

Проблемы трактовки результатов исследования общего анализа крови по данным гематологического анализатора и световой микроскопии (клинический случай)

А. П. Щёктова, д.м.н, проф., зав. кафедрой¹

Д. Ю. Соснин, д.м.н. доцент¹

О. Г. Кубарев, ординатор¹

А. С. Толкач, зав. терапевтическим отделением²

О. В. Костарева, клинический фармаколог²

Л. С. Онянова, руководитель лабораторного отдела³

А. Ю. Башкиров, сотрудник учебно-методического отдела³

¹Кафедра клинической лабораторной диагностики факультета дополнительного профессионального образования ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е. А. Вагнера» Минздрава России, г. Пермь

²НУЗ «Отделенческая клиническая больница на станции Пермь-2» ОАО «РЖД», г. Пермь

³ООО «Вест-Медика», г. Пермь

Problems in results interpretation of general blood analysis study according to hematology analyzer and light microscopy data (clinical case)

A. P. Shchyokotova, D. Yu. Sosnin, O. G. Kubarev, A. S. Tolkach, O. V. Kostareva, L. S. Onyanova, A. Yu. Bashkirov
Perm State Medical University n.a. E. A. Wagner, the Branch Clinical Hospital at the Perm-2 Railway Station, West-Medica Co.,
Perm, Russia

Резюме

Представлен клинический случай аутоиммунной гемолитической анемии с расхождением данных, полученных с помощью гематологического анализатора и при микроскопическом исследовании окрашенных препаратов периферической крови. Описаны анамнез, клиническая картина заболевания, приведены результаты дополнительных лабораторных исследований. Обсуждены причины различия данных гематологического анализатора и результатов световой микроскопии.

Ключевые слова: аутоиммунная гемолитическая анемия, общий анализ крови, гематологические анализаторы, мазок крови.

Summary

A clinical case of autoimmune hemolytic anemia with the divergence of data obtained using the hematology analyzer and microscopic examination of stained preparations of peripheral blood is presented. The history and clinical picture of disease, the results of additional laboratory tests were described. The reasons for the differences of hematology analyzer and light microscopy results are discussed.

Key words: autoimmune hemolytic anemia, general blood analysis, hematology analyzers, blood smear.

Внедрение и широкое использование гематологических анализаторов для выполнения общего анализа крови (ОАК) сопровождается уменьшением использования традиционных методов анализа крови, в том числе световой микроскопии окрашенного препарата. Однако известно, что при использовании гематологических анализаторов могут возникать ошибки, связанные с неправильной идентификацией морфологически измененных клеток крови, в частности, лейкоцитов [3, 4, 5]. Наиболее частой причиной микроскопического

исследования клеток крови после гематологического анализатора является отклонение результатов в анализе ОАК именно для лейкоцитов крови. Однако следует учитывать, что в ряде случаев использование указанных приборов может вести к существенным ошибкам и в определении показателей, характеризующих эритроциты [1, 2, 5].

Клинический случай

Больная И., 46 лет, (медицинская карта № 3623) госпитализирована в терапевтическое отделение НУЗ

«Отделенческая клиническая больница на станции Пермь-2» ОАО «РЖД» в сентябре 2016 года с жалобами на общую слабость, головокружение, тошноту, снижение аппетита, головные боли, периодическое изменение цвета (потемнение) мочи. С 2010 года находится на учете у гематолога с диагнозом «аутоиммунная гемолитическая анемия» (АИГА), периодически получает лечение преднизолоном. В этот же период у данной пациентки был диагностирован вирусный гепатит С (ВГС). Последняя госпитализация в гематологическое отделение

Таблица 1
Результаты общего анализа крови (ОАК) пациентки И.

