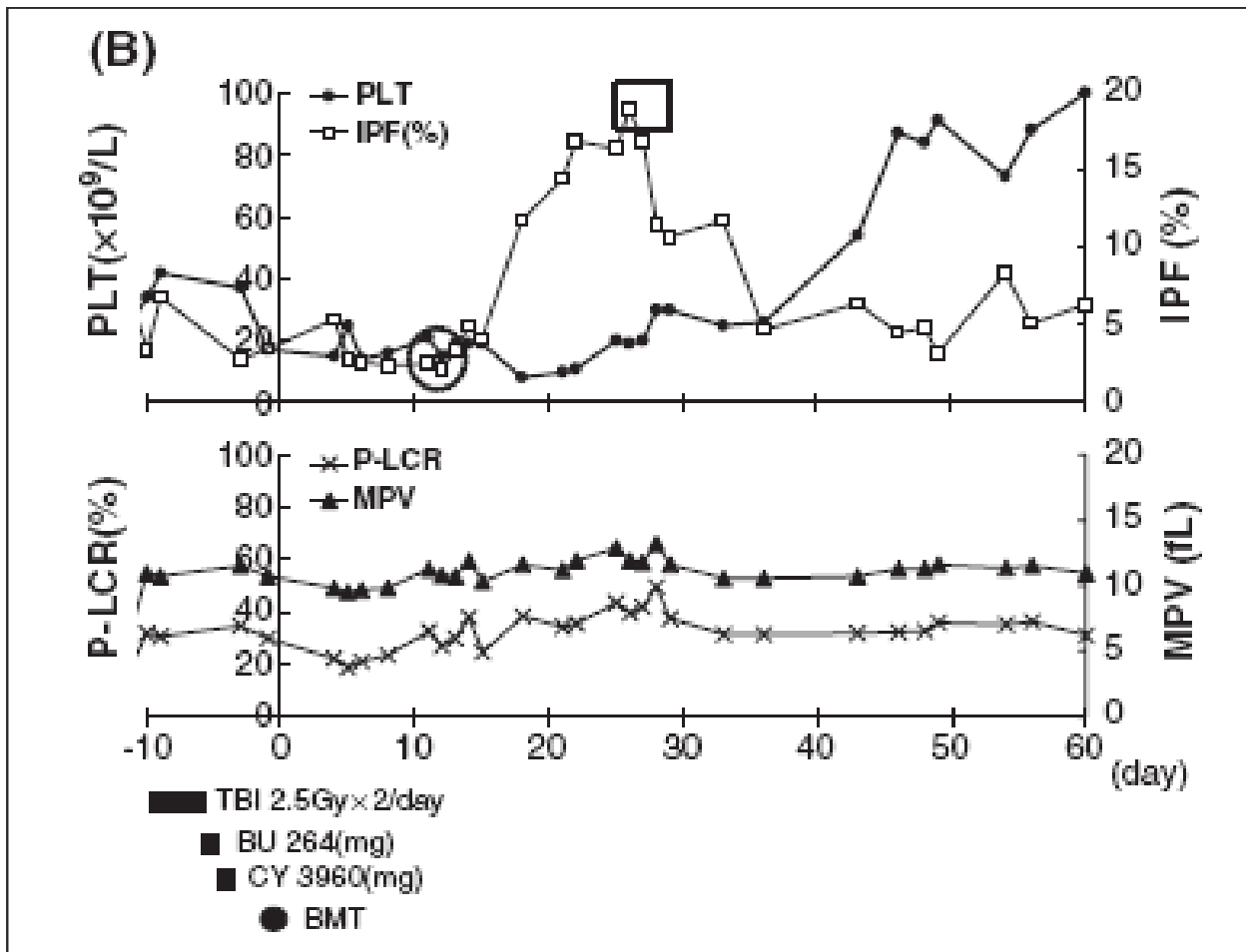
## Клиническое применение



■ Квадратом обозначена IPF перед восстановлением PLT.  
■ MPV и P-LCR не проявляют значительных изменений в сравнении с IPF

Рис. Химиотерапия AML

## Клиническое применение



■ Квадратом обозначена IPF перед восстановлением PLT.  
■ MPV и P-LCR не проявляют значительных изменений в сравнении с IPF

Рис. СМЛ при лечении облучением всего тела (TBI), химиотерапией и пересадкой костного мозга



