



# Содержание

Авторский коллектив.....	14
Предисловие к изданию на русском языке.....	16
Предисловие к изданию на английском языке.....	17
Список сокращений и условных обозначений.....	18
<b>1. Забор и обработка крови.....</b>	<b>22</b>
Меры предосторожности в отношении биологической опасности .....	23
Забор венозной крови.....	23
Капиллярная кровь.....	24
Приготовление мазка крови.....	25
Различия между капиллярной и венозной кровью.....	25
Однородность образца .....	25
Сыворотка .....	25
Холодовые агглютинины.....	26
Антикоагулянты.....	26
Влияние хранения крови на результаты анализа .....	27
Влияние хранения крови на морфологию клеток.....	27
<b>2. Референсные диапазоны и нормальные значения.....</b>	<b>30</b>
Референсные диапазоны .....	30
Статистические процедуры.....	31
Нормальные референсные значения.....	33
Физиологическая изменчивость в клиническом анализе крови.....	36
Влияние курения на гематологические нормальные референсные значения.....	40
<b>3. Основные методы исследования крови .....</b>	<b>42</b>
Измерение уровня гемоглобина .....	43
Измерение концентрации гемоглобина с помощью спектрометра (спектрофотометра) или фотоэлектрического колориметра .....	43
Гемиглобинцианидный (цианметгемоглибиновый) метод.....	44
Прямая спектрометрия .....	46
Портативные гемоглобинометры прямого считывания.....	46
Диапазон концентрации гемоглобина у здоровых людей.....	47

Объем эритроцитов или гематокрит .....	47
Ручной подсчет клеток и эритроцитарные индексы.....	49
Ручной дифференциальный подсчет лейкоцитов.....	50
Количество базофилов и эозинофилов .....	51
Данные о дифференциальном подсчете лейкоцитов.....	52
Подсчет тромбоцитов.....	52
Подсчет ретикулоцитов .....	52
Автоматизированные методы клинического анализа крови .....	56
Концентрация гемоглобина.....	57
Подсчет эритроцитов.....	58
Системы подсчета.....	58
Надежность электронных счетчиков .....	59
Гематокрит и средний объем эритроцита .....	60
Эритроцитарные индексы .....	61
Изменения в объемах эритроцитов: ширина распределения эритроцитов по объему.....	62
Процент гипохромных эритроцитов и вариабельность гемоглобинизации эритроцитов: ширина распределения концентрации гемоглобина .....	63
Подсчет лейкоцитов.....	63
Автоматизированный дифференциальный подсчет .....	64
Автоматизированный подсчет незрелых гранулоцитов .....	65
Автоматизированный подсчет ядерных эритроцитов .....	66
Автоматизированный цифровой анализ изображений клеток крови.....	66
Новые параметры лейкоцитов .....	67
Графическое отображение приборами полученных данных .....	67
Подсчет тромбоцитов.....	69
Подсчет ретикулоцитов .....	70
Приборы в пунктах оказания медицинской помощи.....	72
Калибровка автоматических счетчиков клеток крови.....	72
Сигналы тревоги при автоматизированном исследовании крови.....	73
Микроскопия .....	74
<b>4. Изготовление и методы окрашивания мазков крови и костного мозга.....</b>	<b>80</b>
Приготовление мазков крови на предметных стеклах.....	80
Окрашивание мазков крови и костного мозга.....	82
Методы окрашивания.....	84
Установка покровного стекла .....	87
Исследование нативных препаратов влажного мазка крови .....	87
Разделение и концентрирование клеток крови .....	88
Бактерии и грибы, обнаруживаемые в мазках крови.....	89
Паразиты, обнаруживаемые в крови, костном мозге или аспиратах селезенки .....	89
Выявление паразитов в мазках крови.....	90

<b>5. Морфология клеток крови в норме и при патологии</b> .....	92
Исследование мазков крови .....	92
Морфология эритроцитов.....	93
Аномальный эритропоэз .....	95
Недостаточное образование гемоглобина .....	97
Повреждение эритроцитов после их созревания.....	99
Шиповатые клетки и фрагментация эритроцитов .....	103
Различные аномалии эритроцитов .....	106
Изменения, связанные с компенсационным усилением эритропоэза .....	110
Последствия спленэктомии и гипоспленизма .....	111
Сканирующая электронная микроскопия .....	111
Морфология лейкоцитов.....	114
Полиморфноядерные нейтрофилы .....	114
Эозинофилы .....	118
Базофилы .....	118
Моноциты .....	119
Лимфоциты .....	119
Морфология тромбоцитов.....	121
<b>6. Дополнительные методы, включающие диагностику паразитов в крови</b> .....	125
Тесты на реакцию острой фазы .....	125
Вязкость цельной крови .....	130
Гетерофильные антитела в сыворотке: диагностика инфекционного мононуклеоза.....	130
Выявление клеток красной волчанки .....	131
Эритропоэтин .....	131
Автономный эритропоэз <i>in vitro</i> .....	132
Тромбопоэтин .....	132
Принципы обнаружения микроорганизмов .....	133
Исследование мазков крови на наличие паразитов .....	134
Микроскопическая диагностика малярии.....	134
Экспресс-диагностические тесты на малярию .....	138
Лейшманиоз .....	142
Трипаносомоз.....	142
Филяриоз и лоаоз .....	144
Бабезиоз.....	144
Эрлихиоз и анаплазмоз.....	145
<b>7. Биопсия костного мозга</b> .....	147
Аспирация костного мозга.....	148
Аспирация костного мозга у детей .....	150
Иглы для пункции костного мозга .....	150
Обработка аспирированного костного мозга .....	150

