

МИКРОБИОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

Дьяконов Д.А., Росин В.А., Федоровская Н.С.

РАСХОЖДЕНИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ АВТОМАТИЗИРОВАННОГО АНАЛИЗА И МИКРОСКОПИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ КРОВИ (ПРИМЕРЫ КЛИНИЧЕСКИХ СЛУЧАЕВ)

ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови Федерального медико-биологического агентства», 610027, Киров, Россия

Представлены случаи расхождения результатов микроскопического исследования клеток крови врачами-морфологами с данными, полученными при использовании автоматического анализатора, у пациентов гематологического профиля. Показано, что в ряде случаев анализатор не определяет изменений морфологии эритроцитов, допускает погрешности в подсчете лейкоформулы, дифференцировке клеток по степени зрелости, оценке количества тромбоцитов. Подчеркнуто взаимодополняющее значение методов световой микроскопии и автоматизированного анализа крови у пациентов с подозрением на патологию системы крови.

Ключевые слова: анализ крови; микроскопическая оценка; гематологический анализатор.

Для цитирования: Дьяконов Д.А., Росин В.А., Федоровская Н.С. Расхождения результатов автоматизированного анализа и микроскопического исследования крови (примеры клинических случаев). Клиническая лабораторная диагностика. 2019; 64 (3): 176-179. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-3-176-179>

Diakonov D.A., Rosin V.A., Fedorovskaya N.S.

DISTINCTIONS OF THE RESULTS OF AUTOMATED ANALYSIS AND MICROSCOPIC BLOOD INVESTIGATION (EXAMPLES OF CLINICAL CASES)

Federal State Budgetary Institution of Science "Kirov Research Institute of Hematology and Blood Transfusion of Federal Medical and Biologic Agency", 610027, Kirov

There are cases of discrepancies between the results of a microscopic examination of blood cells by morphological physicians with data obtained using an automatic analyzer in patients with a hematologic profile. It is shown that in some cases the analyzer does not determine changes in the morphology of erythrocytes, allows errors in calculating the leukoformula, differentiation of cells according to the degree of maturity, and evaluation of the number of platelets. The complementary importance of methods of light microscopy and automated blood analysis in patients with suspected pathology of the blood system is underlined.

Key words: a blood test; a microscopic evaluation; a hematological analyzer.

For citation: Diakonov D.A., Rosin V.A., Fedorovskaya N.S. Distinctions of the results of automated analysis and microscopic blood investigation (examples of clinical cases). *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)* 2019; 64 (3): 176-179 (in Russ.) DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-3-176-179>

For correspondence: Diakonov D.A., Dr. Sci. Med., head of the library of pathomorphology; e-mail: diakonovda@rambler.ru

Information about authors:

Diakonov D.A., <http://orcid.org/0000-0001-8688-1344>

Rosin V.A., <http://orcid.org/0000-0003-2054-2870>

Fedorovskaya N.S., <http://orcid.org/0000-0002-2160-0035>

Conflict of interest. The authors declare absence of conflict of interests.

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

Received 06.11.2018
Accepted 06.12.2018

Введение. Общий анализ крови (ОАК) является лабораторным исследованием, которое включает в себя оценку, подсчет всех видов клеток крови (эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов) с выявлением их морфологических и количественных особенностей (лейкоформула), измерение уровня гемоглобина и определение соотношения

клеточной массы к плазме (гематокрит). Метод считается доступным, базовым, его результаты дают общее представление о состоянии здоровья пациента и позволяют определяться в дальнейшей диагностической тактике. Контроль показателей гемограммы в динамике применяется для анализа эффективности проводимого лечения [1 - 3]. Процедура лабораторного исследования крови подразделяется на три основных этапа: преаналитический, аналитический, постаналитический. Строгое соблюдение стандартов и рекомендаций по обеспечению

Для корреспонденции: Дьяконов Дмитрий Андреевич, канд. мед. наук, зав.лаб. патоморфологии; e-mail: DiakonovDA@rambler.ru

нию качества данных этапов служит основным условием диагностики.