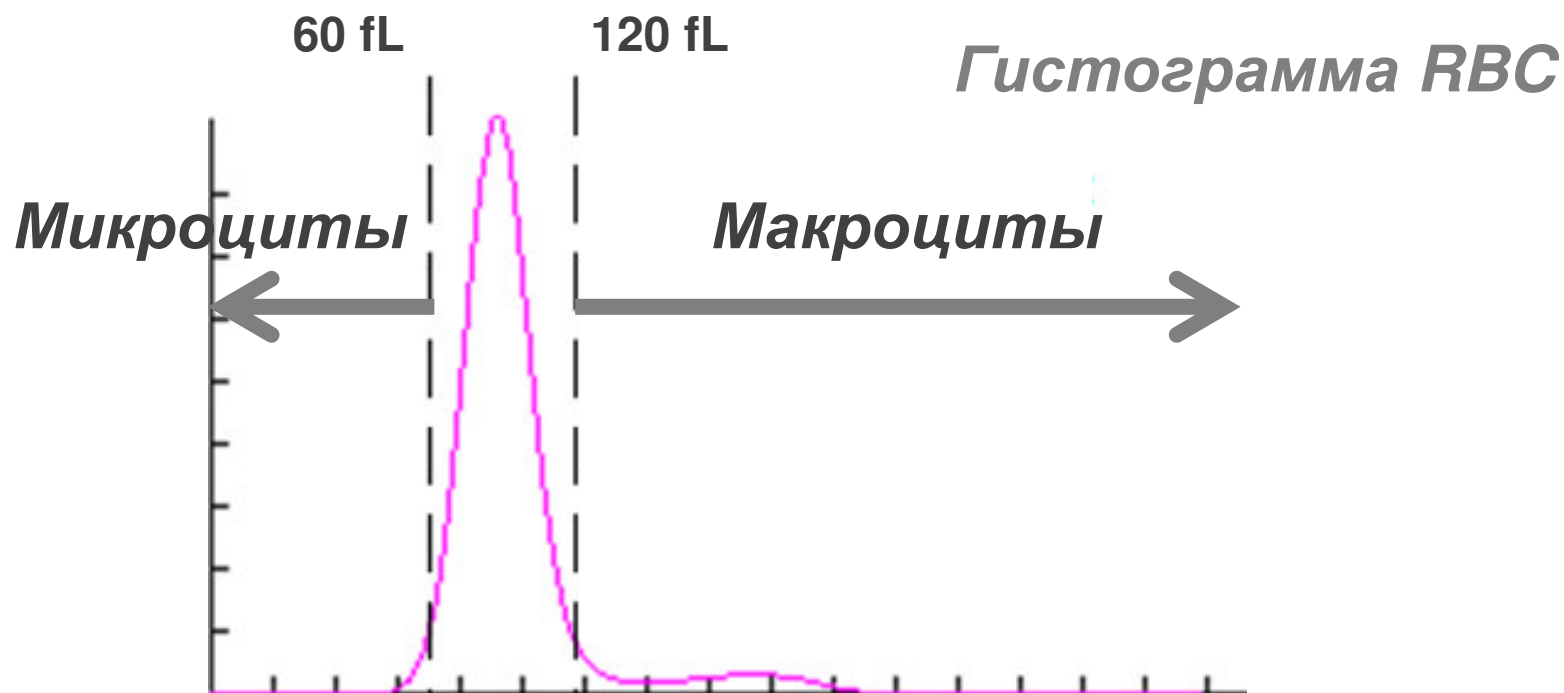
## Клиническое применение

- IPF может быть хорошим маркером тромбоцитопоза в костном мозге после химиотерапии или пересадки костного мозга (ВМТ).
- Измерение IPF может быть полезным для определения необходимости и/или расчета времени для инъекций тромбоцитов пациентам с тромбоцитопенией после химиотерапии или ВМТ. Врач должен заказывать концентрат тромбоцитов до тех пор, пока IPF пациента повышен после химиотерапии

Источник: A simple technique to determine thrombopoiesis level using immature platelet fraction (IPF). Yasunori Abe a, Hideo Wada b,\*.  
Thrombosis Research (2006) 118, 463—469



- Нормальные эритроциты имеют почти одинаковый объем и диаметр от 7 до 7.9 микрон.
- Микроциты, это клетки с диаметром менее 6 микрон
- Крупные RBC, или макроциты имеют диаметр более 9 микрон.



**Macro%\***

=

*Количество RBC больших, чем 120fL*

*Общее количество RBC*

×

**100%**

**Micro%\***

=

*Количество RBC меньших, чем 60fL*

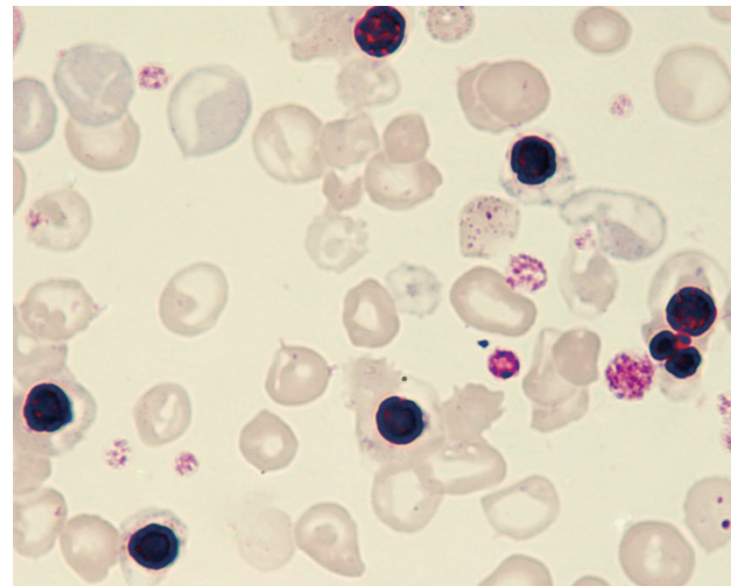
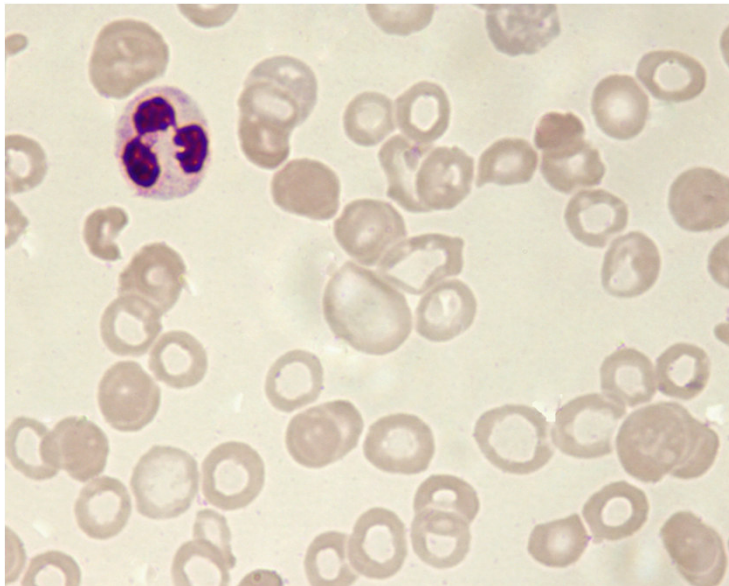
*Общее количество RBC*

