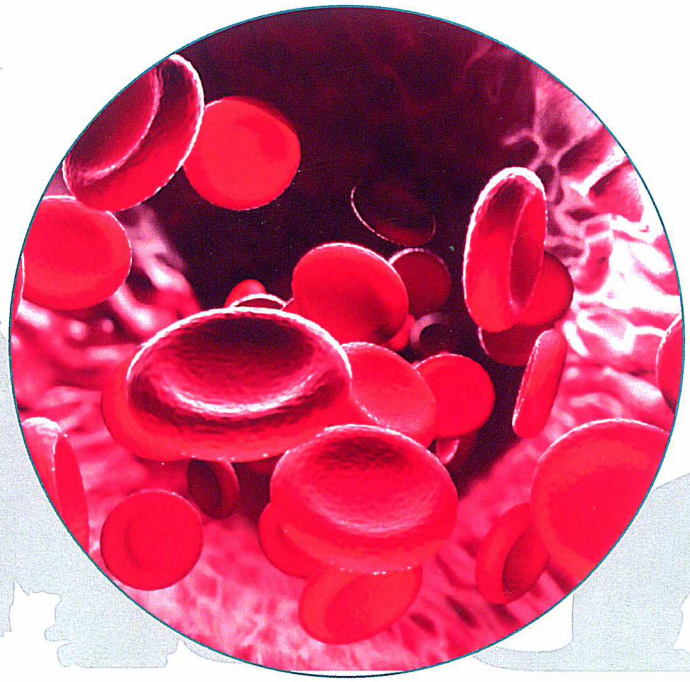
ШКОЛА ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ «LAB POISK ACADEMY»

ПОИСК
НЕЗАВИСИМАЯ ВЕТЕРИНАРНАЯ ЛАБОРАТОРИЯ

Методическое пособие

ГЕМАТОЛОГИЯ



ШИШКАНОВА
СВЕТЛАНА ВИКТОРОВНА

Клинический патолог,
заведующая НВЛ «ПОИСК»

Санкт-Петербург
2023

СОДЕРЖАНИЕ

ЧАСТЬ 1.
ИЗМЕНЕНИЕ МОРФОЛОГИИ ЛЕЙКОЦИТОВ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ.....5

ПРАВИЛА ПРИГОТОВЛЕНИЯ И ИССЛЕДОВАНИЯ МАЗКОВ КРОВИ 5
Как правильно приготовить мазок крови 5
Составные части мазка крови 6
Основные ошибки при изготовлении мазков крови.....7

ОЦЕНКА И ПОДСЧЕТ ЛЕЙКОЦИТОВ 7

ИССЛЕДОВАНИЕ ОКРАШЕННОГО МАЗКА КРОВИ.....8
Лейкопения как артефакт 9
Адгезия лейкоцитов.....9

ИЗМЕНЕНИЕ МОРФОЛОГИИ ЛЕЙКОЦИТОВ 10
Лейкограмма воспаления. Нейтрофильный лейкоцитоз.....10
Лейкоцитоз и нейтрофилия.....11
Причины лейкоцитоза со сдвигом ядра влево.....11
Прогноз.....11
Лейкемоидная реакция 12
Схема выхода нейтрофилов из костного мозга.....12

МОРФОЛОГИЯ КЛЕТОК ГРАНУЛОЦИТАРНОГО РЯДА.....12
Миелобласт.....12
Промиелоцит 13
Миелоцит.....13
Метамиелоцит.....14
Палочкоядерный нейтрофил 15
Сегментоядерный нейтрофил 16
Тельце барра (барабанные палочки).....16
Токсические изменения в нейтрофилах.....17
Когда уже сегмент, а не палочка?.....17
Базофилия и пенистость цитоплазмы.....18
Тельца деле.....18
Токсическая зернистость 19
Гигантские нейтрофилы.....19
Нейтрофилы с круглыми ядрами 19
Токсический сдвиг влево 20
Хронический миелолейкоз (ХМЛ, CML).....20
Гиперсегментация нейтрофилов.....21
Ботриоидные ядра.....21
Дефицит молекул адгезии β_2 интегринов (LAD) 22

АНОМАЛИИ ЯДРА.....22
Кариолизис 22
Кариорексис и пикноз.....23
Кариорексис и кариопикноз 23
«Корзинчатые» или размытые клетки 24
Тени Боткина-Гумпрехта (голые ядра) 24
Фигуры митоза 24
Эндотелиальные клетки.....25
Аномалия Пельгера-Хьюэта 25
«Псевдо» аномалия Пельгера-Хьюэта 25

ГРАНУЛЫ И ВКЛЮЧЕНИЯ В НЕЙТРОФИЛАХ.....26
Лизосомные болезни накопления 26
Мукополисахаридозы.....26
Аномалия бирманских кошек.....27
Красные гранулы в цитоплазме нейтрофилов у кошек...27
Синдром Чедиака-Хигаси 28
Аномалия Мея-Хегглина 28
Сидеролейкоциты.....29
Включения вируса чумы 29
Морулы анаплазмы *(Anaplasma phagocytophilum)* 30
Hepatozoon canis 30
Псевдопаразиты – наложение тромбоцитов.....31
Histoplasma capsulatum 31
Лейшманиоз.....32
Бактериемия (сепсис).....32
Контаминация.....32
Микобактерии 33
Эозинофилы 33
«Серые» эозинофилы грейхаундов 34
Мастоциты.....34
Моноциты.....35
Морулы эрлихии *(Ehrlichia canis)*.....36
Реактивные лимфоциты (иммуноциты).....36
Плазмацитоидные реактивные лимфоциты (плазматические клетки) 37
Большие гранулярные лимфоциты (цитотоксический Т-лимфоцит/NK клетка) 37
Лейкоз/лимфома из больших гранулярных лимфоцитов.....38
Лимфома из больших гранулярных лимфоцитов.....38
Мукополисахаридоз 39
Ганглиозидоз.....39
Хронический лимфолейкоз (ХЛЛ) 40
Лимфобласт 40
Острый лимфолейкоз (ОЛЛ/ALL) / лейкемизация лимфомы 41
Дифференциация бластных клеток.....41
Цитохимия.....42
Есть клетки, остающиеся неопознанными.....43

ПРИЛОЖЕНИЕ.....44
Полуколичественная оценка степени нейтрофильной токсичности 44

Часть 2.

ИЗМЕНЕНИЕ МОРФОЛОГИИ ЭРИТРОЦИТОВ И ТРОМБОЦИТОВ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ 45

ПРАВИЛА ПРИГОТОВЛЕНИЯ И ИССЛЕДОВАНИЯ МАЗКОВ КРОВИ 45
Как правильно приготовить мазок крови 46
Составные части мазка крови 46
Основные ошибки при изготовлении мазков крови 47

МОРФОЛОГИЯ ЭРИТРОЦИТОВ 48
Эритроциты собаки 48
Эритроциты кошки 48
Агглютинация эритроцитов 49
Монетные столбики 51
Полихроматофилы 52
Ретикулоциты 54
Тельца Хайнца (Гейнца) 59
Анизоцитоз 62
Макроцитоз 63
Микроцитоз 63
Гипохромия (анулоциты) 65
Тороциты 66
Пойкилоцитоз 67
Лептоциты: кодоциты (мишеневидные эритроциты) сложенные эритроциты, книзоциты 68
Сфероциты 69
Шистоциты 72
Кератоциты (пузырьчатые или шлемовидные эритроциты) 73
Эксцентроциты (полутени) 74
Пикноциты 74
Эхиноциты 75
Акантоциты (шпорообразные клетки) 75
Стоматоциты 76
Наследственный стоматоцитоз собак 76
Эллиптоциты (овалоциты), эхиноэллиптоциты 77
Дакриоциты 77
Кристаллизованный гемоглобин 78
Клетки-тени (лизированные эритроциты) 78
Эритроциты с размытыми контурами 79
Ядросодержащие эритроциты (рубрициты и метарубрициты) 80
Ядросодержащие эритроциты (рубрибласты и прорубрициты) 82
Тельца Хауэлла-Жолли (микроядра) 84
Базофильная зернистость 84
Сидеротические включения (тельца Паппенгеймера) 85
Включения вируса чумы (агрегаты вирусных нуклеокапсидов) 86
Эритроидные петли 86
Кольца Кебота 87
Эритроцитарные пузырьки 87
Babesia canis 88
Babesia gibsoni 88
Mycoplasma haemofelis 89
Mycoplasma haemominutum 89
Преципитат красителя 90
Mycoplasma haemocanis 91
Cytauxzoon felis 91
Рефракционный артефакт 92
Наложение тромбоцитов 92
Эритроцитарные розетки (цветы) 93

МОРФОЛОГИЯ ТРОМБОЦИТОВ 94
Тромбоциты кошек 95
Агрегация тромбоцитов. Кровь кошки. 95
Гипогрануляция тромбоцитов 95
Мегакариоцит 96
Карликовые мегакариоциты 96
Активированные тромбоциты 96
Псевдопаразиты 97
Макротромбоциты (гигантские тромбоциты) 97
Протромбоциты и претромбоциты 98

МЕТОДЫ ПОДСЧЁТА КОЛИЧЕСТВА ТРОМБОЦИТОВ 99
Подсчет тромбоцитов в окрашенных мазках крови 99
Подсчет по Фонио 100
Ручной подсчёт тромбоцитов в камере Горяева 100
Автоматический подсчёт тромбоцитов 101
Макротромбоцитопения 102
Anaplasma platys 102
Аномалия Мея-Хегглина 103

ПРИЛОЖЕНИЕ 104
Алгоритм оценки изменения морфологии эритроцитов 104
Полуколичественная система оценки для определения эритроцитов с измененной морфологией 104
Правила подсчета ретикулоцитов 105

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА 106

КОНТАКТЫ 107

Часть 1.

ИЗМЕНЕНИЕ МОРФОЛОГИИ ЛЕЙКОЦИТОВ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ



ПРАВИЛА ПРИГОТОВЛЕНИЯ И ИССЛЕДОВАНИЯ МАЗКОВ КРОВИ

ДЛЯ ОЦЕНКИ МОРФОЛОГИИ ЛЕЙКОЦИТОВ НЕОБХОДИМЫ:





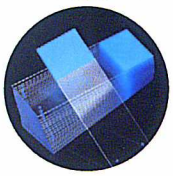
СВЕЖИЕ ОБРАЗЦЫ КРОВИ!

- максимальное хранение образца в холодильнике 24 часа!
- приготовление мазков крови должно быть произведено в течение 1-2 часов после забора крови!
- при хранении пробы в холодильнике, перед началом анализа её необходимо прогреть в течение 30 мин.

СВЕЖИЕ КРАСИТЕЛИ!

ФИЛЬТРОВАНИЕ! НОВЫЕ СТЕКЛА!

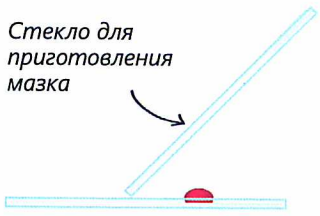




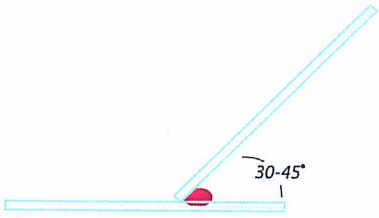
КАК ПРАВИЛЬНО ПРИГОТОВИТЬ МАЗОК КРОВИ



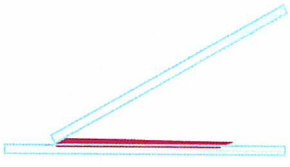
1) Нанесите каплю крови на стекло (4 мкл)



2) Сдвиньте стекло для приготовления мазка к капле крови



3) Угол наклона стекла 30–45°, захватите стеклом каплю крови



4) Сделайте угол еще более острым, продвиньте стекло

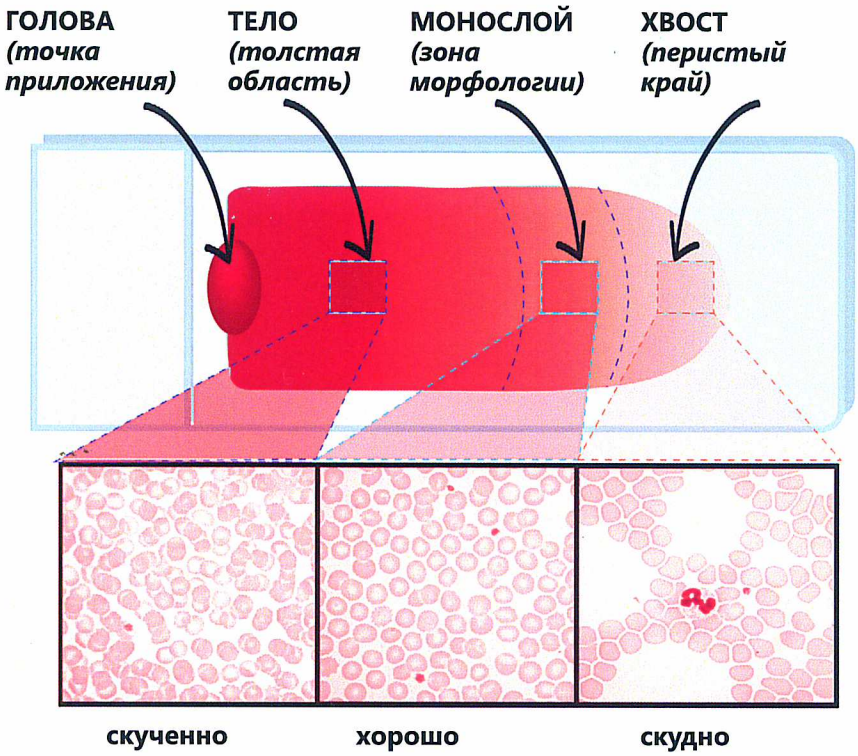


Тонкий перистый край

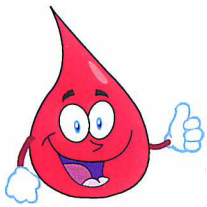
5) Зафиксируйте и окрасьте

6) Подсчитайте лейкограмму

СОСТАВНЫЕ ЧАСТИ МАЗКА КРОВИ



ОСНОВНЫЕ ОШИБКИ ПРИ ИЗГОТОВЛЕНИИ МАЗКОВ КРОВИ

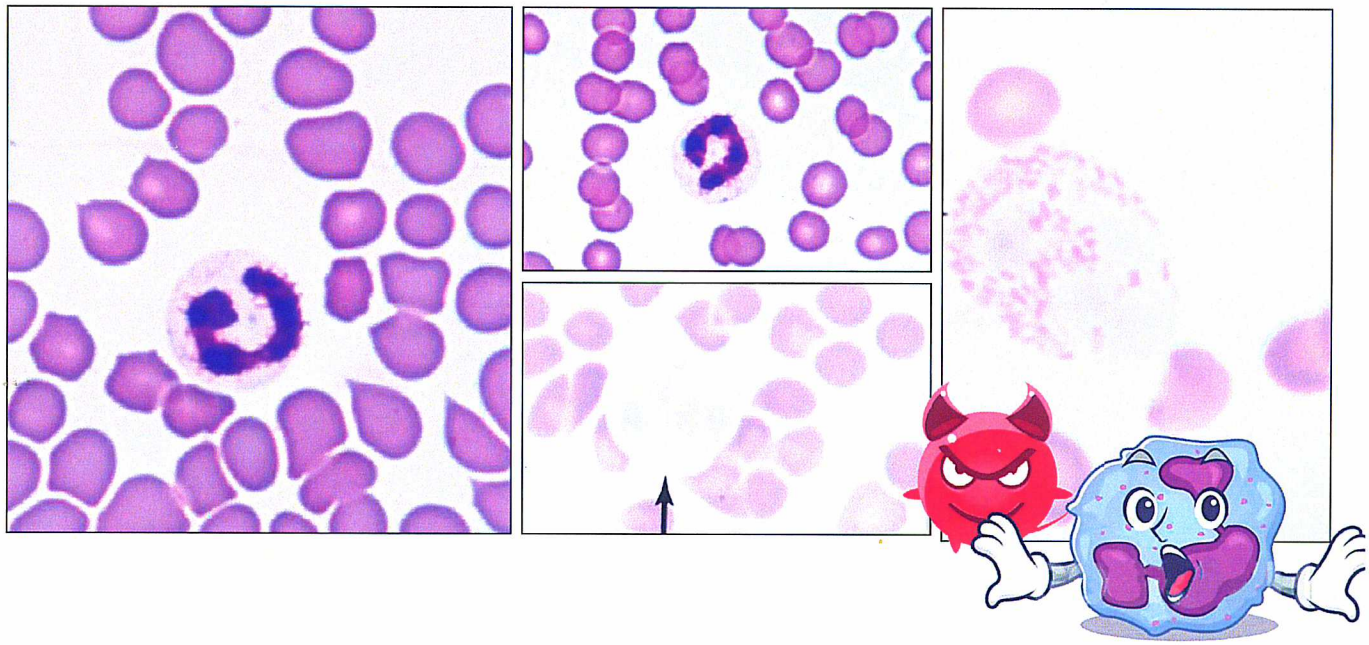


Правильно сделанный мазок

1) Зазубренный или неровный край мазка
2) Прерывистый мазок
3) Стекло для приготовления мазка проведено слишком быстро
4) Короткий мазок (капля крови была мала)
5) Капля крови неравномерно распредилась под стеклом для приготовления мазка
6) Грязное или плохо обезжиренное стекло, также возможно при избытке липидов в крови у пациента
7) Неравномерное давление на стекло при приготовлении мазка крови
8) Задержка в приготовлении мазка (капля крови начала подсыхать)
9) Мазок приготовлен стеклом с неровным краем и неравномерным давлением на стекло, что привело к формированию длинных хвостов



ХАРАКТЕРНЫЙ ВИД ЛЕЙКОЦИТОВ ПРИ НАРУШЕНИИ СРОКОВ ХРАНЕНИЯ КРОВИ И ТЕХНОЛОГИИ ОКРАШИВАНИЯ МАЗКОВ



ОЦЕНКА И ПОДСЧЕТ ЛЕЙКОЦИТОВ

ОЦЕНИВАЕМ МАЗОК НА МАЛОМ УВЕЛИЧЕНИИ х100

- Проверяем мазок на наличие областей пригодных для подсчета, без «рваных» краев и клеточных агрегатов
- Оцениваем распределение лейкоцитов в мазке
- Оцениваем качество прокрашивания мазка
- Оцениваем мазок на наличие макротромбоцитов, их агрегатов, микрофилярий, нитей фибрина

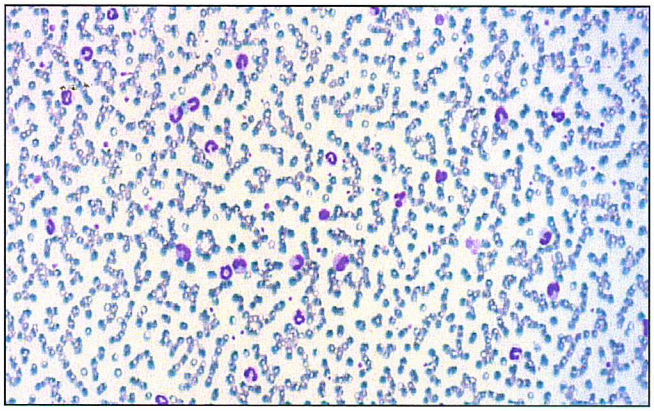


ПОДСЧЁТ ЛЕЙКОЦИТОВ В МАЗКЕ КРОВИ

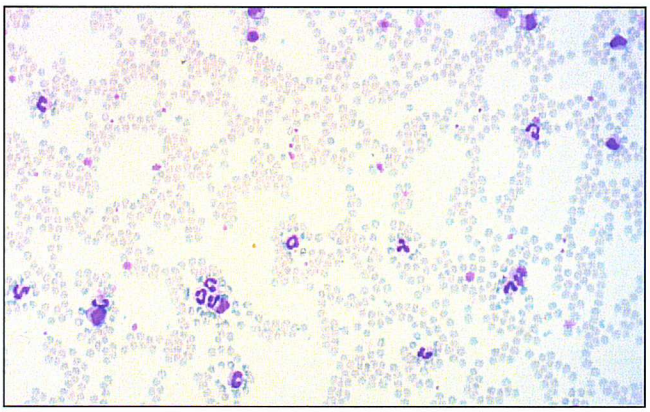
- Используется увеличение 100 (объектив х10, окуляр х10)
- Определяется общее количество лейкоцитов в поле зрения в окрашенном мазке (желательно просмотреть не менее 3-х полей)
- Вычисляется среднее значение и полученный результат х 0,125 (10^9/л) х 0,5 (10^9/л)
- Можно использовать увеличение 200, результат х500 (в мкл)

ОЦЕНИВАЕМ КОЛИЧЕСТВО ЛЕЙКОЦИТОВ

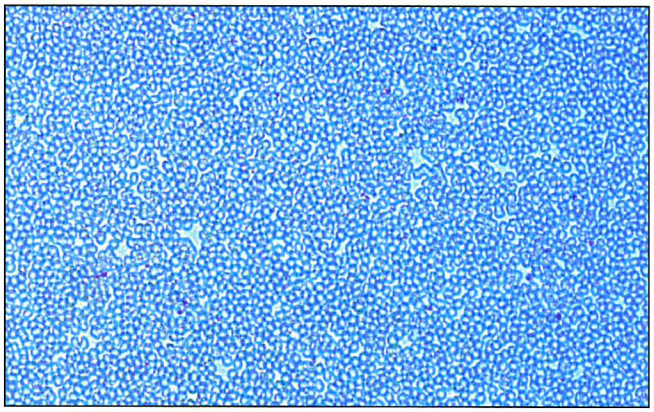
Лейкоцитоз, ув. х200



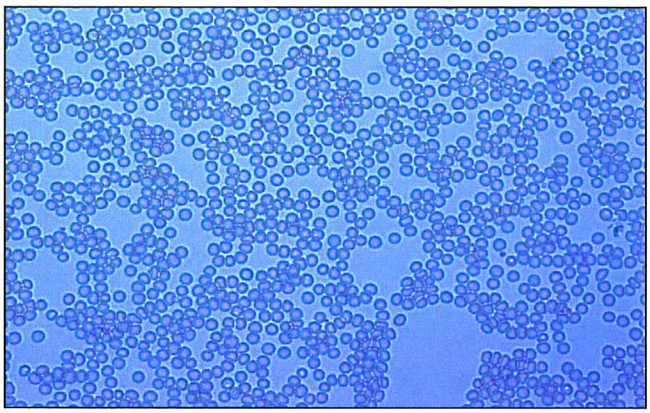
Лейкоцитоз, ув. х400



Лейкопения, ув.х200



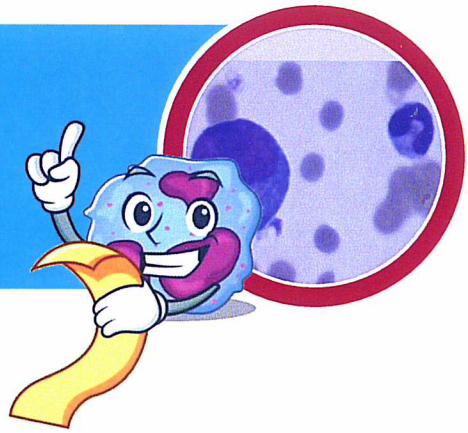
Лейкопения, ув.х400



ИССЛЕДОВАНИЕ ОКРАШЕННОГО МАЗКА КРОВИ

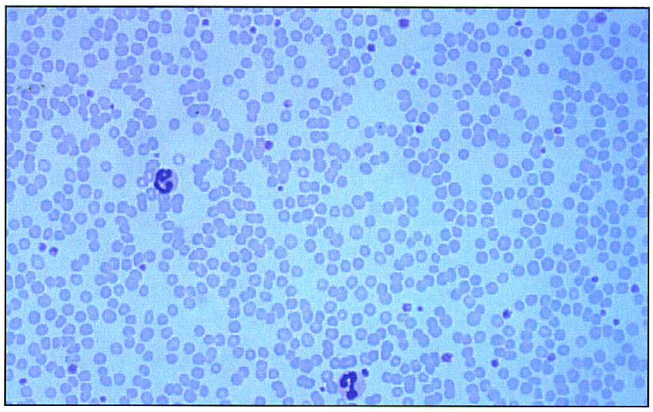
- В ветеринарии принят ручной подсчёт лейкограммы (на 100 или 200 клеток)!
- Распределение клеток в мазке крови неравномерное: нейтрофилы и моноциты располагаются по краям клиновидного мазка и в хвосте, лимфоциты в центре!

При наличии патологических клеток подсчитываем 200-500 лейкоцитов!

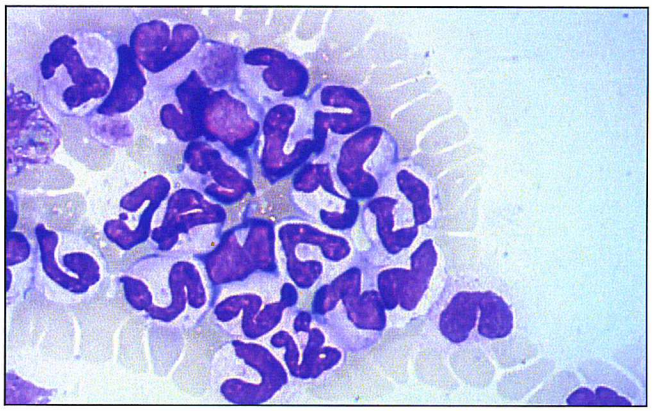


ЛЕЙКОПЕНИЯ КАК АРТЕФАКТ

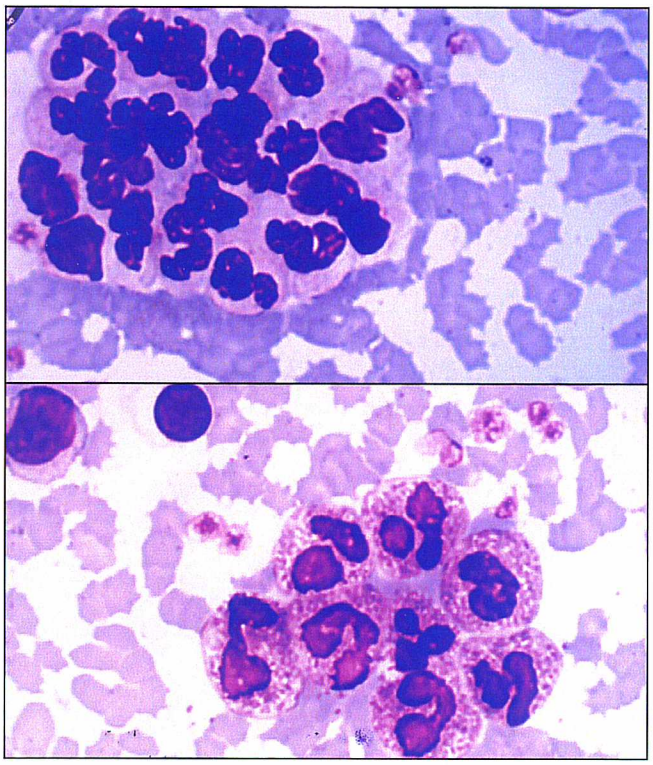
Монослой

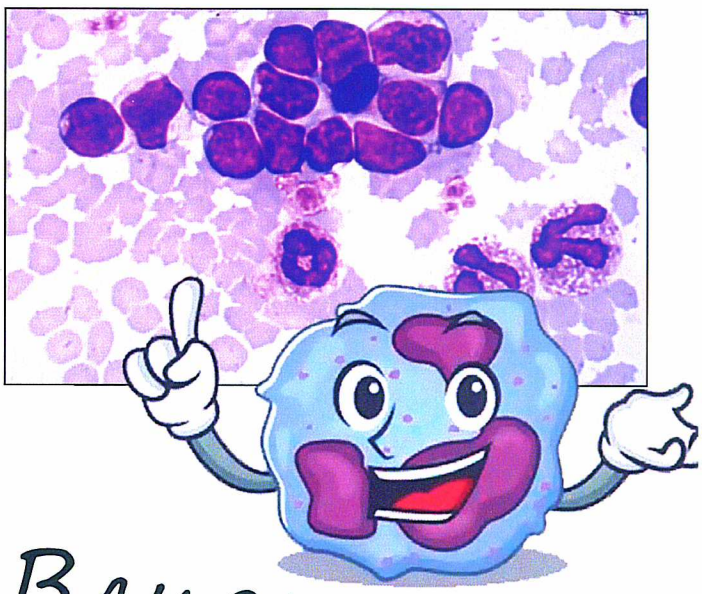


Хвостовая часть мазка



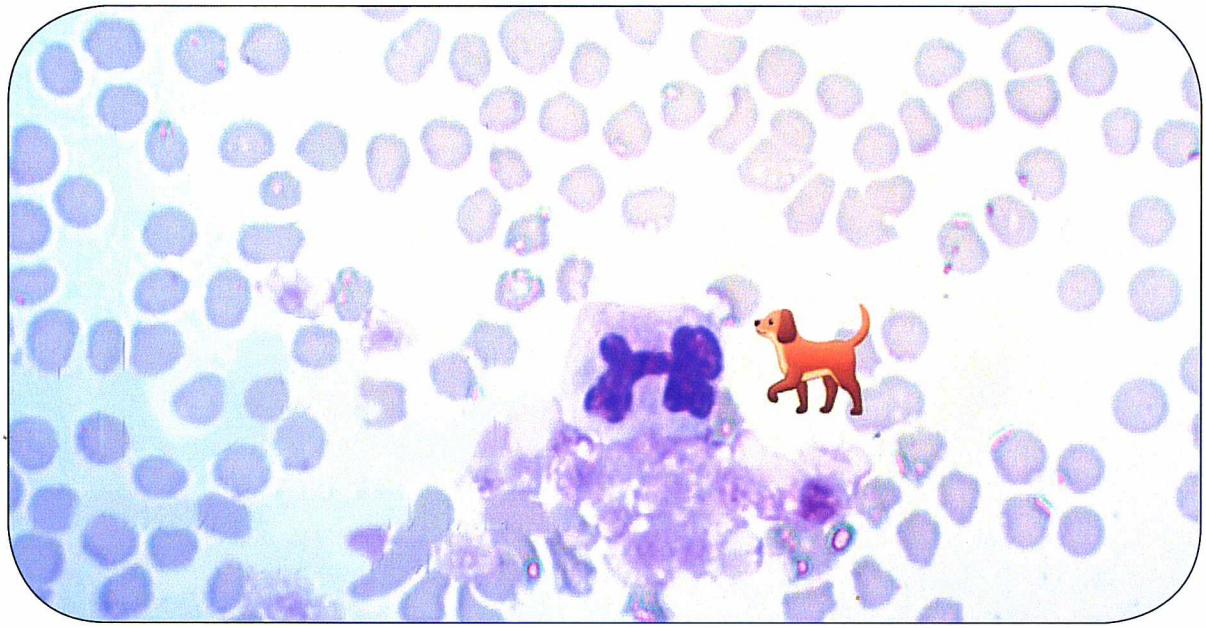
АДГЕЗИЯ ЛЕЙКОЦИТОВ (лейкоагглютинация)



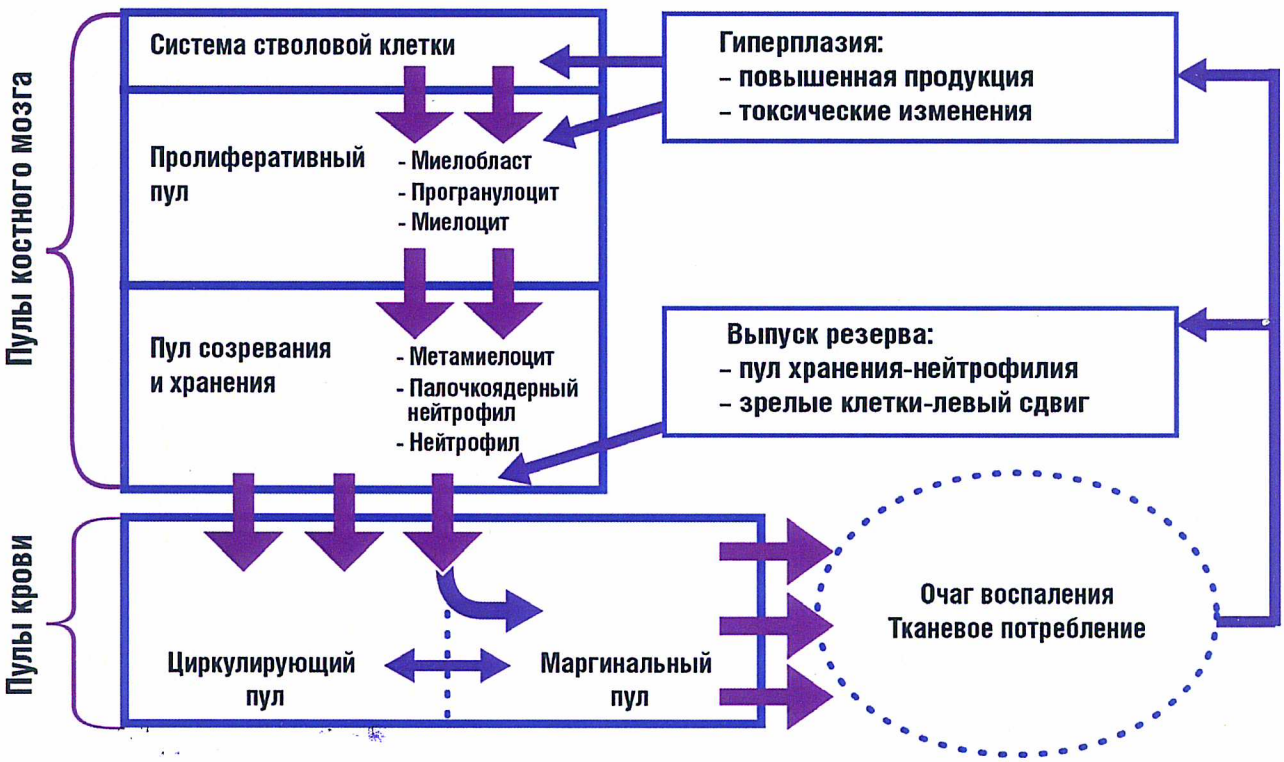


Влияние ЭДТА?

ИЗМЕНЕНИЕ МОРФОЛОГИИ ЛЕЙКОЦИТОВ



ЛЕЙКОГРАММА ВОСПАЛЕНИЯ. Нейтрофильный лейкоцитоз



ЛЕЙКОЦИТОЗ И НЕЙТРОФИЛИЯ

- Характерны для воспалительных процессов
- Продолжительность и тяжесть процесса, а также ответ костного мозга на поражение будет определять степень нейтрофилии и появление в крови незрелых форм (п/я нейтрофилы, метамиелоциты и миелоциты)
- О выраженном сдвиге влево говорят при количестве палочкоядерных нейтрофилов **>1,0 x10^9/л**
- Более низкие значения **(0,3-1,0 x10^9/л)** характерны для хронических воспалительных процессов и гранулематозных

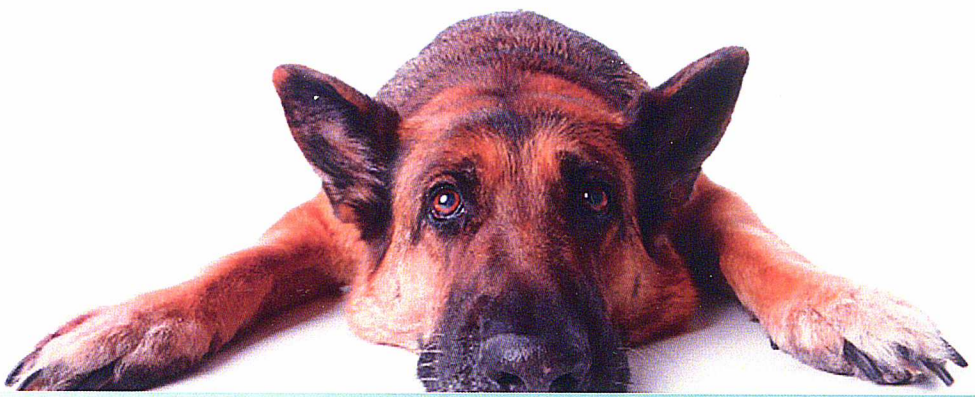
ПРИЧИНЫ ЛЕЙКОЦИТОЗА СО СДВИГОМ ЯДРА ВЛЕВО

- **Бактериальные инфекции** (сепсис), в меньшей степени вирусные (FIP), грибковые и протозойные
- **Некротические процессы** (тромбоэмболия, панкреатит)
- **Химические воздействия**
- **Аутоиммунные заболевания** (иммунноопосредованная гемолитическая анемия, системная красная волчанка)
- **Токсины** (эндо- и экзотоксины)
- **Лимфопролиферативные и миелопролиферативные заболевания**
- **Опухоли различного происхождения** (вследствие выработки цитокинов)

ПРОГНОЗ

К плохому прогнозу относят:

- Собак с лейкоцитозом >60 x10^9/л
- Кошек с лейкоцитозом >30 x10^9/л
- Дегенеративный сдвиг влево
- Токсические изменения в лейкоцитах
- Лейкопению/нейтропению
- Лейкемоидную реакцию



ЛЕЙКЕМОИДНАЯ РЕАКЦИЯ

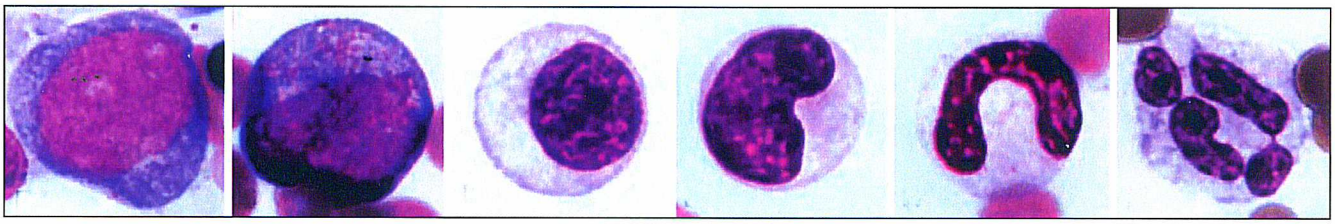
Характеризуется выраженным лейкоцитозом (50,0-100,0 x10^9/л) и выраженным сдвигом ядра влево (до бластных клеток)

Встречается при:

- септических процессах (пиометра, перитонит, пневмония, пиоторакс, множественные абсцессы)
- иммунноопосредованной гемолитической анемии (ИОГА)
- функциональных нарушениях в нейтрофилах

Необходимо дифференцировать от ХМЛ!!!

Схема выхода нейтрофилов из костного мозга



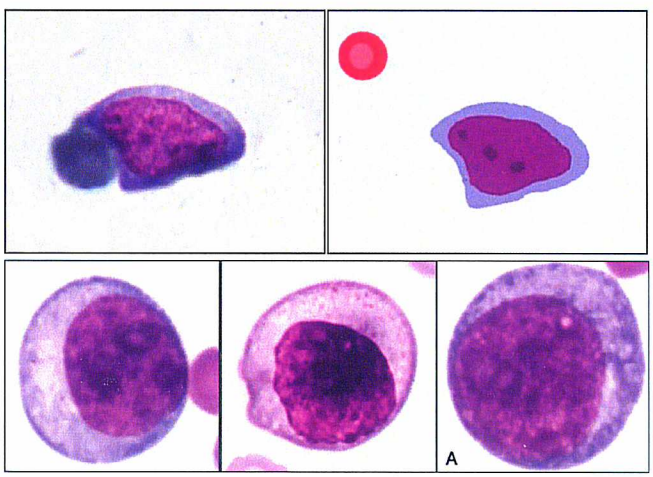
МОРФОЛОГИЯ КЛЕТОК ГРАНУЛОЦИТАРНОГО РЯДА

МИЕЛОБЛАСТ

- **Размер**: крупная округлая или овальная клетка d 12-20 мкм
- **Ядерно-цитоплазматическое соотношение** высокое 4:1
- **Ядро**: круглое, овальное или с небольшим вдавлением, может содержать 2-5 ядрышка, хроматин имеет нежную мелкосетчатую тонкодисперсную структуру
- Тонкие нити хроматина равномерно распределены по всему ядру, придавая ему бархатистую структуру
- **Цитоплазма**: от скудной до умеренной, базофильная, но не такая темная, как у рубрибласта без гранул и перинуклеарной зоны
- У миелобластов II типа может встречаться небольшое количество гранул, у миелобластов III типа значительное количество гранул в цитоплазме

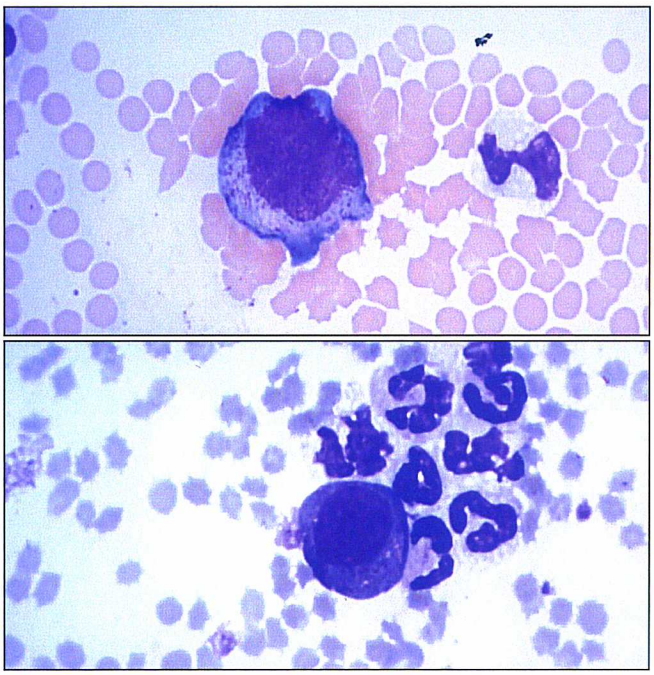
Важно! Без иммуноцитохимии и проточной цитометрии легко спутать с монобластом и лимфобластом!

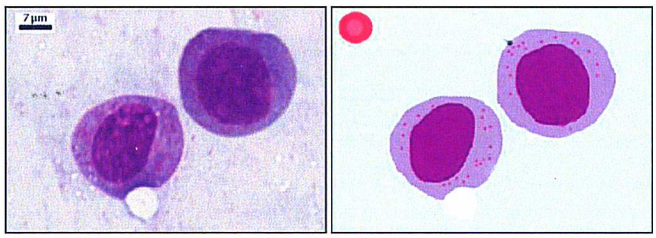
Встречается в крови при:
ХМЛ и ОМЛ (AML-M0, AML-M1, AML-M2, AML-M4, AML-M6)



ПРОМИЕЛОЦИТ

- **Крупнее миелобласта:** d 18-25 мкм, округлой формы
- **Ядро:** занимает центральное или эксцентричное положение, округлое или овальное, вокруг ядра выражена перинуклеарная зона, хроматин мелкосетчатый, местами утолщенный, от ажурного до зернистого, ядрышки не визализируются
- **Ядерно-цитоплазматическое соотношение**: 3:1
- **Цитоплазма**: базофильная, с выраженной азурофильной зернистостью красновато-фиолетового цвета, наслаивающейся на ядро

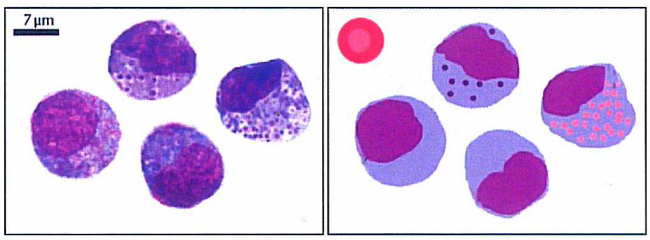




МИЕЛОЦИТ

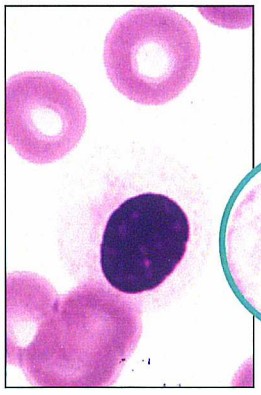
Нейтрофильный

- **Размер**: d 10-18 мкм
- **Ядро:** располагается в центре или эксцентрично, овальной, округлой или почкообразной формы, структура хроматина грубая от мелко до грубозернистой или глыбчатая, ядрышек нет
- **Ядерно-цитоплазматическое соотношение** 2:1
- **Цитоплазма:** слегка базофильная, гранулы визуализируются только у базофильного и эозинофильного миелоцита



Последняя клетка способная к делению!

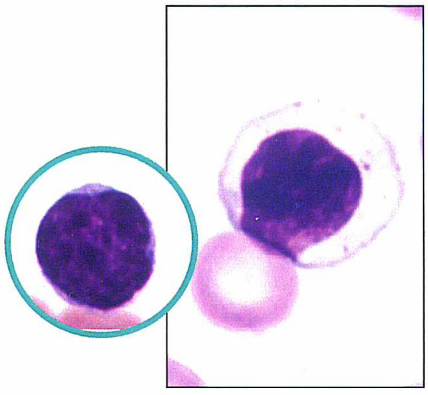
МИЕЛОЦИТ





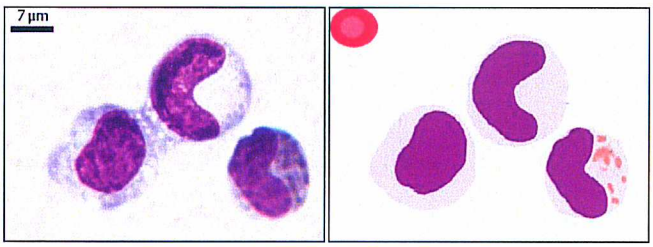
Миелоцит или лимфоцит?

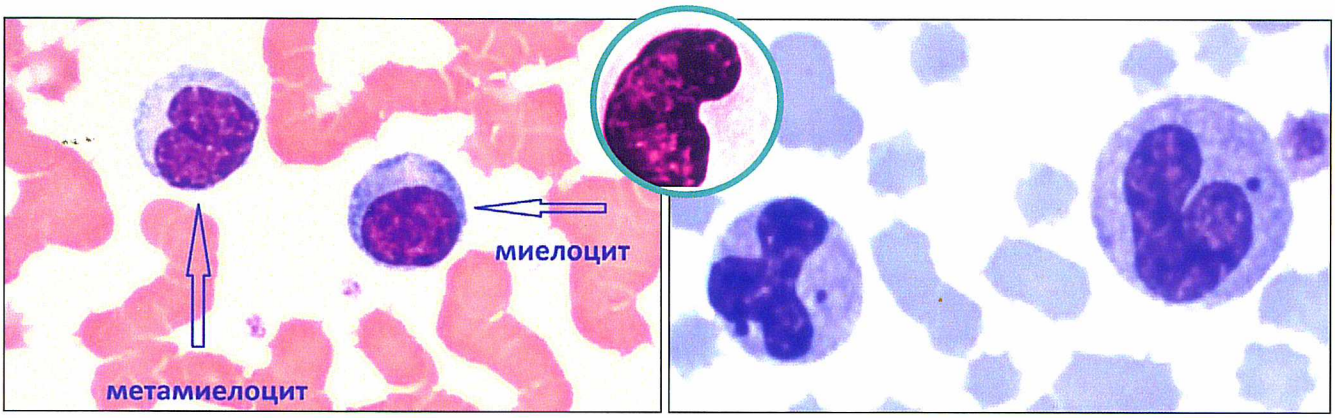
ЛИМФОЦИТ



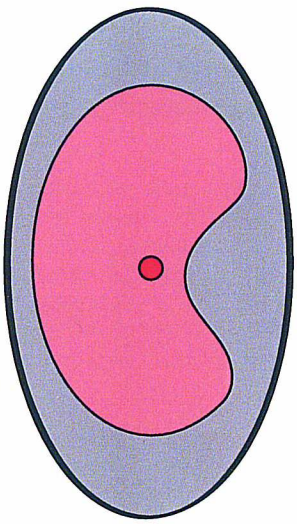
МЕТАМИЕЛОЦИТ

- **Размер**: d 10-15 мкм
- **Ядерно-цитоплазматическое соотношение**: 1:1, ядро занимает менее половины клетки
- **Ядро**: бобовидной или подковообразной формы, хроматин глыбчатый, распределен неравномерно, ядрышки отсутствуют
- **Цитоплазма**: бледно-голубая





МИЕЛОЦИТ





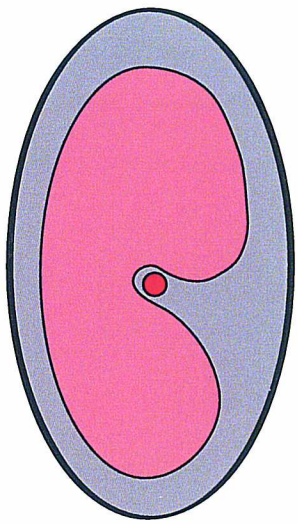
Миелоцит или метамиелоцит?

Мысленно округляем ядро и определяем его центр.

