

Б16.074/077
С 74

Справочник по клиническим лабораторным методам исследования



СПРАВОЧНИК
ПО КЛИНИЧЕСКИМ
ЛАБОРАТОРНЫМ
МЕТОДАМ
ИССЛЕДОВАНИЯ

*ПОД ОБЩЕЙ РЕДАКЦИЕЙ
проф. Е. А. КОСТ*

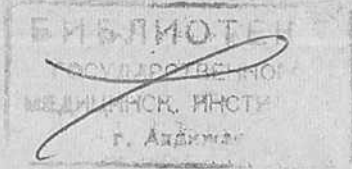


ИЗДАТЕЛЬСТВО «МЕДИЦИНА»
МОСКВА — 1968

616,074/078
с 74

U V 75879
0 +

УДК 616-074/-078 (031)



В справочнике описаны клинические лабораторные методы исследования крови, мочи, желудочного и дуоденального содержимого, кала, мокроты, экссудатов и трансудатов, спинномозговой жидкости и отделяемого половых органов, а также исследования на простейшие и гельминты.
Справочник предназначен для врачей-лаборантов лечебно-профилактических учреждений.

СПРАВОЧНИК СОСТАВИЛИ:

- Н. И. Бокуняева*, кандидат медицинских наук
- Р. П. Золотницкая*, кандидат медицинских наук
- М. И. Корневская*, кандидат медицинских наук
- Г. П. Молотилова*, кандидат медицинских наук
- В. Т. Морозова*, кандидат медицинских наук
- М. И. Стенко*, кандидат медицинских наук
- А. С. Циркина, М. Н. Шалфеева*



ПРЕДИСЛОВИЕ

Количество методов, входящих и вошедших в практику клинической лабораторной диагностики, растет с каждым днем. Существующие и изданные в прежние годы справочные пособия в значительной мере устарели.

Кроме того, клиническая лабораторная диагностика развивается столь бурно, что уже делается немислимым в одном пособии, справочнике или руководстве дать исчерпывающий перечень общеклинических, гематологических, серологических, биохимических, физико-химических и микробиологических исследований.

Поэтому в данном справочнике собраны и систематизированы клинические лабораторные методы исследования, получившие наибольшее распространение и охватывающие основные разделы работы клинико-диагностических лабораторий.

В справочник включен и ряд методов, вошедших в практику лабораторий сравнительно недавно, но показавших свою практическую ценность.

Наряду с новыми в справочнике изложены и давно известные методы, не потерявшие своего значения и в настоящее время.

Коллектив авторов выражает надежду, что его труд окажется полезным не только широкому кругу лабораторных работников, но и врачам всех специальностей.

Возможно, что первое издание справочника не лишено некоторых недостатков. Мы с большим вниманием изучим все замечания с тем, чтобы исправить все недочеты в дальнейшем издании, если таковое потребуется.

Проф. *Е. А. Кост*

КРОВЬ

ВЗЯТИЕ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ДЛЯ ОБЩЕГО КЛИНИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

Общий клинический анализ включает в себя определение количества гемоглобина, числа эритроцитов и лейкоцитов, цветного показателя, подсчет лейкоцитарной формулы.

Исследование рекомендуется производить утром натощак или через час после легкого завтрака. В лабораторной практике исследуют главным образом капиллярную кровь. Для клинического исследования в случаях одновременного назначения биохимических анализов или реакции Вассермана можно брать кровь из вены (также натощак).

Не рекомендуется производить взятие крови после физической и умственной нагрузок, после применения медикаментов, особенно при внутримышечном или внутривенном введении их, после воздействий рентгеновых лучей и физиотерапевтических процедур. Повторные исследования необходимо производить в одни и те же часы, так как морфологический состав крови подвержен колебаниям на протяжении суток.

При невыполнении всех указанных выше правил результаты исследований будут не сравнимы между собой и могут привести к ошибочному диагнозу.

Кровь для исследования берут у пациента при помощи укола иглой из мякоти пальца или из мочки уха, а у детей раннего возраста — из мякоти пятки. Следует пользоваться имеющимися в продаже иглами—скарификаторами со съёмными копиями, которые после работы кипятят в стерилизаторе или помещают на 2 часа в сушильный шкаф при температуре 180°.

Кожу на месте укола протирают тампонами, смоченными сначала спиртом, затем эфиром. При такой обработке выступающая из прокола капля крови не расплывается, что облегчает взятие ее. Укол нужно делать сбоку, где капиллярная сеть гуще, на глубину 2—3 мм в зависимости от толщины кожи, чтобы кровь вытекала свободно, так как при сильном надавливании будет примешиваться тканевая жидкость, что может исказить результаты анализа.

ГЕМОГЛОБИН

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Определение гемометром типа Сали

Принцип. При смешивании крови с соляной кислотой гемоглобин превращается в солянокислый гематин. При этом красноватый цвет жидкости переходит в коричневатый (бурый). Раствор разводят водой до цвета стандарта, соответствующего известной концентрации гемоглобина.

Посуда и аппаратура. Гемометр Сали (ГС-2 и ГС-3) с прилагаемыми к нему капиллярной пипеткой для взятия 20 мм³ крови, снабженной резиновой трубкой со стеклянным мундштуком, пипеткой для воды и стеклянной палочкой для перемешивания.

В настоящее время промышленность выпускает гемометр ГС-3, состоящий из стойки с тремя гнездами. В крайние гнезда вставлены запаянные пробирки со стандартной цветной жидкостью. В среднее гнездо вставлена градуированная пробирка, предназначенная для испытуемой крови. Сзади в корпус вмонтировано стекло молочного цвета.

Градуированная пробирка гемометра ГС-3 имеет шкалу, которая показывает количество гемоглобина в граммах на 100 мл крови, т. е. грамм-проценты (г%).

В гемометре ГС-2 имеется вторая шкала, показывающая единицы гемоглобина. При этом 100 единиц соответствуют содержанию 16,67 г%.

Гемометр Сали (в его первоначальном виде) имеет процентную шкалу, 80 единицам которой соответствуют 100% (условный процент) или концентрация 16 г% гемоглобина. Шкала Сали устарела и не имеет применения.

Как на градуированной, так и на запаянных пробирках со стандартной жидкостью нанесены две контрольные круговые метки. Нижняя метка соответствует емкости 0,2 мл, верхняя — емкости 2 мл.

Градуированные и запаянные пробирки — цветные стандарты, входящие в комплект гемометра, подобраны таким образом, что расстояния между контрольными круговыми метками и внутренние диаметры всех четырех пробирок одинаковы. Это является необходимым условием правильности показаний гемометра. Поэтому в случае необходимости замены градуированных пробирок необходимо тщательно измерить расстояние между контрольными круговыми метками на стандартных пробирках и подобрать новые градуированные пробирки с таким же расстоянием между круговыми метками.

Категорически запрещается пользоваться пробирками или стандартами, взятыми из другого гемометра, без указанной выше проверки.

Реактивы. 1. 0,1 N раствор соляной кислоты. Раствор можно приготовить из фиксаля разведением кислоты, содержащейся в одной ампуле, дистиллированной водой до 1 л. При отсутствии фиксаля: 8,2 мл химически чистой соляной кислоты (уд. вес 1,19)

помещают в мерную колбу емкостью 1 л, затем доливают до метки дистиллированной воды.

2. Дистиллированная вода.

Ход определения. После прокола иглой-скарфикатором снимают тампоном первую каплю крови и из второй выступившей капли набирают кровь в капиллярную пипетку до метки 20 мм³ путем осторожного всасывания через резиновую трубку с мундштуком. Если крови взято несколько более, то излишек ее удаляют осторожным касанием кончика пипетки о тугой ватный тампон. Затем кончик пипетки, тщательно обтертый снаружи, погружают в нижнюю часть градуированной пробирки, предварительно заполненной до метки 20 0,1 N раствором соляной кислоты и осторожно выдувают кровь; при этом верхний слой жидкости остается прозрачным. Повторными всасываниями и выдуваниями верхнего слоя жидкости пипетку промывают. Осторожными встряхиваниями пробирки жидкость перемешивают и, заметив время, помещают в среднее гнездо штатива гемометра. Гемоглобин, соединяясь с соляной кислотой, превращается в солянокислый гематин. Для полной реакции требуется не менее 5 минут. Цвет жидкости из красного переходит в коричневый. Через 5 минут добавляют дистиллированную воду: сначала несколько капель воды, а когда цвет испытуемого раствора станет приближаться к цвету стандарта, воду прибавляют по 1—2 капли. Жидкость перемешивают стеклянной палочкой и сравнивают изменяющийся цвет испытуемого раствора со стандартом до тех пор, пока их цветность не совпадет. Во избежание потери части крови при перемешивании стеклянной палочкой нужно следить, чтобы жидкость полностью стекла с нее по стенке в пробирку.

По шкале на пробирке определяют деление, соответствующее уровню жидкости по нижнему мениску. Цифра деления шкалы выражает количество гемоглобина в грамм-процентах или в единицах.

При низких величинах гемоглобина, ниже 6,7 г% или 40 единиц, можно брать два капилляра (40 мм³) крови с тем же количеством соляной кислоты и полученный результат разделить на два.

При выдувании крови в раствор соляной кислоты нужно следить, чтобы в раствор не попал воздух, вызвав тем самым образование пены. В случае образования пены последняя мгновенно разрушается прибавлением 1—2 капель серного эфира.

Проверка точности гемометра производится по образцам крови, в которых произведено определение гемоглобина с помощью спектрофотометра. При отсутствии такой возможности гемометры проверяют по новым, не бывшим в употреблении приборам.

В Центральном институте переливания крови в порции донорской крови спектрофотометрически определяется концентрация гемоглобина в грамм-процентах, и эта кровь, разлитая в пенициллиновые склянки, предоставляется лабораториям как стандартная. При хранении в холодильнике она может быть использована в течение недели.

Перед употреблением кровь тщательно перемешивают, и каждый лаборант производит с ней 3—5 исследований гемоглобина на своем гемометре. Полученную среднюю величину гемоглобина в грамм-процентах сравнивают с той, которая указана для данной крови в препроводительной записке как стандартная. Попра-

вочный коэффициент выводят делением стандартной величины на цифру, полученную собственным гемометром, и на этот коэффициент в дальнейшем умножают определяемые гемометром величины.

При проверке новым, не бывшим в употреблении гемометром его используют как контрольный, не употребляя в повседневной работе и хранят в темном месте. Желательно этот контрольный гемометр также предварительно проверить по вышеописанному методу или по крови, в которой концентрация гемоглобина предварительно определена цианметгемоглобиновым методом, или калибровать по кислородной емкости крови в аппарате ван Слайка или Баркрофта.

Ошибки при определении гемоглобина гемометром

1. Основная ошибка, так называемая гематиновая, заключается в искажении цвета солянокислого гематина в зависимости от посторонних факторов, особенно от количества и характера плазматических белков.

2. Неточное соблюдение 5-минутной выдержки перед началом разведения. Гематиновая окраска постепенно усиливается, поэтому следует строго учитывать начало разведения; в противном случае результаты получаются неточные.

3. Выцветание цветных стандартов, что приводит к неправильным результатам исследований. Необходимо периодически проверять гемометр и вводить соответствующую поправку.

4. Неточное приготовление 0,1 N раствора соляной кислоты.

5. Использование неточных гемометров. В гемометрах, выпущенных до 1964 г., 100 делений шкалы соответствовали содержанию в крови 20—21 г гемоглобина на 100 мл крови, т. е. количеству, превышающему самые верхние границы нормы. Рекомендуется пользоваться только гемометрами ГС-2 и ГС-3.

При соблюдении всех правил, работая одним и тем же гемометром, у одного больного при исследовании разных капель можно получить расхождение в показателях до $\pm 0,3$ г%. Это следует учесть при оценке результатов повторных исследований.

Определение гемоглобина корректированное

При заболеваниях желтухой, анемией Аддисона—Бирмера и др. в сыворотке крови больных может наблюдаться изменение цвета в зависимости от увеличения количества пигментов, что при колориметрическом определении гемоглобина, описанном выше, может привести к получению завышенных величин гемоглобина.

В этих случаях рекомендуется следующий простой способ более точного определения гемоглобина (В. Б. Бланк¹).

Принцип. Гемоглобин определяется гемометром в эритроцитах, отмытых от сыворотки.

¹ Лабораторное дело, 1957, № 6.

Посуда и аппаратура. Кроме описанной в предыдущем способе, необходима центрифуга и тонкая пастеровская пипетка с баллоном.

Реактивы. 1. 1% раствор хлорида натрия.

2. 0,2 N раствор соляной кислоты.

0,2 N раствор соляной кислоты легко приготовить из 0,1 N фиксаля, разведя содержимое ампулы дистиллированной водой до 500 мл.

Ход определения. В градуированную пробирку от гемометра Сали наливают 1% раствор хлорида натрия до верхней метки (140—23,2 г%), берут обычным способом 20 мм³ крови, вносят ее в пробирку, хорошо размешивают и центрифугируют в течение 10—15 минут. Затем осторожно снимают верхнюю прозрачную жидкость до метки 10—1,7 г% тонкой пастеровской пипеткой с баллоном и встряхивают осевшие в жидкости эритроциты. Добавляют до метки 20—3,3 г% 0,2 N раствора соляной кислоты, перемешивают, оставляют на 5 минут и разводят, как обычно, дистиллированной водой до цвета пробирки со стандартной жидкостью.

При резких анемиях берут двойное количество крови (2 × 20 мм³) и результаты делят на два.

Купросульфатный метод

Принцип. При попадании капли цельной крови в раствор сульфата меди образуется нерастворимый протениат меди, который, обволакивая каплю крови в виде оболочки, сохраняет удельный вес ее неизменным в течение 10—15 секунд. За этот период капля или опускается на дно, если концентрация гемоглобина крови выше 12 г%, или всплывает на поверхность, если его концентрация ниже 12 г%.

Посуда и аппаратура. 1. Стеклоанный стаканчик диаметром 3—4,5 см, емкостью 50 мл (на 20 определений) или обычный граненый стакан емкостью 150 мл (на 80 определений).

2. Сухая пастеровская пипетка.

3. Фильтровальная бумага.

4. Стеклоанная бутылка на 3 л с притертой пробкой.

5. Урометр.

6. Копье для прокола кожи.

Реактив. Раствор сульфата меди удельного веса 1,052. Для приготовления этого реактива Московская городская станция переливания крови разработала следующий упрощенный способ. На 2 л дистиллированной воды берется 500 г CuSO_4 Ч. Д. А. (чистый для анализа). Полученный раствор фильтруют через бумажный складчатый фильтр и затем, прибавляя небольшие количества дистиллированной воды, доводят до требуемого удельного веса, т. е. до 1,052, под контролем урoметра, поддерживая температуру раствора и воды равной 20°.

Хранить раствор нужно в стекляннoй бутылке с притертой пробкой, в шкафу при обычной температуре. Срок годности раствора не ограничен.

Ход определения. В стаканчик емкостью 50 мл наливают 30—40 мл раствора сульфата меди удельного веса 1,052. При исполь-

зовании другой посуды важно соблюдать условие, чтобы высота слоя раствора была не менее 5 см.

Кровь набирают чистой и сухой пастеровской пипеткой до $\frac{3}{4}$ длины ее оттянутой части и выпускают каплю в стаканчик с сульфатом меди с высоты 1 см над уровнем раствора. Капля крови проходит через поверхность раствора и опускается на глубину 2—3 см. Если в дальнейшие 10—15 секунд она всплывает или остается взвешенной в толще раствора, то гемоглобин крови ниже 12 г%, если же она погружается на дно раствора, то гемоглобин крови выше 12 г%.

Перед каждым определением с поверхности раствора удаляют фильтровальной бумагой или деревянной палочкой капли жира и крови.

Между определениями должно пройти не менее 1 минуты, в течение которой все капли оседают на дно.

Данный метод рекомендован ЦОЛИПК и имеет широкое распространение на станциях переливания крови (для определения гемоглобина у доноров).

Определение гемоглобина фотоэлектрическим эритрогемометром (модель 065)

Принцип основан на фотоэлектрическом измерении степени погашения раствором гемоглобина света определенных длин волн в синей части спектра.

- Посуда и приборы.** 1. Пипетка на 5 мл.
2. Капиллярная пипетка от гемометра Сали.
3. Пробирка.
4. Колба на 1000 мл.
5. Фотоэлектрический эритрогемометр (модель 065).

Реактив. Разводящий раствор:
карбонат натрия 1 г
дистиллированная вода 1000 мл

Ход определения. В чистую сухую пробирку вносят пипеткой 5 мл вышеуказанного разводящего раствора и сюда же пипеткой от гемометра Сали 40 мм³ крови. Содержимое пробирки тщательно перемешивают и выливают в кювету с отметкой «Г».

Затем производят начальную установку эритрогемометра согласно § 4 раздела «Подготовка к работе» описания и руководства к пользованию прибором, прилагаемыми к нему.

Производя начальную установку прибора, заменяют светофильтр «у» кюветой «Г» с исследуемой кровью и нажимают кнопку. При этом стрелка микроамперметра отойдет от нулевого деления. Вращая ручку установки отсчетного диска, возвращают стрелку микроамперметра на нулевое деление и по шкале гемоглобина отмечают ответ в грамм-процентах.

Если предстоит исследование нескольких проб крови, то правильнее и быстрее сначала настроить прибор на определение гемоглобина и после определения его во всех пробах перейти к определению числа эритроцитов.

Этот прибор нуждается в постоянной (через 2—3 месяца) калибровке по стандартной крови.

Определение фотоэлектрочелюметром ФЭК-М (Г. В. Дервиз и А. И. Воробьев)¹

Принцип. Определение гемоглобина крови по окраске оксигемоглобина, получаемого в результате гемолиза крови сильно разведенными растворами аммиака и отличающегося сравнительно стойкой окраской. Для определения количества гемоглобина по оптической плотности применяется таблица, разработанная авторами по средней градуировочной кривой, составленной на основании определения гемоглобина на 10 аппаратах ФЭК-М различных годов выпуска.

Посуда и аппаратура. 1. Пипетка, градуированная в десятых долях миллиметра.

2. Колба на 1000 мл.

3. Пробирки или пенициллиновые склянки.

4. Бюретка емкостью 10 мл с делениями 0,05 мл.

5. Капиллярная пипетка от гемометра Сали.

6. ФЭК-М.

Реактив. 0,024 N, т. е. 0,04% раствор аммиака; его готовят из 25% концентрированного (удельный вес 0,91) раствора аммиака, которого берут 1,6 мл и доливают дистиллированной воды до 1000 мл.

Ход определения. В пробирку или пенициллиновую склянку отмеряют при помощи бюретки 4 мл 0,04% раствора аммиака, затем берут капилляром от гемометра Сали 20 мм³ крови и вносят ее в раствор аммиака с обычным трехкратным ополаскиванием капилляра.

Чтобы избежать образования сгустков, раствор гемолизирующей жидкости при добавлении крови слегка взбалтывают. Гемолиз и переход гемоглобина в оксигемоглобин происходят в течение нескольких секунд. Получается прозрачный раствор с разведением крови 1:200.

Проверкой установлено, что этот раствор при хранении в закупоренной пробирке в холодильнике при температуре 1—6° не меняет своей оптической плотности в течение 4 суток. В открытой пробирке из-за испарения воды оптическая плотность раствора по мере хранения нарастает. Испарение в течение рабочего дня при комнатной температуре незначительно. Не рекомендуется хранить раствор крови более суток при комнатной температуре, так как в нем появляются колонии бактерий, раствор мутнеет и определение гемоглобина становится невозможным.

Определение гемоглобина на ФЭК-М проводится при зеленом светофильтре в кювете с рабочей шириной 10 мм. Можно пользоваться кюветой и в 5 мм, но в этом случае необходимо брать раствор гемоглобина в разведении 1:100, т. е. один капилляр Сали на 2 мл гемолизирующей жидкости.

Отсчет показаний шкалы оптической плотности (красные цифры) производят по правому барабану («второй способ измерения», см. Руководство по пользованию прибором). Получив величины оптической плотности, находят по заранее составленной градуировочной кривой или табл. 1 соответствующие значения концентрации гемоглобина в крови.

¹ Лабораторное дело, 1959, № 3.

Таблица 1
ОПТИЧЕСКАЯ ПЛОТНОСТЬ И СООТВЕТСТВУЮЩЕЕ ЕЙ КОЛИЧЕСТВО
ГЕМОГЛОБИНА ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ НА ФЭК-М РАСТВОРОВ КРОВИ
(разведение крови 1:200, толщина слоя 10 мм)

Оптиче- ская плот- ность	Гемоглобин		Оптиче- ская плот- ность	Гемоглобин	
	в г%	в единицах		в г%	в единицах
0,005	0,2	1,2	0,250	10,0	60,0
0,010	0,4	2,4	0,255	10,2	61,2
0,015	0,6	3,6	0,260	10,5	63,0
0,020	0,8	4,8	0,265	10,7	64,2
0,025	1,0	6,0	0,270	10,9	65,4
0,030	1,2	7,2	0,275	11,1	66,6
0,035	1,4	8,4	0,280	11,3	67,8
0,040	1,6	9,6	0,285	11,6	69,6
0,045	1,8	10,5	0,290	11,8	70,8
0,050	1,9	11,4	0,295	12,0	72,0
0,055	2,1	12,6	0,300	12,2	73,2
0,060	2,3	13,8	0,305	12,4	74,4
0,065	2,5	15,0	0,310	12,6	75,6
0,070	2,7	16,2	0,315	12,8	76,8
0,075	2,8	17,1	0,320	13,0	78,0
0,080	3,0	18,0	0,325	13,3	79,8
0,085	3,2	19,2	0,330	13,5	81,0
0,090	3,4	20,4	0,335	13,7	82,2
0,095	3,6	21,6	0,340	13,9	83,4
0,100	3,8	22,8	0,345	14,2	85,2
0,105	4,0	24,0	0,350	14,4	86,4
0,110	4,2	25,2	0,355	14,6	87,6
0,115	4,4	26,4	0,360	14,8	88,8
0,120	4,6	27,6	0,365	15,0	90,0
0,125	4,8	28,5	0,370	15,2	91,2
0,130	4,9	29,4	0,375	15,5	93,0
0,135	5,1	30,6	0,380	15,7	94,2
0,140	5,3	31,8	0,385	15,9	95,4
0,145	5,5	33,0	0,390	16,1	96,6
0,150	5,7	34,2	0,395	16,4	98,4
0,155	5,9	35,4	0,400	16,6	99,6
0,160	6,2	37,2	0,405	16,8	100,8
0,165	6,4	38,4	0,410	17,0	102,0
0,170	6,6	39,6	0,415	17,2	103,2
0,175	6,8	40,8	0,420	17,4	104,4
0,180	7,0	42,0	0,425	17,7	106,2
0,185	7,2	43,2	0,430	17,9	107,4
0,190	7,5	45,0	0,435	18,1	108,6
0,195	7,7	46,2	0,440	18,3	109,8
0,200	7,9	47,4	0,445	18,6	111,6
0,205	8,1	48,6	0,450	18,8	112,8
0,210	8,3	49,8	0,455	19,0	114,0

Продолжение табл. 1

Оптическая плотность	Гемоглобин		Оптическая плотность	Гемоглобин	
	в г%	в единицах		в г%	в единицах
0,215	8,5	51,0	0,460	19,2	115,2
0,220	8,8	52,8	0,465	19,4	116,4
0,225	9,0	54,0	0,470	19,6	117,6
0,230	9,2	55,2	0,475	19,9	119,4
0,235	9,4	56,4	0,480	20,1	120,6
0,240	9,6	57,6			
0,245	9,8	58,8			

Приведенная таблица с точностью до $\pm 2,5\%$ годна для любого исправного ФЭК-М.

Определение гемоглобина колориметром «Линсон Юниор», приложенным к целлоскопу шведской фирмы «AB Ljungberg»

Принцип действия прибора основан на использовании фотоэлемента.

Реактивы. 1. Для разведения крови готовят следующий раствор:
0,9% раствор хлорида натрия 950 мл
фосфатный буфер $\frac{M}{15}$ рН 7,55 45 мл
35% нейтральный формалин 5 мл

Можно использовать для разведения крови свежеприготовленный стерильный 0,9% раствор хлорида натрия (физиологический раствор).

2. 2% раствор сапонина в 0,9% растворе хлорида натрия. Раствор готовят на 1—2 дня и хранят в холодильнике. Удобно готовить 5 мл раствора (на 50 проб крови), растворив 0,1 г сапонина в 5 мл физиологического раствора.

Ход определения. Определение гемоглобина производят в той же пробе крови, которую берут для подсчета эритроцитов и лейкоцитов с помощью целлоскопа, описанного ниже (см. «Подсчет эритроцитов»).

Берут обычным способом кровь в количестве 20 мм³ и вносят ее в пробирку с 4 мл вышеуказанной разводящей жидкости или стерильного физиологического раствора (первое разведение).

После приготовления второго разведения для подсчета эритроцитов (см. ниже) к оставшемуся первому разведению крови добавляют 0,1 мл раствора сапонина и хорошо перемешивают.

После полного гемолиза эритроцитов (жидкость становится прозрачной), определяют гемоглобин в колориметре. С этой целью наливают предварительно в кювету дистиллированную воду и

устанавливают шкалу прибора на 100%. Затем в кювету прибора помещают гемолизированную кровь и по отклонению стрелки снимают показание шкалы. По таблице, приложенной к прибору, определяют количество гемоглобина.

Порция крови может быть использована затем для подсчета количества лейкоцитов в крови (см. подсчет лейкоцитов с помощью целлоскопа).

Определение гемоглобина цианметгемоглобиновым фотометрическим методом

(по инструкции, утвержденной Международным
стандартизационным комитетом
при Европейском обществе гематологов)

Принцип. Гемоглобин превращается в цианметгемоглобин (по новой, принятой сейчас номенклатуре в гемиглобинцианид $Hb(CN)$) добавлением к крови раствора с рН 7,0—7,4 красной кровяной соли (железосинеродистого калия) и цианида натрия или калия. Количество гемоглобина определяется по оптической плотности полученного раствора или вычислением по градуированной кривой прибора, примененного для определения экстинкции.

Посуда и аппаратура. 1. Спектрофотометр СФ-4 или фотоэлектроколориметр.

2. Пипетка от гемометра Сали на 0,02 мл.

3. Пипетка на 5 мл.

4. Пробирки длиной около 10 см.

Реактивы. Растворяют 200 мг железосинеродистого калия $[K_3Fe(CN)_6]$, 50 мг цианида калия (KCN), 140 мг монофосфата калия (KH_2PO_4) и 0,5 мл Sterox Se (концентрированного) в дистиллированной воде и доводят раствор до объема 1 л; рН должен быть 7,0—7,4 (по рН-метру). Раствор может сохраняться длительное время в темной бутылке, желательно в холодильнике.

Ход определения. Отмеривают 5 мл реактива +0,02 мл крови в пробирку и хорошо смешивают. Для полного превращения гемоглобина в гемиглобинцианид необходимо по крайней мере 2 минуты. Экстинкция измеряется при длине волны 540 нм (ммк) против воды на спектрофотометре СФ-4, или на ФЭК-М, или подобном фотоэлектроколориметре.

При пользовании спектрофотометром СФ-4 полученную оптическую плотность E умножают на коэффициент 36,77 и получают содержание гемоглобина в грамм-процентах.

Если же употребляется фотоэлектроколориметр, то предварительно составляют калибровочную кривую. Для этого применяют образец крови, в котором количество гемоглобина определяется в грамм-процентах на СФ-4 цианметгемоглобиновым методом. Если это определение производилось в той же лаборатории, то для получения серии разбавленных растворов гемиглобинцианида пользуются как исходным материалом раствором, находящимся в кювете СФ-4, а если определение гемоглобина в крови сделано в другой лаборатории, то из образца крови готовят исходный раствор гемиглобинцианида, смешивая 0,02 мл образца крови с 5 мл указанного выше реактива. Дальнейшее разведение удобно производить по табл. 2.

Таблица 2

№ разведения	Раствор гемиглобинцианида	Разводящий раствор	Гемоглобин в г%
1	Исходный раствор 0,02 мл крови + 5 мл реактива		15,00
2	3 мл № 1	1 мл	11,25
3	2 мл № 1	2 мл	7,50
4	2 мл № 2	2 мл	5,60
5	2 мл № 3	2 мл	3,75

Полученные растворы исследуют в фотоэлектроколориметре, отсчитывают оптические плотности (красные цифры) и наносят их в системе координат на ординату, а концентрации гемоглобина в грамм-процентах на абсциссу и затем вычерчивают калибровочную кривую.

При употреблении фотометров со светофильтрами, например ФЭК-М, необходим светофильтр с максимальным пропусканием в области 540 нм (мк). Оптическая плотность реактива при 540 нм (мк) должна равняться нулю при измерении против воды, в противном случае необходимо приготовить свежий реактив.

Метод имеет стандартное отклонение не более 0,2 г на 100 мл. Описанный метод надежен и точен, однако реактивы, применяемые в нем, весьма дефицитны, поэтому ниже приводится более простой способ с реактивом Дабкина.

Принцип, аппаратура и посуда в этом способе те же, что и в предыдущем методе.

Реактив. Железосинеродистый калий (красная кровяная соль) 0,20 г
цианид калия 0,05 г
бикарбонат натрия 1,00 г
дистиллированная вода до 1000 мл

Ход определения. В пробирку вводят пипетками 5 мл разводящего раствора Дабкина и 0,02 мл крови. Хорошо взбалтывают и оставляют постоять не менее 20 минут. Затем переливают в кювету и определяют гемоглобин в одном из упомянутых приборов, как и в цианметгемоглобиновом методе. При построении калибровочной кривой для получения растворов гемиглобинцианида различной концентрации нужно применять в данном случае в качестве разводящего раствора реактив Дабкина.

НОРМЫ ГЕМОГЛОБИНА

Для женщин: среднее значение 13,7 г% — 82 единицы
Колебания от 11,7 до 15,8 г%, от 70 до 95 единиц.

Для мужчин: среднее значение 15,8 г% — 95 единиц
Колебания от 13,3 до 18 г%, от 80 до 108 единиц.

Для детей. Содержание гемоглобина у детей (табл. 3) существенно отличаются от норм взрослых. По Тодорову, оно колеблется при рождении от 18,4 до 20,8 г% (110—125 единиц), а затем увеличивается в первые часы до 21,7—26,6 г% (130—160 единиц). Через 2—3 дня оно начинает уменьшаться и к 30-му дню достигает нормы (100 единиц — 16,67 г%).

От 1 месяца до 2 лет, а по Лавковичу до 3 лет эта величина вновь снижается до 10,8—11,7 г% (65—70 единиц).

С 2, а по Лавковичу с 3 лет начинается нарастание содержания гемоглобина. В период половой зрелости оно достигает нормы.

Таблица 3

КОЛИЧЕСТВО ГЕМОГЛОБИНА У ДЕТЕЙ В ВОЗРАСТЕ ОТ 1 ГОДА
ДО 15 ЛЕТ

Возраст в годах	По А. Ф. Туру			По А. О. Кар- ницкому в %	По О. П. Григо- ровой в %	По Перлину в %	По Е. Вильке	
	число детей	гемоглобин по Сали в %	оксигемо- глобин в г%				гемоглобин в г%	+ а
1—2	20	75	12,75	76,3—81,3	—	78,0—80,0	14,82	0,81
2—3	12	78	13,26	77,9—82,9	65,0	80,0	14,38	0,79
3—4	11	76	12,92	81,7—86,7	70,0	80,0	12,96	1,47
4—5	12	80	13,6	86,7—90,0	70,0	84,0	13,4	1,08
5—6	13	82	13,94	85,0—90,0	70,0	81,0	12,78	0,29
6—7	8	80	13,6	90,0—94,5	75,0	85,0	13,24	0,72
7—8	10	78	13,26	—	75,0	85,0	13,51	0,82
8—9	21	81	13,77	—	75,0	85,0	13,99	0,82
9—10	21	82	13,6	—	75,0	85,0	13,56	1,32
10—11	17	85	14,45	—	75,0	—	13,74	0,96
11—12	16	83	14,11	—	75,0	—	13,64	0,63
12—13	12	82	13,94	—	75,0	—	13,04	0,53
13—14	11	85	14,45	—	75,0	—	13,11	0,71
14—15	6	86	14,62	—	75,0	—	13,14	0,69

Интерпретация. Понижение концентрации гемоглобина в крови (олигохромемия) наблюдается при анемиях различной этиологии (кровопотери, дефицит витамина В₁₂, железа, повышенный гемолиз эритроцитов и др.).

Повышение концентрации гемоглобина в крови (гиперхромемия) встречается при эритремии, легочно-сердечной недостаточности и со-

четаается обычно с увеличением количества эритроцитов (эритроцитоз). При сгущении крови может наступить относительное увеличение концентрации гемоглобина.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНОМАЛЬНЫХ ФОРМ ГЕМОГЛОБИНА

За последние десятилетия в медицине родилось и развивается учение о гемоглобинопатиях (синоним — гемоглобинозы).

В настоящее время известно около 60 аномальных форм гемоглобина, и для дифференциации их пользуются различными методами определения. Одним из наиболее широко распространенных и доступных методов, позволяющих выявить аномальные гемоглобины, является электрофоретический метод исследования.

Электрофорез

Принцип. Растворенное в определенном растворителе вещество движется под действием электрического тока по направлению к тому или иному электроду. Различно заряженные частицы одинаковой величины или одинаково заряженные частицы разной величины движутся в электрическом поле с неодинаковой скоростью.

Оборудование. 1. Центрифуга на 3000 об/мин, лучше на 6000—8000 об/мин.

2. Аппарат для электрофореза.

3. Бумага для электрофореза: ватман № 3 мм или Шлейхер и Шюлл № 2043.

4. Сушильный шкаф.

Реактивы. 1. Цитрат натрия (5% раствор) или любой другой антикоагулянт.

2. Раствор хлорида натрия 0,85% или 1%.

3. Хлороформ или четыреххлористый углерод.

4. Буфер вероналово-мединаловый с рН 8,6, ионная сила 0,05:
веронал 1,84 г
мединал 10,32 г
вода дистиллированная до 2 л

5. Красящий раствор амидочерный 10-В:

краска 100 мг
ледяная уксусная кислота 100 мл
метиловый спирт 900 мл
или бромфенолсиний:
краска 0,125 г
ледяная уксусная кислота 5 мл
сулема 1% до 250 мл

6. Отмывающий раствор. Для амидочерного 10-В:

ледяная уксусная кислота 100 мл
фенол расплавленный 40 мл
вода водопроводная 860 мл

или для бромфенолсинего:

уксусная кислота 2%

7. Элюирующий раствор. Для амидочерного 10-В:

0,1 N раствор едкого натра.

Для бромфенолсинего:

0,01 N раствор едкого натра.

ADTI
AXB-RESURS MARKAZI
INV № 1932

Ход определения. Чтобы провести электрофорез гемоглобина, необходимо приготовить раствор его, т. е. гемолизат.

Приготовление гемолизата. Взятую из пальца или вены кровь в количестве 0,2—1 мл помещают в пробирку с 3 мл 5% раствора цитрата натрия или другого антикоагулянта. Если кровь обрабатывается сразу, вместо антикоагулянта можно брать 4—5 мл физиологического раствора. После перемешивания смесь центрифугируют при 2500—3000 об/мин в течение 5 минут. Эритроциты оседают на дно, и верхний слой отсасывают пипеткой. Центрифугирование повторяют 2—3 раза, добавляя каждый раз по 3—4 мл физиологического раствора. Если есть признаки гемолиза, пользуются 1% физиологическим раствором. После полного отмывания эритроцитов (жидкость над ними должна быть прозрачной и бесцветной) к осадку добавляют дистиллированную воду в количестве около одного объема эритроцитов и 2—3 капли хлороформа для растворения липохромных пигментов. При работе с кровью новорожденных хлороформ можно не добавлять. Содержимое пробирки хорошо смешивают встряхиванием примерно в течение минуты. Затем центрифугируют 15—30 минут, лучше при 6000—7000 об/мин. Отсасывают пастеровской пипеткой гемолизат в маленькую пробирку, в которой он может храниться в холодильнике до нескольких недель.

Для проведения электрофореза подготавливают, как обычно, аппарат, наливая в кюветы вероналово-мединаловый буфер с рН 8,6, ионная сила 0,05. Увлажненные этим же буфером полоски бумаги для электрофореза укладывают в аппарат и со стороны катода наносят гемолизат в количестве 0,01—0,015 мл (в зависимости от толщины бумаги). Закрыв камеру для электрофореза, устанавливают режим: 0,1—0,3 мл на 1 см поперечного сечения бумаги и около 250—300 в на 18—20 часов.

Электрофореграммы, вынутые из камеры после проведенного электрофореза, тотчас фиксируют путем просушивания их в горизонтальном положении в сушильном шкафу в течение 15—20 минут при 90—105°.

Затем электрофореграммы окрашивают раствором бромфенолсинего или амидочерного 10-B в течение 15—20 минут, после чего их отмывают в нескольких порциях соответствующего отмывающего раствора в течение 20 минут. Вновь сушат электрофореграммы при комнатной температуре или в сушильном шкафу.

Подвижность основных фракций гемоглобина благодаря его собственной окраске хорошо видна без дальнейшей обработки электрофореграмм.

Если необходимо получить графическое изображение электрофоретической подвижности гемоглобинов, электрофореграммы режут на полоски шириной по 3 мм, начиная от места нанесения гемолизата. Каждую 3-миллиметровую полоску помещают в отдельную пробирку и элюируют краску в течение 40 минут—1 часа. Элюирующего раствора наливают по 2 мл.

Определение экстинкции проводят в фотоэлектроколориметре с красным светофильтром, в кювете с расстоянием между рабочими гранями, равным 3 мм, против воды. Показатели отмечают по красной шкале (оптической плотности) правого барабана.

На оси абсцисс отмечают номера пробирок, а на оси ординат откладывают показатели шкалы барабана. Нанесение полученных кривых на один график имеет цель выявить различную электрофоре-

ческую подвижность тех гемоглобинов, миграция которых отличается незначительно.

Расшифровку электрофореграмм можно проводить в денситометре.

Количественное определение щелочноустойчивого гемоглобина (по Зингеру)

Принцип. За определенный промежуток времени (1 минута) щелочь денатурирует гемоглобин взрослых (А). Оставшийся устойчивым к денатурации гемоглобин F определяется спектрофотометрически, после чего высчитывается процентное его содержание от общего количества гемоглобина.

Оборудование. 1. Спектрофотометр СФ-4.

2. Секундомер.

3. Обеззоленные фильтры.

Реактивы. 1. Денатурирующий раствор. $1/12$ N раствора едкого натра или едкого кали. Хранят в парафинированной бутылки в холодильнике.

2. Преципитирующий раствор. Насыщенный раствор сульфата аммония $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

К 350 г сульфата аммония прибавляют 500 мл дистиллированной воды. Дают постоять. 400 мл этого раствора смешивают с равным объемом дистиллированной воды и к 800 мл полунасыщенного раствора сульфата аммония прибавляют 2 мл 10 N соляной кислоты.

3. 0,4% раствора аммиака (NH_4OH) .

Ход определения. В химическую пробирку наливают 1,6 мл денатурирующего раствора. Подогревают раствор в водяной бане при температуре $19-21^\circ$ в течение 5 минут. Продолжая держать пробирку с раствором в водяной бане, в нее вливают 0,1 мл гемолизата, приготовленного, как описано выше (но не в виде карбоксигемоглобина), и содержащего 1—2 г% гемоглобина. Пипетку прополаскивают 4—5 раз. Время внесения гемолизата фиксируют включением секундомера. Ровно по истечении одной минуты в пробирку вносят преципитирующий раствор в количестве 3,4 мл. Смесь перемешивают 6—7 раз путем переворачивания пробирки. Содержимое фильтруют в чистую пробирку через двойной слой обеззоленных фильтров. На фильтре остается денатурированный гемоглобин А, а фильтрат содержит щелочноустойчивый гемоглобин. Можно центрифугировать.

Количество щелочноустойчивого гемоглобина определяют в спектрофотометре при длине 541 мкм, в кварцевой кювете с толщиной слоя 1 см. В контрольную кювету наливают фильтрат, который готовят аналогично опытному, но вместо гемолизата берут 0,1 мл дистиллированной воды.

Расчет количества щелочноустойчивого гемоглобина по Гейльмейеру

Правильность определения гемоглобина проверяют подсчетом коэффициента Гюфнера, который представляет собой отношение величины экстинкции (оптической плотности) при длине волны 541 мкм к экстинкции при длине волны 560 мкм. Этот коэффициент может колебаться в пределах 1,56—1,72. Однако при определении малых коли-

ществ щелочноустойчивого гемоглобина коэффициент не может быть получен и тогда определение ведут только при длине волны 541 мк.

Для расчета количества щелочноустойчивого гемоглобина от общего определяют также на спектрофотометре и общее количество гемоглобина. Для этого 0,02 мл гемолизата с 1—2 г% гемоглобина вносят в пробирку с 5 мл 0,4% раствора аммиака. В контроле вместо гемолизата берут дистиллированную воду.

Величину полученной экстинкции делят на величину толщины слоя раствора (рабочая длина кюветы в сантиметрах), умножают на коэффициент 0,00118 (при длине волны 541 мк) или 0,00193 (при длине волны 560 мк), на разведение крови и на 100 для выражения в процентах. Полученные данные соответствуют содержанию гемоглобина в крови в г%. Затем берут среднюю величину из полученных определений при длине волны 541 мк и 560 мк. Приняв общее содержание гемоглобина за 100, узнают, какую часть в процентах составляет от него щелочноустойчивый гемоглобин.

Пример.

1. Расчет общего гемоглобина:

а) определяемая экстинкция при длине волны 541 мк — 0,039;

б) определяемая экстинкция при длине волны 560 мк — 0,025.

Коэффициент Гюфнера = $\frac{0,039}{0,025} = 1,57$ (т. е. в допустимых пределах).

Пересчет на грамм-проценты производится с учетом разведения крови.

Допустим, в данном примере гемоглобин по гемоглобинометру составил 11 г%. Приготовив из крови гемолизат, в нем вновь определяют содержание гемоглобина. Затем гемолизат разводят дистиллированной водой до содержания в нем гемоглобина, равного 1 г%¹. В результате гемоглобин разводят в 11 раз. Так как берут 0,02 мл гемолизата на 5 мл аммиака, то получают разведение еще в 250 раз ($\frac{5}{0,02} = 250$).

Проведение расчета позволяет найти соответствующий результат:

$$\text{а) } \frac{0,039}{1} \cdot 0,00118 \cdot 11 \cdot 250 \cdot 100 = 12,7 \text{ г\%};$$

$$\text{б) } \frac{0,025}{1} \cdot 0,00193 \cdot 11 \cdot 250 \cdot 100 = 13,3 \text{ г\%}.$$

Средняя арифметическая величина соответствует 13 г% общего гемоглобина.

2. Расчет щелочноустойчивого гемоглобина:

а) определяемая экстинкция при длине волны 541 мк — 0,146;

б) определяемая экстинкция при длине волны 560 мк — 0,090.

Коэффициент Гюфнера = $\frac{0,146}{0,090} = 1,63$.

Пересчет на грамм-проценты также производят с учетом разведения крови.

¹ Абсолютной точности при приготовлении гемолизата с содержанием гемоглобина 1—2 г% не требуется, так как на спектрофотометре производится точное определение содержания в гемолизате и общего количества гемоглобина и щелочноустойчивого гемоглобина.

Разведение в 11 раз при приготовлении гемолизата остается, а так как берут 0,1 мл гемолизата на 5 мл смеси растворов (1,6 мл денатурирующего раствора и 3,4 мл преципитирующего раствора), то получают разведение еще в 50 раз.

Производят расчет аналогичный вышеописанному:

$$a) \frac{0,146}{1} \cdot 0,00118 \cdot 11 \cdot 50 \cdot 100 = 9,47 \text{ г\%};$$

$$б) \frac{0,090}{1} \cdot 0,00193 \cdot 11 \cdot 50 \cdot 100 = 9,55 \text{ г\%}.$$

Средняя арифметическая величина соответствует 9,51 г% щелочноустойчивого гемоглобина.

Приняв общее количество гемоглобина 13 г% за 100, узнают, какой процент от них составит 9,51 г%.

$$\frac{13 - 100}{9,51 - x} \quad x = \frac{9,51 \cdot 100}{13} = 73,1\%,$$

т. е. 73,1% от общего количества гемоглобина.

В норме содержание щелочноустойчивого гемоглобина у детей старше 4—5 месяцев и взрослых составляет до 4% от общего гемоглобина по описанной модификации. Норма может варьировать до 1—2% от общего гемоглобина при использовании других модификаций.

Определение фетального гемоглобина в мазках крови

Принцип. Фетальный гемоглобин является более кислотоустойчивым, чем гемоглобин взрослых.

Оборудование. 1. Водяная баня или термостат на 37°.

2. Микроскоп.

3. Предметные стекла.

4. Фильтровальная бумага.

Реактивы. 1. Лимоннокислофосфатный буфер:

а) 0,2 М раствор динатрий фосфата Na_2HPO_4 (35,6 г $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ и до 1 л дистиллированной воды);

б) 0,1 М раствор лимонной кислоты (21,01 г лимонной кислоты и до 1 л дистиллированной воды).

Смешать 24,7 части раствора «а» и 75,3 части раствора «б».

2. Этиловый спирт (этанол) 80%.

3. Водный раствор метилвиолета 1% или раствор эозина 1%.

4. Иммерсионное масло.

Ход определения. Тонкий мазок капиллярной крови фиксируют в 80% этаноле в течение 5 минут. Можно использовать кровь, взятую с антикоагулянтом. Сразу после фиксации мазок смывают дистиллированной водой, после чего высушивают. Затем мазок элюируют в течение 5 минут в предварительно прогретом при 37° в течение 30 минут лимоннокислофосфатном буфере. Во время элюции буфер необходимо два перемешать стеклянной палочкой для удаления пузырьков воздуха с поверхности мазка. Элюированный мазок опо-

ласкивают дистиллированной водой, просушивают с помощью фильтровальной бумаги и опускают в краску эозина на 3 минуты или на мазок наливают раствор метилвиолета на 2 минуты. Препарат вновь промывают дистиллированной водой и после просушивания смотрят в микроскоп с иммерсионным объективом.

Эритроциты, содержащие фетальный гемоглобин, окрашены в ярко-розовый цвет при использовании раствора эозина или в ярко-лиловый цвет при применении метилвиолета. Эритроциты, в которых содержится гемоглобин взрослых, видны в виде теней, так как у них покрасилась только строма, а гемоглобин был элюирован. В норме эритроциты с фетальным гемоглобином встречаются в виде единичных в препарате.

Пробы на серповидность эритроцитов.

Принцип. Гемоглобин S при понижении парциального давления кислорода кристаллизуется в форме тактоидов и придает эритроцитам форму серпа (дрепаноцита). К крови прибавляют вещества, понижающие в препаратах содержание кислорода.

Может быть использована одна из описываемых проб.

Метабисульфитная проба. На предметном стекле смешивают каплю крови с каплей свежего 2% раствора метабисульфита натрия ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$) и закрывают покровным стеклом, которое обводят вазелином для предотвращения доступа кислорода.

Проба с янусгрюном. Готовят раствор янусгрюна в 95° этаноле 1:15 000. Каплю красителя наносят на обезжиренное предметное стекло и, когда она высохнет, на нее наносят каплю крови, покрывают покровным стеклом и обводят вазелином.

Проба с метиленовой синью. Проводят так же, как и предыдущую. Вместо янусгрюна используют метиленовую синьку 1:15 000 в 95° спирте.

Препараты просматривают в микроскопе при увеличении в 400 раз в течение первых 10—15 минут, затем через 24 часа и 48 часов.

В случае положительного результата эритроциты принимают серповидную форму.

Интерпретация. У взрослых и детей старше 4—5 месяцев преобладает нормальный гемоглобин А.

Аномальные типы гемоглобина могут встречаться при патологических состояниях самостоятельно или чаще всего в сочетании с гемоглобином А.

Наиболее часто встречающимися гемоглобинопатиями являются такие, как талассемия, серповидноклеточная анемия, гемоглобинозы С, D, E. Однако могут наблюдаться и смешанные гемоглобинозы, например дрепаноталассемия (сочетание серповидноклеточной анемии и талассемии), талассемия — гемоглобиноз С, гемоглобиноз S+C и т. д.

Лабораторная диагностика гемоглобинопатий имеет большое значение, так как они клинически проявляются симптоматикой гемолитических анемий и сходной картиной крови.

Пробы на серповидность эритроцитов являются специфическими для выявления наличия гемоглобина S. В зависимости от количества его в эритроцитах пробы могут дать положительный результат до 2 суток.

Метод электрофореза гемоглобина позволяет определить основной тип его и, если подвижность одного гемоглобина не наслаивается на подвижность другого гемоглобина, как, например, у ге-

моглобинов А и F, F и S, то провести количественное определение их.

Подвижность HbA соответствует подвижности гемоглобина здорового взрослого человека (рис. 1).

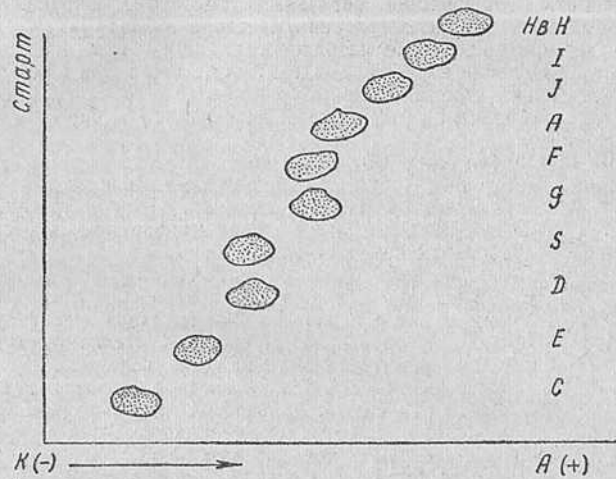


Рис. 1. Схема подвижности гемоглобинов при верналово-мединаловом буфере с pH 8,6.

Несколько более медленную электрофоретическую подвижность имеет гемоглобин F (новорожденных). Как видно на представленном схематическом изображении миграции гемоглобинов (по Виллу), расположение гемоглобинов А и F наслаивается друг на друга. Поэтому количественное определение гемоглобинов А и F методом электрофореза не может быть проведено. При необходимости количественного определения гемоглобина F пользуются методикой, основанной на различной денатурации этих гемоглобинов щелочами, или используют метод определения фетального гемоглобина в мазках крови.

При значительном содержании фетального гемоглобина в эритроцитах (свыше примерно 20% от общего количества гемоглобина) электрофоретическая подвижность гемоглобина соответствует подвижности HbF. Контролем для определения подвижности HbF может быть гемоглобин из плацентарного конца пуповинной крови, раствор которого готовят описанным выше способом.

При небольшом содержании фетального гемоглобина электрофоретическая подвижность гемоглобина может соответствовать подвижности HbA.

Количественное определение щелочноустойчивого гемоглобина (F) с помощью спектрофотометра позволяет выявить содержание его до 1% и более.

При электрофорезе скорость движения гемоглобинов к аноду при рН буфера 8,6 зависит от количества отрицательных зарядов аминокислот.

Миграция HbS медленнее, чем миграция HbA и HbF, и, кроме того, наличие HbS подтверждается положительными пробами на серповидность эритроцитов.

В случае значительного превалирования содержания HbS над содержанием HbA или A + F, на электрофореграммах определяется одна большая фракция, соответствующая подвижности HbS. Если содержание HbS составляет около 50%, а остальная часть приходится на долю HbA, на электрофореграммах видны два пятна, разделенные между собой. Наличие HbF при сочетании A + S, особенно при повышении содержания HbF до 30%, ведет к тому, что гемоглобины S и F выглядят на электрофореграмме в виде одного слившегося более расплывчатого пятна. При этом количественное выявление HbF производится с помощью метода определения щелочноустойчивого гемоглобина.

Гемоглобин D имеет одинаковую с гемоглобином S электрофоретическую подвижность, но при отсутствии HbS пробы на серповидность эритроцитов дают отрицательный результат.

Гемоглобин C на электрофореграммах имеет самую медленную подвижность.

В СССР из гемоглинопатий чаще всего встречается талассемия (синонимы — мишеневидноклеточная анемия, средиземноморская анемия).

Большинство авторов подразделяет талассемию на две формы: 1) большую (*thalassemia major*) — анемию Кули, представляющую собой гомозиготное состояние, и 2) малую (*thalassemia minor*) — гетерозиготное состояние. Однако в последнее время многие склонны выделять и минимальную форму талассемии (*thalassemia minima*), при которой не наблюдается никаких клинических, а также гематологических (морфологических) сдвигов, но имеется небольшое повышение аномального гемоглобина.

При **большой талассемии** — анемии Кули, помимо соответствующей клинической картины, отмечаются характерные изменения со стороны крови.

Эти изменения крови в основном сводятся к выраженному анизопокилоцитозу, анизохромии, наличию ядерных форм эритроцитов, базофильной пунктации их и наличию мишеневидных эритроцитов (таргетные клетки, кокарды). Кроме того, отмечаются ретикулоцитоз, расширение границ осмотической резистентности эритроцитов. Может быть лейкоцитоз со сдвигом до юных и миелоцитов. В плазме наблюдается увеличенное содержание прямого билирубина и пониженное количество холестерина. При этой форме талассемии находят увеличенным содержание щелочноустойчивого гемоглобина и на электрофореграмме подвижность гемоглобина соответствует подвижности HbF. Количество щелочноустойчивого гемоглобина обычно превышает 20% от общего гемоглобина и может достигать 85—90%.