Показатель	При поступлении 02.09.16	06.07.17	08.09.16	08.09.16 (повторно*)	Перед выпиской 13.09.16
Эритроциты (RBC), $\times 10^{12}/л$ (норма: 4,0–5,5 $\times 10^{12}/л$)	2,3	1,38	1,3	1,59	1,39
Гемоглобин (HGB), г/л (норма: 120–174/л)	74,0	74,00	89,0	84,00	100,0
Гематокрит (HCT), % (норма: 36–52%)		13,40	12,7	17,90	14,3
Средний объем эритроцита (MCV), фл (норма: 80–95 фл)		97,10	97,7	112,50	102,5
Среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH), пг (норма: 27–33 пг)		54,10	68,8	52,80	72,2
Средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах (MCHC), г/л (норма: 320–380 г/л)		557,00	704,0	469,00	704,0
Распределение эритроцитов (RDWc), % (норма: менее 15%)		24,20	27,0	17,90	25,7
Ретикулоциты, % (норма 0,2–1,2%)	9,0				9,8

Примечание: * — повторное изменение было выполнено через два часа после первоначального, при этом кровь почти 30 минут находилась в миниветте при комнатной температуре.

была в 2013 году. В этом же году пациентка самостоятельно прекратила принимать преднизолон. В 2015 году развился илеофemorальный тромбоз, диагностированы антифосфолипидный синдром, а также аутоиммунный тиреоидит, гипотиреоз. Последнее ухудшение наступило за семь дней до поступления в стационар на фоне приема нестероидных противовоспалительных препаратов по поводу дорсопатии шейно-грудного отдела позвоночника. В ОАК от 02.09.16 концентрация гемоглобина (Hb) составила 74 г/л, содержание ретикулоцитов — 9 % (табл. 1).

При госпитализации состояние средней тяжести, отмечаются бледность и желтушное окрашивание кожных покровов, спленомегалия (селезенка на 5 см ниже реберной дуги). Проведено дополнительное лабораторное обследование.

Биохимический анализ крови был выполнен на полуавтоматическом фотометре Stat Fax 1904+ (Awareness Technology, США). Результаты от 03.09.16: концентрация общего билирубина — 39,6 мкмоль/л (норма: 8,5–20,5), активность АСТ — 76 Е/л (норма: 5–40), активность АЛТ — 35 Е/л (норма: 5–40). Результаты от 13.09.16: концентрация общего билирубина снизилась и составила 12 мкмоль/л, активность АСТ — 36 Е/л, активность АЛТ — 25 Е/л. Серологическое исследование от 06.09.16: обнаружены антитела (суммарные) к ВГС.

Иммуногематологическое исследование 06.09.16: прямая проба Кумбса положительная (+++). Проба на выявление антител типа Доната-Ландштейнера от 09.09.16 положительная.

Результаты ОАК (красная кровь), выполненные на гематологическом анализаторе Drew-3 (Drew Scientific, США) представлены в табл. 1. По данным прибора, изменения состава крови, сформировавшиеся у больной, следовало бы охарактеризовать как макроцитарную гиперхромную с выраженным анизцитозом эритроцитов (RDW — 27%) анемию средней степени тяжести. Однако обращают на себя внимание необычно высокие значения эритроцитарных индексов MCH (54,0–72,2 пг) и MCHC (552–704 г/л). Значения MCHC, превышающие верхнюю границу нормы, обычно свидетельствуют о погрешности в работе гематологического анализатора или о проблемах на преаналитическом этапе [2, 4, 6]. Также известно, что при тяжелой гиперхромной анемии, например, В₁₂-дефицитной, MCH обычно не превышает 50 пг, при этом MCHC не только не превышает верхнюю границу нормы, а, наоборот, снижается. При получении таких результатов необходимо уточнить причины, которые ведут к резкому повышению уровня MCHC. В нашем случае ошибка, связанная с работой гематологического анализатора, была исключена: был выполнен весь ком-

плекс стандартных мер, чтобы убедиться в адекватном функционировании анализатора. Большую помощь в подобных ситуациях оказывают метод световой микроскопии окрашенных препаратов и дополнительные тесты.