В настоящее время для оценки гемограммы используются методы автоматизированного анализа и световой микроскопии мазков периферической крови. Оба этих способа имеют свои преимущества и во многом являются взаимодополняющими. В лабораторной практике широко применяются гематологические анализаторы, которые обладают существенными аналитическими возможностями, включают в анализ большое количество клеток (десятки тысяч), а также способны одновременно определять более 30 параметров крови. Такое оборудование имеет высокую производительность и воспроизводимость результатов, возможность графического представления данных [4–6].

Ошибки и неточности автоматизированного анализа, как правило, объясняются двумя основными причинами: технической погрешностью (нарушение стандартов преаналитического этапа) и особенностями патологических изменений клеток крови. Согласно нормативным документам, при работе с гематологическими анализаторами все случаи отклонения параметров крови от установленных границ требуют дополнительного визуального контроля окрашенных препаратов под микроскопом [5]. Это обусловлено тем, что даже самые современные гематологические анализаторы обладают некоторыми ограничениями в точной оценке морфологии клеток и не в состоянии полностью заменять световую микроскопию. Без помощи микроскопического анализа мазков невозможно определить особенности структуры хроматина ядродержащих элементов, что достаточно значимо для дифференцировки степени их зрелости и оценки атипичности клеток. Наилучшим способом выявления скопления и аномалий строения тромбоцитов при нарушениях со стороны мегакариоцитарного ростка кроветворения, анализа изменений формы эритроцитов при различных видах анемий, определения внутриклеточных включений по-прежнему считается микроскопия мазка крови врачом-морфологом.

Материал и методы. В лаборатории патоморфологии ФГБУН «Кировский научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови ФМБА России» за период с 2015 по 2017 гг. при пересмотре консультативного материала мазков периферической крови у пациентов с подозрением на патологию системы крови (серия наблюдений) выявлен ряд расхождений между данными гематологического анализатора (анализатор гематологический ХТ-4000i производства «Sysmex Corporation», Япония) и исследованием мазков врачами в световом микроскопе. Ниже представлены примеры клинических случаев, иллюстрирующие результаты.

Результаты. Клинический случай №1. Пациент, 10 лет. В течение 7 лет наблюдался в ФГБУН КНИИ-ГиПК ФМБА России с предварительным диагнозом «Иммунная тромбоцитопения». На момент очередной (контрольной) явки к гематологу (27.06.2017г.) жалоб не предъявлял, признаков геморрагического синдрома не выявлено. Назначено плановое исследование ОАК. По результатам гематологического анализатора: гемоглобин 151 г/л; эритроциты $5,25 \times 10^{12}/л$; тромбоциты $294 \times 10^9/л$; лейкоциты $6,3 \times 10^9/л$, из них лимфоцитов 32%, базофилов 0,5% и 67,5% представлено моноцитами. Выраженный абсолютный моноцитоз ($4,3 \times 10^9/л$) в периферической крови предварительно расце-

нивался как реактивный процесс (инфекции), а также как один из критериев ювенильного миеломоноцитарного лейкоза.

При пересмотре мазков периферической крови под микроскопом в формуле ОАК выявлено: сегментоядерные нейтрофилы 52%, эозинофилы 2%, лимфоциты 18%, моноциты 28% ($1,7 \times 10^9/л$). Полученные результаты критерияльно трактовались как остаточные морфологические признаки инфекционного процесса. Ребенок отправлен домой с рекомендацией повторного исследования ОАК в динамике (через 2-3 недели). На сегодняшний день ребенок жалоб не предъявляет (здоров), показаний для назначения специализированной гематологической помощи нет.