Исследование аспирированного костного мозга.....	152
Описание мазков аспирированного костного мозга.....	155
Приготовление срезов аспирированных фрагментов костного мозга .....	157
Чрескожная трепанобиопсия костного мозга .....	158
<b>8. Молекулярный и цитогенетический анализ .....</b>	<b>163</b>
Методология .....	164
Клиническое применение .....	173
<b>9. Железодефицитная анемия и перегрузка железом .....</b>	<b>210</b>
Метаболизм железа .....	210
Статус железа .....	214
Нарушения обмена железа .....	215
Методы оценки статуса железа .....	215
Оценка концентрации железа в сыворотке .....	220
Альтернативная процедура: сывороточное железо без осаждения белка .....	221
Концентрации сывороточного железа у здоровых и больных людей.....	222
Оценка общей железосвязывающей способности.....	223
Определение ненасыщенной железосвязывающей способности .....	223
Полностью автоматизированные методы .....	224
Сывороточный трансферрин.....	225
Насыщение трансферрина .....	225
Рецепторы трансферрина сыворотки.....	225
Эритроцитарный протопорфирин .....	228
Гепсидин.....	229
Методологическая и биологическая вариабельность анализов .....	230
Прогностическая ценность анализов крови на дефицит железа.....	231
Заключение.....	234
<b>10. Исследование мегалобластной анемии:     кобаламиновый, фолатный и метаболический статус....</b>	<b>238</b>
Абсорбция и метаболизм кобаламина .....	239
Абсорбция и метаболизм фолатов.....	243
Гематологические особенности мегалобластной анемии .....	244
Метаболическая недостаточность.....	245
Стратегия тестирования при подозрении на дефицит кобаламина или фолата .....	246
Методы определения уровня кобаламина и фолатов .....	256
Общие принципы конкурентных протеин-связывающих анализов ....	256
Анализ на $V_{12}$ в сыворотке.....	256
Анализы на холотранскобаламин.....	257

Методы определения фолатов в сыворотке .....	258
Методы определения фолатов в эритроцитах .....	259
Измерение фолата в плазме, эритроцитах и спинномозговой жидкости с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии .....	261
Измерение уровня метилмалоновой кислоты .....	262
Измерение уровня гомоцистеина .....	263
Динамическое исследование метаболизма кобаламина и фолата .....	264
Исследование причин дефицита кобаламина .....	265
Измерение антител к внутреннему фактору .....	265
Исследование абсорбции $V_{12}$ .....	266
Связывающая способность сыворотки или плазмы крови к $V_{12}$ : измерение транскобаламина .....	266
Ненасыщенная способность связывания $V_{12}$ . Идентификация и количественная оценка транскобаламина .....	267
<b>11. Лабораторные методы, используемые при исследовании гемолитических анемий .....</b>	<b>271</b>
Исследование гемолитической анемии.....	272
Плазменный гемоглобин.....	273
Сывороточный гаптоглобин .....	274
Сывороточный гемопексин.....	277
Исследование плазмы (или сыворотки) на метамальбумин.....	278
Выявление гемосидерина в моче .....	278
Тесты на исследование катаболизма гемоглобина.....	279
Порфирины .....	280
Аномальные пигменты гемоглобина.....	282
<b>12. Исследование наследственных гемолитических анемий: аномалии мембран и ферментов.....</b>	<b>287</b>
Исследование дефектов мембран.....	288
Осмотическая резистентность, измеряемая лизисом в гипотоническом солевом растворе.....	288
Проточно-цитометрический тест (на связывание красителя) .....	293
Глицериновый тест на время лизиса .....	294
Тест на криогемолиз .....	295
Аутогемолиз: спонтанный гемолиз, развивающийся в крови, инкубированной при 37 °С в течение 48 ч .....	295
Анализ мембранных белков.....	297
Выявление дефицита ферментов при наследственных гемолитических анемиях.....	297
Цитохимические тесты для выявления дефектов метаболизма эритроцитов.....	302
Скрининг-тест на пиримидин-5'-нуклеотидазу .....	303
Анализ ферментов эритроцитов.....	304
Анализ на пируваткиназу.....	308
Оценка уровня восстановленного глутатиона .....	309

2,3-Дифосфоглицерат .....	311
Кривая диссоциации кислорода.....	313
<b>13. Приобретенные гемолитические анемии .....</b>	<b>318</b>
Оценка вероятности приобретенной гемолитической анемии .....	318
Оценка мазка крови при подозрении на приобретенную гемолитическую анемию.....	318
Иммунные гемолитические анемии .....	319
Гемолитические анемии, вызванные окислителями.....	339
Микроангиопатические и механические гемолитические анемии.....	339
Пароксизмальная ночная гемоглобинурия .....	339
<b>14. Исследование вариантов гемоглобинов и талассемии .....</b>	<b>354</b>
Молекула гемоглобина .....	354
Структурные варианты гемоглобина .....	355
Синдромы талассемии.....	358
Обследование пациентов с подозрением на гемоглобинопатию.....	362
Лабораторное выявление вариантов гемоглобина.....	363
Тесты на гемоглобин S.....	372
Неонатальный скрининг (новорожденных).....	373
Определение нестабильного гемоглобина .....	374
Определение гемоглобинов M.....	375
Обнаружение измененного сродства гемоглобинов .....	376
Дифференциальная диагностика распространенных вариантов гемоглобина .....	376
Исследование предполагаемой талассемии.....	376
Количественное определение гемоглобина A <sub>2</sub> .....	378
Интерпретация значений гемоглобина A <sub>2</sub> .....	381
Количественное определение гемоглобина F.....	382
Оценка внутриклеточного распределения гемоглобина F .....	383
Оценка статуса железа при талассемии.....	384
Эритроцитарные включения .....	384
Внутриутробная диагностика нарушений в гене глобина.....	386
<b>15. Цитохимия эритроцитов и лейкоцитов .....</b>	<b>389</b>
Цитохимия эритроцитов .....	389
Цитохимия лейкоцитов.....	395
<b>16. Иммунофенотипирование методом проточной цитометрии .....</b>	<b>410</b>
Принципы иммунофенотипирования методом проточной цитометрии.....	410
Многоцветное иммунофенотипирование.....	411
Мониторинг ВИЧ.....	428