Малая талассемия, или стертая форма заболевания. Со стороны внутренних органов, как правило, патологии выявить не удается, хотя в ряде случаев может быть незначительная гепатоспленомегалия. В крови обычно отмечаются нерезко выраженная гипохромия, анизопокилоцитоз с преобладанием микроцитов и наличие

мишеневидных эритроцитов, могут встречаться эритроциты овальной формы.

При малой форме талассемии количество щелочноустойчивого гемоглобина может подниматься примерно до 20—25% от общего гемоглобина. Электрофоретическая подвижность гемоглобина может соответствовать подвижности HbA или быть сдвинута несколько в сторону расположения HbF. Однако в ряде случаев малой талассемии находят увеличенным содержание HbA₂, который представляет собой одну из фракций HbA.

У здоровых лиц HbA₂ не превышает 2,5—3% (по Кункелю) от общего гемоглобина, но может оказываться вдвое увеличенным, достигая 5—6% у больных малой талассемией. Этот гемоглобин при электрофорезе располагается между HbS и HbC и на электрофореграммах представлен в виде небольшой фракции. Одинаковой с ним подвижностью (при буфере с pH 8,6) обладает HbE. Наличие мишеневидных эритроцитов при малой форме талассемии является обязательным.

Помимо указанных нарушений в соотношении гемоглобинов A, A₂ и F, при талассемии могут встречаться и такие гемоглобины, как HbH и гемоглобин Барта. Появление этих гемоглобинов связано с нарушением синтеза полипептидных цепей гемоглобина.

Серповидноклеточную анемию также подразделяют на две формы: выраженную (sickle cell anemia) и мало-симптомную, или аномалию (sickle cell trait). Синонимом серповидноклеточной анемии является дрепаноцитоз.

Изменения крови характеризуются нормохромной анемией с наличием вытянутых эритроцитов — серповидных по форме (дрепаноциты) и мишеневидных эритроцитов. Обычно значительно выражена полихроматофилия, встречаются эритроциты с базофильной пунктацией, нормобласты и эритробласты. Почти всегда отмечается ретикулоцитоз. Осмотическая резистентность эритроцитов может быть повышена, а механическая резистентность — понижена. В плазме крови отмечается повышенное содержание непрямого билирубина. В костном мозгу, за исключением кризов, находят нормобластическую гиперплазию.

Пробы на серповидность эритроцитов дают резко положительный результат. Электрофоретическая подвижность гемоглобина соответствует подвижности HbS, т. е. несколько медленнее HbF. HbS может составлять 100% и меньше.

При комбинации A + S + F говорят о так называемой **дрепаноталассемии** или **микродрепаноцитозе**. В случае наличия дрепаноталассемии гемоглобин новорожденных, определяемый методом щелочной денатурации, превышает норму. В зависимости от соотношения этих трех гемоглобинов на электрофореграмме миграция основной фракции гемоглобина может быть несколько большей или меньшей.

Сочетание гемоглобинов S + C, так называемый **дрепаногемоглобиноз C**, представляет собой легко протекающую гемолитическую анемию. Пробы на серповидность эритроцитов будут положительными, а на электрофореграммах будет выявляться фракция, соответствующая подвижности гемоглобина S, и фракция, соответствующая подвижности HbC, т. е. почти у линии старта.

У больных с **гемоглобинозом E** в чистом виде или в сочетании с талассемией не всегда определяется увеличение количества ре-

тикулоцитов и не всегда встречаются в крови мишеневидные эритроциты. Эритроциты могут быть нормохромные, микроцитарные. Количество HbF может превышать норму, но количество HbE обычно свыше 30%. Количество HbF определяется методом щелочной денатурации, а электрофоретическая подвижность гемоглобина E соответствует подвижности HbA₂ и фракция HbE располагается между гемоглобином S и C.

В ряде случаев дифференциальную диагностику гемоглобинопатий, особенно смешанных форм их, можно проводить только при соответствующем обследовании родственников больных, т. е. с учетом генетических данных, поскольку гемоглобинозы в силу их передачи по наследству являются семейными заболеваниями.

ЭРИТРОЦИТЫ

ВЗЯТИЕ КРОВИ

Меланжерный метод

Принцип. Точное отмеривание крови и равномерное разведение ее в точно отмеренном количестве жидкости.

Посуда и аппаратура. 1. Смесители (меланжеры) для эритроцитов с резиновыми трубочками, надетыми на их верхние концы.

2. Слянки с притертыми пробками для разводящих жидкостей.

Смесители представляют собой пипетки с яйцевидным расширением (ампулой). Концы капилляров, служащие для набора крови, градуированы и имеют отметки 0,5 и 1. Выше ампулы тоже имеется метка. Ампула смесителя для эритроцитов вмещает в 100 раз больше жидкости, чем капилляр до метки 1, поэтому над его ампулой поставлена цифра 101. В расширенной части смесителей имеется стеклянная или фарфоровая бусинка, обеспечивающая при встряхивании получение равномерной смеси. Свободное передвижение этой бусинки подтверждает, что смеситель сухой, в чем всегда следует убедиться перед взятием крови во избежание гемолиза эритроцитов.

Реактивы. 1. 0,85—3% раствор хлорида натрия.

Или 2. раствор Гайема:

сулема	0,5 г
сульфат натрия	5 г
хлорид натрия	1 г
дистиллированная вода	200 мл

К этому раствору прибавляют 0,4 г красителя (толуидинового синего, или метилвиолета, или кризолового синего). При прибавлении красителя хорошо окрашиваются ядра лейкоцитов, поэтому при подсчете в камере эритроциты нельзя спутать с лейкоцитами. Это важно при большом количестве лейкоцитов в крови и малом количестве эритроцитов. Раствор по сравнению с другими лучше сохраняет эритроциты.

Или 3. раствор Дейчи:

40% формалин	1 мл
3% цитрат натрия, приливаемый до объема	100 мл

Ход определения. Если предварительно была взята кровь для определения количества гемоглобина, то остатки ее удаляют с кожи тампоном, затем, сдавливая кожу, выпускают свежую каплю и набирают кровь в смеситель для эритроцитов до метки 0,5 путем осторожного всасывания через резиновую трубку, надетую на верхний конец смесителя. Если крови будет взято несколько больше, излишек ее удаляют осторожным касанием кончика пипетки о тугой ватный тампон. Тщательно обтертый кончик смесителя тотчас же погружают в разводящую жидкость. При всасывании жидкости смеситель сначала держат под некоторым углом, чтобы хорошо было видно метку и чтобы не вылилась кровь. Затем, по мере заполнения ампулы, его переводят в вертикальное положение, слегка вращая между пальцами. Всасывание последней четверти производят медленнее и, как только жидкость достигнет метки 101, смеситель быстро переводят в горизонтальное положение, чтобы полученная смесь не вылилась. Набирать в смеситель кровь и разводящую жидкость нужно так, чтобы в ампуле не образовались пузырьки воздуха, наличие которых изменяет соотношение крови и жидкости.

Убедившись, что кровь разбавлена точно до метки, снимают со смесителя резиновую трубку и, поместив его между большим и средним пальцами, сильно встряхивают.

Во избежание ошибок на смеситель следует накалывать записку с указанием фамилии и инициалов больного и названия отделения больницы. Герметически закрытые резиновой трубкой концы смесителя предохраняют жидкость от вытекания и высыхания до момента последующего подсчета (резиновую трубку следует надевать сначала на тонкий конец, а затем на противоположный конец смесителя).

Разведение при взятии крови в смеситель до метки 0,5 будет 1 : 201.

После подсчета клеток в камере смеситель промывают водой, потом спиртом и эфиром и высушивают в сушильном шкафу. Для промывания смесителей применяют водоструйные насосы или резиновые груши.

Пробирочный метод (Н. М. Николаев)¹

Принцип. Стремление достигнуть более точного отмеривания количества крови и разводящей жидкости за счет применения точных пипеток и оперирования с большими объемами жидкостей.

Посуда и аппаратура. 1. Обыкновенные, химические или более короткие серологические пробирки.

2. Капиллярная пипетка от гемометра Сали.

3. Слянки для разводящих жидкостей.

4. Градуированная пипетка для отмеривания разводящих жидкостей.

Реактивы те же, что и в предыдущем способе.

Ход определения. В предварительно высушенную чистую пробирку точно отмеривают пипеткой 4 мл разводящей жидкости и закрывают резиновой пробкой.

¹ Советская медицина, 1954, № 4.

Если была взята кровь для определения гемоглобина, то остатки крови удаляют с кожи пациента тампоном и затем, слегка сдавливая кожу, выпускают свежую каплю, из которой и набирают капиллярной пипеткой от гемометра Сали 20 мм³ крови. Эту кровь осторожно выдувают в пробирку с разводящей жидкостью, промывают последней пипетку, закрывают резиновой пробкой и тщательно перемешивают. Полученное разведение 1:201 можно принять практически равным 1:200.

Капиллярная пипетка для исследования количества эритроцитов должна быть отдельной, а поэтому ее особо отмечают (например, натянув на ее кончик кусочек цветной резиновой трубки). Перед взятием крови пипетку промывают разводящей жидкостью для эритроцитов, чтобы предохранить последние от разрушения.

Модифицированный пробирочный метод (Н. П. Пятницкий)¹

Принцип. Обеспечение правильного разведения крови применением всегда одних и тех же точно градуированных специальных пипеток для разводящих жидкостей.

Посуда и аппаратура. 1. Имеющаяся в продаже специальная пипетка для отмеривания 3,98 мл разводящей жидкости (пипетка калибрована на выливание с выдуванием остатка 3,98 мл дистиллированной воды при 25°).

2. Капиллярная пипетка от гемометра Сали.

3. Низкие и широкие пробирки, предложенные А. В. Флоринским, закрытые резиновыми пробками № 12—14 или пробками от флаконов из-под пенициллина или инсулина.

Реактивы. 1. Разводящие жидкости те же, что и в предыдущих методах.

2. 1—3% раствор цитрата натрия.

Ход определения. Специальной пипеткой отмеривают по 3,98 мл разводящей жидкости, соблюдая при этом следующее правило: в чистую пипетку насаживают жидкость так, чтобы нижний мениск ее коснулся черты, и затем, сняв каплю жидкости с кончика пипетки прикосновением к стеклу, свободно выливают жидкость в сухую пробирку, выдувают остаток, прикоснувшись теперь кончиком пипетки к внутренней стенке пробирки, выдувают еще раз и после этого закрывают пробирку резиновой пробкой. При массовом исследовании отмеривать разводящую жидкость в пробирки можно накануне.

Чистую капиллярную пипетку от гемометра Сали смачивают внутри 1—3% раствором цитрата натрия, тщательно продувают или стряхивают ее и вытирают снаружи ватой. Если кровь набирают из того же укола, из которого брали кровь для определения гемоглобина, то, соблюдая условия, указанные в описанном выше методе, выпускают свежую каплю крови и, приставив к ней кончик капилляра от гемометра Сали, наполняют его самотеком до метки (20 мм³). Вытирают осторожно кончик капилляра от крови и переносят кровь в пробирку с разводящей жидкостью, споласкивают капилляр этой жидкостью и перемешивают смесь. Пробирки

¹ Лабораторное дело, 1961, № 8.

с разведенной кровью плотно закрывают резиновыми пробками и приклеивают к ним записки с указанием фамилии, имени и отчества пациента.

Разведение получают 1 : 200. Если нужно развести кровь 1 : 100, то предварительно удаляют из пробирки капиллярной пипеткой от гемометра Сали 20 мм³ разводящей жидкости, а в оставшийся объем ее вносят 40 мм³ (две пипетки) крови.

ПОДСЧЕТ ЭРИТРОЦИТОВ

Подсчет в счетной камере

Счетная камера состоит из толстого прямоугольного стекла с сеткой, выгравированной непосредственно на нем или на специально наклеенной для этого стеклянной пластинке. В настоящее время в СССР в большинстве случаев пользуются камерой с двумя сетками Горяева, разграниченными между собой глубокой поперечной канавкой. Сбоку сеток находятся стеклянные прямоугольные пластинки, к которым притираются специальные шлифованные покровные стекла.

Эта камера удобна не только по расположению линий, но и тем, что позволяет на одной сетке производить подсчет лейкоцитов, а на другой — эритроцитов.

Сетка Горяева состоит из $15 \times 15 = 225$ больших квадратов. Большие квадраты, расчерченные вертикально и горизонтально на 16 малых квадратов, чередующихся с квадратами, разделенными только горизонтальными или только вертикальными линиями, и с квадратами чистыми, без линий. Имея в виду, что глубина камеры равна $\frac{1}{10}$ мм, а сторона малого квадрата равна $\frac{1}{20}$ мм находим, что объем камеры, соответствующий маленькому квадрату, всегда равен $\frac{1}{4000}$ мм³.

Перед заполнением камеры необходимо ее и шлифованное покровное стекло вымыть водой и насухо вытереть. Затем шлифованное стекло притереть к камере так, чтобы появились радужные, так называемые ньютоновы кольца, ибо только при этих условиях будут соблюдены необходимая высота и тем самым объем камеры.

Заполнение камеры

Непосредственно перед заполнением камеры кровь в смесителе сильно встряхивают в течение 3—5 минут, а затем жидкость, находящуюся в капилляре, как не участвующую в перемешивании выливают. После этого смеситель еще несколько раз встряхивают и затем заполняют камеру так, чтобы вся поверхность, на которой нанесена сетка, была заполнена жидкостью без затекания ее в бороздки и без пузырьков воздуха.

Кровь, разбавленную в пробирке, необходимо также перед заполнением камеры встряхнуть несколько раз, держа пробирку вертикально. После этого концом круглой стеклянной палочки отбирают из пробирки, наклоняя ее, взвешенную каплю крови и вносят

ее под притертое шлифованное стекло камеры. Если одной капли крови недостаточно для полного заполнения камеры, то дополняют ее другой каплей.

После заполнения камеру оставляют на 1 минуту в покое для оседания форменных элементов. Затем приступают к счету форменных элементов при малом увеличении микроскопа (объектив $8\times$, окуляр $10\times$ или $15\times$). Подсчет следует производить при затемненном поле зрения (прикрытой диафрагме или несколько опущенном конденсоре).

При гемолитических и пернициозных анемиях рекомендуется считать эритроциты сейчас же после их взятия, так как при длительном хранении они могут частично разрушиться.

В случаях, когда требуется большая точность, эритроциты считают на 2 сетках и результат берут среднеарифметический.

Эритроциты считают в 5 больших квадратах ($5 \times 16 = 80$ малых), расположенных по диагонали, так как расположение клеток в камере может быть неодинаково.

Существует правило, что счету подлежат эритроциты, лежащие внутри маленького квадрата, и те, которые находятся на левой и верхней линиях его или касаются их с той и другой стороны. Эритроциты, расположенные на правой и нижней линиях или касающиеся их с обеих сторон, не считают, так как они будут сосчитаны в следующем квадрате. Результаты подсчета в каждом большом квадрате записывают в столбик и затем суммируют их.

Вычисление количества форменных элементов в 1 мм^3 крови для всех сеток производится по следующей формуле:

$$X = \frac{a \cdot 4000 \cdot e}{b},$$

где:

- X — количество форменных элементов в 1 мм^3 крови;
- a — количество форменных элементов, сосчитанных в определенном количестве малых квадратов;
- b — количество сосчитанных малых квадратов;
- e — степень разведения крови.

$1/4000 \text{ мм}^3$ — объем малого квадрата, умножая на 4000, приводим к объему 1 мм^3 крови.

Пример. В 5 больших или в 80 малых квадратах сосчитано 400 эритроцитов, кровь разведена в 200 раз.

$$\text{Количество эритроцитов в } 1 \text{ мм}^3 = \frac{400 \cdot 4000 \cdot 200}{80} = 4\,000\,000.$$

При подсчете 80 малых квадратов и при разведении крови в 200 раз можно практически не пользоваться каждый раз приведенной формулой, а просто к подсчитанному количеству эритроцитов прибавить четыре нуля, т. е. умножить его на 10 000.

При подсчете эритроцитов ошибка может достигать $\pm 2-3\%$, в среднем $\pm 2,5\%$, т. е., получив число эритроцитов = 5 000 000, нужно считать, что истинное число их лежит между 5 125 000 и 4 875 000.

Источники ошибок

1. Образование сгустка. Взятие крови и всасывание разводящей жидкости нужно делать быстро и ловко, чтобы не образовался сгусток, который, увлекая часть клеток, приводит к пониженным результатам исследования.

2. Образование пузырька воздуха в смесителе. Если при всасывании разводящей жидкости держать смеситель наклонно, получатся пузырьки. Если же его держать вертикально, воздух постепенно выходит и не задерживается в нем. При наличии пузырька воздуха в смесителе соотношение между разводящей жидкостью и кровью нарушается в пользу крови и результаты подсчетов получаются увеличенными.

3. Несоблюдение условий, обеспечивающих правильную высоту камеры. Неправильное притирание покровных стекол без образования ньютоновых колец не создает нужной высоты камеры и искажает результаты. Кроме того, имеет значение толщина покровного стекла. Рекомендуется пользоваться стеклами не тоньше 3 мм.

4. Несвоевременный подсчет клеток, сразу (не выжидая 1 минуту) после заполнения камеры кровью; клетки при этом не успевают осесть на дно. Результаты получаются ниже действительных.

5. Недостаточное количество (меньшее) подсчитанных квадратов.

6. Плохо вымытые и недостаточно просушенные смесители и пробирки.

7. Недоброкачественность разводящего раствора, вызывающая гемолиз эритроцитов.

8. Недостаточная квалификация лаборантов.

Подсчет эритроцитов фотоэлектрическим эритрогемометром (модель 065)

Принцип основан на фотоэлектрическом измерении степени погашения света определенных длин волн в инфракрасной области спектра взвесью эритроцитов.

Посуда и приборы. 1. Пипетка на 15 мл.

2. Капиллярная пипетка от гемометра Сали.

3. Пробирка.

4. Колба на 1000 мл.

5. Фотоэлектрический эритрогемометр (модель 065).

Реактив. Разводящий раствор:

химически чистый хлорид натрия	35 г
дистиллированная вода до	1000 мл

Ход определения. В чистую сухую пробирку вносят пипеткой 15 мл разводящего раствора и сюда же пипеткой от гемометра Сали 20 мм³ крови с соблюдением обычных правил. Содержимое пробирки тщательно перемешивают и выливают в кювету эритрогемометра с отметкой «Э».

Затем производят начальную установку прибора, согласно § 5 раздела «Подготовка к работе» описания и руководства к пользованию прибором, прилагаемого к нему.

Произведя начальную установку прибора, заменяют светофильтр «У» кюветой с приготовленной взвесью эритроцитов и нажимают кнопку. При этом стрелка микроамперметра отойдет от нулевого деления. Вращением ручки установки отсчетного диска возвращают стрелку микроамперметра на нулевое деление и по шкале эритроцитов читают ответ в миллионах эритроцитов в 1 мм^3 .

Перед измерением взвесь эритроцитов следует перемешивать, чтобы поднять со дна пробирки осевшие эритроциты. При этом нужно избегать резких встряхиваний, чтобы не образовалась пена. Перемешивание удобно производить многократным опрокидыванием пробирки, зажатой чисто вымытым пальцем.

Отсчеты по прибору точнее всего производить через 50—60 секунд после заполнения кюветы, когда вихревые движения в кювете прекращаются, а оседание эритроцитов еще не началось.

Если при определении эритроцитов их оказывается больше 6 000 000, то разведение нужно увеличить вдвое. Полученный результат в этом случае удваивают.

Если предстоит исследование нескольких проб крови, то правильнее и быстрее сначала настроить прибор на определение гемоглобина и определить его во всех пробах, а затем перейти к определению числа эритроцитов.

Данный метод нельзя применять при исследовании патологической крови с измененными по величине и форме эритроцитами, так как они по-другому рассеивают свет, чем нормальные эритроциты.

Подсчет эритроцитов с помощью целлоскопа фирмы «AB Ljungberg»

Целлоскоп — автоматический счетчик шведской фирмы «AB Ljungberg» позволяет быстро и точно подсчитывать количество эритроцитов в крови. С помощью его можно также построить кривую распределения эритроцитов по их диаметру (кривая Прайс—Джонса).

Принцип. Изменение клетками крови сопротивления электрической цепи, которое регистрируется с помощью электромагнитного счетчика.

Узкое капиллярное отверстие в стеклянной трубке прибора, определенное разведение крови и вакуумное устройство обеспечивают прохождение через электрическую цепь клеток в один ряд, таким образом каждая клетка регистрируется и отражается на осциллоскопическом экране и шкале прибора. Через капиллярную щель проходит строго определенное количество исследуемой разведенной крови и клетки регистрируются в зависимости от разведения числом, кратным 8, так если кровь разведена 1:8, то регистратор отражает число частиц в 1 мм^3 цельной крови. Для подсчета эритроцитов кровь разводят 1:80 000, а показания регистратора множат на 10 000.

- Посуда и аппаратура.** 1. Целлоскоп.
2. Капиллярная пипетка на 20 мм^3 .
3. Микропипетки.
4. Пробирки.
5. Химические стаканы емкостью по 25 мл.

Реактивы те же, что в описанном выше способе определения гемоглобина в крови колориметром «Линсон Юниор».

Ход определения. Модифицированная Гамильтоном—Патерсоном методика позволяет подсчитывать эритроциты и лейкоциты в одной пробе крови; кровь в количестве 20 мм³, взятую у пациента обычным способом при помощи капиллярной пипетки, помещают в пробирку с 4 мл разводящей жидкости (первое разведение).

Пробирка с этим разведением (1:200), закрытая пробкой, может стоять несколько часов. Из первого разведения готовят непосредственно перед определением количества эритроцитов второе разведение.

В химический стаканчик емкостью 25 мл берется 20 мл физиологического раствора и 0,05 мл первого разведения крови (предварительно хорошо перемешанного). Содержимое стаканчика тщательно перемешивают и производят подсчет эритроцитов в целлюскопе, согласно инструкции, приложенной к прибору. Снятое показание прибора для выражения числа эритроцитов в 1 мм³ крови умножают на 10 000.

Для подсчета эритроцитов дискриминатор — винт, регулирующий регистрацию частиц разного размера, устанавливают на цифре 20.

Количество эритроцитов считается нормальным для:

мужчин 4 500 000 — 5 000 000 в 1 мм³ крови

женщин 4 200 000 — 4 800 000 » 1 » »

Возрастные изменения количества эритроцитов представлены в табл. 4.

Таблица 4

КОЛИЧЕСТВО ЭРИТРОЦИТОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВОЗРАСТА
(ПО ТОДОРОВУ)

Возраст	Количество эритроцитов в 1 мм ³	
	средние величины	колебания
При рождении	5 250 000	4 500 000—6 000 000
1-й день	6 000 000	5 000 000—7 500 000
3-й »	5 500 000	4 500 000—6 500 000
7-й »	5 100 000	4 000 000—6 000 000
12-й »	5 000 000	4 000 000—5 800 000
15-й »	4 700 000	3 800 000—5 600 000
1-й месяц	4 700 000	3 800 000—5 600 000
2-й »	4 600 000	3 800 000—5 400 000
3—4-й месяц	4 000 000	3 500 000—4 500 000
5—6-й »	4 100 000	3 500 000—5 000 000
7—12-й »	4 300 000	4 000 000—5 000 000
2—4 года	4 600 000	4 000 000—5 200 000
5—9 лет	4 700 000	4 100 000—5 400 000
10—15 »	4 800 000	4 200 000—5 300 000
У взрослого	5 000 000	4 500 000—5 500 000

Интерпретация. Увеличение количества эритроцитов имеет место при различных формах идиопатических и симптоматических полицитемий, являясь выражением первично повышенной функции костного мозга или компенсаторной реакции при гипоксии (высотный климат, расстройства кровообращения и дыхания).

Уменьшение количества эритроцитов наблюдается при пониженной эритробластической функции костного мозга (гипо- и апластические процессы), при патологически измененном костном мозге (лейкозы, миеломная болезнь, метастазы злокачественных опухолей и др.). Эритроцитопения может быть вследствие усиленного распада эритроцитов (приобретенные и наследственные семейные гемолитические анемии), при дефиците в организме железа, витамина В₁₂, при кровотечениях. Уменьшение количества эритроцитов наблюдается также при недостаточном содержании в пище белка.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СРЕДНЕГО СОДЕРЖАНИЯ ГЕМОГЛОБИНА В ОДНОМ ЭРИТРОЦИТЕ

Среднее содержание гемоглобина в одном эритроците определяется делением концентрации гемоглобина в 1 мм³ крови, выраженной в пикограммах, на число эритроцитов в том же объеме крови.

Принято обозначать среднее содержание гемоглобина в одном эритроците в пикограммах (пг), называемых некоторыми авторами микропикограммами или гаммагаммаграммами. 1 мг равен 1 000 000 000 пг.

Пример. Среднее количество эритроцитов в 1 мм³ крови взрослого человека 5 000 000. Средняя величина нормального содержания гемоглобина у взрослого человека принимается равной 16,7 г% (что соответствует 100 единицам).

В 1 мм³ крови при этих условиях содержится гемоглобина 0,000167 г, или 0,167 мг, или 167 000 000 пг.

Содержание гемоглобина в одном эритроците будет:

$$\frac{167\ 000\ 000}{5\ 000\ 000} = 33,3 \text{ пг.}$$

Практически среднее содержание гемоглобина в одном эритроците получают умножением количества гемоглобина в грамм-процентах на 10 и делением на число эритроцитов в миллионах:

$$\frac{16,7 \times 10}{5} = 33,3 \text{ пг.}$$

Нормальная величина среднего содержания гемоглобина в отдельном эритроците у взрослых колеблется от 27 до 33,3 пг.

Интерпретация. Показатель среднего содержания гемоглобина в одном эритроците очень важен для суждения о гипо- и гиперхромии эритроцитов. Гиперхромия зависит исключительно от увеличения объема эритроцита (макроциты, мегалоциты), а не от степени насыщения их гемоглобином и является показателем нарушения функции печени, расстройства обмена витамина В₁₂ или недостатка последнего в организме (пернициозная анемия). В этих

случаях среднее содержание гемоглобина в одном эритроците повышается до 50 пг.

Гипохромия наблюдается вследствие уменьшения объема эритроцитов (микроциты) или понижения содержания гемоглобина в нормальном по объему эритроците. Это истинный показатель недостатка железа в организме. Среднее содержание гемоглобина в одном эритроците в этих случаях понижается до 20 пг.

ЦВЕТНОЙ ПОКАЗАТЕЛЬ

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Величина 33,3 пг, представляющая собой нормальное содержание гемоглобина в одном эритроците, условно принимается за единицу и обозначается как цветной показатель.

Если количество гемоглобина выражено, как принято теперь, в грамм-процентах, то цветной показатель определяют делением утроенного количества грамм-процентов гемоглобина на первые две цифры числа эритроцитов.

Пример. Гемоглобина 14 г%, число эритроцитов 4 200 000.

$$\text{Цветной показатель} = \frac{14 \times 3}{42} = 1,0.$$

Если количество эритроцитов меньше 1 000 000, то утроенное количество грамм-процентов гемоглобина делят на одну первую цифру числа эритроцитов.

Пример. Гемоглобина 3,6 г%, число эритроцитов 910 000.

$$\text{Цветной показатель} = \frac{3,6 \times 3}{9} = 1,2.$$

Если содержание гемоглобина выражено в единицах, то цветной показатель определяют делением их на удвоенные две первые цифры числа эритроцитов.

Пример. Гемоглобина 84 единицы, число эритроцитов 4 200 000.

$$\text{Цветной показатель} = \frac{84}{2 \times 42} = 1,0.$$

Если количество эритроцитов в этом случае будет меньше 1 000 000, то гемоглобин следует делить на удвоенную первую цифру числа эритроцитов.

Пример. Гемоглобина 22 единицы, число эритроцитов 940 000.

$$\text{Цветной показатель} = \frac{22}{9 \times 2} = 1,22.$$

В норме цветной показатель колеблется от 0,85 до 1,15.

Интерпретация. На величине цветного показателя была основана клиническая классификация анемий, которые разделяли на гипохромные (цветной показатель ниже 0,85), нормохромные (цветной показатель 0,85—1,15) и гиперхромные (цветной показатель

выше 1,15). Однако цветной показатель зависит не только от насыщения эритроцитов гемоглобином, но и от их величины. Поэтому морфологические понятия о гипохромной, нормохромной и гиперхромной окраске эритроцитов не всегда совпадают с данными цветного показателя. Например, макроцитная анемия с нормо- и гипохромными эритроцитами может иметь гиперхромный цветной показатель и, наоборот, нормохромная микроцитная анемия дает всегда цветной показатель ниже единицы.

При различных анемиях важно знать поэтому не только то, как изменилось общее содержание гемоглобина в эритроцитах, но и изменились ли объем их и насыщение гемоглобином.

НОМОГРАММА ДЛЯ ВЫЧИСЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ГЕМОГЛОБИНА В ЭРИТРОЦИТЕ. Для экономии времени и облегчения труда лаборантов удобно пользоваться номограммой Диковского¹, позволяющей просто и быстро вычислить содержание гемоглобина в эритроците и цветной показатель. В этой номограмме на левой шкале «Э» нанесены количества эритроцитов, на средней «Г» — количества гемоглобина в грамм-процентах, а на правой — содержание гемоглобина в одном эритроците в пикограммах «СГЭ» и значения цветного показателя ЦПК (рис. 2).

Методика пользования. Для отсчетов берут прозрачную линейку с нанесенной вдоль нее посередине чертой и накладывают ее на номограмму так, чтобы черта ее совместилась с заданными значениями на шкалах «Э» и «Г». Тогда точка пересечения черты линейки с осью шкалы «СГЭ» даст искомый результат, отсчитываемый по штрихам, нанесенным справа от оси шкалы, а по штрихам, нанесенным слева, определяют цветной показатель.

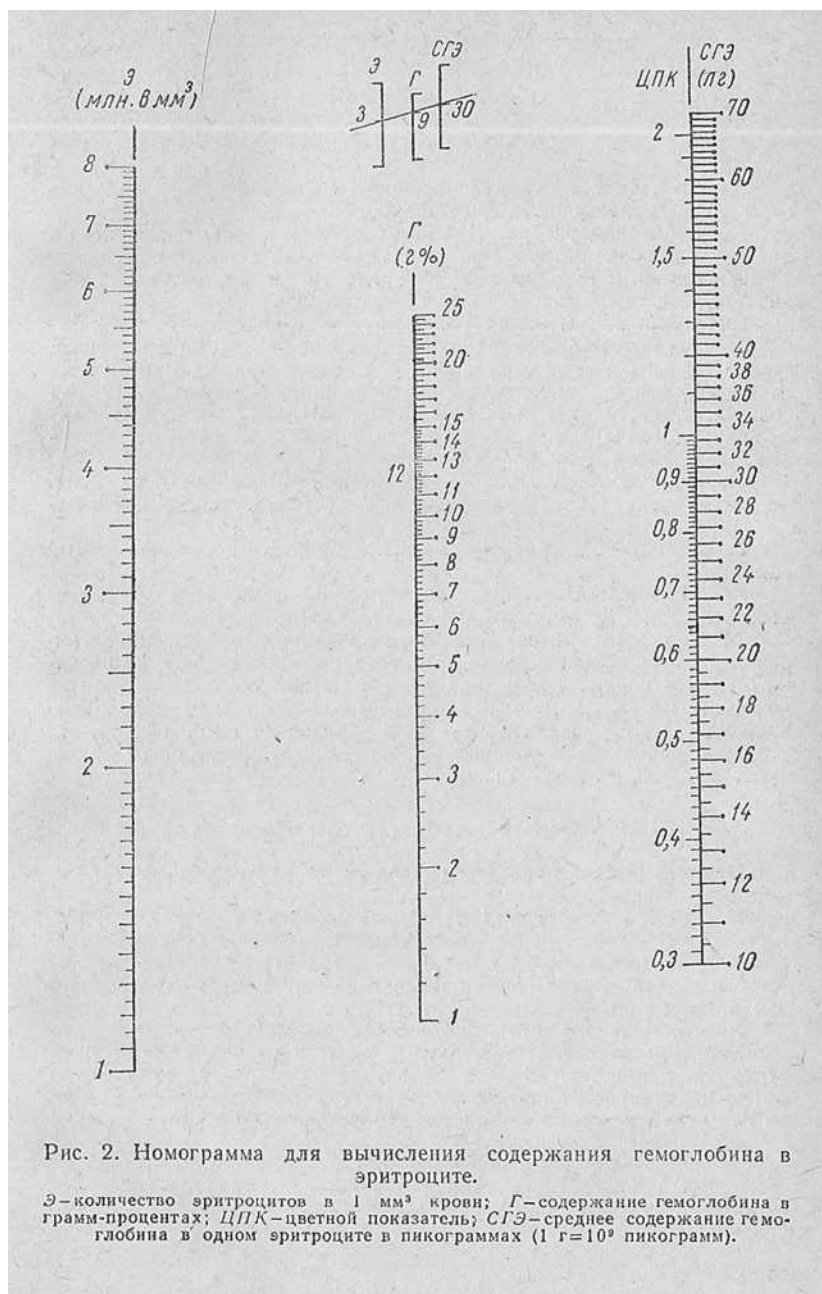
Номограмма позволяет производить вычисления и в тех случаях, когда полученные количества эритроцитов выходят за пределы градуировки шкалы «Э». Например, при острой гемолитической анемии оказалось эритроцитов 600 000, гемоглобина 2 г%. На шкале значения 0,6 млн. нет. В этом случае цифру 0,6 нужно умножить на какую-либо цифру, но так, чтобы в результате получить цифру, имеющуюся на шкале, например на 2. Тогда число эритроцитов будет 1,2 млн. Одновременно нужно умножить на ту же цифру и количество гемоглобина $2 \times 2 = 4$ г%. Теперь, применяя изложенную выше методику вычисления, получим по номограмме, что содержание гемоглобина в одном эритроците равно 33,3 пг, а цветной показатель 1,0.

В тех случаях, когда количество эритроцитов превышает 8 млн., нужно число эритроцитов и содержание гемоглобина делить на одно и то же число.

Вместо прозрачной линейки можно пользоваться хорошо натянутой черной ниткой.

Показатель насыщения эритроцитов характеризует степень насыщения эритроцитов гемоглобином по отношению к норме, принятой за 33,3 г на 100 мл эритроцитной массы. Практически он исчисляется делением цветного показателя на объемный показатель. Показатель насыщения не может быть более единицы.

¹ Лабораторное дело, 1961, № 11, стр. 47.



ЛЕЙКОЦИТЫ

ВЗЯТИЕ КРОВИ

Меланжерный метод

Принцип. Точное отмеривание крови и равномерное разведение ее в точно отмеренном количестве жидкости.

Посуда и аппаратура. 1. Смесители (меланжеры) для лейкоцитов с резиновыми трубками, надетыми на их верхние концы.

2. Слянки для разводящих жидкостей с притертыми пробками.

Смесители представляют собой пипетки с яйцевидным расширением (ампула). Концы капилляров, служащие для набора крови, градуированы и имеют отметки 0,5 и 1. Выше ампулы тоже имеется метка. Ампула смесителя для лейкоцитов вмещает в 10 раз больше жидкости, чем капилляр до метки 1, поэтому над его ампулой поставлена цифра 11. В расширенной части смесителей имеется стеклянная или фарфоровая бусинка, обеспечивающая при встряхивании получение равномерной смеси. Свободное передвижение этой бусинки подтверждает, что смеситель сухой, в чем всегда следует убедиться перед взятием крови.

Реактив: 3—5% раствор уксусной кислоты, подкрашенный синькой.

Ход определения. Кровь для подсчета лейкоцитов берут из того же укола, из которого брали для определения количества гемоглобина и эритроцитов. Для этого предварительно удаляют тампоном остатки крови с кожи и, слегка сдавливая кожу, выпускают свежую каплю. Кровь набирают в смеситель для лейкоцитов до метки 0,5, а до метки 11 осторожно насасывают разводящую жидкость. Методика взятия крови и заполнение смесителя та же, что для определения количества эритроцитов. Разведение крови будет в данном случае 1:20.

Пробирочный метод (Н. М. Николаев)

Принцип см. «Определение количества эритроцитов», тот же метод.

Посуда и аппаратура. 1. Пробирки длиной 10 см и диаметром 1 см.

2. Градуированная пипетка емкостью 1 мл.

3. Остальное, как при определении количества эритроцитов тем же методом.

Реактивы те же, что и в предыдущем методе.

Ход определения. В пробирку длиной 10 см и диаметром 1 см отмеривают пипеткой 0,4 мл 3—5% раствора уксусной кислоты. Затем капиллярной пипеткой от гемометра Сали набирают из укола из свежей капли 20 мм³ крови, осторожно выдувают ее в разводящую жидкость, закрывают резиновой пробкой и тщательно перемешивают. В этом случае кровь будет разведена в 21 раз.

После каждого взятия крови пипетка от гемометра Сали должна быть промыта дистиллированной водой и остатки последней удалены выдуванием в ватный тампон.

Модифицированный пробирочный метод (Н. П. Пятницкий)

Принцип см. «Определение количества эритроцитов», тот же метод.

Посуда и аппаратура. 1. Имеющаяся в продаже специальная пипетка для отмеривания 0,38 мл разводящей жидкости (калиброванная на выливание с выдуванием остатка 0,38 мл дистиллированной воды при 25°).

2. Капиллярная пипетка от гемометра Сали.

3. Пробирки Флоринского, закрытые резиновыми пробками № 12—14 или пробками от флаконов из-под пенициллина или инсулина.

Реактивы. 1. 3—5% раствор уксусной кислоты, подкрашенный метиленовым синим.

2. 1—3% раствор цитрата натрия.

Ход определения. В пробирки заранее отмеривают специальной пипеткой по 0,38 мл 3—5% раствора уксусной кислоты и капилляром от гемометра Сали кровь в количестве 20 мм³ (см. «Определение количества эритроцитов», та же методика).

ПОДСЧЕТ ЛЕЙКОЦИТОВ

Подсчет в счетной камере

Описание счетной камеры Горяева, заполнение ее кровью, методика счета форменных элементов и формула подсчета приведены в разделе подсчета эритроцитов в счетной камере.

Лейкоциты считают в 100 больших квадратах, что соответствует $100 \times 16 = 1600$ малым.

Пример. В 1600 малых квадратах сосчитано 100 лейкоцитов, кровь разведена в 20 раз. Следовательно, количество лейкоцитов в 1 мм³ будет:

$$\frac{100 \cdot 4000 \cdot 20}{1600} = 5000.$$

Таким образом, для получения результата достаточно практически умножить количество сосчитанных лейкоцитов на 50.

При подсчете лейкоцитов неизбежная ошибка $\pm 6-8\%$ или в среднем $\pm 7\%$. Следовательно, получив в результате подсчета число лейкоцитов 5000, нужно считать, что истинное количество их находится между 5350 и 4650.

Источники ошибок при подсчете лейкоцитов в счетной камере

1. При подсчете лейкоцитов в число их засчитывают и эритробласты, если таковые имеются. Для того чтобы правильно установить количество лейкоцитов, нужно из общего числа клеток вычесть количество эритробластов в 1 мм³ крови.

Пример. Общее количество лейкоцитов в 1 мм^3 крови установлено подсчетом в камере, равным 30 000. При подсчете лейкоцитарной формулы найдено, что на 100 лейкоцитов в крови имеется 50 эритроцитов. Следовательно, на 150 клеток имеется эритроцитов 50, а на 30 000 — X

$$X = \frac{30\,000 \times 50}{150} = 10\,000.$$

Таким образом, истинное число лейкоцитов в 1 мм^3 крови равно $30\,000 - 10\,000 = 20\,000$.

2. Другие источники ошибок те же, что и при подсчете эритроцитов в счетной камере.

Подсчет лейкоцитов с помощью целлоскопа фирмы «AB Ljungberg»

Принцип, посуда и аппаратура, реактивы те же, что и при подсчете эритроцитов с помощью целлоскопа.

Ход определения. В пробирку с первым разведением крови (см. метод подсчета эритроцитов с помощью целлоскопа) добавляют 0,1 мл раствора сапонина и хорошо перемешивают. Затем содержащуюся в пробирке гемолизированную кровь выливают в химический стакан с 12 мл физиологического раствора и тщательно перемешивают, переливая несколько раз жидкость из стакана в пробирку и обратно (второе разведение).

После этого оставляют стаканчик с гемолизированной кровью на 2 минуты в покое и потом производят подсчет лейкоцитов в целлоскопе в соответствии с инструкцией.

Показание прибора для выражения числа лейкоцитов в 1 мм^3 крови умножают на 100.

Если число лейкоцитов превышает 30 000 в 1 мм^3 крови, необходимо сделать третье разведение, для чего 2 мл второго разведения смешивают с 18 мл физиологического раствора и при расчете количества лейкоцитов в 1 мм^3 крови показание прибора умножают на 1000.

Дискриминатор — винт, регулирующий регистрацию частиц разного размера, устанавливают для подсчета лейкоцитов на цифре 40.

Количество лейкоцитов у взрослых колеблется от 5000 до 8000 в 1 мм^3 крови. Большинство авторов принимает за норму 4500—9000 в 1 мм^3 крови при условии полного физического и психического покоя и взятия крови до привычного часа приема пищи. Так как исследование крови производят обычно в различных условиях, то количество лейкоцитов у здоровых лиц, особенно у детей, значительно колеблется (табл. 5). Однако числа ниже 4500 и выше 9000 требуют разъяснения в каждом отдельном случае.

Содержание лейкоцитов ниже 4500 в 1 мм^3 крови обозначается термином «лейкопения», а выше 8000—10 000 — «лейкоцитоз». Существуют также термины «незначительный», «значительный» и «резко выраженный лейкоцитоз». Они употребляются и при определении степени лейкопений. Однако количество лейкоцитов у здорового человека не является постоянным, а может подвергаться значительным колебаниям даже у одного и того же человека в

Таблица 5

КОЛИЧЕСТВО ЛЕЙКОЦИТОВ У ДЕТЕЙ В ВОЗРАСТЕ ОТ 1 ГОДА
ДО 15 ЛЕТ

Возраст в годах	По А. Ф. Туру		По А. О. Кар- ницкому	По Перлину
	в 1 мм ³ крови в среднем	колеба- ния		
1—2	10 800	6 900— 13 600	11 325 9447 8881 8860	8800—15 000
2—3	11—000			8200—13 420
3—4	9 900			8900—11 600
4—5	10 200			8600—13 400
5—6	8 900	6 100 11 400	8620 7930	8800—11 200
6—7	10 600			7800—9 200
7—8	9 980			7800—9 200
8—9	9 880			7800—9 200
9—10	8 600	6 400— 11 350	7670 7500	7800—9 200
10—11	8 200			
11—12	7 900			
12—13	8 100			
13—14	8 300			
14—15	7 650			

течение дня. Эти колебания зависят от многих причин: возраста, пола, конституциональной особенности, континента, различных условий существования, физической нагрузки и др. Число лейкоцитов также колеблется на почве сдвигов в гормональных (беременность, послеродовой период, менструация) и дисэнцефально-вегетативных регуляциях. Отмечаются изменения количества лейкоцитов при одной лишь перемене положения руки, из пальца которой набирается кровь, а также под влиянием тепла и холода и т. д. Поэтому при оценке лейкопений и лейкоцитозов необходимо учитывать состояние организма и условия, в которых он находился.

Интерпретация. Перераспределительный лейкоцитоз возникает вследствие поступления лейкоцитов из органов, служащих для них депо. Наблюдается при различных физиологических состояниях. Например, при физической нагрузке у спортсменов во время состязаний количество лейкоцитов может достигать до 40 000 в 1 мм³ крови. То же самое может наблюдаться при усиленном вымывании лейкоцитов из костного мозга, вызванном патологическим процессом (шок, агональное состояние, после операции и т. д.), при эмоциях.

Реактивный лейкоцитоз — это реакция миелоидной, лимфоидной или ретикулярной ткани, представляющая собой временное функциональное явление, вызванное той или иной инфекцией или интоксикацией (при отравлении мышьяковистым водородом, нитробензолом, угарным газом и др.).

Стойкий лейкоцитоз наблюдается при лейкозах и протекает с омоложением состава белых клеток, нередко с выраженным ростом количества молодых лейкоцитов в периферической крови.

Лейкопении функциональные связаны с нарушением регуляции кроветворения, созревания и выхода лейкоцитов из очагов кроветворения в периферическую кровь, а также зависят от нарушения кровораспределения или повышенного разрушения лейкоцитов. Лейкопении функциональные наблюдаются при гипотонических состояниях, упадке общего тонуса, голодании (стойкая лейкопения при алиментарной дистрофии), анафилаксии, инфекциях (брюшной тиф, большинство вирусных болезней), гиперспленических состояниях, применении лекарственных препаратов: пирамидона, атофана, сульфаниламидов и др. При функциональных лейкопениях костный мозг по своему клеточному составу полноценен, но функционально угнетен. Отмечается лейкопения от воздействия солнечной радиации¹.

Органические лейкопении зависят от клеточной недостаточности костного мозга и наступают в результате: 1) угнетения функциональной регенерации лейкоцитов, ведущей к гипоплазии гранулоцитарного роста костного мозга, и 2) аплазии, характеризующейся жировым перерождением костного мозга. Большой частью гипоплазия (первая стадия) переходит в аплазию (вторая стадия).

Подсчет эозинофилов в камере

Принцип. Применение разводящих растворов, которые окрашивают зернистость эозинофилов в ярко-розовый цвет, а остальные клетки в той или иной степени растворяются. Последние окрашиваются бледно или видны в виде теней.

Посуда и аппаратура. 1. Для метода А смеситель для лейкоцитов и счетная камера с сеткой Фукса—Розенталя.

2. Для метода Б пробирки и счетная камера с сеткой Фукса—Розенталя.

3. Для метода В флаконы из-под АКГГ и счетная камера с сеткой Фукса—Розенталя.

Реактивы. Для метода А и Б. Раствор Хинкельмана:

желтый водорастворимый эозин	0,5 г
концентрированный формалин	0,5 г
95% фенол	0,5 г
дистиллированная вода	до 100 мл
или раствор Дунгера:	
1% водный раствор желтого эозина	10 мл
ацетон	10 мл
дистиллированная вода	100 мл
или раствор Дунгера, модифицированный Н. В. Михайловой:	
1% водный раствор желтого эозина	48 частей
ацетон	2 части
или раствор Торна:	
2% водный раствор желтого эозина	5 мл
ацетон	5 мл
дистиллированная вода	95 мл

¹ А. Н. Шульц. Проблемы гематологии и переливания крови, 1963, № 3, стр. 20.

Для метода В (И. С. Пиралишвили¹). Основной раствор:

эозин-калий	500 мг
дистиллированная вода	100 мл
40% раствор формальдегида	1,5 мл

Этот основной раствор очень стоек и может храниться в посуде из темного стекла при 16—18° в течение полугода.

Рабочий раствор:

основной раствор	2 объемные части
ацетон	2 объемные части
дистиллированная вода	6 объемных частей

Рабочий раствор хранят на льду и перед употреблением фильтруют. Меняют его через каждые 14 дней.

Ацетон в растворах нужно употреблять химически чистый, так как в противном случае под влиянием примесей может наступить лизис эозинофилов. Для проверки пригодности ацетона наливают его в пробирку 2—3 мл и добавляют несколько капель дистиллированной воды. Если при прибавлении воды образуется легкая муть, ацетон считается непригодным для приготовления растворов.

Пользуясь раствором Хинкельмана, подсчет эозинофилов нужно производить не ранее 1 часа и не позднее 3—4 часов после взятия крови.

В растворе Дунгера подсчет эозинофилов производят немедленно после взятия крови, и оставлять разведенную кровь в камере или в смесителе более 10—15 минут нельзя, так как при этом могут лизироваться и эозинофилы.

Ход определения. А. Кровь набирают в смеситель для лейкоцитов до метки 0,5 и разводящую жидкость до метки 11, что соответствует разведению 1 : 20. Затем смешивают, выпускают капиллярную часть, заполняют камеру Фукса—Розенталя и считают всю сетку. Найденное число умножают на 20, делят на 3,2 (объем камеры) и в результате получают число эозинофилов в 1 мм³ крови. Для большей точности рекомендуется брать кровь в два смесителя и подсчитывать 4 сетки.

Б. В пробирку наливают 0,4 мл разводящего раствора, прибавляют к нему кровь, набранную в капилляр гемометра Сали до отметки 20, тщательно смешивают содержимое пробирки, заполняют счетную камеру Фукса—Розенталя и считают эозинофилы во всей сетке. Полученную цифру умножают на 20 (разведение) и делят на 3,2 (объем камеры).

В. Рабочий раствор в количестве 0,2 мл наливают во флакон из-под АКТГ (темного стекла) и туда же вносят 20 мм³ крови, набранной в капилляр от гемометра Сали или в микропипетку. Флакон закрывают резиновой пробкой и осторожными покачиваниями перемешивают содержимое его в течение 30 секунд, а затем заполняют счетную камеру с сеткой Фукса—Розенталя и спустя 3—4 минуты приступают к подсчету эозинофилов, считая их по всей сетке.

Этот метод удобен, позволяет начинать подсчет через 3—4 минуты, но его можно производить и в течение 2 недель после взятия крови, не опасаясь лизиса эозинофилов, если хранить разведенную кровь в прохладном месте и в хорошо закупоренных и защищенных от света флаконах.

¹ Лабораторное дело, 1962, № 3.

Абсолютное число эозинофилов в норме колеблется:
у взрослых от 75 до 300 в 1 мм³ крови
» детей по Тодорову » 40 » 450 » 1 » »
» » » Бакману » 100 » 250 » 1 » »

Абсолютные и относительные числа эозинофилов у детей в зависимости от возраста представлены в табл. 6.

Таблица 6

ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЭОЗИНОФИЛОВ
ПО GELGY

Возраст	Эозинофилы	
	абсолютное число	%
1-й день	0—895	0,6
3—5 дней	168—1110	1,5—13,3
6—8 »	160—727	1,5—7,0
9—11 »	205—873	1,5—6,5
3 месяца — 3 года	75—700	1,0—5,0
3—5 лет	60—600	1,0—5,0
5—15 »	55—500	1,0—5,0

Интерпретация. Уменьшение количества эозинофилов в 1 мм³ крови является неблагоприятным симптомом.

Исчезновение эозинофилов наблюдается при брюшном тифе, милиарном туберкулезе, висцеральном лейшманиозе. Появление эозинофилов при тифе и других инфекционных процессах определяет начало выздоровления.

Увеличение эозинофилов наблюдается при скарлатине, хроническом миелозе, лимфогранулематозе и различных аллергиях (в том числе при глистных инвазиях).

Проба Торна

Принцип. Гормоны, продуцируемые корой надпочечника, тормозят созревание в костном мозге эозинофилов.

Под влиянием адренокортикотропного гормона передней доли гипофиза (АКТГ) повышается выделение гормонов коры надпочечников, что ведет к падению эозинофилов в циркулирующей крови. При наличии же первичной или вторичной недостаточности коры надпочечников эта реакция отсутствует.

Ход определения. Больной не получает пищи с 18 часов предыдущего дня до окончания пробы. Утром определяют описанным выше методом количество эозинофилов в крови до введения АКТГ. Затем вводят внутримышечно или под кожу 25 единиц АКТГ и через 4 часа после этого вновь определяют количество эозинофилов в 1 мм³ крови.

Интерпретация. Снижение количества эозинофилов на 50% и более от исходных чисел рассматривается как показатель хорошего функционального состояния коры надпочечников. Снижение менее чем на 50% — отрицательный тест Торна — вызывает подозрение на функциональную неполноценность коры надпочечников. Следует учитывать, что отрицательная проба Торна встречается также при недостаточности передней доли гипофиза и гипертиреозах.

Для того чтобы исключить влияние суточных колебаний числа эозинофилов на оценку результатов пробы Торна, нужно производить исследование крови дополнительно накануне этой пробы в 12—13 часов.

Подсчет базофилов в камере

Принцип. Использование свойства зернистости базофилов окрашиваться толуидиновым синим в красный цвет (метахромазия).

Посуда и аппаратура. 1. Смеситель для лейкоцитов.

2. Камера с сеткой Фукса — Розенталя.

Реактив. Разводящая жидкость Браунштейнера и Тумба:

0,5% раствор толуидинового синего в 0,85% растворе хлорида натрия	40 мл
насыщенный раствор сапонина в 50% этиловом спирту	1 мл
95% этиловый спирт	11 мл

Ход определения. В смеситель для лейкоцитов набирают кровь до отметки 1 и до метки 11 указанную выше разводящую жидкость. Затем заполняют камеру Фукса — Розенталя и подсчитывают базофилы (заполнение камеры см. «Подсчет эритроцитов»). Можно брать кровь в пробирке в количестве 20 мм³ на 0,2 мл разводящей жидкости.

Подсчитанное количество клеток умножают на 10 (разведение) и делят на 3,2 (объем камеры) и в результате получают количество базофилов в 1 мм³ крови. Подсчет должен быть произведен не позднее 20—25 минут после взятия крови.

В норме у здоровых людей число базофилов колеблется от 2 до 54 в 1 мм³ крови.

Интерпретация. Число базофильных лейкоцитов возрастает при хронических миелозах, полицитемии, иммуногенных тромбопениях, гипотиреозах, диабете. Количество базофилов уменьшается при гипертиреозах.