Клинический случай №2. Больная, 71 г. Обратилась за медицинской помощью и была госпитализирована в терапевтическое отделение КОГБУЗ «Кировская областная клиническая больница» 27.09.2017 г. В ОАК, выполненному в лаборатории ЛПУ по месту жительства: гемоглобин 38 г/л; эритроциты $1,4 \times 10^{12}/л$; MCV 93,7 фл; MCHC 28,6 г/дл; тромбоциты $23 \times 10^9/л$; лейкоциты $12,4 \times 10^9/л$, из них лимфоцитов 94%. Субъективно: в течение 1,5 мес жалобы на слабость, головокружение. Объективно: за последние две недели появились геморрагии на теле, присоединилась одышка. По данным ультразвукового исследования, спленомегалия. Предварительно поставлен диагноз: «Хронический лимфолейкоз?». Назначен повторный ОАК с пересмотром мазков периферической крови под микроскопом: гемоглобин 55 г/л; эритроциты $1,97 \times 10^{12}/л$; MCV 84,8 фл; MCHC 32,8 г/дл; тромбоциты $10 \times 10^9/л$; лейкоциты $9,75 \times 10^9/л$, из них лимфоцитов 89%. При анализе мазков крови врачами-морфологами ЛПУ по месту жительства обнаружено 4% бластных клеток, 5% пролимфоцитов, 87% лимфоцитов.

Вследствие нарастания слабости, ухудшения общего состояния мазки крови пациентки направлены на пересмотр в лабораторию патоморфологии ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России. В результате проведенной оценки в большом количестве выявлены бластные элементы (89%), преимущественно мелких размеров (предположительно лимфобласты по типу «L1»), с округлой и неправильной формами ядер, бугристой и мелкозернистой структурой хроматина, высоким ядерно-цитоплазматическим соотношением, в части бластов встречались ядрышки (рис. 1, см.обложку). Предварительный диагноз изменен. С подозрением на острый лейкоз 02.10.2017 г. больная переведена во взрослое гематологическое отделение клинического института. При дальнейшем исследовании в костном мозге определена выраженная инфильтрация лимфобластами (90,2%). Данные цитохимии и проточной цитометрии подтвердили лимфоидную природу опухоли с V-линейной направленностью: TdT (33%); CD19 (99%); CD10 (92%); CD24 (97%). На сегодняшний день проведено 2 цикла индукционной химиотерапии и 2 курса консолидации; состояние пациентки удовлетворительное. В ОАК сохраняется анемия (гемоглобин 90 г/л) и лейкопения (лейкоциты $1,45 \times 10^9/л$), количество тромбоцитов в пределах нормы ($262 \times 10^9/л$).

Клинический случай №3. Пациент, 26 лет. С жалобами на лихорадку и слабость обратился к врачу по месту жительства 18.09.2017 г. Объективно: увеличение шейных, подчелюстных и подмышечных лимфоузлов до 2-3 см. По данным ультразвукового исследования, умеренная

спленомегалия (134 x 56 мм). В ОАК обнаружены следующие изменения: незначительная тромбоцитопения ($137 \times 10^9/\text{л}$) и лейкоцитоз ($31,8 \times 10^9/\text{л}$). При подсчете лейкоформулы с помощью гематологического анализатора: палочкоядерных нейтрофилов 3%, сегментоядерных нейтрофилов 46%, эозинофилов 4%, лимфоцитов 40%, моноцитов 7%. Пересмотр мазков периферической крови врачами-лаборантами ЛПУ по месту жительства не проводился. С предварительным диагнозом “Инфекционный мононуклеоз? Лейкемоидная реакция? Лимфома?” направлен на консультацию к гематологу в ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России.