Результаты анализа, выполненные на гематологическом анализаторе, расходились с данными, полученными при световой микроскопии. При микроскопическом исследовании окрашенного мазка крови были обнаружены гиперхромные эритроциты диаметром 4–6 мкм, то есть микросфероциты (рис. 1), а также умеренное количество полихроматофилов. Наличие полихроматофилии связано с высоким содержанием ретикулоцитов (рис. 2). Для АИГА характерно появление в крови сфероцитов; механизм их образования связан с фиксацией на их мембране антител: макрофаги селезенки фагоцитируют антитела, связанные с эритроцитами, а вместе с ними и часть мембраны клетки, что постепенно ведет к уменьшению поверхности эритроцита и изменению формы клетки (образуются сферические эритроциты). Также необходимо отметить, что при наследственной микросфероцитарной анемии уменьшение поверхности и изменение формы клеток происходят на стадии ретикулоцита, при АИГА уменьшение поверхности и дегидратация эритроцитов — это признаки только зрелых клеток [1].

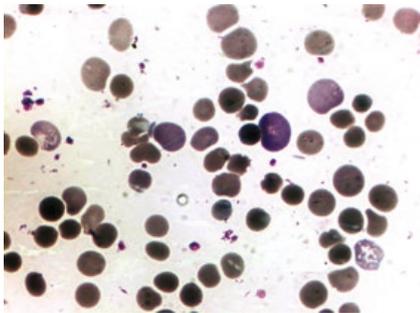


Рисунок 1. Фотография тонкой части мазка крови пациентки И. (изображение получено с помощью сканер-анализатора мазков крови Vision Hema®, окраска по MGG, ув. 500×).

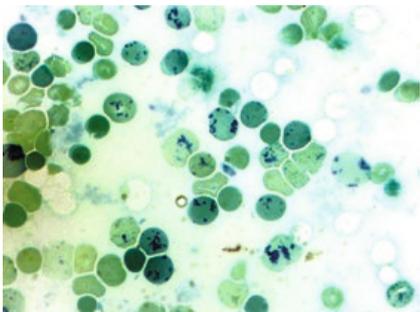


Рисунок 2. Фотография ретикулоцитов в мазке периферической крови пациентки И. (изображение получено с помощью сканер-анализатора мазков крови Vision Hema®, суправитальное окрашивание бриллиантовым крезилловым синим, ув. 500×).

Использование современных технологий позволяет объективизировать оценку морфологии эритроцитов. Разработанные сканер-анализаторы мазков периферической крови позволяют автоматически распознавать различные характеристики клеток, в том числе и эритроцитов, например, как это представлено на рис. 3.

При использовании сканер-анализатора Vision Hema® и модуля Vision Extended RBC («Вест-Медика», Австрия – Россия), предназначенного для детальной морфологической оценки эритроцитов, уровень микросфероцитов в представленном случае составил 36%. Точное количественное определение сфероцитов имеет важное диагностическое значение для диагностики АИГА. Такое кажущееся расхождение размеров эритроцитов, по данным гематологического анализатора и микроскопии мазка крови, объясняется особенностями АИГА. При этом заболевании повышение MCV, по данным гематоло-

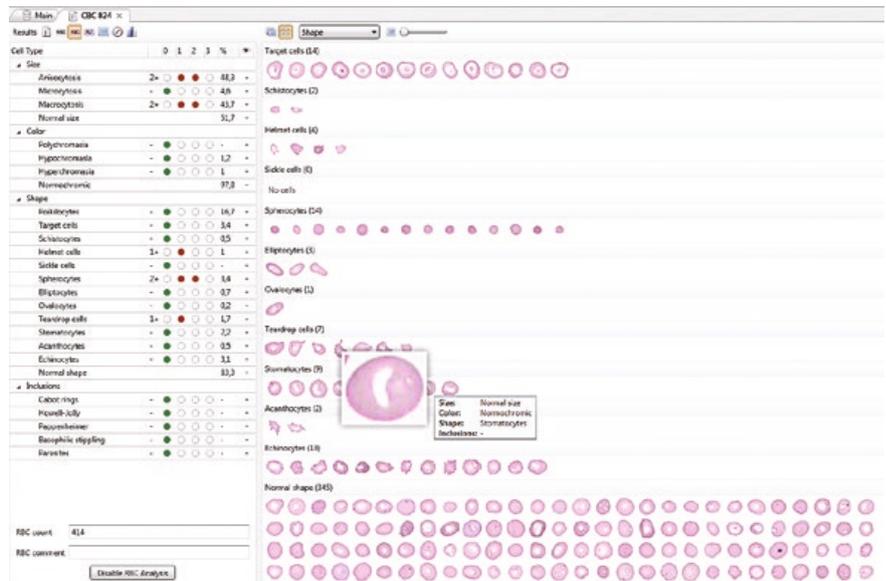


Рисунок 3. Пример анализа морфологических признаков эритроцитов с использованием Vision Hema® Vision Extended RBC («Вест-Медика», Австрия – Россия).