<b>17. Радиоизотопные методы диагностики в гематологии</b> .....	432
Источники радиоизотопов .....	432
Радиационная защита .....	434
Устройство для измерения радиоактивности <i>in vitro</i> .....	435
Устройство для измерения радиоактивности <i>in vivo</i> .....	435
Объем крови .....	437
Феррокинетика .....	441
Оценка продолжительности жизни эритроцитов <i>in vivo</i> .....	441
Тестирование на совместимость .....	445
Визуализация селезенки с помощью сцинтилляционного сканирования .....	445
Визуализация лейкоцитов .....	447
Прочие изображения .....	447
Измерение кровопотери из желудочно-кишечного тракта .....	447
Измерение продолжительности жизни тромбоцитов .....	447
<b>18. Исследование гемостаза</b> .....	450
Компоненты нормального гемостаза .....	451
Общий подход к исследованию гемостаза .....	458
Примечания к оборудованию .....	459
Преданалитические параметры, включая сбор образцов .....	460
Калибровка и контроль качества .....	462
Выполнение коагуляционных тестов .....	463
Скрининг системы гемостаза .....	467
Исследования второй линии .....	471
Исследование нарушения свертываемости крови, вызванного дефицитом или дефектом фактора свертывания .....	474
Обследование пациента с циркулирующим антикоагулянтом (ингибитором) .....	478
Обследование пациента с подозрением на афибриногеномию, гипофибриногеномию или дисфибриногеномию .....	481
Дефекты первичного гемостаза .....	482
Исследования при подозрении на болезнь фон Виллебранда .....	482
Исследование нарушения функции тромбоцитов .....	488
Анализ активности фактора XIII .....	496
Диссеминированное внутрисосудистое свертывание .....	497
Обследование носителей врожденного дефицита или дефекта свертывания .....	499
<b>19. Исследование склонности к тромбозам</b> .....	503
Общие сведения о тромбофилии .....	503
Тесты на наличие волчаночного антикоагулянта .....	504
Исследование наследственных тромботических состояний .....	509
Фибринолитическая система .....	514
«Гиперреактивность» тромбоцитов и их активация .....	517



Гомоцистеин .....	518
Маркеры активации свертывания .....	518
Глобальные анализы коагуляции.....	518
<b>20. Лабораторный контроль антикоагулянтной, тромболитической и антитромбоцитарной терапии .....</b>	<b>521</b>
Лечение пероральными антикоагулянтами с использованием антагонистов витамина К.....	522
Лечение гепарином.....	526
Пероральные анти-IIa и анти-Xa агенты прямого действия .....	533
Тромболитическая терапия .....	534
Антитромбоцитарная терапия .....	535
<b>21. Антигены и антитела клеток крови: эритроцитов, тромбоцитов и нейтрофилов .....</b>	<b>537</b>
Эритроциты.....	537
Тромбоциты и нейтрофилы.....	560
<b>22. Лабораторные аспекты переливания крови .....</b>	<b>575</b>
Технология и автоматизация в лабораториях переливания крови .....	577
Предтрансфузионные системы совместимости .....	578
Обеспечение качества в лаборатории переливания крови .....	581
Определение групп крови по системам ABO и RhD .....	581
Скрининг антител.....	586
Идентификация антител.....	589
Отбор и переливание эритроцитов.....	590
Перекрестное сопоставление .....	592
Проблема экстренного переливания крови.....	593
Тестирование на совместимость при переливании крови в особых ситуациях .....	595
Исследование реакции на переливание.....	598
Аntenатальная серология и гемолитическая болезнь плода и новорожденного.....	601
<b>23. Методы диагностики и классификации заболеваний клеток крови.....</b>	<b>608</b>
Общие проявления гематологических заболеваний .....	608
Начальные скрининговые тесты .....	608
Специфические тесты на общие гематологические расстройства.....	615
Классификация гематологических новообразований .....	618
<b>24. Организация, управление и безопасность лаборатории .....</b>	<b>624</b>
Структура и функции управления .....	624
Надежность тестов .....	629

Выбор тестов .....	629
Оборудование .....	631
Обработка данных .....	633
Преданалитические и постаналитические этапы тестирования.....	634
Лабораторный аудит и аккредитация.....	639
Международные стандарты практики .....	642
Бенчмаркинг .....	643
Безопасность при работе в лаборатории .....	643
Пересылка образцов.....	649
<b>25. Обеспечение качества.....</b>	<b>652</b>
Стандартизация .....	653
Эталонные препараты и контрольные материалы .....	653
Процедуры обеспечения качества .....	656
Процедуры внешней оценки качества .....	660
Анализ данных внешней оценки качества .....	661
Приготовление материала с увеличенным сроком службы для использования в процедуре оценки качества .....	664
<b>26. Гематология в недостаточно обеспеченных     лабораториях.....</b>	<b>668</b>
Типы лабораторий .....	668
Организация клинических лабораторных услуг .....	669
Доступность гематологических тестов на каждом уровне .....	670
Микроскопы.....	671
Основные гематологические тесты .....	672
Поддержание качества и надежность исследований.....	673
Базовые гематологические тесты .....	674
Лабораторная поддержка для лечения ВИЧ/СПИДа: подсчет CD4-положительных Т-клеток .....	681
Управление лабораторией.....	681
Приложение .....	686
Приготовление основных реагентов .....	686
Подготовка стеклянной посуды .....	690
Размеры пробирок .....	690
Скорость центрифугирования.....	690
Статистические процедуры.....	691
Автоматизированные (механические) пипетки.....	692
Системы автоматического разбавления.....	693
Предметный указатель .....	695



## Авторский коллектив

Редактор хотел бы выразить признательность и благодарность за вклад всем участникам предыдущих изданий, без которых это новое издание было бы невозможно.