В результате оценки мазков крови (от 21.09.2017 г.) под микроскопом врачами-морфологами обнаружены бластные клетки (65%), преимущественно средних размеров, с округлой и неправильной формами ядер, нежно-сетчатой структурой хроматина, высоким ядерно-цитоплазматическим соотношением, четкими ядрышками в большинстве бластов, узкой светло-базофильной беззернистой цитоплазмой (рис. 2, см.обложку). Предварительный диагноз изменен на “Острый лейкоз”. При анализе костного мозга установлена выраженная инфильтрация лимфобластами (85,2%). Данные проточной цитометрии подтвердили лимфоидную природу опухоли с Т-линейной направленностью: CD2 (99%), CD3 (87%), CD5 (99%), CD7 (99%), TdT (15%). Проведено 2 цикла индукции и 2 курса консолидации по смехе “ОЛЛ-2016”; состояние пациента на 15.01.2018 г. хорошее. В ОАК отмечается незначительная анемия (гемоглобин 105 г/л); количество лейкоцитов в пределах нормы ($5,6 \times 10^9/\text{л}$); содержание тромбоцитов $332 \times 10^9/\text{л}$. Костный мозг полиморфный, признаков инфильтрации опухолевыми клетками нет.

Клинический случай №4. Больной, 7 лет. В течение недели отмечались гриппоподобные симптомы, в домашних условиях принимал амоксициллин. При поступлении в лечебное учреждение по месту жительства выявлена шейная лимфаденопатия (2-3 см). В анамнезе выполнена спленэктомия по поводу наследственного сфероцитоза. В ОАК установлено значительное увеличение количества лейкоцитов ($100 \times 10^9/\text{л}$) с выраженным преобладанием абсолютного числа лимфоцитов ($85 \times 10^9/\text{л}$). Результаты подсчета лейкоформулы в гематологическом анализаторе сопоставимы с данными, полученными врачами-лаборантами ЛПУ по месту жительства при микроскопии мазков периферической крови. С предварительным диагнозом “Лимфома?” направлен в ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России на консультацию к гематологу.

При оценке гемограммы врачами лаборатории патоморфологии на фоне повышенного содержания лимфоцитов выявлены атипичные мононуклеары, относительное число которых оставило 10% (рис.3, см. обложку). Кроме того, в отдельных эритроцитах встречались включения в виде телец Хауэлла-Жолли, что расценено как особенность состояния отдельных эритроцитов после удаления селезенки. Данные морфологические особенности гематологическим анализатором не отмечены. Результаты полимеразной цепной реакции подтвердили наличие в крови вируса Эпштейна-Барра. Поставлен окончательный диагноз – “Инфекционный мононуклеоз”, назначена соответствующая терапия, в результате которой в течение недели содержание лейкоцитов снизилось до $13,9 \times 10^9/\text{л}$ (абсолютное содержание лимфоцитов $8,8 \times 10^9/\text{л}$). На сегодняшний день ребенок жалоб не предъявляет, по-

казаний для назначения специализированной гематологической помощи нет.

Клинический случай №5. Пациентка, 40 лет. Обратилась в ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России с жалобами на слабость, обильные месячные (7-10 дней) в течение 10 лет. По результатам ОАК, выполненного с помощью гематологического анализатора, обнаружена выраженная тромбоцитопения ($16 \times 10^9/\text{л}$); остальные показатели гемограммы находились в пределах нормальных значений: гемоглобин 125 г/л, эритроциты $4,6 \times 10^{12}/\text{л}$, MCV 84 фл, лейкоциты $7,2 \times 10^9/\text{л}$. Поставлен предварительный диагноз “Иммунная тромбоцитопения”. Вследствие крайне низкого содержания тромбоцитов решался вопрос о необходимости переливания тромбоцитного концентрата.

При оценке мазков периферической крови под микроскопом в значительном количестве выявлены скопления тромбоцитов в виде агрегатов средних и крупных размеров, обнаружены макроформы тромбоцитов (рис. 4, см.обложку). Относительное содержание тромбоцитов при подсчете составило $100-150 \times 10^9/\text{л}$. Показаний для проведения гемотрансфузии не обнаружено. Рекомендовано динамическое наблюдение у врача-гематолога с целью исключения тромбоцитопатии.