гического анализатора, обусловлено увеличением содержания ретикулоцитов, характеризующихся большим объемом, чем зрелые эритроциты [1]. А сфероциты, которые имеют меньший диаметр при исследовании мазка крови, из-за своей шаровидной формы обладают нормальным или даже меньшим, чем у нормального эритроцита объемом[9].

Кроме того, при интенсивной пролиферации клеток в костном мозге, сопровождающей гемолитические анемии, часто формируется относительный дефицит фолиевой кислоты (витамина В₁₂). Поэтому при остром гемолизе или гемолитическом кризе в крови появляются признаки, характерные для мегалобластных анемий: тельца Жолли, гиперсегментация нейтрофилов и прочие. У данной пациентки наблюдались указанные признаки.

Известно, что при ряде форм АИГА антитела могут вызывать агглютинацию эритроцитов. В этих случаях прохождение склеившихся эритроцитов через измерительную апертуру гематологического анализатора прибор регистрирует как единичный эритроцит с большим, чем у обычного эритроцита, объемом. При этом линейная зависимость между измеренным и реальным объемом склеившихся эритроцитов не соблюдается. В результате данной по-

грешности количество эритроцитов (RBC) резко занижается, а средний объем эритроцита рассчитывается неправильно. Это ведет к некорректному расчету гематокрита и эритроцитарных индексов, характеризующих среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH) и среднюю концентрацию гемоглобина в 100 мл эритроцитов (MCHC). В описываемом нами случае экстремальное повышение эритроцитарных индексов связано именно с агглютинацией эритроцитов.

В описанном случае, кроме неправильного определения числа эритроцитов из-за их агглютинации, возможна и еще одна причина существенных расхождений данных гематологического анализатора и картины мазка крови при микроскопии. Такой причиной могли быть эпизоды внутрисосудистого гемолиза, осложняющие обычное течение заболевания, протекающего, как правило, с внутриклеточным гемолизом. Возможность такого процесса подтверждается жалобами пациентки на эпизодическое выделение темной мочи. При АИГА это может быть связано с наличием двухфазных антител. При охлаждении крови происходит фиксация антител на поверхности эритроцитов, а через непродолжительное время развивается гемолиз. Темный цвет мочи в таких случаях может объ-

ясняться эпизодами гемоглобинурии и (или) гемосидеринурии. Следует учитывать, что данные изменения наблюдаются эпизодически и требуют тщательного мониторинга состава мочи у таких пациентов. Так как пациентка находилась в стационаре и не подвергалась воздействию низких температур окружающего воздуха, эпизоды появления темной мочи не отмечены и в анализе мочи не выявлен свободный гемоглобин. Однако наличие гемолиза, обусловленного подобным механизмом, было подтверждено *in vitro* положительной пробой на выявление двухфазных антител типа Доната-Ландштейнера. Инкубация образца крови при температуре 4 °С и последующее его согревание сопровождалось развитием гемолиза [4, 7].

Представленный случай является иллюстрацией к старому спору. Что будет с общим анализом крови в будущем? В какую сторону пойдет развитие приборного парка? Исчез-

нет ли необходимость микроскопической оценки морфологии клеток в мазке периферической крови?

Нам представляется, что дальнейшее развитие технологий выполнения ОАК будет сочетать достоинства различных технологий. Объединение гематологических анализаторов и сканер-анализаторов мазков периферической крови позволит объединить сильные стороны обеих технологий и компенсировать их недостатки [8]. При этом для трактовки результатов у конкретного больного всегда необходим учет клинической картины и результатов дополнительных тестов.