ПОЛУЧЕНИЕ ЛЕЙКОКОНЦЕНТРАТА

Метод Владимирской¹

Принцип. Концентрирование лейкоцитов при помощи ускоренного осаждения эритроцитов высокомолекулярными веществами, в данном случае желатиной. Этот метод хотя и дает невысокую кон-

¹ Проблемы гематологии и переливания крови, 1964, № 2.

центрацию лейкоцитов и притом с примесью небольшого количества эритроцитов и довольно большого количества тромбоцитов, но прост, доступен для любой гематологической лаборатории. Концентрат состоит из лейкоцитов, прекрасно воспринимающих окраску и сохраняющих свои морфологические особенности. Получаемая концентрация лейкоцитов вполне достаточна для гематологической диагностики, а примесь небольшого количества эритроцитов не существенна и ею можно пренебречь. В то же время нужно иметь в виду, что получение более высоких концентраций лейкоцитов значительно более сложными методами, основанными на лизисе эритроцитов, как правило, сопровождается резко выраженной травматизацией клеток, особенно протоплазмы, и последующим плохим восприятием ими окраски.

Посуда и аппаратура. 1. Пробирки емкостью 10 мл.

2. Пипетки.

3. Центрифужные цилиндрические пробирки емкостью 10 мл, с резиновыми пробками.

4. Стекла для мазков.

5. Штатив для установки пробирок под углом 45°.

6. Штатив для мазков.

Реактив: нейтральный цитрат натрия 3 г
сахароза 3,2 г
2,5% раствор желатины 100 мл
пенициллин 200 000 ЕД

Оптимальной активностью раствор обладает при 20—25°. Во избежание быстрого загрязнения рекомендуется готовить раствор в стерильной посуде, используя стерильные составные компоненты.

Ход определения. В пробирку емкостью 10 мл наливают 1,5 мл реактива. Из локтевой вены берут сухим стерильным шприцем 5 мл крови и медленно во избежание вспенивания выливают ее в пробирку с раствором желатины. Тщательно перемешивают содержимое, переворачивая пробирку. Оставшиеся на стенках капли крови отсасывают пипеткой. Пробирку оставляют в штативе с наклоном 45° на 40—60 минут при комнатной температуре.

Через 40—60 минут в пробирке образуется два слоя: нижний, состоящий из осевших эритроцитов, и верхний, представляющий собой желтовато-розовую, слегка опалесцирующую жидкость из плазмы со взвешенными в ней лейкоцитами, тромбоцитами и неосевшими эритроцитами. Надосадочную жидкость осторожно отсасывают и помещают в центрифужную цилиндрическую пробирку, которую закрывают резиновой пробкой и в перевернутом виде вставляют в центрифугу. Центрифугируют при 2000 об/мин в течение 15 минут. Из осадка, оставшегося на пробке, делают мазки и окрашивают по Романовскому или по Паппенгейму—Крюкову.

С целью фракционного разделения лейкоцитов надосадочную жидкость многократно центрифугируют при 1000 об/мин в течение 3—5 минут. Каждый раз осадок изучают, а надосадочную жидкость вновь центрифугируют до полного исчезновения осадка. Первые осадки содержат преимущественно гранулоциты. В последующих увеличивается количество агранулоцитов и уменьшается количество гранулоцитов. Четвертый и пятый осадки состоят из одних лимфоцитов с большой примесью тромбоцитов, а в последующих осадках обнаруживаются только тромбоциты.

Метод концентрации лейкоцитов трилоном В

- Посуда и аппаратура. 1. Пробирки.
2. Шприц.
3. Термостат.
4. Центрифужная пробирка.
5. Центрифуга на 2500 об/мин.
6. Пипетка.

Реактив: 6% раствор трилона В₁.

Ход определения. В пробирку отмеривают 5 капель 6% раствора трилона В₁ и в нее же приливают 5 мл крови, взятой из вены пациента, закрывают пробирку чисто вымытым пальцем и, осторожно переворачивая ее несколько раз, перемешивают содержащуюся в ней кровь с трилоном В₁. Затем на 1 час помещают пробирку в термостат при температуре 37°, осторожно отсасывают плазму в центрифужную пробирку и центрифугируют в течение 5—10 минут при 2500 об/мин.

Форменные элементы осаждаются на дно пробирки. Надосадочную жидкость отсасывают пипеткой и из осадка делают мазки на предметных стеклах, окрашивая их обычным методом.

Интерпретация. Методика лейкоконцентрации применяется при больших лейкопениях, алейкемических формах лейкозов, для выявления опухолевых клеток, внутриклеточных паразитов и др.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ, ФИКСАЦИЯ И ОКРАСКА МАЗКОВ

Мазки крови делают на предметных стеклах с помощью более узкого шлифованного предметного стекла.

Подготовка стекол

1. С предметных стекол, бывших в употреблении и соприкасавшихся с иммерсионным маслом, последнее удаляют сухой тряпочкой или бензином. Затем стекла в течение 15—20 минут кипятят без мыла и соды, после чего их промывают чистой водой и погружают на 1 час в насыщенный раствор двуххромовокислого калия в серной кислоте. Обработанные таким образом стекла промывают не менее часа под струей водопроводной воды и насухо вытирают чистым полотенцем. Раствором двуххромовокислого калия можно пользоваться очень долго, до тех пор, пока он не изменит коричнево-красный цвет на зеленоватый.

2. При отсутствии двуххромовокислого калия и серной кислоты стекла, бывшие в употреблении, кладут в мыльный раствор и выдерживают в нем в течение 8—10 часов, а затем в том же растворе кипятят их 5—10 минут. Более длительное кипячение не рекомендуется, так как стекла делаются мутными. После кипячения стекла вынимают и тщательно промывают под струей водопроводной воды, а затем насухо вытирают.

3. Стекла, не бывшие в употреблении, промывают в горячей воде и насухо вытирают.

Хранят стекла в стеклянной широкогорлой банке с крышкой.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ МАЗКОВ

Взяв предметное стекло за длинные края, прикасаются его поверхностью (на расстоянии отступа 0,5—1 см от узкого края) к капле крови (но не к коже). Предметное стекло держат на столе или в левой руке за узкие края. Правой рукой приставляют шлифованное стекло узким краем к стеклу с кровью слева от капли, под углом 45°, и продвигают его вправо до соприкосновения с кровью. Выжидают, пока кровь расплывется по всему ребру шлифованного стекла и затем легким быстрым движением ведут его справа налево до тех пор, пока не будет исчерпана вся капля. Величина капли крови должна быть небольшой и соразмерена так, чтобы весь мазок помещался на стекле, не доходя 1—1,5 см до его края. Нельзя прекращать размывание и отнимать стекло раньше, чем капля будет исчерпана. Если взята большая капля, то после того как она расплывется по ребру шлифованного стекла, последнее приподнимают и переносят на несколько миллиметров влево, вновь ставят на стекло с кровью и делают мазок, как указано выше. При этом нельзя сильно нажимать на стекло, так как многие клетки могут оказаться поврежденными.

Хорошо сделанный мазок тонок, имеет желтоватый цвет и кончается «метелочкой».

Густо-розовые и красноватые мазки не пригодны для счета, так как они слишком толстые и клеточные элементы при этом дифференцировать невозможно.

После приготовления мазки быстро сушат на воздухе до исчезновения влажного блеска. При медленном высыхании может измениться морфология клеток.

На высушенном мазке уголком предметного стекла или карандашом (только не химическим) пишут фамилию, инициалы больного, дату.

Если имеется надобность переслать мазок с консультационной целью в другой город, то рекомендуется делать его на хорошо отмытой использованной рентгеновской пленке, нарезанной по размеру предметного стекла. Такие мазки можно пересылать в письмах.

Симптом крошковатости мазка крови. При заболеваниях, протекающих с повышенным содержанием фибриногена в крови, мазок, сделанный на предметном стекле, носит крошковатый характер. На этот простой и доступный признак рекомендуется обратить особое внимание при взятии крови.

ФИКСАЦИЯ МАЗКОВ

Принцип. Обработка мазков фиксирующими жидкостями, придающими форменным элементам стойкость по отношению к содержащейся в красках воде, которая без фиксации мазков гемолизует эритроциты и изменяет строение лейкоцитов.

Посуда и аппаратура. 1. Пинцет.

2. Специальная посуда для фиксации или стаканы, обрезанные до высоты 6—6,5 см.

3. Штатив для сушки мазков на воздухе.

4. Предметные стекла.

Реактив: химически чистый метиловый спирт (метанол), или 96° этиловый спирт, или денатурированный спирт, или смесь Никифорова, состоящая из равных количеств этилового спирта и серного эфира.

Лучшим фиксатором является метиловый спирт.

Методика. Высохшие на воздухе мазки крови, сложенные попарно (мазки наружу), опускают при помощи пинцета в специальную посуду для фиксации или в обыкновенные, обрезанные до 6—6,5 см стеклянные стаканы, наполненные до определенной высоты фиксирующей жидкостью. В последнем случае для обеспечения свободного соприкосновения намазанных сторон препаратов с фиксатором прокладывают сверху, между попарно сложенными мазками, предметные стекла, опирающиеся своими ребрами на верхнюю часть стакана. Выдерживают мазки в метиловом спирту не менее 5 минут, а в этиловом спирту, денатурированном спирту и смеси Никифорова не менее 30 минут.

По окончании срока фиксации препараты вынимают пинцетом, сушат на воздухе или споласкивают в банке с нейтрализованной дистиллированной водой и укладывают мазками кверху на стеклянный мостик для окраски.

Фиксация мазков по Яхонтовой¹

Принцип. Повышение качества фиксации этиловым спиртом за счет предварительной обработки его цитратом и оксалатом натрия.

Посуда и аппаратура. 1. Цилиндры емкостью по 100 мл.

2. Пипетки, стеклянные палочки для размешивания.

3. Водяная баня.

4. Пинцет.

5. Специальная посуда для фиксации или стаканы, обрезанные до высоты 6—6,5 см.

6. Штатив для высушивания мазков на воздухе.

Реактивы. Готовят два реактива:

1. В цилиндр емкостью 100 мл вносят 1,5 г цитрата натрия, приливают 1,5 мл дистиллированной воды, размешивают стеклянной палочкой и для ускорения растворения помещают цилиндр в горячую водяную баню. В полученный слегка мутноватый раствор приливают этиловый спирт (ректификат) до объема 100 мл и тщательно, в течение 5—8 минут, размешивают. При размешивании на дне цилиндра образуется клейкое белое вещество, тянущееся за палочкой. Раствор оставляют в покое на сутки для отстаивания.

2. Реактив готовят так же, как и предыдущий, с той только разницей, что вместо цитрата натрия берут оксалат натрия.

Методика. Прозрачные реактивы 1 и 2 через сутки после их приготовления сливают в равных количествах и в этой смеси фиксируют сухие мазки крови в течение 20—30 секунд, после чего их подсушивают на воздухе (можно и не сушить) и окрашивают.

Если при окраске эритроциты получаются не бледно-розовые, а серовато-розовые, то прибавляют больше раствора цитрата натрия.

Качество окраски при такой фиксации получается хорошее, поэтому при отсутствии метилового спирта может быть рекомендован для применения описанный выше фиксатор.

¹ Лабораторное дело, 1959, № 4.

Фиксация мазков по Болотову¹

Принцип. Повышение фиксирующих качеств этилового спирта за счет предварительной обработки его 15% водным раствором чистого сернокислого цинка.

Посуда и аппаратура те же, что и в предыдущем способе, исключая водяную баню.

Реактивы. К 55 мл 96° этилового спирта добавляют при встряхивании последнего 40 мл 15% водного раствора чистого сернокислого цинка (фармакопейный препарат) и дают отстояться в течение суток. Затем прозрачную фиксирующую жидкость сливают, а кристаллический осадок сернокислого цинка используют снова.

При отсутствии спирта применяют 40° водку, насыщая ее сернокислым цинком, растертым в порошок. Однако этот раствор будет фиксировать несколько хуже вследствие более сильного разведения водой.

Фиксатор хорошо сохраняется в закрытых флаконах. Для того чтобы раствор был насыщен, к нему необходимо добавить несколько кристаллов сернокислого цинка. При отсутствии метилового спирта этот фиксатор также может быть рекомендован для применения.

Фиксация мазков парами фенола (П. Ф. Сюткин)²

Принцип. Получение хорошего качества фиксации мазков при отсутствии спирта.

Посуда и аппаратура. 1. Эксикатор.

2. Стекланный мостик для мазков.

3. Термометр.

Реактивы. 1. Кристаллический фенол.

2. Дистиллированная вода.

Методика. В эксикаторе заменяют фарфоровую подставку на стекланный мостик для мазков. Притираемые поверхности эксикатора и его крышки смазывают вазелином. На дно эксикатора наливают жидкий фенол (90 весовых частей кристаллического фенола + 10 весовых частей дистиллированной воды) из расчета 100 мл на 1,4 л объема эксикатора. Вблизи эксикатора на стене вешают термометр.

Приготовленные обычным способом сухие мазки крови помещают в эксикатор на мостике в один ряд намазанной поверхностью вниз.

Для сохранения формы эритроцитов, лейкоцитов и дифференцированной окраски зернистости лейкоцитов воздействие на мазки крови паров фенола должно продолжаться в зависимости от комнатной температуры строго определенное время: при температуре 16—18° — 20 минут, при 19—21° — 10 минут, при 22—24° — 5 минут, при 25—27° — 3 минуты.

По истечении этого времени мазки вынимаются и для освобождения от фенола раскладывают их на столе намазанной поверх-

¹ Лабораторное дело, 1955, № 2, стр. 30.

² Лабораторное дело, 1961, № 11.

ностью вверх. Время выветривания мазков должно быть не менее времени фиксации.

Время фиксации мазков крови парами фенола может быть сокращено до 1—1/2 минуты в условиях термостата при 28—30°.

Время освобождения от паров фенола при 10—20-минутном воздействии его может быть в срочных случаях сокращено до 5 минут путем подогревания при 37° в термостате, сушильном шкафу, на батареях водяного отопления или выветриванием настольным электровентилятором.

Если применяется жидкий фенол, качество которого может быть различным, то время фиксации может не совпасть с указанным выше. В этом случае во избежание ошибок производят пробную фиксацию. Для этого берут несколько мазков и фиксируют при температуре, имевшей место в период взятия крови, в течение 3, 5, 10, 15, 20, 25 минут. После фиксации отмечают на каждом мазке время и температуру, освобождаются от фенола и окрашивают. Затем просматривают мазки под микроскопом и отбирают те из них, в которых хорошо выражена нейтрофильная зернистость и отсутствует гемолиз эритроцитов. То же проделывают при дальнейших возможных колебаниях комнатной температуры, свойственных данной лаборатории. По отобранным мазкам составляют таблицу времени фиксации парами фенола в зависимости от температуры в комнате.

Недостаточная фиксация мазков дает слабую окраску нейтрофильной зернистости, а недостаточное освобождение мазков от паров фенола ведет к гемолизу эритроцитов при окраске или окрашиванию мазка в красный цвет. Краску следует готовить на воде нейтральной реакции.

ОКРАСКА МАЗКОВ

Принцип всех предложенных методов окраски мазков основан главным образом на химическом средстве различных основных частей клеток к определенным анилиновым краскам и в меньшей степени на их физических свойствах. Цитоплазма одних клеток имеет сродство к кислым краскам, представляя оксифильные элементы крови. Цитоплазма других клеток, содержащих базофильные и нейтрофильные субстанции, поглощает и кислые и основные краски. Ядра, содержащие в значительном количестве нуклеиновую кислоту, связывают главным образом основные краски.

К основным гематологическим краскам относятся метиленовый синий и его производные — азур I (метиленазур) и азур II (смесь равных частей азура I и метиленового синего), к кислым — водорастворимый желтый эозин.

Азур-эозиновые смеси красок обладают высокой чувствительностью к реакции воды, и поэтому, применяемая для приготовления красителей и для смывания их дистиллированная вода должна иметь нейтральную реакцию, т. е. иметь рН 7,0. При кислой реакции воды, т. е. при рН ниже 7,0, клетки долго не прокрашиваются и имеют красный оттенок. При щелочной реакции, когда рН выше 7,0, эритроциты окрашиваются в серовато-синий, а ядра и цитоплазма клеток в очень темные цвета.

Определение рН воды. Концентрация водородных ионов (рН) воды определяется колориметрическим путем в приборе Ми-

хаэлиса. Если же прибора нет, то реакцию воды определяют ориентировочно следующим образом. В два химических стаканчика наливают по несколько миллилитров испытуемой воды и в один из них бросают несколько кристалликов гематоксилина. Оба стаканчика ставят на лист белой бумаги и, помешивая воду в стаканчике с краской, наблюдают сверху за изменением цвета воды в нем. Второй стаканчик контрольный. Если вода имеет нейтральную реакцию, она не ранее 1 и не позднее 5 минут окрасится в бледно-розово-фиолетовый цвет. Если реакция воды кислая, то она не окрасится за 5 минут, если же щелочная, то окрасится раньше 1 минуты.

Исследования рН с помощью индикаторных бумажек см. в разделе «Моча».

Нейтрализация дистиллированной воды. Кислую воду подщелачивают по каплям 1% раствором карбоната натрия, щелочную подкисляют 1% раствором уксусной кислоты до тех пор, пока она не будет давать окрашивания гематоксилином за срок от 1 до 5 минут, при использовании краски нейтральрот — до получения слабо розовой окраски.

Более удобен способ нейтрализации буферными смесями. Для этого готовят $\frac{1}{15}$ N растворы:

1) динатрийфосфата ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), высушенного в теплом месте в течение 5 суток, растворением 11,876 г его в 1 л дистиллированной воды;

2) монофосфата калия (KH_2PO_4) растворением 9,078 г его в 1 л дистиллированной воды.

Эти растворы хранят в темном месте с прибавлением кристаллика тимола для предотвращения образования плесени. Пользоваться ими можно до образования в них хлопьев.

Рабочую смесь готовят смешиванием 7 частей первого раствора с 3 частями второго раствора.

Пример. Определяют прибором Михаэлиса рН дистиллированной воды, подлежащей нейтрализации. Допустим, что рН воды по Михаэлису 5,2, тогда к 100 мл дистиллированной воды прибавляют указанной выше смеси буферных растворов 4,5—5 мл, перемешивают и вновь определяют рН. Если рН будет 6,8—7,0, т. е. требуемая, то количество буферных растворов, которые необходимо добавить ко всему количеству дистиллированной воды, подлежащей нейтрализации, определяют следующим образом.

Количество дистиллированной воды, подлежащей нейтрализации, 6 л, тогда на 100 мл воды было израсходовано 5 мл буферной смеси, а на 6000 мл воды потребуется X мл смеси. Отсюда:

$$X = \frac{5 \times 6\,000}{100} = 300 \text{ мл,}$$

но в 10 мл буферной смеси было 7 мл фосфата натрия. Следовательно, в 300 мл смеси его должно быть X мл. Отсюда:

$$X = \frac{7 \times 300}{10} = 210 \text{ мл, } \text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O,}$$

$$\text{а } \text{KH}_2\text{PO}_4 = 300 - 210 = 90 \text{ мл.}$$

Вместо дистиллированной воды можно пользоваться отфильтрованной, прокипяченной снеговой или дождевой водой, но с непре-
рванным условием предварительной проверки ее рН.

Окраска по Романовскому

Принцип. Использование свойства смеси основных (азур II) и кислых (водорастворимый желтый эозин) красок окрашивать различные элементы клеток в разные цвета и оттенки.

Посуда и аппаратура. 1. Колба или бутылка емкостью 1 л.

2. Измерительные цилиндры емкостью 250 мл.

3. Цилиндры для разведения краски емкостью 100 мл.

4. Градуированная пипетка.

5. Штатив для мазков.

6. Кювета со стеклянным мостиком для окраски.

Реактивы. В продаже имеется готовый раствор краски Романовского следующего состава:

азур II	3 г
эозин водорастворимый желтый	0,8 г
метиловый спирт	250 мл
глицерин	250 мл

В продаже имеется также сухая краска Романовского, из которой готовят раствор краски следующим образом: 3,8 г сухой краски Романовского растворяют в 250 мл чистого метилового или этилового спирта (последний хуже). Раствор оставляют на 3—5 суток, часто взбалтывая для лучшего растворения краски. Затем прибавляют 250 мл чистого глицерина и вновь оставляют на 3—5 суток, периодически взбалтывая. Приготовленная таким образом краска хорошо сохраняется длительное время в темных бутылках в шкафу, где нет ни кислот, ни щелочей, и без взбалтывания.

Вновь полученный или приготовленный раствор краски Романовского перед употреблением оттитровывают, т. е. окрашивают несколько фиксированных мазков крови в продолжение 25—40 минут различно разведенной краской (1—2 капли краски на 1 мл дистиллированной воды). По хорошо окрашенному препарату устанавливают нужное количество капель краски на 1 мл и время окрашивания.

Методика. Фиксированные мазки укладывают на мостик для окраски, представляющий собой стеклянные палочки, уложенные на два противоположные края кювета. Затем мазки заливают краской в разведении 1—2 капель на 1 мл дистиллированной воды. Краску наливают на мазок возможно более высоким слоем, и окрашивание длится в зависимости от температуры воздуха в помещении от 25 до 45 минут. Если температура в помещении низкая или требуется быстрее окрасить мазки, то разведенную краску можно подогревать до 60—70° (до кипения доводить нельзя).

После окончания окраски краску смывают (но не сливают) сильной струей воды и ставят мазки вертикально в деревянный штатив для просушивания. Разведенной краской можно пользоваться только в течение одного дня.

Окрашивание краской Романовского модифицированным методом Филипсона¹

Принцип. Применение красителей-фиксаторов, которыми мазки крови в первый период одновременно фиксируются и частично окра-

¹ Лабораторное дело, 1955, № 1.

шиваются и во второй период после разбавления красителей фиксаторов дистиллированной водой докрашиваются окончательно.

Посуда и аппаратура. См. «Окраска по Романовскому».

Реактивы. 1. Одну часть готовой краски Романовского и три части этилового спирта (ректификата) тщательно смешивают. Краска сразу же пригодна к употреблению, но можно готовить ее и заранее.

2. Этиловый спирт 95°.

3. Дистиллированная вода нейтральной реакции.

Методика. Приготовленную краску наливают на нефиксированный мазок так, чтобы весь мазок был покрыт краской и через 1—1½ минуты, не сливая краски, прибавляют к ней по каплям примерно столько же дистиллированной воды, сколько было налито на мазок краски, следя за тем, чтобы вода при соединении с краской не сливалась с мазка. Через 20—30 минут краску смывают водой и мазок высушивают.

Этим способом клетки окрашиваются хорошо, но иногда, по-видимому, от недоброкачества спирта, в эритроцитах обнаруживаются мелкие пузырьки, мешающие определению степени насыщения их гемоглобином.

Окраска по Лейшману

Отличается от предыдущего метода лишь применяемой краской и продолжительностью периодов фиксации и окраски. При этом способе применяется краска, получаемая растворением смеси азуря I, метиленового синего и желтого водорастворимого эозина в количестве 0,2 г на 10 мл абсолютного метилового спирта. Продолжительность фиксации неразбавленной краской 3—4 минуты, а окраски с равным количеством воды 5—10 минут.

Способы быстрой окраски мазков краской Романовского (по Н. Г. Алексееву)

Принцип. Одновременная фиксация и окраска мазков с применением для ускорения окрашивания по первому способу подогрета дистиллированной воды и по второму способу — подогрета разведенной краски Романовского.

Посуда и аппаратура. См. «Окраска по Романовскому» и

1. Глазные пипетки.

2. Водяная баня.

3. Темная бутылка с притертой пробкой емкостью 1 л.

Реактивы. 1. Разведенная краска Романовского (1,5 капли краски на 1 мл воды) для первого метода.

2. Сухая краска Лейшмана для второго метода (растворяют 4 г краски в 1 л метилового спирта и хранят в темной посуде).

3. Метиловый спирт чистый.

4. Нейтральная дистиллированная вода.

5. Фильтровальная бумага.

Методика. 1. На сухой, нефиксированный мазок наносят глазной пипеткой 6—10 капель краски Романовского, распределяя ее той же пипеткой равномерным слоем. Через 30 секунд другой пипеткой до-

бавляют к краске по каплям удвоенное количество подогретой до 50—60° дистиллированной воды. Покачиванием препарата перемешивают краску с водой и оставляют на 3 минуты, затем смывают дистиллированной водой и высушивают мазок фильтровальной бумагой. При этом методе окраски частично гемолизируются эритроциты, однако клетки белой крови не изменяются.

При втором способе, приводимом ниже, результаты получаются лучше и окраска препаратов мало отличается от обычной окраски по Романовскому.

2. На сухой нефиксированный мазок наливают равномерным слоем 10—12 капель краски Лейшмана. Через 20—30 секунд, не сливая краску, добавляют к ней нагретый до 50—60° раствор краски Романовского в количестве, способном удержаться на препарате. Через 3 минуты, не сливая краску, смывают ее сильной струей дистиллированной воды и препарат высушивают фильтровальной бумагой.

Окраска по Нохту

Принцип. Воздействие на фиксированный мазок водного раствора смеси основной (азур II) и кислой краски (эозин).

Посуда и аппаратура. См. «Окраска по Романовскому».

Реактивы. 1. Растворяют 1 г азура II в 1 л дистиллированной воды.

2. Растворяют 1 г водорастворимого желтого эозина в 1 л дистиллированной воды.

Каждый из этих растворов хорошо перемешивают и оставляют созревать при ежедневном встряхивании на 10—14 дней.

Перед окрашиванием раствор краски готовят смешиванием 25 мл первого раствора (0,1% раствора азура II), 20 мл второго раствора (0,1% раствора эозина) с 55 мл нейтральной дистиллированной воды (пропорции вновь приготовленных растворов иногда приходится подбирать эмпирически).

Методика. Краску наливают на фиксированный мазок, и окрашивание длится в зависимости от температуры воздуха 25—45 минут. Затем мазки смывают водой и высушивают на воздухе.

Окраска по Паппенгейму — Крюкову

Принцип. Комбинированная окраска фиксатором-красителем Май — Грюнвальда и краской Романовского, дающая возможность очень хорошо дифференцировать составные части клеток.

Посуда и аппаратура. См. «Окраска по Романовскому».

Реактивы. 1. Готовый краситель-фиксатор Май — Грюнвальда, состоящий из эозинметиленового синего в метиловом спирту.

2. Свежеприготовленный раствор краски Романовского (1—2 капли на 1 мл воды).

3. Нейтральная дистиллированная вода.

При отсутствии готового красителя-фиксатора Май — Грюнвальда его можно приготовить растворением 0,3—0,5 г сухой краски Май — Грюнвальда в 100 мл чистого метилового спирта с добавле-

нием (или без него) 50 мл чистого глицерина. Краска в обоих случаях созревает 4 дня при комнатной температуре.

Методика. На нефиксированный мазок наливают пипеткой 10—15 капель готового красителя-фиксатора Май—Грюнвальда, через 3 минуты прибавляют по каплям столько воды, сколько было налито краски, и продолжают окрашивание еще 1 минуту, после чего краску смывают водой и мазок высушивают на воздухе.

Затем на высушенный мазок наливают свежеприготовленный водный раствор краски Романовского на 8—15 минут в зависимости от температуры помещения, смывают краску водой и мазок высушивают. Этот способ окраски является наилучшим.

Окраска по модифицированному способу Буртянского¹

Принцип. Окрашивание фиксированных в метиловом спирту мазков смесью готовых красителей Май—Грюнвальда и Романовского.

Посуда и аппаратура. См. «Окраска по Романовскому».

Реактивы. 1. Сухая краска Май—Грюнвальда.

2. Чистый метиловый спирт.

3. Нейтральный глицерин.

4. Готовая краска Романовского.

5. Дистиллированная вода со слабо щелочной реакцией.

Перед употреблением смешивают равные объемы разведенной краски Май—Грюнвальда (0,5 г сухой краски в 100 г метилового спирта с 50 г нейтрального глицерина) и дистиллированной воды (лучше со слабо щелочной реакцией) и тщательно размешивают. На каждые 10 мл разбавленной водой краски Май—Грюнвальда прибавляют затем 0,8—1,1 мл готовой краски Романовского. Количество последней зависит от ее качества. Смесь взбалтывают до равномерного распределения красок в ней.

Методика. На предметное стекло с фиксированными в метиловом спирту мазками крови наливают до 2,5 мл указанной смеси и стеклянной палочкой равномерно распределяют ее по всему мазку. Окрашивание продолжают от 18 до 23 минут, после чего препарат хорошо промывают водопроводной водой и высушивают.

Окраска по Райту

Принцип. Применение специально приготовленного красителя-фиксатора, дающего наиболее четкую окраску зернистости нейтрофилов, эозинофилов и особенно базофилов.

Посуда и аппаратура. 1. Стеклянные колбы емкостью 250 и 1000 мл. 2. Аппарат Коха. 3. Воронка для фильтрации. 4. Измерительный цилиндр на 500 мл. 5. Штатив для мазков. 6. Мостик для окраски с кюветой.

Реактивы. Краситель-фиксатор готовится следующим образом: 1% раствор основного медицинского метиленового синего на 0,5% водном растворе двууглекислого натрия наливают в сосуд так, чтобы высота слоя не превышала 6 см, и нагревают в аппарате Коха при температуре 100° в течение часа (с момента образования пара). За-

¹ Лабораторное дело, 1959, № 3, стр. 25.

тем жидкость охлаждают и фильтруют. Фильтрат при искусственном освещении в тонком слое должен иметь пурпурно-красный оттенок.

К 100 мл фильтрата прибавляют 500 мл 0,1% водного раствора эозина (желтоватого, растворимого в воде). При смешивании обеих жидкостей тотчас же образуется обильный осадок, который отфильтровывают и высушивают. Полученную краску растворяют в чистом метиловом спирту в соотношении 0,1 : 60.

Методика. На сухой нефиксированный мазок наливают несколько капель краски, спустя 1 минуту прибавляют столько же капель дистиллированной воды. Через 2—3 минуты препарат промывают в воде (около полминуты), пока он в тонком слое не приобретает розового оттенка.

Окраска толстой капли

Методика. Высохший препарат без предварительного фиксирования заливают разведенной, как обычно, краской Романовского на 20—30 минут.

После окраски препарат осторожно промывают водой, чтобы не смыть каплю, и высушивают на воздухе.

Большой объем крови, чем в мазках, и гемолиз эритроцитов позволяют легче обнаружить в крови малярийные плазмодии, спирохеты возвратного тифа, а также эозинофилы и полихроматофилы.

Интерпретация

Приведенные методы окраски дают возможность дифференцировать вид клеток, особенности структуры их ядра и цитоплазмы и патологические изменения в них.

При хорошей фиксации и окраске любым из приведенных способов ядра лейкоцитов окрашиваются в вишнево-красный цвет с хорошо видимой структурой хроматина, ядрышки — в синевато-голубоватый или в светло-фиолетовый, цитоплазма нейтрофилов — в светло-розовый, лимфоцитов — в чисто сине-голубой, моноцитов — в серо-голубой или дымчатый, зернистость нейтрофильная — в красновато-фиолетовый, эозинофильная — в оранжево-красный, базофильная — в темно-фиолетовый или темно-серый, азурофильная — в вишнево-красный, эритроциты — в бледно-розовый цвет.

Окраска патологической (токсигенной) зернистости нейтрофилов

Метод Шмелева

Принцип. Окрашивание патологической зернистости нейтрофилов в кислых растворах азура II и эозина (начиная с pH 5,4). При этом в норме зернистость не выявляется и цитоплазма нейтрофилов окрашивается в гомогенно розовый цвет.

Посуда и аппаратура. См. «Окраска по Романовскому».

Реактивы. 1. Дифосфат натрия.

2. Монофосфат калия.
3. Краска азур II.
4. Водорастворимый желтоватый эозин.
5. Дистиллированная вода.

Приготовление буферного раствора. Отвешивают на химических весах 11,876 г высушенного в теплом месте в течение 5 суток двуводного дифосфата натрия ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) и растворяют его в 1 л дистиллированной воды, затем отвешивают 9,078 г монофосфата калия (KH_2PO_4), который также растворяют в 1 л воды. Для получения буферной смеси с рН 5,4 0,4 мл полученного раствора дифосфата натрия смешивают с 9,6 мл раствора монофосфата калия.

Краску готовят из 0,1% водного раствора азура II (1 г азура II на 1 л воды) и 0,1% водного раствора эозина (1 г водорастворимого желтоватого эозина на 1 л воды).

Смешивают 10 мл фосфатной буферной смеси с 2,5 мл 0,1% водного раствора азура II и 1,5 мл 0,1% водного раствора эозина.

Ход окраски. Мазок фиксируют в течение 4 минут в метиловом спирту, затем окрашивают в течение часа азуром II-эозином в фосфатной буферной смеси.

После этого мазок смывают дистиллированной водой и просушивают фильтровальной бумагой.

При правильной окраске наряду с нейтрофилами, цитоплазма которых содержит фиолетовые зерна (патологическая зернистость), встречаются клетки с совершенно гомогенной розовой протоплазмой.

При слишком кислой смеси лейкоциты почти не окрашиваются. При щелочной среде зернистость выявляется во всех нейтрофилах.

В этих случаях нужно немного увеличить количество или дифосфата натрия, или монофосфата калия. Индикатором точности реакции буферного раствора служат мазки крови.

Метод Фрейфельд

Принцип. Применение основной краски карбол-фуксин-метиленовой синьки.

Посуда и аппаратура. См. «Окраска по Романовскому» и водяная баня.

Реактивы. 1. 1 г основного фуксина растворяют при слабом нагревании в 15 г 96° этилового спирта, охлаждают и к спиртовому раствору добавляют 100 мл 5% раствора карболовой кислоты.

2. 1% водный раствор метиленового синего.

Рабочую смесь готовят непосредственно перед окраской, так как она непригодна для хранения. К 20 мл водопроводной воды приливают 7 капель первой краски, смешивают, прибавляют 5 капель второй краски и снова смешивают.

3. 5% раствор карболовой кислоты.

4. Этиловый спирт 96°.

Ход окраски. Мазки крови, фиксированные в течение 3 минут в метиловом спирту, красят в течение часа приготовленной рабочей смесью красителя, а затем смывают водой и высушивают.

Препарат, окрашенный по Романовскому, может быть окрашен этим способом без предварительного обесцвечивания.

В протоплазме лейкоцитов выявляется синеватая сеточка со всеми переходами к образованию крупных комочков.

Количество клеток с патологической зернистостью в цитоплазме нужно выражать в процентном отношении, например количество всех нейтрофилов 75%, из них с патологической зернистостью 48%.

Интерпретация. Наличие в протоплазме нейтрофилов патологической зернистости имеет большое значение для оценки состояния больного при инфекционных и других патологических процессах. Увеличение количества нейтрофилов с патологической зернистостью указывает на тяжесть процесса, уменьшение их при повторных исследованиях крови — на благоприятное течение болезни.

При острых инфекциях патологическая зернистость появляется не ранее 4—5-го дня от начала заболевания и часто не идет параллельно с ядерным сдвигом, который обычно появляется в начале болезни.

При туберкулезе в начале острого периода может не наблюдаться патологической зернистости, при затяжном течении туберкулезного обострения часто отмечается увеличение количества нейтрофилов с патологической зернистостью. Затихание процесса обычно сопровождается нормализацией ядерного сдвига нейтрофилов, а количество клеток с патологической зернистостью остается еще высоким.

Патологическая зернистость обнаруживается также при сепсисе, новообразованиях, при интоксикациях и других заболеваниях.

Окраска базофильной пунктации эритроцитов

Метод Фрейфельд

Принцип. Окраска мазков красителем, окрашивающим базофильную зернистость эритроцитов в темно-синий цвет.

Реактивы. 1. 1% водный раствор метиленового синего. Берут 5 капель этого раствора на 20 мл водопроводной воды.

2. Метиловый спирт.

Ход окраски. Мазок фиксируют в течение 3 минут в метиловом спирту, а затем окрашивают в течение часа раствором метиленового синего. Краску смывают водой и мазок высушивают.

Базофильную пунктацию можно обнаружить и в мазках крови, окрашенных обычными способами по Романовскому, Паппенгейму и др. В этом случае она приобретает фиолетово-синий цвет.

Обычно считают 10 000 эритроцитов и отмечают количество эритроцитов с базофильной пунктацией. Лучше считать 1 000 000 эритроцитов, а ответ давать пересчитанный на 10 000.

У здоровых людей количество эритроцитов с базофильной пунктацией колеблется от 0 до 3—4 на 10 000 эритроцитов.

Интерпретация. Число эритроцитов с базофильной пунктацией увеличивается в крови плода, при некоторых тяжелых анемиях, отравлении тяжелыми металлами (свинец, висмут, цинк, ртуть).

Однако этот симптом не является специфичным для какого-либо заболевания. Увеличение количества базофильной пунктации не всегда наблюдается даже при свинцовом отравлении.

Метод сохранения мазков для многократного микроскопирования (П. С. Барбан)¹

Принцип. Использование свойства клея БФ-6 образовывать тонкую, прозрачную и прочную пленку, герметически приклеивающуюся к поверхности мазка и стекла и предохраняющую препарат от воздействия внешней среды.

Посуда и аппаратура. 1. Слянка с хорошо притертой пробкой.
2. Градуированная пипетка.
3. Термостат (не обязательно).

Реактивы. Пленкообразующая смесь: к 0,5 мл клея БФ-6 прибавляют 3 мл абсолютного этилового спирта, 3 мл бутилового спирта и тщательно перемешивают до получения прозрачной жидкости с желтоватым оттенком. Хранят в склянке с хорошо притертой пробкой.

Методика. На предметное стекло с фиксированным и окрашенным (или нефиксированным и неокрашенным) мазком наносят пипеткой большую каплю пленкообразующей смеси и, покачивая стекло, дают ей равномерно растечься по его поверхности. Избыток с края стекла удаляют и препарат кладут на горизонтальную поверхность для высушивания. При комнатной температуре пленка высыхает за 15—20 минут. Для ускорения сушки препарат можно поместить в термостат при 60°.

Надписи, сделанные на предметном стекле водным раствором туши, полностью сохраняются.

После микроскопирования иммерсионное масло удаляют сухой фланелевой тряпочкой.

Интерпретация. Способ значительно проще и удобнее, чем гистологический метод заключения готового препарата в канадский бальзам. Использование кедрового масла для этой цели неудобно, так как, высыхая, оно кристаллизуется и при длительном хранении ведет к порче препарата.

МОРФОЛОГИЯ ЭРИТРОЦИТОВ

Эритроцит — безъядерная клетка, имеющая форму двояковогнутого диска с кольцеобразным утолщением по краям. Окрашивается кислыми красками в розовато-красный цвет (при окраске по Романовскому или другими методами).

Величина, форма и окраска эритроцитов при патологических состояниях могут изменяться.

ИЗМЕНЕНИЕ ВЕЛИЧИНЫ ЭРИТРОЦИТОВ. Нормальная величина эритроцитов (нормоциты) колеблется от 7,1 до 7,9 мк в диаметре.

Эритроциты диаметром менее 6,5 мк называют микроцитами, а состояние, в котором они преобладают, — микроцитозом. Последний наблюдается при дефиците железа.

Эритроциты более 8 мк называют макроцитами, а состояние с преобладанием их — макроцитозом. Последний обнаруживается у новорожденных как физиологическое явление, особенно в течение первых 2 недель жизни, и исчезает к 2-месячному возрасту. Макроциты появляются при усиленной регенерации крови, расстройстве

¹ Лабораторное дело, 1963, № 4, стр. 57.

гематопoэтической функции печени, болезни Аддисона — Бирмера, анемии беременных, раке и полипах желудка, пониженной функции щитовидной железы, миеломатозе, лейкозах и др.

Эритроциты диаметром более 12 мк называют мегалоцитами или гигантоцитами. Они имеют овальную форму. Кроме большой величины, для них характерны гиперхромия, отсутствие двояковыпуклости (отсутствие центрального просвета) и большая толщина.

Мегалоциты обнаруживаются при недостатке в организме витамина В₁₂. В грудном возрасте они встречаются главным образом при анемии Якша — Гайема и анемии от кормления козьим молоком.

Оторванные частицы эритроцитов величиной 2—3 мк называют шизоцитами. Они встречаются при тяжелых анемиях.

Эритроциты, у которых вследствие уменьшения гемоглобина уменьшена толщина, именуется планоцитами.

Эритроциты, отличающиеся увеличенной толщиной и уменьшенным диаметром, называют микросфероцитами, а состояние с преобладанием их — микросфероцитозом. На окрашенном препарате у них отсутствует центральный просвет, благодаря чему окраска их равномерна как в центре, так и на периферии. Для более точного выявления микросфероцитов необходимо определение толщины, объема и диаметра эритроцитов. Микросфероцитоз сопутствует врожденной форме гемолитической анемии.

Состояние, при котором обнаруживаются эритроциты различной величины, называют анизоцитозом. Он встречается почти при всех анемических состояниях.

Точное представление о распределении эритроцитов по величине получают при измерении их диаметров и построении кривой Прайс-Джонса.

ИЗМЕНЕНИЕ ФОРМЫ ЭРИТРОЦИТОВ. Эритроциты могут изменять свою форму, становясь овальными, грушевидными, звездчатыми, зазубренными и др. Зазубренные формы чаще являются следствием медленного высыхания мазка под влиянием гипертонической сыворотки и др. Изменение формы эритроцитов называется пойкилоцитозом.

Эритроциты с резко выраженной овальной формой называют овалоцитами, или эллиптоцитами. В норме они встречаются в крови в незначительном количестве. Состояние, при котором количество их достигает 80—90%, называют овалоцитозом. Овалоциты могут иметь нормальную резистентность, но в неблагоприятных условиях они разрушаются легче, чем нормальные эритроциты. Овальную форму эритроциты приобретают только после достижения полной зрелости, так как эритробласты и ретикулоциты имеют круглую форму.

Овалоциты встречаются при гемолитической эллипсоидно-клеточной анемии, анемии Кули, лейкозах, тяжелых железодефицитных анемиях и конституциональных аномалиях.

Эритроциты, имеющие серповидную форму, называют серповидными эритроцитами, или дрепаноцитами.

ИЗМЕНЕНИЯ В ОКРАСКЕ ЭРИТРОЦИТОВ. Гипохромия — уменьшение содержания гемоглобина в отдельных эритроцитах. Гипохромные эритроциты окрашены в бледно-розовый цвет и просвет у них выражен особенно резко. Иногда уменьшается и их толщина, и тогда они называются планоцитами.

Гиперхромия является следствием увеличения толщины эритроцитов. Гиперхромные эритроциты имеют более интенсивную

окраску; центральный просвет у них уменьшен. Гиперхромными бывают мегалоциты и микросфероциты.

Анизохромия — различная интенсивность окрашивания отдельных эритроцитов. Она может наблюдаться в одном и том же эритроците.

Полихроматофилия — накопление гемоглобина в эритроцитах с остатками базофильной субстанции. Полихроматофилия обусловлена смешением двух высокодисперсных коллоидных фаз, из которых одна, кислой реакции, представляет собой базофильную субстанцию, а другая, слабо щелочной реакции, гемоглобин. Благодаря этому незрелый эритроцит воспринимает кислую и щелочную краску и окрашивается в зависимости от того, преобладает ли в них базофильная часть цитоплазмы или гемоглобин, от синего до серовато-розового цвета. При окраске мазка нужно строго соблюдать рН дистиллированной воды (около 7,0). При пользовании водой с рН выше 7,0 все эритроциты окрашиваются в серовато-синий цвет.

Полихроматофильными обычно бывают и ретикулоциты.

Полихроматофилия и ретикулоцитоз протекают параллельно и имеют одинаковое клиническое значение.

Определение полихроматофилов в толстой капле. На предметное стекло наносят каплю крови. Для того чтобы она была тоньше, ее размазывают кончиком стекла до величины 3- или 5-копеечной монеты.

Мазки с толстой каплей окрашивают по Романовскому без фиксации. Зрелые эритроциты при этом методе гемолизуются, а молодые, незрелые остаются в виде базофильно окрашенной сеточки (синеваато-фиолетового цвета). В норме в толстой капле обнаруживают 1—2 эритроцита с базофильной сеточкой не в каждом поле зрения иммерсионной системы и это обозначают P^+ (полихромазия), при 3—5 полихроматофилах P^{++} , при 5—10 — P^{+++} и при более значительном количестве полихроматофилов P^{++++} .

Этот метод не является точным, но все же дает представление о наличии уменьшенного или увеличенного количества молодых эритроцитов.

Полихроматофилия является показателем регенерации костного мозга и встречается при кровопотерях, усиленном гемолизе эритроцитов и др. Анемии, протекающие с полихроматофилией, имеют благоприятное течение. В норме большое количество полихроматофильных эритроцитов встречается у новорожденных и быстро уменьшается в возрасте 2 недель.

ВКЛЮЧЕНИЯ В ЭРИТРОЦИТАХ. 1. Тельца Жолли представляют собой круглые фиолетово-красные включения в эритроцитах (остатки ядра) размером 1—2 мк, в количестве от 1 до 3. Они обнаруживаются при тяжелых анемиях и после спленэктомии.

2. Кольца Кебота представляют собой тонкие, нитеобразные, эллиптические или восьмеркообразные включения, являющиеся остатками ядерной оболочки. Они окрашиваются в светлый фиолетово-синий или синий цвет. Встречаются при различных анемиях, а также при отравлениях тяжелыми металлами.

3. Тельца Гейнца — Эрлиха располагаются по периферии эритроцитов и представляют собой тонкие, круглые включения различных размеров. Изредка они могут быть найдены и внеклеточно.

Определение телец Гейнца — Эрлиха по методу Дейчи: в пробирке смешивают равные количества крови и 0,5% раствора метилового

фиолетового в физиологическом растворе. После тщательного перемешивания смесь оставляют стоять в течение 10 минут и затем делают мазки. Тельца окрашиваются в пурпурно-красный цвет.

Наличие таких телец наблюдается при тяжелых интоксикациях (фенилгидразин, нитробензол, анилин, антифбрин, бертолетовая соль, нитроглицерин, толуолдиамин, пиридин, сульфамиды и др.).

Кровь больных, лечившихся сульфаниламидами, и лиц, работающих в химической промышленности, должна быть внимательно исследована на присутствие этих телец.

4. Шюфферовская зернистость представляет собой темные розово-красные включения, заполняющие почти весь эритроцит. Наблюдается при различных формах малярии. При трехдневной малярии они малого размера и встречаются в значительном количестве (20—30). При тропической малярии включения крупнее, часто неодинаковые по размерам, но количество их меньше (10—15). Эти включения называют пятнистостью Маурера.

5. Базофильная пунктация (зернистость) обнаруживается в эритроцитах, а также в эритроблестах в виде зернышек различной величины, расположенных преимущественно по краям.

Окраску базофильной пунктации по Е. М. Фрейфельд см. в разделе «Изготовление, фиксация и окраска мазков крови».

СИДЕРОБЛАСТЫ И СИДЕРОЦИТЫ. Сидеробласты представляют собой эритроблесты, имеющие зернистые включения, содержащие негемоглобинное, легко отщепляемое железо (гемосидерин, ферритин), окрашивающееся берлинской лазурью в синий цвет.

Способ окраски сидеробластов и сидероцитов см. в разделе «Цитохимические методы исследования».

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДИАМЕТРА ЭРИТРОЦИТОВ

Определение диаметра эритроцитов производят наиболее распространенным прямым микрометрическим методом с помощью окулярмикрометра, представляющего собой круглую стеклянную пластинку с нанесенной по ее диаметру шкалой, разделенной на 50 делений. Величина этих делений зависит от длины тубуса микроскопа и от увеличения объектива, при котором используют шкалу. Абсолютную величину этих делений определяют с помощью объектмикрометра, который представляет собой предметное стекло с нанесенной на нем шкалой длиной 2 мм, разделенной на 200 делений. Следовательно, каждое деление объектмикрометра равно 10 мк. Для определения цены делений окулярмикрометра последний вставляют в окуляр микроскопа, а объектмикрометр кладут на столик микроскопа и шкалы их устанавливают так, чтобы они совпали. Затем отсчитывают число делений окулярмикрометра, совпадающих с тем или иным количеством делений объектмикрометра, и определяют цену одного деления окулярмикрометра в микронах. Например, 40 делений окулярмикрометра совпали с 6 делениями объектмикрометра, тогда

$$40 \text{ делений} = 60 \text{ мк}, \quad 1 \text{ деление} = \frac{60}{40} = 1,5 \text{ мк}.$$

Диаметр эритроцитов определяют в сухих окрашенных мазках крови тем же микроскопом и той же измерительной линейкой — окулярмикрометром, для которого ранее была высчитана цена одного деления.

В условиях нормоцитоза измеряют только один диаметр эритроцита, а в условиях мегалоцитоза или эллиптоцитоза — продольный и поперечный диаметры с последующим вычислением среднеарифметической величины. Измеряют диаметр 100—200 эритроцитов и результаты измерения распределяют по группам в зависимости от величины диаметра. Относительную величину каждой группы вычисляют в процентах.

Средний диаметр эритроцитов вычисляют умножением процента эритроцитов с определенным диаметром на число микрон диаметра данной группы. Сумму всех произведений делят на 100. В норме средний диаметр эритроцитов равен 7,56 мк.

Составление эритроцитометрических кривых. Графическая регистрация распределения эритроцитов по величине, предложенная Прайс-Джонсом, состоит в том, что по оси абсцисс в координатной системе откладывают величины диаметров эритроцитов в микронах, а по оси ординат — найденные проценты эритроцитов соответствующего диаметра.

У здоровых людей эритроцитометрическая кривая имеет правильную форму с довольно узким основанием, границы которого находятся в пределах 5—9 мк. При макро- и мегалоцитарных анемиях кривая имеет неправильную пологую форму с широким основанием, с двумя или несколькими вершинами и сдвинута вправо, т. е. в сторону больших диаметров.

При наличии микроцитоза и сфероцитоза кривая также растягивается и неправильна, но сдвинута влево, в сторону меньших диаметров.

РЕТИКУЛОЦИТЫ

Ретикулоциты образуются в костном мозгу из эритробластов. Это молодые эритроциты, в которых с помощью суправитальной окраски (основными красками) выявляется зернисто-сетчатая субстанция (субстанция ретикуло-филаментоза). По выходе из костного мозга в периферическую кровь ретикулоцит превращается в зрелый эритроцит. Полагают, что окончательное созревание их совершается в течение нескольких часов.

Метод окраски бриллианткрезилблау

Реактив. Насыщенный раствор бриллианткрезилблау в абсолютном спирту (1,2 г на 100 мл спирта). Бриллианткрезилблау можно заменить таким же количеством краски азури II или I.

Ход определения. Каплю краски наносят стеклянной палочкой на предварительно хорошо вымытое, обезжиренное и подогретое на пламени горелки стекло и равномерно размазывают ее шлифованным стеклом. Краска быстро высыхает. Место, где размазана краска на стекле, отмечают красным карандашом. Такие стекла можно заготавливать впрок.

На приготовленное таким образом стекло наносят каплю крови, очень тонко ее размазывают и сейчас же помещают стекло во влажную камеру. Для этого удобно пользоваться чашкой Петри с крышкой, в которую по краям вкладывают слегка смоченные валики марли или ваты. Во влажной камере мазки выдерживают в зависимости от

влажности в ней 3—5 минут, а затем их высушивают на воздухе. Эритроциты окрашиваются в желтовато-зеленый, а зернисто-сетчатая субстанция в синеватый цвет.

После суправитальной окраски можно мазок зафиксировать и покрасить обычным методом. В этом случае эритроциты окрасятся в бледно-розовый, а зернисто-сетчатая субстанция в фиолетово-красный цвет. Этот же мазок может служить для изучения морфологии клеток и подсчета лейкоцитарной формулы.

Метод одновременного взятия, окраски и подсчета ретикулоцитов и кровяных пластинок по Н. Г. Алексееву

- Реактивы.** 1. Краска азур II.
2. Цитрат натрия.
3. Хлорид натрия.

В колбу емкостью 100 мл насыпают 1 г краски азур II и заливают ее раствором следующего состава:

цитрат натрия	5 г
хлорид натрия	0,4 г
дистиллированная вода	45 мл

Колбу ставят в термостат на 2 суток при температуре 37°, периодически перемешивая жидкость. Для ускорения растворения краски колбу с краской медленно, при постоянном помешивании, нагревают в течение 15—20 минут на асбестовой сетке, не доводя до кипения, охлажденный до комнатной температуры раствор фильтруют. Фильтрат служит рабочим раствором и может храниться в темном месте длительное время.

Краска может созреть и при комнатной температуре, но для этого необходимо не менее 4 дней при ежедневном перемешивании ее.

Ход определения. В смеситель для лейкоцитов набирают рабочий раствор краски до метки 1, затем набирают кровь больного приблизительно до $\frac{1}{5}$ объема ампулы смесителя. Кровь из капиллярной части смесителя быстро выдувают на ватный тампон, а оставшуюся смесь крови с краской перемешивают трехкратным выдуванием на часовое стекло и обратным всасыванием в смеситель. Все манипуляции при взятии крови в смеситель и ее перемешивании с краской производят с предельной быстротой.

Набрав последний раз смесь крови с краской в смеситель, оставляют его в горизонтальном положении на 20—30 минут для окрашивания. После этого встряхивают смеситель в течение 2 минут, сливают из капилляра 2 капли, а из оставшейся части смеси делают на предметных стеклах очень тонкие мазки (подобные мазкам крови для лейкоцитарной формулы).