В миелоците выемка в ядре не достигает центра

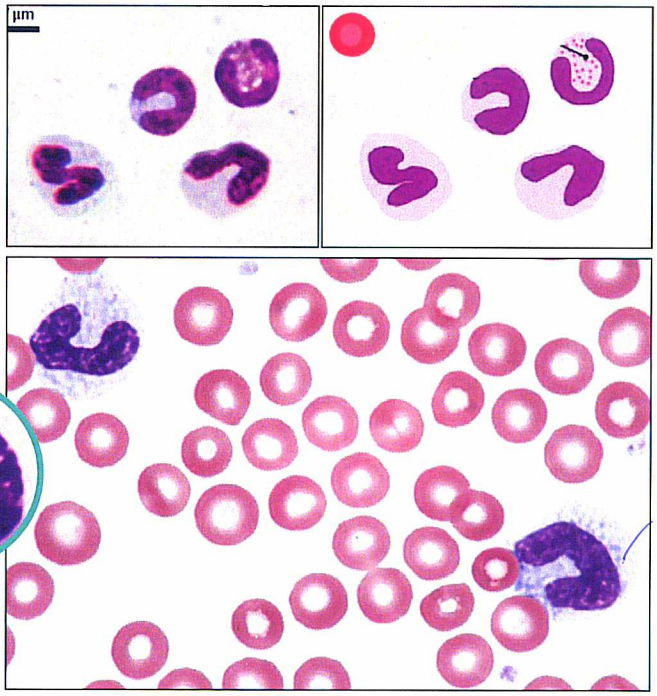
В метамиелоците вдавление более выражено и соприкасается с предполагаемым центром или выходит за его пределы

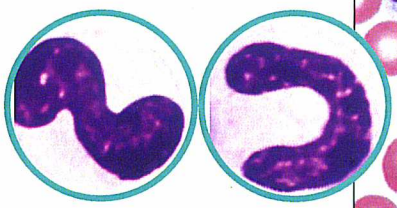
МЕТАМИЕЛОЦИТ



ПАЛОЧКОЯДЕРНЫЙ НЕЙТРОФИЛ

- **Размер**: d 10-16 мкм
- **Ядро**: расположено в центре имеет вытянутую палочковидную форму в виде «С» , «S» или «U», хроматин крупноглыбчатый конденсированный
- **Цитоплазма**: прозрачная

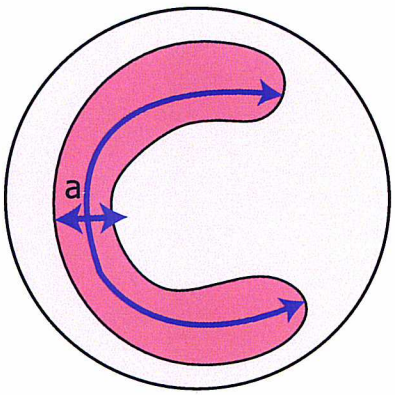






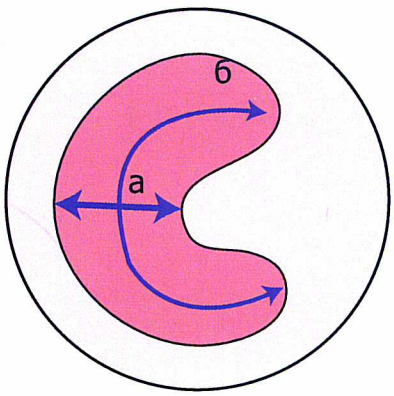
ПАЛОЧКОЯДЕРНЫЙ НЕЙТРОФИЛ

МЕТАМИЕЛОЦИТ



Метамиелоцит или палочкоядерный нейтрофил?

Поперечник ядра
метамиелоцита укладывается в длинник ядра до 3-х раз,
в палочкоядерном нейтрофиле более 3-х раз

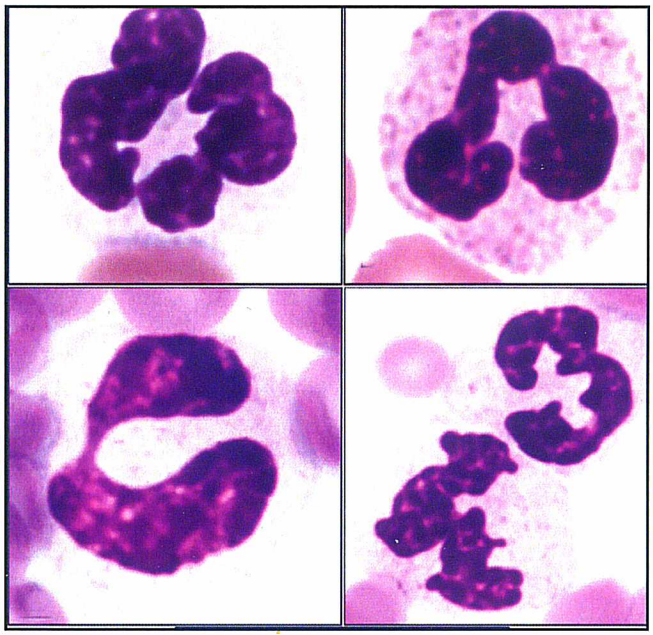


б > 3а

б < 3а

СЕГМЕНТОЯДЕРНЫЙ НЕЙТРОФИЛ

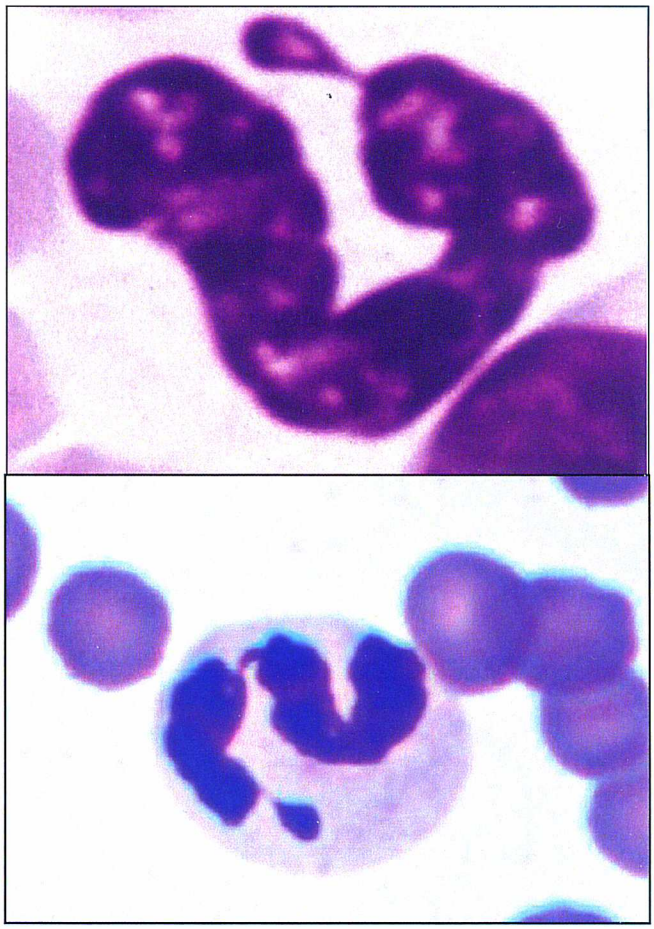
- **Размер**: d 10-12 мкм
- **Ядро**: состоит из 2-5 (4) сегментов соединенных хроматиновыми нитями, но чаще имеющими просто сужения
- **Хроматин**: крупноглыбчатый
- **Цитоплазма**: прозрачная



ТЕЛЬЦЕ БАРРА (БАРАБАННЫЕ ПАЛОЧКИ)

В зрелых нейтрофилах могут встречаться хроматиновые тельца, имеющие окраску ядра и форму висячей капли, соединенные с ядром тонкой перемычкой

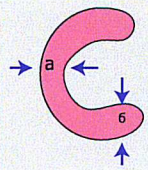
- Свидетельствуют о наличии неактивной Х-хромосомы, встречаются у женских особей, но в результате случайной сегментации хроматина могут наблюдаться у самцов
- Не имеют диагностического значения





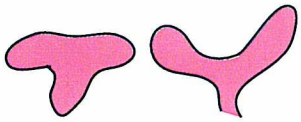
Когда уже сегмент, а не палочка?

- К сегментоядерным нейтрофилам относят клетки, у которых ядерный мостик составляет менее 1/3 толщины ядерного сегмента
- Если ядро имеет Т- или Y-образную форму в виде узла или наслаивающихся сегментов, то ее относят к сегментоядерным нейтрофилам

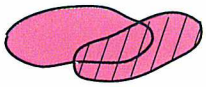
	$2 \le a \le 4$ мкм $a \ge \frac{1}{3}$ б	$a < 2$ мкм $a < \frac{1}{3}$ б
а – диаметр ядерного мостика б – диаметр ядерного сегмента	**палочкоядерный нейтрофил**	**сегментоядерный нейтрофил**

Варианты сегментоядерных нейтрофилов:

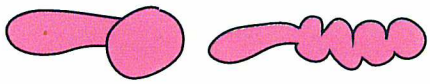
1. Т- или Y-образная форма ядра



2. Наслаивающиеся сегменты



3. Ядро в виде узла



ТОКСИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В НЕЙТРОФИЛАХ

Вызваны нарушением созревания нейтрофилов в костном мозге, в результате токсических воздействий (бактериальные токсины), свидетельствуют о системном воспалительном ответе

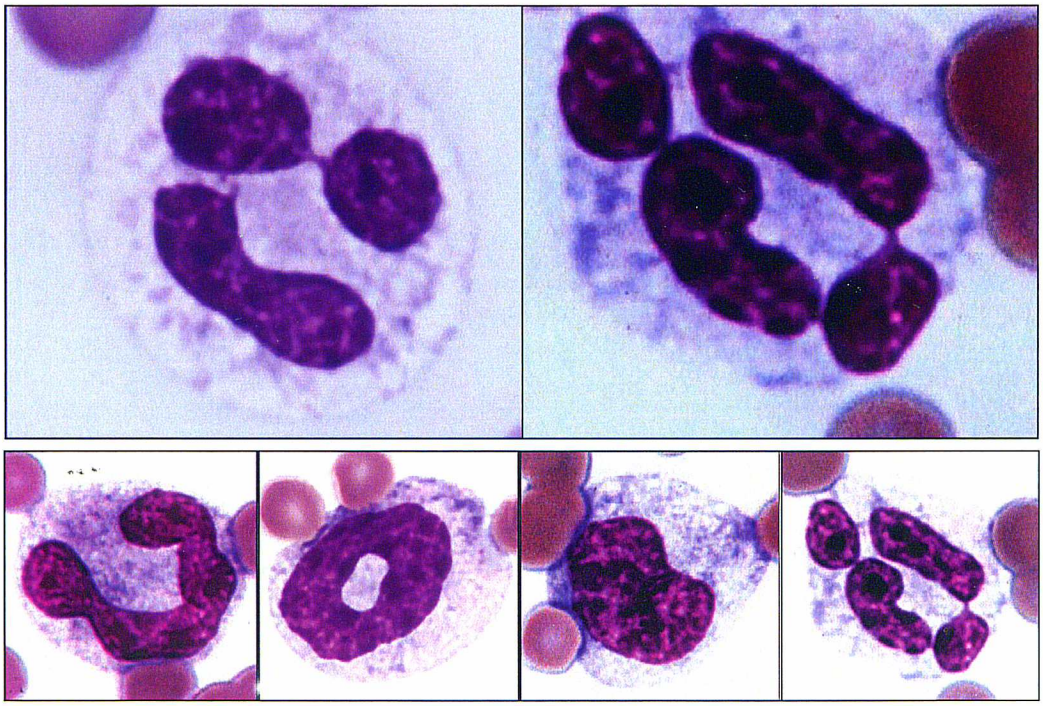
Различают:

- Базофилию и пенистость цитоплазмы нейтрофилов
- Наличие телец Дёле
- Токсическую зернистость?
- Появление гигантских нейтрофилов
- Нейтрофилы с круглыми ядрами (в форме пончика)

- **Нейтрофильную токсичность** оценивают в крестах от + до ++++
- **Тельца Дёле** в крови кошек рассматривают, как вариант нормы
- **Пенистость цитоплазмы** без базофилии диагностического значения не несёт (воздействие ЭДТА)
- **Гигантские нейтрофилы** также встречаются при дисгранулопоэзе (ОМЛ, ХМЛ, миелодиспластический синдром, FeLV, FIV, панлейкопения)



БАЗОФИЛИЯ И ПЕНИСТОСТЬ ЦИТОПЛАЗМЫ

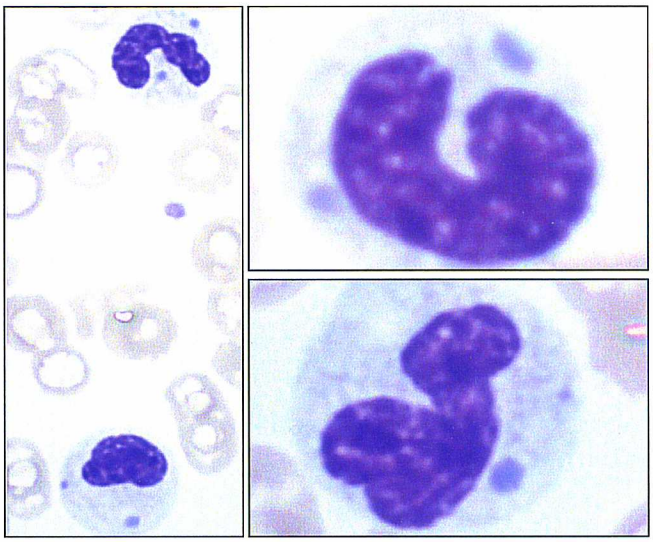


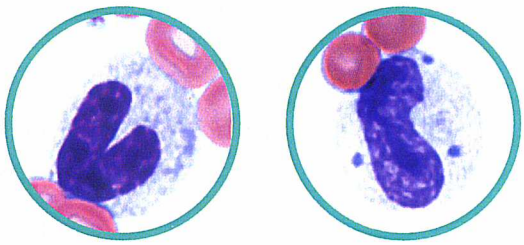
ТЕЛЬЦА ДЁЛЕ

Голубоватые или сероватые, округлые или угловатые включения в цитоплазме нейтрофилов – агрегаты эндоплазматического ретикулума

Не следует путать с

- включениями вируса чумы
- синдромом Чедиака-Хигаси
- гемосидерином
- морулами анаплазмы





Свежий образец

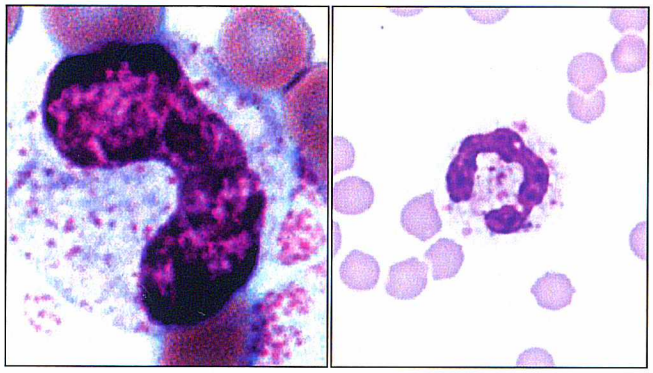
Спустя сутки

ТОКСИЧЕСКАЯ ЗЕРНИСТОСТЬ

Красноватые гранулы в цитоплазме нейтрофилов (первичные гранулы, как в цитоплазме промиелоцитов)

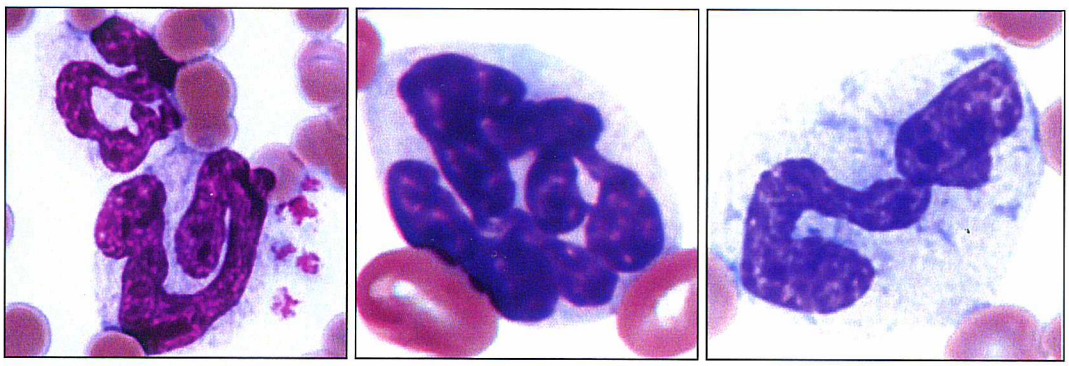
- Описана у жвачных
- Крайне редко встречается у собак и кошек
- Сопровождают тяжелую интоксикацию

Не следует путать со вторичными гранулами:
- при мукополисахаридозах
- ганглиозидозах
- у бирманских кошек



ГИГАНТСКИЕ НЕЙТРОФИЛЫ

Свидетельствуют о пропущенных клеточных делениях, в условиях ускоренной продукции и созревания или дисгранулопоэзе

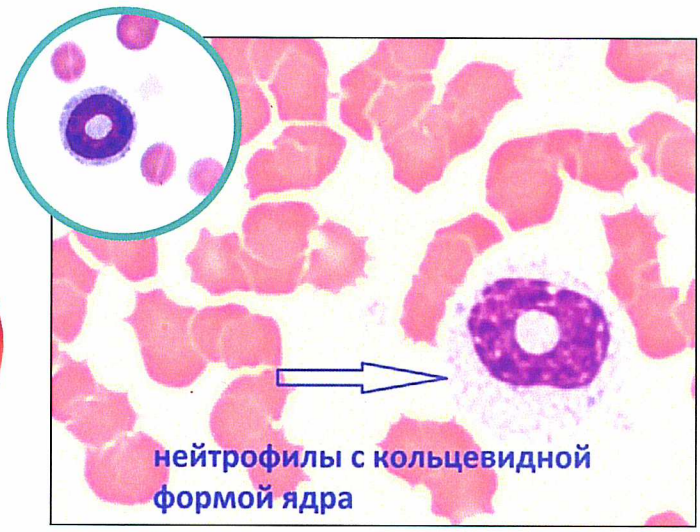


НЕЙТРОФИЛЫ С КРУГЛЫМИ ЯДРАМИ

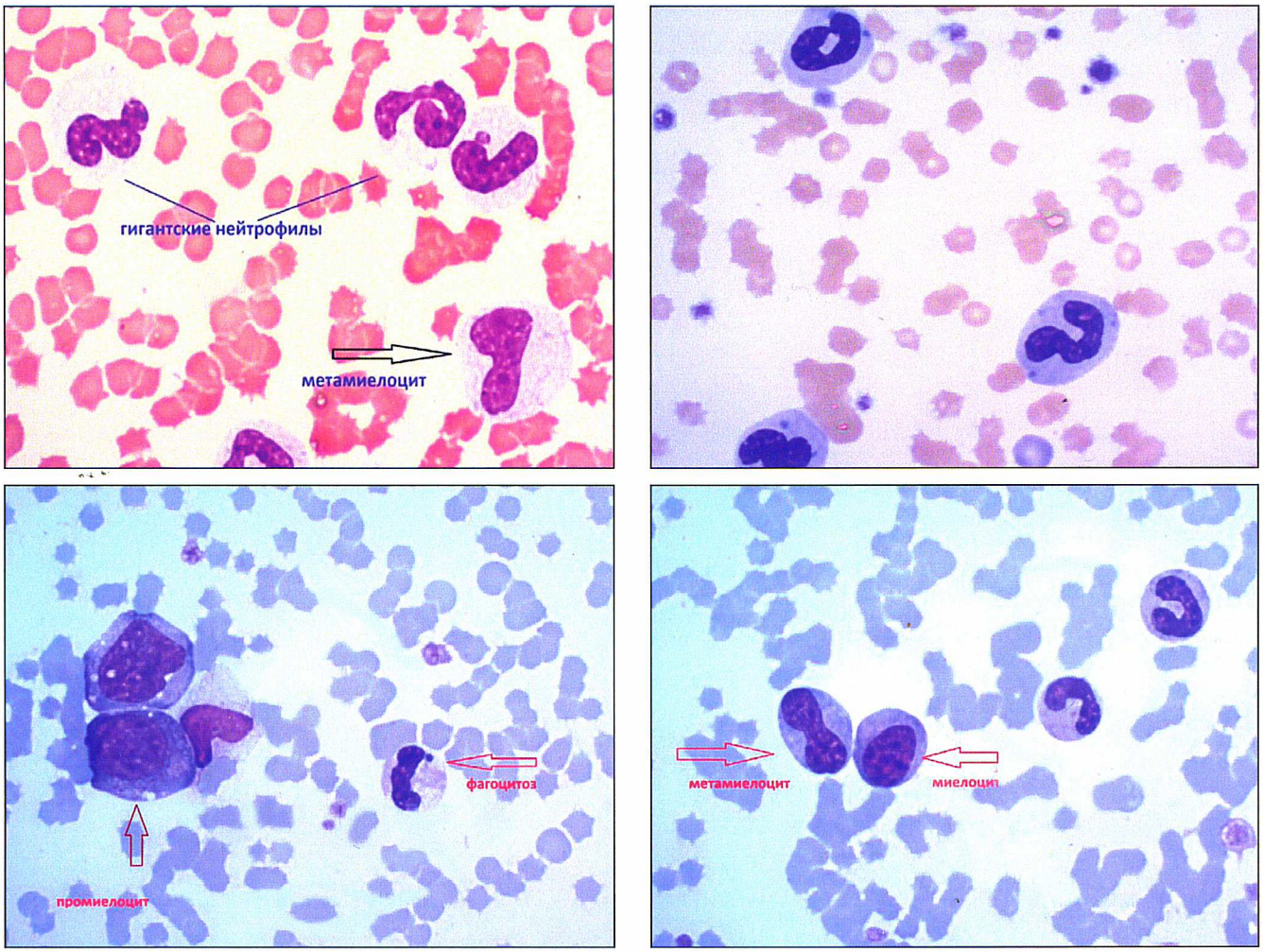
Незрелые нейтрофилы, содержащие круглое ядро с отверстием в центре (форма пончика, бублика).

Относятся к палочкоядерным нейтрофилам





ТОКСИЧЕСКИЙ СДВИГ ВЛЕВО

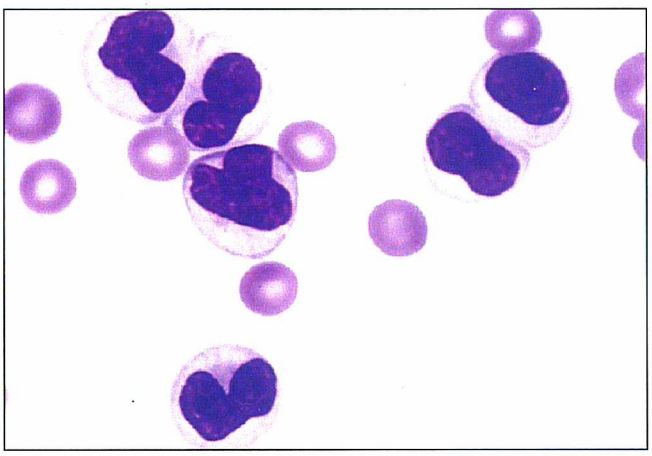


ХРОНИЧЕСКИЙ МИЕЛОЛЕЙКОЗ (ХМЛ, CML)

- Лейкоцитоз >50,0 x10^9/л
- Выраженный сдвиг ядра влево
- Чаще у собак, чем у кошек
- Могут встречаться единичные миелобласты

Дифференцируем от лейкемоидной реакции по отсутствию:

- нейтрофильной токсичности
- повышения белков острой фазы воспаления
- видимой физической причины для сдвига влево у животного

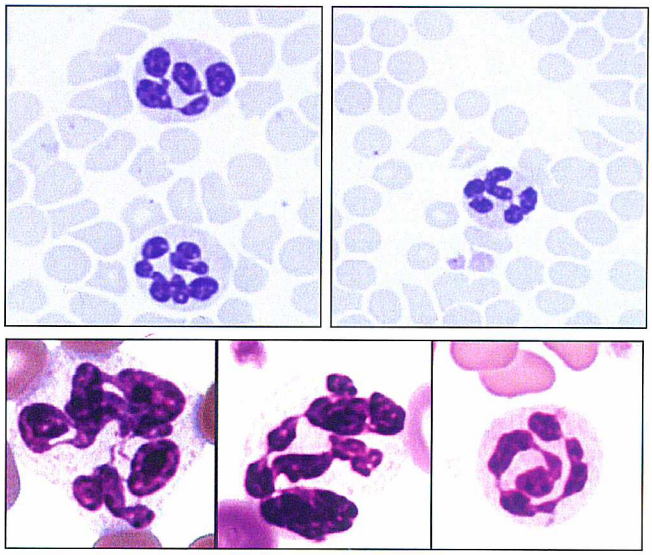


ГИПЕРСЕГМЕНТАЦИЯ НЕЙТРОФИЛОВ

Гиперсегментация нейтрофилов – наличие в нейтрофилах ядер с 5 и более долями

Встречается при:

- старении животных
- хронических воспалительных процессах
- стероидной терапии
- гиперадренокортицизме
- миелопролиферативных заболеваниях
- дефекте абсорбции кобаламина у собак
- дефиците фолатов у кошек
- In vitro, при позднем приготовлении мазков крови

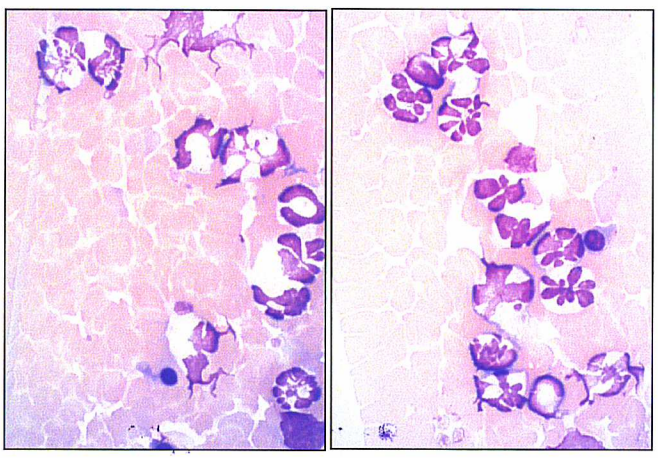


БОТРИОИДНЫЕ ЯДРА

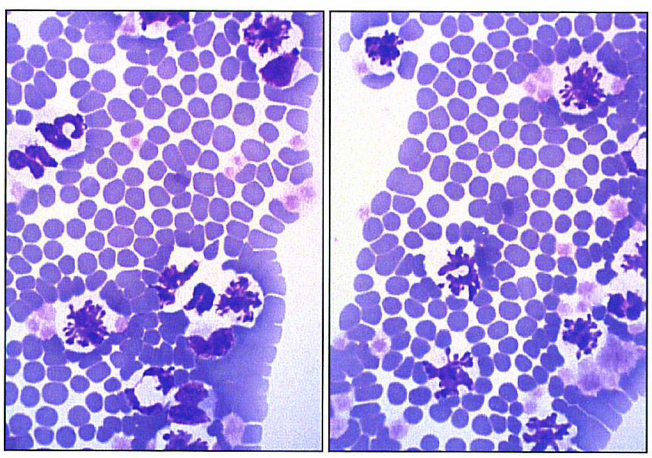
Ботриоидные ядра – это нейтрофилы, в которых ядерные сегменты соединены тонкими хроматиновыми филаментами, расположенными радиально в виде лучей, отходящих от центра клетки. Такие нейтрофилы сравнивают с гроздью винограда.



Мазок крови собаки с тепловым ударом



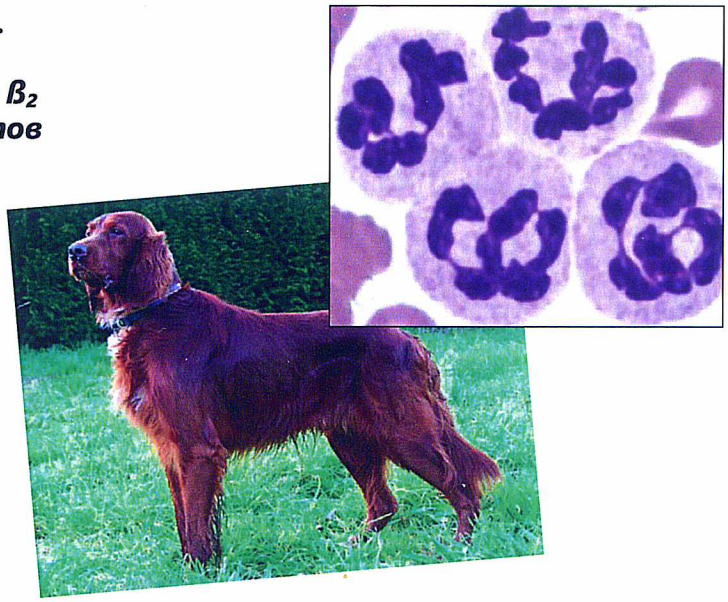
Ботриоидные ядра. Кровь кошки



ДЕФИЦИТ МОЛЕКУЛ АДГЕЗИИ β_2 ИНТЕГРИНОВ (LAD)

Аутосомно-рецессивное заболевание. Заключается в дефиците гликопротеиновой молекулы адгезии β_2 интегрина на поверхности лейкоцитов

- Проявляется выраженным нейтрофильным лейкоцитозом
- Склонностью к бактериальным инфекциям
- Единичные случаи у кошек



АНОМАЛИИ ЯДРА

Кариолизис

Кариорексис

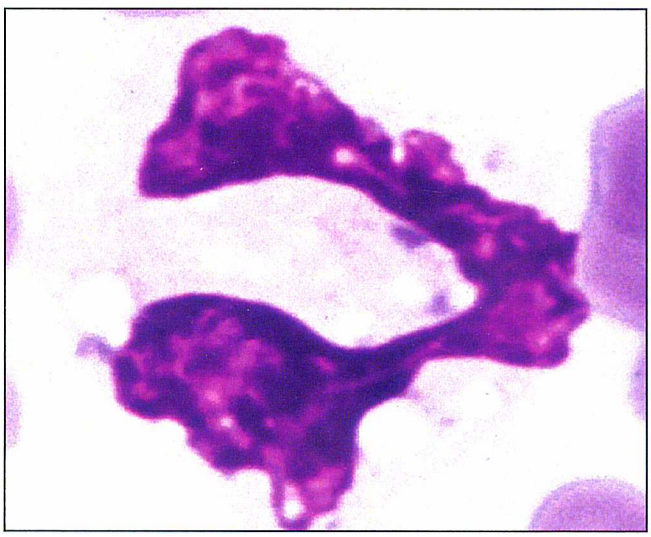
Кольцевая форма ядра

Гипосегментация

Двухъядерность

КАРИОЛИЗИС

- Встречается при ВИК
- Длительном хранении крови
- Часто наблюдаются в септических выпотах



КАРИОРЕКСИС И ПИКНОЗ

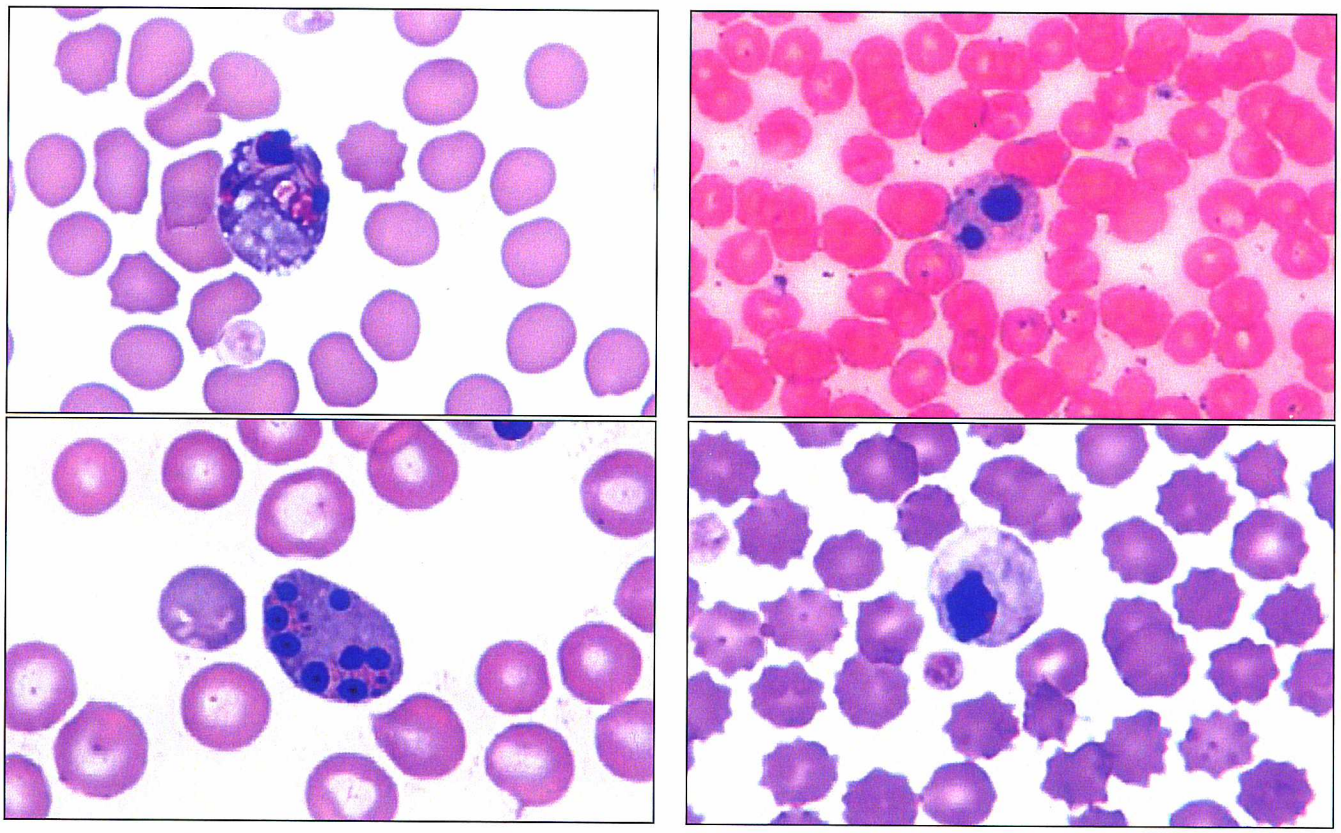
Апоптоз – запрограммированная смерть клетки, приводит сначала к округлению ядра и пикнозу, далее к кариорексису

Кариорексис – ядерная фрагментация



- Встречаются в несептических выпотах
- Длительно хранящихся образцах

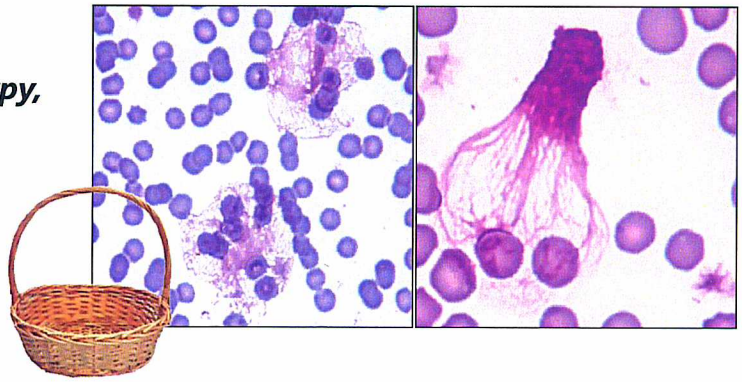
КАРИОРЕКСИС И КАРИОПИКНОЗ



«КОРЗИНЧАТЫЕ» ИЛИ РАЗМЫТЫЕ КЛЕТКИ

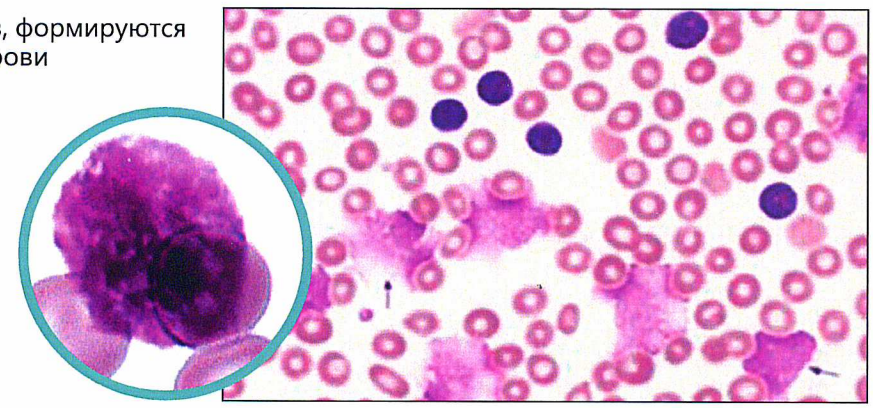
«Корзинчатые клетки» – ядерный хроматин формирует аморфную эозинофильную сетчатую структуру, напоминающую корзину

- Единичные встречаются в норме
- Формируются при лейкоцитозе, в результате механического повреждения клеток при приготовлении мазка
- Наличии неопластических клеток
- Липемии?



ТЕНИ БОТКИНА-ГУМПРЕХТА (ГОЛЫЕ ЯДРА)

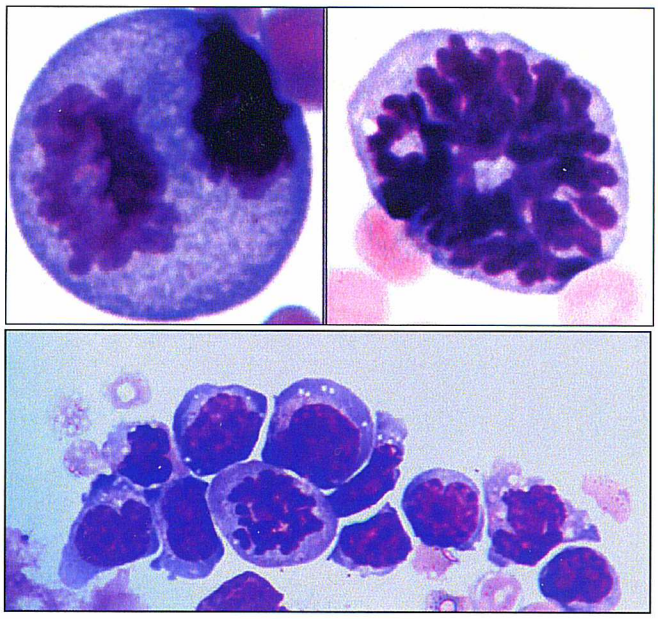
- Остатки разрушенных лимфоцитов, формируются в процессе приготовления мазков крови
- В большом количестве встречаются при ХЛЛ



ФИГУРЫ МИТОЗА

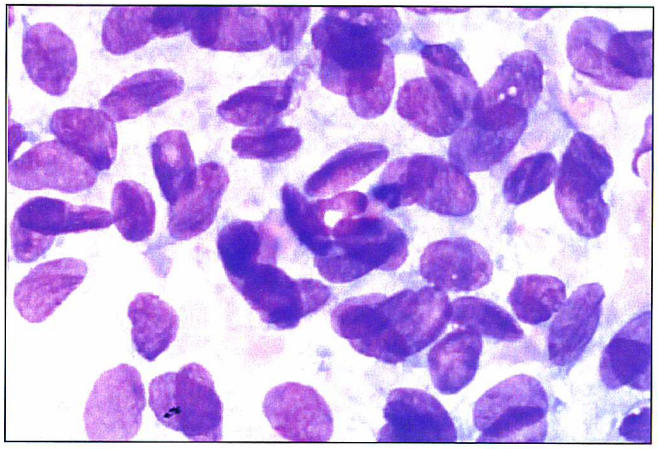
Встречаются при:

- злокачественных новообразованиях
- регенеративной анемии в ядросодержащих эритроидных клетках-предшественниках
- бластной трансформации лимфоцитов



ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ

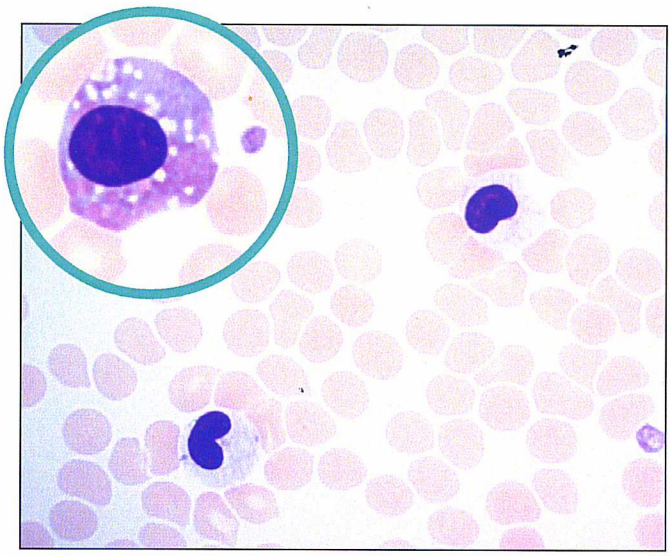
- Веретенообразные клетки с удлиненными ядрами
- Попадают в пробу крови со стенки сосуда во время отбора



АНОМАЛИЯ ПЕЛЬГЕРА-ХЬЮЭТА

Наследственное аутосомно-доминантное заболевание, проявляющееся нарушением созревания нейтрофилов, встречается у собак и кошек

- Характеризуется ядерной гипосегментацией
- Все нейтрофилы похожи на палочкоядерные и метамиелоциты («вечный сдвиг влево»)
- ***!!!Хроматин у таких нейтрофилов более грубый, плотный, конденсированный характерный для зрелых клеток!!! Цитоплазма не изменена!!!***
- Нейтрофилы функционируют нормально, угрозы здоровью животного нет







«ПСЕВДО» АНОМАЛИЯ ПЕЛЬГЕРА-ХЬЮЭТА

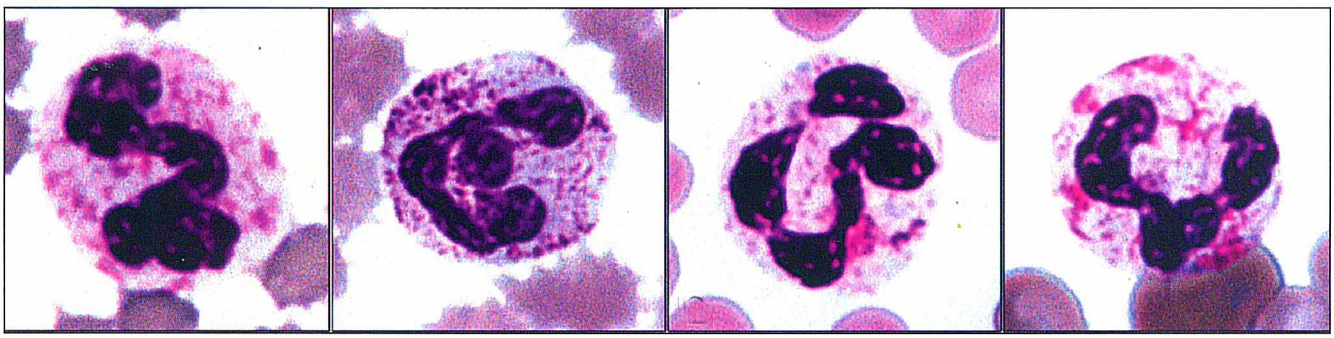
Приобретённая аномалия, *встречается при:*

- бактериальных инфекциях
- ВЛК
- начинающихся гемобластозах
- приёме некоторых лекарственных препаратов

ГРАНУЛЫ И ВКЛЮЧЕНИЯ В НЕЙТРОФИЛАХ



ЛИЗОСОМНЫЕ БОЛЕЗНИ НАКОПЛЕНИЯ



Лизосомы – это мембраносвязанные органеллы, которые содержат более 40 кислых гидролаз способных деградировать наиболее биологически важные макромолекулы. Наследственный дефицит одного из этих ферментов может привести к накоплению нерастворенных веществ внутри лизосом

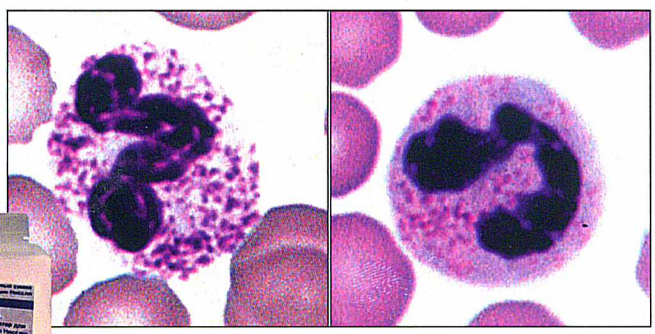
Различают:

- **мукополисахаридоз VI**
- **мукополисахаридоз VII**
- **GM 1 и GM 2-ганглиозидоз**

В цитоплазме нейтрофилов визуализируются множественные мелкие пурпурные гранулы

МУКОПОЛИСАХАРИДОЗЫ

- Для дифференциации происхождения гранул используют толуидиновый синий
- При лизосомных болезнях накопления гранулы окрашиваются в синий цвет



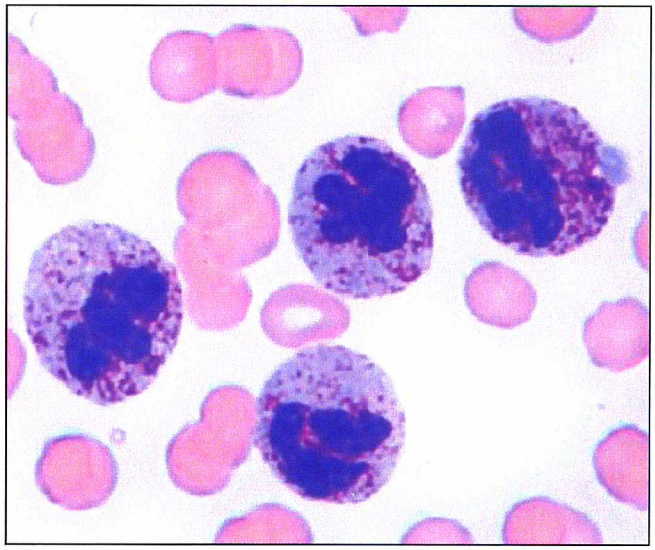


АНОМАЛИЯ БИРМАНСКИХ КОШЕК

Наследственное заболевание бирманских кошек, без клинического проявления

- Наличие красноватых мелких гранул в цитоплазме нейтрофилов, не окрашивающихся толуидиновым синим
- Гранулы эозинофилов округлые

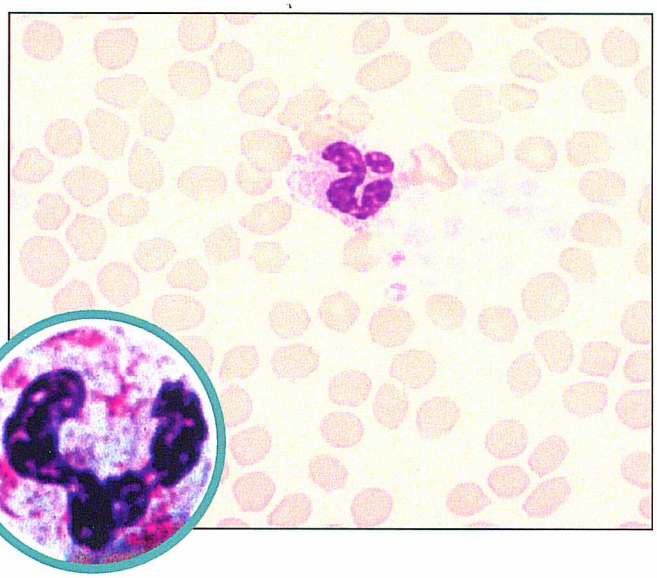




КРАСНЫЕ ГРАНУЛЫ В ЦИТОПЛАЗМЕ НЕЙТРОФИЛОВ У КОШЕК

- Без клинических проявлений
- Сиамская, тайская, гималайская, абиссинская
- Не окрашиваются толуидиновым синим



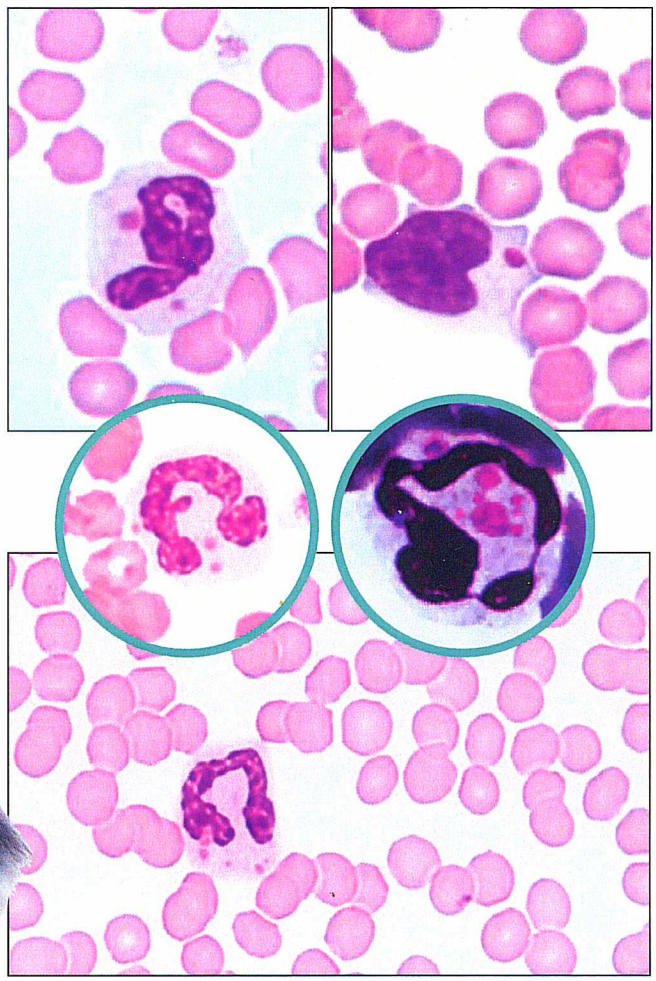


СИНДРОМ ЧЕДИАКА-ХИГАСИ

Генетическое заболевание передаётся аутосомно-рецессивно, встречается у персидских кошек с дымчато-голубой шерстью и жёлто-зелёными глазами.