**Барбара Дж. Бейн (Barbara J. Vain), MB BS, FRACP, FRCPath**

Professor of Diagnostic Haematology, Centre for Haematology, Imperial College, Faculty of Medicine St Mary's Hospital, London, UK

**Имельда Бейтс (Imelda Bates), MB BS, MD, MA, FRCPath**

Professor of Tropical Haematology, Liverpool School of Tropical Medicine, Liverpool, UK

**Энн Э. Брэдшоу (Anne E. Bradshaw), BSc, FIBMS, DMLM**

Head of Operations and Regulatory Affairs, John Goldman Centre for Cellular Therapy Hammersmith Hospital, London, UK

**Кэрол Бриггс (Carol Briggs) (ныне покойная), BSc, FIBMS**

Previously Head of Haematology Evaluation Unit, Department of Haematology Evaluations, University College London Hospital, London, UK

**Джон Бёртем (John Burthem), PhD, FRCP, FRCPath**

Clinical Senior Lecturer and Honorary Consultant Haematologist, Department of Clinical Haematology, Manchester Royal Infirmary, Manchester, UK

**Кэрол Кантуэлл (Carol Cantwell), CSci, FIBMS, DMS**

Previously Transfusion Laboratory Manager St Mary's Hospital, Imperial College NHS Trust, London, UK

**С. Митчел Льюис (S. Mitchell Lewis), BSc, MD, FRCPath, DCP, FIBMS**

Emeritus Reader in Haematology, Centre for Haematology, Imperial College Faculty of Medicine Hammersmith Hospital, London, UK

**Барбара де ла Салль (Barbara De la Salle), MSc**

Director, UK NEQAS Haematology, UK NEQAS Haematology and Transfusion, West Hertfordshire Hospitals NHS Trust, Watford, UK

**Летиция Форони (Letizia Foroni), MD, PhD, FRCPath**

Principal Teaching Fellow, Centre for Haematology, Imperial College Faculty of Medicine, Hammersmith Hospital, London, UK

**Гарет Джеррард (Gareth Gerrard), BSc, PGCert, MSc, PhD**

Pathology Core Facility Manager. UCL Cancer Institute, London, UK

**Доминик Дж. Харрингтон (Dominic J. Harrington), MSc, PhD**

Consultant Clinical Scientist and Reader in Diagnostic Haematology, King's College, London, Department of Haemostasis, Thrombosis and Nutristasis (Viapath) Guy's and St Thomas' Hospital, London, UK

**Сандра Хинг (Sandra Hing), BSc**

Principal Molecular Geneticist, Cellular and Molecular Pathology, Imperial College Healthcare NHS Trust, London, UK

**Майкл А. Лаффан (Michael A. Laffan), DM, FRCP, FRCPath**

Professor of Haemostasis and Thrombosis and Honorary Consultant Haematologist, Centre for Haematology, Imperial College Faculty of Medicine Hammersmith Hospital, London, UK

**Марк Лейтон (Mark Layton), FRCP, FRCPH**

Consultant Haematologist Imperial College Healthcare NHS Trust Hammersmith and St Mary's Hospitals, London, UK

**Джейн Й. Картер (Jane Y. Carter), MB BS, FRCPC**

Technical Director, Clinical and Diagnostics Amref Health Africa Headquarters, Nairobi, Kenya

**Ричард А. Мэннинг (Richard A. Manning), BSc, CSci, FIBMS**

Chief Biomedical Scientist, Specialist Coagulation, Imperial College Healthcare NHS Trust, Hammersmith Hospital, London, UK

**Элисон М. Мэй (Alison M. May), PhD**

Previously Senior Research Fellow, Department of Haematology, Cardiff University School of Medicine, Cardiff, UK

**Кристофер Макнамара (Christopher McNamara), FRACP, FRCPA, FRCPath**

Consultant Haematologist, Department of Haematology, University College Hospital, London, UK

**Клэр Милкинс (Clare Milkins), BSc CSci, FIBMS**

Manager, UK NEQAS Blood Transfusion Laboratory Practice, UK NEQAS Haematology and Transfusion, West Hertfordshire Hospitals NHS Trust, Watford, UK

**Рикардо Морилла (Ricardo Morilla), MSc, FRMS**

Head of Immunophenotyping, Haemato-Oncology Section, Royal Marsden Hospital NHS Foundation Trust, Sutton, Surrey, UK

**Элисон М. Морилла (Alison M. Morilla), BSc**

Senior Clinical Scientist, Haemato-Oncology Section, Royal Marsden Hospital NHS Foundation Trust, Sutton, Surrey, UK

**Элизабет Надал-Мельсио (Elisabet Nadal-Melsió), MD**

Consultant Haematologist, Cellular and Molecular Pathology, Imperial College Healthcare NHS Trust, Hammersmith Hospital, London, UK

**Кулдип С. Ниджран (Kuldip S. Nijran), BSc, MSc, DMS, PhD, MIPEM, CSci**

Head of Nuclear Medicine Physics, Radiological Sciences Unit, Imperial College Healthcare NHS Trust, Hammersmith Hospital, London, UK