Эритроциты окрашиваются в желтовато-зеленый, зернисто-сетчатая субстанция и кровяные пластинки в синеватый цвет.

После суправитальной окраски мазок можно зафиксировать и покрасить обычным методом. Тогда эритроциты окрасятся в бледно-розовый цвет, а зернисто-сетчатая субстанция в фиолетово-красный. Кровяные пластинки будут фиолетового цвета.

Можно вместо смесителей пользоваться пробирками. В этом случае набирают в пробирку капилляром от аппарата Панченкова до метки 50 указанный выше раствор краски и тем же капилляром до метки 0 набирают 2 раза, т. е. всего 200 делений капилляра, кровь.

После этого смесь крови с краской тщательно перемешивают в пробирке и оставляют стоять в течение 20—30 минут для окрашивания. Затем делают мазки.

Этот вариант взятия крови проще и не требует смесителей.

Метод окраски по П. Н. Корикову¹

Реактивы. Раствор краски готовят по следующему рецепту:

азур I	1 г
оксалат аммония	0,4 г
этиловый спирт	10 мл
хлорид натрия	0,8 г
дистиллированная вода	90 мл

Для созревания приготовленный раствор краски в плотно закрытых флаконах помещают в термостат на 2—3 дня, периодически вынимая его и энергично взбалтывая. Созревшую краску охлаждают и фильтруют через бумажный фильтр. Фильтрат является рабочим раствором краски и может храниться длительное время. Если появляется осадок, его необходимо отфильтровать.

Ход определения. Рабочий раствор краски в количестве 0,3—0,5 мл наливают в короткую пробирку и добавляют пипеткой от аппарата Панченкова 5—6 капель крови. Затем пробирку закрывают резиновой пробкой и смесь крови с краской тщательно, но осторожно перемешивают. Для окрашивания зернисто-сетчатой субстанции смесь в пробирке выдерживают при комнатной температуре не менее 45—60 минут и не более 10—12 часов, однако наилучшие результаты получаются при окраске в течение 1½—3 часов. После окрашивания смесь крови с краской в пробирке повторно размешивают в течение 2—3 минут и из нее готовят тонкий мазок обычным способом.

В препаратах отчетливо видны желтовато-зеленые эритроциты, серовато-зеленоватые полихроматофилы, зернисто-сетчатая субстанция окрашена в фиолетово-синий цвет, четко выделяясь на зеленоватом фоне эритроцитов. Кровяные пластинки окрашены в фиолетовый цвет.

Подсчет ретикулоцитов после любого метода окраски производят на 1000 эритроцитов. Для большей точности желательно считать на 2000—3000 эритроцитов.

В норме в периферической крови имеется 0,5—1% (5—10 : 1000) ретикулоцитов.

По степени зрелости различают 4 или 5 видов ретикулоцитов.

В I группу входят ретикулоциты, имеющие ядро (эритробласты). Зернистость у них располагается в виде плотного венчика вокруг ядра.

II группу составляют ретикулоциты, имеющие зернисто-сетчатую субстанцию в виде клубка или глыбки.

К III группе относятся ретикулоциты, имеющие зернистость в виде густой сети.

В IV группе ретикулоцитов зернисто-сетчатая субстанция имеет вид отдельных нитей.

В V группу входят ретикулоциты, содержащие отдельные зернышки.

В норме почти 80% ретикулоцитов относятся к IV—V группам.

¹ Лабораторное дело, 1961, № 4.

Метод подсчета в счетной камере¹

Реактивы. 100 мл изотонического раствора хлорида натрия смешивают с 0,05 г метиленового синего. Вместо последнего можно пользоваться бриллианткрезилблау, метилвиолетом и кристалвиолетом.

При приготовлении раствора метиленовый синий лучше растворить вначале в дистиллированной воде, а затем прибавлять к раствору требуемое количество хлорида натрия, так как краска плохо растворяется в изотоническом растворе и витальная зернистость в эритроцитах будет выявляться слабо.

Ход определения. Кровь предварительно смешивают в разведении 1:200 или 1:100 в смесителе для эритроцитов с реактивом.

Подсчет в камере рекомендуется производить с иммерсией не ранее чем через 40 минут после смешивания в смесителе крови с разводящей жидкостью при температуре 16—18°. Покровные стекла для счетной камеры должны быть не толще 0,15 мм.

Ретикулоциты в камере выявляются в виде округлых дисков зеленовато-желтого цвета, в которых выступает витальная зернистость синего цвета.

Этот метод позволяет одновременно производить общий подсчет эритроцитов, а также ретикулоцитов с дифференцировкой их на группы.

Исследования ретикулоцитов люминесцентным методом см. в разделе «Люминесцентная микроскопия».

Интерпретация. Ретикулоциты являются важным показателем регенеративной способности костного мозга.

Увеличение их в периферической крови отмечается при гемолитических анемиях, когда они могут достигать до 60% и более (особенно сильно увеличиваясь при гемолитических кризах), при острых кровопотерях, малярии, полицитемии, болезни Кули, у новорожденных (2—6%) при анемии Якша—Гайема, при лечении железом железодефицитных анемий, через несколько дней (3—10) после начала антианемического лечения пернициозной анемии.

Наличие повышенного количества ретикулоцитов позволяет заподозрить скрытое кровотечение.

Считается, что увеличение количества ретикулоцитов в периферической крови является выражением хорошей регенерации только в том случае, если одновременно имеется ретикулоцитоз и в костном мозгу, что называют истинным ретикулоцитозом. Отсутствие же повышенного количества ретикулоцитов в костном мозгу при повышении их количества в периферической крови говорит об усилении вымывания ретикулоцитов из костного мозга в периферическую кровь.

Повышенный ретикулоцитоз, не соответствующий эритроцитозу, наблюдается при раздражении отдельных участков костного мозга раковыми метастазами или воспалительными очагами.

Понижение количества или отсутствие ретикулоцитов наблюдается при регенераторных апластических анемиях и при нелеченной пернициозной анемии.

¹ Лабораторное дело, 1956, № 4, стр. 27.

ЛЕЙКОЦИТАРНАЯ ФОРМУЛА

Лейкоцитарную формулу считают в окрашенных мазках крови на 100 лейкоцитов и выражают в виде процентного соотношения отдельных видов лейкоцитов.

При большом количестве лейкоцитов в 1 мм^3 или при измененной лейкоцитарной формуле следует подсчитывать не менее 200 клеток и полученный результат делить на число подсчитанных сотен.

При больших лейкопениях, особенно если количество лейкоцитов будет менее 1000 в 1 мм^3 , можно считать 50 клеток и полученный результат умножить на 2. Ввиду того что более крупные формы клеток (моноциты, нейтрофилы, миелобласты и др.) располагаются больше по периферии, вдоль верхнего и нижнего краев мазка, а более мелкие (лимфоциты, микромиелобласты и т. д.) находятся близко к центру его, подсчет клеток производят всегда по одной и той же определенной системе, а именно: половину клеток считают на одном конце мазка, а другую — на противоположной его стороне. Счет ведут по зигзагу: 3—4 поля зрения по краю мазка, потом 3—4 поля под прямым углом к середине мазка, затем продолжают счет в 3—4 полях зрения параллельно краю мазка и возвращаются вновь к краю мазка, считая тоже 3—4 поля. Такое движение при счете продолжают до тех пор, пока не сосчитают половину клеток, а затем переходят на противоположный край, где отсчитывают вторую половину клеток.

Лучше считать в самом тонком месте ближе к концу мазка, где хорошо видна структура клеток, а не в начале мазка, где самый толстый слой крови. Считать клетки по краю можно до тех пор, пока эритроциты лежат отдельно, а не сложены в монетные столбики (признак толстого слоя мазка). Дойдя до такого места, нужно переходить на другую сторону мазка или продолжать счет в другом мазке. Особенно важно придерживаться этого правила при патологически измененной крови, при наличии молодых клеток, выявить которые в толстом месте мазка трудно.

Подсчет лейкоцитарной формулы удобно производить с помощью 11-клавишного счетчика для лейкоцитарной формулы.

Лейкоцитарная формула дает представление только об относительных величинах (в процентах). Поэтому, определив процентное соотношение отдельных видов клеток, вычисляют абсолютные числа их, т. е. определяют, сколько каждого вида клеток находится в 1 мм^3 крови.

Пример. Общее количество клеток в 1 мм^3 крови 3000, из них количество лимфоцитов 60%. Абсолютное количество лимфоцитов в 1 мм^3 крови:

$$\frac{60 \times 3000}{100} = 1800.$$

Важное значение имеет определение абсолютного количества клеток при лейкопении и лейкоцитозах. При пониженном количестве лейкоцитов в 1 мм^3 крови высокий процент отдельных клеток не является еще признаком увеличения их количества, так как абсолютное количество их может быть нормально или даже понижено. Например: количество лейкоцитов в 1 мм^3 крови 3000, из них нейтрофилов 30%, лимфоцитов 60%, моноцитов 8%, эозинофилов 2%. Количество нейтрофилов в 1 мм^3 крови в этом случае будет 900 (норма 3780—

5440), лимфоцитов — 1800 (норма 1500—2400), моноцитов — 240 (норма 360—640) и эозинофилов — 60 (норма 180—320).

В этом случае нет абсолютного, но имеются относительный лимфоцитоз (увеличено только процентное содержание лимфоцитов) и значительное снижение нейтрофилов как в относительном, так и в абсолютном количестве (в 1 мм^3) при небольшом снижении содержания моноцитов и эозинофилов в абсолютных цифрах.

При повышенном количестве лейкоцитов в 1 мм^3 крови относительные показатели некоторых видов клеток могут быть низкими, но абсолютные величины их нормальными или повышенными.

Особенное значение абсолютные числа приобретают в динамике исследований крови при лечении заболеваний кроветворного аппарата, злокачественных опухолей рентгеновыми лучами и химиопрепаратами.

Нормальное содержание лейкоцитов у детей и взрослых в процентах и абсолютных числах представлено в таблицах 7 и 8.

При исследовании лейкоцитарной формулы учитывают сдвиг ядер нейтрофилов — индекс сдвига ядер. Повышение процента незрелых нейтрофильных клеток в периферической крови называется сдвигом влево. Уменьшение нормального количества палочкоядерных нейтрофилов и наличие гиперсегментированных ядер называется сдвигом вправо.

Таблица 7

ЛЕЙКОЦИТАРНАЯ ФОРМУЛА КРОВИ ДЕТЕЙ В ВОЗРАСТЕ ОТ 1 ГОДА ДО 15 ЛЕТ (ПО А. Ф. ТУРУ)

Возраст в годах	Нейтрофилы		Эозинофилы		Базофилы в %	Моноциты		Лимфоциты			Абсолютное количество	Плазматические клетки в %
	%	абсолютное количество	в %	в %		%	абсолютное количество	в %				
								малые и средние	большие	всего		
1—2	34,5	3670	2,5	0,5	11,5	1180	46,5	3,5	50,0	5400	0,25	
2—3	36,5	3960	1,5	0,5	10,0	1100	49,5	2,0	51,5	5600	0,0	
3—4	38,0	3760	2,0	0,5	10,5	1030	46,0	3,0	49,0	5150	0,1	
4—5	45,5	4600	1,0	0,5	9,0	920	41,5	3,0	44,5	4490	0,0	
5—6	43,5	3850	0,5	0,25	10,0	890	43,5	2,5	46,0	4090	0,0	
6—7	46,5	4850	1,5	0,5	9,5	990	40,5	1,5	42,0	4450	0,0	
7—8	44,5	4490	1,0	0,5	9,0	890	42,5	2,5	45,0	4490	0,0	
8—9	49,5	4890	2,0	0,5	8,5	840	37,0	2,5	39,5	3500	0,0	
9—10	51,5	4400	2,0	0,25	8,0	690	36,5	2,0	38,5	3310	0,1	
10—11	50,0	4100	2,5	0,5	9,5	780	34,5	1,5	36,0	2950	0,0	
11—12	52,5	4110	2,0	0,5	9,0	710	33,5	2,5	36,0	2740	0,0	
12—13	53,5	4290	2,5	0,5	8,5	690	32,5	2,5	35,0	2835	0,0	
13—14	56,5	4650	2,5	0,5	8,5	710	30,5	1,5	32,0	2656	0,0	
14—15	60,5	4630	2,0	0,5	9,0	680	27,0	1,0	28,0	2128	0,0	

Индекс сдвига высчитывается по следующей формуле:
индекс сдвига = $\frac{\text{миелоциты} + \text{метамиелоциты} + \text{палочкоядерные}}{\text{сегментоядерные}}$.

В норме индекс сдвига равен 0,06.

Таблица 8

НОРМАЛЬНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ЛЕЙКОЦИТОВ У ВЗРОСЛЫХ

	Лейкоциты	Базофилы	Эозинофилы	Нейтрофилы				Лимфоциты	Моноциты
				миелоциты	юные	палочко-ядерные	сегментоядерные		
Норма в абсолютных числах	6000—8000 в 1 мм ³ крови	0 80	180—320		0 80	180—320	3600—5040	1500—2400	360—640
Норма в относительных числах		0,0 1,0	3—4		0,0 1,0	3—4	60—63	25—35	6—8

МОРФОЛОГИЯ
ЛЕЙКОЦИТОВ

Лейкоциты периферической крови делятся на гранулоциты (нейтрофилы, эозинофилы, базофилы) и агранулоциты (лимфоциты, моноциты).

Нейтрофилы

Размер клеток колеблется в пределах 10—12 мк. Большую часть клетки занимает бледно-розовая цитоплазма с обильной неравномерной мелкой зернистостью, окрашенной в розовато-синий или фиолетовый цвет.

В норме в крови обнаруживаются палочкоядерные и сегментоядерные нейтрофилы. Ядро палочкоядерного нейтрофила имеет форму изогнутой палочки и в тонких местах содержит компактные непрерывные нити базихроматина. У сегментоядерного нейтрофила ядро разделено на отдельные сегменты округлой формы, которые связаны оболочкой ядра. Базихроматин ядра обычно скапливается в отдельные грубые комочки, преимущественно по его периферии, окрашивая ядро в темно-фиолетовый цвет. Количество сегментов у сегментоядерного нейтрофила чаще колеблется от 2 до 5. Нейтрофилы с большим количеством сегментов (8—12 и более), так называемые полисегментированные, встречаются при патологии (пернициозная анемия, лейкозы и др.).

Морфологию остальных форм нейтрофилов (метамиелоциты, миелоциты и др.) см. в разделе «Костный мозг».

В норме в крови содержится палочкоядерных нейтрофилов от 2 до 4%, сегментоядерных — от 60 до 63%.

Интерпретация. Увеличение количества нейтрофилов в крови — нейтрофилез — наблюдается чаще

одновременно с увеличением общего количества лейкоцитов в 1 мм^3 . Нейтрофильный лейкоцитоз со сдвигом влево отмечается при острых воспалительных процессах, гнойных инфекциях, различных интоксикациях, злокачественных новообразованиях, лимфогранулематозе и некоторых инфекционных заболеваниях (скарлатина, рожа, дифтерия, крупозная пневмония и др.).

Снижение количества лейкоцитов и увеличение нейтрофильного сдвига влево свидетельствуют о неблагоприятном течении болезни.

Уменьшение количества нейтрофилов — нейтропения наблюдается при некоторых хронических и вирусных инфекциях, после рентгенотерапии, при гипопластических состояниях кроветворения.

Эозинофилы

Размер клеток и ядерно-цитоплазменное соотношение такие же, как у нейтрофилов.

Цитоплазма клеток окрашивается в слабо голубой цвет, однако эта окраска среди большого количества зерен в цитоплазме мало заметна. В протоплазме имеется крупная обильная зернистость круглой формы, окрашивающаяся в желтовато-красный цвет.

Отношение в ядре между бази- и оксихроматином идентично такому же отношению в ядре нейтрофилов, но ядро эозинофилов рыхлое и окрашивается бледнее. Сегментоядерные эозинофилы обычно имеют два сегмента одинаковой величины, реже три. В отдельных случаях в них содержатся и полисегментированные ядра.

В норме в периферической крови сегментоядерные эозинофилы содержатся в количестве от 3 до 4%. Могут встречаться и единичные палочкоядерные эозинофилы.

Интерпретация. Повышенное количество эозинофилов в крови — эозинофилия наблюдается при различных аллергических заболеваниях (бронхиальная астма, крапивница, пищевые и лекарственные идиосинкразии, глистные инвазии и др.). Умеренная эозинофилия отмечается при хроническом миелозе (при эозинофильном варианте резко выраженная эозинофилия), лимфогранулематозе, некоторых инфекциях (скарлатина, оспа).

Эозинопения и анэозинофилия наблюдаются в начальном периоде острых инфекций, воспалительных процессов, инфаркта миокарда. Появление эозинофилов в крови в этих случаях является благоприятным признаком.

Базофилы

Клетки несколько меньше сегментоядерных нейтрофилов. Протоплазма окрашивается в бледно-розовый или фиолетовый цвет. В ней имеются зерна различной величины. Наряду с большими встречаются очень маленькие — пылевидные, часто расположенные на ядре. Они окрашиваются в интенсивно фиолетовый цвет. При окраске мазка обычно зерна растворяются в воде, что особенно проявляется у сегментоядерных форм. Поэтому в окрашенном препарате базофилы нередко выглядят размытыми, диффузно окрашенными в фиолетовый цвет, и только кое-где видны в них единичные, сохранившиеся зерна. В местах растворившихся зерен часто встречаются небольшие бесцветные пятна.

Ядро сегментоядерного базофила сравнительно большое, темно окрашенное, бесструктурное, расплывчатое и редко разделенное более чем на две части.

Сегментоядерные базофилы отличить от палочкоядерных форм большей частью невозможно из-за большого количества зернистости, покрывающей ядро.

В норме в периферической крови количество базофилов колеблется от 0 до 1%.

Интерпретация. Базофилия наблюдается при хроническом миелолейкозе, полицитемии.

Лимфоциты

Размер колеблется от 7 до 10 мк. Ядро круглое, овальное, иногда бобовидное. Структура ядра грубая, чаще состоит из грубых комков базихроматина и небольшого количества оксихроматина, создавая впечатление глыбчатости. Ядро окрашивается в темно- или светло-фиолетовый цвет. В ядре иногда обнаруживаются небольшие светлые участки, имитирующие ядрышки.

Цитоплазма лимфоцита светло-синяя с просветом вокруг ядра. Ободок протоплазмы бывает узкий, иногда еле заметный, или широкий. Некоторая часть лимфоцитов имеет в протоплазме азурофильную зернистость, окрашивающуюся в красный цвет.

В крови наблюдают два типа зрелых лимфоцитов: 1) узкоплазменные лимфоциты, к которым относят клетки с грубым глыбчатым ядром, окрашенным в темно-фиолетовый цвет, и узким ободком синей протоплазмы и 2) широкоплазменные лимфоциты — клетки с более бледным ядром, нередко бобовидной формы и широким ободком серовато-синей протоплазмы с единичными азуровыми включениями.

Атипичные лимфоциты:

1) клетки небольших размеров с пикнотическим ядром и с еле заметной протоплазмой;

2) клетки Ридера, имеющие почкообразную, зазубренную форму ядер или двудольчатые ядра. Последние называют еще «амитотическими» лимфоцитами;

3) клетки с вакуолизацией в протоплазме, реже в ядре;

4) голые лимфоцитарные ядра;

5) клетки лейколиза, называемые тенями (клетками) Боткина — Клейна-Гумпрехта, часто встречающиеся при лимфаденозах.

В норме в периферической крови у взрослых количество зрелых лимфоцитов составляет от 25 до 30%.

Интерпретация. Абсолютный лимфоцитоз в крови может наблюдаться: при некоторых физиологических состояниях (в раннем детстве, после приема внутрь жиров и др.) и при патологических состояниях (лимфаденозе, инфекционном лимфоцитозе, кори, краснухе, ветряной оспе, коклюше, эпидемическом паротите, ранней туберкулезной интоксикации и затихании вспышки при ограниченных формах вторичного туберкулеза легких).

Относительный лимфоцитоз при низком общем количестве лейкоцитов бывает при гриппе, брюшном тифе, паратифе А и В, алейкемическом лимфаденозе, малярии, заболеваниях эндокринных желез (диабет, аддисонова болезнь, микседема, акромегалия), ваготонии, в период выздоровления после инфекционных заболеваний.

Абсолютная лимфоцитопения наблюдается в начале острых инфекционных заболеваний, при уремии, тяжелых септических процессах, прогрессирующем милиарном туберкулезе, при всех заболеваниях, ведущих к замещению лимфоидной ткани (лимфогранулематоз, ретикулосаркома, распространенный туберкулез лимфатических узлов, острые и хронические миелозы).

Моноциты

Размер колеблется от 12 до 20 мк. Ядро занимает большую или равную часть клетки. Оно может быть бобовидным или иметь форму бабочки, гриба и т. п. Нити базихроматина в виде извилистых грубых тяжей, которые образуют широкую сетку с утолщениями. В ячейках сетки имеются значительные просветления за счет оксихроматина. Ядро окрашивается в красновато-фиолетовый цвет, светлее, чем у нейтрофильных лейкоцитов и лимфоцитов.

Протоплазма окрашивается в дымчатый или синевато-дымчатый, а иногда синий цвет и часто содержит в большом количестве мелкую азурофильную зернистость. Нередко в протоплазме содержатся вакуоли, расположенные вблизи ядра, фагоцитированные клетки, пигментные зерна и др.

В норме в периферической крови количество моноцитов колеблется от 6 до 8%.

Интерпретация. Увеличение количества моноцитов с одновременным увеличением нейтрофилов наблюдается при нагноениях, лимфогранулематозе, скарлатине.

Увеличение моноцитов с повышением общего количества лейкоцитов наблюдается при натуральной оспе, ветряной оспе, остром сифилисе, септических процессах и некоторых инфекционных заболеваниях (как благоприятный симптом).

Моноцитоз встречается при туберкулезе в фазе гематогенной диссеминации.

Увеличение моноцитов наблюдается также при послепаразитарных состояниях, а одновременно с лимфоцитозом при сифилисе, малярии (также при хронической скрытой форме ее), тифе, коклюше, возвратном тифе, протозойных заболеваниях, трипанозомназе, кала-азаре, глистных инвазиях и др.

Моноцитограмма. О. Н. Григорова разделяет моноциты на: 1) монобласты — большие клетки с большими незрелыми ядрами; 2) промоноциты — клетки с круглыми ядрами; 3) собственно моноциты — клетки с бобовидными ядрами; 4) полиморфмоноциты — клетки, имеющие самые причудливые формы ядра: палочкообразные, сегментные, в виде бабочек, грибка и т. п.

В норме у взрослых, по О. Н. Григоровой, на 100 отдельно сосчитанных моноцитов (можно считать и 50 моноцитов) промоноцитов 20—28%, собственно моноцитов 26—32% и полиморфмоноцитов 42—52%.

При инфекционных процессах, протекающих с резкой интоксикацией (туберкулез, дифтерия, дизентерия и др.), моноцитограмма изменяется. При хорошей реактивности со стороны активной мезенхимы увеличивается количество промоноцитов с одновременным уменьшением полиморфмоноцитов, что является хорошим прогно-

стическим симптомом. Увеличение полиморфноцитоза и уменьшение собственно моноцитов и промоноцитов являются прогностически неблагоприятным признаком.

ОСНОВНЫЕ СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В КЛЕТКАХ

1. **Сегментация ядра.** Ядро разделяется на несколько сегментов, чаще соединенных между собой. Больше всего сегментов обнаруживается у нейтрофилов и мегакариоцитов (до 20 и более). Сегментация может сочетаться с пикнозом, хроматинолизом и вакуолизацией ядра и протоплазмы.

2. **Хроматинолиз.** При распаде хроматина ядра клетки последний теряет свою нормальную структуру — растворяется. Благодаря этому ядро окрашивается в светлый цвет. Контуры ядра сохраняются.

3. **Кариолиз** — растворение лишь части ядра с сохранением его нормальной структуры. В местах растворения ядро теряет способность окрашиваться основными красками. Контуры ядра нечеткие, размытые.

4. **Фрагментоз** — процесс при котором от ядра отделяются отдельные фрагменты (частицы). Они могут быть связаны с ядром тонкими нитями базихроматина. Количество фрагментов невелико (от 1 до 5).

5. **Пикноз** — уплотнение базихроматина ядра. Ядро при этом становится темным, бесструктурным. Размер клетки уменьшается. Процесс пикнотизации распространяется чаще всего на все ядро, но в ряде случаев только на отдельные его участки или, как у сегментоядерных клеток, на отдельные сегменты.

6. **Кариорексис** — распад ядра на отдельные части различной величины, не связанные между собой, округлой формы и резко пикнотичные, темные, бесструктурные образования.

7. **Цитолиз** — распад клетки. Протоплазма чаще отсутствует. Ядро теряет свою обычную структуру, контуры его расплывчатые. В тяжелых случаях можно обнаружить только остатки ядра и зернистость.

8. **Вакуолизация** встречается чаще в протоплазме, иногда в ядре или в обоих одновременно. Наличие ее в ядре указывает на более глубокие изменения в клетке и на тяжесть патологического процесса. Размер вакуолей различный: в одних клетках можно видеть единичные крупные вакуоли, в других мелкие, но в большом количестве. Вакуолизация чаще сочетается с другими структурными изменениями клетки (лизис, пикноз, гипохроматоз и др.).

Интерпретация. Структурные изменения в клетках встречаются при различных патологических процессах: инфекционных заболеваниях, воздействии химических веществ, заболеваниях кроветворного аппарата, действии проникающих излучений (рентгеновы, нейтронные, гамма-лучи и т. п.), попадании внутрь радиоактивных веществ и др.

ПЕЛЬГЕРОВСКАЯ АНОМАЛИЯ. Пельгеровская аномалия — конституционная аномалия, выражающаяся главным образом в морфологическом изменении ядер нейтрофилов. Диаметр клетки уменьшен. Ядра короткие, сжатые, с грубо пятнистым хроматином, имеют форму круглую или бухтообразную, неправильного эллипса, земляного

ореха или гимнастических гирь и напоминают ядра миелоцитов и метамиелоцитов. Палочкоядерные нейтрофилы имеют ядро в виде короткой изогнутой палочки. У большинства сегментоядерных нейтрофилов ядро с двумя сегментами (бисегментоядерное), и только небольшое количество их содержит ядра с тремя сегментами. В протоплазме нейтрофилов с пельгеровской аномалией обнаруживается крупная зернистость.

Во избежание ошибочного диагностирования сдвига влево Г. А. Алексеев¹ предлагает следующую номенклатуру зрелых пельгеровских нейтрофилов: 1) круглоядерные, 2) несегментированные с ядром в виде эллипса, боба, почки, земляного ореха, гимнастических гирь, 3) палочкоядерные, 4) бисегментоядерные, 5) трисегментоядерные.

В функциональном отношении нейтрофилы при пельгеровской аномалии полноценны.

В базофилах, эозинофилах, моноцитах и лимфоцитах описанные выше изменения при пельгеровской аномалии встречаются реже и менее выражены.

Изменения в клетках при пельгеровской аномалии наблюдаются как в периферической крови, так и в костном мозгу.

Пельгеровская аномалия встречается не только как конституциональное состояние, а может возникнуть и как вторичное явление (псевдопельгеровская аномалия) при некоторых заболеваниях (например, при острых кишечных инфекциях, агранулоцитозе, лейкозах и др.), имеющее временный, преходящий характер. По выздоровлении больного псевдопельгеровские лейкоциты исчезают.

Желательно во всех случаях для уточнения диагноза пельгеровской семейной аномалии у пациента исследовать кровь родителей и при наличии у них соответствующих изменений сообщить им и лечащему врачу об этом. Это позволит избежать ошибочного толкования картины крови как «левого сдвига» нейтрофилов и неправильного поведения врача при любом заболевании носителя пельгеровской семейной аномалии.

ВРОЖДЕННАЯ ГИПЕРСЕГМЕНТАЦИЯ ЯДЕР НЕЙТРОФИЛОВ. Преобладают нейтрофилы с 4 и более сегментами ядра. Аномалия эта напоминает так называемый сдвиг нейтрофилов вправо, встречающийся при анемии Аддисона — Бирмера и др. Врожденная гиперсегментация не дает никаких клинических симптомов.

ВРОЖДЕННАЯ ГИПЕРСЕГМЕНТАЦИЯ ЯДЕР ЭОЗИНОФИЛОВ. Ядра эозинофилов состоят преимущественно из 3 сегментов (в норме обычно 2 сегмента). Иногда отмечается и сегментация ядер моноцитов.

АНОМАЛИЯ АЛЬДЕРА. Зернистость протоплазмы нейтрофильных, базофильных и эозинофильных гранулоцитов очень крупная, обильная, а поэтому часто ядра этих клеток в окрашенных мазках почти не видны.

Крупная зернистость отмечается также в протоплазме гранулоцитов в костном мозгу.

АНОМАЛИЯ ХЕДИАКА — ШТЕЙНБРИНКА. В протоплазме гранулоцитов рядом с крупной зернистостью отмечаются шаровидные азурофильные образования размером 2—5 мк, окруженные светлыми ободками. Кроме того, в протоплазме обнаруживаются тельца

¹ Терапевтический архив, 1964, в. 1.

Дэле. Отмечаются изменения в строении хроматина ядер клеток гранулопоэза. Такие же изменения имеются в лимфоцитах и моноцитах. В большинстве случаев лица, страдающие аномалией Хеднака—Штейнбринка, являются альбиносами или очень светлыми блондинами с повышенной чувствительностью к свету.

АНОМАЛИЯ МАИ—ХЕГЛИНА. Все лейкоциты, в особенности нейтрофилы и эозинофилы, содержат тельца Дэле. При этой аномалии имеют место симптомы геморрагического диатеза, тромбоцитопения и наличие гигантских кровяных пластинок.

КЛЕТКИ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКИ (LE-ФЕНОМЕН)

LE-феномен образуется благодаря присутствию в сыворотке больных системной красной волчанкой особого фактора гамма-глобулиновой природы, под влиянием которого ядра клеток крови или тканей набухают, хроматин утрачивает свою структуру и превращается в аморфную массу. Лизированный ядерный материал становится чужеродным для организма и фагоцитируется лейкоцитами.

Метод ротирования крови со стеклянными бусами (Linscham и Conley), модифицированный Е. И. Новоселовой¹

Принцип. Получение высокой концентрации лейкоцитов в мазках, весьма облегчающей поиск клеток LE.

Посуда и аппаратура. 1. Шприц на 10 мл.

2. Широкая пробирка с плотно закрывающейся пробкой.

3. Стеклянные бусинки диаметром 3—4 мм.

4. Пипетка.

5. Центрифужная пробирка.

6. Центрифуга на 1000 об/мин.

7. Предметные и покровные стекла.

8. Штатив для мазков.

9. Мостик для окраски.

10. Микроскоп.

Реактивы. 1. Оксалат натрия.

2. Метиловый спирт.

3. Краска Романовского.

Ход определения. Взятую из вены кровь в количестве 10 мл помещают в широкую пробирку, куда заранее вносят 10 мг оксалата натрия. Кровь тщательно перемешивают и оставляют при комнатной температуре на 1—1½ часа. В пробирку вносят 8—10 стеклянных бусинок диаметром 3—4 мм, плотно закрывают пробкой и подвергают ротированию путем опрокидывания на пробку и обратно в течение 30 минут со скоростью 30—40 об/мин. После этого кровь отстаивают около часа при комнатной температуре до разделения слоев, затем плазму отсасывают пипеткой, переносят в центрифужную пробирку и центрифугируют в течение 5 минут при 1000 об/мин. Из осадка делают мазки, фиксируют их в метиловом спирту и окрашивают по Романовскому. Мазки просматривают сначала (ориентировочно) с сухой системой, а затем с иммерсионной.

¹ Коллагеновые болезни и ревматизм. Под ред. Е. М. Тареева, 1961.

**Метод Snapper и Nathan,
модифицированный М. Л. Киселевой (метод «кольца»)**

Принцип. Соединение лейкоцитов здоровых лиц с кровью больного.

Посуда и аппаратура. 1. Предметные и покровные стекла.

2. Влажная камера.

3. Термостат.

Ход определения. В центр обезжиренного предметного стекла наносят каплю крови здорового человека. Стекло с каплей помещают во влажную камеру и оставляют на 1 час в термостате при 37°. Затем препарат высушивают на воздухе. Такие препараты можно заготовить впрок на 2 недели. К предметному стеклу по обе стороны капли притирают два покровных стекла так, чтобы они не покрывали кровавое пятно. Каплю крови из пальца больного помещают в центре второго предметного стекла, которое быстро, но осторожно опрокидывают на приготовленное заранее стекло с сухой каплей крови здорового человека так, чтобы обе капли соприкасались. Такой препарат помещают во влажную камеру на час в термостат при 37°. Затем верхнее стекло и покровные стекла осторожно снимают. Остатки сыворотки быстро удаляют. Препарат высушивают на воздухе, фиксируют и окрашивают так же, как мазки крови.

При микроскопическом исследовании LE клетка представляет собой фагоцит, обычно нейтрофильный лейкоцит, в протоплазме которого содержится в виде одного или нескольких овальных, совершенно бесструктурных гомогенных образований, окрашивающихся азур-эозином в красновато-фиолетовый цвет.

В мазках, помимо характерных «волчаночных» клеток, можно видеть также свободно лежащие тельца, большей частью округлые, того же строения и окраски, что и включения в клетках. Это так называемые «волчаночные» тельца, не фагоцитированные лейкоцитами. Кроме того, можно наблюдать эти же «волчаночные» тельца, окруженные нейтрофилами, с образованием так называемых розеток.

От клеток LE надо уметь отличать клетки Тарта, которые некоторые авторы называют псевдо-LE-клетками. Это чаще всего полиморфноядерные лейкоциты, поглотившие ядерную субстанцию с сохраненными контурами хроматиновой сети, а в LE-клетках включения гомогенные, полностью лишенные ядерной структуры.

Интерпретация. Обнаружение LE-клеток позволяет дать заключение о положительном волчаночноклеточном феномене. Обнаружение в мазках только свободно лежащих телец, хотя и очень напоминающих тельца красной волчанки, не позволяет с уверенностью дать положительный ответ. Исследование крови методом ротирования имеет значительные преимущества перед другими методами, так как большая концентрация клеток, полученная в мазках этим способом, весьма облегчает поиски LE-клеток. Для выдачи отрицательного ответа следует тщательно просмотреть серию препаратов. Обнаружение даже единичных, но не менее двух типичных клеток позволяет дать положительный ответ.

Волчаночный фактор может содержаться в пунктате костного мозга, в белковых жидкостях (экссудаты, мочевой белок при поражениях почек).

Частота обнаружения LE-клеток у больных острой системной красной волчанкой колеблется от 40 до 95%.

При улучшении состояния больного в процессе лечения его количества LE-клеток уменьшается, а иногда и совсем исчезает.

LE-феномен наблюдается, хотя и редко, и при плазмоцитоме, тяжелых поражениях печени, острых лейкозах, остром ревматизме, эритродермиях, милиарном туберкулезе, пернициозной анемии, при непереносимости к антибиотикам — пенициллину и особенно к аспролину (гидролизину), при узелковом периартерите, гемолитической анемии, тромбоцитопенической пурпуре. При этих заболеваниях «волчаночные» клетки обнаруживаются единичные и непостоянно.

ИССЛЕДОВАНИЕ ФАГОЦИТОЗА

Метод Кост и Стенко

Принцип. Использование способности лейкоцитов поглощать и переваривать микробы.

Посуда и аппаратура. 1. Видалевские пробирки.

2. Химические пробирки с диаметром и цветом стекла, идентичным бактериологическим стандартам.

3. Капилляр от аппарата Панченкова.

4. Пипетка.

5. Бактериальные стандарты, соответствующие концентрации 1—2 или 4 млрд. микробных тел в 1 мл. Вся посуда должна быть стерильна.

6. Термостат.

Реактивы. 1. 4% нейтральный цитрат натрия (стерильный).

2. Физиологический раствор (стерильный).

3. Взвеси живых или убитых микробов.

Для приготовления взвеси живых микробов в пробирку или чашечку Петри с однодневной культурой микробов наливают небольшое количество физиологического раствора, перемешивают и разведенную культуру микробов пипеткой переносят в химическую пробирку. Разбавляя в дальнейшем физиологическим раствором, доводят содержимое пробирки до степени мутности бактериального стандарта с концентрацией 1 или 2 млрд. микробных тел в 1 мл.

Убитые культуры обычно продаются в запаянных ампулах с этикетками, на которых указана степень разведения. Для изменения концентрации, физиологический раствор добавляют точно по расчету.

Ход определения. В видалевскую пробирку набирают капилляром от аппарата Панченкова 1 капилляр 4% раствора цитрата натрия и крови 2 капилляра. Этим же капилляром добавляют 1 капилляр однодневной живой культуры с 1—2 млрд. микробных тел в 1 мл или убитых микробов с концентрацией 4 млрд. тел в 1 мл. Тщательно перемешивают и ставят в термостат при температуре 37° на 1 час (в течение этого времени термостат открывать нельзя). Затем содержимое пробирки тщательно перемешивают, делают на предметных стеклах очень тонкие мазки, высушивают их на воздухе, фиксируют и красят обычными методами.

В окрашенных мазках сосчитывают 100 нейтрофилов. Счет производят по краю мазка с иммерсионной системой (окуляр 10× или 15×).

Отмечают процент фагоцитирующих нейтрофилов — показатель фагоцитарной активности и среднее количество микробов в каждом из фагоцитировавших нейтрофилов — фагоцитарный индекс. Для более точной оценки показателей фагоцитоза определяют количество фагоцитированных микробов в 1 мм³ крови. Для этого нужно в этот же день дополнительно взять кровь для определения количества лейкоцитов в 1 мм³ и для подсчета лейкоцитарной формулы.

Пример. Процент фагоцитирующих нейтрофилов 20, среднее число микробов на фагоцитирующий нейтрофил 10, количество лейкоцитов в 1 мм³ крови 10 000, процент нейтрофилов в крови 60.

При этих условиях количество нейтрофилов в 1 мм³ крови будет:

$$\frac{10\,000 \times 60}{100} = 6000,$$

а количество фагоцитирующих нейтрофилов:

$$\frac{6000 \times 20}{100} = 1200.$$

Следовательно, в 1 мм³ крови было фагоцитировано 1200 × 10 = 12 000 микробов.

Для записи рекомендуется следующая форма карточки, которая особенно полезна при динамическом исследовании крови на фагоцитоз.

Фамилия, имя, отчество пациента	% фагоцитирующих нейтрофилов	Среднее число микробов на 1 фагоцитирующую клетку	Количество лейкоцитов в 1 мм ³ крови	% нейтрофилов в крови	Количество нейтрофилов в 1 мм ³ крови	Количество фагоцитирующих нейтрофилов в 1 мм ³ крови	Количество фагоцитированных микробов в 1 мм ³ крови	Примечание

Для оценки переваривающей активности клеток фагоцитированные микробы при подсчете общего их количества распределяют по интенсивности окрашивания на три группы: 1) интенсивно окрашенные — непереваренные; 2) слабо окрашенные, измененные микробы — частично переваренные; 3) почти полностью разрушенные — переваренные.

Источники ошибок:

1) загрязнение культуры. Перед каждым исследованием проверять культуру бактериоскопическим методом;

2) употребление нестерильных, несвежих реактивов (раствора цитрата натрия и физиологического раствора);

3) употребление кислого раствора цитрата натрия вместо нейтрального.

Интерпретация. По степени фагоцитоза можно судить о функциональном состоянии нейтрофилов, а также о реактивности организма.

КРОВЯНЫЕ ПЛАСТИНКИ (ТРОМБОЦИТЫ)

ПОДСЧЕТ КОЛИЧЕСТВА КРОВЯНЫХ ПЛАСТИНОК

Для определения количества кровяных пластинок предложены три группы методов.

Первая группа основана на определении количества кровяных пластинок на 1000 эритроцитов в мазках периферической крови. Затем, зная абсолютное число эритроцитов в 1 мм^3 крови, вычисляют количество кровяных пластинок в 1 мм^3 крови.

Метод Фонио (Fonio)

Принцип метода см. выше.

Оборудование и посуда. См. взятие крови для общего анализа.

Реактивы. 1. Раствор сульфата магнезии 14%.

2. Спирт.

3. Йод.

Ход определения. Для предупреждения агрегации кровяных пластинок на место укола пальца наносят каплю 14% раствора сульфата магнезии. Выдавливают каплю крови и смешивают с магнезией. Из смеси готовят мазки и красят по Романовскому в течение 2—3 часов. Определяют количество кровяных пластинок на 1000 эритроцитов.

Метод Альтгаузена

Принцип метода тот же, что и по Фонио.

Реактивы. 1. Раствор сульфата магнезии 14%.

2. Карболовый фуксин Циля.

3. Водный раствор азура 0,5%.

Ход определения. На высохший нефиксированный мазок крови, взятой с магнезией, кладут покровное стекло с небольшой каплей 0,5% водного раствора азура или 10% раствора карболового фуксина Циля. Кровяные пластинки резко окрашиваются уже через $\frac{1}{2}$ —1 минуту. Эритроциты при этом не лизируются и счет кровяных пластинок производится, как и в методе Фонио.

Подсчет кровяных пластинок с помощью люминесцентного микроскопа см. в разделе «Люминесцентная микроскопия».

Метод подсчета в камере без разрушения эритроцитов (ЦОЛИПК)

Принцип. Раствор трилона препятствует свертыванию крови, агрегации и адгезии (прилипанию) кровяных пластинок, блокируя кальций, необходимый для этих процессов.

Реактив. 5 % раствор трилона (натриевая соль этилендиаминтетраацетата).

Ход определения. В смеситель для эритроцитов набирают кровь до метки 0,5 и 5% раствор трилона до метки 101. После тщательного встряхивания смесителя его содержимым заполняют камеру Горяева. Через 5 минут подсчитывают количество кровяных пластинок в 25 больших квадратах.

Результаты выражаются количеством кровяных пластинок в 1 мм^3 крови путем умножения полученного числа на 2000. В этой же камере можно, если надо, подсчитать и эритроциты.

Метод Фейсли (Feissly) и Людина (Ludin)

Принцип. Использование фазово-контрастного микроскопа для отличия кровяных пластинок от распавшихся эритроцитов.

Реактивы. Основной раствор:

хлоралгидрат кокаина	3 г
хлорид натрия	0,4 г
дистиллированная вода	100 мл

Ход определения. В смеситель для эритроцитов набирают кровь до метки 0,5 и раствор до метки 101. После смешивания заполняют камеру Горяева, которую помещают во влажную камеру. Через 30 минут производят подсчет (см. предыдущий метод).

Метод с использованием автоматических счетчиков

К третьей группе методов относится подсчет количества кровяных пластинок с помощью различных автоматических счетчиков (например, целлоскопа).

Интерпретация. У взрослых лиц и у детей старшего возраста количество кровяных пластинок составляет 200 000—400 000 в 1 мм^3 . У грудных детей содержится от 200 000 до 300 000 пластинок в 1 мм^3 .

Количество кровяных пластинок подвержено значительным колебаниям в течение суток (рис. 3)¹.

В начале менструального периода количество пластинок может снижаться на 50% от исходного количества.

¹ И. Тодоров. Клинические лабораторные исследования в педиатрии. София, 1960, стр. 400.

При тромбоцитопенической пурпуре (болезнь Верльгофа, симптоматические тромбоцитопении) число пластинок может резко снижаться (менее 100 000 в 1 мм³).

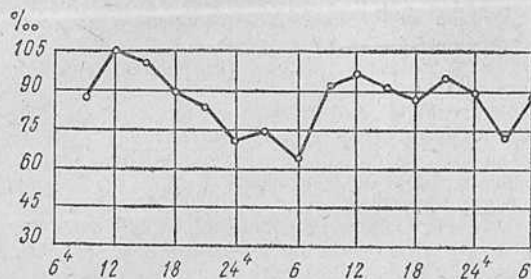


Рис. 3. Суточное колебание количества тромбоцитов (по Вейкеру).

МОРФОЛОГИЯ КРОВЯНЫХ ПЛАСТИНОК В СВЕТОВОМ МИКРОСКОПЕ

Окраска по Нохту

Принцип. Использование паноптической окраски смесью азура и эозина.

Реактивы. 1. Смесь красок (готовится перед употреблением)

азур II в разведении 1 : 1000	10 частей
эозин » » 1 : 1000	5 »
водопроводная вода	10 »

2. Абсолютный метиловый спирт.

Продажный метиловый спирт помещают в сосуд с просушенным до постоянного веса порошком химически чистого медного купороса. Если осадок вместо белого принял голубой оттенок, спирт наливает в другой сосуд с новой порцией просушенного медного купороса и герметически закупоривают.

Ход определения. Тонкие мазки крови, взятые без стабилизатора (сульфат магнесии), фиксируют 15 минут в абсолютном метаноле и красят 45 минут смесью красок.

Интерпретация. В мазке часть кровяных пластинок образует агрегаты по 5—6 пластинок, что отмечается как хорошая агглютинативность. В пластинках хорошо видна зернистая часть (грануломер) и периферическая гомогенная часть (гиаломер).

Грануломер состоит из азурофильных зерен, ясно видна линия, ограничивающая гиаломер, который имеет сиреневатый оттенок. Можно различить и более тонкие детали строения кровяных пластинок, вакуоли, псевдоподии, тонкие отростки, исходящие из грануломера — антенны.

Тромбоцитарная формула

При изучении тромбоцитарной формулы принято выделять следующие формы кровяных пластинок: нормальные зрелые, нормальные юные, старые и формы раздражения. Нормальные зрелые пластинки имеют размеры от 1 до 3 мк, четкие границы, сиреневый гиаломер и центрально расположенный грануломер, состоящий из 5—20 азурофильных зерен. Таких пластинок у здоровых лиц содержится, по Кенингсон, от 92 до 98,75%. Нормальные юные пластинки имеют несколько более мелкие размеры, голубоватый гиаломер и неопильную красноватую зернистость, они составляют 0—3,5%. Старые пластинки имеют неровные границы, темный массивный гиаломер, их содержание составляет 0,3%. Формы раздражения, удлиненные, колбасовидные и хвостатые пластинки, а также цепочки из нормальных пластинок в виде жемчужных цепей; их содержится от 0 до 4,5%.

Интерпретация. При различных хронических заболеваниях увеличивается содержание старых кровяных пластинок, появляются дегенеративные пластинки разной величины и формы с серым гиаломером, грануломер занимает всю пластинку или отсутствует, очень пикнотичен. Имеется много крупных вакуолей. Такие изменения отмечались при бензольном циррозе печени, хроническом воздействии малых доз ионизирующей радиации. Число юных кровяных пластинок возрастает вместе с увеличением количества кровяных пластинок после кровопотери, когда появляются и формы раздражения.

Заболевания кровяного аппарата сопровождаются значительными изменениями тромбоцитарной формулы. Jürgens и Graupner относили к патологическим кровяным пластинкам незрелые юные (голубые), патологические формы раздражения и фрагменты ядер мегакариоцитов. Незрелые юные (голубые) пластинки имеют голубой гиаломер, часто с крупными вакуолями, не содержат зернистости, их величина может превышать диаметр эритроцита. В периферической крови они появляются в небольшом количестве после кровотечений наряду с нормальными юными. Очень много незрелых пластинок находят при гемолитическом кризе, после переливаний крови с осложнением в виде внутритканевого гемолиза, а также при лейкозе. Патологические формы раздражения в виде обрывков цитоплазмы мегакариоцитов, иногда гигантской величины — до 100 мк длины появляются после кровотечений (после сдачи крови донором, при обострении геморрагического синдрома, осложняющего болезнь Верльгофа, язвенных кровотечениях, у больных со злокачественным новообразованием желудка и т. д.). При этом цвет гиаломера таких гигантских форм сиреневый, зернистость равномерно распределена, вакуоли отсутствуют. По-видимому, они происходят от нормальных мегакариоцитов. Фрагменты ядер мегакариоцитов в виде округлых образований величиной с лимфоцит или больше, содержащие типичные пикнотические, с большой концентрацией базихроматина дольки ядер гиперсегментированных мегакариоцитов, с узким ободком голубоватой цитоплазмы, можно встретить чаще всего при хроническом миелолейкозе, лечении цитостатическими препаратами. Их обнаруживают также при пернициозной анемии.

Е. А. Соловьева предлагает следующую тромбоцитарную формулу (в процентах): юных 0—0,65, зрелых 91,46—95,7, старых 3,41—

Таблица 9
ВОЗРАСТНАЯ ТРОМБОЦИТОГРАММА (ОТ 1 ГОДА ДО 108 ЛЕТ) (ПО В. А. ГЕРМАНОВУ, О. Н. ПИКСАНОВУ
И Л. А. ЧАКИНОЙ)

	Первый год жизни	От 1 года до 3 лет	От 3 до 7 лет	От 7 до 15 лет	От 22 до 40 лет	От 41 года до 70 лет	От 72 до 108 лет
Число обследованных	182	168	272	324	100	144	32
Общий показатель пластинок в мм ³ крови в тысячах	80—420 (252)	100—470 (286,8)	130—440 (285,6)	130—460 (297,2)	150—470 (311,2)	114—335 (224)	120—296 (208)
Юные в %	18—27 (22)	11—23 (17,5)	8—19 (13,2)	2—14 (8,2)	1—8 (4,6)	0—4,5 (2,4)	1—5 (3,0)
Зрелые в %	55—77 (65,7)	56—82 (68,7)	67—78 (72,2)	66—87 (76,5)	69—89 (79,2)	65—91 (78,3)	63—86 (74,2)
Старые в %	3—14 (8,7)	2—12 (7,3)	3—13 (8,0)	1—13 (7,4)	5—11 (8,0)	3—21 (12,4)	8—28 (18,4)
Атипичные инволюционные формы	3—14 (8,4)	6—16 (11,1)	5—17 (10,8)	9—13 (10,8)	8—21 (14,4)	2—14 (7,8)	8—35 (21,6)

6,57, форм раздражения 0,35—1,95. О. Н. Пиксанов считает в норме от 2 до 5% юных, от 70 до 86% зрелых, от 7 до 10% старых и от 5 до 15% дегенерированных. Возрастная тромбоцитограмма представлена в табл. 9.

Количество овальных кровяных пластинок (при разнице в диаметрах не менее 0,2 мк) составляет в норме 5%, вакуолизованных 4—6%. При измерении с помощью окулярмикрометра число кровяных пластинок с диаметром до 1,9 мк составляет 44,67%, от 2 до 3,9 мк — 53,44%, от 4 до 5,9 мк — 1,76% и от 5 мк — 0,13%. Средний диаметр одного тромбоцита равен $2,16 \pm 0,467$ мк, средняя площадь — $4,39 \pm 0,363$ мк².

МОРФОЛОГИЯ КРОВЯНЫХ ПЛАСТИНОК В ЭЛЕКТРОННОМ МИКРОСКОПЕ

Существуют два метода изучения ультратонкой структуры кровяных пластинок: изучение кровяных пластинок в целом (*in toto*) методом реплик и изучение ультратонкой структуры срезов кровяных пластинок.

Метод реплик

Принцип. Кровяные пластинки легко распластаются на поверхности пленки.

Реактивы и оборудование. Сведения о реактивах и оборудовании, необходимых для электронномикроскопического изучения биологических объектов, можно найти в руководствах по электронной микроскопии^{1,2}.

Ход определения. На металлическую поддерживающую сетку наносят коллоидную или форвартовую пленку. Этой пленкой касаются капли крови, выступившей из пальца. Кровяные пластинки распластаются на пленке. Плазму и эритроциты удаляют осторожным промыванием физиологическим раствором. Препарат подсушивают на воздухе, фиксируют в парах 2% раствора четырехокси осмия в течение 15 минут, промывают дистиллированной водой, подсушивают и просматривают в электронном микроскопе. В одной сетке можно увидеть до 50 и более кровяных пластинок.

Интерпретация. Метод реплик не позволяет дифференцировать тонкие структуры цитоплазмы, однако дает полное представление о размерах кровяных пластинок и их отдельных частей, о наличии вакуолей, антенн, псевдоподий. Метод дает возможность судить о способности пластинок к агрегации и дезинтеграции в процессе свертывания крови, о связях их с нитями фибрина и позволяет уточнить диагностику некоторых состояний (тромбоцитопатии).

На рис. 4 изображены две кровяные пластинки с распластанным гиаломером и слившимися зернами грануломера, видны псевдоподии и антенны. Препарат приготовлен методом напыления, увеличение в 12 500 раз. На рис. 5 можно проследить дальнейшую дезин-

¹ Д. Пиз. Гистологическая техника в электронной микроскопии. М., 1963;
² В. И. Бирюкова, В. Л. Бородагин, В. П. Гилев, Н. А. Киселев, А. С. Тихоженко, Л. С. Ченцов. Электронномикроскопические методы исследования биологических объектов. Изд. АН СССР, М., 1963.

теграцию кровяных пластинок в процессе гемостаза. Грануломер служит центром для многочисленных нитей фибрина, гиаломер почти расплавлен, видны только его остатки (рис. 4 и 5 см. на вклейке между стр. 96 и 97).

Б. О. Безносиковым была предложена электронномикроскопическая тромбоцитарная формула: зрелые 85,8% (из них 13,4% формы покоя и 72,4% активные формы, имеющие отростки), старые 4,48%, дегенеративные 8,12% (из них 3,76% пикнотические и 4,36% тени), вакуолизованные 2,07%.