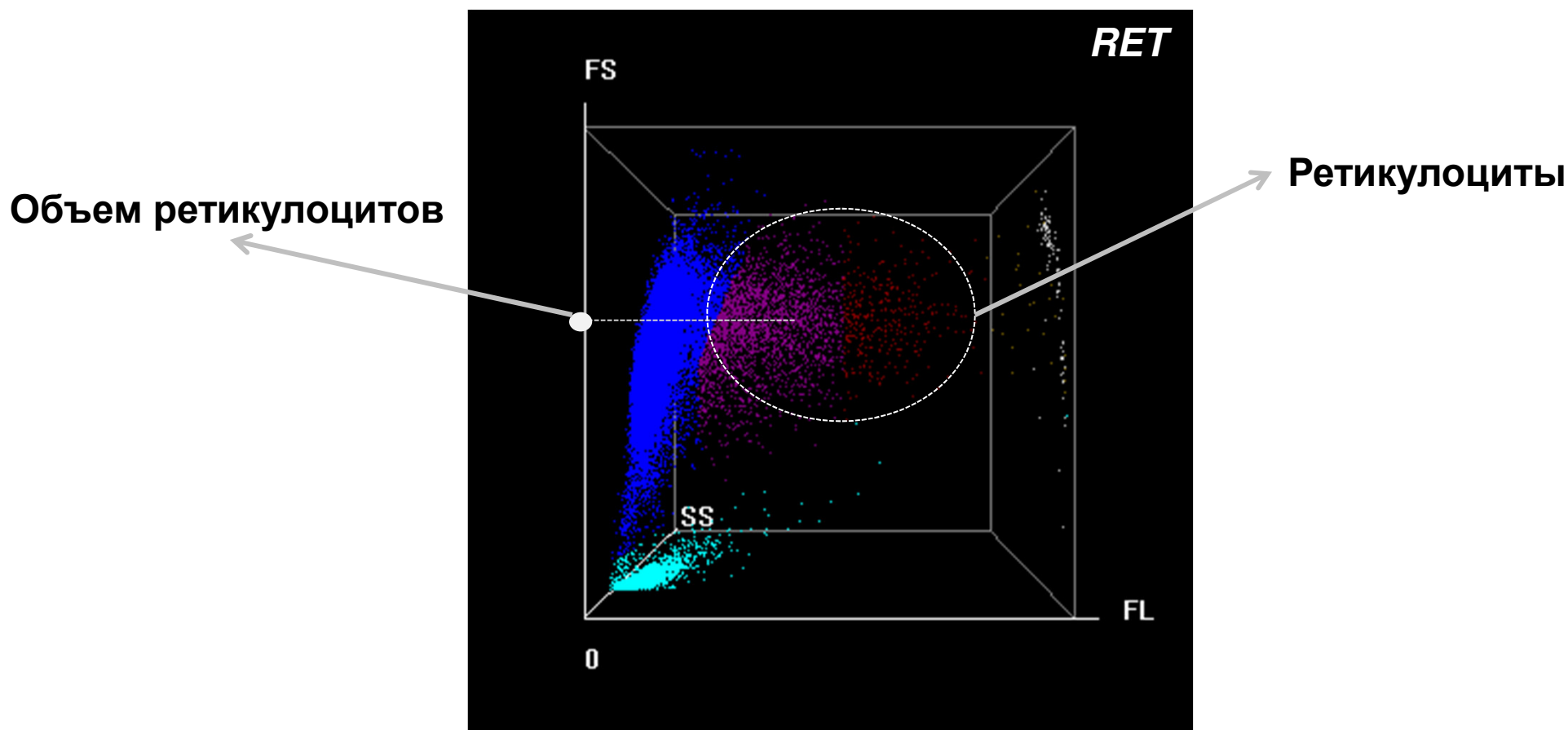
×

**100%**

*\* Исследовательский параметр*

- Состояния, ассоциированные с макроцитами:  
острая анемия, мегалобластная анемия, болезни печени,  
гемолитическая анемия, миелома, макроцитоз новорожденных,  
миелопарезная анемия;
- Состояния, ассоциированные с микроцитами :  
железо дефицитная анемия, талассемия, отравление свинцом





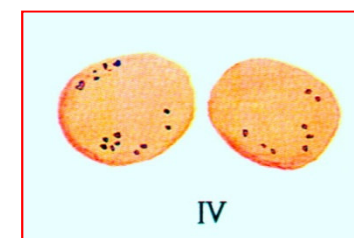
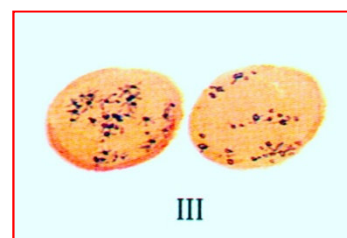
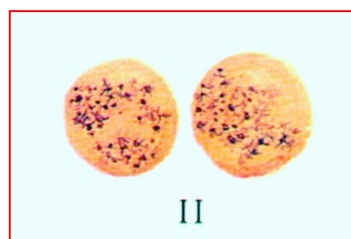
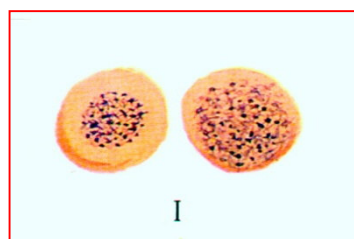
**RHE\*** (Экспрессия гемоглобина ретикулоцитов) рассчитывается по объему ретикулоцитов.

**MRV\*** (Средний объем ретикулоцитов) рассчитывается по объему ретикулоцитов.

*\* Исследовательские параметры*

■ Ret-He отражает ‘кратковременное’ состояние накопления гемоглобина в ретикулоцитах. Цинк протопорфирин (ZPP), напротив, отражает ‘долгосрочную’ величину, соотносимую с временем жизни эритроцитов (RBC)

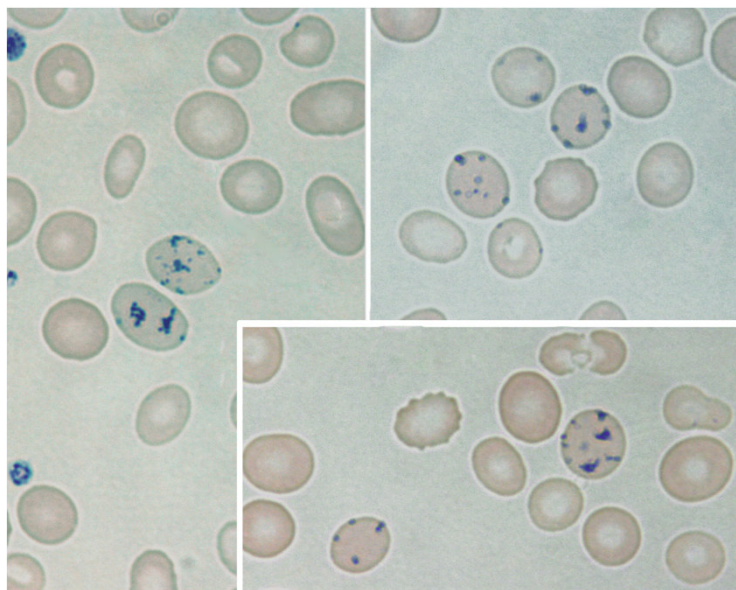
■ Повышенная IRF в сочетании с повышенным ZPP и пониженной Ret-He показательны для функционального железодефицита.