Обсуждение. Ошибочные результаты автоматизированного анализа крови встречаются в отношении всех основных показателей (эритроциты, лейкоциты, тромбоциты), отражающих состояние кроветворения. В ряде случаев анализатор не определяет изменений формы эритроцитов и наличия в них включений. Это может привести к ошибочной интерпретации результатов и дальнейшей неверной тактике ведения больных, в частности, пациентов с анемиями. Нередки ошибки при дифференцировке степени зрелости и оценке атипичности лейкоцитарных элементов. Это имеет важное значение при выявлении онкогематологической патологии (острые лейкозы, лимфомы, хронические миелопролиферативные неоплазии), инфекционных заболеваний и проведении дифференциальной диагностики между этими нозологиями. Определение количества тромбоцитов с помощью автоматического гематологического анализатора является стандартизованным методом оценки их содержания. Тем не менее в ряде случаев аппарат допускает определенные погрешности в их подсчете. Чаще всего это встречается при наличии в периферической крови агрегационных скоплений или макроформ тромбоцитов.

Заключение. Таким образом, микроскопическое исследование крови не утратило своего диагностического значения, а в ряде ситуаций оно является определяющим. Все случаи отклонения параметров автоматизированного анализа от референсных значений требуют обязательного пересмотра окрашенных препаратов крови под микроскопом опытными врачами-морфологами. При наличии клинических симптомов заболевания системы крови микроскопическое исследование рекомендуется проводить в специализированной лаборатории. Это обеспечит объективность, точность и высокое качество его результатов, снизит вероятность диагностических ошибок.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Митрохин С.Д., Калачева О.С., Орлова О.Е., Шкода А.С., Ключкина Т.В. Централизация лабораторных исследований: модная тенденция или реальная необходимость? *Клиническая лабораторная диагностика*. 2017; 62 (7): 444-8.
2. Петрух А., Сидорко И., Гаврилишин Г. Внешний контроль качества гематологических исследований. Опыт межлабораторных сравнительных результатов. *Лабораторная диагностика. Восточная Европа*. 2016; 1: 26-33.
3. Федоровская Н.А., Федоровская Н.С., Дьяконов Д.А. Значение показателей периферической крови в оценке результатов脾切除术 у больных апластической анемией. *Вестник Уральской медицинской академической науки*. 2011; 2, (34): 41-3.
4. Петрова О.В., Шашин С.А., Тарасов Д.Г., Жукова Е.Р., Панова Е.В., Грачева Н.П. Референтные значения агрегации тромбоцитов у взрослого населения Астраханской области на агрегометре MULTIPLATE. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2016; 61 (1): 46-8.
5. Погорелов В.М., Иванова Л.А., Козинец Г.И. Эффективность и информативность гематологических анализаторов. *Гематология и трансфузиология*. 2012; 57 (3): 30-7.
6. Сергиенко Л.И. Особенности лабораторных методов подсчета тромбоцитов. *Лабораторная диагностика. Восточная Европа*. 2015; 2: 119-25.

REFERENCES

1. Mitrokhin S.D., Kalacheva O.S., Orlova O.E., Shkoda A.S., Klyukina T.V. Centralization of laboratory research: a fashion trend or a real need? *Clinical laboratory diagnostics*. 2017; 62, (7): 444-8. (in Russian)
2. Petrukh A., Sidorko I., Gavrilishin G. External quality control of hematological studies. Experience of interlaboratory comparative results. *Laboratory diagnostics. Eastern Europe*. 2016; 1: 26-33.
3. Fedorovskaya N.A., Fedorovskaya N.S., Diakonov D.A. The value of peripheral blood indices in assessing the results of splenectomy in patients with aplastic anemia. *Vestnik Ural'skoy meditsinskoy akademicheskoy nauki*. 2011; 2 (34): 41-3. (in Russian)
4. Petrova O.V., Shashin S.A., Tarasov D.G., Zhukova E.R., Panova E.V., Gracheva N.P. Reference values of platelet aggregation in the adult population of the Astrakhan region on the MULTIPLATE aggregometer. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2016; 61 (1): 46-8. (in Russian)
5. Pogorelov V.M., Ivanova L.A., Kozinets G.I. Efficiency and informativeness of hematological analyzers. *Gematologiya i transfuziologiya*. 2012; 57, (3): 30-7.
6. Sergienko L.I. Features of laboratory methods for calculating platelets. *Laboratory diagnostics. Eastern Europe*. 2015; 2: 119-25.