С фибрином связано 25% пластинок, 60% связаны между собой отростками. По размерам делятся на три группы: средние (1,5 мк) 88,8%, микроформы (<1,5 мк) 7,25%, макроформы (4 мк) 4,39%.

Метод срезов

Принцип. Быстрая фиксация тромбоцитарной взвеси, обезвоживание, заливка в метакрилаты, полимеризация и приготовление ультратонких срезов на микротоме. Все манипуляции проводят в силиконированной посуде на льду.

Реактивы и оборудование. Обычные для электронной микроскопии биологических объектов.

Ход определения. В пробирку, содержащую 2—3 капли неразведенного рихтеровского гепарина, берут 10 мл крови и ставят в стакан со льдом. Центрифугируют 5 минут при 2000 об/мин. Плазму, содержащую кровяные пластинки, отсасывают. Центрифугируют повторно. Если на дне образуется осадок из эритроцитов, плазму переливают в другую пробирку. Центрифугируют 15 минут при 7000 об/мин. На дне пробирки образуется осадок из кровяных пластинок. Осадок промывают небольшим количеством фиксатора Палладе, заливают 5 мл фиксатора при температуре 0—5° в склянке темного стекла на 2 часа, фиксатор сливают и центрифугируют один раз, добавив физиологический раствор, приготовленный на дважды дистиллированной воде. Затем следуют обезвоживание в спиртах повышающейся концентрации, заливка в метакрилаты, полимеризация и приготовление срезов на ультрамикротоме.

Интерпретация. На ультратонких срезах кровяных пластинок видно сравнительно мало митохондрий. Наружная мембрана толщиной около 50—80 Å (рис. 6 см. на вклейке между стр. 96 и 97).

Грануломер состоит из плотных осmieфильных гранул диаметром от 1500 до 2500 Å. От гиалоплазмы их ограничивает мембрана толщиной 50—60 Å.

Некоторые авторы называют эти гранулы микротельцами, или предстациями митохондрий, другие — плотными гранулами, третьи считают их подобными специфической грануляции нейтрофилов. Позднейшими работами доказано наличие лизосомной активности этих элементов. Это так называемые α-гранулы. Кроме них, имеется небольшое количество маленьких округлых или овальных митохондрий более мелких, чем у других клеток. Митохондрии снабжены двойной наружной мембраной, состоящей из двух наружных слоев толщиной от 40 до 70 Å и светлого промежутка между ними в 50 Å. Митохондрии имеют одну или несколько внутренних перегородок (крист). В митохондриях содержатся дыхательные ферменты. Митохондрии кровяных пластинок называют β-гранулами. Бледные пузырьки или каналцы диаметром 240—444 Å, или γ-гранулы, возмож-

но, являются элементами аппарата Гольджи. Наконец, обнаруживают тельца диаметром около 55 Å или δ-гранулы. Полагают, что это ферритин.

При тромбопатиях наблюдаются большие изменения в α-гранулах, в то время как β-, γ- и δ- гранулы относительно нормальны. Овальнные гранулы мельче, принимают вид барабанных палочек. В результате этих изменений грануломер неспособен к агрегации при свертывании, и ретракция сгустка нарушается.

Диагностика тромбопатии невозможна без электронномикроскопического исследования кровяных пластинок. В последнее время в нормальных кровяных пластинках описаны также крупные вакуоли и лизосомы.

Определение адгезивности (Moolten и Vroman)

Принцип. Подсчет количества кровяных пластинок до и после фильтрации через стеклянную вату.

Реактивы. 1. Стабилизатор:

глюкоза	3 г
цитрат натрия	3 г
дистиллированная вода	100 мл

2. Раствор цитрата натрия 3,8%.

3. Физиологический раствор.

Оборудование. 1. Силиконированная посуда (пробирки и воронки, колбочки, пипетки).

2. Стеклянная вата.

Ход определения. Предварительно заготавливают фильтры из прокипяченной несколько раз стеклянной ваты в виде косичек 1×5 см. Каждую косичку помещают в силиконированную воронку, вставленную в силиконированную же колбочку. Фильтр смачивают 1,5 мл физиологического раствора и помещают в термостат при 37°. Кровь набирают в смесители для эритроцитов и считают эритроциты и тромбоциты. Силиконированной пипеткой берут точно 1 мл крови и пропускают по каплям через нагретый до 37° фильтр, сделанный из пучка стеклянной ваты. Через 30 секунд фильтр промывают 8 мл жидкости (1 мл 3,8% цитрата натрия и 9 мл физиологического раствора). Воронку снимают, фильтрат перемешивают, набирают его в смесители для лейкоцитов до метки 0,5 и затем набирают 3,8% раствора цитрата натрия до метки 11. Подсчитывают эритроциты и тромбоциты. Эритроциты считают в пяти больших разграфленных квадратах в камере Горяева, тромбоциты — в 25 разграфленных квадратах и умножают на два. Расчет производят следующим образом (пример подсчета адгезивности у здорового) (табл. 10).

Для подсчета количества адгезивных тромбоцитов Moolten и Vroman предложили следующую формулу: общее количество тромбоцитов умножают на $(1 - \frac{1}{\text{индекс адгезивности}} + 0,3)$.

В приведенном примере количество адгезивных тромбоцитов

$$177\,780 \left(1 - \frac{1}{1,004} + 0,3 \right) = 58\,453.$$

Интерпретация. Снижение адгезивности кровяных пластинок наблюдается при некоторых геморрагических синдромах. Наиболь-

Таблица 10

Показатели	До фильтра	После фильтра
Сумма эритроцитов в 5 квадратах	372	356
Число тромбоцитов в 25 квадратах × 2	160	148
Общее количество эритроцитов с пересчетом на разведение	$\frac{372 \cdot 10 \cdot 10\,000}{9} = 4\,133\,330$	$\frac{356 \cdot 10 \cdot 10\,000}{9} = 3\,955\,550$
Общее количество тромбоцитов с пересчетом на разведение	$\frac{160 \cdot 10 \cdot 1000}{9} = 177\,780$	$\frac{148 \cdot 10 \cdot 1000}{9} = 164\,440$
Количество эритроцитов, отнесенное к общему количеству тромбоцитов	$\frac{4\,133\,330}{177\,780} = 23,2$	$\frac{3\,955\,550}{164\,440} = 23,4$
Индекс адгезивности		$\frac{23,4}{23,2} = 1,004$

ший индекс адгезивности кровяных пластинок наблюдался у больных с тромбозами. В табл. 11 приведены данные изучения адгезивности у больных и здоровых лиц по Е. Ф. Измайловой и М. А. Котовщиковой¹.

Таблица 11

Группа обследованных	Индекс адгезивности	Число адгезивных пластинок	Процент адгезивных пластинок
Здоровые	1,02—1,5	41 026—112 548	23—44
Больные с тромбозами	1,5—1,9	69 394—155 560	44,4—54,5
Больные с гемофилией А	0,8—1,6	49 220—132 346	8,8—44

¹ Е. Ф. Измайлова и М. А. Котовщикова. Лабораторное дело, 1962, № 4, стр. 13—17.

Следовательно, у здоровых лиц индекс адгезивности дает колебания от 1,02 до 1,5, число адгезивных пластинок составляет 41 026—112 548 в 1 мм³ или 23—44%.

На том же принципе прилипания (адгезии) кровяных пластинок к стеклянной вате основано определение адгезивности кровяных пластинок по Бобеку и Чепелаку (Bobek и Cerpelak)¹.

Исследование функционального состояния тромбоцитов методом фазово-контрастной микроскопии см. в разделе «Фазово-контрастная микроскопия».

КАРТИНА ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПРИ НЕКОТОРЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

ЗАБОЛЕВАНИЯ КРОВЕТВОРНОГО АППАРАТА

ОСТРЫЙ ЛЕЙКОЗ. В начальных стадиях заболевания анемии может не быть, позднее же она достигает высоких степеней и носит нормохромный или гиперхромный характер. Это зависит от нарушения дифференциации гемоцитобластов в направлении эритропоэза. Количество тромбоцитов постепенно снижается и тромбоцитопения достигает резкой степени.

Количество лейкоцитов может быть увеличенным (лейкемическая форма), нерезко увеличенным (сублейкемическая) и уменьшенным (лейкопеническая форма). Среди острых лейкозов видное место занимают лейкопенические формы. Вообще количество лейкоцитов даже при лейкемических формах обычно ниже при остром лейкозе, чем при хроническом. Наиболее характерная особенность острого лейкоза — появление в крови родоначальных клеток: гемогистобластов, гемоцитобластов, миелобластов, лимфобластов и ретикулярных клеток. Могут быть макро- и микрогенерации этих клеток (см. раздел «Морфология крови»).

Процент родоначальных клеток в лейкоцитарной формуле колеблется, по мере прогрессирования заболевания резко увеличивается, достигая 70—90%. При этом остальные элементы представлены единичными сегментоядерными и палочкоядерными нейтрофилами и лимфоцитами. Характерной особенностью картины крови при остром лейкозе является отсутствие переходных форм миелоидного ряда.

При активной комплексной терапии кортикостероидами и цитостатическими препаратами количество недифференцированных клеток уменьшается, увеличивается процент зрелых нейтрофилов и картина крови может полностью нормализоваться (гематологическая ремиссия).

ЛЕЙКОЗЫ — РЕТИКУЛОЗЫ чаще имеют лейкопеническую форму. В периферической крови обнаруживают большой процент лимфоидных клеток или же кровь может быть нормальной. Эти формы очень похожи на апластические анемии. Большую диагностическую

¹ К. Бобек, В. Чепелак. Клиническая медицина, 1959, т. 37, № 6, стр. 93—103.

помощь оказывает исследование костного мозга, в пунктате которого при лейкозе находят гемоцитобласты и гемогистобласты, а при апластической анемии только ретикулярные клетки и изредка единичные гемоцитобласты. Очень тяжело протекают формы с малым количеством кровяных пластинок и сосудистыми изменениями. Они часто дают кровоизлияния в жизненно важные органы, например головной мозг.

ЭРИТРОМИЕЛОЗ ОСТРЫЙ (синдром Ди Гульельмо). Особенностью картины крови при этом варианте острого лейкоза является появление в крови наряду с гемоцитобластами ядерных форм эритроцитов.

Различают: 1) типичную, 2) смешанную, 3) пернициозноанемическую картину крови без лейкоэмических сдвигов (схожа с картиной крови при пернициозной анемии).

Типичная эритробластемия с нормобластическими и мегалобластическими элементами протекает с гиперлейкоцитозом, но чаще с лейкопенией. Смешанная картина периферической крови — эритробластемия — характеризуется увеличением гемоцитобластов. Эта форма чаще сопровождается лейкопенией.

ХРОНИЧЕСКИЙ МИЕЛОЗ. В начальной стадии болезни и при легком течении ее содержание гемоглобина и количество эритроцитов мало снижены, однако иногда хронический миелолейкоз начинается анемией. Количество лейкоцитов в этот период может быть увеличено нерезко (15 000—25 000). Лейкограмма большей частью с нейтрофилезом и со сдвигом до метамиелоцитов и промиелоцитов. Иногда на ранних стадиях отмечается увеличение базофилов и эозинофилов (базофильно-эозинофильная ассоциация). Количество тромбоцитов нередко очень велико (500 000—1 500 000). Встречаются алейкемические формы миелолейкоза. Они протекают с небольшим лейкоцитозом и немотивированным (необъяснимым) сдвигом ядер нейтрофилов влево.

В периоде выраженных явлений и в терминальной стадии при миелолейкозе отмечаются анемия, тромбоцитопения и высокий лейкоцитоз (200 000—400 000, но бывают подъемы до 800 000 и 1 500 000).

В лейкоцитарной формуле наличие всех переходных форм миелондного ряда, увеличение базофилов, эозинофилов, метамиелоцитов, миелоцитов и промиелоцитов. Встречается увеличение гемоцитобластов и миелобластов до 2—6%. При резком обострении процесса развивается картина острого лейкоза.

ЛИМФОЛЕЙКОЗ ХРОНИЧЕСКИЙ. Картина крови при лимфолейкозе характеризуется большим содержанием лейкоцитов (50 000—200 000). При лейкоэмической и сублейкемической форме количество лимфоцитов доходит до 85—90%. В мазках крови много разрушенных лимфоцитов (тени Боткина—Гумпрехта). При тяжелом течении и длительном обострении в лейкограмме встречаются пролимфоциты и лимфобласты. Постепенно снижаются показатели красной крови и падает количество тромбоцитов. Реже наблюдаются алейкемические формы, при которых не бывает резко увеличено количество лейкоцитов, а повышен лишь процент лимфоцитов.

ЭРИТРЕМИЯ. В основе эритремии лежит увеличение числа эритроцитов, приводящее к повышению массы крови, что происходит за счет общего увеличения объема эритроцитов. Количество эри-

троцитов доходит иногда до 12 000 000. Количество гемоглобина колеблется от 16 до 25 г%. Количество лейкоцитов часто увеличивается. В лейкоцитарной формуле отмечается нейтрофилез с палочкоядерным сдвигом. Количество тромбоцитов увеличено до 600 000, иногда до 1 000 000. Вязкость крови повышается до 7,5—8,5 по Гессу. Нередко наблюдается переход эритремии в миелолейкоз. В этих случаях отмечается картина лейкемии.

БОЛЕЗНЬ ВЕРЛЬГОФА. Заболевание характеризуется резким падением количества тромбоцитов в крови до 40 000—20 000 и ниже. Кроме того, отмечается уменьшение ретрактильности сгустка, удлинение времени кровотечения. В настоящее время различают иммунные варианты заболевания, при которых находят специфические антитромбоцитарные антитела. В зависимости от находки последних применяется то или другое лечение.

ЛИМФОГРАНУЛЕМАТОЗ. При этом заболевании обычно больших изменений крови не отмечается. Наблюдаются лишь нейтрофильный лейкоцитоз со сдвигом ядер влево, лимфоцитопения и та или другая степень эозинофилии, в далеко зашедших случаях анемия и тромбоцитопения.

РЕТИКУЛОСАРКОМА. Изменения крови приблизительно те же, что и при лимфогранулематозе. Анемия и тромбоцитопения выражены резко.

МИЕЛОМНАЯ БОЛЕЗНЬ. В крови часто наблюдается анемия гипохромного, иногда гиперхромного типа. Количество лейкоцитов несколько увеличено (10 000—11 000) с преобладанием нейтрофилов. Иногда появляются плазматические клетки, количество которых в терминальных стадиях может быть очень большим. Тромбоцитопения развивается обычно при прогрессировании болезни. Ранним и постоянным симптомом заболевания (иногда единственным изменением крови) является ускоренная РОЭ.

АНЕМИЯ ПОСТГЕМОМОРРАГИЧЕСКАЯ. При острой кровопотере в первые дни может наблюдаться анемия нормохромного или гипохромного типа различной степени в зависимости от величины кровопотери. На следующие сутки после кровотечения развивается отчетливый ретикулоцитоз, достигающий максимума на 4—7-й день.

Со стороны лейкоцитов отмечается умеренный лейкоцитоз (10 000—12 000), к 5-му дню после кровотечения нейтрофилез со сдвигом влево до метамиелоцитов и миелоцитов. Характерен тромбоцитоз.

При повторных (хронических) кровопотерях развивается гипохромная анемия, цветной показатель ниже 0,7. Наблюдается значительный анизоцитоз с микроцитозом. Количество ретикулоцитов умеренно увеличено (12—20%).

Изменения со стороны лейкоцитов выражены нерезко. Иногда наблюдается небольшой палочкоядерный сдвиг нейтрофилов влево. При гипорегенераторных состояниях отмечается лейкопения с относительным лимфоцитозом, эозинопенией и умеренной тромбоцитопенией.

АНЕМИЯ ЖЕЛЕЗОДЕФИЦИТНАЯ развивается в связи с недостатком железа в организме при ахилии (гастрогенная ахлогидридная анемия), при раннем и позднем хлорозе. Анемия при этих формах носит резко гипохромный характер, цветной показатель падает до 0,5. Отмечается резкий анизоцитоз эритроцитов с

преобладанием микроцитов. Средний диаметр эритроцитов снижается до 6,6—6,8 мк. Количество ретикулоцитов невелико (10—20 ‰). Чаще наблюдается лейкопения с относительным лимфоцитозом, моноцитозом и эозинопенией. Нередко в нейтрофилах может быть полисегментация ядра; этот признак непостоянный и наблюдается в период обострения.

Число тромбоцитов нормально или нерезко снижено (до 150 000).

АНЕМИЯ У БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН начинается уже на 8-й неделе беременности, постепенно нарастает, не достигая, однако, значительных размеров. По типу это гипохромная, иногда гиперхромная анемия. После 33—35 недель может наступить дальнейшее ухудшение вследствие роста плода, расстройства желудочной секреции и др. Гипохромный тип сохраняется и в этот период. Послеродовой период даже после совершенно нормальной беременности и родов обычно сопровождается некоторой степенью малокровия гипохромного типа, причем улучшение происходит постепенно. Факторы, усиливающие степень малокровия при беременности,— сифилис, геморрагии, различные инфекции.

АНЕМИЯ ПЕРНИЦИОЗНАЯ (анемия Аддисона—Бирмера). Для этого заболевания характерны высокий цветной показатель (выше 1,3), мегалоцитоз, резко выраженный анизоцитоз и пойкилоцитоз, ядерные формы эритроцитов (нормо-, макро- и мегалобласты), тельца Жолли, кольца Кебота. Число молодых полихроматофильных эритроцитов, наоборот, уменьшено. При большом количестве ядерных клеток, полихроматофилов и ретикулоцитов до начала лечения диагноз злокачественного малокровия следует ставить под сомнение. Обычно число нейтрофильных лейкоцитов уменьшено, молодых форм мало, зрелые лейкоциты отличаются гиперсегментацией ядра. Количество тромбоцитов часто понижено. Оценка (лабораторная) тяжести случая делается по перечисленным признакам, а также в значительной мере по количеству ретикулоцитов. Ремиссии самопроизвольные или вызванные лечением в большинстве случаев (но не всегда) характеризуются резким увеличением количества ретикулоцитов, а также эозинофилов и увеличением до нормы общего количества лейкоцитов и тромбоцитов. Гемоглобин и эритроциты также доходят до нормальных цифр, причем цветной показатель снижается и становится меньше единицы.

АНЕМИЯ ГЕМОЛИТИЧЕСКАЯ. При семейной гемолитической желтухе анемия бывает с цветным показателем ниже единицы и близким к единице. Эритроциты кажутся мелкими (микроцитоз) вследствие изменения формы из двояковогнутой в шаровидную. В крови сохраняется также нормальное соотношение между количеством гемоглобина и числом эритроцитов. Обычно отмечаются резкий ретикулоцитоз и пониженная осмотическая резистентность эритроцитов. В период обострения наблюдается лейкоцитоз с нейтрофилезом. Реакция на билирубин в крови, как и при острой гемолитической анемии, непрямая. Реакция на уробилин в моче положительная, а на желчные пигменты отрицательная.

АНЕМИЯ ОСТРАЯ ГЕМОЛИТИЧЕСКАЯ. Заболевание характеризуется острым или подострым началом. Анемия быстро развивается, характер ее гиперхромный. Количество ретикулоцитов и нормобластов увеличено. Со стороны клиники отмечаются желтуха, высокая температура.

АНЕМИЯ АПЛАСТИЧЕСКАЯ. Заболевание характеризуется резким угнетением кроветворения, особенно в костном мозгу. При исследовании периферической крови отмечается эритро- и тромбоцитопения и в меньшей степени лейкопения с относительным лимфоцитозом. Клинические проявления идут параллельно изменениям крови, т. е. при эритропении с уменьшенным количеством ретикулоцитов и полихроматофилов все время неудержимо нарастает анемия, при тромбоцитопении отмечаются резкие кровотечения и кровоизлияния, при нарастающей лейкопении, доходящей иногда до нескольких сотен, появляются некрозы в зеве, во рту и других частях тела.

АНЕМИЯ ПРИ РАКЕ в большинстве случаев относится к типу гипохромной. В мазках крови обнаруживают мелкие бледные эритроциты разнообразной величины (анизоцитоз). Цветной показатель понижен. Эритроцитов обычно не менее 2 000 000, но больной ощущает резкую слабость. Небольшой нейтрофильный лейкоцитоз со сдвигом влево до миелоцитов и относительная лимфоцитопения; число бляшек увеличено. Реже при раке встречаются анемии с повышенным цветным показателем (рак желудка). В случае метастазов в костный мозг нередко наблюдается лейкомоидная реакция. Иногда это сочетается с резкой тромбоцитопенией и явлениями геморрагического диатеза. Характерно также большое количество нормобластов в крови.

ИНФЕКЦИИ

ЗАБОЛЕВАНИЕ ТИФО-ПАРАТИФОЗНОЙ ГРУППЫ: брюшной тиф, паратиф А, паратиф В и сальмонеллезы.

Для брюшного тифа характерна значительная лейкопения после умеренного лейкоцитоза, тромбоцитопения и иногда анемия. При этом в формуле крови отмечаются выраженный палочкоядерный сдвиг, анэозинофилия и относительный лимфоцитоз. Рецидив заболевания всегда сопровождается новой волной указанных изменений морфологии крови. Различным осложнениям (кишечные кровотечения, перфорация брюшнотифозной язвы, пневмонии) сопутствует нейтрофильный лейкоцитоз.

ПРИ ПИЩЕВЫХ ТОКСИКОИНФЕКЦИЯХ (сальмонеллезы) появляется склонность к более или менее выраженному нейтрофильному лейкоцитозу. Иногда отмечается сдвиг до миелоцитов. Токсическая зернистость нейтрофилов встречается редко, что является отличием от воспалительных процессов в брюшной полости.

При **БОТУЛИЗМЕ** наблюдается умеренный лейкоцитоз. Легкие случаи протекают с лимфоцитозом.

ДИЗЕНТЕРИЯ. Изменения в крови при дизентерии весьма неоднородны, особенно в последнее время. При более тяжелом течении заболевания встречается нейтрофильный лейкоцитоз, в отдельных случаях доходящий иногда до 20 000 с увеличением палочкоядерных нейтрофилов и даже миелоцитов. Число эозинофилов обычно снижается. Содержание моноцитов увеличивается. Появляется токсигенная зернистость нейтрофилов.

Аналогичные изменения наблюдаются при протозойных колитах.

ЭПИДЕМИЧЕСКИЙ ГЕПАТИТ (БОЛЕЗНЬ БОТКИНА). При остром эпидемическом гепатите имеется тенденция к увеличению количества гемоглобина и эритроцитов. Отмечается некоторая наклонность к макроцитозу.

Лейкоцитарный состав крови изменяется с течением заболевания. Первый преджелтушный период характеризуется умеренным увеличением лейкоцитов до 12000. По мере развития желтухи число лейкоцитов снижается и даже наблюдается умеренная лейкопения при тяжелом или затяжном течении болезни. В лейкограмме отмечаются увеличение числа моноцитов и эозинофилов, относительный лимфоцитоз.

Реакция оседания эритроцитов замедляется. При острой токсической дистрофии развивается лейкоцитоз с токсигенной зернистостью нейтрофилов со сдвигом ядер влево.

ПРИ ЖЕЛТУШНОМ ЛЕПТОСПИРОЗЕ заметны анемизация, лейкоцитоз до 25000 с нейтрофилезом. В тяжелых случаях имеют место токсигенная зернистость нейтрофилов, эозинопения и появление плазматических клеток. При выздоровлении наблюдаются относительный лимфоцитоз, моноцитоз, эозинофилия.

ПРИ БЕЗЖЕЛТУШНОМ ЛЕПТОСПИРОЗЕ число лейкоцитов в начале болезни несколько уменьшено или нормально. Отмечаются относительный нейтрофилез с небольшим сдвигом влево, токсические изменения в нейтрофилах, моноцитоз, плазматический и эозинопения.

БРУЦЕЛЛЕЗ. Изредка приходится наблюдать гипохромную анемию. Острый септической форме бруцеллеза свойственны лейкопения, нейтропения с палочкоядерным дегенеративным сдвигом, относительный лимфоцитоз, моноцитопения и эозинопения. Число тромбоцитов уменьшается, что может вызвать кровоточивость. РОЭ ускоряется.

ГРИПП. В начале болезни бывает нормальное число лейкоцитов. Впоследствии развиваются лейкопения за счет нейтропении, умеренный относительный лимфоцитоз. Обнаруживаются небольшое количество плазматических клеток, гипозоинофилия. При осложнениях гриппа наблюдается нейтрофильный лейкоцитоз с появлением метамелоцитов и даже миелоцитов, увеличивается число плазматических клеток, отмечается ускорение РОЭ.

НАТУРАЛЬНАЯ ОСПА. Изменения со стороны эритроцитов не характерны. В тяжелых случаях может наблюдаться нормобластоз. В белой крови лейкоцитоз со сдвигом до миелоцитов. Эозинофилия, моноцитоз, повышенное содержание плазматических клеток.

ВЕТРЯНАЯ ОСПА. Заболевание протекает без выраженных изменений крови. Может быть лейкопения, но бывают случаи с умеренным лейкоцитозом, с небольшим сдвигом ядер нейтрофилов влево. Умеренный лимфоцитоз.

КОРЬ. В инкубационном периоде заболевание часто протекает с лейкоцитозом, эозинофилией. В первый период продромы лейкоцитоз сменяется лейкопенией, нейтропенией и анэозинофилией, моноцитозом. При осложнениях кори появляется лейкоцитоз с токсигенной зернистостью нейтрофилов.

ЭПИДЕМИЧЕСКИЙ ПАРОТИТ. Неосложненные случаи протекают чаще с лейкопенией, нейтропенией, лимфоцитозом и моноцитозом. При нагноении железы и осложнении орхитом развивается нейтрофильный лейкоцитоз.

ЭПИДЕМИЧЕСКИЙ ПОЛИОМИЕЛИТ (болезнь Гейне—Медина). Динамика картины крови характеризуется тем, что возникающий в первые дни с началом лихорадки лейкоцитоз сменяется лейкопенией с нейтропенией и относительным лимфоцитозом, т. е. картиной крови, свойственной большинству вирусных инфекций.

СКАРЛАТИНА. Отмечаются нарастающий нейтрофильный лейкоцитоз (до 20 000 и больше) с ядерным сдвигом влево, токсигенной зернистостью в нейтрофилах и появлением включений Дёле, лимфопения, моноцитоз.

При легкой и средней тяжести заболеваний нарастает эозинофилия, доходящая до 25%. Гипертоксические формы скарлатины могут протекать с лейкопенией и без эозинофилии. При осложнениях скарлатины (отит, артрит, гнойный лимфаденит) нарастает нейтрофильный лейкоцитоз с токсигенной зернистостью нейтрофилов.

ДИФТЕРИЯ. В начале болезни развивается резкий нейтрофильный лейкоцитоз со сдвигом влево, эозинопенией или анэозинофилией, моноцитопенией и появлением плазматических клеток. Затем количество нейтрофилов падает и нарастает число лимфоцитов и моноцитов.

КОКЛЮШ. В катаральном периоде лейкоцитоз с лимфоцитозом и моноцитозом. У детей изменения крови могут достигать степени лейкемоидной реакции, напоминающей картину крови при лимфолейкозе. В стадии выздоровления лимфоцитоз постепенно понижается.

ЭПИДЕМИЧЕСКИЙ ЦЕРЕБРОСПИНАЛЬНЫЙ МЕНИНГОКОККОВЫЙ МЕНИНГИТ. Заболевание сопровождается высоким нейтрофильным лейкоцитозом со сдвигом ядер нейтрофилов влево и наличием токсигенной зернистости нейтрофилов.

ИНФЕКЦИОННЫЙ МОНОНУКЛЕОЗ. Анемия не характерна для этой болезни. Тромбоциты в отдельных случаях снижаются до 100 000—80 000, но не достигают критических цифр. Лейкоцитоз поднимается в начале болезни до 10 000, а в разгар ее до 20 000—25 000. Картина белой крови характеризуется обилием лимфоидных, моноцитарных и ретикулярных элементов и широкоплазменных лимфоцитов. Количество этих клеток доходит до 50—70% и более. Наблюдаются высокий процент моноцитов (10—12), иногда высокий процент плазматических клеток, относительная нейтропения.

ОРНИТОЗ. Заболевание, передающееся от птиц, протекает с явлениями лейкопении и относительным лимфоцитозом и анэозинофилией при ускоренной РОЭ. При выраженной пневмонии имеет место нейтрофилез.

СЫПНОЙ ТИФ. В начале болезни наблюдается нормальный состав крови или лейкопения. Характерным для сыпного тифа является моноцитоз. Моноциты, как и нейтрофилы, отличаются большими размерами. Затем могут быть небольшой лейкоцитоз, эозинопения и анэозинофилия. Если выявляются осложнения, то лейкоцитоз достигает больших цифр. Количество тромбоцитов резко уменьшается и уменьшение продолжается до кризиса. Очень часто наблюдаются плазматические клетки.

ВОЗВРАТНЫЙ ТИФ. Заболевание протекает с большой анемией. Со стороны белой крови может быть умеренный нейтрофильный лейкоцитоз, но чаще лейкопения с моноцитозом. Тромбопения вы-

ражена значительно. По окончании болезни наблюдается эозинофилия.

МАЛЯРИЯ. Отмечаются различной степени анемия и тромбоцитопения. В начале приступов умеренный лейкоцитоз, в межприступном периоде постоянная лейкопения. При остро протекающей малярии бывает нейтрофильный лейкоцитоз.

ЛИХОРАДКА ПАППАТАЧИ. Почти всегда отмечается резкая лейкопения, но иногда может быть и лейкоцитоз. Относительный лимфо-моноцитоз. Анэозинофилия.

ЛЕЙШМАНИОЗ. При кожном лейшманиозе изменения крови несущественны и малохарактерны, при висцеральном — значительны. Быстро развивается прогрессирующая анемия, обнаруживается выраженная лейкопения с относительным лимфоцитозом и моноцитозом, нейтропения, эозинопения. Количество кровяных пластинок падает.

ЧУМА. При бубонной форме число лейкоцитов колеблется от лейкопении до незначительного лейкоцитоза. При легочной форме чумы наблюдается высокий лейкоцитоз. Лейкоцитоз имеет место и при септической форме. При лейкоцитозе и лейкопении нейтрофилез со сдвигом до палочкоядерных. При легочной и септической форме сдвиг до метамиелоцитов и миелоцитов. Отмечаются наличие плазматических клеток, моноцитоз, а при выздоровлении лимфоцитоз.

ТУЛЯРЕМИЯ. В первые дни заболевания количество лейкоцитов уменьшено или нормально. Как исключение наблюдается небольшой лейкоцитоз. В дальнейшем количество лейкоцитов увеличивается и достигает больших цифр. В случаях тяжелой токсемии в начальном периоде заболевания наблюдается лейкопения. Независимо от количества лейкоцитов характерен лимфоцитоз. Обнаруживаются также моноцитоз, плазматические клетки, палочкоядерный сдвиг нейтрофилов, в тяжелых случаях анэозинофилия.

ГЕМОРРАГИЧЕСКАЯ ЛИХОРАДКА. Для этого заболевания характерна тромбоцитопения, лейкопения с относительным лимфоцитозом, сменяющимся затем нейтрофилезом со сдвигом влево, моноцитозом, гипо- и анэозинофилией. Иногда наблюдается гипохромная, гипорегенераторная анемия. РОЭ вначале замедлена и только в дальнейшем ускоряется.

ЯЩУР. При этом заболевании характерна эозинофилия.

СТОЛБНЯК. При легком течении возникает умеренный нейтрофильный лейкоцитоз, при тяжелом — более высокий лейкоцитоз и палочкоядерный, метамиелоцитарный сдвиг с лимфопенией и эозинопенией.

БЕШЕНСТВО. Эритроцитоз и гиперлейкоцитоз с нейтрофилезом.

РОЖА. Болезнь протекает с гиперлейкоцитозом, нейтрофилезом со сдвигом нейтрофилов влево, токсигенной зернистостью в цитоплазме нейтрофилов, ускоренной РОЭ. Иногда при лечении наблюдается значительная эозинофилия.

ХИРУРГИЧЕСКИЕ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Считают, что при острых воспалительных заболеваниях (острый аппендицит, перитонит, воспаление яичников и др.) обязательно должен быть лейкоцитоз. Это не всегда так. Например, тяжелые

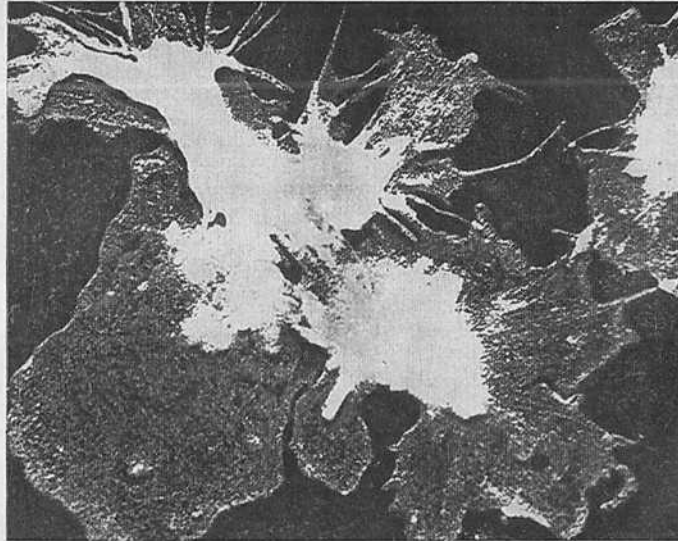


Рис. 4. Тотальный препарат кровяных пластинок в электронном микроскопе. Увеличение $\times 12\,500$.

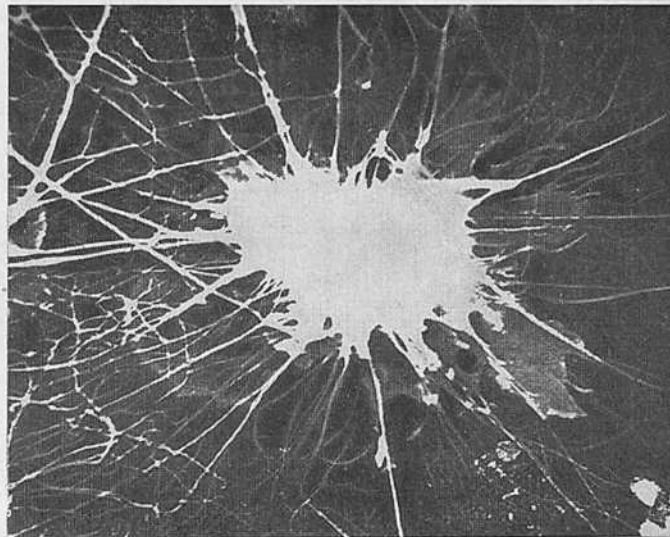


Рис. 5. Дезинтеграция кровяных пластинок в процессе свертывания крови в электронном микроскопе. Увеличение $\times 12\,500$.

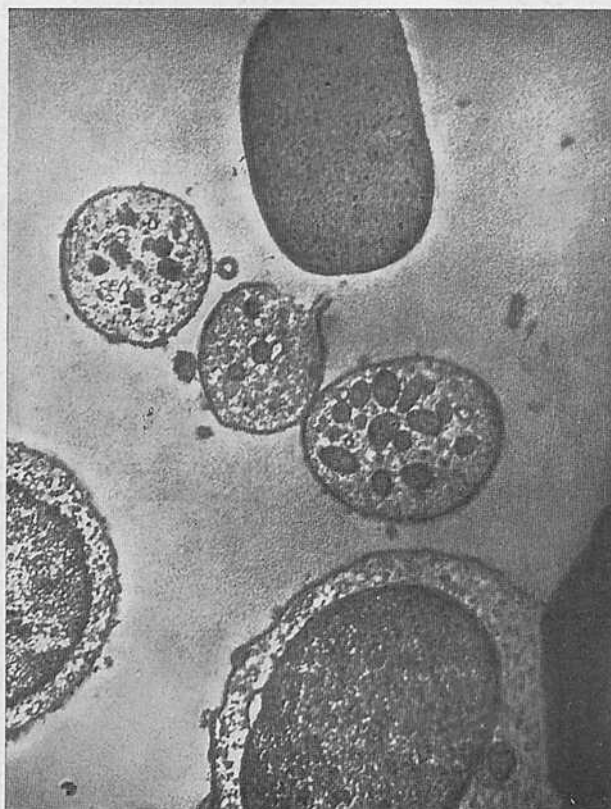


Рис. 6. Ультратонкие срезы кровяных пластинок в электронном микроскопе. Видны овальные гранулы и наружная мембрана. Увеличение $\times 24\ 000$.

гангренозные аппендициты могут протекать с лейкопенией или нормальным количеством лейкоцитов. Но при этом могут наблюдаться токсигенная зернистость нейтрофилов и сдвиг до миелоцитов.

РАНЕНИЯ И ГНОЙНЫЕ ОСЛОЖНЕНИЯ характеризуются более или менее значительным лейкоцитозом, нейтрофилезом со сдвигом ядер влево до палочкоядерных, метамиелоцитов и даже миелоцитов с токсигенной зернистостью цитоплазмы нейтрофилов и эозинопенией. При выздоровлении восстанавливается нормальная картина крови.

При неблагоприятном течении процесса лейкоцитоз сменяется лейкопенией с палочкоядерным сдвигом. Усиливается анемия и тромбоцитопения. Перечисленные изменения особенно выражены при сепсисе, пиемии и септикопиемии. Реакция со стороны крови зависит от этиологии и характера распространенности процесса и общей реактивности организма.

При чистых ранах и неосложненных переломах отмечаются лишь те изменения со стороны крови, которые происходят вследствие кровотечения, т. е. увеличивается количество ретикулоцитов и лейкоцитов, могут выявляться молодые клеточные формы.

Особенно глубокие и нередко необратимые изменения в системе крови происходят при раневом истощении. Одни авторы рассматривают их как следствие раневого сепсиса, другие считают, что в основе лежит гнойно-резорбтивная лихорадка.

РЕВМАТИЗМ

Со стороны лейкоцитарной картины крови в активной стадии ревматизма лишь в некоторых случаях наблюдается нейтрофильный лейкоцитоз с более или менее выраженным сдвигом влево.

Характерны гипо- и анэозинофилия и лимфоцитопения. В других случаях наблюдается нормальное количество лейкоцитов. Септический эндокардит может протекать с нейтрофильным гиперлейкоцитозом, но часто бывает лейкопения. Число тромбоцитов в остром периоде ревматизма часто повышено. Лечение пирамидоном, бутаддионом может усилить анемию и лейкопению.

ТУБЕРКУЛЕЗ

Некоторые авторы считают, что анемия является одним из постоянных симптомов туберкулеза. Однако это не всегда так. Большей частью анемия бывает при осложнениях. Отмечается определенная зависимость анемии от казеоза. Ряд авторов отмечает повышенный ретикулоцитоз. РОЭ зависит от тяжести процесса. При доброкачественном течении — лимфоцитоз, при тяжелом — лимфоцитопения. Наблюдающийся у ряда больных моноцитоз имеет различный характер. У одних больных он является показателем защитной реакции, у других — активности процесса.

Хроническая туберкулезная интоксикация у детей характеризуется нормальным или несколько сниженным содержанием гемоглобина. Количество лейкоцитов нормально или умеренно повышено. В цитоплазме нейтрофилов может быть обнаружена токсигенная зернистость. Лимфоцитоз. РОЭ ускорена. При обострении процесса

в начальных стадиях может быть эозинофилия, а затем лейкоцитоз становится нейтрофильным и значительно ускоряется РОЭ. В фазе инфильтративной вспышки отмечается умеренный нейтрофильный лейкоцитоз и эозинопения. В фазе рассасывания и уплотнения более или менее нормальная картина крови, но с моноцитозом. Казеозная пневмония характеризуется более глубокими изменениями крови: анемизация, нейтрофильный лейкоцитоз со сдвигом влево до палочкоядерных, токсигенная зернистость нейтрофилов и ускоренная РОЭ. При фиброзно-кавернозном туберкулезе при обострении бывают нейтрофильный лейкоцитоз со сдвигом ядер влево, эозинопения, моноцитоз или моноцитопения в зависимости от реакции организма больного, ускоренная РОЭ. Сухие туберкулезные плевриты в меньшей мере, а экссудативные в большей ведут к той или иной степени лейкоцитоза. Лейкоцитоз вначале нейтрофильный с палочкоядерным сдвигом, в дальнейшем лимфоцитоз. При гнойных плевритах лейкоцитоз выше, чаще нейтрофильного характера.

СИФИЛИС

Анемия гипохромного типа. Количество лейкоцитов различно. Характерен лимфоцитоз, который через некоторое время исчезает. Однако в зависимости от локализации процесса картина крови меняется, например, при папулезном сифилисе отмечается эозинофилия. При вторичном сифилисе чаще наблюдаются нейтрофильный лейкоцитоз, моноцитоз.

ГЕЛЬМИНТОЗЫ

Наиболее частым изменением со стороны лейкоцитарного состава крови является эозинофилия. Она свойственна всем инвазиям, но наиболее часто встречается при аскаридозе (по нашим данным, не менее чем в 60% случаев). При тениидозе эозинофилия сравнительно небольшая (10% и редко выше). Для анкилостомиаза характерна анемия, эозинофилия в раннем периоде болезни, которая в дальнейшем может исчезать. При стронгилоидозе эозинофилия невысокая, бывает в начале заболевания. При трихинеллезе резко выражена эозинофилия, достигающая до 30—60%. При эхинококке в свежих случаях нарастает эозинофилия, позднее может быть нормальное число эозинофилов. При процессах, ведущих к нагноению, эозинофилия исчезает. Ботриоцефальная анемия протекает с пернициозоподобной картиной крови. Мы наблюдали также пернициозоподобную картину в 3 случаях аскаридоза. Изгнание глистов у больных с ботриоцефальной анемией и аскаридозом устраняет анемию.

ИНТОКСИКАЦИИ

Мы приводим картину крови лишь при интоксикации ртутью бензолем и свинцом.

СВИНЕЦ. Анемия развивается вследствие раздражения костного мозга. Увеличивается содержание эритроцитов с остатками ба-

зофильной субстанции. При обычной обработке мазков крови обнаруживаются базофильно-зернистые эритроциты.

РТУТЬ. При хронических отравлениях ртутью наблюдается та или иная степень малокровия, иногда эозинофилия и моноцитоз.

БЕНЗОЛ оказывает наиболее токсическое действие на систему крови. Вначале отмечаются лейкопения и относительный лимфоцитоз, затем присоединяется тромбоцитопения. Позднее нарастают геморрагические явления, число тромбоцитов падает до 10 000. Развиваются анемия и лейкопения.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ КРОВИ

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СКОРОСТИ ОСЕДАНИЯ ЭРИТРОЦИТОВ

Микрометод Панченкова

Принцип. Использование свойств крови, смешанной с трехзамещенной солью цитрата натрия, не свертываться при стоянии, а разделяться на два слоя: нижний — эритроциты и верхний — плазму. Это расслоение происходит с различной скоростью в зависимости от изменения химических и физических свойств крови. Скорость оседания выражается в миллиметрах за 1 час.

Посуда и аппаратура. 1. Видалевские пробирки.

2. Аппарат Панченкова, состоящий из штатива с гнездами и зажимами для специальных капиллярных пипеток с просветом канала в 1 мм. На пипетках нанесена миллиметровая шкала, длиной 10 см. Верхнее деление шкалы отмечено 0 и буквой К (кровь). Через каждые 10 делений имеются цифры 10, 20, 30 и т. д. до 100. Против деления 50 имеется буква Р (реактив). Отверстия концов капиллярных пипеток, вставленных в прибор, герметически закрываются резиновыми прокладками или пробками, и кровь из пипеток не выливается.

Капиллярные пипетки и пробирки должны быть хорошо вымыты хромовой смесью, а затем дистиллированной водой и высушены.

Реактив. 5% раствор трехзамещенного цитрата натрия ($C_6H_5Na_3O_7 + 5 H_2O$). Кислая соль цитрата натрия дает меньшие величины скорости оседания эритроцитов, а потому непригодна.

Для того чтобы проверить пригодность раствора соли, необходимо проверить его реакцию лакмусовой бумажкой. Раствор трехзамещенной соли должен иметь или нейтральную, или слабо щелочную реакцию.

Приготовленный раствор трехзамещенного цитрата натрия необходимо профильтровать. Он не стоек и готовить его в большом количестве не рекомендуется. При помутнении его нужно заменять свежим.

Ход определения. Предварительно промывают капиллярную пипетку раствором цитрата натрия, набирают этот раствор до метки Р и спускают в видалевскую пробирку. Затем тем же капилляром из пальца набирают 2 раза кровь до метки К и спускают ее каждый раз в ту же пробирку. Хорошо смешивают, насыщают смесь

в капилляр до отметки 0, заметив время, ставят в штатив. Полученное соотношение между объемами разводящего раствора и крови равно 1:4.

Через час отсчитывают по делениям на капиллярной пипетке величину отстоявшегося столбика плазмы.

Если кровь из пальца набирается с трудом, можно ограничиться половинным количеством ее. В этом случае разводящего раствора набирают до цифры 75, а крови — один капилляр до метки 0.

Индекс оседания эритроцитов отмечается при фракционном исследовании за 2 часа (М. Н. Фридман)¹ и представляет собой отношение величины оседания эритроцитов за первые 30 минут исследования к величине за последующие полтора часа.

Величина индекса прямо пропорциональна тяжести заболевания и является более тонким показателем, чем суммарная величина оседания эритроцитов. При осложнениях или при неполном разрешении воспалительного процесса индекс остается высоким.

Источники ошибок:

1) несоблюдение соотношения между раствором цитрата натрия и кровью;

2) образование сгустка вследствие недостаточного размешивания;

3) неправильное (косое) положение капилляра;

4) несоблюдение требуемой температуры воздуха в помещении, где производится исследование. При температуре ниже 20° оседание замедляется, при более высокой — ускоряется;

5) перенос цитратной крови из одного помещения в другое при температуре воздуха ниже 0° (необходимо переносить в ватных чехлах).

В норме скорость оседания эритроцитов:

у женщин	до 14—15 мм в час
» мужчин	» 10 » » »
» новорожденных	» 2 » » »
» детей грудного	» 4 » » »
возраста	» 4 » » »
у детей более старшего	» 10 » » »
возраста	» 10 » » »

Интерпретация. Скорость оседания эритроцитов зависит от величины и объема эритроцитов, числа эритроцитов (увеличение — замедляет, уменьшение — ускоряет), содержания в плазме желчных кислот и пигментов, вязкости крови. Большое влияние на скорость оседания эритроцитов оказывает изменение соотношений различных фракций белков крови и фибриногена, прием некоторых лекарств и терапевтические мероприятия.

Ускорение оседания наблюдается при специфической и неспецифической раздражающей терапии, вакцинотерапии, переливании крови и др.

Замедленное оседание наблюдается при приеме внутрь салициловых, кальциевых, ртутных диуретических препаратов, хинина и снотворных средств.

Скорость оседания эритроцитов не является специфической для какого-либо заболевания, однако ускорение оседания всегда указывает на наличие патологического процесса. Оно ускоряется при

¹ Лабораторное дело, 1956, № 6.

любом воспалительном процессе. При острых воспалительных и инфекционных процессах оседание эритроцитов повышается через 24 часа или через несколько дней после повышения температуры и увеличения числа лейкоцитов и остается ускоренным еще в течение некоторого времени по исчезновении клинических симптомов.

У больных с выраженной недостаточностью кровообращения оседание эритроцитов может оставаться нормальным или замедленным даже при наличии пневмонии или эндокардита. Причиной замедления при сердечной недостаточности может являться газовый ацидоз. Замедление оседания эритроцитов под влиянием избытка углекислоты зависит от увеличения диаметра эритроцитов и повышения стабильности эритроцитарной взвеси.

Как правило, скорость оседания эритроцитов бывает резко увеличена при миеломной болезни и других паропротейнемиях, а также при заболеваниях с явлениями диспротеинемии (болезни печени, коллагенозы и др.), ревматизме, анемии, беременности. Резкое понижение скорости оседания эритроцитов наблюдается при процессах, ведущих к сгущению крови (потеря жидкости).

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВЯЗКОСТИ КРОВИ

Принцип. Сравнение скоростей продвижения крови и дистиллированной воды в строго одинаковых капиллярах и при одинаковом вакууме вискозиметра.

Посуда и оборудование. Вискозиметр ВК-4 и прилагаемые к прибору 3 прямоугольных флакона с тщательно притертыми пробками.

- Реактивы.** 1. Дистиллированная вода.
2. 25% раствор аммиака.
3. Спирт или эфир.

Ход определения. Капиллярные пипетки вискозиметра должны быть безукоризненно очищены и тщательно высушены путем попеременного промывания аммиаком и спиртом. При этом нужно особенно следить, чтобы жидкости не попадали в резиновые трубочки и уравнивательные капилляры, соединяющие пипетки с тройником. Наличие жидкости в трубочках может привести к ошибочным показаниям прибора.

Промытый и просушенный прибор проверяют на правильность показаний, набирая в капиллярные пипетки точно до метки 0 дистиллированную воду и вытягивают воздух из обеих пипеток, продвигая столбики воды вдоль обоих капилляров до метки 5. При хорошо промытом и высушенном приборе и правильных показаниях столбики в обоих капиллярах одновременно достигнут метки. Допускаемое отклонение $\pm 0,2$ (два малых деления шкалы).

После этого прибор вновь промывают и высушивают. Перед определением вискозиметр продувают воздухом с помощью груши или водоструйного насоса.

В подготовленном таким образом приборе открывают кран так, чтобы отверстие его пробки совпало с осью правой капиллярной пипетки, в которую набирают дистиллированную воду до метки 0, следя за тем, чтобы столбик воды не прерывался, после чего кран закрывают. Быстро набирают кровь из пальца в левую пипетку прибора и, держа во рту стеклянный наконечник резиновой

трубки, втягивают кровь в капилляр, следя за тем, чтобы она заполняла капилляр без пузырьков воздуха по всей его длине до метки 0. Поворачивают кран на соединение правой пипетки с тройником и энергично, но осторожно втягивают в том же направлении воздух из обеих пипеток, отчего оба столбика (крови и дистиллированной воды) одновременно, но с разными скоростями продвигаются вперед. Следят за столбиком крови и, как только она дойдет точно до метки 1, прекращают дальнейшее втягивание жидкостей.

Пути, пройденные жидкостями в капиллярах в одно и то же время при строго одинаковых условиях, обратно пропорциональны вязкостям этих жидкостей. Поэтому вязкость крови будет равна отношению длины пути, пройденной дистиллированной водой к длине пути, пройденной кровью; так как кровь набирают до отметки 1, то вязкость крови будет равна длине пути, пройденного водой, которая и отсчитывается по шкале.

При исследовании вязкости плазмы или сыворотки можно продвинуть жидкости до метки 2 или 3. Полученные результаты приводят к единице, т. е. делят соответственно на 2 или 3.

При взятии крови нужно следить, чтобы кровь вытекала из укола без всякого давления на палец, для чего рекомендуется предварительно опустить руку в теплую воду (40°) и сильно растереть ее.

Вязкость крови в норме у детей по А. П. Дорон следующая. У новорожденных первых 3—5 дней жизни вязкость крови держится на высоких цифрах (14,8—10,0). Начиная с 5—6-го дня жизни она постепенно снижается (в среднем около 8,6) и лишь к концу 1-го месяца жизни достигает цифр, обычных для более старших детей. Вязкость крови детей от 1 до 12 месяцев колеблется от 3,8 до 5,4 составляя в среднем 4,6, у детей от 1 года до 3 лет — 4,57, с колебаниями от 3,6 до 5,7, а в возрасте от 3 до 15 лет — в среднем 4,61, с колебаниями от 3,5 до 5,8.

Вязкость крови у девочек в среднем 4,58, у мальчиков 4,6.

Вязкость крови у взрослых: у мужчин от 4,3 до 5,3, у женщин от 3,9 до 4,9. У взрослых вязкость сыворотки от 1,7 до 2,0, вязкость плазмы от 1,9 до 2,3.

Интерпретация. Вязкость цельной крови зависит от: 1) вязкости плазмы, или сыворотки, 2) количества красных кровяных телец, 3) количества гемоглобина, 4) величины циркулирующих клеток, 5) содержания углекислоты в крови и солей плазмы. Вязкость крови понижается с повышением насыщения ее кислородом, и, наоборот, чем сильнее редуцирована кровь, тем выше ее вязкость.

Утром после подъема отмечается несколько повышенная вязкость крови. Колебание вязкости крови в течение дня зависит главным образом от питания: мясная и жирная пища увеличивает вязкость. Тяжелый физический труд, особенно связанный с повышенным потоотделением, увеличивает вязкость крови.

Повышение вязкости крови наблюдается при полицитемии, сердечной недостаточности, гипертонической болезни, инфаркте миокарда и других состояниях, сопровождающихся сгущением крови в результате увеличения числа эритроцитов или большой потери жидкости.

Вязкость крови понижается при анемиях и гидремии.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОБЩЕГО ОБЪЕМА ЭРИТРОЦИТОВ В ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ (ГЕМАТОКРИТ)

Общий объем эритроцитов (гематокритная величина) дает представление о соотношении между объемом плазмы и объемом форменных элементов крови.

Определение производят в гематокрите, представляющем собой стеклянную трубочку, разделенную на 100 равных частей. Перед взятием крови гематокрит промывают гепарином или раствором, составленным из 1,2 г щавелевокислого аммония и 0,82 г щавелевокислого калия в 100 мл воды. Затем набирают в гематокрит до отметки 100 кровь из пальца пациента, закрывают конец пипетки резиновым колпачком, центрифугируют в течение 1—1½ часов при 1500 об/мин и отмечают, какую часть в градуированной трубке гематокрита занимают эритроциты.