Источник: Changes in red blood cell hemoglobinization during pregnancy  
M. SCHOORL, D. van der GAAG, M. SCHOORL and P.C.M. BARTELS  
Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2010; 35: 206-208

- CHr(RHE) это полезный параметр, заслуживающий доверия в диагностике ЖДА (железо дефицитной анемии)

Источник: Clinical significance of reticulocyte hemoglobin content in the diagnosis of iron deficiency anemia. [Karagülle M<sup>1</sup>](#), [Gündüz E<sup>1</sup>](#), [Sahin Mutlu F<sup>2</sup>](#), [Olga Akay M<sup>1</sup>](#). [Turk J Haematol.](#) 2013 Jun;30(2):153-6.

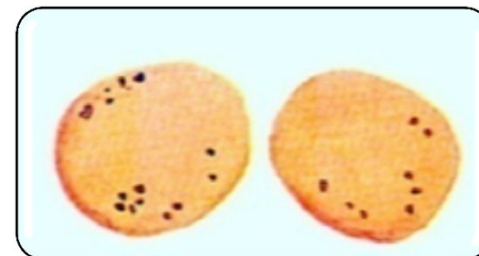




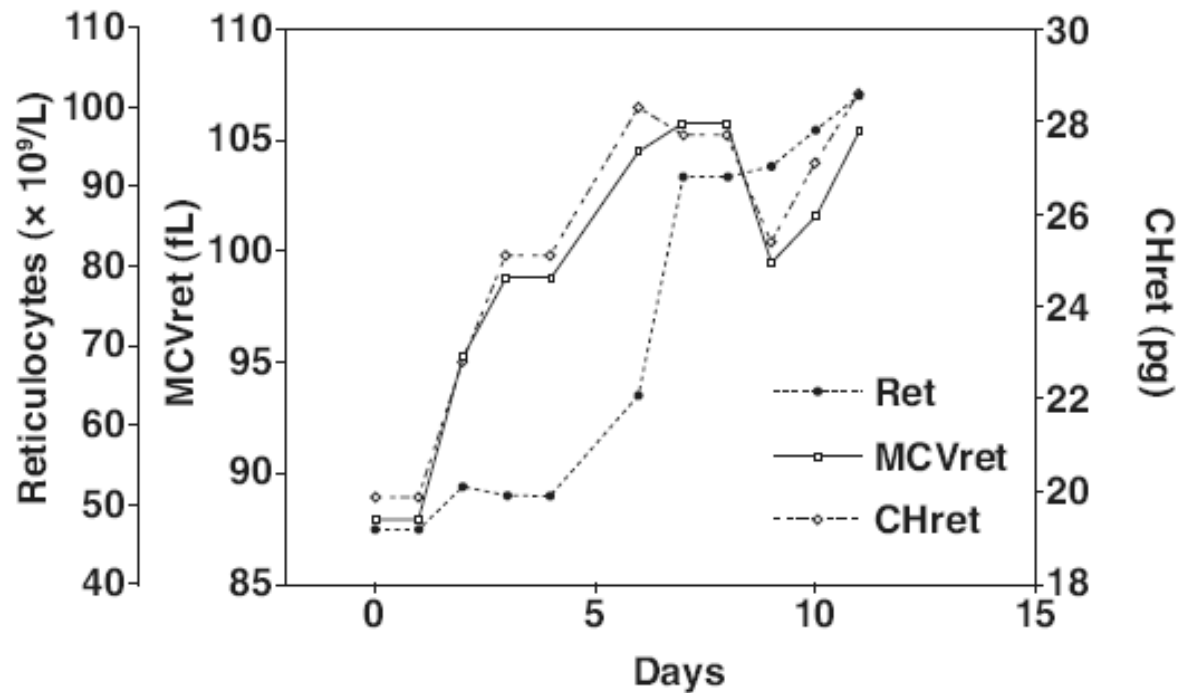
- MRV пациентов с железодефицитной анемией повышается после лечения препаратами железа
- MRV снижается с развитием железодефицитного эритропоэза
- После приема витамина B12 или фолата, MRV снижается и ретикулоциты становятся меньше зрелых эритроцитов
- MRV умноженный на число ретикулоцитов дает значение гематокрита ретикулоцитов, используемое для оценки возможного злоупотребления эритропоэтином в спорте.
- Резкое увеличение соотношения MRV/MCV один из ранних признаков ответа на трансплантацию костного мозга

Источник:

Quality counts: new parameters in blood cell counting. C. BRIGGS.  
Int. Jnl. Lab. Hem. 2009, 31, 277–297