Поступила 06.11.18

Принята к печати 06.12.18

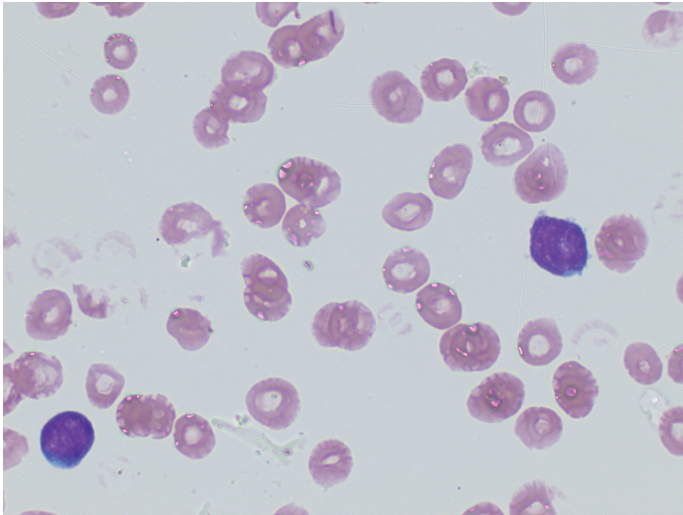


Рис. 1. Микроскопическое исследование мазков периферической крови (окраска по Паппенгейму). Бластные клетки мелких и средних размеров, с ядрами округлой и неправильной форм, нежно-сетчатой структурой хроматина, узкой светло-базофильной цитоплазмой, высоким ядерно-цитоплазматическим соотношением. В части бластных элементов выявляются нечеткие нуклеолы (ок.10, об. x100).