Проявляется:

- частичным альбинизмом (кожи и глаз)
- рецидивирующими бактериальными инфекциями
- нейтропенией
- склонностью к кровотечениям



- Нейтрофилы и моноциты содержат крупные розовато-фиолетовые гранулы в цитоплазме
- Гигантизм гранул обусловлен неконтролируемым слиянием первичных лизосом в клетке во время развития
- При окрашивании на пероксидазу гранулы прокрашиваются в черный цвет



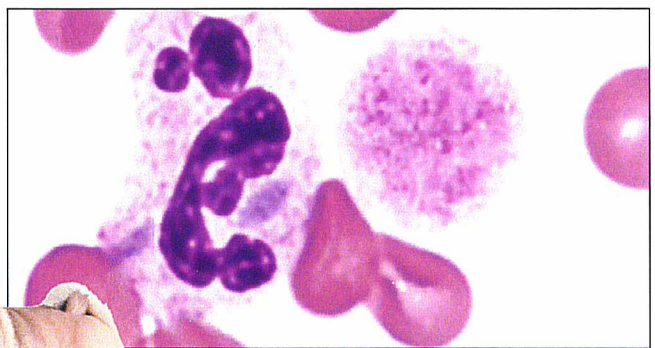
АНОМАЛИЯ МЕЯ-ХЕГГЛИНА

Триада:

– гранулы в цитоплазме нейтрофилов

- тромбоцитопения

- макротромбоциты





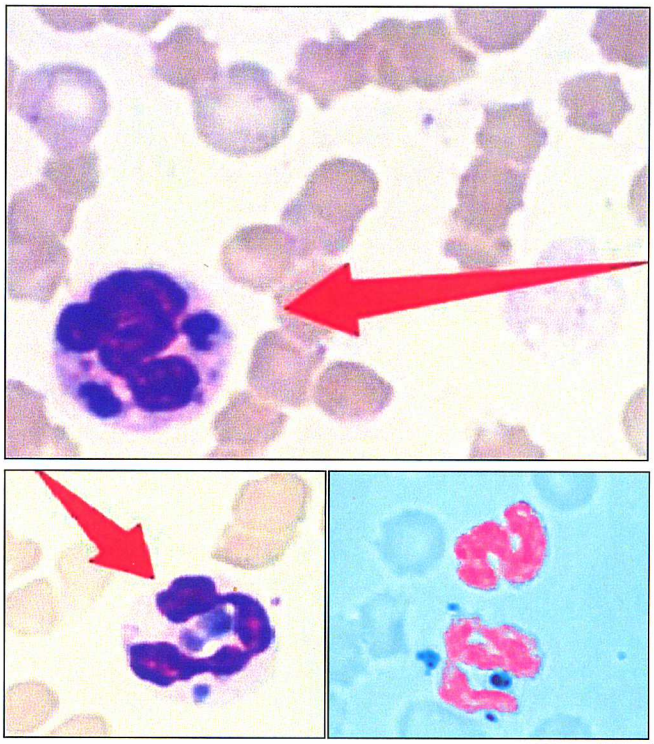
- **Результат мутации в гене MYH9**
- Наследственное аутосомно-доминантное заболевание мопсов
- В цитоплазме нейтрофилов обнаруживают 1-4 крупных синих веретенообразных включения, крупнее и отчетливее телец Дёле (2-4 мкм)



СИДЕРОЛЕЙКОЦИТЫ

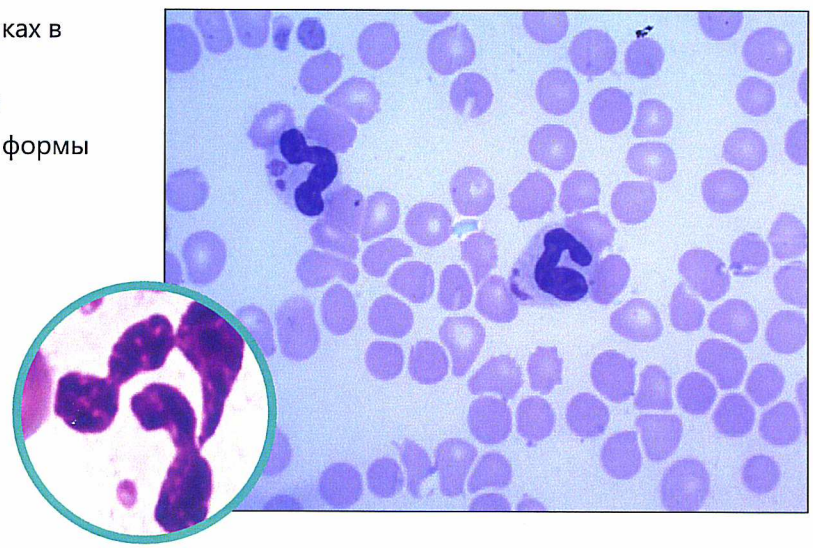
Железосодержащие гранулы от желто-коричневого до темно-синего цвета, являющиеся, гемосидерином

- Встречаются в цитоплазме нейтрофилов и моноцитов у животных с гемолитической анемией, ИОГА и после переливания крови
- Необходимо дифференцировать от телец Дёле
- Окрашиваются в синий цвет по перльсу



ВКЛЮЧЕНИЯ ВИРУСА ЧУМЫ

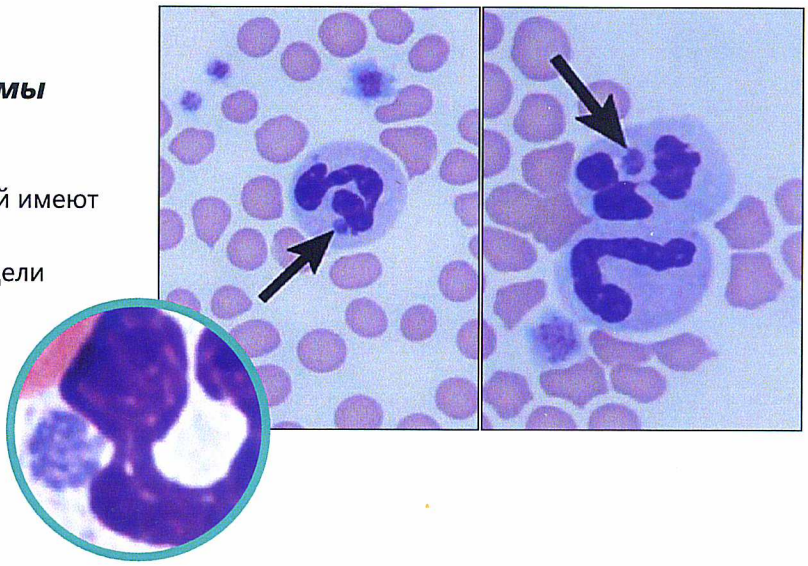
- Формируются в клетках предшественниках в костном мозге
- Встречаются в крови в стадию виремии
- Округлой, овальной или неправильной формы включения, красноватого цвета
- d 1-4 мкм



МОРУЛЫ АНАПЛАЗМЫ
(Anaplasma phagocytophilum) - живут в нейтрофилах

Морула – плотно упакованные базофильные скопления микроорганизмов внутри фагосомы в цитоплазме нейтрофилов.

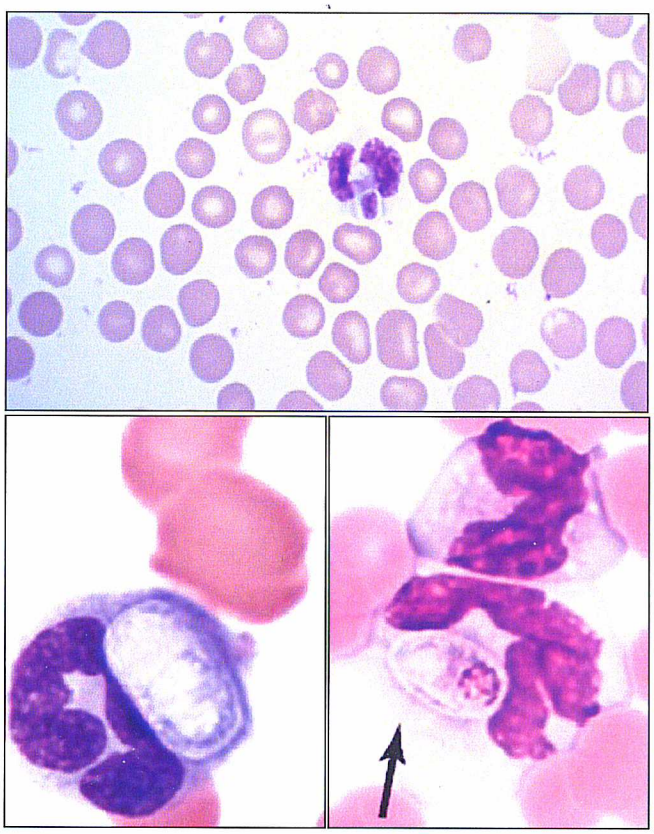
- В отличии от гранул и других включений имеют рыхлую, неоднородную структуру
- Обнаруживаются в крови в течение недели после укуса клеща
- Для подтверждения рекомендуется ПЦР-диагностика



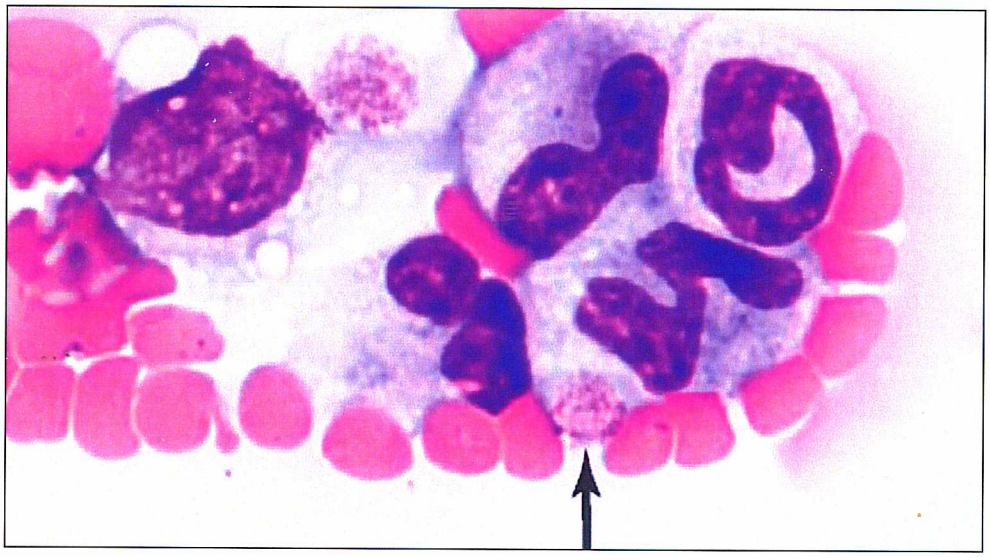
Hepatozoon canis

Крупные продолговатые прозрачные или голубоватые структуры (гаметоциты), d 11 мкм с плохо прокрашенным ядром, смещенным в одну сторону клетки

- Встречаются в цитоплазме нейтрофилов и моноцитов
- Сопровождаются выраженным нейтрофильным лейкоцитозом
- Заражение при проглатывании инфицированных клещей!



ПСЕВДОПАРАЗИТЫ – НАЛОЖЕНИЕ ТРОМБОЦИТОВ

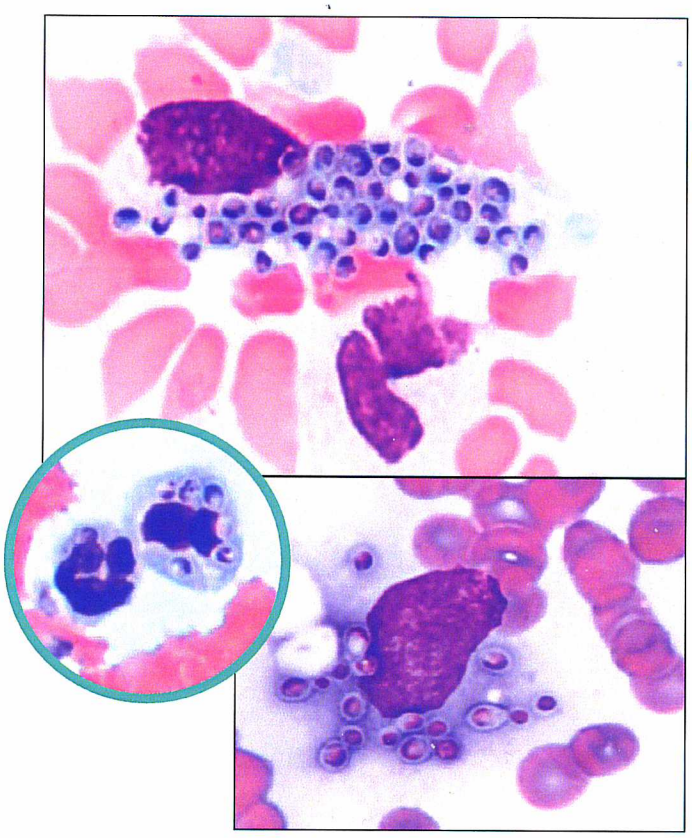


Histoplasma capsulatum

Округлой или овальной формы d 2-4 мкм дрожжевые грибы

- Ядро эксцентрично расположено красноватого цвета, серповидной формы
- Цитоплазма голубоватая
- Имеют тонкий прозрачный ореол (клеточная стенка)
- Встречаются в цитоплазме моноцитов, нейтрофилов, реже эозинофилов

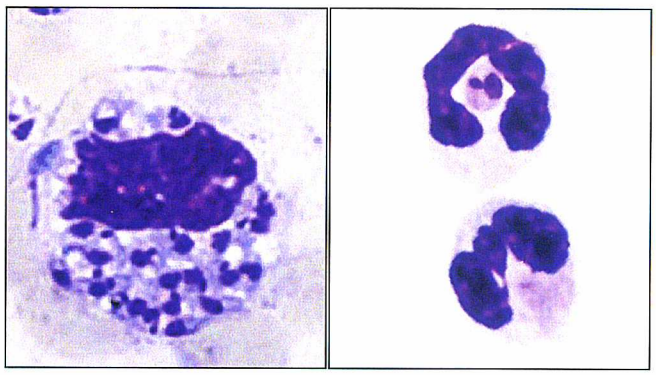
Диагностическое значение:
диссеменированный гистоплазмоз.
Прогноз неблагоприятный



ЛЕЙШМАНИОЗ

Амастиготы d 2-4 мкм,

- Овальное светло-фиолетовое ядро
- Темно-синий кинетопласт, расположенный перпендикулярно к длинной оси ядра
- Крайне редко встречаются в мазках крови



БАКТЕРИЕМИЯ (СЕПСИС)

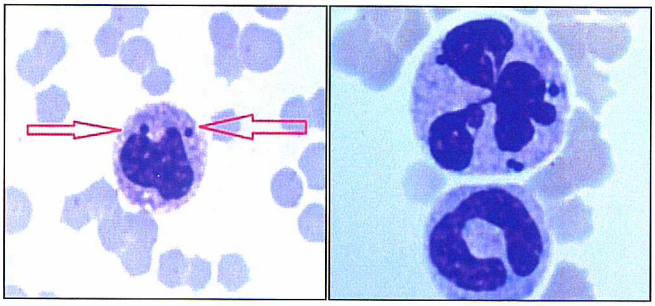
Важно:

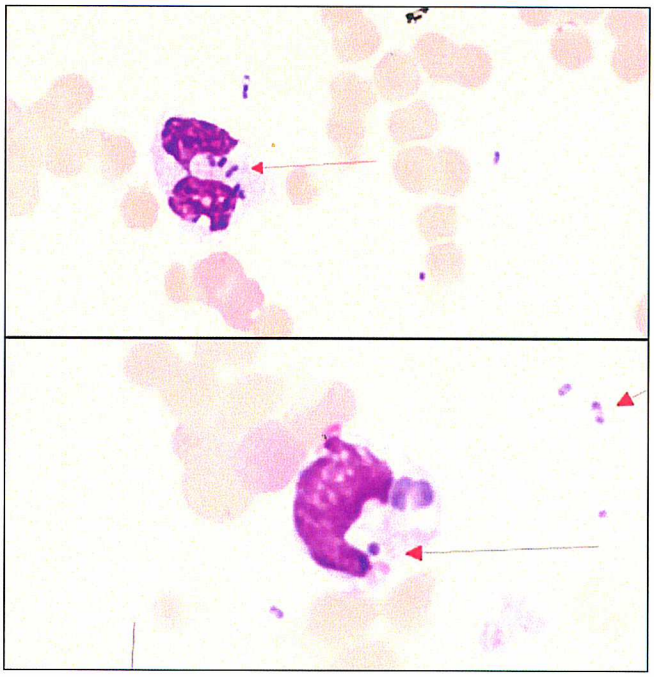
– исключить контаминацию красителя

– обнаружить именно фагоцитированные бактерии

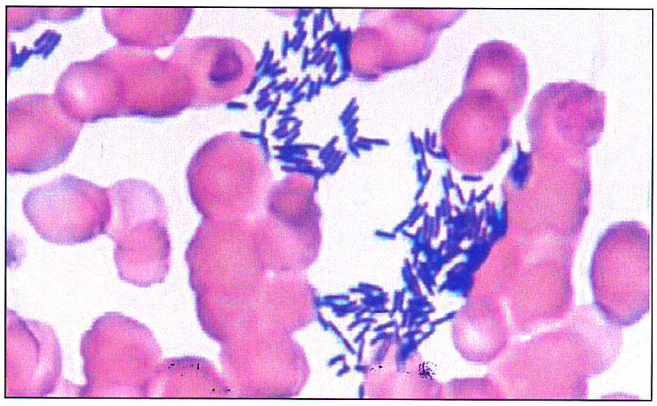
– исключить наличие преципитатов красителя

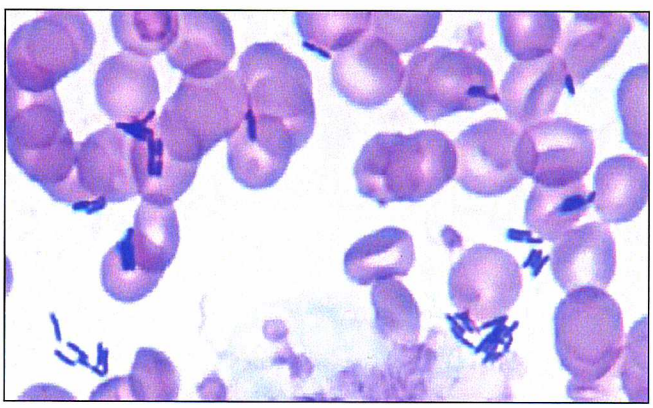
– наличие выраженного сдвига влево у пациента и нейтрофильной токсичности





КОНТАМИНАЦИЯ

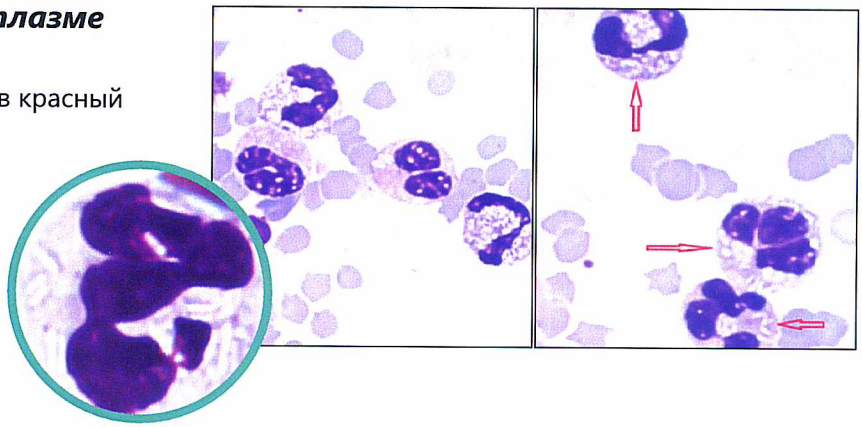




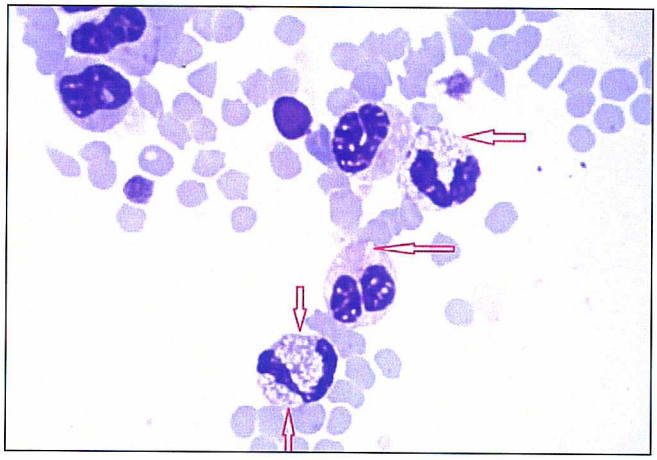
МИКОБАКТЕРИИ

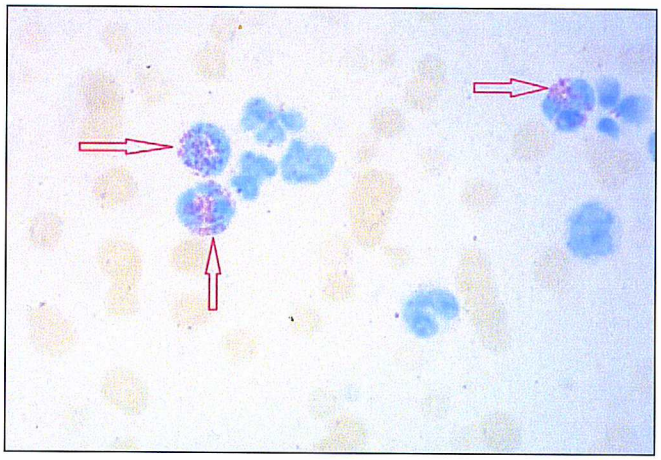
Прозрачные палочки в цитоплазме нейтрофилов и моноцитов

- Окрашиваются по Цилю-Нильсену в красный цвет



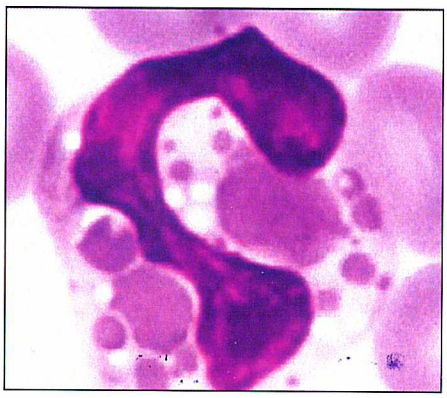
Микобактериоз. Мазок крови кошки

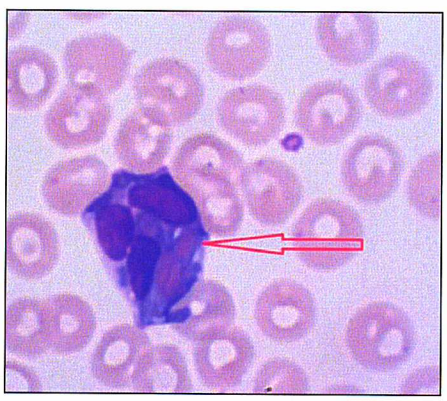


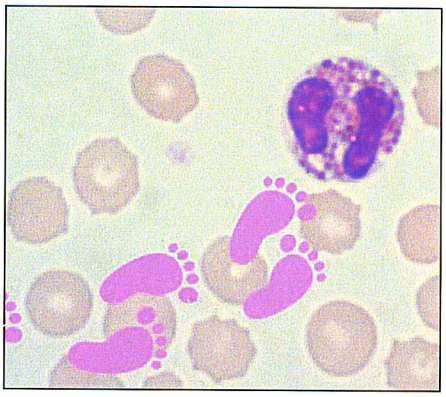


ЭОЗИНОФИЛЫ

Собачьи эозинофилы могут содержать одну крупную гранулу, которая может быть ошибочно принята за включение или организм



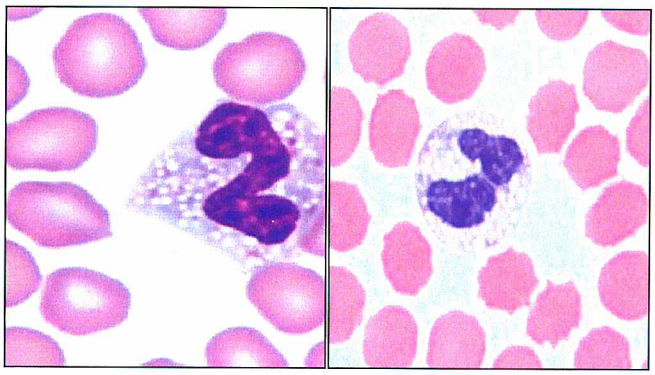




«СЕРЫЕ» ЭОЗИНОФИЛЫ ГРЕЙХАУНДОВ

- Эозинофилы грейхаундов, а также дирхаундов, уиппета, левретки и голден-ретривера не прокрашиваются стандартными гематологическими красителями и в мазках крови выглядят как вакуоли — их называют «серыми» эозинофилами грейхаундов
- ***Важно не принимать такие клетки за нейтрофильную токсичность***
- При сомнениях рекомендуется использовать специальный краситель: щелочную фосфатазу



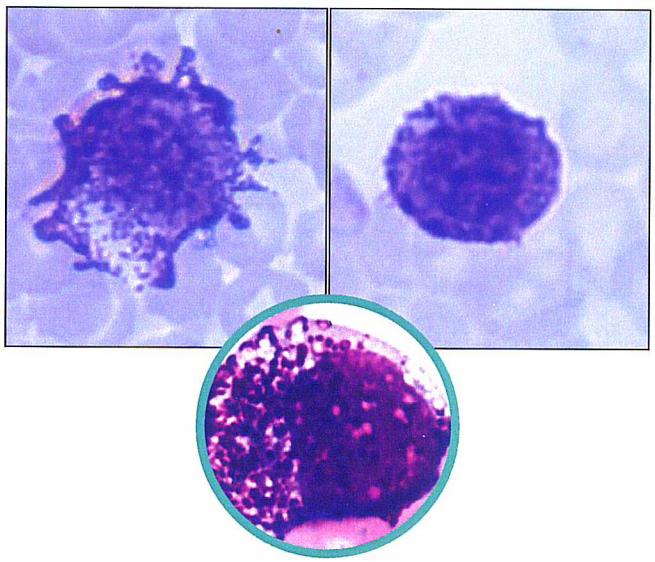


МАСТОЦИТЫ

- Мастоциты крупнее или размером с базофил
- С округлым (в отличии от сегментированного ядра базофила), центрально расположенным, плохо различимым ядром из-за большого количества наслаивающихся базофильных гранул в цитоплазме
- Не должны встречаться в мазке крови

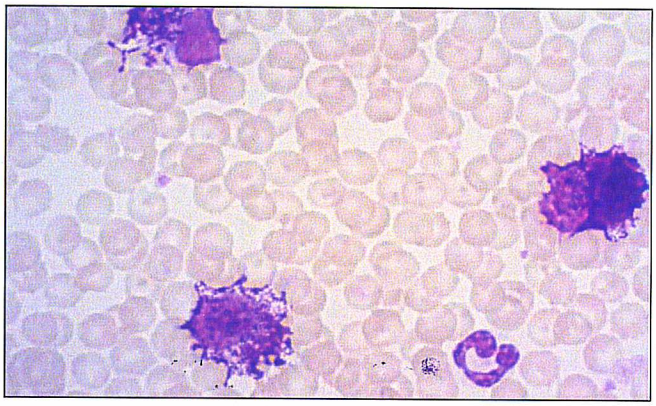
Небольшое количество может встречаться при:

– воспалительных процессах
– некрозе
– тканевых повреждениях
– тяжелой регенеративной анемии

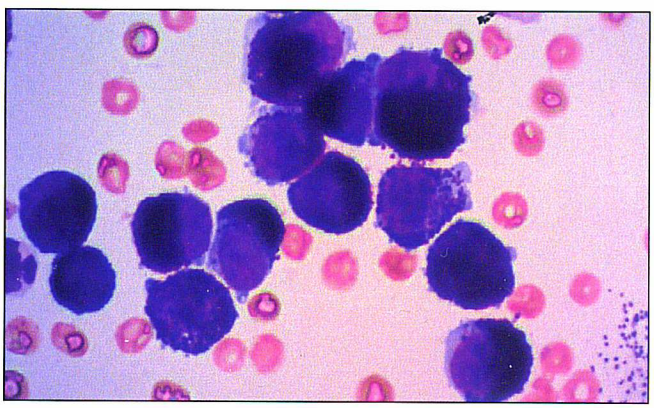


СИСТЕМНЫЙ МАСТОЦИТОЗ. Йоркширский терьер, 5 лет

Мазок крови

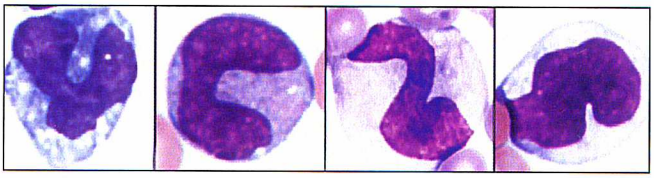


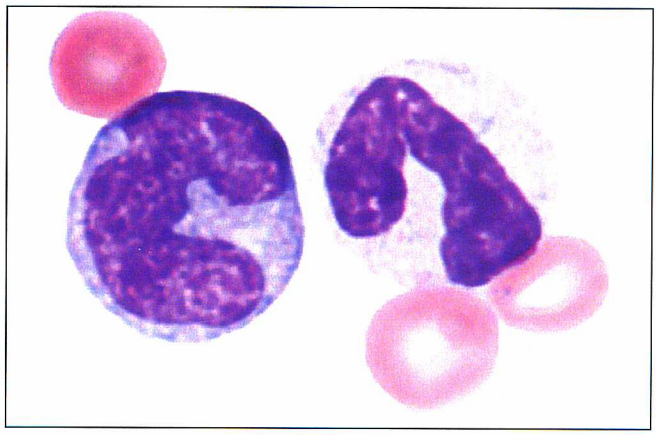
Плевральный выпот



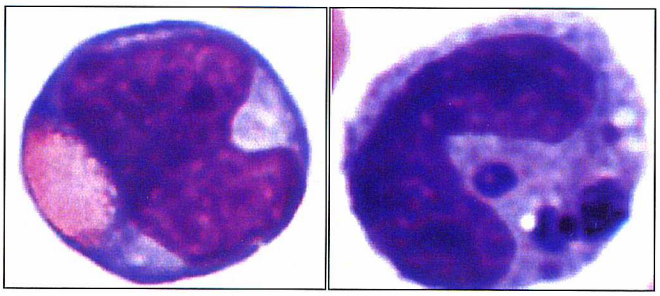
МОНОЦИТЫ

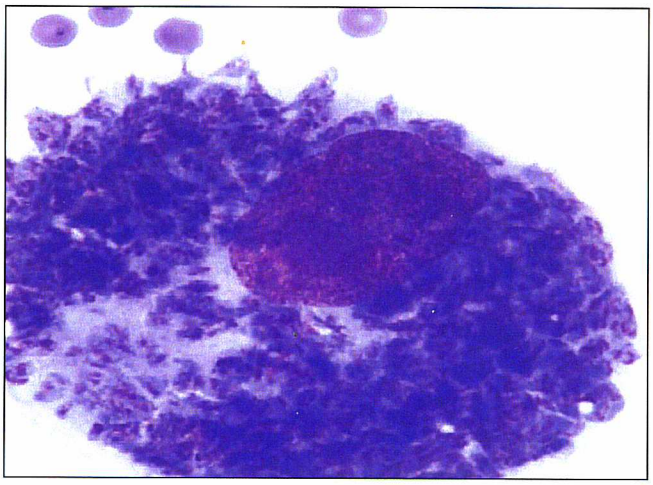
- Можно спутать с гигантскими палочкоядерными нейтрофилами у собак
- Концы ядра часто увеличены и шишковидны
- Хроматин не глыбчатый, а рыхлый
- Ищем другие признаки нейтрофильной токсичности

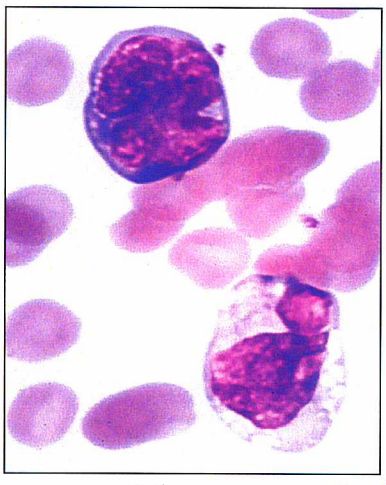




- Эритрофагоцитоз при ИОГА
- Включения гемосидерина при гемолитических анемиях
- Цитозооноз



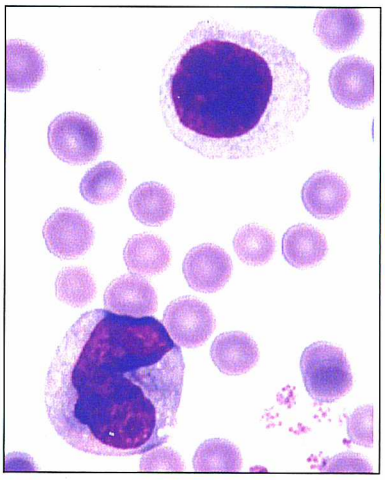






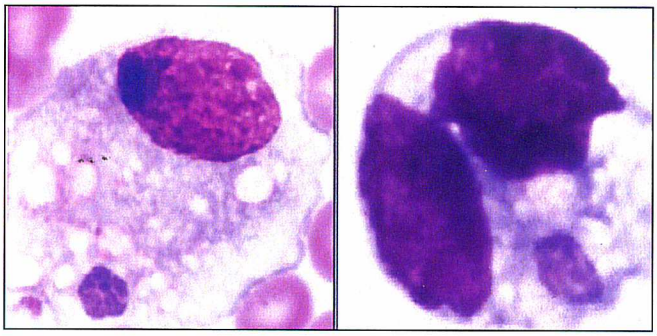
Моноцит vs большой лимфоцит / реактивный большой лимфоцит

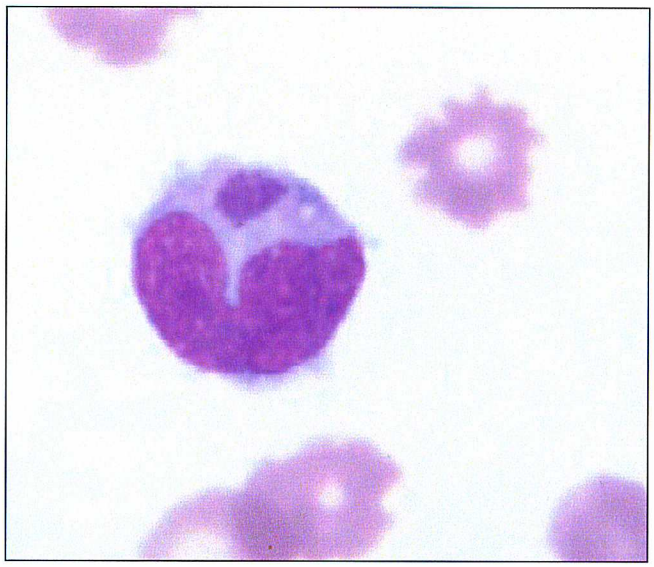
Реактивный большой лимфоцит имеет более базофильную цитоплазму



МОРУЛЫ ЭРЛИХИИ
(Ehrlichia canis)

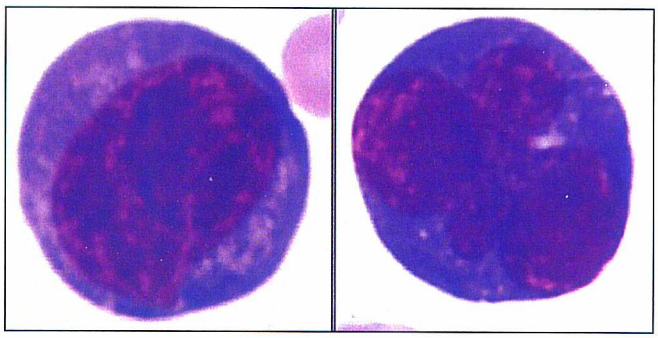
- Крупные округлые или овальные скопления, состоящие из мелких точечных грамотрицательных микроорганизмов синеватого цвета
- В клетке могут присутствовать несколько морул
- Для подтверждения рекомендуется ПЦР-диагностика

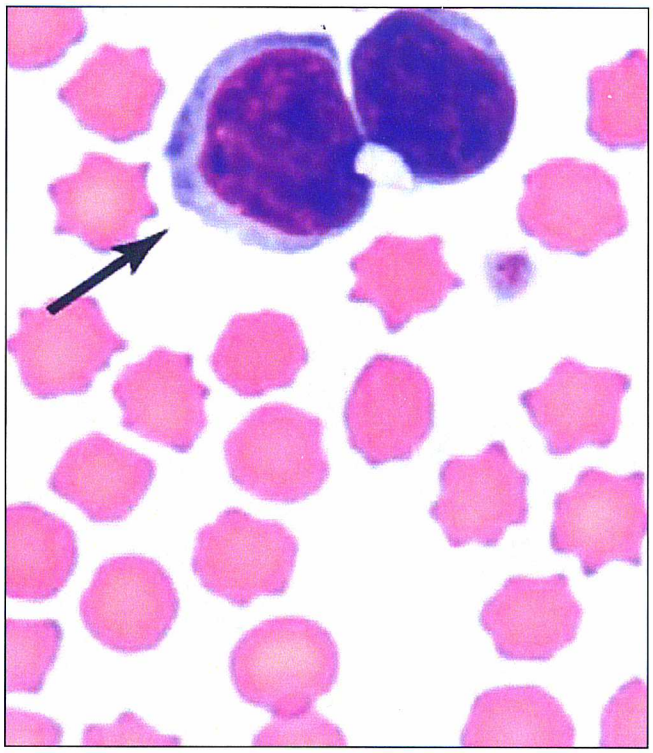




РЕАКТИВНЫЕ ЛИМФОЦИТЫ (ИММУНОЦИТЫ)

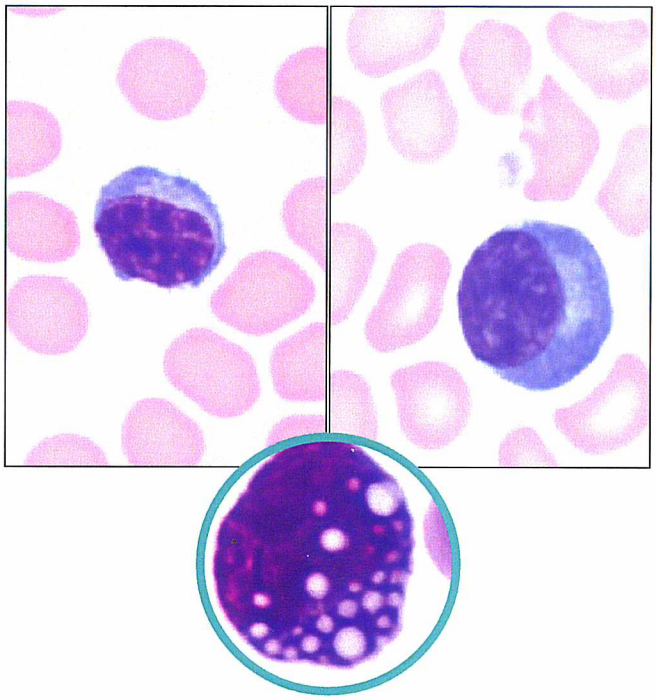
- Пролиферация лимфоцитов в ответ на антигенную стимуляцию
- Увеличение в размере и появление базофильной цитоплазмы (полирибосомы)
- Часто имеют лопастные ядра
- Менее конденсированный хроматин
- Необходимо дифференцировать от моноцитов и бластов
- При затруднениях допустимо использовать термин «атипичный лимфоцит»





ПЛАЗМАЦИТОИДНЫЕ РЕАКТИВНЫЕ ЛИМФОЦИТЫ (ПЛАЗМАТИЧЕСКИЕ КЛЕТКИ)

- При хроническом антигенном воспалении реактивные лимфоциты становятся плазматическими клетками
- Хорошо дифференцированные В-лимфоциты
- Крупнее малых лимфоцитов
- Ядро круглое расположено эксцентрично с конденсированным хроматином
- Цитоплазма выражено базофильная (полирибосомы)
- Перинуклеарная зона просветления выражена (область Гольджи)

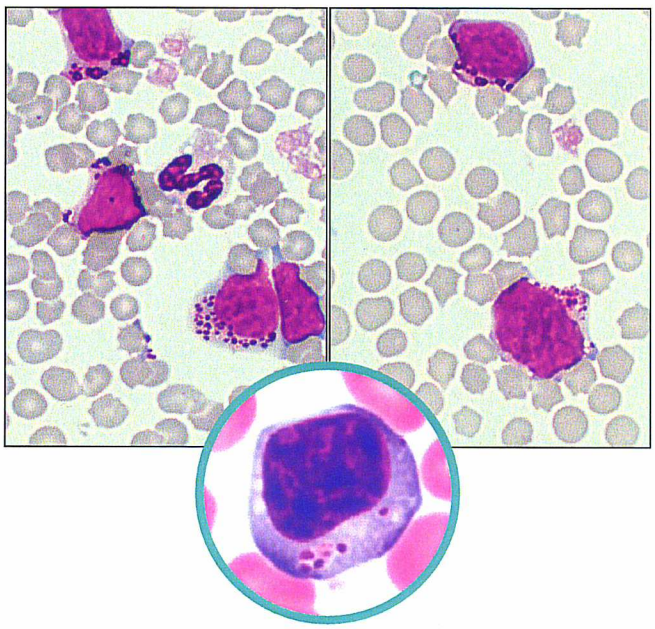


Диагностическое значение:

– сильное хроническое системное воспаление (инфекции)
– недавняя вакцинация
– рекомендуется проведение электрофореза белков
– исключение опухолевых заболеваний (лимфома, лимфолейкоз, миелома)

БОЛЬШИЕ ГРАНУЛЯРНЫЕ ЛИМФОЦИТЫ (цитотоксический Т-лимфоцит/NK клетка)

Большие или средние лимфоциты, с большим ядром, умеренным количеством цитоплазмы, от легкой до умеренно базофильной, которая содержит небольшое количество эозинофильных гранул различного размера, рассеянных или сконцентрированных в перинуклеарной области

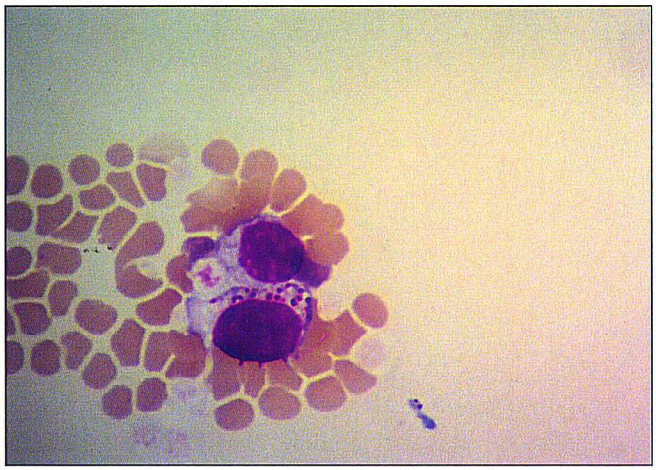


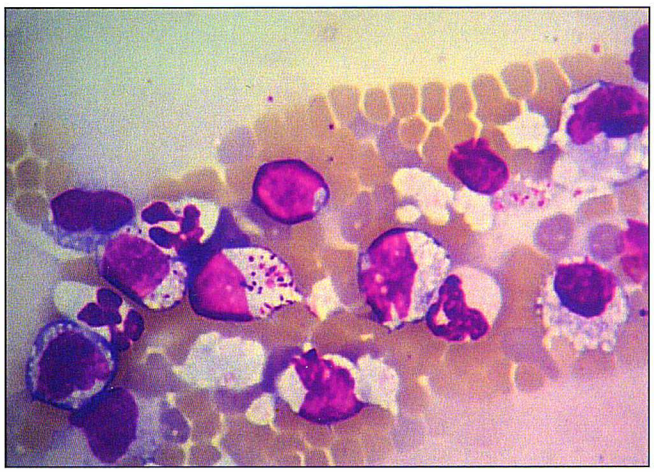
Диагностическое значение:

– единичные рассматриваются, как вариант нормы
– эрлихиоз
– гранулярный лимфоцитарный лейкоз
– лимфома из больших гранулярных лимфоцитов

ЛЕЙКОЗ / ЛИМФОМА ИЗ БОЛЬШИХ ГРАНУЛЯРНЫХ ЛИМФОЦИТОВ

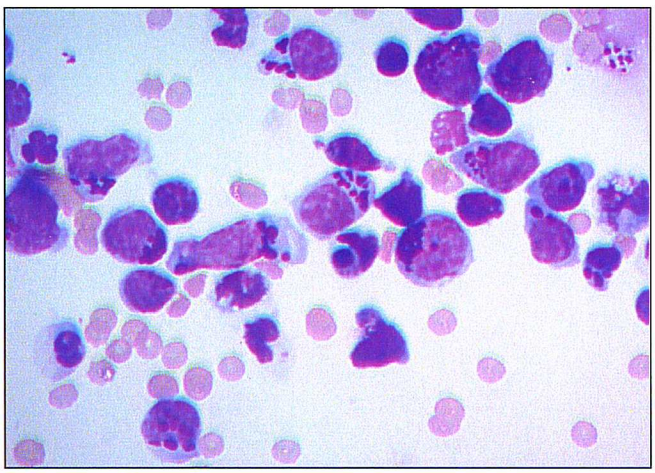
Мазок крови
Кот Макс, 8 лет
Объемное образование в средостении, увеличение брюшной полости

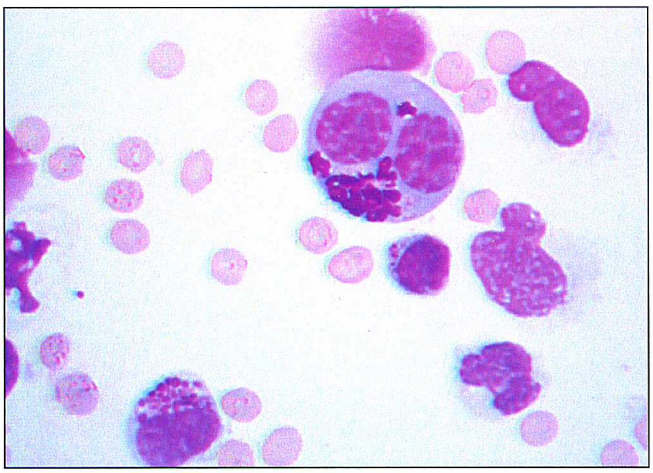




ЛИМФОМА ИЗ БОЛЬШИХ ГРАНУЛЯРНЫХ ЛИМФОЦИТОВ

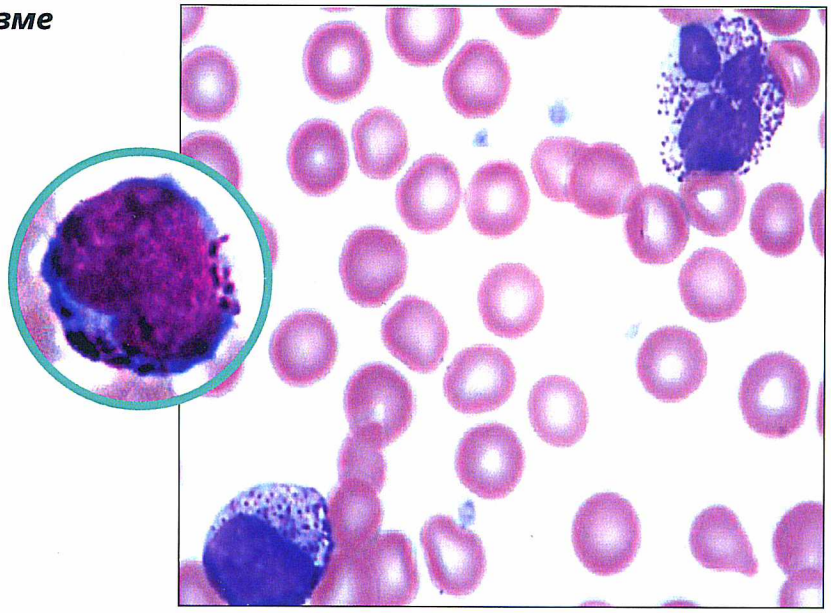
Плевральная жидкость





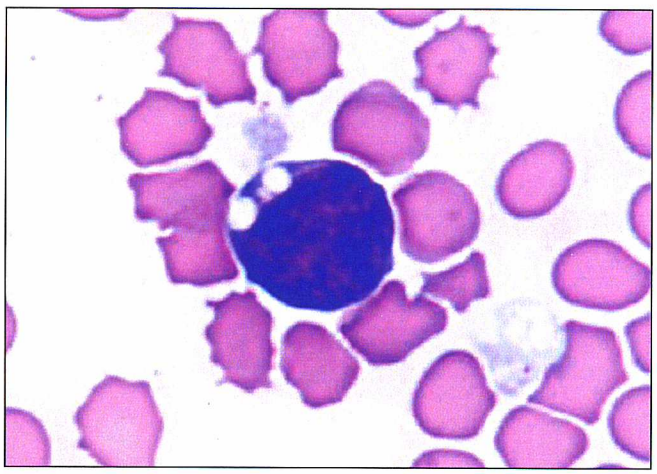
МУКОПОЛИСАХАРИДОЗ

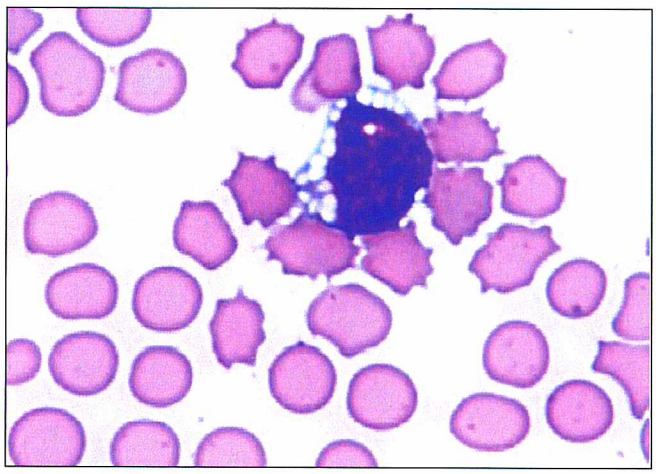
Пурпурные гранулы в цитоплазме лимфоцитов



ГАНГЛИОЗИДОЗ

Ганглиозидоз GM1 характеризуется появлением крупных четких вакуолей в цитоплазме лимфоцитов



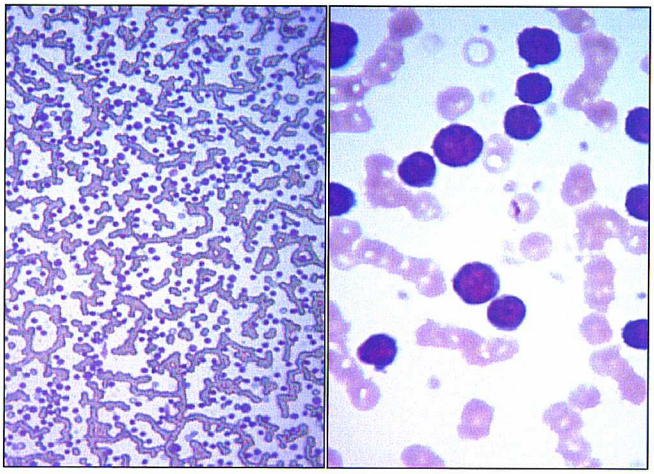


Ганглиозидоз GM2 характеризуется появлением азурофильных гранул в цитоплазме лимфоцитов и темно-фиолетовых гранул в цитоплазме нейтрофилов