Список литературы

1. Алексеев Н. А. Анемии. СПб.: Гиппократ. 2004, 512 с.
2. Егорова Е. Н., Пустовалова Р. А., Горшкова М. А. Клинико-диагностическое значение эритроцитарных индексов, определяемых гематологическими анализаторами. Верхневолжский медицинский журнал. 2014; 3. С. 34–41.

3. Луговская С. А., Морозова В. Т., Почтарь М. Е., Долгов В. В. Лабораторная гематология. М., Триада, 2006, 223 с.
4. Луговская С. А. Возможности гематологических анализаторов. Клиническая лабораторная диагностика, 2007, № 2, С. 6–9.
5. Погорелов В. М., Иванова Л. А., Козинцев Г. И. Эффективность и информативность гематологических анализаторов. Гематология и трансфузиология. 2012 Т. 57, № 3. С. 30–37.
6. Сисла Б. Руководство по лабораторной гематологии. Практическая медицина, 2011, 352 с.
7. Льюис С. Митчел, Бейн Барбара Дж., Бейтс Имелда. Практическая и лабораторная гематология. ГЭОТАР-Медиа, 2009, 720 с.
8. Соснин Д. Ю., Ненашева О. Ю., Кубарев О. Ю. Автоматизированные системы анализа мазков крови и гематологические анализаторы — конкуренты или партнеры? Поликлиника. 2014 № 1–3, С. 34–37.
9. Palmer L., Briggs C., McFadden S., Zini G., Burthem J., Rozenberg G., Proytcheva M., Machin S. J. ICSN recommendations for the standardization of nomenclature and grading of peripheral blood cell morphology. Int. J. Lab. Hematol. 2015, Jun; 37 (3), 287–303.



Международная научная конференция «Клиническая протеомика. Постгеномная медицина»

30 октября — 01 ноября, г. Москва

Институт биомедицинской химии имени В. Н. Ореховича совместно с Европейской протеомной ассоциацией (EuPA) приглашают вас принять участие в работе Международной научной конференции «Клиническая протеомика. Постгеномная медицина», которая пройдет в период с 30 октября по 01 ноября 2017 года в Москве. Место проведения конференции: Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова (Сеченовский университет).

Сеченовский университет выбран не случайно. В рамках мероприятия будут обсуждаться не только достижения геномных и постгеномных технологий, но и практические примеры использования их в области персонализированной медицины и нутрициологии, спортивной медицины и велнес-индустрии, иммунологии и регенеративной медицины, а также в других актуальных областях.

В конференции примут участие ведущие ученые мирового уровня, среди них профессора Дэвид Табб (Университет Стелленбош, ЮАР), Дэвид Гудлетт (Университет фармацевтики Мэриленда, США), Паола Ронкада (Институт Спалланзани, Италия).

Избранные материалы конференции, прошедшие ускоренное рецензирование, будут опубликованы в виде коротких статей в специальном выпуске журналов «Биомедицинская химия» и Proteomes.

Научная программа конференции предполагает организацию и проведение пленарных лекций, секционных устных и стендовых докладов. Будет организована специализированная выставка, где ведущие отечественные и зарубежные компании представят свою продукцию и разработки.

Молодых ученых и студентов приглашаем на практические семинары:

- 30 октября — «Геном человека и клиническая практика» (iVinom, Россия);
- 30 октября — «Анализ протеомных данных? Это элементарно!» (Протеоинформатика) (EuVIC, Бельгия);
- 31 октября — «Поиск мишеней для создания лекарств с PathWay Studio» (Elsevier, Россия);
- 01 ноября — «Оценка контроля качества данных лонгитудинальных (многомесячных, длительных) исследований» (Университет Стелленбош, ЮАР);
- 01 ноября — «Скрытая пищевая непереносимость» (ImmunoHealth, США).

Материалы конференции будут опубликованы в специальном выпуске журнала «Биомедицинская химия».

Информация о конференции, правилах регистрации и подачи тезисов представлена на официальном сайте www.clinprot2017.org.

Оргкомитет