**Эндрю Осей-Бимпонг (Andrew Osei-Bimpong), MSc, CSci, FIBMS, MIHM**

Laboratory Manager, Blood Sciences, Hammersmith Hospital, Imperial College Healthcare NHS Trust, London, UK

**Дэвид Дж. Перри (David J. Perry), MD, PhD FRCPEdin, FRCPLond, FRCPath, FAcadMED**

Consultant Haematologist and Associate Lecturer Cambridge Haemophilia & Thrombophilia Centre, Cambridge University Hospital NHS Foundation Trust Addenbrooke's Hospital, Cambridge, UK

**Фиона А.М. Реган (Fiona A.M. Regan), MB BS, FRCP, FRCPath**

Consultant Haematologist, NHS Blood and Transplant (North London) and Imperial College Healthcare NHS Trust, Hammersmith Hospital, London, UK

**Алистер Г. Рейд (Alistair G. Reid), BSc, PhD, FRCPath**

Consultant Clinical Scientist, Cellular and Molecular Pathology, Imperial College Healthcare NHS Trust, London, UK

**Стивен Дж. Ричардс (Stephen J. Richards), PhD, FRCPath**

Consultant Clinical Scientist, Haematological Malignancy Diagnostic Service, Leeds Cancer Centre, St James's University Hospital, Leeds, UK

**Линн Д. Робертсон (Lynn D. Robertson), MSc**

Laboratory Manager, Core and Special Haematology, Imperial College Healthcare NHS Trust, Hammersmith Hospital, London, UK

**Дэвид Ропер (David Roper), MSc, CSci, FIBMS**

Previously Principal Biomedical Scientist; Diagnostic Haematology, Imperial College Healthcare NHS Trust, Hammersmith Hospital, London, UK

**Меган Роули (Megan Rowley), FRCP, FRCPath**

Consultant in Haematology and Transfusion Medicine, St Mary's Hospital, Imperial College Healthcare NHS Trust, London, UK

**Джекко Тхачил (Jecko Thachil), MRCP, FRCPath**

Consultant Haematologist, Haematology Department, Manchester Royal Infirmary, Manchester, UK

**Сармад Тома (Sarmad Toma), MBChB, MSc**

Clinical Scientist, Cellular and Molecular Pathology, Imperial College Healthcare NHS Trust, Hammersmith Hospital, London, UK

**Барбара Дж. Уайлд (Barbara J. Wild), PhD, FIBMS**


Haemoglobinopathy Specialist Consultant, UK NEQAS Haematology and Transfusion, West Hertfordshire Hospitals NHS Trust, Watford, UK

**Нэй Уин (Nay Win), MB BS, FRCP, FRCPath, CTM(Edin)**

Consultant Haematologist, Red Cell Immunohaematology, NHS Blood and Transplant (Tooting), London, UK

**Марк Уорвуд (Mark Worwood), PhD, FRCPath, FMedSci**

Emeritus Professor, Cardiff University School of Medicine, Cardiff, UK



## Предисловие к изданию на русском языке

Первое руководство «Практическая гематология» под редакцией Джона Дейси вышло в 1950 г. Спустя более чем 70 лет специалистам клинической и лабораторной диагностики представлено 12-е издание этой книги, подготовленное его учениками и последователями.

Общий анализ крови до сих пор является важнейшей частью клинического обследования и играет основную роль в постановке диагноза и назначенном лечении. Клетки крови, по существу, являются клетками иммунной системы, определяющими клеточную регуляцию многоклеточного организма хозяина.

Счетную камеру и микроскоп сменили автоматические анализаторы; в практику гематологии введены методы проточной цитометрии, иммуноцитометрии, иммуноферментного и молекулярно-генетического анализа. Гематология стала высокотехнологичной отраслью лабораторной и клинической медицины, включая новые методы клинической оценки гемостаза, генетической диагности-

ки инфекций и опухолевых заболеваний, контроль дифференцировки гемопоэтических стволовых клеток, их инжиниринга и трансплантации.

Руководство представляет собой практическое пособие по стандартизации лабораторной службы диагностических и лечебных учреждений в соответствии с рекомендациями Международной организации по стандартизации (International Organization for Standardization — ISO), Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ).

Книга рекомендована гематологам, врачам лабораторной диагностики, биохимикам, биофизикам, патологам, научным работникам, врачам всех специальностей, участвующим в интерпретации лабораторных исследований системы крови.

А.Г. Румянцев,  
президент ФГБУ «НМИЦ ДГОИ  
им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России,  
детский гематолог-онколог,  
профессор, академик РАН

# Предисловие к изданию на английском языке



Сэр Джон В. Дейси, MD, FRCPath, FRS (1912–2005)

Это 12-е издание посвящено 66-летию *Практической гематологии*, что является знаменательным успехом. Первое издание Джона В. Дейси (впоследствии профессора сэра Джона) было опубликовано в 1950 г. Эта работа и последующие издания с Митчеллом Льюисом в качестве соавтора были основаны на курсе гематологии для получения диплома Лондонского университета по клинической патологии, а затем степени магистра гематологии в Королевской медицинской школе последиplomного образования.

За последние 66 лет методы и инструменты, доступные лабораторному гематологу, получили развитие со скоростью, о которой раньше и не мечтали. Однако лабораторная гематология по-прежнему продолжает служить основой для столь же удивительных разработок в области клинической гематологии. Гематология как дисциплина остается наиболее сильной, когда она является интегрированной дисциплиной с очень тесной взаимосвязью между лабораторией и клинической службой. Отражая это идеальное состояние, авторами данного из-



С. Митчелл Льюис, BSc, MD, DCP (Лондон), FRCPath, FIBMS (год рождения 1924)

дания являются лабораторные исследователи, клинические и лабораторные гематологи.