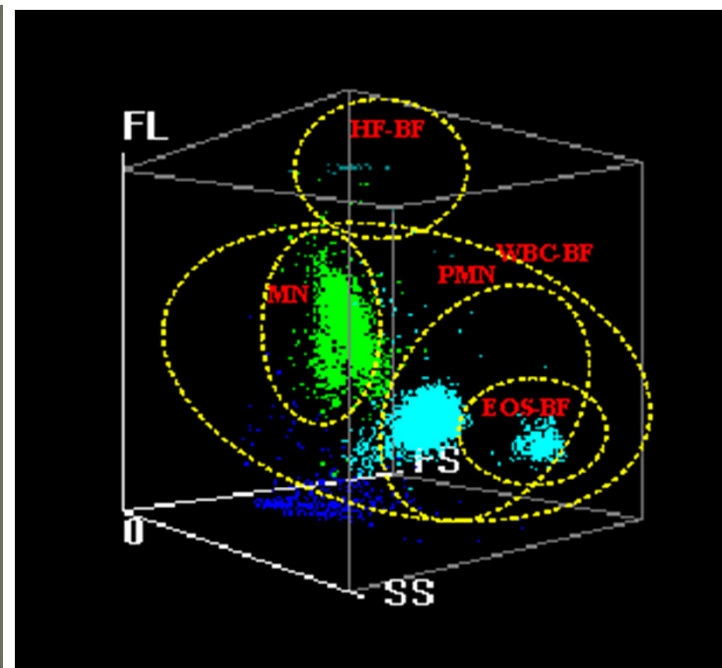
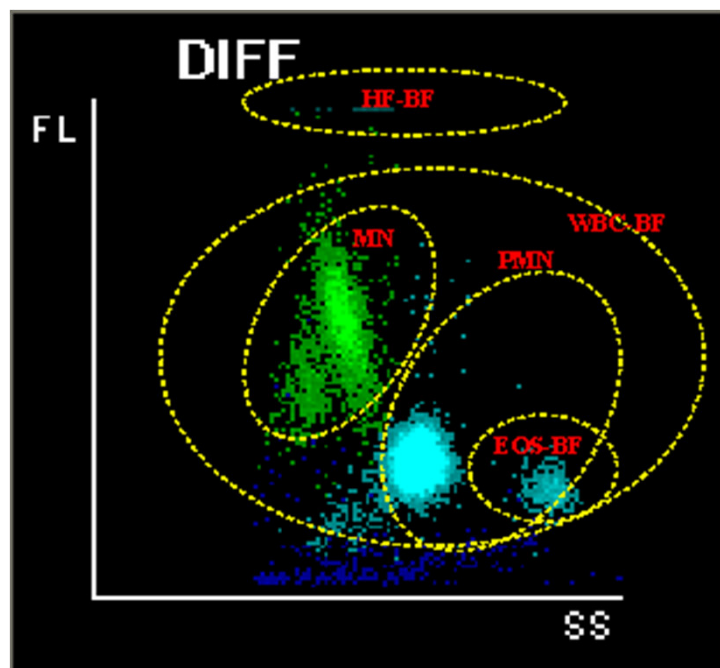
**Figure 2** A case of iron deficiency treated with daily intravenous iron. Note the early and parallel response of the mean reticulocyte volume (MCVret) and mean reticulocyte hemoglobin content (CHret). Ret, reticulocyte count.

**Источник:**

**Automated Blood Cell Counts State of the Art. Mauro Buttarello, MD, and Mario Plebani, MD. *Am J Clin Pathol* 2008;130:104-116**

## ■ Канал Дифф

Канал Дифф дифференцирует субпопуляции (моноядерные клетки, полиморфоядерные клетки и эозинофилы) лейкоцитов в трехмерном пространстве по сигналам от обработанного лизирующим раствором клеток. Также, идентифицируются и флагируются клетки с высокой флуоресценцией, такие как гистиоциты, мезотелиальные клетки, лейкоэмические клетки, опухолевые клетки, и т.д. В канале дифф, также, ведется подсчет лейкоцитов и общее количество ядросодержащих клеток.



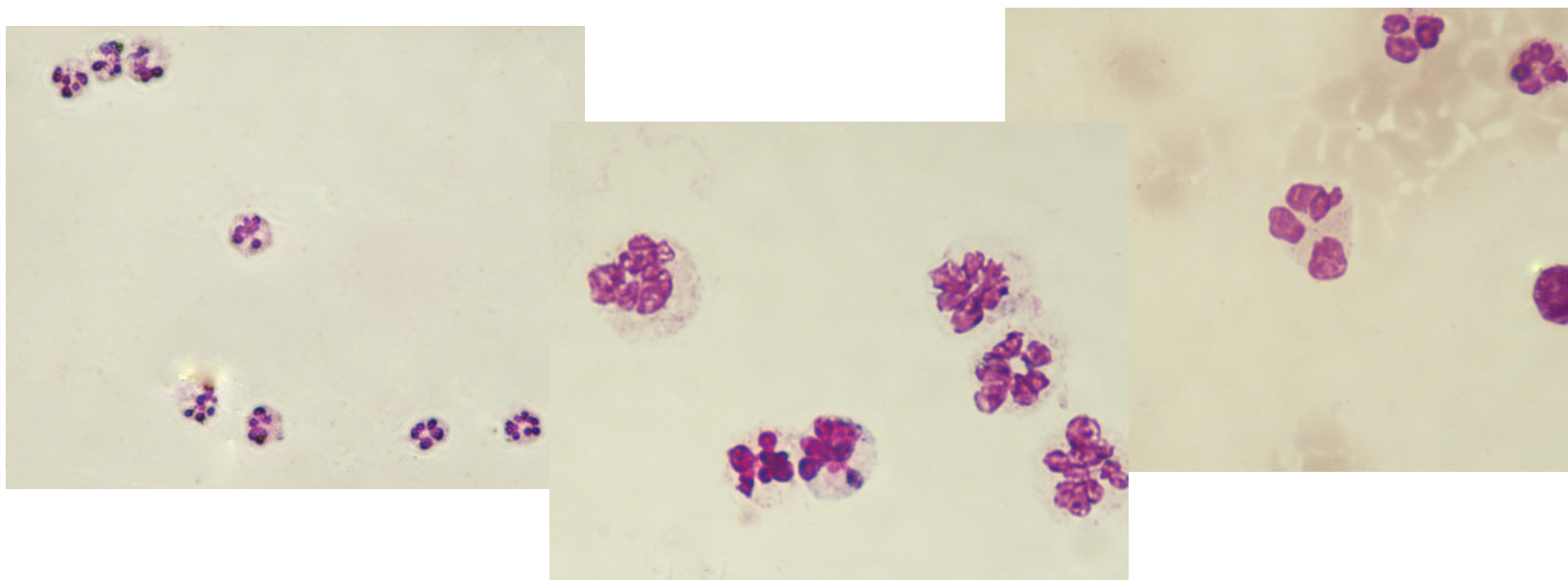
## Основные параметры

Параметр	Аббревиатура
Лейкоциты в биологических жидкостях	WBC-BF
Всего клеток в биологических жидкостях	TC-BF#
Количество мононуклеарных клеток	MN#
Процент мононуклеарных клеток	MN%
Количество полиморфоядерных клеток	PMN#
Процент полиморфоядерных клеток	PMN%
Эритроциты в биологических жидкостях	RBC-BF