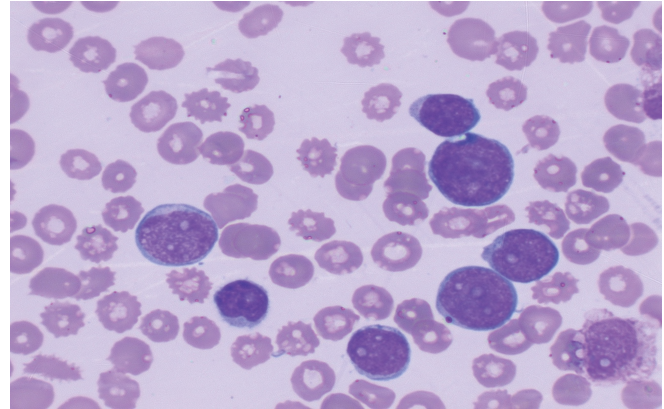
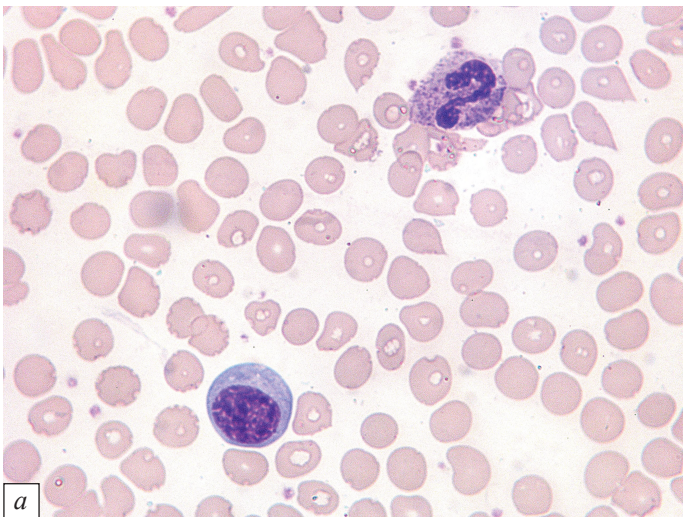
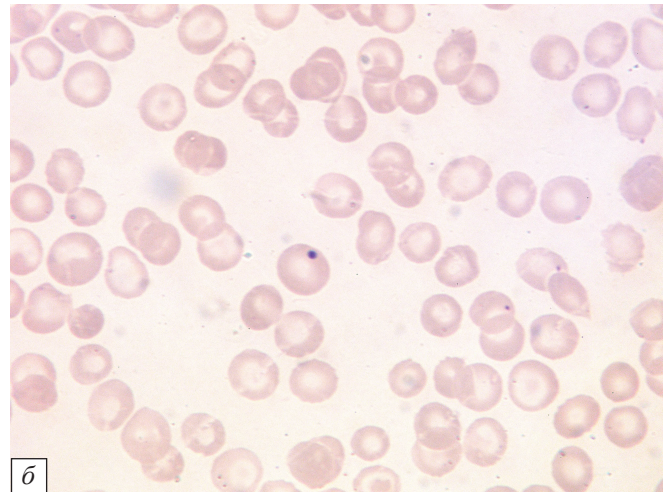


Рис. 2. Микроскопическое исследование мазков периферической крови (окраска по Паппенгейму). Бластные клетки средних размеров, с округлой и неправильной формами ядер, нежно-сетчатой структурой хроматина, высоким ядерно-цитоплазматическим соотношением, четкими ядрышками в большинстве бластов, узкой светло-базофильной беззернистой цитоплазмой (ок.10, об. x100).



а



б

Рис.3 . Микроскопическое исследование мазков периферической крови (окраска по Паппенгейму). А - выявляются крупные лимфоидные клетки с эксцентрично расположенными ядрами округлой и неправильной форм, с омоложенной структурой хроматина, широкой базофильной цитоплазмой со светлой перинуклеарной зоной по типу атипичных мононуклеаров. Б - в отдельных эритроцитах встречались включения в виде телец Хауэлла-Жолли (ок.10, об. x100).

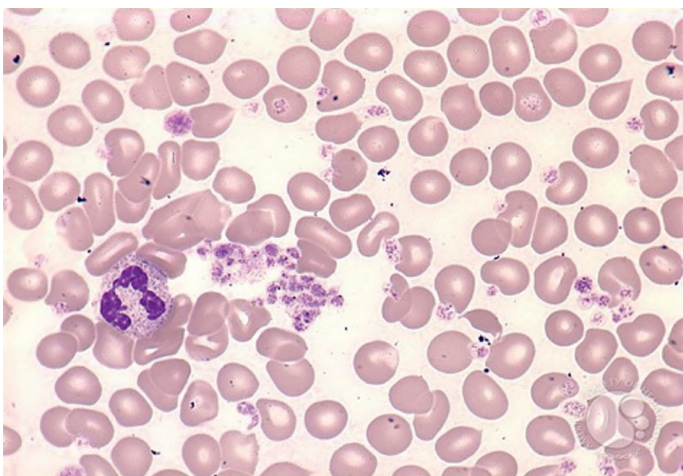


Рис. 4. Микроскопическое исследование мазков периферической крови (окраска по Паппенгейму). Скопления тромбоцитов в виде небольшого агрегата, встречаются отдельно лежащие макрофогры тромбоцитов (ок.10, об. x100).