ХРОНИЧЕСКИЙ ЛИМФОЛЕЙКОЗ (ХЛЛ)

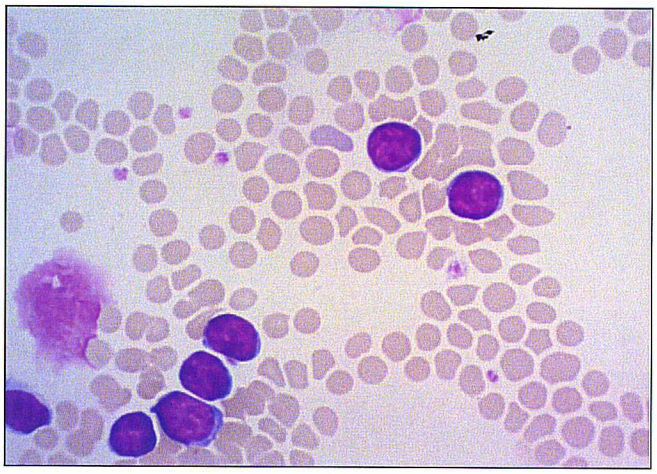
ХЛЛ – опухолевая пролиферация малых зрелых лимфоцитов

- Неопластические клетки неотличимы от малых и средних зрелых лимфоцитов
- Характеризуется значительным лейкоцитозом >60,0 x10^9/л и лимфоцитозом
- На ранних стадиях заболевания лимфоцитоз незначительный (рекомендуется мониторинг)
- Рекомендуется определение клональности методом PARR
- Требует мониторинга ОАК во время лечения – бластный криз может быть кульминацией в остром лейкозе

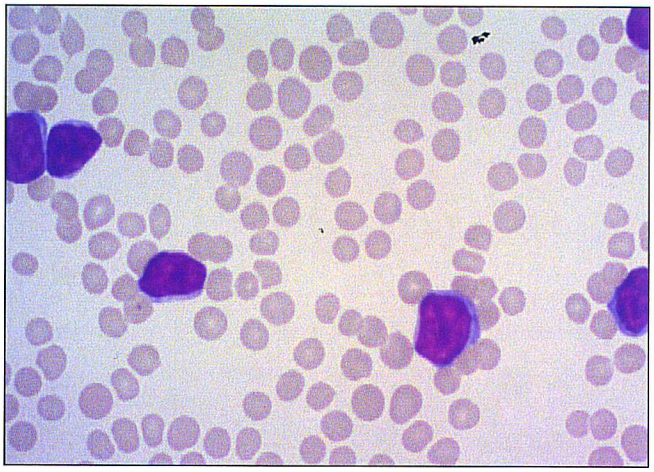


КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ ХЛЛ. Кошка Загра, 10 месяцев

PARR-B клеточная популяция

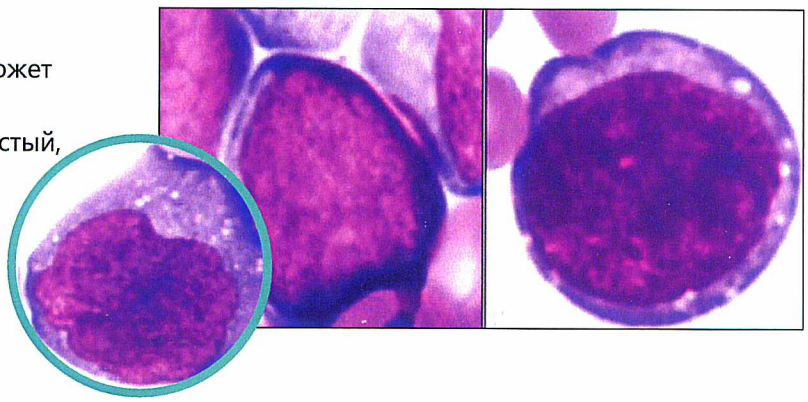


ВЛК- «+»

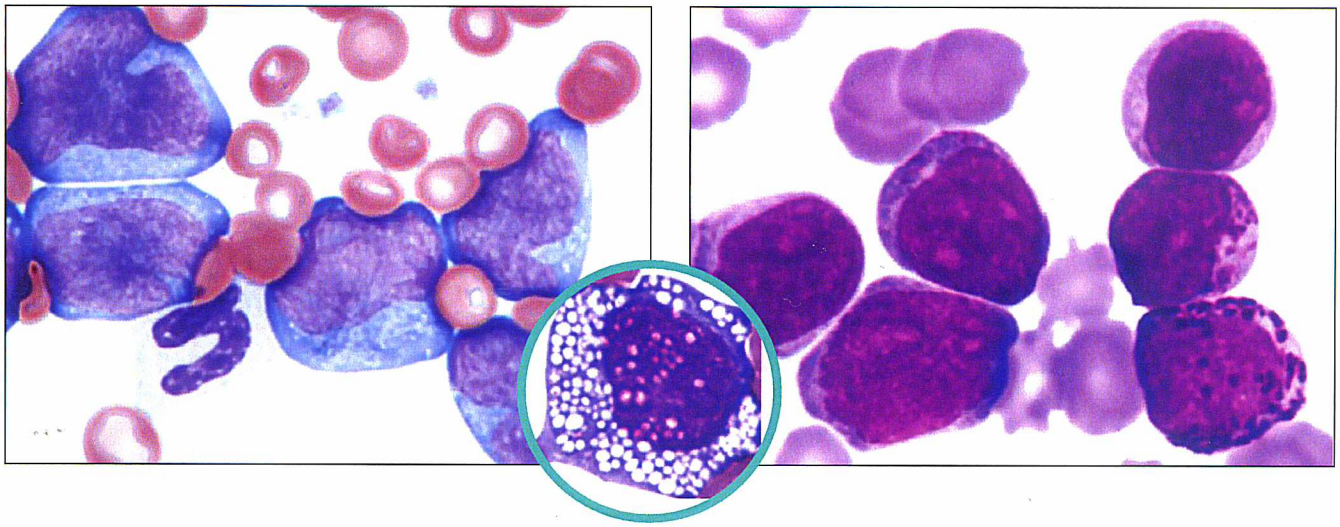


ЛИМФОБЛАСТ

- d 12-16 мкм
- Ядро округлой или овальной формы, может иметь вдавления, расположено в центре
- Хроматин нежно-сетчатый, мелкозернистый, содержит 1-2 ядрышка
- Цитоплазма скудная, светло-синяя, с перинуклеарной зоной, может содержать вакуоли



ОСТРЫЙ ЛИМФОЛЕЙКОЗ (ОЛЛ/ALL) / ЛЕЙКЕМИЗАЦИЯ ЛИМФОМЫ



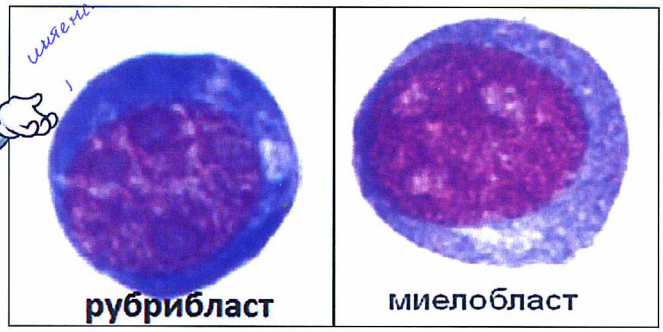
ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ БЛАСТНЫХ КЛЕТОК

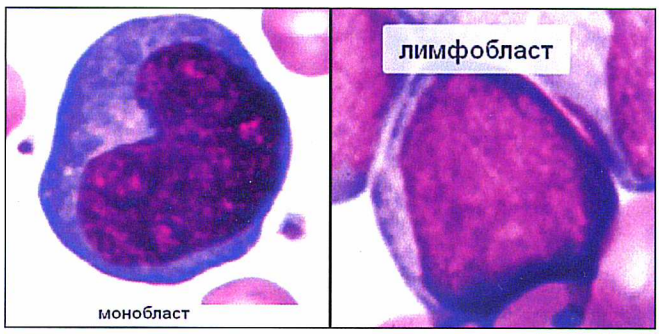
Световой микроскопии недостаточно для дифференциации бластных клеток!
Вероятность ошибки очень высока!

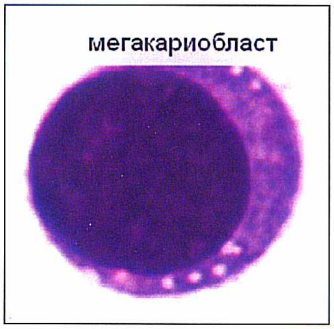


Используем:

- цитохимию
- иммуноцитохимию
- проточную цитометрию







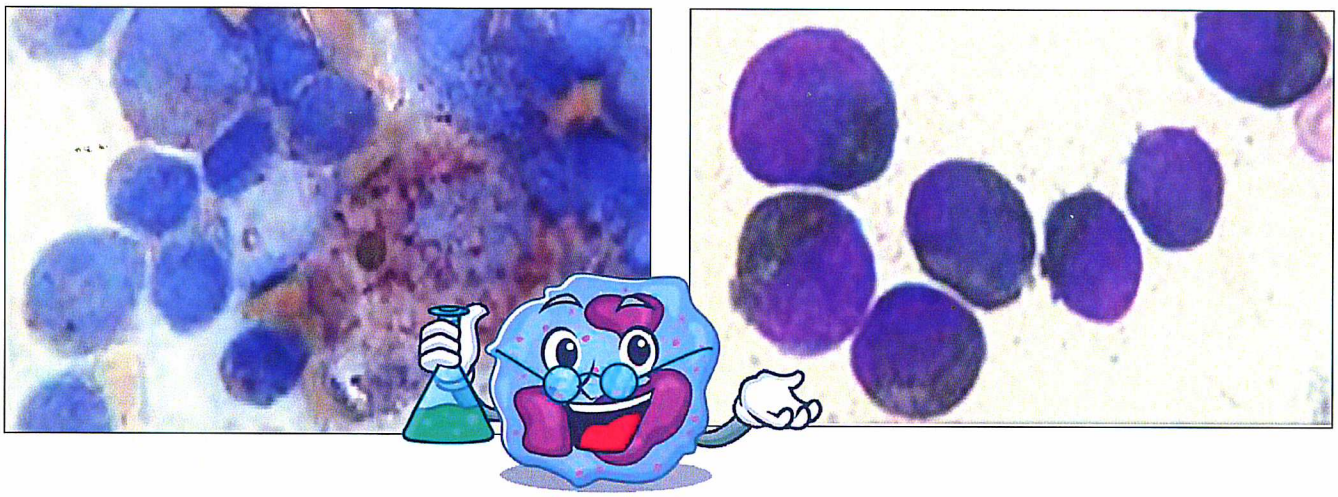
ЦИТОХИМИЯ

• **Окраска на миелопероксидазу (МПО)**
Выявляется во всех клетках гранулоцитарного ряда в виде азурофильных гранул, начиная с миелобласта, в моноцитах слабоположительная

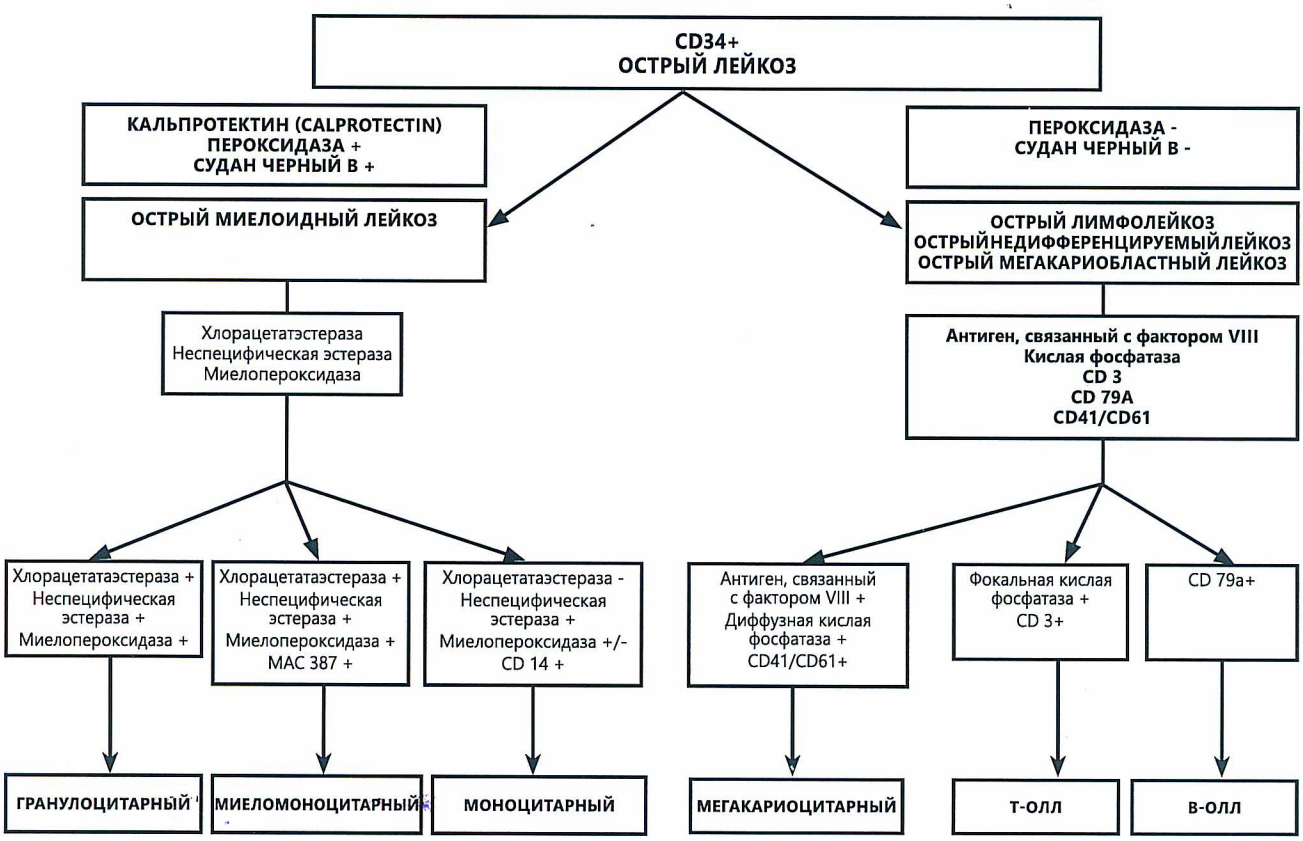
• **Окраска на неспецифические эстеразы (НЭ)**
Самую интенсивную реакцию дают моноциты и макрофаги, ингибируется NaF, в гранулоцитах не ингибируется

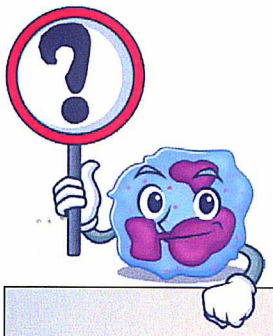
• **Окраска на хлорацетатэстеразу**
Выявляется только в клетках гранулоцитарного ряда

• **Окраска на кислую фосфатазу**
Выявляется в плазматических клетках, мегакариоцитах, моноцитах, макрофагах и гранулоцитарных предшественниках

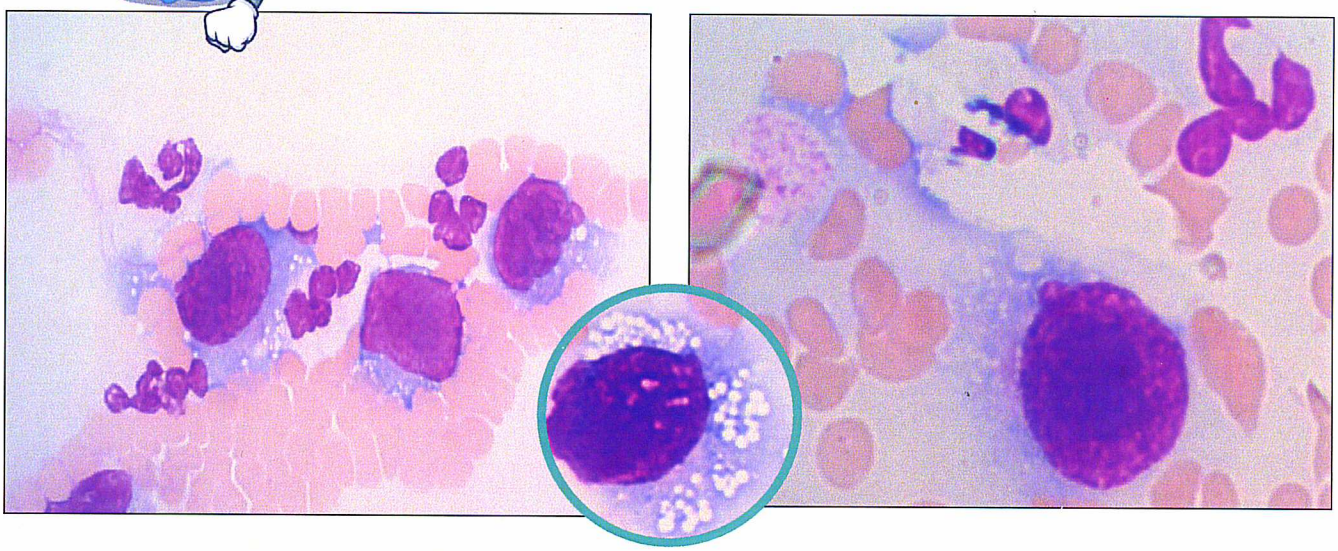


Классификация острых лейкозов с помощью цитохимии и иммуноцитохимии





Есть клетки, остающиеся неопознанными...



ПОЛУКОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА СТЕПЕНИ НЕЙТРОФИЛЬНОЙ ТОКСИЧНОСТИ

Нейтрофильная токсичность

1+	легкая базофилия
2+	умеренная базофилия и/или легкая пенистость цитоплазмы, тельца Дёле
3+	выраженная базофилия и/или выраженная пенистость цитоплазмы, тельца Дёле
4+	выраженная базофилия и/или выраженная пенистость цитоплазмы, тельца Дёле, нечеткая ядерная мембрана (кариолизис)

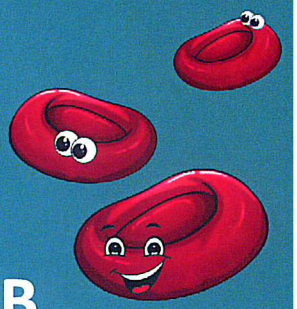
У кошек и лошадей тельца Дёле могут встречаться без других признаков токсичности, в таком случае используют следующую классификацию:

1+	<10% нейтрофилов содержат тельца Дёле
2+	10-30% нейтрофилов содержат тельца Дёле
3+	>30% нейтрофилов содержат тельца Дёле

Источник: *Veterinary Hematology: Atlas of Common Domestic and Non-Domestic Species, Third Edition.William J. Reagan, Armando R. Irizarry Rovira and Dennis B. DeNicola.*

Часть 2.

ИЗМЕНЕНИЕ МОРФОЛОГИИ ЭРИТРОЦИТОВ И ТРОМБОЦИТОВ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ



ПРАВИЛА ПРИГОТОВЛЕНИЯ И ИССЛЕДОВАНИЯ МАЗКОВ КРОВИ

ДЛЯ ОЦЕНКИ МОРФОЛОГИИ ЭРИТРОЦИТОВ И ТРОМБОЦИТОВ НЕОБХОДИМЫ:



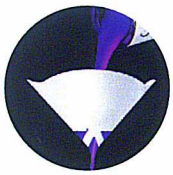


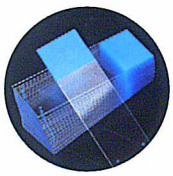
СВЕЖИЕ ОБРАЗЦЫ КРОВИ!

- максимальное хранение образца в холодильнике 24 часа!
- приготовление мазков крови должно быть произведено в течение 1-2 часов после забора крови!
- при хранении пробы в холодильнике, перед началом анализа её необходимо прогреть в течение 30 мин.

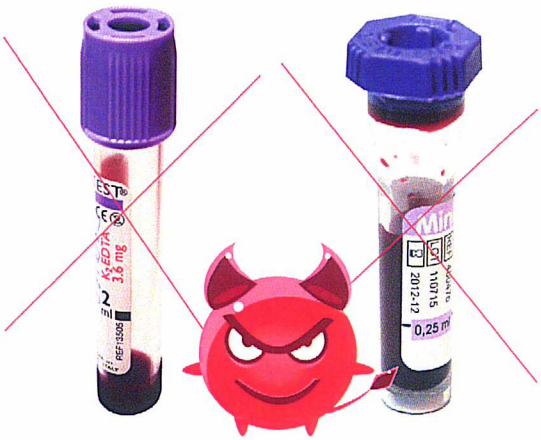
СВЕЖИЕ КРАСИТЕЛИ!

ФИЛЬТРОВАНИЕ! НОВЫЕ СТЕКЛА!

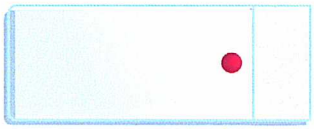




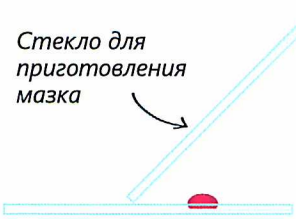
КАК ДЕЛАТЬ НЕ НАДО!!!



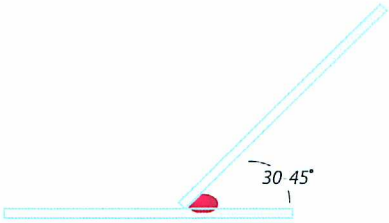
КАК ПРАВИЛЬНО ПРИГОТОВИТЬ МАЗОК КРОВИ



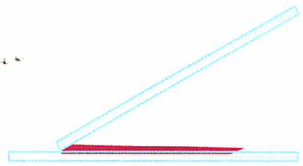
1) Нанесите каплю крови на стекло (4 мкл)



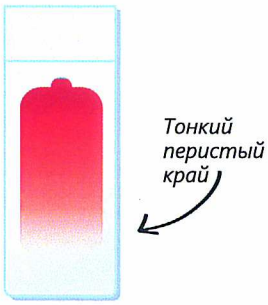
2) Сдвиньте стекло для приготовления мазка к капле крови



3) Угол наклона стекла 30–45°, захватите стеклом каплю крови



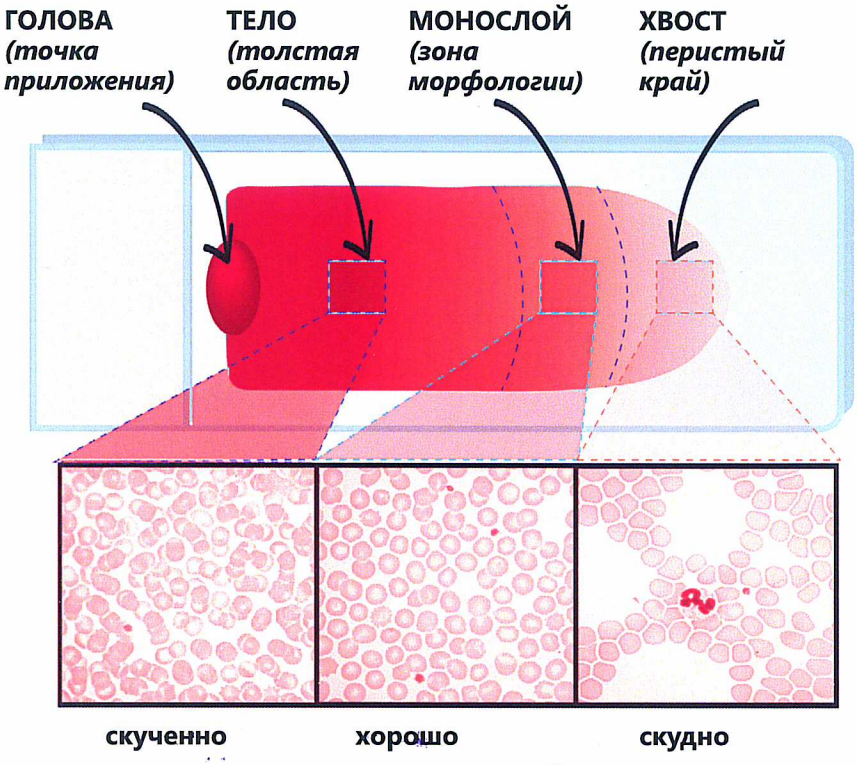
4) Сделайте угол еще более острым, продвиньте стекло



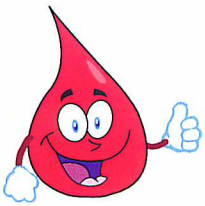
5) Зафиксируйте и окрасьте

6) Подсчитайте лейкограмму

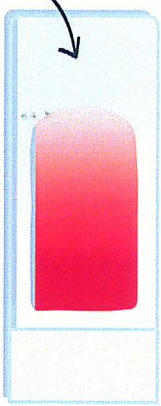
СОСТАВНЫЕ ЧАСТИ МАЗКА КРОВИ



ОСНОВНЫЕ ОШИБКИ ПРИ ИЗГОТОВЛЕНИИ МАЗКОВ КРОВИ

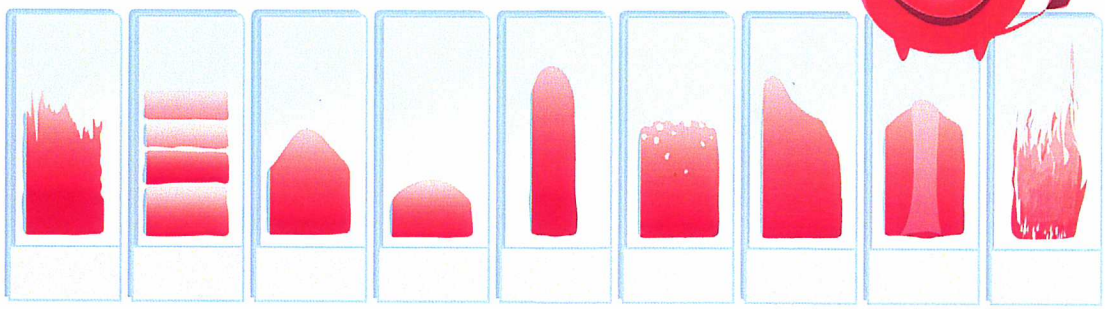


Правильно сделанный мазок



1) Зазубренный или неровный край мазка
2) Прерывистый мазок
3) Стекло для приготовления мазка проведено слишком быстро
4) Короткий мазок (капля крови была мала)
5) Капля крови неравномерно распредилась под стеклом для приготовления мазка
6) Грязное или плохо обезжиренное стекло, также возможно при избытке липидов в крови у пациента
7) Неравномерное давление на стекло при приготовлении мазка крови
8) Задержка в приготовлении мазка (капля крови начала подсыхать)
9) Мазок приготовлен стеклом с неровным краем и неравномерным давлением на стекло, что привело к формированию длинных хвостов

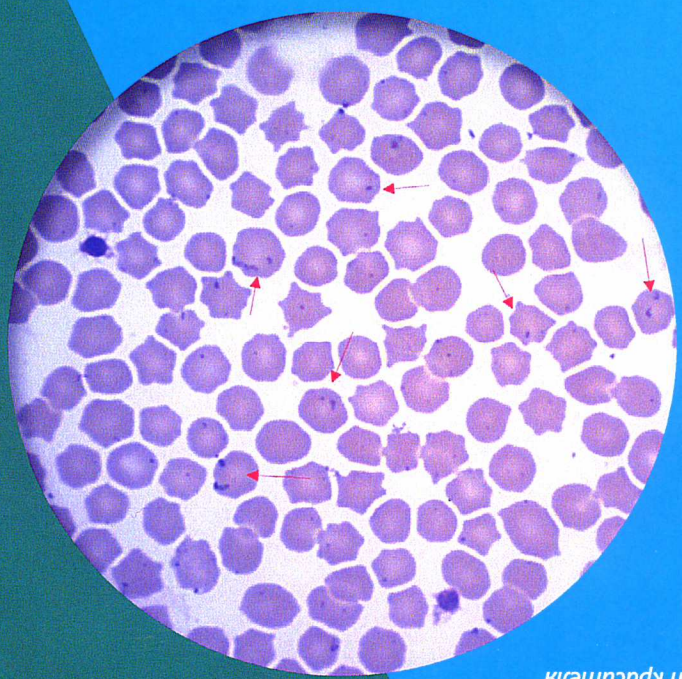




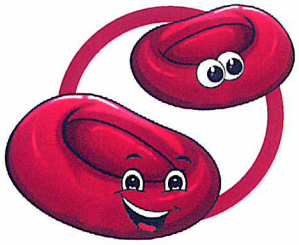
1) 2) 3) 4) 5) 6) 7) 8) 9)

Что это?



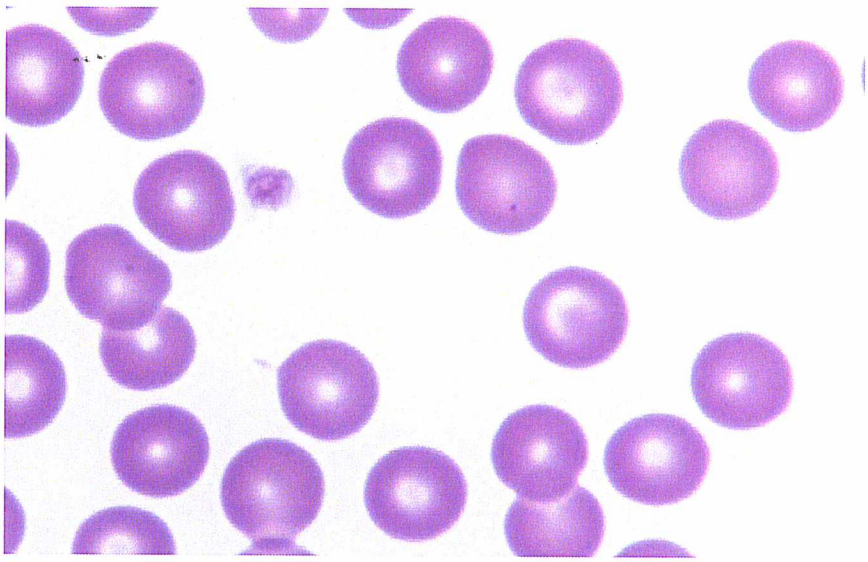


Гранулоциты крысиные



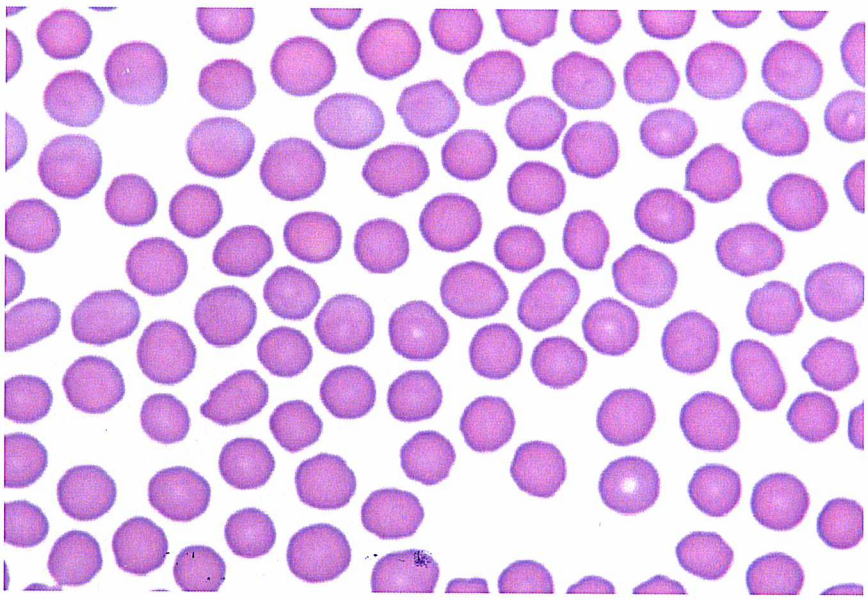
МОРФОЛОГИЯ ЭРИТРОЦИТОВ

ЭРИТРОЦИТЫ СОБАКИ



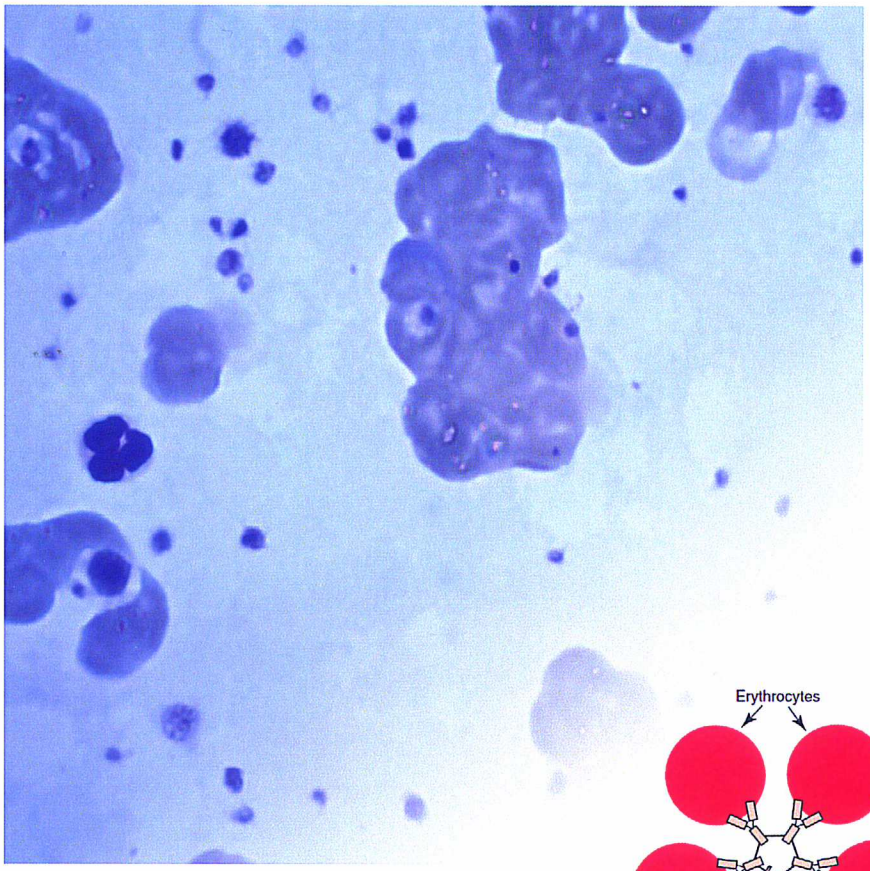
Безъядерные клетки, красноватого цвета двояковогнутые (дискоциты), d 7 мкм, с хорошо видимой зоной просветления

ЭРИТРОЦИТЫ КОШКИ



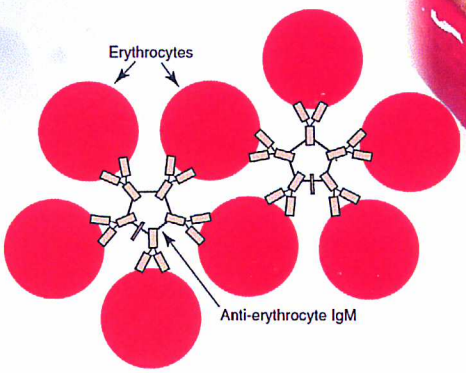
Безъядерные клетки, красноватого цвета, чашеобразной формы (зона просветления не выражена), d 6 мкм

АГГЛЮТИНАЦИЯ ЭРИТРОЦИТОВ



Слипание эритроцитов в «виноградные грозди»

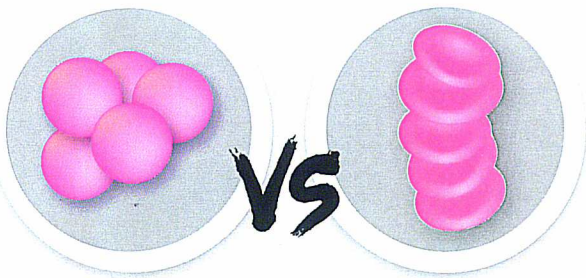
- Свидетельствует о наличии иммуноглобулинов на поверхности эритроцитов
- Описана ЭДТА-зависимая IgM опосредованная агглютинация эритроцитов у кошек без гемолиза
- Встречается при ИОГА
- Оцениваем в монослое!





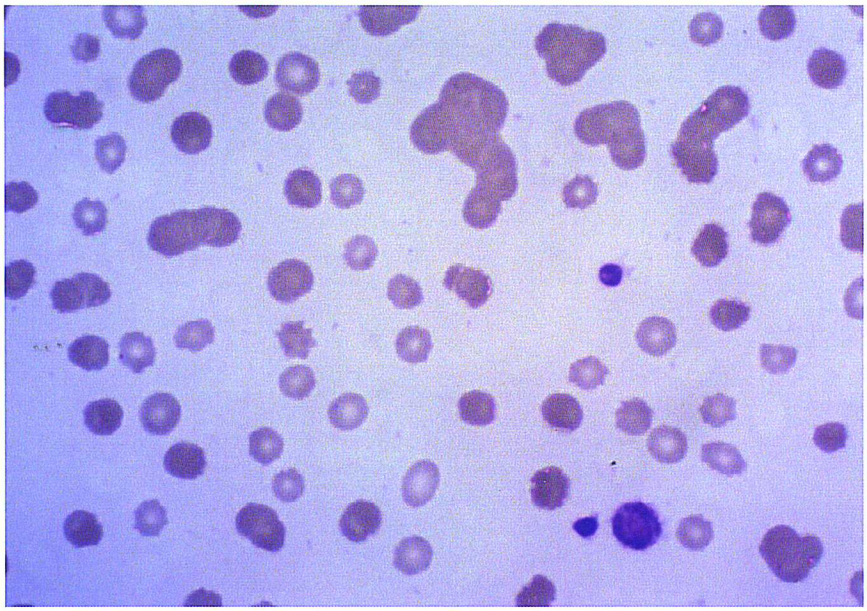
ДЛЯ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ ОТ МОНЕТНЫХ СТОЛБИКОВ:

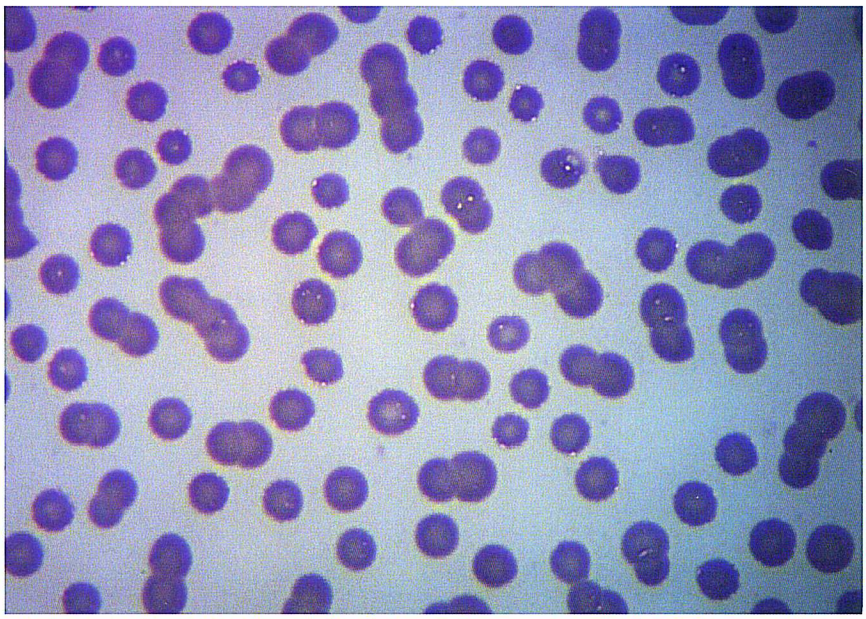
Тест на стекле: 1 капля крови с ЭДТА + 4 капли физ.раствора, аккуратно смешивают и оценивают наличие макро и микроагглютинатов
(монетные столбики разойдутся)



МОНЕТНЫЕ СТОЛБИКИ

Линейные скопления эритроцитов, напоминающие стопку монет



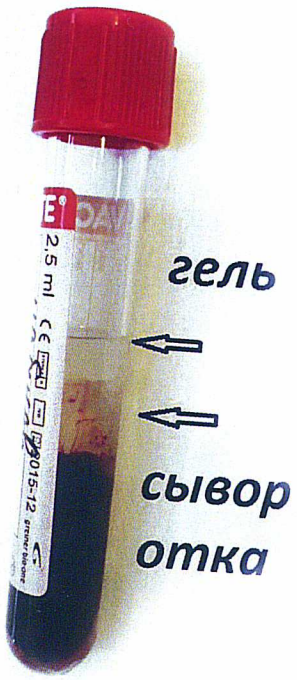


- У кошек встречаются в норме
- Оцениваем только в монослое!
- Исключаем хилез
- Измеряем общий сывороточный белок, глобулины, фибриноген

Встречаются при высокой концентрации:

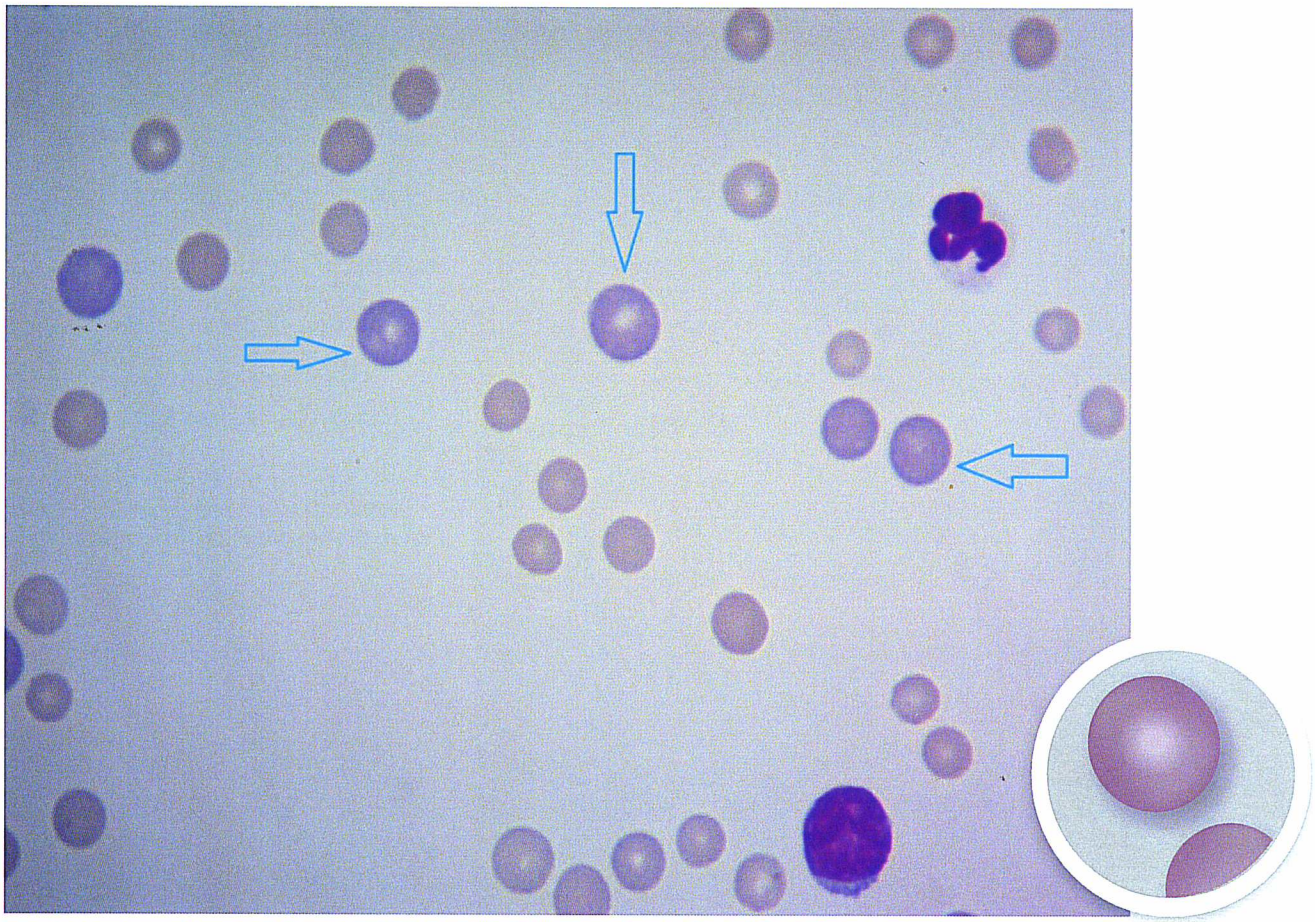
- глобулинов (в том числе гаптоглобина, иммуноглобулинов)
- фибриногена
- парапротеинов (множественная миелома)

Часто сопровождаются желированием сыворотки



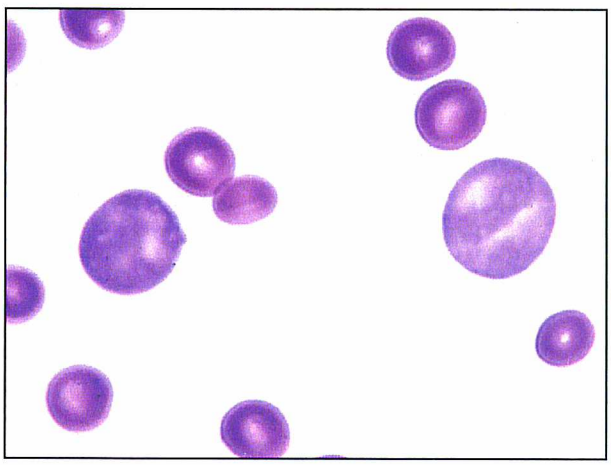
ПОЛИХРОМАТОФИЛЫ

Крупные эритроциты сероватого цвета (синевато-красного), при окрашивании метиленовым синим считаются ретикулоцитами



- Наличие рибосом и полирибосом, обуславливает изменение цвета эритроцита
- В небольшом количестве встречаются в норме (до 1,5%)
- Повышение свидетельствует о регенеративном ответе на анемию (гемолиз, кровотечение)
- Для появления полихроматофилов должно пройти 2-4 дня
- Пик ретикулоцитоза 5-7 день
- При тяжелой анемии могут встречаться стрессовые ретикулоциты
- Быстрые красители не рекомендуются

СТРЕССОВЫЕ РЕТИКУЛОЦИТЫ



ПОЛИХРОМАТОФИЛЫ

Степень выраженности	Количество клеток в поле зрения	
	собаки	кошки
+	2-7	1-2
++	8-14	3-8
+++	15-29	9-15
++++	>30	>15

РЕТИКУЛОЦИТЫ

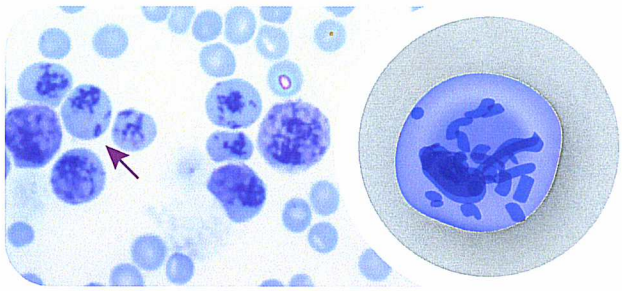
***Ретикулоци́ты* (от лат. *reticulum* – сеточка и греч. *кύτος* – вместилище, клетка) – клетки-предшественники эритроцитов в процессе кроветворения, составляющие около 1,5 % от всех циркулирующих в крови эритроцитов**

Они формируются и созревают в красном костном мозге за 1–2 дня, после чего покидают его и ещё 1 день дозревают в кровотоке.

- Ответ костного мозга на анемию появляется через 3–4 дня!
- Пик ретикулоцитоза происходит на 5–7 день!
- Максимальный ретикулоцитоз наблюдается при гемолитических анемиях (избыток железа)
- Легкие анемии могут не сопровождаться ретикулоцитозом (Ht >30% у собак; >20-25% у кошек)
- У собак более выраженный регенеративный ответ, чем у кошек

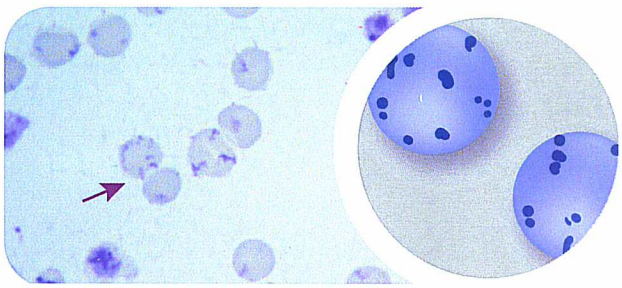
АГРЕГАТНЫЕ РЕТИКУЛОЦИТЫ

Содержат одну или несколько крупных или средних структур черно-синего цвета формирующих группы или сеть



ПУНКТАТНЫЕ РЕТИКУЛОЦИТЫ

Мелкие точечные включения сине-черного цвета (полирибосомные агрегаты) одинакового размера



РЕТИКУЛОЦИТАРНЫЕ ИНДЕКСЫ

- Индекс созревания ретикулоцитов
- Скорректированное число ретикулоцитов



ПОДСЧЕТ РЕТИКУЛОЦИТОВ

$$\text{\% СОДЕРЖАНИЕ РЕТИКУЛОЦИТОВ} = \frac{\text{ЧИСЛО РЕТИКУЛОЦИТОВ НА 1000 ЭРИТРОЦИТОВ}}{10}$$

$$\text{АБСОЛЮТНОЕ КОЛИЧЕСТВО РЕТИКУЛОЦИТОВ, К/мкл} = \text{\% РЕТИКУЛОЦИТОВ} \times \text{КОЛИЧЕСТВО ЭРИТРОЦИТОВ} \times 10$$

ПРИНЦИП МЕТОДА ОСНОВАН НА ВЫЯВЛЕНИИ ЗЕРНИСТО-СЕТЧАТОЙ СУБСТАНЦИИ РЕТИКУЛОЦИТОВ ПРИ СУПРАВИТАЛЬНОЙ ОКРАСКЕ ЩЕЛОЧНЫМИ КРАСКАМИ

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СПЕЦИАЛЬНЫХ КРАСИТЕЛЕЙ:

- **Бриллиантовый крезиловый синий**

  Кровь смешивается в соотношениии 2:1
  (100 мкл крови + 50 мкл красителя).
  смесь выдерживается 30 мин.

  Приготавливают мазочки.

  Подсчет ретикулоцитов производят на 1000 эритроцитов.