## Исследовательские параметры (RUO)

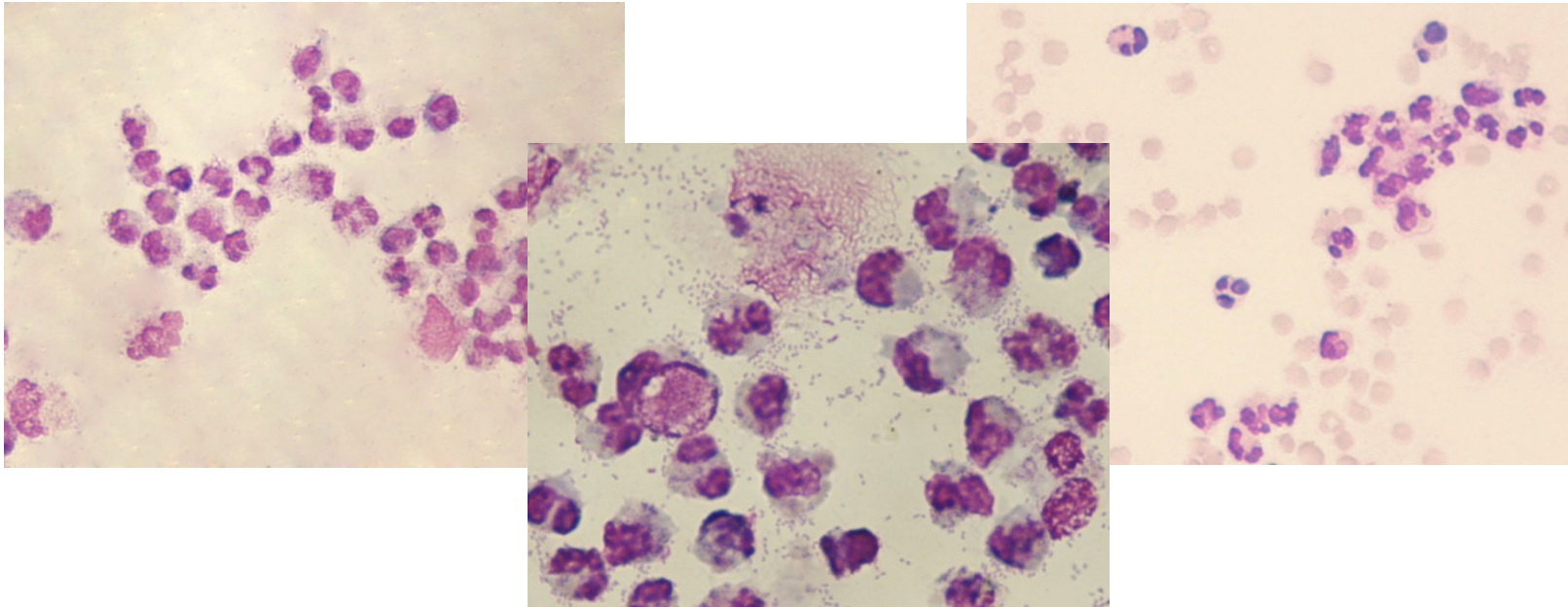
Параметр	Аббревиатура
Количество эозинофилов в жидкостях тела	Eos-BF#
Процент эозинофилов в жидкостях тела	Eos-BF%
Количество клеток с высокой флуоресценцией в жидкостях тела	HF-BF#
Процент клеток с высокой флуоресценцией в жидкостях тела	HF-BF%
Подсчет эритроцитов в жидкостях тела	RBC-BF

**Примечание:** Исследовательский параметр RBC-BF обладает большей точностью и округляется до четвертого знака после запятой, тогда как параметр RBC-BF для клинического применения округляется до третьего знака.



**Рис. 2 Нейтрофилы в СМЖ пациента с бактериальным менингитом**

При повышенных лейкоцитах и большом количестве нейтрофилов, необходимо провести тщательный поиск бактерий, поскольку на ранних стадиях бактериального менингита они присутствуют в очень малых количествах.



**Рис. 2** Нейтрофилы в серозных жидкостях пациентов с плевритом

**Ядра нейтрофилов более сегментированы, а филаменты длиннее, чем периферической крови. При наличии большого количества нейтрофилов, необходимо провести тщательный поиск бактерий.**



## Результаты BC-6800

## Красные мутноватые образцы

参数	结果	报警	单位	参数	结果	报警	单位
WBC-BF	0.083		10 <sup>9</sup> /L	PMN#	0.014		10 <sup>9</sup> /L
RBC-BF	0.134		10 <sup>12</sup> /L	PMN%	17.3		%
MN#	0.069		10 <sup>9</sup> /L	TC-BF#	0.083		10 <sup>9</sup> /L
MN%	82.7		%				

参数	报警	结果	单位
* Eos-BF#		0.000	10 <sup>9</sup> /L
* Eos-BF%		0.5	%
* HF-BF#		0.000	10 <sup>9</sup> /L
* HF-BF%		0.0	%
* RBC-BF(R)		0.1340	10 <sup>12</sup> /L