Как и предшествующие издания, 12-е издание включает в себя последние достижения в области лабораторной гематологии, в то же время продолжая описание традиционных методов, которые остаются особенно применимыми в лабораториях с недостаточными ресурсами в странах с низким и средним экономическим уровнем.

С прискорбием мы сообщаем о смерти одного из авторов, г-жи Кэрол Бриггс, BSc FIBMS, во время подготовки этого издания.

Для нас большая честь возглавить редакцию издания *«Практическая гематология»*, продолжая работу наших выдающихся предшественников, сэра Джона Дейси и доктора Митчелла Льюиса. Мы надеемся, что своими усилиями мы воздали им должное.

Барбара Дж. Бейн,  
Майкл А. Лаффан,  
Имельда Бейтс



# 1

## Забор и обработка крови

Кристофер Макнамара

### СОДЕРЖАНИЕ ГЛАВЫ

<b>Меры предосторожности в отношении биологической опасности</b>	23	<b>Однородность образца</b>	25
<b>Забор венозной крови</b>	23	<b>Сыворотка</b>	25
Оборудование	23	<b>Холодовые агглютинины</b>	26
Контейнеры для образцов	23	<b>Антикоагулянты</b>	26
Процедура забора крови	24	Этилендиаминтетрауксусная кислота	26
Порядок действий после венопункции	24	Трехзамещенный натрия цитрат	26
<b>Капиллярная кровь</b>	24	Гепарин	26
Забор капиллярной крови	24	<b>Влияние хранения крови на результаты анализа</b>	27
<b>Приготовление мазка крови</b>	25	<b>Влияние хранения крови на морфологию клеток</b>	27
<b>Различия между капиллярной и венозной кровью</b>	25		

После принятия обоснованного решения об анализе образца крови образец должен быть безопасно и правильно собран. Важно знать, что изменения на этой преданалитической фазе процесса тестирования могут привести к ошибкам в аналитической фазе (вставка 1.1).

#### **ВСТАВКА 1.1.** Причины ошибочных результатов, связанные с забором образцов

##### До момента забора

- ♦ Мочеиспускание менее чем за 30 мин до забора крови
- ♦ Прием пищи или воды менее чем за 2 ч до забора крови
- ♦ Курение
- ♦ Физическая активность (включая быструю ходьбу) менее чем за 20 мин до забора крови
- ♦ Стресс
- ♦ Прием лекарств или пищевых добавок менее чем за 8 ч до забора крови

##### Во время забора

- ♦ Разное время суток
- ♦ Положение пациента: лежа, стоя или сидя
- ♦ Гемоконцентрация из-за длительного давления жгута

*Окончание вставки 1.1*

##### Во время забора

- ♦ Чрезмерное отрицательное давление при заборе крови в шприц
- ♦ Неправильный тип пробирки
- ♦ Забор капиллярной крови вместо венозной

##### Обращение с образцом

- ♦ Недостаточное или избыточное количество антикоагулянта
- ♦ Ненадлежащее смешивание крови с антикоагулянтом
- ♦ Ошибка при идентификации пациента и/или образца крови
- ♦ Неадекватные условия хранения образцов
- ♦ Задержка при транспортировке в лабораторию

Для большинства исследований используется венозная кровь. Для некоторых целей можно также брать образцы капиллярной крови, но в целом использование капиллярной крови должно быть ограничено для детей и некоторых скрининговых тестов в пунктах оказания медицинской помощи.

## МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ В ОТНОШЕНИИ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ОПАСНОСТИ

Правила лаборатории должны быть разработаны таким образом, чтобы обеспечить безопасность сотрудников, которые собирают образцы крови и передают их в лабораторию, и сводить к минимуму риск заражения различными патогенами во время всех стадий обработки образцов (см. главу 24). При обращении с образцами, относящимися к группе высокого риска (например, от пациентов с подозрением на вирусную геморрагическую лихорадку), следует принимать дополнительные меры предосторожности [1]. В этом случае правила забора образцов крови должны предусматривать использование средств индивидуальной защиты, таких как одноразовые перчатки, фартук и защитные очки. Необходимо соблюдать осторожность, чтобы избежать травм, особенно при обращении с иглами и ланцетами и при их утилизации. Опубликованы рекомендации по стандартизации забора крови [2, 3].

## ЗАБОР ВЕНОЗНОЙ КРОВИ

### Оборудование

Необходимо собрать лоток или подготовить рабочее пространство, которое соответствует всем требованиям для забора крови (вставка 1.2). Выбор диаметра иглы является компромиссом между достижением адекватного потока с минимальной турбулентностью и минимизацией дискомфорта пациента. Игла 19-го калибра (19G) или 21G<sup>1</sup> подходит для большинства взрослых. Для детей, как правило, выбирают иглу 23G. Стержень иглы должен быть коротким (около 15 мм). Иногда удобно брать кровь с помощью крылатой иглы (часто называемой «бабочкой»), соединенной с отрезком пластиковой трубки, которую можно прикрепить к насадке шприца или к игле для ввода в колпачок вакуумного контейнера (см. Контейнеры для образцов).

**ВСТАВКА 1.2.** Предметы, которые должны находиться в лотке для флеботомии

- ◆ Шприцы и иглы
- ◆ Жгут
- ◆ Контейнеры для образцов (пробирки или система вакуумных пробирок) — простые и с различными антикоагулянтами

<sup>1</sup> Международная организация по стандартизации установила стандарт (ISO 7864), согласно которому диаметры для различных калибров соотносятся следующим образом: 19G = 1,1 мм; 21G = 0,8 мм; 23G = 0,6 мм.