- **Метиленовый синий**

- **Автоматический подсчет**
  (проточная цитометрия с флуоресцентными красителями)



МИНУСЫ РУЧНОГО ПОДСЧЕТА РЕТИКУЛОЦИТОВ:

- **Трудоемок**
- **Недостаточно стандартизирован**
- **Обладает низкой воспроизводимостью**
- **Коэффициент вариации составляет 25-50%**

Подсчитываем у всех пациентов с анемией!

Подсчет ретикулоцитов в % не имеет диагностического значения!





РЕТИКУЛОЦИТЫ У КОШЕК

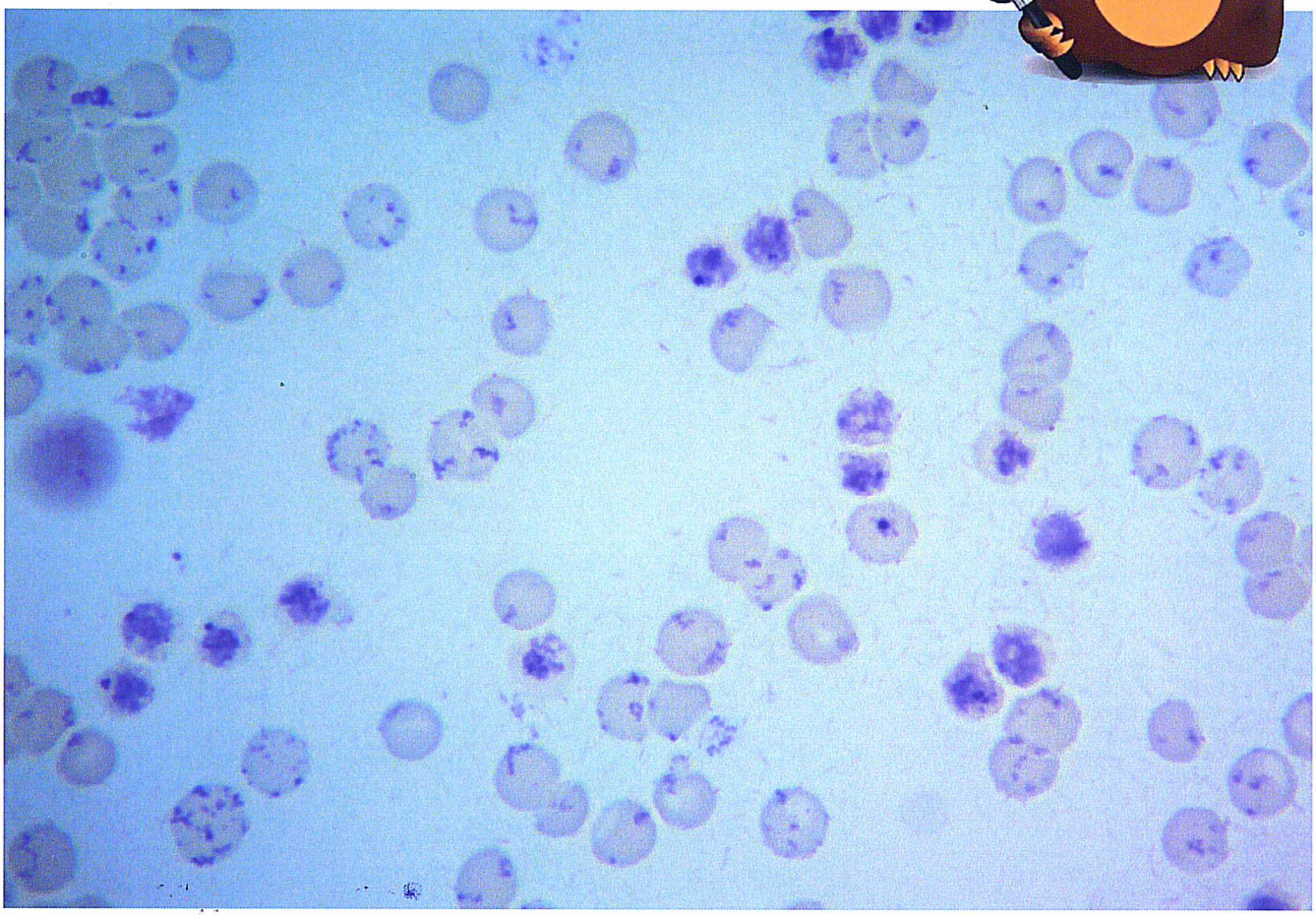
- Агрегатные ретикулоциты 0,0-0,5% (повышаются через 3-5 дней)
- Пунктатные ретикулоциты 1,0-10,0% (повышаются через 2-4 недели)
- Созревание агрегатных ретикулоцитов в пунктатные происходит за неделю и более

ОСОБЕННОСТИ ПОДСЧЕТА ПУКТАТНЫХ РЕТИКУЛОЦИТОВ У КОШЕК

- Хорошее качество оптики и разрешающая способность микроскопа
- Острота зрения
- Терпение



МАЗОК КРОВИ КОШКИ



ОЦЕНКА ВЫРАЖЕННОСТИ РЕТИКУЛОЦИТОЗА У СОБАК

Абсолютное количество ретикулоцитов, К/мкл	Степень повышения	Оценка
0,0-80,0	0	нет ретикулоцитоза
80,0-160,0	>1-2 раз	легкий ретикулоцитоз
160,0-500,0	>2-6 раз	умеренный ретикулоцитоз
>500,0	>6 раз	выраженный ретикулоцитоз

ОЦЕНКА ВЫРАЖЕННОСТИ РЕТИКУЛОЦИТОЗА (АГРЕГАТНЫЕ РЕТИКУЛОЦИТЫ) У КОШЕК

Абсолютное количество ретикулоцитов, К/мкл	Степень повышения	Оценка
0,0-50,0	0	нет ретикулоцитоза
50,0-100,0	>1-2 раз	легкий ретикулоцитоз
100,0-200,0	>2-6 раз	умеренный ретикулоцитоз
>200,0	>6 раз	выраженный ретикулоцитоз

ОЦЕНКА ВЫРАЖЕННОСТИ РЕТИКУЛОЦИТОЗА (ПУНКТАТНЫЕ РЕТИКУЛОЦИТЫ) У КОШЕК

Абсолютное количество ретикулоцитов, К/мкл	Оценка
>1500,0	выраженный ретикулоцитоз

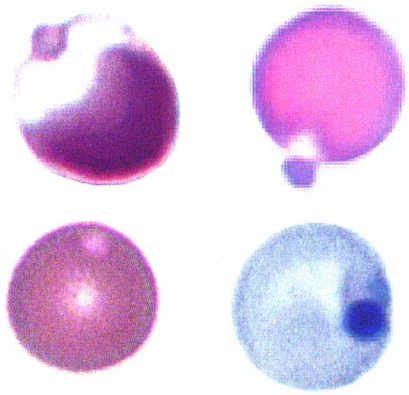
РЕТИКУЛОЦИТАРНЫЙ КРИЗ

- **Увеличение числа ретикулоцитов через 5-7 дней от начала стимулирующей эритропоэз терапии в соответствии с анемией (недостаток железа, B12, эритропоэтина)**

- **Рост в 5-10 раз и более свидетельствует об эффективности выбранной терапии**

ТЕЛЬЦА ХАЙНЦА (ГЕЙНЦА)

Одиночные округлые выпячивания в виде сосочка на поверхности мембраны эритроцита



- До 5% встречаются у кошек в норме
- У собак всегда патология
- Ищем другие признаки окислительного процесса/гемолиза: эксцентроциты, пикноциты, клетки-тени

Для оценки количества рекомендуется окрашивание метиленовым синим или бриллиантовым крезиловым синим (окрашиваются в синий цвет)

ПРИЧИНЫ ГЕМОЛИТИЧЕСКОЙ АНЕМИИ С ТЕЛЬЦАМИ ХАЙНЦА

ИДИОПАТИЧЕСКАЯ

РАСТЕНИЯ И ПИЩЕВЫЕ ДОБАВКИ:

- Лук
- Чеснок
- Капуста (брокколи)
- Пропиленгликоль (влажные корма эконом-класса)

ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ПРЕПАРАТЫ

- Парацетамол
- Бензокаин
- Феназопиридин
- Пропофол
- Фенилгидразин
- Витамин К

ЦИНК
(монеты, детские присыпки, крема для рук)

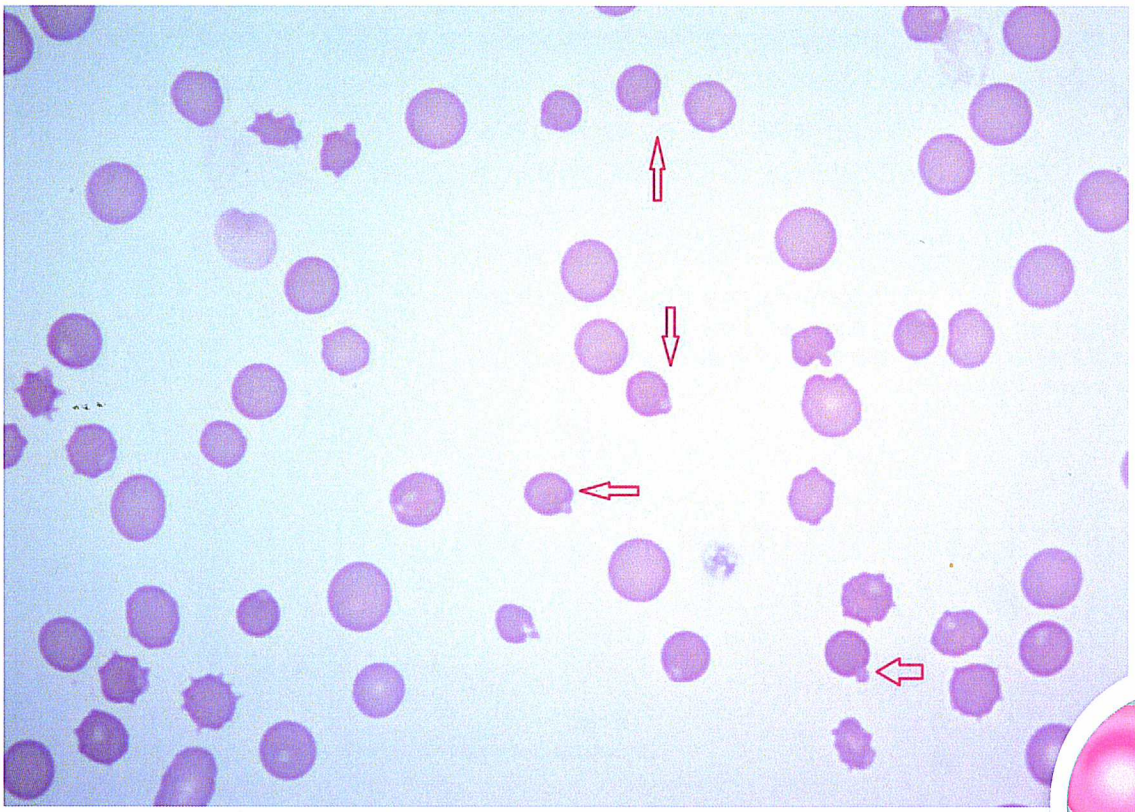
МЕДЬ

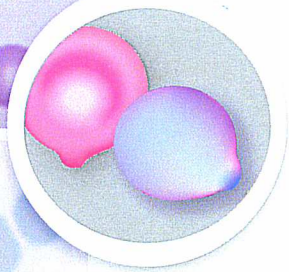
НАФТАЛИН

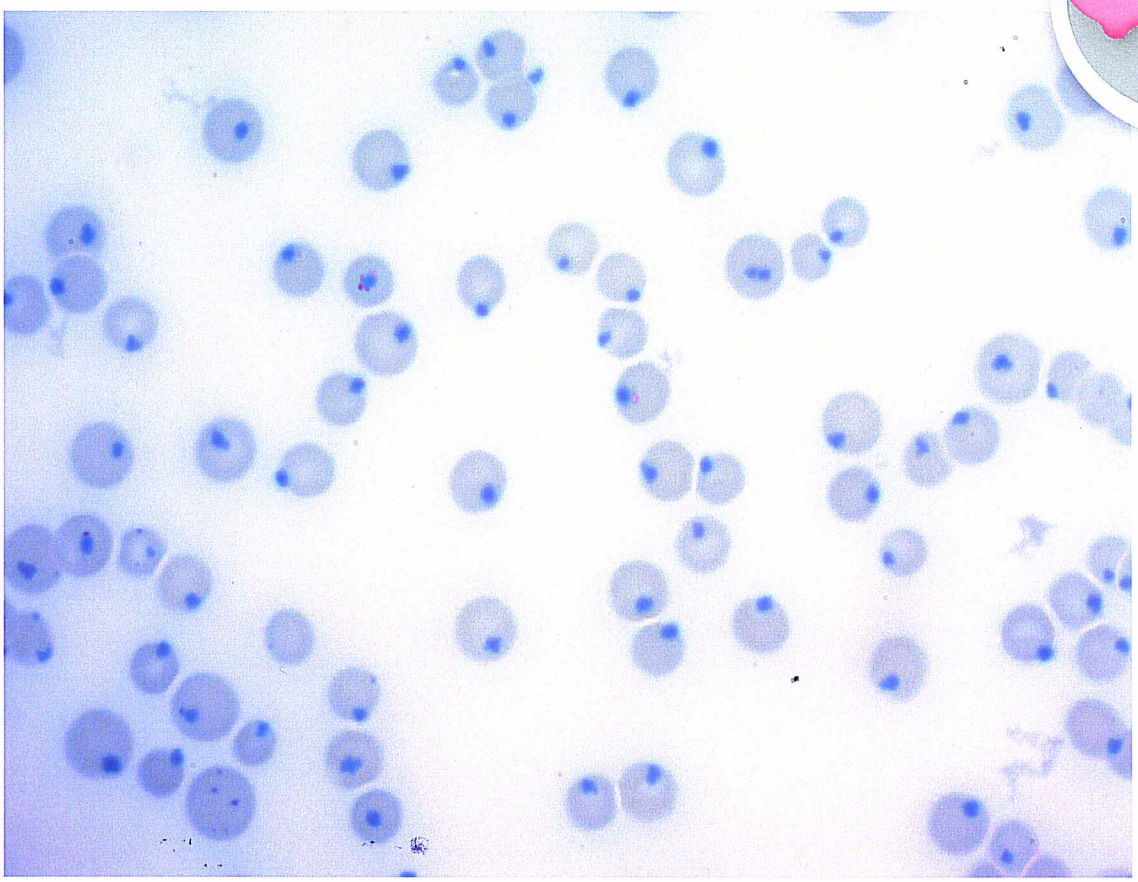
НАРУШЕНИЯ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ И ОПУХОЛИ

- Сахарный диабет
- Гипертиреоз
- Лимфома

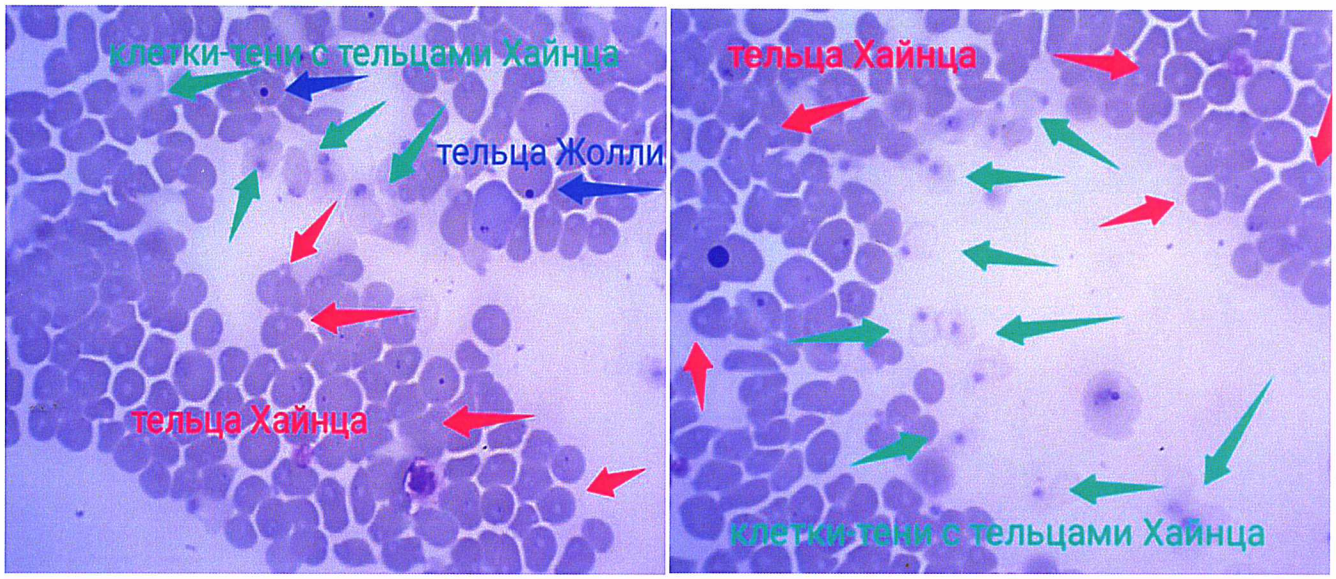
ТЕЛЬЦА ХАЙНЦА



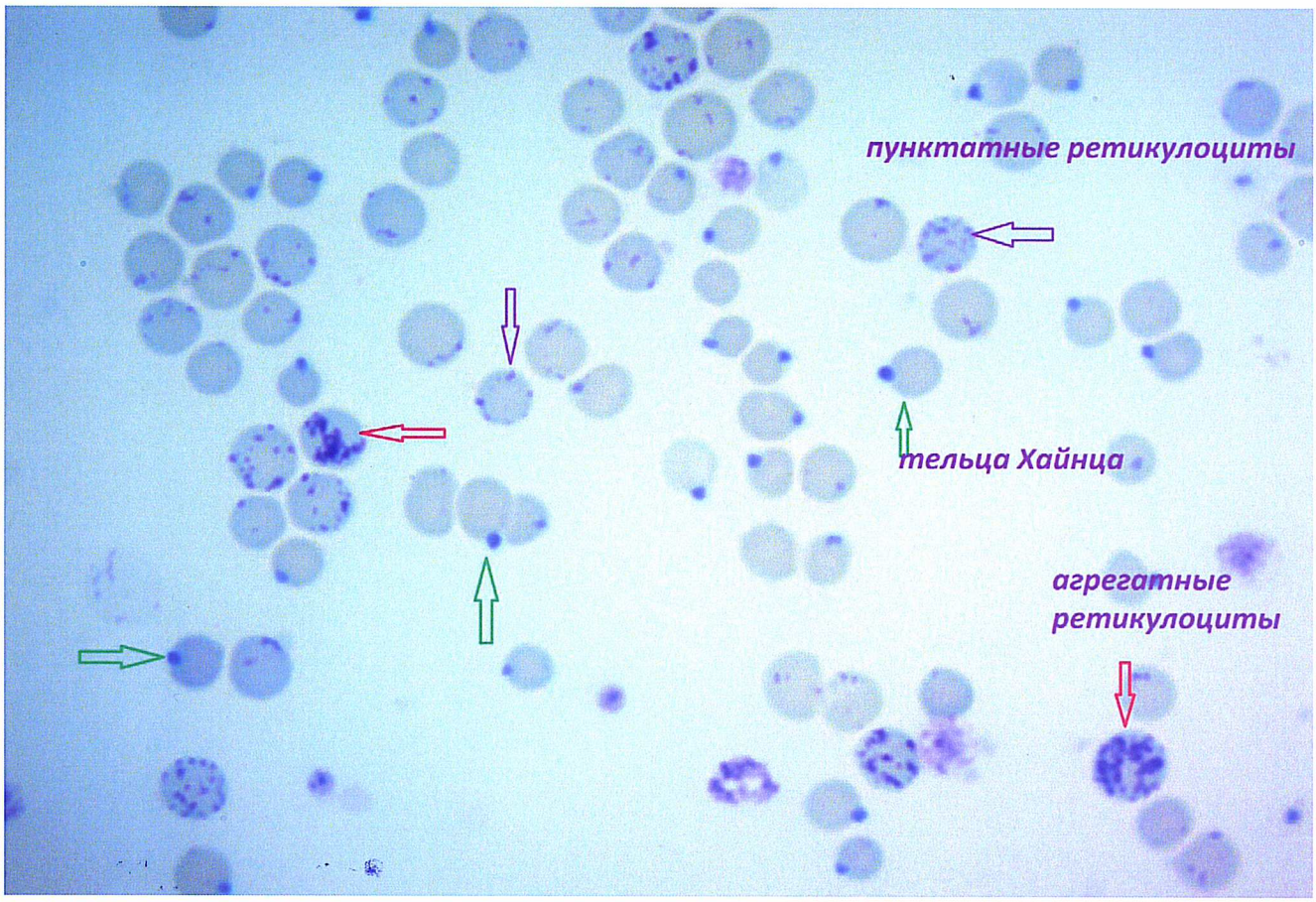




ТЕЛЬЦА ХАЙНЦА

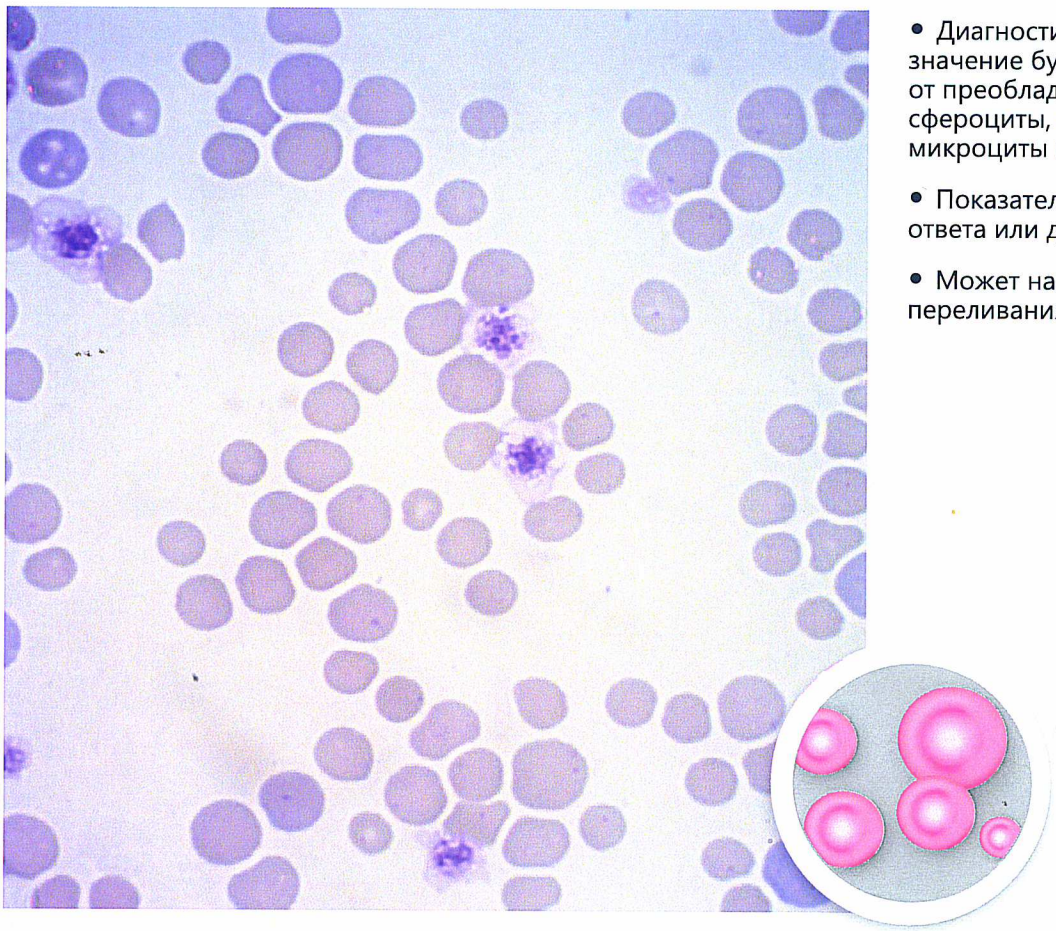


МАЗОК КРОВИ КОШКИ



АНИЗОЦИТОЗ

Появление эритроцитов разного размера

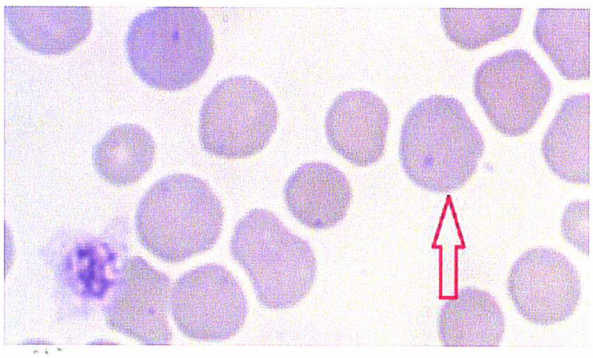


- Диагностическое значение будет зависеть от преобладающих клеток: сфероциты, полихроматофилы, микроциты и т.д.
- Показатель регенеративного ответа или дизэритропоэза
- Может наблюдаться после переливания крови

Степень выраженности	Количество клеток в поле зрения	
	собаки	кошки
+	7-15	5-8
++	16-20	9-15
+++	21-29	16-20
++++	>30	>20

МАКРОЦИТОЗ

Эритроциты, превышающие свой нормальный размер

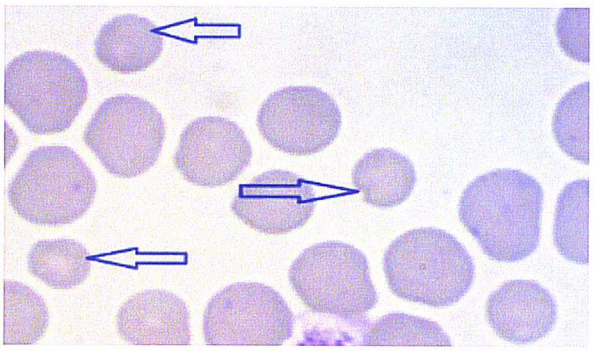


Встречаются при:

- регенеративном ответе (полихроматофилы)
- ВЛК ассоциированном миелодиспластическом синдроме у кошек или эритролейкозе
- макроцитозе пуделей (заболевание костного мозга)

МИКРОЦИТОЗ

Эритроциты уменьшенного объема



Встречаются при:

- железодефицитной анемии
- заболеваниях костного мозга
- семейном дизэритропоэзе спрингер-спаниелей
- заболеваниях печени
- портосистемном шунте



ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИЧИНЫ БОЛЕЕ НИЗКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРАСНОЙ КРОВИ

Породы с микроцитозом:

- Чау-чау
- Акита
- Сиба-ину
- Шарпей
- Хаски?
- Абиссинская кошка

↓ *Hb, MCH, MCV*










артефакт, обусловленный избытком ЭДТА!

↓

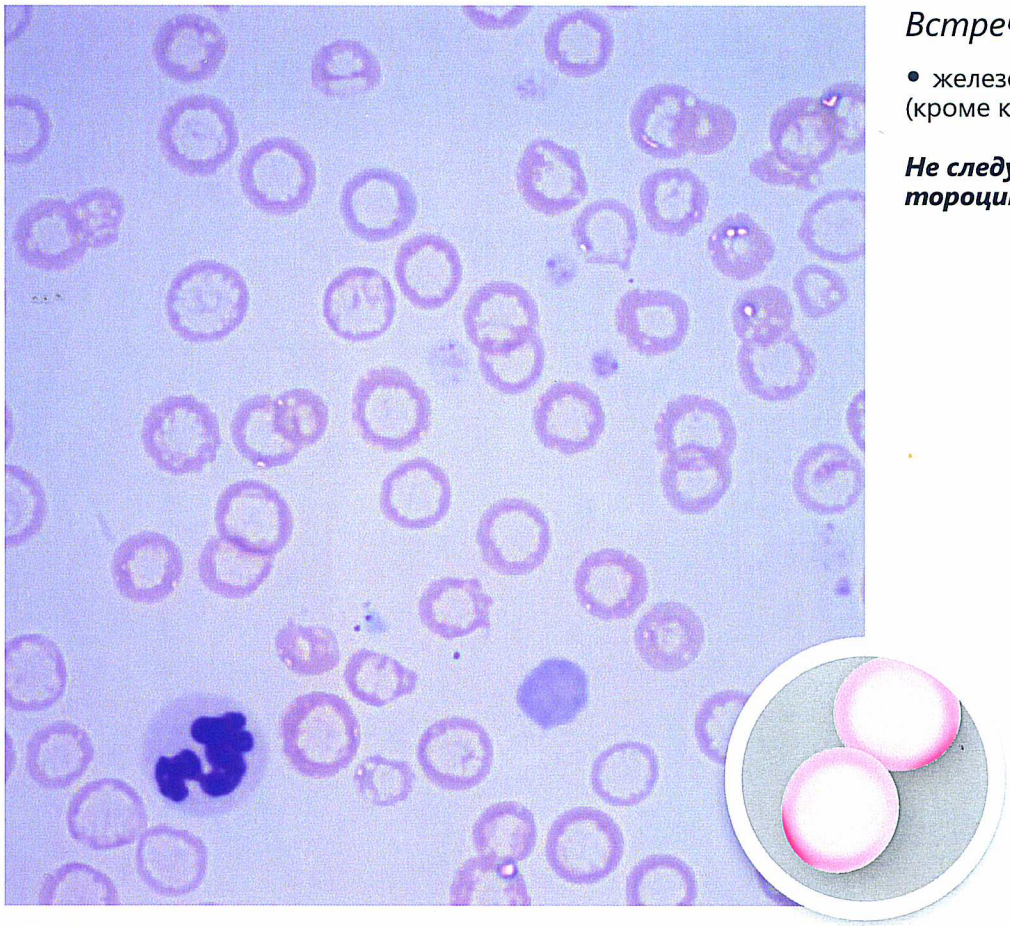
сморщивание эритроцитов

↓

MCV

ГИПОХРОМИЯ (АНУЛОЦИТЫ)

Зрелые эритроциты с увеличенной центральной зоной просветления и тонким бледно-розовым ободком гемоглобина



Встречаются при:

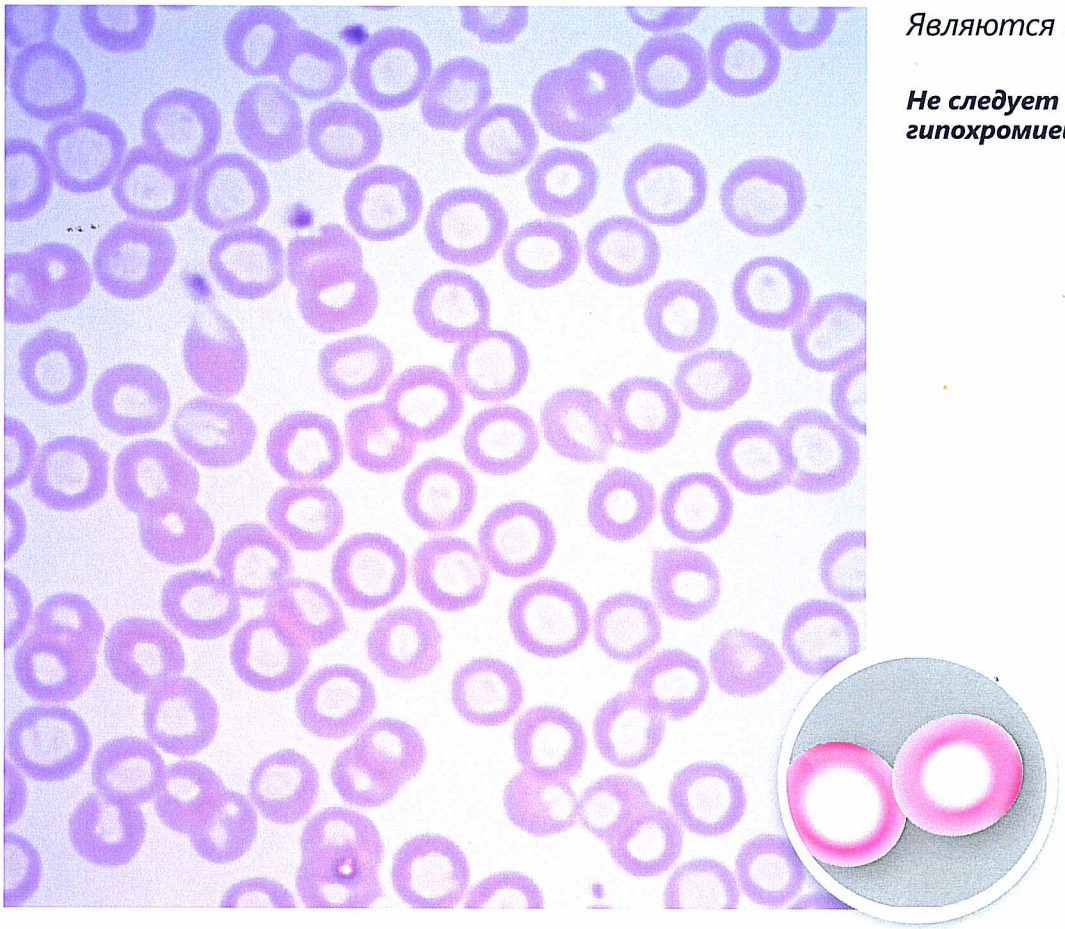
- железодефицитной анемии (кроме кошек и лошадей)

Не следует путать с тороцитами!

Степень выраженности	Количество клеток в поле зрения, собаки, кошки
+	1-10
++	11-50
+++	51-200
++++	>200

ТОРОЦИТЫ

Зрелые эритроциты с увеличенной центральной зоной просветления и толстым ярко-розовым ободком гемоглобина (эритроциты с пробитым центром)

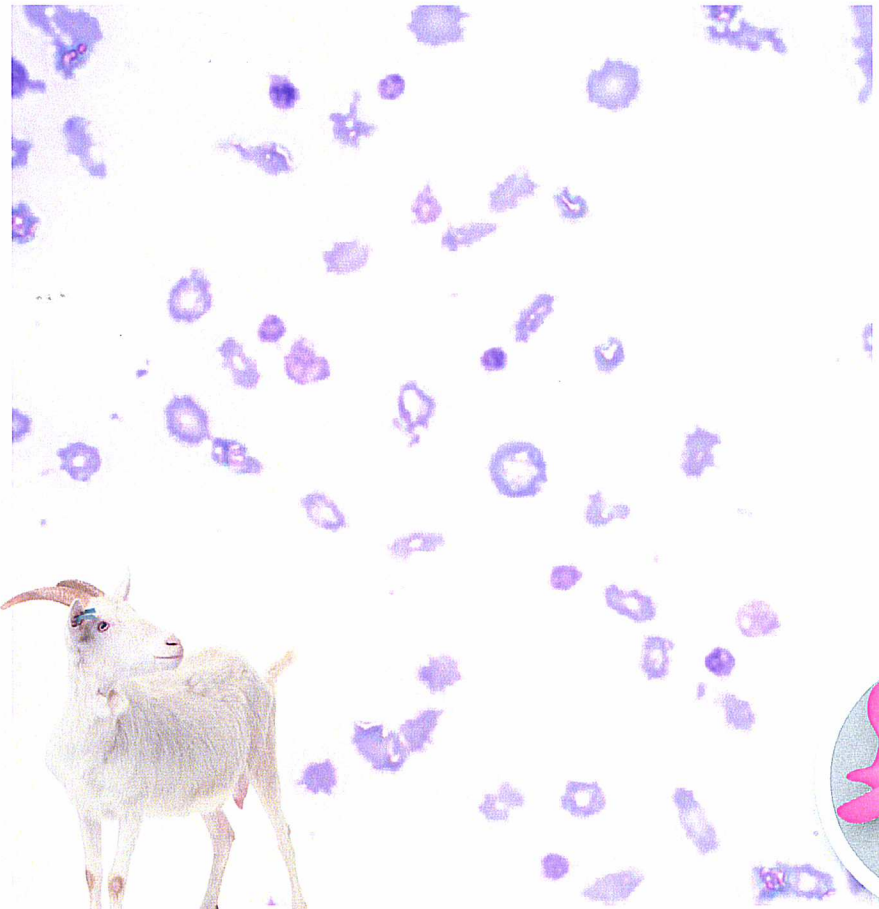


Являются артефактом

Не следует путать с гипохромией!

ПОЙКИЛОЦИТОЗ

Общий термин, характеризующий появление эритроцитов разной формы





Встречаются в норме у коз и телят

Причины формирования:

- артефакт *in vitro* (эхиноциты, акантоциты)
- фрагментация (шистоциты, кератоциты)
- потеря мембраны (сфероциты) патологические изменения мембраны (акантоциты, стоматоциты)
- избыток мембраны по сравнению с цитоплазмой (клетки-мишени)

Степень выраженности	Количество клеток в поле зрения, собаки, кошки
+	3-10
++	11-50
+++	51-200
++++	>200

ЛЕПТОЦИТЫ: кодоциты (мишеневидные эритроциты) сложенные эритроциты, книзоциты

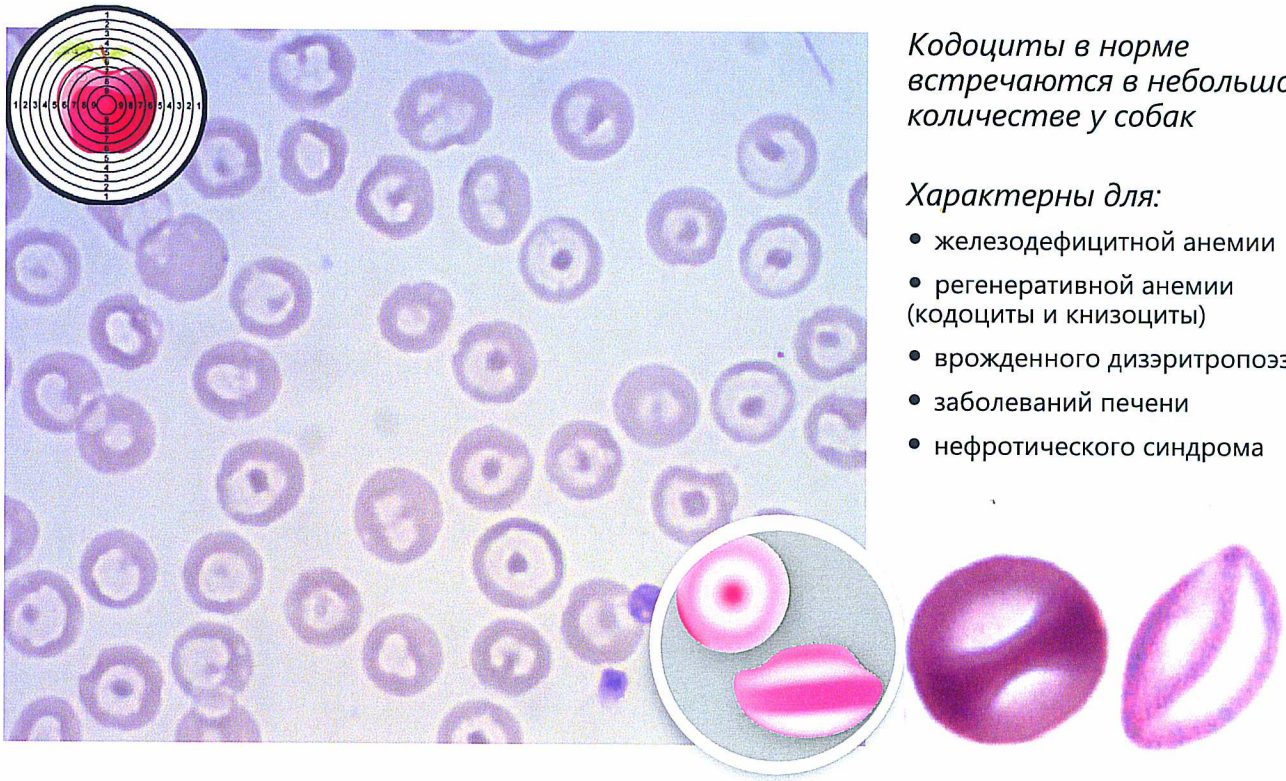
Лептоциты – тонкие, гипохромные эритроциты с избытком клеточной мембраны

Кодоциты имеют темную центральную область, зону просветления и темный ободок цитоплазмы по периферии

Сложенные эритроциты имеют складку в мембране

Книзоциты – эритроциты с центральным гемоглобиновым стержнем

Полихроматофилы часто принимают форму лептоцитов



Кодоциты в норме встречаются в небольшом количестве у собак

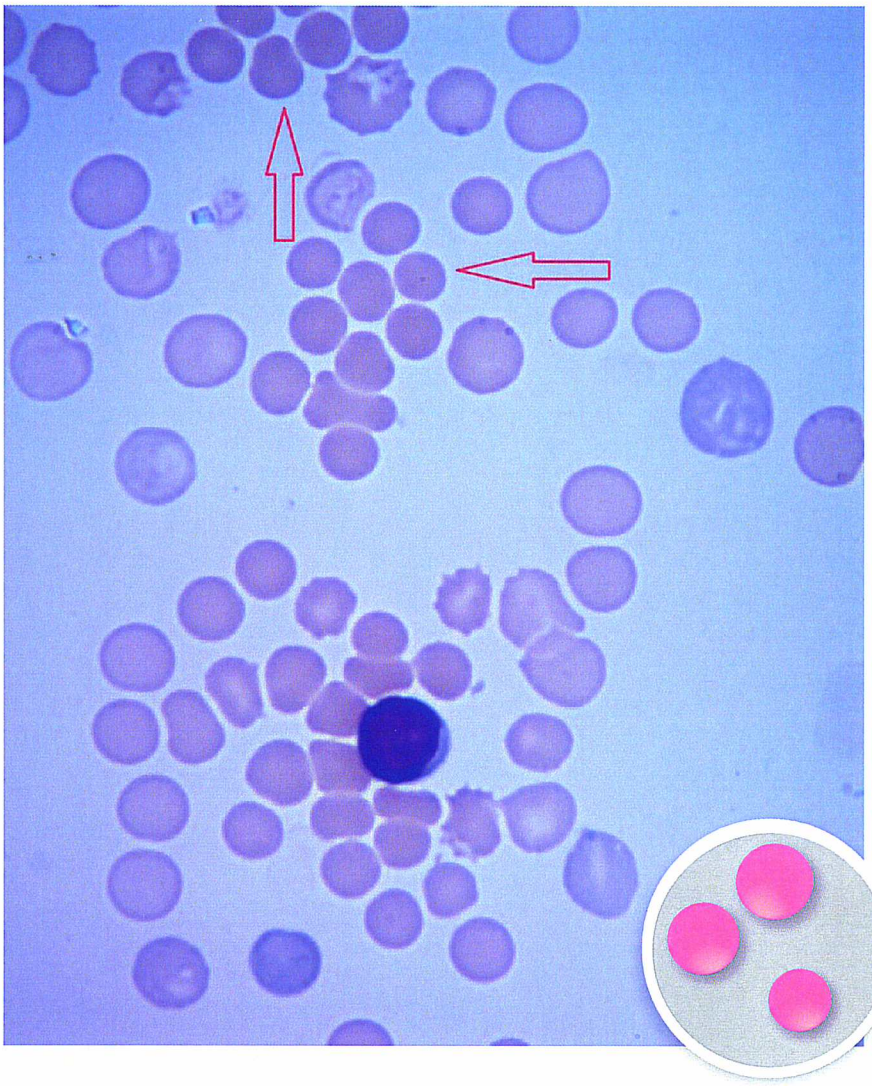
Характерны для:

- железодефицитной анемии
- регенеративной анемии (кодоциты и книзоциты)
- врожденного дизэритропоэза
- заболеваний печени
- нефротического синдрома

Степень выраженности	Количество клеток в поле зрения, собаки, кошки
+	3-5
++	6-15
+++	16-30
++++	>30

СФЕРОЦИТЫ

Мелкие интенсивно окрашенные эритроциты без центральной зоны просветления (<2/3 d эритроцита)

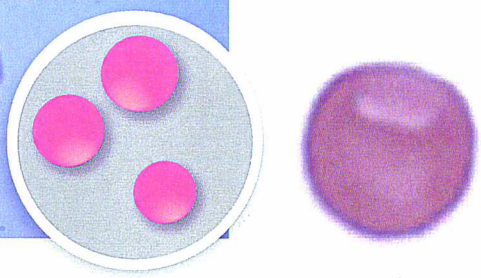


Причины возникновения:

- ИОГА
- укусы змей и пчел
- отравление цинком
- гемолитическая анемия с тельцами Хайнца
- микроангиопатическая анемия
- опухоли (лимфома, гемангиосаркома)
- гемотрансфузии хранившейся крови
- бабезиоз
- семейный дизэритропоэз

Оцениваются только в монослое!

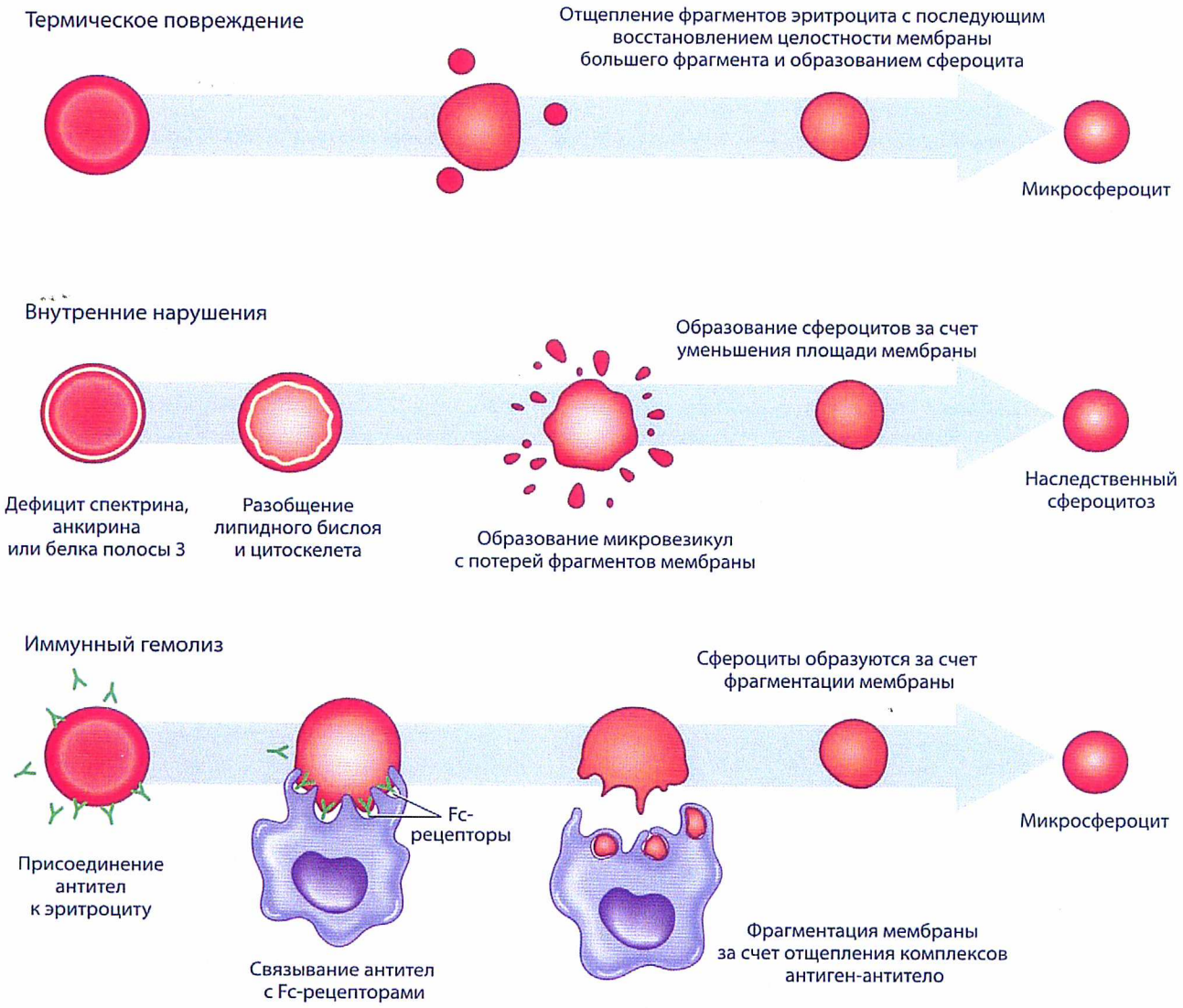
Не визуализируются у кошек!