WBC Message			

RBC Message			

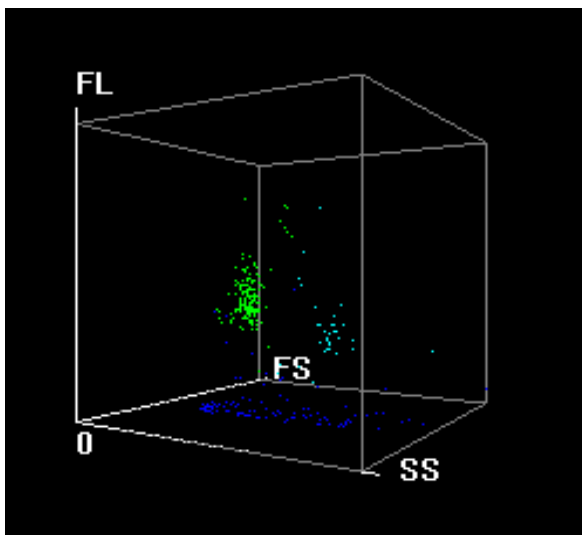
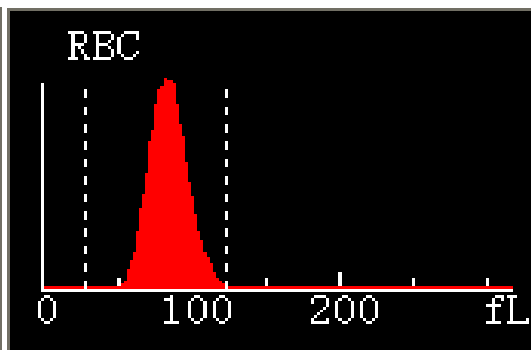
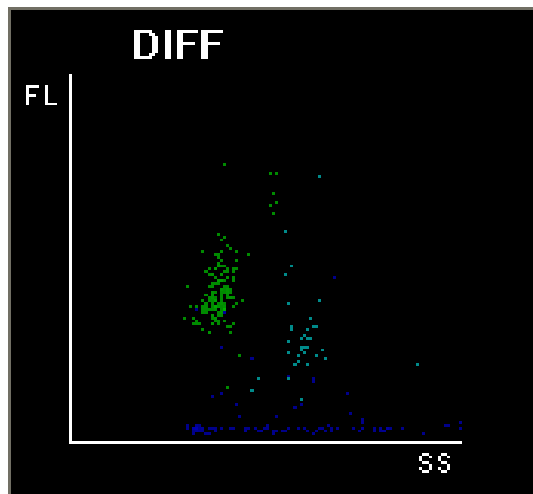
  

PLT Message			

### Обсуждение результатов

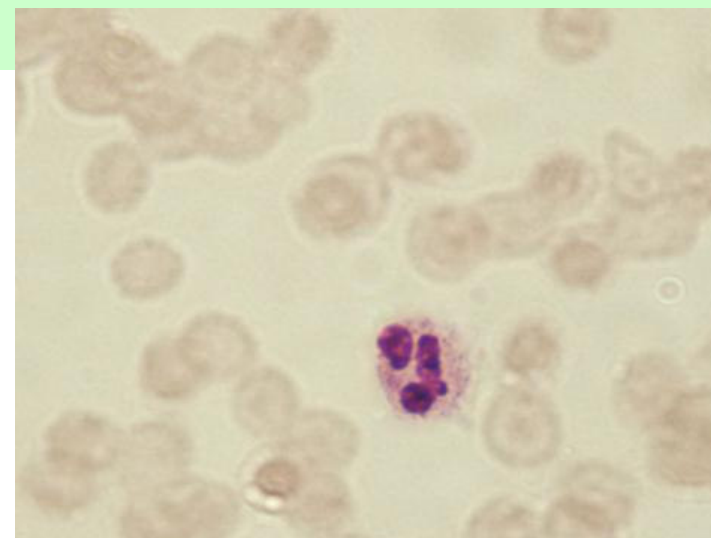
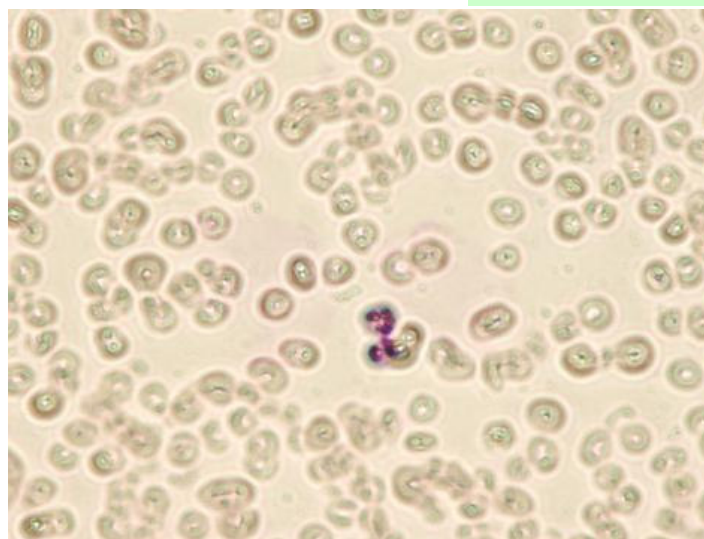
- Определяется большое количество эритроцитов, что соответствует внешнему виду пробы. Также, видны слегка повышенные лейкоциты.

## Графики BC-6800



## Обсуждение результатов

- Видна гистограмма RBC, что соответствует повышенным эритроцитам.
- На скатерограмме DIFF видны клетки, что соответствует слегка повышенным лейкоцитам
- При микроскопии видно большое количество RBC и небольшое количество PMN





## Клиническая картина

Пациент, 37-летний мужчина. Поднимая тяжести, внезапно испытал острую головную боль, побледнел и почувствовал тошноту. Затем потерял сознание. При госпитализации имел сонный вид. Была взята СМЖ на анализ. В пробе видна муть и кровь. Диагноз - острое субарахноидальное кровоизлияние вызванное разрывом врожденной аневризмы мозга.