В норме общий объем эритроцитов у мужчин равен 40—48%, у женщин 36—42%.

Интерпретация. Увеличение общего объема эритроцитов в цельной крови наблюдается при полицитемиях, а уменьшение при анемиях.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СРЕДНЕГО ОБЪЕМА ЭРИТРОЦИТОВ

Средний объем эритроцитов определяется делением гематокритной величины 1 мм³ крови на число эритроцитов в 1 мм³ крови и выражается в кубических микронах.

Пример. Гематокритная величина 40 об.%. Следовательно, в 1 мм³ крови содержится 0,40 мм³ или 400 000 000 мк³ эритроцитов. При количестве эритроцитов в 1 мм³ крови 5 000 000 средний объем эритроцита будет:

$$\frac{400\,000\,000}{5\,000\,000} = 80 \text{ мк}^3.$$

Практически средний объем эритроцитов определяют по формуле.

$$\frac{\text{гематокритная величина} \times 10}{\text{число миллионов эритроцитов в 1 мм}^3 \text{ крови}} = \frac{40 \times 10}{5} = 80 \text{ мк}^3.$$

В норме средний объем эритроцитов у взрослых колеблется от 76 до 96 мк³.

Интерпретация. Средний объем эритроцитов увеличивается при микросфероцитозе, макро- и мегалоцитарных анемиях, а уменьшается при микроцитарных анемиях, болезни Кули, железодефицитных анемиях и др.

Объемный показатель, характеризующий объем отдельного эритроцита по сравнению с нормой, принимаемой за единицу, вычисляют по следующей формуле:

$$\text{объемный показатель} = \frac{\text{объем эритроцитов в \% к норме}}{\text{количество эритроцитов в \% к норме}}$$

В норме объемный показатель колеблется в пределах от 0,85 до 1,15.

Микроциты имеют пониженный объемный показатель, мегалоциты — повышенный.

Таблица 12

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ МАТЕМАТИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРАСНОЙ КРОВИ (по данным разных авторов)

Возраст	Цветной показатель	Среднее содержание гемоглобина в отдельном эритроците в пг	Средний объем эритроцитов в мк ³	Толщина отдельного эритроцита в мк	Показатель сферичности
Новорожденный	1,20±0,10	37±4	—	—	—
1-й день	1,2±0,14	38±4	160±20%	2,0±0,1	0,23—0,26 (в среднем 0,24)
2-й »	1,28±0,10	39±3	105±20%	1,7—2,4 (в среднем 2,3)	0,22—0,34 (в среднем 0,25)
3-й »	1,30±0,08	39,5±3			
4-й »	1,25±0,10	38±4			
6-й »	1,27±0,10	39±3			
7-й »	1,28±0,15	39±5			
2-я неделя	1,15±0,10	35±4	98±15%		
1-й месяц	1,10±0,10	34±3	90±15%		
2-й »	1,00±0,08	32±3			
3-й »	0,95±0,07	29±2	80±15%		
4-й »	0,94±0,08	29±3			
5-й »	0,90±0,05	28±2			

Продолжение

6-й месяц	0,85±0,07	27±3	77±15%	1,8—2,4 (в среднем 2,1)	0,25—0,32 (в среднем 0,29)
7—9-й месяц	0,85±0,07	27±2			
10—12-й »	0,80±0,10	25±3			
2-й год	0,85±0,15	25±3	77±5%	1,9—2,4 (в среднем 2,2)	0,27—0,35 (в среднем 0,30)
3-й »	0,90±0,10	27±3	80±5%		
4-й »	0,95±0,15	27±2	80±5%	1,7—2,3 (в среднем 2,1)	0,23—0,31 (в среднем 0,29)
5-й »		27±2	80±5%		
6—10-й год	0,95±0,15	27±2	80±5%		
11—15-й »	0,97±0,15	28±2	82±5%		
Взрослые	1,00±0,15	30±2	87±9%	2,0±0,1	0,25—0,34
Недоношенные 1-й день	—	—	100—133 (в среднем 114)	1,7—2,5 (в среднем 2,1)	0,22—0,29 (в среднем 0,25)
1—3-й месяц	1,00±0,15	—	—	—	—
3—9-й »	0,80±0,15	—	—	—	—

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СРЕДНЕЙ ТОЛЩИНЫ ЭРИТРОЦИТОВ

Средняя толщина эритроцитов вычисляется по формуле Бороса, принявшего для упрощения вычисления эритроцит за цилиндрическое тело.

$$T \text{ (толщина эритроцита)} = \frac{V}{\Pi \cdot R^2},$$

где: V — средний объем эритроцита,

Π — константа = 3,14,

R — радиус эритроцита.

Эту формулу можно упростить и представить в зависимости от диаметра в следующем виде:

$$T = 1,274 \frac{V}{D^2}, \text{ где } D \text{ — диаметр эритроцита.}$$

Пр и м е р. Объем эритроцита 90 мк³, диаметр 7 мк.

В этом случае по первой формуле:

$$T = \frac{90}{3,14 \cdot 3,5^2} = 2,34 \text{ мк.}$$

по второй формуле:

$$T = \frac{90}{7^2} \cdot 1,274 = 2,34 \text{ мк.}$$

В норме толщина эритроцита колеблется от 1,85 до 2,1 мк. Она увеличивается при микросфероцитозе и мегалоцитозе и уменьшается при планоцитозе, анемии Кули и других анемиях с наличием большого количества мишеневидных клеток.

Показатель сферичности — это отношение среднего диаметра эритроцита к средней толщине его. В норме он колеблется от 3,4 до 3,9. Цифры ниже 3,4 показывают тенденцию к сфероцитозу, а цифры выше 3,9 — к планоцитозу.

Возрастные особенности эритроцитов см. табл. 12.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ

Резистентность — свойство эритроцитов противостоять разрушительным воздействиям: осмотическим, механическим, тепловым и пр.

Определение осмотической резистентности эритроцитов

Эритроциты в гипертонических солевых растворах сморщиваются, а в гипотонических набухают. При значительном набухании гемоглобин выступает из эритроцитов в окружающую жидкость и происходит гемолиз.

Изотоническим солевым раствором для эритроцитов является 0,85% раствор хлорида натрия. В 0,7—0,6% растворах хлорида натрия эритроциты набухают, при концентрации 0,48—0,44% хлорида натрия гемолизируются наименее резистентные эритроциты.

Макроскопический метод (Лимбек и Рибьер)

Принцип. Визуальное определение уровня минимальной осмотической резистентности, т. е. первых, едва уловимых следов гемолиза эритроцитов по легкому порозовению или по легкой желтизне раствора и уровня максимальной осмотической резистентности или полного гемолиза эритроцитов.

Посуда и аппаратура. 1. Агглютинационные пробирки одинаковой длины, объемом 10 мл каждая и диаметром 0,5 см.

2. Пипетки, градуированные в сотых долях миллилитра, отдельно для воды и 1% раствора хлорида натрия.

3. Пипетка от гемометра Сали.

4. Слянки с притертыми пробками.

5. Штатив для пробирок.

6. Центрифуга на 2300 об/мин.

Реактивы. 1. 1% раствор хлорида натрия.

2. Дистиллированная вода.

Для того чтобы избежать необходимости каждый раз готовить свежие растворы хлорида натрия, Деси предлагает готовить 10% раствор хлорида натрия путем растворения в дистиллированной воде 180 г. хлорида натрия, 27,31 г Na_2HPO_4 и 4,86 г $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Объем раствора доводят дистиллированной водой до 2 л. Такой раствор можно хранить несколько месяцев. По мере надобности из него готовят 1% раствор, который можно хранить несколько недель.

Ход определения. Перед исследованием готовят в агглютинационных пробирках растворы хлорида натрия различной концентрации, пользуясь следующей таблицей (табл. 13).

Таблица 13

№ пробирки	Количество		№ пробирки	Количество	
	1% раствора хлорида натрия в мл	дистиллированной воды в мл		1% раствора хлорида натрия в мл	дистиллированной воды в мл
1	0,70	0,30	13	0,46	0,54
2	0,68	0,32	14	0,44	0,56
3	0,66	0,34	15	0,42	0,58
4	0,64	0,36	16	0,40	0,60
5	0,62	0,38	17	0,38	0,62
6	0,60	0,40	18	0,36	0,64
7	0,58	0,42	19	0,34	0,66
8	0,56	0,44	20	0,32	0,68
9	0,54	0,46	21	0,30	0,70
10	0,52	0,48	22	0,28	0,72
11	0,50	0,50	23	0,26	0,74
12	0,48	0,52	24	0,24	0,76

Если не возникает подозрения на выраженное повышение или понижение осмотической резистентности, то готовят концентрации хлорида натрия от 0,56 до 0,28. В противном случае диапазон

различных концентраций гипотонических растворов расширяют от 0,8 до 0,2. После перемешивания отмеренных жидкостей в каждую пробирку добавляют по одной капле свежей или дефибринированной крови. Кровь лучше отбирать пипеткой от гемометра Сали и вводить в каждую пробирку по 20 мм³. Осторожным встряхиванием пробирки достигают равномерности взвеси, и затем пробирки оставляют в штативе при комнатной температуре (15—25°) на 1 час в покое. После этого содержимое в пробирках в течение 3 минут центрифугируют при 2300 об/мин. Определяют минимальную резистентность по пробирке с самой высокой концентрацией хлорида натрия, в которой улавливается порозовение жидкости, а максимальную резистентность по пробирке с самой низкой концентрацией хлорида натрия, в которой не заметно осадка, а жидкость окрашена в розовый цвет.

С целью получения более точных результатов Н. Л. Василевская предлагает после часа стояния все растворы центрифугировать 5 минут, затем прозрачный фильтрат осторожно слить и фотометрировать в ступенчатом фотометре Пульфриха с фильтром М-43 при толщине слоя 1 см (можно пользоваться и фотоэлектроколориметром).

В норме минимальная резистентность по макроскопическому методу у взрослых колеблется между 0,48 и 0,46% хлорида натрия, максимальная — между 0,34 и 0,32%. У грудных детей максимальная резистентность составляет от 0,36 до 0,40%, минимальная — от 0,48 до 0,52% хлорида натрия, у более старших детей: максимальная от 0,36 до 0,40%, минимальная от 0,44 до 0,48% хлорида натрия.

Метод Шамляна¹

Принцип. Стремление достигнуть объективности в оценке осмотической резистентности эритроцитов при помощи специально сконструированного для этого прибора.

Посуда и аппаратура. См. «Макроскопический метод» и прибор Шамляна.

Изготовление прибора Шамляна доступно любой лаборатории. Для этого требуется, чтобы все пробирки имели одинаковый диаметр, их придонные части имели правильную сферическую форму без царапин.

Придонные части пробирок с гемолизированной кровью играют роль короткофокусных двояковыпуклых линз, через которые в проходящем свете (дневном или от матовой лампы) просматривают три горизонтальные линии: верхнюю и нижнюю — пунктирные и среднюю — сплошную, нанесенные тушью на матовом стекле, расположенном позади пробирок. Для создания одинаковых оптических условий пробирки устанавливают на специальной подставке и плотно притягивают двумя резиновыми полосами к матовому стеклу с указанными выше линиями.

Нечеткость линий, обусловленная неполной прозрачностью растворов при незавершившемся гемолизе, усиливается под влиянием

¹ Лабораторное дело, 1961, № 4, стр. 12.

оптических факторов, и нечеткие линии легко дифференцируются от четких, видимых через прозрачные, полностью гемолизированные растворы крови.

Реактивы. 1. 1% раствор хлорида натрия.

2. Дистиллированная вода.

Ход определения. Приготовление растворов хлорида натрия различной концентрации, смешивание их с кровью и центрифугирование производят так же, как в макроскопическом методе, а максимальную резистентность определяют следующим образом.

Сравнивают с контрольной пробиркой осмотического ряда с заведомо полным гемолизом (концентрация хлорида натрия 0,2%) две пробирки, смежные по осмотическому ряду. Одна пробирка с завершенным гемолизом и вторая, смежная, с большей концентрацией хлорида натрия с неполным гемолизом, в которой подавляющая часть эритроцитов также гемолизировалась.

Если через растворы крови в контрольной и первой пробирках линии просматриваются одинаково отчетливо, а во второй пробирке менее отчетливо, то максимальная осмотическая резистентность определяется концентрацией хлорида натрия в первой пробирке. Если линии через все три раствора представляются одинаково четкими, берут следующую по осмотическому ряду пробирку с большей концентрацией хлорида натрия. Такого рода манипуляцию повторяют до тех пор, пока не получится результат, описанный выше.

Все помещаемые в прибор пробирки непосредственно перед каждым определением встряхивают.

Микроскопический метод (Н. Д. Яновский)

Принцип. Подсчет под микроскопом количества эритроцитов, сохранившихся в гипотонических растворах.

Посуда и аппаратура. 1. Агглютинационные пробирки диаметром 0,5 см, объемом 10 мл.

2. Пипетки, градуированные в сотых долях миллилитра, отдельно для воды и 1% раствора хлорида натрия.

3. Четыре смесителя для эритроцитов.

4. Складные с притертыми пробками.

5. Штатив для пробирок.

6. Счетная камера.

7. Микроскоп.

Реактивы. 1. 1 и 3% растворы хлорида натрия.

2. Дистиллированная вода.

Ход определения. Пользуются тремя растворами различной концентрации: 0,5% раствором хлорида натрия, в котором гемолиз нормальной крови возможен, 0,4% раствором, в котором в обычных условиях гемолиз достаточно выражен, и промежуточным 0,46% раствором.

Испытуемую кровь набирают в 4 смесителя для эритроцитов до метки 0,5 и в 3 из них разводят указанными выше растворами, а в четвертом 3% раствором хлорида натрия до метки 101 (разведение 1:200). По результатам подсчета в камере вычисляют процент устойчивых эритроцитов по отношению к общему количеству их в 1 мм³ крови, для чего производят подсчет эритроцитов в 3% растворе.

Определение осмотической резистентности эритроцитов у больных желтухой

Максимальную устойчивость определяют обычным способом в пробирках по Лимбеку, а минимальную стойкость, проявляющуюся легким гемолизом, который маскируется желтой окраской сыворотки,— по методу Балахина.

Принцип. Величина минимальной стойкости определяется концентрацией раствора хлорида натрия, при которой начинается падение числа эритроцитов на 700 000—1 000 000 при подсчете в камере.

Посуда и аппаратура. 1. Агглютинационные пробирки объемом 10 мл, диаметром 0,5 см.

2. Смесители для эритроцитов.

3. Счетная камера с сеткой Горяева.

4. Пипетки, градуированные в сотых долях миллилитра.

Реактивы. 1 и 3% растворы хлорида натрия.

Ход определения. Кровь набирают в смесители для эритроцитов и разводят растворами хлорида натрия тех разведений, при которых можно предполагать начало гемолиза. Эти растворы заранее готовят в пробирках из 1% раствора хлорида натрия. В один из смесителей— контрольный— набирают кровь и разводят ее 3% раствором хлорида натрия.

Эритроциты подсчитывают в счетной камере, начиная с контрольного смесителя, а затем в других в порядке постепенного снижения концентрации разводящей жидкости до тех пор, пока не обнаружится первое падение числа эритроцитов на 700 000—1 000 000. Этот способ пригоден при любой степени желтушной окраски сыворотки.

Интерпретация. Минимальная осмотическая резистентность выше 0,48% наблюдается при врожденной гемолитической анемии, а иногда и при отравлении свинцом. Можно обнаружить небольшие изменения и при токсикозах, бронхопневмониях, туберкулезе, малярии, лейкемии, миелосклерозах, лимфогранулематозе, циррозе печени и др.

Максимальная осмотическая резистентность ниже 0,32% имеет место после больших кровопотерь, при спленэктомии, гемоглобинузе С, застойных желтухах, в некоторых случаях полицитемии и др.

Случаи расширения границ осмотической резистентности— одновременное понижение минимальной и повышение максимальной— наблюдаются в начале острого гемолитического криза.

Определение механической резистентности эритроцитов

Метод Шена, Кэстла, Флеминга

Принцип. Эритроциты травмируются механически в специальном аппарате для встряхивания до полного разрушения и выделения гемоглобина в плазму.

Посуда и аппаратура. 1. Шприц на 20 мл.

2. Дефибринатор (посуда со стеклянными бусинками).

3. Воронка.

4. Центрифуга.
5. Аппарат для встряхивания со стеклянным сосудом.
6. Колориметр.

Реактив. Физиологический раствор.

Ход определения. Кровь в количестве 20 мл берут методом венопункции, дефибрируют, сливают в другой стеклянный сосуд и помещают его в аппарат для встряхивания. Кровь встряхивают в течение 30 минут при 120 качаниях в минуту. Слой плазмы сливают и в ней определяют количество свободного гемоглобина (степень гемолиза) по окрашиванию в колориметре.

В норме количество образовавшегося свободного гемоглобина равно 1,5—3,5%.

Метод Мармонта и Бианки

Принцип. Эритроциты травмируются механически не до полного разрушения, а только до распада их на отдельные фрагменты.

Посуда и аппаратура. 1. Шприц.

2. Центрифужные пробирки.

3. Центрифуга.

4. Градуированные пипетки.

5. Пастеровская пипетка.

6. Слянки с притертыми пробками.

Реактивы. 1. 2,8% раствор цитрата натрия.

2. 0,5% раствор желатинны.

3. Жидкость Локка.

Приготавливают растворением в 1 л дистиллированной воды 9 г хлорида натрия, 0,42 г хлорида калия, 0,24 г хлорида кальция и 0,2 г бикарбоната натрия.

Ход определения. Кровь берут в количестве 1 мл (можно взять из пальца) и стабилизируют ее смесью растворов цитрата, желатинны и жидкости Локка по 2 мл каждого. Затем кровь центрифугируют 5 минут при 500 об/мин (не более). Образующиеся обломки эритроцитов всплывают в верхний слой разведенной плазмы. Последнюю сливают в другую пробирку, вновь центрифугируют тоже 5 минут при 500 об/мин. Фрагменты оседают на дно, из осадка готовят мазки.

На свежих препаратах среди массы сохранившихся эритроцитов находят фрагменты различной величины и формы: мелкие, крупные, округлые, бесформенные, предстadium фрагментации, оставшиеся еще соединенными с распадающимися эритроцитами.

В окрашенных препаратах подсчет количества фрагментов в мазках крови для учета степени распада лучше производить по отношению к 1000 эритроцитов. Фрагменты окрашиваются в тот же цвет, что и неразрушенные эритроциты.

В норме количество образующихся фрагментов не превышает 0,75—3%.

Интерпретация. Исследование механической резистентности эритроцитов имеет особое значение при приобретенных формах гемолитической анемии, при которых, как известно, изменения осмотической резистентности часто не могут быть обнаружены без инкубации.

Механическая резистентность понижена у больных гипер- и гипохромными анемиями, для которых в разгар заболевания характерны

уплощенная форма эритроцитов и повышенная осмотическая резистентность.

У больных с врожденным сфероцитозом распад эритроцитов на фрагменты не наблюдается.

Определение тепловой резистентности эритроцитов

Для исследования берут 5 мл венозной крови в сухую пробирку и ставят ее в термостат на 6—12 часов. В норме гемолиза сыворотки крови не наблюдается. При пароксизмальной гемоглобинурии (болезнь Маркиава) сыворотка в той или иной степени гемолизируется.

Определение кислотной резистентности эритроцитов

Метод Гама

Венозную кровь предварительно дефибринируют, затем полученную сыворотку вливают в две пробирки по 0,5 мл и в одной из них подкисляют сыворотку 0,05 мл 0,2 N раствором соляной кислоты. Эритроциты больного промывают физиологическим раствором и затем суспендируют в нем до получения 50% взвеси. Полученную взвесь по одной капле вводят в каждую пробирку и затем ставят их на 1 час в термостат для инкубации.

Реактивы. 1. 0,2 N раствор соляной кислоты.

2. Физиологический раствор.

Интерпретация. При анемии Маркиава и некоторых других гемолитических анемиях в подкисленной пробирке обнаруживается ясный гемолиз.

Исследовать кислотную резистентность эритроцитов можно с помощью фотоэлектрического фотометра ФЭК-М и регистрировать результаты графически в виде эритрограммы. Подробности о технике этого исследования можно найти в книге И. А. Терскова и И. И. Гительсона. «Эритрограммы как метод клинического исследования крови» (Красноярск, 1959).

ПОЛУЧЕНИЕ ДЕФИБРИНИРОВАННОЙ КРОВИ

Принцип. Использование свойства фибрина при встряхивании крови в сосуде со стеклянными бусинками выпадать из крови в виде отдельных волокон, которые пристаю к бусинкам и поэтому уже не захватывают форменные элементы, в связи с чем эритроциты остаются взвешенными в сыворотке.

Посуда и аппаратура. 1. Шприц.

2. Дефибринатор (колба со стеклянными бусинками).

Методика. Кровь, взятую у пациента, выливают в дефибринатор и в продолжение 10 минут встряхивают. Жидкость из колбы профильтровывают через стерильную марлю, сложенную в 3—4 слоя.

И. Тодоров предлагает несколько измененный способ. В 50 мл эрленмейеровскую колбу помещают 10 мл венозной крови. Закупоривают колбу ватой, через которую вставляют стеклянную палочку. К нижнему концу ее припаяны кусочки стеклянных капилляров. Эрленмейеровскую колбу держат за горлышко и вертят рукой. Обычно кровь дефибрируется за 5 минут, и фибрин собирается на стеклянной палочке в один комок.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСМОТИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ЛЕЙКОЦИТОВ

Метод Педерцини, модифицированный Кучером с сотрудниками¹

Принцип. Подсчет количества лейкоцитов в крови, смешанной с гипотоническим раствором хлорида натрия, через определенные промежутки времени.

Реактивы. 1. 0,2% раствор хлорида натрия.

2. Краситель для разведения крови:

1% водный раствор хлористого метилрозанилина	1,5 мл
ледяная уксусная кислота	1 мл
дистиллированная вода	20 мл

При отсутствии метилрозанилина можно его заменить таким же количеством 1% водного раствора генцианвиолета. Уксусная кислота способствует быстрому гемолизу эритроцитов и предохраняет лейкоциты от разрушения в камере.

Ход определения. Кровь, взятую из пальца в количестве 0,1 мл, тщательно смешивают в пробирке с 0,9 мл 0,2% раствора хлорида натрия. Перед каждым подсчетом разведенную кровь смешивают, к 0,1 мл ее добавляют 0,1 мл красителя и после повторного смешивания заполняют счетную камеру. Подсчет форменных элементов производят сразу после взятия крови и через 30, 60, 120, 180 минут.

Разведение в конечном итоге будет 20-кратное.

При определении у здоровых людей осмотической стойкости лейкоцитов по отношению к 0,2% раствору хлорида натрия спустя 30, 60, 120 и 180 минут неразрушенными соответственно остаются в среднем 94, 82, 43, 25% полинуклеаров и 86, 68, 42, 25% мононуклеаров (А. Н. Сененко).

При значительных сдвигах формулы влево наблюдается быстрое набухание и округление ядра палочкоядерных и юных в гипотоническом растворе, что может повести к ошибочному причислению этих клеток к группе мононуклеаров.

Интерпретация. При сепсисе, пневмонии стрептококковой этиологии, злокачественном малокровии обнаружено понижение осмотической стойкости полинуклеаров с последующей нормализацией в период клинической ремиссии. Повышение осмотической стойкости полинуклеаров отмечено при гриппозных пневмониях и в отдельных случаях при злокачественных новообразованиях.

Определение резистентности лейкоцитов методом люминесцентной микроскопии см. в разделе «Люминесцентная микроскопия».

¹ Лабораторное дело, 1962, № 7, стр. 9.

ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕМОСТАЗА И СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ

Свертывание крови — защитная реакция, предохраняющая организм от кровопотери. Свертывание крови является сложным ферментативным процессом, в котором принимает участие множество факторов, находящихся в плазме, тканях и кровяных элементах, главным образом в тромбоцитах. Факторы свертывания крови обозначаются римскими цифрами в хронологическом порядке по мере их открытия.

ПЛАЗМЕННЫЕ ФАКТОРЫ

Фибрин — конечный твердый продукт реакции. Фибринный сгусток состоит из разветвленных и переплетающихся волоконцев — фибрилл, образующих сети. Эта сеть, в нитях которой задерживаются форменные элементы крови, служит основой тромба.

I фактор — фибриноген принадлежит к числу грубодисперсных плазменных зуглобулинов. Сложное белковое вещество большого молекулярного веса, который колеблется от 400 000 до 700 000 в зависимости от метода определения. В него входит около 20 аминокислот.

В нативном состоянии фибриноген представляет собой коллоидные частички, мицеллы, которые во время коагуляции соединяются в нити фибрина.

Фибриноген синтезируется главным образом клетками печени. Кроме того, биосинтез фибриногена происходит во всех органах и тканях, содержащих активные элементы ретикуло-эндотелиальной системы. Местом разрушения фибриногена являются легкие, содержащие фермент фибриногеназу (фибринодеструктаза).

Образование фибриногена происходит быстро. После полного удаления он появляется в крови уже через 2 часа, а через 24 часа определяется 100% первоначального его уровня. В круге кровообращения фибриноген остается около 8 дней.

Под влиянием фермента тромбина фибриноген переходит в твердое состояние. Механизм превращения фибриногена состоит во внутримолекулярном перераспределении.

В процессе превращения фибриногена в фибрин образуется промежуточный продукт реакции — фибриноген В. Измененный фибриноген (В) обладает усиленной склонностью к агрегации. Превращение фибриногена происходит под влиянием фибриностабилизирующего фактора плазмы (фибриназы).

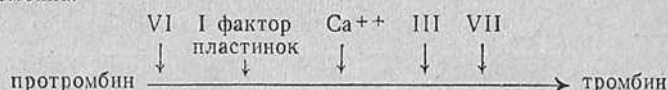
Фибриназа — фермент, отщепляющий от молекулы фибрина моносахара. В результате отщепления моносахаров фибрин становится нерастворимым в мочевице. В крови фибриназа находится в виде комплекса фибриноген—фибриназа. Фибриназа в процессе образования фибрина потребляется, поэтому концентрация фибриназы в плазме выше, чем в сыворотке. Фибриназа содержится также в тканях (мозг, печень, почки и т. п.). Концентрация фибриназы в тканях выше, чем в крови.

II фактор — протромбин входит во фракцию зуглобулинов плазмы и всегда имеется в циркулирующей крови в довольно постоянном количестве. Это сложное белковое вещество (гликопротеид), содержащее 18 аминокислот.

Синтезируется протромбин клетками печени. Для синтеза протромбина необходимо постоянное присутствие в организме витамина К. В нормальной человеческой плазме содержится 10—15 мг% протромбина.

Активация недействительного протромбина происходит под влиянием тромбкиназы и солей кальция.

Вещества, участвующие в активации протромбина, не реагируют с ним количественно, а действуют каталитически, отщепляя от протромбина молекулу тромбина ферментативно-протеолитическим путем. В результате активации протромбина происходит образование тромбина.

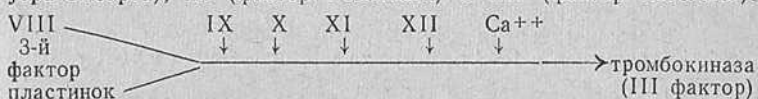


Тромбин — фермент. Был открыт и получен А. А. Шмидтом в 1872—1876 гг. Тромбин — гликопротеид. Молекулярный вес тромбина 77 000 — 45 000. Основной биологической особенностью тромбина является его способность вызывать ферментативное превращение фибриногена в твердое состояние. Кроме того, тромбин активирует проакцелерин, VIII и IX факторы. Тромбин оказывает разрушающее действие на пластинки, вместе с глюкозой и кальцием вызывая вязкий метаморфоз (дизинтеграцию) кровяных пластинок, и этим способствует выходу тромбоцитарных факторов, в том числе тромбоцитарного тромбластина.

Процесс активации протромбина в тромбин происходит под действием активной тромбкиназы крови.

III фактор — тромбкиназа (тромбластин). Тромбластические субстанции обнаружены в тканях, жидкой части крови, тромбоцитах и эритроцитах.

Плазменную тромбкиназу называют антигемофильским глобулином (фактор VIII). Вместе с тромбоцитарной тромбкиназой (3-й фактор пластинок) она образует активную тромбкиназу крови или тромбластин крови. Образование активного тромбластина крови ускоряется фактором IX (фактор Кристмаса), X (фактор Проуэра-Стюарта), XI (фактор Розенталя) и XII (фактор Хагемана).



Тромбластиновой активностью обладает также липопротеид эритроцитов. Последний сходен с 3-м фактором пластинок.

Тромбкиназа тканей — один из фосфолипидов тканей. Тканевый тромбластин находится в клетках в неактивном состоянии, в виде предшественника протромбластина или протромбкиназы. Образование активного тромбластина тканей происходит под действием ионов кальция, VII и X факторов.

Тканевая тромбкиназа способствует образованию минимальных количеств тромбина, который активирует V фактор и вызывает вискозную метаморфозу (дизинтеграцию) тромбоцитов. Выделенный при вискозной метаморфозе 3-й фактор пластинок вместе с соответствующими факторами плазмы образует активную тромбкиназу крови, под действием которой появляются большие количества тром-

бина. Таким образом, первое образование тромбина ведет ко второму образованию его в больших количествах (автокаталитическая реакция).

IV ф а к т о р — ионизированный кальций. Для коагуляции требуется определенная концентрация ионов кальция. Концентрация ионов кальция выше и ниже оптимальной тормозит процесс свертывания. Действие кальция в какой-то мере специфично, так как при замене кальция элементами той же подгруппы реакция идет иначе. Известно, что кальций принимает участие почти во всех промежуточных реакциях свертывания (в превращении протромбина в тромбин, в активации факторов V, VII, тромбопластина тканей и крови, способствует вязкому метаморфозу тромбоцитов и освобождению факторов пластинок и т. д.).

V ф а к т о р — проакцелерин (ас-глобулин плазмы). Биосинтез происходит в печени. Однако допускается возможность синтеза его клетками ретикуло-эндотелиальной системы вообще и костным мозгом в частности. Витамин K не оказывает никакого влияния на синтез V фактора.

VI ф а к т о р (ас-глобулин сыворотки) — акцелерин. Фактор VI отсутствует в свежей плазме. Он вырабатывается в процессе коагуляции параллельно потреблению фактора V. Фактор VI более активен. На этом основании Owgen сделал предположение, что фактор V (проакцелерин) является предшественником акцелерина. Активация V фактора происходит под действием тромбина.

Фактор V (VI) является плазменным ускорителем превращения протромбина.

VII ф а к т о р — проконвертин — сывороточной акцелератор превращения протромбина в тромбин. Биосинтез VII фактора происходит в клетках печени при участии витамина K. Проконвертин находится в циркулирующей крови в недействительной форме.

Конвертин — активная форма проконвертина. Активация VII фактора происходит в самом начале цепной реакции при контакте с чужеродной поверхностью. В процессе свертывания проконвертин не потребляется и сохраняется в сыворотке.

Тромботропин — необходимый фактор для начальной стадии свертывания. Тромботропин активирует тромбокиназу кровяных пластинок и тканей.

В настоящее время считают, что тромботропин, описанный Б. А. Кудряшовым в 1948 г., и проконвертин — Owgen в 1951 г., одно и то же вещество.

VIII ф а к т о р — антигемофилический глобулин принадлежит к глобулинам плазмы, являясь неактивным тромбопластином плазмы. Активация его происходит под действием 3-го фактора пластинок, IX, X и XI факторов плазмы.

Антигемофилический глобулин участвует (потребляется) в реакции. При его отсутствии протромбин крайне медленно превращается в тромбин.

Фактор VIII неустойчив. Он исчезает из кровотока через 24—48 часов. О месте образования VIII фактора в организме известно мало.

IX ф а к т о р — фактор Кристмаса, тромбопластический фактор плазмы. Является ускорителем образования тромбопластина крови. Сам фактор не потребляется в процессе коагуляции, но его присутствие необходимо для образования активной тромбокиназы крови.

X ф а к т о р (фактор Проуэра-Стюарта, Коллера) — белковый компонент плазмы. Входит в состав тромбопластического комплекса крови, ускоряя процесс образования активного тромбопластина и превращения протромбина в тромбин вместе с V фактором и кальцием.

XI ф а к т о р (фактор Розенталя) — третий тромбопластический фактор плазмы. Ускоряет процесс тромбопластинообразования. В процессе свертывания фактор лишь частично утилизируется. Поэтому он обнаруживается и в плазме, и в сыворотке.

XII ф а к т о р (фактор Хагемана), или фактор контакта. Тромбопластический фактор связан с фракцией глобулина плазмы и принимает участие в образовании тромбопластина крови. Вне организма XII фактор играет роль пускового механизма в свертывании крови. Предполагают, что *in vivo* кровь сохраняется в жидком состоянии благодаря присутствию прямых антагонистов фактора XII, которые устраняются лишь в условиях *in vitro*.

XIII ф а к т о р — фибринстабилизирующий фактор.

Витамин К — антигеморрагический витамин коагуляции.

Витамин К поступает в организм главным образом с пищей и частично образуется микрофлорой кишечника. Всасывание его происходит в присутствии желчных кислот. Витамин К не участвует в реакциях гемостаза, но способствует синтезу в печени факторов свертывания II, VII, IX, X и XI.

ТРОМБОЦИТАРНЫЕ ФАКТОРЫ

Экзогенные факторы свертывания тромбоцитов — факторы плазмы, адсорбированные на поверхности кровяных пластинок (факторы плазменного покрова тромбоцитов), эндогенные — образующиеся в кровяных пластинках.

Тромбоцитарные факторы свертывания обозначают арабскими цифрами. Однако не все факторы пластинок обозначаются исследователями одинаково, поэтому различные обозначения не приводятся.

1-й ф а к т о р пластинок ускоряет образование тромбина. Считают, что 1-й фактор пластинок — это проакцелерин, адсорбированный на пластинках.

2-й ф а к т о р — фибринопластический, ускоряет реакцию превращения фибриногена в фибрин, усиливает активность тромбина. Принадлежит к эндогенным факторам.

3-й ф а к т о р эндогенного происхождения. Вместе с тромбопластическими факторами плазмы VIII, IX, X, XI и кальцием он образует тромбокиназу крови.

4-й ф а к т о р обладает антигепариновым действием, нейтрализуя гепариновую активность плазмы, укорачивает тромбиновое время. Локализуется он в гиаломере пластинок.

Фактор плазменного покрова тромбоцитов способствует вязкому метаморфозу тромбоцитов.

Антифибринолизин пластинок задерживает фибринолиз.

Серотонин — сосудосуживающий и уменьшающий проницаемость сосудистой стенки экзогенный фактор. Существует мнение, что серотонин адсорбируется тромбоцитами, причем адсорбция происходит при циркуляции кровяных пластинок через сосуды желудка и кишечника, богатые серотонином. Серотонин освобождается в месте повреждения сосуда и ведет к сужению сосуда. Сужение

способствует замедлению кровотока и созданию необходимых условий для образования тромбоцитарной пробки и нитей фибрина, так называемого белого тромба.

Фактор, тормозящий тромбокиназу (ингибитор тромбопластина). Фактор, названный в 1918 г. Гланцманом ретрактоэнзим или ретрактозим (Fopio). Считали, что он находится в гиаломере и вызывает сокращение кровяного сгустка.

Ретракция (сокращение) образовавшегося кровяного сгустка определяется количеством пластинок и их функциональной способностью. Ретракция обуславливает уменьшение сгустка за счет уплотнения нитей фибрина и сопровождается отжатием сыворотки. Значение ретракции в остановке кровотечения, по мнению некоторых авторов, заключается в закупорке сосуда образовавшимся более плотным тромбом. Ретракция — функция живых пластинок. Роль кровяных пластинок в ретракции сгустка известна в течение 50 лет. За последние годы, однако, гипотеза ретрактозима Гланцмана была заменена теорией, согласно которой ретракция зависит от содержания в пластинках АТФ (следовательно, связана с энергетическим обменом) и от наличия в тромбоцитах сократительного белка — тромбастенина, способного к движению. В процессе образования сгустка интактные кровяные пластинки прилипают к фибриновым нитям и вызывают их скручивание и укорочение, что приводит к сокращению фибриновой сети.

Энергия для этого сокращения передается с АТФ, которая синтезируется в процессе анаэробного гликолиза в гиаломере кровяных пластинок и содержится в очень высокой концентрации в тромбоцитах и в тканях.

Кроме того, ретракция кровяного сгустка зависит от концентрации фибриногена. Повышение фибриногена замедляет ретракцию.

Механизм свертывания крови

Процесс свертывания крови рассматривается как цепная реакция. При ранении кровеносного сосуда выступившая кровь приходит в соприкосновение с поврежденной тканью, вследствие чего происходит активация VII и X факторов, которые вместе с ионами кальция вызывают образование активного тромбопластина тканей.

На первом этапе под действием тканевого тромбопластина образуются минимальные количества тромбина, недостаточные для того, чтобы в полной мере обеспечить превращение фибриногена в фибрин. Образовавшиеся небольшие количества тромбина превращают проакцелерин в акцелерин и вместе с ионами кальция и глюкозой вызывают дезинтеграцию тромбоцитов. Выделенный при дезинтеграции 3-й тромбоцитарный фактор в сочетании с плазменным фактором VIII образует активную тромбокиназу крови. Образование тромбокиназы крови ускоряется 4 глобулиновыми факторами плазмы (IX, X, XI и XII). Для активации тромбокиназы крови необходимо присутствие ионов кальция.

Под действием активного тромбопластина крови, ионов кальция и 1-го тромбоцитарного фактора происходит превращение протромбина в тромбин. Процесс превращения протромбина активируется акцелерином и конвертином.

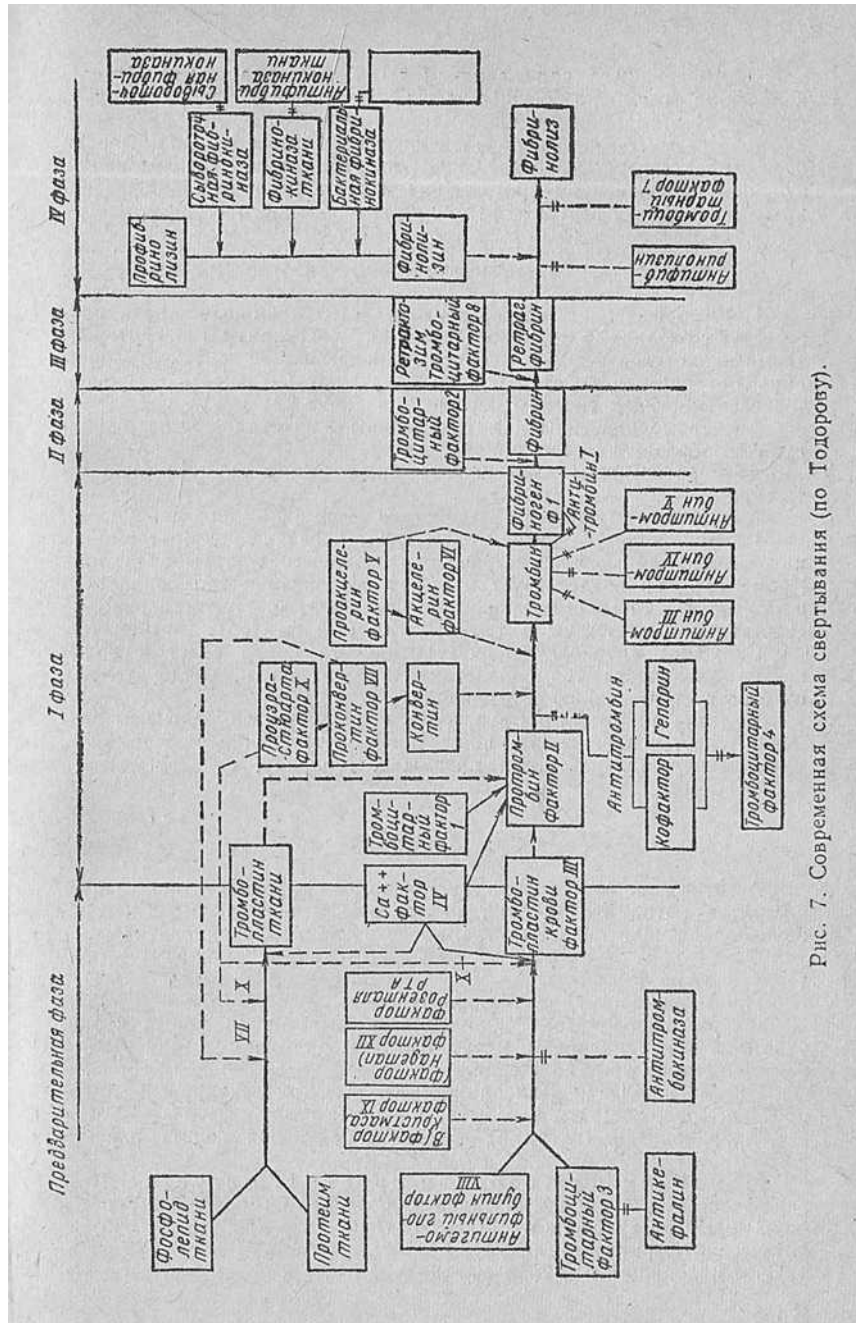


Рис. 7. Современная схема свертывания (по Голорому).

Образовавшиеся под влиянием тромбопластина крови большие количества тромбина осуществляют превращение фибриногена в фибрин. В этом процессе принимает участие 2-й фактор пластинок.

Всю схему гемостаза подразделяют на 4 фазы (рис. 7). Первая фаза характеризуется образованием активной тромбокиназы крови, вторая — превращением протромбина в тромбин, третья — образованием фибрина, четвертая — растворением кровяного сгустка.

Факторы, тормозящие свертывание крови

Помимо факторов, способствующих свертыванию, в крови присутствуют различные физиологические антикоагулянты (ингибиторы), тормозящие свертывание крови. Физиологические антикоагулянты обладают прямым действием. Они блокируют активность компонентов свертывающей системы непосредственно в кровотоке.

Антитромбопластины и антикефалины — антикоагулянты, блокирующие образование тромбопластина.

Антипротромбины замедляют превращение протромбина в тромбин.

Антитромбины тормозят действие тромбина на фибриноген. Гепарин является ингибитором фазы превращения протромбина в тромбин, тормозя действие образовавшегося тромбопластина. Кроме того, он воздействует на фазу образования тромбопластина и тормозит тромбин-фибриногеновую реакцию. Антигепариновые субстанции обнаружены в тромбоцитах (4-й фактор), эритроцитах.

Снижение антикоагулянтной активности крови ведет к повышению активности тромбопластина и тромбина и, следовательно, способствует ускорению свертывания.

Наличие антикоагулянта в крови проявляется замедленным временем свертывания крови, понижением потребления протромбина, уменьшением толерантности плазмы к гепарину, гипокоагуляцией в тромботесте.

Фибринолиз

Асептическое растворение сгустка является ферментативным процессом, в котором участвуют активаторы и ингибиторы. Система, обуславливающая лизис сгустка, носит название фибринолитической.

Факторы фибринолиза. Лизокиназы (киназы) — протеолитические ферменты.

Профибринолизокиназа — проактиватор.

Фибринолизокиназа (фибринокиназа) — активная форма проактиватора. Фибринокиназы могут быть сывороточного, тканевого и бактериального происхождения.

Профибринолизин (плазминоген) — высокомолекулярный липопротеид, содержащийся в избытке в плазме.

Фибринолизин (плазмин) — фермент, активная форма плазминогена.

Механизм растворения кровяного сгустка. Первая фаза: под влиянием различных воздействий происходит освобождение и поступление в тканевую жидкость и кровь ряда протеолитических ферментов (лизокиназы или киназы). Лизокиназы активируют находящийся в тканевой жидкости и плазме проактиватор —

профибринолизокиназу, превращая его в активатор — фибринолизокиназу (фибринокиназу). Во второй фазе под действием фибринокиназы сывороточного, тканевого или бактериального происхождения находящийся в плазме плазминоген (профибринолизин) превращается в активный фермент плазмин (фибринолизин). В третьей фазе под влиянием плазмина фибрин расщепляется на растворимые молекулы фибрин-полипептидов, что и ведет к растворению сгустков фибрина. В мелких сосудах тромб полностью растворяется, а в крупных происходит его реканализация.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ СИСТЕМЫ СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ

- Посуда и оборудование.**
1. Водяной ультратермостат или
 2. Водяная баня.
 3. Термостат.
 4. Сушильный шкаф.
 5. Центрифуга до 3000 об/мин.
 6. Холодильник для поддержания температуры 4—8°.
 7. Весы аналитические.
 8. Весы торзионные.
 9. Весы аптекарские.
 10. Секундомеры.
 11. Штативы.
 12. Термометр ртутный для воды.
 13. Фарфоровые ступки.
 14. Огнеупорная посуда.
 15. Резиновые груши.
 16. Микропипетки на 0,1 и 0,2 мл.
 17. Пипетки на 1, 2, 5 и 10 мл.
 18. Пипетки пастеровские.
 19. Цилиндры градуированные.
 20. Мерные колбы.
 21. Пузырьки и банки с притертыми пробками.
 22. Химические стаканы.
 23. Агглютинационные пробирки.
 24. Центрифужные пробирки, градуированные и неградуированные.
 25. Эксикатор.
 26. Стекланные палочки.
 27. Карандаши по стеклу.
- Реактивы.**
1. Физиологический раствор хлорида натрия (0,85% раствор).
 2. 0,1 М раствор щавеловокислого натрия ($\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$). 13,4 г вещества помещают в мерную колбу на 1 л и доводят дистиллированной водой до метки.
 3. 3,8% раствор цитрата натрия.
 4. 5% раствор хлорида кальция (CaCl_2). Из этого раствора готовят 0,05 и 0,555% растворы.
 5. 0,025 М раствор хлорида кальция. 2,775 г растворяют в мерной колбе на 1 л дистиллированной воды.
- Для приготовления растворов хлорида кальция навеску готовят из сухого прокаленного хлорида кальция и хранят в эксикаторе.

Растворы можно готовить из ампульного 10% раствора, зная, что удельный вес 5% раствора равен 1,040.

6. Сульфат бария ($BaSO_4$) рентгенологический.

7. Тканевый тромбопластин. Применяется тромбопластин производства Ленинградского института переливания крови или изготовленный следующим образом. Человеческий мозг, освобожденный от оболочек и сосудов, промывают проточной водой. Серое вещество растирают в ступке с ацетоном приблизительно в равных весовых соотношениях. После отстаивания ацетон сливают, а мозговое вещество вновь растирают с новой порцией ацетона. Процедуру повторяют 3—4 раза. Полученную массу намазывают на чистое стекло и досушивают на воздухе, затем соскабливают со стекла и растирают в ступке. Полученный порошок запаивают в ампулы или хранят в небольших флаконах в холодильнике при температуре 4° .

Для приготовления рабочего раствора тромбопластина 100 мг сухого порошка вносят в центрифужную пробирку, прибавляют 5 мл физиологического раствора и помещают на водяную баню при $46-48^\circ$ на 10 минут. Содержимое пробирки все время растирают стеклянной палочкой. Полученную суспензию центрифугируют в течение 5 минут при 1500 об/мин или оставляют отстаиваться 30 минут. Жидкость над осадком сливают и используют для работы.

8. Тромбин (производства Ленинградского института переливания крови). Для получения рабочего раствора 1—3 мг сухого тромбина в зависимости от его активности разводят в 1 мл физиологического раствора; готовят перед употреблением.

9. Раствор тромбина, лишенный профибринолиза (плазминоген), производства Каунасского предприятия бакпрепаратов при Научно-исследовательском институте эпидемиологии, микробиологии и гигиены: 2 мг тромбина растворяют в 1 мл физиологического раствора. Единицей активности считают то количество тромбина, которое вызывает свертывание 1 мл плазмы за 30 секунд.

10. 0,1% раствор толундиновой сини.

11. Сульфатно-бариевая плазма — оксалатная плазма донора, адсорбированная на сульфате бария или трехкальциевом фосфате. 100 мг сульфата бария встряхивают в пробирке с 1 мл оксалатной плазмы. Содержимое пробирки инкубируют на водяной бане в течение 10 минут при 37° и центрифугируют 30 минут при 3000 об/мин. Жидкость над осадком отсасывают и проверяют в ней протромбиновое время. Если в течение 1—2 минут не наступает свертывания, плазма пригодна для работы. Хранят в замороженном виде.

12. Раствор борнокислого натрия: 9 г хлорида натрия и 1 г борнокислого натрия ($Na_2B_4O_7$) растворяют в 1 л дистиллированной воды.

13. Раствор уксусной кислоты: 1 мл 1% раствора уксусной кислоты и 90 мл дистиллированной воды.

14. Основной буферный раствор: 29,428 г медиала и 19,428 г трехводного ацетата натрия ($CH_3COONa \cdot 3H_2O$) растворяют в 1 л дистиллированной воды; хранят при 4° .

15. Буферный раствор с pH 7,0 следующего состава: 90 мл физиологического раствора, 5 мл 0,1 N раствора соляной кислоты и 5 мл основного буферного раствора.

16. 12,5% раствор карбоната натрия (Na_2CO_3).

17. 0,01 M раствор сульфата меди ($CuSO_4$); 2,4972 г кристаллической соли растворяют в 1 л дистиллированной воды.

18. 0,1 N раствор едкого натра.

19. Реактив Фолина—Чикалто. Готовят следующим образом: в колбу емкостью 1500 мл вносят 100 г вольфрамвокислого натрия ($\text{NaWO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) и 25 г молибденовокислого натрия ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), добавляют 700 мл дистиллированной воды, 50 мл 85% раствора ортофосфорной и 100 мл концентрированной соляной кислот. Колбу соединяют с обратным холодильником резиновой или корковой пробкой, обернутой фольгой. Раствор кипятят в течение 10 часов (можно в два приема). После этого холодильник отсоединяют. К раствору добавляют 150 г сульфата лития, 50 мл дистиллированной воды и несколько капель жидкого брома. Смесь кипятят в течение 10—15 минут до удаления избытка брома. Раствор после охлаждения фильтруют и доводят объем до 1 л. Хранят в плотно закрытых флаконах. Реактив не должен иметь зеленоватого оттенка, вызванного присутствием продуктов восстановления вольфрама. При появлении зеленого оттенка добавляют несколько капель чистого брома и вновь кипятят.

Перед работой готовят из основного рабочий раствор разведением в 3 раза дистиллированной водой.

20. Гепарин-кальциевая смесь:

а) физиологический раствор;

б) 0,025 M раствор хлористого кальция;

в) гепарин (раствор). В 5 мл венгерского гепарина содержится 25 000 единиц. Из этих реактивов готовят гепарин-кальциевую смесь. В пробирку отмеривают 0,1 мл гепарина и 0,9 мл физиологического раствора (0,1 мл смеси содержит 50 единиц). Затем 0,1 мл смеси разводят в 100 мл 0,025 M раствора хлорида кальция (разведение в 1000 раз). Это рабочий раствор, в 1 мл которого содержится 0,5 единицы. Хранить в холодильнике.

21. 0,1 M раствор оксалата аммония (355 мг оксалата аммония растворяют в 25 мл дистиллированной воды).

22. Взвесь кровяных пластинок: 5 мл оксалатной крови донора (1:10) центрифугируют в течение 5 минут при 1000 об/мин. Лучше пользоваться парафинированной пробиркой. Обогащенную тромбоцитами плазму отсасывают и снова центрифугируют в течение 30 минут при 3000 об/мин или 5 мин при 15 000 об/мин. При этом пластинки осаждаются на дно пробирки.

К осадку приливают равное удаленной плазме количество физиологического раствора, осторожно смешивают и центрифугируют 30 минут при 3000 об/мин. Надосадочный слой удаляют, к осадку вновь приливают такое же количество физиологического раствора, центрифугируют при тех же условиях и $\frac{2}{3}$ надосадочной жидкости удаляют. Оставшуюся $\frac{1}{3}$ физиологического раствора смешивают с осадком пластинок стеклянной палочкой. Тромбоциты могут храниться при 4—8° в течение недели, в замороженном виде значительно дольше.

23. Субстрат-плазма. Свободную от пластинок плазму отсасывают и хранят в холодильнике в замороженном виде для дальнейшего ее использования в качестве субстрата.

24. Оставшаяся (долго стоявшая) сыворотка: сыворотку здорового человека выдерживают в термостате при 37° 24—48 часов. Она содержит VII, IX, X, XI, XII факторы.

25. Долго стоявшая плазма. Оксалатную плазму здорового человека отделяют в пробирку и оставляют в термостате при 37° на 24—

48 часов. Она содержит II, VII, VIII, IX, X, XI, XII факторы и не содержит фактора V.

26. Тромбопластин-кальциевая смесь. Готовят непосредственно перед исследованием путем смешивания равных объемов тромбопластина и 0,555% раствора хлорида кальция.

27. Плазма донора со сниженной активностью фактора V. Получается из оксалатной плазмы центрифугированием при 2000 об/мин в течение 10 минут и хранением при 37° в продолжение 24—30 часов в незакрытой пробирке. Время Квика этой плазмы должно быть 40—60 секунд.

28. 50% раствор спирта.

29. 2% спиртовой раствор β-нафтола (2 г β-нафтола растворяют в 100 мл 50% спирта).