Стоматосфероциты – сфероциты с углублениями на одной стороне

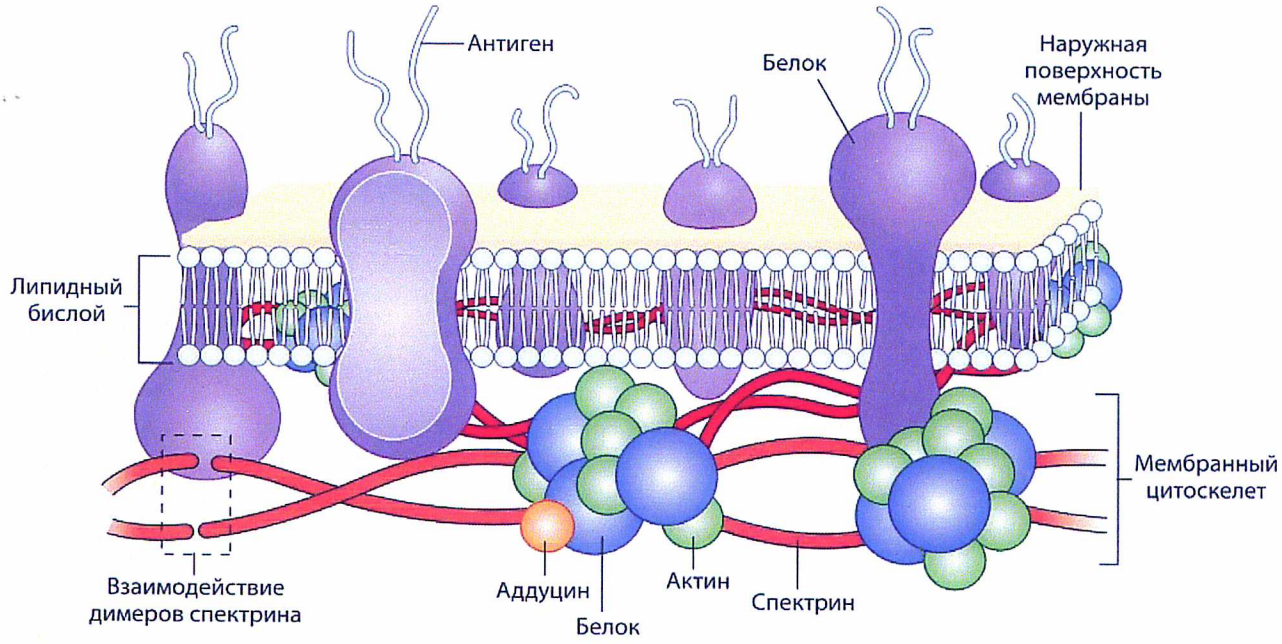


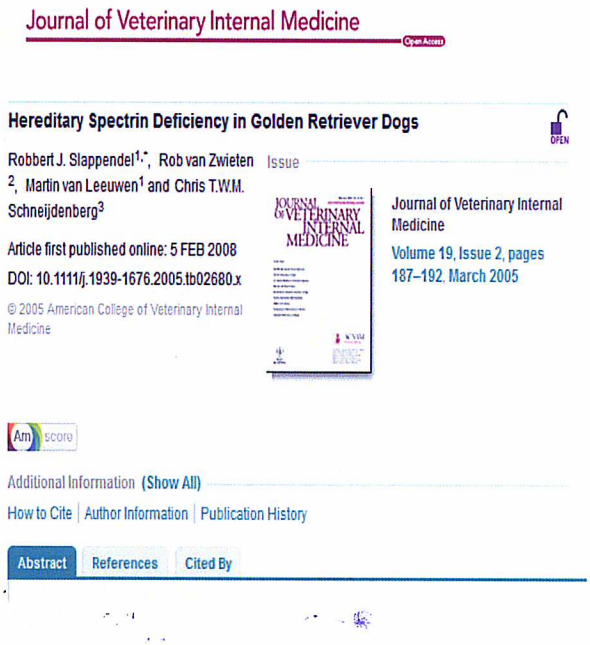
СФЕРОЦИТЫ
МЕХАНИЗМ ОБРАЗОВАНИЯ



НАСЛЕДСТВЕННЫЙ СФЕРОЦИТОЗ ЗОЛОТИСТЫХ РЕТРИВЕРОВ

- *Дефицит спектрина (белок, составляющий цитоскелет) вызывает осмотическую хрупкость эритроцитов*
- *В мазках крови отсутствуют сфероциты*





Journal of Veterinary Internal Medicine

Hereditary Spectrin Deficiency in Golden Retriever Dogs

Robbert J. Slappendel[1,*], Rob van Zwieten[2], Martin van Leeuwen[1] and Chris T.W.M. Schneijdenberg[3]

Article first published online: 5 FEB 2008

DOI: 10.1111/j.1939-1676.2005.tb02680.x

© 2005 American College of Veterinary Internal Medicine

Issue

Journal of Veterinary Internal Medicine

Volume 19, Issue 2, pages 187–192, March 2005

Additional Information (Show All)

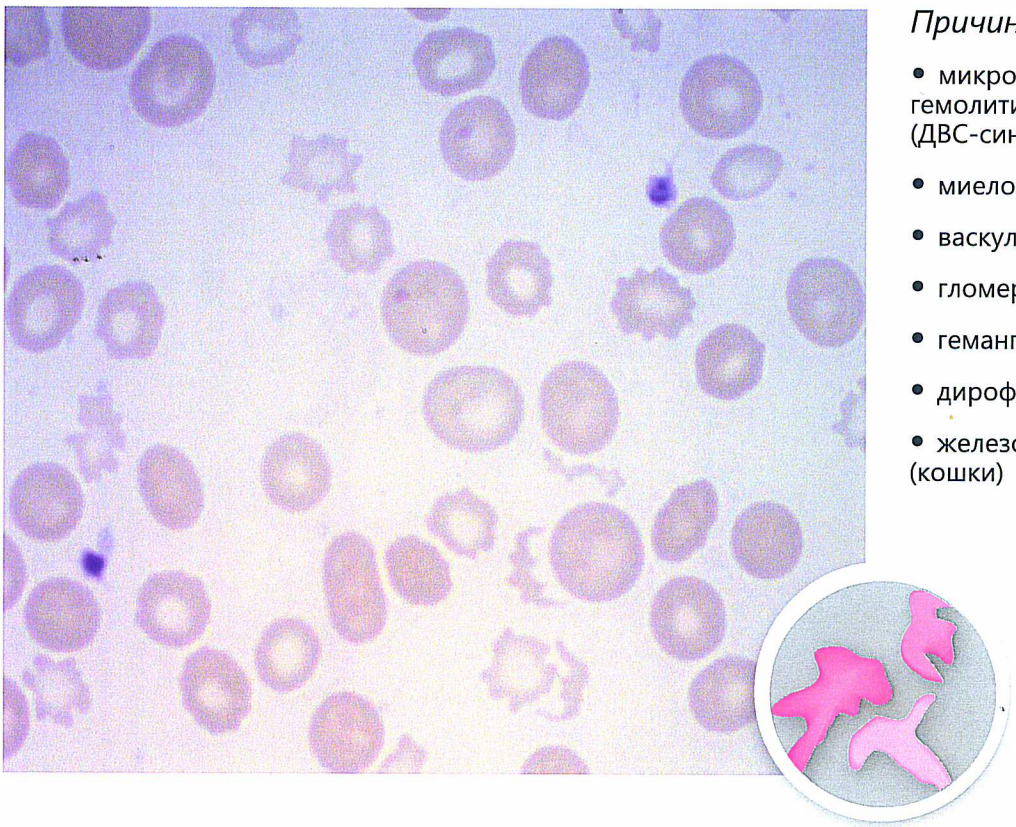
How to Cite | Author Information | Publication History

Abstract | References | Cited By



ШИСТОЦИТЫ

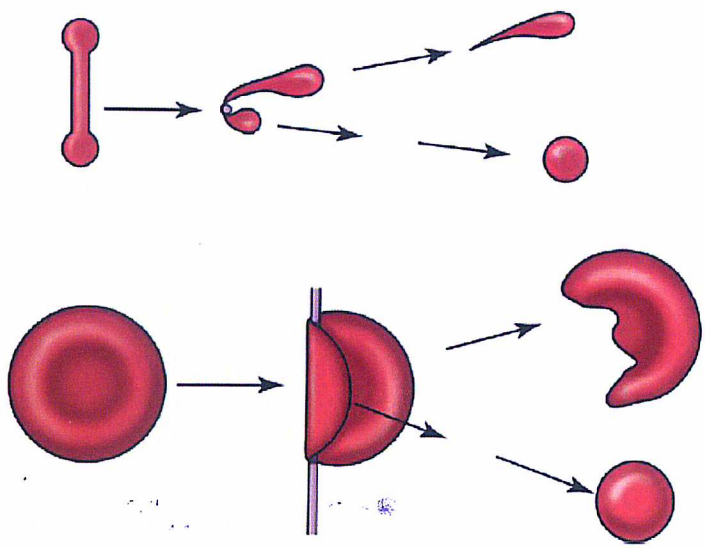
Фрагментированные эритроциты, часто имеют треугольную форму с заостренными концами, меньше эритроцита



Причины возникновения:

- микроангиопатическая гемолитическая анемия (ДВС-синдром)
- миелофиброз
- васкулит
- гломерулонефрит
- гемангиосаркома
- дирофиляриоз
- железодефицитная анемия (кошки)

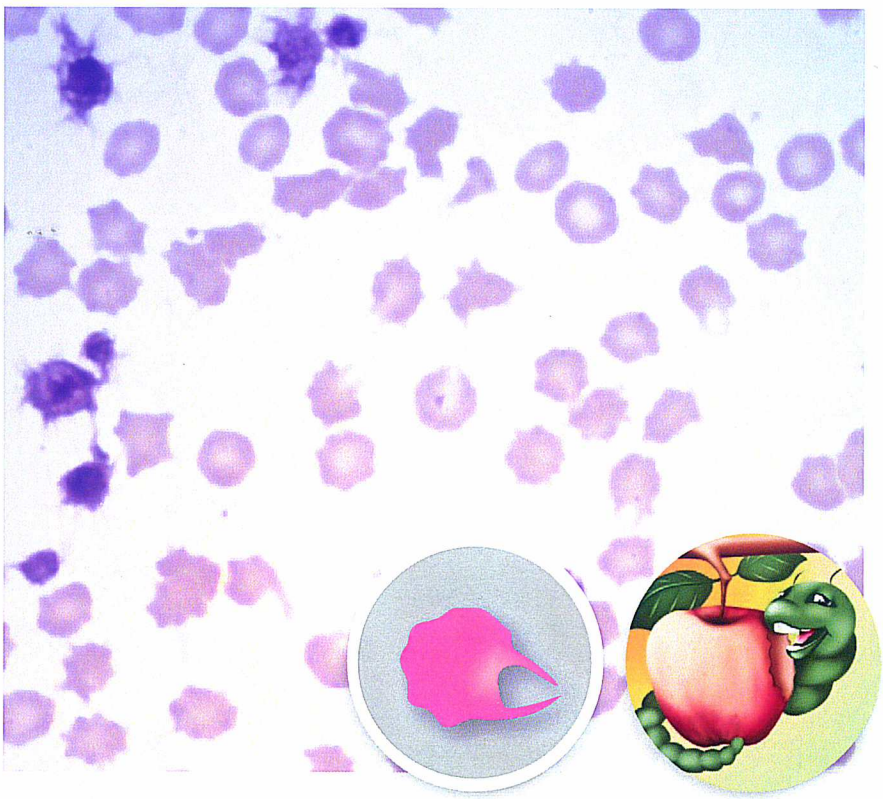
МЕХАНИЗМ ФОРМИРОВАНИЯ



КЕРАТОЦИТЫ (пузырьчатые или шлемовидные эритроциты)

Кератоциты – эритроциты с единичными или множественными разрывами по периферии клетки

Прекератоциты – эритроциты с дыркой (пузырьчатые клетки)



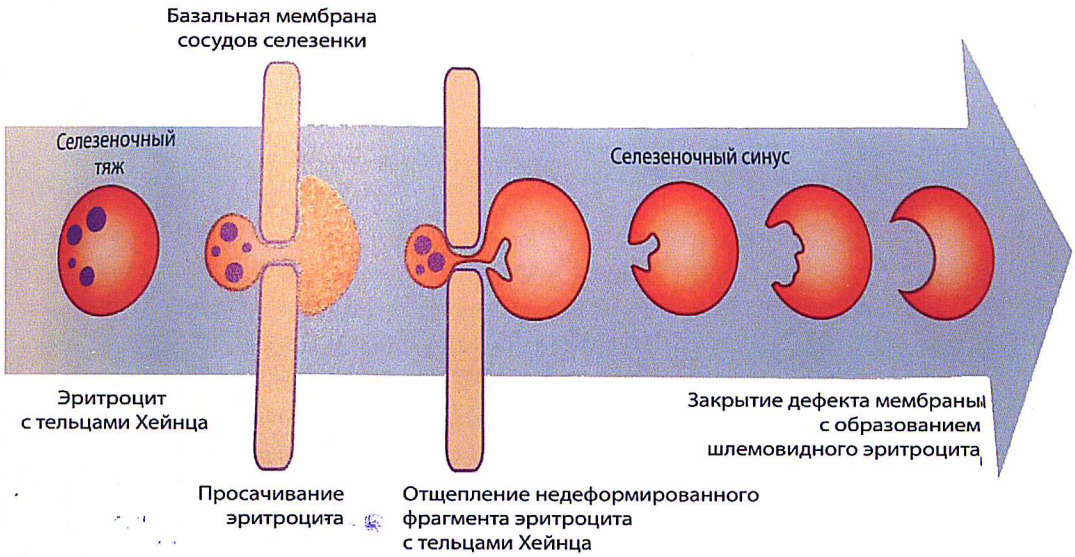
Появляются при травмировании эритроцитов или после удаления телец Хайнца селезенкой.

Могут быть артефактом при длительном хранении крови у кошек.

Встречаются при:

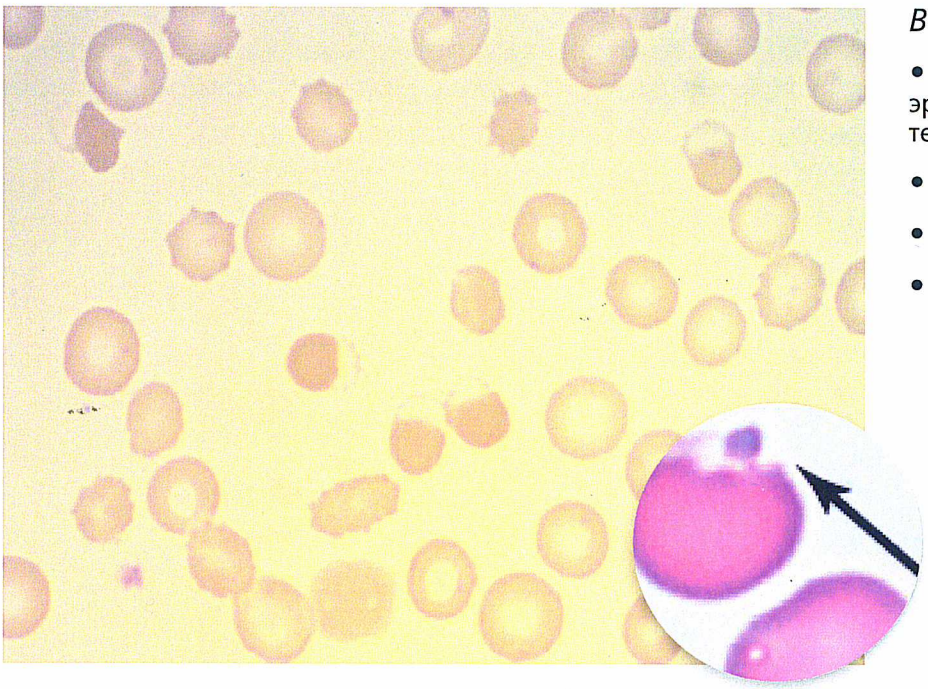
- гемангиосаркоме
- ДВС-синдроме
- заболеваниях печени
- железодефицитной анемии
- миелодиспластическом синдроме

МЕХАНИЗМ ФОРМИРОВАНИЯ



ЭКСЦЕНТРОЦИТЫ (ПОЛУТЕНИ)

Эритроциты, в которых гемоглобин смещен в одну сторону, оставляя другую пустой



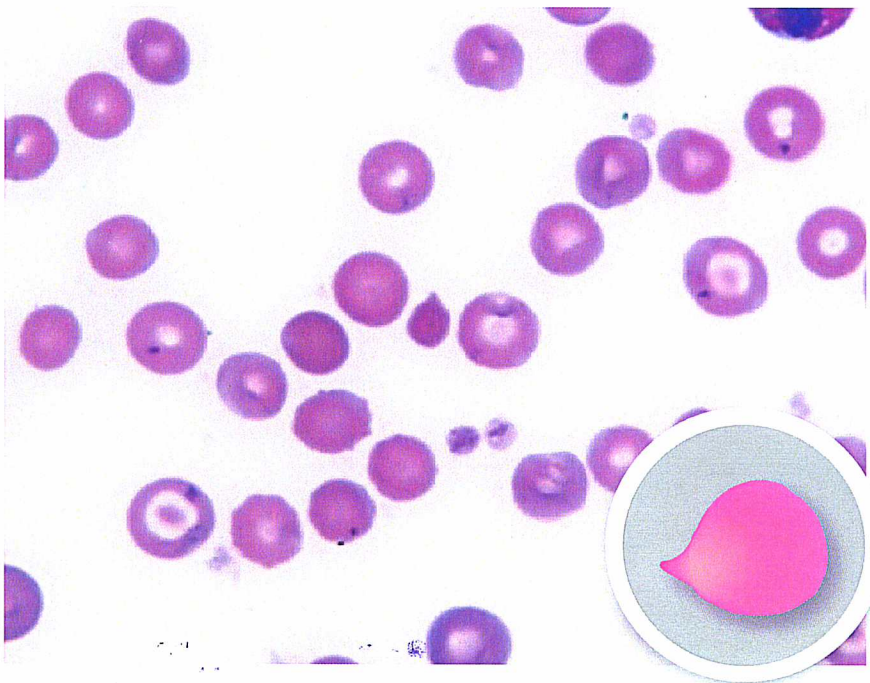
Встречаются при:

- окислительном повреждении эритроцитов, часто вместе с тельцами Хайнца
- диабетическом кетоацидозе
- опухолях (лимфоме)
- бабезиозе



ПИКНОЦИТЫ

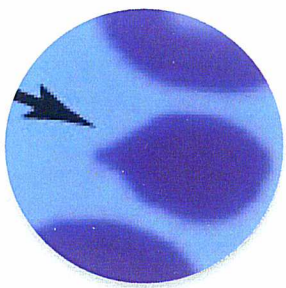
Мелкие интенсивно окрашенные эритроциты без зоны просветления, могут иметь как сферическую, так и неправильную форму с выступами цитоплазмы



Встречаются при:

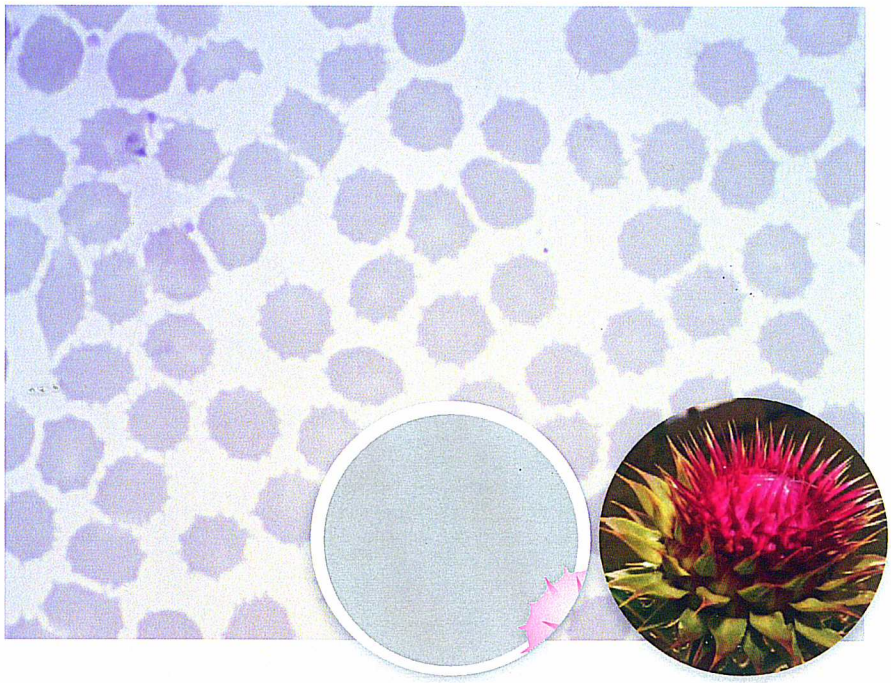
- окислительном повреждении эритроцитов вместе с эксцентроцитами

Не следует путать со сфероцитами!



ЭХИНОЦИТЫ

Клетки-«колючки» или клетки-«ягодки», шиповидные эритроциты, имеющие одинаковые выступы по всей поверхности клетки, выступы могут быть как острыми, так и притупленными



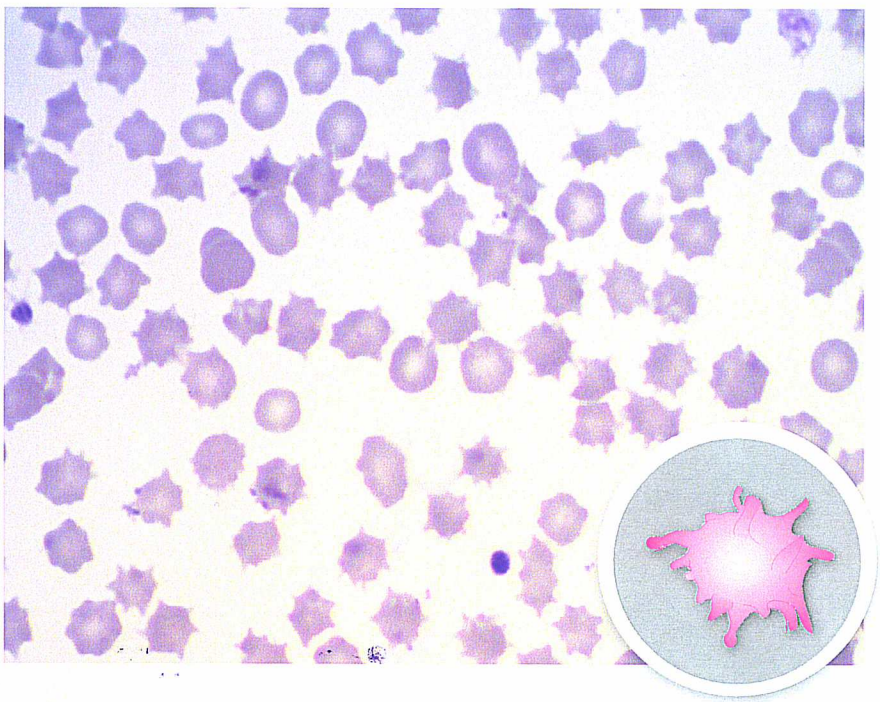
Артефакты при избытке ЭДТА, неправильном приготовлении мазка, долгом хранении крови

Встречаются при:

- укусах змей и пчел
- дегидратации
- уремии
- после гемотрансфузий хранившейся крови
- гломерулонефрите
- опухолях (лимфоме, гемангиосаркоме, мастоцитоме, карциноме)
- дефиците пируват- и фосфофруктокиназы у собак

АКАНТОЦИТЫ (ШПОРООБРАЗНЫЕ КЛЕТКИ)

Эритроциты с множественными неравномерными выступами на поверхности.



В норме у коз

Встречаются при:

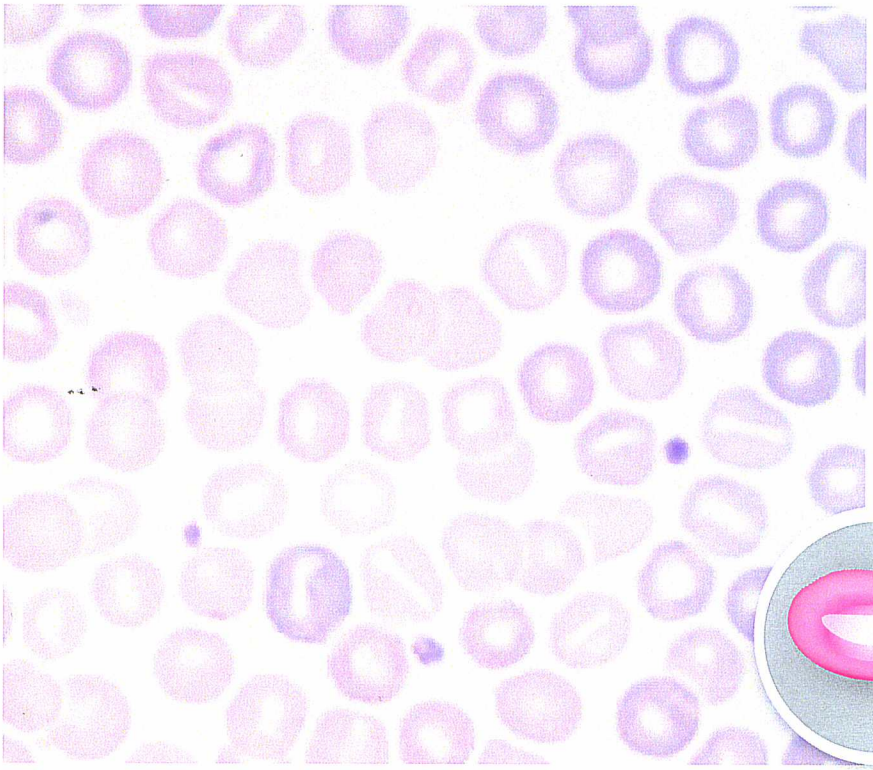
- нарушениях липидного обмена
- заболеваниях печени
- заболеваниях селезенки
- фрагментации эритроцитов:
  – гемангиосаркоме
  – ДВС-синдроме

Не следует путать с эхиноцитами!



СТОМАТОЦИТЫ

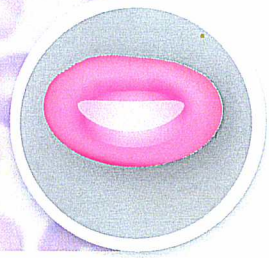
Эритроциты с центральной зоной просветления в виде овала или «рта» (клетки-«улыбки»)



Артефакт (плотная часть мазка)

Встречаются при:

- хондродисплазии, анемии и стоматоцитозе аляскинских маламутов
- стоматоцитозе шнауцеров
- осмотической хрупкости эритроцитов сомалийских и абиссинских кошек





НАСЛЕДСТВЕННЫЙ СТОМАТОЦИТОЗ СОБАК

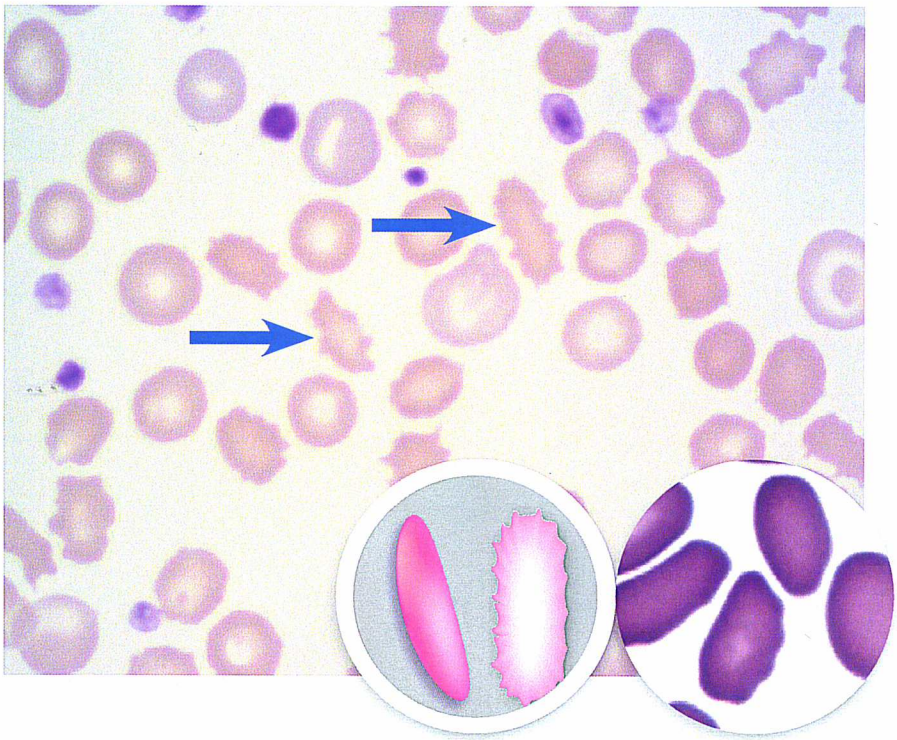
описан у маламутов, шнауцеров и померанского шпица.

- *Стоматоцитоз признан в сочетании с тремя различными наследственными синдромами у собак, что является результатом одного или более мембранных дефектов, приводящих к разбуханию эритроцитов*
- *Гемоглобин и эритроциты снижены или по нижней границе нормы, но гематокрит в норме. СЭО увеличен, а СКГЭ снижена*
- *Ретикулоциты в норме или слегка повышены*
- *Эритроциты обладают повышенной осмотичесой хрупкостью и укороченным сроком жизни*



ЭЛЛИПТОЦИТЫ (ОВАЛОЦИТЫ), ЭХИНОЭЛЛИПТОЦИТЫ

Вариант нормы для немлекопитающих и верблюжьих



У кошек встречаются при:

- патологиях костного мозга
- портосистемных шунтах
- печеночном липидозе
- лейкозах
- химиотерапии

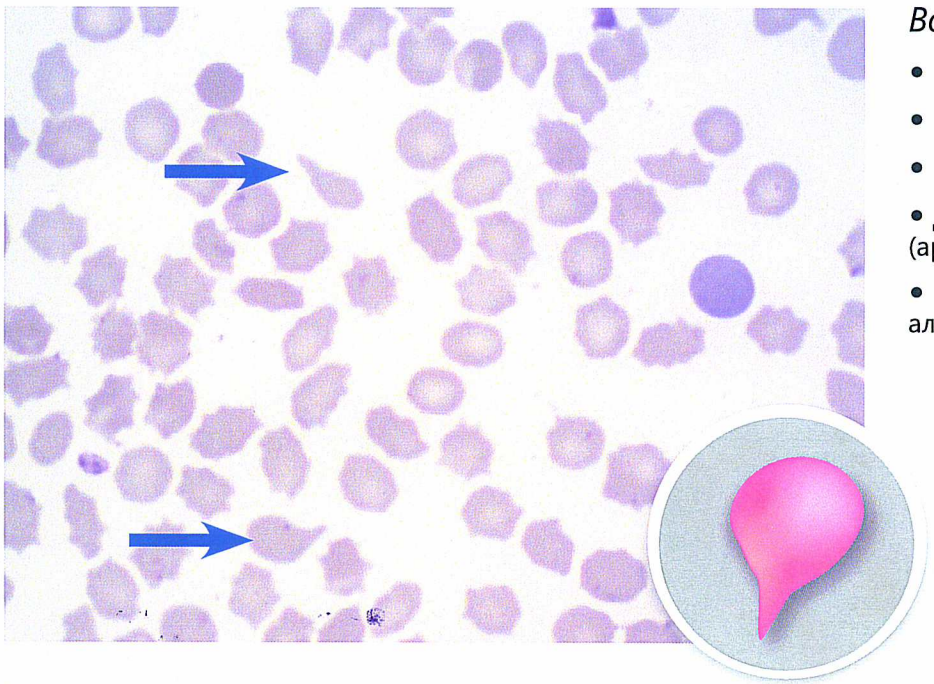
У собак при:

- миелофиброзе
- миелодиспластическом синдроме
- гломерулонефрите (эхиноэллиптоциты)
- наследственном эллиптоцитозе собак (мутация $^{\beta}$ спектрина)



ДАКРИОЦИТЫ

Каплевидные эритроциты



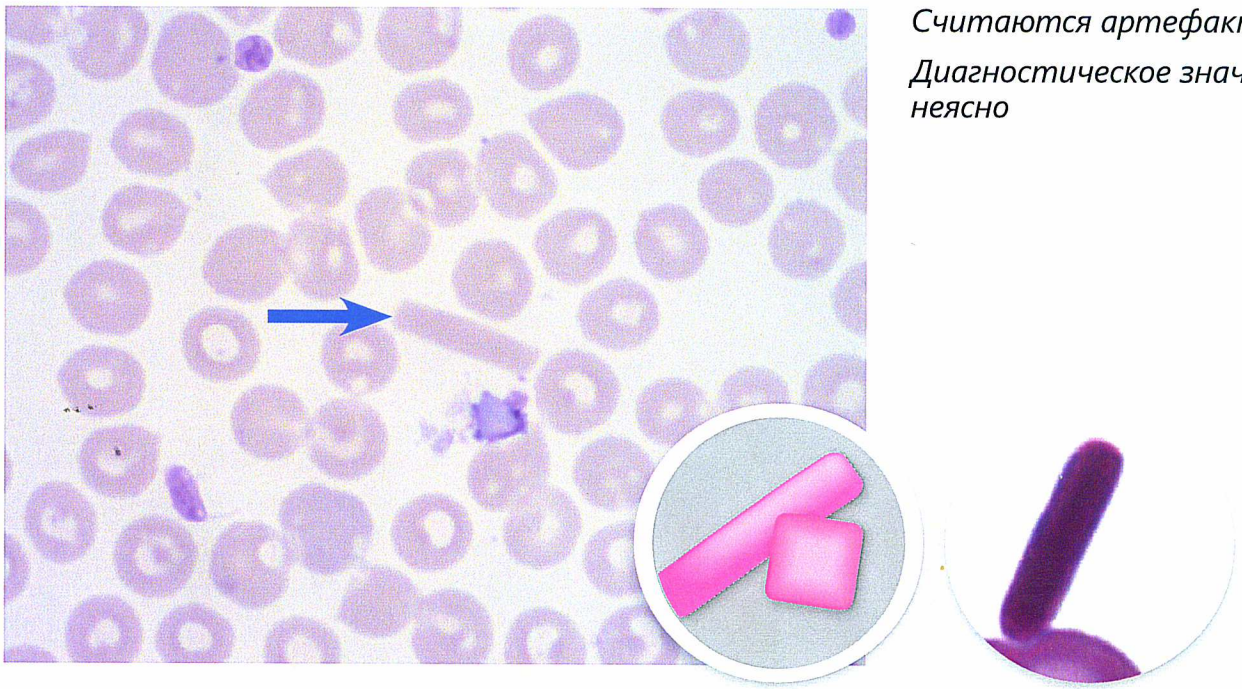
Встречаются при:

- миелоидных опухолях
- гломерулонефрите
- гиперспленизме
- длительном хранении образца (артефакт)
- железодефиците у лам и альпак



КРИСТАЛЛИЗОВАННЫЙ ГЕМОГЛОБИН

Крупные ромбовидные, прямоугольные или квадратные интенсивно окрашенные структуры

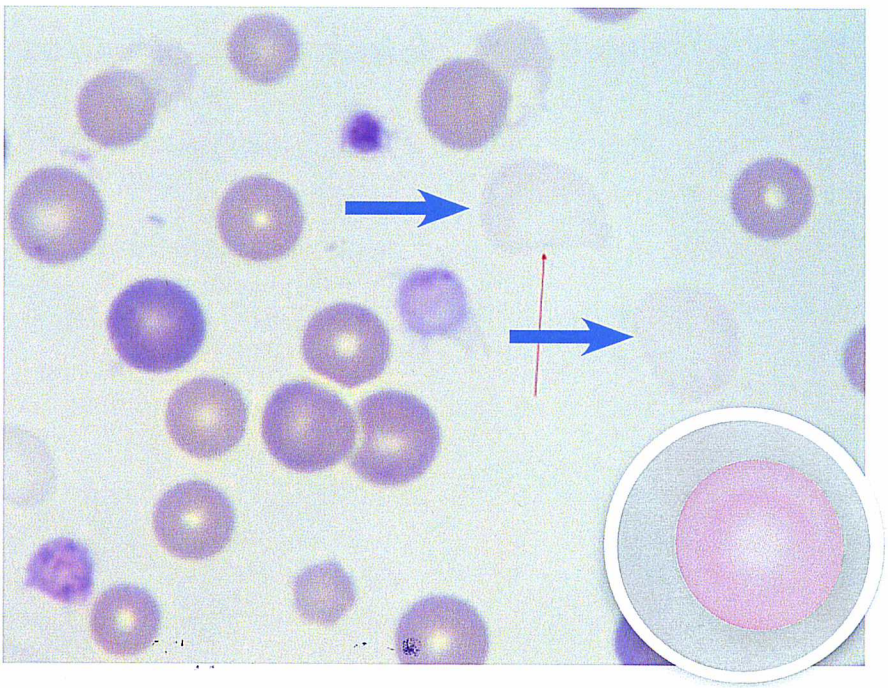


Считаются артефактом

Диагностическое значение неясно

КЛЕТКИ-ТЕНИ (ЛИЗИРОВАННЫЕ ЭРИТРОЦИТЫ)

Бледные эритроциты с минимальным количеством гемоглобина или без него



Встречаются при:

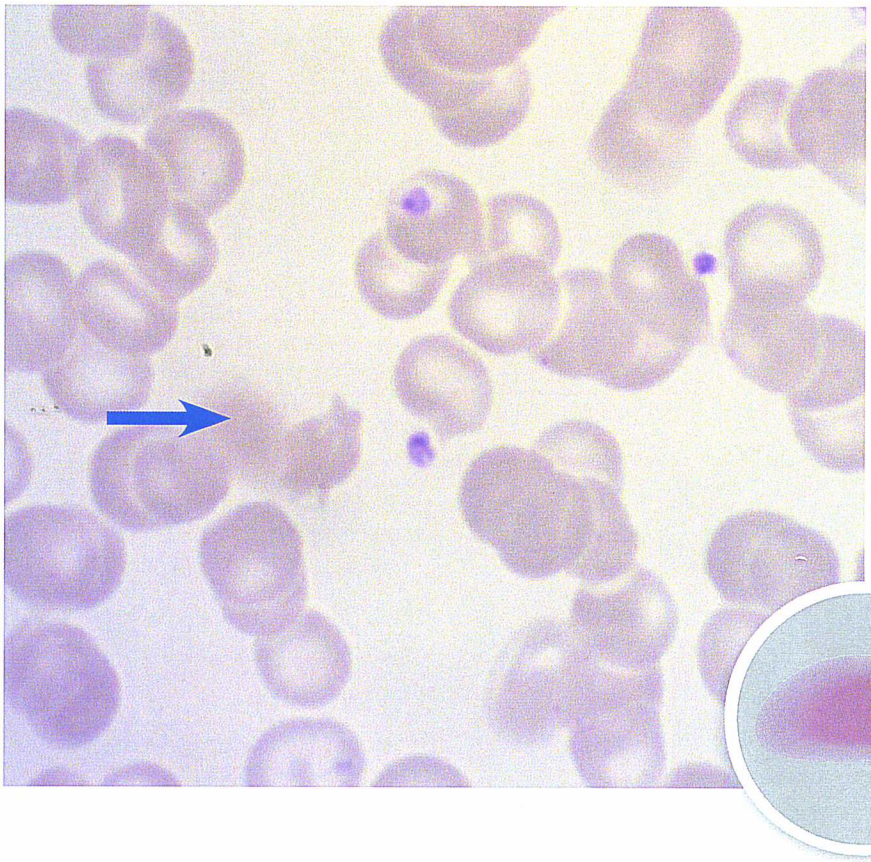
- внутрисосудистом гемолизе
- гемолизе in vitro
- неправильном приготовлении мазка крови (артефакт)

Не следует путать с эритроцитами с размытыми контурами!



ЭРИТРОЦИТЫ С РАЗМЫТЫМИ КОНТУРАМИ

Бледные эритроциты с минимальным количеством гемоглобина или без него

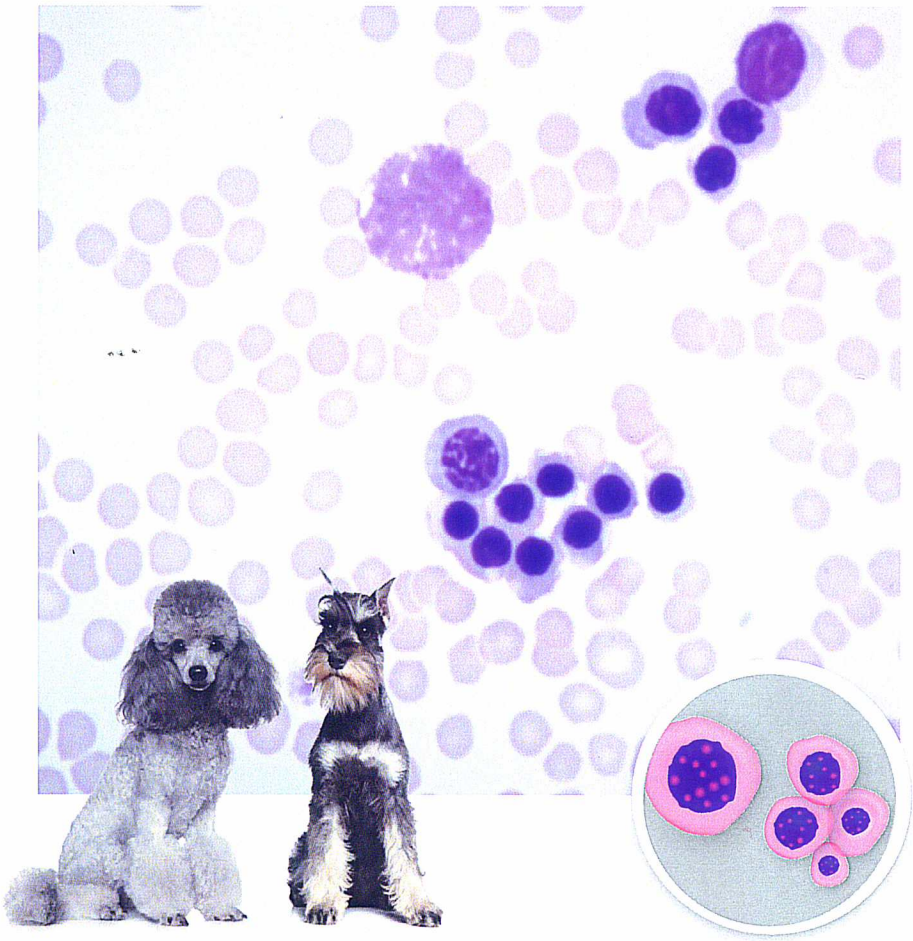


Встречаются при

- выраженном хилезе плазмы (гиперлипидемия)

Не следует путать с клетками-тенями!

ЯДРОСОДЕРЖАЩИЕ ЭРИТРОЦИТЫ (РУБРИЦИТЫ И МЕТАРУБРИЦИТЫ)



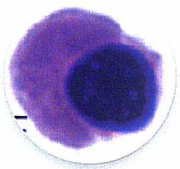
У цвергшнауцеров и миниатюрных пуделей – в норме

Причины возникновения:

- одновременно с полихроматофилами свидетельствуют о регенеративном ответе (часто при гемоплазмозе у кошек)
- при отсутствии полихроматофилов – говорят о заболеваниях костного мозга (эритролейкозе, МДС)

Могут наблюдаться при:

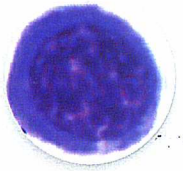
- заболеваниях селезенки
- спленэктомии
- гиперадренокортицизме и стероидной терапии
- переломах костей
- отравлении свинцом
- эндотоксическом шоке
- септицемии
- тепловом ударе
- заболеваниях сердца
- воспалительных процессах



Метарубрицит – ядро темно-фиолетовое, хроматин гладкий, пикнотичный, расположено немного эксцентрично, цитоплазма бледно-розовая или голубоватая («вишневая косточка»)



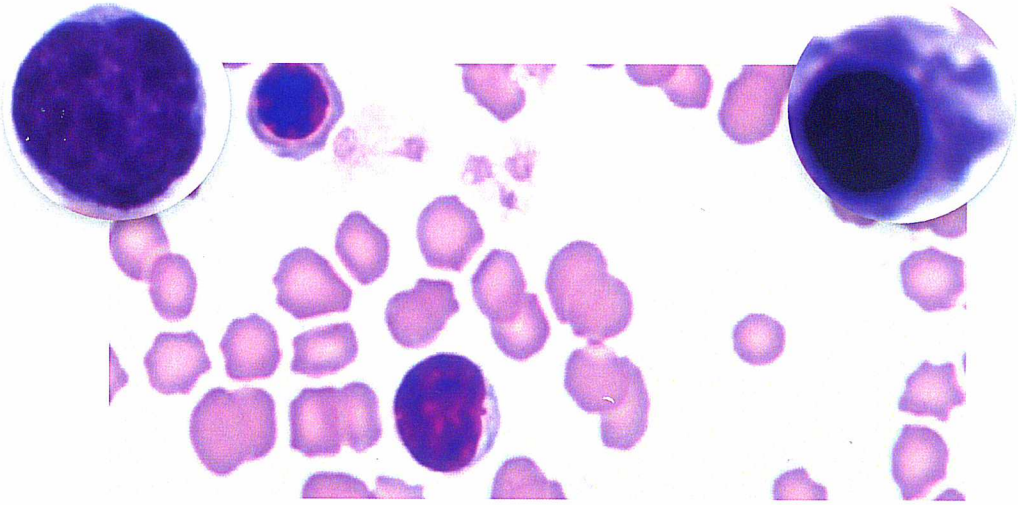
Полихроматофильный рубрицит – ядро темно-фиолетовое расположено центрально или эксцентрично, хроматин конденсированный, компактный, характерна колесовидная структура, цитоплазма голубовато-розовая



Базофильный рубрицит – ядро насыщенно-фиолетового цвета, расположено центрально, хроматин конденсирован имеет светлые и темные области, напоминая спицы в колесе, цитоплазма базофильная

Не следует путать с малыми лимфоцитами!