## Результаты микроскопического исследования

Параметр	результат	единицы
WBC	0.051	$\times 10^9/L$
RBC	0.135	$\times 10^{12}/L$

## Результаты BC-6800

## Гнойный образец

参数	结果	报警	单位	参数	结果	报警	单位	WBC Message
WBC-BF	152.998	@	10 <sup>9</sup> /L	PMN#	****		10 <sup>9</sup> /L	白细胞散点图异常
RBC-BF	0.023		10 <sup>12</sup> /L	PMN%	****		%	
MN#	****		10 <sup>9</sup> /L	TC-BF#	153.577	@	10 <sup>9</sup> /L	
MN%	****		%					

参数	报警	结果	单位
* Eos-BF#		****	10 <sup>9</sup> /L
* Eos-BF%		****	%
* HF-BF#		****	10 <sup>9</sup> /L
* HF-BF%		****	%
* RBC-BF(R)		0.0226	10 <sup>12</sup> /L

RBC Message	

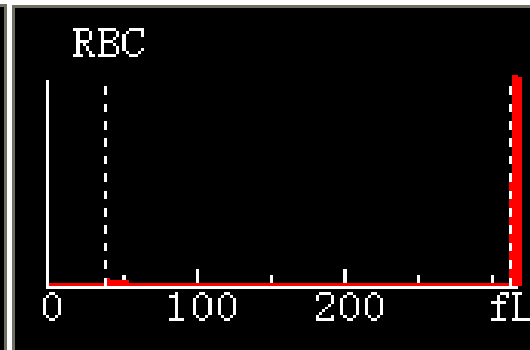
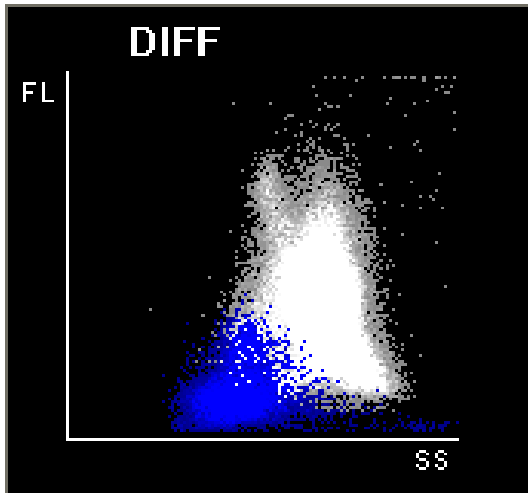
  

PLT Message	

### Обсуждение результатов

- Количество WBC явно очень высокое и превосходит предел линейности. Патологическая скатерограмма WBC. Результаты дифференцировки выданы как "\*\*\*\*". Образец явно патологический.

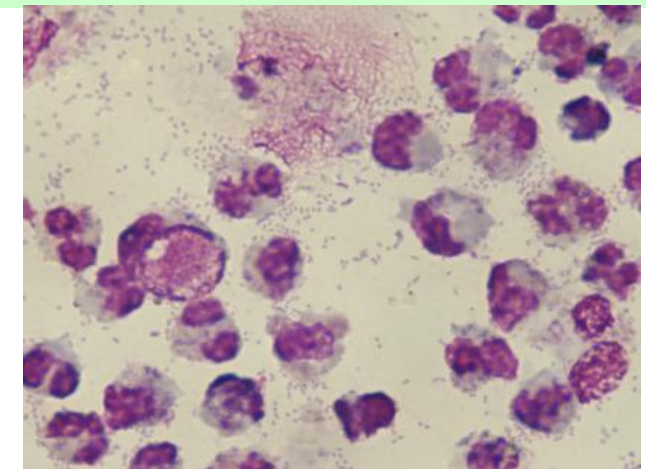
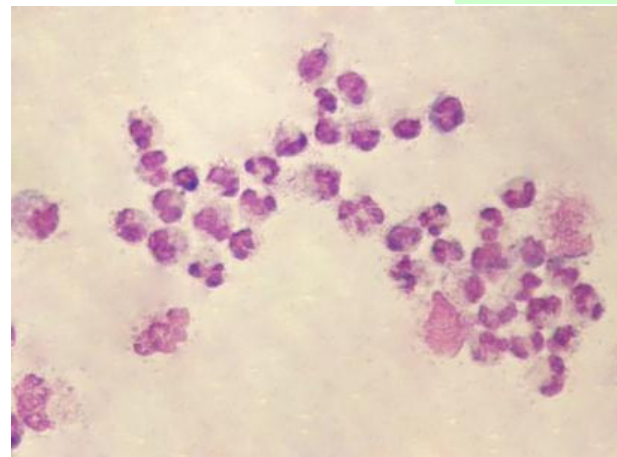
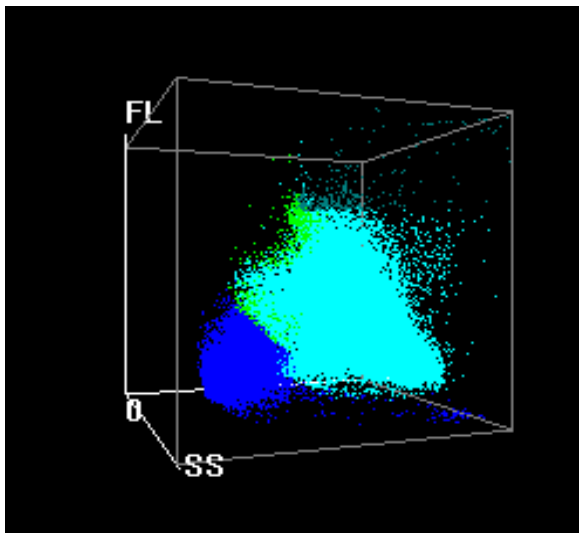
## Графики ВС-6800



- Диаграмма diff явно патологическая, с высокими выбросами и без ясных границ между группами клеток. По диаграмме видно, что проба может содержать много WBC.

- Гистограмма RBC патологическая и высоко поднята справа – признак того, что количество лейкоцитов велико.

- При микроскопии видно высокое количество ядросодержащих клеток, в особенности полиморфоядерных. Бактерии также видны в микроскоп, что соответствует гнойной инфекции



## Клиническая картина

Пациент, 57-летний мужчина обратился в больницу с температурой, ознобом, кашлем и болью в груди. Была взята на анализ плевральная жидкость. Образец содержал гной, имел запах, характерный для бактериальной анаэробной инфекции. В итоге был диагностирован пиоторакс.

## Результаты микроскопического исследования

item	result	unit
WBC	146.500	$\times 10^9/L$
RBC	0.024	$\times 10^{12}/L$

WBC diff	(n=200)
PMN%	88.00%
Neu%	88.00%
MN%	12.00%
Lym%	2.00%
Mon%	10.00%
ПРИМЕЧАНИЕ	При микроскопии видны лейкоциты и бактерии. Клетки в состоянии лизиса

Thank you!