30. 0,12% раствор мочевины.

31. 0,3% раствор моноiodуксусной кислоты.

ВЗЯТИЕ КРОВИ

Кровь берут иглой из вены самотеком в две центрифужные пробирки. В первую центрифужную градуированную пробирку отмеривают 0,6—1 мл 0,1 М раствора щавелевокислого натрия и до 6—10 мл крови (разведение 1:10). Осторожно смешивают и оставляют стоять на 20 минут. Для получения плазмы, содержащей кровяные пластинки, кровь центрифугируют в течение 5—8 минут при 1000—1500 об/мин. Кровь и плазму до начала исследования следует хранить в холодильнике или на тающем льду. В плазме из первой центрифужной пробирки определяют комплексные тесты всех трех фаз процесса свертывания.

Во вторую пробирку наливают 3—4 мл крови без стабилизатора и помещают пробирку в термостат или водяную баню при 37°. Через час после свертывания крови определяют в сыворотке потребление протромбина.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ СВЕРТЫВАНИЯ ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ

Определение времени свертывания крови по методу Ли и Уайта (Lee, Whit)

В пробирку отмеривают 1 мл венозной крови, одновременно включают секундомер. Пробирку устанавливают на водяной бане при 37°. Через каждые 30 секунд пробирка наклоняется на бок. В начале исследования кровь свободно стекает по стенке пробирки. Определение ведут до тех пор, пока не образуется плотный сгусток. Время от момента взятия крови до появления сгустка является временем свертывания крови. Нормальное время свертывания крови здоровых людей от 5 до 9 минут.

Определение времени рекальцификации плазмы по модифицированному методу Хауэлла

Принцип. В стабилизированной крови свободные ионы кальция связываются стабилизатором и кровь лишается способности к свертыванию. При прибавлении раствора хлорида кальция в крови вновь появляются свободные ионы кальция, что возвращает ей способность к коагуляции.

Реактивы. 1. Физиологический раствор.
2. 0,025 М раствор хлорида кальция.

Ход определения. В агглютинационную пробирку отмеривают 0,1 мл раствора хлорида кальция и 0,1 мл физиологического раствора. Пробирку помещают на водяную баню при 37°. Через 60 секунд вводят 0,1 мл оксалатной плазмы (1:10). Секундомером замечают время свертывания плазмы. Опыт повторяют и вычисляют среднее арифметическое.

Оксалатная плазма здорового человека при добавлении к ней оптимального количества кальция свертывается в течение 60—120 секунд.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ НАРУШЕНИЯ ПЕРВОЙ ФАЗЫ ПРОЦЕССА СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ (ОБРАЗОВАНИЕ АКТИВНОГО ТРОМБОПЛАСТИНА КРОВИ)

При исследовании первой фазы свертывания определяют остаточную протромбиновую активность сыворотки для ограничения гемофильных состояний. Нарушение потребления протромбина указывает на понижение тромбопластиновой активности крови в результате дефицита VIII, IX, X, XI факторов плазмы или 3-го фактора пластинок, образующих активную тромбокиназу крови.

Для дифференциальной диагностики гемофилий ставят тест генерации тромбопластина с добавлением сыворотки, содержащей IX фактор (для установления гемофилии В), плазмы, содержащей VIII фактор (гемофилия А) и с сульфатнобариевой сывороткой, лишенной IX фактора, но сохранившей X фактор для исключения гемофилии С. С целью установления дефицита 3-го фактора пластинок тест генерации проводят со взвесью функционально полноценных тромбоцитов.

При тромбоцитопении дефицит 3-го фактора пластинок может быть также обнаружен определением времени рекальцификации и определением потребления протромбина. При этом коагуляционный дефект корригируется добавлением тромбоцитов донора.

Определение потребления протромбина (остаточная протромбиновая активность) по Бринкхаусу (Brinkhous) в модификации Мачабели

Принцип. В процессе свертывания потребляется очень небольшое количество протромбина (меньше 10%), но в течение часа утилизируется больше 80%. При нарушении образования кровяного тромбопластина протромбин не потребляется и через 1 час после свертывания сохраняется в сыворотке приблизительно в том же количестве, что и в плазме.

Реактивы. 1. 0,1 М раствор оксалата натрия.
2. 0,025 М раствор хлорида кальция.
3. Тромбопластин.
4. Оксалатная плазма, адсорбированная на сульфате бария (сульфатнобариевая плазма), — лишенная II, VII, IX факторов.

Ход определения. Определяют остаточную протромбиновую активность в сыворотке через 1 час после спонтанного свертывания при 37°. Перед опытом сыворотку отделяют от сгустка и центрифугируют в течение 5 минут при 2000 об/мин. Для декальцинации и прекращения дальнейшего превращения протромбина в тромбин к 0,45 мл исследуемой сыворотки добавляют 0,05 мл 0,1 М раствора щавелевокислого натрия и ставят в термостат при 37° для инактивации тромбина. Через 30 минут определяют протромбиновое время сыворотки. Для этого в агглютинационную пробирку отмеривают 0,1 мл тромбопластина, 0,1 мл сульфатнобариевой плазмы, являющейся в данном случае источником фибриногена, и 0,1 мл исследуемой сыворотки. Пробирку помещают на водяную баню при 37°, через 30 секунд добавляют 0,1 мл хлорида кальция и секундомером отмечают время свертывания. В норме оно равняется 30—60 секундам. Высокое время свертывания (120 секунд) наблюдается при повышенной активности кровяного тромбопластина.

Тест генерации (образования) тромбопластина, модифицированный метод Биггса и Дугласа (Biggs и Douglas)

Принцип. Образование в пробирке активного кровяного тромбопластина путем соединения тромбопластических факторов плазмы (первая ступень) и испытание активности полученной тромбопластической смеси путем одновременного прибавления ее к субстрат-плазме (бестромбоцитарная плазма) (вторая ступень).

Реактивы. 1. 0,025 М раствор хлорида кальция.
2. Физиологический раствор.
3. 0,1 М раствор оксалата натрия.
4. Взвесь функционально полноценных кровяных пластинок.
5. Сыворотка больного (источник фактора IX) должна быть свободна от протромбина и тромбина. Поэтому спонтанно свернувшуюся кровь выдерживают при 37° 5—7 часов (не менее 2 часов) или 12—24 часа при комнатной температуре и отделяют от сгустка центрифугированием. Перед работой сыворотку разводят из расчета 1:10 физиологическим раствором.
6. Сульфатнобариевая плазма — оксалатная плазма больного, адсорбированная сульфатом бария, лишенная протромбина, проконвертина и антигемофильного глобулина В. В опыт берут плазму, разведенную физиологическим раствором из расчета 1:5 (источник VIII фактора).
7. Сыворотка донора (источник IX фактора), приготовленная аналогично сыворотке больного, разведенная физиологическим раствором (1:10).
8. Оксалатная плазма донора, адсорбированная сульфатом бария, лишенная II, VII и IX факторов (источник VIII фактора), разведенная физиологическим раствором (1:5).

9. Субстрат-плазма (оксалатная плазма донора, лишенная тромбоцитов).

Ход определения. У одного больного проводят два определения с плазмой, адсорбированной сульфатом бария, и с сывороткой. При этом соответственно меняют состав тромбопластиновой смеси.

На водяной бане при 37° устанавливают 6 агглютинационных пробирок. В 5 из них отмеривают по 0,1 мл субстрат-плазмы. В 6-ю пробирку вводят 0,2 мл сыворотки больного, 0,2 мл плазмы донора, 0,2 мл взвеси тромбоцитов и 0,8 мл хлорида кальция. В момент введения последнего включают секундомер.

Сразу же 0,2 мл тромбопластиновой смеси переносят из 6-й пробирки в 1-ю и отмечают время свертывания плазмы. Затем опыт повторяют со 2-й пробиркой, с 3-й и т. д., соблюдая одноминутные интервалы между определениями. Определение ведут в течение 5—6 минут. В нормальной крови образование кровяного тромбопластина достигает максимума в течение 4—5 минут инкубации смеси исследуемых реагентов. При этом активный тромбопластин вызывает свертывание субстрата за 9—12 секунд. Следовательно, нормализация свертывания плазмы должна наступить к 4-й минуте.

Опыт повторяют, изменив состав тромбопластиновой смеси. Берут 0,2 мл плазмы больного, 0,2 мл сыворотки донора, 0,2 мл взвеси тромбоцитов и 0,8 мл хлорида кальция.

Исследование образования кровяного тромбопластина позволяет дифференцировать гемофилию А от гемофилии В. При гемофилии А свертывание нормализуется на 4-й минуте в сыворотке, при гемофилии В — в плазме.

Пр и м е р.

	1 минута	2 минуты	3 минуты	4 минуты	5 минут
	1-я про- бирка	2-я про- бирка	3-я про- бирка	4-я про- бирка	5-я про- бирка
Гемофилия А					
Тромбопластин с сывороткой больного	39 секунд	22 секунды	14 секунд	12 секунд	12 секунд
Тромбопластин с плазмой больного	58 секунд	46 секунд	35 секунд	27 секунд	27 секунд

На 4-й минуте при добавлении тромбопластина с плазмой донора и сывороткой больного время свертывания субстрат-плазмы нормализовалось. При добавлении тромбопластина с плазмой больного и сывороткой донора время свертывания к 4-й минуте осталось высоким.

Определение недостаточности 3-го фактора пластинок

Принцип. Определение времени потребления протромбина с добавлением тромбоцитов донора параллельно с обычным методом определения времени потребления протромбина. Тест предложен для

дифференцирования гемофильных состояний от дефицита 3-го фактора пластинок.

- Реактивы.** 1. 0,1 М раствор оксалата натрия.
2. 0,025 М раствор хлорида кальция.
3. Тромбопластин.
4. Сульфатнобариевая плазма.
5. Взвесь тромбоцитов.

Ход определения. Берут две центрифужные пробирки. В одну отмеривают 0,75 мл тромбоцитарной взвеси и до 3 мл крови, в другую — 3 мл крови. Обе пробирки помещают в термостат при 37°. Через 1 час параллельно в обеих пробирках определяют время потребления протромбина. При дефиците 3-го фактора пластинок время потребления протромбина нормализуется в пробирке со взвесью тромбоцитов донора.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ НАРУШЕНИЯ ВТОРОЙ ФАЗЫ СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ (ОБРАЗОВАНИЕ ТРОМБИНА)

При нарушении второй фазы свертывания крови исследуют факторы протромбинового комплекса (II, V, VII, X), факторы анти-свертывающей системы и активность тромбина. Нарушение второй фазы гемостаза выявляется следующими тестами: определением активности протромбинового комплекса, толерантности плазмы к гепарину, антитромбина и тромбинового времени. При снижении активности факторов протромбинового комплекса производят определение каждого фактора в отдельности специальными методами или с помощью заменных проб. Эти пробы основаны на определении активности факторов протромбинового комплекса и времени рекальцификации прибавлением в реакцию, кроме обычных ингредиентов, плазмы или сыворотки, содержащих определенный ускоряющий или тормозящий фактор. Коагуляционный дефект II фактора корректирует длительностоящая нормальная оксалатная плазма (которая содержит II, VII, а также факторы IX, X, XI). Дефицит V фактора корректируется сульфатнобариевой плазмой, содержащей V фактор. При недостатке VII, IX, X, XI факторов заменные пробы можно также производить с длительностоящей нормальной сывороткой.

Определение активности факторов протромбинового комплекса (модифицированный метод Квика)

Принцип. Определение времени образования сгустка плазмы (крови) при добавлении к плазме избытка тромбопластина и оптимального количества кальция. В этих условиях время свертывания плазмы характеризует активность протромбина и ускорителей его превращения — факторов протромбинового комплекса (V, VII, X) и гепариноподобных веществ.

- Реактивы.** 1. 0,025 М раствор хлорида кальция.
2. Раствор тромбопластина.

Ход определения. В агглютинационную пробирку вводят 0,1 мл суспензии тромбопластина, 0,1 мл раствора хлорида кальция, нагревают на водяной бане при 37° и через 10 секунд прибавляют 0,1 мл



Рис. 9. Головной конец (сколекс) *Taenia solium*. Увеличение $\times 20$. Оригинал.



Рис. 10. Головной конец *Taeniarrhynchus saginatus* с рудиментом хоботка и 4 присосками. Увеличение $\times 15$. Оригинал.

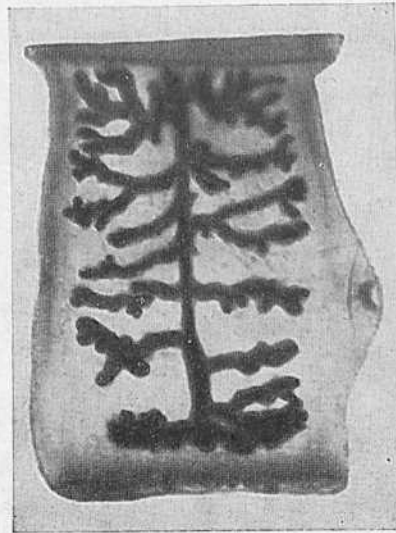


Рис. 11. Зрелый членик *Taenia solium*. Увеличение $\times 14$. Оригинал.

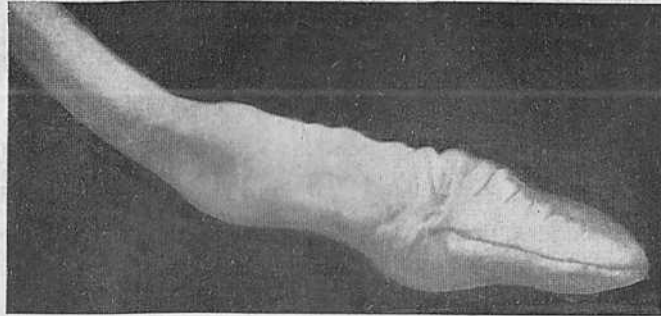


Рис. 12. *Diphylobothrium latum*. Сколекс. Увеличение $\times 18$.
Оригинал.

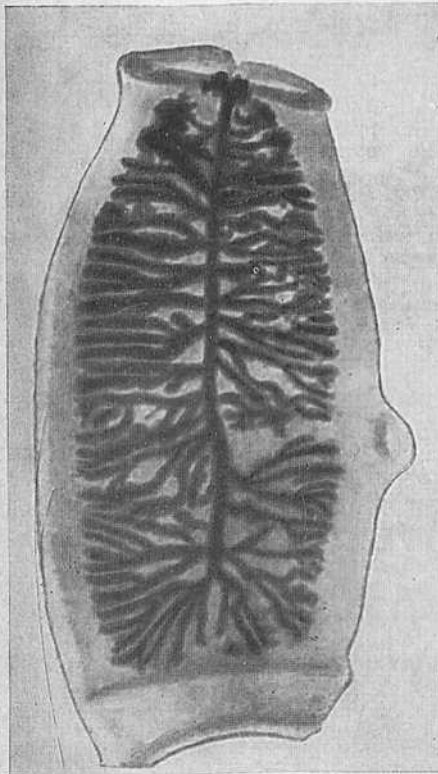


Рис. 13. Зрелый членик *Taeniarrhynchus saginatus* с маткой, занимающей весь членик. Увеличение $\times 6$ (по Подъяпольской и Капустину).

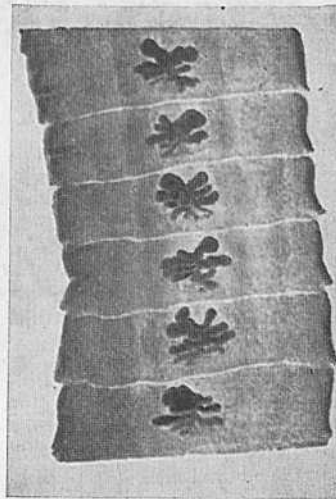


Рис. 14. *Diphylobothrium latum*. Зрелые членики. Увеличение $\times 6$.

испытуемой плазмы. Отмечают время свертывания плазмы с момента добавления последнего ингредиента. Опыт повторяют 2—3 раза и определяют средний арифметический показатель.

Активность факторов протромбина определяют в процентах по формуле:

$$\frac{\text{протромбиновое время плазмы донора}}{\text{протромбиновое время плазмы больного}} \cdot 100.$$

Протромбиновое время крови здорового человека определяют каждый раз при работе с новой серией тромбопластина.

Определить концентрацию факторов протромбинового комплекса можно по калибровочному графику, который строится из данных, соответствующих различным разведениям нормальной плазмы (100, 50, 25 и 12,5%).

Активность факторов протромбинового комплекса выражают в процентах. В норме показатели колеблются в пределах 80—100%.

Определение активности факторов протромбинового комплекса в крови методом Лемана (Lemapp)

- Реактивы.** 1. 3,8% раствор цитрата натрия.
2. 0,5% раствор хлорида кальция.
3. Раствор тромбопластина.

Ход определения. Микропипеткой емкостью 0,1 мл набирают 0,02 мл раствора цитрата натрия и 0,08 мл крови после укола пальца. Содержимое пипетки переносят в пробирку, в две другие пробирки набирают цитратную кровь. Пробирки с кровью помещают на водяную баню при 37°. Через 60 секунд в пробирки добавляют по 0,1 мл раствора тромбопластина и по 0,1 мл раствора хлорида кальция. Определяют время свертывания крови. Расчет производят по той же формуле.

Определение активности факторов протромбинового комплекса (модифицированный метод Марголиной и Лютровник)

- Реактивы.** 1. 0,025 М раствор хлорида кальция.
2. Физиологический раствор.
3. 3,8% раствор цитрата натрия.
4. Раствор тромбопластина.

Ход определения. В пипетку емкостью 0,1 мл набирают 0,02 мл цитрата натрия и 0,08 мл крови. Содержимое пипетки переносят в пробирку и смешивают. Затем в пробирку добавляют 0,4 мл физиологического раствора и смешивают. Определение можно проводить с кровью или с плазмой. В последнем случае содержимое пробирки центрифугируют в течение 5 минут при 2000 об/мин.

В агглютинационную пробирку вносят 0,1 мл плазмы или крови, 0,1 мл тромбопластина и 0,1 мл раствора хлорида кальция и определяют время свертывания. Расчет производят по выше приведенной формуле.

Определение истинного протромбина по Оурену (Owgen двухступенчатый метод)

Принцип. Определение протромбинового времени после прибавления нормальной сульфатнобариевой плазмы в качестве источника фибриногена и V фактора и нормальной сыворотки в качестве VII фактора. В этих условиях результат зависит от наличия истинного протромбина в исследуемой плазме.

Реактивы. 1. Нормальная сульфатнобариевая плазма.
2. Нормальная долго стоявшая сыворотка.
3. Кальцево-тромбокиназная смесь.

Ход определения. В пробирку вводят 0,1 мл оксалатной плазмы большого, разведенной физиологическим раствором 1 : 10, 0,1 мл сульфатнобариевой плазмы и 0,05 мл длительно стоявшей сыворотки. Смешивают и помещают на водяную баню при 37°. Прибавляют 0,2 мл кальцево-тромбокиназной смеси. Определяют время свертывания. Полученные данные откладывают на стандартной калибровочной кривой, которую получают разведением свежей нормальной плазмы физиологическим раствором.

1 : 10 — 100%	1 : 40 — 25%
1 : 15 — 75%	1 : 80 — 12,5%
1 : 20 — 50%	1 : 160 — 6,25%
1 : 30 — 37,5%	и т. д.

Определение тромбинового времени (по методу Сирмаи)

Принцип. Определение времени образования сгустка плазмы при добавлении к ней избытка тромбина.

Реактивы. 1. Раствор тромбина.
2. Физиологический раствор.

Ход определения. В агглютинационную пробирку вводят 0,1 мл испытуемой плазмы и 0,05 мл физиологического раствора. Пробирку помещают на водяную баню при 37°. Через 10 секунд добавляют 0,1 мл раствора тромбина. Отмечают время свертывания плазмы и сравнивают его с временем свертывания плазмы донора.

Толерантность крови к гепарину по Сиггу (Sigg)

Принцип. Определение времени рекальцификации плазмы (или крови) после воздействия на нее гепарина.

Реактивы. 1. Гепарин-кальцевая смесь, в 0,15 мл которой содержится 0,075 единицы гепарина.

2. 0,1 М раствор оксалата натрия (если определение проводится с кровью).

Ход определения. В агглютинационную пробирку отмеривают 0,15 мл оксалатной плазмы, помещают на водяную баню при 37° на 1 минуту. Добавляют 0,15 мл гепарин-кальцевой смеси и секундомером отмечают время образования сгустка. Опыт повторяют. Допускается разница в параллельных пробирках 1 — 1½ минуты. Плазма может быть заменена стабилизированной оксалатной кровью. У здоровых людей границы толерантности крови к гепарину 9—13 минут. Границы толерантности к гепарину плазмы несколько ниже (6—11 мин.), чем крови. После 2—3 часов хранения оксалатной плазмы толерантность к гепарину усиливается и гепариновое время сокращается.

Определение V фактора по методу Льюис и Вейра (Lewis и Ware)

Принцип. Определение скорости свертывания бедной ас-глобулином старой плазмы при добавлении к ней разведенной испытуемой плазмы. Для количественного определения ас-глобулина испытуемую плазму разводят в 20 раз физиологическим раствором. Чем выше концентрация фактора V в свежей плазме, тем больше сокращается время Квика долго хранившейся плазмы.

- Реактивы.** 1. Физиологический раствор.
2. Тромбопластин-кальциевая смесь.
3. Плазма донора со сниженной активностью V фактора.

Ход определения. В агглютинационную пробирку вносят 0,1 мл старой оксалатной плазмы донора и 0,1 мл разведенной 1:20 физиологическим раствором исследуемой плазмы. Пробирку помещают на водяную баню при 37° на 60 секунд, после чего быстро вводят 0,1 мл тромбопластин-кальциевой смеси и отмечают время свертывания плазмы. Ас-глобулин в процентах рассчитывают по формуле:

$$\text{Ас-глобулин} = \frac{\text{время свертывания плазмы донора}}{\text{время свертывания испытуемой плазмы}} \times 100.$$

Время свертывания плазмы донора — берется среднее определяемое у 5 здоровых людей.

Определение можно производить по стандартной кривой содержания ас-глобулина в плазме здоровых людей. Делают разведение плазмы 10 здоровых лиц (1:20, 1:40, 1:60, 1:80, 1:100). Определяют время свертывания плазмы полученных разведений приведенным методом и вычисляют средние величины каждого разведения. Среднюю величину протромбинового времени плазмы, разведенной 1:20, принимают за 100% содержания ас-глобулина, а плазму в разведении 1:100 — за 20%. Полученный результат изображают в виде графика, на котором по горизонтальной оси откладывают содержание ас-глобулина в процентах, по вертикальной — протромбиновое время.

Определение свободного гепарина крови (тест по методу Сирмаи)

Принцип. Используется способность толудинового сини связывать свободный гепарин крови. Введение в опыт раствора толудинового синего взамен физиологического раствора приводит к укорочению тромбинового времени в соответствии с количественным содержанием свободного гепарина крови.

- Реактивы.** 1. 0,1% раствор толудинового синего.
2. Раствор тромбина.
3. Физиологический раствор.

Ход определения. В агглютинационную пробирку отмеривают 0,05 мл физиологического раствора и 0,1 мл испытуемой плазмы. Пробирку помещают на водяную баню при 37°. Через 30 секунд прибавляют 0,1 мл тромбина и отмечают время свертывания плазмы.

В другую агглютинационную пробирку отмеривают 0,1 мл испытуемой плазмы и 0,05 мл раствора толудинового синего. Пробирку

помещают на водяную баню при 37°. Через 30 минут прибавляют 0,1 мл тромбина и отмечают время свертывания плазмы.

Разница во времени свертывания плазмы в 1-й и 2-й пробирках указывает на количество свободного гепарина. В норме она равна 16—20 секундам.

Определение можно проводить с нативной кровью, взятой из пальца.

Определение антитромбина

Принцип. Сравнение активности мозгового тромбина с активностью тромбина испытуемой плазмы.

Реактивы. 1. Раствор тромбина.

2. Оксалатная плазма донора в разведении 1 : 10.

Ход определения. В агглютинационную пробирку отмеривают 0,1 мл плазмы донора и помещают на водяную баню при 37°. Через 30 секунд вносят 0,1 мл тромбина и отмечают время свертывания.

В другую пробирку отмеривают 0,1 мл плазмы больного, помещают на водяную баню при 37°. Через 37 секунд добавляют 0,1 мл тромбина и отмечают время свертывания.

Об увеличении количества антитромбина судят по увеличению времени свертывания плазмы больного в сравнении с временем свертывания плазмы донора.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ НАРУШЕНИЯ ТРЕТЬЕЙ ФАЗЫ СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ (ОБРАЗОВАНИЕ ФИБРИНА)

Определение концентрации фибриногена (суховоздушный метод)

Принцип. Количество образовавшегося фибрина эквивалентно содержанию фибриногена в плазме.

Реактив. 5% раствор хлорида кальция.

Ход определения. В пробирку отмеривают 1 мл оксалатной плазмы, 0,1 мл 5% раствора хлорида кальция помещают на 2 часа в термостат при 37° или на 24 часа оставляют при комнатной температуре. Образовавшийся сгусток извлекают из пробирки и просушивают между листками фильтровальной бумаги до тех пор, пока на бумаге не будет заметно следов влаги. Высушенный фибрин взвешивают на торсионных весах. Полученную величину умножают на специально установленный коэффициент 22,2 и ответ дают в миллиграмм-процентах. В норме в 100 мл крови содержится от 300 до 400 мг фибриногена.

Определение концентрации фибриногена в плазме по методу Рутберг

Принцип. Сравнение веса (воздушно-сухого) сгустка фибрина с весом сгустка, полученного от здорового человека.

Реактивы. 1. 3,8% раствор цитрата натрия.

2. 5% раствор хлорида кальция.

Ход определения. 2 мл венозной крови помещают в центрифужную пробирку, содержащую 0,5 мл 3,8% раствора цитрата натрия. Кровь центрифугируют, а затем отсасывают 1 мл плазмы в отдельную пробирку. К этой плазме добавляют 0,1 мл 5% хлорида кальция и отмечают время. В норме образование сгустка происходит через 7—15 минут. Когда сгусток образовался, его переносят на обеззоленный бумажный фильтр и просушивают другим фильтром до воздушно-сухого состояния, т. е. до тех пор, пока на фильтре не останется влажного пятна. Затем воздушно-сухой фибрин взвешивают на торсионных весах. В норме вес сгустка составляет 10—12 мг.

Расчет: 12 мг фибрина соответствуют в среднем 300 мг% фибриногена, X мг% фибриногена, a — вес сгустка.

$$\text{Следовательно: } X = \frac{300 \cdot a}{12} = 25 \cdot a.$$

Для определения концентрации фибриногена (в миллиграмм-процентах) достаточно вес сгустка воздушно-сухого фибрина умножить на коэффициент 25.

Определение фибриногена В по методу Каммайна и Лайонса

Принцип. Прибавление к сыворотке раствора β -нафтола при наличии в ней фибриногена В приводит к выпадению последнего в виде нитей, гранул или сгустка.

Реактивы. 1. 50% спирт.

2. 2% спиртовой раствор β -нафтола.

Ход определения. В 2 агглютинационные пробирки вводят по 1 мл плазмы. В первую пробирку (контроль) добавляют 5 капель 50% спирта, во вторую пробирку (опыт) — 5 капель 2% раствора β -нафтола. Пробирки встряхивают и оставляют стоять при комнатной температуре 10 минут. Затем читают результат. Положительная реакция отмечается плюсами: мелкие гранулы +, нити или мелкие хлопья ++, небольшой сгусток +++, большой сгусток ++++, отсутствие частиц — отрицательная реакция.

Определение активности фибриназы по методу Сигга и Дукерта

Принцип. Снижение активности фибриназы ведет к нарушению процесса образования нерастворимого фибрина, в результате чего неполноценный по своей структуре сгусток растворяется в растворе щавелевокислой мочевины.

Реактивы. 1. 0,1 М раствор оксалата натрия.

2. 0,3% раствор моноiodуксусной кислоты; готовят перед употреблением.

3. 0,12% раствор оксалата мочевины.

4. 0,025 М раствор хлористого кальция.

Ход определения. В 3 центрифужные пробирки вносят по 0,2 мл оксалатной плазмы и по 0,1 мл раствора моноiodуксусной кислоты.

Смешивают и вводят по 0,4 мл раствора хлорида кальция и снова смешивают. Через 20 минут в пробирки вносят по 2 мл раствора оксалата мочевины. Определяют время полного растворения сгустков фибрина. Выводят среднюю величину времени растворения сгустка фибрина в 3 пробирках. Активность фибриназы определяют по формуле:

$$A_{\Phi} = \frac{A}{B} \cdot 100,$$

где:

A — время лизиса фибрина исследуемой плазмы,
B — время лизиса фибрина, полученного из плазмы здоровых людей (средняя величина, вычисленная при исследовании крови 10 здоровых людей).

По этому методу у здоровых лиц фибриновый сгусток лизируется в среднем в течение $70,6 \pm 15$ секунд.

Тромботест по методу Фуэнте Ита

Принцип. При помещении плазмы в слабый раствор хлорида кальция образуются разные сгустки в зависимости от способности крови к свертыванию.

Реактивы. 0,5% раствор хлорида кальция.

Ход определения. К 5 мл хлорида кальция прибавляют 0,1 мл оксалатной плазмы, осторожно смешивают и ставят в термостат при 37°. Через 30 минут читают результат. Отмечают 7 степеней свертывания:

I — опалесценция.

II — пылинки и мелкие крупинки фибрина.

III — хлопья фибрина, не связанные между собой.

IV — нити или волокна фибрина.

V — сетка из нитей фибрина, занимающая весь объем хлористого кальция в пробирке.

VI — мешочек из сетки фибрина может занимать весь объем хлорида кальция.

VII — плотный большой мешок (сетчатый или волокнистый).

Первые 3 степени наблюдаются при гипокоагуляции; IV, V, VI степени характеризуют нормальное свертывание (VI степеньстораживает); VII степень наблюдается при наклонности крови к тромбозу.

Определение ретракции кровяного сгустка по методу Макферлейна

В градуированную центрифужную пробирку помещают 5 мл венозной крови. В нее погружают стеклянную палочку с шероховатой поверхностью, укрепленную вертикально при помощи пробки, закрывающей пробирку. Пробирку устанавливают на водяной бане при 37°. Через 1 час после свертывания стеклянную палочку удаляют вместе со сгустком. Определяют объем оставшейся сыворотки и выражают его в процентах. Ретракция кровяного сгустка здорового человека — от 44 до 65%.

Определение ретракции кровяного сгустка (микрометод)

В маленькую пробирку вводят 0,5—1 мл венозной крови и следят за тем, через сколько времени выделится первая капля сыворотки. Нормальное время от 1 до 5 часов.

Определение индекса ретракции сгустка. В градуированную центрифужную пробирку вводят 3—5 мл венозной крови и помещают в термостат при 37°. Через 18—24 часа высчитывают индекс ретракции путем деления объема отделившейся сыворотки на общий объем взятой крови. В нормальной крови индекс ретракции равен 0,3—0,5.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФИБРИНОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КРОВИ

Метод Ковальского, Копека и Ниверовского

Принцип. Осаждение в кислой среде и при низкой температуре эуглобулиновой фракции, содержащей факторы свертывания и фибринолиза. Главным компонентом эуглобулиновой фракции является плазминоген. Кроме того, в ней содержатся около 25% фибриногена, протромбин и другие факторы свертывающей системы крови.

Полученный осадок эуглобулинов растворяется, фибриноген превращается в фибрин. Время от момента образования сгустка фибрина до его растворения выражает фибринолитическую активность крови.

Реактивы. 1. 0,1 М раствор оксалата аммония или оксалата натрия.

2. Раствор бората натрия.

3. Кислая вода: 1 мл 1% уксусной кислоты и 90 мл дистиллированной воды.

4. 0,025 М раствор хлорида кальция.

Ход определения. 0,1 мл оксалатной плазмы (1:10) переносят в центрифужную пробирку и добавляют 1,8 мл кислой воды. При этом из плазмы выпадает эуглобулиновая фракция белка. Содержимое пробирки осторожно перемешивают и помещают пробирку в холодильник при 4°. Через 30 минут центрифугируют в течение 10 минут при 2000 об/мин. Надосадочную жидкость отсасывают. К осадку приливают 0,1 мл бората натрия и ставят в термостат при 37° на несколько минут до полного растворения.

Приливают 0,1 мл хлорида кальция. Засекают время образования сгустка и вновь ставят в термостат до полного лизиса. В нормальном сгусток лизируется в течение 150—200 минут.

Определение концентрации фибриногена и фибринолитической активности крови (измененный метод Бидвелла)

Принцип. Определение степени лизиса фибрина после инкубации в термостате. Фибрин получается из фибриногена крови под влиянием добавленного тромбина.

Реактивы. 1. Буферный раствор с рН 7,0 готовят из основного буферного раствора.

2. 12,5% раствор карбоната натрия.

3. 0,01 М раствор сульфата меди.

4. 0,1 N раствор едкого натра.

5. Раствор тромбина, очищенного от плазминогена (2 мг тромбина в 1 мл физиологического раствора, или 20 единиц на 1 мл).

6. Реактив Фолина — Чикалто.

Ход определения. В 2 пробирки отмеривают по 4,8 мл буферного раствора, добавляют по 0,2 мл испытуемой оксалатной плазмы (1:10) по 0,1 мл раствора тромбина и тщательно размешивают стеклянной палочкой, которую оставляют в пробирках. Обе пробирки помещают в водяную баню или термостат при 37° (первую — на 1 час, вторую — на 24 часа). После этого сгусток фибрина осторожно вынимают палочкой, опускают в охлажденный до 0° физиологический раствор и затем тщательно просушивают на листке фильтровальной бумаги.

Снятый с палочки фибрин помещают в мерную пробирку, содержащую 2 мл 0,1 N раствора едкого натра, и ставят в кипящую водяную баню на 10—20 минут до растворения фибринового сгустка. После этого проба может стоять в течение ночи и более при 3—4°. Содержание фибриногена в обеих пробах после часовой и 24-часовой инкубации определяют одновременно. Для этого в пробирки с растворенными сгустками фибрина добавляют по 6 мл 12,5% раствора карбоната натрия и 1 мл 0,01 М раствора сульфата меди и через 10 минут 1 мл рабочего раствора реактива Фолина — Чикалто. Через 30 минут в фотоэлектроколориметре определяют экстинкцию раствора при красном свете в кюветах 5 мм против контроля на реактивы.

Концентрацию фибриногена определяют по стандартной кривой. Стандартная кривая строится из данных, соответствующих растворам фибриногена различной концентрации (0,1, 0,2, 0,4, 0,6, 1 и 2%). На оси ординат откладывают концентрацию фибриногена, на оси абсцисс — показатель экстинкции.

Расчет фибринолитической активности производят по следующей формуле:

$$\text{Фибринолитическая активность (в процентах)} = \frac{A-B}{A} \times 100,$$

где: A — количество фибриногена через час инкубации;

B — количество фибриногена через 24 часа инкубации.

Фибринолитическая активность у здоровых людей колеблется от 15 до 25%, концентрация фибриногена — от 200 до 400%.

Тромбоэластография

Тромбоэластография — метод определения свертывания крови, отражающий весь процесс свертывания в целом — от появления первых нитей фибрина до конечной фазы (фибринолиза) и характеризующий качество сгустка. Прибор, который производит графическую регистрацию динамики свертывания крови, называется тромбоэластограф. При регистрации каждому виду кровоточивости соответствуют характерные кривые — тромбоэластограммы.

Таблица 14

**ЗАВИСИМОСТЬ ОПТИЧЕСКОЙ ПЛОТНОСТИ
ОТ КОНЦЕНТРАЦИИ ФИБРИНОГЕНА В РАСТВОРЕ**
(Г. В. Андреев и Г. Г. Базазьян)

Оптическая плотность	Концентрация фибриногена в мг%	Оптическая плотность	Концентрация фибриногена в мг%	Оптическая плотность	Концентрация фибриногена в мг%
0,02	40	0,20	335	0,37	770
0,03	50	0,21	355	0,38	800
0,05	70	0,22	380	0,39	830
0,06	85	0,23	405	0,40	860
0,07	100	0,24	425	0,41	890
0,08	120	0,25	450	0,42	930
0,09	135	0,26	470	0,43	960
0,10	150	0,27	500	0,44	1 000
0,11	170	0,28	520	0,45	1 030
0,12	185	0,29	550	0,46	1 070
0,13	200	0,30	580	0,47	1 110
0,14	225	0,31	605	0,48	1 150
0,15	240	0,32	630	0,49	1 200
0,16	250	0,33	660	0,50	1 240
0,17	275	0,34	680	0,51	1 310
0,18	295	0,35	720	0,52	1 360
0,19	315	0,36	740	0,53	1 410
0,20	335	—	—	0,54	1 470

Принцип действия тромбоэластографа основан на измерении вязкости крови, изменяющейся в процессе свертывания. Основной частью прибора является кювета, в которой помещается исследуемая кровь. Кювете при помощи электродвигателя с приводом придают колебательное движение вокруг вертикальной оси на угол $4^{\circ}45'$. В кювету погружают стержень с диском на конце. При свертывании вязкость крови постепенно увеличивается и усиливает сцепление между диском и кюветой, в результате чего увеличивается амплитуда поворота диска. Движение диска записывается регистрирующим механизмом. Для регистрации колебаний используют фотосветовую запись.

Кровь для исследования берут пункцией из вены при помощи силиконизированной внутри иглы в кювету из полированной стали в количестве 0,36—0,5 мл (первые порции из иглы выливают). При регистрации получают характерные кривые — тромбоэластограммы.

С момента начала свертывания крови сила сцепления между поплаком и кюветой увеличивается, поэтому луч света, отражаемый от зеркала, начинает двигаться со все нарастающей амплитудой.

Тромбоэластография устанавливает: а) время реакции (R), которое отражает ферментативную фазу свертывания (первая и вторая фазы), т. е. образование тромбопластина и тромбина; б) время

свертывания, время образования сгустка (К) от начала выпадения первых нитей фибрина до формирования сгустка; в) величину максимального расхождения линий (та), характеризующую прочность или эластичность сгустка (Е).

Время реакции (R) определяют расстоянием от начала прямой линии до ее расширения в 1 мм. К полученному числу прибавляют время наполнения кюветы (п).

Время образования сгустка (время свертывания) (К) — расстояние от конца времени реакции R до того места, где кривые тромбоэластограммы расходятся на 20 мм.

Максимальную эластичность тромба (E) рассчитывают по формуле:

$$E = \frac{100 \cdot ma}{100 - ma},$$

где *ma* — максимальная амплитуда кривой. В норме она равна 50—56 мм. Нормальные величины R — от 9 до 14 минут, К — от 5 до 8 минут, E — от 80 до 180 минут.

Тромбоэластограмма позволяет диагностировать повышенную и пониженную свертываемость крови (рис. 8).

При ускоренной свертываемости R и К укорачиваются, а максимальная амплитуда *ma* возрастает. При замедлении, наоборот, R и К удлиняются, а *ma* уменьшается. Укорочение показателей R и К на тромбоэластограммах свидетельствует об ускорении первой и второй фаз свертывания крови. Повышение максимальной амплитуды (*ma*) свидетельствует главным образом об увеличении концентрации фибриногена. Величина E характеризует также функциональную активность тромбоцитов и количество и качество фибриногена.

Каждому виду кровоточивости соответствует определенная тромбоэластограмма. Например, при гемофилии нарушается образование активного кро-

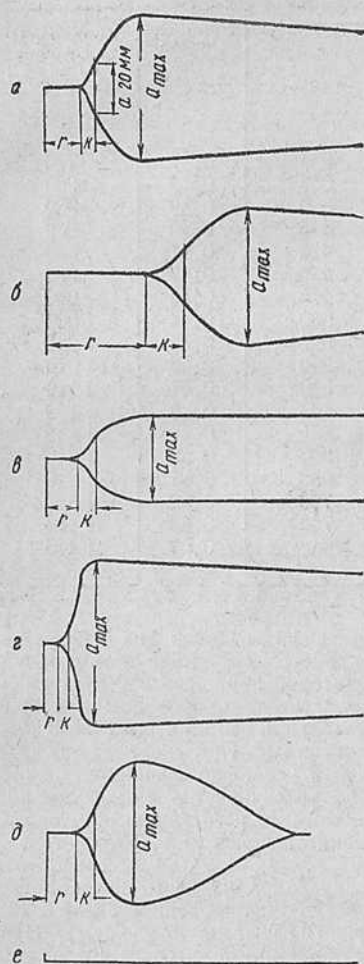


Рис. 8. Тромбоэластограмма при различных состояниях организма. а—нормальная; б—при гемофилии; в—при тромбоцитопении; г—при тромбозе; д—при фибринолизе; е—при афибриногемии.

вяного тромбопластина, резко удлиняется время реакции и свертывания, а максимальная амплитуда остается нормальной. При остром холецистите отмечается резкое укорочение времени реакции R и свертывания (K), значительное увеличение максимальной амплитуды (ma) и повышение эластичности сгустка (E).

При желчнокаменной болезни удлинено время реакции (R) и время образования сгустка, свидетельствующие о замедлении образования тромбопластина и тромбина. Максимальная амплитуда увеличена. При тромбоцитопении резко замедляется время свертывания (K) и уменьшается максимальная амплитуда (ma).

Тромбоэластографический метод исследования может применяться в клинике для контроля за действием антикоагулянтов при их применении в лечебных и профилактических целях.

Длительность кровотечения (укольная проба Дукэ)

При уколе кончика пальца или мочки уха иглой на глубину 3—4 мм выступившую самостоятельно каплю крови снимают фильтровальной бумагой каждые 30 секунд. Продолжительность кровотечения в норме не превышает 4 минут. Время кровотечения увеличивается при тромбоцитопенических состояниях, заболеваниях печени, отравлении фосфором и хлором. При гемофилии время кровотечения нормальное.

Скорость свертывания крови

Определение скорости свертывания крови должно сопровождаться возможно меньшим повреждением форменных элементов и проводится в условиях, приближенных к естественному процессу свертывания крови.

Метод Мас и Магро

На часовое стекло, покрытое тонким слоем парафина, наливают большую каплю вазелинового масла. Определение производят из второй капли крови, полученной из пальца.

Кровь насыщают в капиллярную трубку емкостью 20 мм³, смоченную изнутри парафиновым маслом, и вводят в каплю масла на часовом стекле. Отмечают секундомером время. Каждые 2 минуты кровь насыщают в пипетку. Когда насосать становится невозможно, отмечают время свертывания. В норме при 15—25° кровь свертывается через 8—12 минут.

Метод Ситковского — Егорова

В широкий стеклянный цилиндр наливают воду, подогреваемую спиртовой лампочкой до 37° в течение всего исследования. Кровь набирают из пальца в капилляр до метки. Капилляр, вставленный в резиновую пробку, вводят в цилиндр, который помещается в цилинд-

ре с водой. Цилиндр с капилляром соединяют резиновой трубкой с манометром. С помощью винта в манометре изменяют давление, колебания которого передаются в капилляр, и вызывают движение столбика крови. Отмечают начало свертывания крови от момента введения крови в капилляр до появления первого сгустка (в норме от 1 минуты 35 секунд до 2 минут) и конец свертывания, когда кровь перестает перемещаться в капилляре (в норме от 2 до 4 минут).

Метод Сухарева

Кровь для исследования берут из пальца после удаления первой капли. В сухой капилляр для определения реакции оседания эритроцитов или стеклянную трубку диаметром 1,5—2,5 мм набирают столбик крови высотой 25—30 мм. Кровь наклоном капилляра переводят на середину трубки. Держа капилляр двумя пальцами, покачивают его на 30—45° в обе стороны. Свободное смещение крови указывает, что свертывание еще не наступило. Начало свертывания крови характеризуется замедлением движения крови при наклоне капилляра; на внутренней стенке капилляра появляются небольшие сгустки. Полное свертывание крови соответствует моменту полной остановки движения крови.

В норме начало свертывания от 30 секунд до 2 минут, конец от 3 до 5 минут.

Метод Фолио

Готовят влажную камеру. Для этого в чашку Петри кладут марлю, смоченную водой. Кровь берут из вены в количестве 10 капель на часовое стекло, которое помещают во влажную камеру. Концом запаянной пастеровской пипетки проводят по поверхности крови. Появление первых нитей фибрина считают началом свертывания, образование сгустка — концом свертывания. В норме начало свертывания крови наблюдается через 5—8 минут, конец — через 15—18 минут.

Определение резистентности капилляров

1. Симптом жгута (Румпель — Леде, Кончаловского). На плечо больного накладывают жгут или манжетку тонометра на 3 минуты при давлении 50 мм рт. ст. В сосудах конечности создается венозный застой. В норме при этом на коже предплечья могут появиться единичные петехии. Симптом считается положительным, если петехии возникают не менее одной на 1 см² кожи.

2. Симптом щипка — развитие геморрагического пятна на месте щипка. При этом появившееся кровоизлияние увеличивается и становится более интенсивным.

3. Симптом укола — появление кожных геморрагий после уколов иглой.

4. Инъекционный симптом — появление синяков на месте подкожных инъекций физиологического раствора.

5. Молоточковый симптом — появление на коже синяков при постукивании перкуссионным молоточком.

6. Симптом пальпации — появление синяков в виде отпечатков пальцев на месте пальпации стенки живота.

7. Баночная проба — основана на резистентности капилляров по отношению к отрицательному давлению. Стеклобаночку, соединенную резиновыми трубками с ртутным манометром и шприцем, накладывают на 2 минуты на область предплечья. Отсасывая воздух шприцем, создают отрицательное давление 50—250 мм рт. ст. Положительным симптомом считается появление многочисленных петехий, отсутствие петехий или единичные — отрицательным симптомом.

Баночную пробу можно сделать с помощью аппарата Нестерова типа НПК-5, который выпускается Московским заводом медико-санитарного оборудования. Принцип устройства аппарата состоит в том, что с помощью системы сообщающихся сосудов в банке-присоске создают вакуум. Банку накладывают на кожу. Результат исследования отмечается по количеству образовавшихся под банкой петехий.

Положительные результаты проб на резистентность капилляров наблюдаются при поражении сосудов (геморрагический васкулит, скорбут и др.) при тромбоцитопениях и тромбоцитопатиях (болезнь Верльгофа, геморрагическая тромбоцитопения Гланцмана, болезнь Виллебранта и др.).

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ КОАГУЛОГРАММ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

У больных со свежим инфарктом миокарда отмечаются повышение толерантности плазмы к гепарину и тромбопластиновой активности крови, увеличение концентрации фибриногена и понижение фибринолитической активности крови.

Источником увеличения тромбопластина крови при развитии инфаркта миокарда является, очевидно, тканевый тромбопластин, освобождающийся в некротизированном участке миокарда. Повышение тромбопластиновой активности ведет к ускоренному образованию тромбина при недостаточной защитной реакции со стороны антитвертывающей системы (гепарин).

Закономерное увеличение фибриногена в первые 8—10 дней инфаркта миокарда и степень фибриногемии зависит от болевого синдрома и площади поражения миокарда. Чем обширнее очаг поражения, тем выше концентрация фибриногена. Степень увеличения фибриногена в какой-то мере может служить прогностическим признаком.

К 8—10-му дню у большинства больных отмечается тенденция к снижению протромбина и проконвертина.

В патогенезе тромбозов сосудов ведущая роль придается угнетению фибринолиза. Снижение фибринолитической активности крови расценивается как проявление депрессии антитвертывающей системы.

При недостаточной реакции антитвертывающей системы повышение тромбопластиновой активности, по-видимому, является главной причиной осложнений в постинфарктном периоде.

Обнаружение у больных инфарктом миокарда повышенной фибринолитической активности расценивается некоторыми авторами как компенсаторная реакция.

Все изменения при инфаркте миокарда достигают максимума к 8—10-му дню и нормализуются к 5—6-й неделе, а у более тяжело больных — к 7—8-й неделе.

При тяжелых приступах стенокардии изменения коагулирующей активности крови и антисвертывающей системы происходят в тех же направлениях, что и при инфаркте миокарда, но в меньшей степени и быстрее нормализуются.

При активном ревматизме у больных с пороком сердца и недостаточностью кровообращения I и IIА степени наблюдается тенденция к повышению свертывания крови (повышение толерантности плазмы к гепарину, протромбина и фибриногена, тромбопластиновой активности крови).

При недостаточности кровообращения IIБ степени с венозным полнокровием печени наблюдается снижение толерантности плазмы к гепарину, концентрации II и VII факторов и тромбопластиновой активности крови.

При недостаточности кровообращения III степени замедлено свертывание цельной крови, удлинено время рекальцификации плазмы, снижена толерантность плазмы к гепарину, концентрация II, V и VII факторов и тромбопластиновая активность крови, увеличена концентрация фибриногена и антитромбиновая активность.

В активной фазе ревматизма, несмотря на снижение свертывающей способности крови при IIБ и III степени недостаточности кровообращения, вследствие замедления кровотока, поражения сосудистой стенки, наличия мерцательной аритмии и экстрасистолии остается угроза тромбозов.

При облитерирующем эндартериите сосудов нижних конечностей обнаруживается понижение свободного гепарина и повышение толерантности плазмы к гепарину. Снижение гепариновой активности крови у этих больных способствует тромбообразованию и последующему развитию тяжелых трофических нарушений.

При гипертонической болезни II и III стадии отмечается выраженное угнетение фибринолитической активности. Снижение фибринолиза в условиях повышенной свертываемости крови создает опасность тромбообразования.

При тромбозе мозговых артерий в начале болезни приблизительно у половины больных имеется тенденция к повышенному свертыванию. Спустя 2—3 дня после инсульта свертывание крови замедляется и остается замедленным в течение нескольких недель.

При кровоизлиянии в мозг наступает резкое снижение свертывания крови, а затем постепенная нормализация ее показателей.

При остром холецистите без признаков поражения печеночной паренхимы отмечается повышение общей (коагулирующей) способности крови при снижении гепариновой и фибринолитической активности.

При механической желтухе наблюдается снижение коагулирующей способности крови. При резко выраженной желтухе и длительном застое желчи происходит снижение тромбопластиновой активности и повышение гепариновой и фибринолитической активности крови. Степень выраженности этих изменений зависит от тяжести заболевания, продолжительности холемического состояния и нарушения функции печени.

При поражении паренхимы печени (эпидемический и хронический гепатиты, цирроз) свертываемость крови замедлена. Снижены

толерантность плазмы к гепарину, активность II, V, VII факторов. Концентрация фибриногена увеличивается при эпидемическом гепатите и снижается при хроническом гепатите и циррозах печени. Активация фибринолитической системы чаще происходит при эпидемическом гепатите и циррозах печени и редко при хроническом гепатите. При циррозе печени может наблюдаться понижение активности фибриназы.

Степень изменения показателей обусловлена тяжестью процесса и соответствует биохимическим функциональным пробам печени.

При амилоидном нефрозе наиболее выраженные изменения претерпевает фибринолитическая активность крови. Кроме того, отмечаются повышение концентрации фибриногена А, толерантности плазмы к гепарину и увеличение потребления протромбина.

При острой и хронической пневмонии происходит повышение концентрации фибриногена. Увеличение фибриногена находится в зависимости от остроты и распространенности воспалительного процесса и при нормальных прочих лабораторных данных может указывать на неполное обратное развитие воспалительного процесса в легких. Фибринолиз замедлен, и между ним и концентрацией фибриногена наблюдается параллелизм.

При хирургических вмешательствах (во время операции, в послеоперационном периоде) наблюдаются отклонения от нормы в свертывающей системе. Эти изменения проявляются активацией гемостатической функции крови (ускоряется свертывание крови, повышается содержание фибриногена и фибринолитическая активность крови). Изменения свертывающей системы крови зависят от заболевания, по поводу которого произведено оперативное вмешательство, и от осложнений послеоперационного периода. Чем тяжелее операция, тем резче изменения со стороны показателей свертывания крови. Наиболее выраженные проявления наблюдаются на 2—3-й день после операции.

При спленэктомии и с 5—6-го дня после операции повышается концентрация фибриногена, ускоряется свертывание крови и наблюдается гипертромбоцитоз.

При кровопотерях отмечается повышение свертываемости крови, возможно, вследствие появления в крови циркулирующего тромбина или понижения антикоагулянтной активности крови, в результате чего возрастает наклонность к тромбообразованию.

При гемотрансфузии через 15—30 минут после переливания происходит снижение факторов свертывания и незначительное увеличение свободного гепарина.

После повторных гемотрансфузий в крови к факторам свертывания могут образовываться антитела, что приводит к избытку ингибиторов свертывания крови.

При лучевой болезни изменения в свертывающей системе связаны с недостаточным тромбопластинообразованием и повышением активности ингибиторов прокоагулянтов. При острой лучевой болезни резко падает активность фибриназы, нарушаются свойства и структура фибринового сгустка, падает тромботест.

При лучевой терапии происходит нарушение процесса свертывания крови и увеличивается проницаемость стенки сосудов. Может наблюдаться повышение времени рекальцификации, тромбинового времени и свободного гепарина, снижение II, V, VII факторов, нарушение потребления протромбина. Изменения в коагулограмме зави-

сят от дозы облучения. Наиболее резкие изменения отмечаются при глубокой рентгенотерапии. При короткофокусной рентгенотерапии нарушения в коагулограмме отсутствуют.