малый лимфоцит ***метарубрицит***



ЯДРОСОДЕРЖАЩИЕ ЭРИТРОЦИТЫ

≠

РЕГЕНЕРАТИВНЫЙ ОТВЕТ

В НОРМЕ ДОПУСТИМО 2 ЯДРОСОДЕРЖАЩИХ ЭРИТРОЦИТА НА 100 ЛЕЙКОЦИТОВ

ПОДСЧЁТ ЛЕЙКОЦИТОВ В СЛУЧАЕ БОЛЬШОГО КОЛИЧЕСТВА ЯДРОСОДЕРЖАЩИХ ЭРИТРОЦИТОВ В КРОВИ (>10)

Например:

$45x10^9$/л – общее подсчитанное количество лейкоцитов на анализаторе

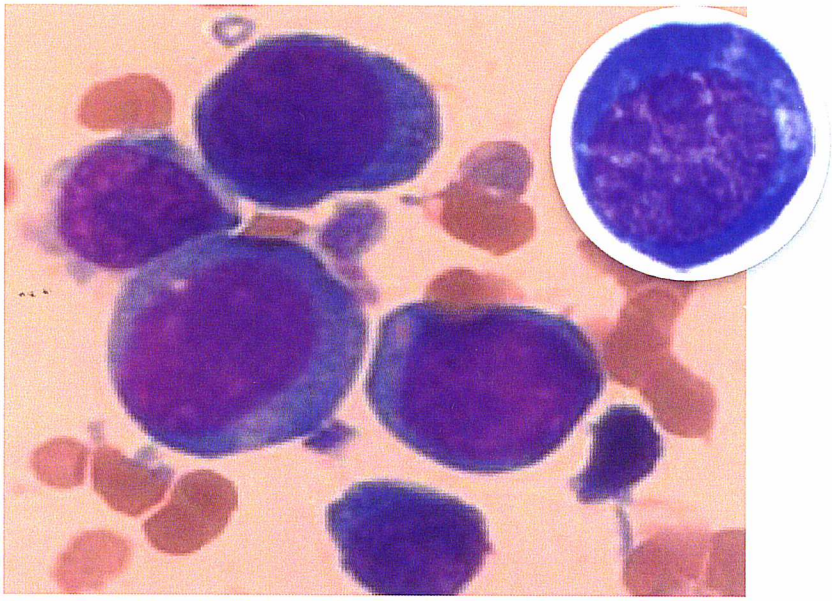
150 – общее количество лейкоцитов и ядросодержащих эритроцитов, полученное при подсчёте лейкоцитарной формулы (из них 50 – ядросодержащие эритроциты)

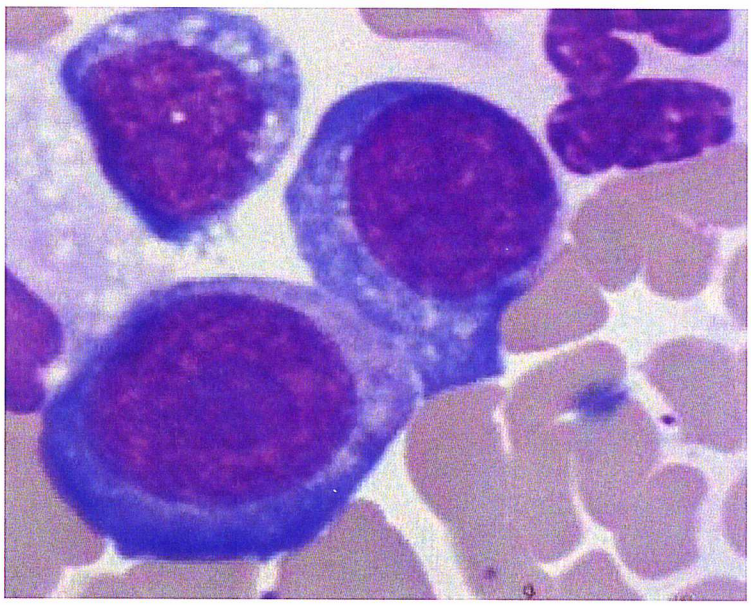
100 – количество лейкоцитов

X – скорректированное число лейкоцитов

$$x = \frac{100 \times 45 \times 10^9/л}{150} = 30 \times 10^9/л$$

ЯДРОСОДЕРЖАЩИЕ ЭРИТРОЦИТЫ (РУБРИБЛАСТЫ И ПРОРУБРИЦИТЫ)

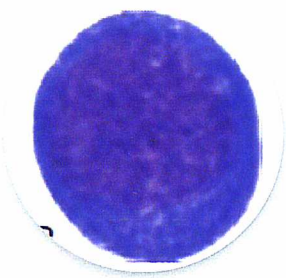




Рубрибласт – ядерно-цитоплазматическое соотношение увеличено, ядро четко округлое, хроматин мелкозернистый, в ядре визуализируются 1-3 ядрышка, цитоплазма резко базофильная

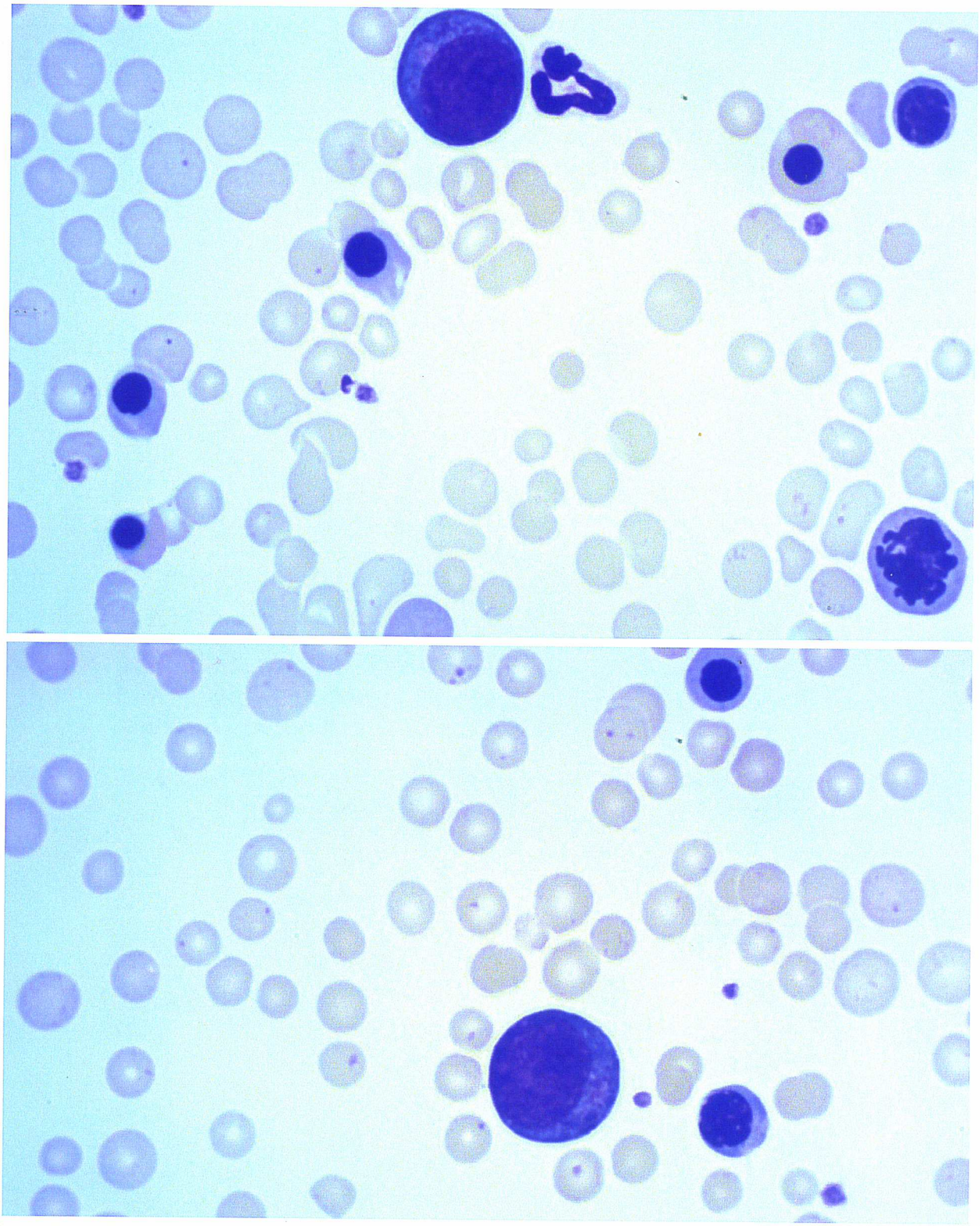
Встречаются:

- у животных с нерегенеративной анемией при миелоидном лейкозе: эритролейкозе (AML-M6)
- при тяжелой регенеративной анемии (ИОГА у собак)
- при гемоплазмозе кошек
- при восстановлении клеточной популяции костного мозга после тяжелого повреждения



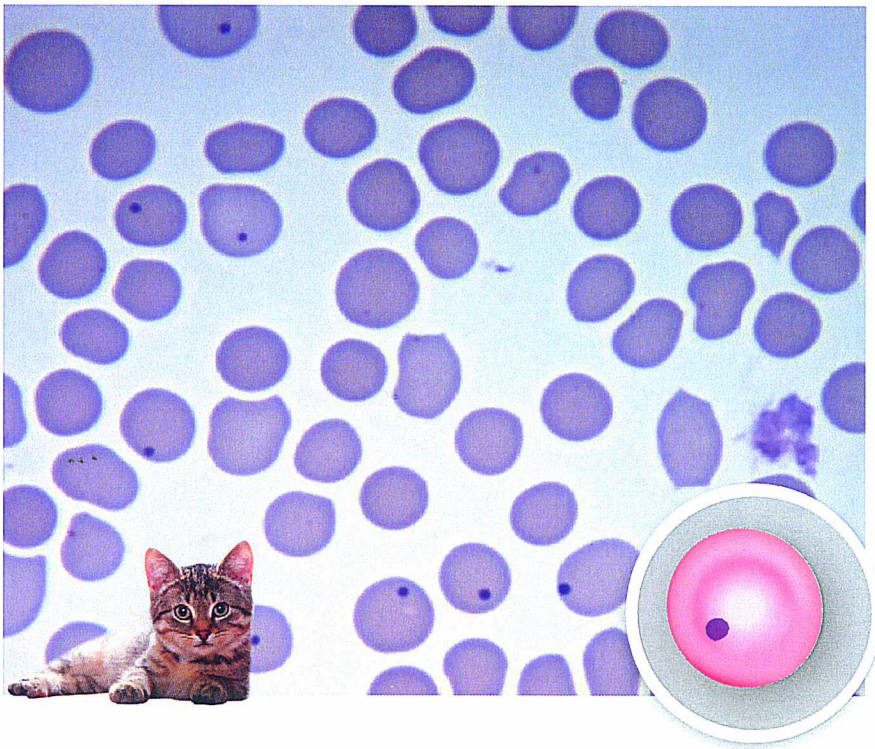
Пророубрицит – ядрышки отсутствуют, хроматин грубее, комкующийся, ядерно-цитоплазматическое соотношение уменьшенное

МАЗОК КРОВИ КОТА С ЭРИТРОЛЕЙКОЗОМ



ТЕЛЬЦА ХАУЭЛЛА-ЖОЛЛИ (МИКРОЯДРА)

Мелкие сферические темно-фиолетовые остатки ядер в эритроцитах



У кошек и лошадей в норме встречаются в небольшом количестве

Характерны для:

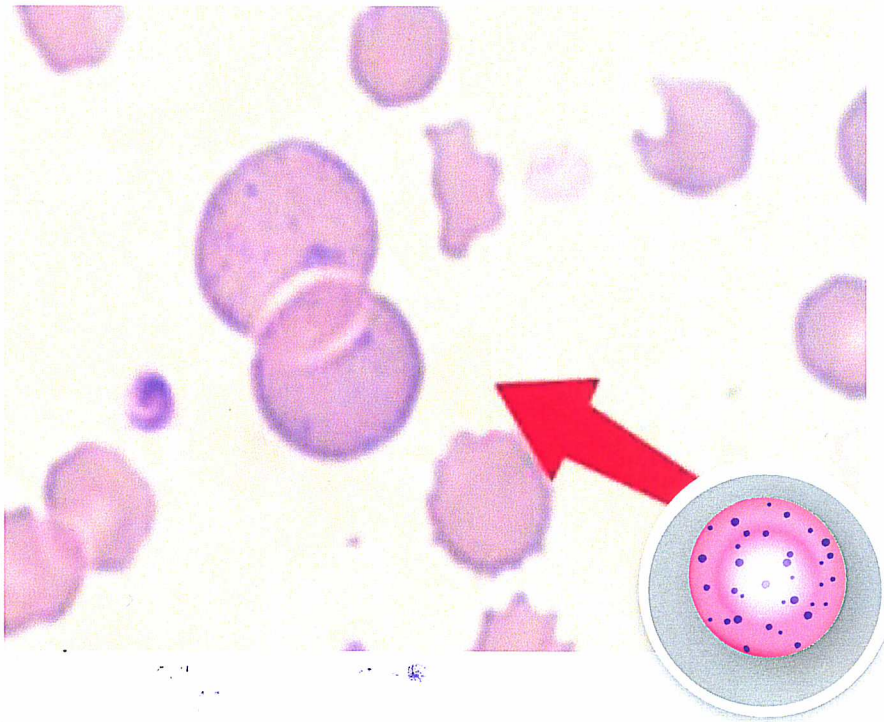
- регенеративной анемии
- спленэктомии
- стероидной и химиотерапии
- макроцитозе пуделей

Не следует путать с эритроцитарными кровепаразитами!



БАЗОФИЛЬНАЯ ЗЕРНИСТОСТЬ

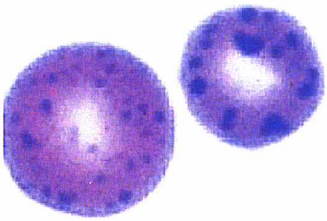
Рибосомы и полирибосомы агрегируют, формируя диффузные слабо различимые пунктатные включения синего цвета в эритроцитах



Встречается при:

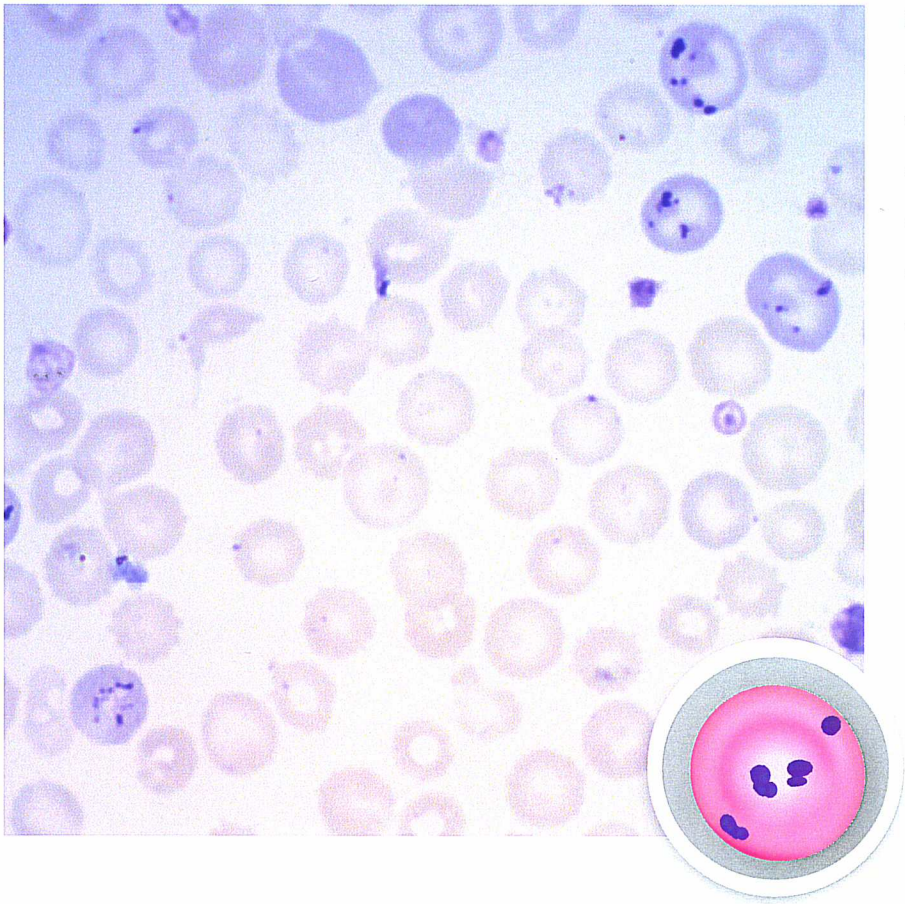
- регенеративной анемии
- отравлении свинцом
- дизэритропоэзе с кольцами Кебота у собак

Не следует путать с сидеротическими включениями!



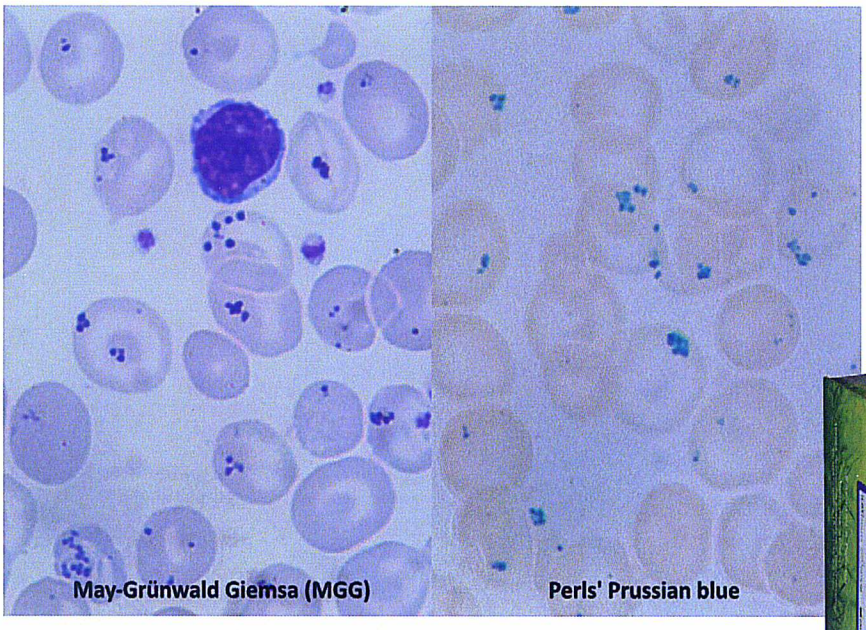
СИДЕРОТИЧЕСКИЕ ВКЛЮЧЕНИЯ (ТЕЛЬЦА ПАППЕНГЕЙМЕРА)

Железосодержащие базофильные агрегаты расположенные эксцентрически или по периферии эритроцита



Встречаются при:

- гемолитических анемиях
- лечении хлорамфениколом
- отравлении свинцом
- отравлении цинком
- миелоидных лейкозах
- дизэритропоэзе



Окраска по Перльсу на сидероциты

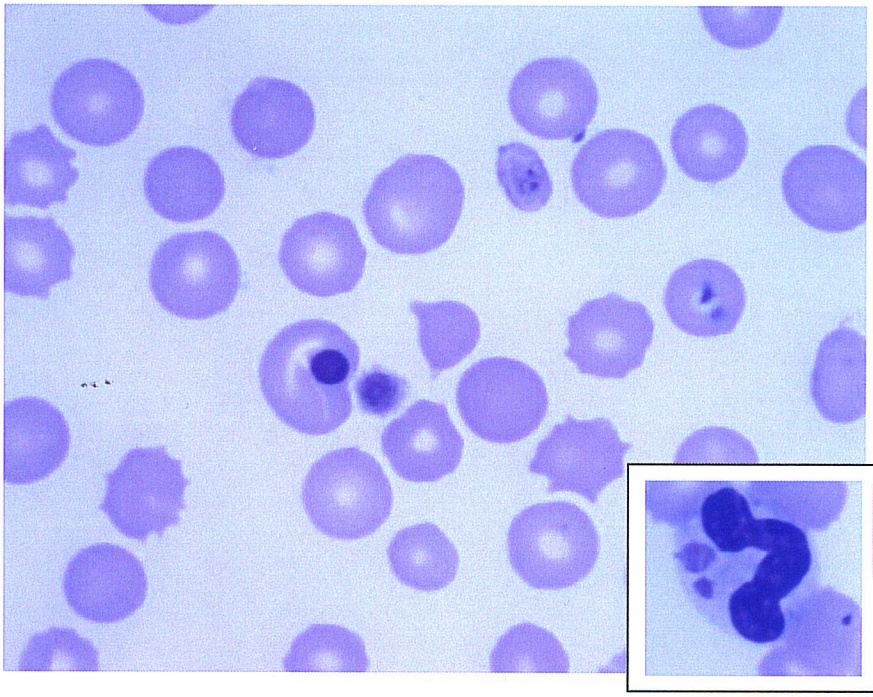
Используется для:

- подтверждения наличия железа в клетках крови
- оценки запасов железа в биоптатах костного мозга



ВКЛЮЧЕНИЯ ВИРУСА ЧУМЫ (агрегаты вирусных нуклеокапсидов)

Крупные округлые или овальные включения, красного или серо-голубого цвета



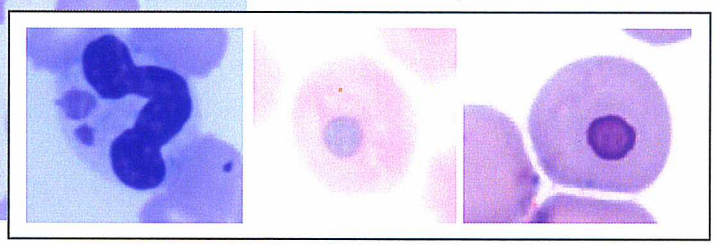
Могут встречаться во всех клеточных линиях!

Ярче окрашиваются быстрыми красителями (Diff-Quik)

Встречаются при:

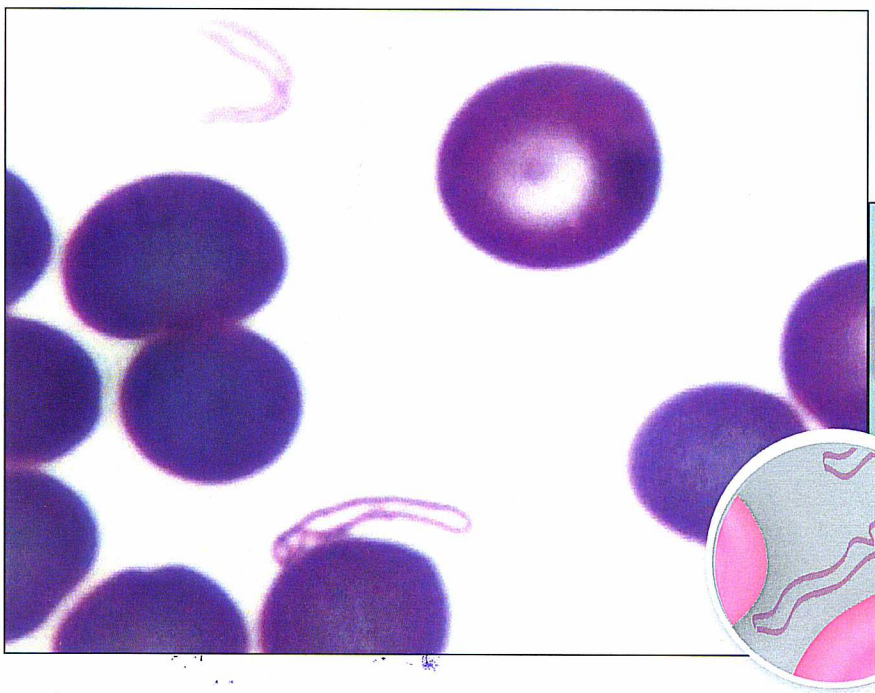
- вирусе чумы-стадия виремии

Не следует путать с тельцами Жолли!



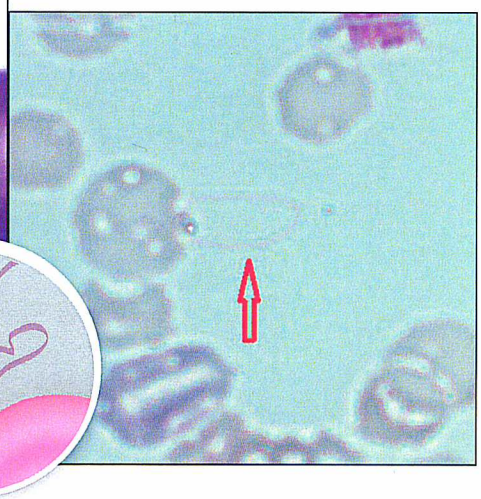
ЭРИТРОИДНЫЕ ПЕТЛИ

Остатки мембраны эритроцитов в виде структур, розовато-синего цвета, бледных и тонких



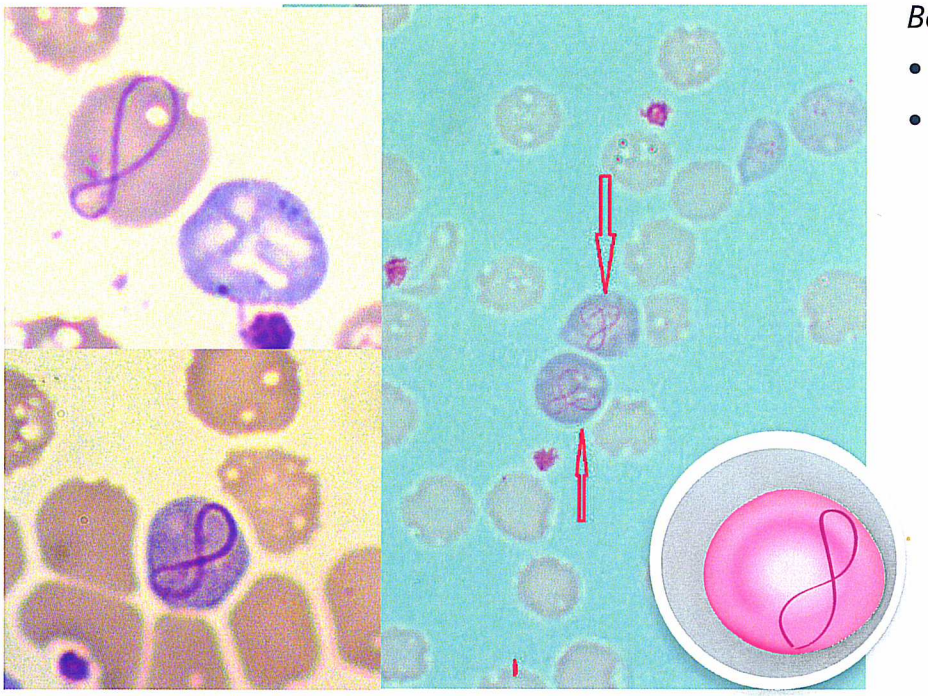
Встречаются при:

- гемолитической анемии, вызванной укусом змеи



КОЛЬЦА КЕБОТА

Красновато-фиолетовые нитевидные структуры в форме овала или восьмерки чаще наблюдаются в полихроматофилах

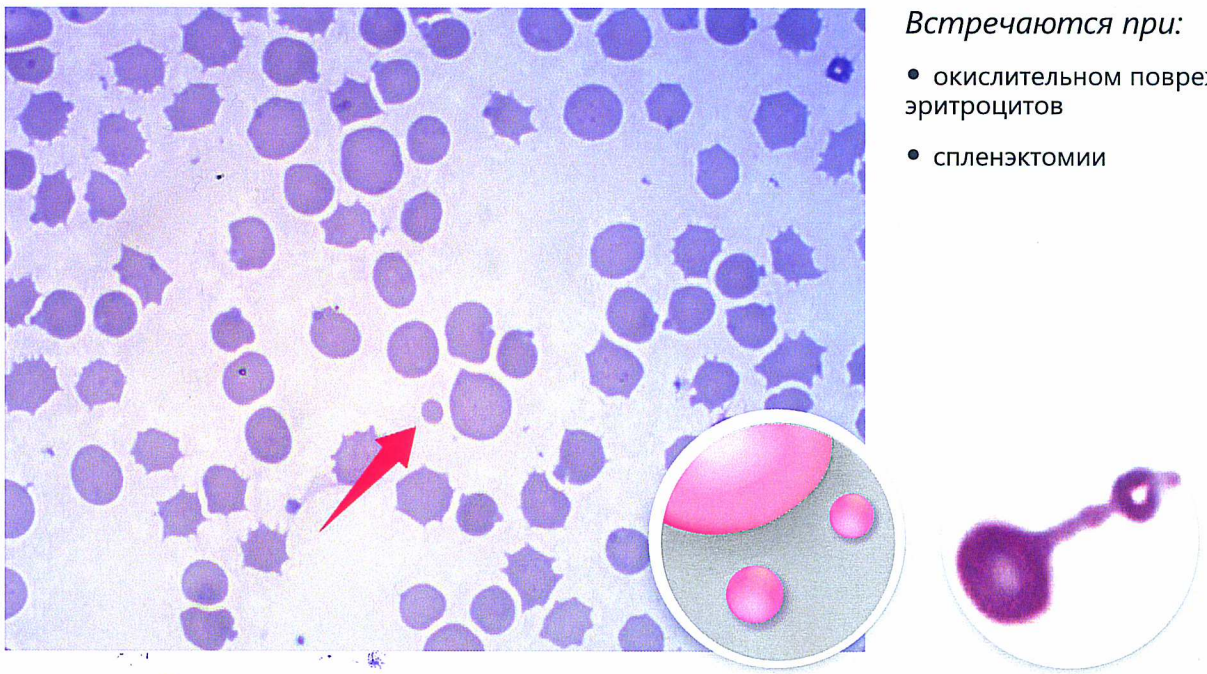


Встречаются при:

- дизэритропоэзе
- МДС

ЭРИТРОЦИТАРНЫЕ ПУЗЫРЬКИ

Повреждение эритроцитов может привести к формированию пузырьков различного размера, микропузырьки d<1 мкм

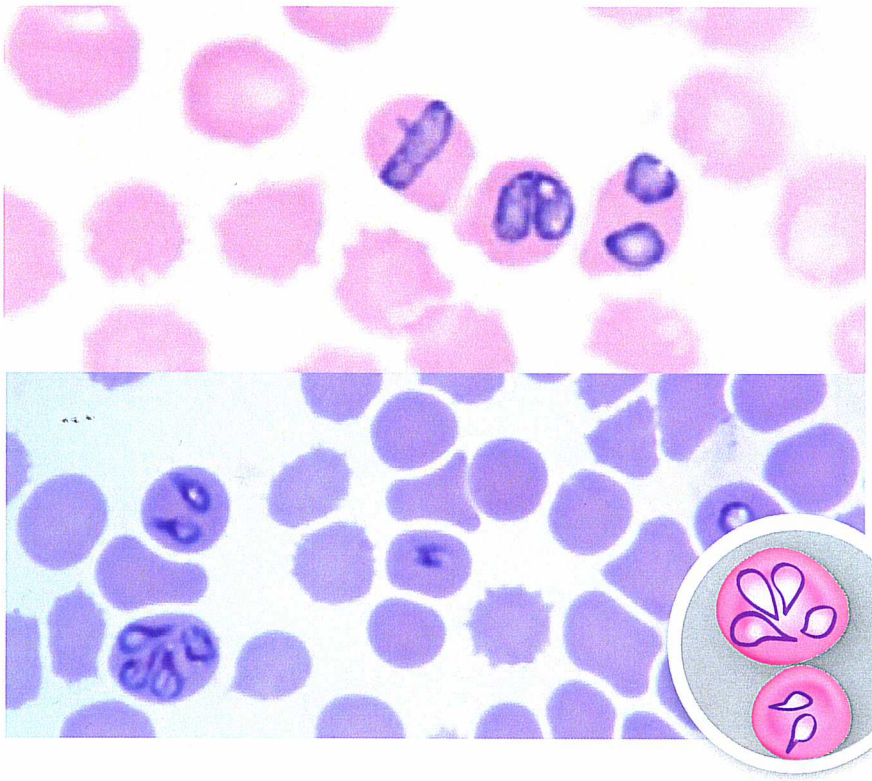


Встречаются при:

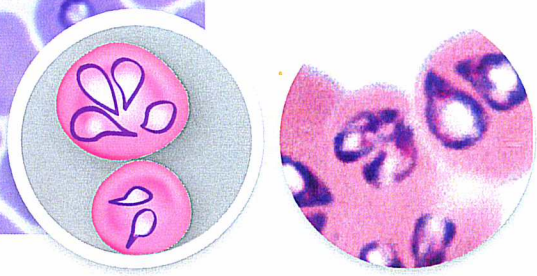
- окислительном повреждении эритроцитов
- спленэктомии

BABESIA CANIS

Крупные внутриэритроцитарные одиночные, парные или множественные паразиты грушевидной, яйцевидной или овальной формы, 2,5-5,0 мкм

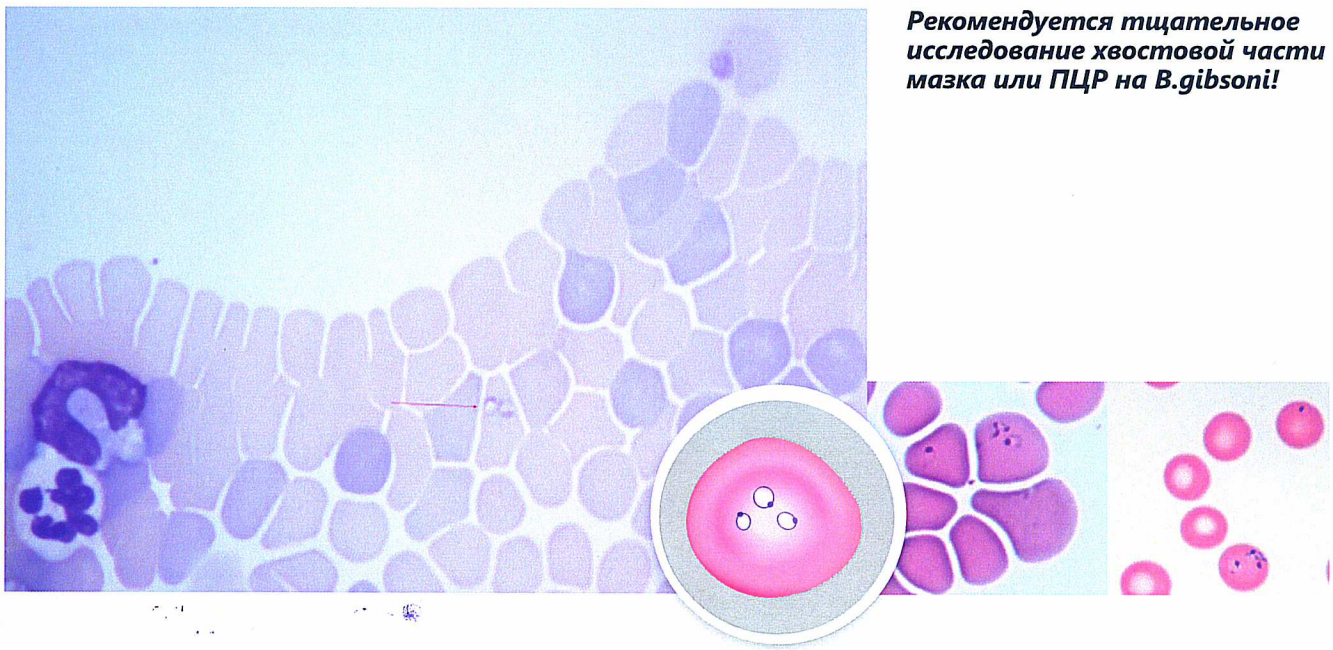


- Окрашиваются в синий или светло-голубой цвет, ядро окрашивается в красно-фиолетовый
- Приводит к сильной регенеративной анемии, иногда с иммуноопосредованным компонентом и тромбоцитопении
- При отсутствии паразита в мазках крови рекомендуется ПЦР или исследование лейкоцитарной пленки



BABESIA GIBSONI

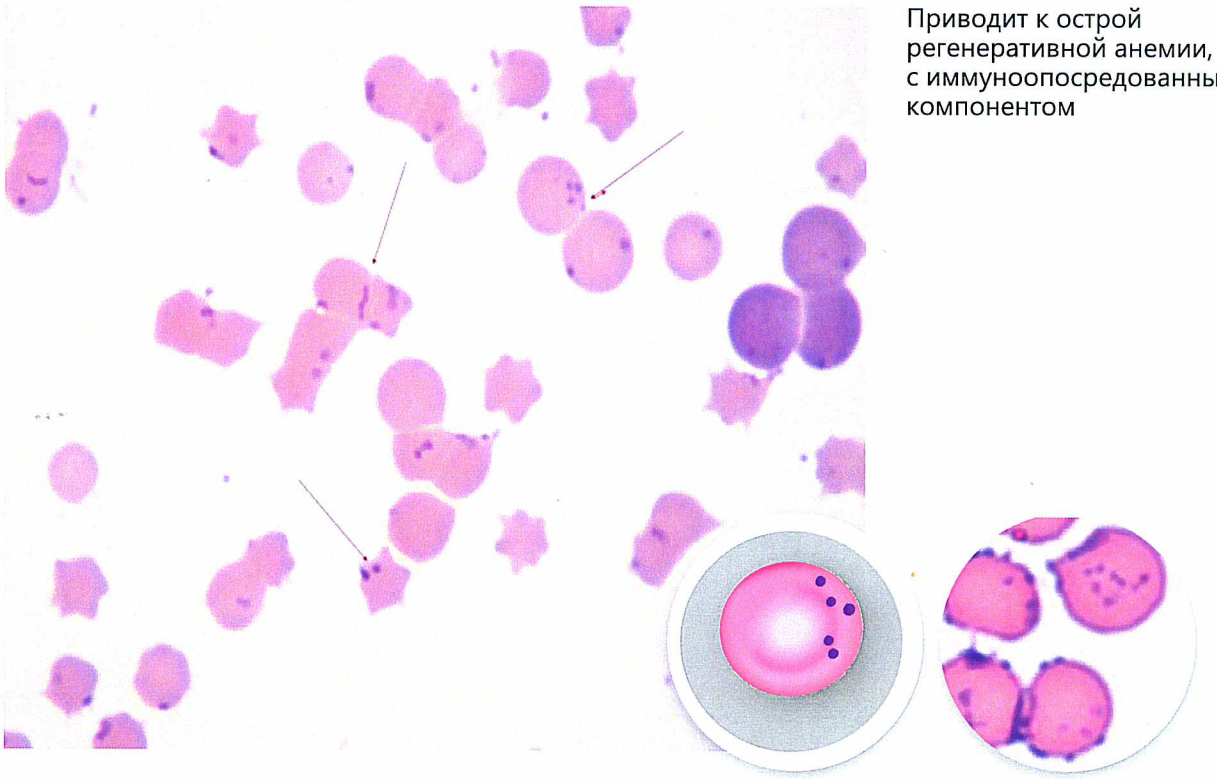
Мелкие внутриэритроцитарные одиночные или множественные паразиты перстневидной формы трудно различимые, 1,0-2,5 мкм



Рекомендуется тщательное исследование хвостовой части мазка или ПЦР на B.gibsoni!

MYCOPLASMA HAEMOFELIS

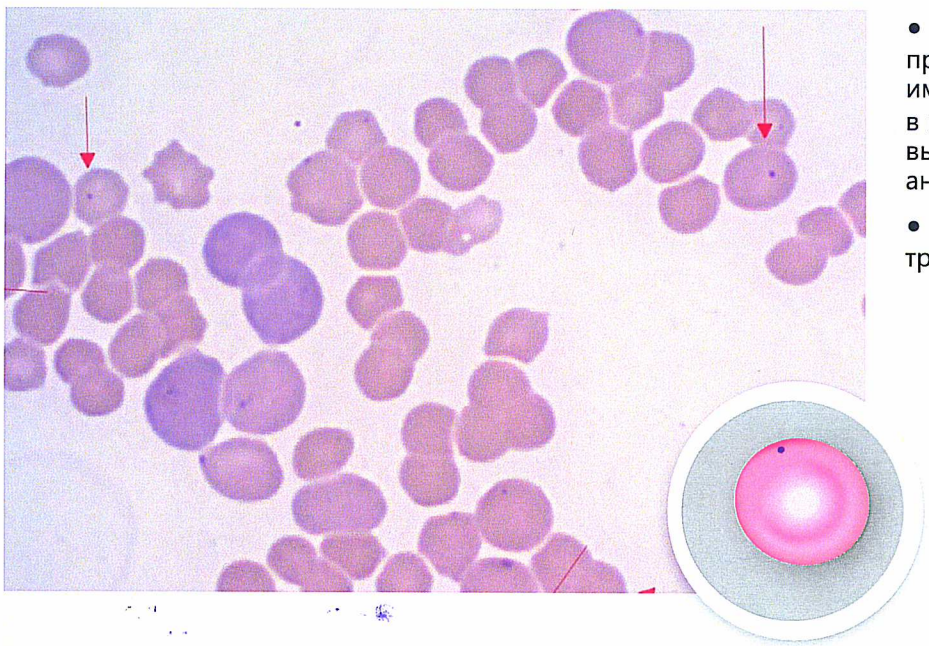
Мелкие внутриэритроцитарные Грам (–) бактерии в виде точек сине-черного цвета, расположенных по периферии, 0,5-1,0 мкм



Приводит к острой регенеративной анемии, иногда с иммуноопосредованным компонентом

MYCOPLASMA HAEMOMINUTUM

Мелкие внутриэритроцитарные Грам (–) бактерии в виде точек сине-черного цвета, расположенных по периферии, 0,3-0,6 мкм



- Трудно различимая, проявляется при иммуносупрессии в комбинации с ВЛК часто вызывает нерегенеративную анемию
- Для идентификации вида требуется ПЦР

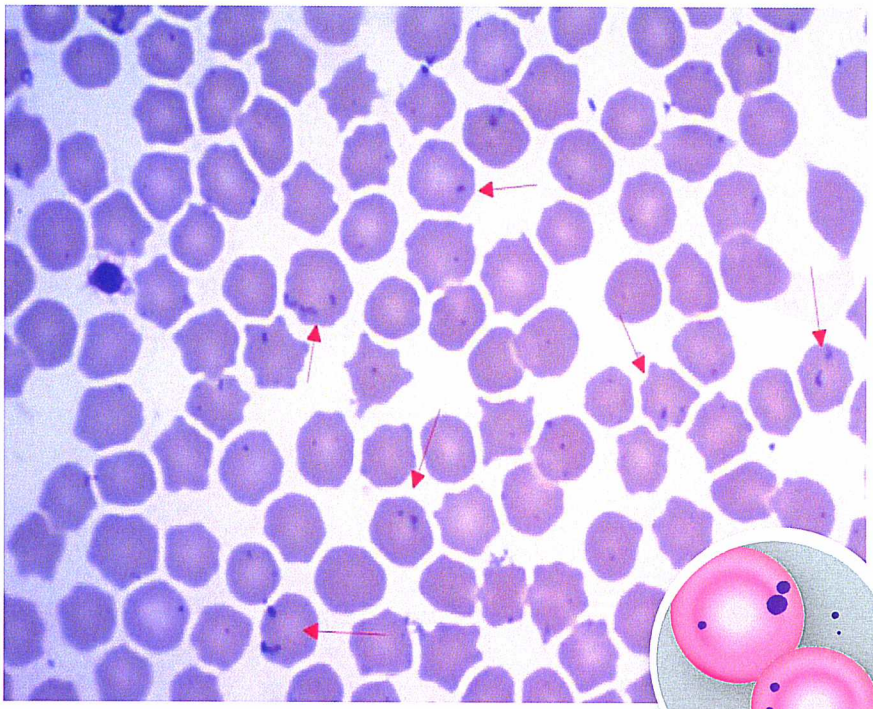
ОТСУТСТВИЕ ГЕМОПЛАЗМ В МАЗКАХ КРОВИ НЕ ИСКЛЮЧАЕТ ГЕМОПЛАЗМОЗА!

ЗОЛОТОЙ СТАНДАРТ ДИАГНОСТИКИ ГЕМОПЛАЗМОЗА – ПЦР!

НЕ СЛЕДУЕТ ПУТАТЬ ГЕМОПЛАЗМЫ С ПРЕЦИПИТАТОМ КРАСИТЕЛЯ

ПРЕЦИПИТАТ КРАСИТЕЛЯ

Темно-синие множественные включения разного размера и формы в эритроцитах и вне клеток

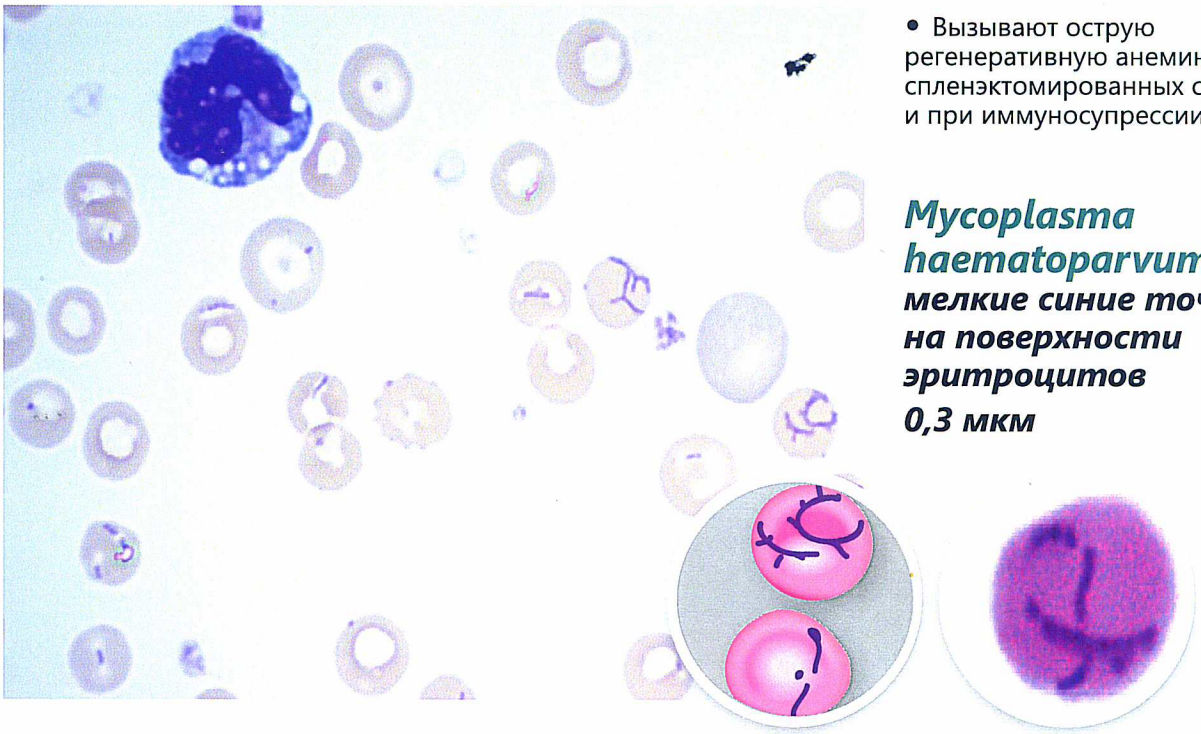


Артефакт



MYCOPLASMA HAEMOCANIS

Мелкие внутриэритроцитарные Грам (-) бактерии в виде палочек сине-черного цвета

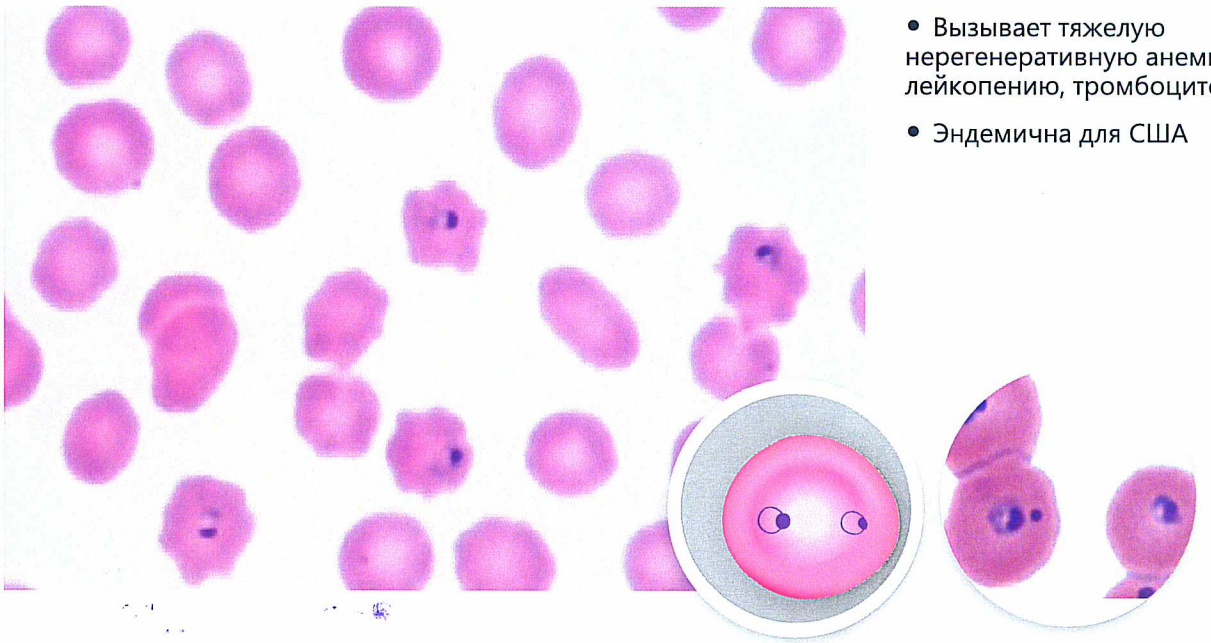


- Вызывают острую регенеративную анемию у спленэктомированных собак и при иммуносупрессии

***Mycoplasma haematoparvum* – мелкие синие точки на поверхности эритроцитов 0,3 мкм**

CYTAUXZOON FELIS

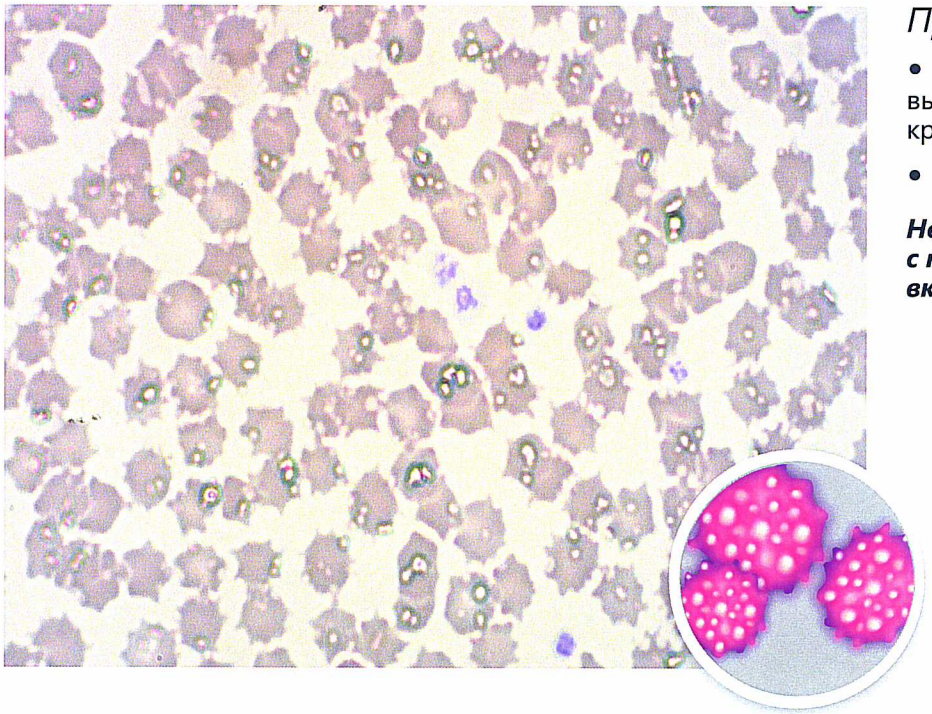
Мелкие внутриэритроцитарные паразиты перстневидной формы, реже встречается форма английской булавки или мальтийского креста



- Вызывает тяжелую нерегенеративную анемию, лейкопению, тромбоцитопению
- Эндемична для США

РЕФРАКЦИОННЫЙ АРТЕФАКТ

Преломляющие свет прозрачные пятна на поверхности эритроцитов

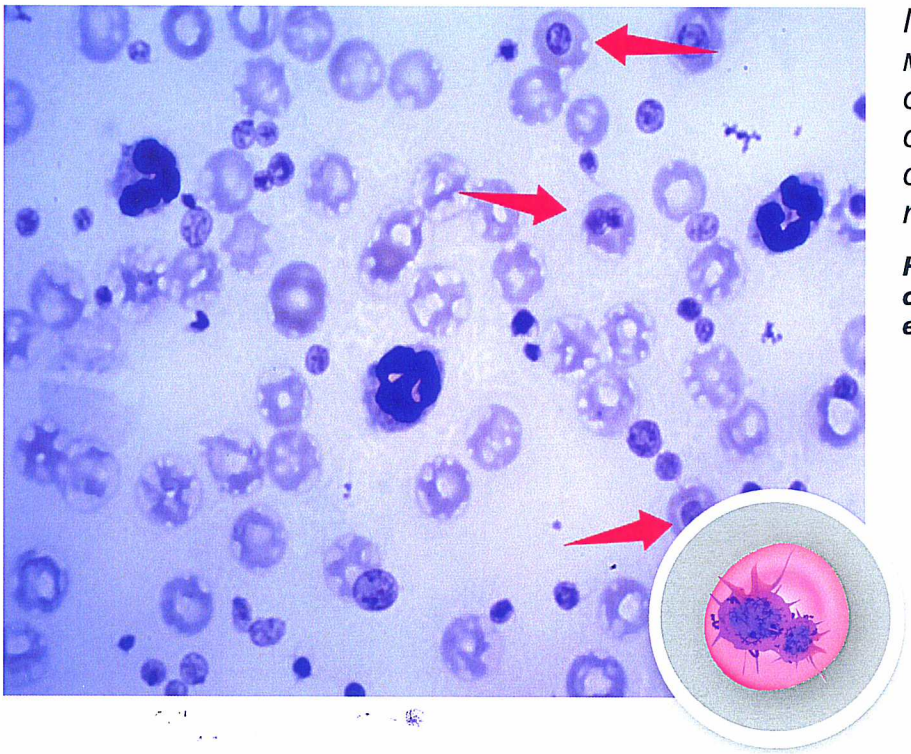


Причина появления:

- нарушение технологии высушивания и окраски мазка крови?
- краситель плохого качества?

Не следует путать с кровепаразитами и включениями!

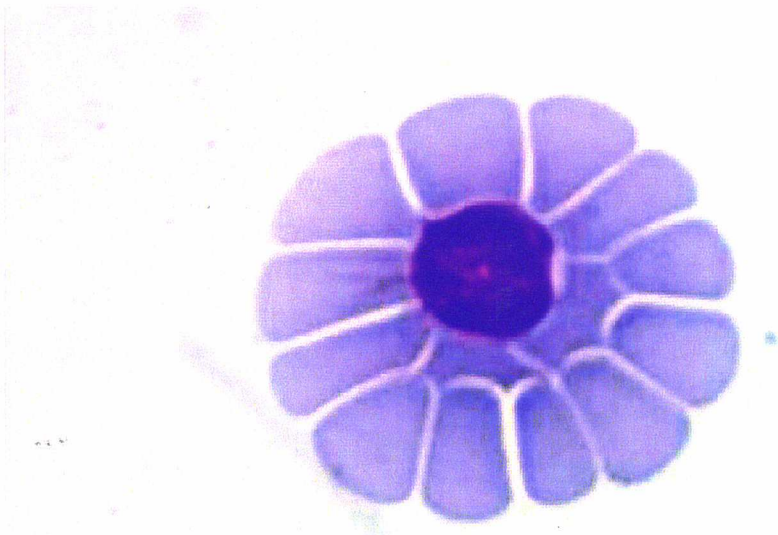
НАЛОЖЕНИЕ ТРОМБОЦИТОВ



Поработайте микровинтом, сравните морфологию обнаруженного объекта с морфологией тромбоцитов

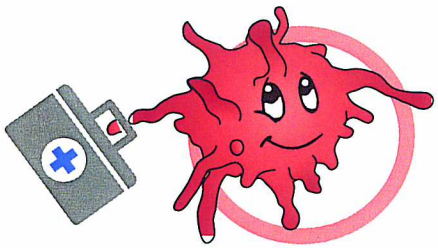
Не следует путать с кровепаразитами и включениями!