- ◆ Направление (сопроводительный листок)
- ◆ Тампоны, смоченные 70% изопропанолом или 0,5% хлоргексидином
- ◆ Стерильные марлевые тампоны
- ◆ Клейкие повязки
- ◆ Самоуплотняющиеся пластиковые пакеты с отдельным отделением для направления
- ◆ Штатив для удержания образцов в вертикальном положении во время процесса заполнения (за исключением случаев, когда используется система вакуумных трубок)
- ◆ Устойчивый к проколам контейнер для утилизации использованных игл и отходов

### Контейнеры для образцов

Для исследования цельной крови в продаже имеются контейнеры с такими антикоагулянтами, как дикалиевая, трикалиевая или динатриевая этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА), на которых, как правило, есть маркировка, указывающая на нужное количество добавляемой крови [4]. Кроме того, имеются контейнеры, содержащие трехзамещенный натрия цитрат, гепарин или цитрат-декстрозу, а также контейнеры без добавок, которые используются тогда, когда требуется сыворотка. Требования к конструкции и другим техническим характеристикам контейнеров для забора образцов описаны в ряде национальных и международных стандартов [например, Международного совета по стандартизации в гематологии (ICSH) [5]] и Европейского стандарта (EN 14820). Не существует единого соглашения относительно цветов, используемых для идентификации контейнеров с различными добавками, поэтому лаборант, забирающий кровь, должен ознакомиться с цветом маркировок, используемым поставщиками в их клинике.

Вакуумные системы общего назначения состоят из стеклянной или пластиковой пробирки с определенным уровнем отрицательного давления, иглы и иглодержателя, который крепит иглу к пробирке. Главное их преимущество заключается в том, что колпачок можно проколоть так, что его не нужно снимать ни для заполнения пробирки, ни для последующего отбора проб для анализа, что минимизирует риск аэрозольного выброса содержимого. Вакуумная система удобна, когда требуется несколько проб с различными антикоагулянтами. Вакуум контролирует количество крови, поступающей в пробирку, обеспечивая необходимый объем для исследования с правильной порцией любого антикоагулянта.



## Процедура забора крови

Персонал, выполняющий эту процедуру, должен быть проинструктирован и обучен надлежащим образом. Лаборант должен проверить, соответствует ли личность пациента информации, указанной на направлении (сопроводительном листке), а также убедиться, что лоток для забора крови (флеботомии) содержит все необходимые контейнеры для образцов и другое оборудование, необходимое для процедуры.

Жгут следует наложить чуть выше предполагаемого места венепункции. Кровь лучше всего забирать из передней вены локтя или других видимых вен предплечья с помощью вакуумной пробирки или шприца. Рекомендуется протереть кожу 70% спиртом (например, изопропанолом) и дать ей самопроизвольно высохнуть перед проколом. Жгут следует снять сразу после прокола вены, когда кровь начинает поступать в шприц или вакуумную пробирку — задержка в снятии жгута приводит к сдвигу жидкости и гемоконцентрации в результате застоя крови в венах [6]. После того как вена была успешно проколота, поршень шприца следует медленно извлекать, не предпринимая попыток забирать кровь быстрее, чем заполняется вена. Образцы с антикоагулянтом должны быть смешаны путем переворачивания контейнера несколько раз. Чтобы свести к минимуму риск нежелательного гемолиза образца, нужно удерживать жгут в течение минимального времени, кровь забирать осторожно, используя иглу соответствующего размера, медленно подавая кровь в сосуд, и избегать ненужной тряски при смешивании с антикоагулянтом. Необходимо иметь в виду, что, если кровь забирается слишком медленно или недостаточно смешивается с антикоагулянтом, может произойти некоторое ее свертывание, таким образом, образец станет непригодным. После сбора контейнеры должны быть плотно закрыты крышками, чтобы свести к минимуму риск утечки образца.

Если забор крови не удастся, важно сохранять спокойствие, общаться с пациентом и проанализировать возможные причины. К ним относятся плохая техника (например, сквозной прокол вены или неудачный выбор вен), рубцовые изменения тканей и образование гематомы.

После получения необходимых образцов нужно извлечь иглу и прижать место пункции стерильным тампоном. Следует слегка надавить на тампон, слегка приподняв руку в течение минуты, прежде чем убедиться, что кровотечение полностью прекратилось. Наконец место прокола должно быть покрыто небольшой клейкой повязкой.

Взятие крови из постоянного катетера или центральной линии является важным потенциальным

источником ошибок. Общепринятой практикой является промывание центральных линий гепарином, поэтому они должны быть очищены от гепарина, и первые 5 мл крови должны быть удалены до того, как какая-либо кровь будет собрана для лабораторного анализа. Если в руку пациента производятся внутривенные вливания, кровь из этой руки брать не следует; однако, если возникает такая необходимость, образец следует брать книзу от внутривенного вливания, при этом жгут должен быть наложен ниже места вливания.