ЭРИТРОЦИТАРНЫЕ РОЗЕТКИ (ЦВЕТЫ)



Причина появления:

- механизм формирования и диагностическое значение неизвестно
- в гуманной медицине предполагают иммунологическую природу

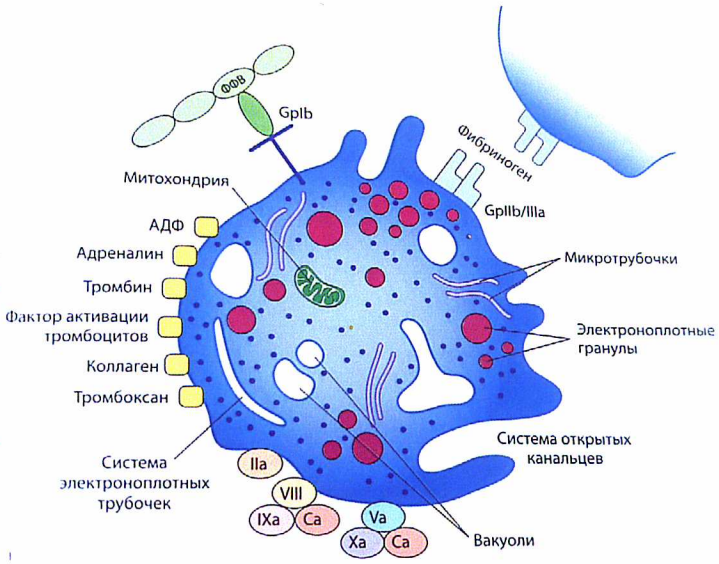


МОРФОЛОГИЯ ТРОМБОЦИТОВ

ТРОМБОЦИТЫ МЛЕКОПИТАЮЩИХ ПРЕДСТАВЛЯЮТ СОБОЙ НЕБОЛЬШИЕ **КРУГЛЫЕ ИЛИ ОВАЛЬНЫЕ КЛЕТОЧНЫЕ ФРАГМЕНТЫ, ЛИШЁННЫЕ ЯДРА** И ОБРАЗУЮЩИЕСЯ ИЗ ЦИЛИНДРОВ ЦИТОПЛАЗМЫ МЕГАКАРИОЦИТОВ

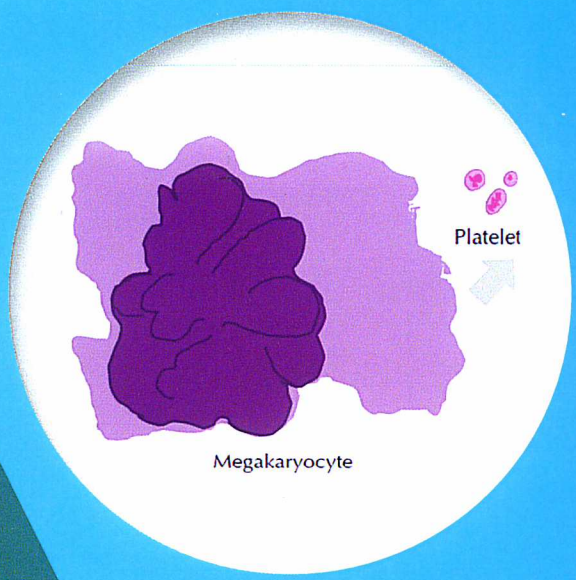
ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ ТРОМБОЦИТОВ СОСТАВЛЯЕТ **4-6 ДНЕЙ**

ДЛЯ КОШЕК **ХАРАКТЕРНО НАЛИЧИЕ МАКРОТРОМБОЦИТОВ**, ПОЯВЛЕНИЕ ТАКИХ КЛЕТОК У ЖИВОТНЫХ ДРУГИХ ВИДОВ ГОВОРИТ О АКТИВНОМ ТРОМБОПОЭЗЕ



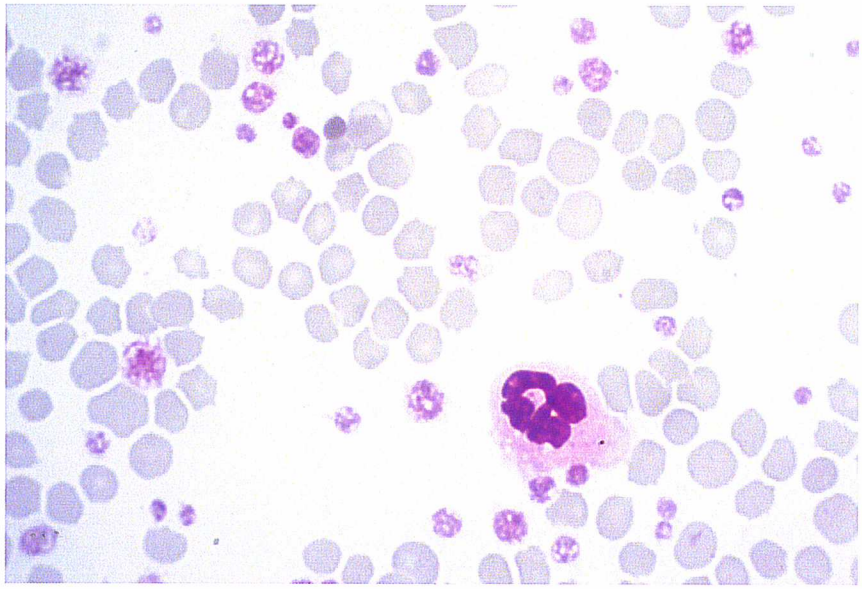


Сколько тромбоцитов образуется из 1 мегакариоцита?



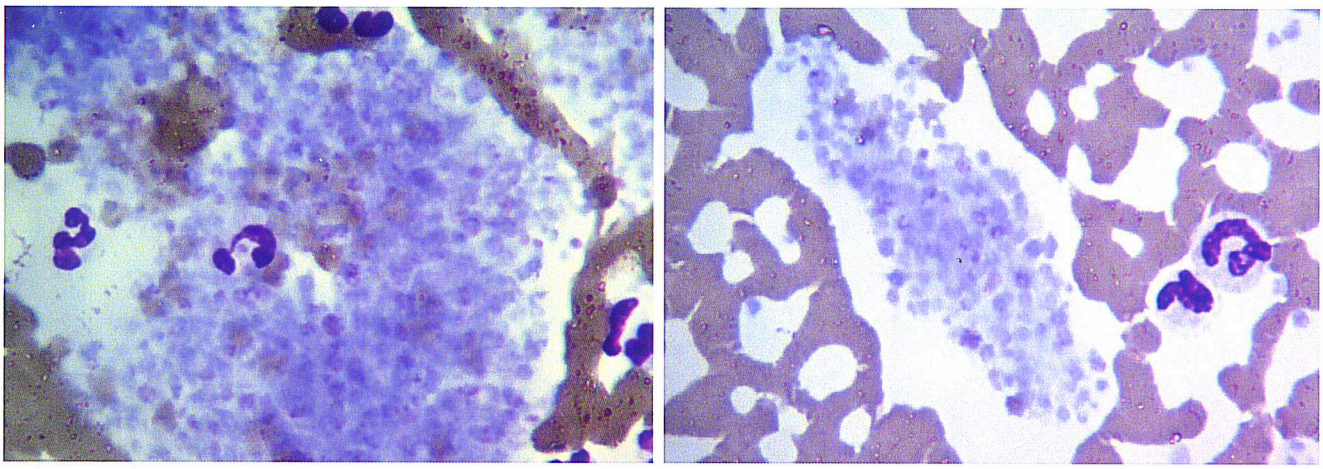
от 1000 до 5000

ТРОМБОЦИТЫ КОШЕК

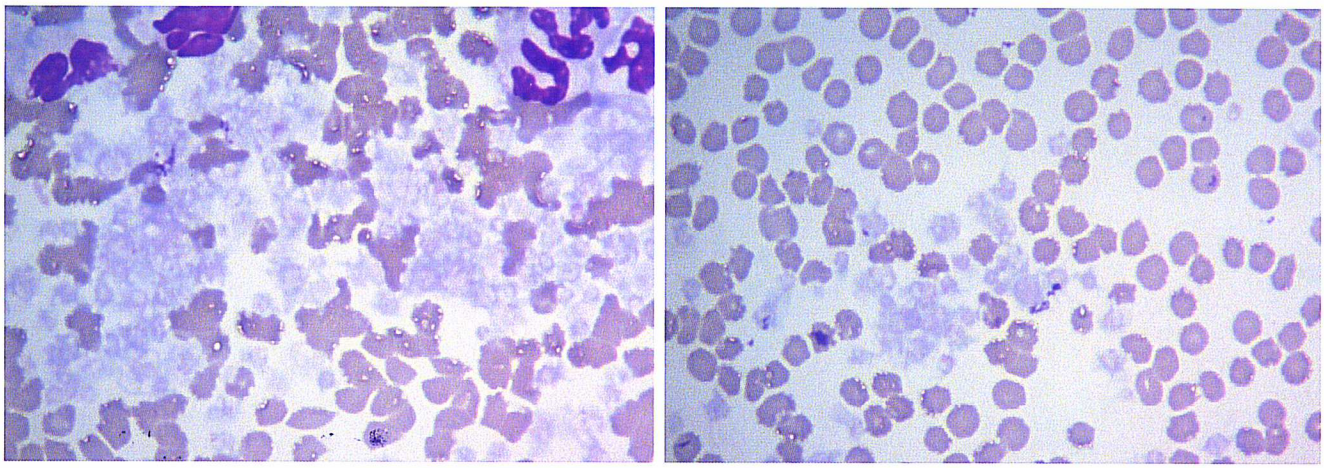


- **Самые крупные тромбоциты встречаются у кошек,** их гранулы содержат большое количество серотонина
- Тромбоциты кошек очень чувствительны и быстро активируются: при взятии крови, её хранении и транспортировки, они очень часто образуют дегранулированные агрегаты!

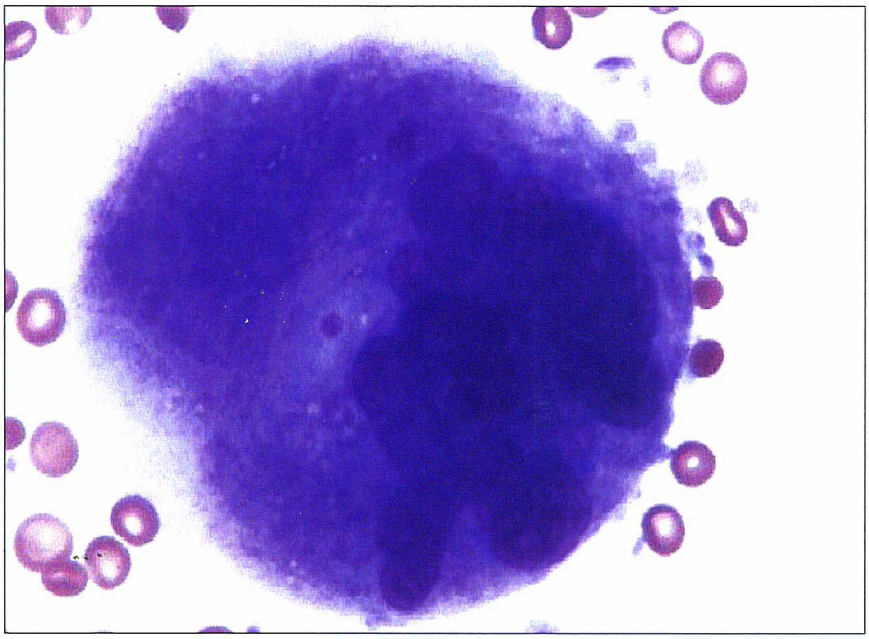
Агрегация тромбоцитов. Кровь кошки.



Гипогрануляция тромбоцитов



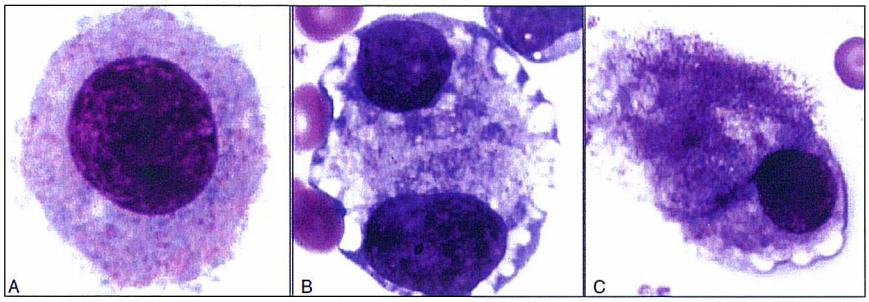
МЕГАКАРИОЦИТ



- Располагаются в костном мозге вблизи костномозговых синусов
- d 50-150 мкм
- 2-16 долей в ядре

- **Встречаются в крови очень редко при:**
  - тромбоцитозе
  - тромбоцитопении
  - мегакариоцитарном лейкозе

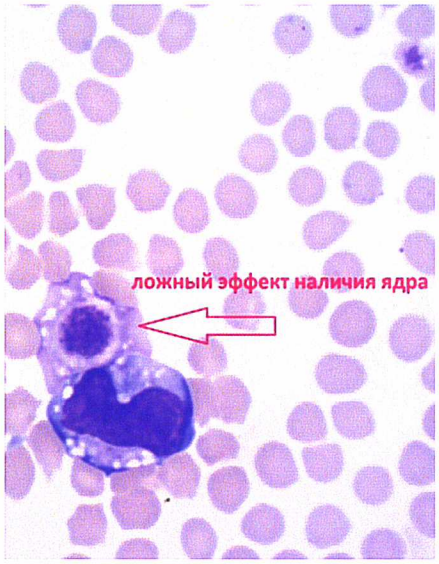
КАРЛИКОВЫЕ МЕГАКАРИОЦИТЫ

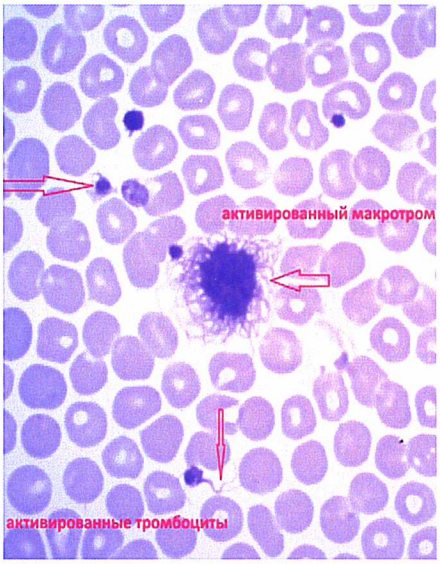


- **Встречаются в крови при миелоидных неоплазиях**

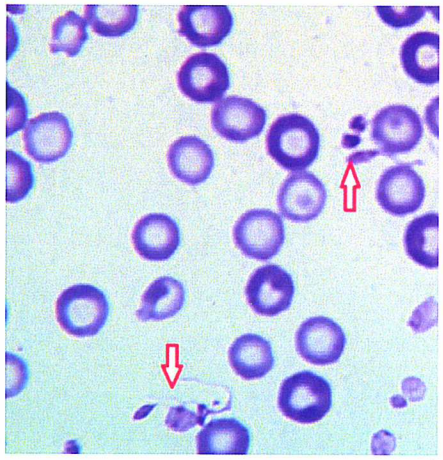
АКТИВИРОВАННЫЕ ТРОМБОЦИТЫ

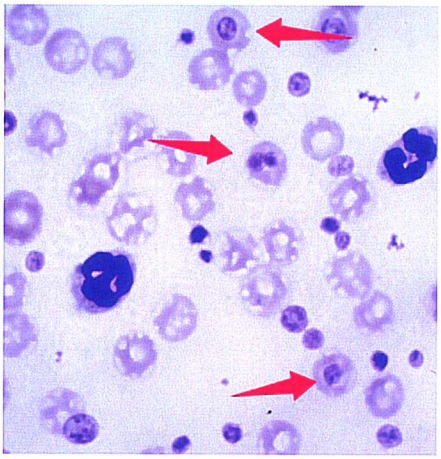


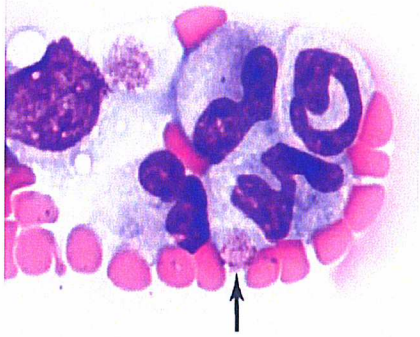


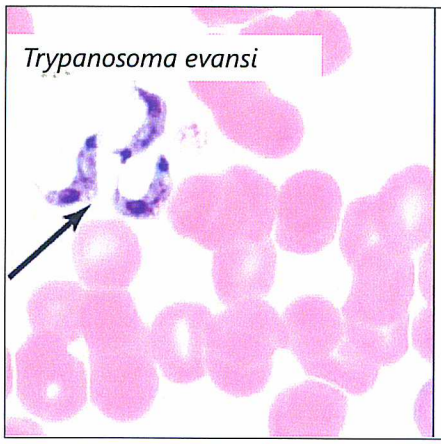


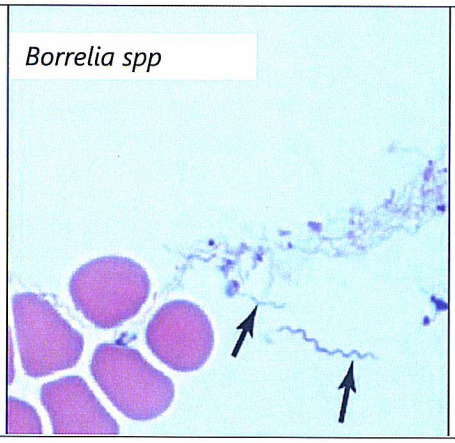
ПСЕВДОПАРАЗИТЫ

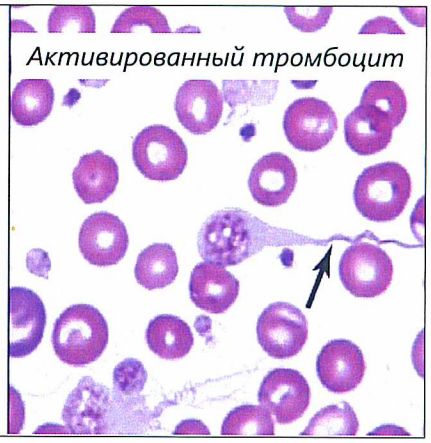






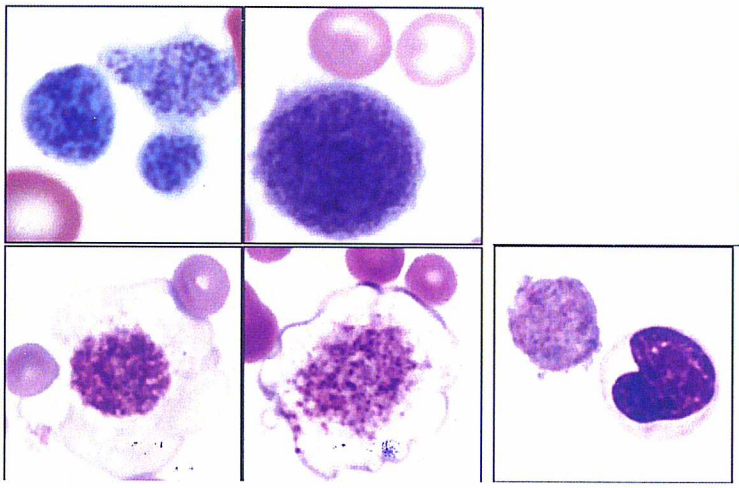




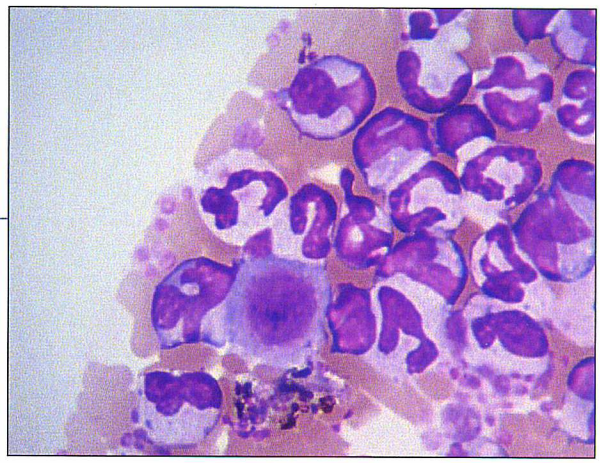


МАКРОТРОМБОЦИТЫ (ГИГАНТСКИЕ ТРОМБОЦИТЫ)

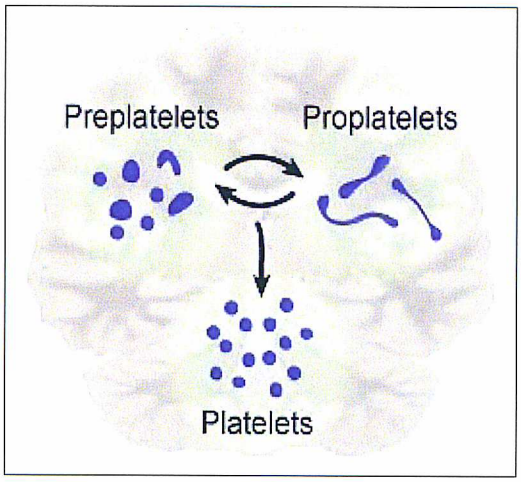
Варианты макротромбоцитов

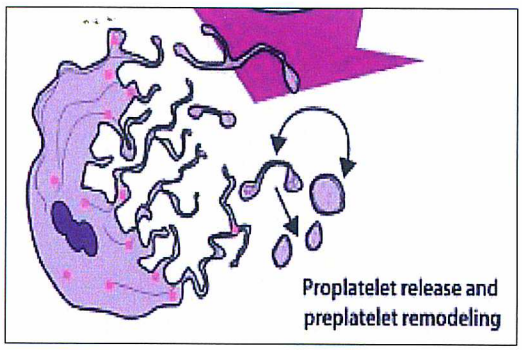


Кровь собаки, макротромбоцит



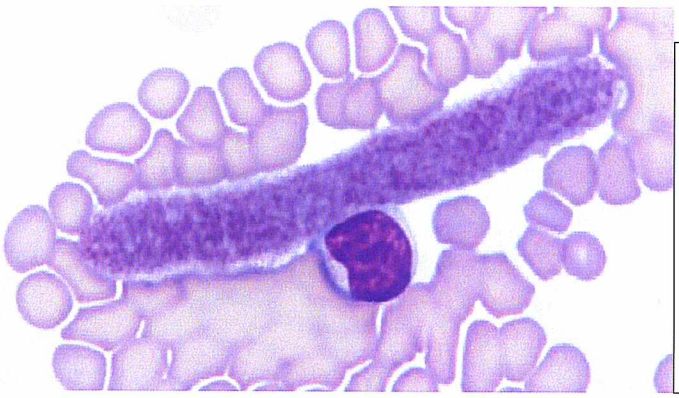
ПРОТРОМБОЦИТЫ И ПРЕТРОМБОЦИТЫ

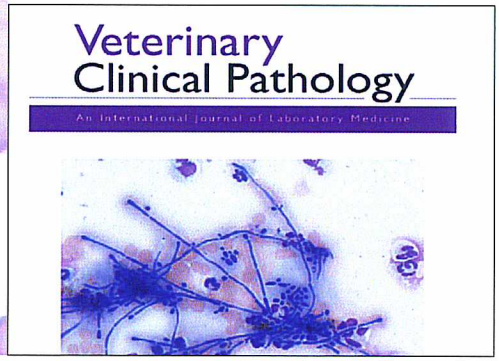


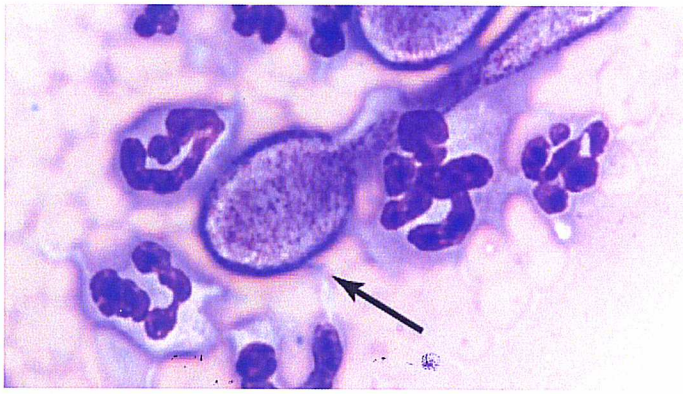


- Появляются **протромбоциты** в периферической крови выходя напрямую из костного мозга или при их формировании вне костного мозга (например, легкие)
- Могут встречаются в БАЛ
- **Претромбоциты** – это дискоидные клетки 3-10 мкм в диаметре.
- Могут морфологически изменяться в гантелевидные протромбоциты, формируя центральный цитоплазматический мостик
- Расщепление цитоплазматического мостика приводит к образованию фрагментов – зрелых тромбоцитов.
- Протромбоциты также могут обратимо переходить в претромбоциты
- Претромбоциты, и протромбоциты являются предшественниками тромбоцитов.
- Свидетельствуют о регенеративном ответе костного мозга на тромбоцитопению
- ***Ммаркеры ИОГА?***

Протромбоциты









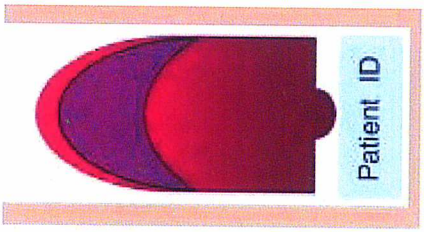
МЕТОДЫ ПОДСЧЁТА КОЛИЧЕСТВА ТРОМБОЦИТОВ

- ПОДСЧЁТ В ОКРАШЕННЫХ МАЗКАХ КРОВИ
- РУЧНОЙ ПОДСЧЁТ В КАМЕРЕ ГОРЯЕВА
- АВТОМАТИЧЕСКИЙ ПОДСЧЁТ (ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗАТОР)

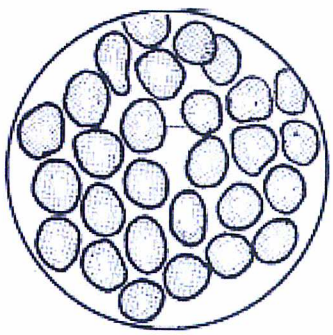
ПОДСЧЕТ ТРОМБОЦИТОВ В ОКРАШЕННЫХ МАЗКАХ КРОВИ

1. Оценивают количество тромбоцитов в поле зрения микроскопа (просматривают не менее 5 полей зрения)
2. Определяют наличие агрегатов тромбоцитов.
3. Подсчитывают тромбоциты в средней части мазка, где клетки располагаются равномерно (монослой)

В НОРМЕ КОЛИЧЕСТВО ТРОМБОЦИТОВ В ПОЛЕ ЗРЕНИЯ СОСТАВЛЯЕТ У ЗДОРОВЫХ СОБАК И КОШЕК 10-30



Monolayer area



Еще одним вариантом данного метода считается подсчёт тромбоцитов в одном поле зрения с дальнейшим умножением полученного значения на **$15x10^9$/л** у собак и на **$20x10^9$/л** у кошек. При этом необходимо вычислить среднее значение тромбоцитов в одном поле зрения (для этого требуется просмотреть не менее 10-15 полей зрения)



Как интерпретировать:

НОРМА: количество тромбоцитов в поле зрения **от 11 до 25**, соответствует общему количеству тромбоцитов **>165,0x10^9/л**

ЛЁГКАЯ ТРОМБОЦИТОПЕНИЯ: 6-10 тромбоцитов в поле зрения, соответствует общему числу тромбоцитов **90-150x10^9/л**. Этого количества тромбоцитов достаточно для адекватного гемостаза.

УМЕРЕННАЯ ТРОМБОЦИТОПЕНИЯ: 4-5 тромбоцитов в поле зрения, соответствует общему количеству тромбоцитов **50-90x10^9/л.** Это число тромбоцитов также обеспечивает нормальный гемостаз, но при количестве тромбоцитов <50x10^9/л, возможны кровотечения.

ТЯЖЁЛАЯ ТРОМБОЦИТОПЕНИЯ: <5 тромбоцитов в поле зрения, соответствует общему количеству тромбоцитов **<50x10^9/л.**

НЕДОСТАТКИ МЕТОДА:
этот метод считается полуколичественным!



ПОДСЧЕТ ПО ФОНИО

Одним из вариантов подсчёта тромбоцитов в окрашенных мазках крови считается: подсчёт тромбоцитов в 5 полях зрения, с дальнейшим умножением, полученного числа на количество эритроцитов. Количество эритроцитов в поле зрения должно быть не менее 200 клеток, в случае выраженной анемии тромбоциты подсчитывают в 10 полях зрения.

НЕДОСТАТКИ МЕТОДА: количество тромбоцитов зависит от количества эритроцитов. В случае эритроцитоза или анемии, возможен некорректный подсчёт количества тромбоцитов.

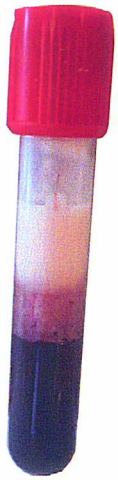
РУЧНОЙ ПОДСЧЁТ ТРОМБОЦИТОВ В КАМЕРЕ ГОРЯЕВА

Рекомендуется иметь отдельную, относительно новую камеру для подсчёта тромбоцитов (без трещин, пылинок, царапин, которые могут быть ошибочно подсчитаны, как тромбоциты)

НЕДОСТАТКИ МЕТОДА: желательно наличие микроскопа с фазовым контрастом. Погрешность составляет 6,5 до 25%.

АВТОМАТИЧЕСКИЙ ПОДСЧЁТ ТРОМБОЦИТОВ

Апертуро-импедансный метод (метод Культера или кондуктометрический метод)



- Крупные тромбоциты кошек и их способность к повышенной агрегации, делает автоматический
- Подсчёт неприемлемым для данного вида животных!
- Микроциты, фрагменты эритроцитов (шистоциты), сфероциты, фрагменты цитоплазмы лейкоцитов (клеточный дебрис), липидные капли также могут подсчитываться как тромбоциты!

Не рекомендуется ориентироваться только на данные автоматического подсчёта тромбоцитов у животных!

НЕДОСТАТКИ АВТОМАТИЧЕСКОГО ПОДСЧЁТА

Причины ложного повышения количества тромбоцитов:

- *криоглобулинемия*
- *микроцитоз*
- *фрагменты эритроцитов и лейкоцитов*
- *сфероцитоз*
- *хилез*

Причины ложного снижения количества тромбоцитов:

- *макротромбоциты*
- *агрегаты тромбоцитов*
- *разрушение тромбоцитов (при начинающемся свёртывании)*

Референтные интервалы тромбоцитов, $x10^9$/л

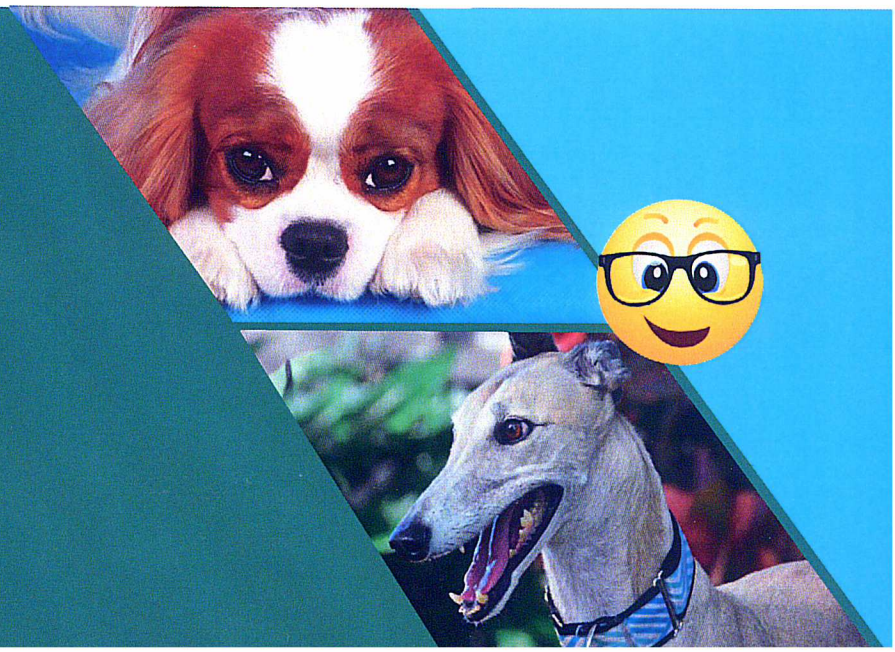
Собаки	Кошки
160-430	200-600,0



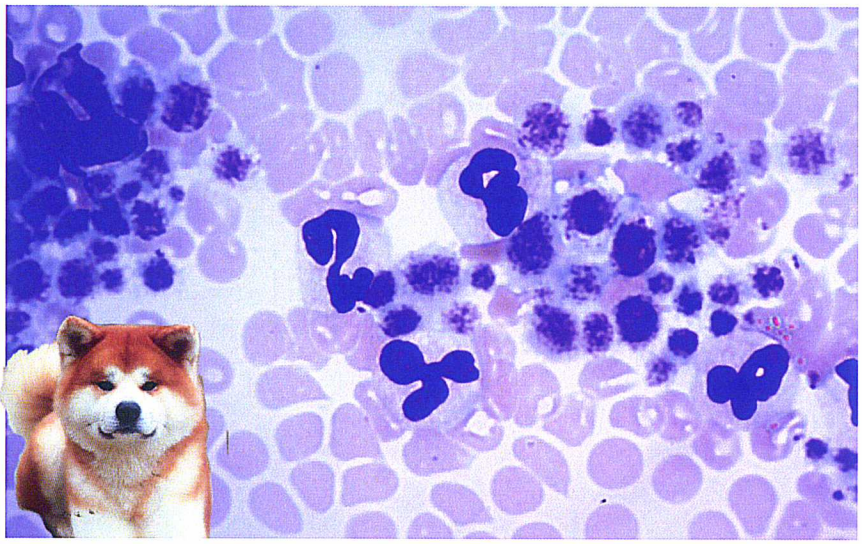
Следует помнить!

Кавалер-Кинг-Чарльз спаниель – 30-290 $x10^9$/л.

Грейхаунд – 80-290 $x10^9$/л.



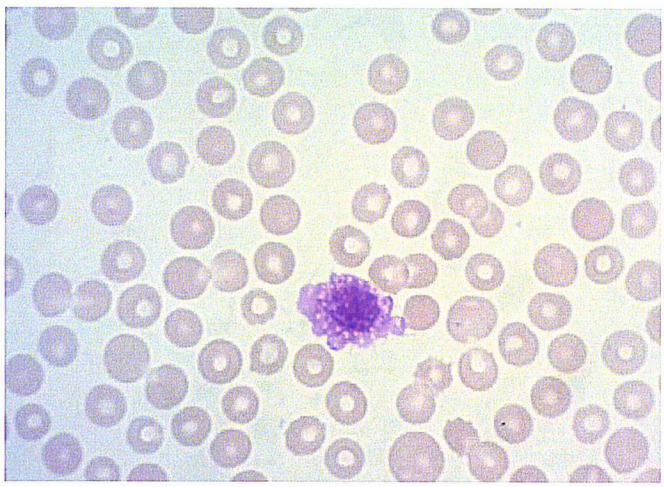
МАКРОТРОМБОЦИТОПЕНИЯ

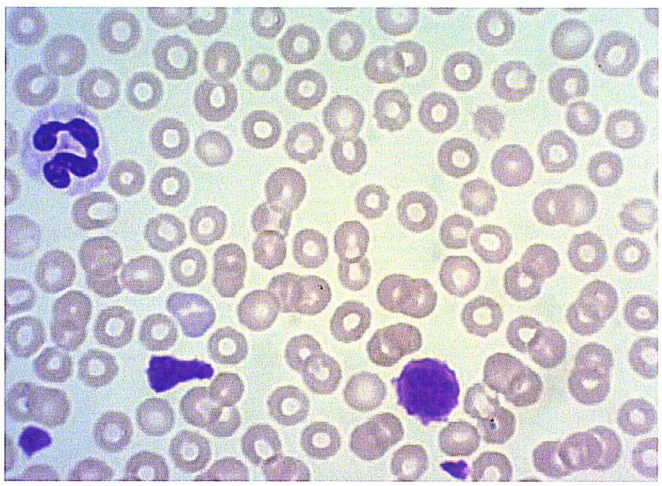


ОПИСАНА У:

- акиты
- керн-терьера
- норфолк-терьера
- мальтезе
- чихуа-хуа
- джек-рассела
- лабрадор-ретривера
- пуделя

Кавалер-кинг-чарльз спаниель





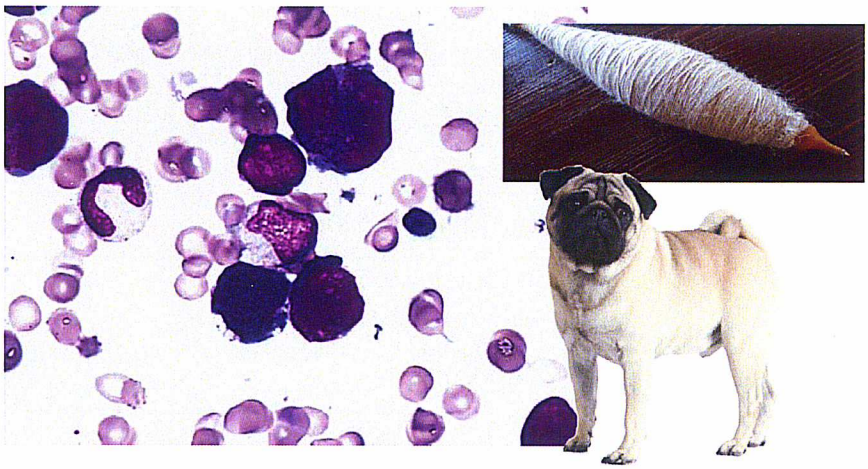
ANAPLASMA PLATYS



***Anaplasma platys* - риккетсиозный паразит, поражающий тромбоциты собак.**

Морулы анаплазмы выглядят как плотные базофильные скопления в цитоплазме тромбоцитов.

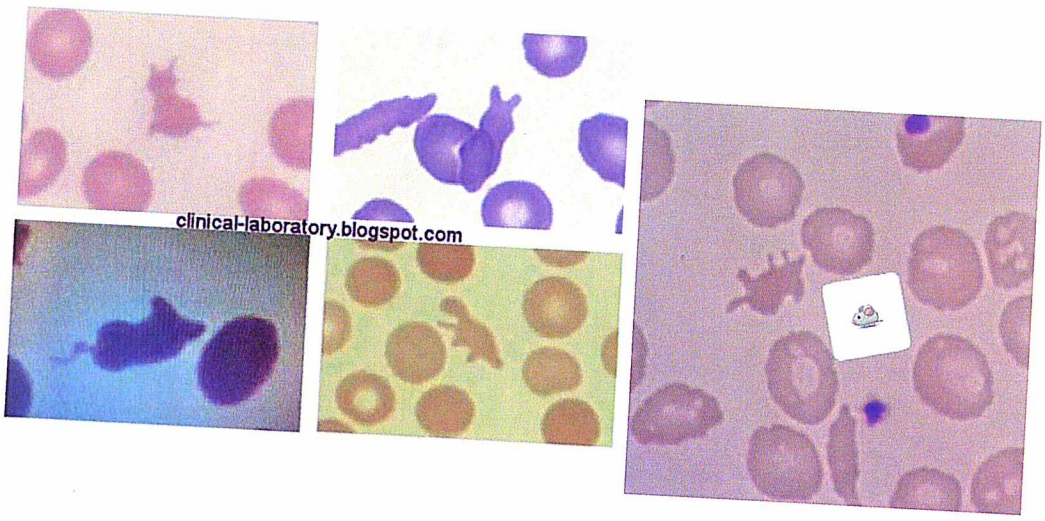
АНОМАЛИЯ МЕЯ-ХЕГГЛИНА



- Триада:
  – гранулы в цитоплазме нейтрофилов
  – тромбоцитопения
  – макротромбоциты
- Результат мутации в гене MYH9
- Наследственное аутосомно-доминантное заболевание мопсов
- В цитоплазме нейтрофилов обнаруживают 1-4 крупных синих веретенообразных включения, крупнее и отчетливее

Энималоциты

Animal Shape Erythrocytes



АЛГОРИТМ ОЦЕНКИ ИЗМЕНЕНИЯ МОРФОЛОГИИ ЭРИТРОЦИТОВ

Для правильной оценки измененной морфологии эритроцитов рекомендуется работать с максимально свежим образцом крови и гематологическими красителями хорошего качества, с неистекшим сроком годности, а также использовать только новые предметные стекла!

1. Мазки исследуют под масляной иммерсией при увеличении x1000.

2. Просматривают не менее 10 полей зрения

3. Оценивают размер, цвет, форму, зоны, содержащие гемоглобин и зоны просветления

4. Морфологически нормальные эритроциты:

- *Нормоциты: размер и форма нормальные*
- *Нормохромные эритроциты: содержание гемоглобина и окрашивание нормальные*

5. Морфологически аномальные эритроциты.
Учитывают размер, форму, содержание гемоглобина, наличие или отсутствие включений в подходящем для этого поле зрения. Вначале следует определить, отмечаются ли выявленные морфологические изменения во всех просмотренных полях зрения и является ли причиной данных изменений патологический процесс, а не искусственные причины.

ПОЛУКОЛИЧЕСТВЕННАЯ СИСТЕМА ОЦЕНКИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭРИТРОЦИТОВ С ИЗМЕНЕННОЙ МОРФОЛОГИЕЙ

МОРФОЛОГИЯ И ВИД ЖИВОТНОГО	СИСТЕМА ОЦЕНКИ			
	1+	2+	3+	4+
АНИЗОЦИТОЗ				
собаки	7-15	16-20	21-29	>30
кошки	5-8	9-15	16-20	>20
ПОЛИХРОМАТОФИЛИЯ				
собаки	2-7	8-14	15-29	>30
кошки	1-2	3-8	9-15	>15
ГИПОХРОМИЯ				
собаки, кошки	1-10	11-50	51-200	>200
ПОЙКИЛОЦИТОЗ				
собаки, кошки	3-10	11-50	51-200	>200
МИШЕНЕВИДНЫЕ КЛЕТКИ (кодоциты)				
только собаки	3-5	6-15	16-30	>30
СФЕРОЦИТЫ				
только собаки	1-10	11-50	51-150	>150
ДРУГИЕ ИЗМЕНЕНИЯ МОРФОЛОГИИ (акантоциты, шистоциты, дакриоциты, тельца Хайнца, тельца Жолли и т. д.)	1-2	3-8	9-20	>20
БАЗОФИЛЬНАЯ ЗЕРНИСТОСТЬ				
собаки, кошки	**указывается наличие**			

Источник: *Veterinary Hematology: Atlas of Common and Non-Domestic Species, Third Edition. William J. Reagan, Armando R. Irizarry Rovira, and Dennis B. DeNicola, 2019*

ПРАВИЛА ПОДСЧЕТА РЕТИКУЛОЦИТОВ

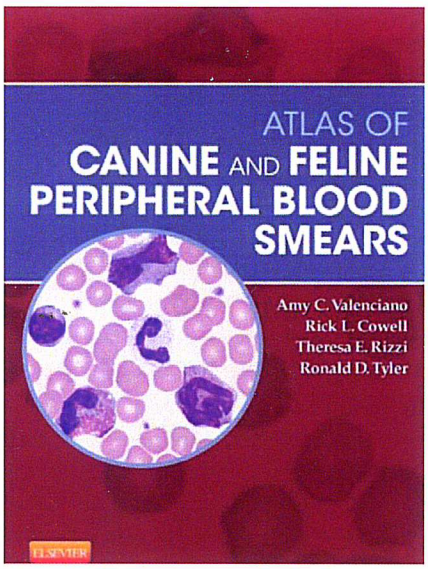
Суправитальный краситель *бриллиантовый крезиловый синий.*

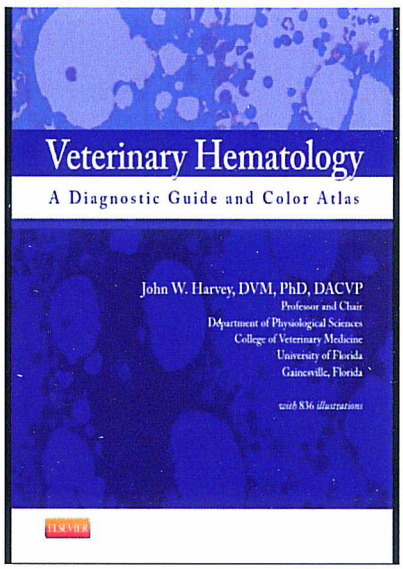
Принцип метода *основан на выявлении зернисто-сетчатой субстанции ретикулоцитов при суправитальной окраске щелочными красками.*

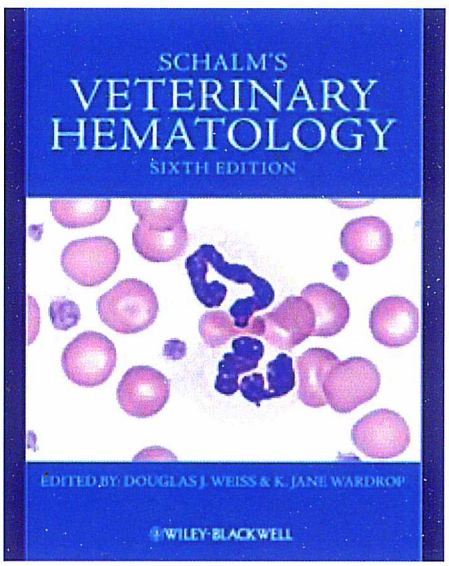
- Кровь с К3ЭДТА смешивается в соотношениии 2:1 (100 мкл крови+50 мкл красителя), готовая смесь выдерживается 30 минут
- При анемиях увеличиваем порцию крови, при полицитемии уменьшаем
- Смесь перемешивают и готовят тонкие мазки
- После высыхания исследуют мазки на иммерсии
- Зернисто-сетчатая субстанция ретикулоцитов окрашивается в насыщенно синий цвет, все остальные клетки диффузно окрашиваются в бледные зеленовато-голубые тона
- Подсчитывают не менее 1000 эритроцитов и отмечают среди них количество ретикулоцитов
- Выбираем для подсчета только те поля, где клетки хорошо прокрашены и не деформированы
- Количество подсчитанных ретикулоцитов делят на 10 и выражают в %
- Далее % ретикулоцитов умножают на количество эритроцитов и умножают на 10, получают результат в К/мкл
- При низком % ретикулоцитов рекомендуется провести 3-х кратный подсчет и вывести среднее значение

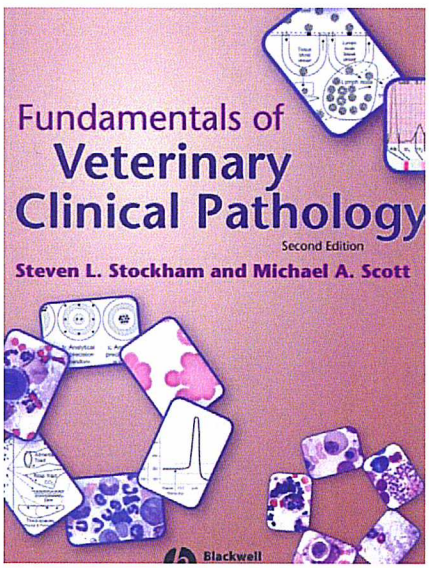
Недостатки метода: *может выпадать преципитат красителя*

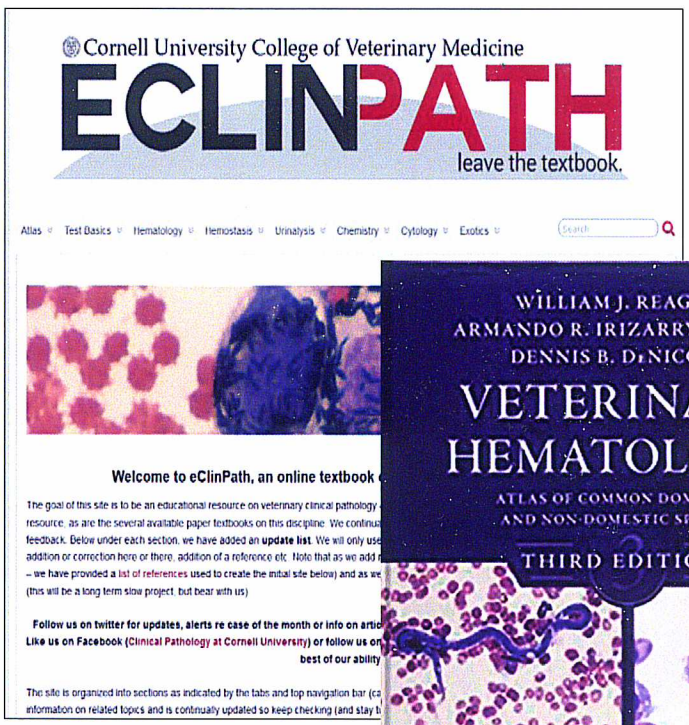
РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

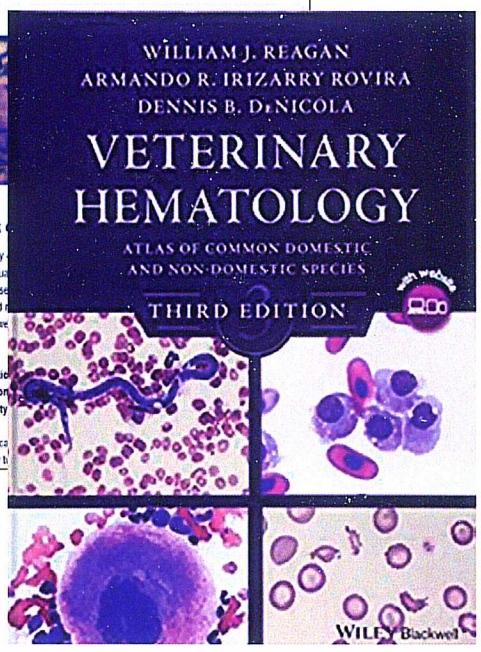














Дорогие коллеги!

Желаю вам неугасаемого профессионального интереса, новых открытий в микромире и желания совершенствовать свои знания и навыки!

Была рада поделиться информацией с вами!

Я буду вам очень благодарна, если оставите небольшой отзыв о методическом пособии, перейдя по QR-коду

С уважением, Светлана Шишканова

Контакты:

г. Санкт-Петербург, ул. Репищева, д. 13

Тел. 8 (812) 509-60-28

Svetlana@spbvet.com

https://vk.com/vetlabpoisk

www.labpoisk.ru