## Порядок действий после венепункции

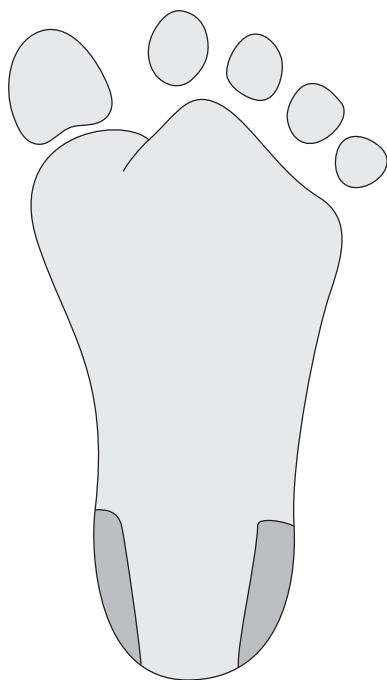
Важно, чтобы каждый образец крови был промаркирован соответствующей информацией, идентифицирующей пациента сразу после получения образцов и у постели пациента. Информация должна включать, как минимум, фамилию и имя или инициалы, номер отделения больницы или другой уникальный идентификационный номер, дату рождения, а также дату и время забора образцов. Многие центры внедрили автоматизированную идентификацию пациентов с использованием штрих-кода, напечатанного на браслете, который пациент носит на запястье или лодыжке. При применении этого типа системы маркировка образца и сопроводительный листок должны быть закодированы идентичным штрих-кодом, если только образец не будет использоваться для анализов на переливание крови, — в этом случае этикетка должна быть написана от руки (см. главу 22).

Образцы следует отправлять в отдельных пластиковых пакетах, отдельно от сопроводительных листков, чтобы предотвратить загрязнение бланков в случае протекания пакетов. Образцы и сопроводительные листки должны оставаться вместе до тех пор, пока запрос не будет зарегистрирован в приемной лаборатории.

## КАПИЛЛЯРНАЯ КРОВЬ

### Забор капиллярной крови

Прокол кожи производится иглой или ланцетом (скарификатором). У взрослых и детей старшего возраста кровь может быть получена из пальца; рекомендуемым местом для взятия крови является ладонная поверхность дистальной фаланги третьего или четвертого пальца, латерально от ногтевого ложа. У младенцев допустимо брать образцы крови путем глубокого прокола подошвенной поверхности пятки в области, показанной на рис. 1.1. Пункцию центральной подошвенной области и задней кривизны у маленьких детей, особенно новорожденных, производить нельзя, чтобы избежать



**РИС. 1.1.** Прокол кожи у младенцев. Прокол должен производиться в наружной медиальной и латеральной частях подошвенной поверхности стопы, обозначенных затемненной областью

риска травмы и возможного инфицирования подлежащих костей предплюсны.

Область, выбранную для капиллярной пункции, следует обработать антисептиком и дать высохнуть. Кожу прокалывают на глубину 2–3 мм стерильным одноразовым ланцетом. После вытирания первой капли крови сухой стерильной марлей палец (или пятку у младенцев) слегка сжимают, чтобы обеспечить свободный ток крови для ее сбора. Необходимо, чтобы кровь текла свободно, и допускается только очень мягкое сжатие; в идеале большие капли крови должны выделяться медленно, но спонтанно.

После использования ланцеты следует поместить в плотный и устойчивый к проколам контейнер для последующей утилизации отходов. Ланцеты ни в коем случае нельзя использовать повторно у других пациентов.

## ПРИГОТОВЛЕНИЕ МАЗКА КРОВИ

В идеале мазки крови должны быть сделаны сразу после того, как кровь была собрана. Однако на практике образцы крови обычно отправляются в лабораторию с той или иной задержкой. Существуют автоматизированные методы изготовления мазков, которые часто используются в крупных центрах. Если мазки не сделаны на месте, их следует сделать в лаборатории сразу же после прибытия, так как морфология мазка крови ухудшится с любой задержкой более чем на несколько часов.

## РАЗЛИЧИЯ МЕЖДУ КАПИЛЛЯРНОЙ И ВЕНОЗНОЙ КРОВЬЮ

Венозная кровь и капиллярная кровь не эквивалентны. Кровь из прокола кожи представляет собой смесь крови из артериол, вен и капилляров и содержит некоторое количество интерстициальной и внутриклеточной жидкости [7]. Объем эритроцитов/гематокрит (PCV/Hct), количество эритроцитов (RBC) и концентрация гемоглобина (Hb) в капиллярной крови могут быть немного выше, чем в венозной крови. Общее количество лейкоцитов (WBC) и нейтрофилов также может быть выше. И наоборот, количество тромбоцитов в венозной крови, по-видимому, выше, чем в капиллярной крови; это может быть связано с адгезией тромбоцитов к месту прокола кожи. Все эти различия сводятся к минимуму, когда после прокола кожи был получен свободный поток крови.

## ОДНОРОДНОСТЬ ОБРАЗЦА

Для обеспечения равномерного распределения клеток крови важно, чтобы образцы хорошо перемешивались в лаборатории непосредственно перед исследованием. Пробирку с образцом можно поместить на механический вращающийся шейкер на 2 мин или перевернуть пробирку 8–10 раз вручную. Если образец хранился при температуре 4 °С, он будет вязким, и крови следует дать нагреться до комнатной температуры перед перемешиванием.

## СЫВОРОТКА

Различие между плазмой и сывороткой заключается в том, что в последней отсутствует фибриноген и некоторые факторы свертывания. Кровь, собранная для получения сыворотки, должна быть помещена в стерильные пробирки с колпачками или в имеющиеся в продаже обычные (без антикоагулянта) вакуумные пробирки для сбора и оставлена для беспрепятственного свертывания в течение примерно 1 ч при комнатной температуре перед центрифугированием<sup>1</sup>. Некоторые контейнеры для забора крови содержат частицы двуоксида кремния и инертный полимерный гель, который при центрифугировании плавает между сывороткой и эритроцитами, облегчая отделение сыворотки и делая образец пригодным для использования на некоторых автоматических анализаторах. Это устраняет необходимость в процеживании сыворотки и сохраняет целостность образца.

Пробирки с сепаратором сыворотки или без него затем центрифугируют в течение 5 мин при 3000 оборотах в минуту (об/мин). В некоторых

<sup>1</sup> Комнатной обычно считают температуру 18–25 °С.