При злокачественных опухолях обнаруживается высокая тромбопластическая активность, возможно, вследствие блокирования антитвертывающей системы. Отмечается повышение свертывающей способности крови (увеличение концентрации фибриногена, повышение толерантности плазмы к гепарину, активности протромбинового комплекса, укорочение тромбинового времени и т. д.) и снижение фибринолитической активности.

При раке легкого, предстательной железы и метастазах в печень, т. е. при поражении органов, богатых активаторами фибринолиза, активируется фибринолитическая система.

При хронических и острых лейкозах и при эритремии изменения в коагулограмме в основном обусловлены недостатком факторов свертывания в зависимости от количества кровяных пластинок и степени поражения печени (дефицит плазменных факторов). У части больных острым миелолейкозом снижена активность фибриназы.

Фибринолитическая активность в значительном большинстве случаев усилена.

При геморрагическом васкулите удлинено время рекальцификации, понижена толерантность плазмы к гепарину, отмечается также повышение антитромбиновой и антитромбопластинной активности и снижение фибринолитической активности.

При лечении антикоагулянтами непрямого действия отмечается снижение компонентов протромбинового комплекса (II, VII, X факторы), за исключением V фактора, так как биосинтез его происходит без участия витамина K и IX фактора. Падает активность фибриназы, что ведет к нарушению свойств и структуры фибрина. Применение антикоагулянтов непрямого действия контролируется исследованием факторов протромбинового комплекса и активности ингибиторов свертывающей системы.

При болезни Маркиафава-Микели может наблюдаться склонность к гиперкоагуляции. Возможно, что ускорение свертывания вызывается бурным разрушением эритроцитов и поступлением эритроцитарных факторов в сосудистое русло. Гиперкоагуляция в этих случаях выражается в повышении тромбопластической активности, степени тромботеста, толерантности плазмы к гепарину и снижении фибринолитической активности крови.

При геморрагических диатезах кровотечения могут быть вызваны дефицитом факторов свертывания крови и усилением антикоагулянтной активности.

Дефицит I фактора — афибриногемия — редкая врожденная форма заболевания. Гораздо чаще встречается приобретенная форма гипофибриногемии. К афибриногемии могут привести фибринолиз и фибринолиз, а также увеличенное потребление фибриногена при внутрисосудистом свертывании. Это явление может быть вызвано преждевременной отслойкой плаценты, ручным отделением плаценты, смертью плода с длительным пребыванием в матке.

Синдром Касабаха-Меритта (Kasabach-Meritt) характеризуется афибриногемией в сочетании с тромбоцитопенией и гемангиомами. Масштаб дефибринирования крови зависит от величины гемангиомы.

Дефицит фибриназы приводит к нарушению процесса образования фибрина. Врожденный дефицит фибриназы сопровождается кро-

воточивостью. Снижение активности фермента может быть вследствие инактивации его или появления в крови ингибитора фибриназы.

Дефицит II фактора. Врожденные формы изолированной гипопротромбинемии крайне редки. Приобретенные формы гипопротромбинемии наблюдаются обычно в сочетании с недостатком других факторов протромбинового комплекса (V, VII, X) и IX фактором. В лаборатории коагуляционный дефект II фактора корректируется долго стоявшей нормальной плазмой.

Дефицит III фактора — снижение тромбопластиновой активности может наблюдаться вследствие отсутствия или блокирования каждого участвующего фактора в I фазе гемостаза или так называемой предварительной фазе. Однако геморрагические диатезы с изолированным дефектом тромбокиназы при нормальном участии всех других факторов неизвестны.

Дефицит V (VI) фактора — гипоакцелеринемия. Врожденная форма обозначается как парагемофилия, болезнь Оврена. Дефицит V и VI факторов ведет к снижению активации протромбина и появлению гемофилиеподобной картины с редкими кровоизлияниями в суставы.

Приобретенная форма гипоакцелеринемии изолированно встречается редко, чаще в сочетании с нарушениями других факторов протромбинового комплекса. При исследовании коагулограммы удлинено время свертывания и время рекальцификации плазмы, укорочено время потребления протромбина. Коагуляционный дефект корректируется добавлением сульфатнобариевой плазмы.

Дефицит VII фактора — гипоконвертинемия. Кровоточивость напоминает гемофилию. В зависимости от периода возникновения заболевание имеет более тяжелое (с первых дней рождения) и более легкое (с детского возраста и старше) течение. Приобретенные формы встречаются часто в сочетании с недостатком других факторов протромбинового комплекса, однако могут наблюдаться и изолированные гипоконвертинемии.

Недостаток VII фактора приводит к нарушениям второй фазы свертывания и обнаруживается снижением активности протромбинового комплекса. Этот дефицит можно выявить с помощью заменных проб. Коагуляционный дефект корректируется при добавлении долго стоявшей нормальной сыворотки или плазмы.

Дефицит VIII фактора — гемофилия A — наиболее часто встречающаяся врожденная форма геморрагического диатеза. При гемофилии страдает первая фаза свертывания крови вследствие нарушения образования активного тромбопластина. Поэтому резко замедлено превращение протромбина в тромбин, так что потребление протромбина в сыворотке незначительно. Для дифференциальной диагностики применяют тест генерации тромбопластина (Biggs—Douglas).

Степень недостаточности антигемофильного фактора подвержена колебаниям. Поэтому нарушение свертывания крови не является постоянным. В конце кровотечения и непосредственно после его окончания свертываемость может оказаться нормальной. Это обуславливает известную периодичность в проявлении кровоточивости и дает основания для предположения, что само кровотечение является фактором, стабилизирующим нормальный механизм свертывания крови.

Дефицит IX фактора — гемофилия В, или болезнь Кристмаса. Недостаток IX фактора вызывает нарушение образования активного тромбoplastина. Для установления гемофильных состояний пользуются пробой на потребление протромбина. Встречаются легкие формы гемофилии с нормальным свертыванием крови и временем рекальцификации, которые обнаруживаются установлением патологического расхождения протромбина. Существуют и сочетанные дефекты VIII и IX факторов. Длительные, упорные кровотечения у больных гемофилией часто обусловлены повышением у них фибринолитической активности.

Дефицит X фактора — гемофилия С. Дефицит X фактора приводит к удлинению времени протромбинового комплекса. Вместе с тем нарушаются потребление протромбина и тест генерации тромбoplastина. При обострениях отмечается резкое снижение тромбoplastиновой активности, в периоды ремиссии она повышается, однако нормальных значений не достигает. Приобретенные формы геморрагического диатеза с дефицитом X фактора обнаруживаются у больных инфекционным гепатитом, циррозом печени, при К-авитаминозе, гематомах у новорожденных и лечении антикоагулянтами.

Дефицит XI фактора (Rosenthal) вызывает гемофилию, отличающуюся мягкостью течения. Приобретенные формы наблюдаются при дикумаринотерапии и К-авитаминозе. Для того чтобы дифференцировать дефицит XI фактора от дефицита XII фактора, надо поставить заменную пробу с нормальной сывороткой, предварительно нагретой в течение 10 минут при 65°.

Дефицит XII фактора (Hageman) имеет наследственный характер и встречается у людей обоего пола, однако никогда не сопровождается кровотечениями. Отмечается нарушение механизма свертывания уже излившейся крови, поэтому кровоточивости не бывает.

При геморрагическом диатезе новорожденных отмечается гипопротромбинемия. В первые часы после рождения концентрация протромбина в крови у новорожденного близка к норме за счет поступления витамина К из крови матери, но уже к концу первых суток развивается гипопротромбинемия вследствие дефицита витамина К. Недостаток его вызван нарушением поступления в кишечник желчных кислот и отсутствием в кишечнике новорожденного бактериальной флоры. На 3—4-й день жизни концентрация протромбина в крови новорожденных снижается до минимума и в конце 1-й недели возвращается к норме. При снижении уровня протромбина в крови до 20—10% у новорожденных развиваются явления кровоточивости.

При тромбоцитопенической пурпуре (болезнь Верльгофа) количественные и качественные изменения пластинок приводят к дефициту тромбоцитарных факторов и повышению проницаемости сосудистой стенки. В результате этого время кровотечения удлинено, ретракция кровяного сгустка недостаточна или отсутствует. Свертывание чаще нормально, но иногда замедленно при выраженной тромбоцитопении, так как недостаток 3-го фактора пластинок вызывает нарушение (замедленное образование) тромбoplastина крови. При определении резистентности капилляров наиболее часто положительным оказывается симптом щипка. Другие пробы на резистентность капилляров выпадают с меньшим постоянством.

При врожденной геморрагической тромбоастении (типа Гланцмана) в тромбоцитах при нормальном их количестве отсутствует азурофильная зернистость, встречаются гигантские незрелые формы тромбоцитов с базофильной протоплазмой. При исследовании свертывания отмечается удлинение времени кровотечения и нарушение ретракции.

При конституциональной тромбопатии типа Виллебрандт—Юргенса (антигемофилия, или псевдогемофилия) геморрагический диатез обусловлен изменениями со стороны капилляров и нарушениями свертывания крови. Наиболее характерным симптомом является большая длительность кровотечения, продолжающаяся несколько часов. Резко положительны пробы на резистентность капилляров. Кроме того, у некоторых больных потребление протромбина и функция пластинок в тесте генерации тромбопластина патологические. Дальнейшие наблюдения показали, что иногда кровотечение обусловлено недостатком 3-го фактора пластинок или VIII—IX фактора плазмы. Количество пластинок и ретракция сгустка нормальны.

При геморрагической тромбоцитемии кровоточивость объясняется неполноценностью кровяных пластинок при высоком их содержании (до 1 000 000—3 000 000 и больше в 1 мм^3). Это подтверждается нарушением потребления протромбина и ретракцией кровяного сгустка. При морфологическом исследовании обнаруживаются атипичные гигантские формы пластинок.

Помимо некоторой неполноценности тромбоцитов, в патогенезе геморрагических явлений при тромбоцитемии имеет значение угнетение антисвертывающей системы, наступающее с удалением селезенки из организма и связанное с этим увеличение концентрации фибриногена.

Избыточное число тромбоцитов, повышение концентрации фибриногена и выключение антисвертывающей системы создают предтромботическое состояние. Если, например, тромб развивается в сосудах портальной системы, то возникают кишечные кровотечения.

Синдром геморрагической тромбоцитемии может наблюдаться в начальной стадии хронического миелолейкоза, остеомиелосклероза, полицитемии, при диффузном карциноматозе костей и т. д., а кроме того, после спленэктомии и при гипоспленизме.

При фибринолитической пурпуре (геморрагический диатез, обусловленный активацией фибринолитического процесса) повышение активности фибринолитического процесса может быть вследствие активации тканевых проактиваторов, бактериальных и других и выхода в кровь протеолитических ферментов из пораженных органов.

Острый фибринолиз развивается при травматическом шоке, обширных ожогах, посттрансфузионном гемолизе, оперативных вмешательствах на легких, поджелудочной железе и простате и других органах, ткани которых богаты протеолитическими ферментами. Острый фибринолиз наблюдается в акушерской практике при преждевременной отслойке плаценты, внутриутробной смерти плода и поступлении в кровь амниотической жидкости. При остром фибринолизе происходит резкое нарушение свертываемости крови вплоть до полного отсутствия свертываемости.

В подострых случаях фибринолиза свертывание все же происходит, но образовавшиеся сгустки в течение 1 часа быстро подвергаются обратному лизису.

Латентный фибринолиз, при котором кровяной сгусток не растворяется, а крошится, может наблюдаться при хроническом миелодисплазии и полицитемии.

Хронический фибринолиз встречается при гепатитах, диссеминированном карциноматозе и лейкозах.

Ингибиторные геморрагические диатезы характеризуются избытком или же появлением новых, нефизиологических антикоагулянтов.

Нередко активация антикоагулянтов сочетается с дефицитом свертывающих факторов крови.

Циркулирующие в крови антикоагулянты обнаружены при различных патологических состояниях: коллагенозах, туберкулезе легких, хроническом гломерулонефрите, воздействии ионизирующей радиации, диспротеинемиях и т. п. Клинически ингибиторные геморрагические диатезы протекают подобно заболеваниям, обусловленным дефицитом факторов свертывания.

При поражениях почек в уремическом периоде изменения свертывания крови также обусловлены наличием циркулирующего антикоагулянта, обладающего антитромбиновой и антитромбoplastиновой активностью.

Эти изменения могут давать картину геморрагического диатеза или, оставаясь латентными, проявляться только изменением геморрагических тестов.

Иммунокоагулопатии — иммунные формы приобретенного геморрагического диатеза, при которых факторы свертывания блокируются антителами. Образование изо- и аутоантител к собственным факторам свертывания возможно после повторных трансфузий крови, при аллергических состояниях, а также при воздействии ионизирующей радиации. Блокирование факторов гемостаза образовавшимися антителами обуславливает появление избытка ингибиторов свертывания крови. Подобные антитела обнаружены в крови больных гемофилией.

К-авитаминоз. Причиной К-авитаминоза может быть нарушение всасывания витамина К в кишечнике при механических желтухах, обширной резекции тонких кишок, энтерите, сопровождающемся поносами, и других заболеваниях желудочно-кишечного тракта, а также в результате нарушения использования витамина К при диффузном поражении печени. К-авитаминоз вызывает нарушение биосинтеза II, VII, IX и X факторов.

При беременности со II—III месяца происходит увеличение концентрации фибриногена, протромбина, V и VII факторов и фибринолиза. Наибольшее содержание I, II, V, VII факторов и тромбоцитов отмечается в родах, достигая максимума в период изгнания, послеродовом и раннем послеродовом периодах. Через 2—3 дня после родов концентрация факторов уменьшается, снижаясь к 30-му дню. Активность этих факторов зависит и от кровопотери в родах. При минимальной кровопотере содержание их большое.

При тяжелых формах токсикоза беременности наблюдается понижение концентрации I, II, V и VII факторов. После кесарева сечения концентрация этих факторов повышается.

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГРУППОВОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ КРОВИ

В основе определения групповой принадлежности крови лежит реакция изогемагглютинации, т. е. реакция агглютинации элементов крови человека.

Реакция агглютинации представляет собой взаимодействие антигена с антителом.

Антигены (агглютиногены) А и В, определяющие групповую принадлежность человека, находятся на эритроцитах. В сыворотке крови содержатся два соответствующих антитела (агглютинина) — α и β . При встрече агглютиногена А с агглютинином α и агглютиногена В с агглютинином β происходит реакция агглютинации.

Условия определения. Определение групповой принадлежности производят с помощью стандартных сывороток. Стандартными сыворотками называются сыворотки точно известной группы крови, обладающие высоким титром.

При определении группы крови по стандартным сывороткам пользуются обязательно двумя различными сериями.

Можно производить определение групп крови перекрестным методом: одновременно при помощи стандартных сывороток и стандартных эритроцитов. Стандартными эритроцитами называются эритроциты точно известной группы крови, обладающей хорошей агглютинабельностью.

Определение групп крови у новорожденных следует производить только по стандартным сывороткам, так как в сыворотке новорожденных агглютинины в ряде случаев не выявляются.

Определение группы крови необходимо производить при температуре не ниже 15° и не выше 25° , при достаточном освещении на плоской белой матовой (непрозрачной) поверхности.

Посуда и оборудование. 1. Тарелки или белые пластинки со смачиваемой поверхностью.

2. Песочные часы на 5 минут.

3. Стекланные палочки.

4. Глазные пипетки (для стандартных сывороток и физиологического раствора).

5. Карандаши по стеклу.

6. Небольшие штативы с 4 или 7 гнездами.

7. Скарификаторы со съёмными иглами.

8. Вата.

9. Пастеровские пипетки для стандартных эритроцитов.

Реактивы. 1. Физиологический раствор.

2. Стандартные сыворотки 0(I), А(II), В(III) и в случае необходимости АВ(IV) групп с титром не ниже 1:32. Сыворотки хранят в холодильнике при $4-8^{\circ}$. Вскрытые ампулы могут храниться в течение 5—6 дней, закрытые ватной пробкой. Стандартные сыворотки пригодны для работы в течение указанного на них срока. Использование сыворотки с истекшим сроком годности допускается только после проверки ее титра.

3. Стандартные эритроциты 0, А и В групп.

Кровь для приготовления стандартных эритроцитов можно брать из пальца. В агглютинационную пробирку отмеривают 4—5

капель 4—5% раствора цитрата натрия и в 4 раза большее количество крови (каплю крови снимают краем пробирки). При взятии пробирку все время встряхивают, чтобы не образовалось сгустка. Цитратную кровь центрифугируют, плазму отсасывают, а вместо нее наливают физиологический раствор и вновь центрифугируют. Хранят стандартные эритроциты в холодильнике при температуре 5—8°. Перед употреблением физиологический раствор отсасывают пипеткой.

Определение группы крови при помощи стандартных сывороток

Тарелку или белую пластинку делят на квадраты. Сверху каждого квадрата надписывают группу крови: 0(I), A(II) и B(III). Слева пишут фамилию исследуемого лица. В квадраты соответственно надписям наносят по крупной капле стандартной сыворотки двух серий каждой группы в два ряда и рядом с каждой каплей сыворотки концом стеклянной палочки наносят приблизительно в 10 раз меньшую каплю крови, взятую из пальца исследуемого лица. Нанесенные капли смешивают стеклянными палочками или углами предметного стекла. Можно смешивать капли и одной палочкой, но в этом случае необходимо после каждого смешивания промыть ее в стакане с водой и хорошо высушить.

С момента смешивания капель отмечают время. Наблюдение ведут в течение 5 минут. Тарелку периодически медленно покачивают. На 4-й минуте к каждой капле крови, в которой наступила агглютинация, добавляют каплю физиологического раствора и снова покачивают пластинку. По истечении 5 минут отмечают результат.

Интерпретация. Наличие в капле мелкой зернистости или крупных хлопьев наблюдается при агглютинации.

В случае отсутствия агглютинации видна равномерно окрашенная гомогенная жидкость.

0(I) группа крови характеризуется отсутствием агглютинации во всех каплях.

Если агглютинация обнаружена со стандартной сывороткой $O\alpha\beta$ (I) и $B\alpha$ (III) групп и не наступила со стандартной сывороткой $A\beta$ (II) группы, то исследуемые эритроциты содержат агглютиноген A и принадлежат к A(II) группе.

Если агглютинация наступила со стандартной сывороткой $O\alpha\beta$ (I) и $A\beta$ (II) групп и не обнаружена с сывороткой $B\alpha$ (III) группы, то исследуемые эритроциты содержат агглютиноген B и принадлежат к B(III) группе. Если все три сыворотки дали агглютинацию, то возможно, что исследуемая кровь AB(IV) группы. Однако для исключения неспецифической агглютинабельности исследуемых эритроцитов исследование повторяют с сывороткой AB0(IV) группы. Отсутствие агглютинации в этой капле при наличии ее в каплях, содержащих сыворотку $O\alpha\beta$ (I), $A\beta$ (II) и $B\alpha$ (III) групп, подтверждает AB(IV) группу исследуемой крови. Результаты принимаются как истинные при совпадении их в обеих сериях стандартных сывороток.

При оценке результатов реакции возможны ошибки:

I. Ложная агглютинация. Краевая агглютинация может наблюдаться при подсыхании капли, если определение ведется дольше положенного времени.

Холодовая агглютинация наступает, если определение проводится при температуре ниже 15°. При добавлении подогретого до комнатной температуры физиологического раствора агглютинация уничтожается.

Эритроциты могут также складываться в «монетные столбики», если тарелка не покачивалась. Прибавление физиологического раствора уничтожает «монетные столбики».

Бактериальная агглютинация — скучивание эритроцитов вокруг бактерий — может наблюдаться при прорастании крови или стандартных сывороток.

Панагглютинация объясняется неспецифической агглютинабельностью эритроцитов, возникающей при наличии в организме некоторых патологических процессов.

II. Агглютинация может не наступить там, где она должна быть, вследствие: 1) неправильного количественного соотношения между исследуемой кровью и стандартной сывороткой; 2) слабого титра стандартных сывороток; 3) гемолиза эритроцитов исследуемого, слабой агглютинабельности исследуемых эритроцитов при наличии в эритроцитах слабого агглютиногена А; 4) определения при высокой температуре окружающего воздуха и в случае определения менее 5 минут.

Определение группы крови по стандартным эритроцитам

Кровь для исследования берут без стабилизатора и проводят определение с сывороткой.

На тарелку наносят 3 большие капли сыворотки исследуемого и рядом по маленькой (приблизительно в 10 раз меньше) капле стандартных эритроцитов 0(I), А(II), В(III) групп. Капли смешивают стеклянными палочками. Отмечают время. Тарелку покачивают. На 4-й минуте прибавляют физиологический раствор. Через 5 минут отмечают результат.

Стандартные эритроциты 0(I) группы с сывороткой исследуемого не должны давать агглютинации.

Если агглютинация наблюдается со стандартными эритроцитами А(II) и В(III) групп, то испытуемая сыворотка содержит α- и β-агглютинины и принадлежит к 0(I) группе. Обнаружение агглютинации со стандартными эритроцитами В(III) группы и отсутствие ее с эритроцитами 0(I) и А(II) групп наблюдаются при наличии А(II) группы, имеющей β-агглютинины. Появление агглютинации со стандартными эритроцитами А(II) группы при отсутствии ее с эритроцитами 0(I) и В(III) групп наблюдается при исследовании сыворотки В(III) группы, содержащей α-агглютинины. Если агглютинация не наступила во всех 3 каплях, то испытуемая сыворотка не содержит агглютининов и принадлежит к АВ(IV) группе.

Определение групп крови перекрестным методом

Определение групп крови перекрестным методом производят одновременно со стандартными сыворотками и стандартными эритроцитами групп 0, А и В.

Согласно обозначениям, сделанным на тарелке, в первые два ряда наносят большие капли стандартных сывороток, в третий ряд — маленькие капли стандартных эритроцитов. Затем берут кровь исследуемого. Сначала отбирают сыворотку и крупными каплями прибавляют к стандартным эритроцитам, потом небольшие капли исследуемых эритроцитов добавляют к каплям стандартных сывороток. Все капли смешивают. К концу наблюдения прибавляют физиологический раствор и через 5 минут отмечают результат. Групповая принадлежность сыворотки испытуемой крови и ее эритроцитов должна совпадать.

Прямая проба на индивидуальную совместимость

Кровь берут из локтевой вены или из пальца в количестве не меньше 1—2 мл. Образовавшийся сгусток обводят пипеткой и кровь центрифугируют для отделения сыворотки от эритроцитов. На пластинку наносят 1—2 капли испытуемой сыворотки и добавляют в 10—20 раз меньшую каплю крови донора. Капли смешивают стеклянной палочкой, пластинку покачивают и через 5 минут читают результат.

Отсутствие агглютинации указывает на совместимость крови донора и реципиента в отношении групп крови АВО.

При появлении агглютинации прибавляют каплю физиологического раствора. Если агглютинация не исчезает, то кровь донора и реципиента следует считать несовместимой.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ РЕЗУС-ПРИНАДЛЕЖНОСТИ

Определение резус-принадлежности крови основано на реакции конгломинации (агглютинации), которая происходит между эритроцитами, содержащими резус-антигены, и антителами к резус-фактору.

Резус антигены Rho(D), rh'(C) и rh''(E) находятся на эритроцитах человека. Антитела к резус-фактору могут вырабатываться в сыворотке крови резусотрицательных лиц при введении им резус-положительной крови и при беременности резусотрицательной женщины резусположительным плодом, унаследовавшим резуспринадлежность от отца.

Метод конгломинации с применением желатины (модифицированный метод Фиска и Макги)

Посуда и оборудование. 1. Водяная баня (46—48°) или термостат¹.

2. Агглютинационные пробирки.
3. Водяной термометр.
4. Бутыль с нижним тубусом.
5. Песочные часы на 5 минут.

¹ При пользовании термостатом время инкубации удлиняется иногда даже до 1 часа.

6. Штативы металлические или пластмассовые.

7. Карандаши по стеклу.

8. Пипетки.

9. Стекланные или фарфоровые стаканы.

Реактивы. 1. Стандартные сыворотки антирезус заведомо известного типа [анти-Rho (D), анти-gh'(C), анти-gh''(E) и т. д.], двух серий.

2. Стандартные эритроциты резусположительных и резусотрицательных лиц 0, A и B групп.

3. Физиологический раствор.

4. 10% раствор желатины. Желатина хранится в холодильнике при 4—8° в ампулах или флаконах, предварительно простерилизованных.

Для лучшего сохранения можно добавлять консерватор — сульфил натрия (альбуцид) из расчета 100 мг альбуцида на 10 мл раствора желатины.

Перед употреблением желатину просматривают. При наличии помутнения, хлопьев или расплавления раствор непригоден. Перед работой желатину нагревают в термостате или в воде при 40—50°.

Кровь для исследования берут из пальца или из локтевой вены. Можно брать кровь: а) без стабилизатора в количестве 1—3 мм. После свертывания крови на дне пробирки остается небольшое количество эритроцитов, которые берут для исследования пастеровской пипеткой; или, что менее желательно, б) с 4—5% раствором цитрата натрия в отношении 1:5. В этом случае пробирки доливают доверху физиологическим раствором, смешивают и центрифугируют. Отмытые эритроциты употребляют для исследования. Кровь можно хранить в холодильнике в течение 2—3 суток при 4—8°.

Таким же способом готовят стандартные эритроциты для контроля.

Ход определения. Определение проводят с двумя сериями стандартных сывороток антирезус. Поэтому в штатив устанавливают 2 ряда пробирок. Пробирки нумеруют в соответствии с количеством и нумерацией исследуемых и контрольных эритроцитов. В качестве контроля используются резусположительные эритроциты 0(I) группы или одной группы с исследуемыми и резусотрицательные эритроциты той же группы, что и исследуемая кровь.

На дно каждой пробирки вводят по 1 капле исследуемых эритроцитов, по 1 капле раствора желатины и по 1 капле сыворотки антирезус. Содержимое пробирок смешивают и помещают в водяную баню при 46—48° на 10 минут.

По извлечении пробирок из водяной бани в них доливают 5—10 мл физиологического раствора (до розового цвета). Содержимое пробирок перемешивают, переворачивая их 2—3 раза, и отмечают результат.

Сначала проверяют контрольные образцы, подтверждающие специфичность и активность сыворотки антирезус и желатины, т. е. положительный результат со стандартными эритроцитами и отрицательный результат со стандартными эритроцитами.

В случае отсутствия агглютинации в пробирке видна равномерно окрашенная гомогенная жидкость, при наличии агглютинации — «хлопья».

Эритроциты, давшие агглютинацию с сывороткой антирезус (анти-D, или анти-C, или анти-E), указывают на содержание в них соответствующих резус-антигенов (D, C или E).

Иногда встречаются образцы эритроцитов, дающие слабо выраженную агглютинацию. В этих случаях исследование повторяют с сериями сывороток антирезус высокой активности.

Метод конгломинации в сывороточной среде (на чашке Петри)

Посуда и оборудование. 1. Чашки Петри.

2. Водяная баня.

3. Пастеровские пипетки.

4. Карандаши по стеклу.

Реактивы. 1. Стандартные сыворотки антирезус двух серий.

2. Стандартные эритроциты резусположительные и резусотрицательные 0, А и В групп.

Кровь берут без стабилизатора в количестве не менее 1 мл. Оставшиеся на дне пробирки эритроциты в виде 10% взвеси в своей сыворотке употребляют для реакции.

Ход определения. В чашку Петри наносят большие капли стандартных сывороток антирезус в 6 местах: 3 капли одной серии и 3 — другой. К первой капле каждой сыворотки добавляют 1 каплю взвеси испытуемых эритроцитов, ко второй — взвесь стандартных резусположительных и к третьей — стандартных резусотрицательных эритроцитов. Капли перемешивают стеклянными палочками и чашку помещают на водяную баню при 46—48°. Через 7—10 минут чашки вынимают и отмечают результат (при хорошем освещении на белом фоне).

Если исследуемая кровь агглютинируется обеими сериями стандартных сывороток, то кровь резусположительная. При отсутствии агглютинации в обеих сериях сывороток исследуемая кровь резусотрицательная. В контрольных каплях резусположительные образцы агглютинируются, а резусотрицательные агглютинации не дают.

Ошибки при определении резус-фактора:

1. Может наблюдаться групповая агглютинация вследствие недочета групповой (ABO) принадлежности испытуемой крови.

2. Агглютинация может не наступить при неправильно взятом соотношении сыворотки и эритроцитов, при несоблюдении условий реакции и при использовании старых сывороток с низким титром.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИЭРИТРОЦИТАРНЫХ АНТИТЕЛ

При определении антител следует пользоваться не менее чем двумя методами: методом солевой агглютинации для выявления полных антител и любым методом (с применением желатины, в чашке Петри, непрямая проба Кумбса) для выявления неполных антител.

Чаще всего при иммунизации резус-фактором образуются неполные антитела, редко полные. Иногда одновременно выявляются неполные и полные антитела.

Для выявления антител необходимо, чтобы реакция ставилась с эритроцитами, содержащими заведомо известные антигены. Поэтому сыворотку испытывают с тремя образцами резусположительных эритроцитов, обязательно содержащих в той или иной комбинации все три резус-антигена (D, C и E), и с двумя образцами резусотрицательных, а если возможно, и с собственными эритроцитами исследуемой сыворотки.

Наиболее часто при иммунизации резусотрицательных людей повторными переливаниями крови или беременностями образуются антитела анти-Rho(D), однако при тех же условиях могут возникнуть и другие резус-антитела: анти-gh'(C), gh''(E) и т. п.

Если разновидности резус-факторов в эритроцитах не установлены, то количество резусположительных образцов должно быть увеличено до 25.

Метод солевой агглютинации (в пробирках)

Посуда и оборудование. 1. Пробирки диаметром 0,5—0,6 см, высотой 2—2,5 см с круглым дном.

2. Пастеровские пипетки.

3. Термостат.

Реактивы. 1. Физиологический раствор.

2. 2% взвесь в физиологическом растворе резусположительных и резусотрицательных эритроцитов.

Ход определения. Берут несколько пробирок, число и нумерации которых соответствуют взятым для исследования резусположительным и резусотрицательным образцам эритроцитов.

В пробирки пастеровской пипеткой вносят по 1 капле физиологического раствора и по 1 капле исследуемой сыворотки, прибавляют 1 каплю взвеси резусположительных и резусотрицательных эритроцитов.

Содержимое пробирок смешивают и помещают в термостат при 37°. Через 1 час по осадку на дне пробирки отмечают результат. При наличии полных антител в пробирке с резусположительными эритроцитами произойдет агглютинация и осадок будет неровный с волнистыми краями. В пробирках с резусотрицательными эритроцитами агглютинации быть не должно; осадок однородной структуры с ровно очерченными краями. Отсутствие агглютинации в пробирках с резусположительными эритроцитами обозначает, что полные антитела в исследуемой сыворотке не выявлены.

Метод конгломинации с применением желатины (модифицированный метод Фиска и Макги)

Посуда и оборудование. См. определение резус-фактора методом конгломинации с применением желатины.

Реактивы. 1. Испытуемая сыворотка.

2. Стандартные эритроциты резусположительных и резусотрицательных образцов 0, A и B групп.

3. 10% раствор желатины.

4. Физиологический раствор.

Кровь для исследования и приготовления стандартных эритроцитов берут одинаково в количестве 1—3 мл из пальца или из вены в обычные пробирки без стабилизатора. После свертывания крови на дне пробирки остается небольшое количество эритроцитов, которые и применяют для исследования. Эритроциты берут со дна пробирки пастеровской пипеткой. Если, кроме того, захватывают небольшое количество собственной сыворотки, это не влияет на ход реакции. Если эритроцитов недостаточно, то допускается интенсивное встряхивание сгустка для отделения эритроцитов.

Ход определения. В штатив устанавливают пробирки. Количество и нумерация пробирок должны соответствовать количеству образцов эритроцитов, с которыми исследуется сыворотка.

Во все пробирки вводят по 1 капле эритроцитов, приготовленных для исследования согласно их нумерации, и по 1 капле желатинны. После этого в каждую пробирку прибавляют по 1—2 капли испытуемой сыворотки. Пробирки встряхивают и помещают в водяную баню при 46—48° на 4—5 минут.

По извлечении пробирок из водяной бани в них доливают 5—10 мл физиологического раствора до розового цвета, содержимое пробирок перемешивают путем одно-двукратного перевертывания их и отмечают наличие или отсутствие агглютинации эритроцитов.

Результаты реакции просматривают на свет невооруженным глазом или через лупу с двукратным увеличением. Наличие агглютинатов в пробирках с Rh+ эритроцитами и отсутствие их с образцами Rh— и с собственными эритроцитами указывают на содержание в испытуемой сыворотке резус-антител. Если агглютинация отсутствует во всех пробирках, то резус-антитела в испытуемой сыворотке не выявлены.

Метод конглотинации на чашках Петри

Посуда и оборудование. 1. Чашки Петри.

2. Водяная баня.

3. Пастеровские пипетки.

4. Карандаши по стеклу.

Реактивы. Стандартные эритроциты резусположительные и резусотрицательные 0, А и В групп в виде 10% взвеси в собственной сыворотке.

Ход определения. В чашку Петри наносят по 2 капли испытуемой сыворотки в 5 местах. К 3 каплям из пяти прибавляют по 1 капле резусположительных эритроцитов, к 2 другим каплям прибавляют по 1 капле резусотрицательных эритроцитов. Эритроциты смешивают с сывороткой стеклянной палочкой. Чашку помещают на 10 минут на водяную баню при 46—48°, после чего отмечают результат.

Интерпретация. Обнаружение агглютинации с резусположительными эритроцитами и отсутствие с резусотрицательными указывают на наличие в сыворотке неполных резус-антител.

Отсутствие агглютинации во всех каплях означает, что неполные резус-антитела в исследуемой сыворотке не выявлены. Появление агглютинации во всех Rh+ и Rh— образцах эритроцитов говорит о неспецифической агглютинации.

Определение неполных антител с применением антиглобулиновой сыворотки

Антиглобулиновая сыворотка представляет собой сыворотку кролика, иммунизированного сывороткой крови человека. Поэтому она содержит антитела к человеческому глобулину. К глобулиновой фракции сывороточных белков принадлежат и резус-антитела.

Непрямая проба Кумбса

Принцип основан на выявлении неполных антител, находящихся в сыворотке исследуемой крови. Пробу проводят в два этапа. На первом этапе к исследуемой сыворотке добавляют эритроциты донора. При этом находящиеся в сыворотке неполные антитела фиксируются на эритроцитах донора. Затем к эритроцитам донора, содержащим на себе фиксированные (адсорбированные) антитела, добавляют антиглобулиновую сыворотку, которая преципитирует фиксированные (адсорбированные) неполные антитела и вызывает агглютинацию эритроцитов.

Реактивы. 1. Исследуемая сыворотка.

2. Стандартные эритроциты с заведомо известными антигенами трех резусположительных и двух резусотрицательных образцов. Кровь для приготовления эритроцитов берут в количестве 0,5—1 мл с раствором лимоннокислого натрия в соотношении 1 часть цитрата и 2—4 части крови. Пробирки нумеруют и надписывают на них фамилию, группу крови и резус-принадлежность. Доливают доверху физиологическим раствором, смешивают, центрифугируют. Надосадочную жидкость отсасывают. Отмывание повторяют, отмывые эритроциты применяют для исследования.

3. Сыворотка для пробы Кумбса (антиглобулиновая), приготовленная в специальной лаборатории.

4. Физиологический раствор.

Ход определения. Во все пробирки пастеровской пипеткой вводят по 3 капли испытуемой сыворотки и по 1 маленькой капле стандартных эритроцитов согласно нумерации пробирок.

Содержимое пробирок тщательно перемешивают, встряхивая пробирки, и помещают для инкубации в термостат на 30 минут при 37°. За это время резус-антитела, если они имеются, фиксируются на эритроцитах.

После инкубации в пробирки к эритроцитам приливают до верха физиологический раствор, смешивают и центрифугируют. Надосадочную жидкость отсасывают. Отмывание эритроцитов повторяют еще 2 раза. Последний раз отсасывают не весь физиологический раствор. Небольшое количество его оставляют, чтобы получилась приблизительно 5% взвесь эритроцитов. Одну каплю этой взвеси эритроцитов из каждой пробирки переносят на белую пластинку. К каждой капле эритроцитов прибавляют по 1 капле сыворотки, приготовленной для пробы Кумбса (антиглобулиновой). Капля сыворотки и эритроцитов смешивают стеклянными палочками. Пластинку слегка покачивают. При наличии фиксированных на эритроцитах резус-антител антиглобулиновая сыворотка соединяется с ними, что влечет за собой агглютинацию эритроцитов.

Наблюдение ведут до 20 минут. Агглютинация обычно появляется в течение первых 10—30 секунд, но при слабом титре резус-антител может наступить значительно позже.

Интерпретация. Наличие агглютинации в каплях с образцами резусположительных эритроцитов и отсутствие ее с резусотрицательными и собственными эритроцитами указывает на присутствие в сыворотке неполных резус-антител. Отсутствие агглютинации со всеми образцами эритроцитов означает, что неполные резус-антитела в испытуемой сыворотке не выявлены.

Следует иметь в виду, что слабые резус-антитела этими методами не всегда выявляются. Поэтому при отрицательном результате реакции сыворотку необходимо исследовать дополнительно.

Положительный результат реакции является достаточным для решения вопроса о том, что лицо, от которого получена данная сыворотка, sensibilizировано к резус-фактору. Для выявления специфичности изоиммунных антител сыворотку необходимо исследовать с различными образцами эритроцитов с заведомо известной антигенной формулой D, C, E или их комбинациями.

Феномен зоны. Неразведенная или в небольшом разведении сыворотка крови при очень высокой степени иммунизации организма резус-фактором может не дать реакцию агглютинации с резусположительными эритроцитами. Однако в разведении сыворотки 1:8, 1:16 и иногда более резус-антитела в ней становятся активными и вызывают агглютинацию эритроцитов.

Если резус-антитела в сыворотке выявить не удастся, а в анамнезе имеются указания на sensibilизацию к резус-фактору, то для исключения феномена зоны следует провести исследования с разведенной сывороткой. Если в каких-либо разведениях сыворотки наблюдается агглютинация, то это говорит о наличии в ней антител.

Дальнейшее исследование проводят так, как описано для каждого метода. Сыворотку берут в разведении, в котором наблюдалась наиболее выраженная реакция агглютинации. При постановке реакции конгломинации в сывороточной среде на чашках Петри для разведения сыворотки пользуются сывороткой АВ(IV) или одноименной группы; в остальных случаях разводят физиологическим раствором.

Прямая проба Кумбса

Принцип пробы основан на выявлении фиксированных (адсорбированных) на эритроцитах антител с помощью антиглобулиновой сыворотки. К исследуемым эритроцитам, содержащим на себе резус-антитела, добавляют антиглобулиновую сыворотку (сыворотка для пробы Кумбса). Белки антиглобулиновой сыворотки преципитируют резус-антитела, адсорбированные на поверхности эритроцитов, вызывая их агглютинацию.

Реактивы. 1. Антиглобулиновая сыворотка (сыворотка для пробы Кумбса).

2. Физиологический раствор.

3. Гемагглютинирующая сыворотка АВ(IV) группы.

Кровь для исследования берут в количестве 5—10 капель в центрифужную пробирку. Доливают до верха физиологическим раствором, перемешивают и центрифугируют. Надсадочную жидкость отсасывают. Эритроциты отмывают еще 2 раза, после чего готовят 5% взвесь эритроцитов (1 каплю отмытых эритроцитов и 19 капель физиологического раствора).

Можно брать кровь с цитратом натрия. Отмывание эритроцитов производят так же. Кровь, взятая с цитратом, может храниться в холодильнике при 4—8° в течение 1—2 дней.

Ход определения. Одну каплю 5% взвеси испытуемых эритроцитов наносят на белую пластинку. В течение 3 минут пластинку медленно покачивают, следя за результатом. Появление агглютинации до прибавления антиглобулиновой сыворотки свидетельствует об ауто- или панагглютинации исследуемой крови. В этом случае пробу Кумбса проводят снова при 37°, включая отмывание эритроцитов.

Если агглютинация не наступила, то к эритроцитам добавляют одну каплю антиглобулиновой сыворотки. Капли смешивают. Пластинку периодически покачивают. Наблюдение ведут 10 минут.

Отсутствие агглютинации указывает, что антитела не выявлены (отрицательная прямая проба Кумбса). При наличии агглютинации испытуемых эритроцитов проводят контрольное исследование на специфичность сыворотки для пробы Кумбса (антиглобулиновая сыворотка). Параллельно исследуют одногруппные стандартные эритроциты донора, приготовленные так же, как испытуемые эритроциты. Наличие агглютинации испытуемых эритроцитов и отсутствие ее в контроле со стандартными эритроцитами указывают на сенсibilизацию эритроцитов (положительная прямая проба Кумбса).

Прямая проба Кумбса служит диагностическим тестом для выявления сенсibilизации эритроцитов *in vivo*. Сенсibilизация эритроцитов может наблюдаться при гемолитической болезни у новорожденных (вследствие абсорбции антител, образовавшихся у матери, на эритроцитах плода), у больных с приобретенной формой хронической гемолитической анемии (в результате абсорбции на эритроцитах больного так называемых аутоантител), а также при других условиях.

Титрование сыворотки, содержащей резус-антитела

В штатив устанавливают 10 пробирок с обозначением титра: 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128, 1:256, 1:512, 1:1024.

Во все пробирки вводят по две капли физиологического раствора. В первую пробирку этой же пипеткой добавляют две капли испытуемой сыворотки.

Из первой пробирки две капли раствора переносят во вторую, из второй — в третью, из третьей — в четвертую и так до последней пробирки, из которой две капли удаляют. В результате в пробирках получают разведение сыворотки от 1:2 до 1:1024. В каждую пробирку добавляют по одной капле взвеси эритроцитов, полученных от 4—5 различных резусположительных лиц.

Во все пробирки вводят по одной капле желатин, содержащее пробирок смешивают и помещают на водяную баню на 3—5 минут при 46—48°. По извлечении пробирок из водяной бани в них доливают физиологический раствор и отмечают результаты. Титр устанавливают по последнему разведению, где наблюдается агглютинация.

Таким способом титруют все сыворотки антирезус. Титрование сывороток производят с эритроцитами, содержащими резус-антигены D, C или E.

Титрование сыворотки, содержащей групповые антитела

В пробирку вносят 1 каплю гемагглютинирующей сыворотки и той же пипеткой произвольное количество капель (например, 15) физиологического раствора. Получают разведение в 16 раз. Хорошо смешивают и по капле разведенную сыворотку наносят на тарелку.

Затем последовательно к каждой капле той же пипеткой добавляют равные капли физиологического раствора в возрастающем количестве (1, 2, 3, 4 и т. д.) и по капле эритроцитов, содержащих соответствующий групповой агглютиноген. Так, если титруется сыворотка, содержащая агглютинин α , то эритроциты должны иметь агглютиноген А. Капли смешивают одной стеклянной палочкой, начиная с большего разведения к меньшему. Через 4 минуты отмечают результат. Титр устанавливают по последнему разведению, где обнаружена отчетливая агглютинация.

Проба на совместимость по резус-фактору

В чашку Петри наносят 3 капли сыворотки больного и рядом с каждой каплей сыворотки маленькую каплю крови донора. Капли перемешивают и чашку помещают на водяную баню при 46—48°C на 10 минут. Затем определяют результат. Наличие агглютинации указывает на то, что в сыворотке больного находятся антитела к резус-фактору и что кровь донора и реципиента несовместима. Если агглютинации нет, то в сыворотке больного отсутствуют резус-антитела, кровь совместима.

Проба на совместимость по резус-фактору является дополнительным методом, который следует производить перед переливанием крови наравне с индивидуальной пробой по групповой совместимости крови донора и реципиента и биологическими пробами.

Проба на совместимость по резус-фактору не должна подменять определение резус-принадлежности.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИЛЕЙКОЦИТАРНЫХ АНТИТЕЛ

Лейкоциты обладают специфическими видовыми антигенами. Существуют группы лейкоцитов, которые имеют одинаковые групповые антигены, как и соответствующие эритроциты и независимые от эритроцитов группы. Пока неизвестно существование естественных антител против лейкоцитарных групповых антигенов. Однако антитела к лейкоцитам могут появляться. Наибольшее клиническое значение имеют антитела, обладающие агглютинирующей способностью, — лейкоагглютины. Сущность методов выявления аутоантител к лейкоцитам состоит в соединении сыворотки больного с одноклеточной лейкоцитарной взвесью здорового человека.

Для постановки реакции необходимо иметь взвесь лейкоцитов донора.

Методы получения лейкоцитарной взвеси

1. Метод Центрального института переливания крови. Кровь берут из вены с 2% раствором цитрата натрия в соотношении 1:5 в количестве 30 мл в колбу с плоским

дном. Из колбы кровь разливают в 4 химические пробирки, которые ставят в наклонном положении в термостат на 30 минут при 37°. Вследствие оседания эритроцитов в пробирке образуются два слоя — эритроцитов и плазмы. В верхнем слое плазмы находятся во взвешенном состоянии тромбоциты. Их отсасывают. Затем в центрифужную пробирку с округлым дном переносят нижний слой плазмы. Производят подсчет лейкоцитов. В случае большого количества лейкоцитов (больше 15 000 в 1 мм³) их можно разводить физиологическим раствором.

Если число лейкоцитов ниже 15 000 в 1 мм³, то плазму центрифугируют в течение 3 минут при 1000 об/мин.

2. Метод Ленинградского института переливания крови. Метод основан на получении лейкоцитов из венозной крови путем быстрого осаждения эритроцитов.

Для осаждения эритроцитов применяют раствор следующего состава: желатины 2,5 мл, цитрата натрия 3 мл, сахарозы 3 мл, физиологического раствора (стерильного) 100 мл.

Ход реакции. В пробирку наливают 3 части осадителя и 10 частей венозной крови. Перемешивают и оставляют в штативе при комнатной температуре. Через 20—30 минут эритроциты полностью оседают. Слой плазмы со взвешенными в ней лейкоцитами и тромбоцитами переносят в центрифужную пробирку и центрифугируют в течение 4 минут при 800 об/мин. Лейкоциты оседают на дно пробирки. Плазму со взвешенными в ней тромбоцитами отсасывают. В пробирку к осадку лейкоцитов добавляют физиологический раствор и центрифугируют. Эту процедуру повторяют дважды. После третьего центрифугирования лейкоциты взвешиваются в физиологическом растворе до необходимой концентрации. Наилучшая концентрация 8000—15 000 лейкоцитов в 1 мм³.

Перед опытом необходима микроскопия лейкоцитарной взвеси для исключения спонтанной агглютинации.

До употребления лейкоциты хранят при 4°. Проведение опыта с лейкоцитами, взятыми накануне, может дать слабо положительный или отрицательный результат. При количестве лейкоцитов ниже 5000—3000 в 1 мм³ приготовление лейкоцитарной взвеси затруднено и может не быть четких результатов.

Реакция выявления лейкоагглютининов

Кровь берут в количестве 5 мл. Сыворотку отсасывают и инактивируют в течение 20—30 минут при 56°. Сыворотку можно хранить в леднике при 4°.

В пробирку вводят 0,1 мл сыворотки больного и 0,05 мл лейкоцитов донора и ставят в термостат на 1 час при 37°. По прошествии указанного времени в пробирку добавляют 0,1 мл 1% раствора уксусной кислоты. Через 5—6 минут каплю содержимого пробирки наносят на предметное стекло и микроскопируют.

Параллельно ставят контроль: 0,1 мл физиологического раствора и 0,05 мл лейкоцитарной взвеси донора.

Иногда реакция бывает более отчетливой при постановке ее с разведенной сывороткой. Поэтому всегда надо ставить реакцию с цельной сывороткой и по крайней мере с одним ее разведением

в физиологическом растворе. Разведения делают в соотношении 1:2:4:8:16:32 и т. д.

Отсутствие агглютинации или наличие ее в количестве, не превышающем 10—15%, оценивается как отсутствие антител. Наличие агглютинации говорит о присутствии лейкоагглютининов.

Если склеивается около 90% клеточных элементов в виде больших конгломератов, результат оценивают как резко положительную реакцию агглютинации (+++).

Склеивание около половины количества лейкоцитов в небольшие кучки отмечают как положительную реакцию (++). При слабо положительной реакции склеивается около 30% элементов (+) на фоне отдельных лейкоцитов.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИТРОМБОЦИТАРНЫХ АНТИТЕЛ

Метод выявления тромбоагглютининов

Принцип. Содержащиеся в сыворотке больного полные анти-тромбоцитарные антитела вызывают непосредственную агглютинацию кровяных пластинок доноров. Тромбоцитные взвеси должны использоваться в день взятия крови.

Посуда и оборудование. 1. Шприц на 10,0—20,0,

2. Силиконированные пробирки,

3. Центрифуга.

4. Пипетки.

5. Баня.

6. Предметные стекла.

7. Микроскоп.

Реактивы. 1. 5% раствор трилона.

2. Сульфат бария.

Приготовление тромбоцитной взвеси: в день постановки реакции берут кровь донора — желательно мужчины 0(1)Rh-группы двухшприцевым методом.

Первым шприцем берут 2—3 мл крови. Эта кровь не нужна для пробы. Вторым шприцем набирают 9 мл крови и выливают в силиконированную пробирку, содержащую 1 мл 5% раствора трилона (хелатон, секвестрен, натриевая соль этилендиаминтетраацетата), охлажденного до 4°. Кровь центрифугируют при 2000 об/мин и получают богатую пластинками плазму. Плазму пипеткой переносят в другую пробирку и центрифугируют повторно. Если на дне образуется осадок из эритроцитов, эту процедуру повторяют. В результате получают плазму, лишенную эритроцитов и лейкоцитов. Для получения осадка из кровяных пластинок плазму центрифугируют 15 минут при 3000 об/мин, сливают с осадка, промывают осадок раствором трилона путем троекратного перемешивания и центрифугирования. Осадок кровяных пластинок суспендируют в растворе трилона. Объем тромбоцитной взвеси должен составлять $\frac{2}{3}$ от первоначального объема плазмы. Тогда концентрация пластинок составит приблизительно 400 000 в 1 мм³ (при нормальном их содержании в крови). Готовят 2—3 образца донорских тромбоцитных взвесей.

Для получения сыворотки берут кровь у больного двухшприцевым методом, оставляют на сутки при комнатной температуре и

отделяют от сгустка центрифугированием в течение 10 минут при 400 об/мин. Во избежание агрегации кровяных пластинок испытуемую сыворотку нагревают в течение 30 минут при 56°. Затем сыворотку адсорбируют сульфатом бария (0,1 на 1 мл сыворотки) в течение 30 минут при 37° при постоянном встряхивании для удаления протромбина, проконвертина и антигемофильного фактора В. Так же обрабатывают сыворотку донора в качестве контроля. Взятая стерильно и обработанная указанным выше способом сыворотка может сохраняться в течение нескольких месяцев при 4°.

Ход определения. К 0,2 тромбоцитной взвеси в силиконированной пробирке добавляют 0,3 мл испытуемой сыворотки. После инкубации в течение 90 минут при комнатной температуре пробирку осторожно встряхивают и каплю смеси переносят на предметное стекло. Вращательными движениями в одном направлении перемешивают капли в течение 10 минут, после чего просматривают стекла под микроскопом с увеличением в 100, затем в 250 раз.

При положительном результате пробы образуются более или менее крупные агглютинаты кровяных пластинок.

Контролем служит проба с донорской сывороткой и с сывороткой, содержащей сильные тромбагглютинины.

Интерпретация. Полные антитромбоцитарные антитела выявляются у лиц, sensibilizированных многократными переливаниями крови или в результате повторной беременности (изоантитела), а также при тромбоцитопенической пурпуре с высоким титром аутоантител.

Ложноположительные результаты могут наблюдаться при добавлении ферментов (трипсин и др.), комплемента (свежая бычья сыворотка), а также у больных циррозом печени, при усиленном фибринолизе, в предменструальном состоянии, при погрешностях в методике (загрязнение, гемолиз, использование несвежих тромбоцитных взвесей).

Прямая проба Кумбса (выявление неполных антитромбоцитарных антител)

Принцип. Выявление неполных антитромбоцитарных антител, фиксированных на кровяных пластинках больного. При добавлении к таким пластинкам антиглобулиновой сыворотки они могут агглютинироваться. Если у больного содержится достаточное количество кровяных пластинок (не менее 50 000 в 1 мм³), то можно произвести эту пробу. При тромбоцитопении необходимо брать 30 мл крови.

Реактивы. 1. Антиглобулиновая сыворотка.

2. Тромбоцитная взвесь готовится как для реакции тромбоагглютинации.

Ход определения. На предметные стекла наносят по капле тромбоцитной взвеси и тщательно просматривают их. Убедившись в отсутствии агглютинатов, добавляют к каждой капле три капли разведения антиглобулиновой сыворотки, одно оптимальное рабочее и два более концентрированных, например в 10, 16 и 30 раз. Капли перемешивают, покачивая стекла, и через 10 минут отмечают результат под микроскопом,

Одновременно ставят пробу с одной или несколькими тромбоцитными взвесями доноров. При тех же условиях в донорских взвесах не должно быть агглютинации.

Интерпретация. В некоторых случаях аутоиммунной тромбоцитопенической пурпуры удается выявить положительную прямую пробу Кумбса.

Непрямая проба Кумбса (выявление неполных антитромбоцитарных антител)

Принцип. Выявление неполных антител в сыворотке больного путем их осаждения на донорских кровяных пластинках и наблюдение агглютинации после добавления антиглобулиновой сыворотки.

Посуда и оборудование. См. «Метод выявления тромбагглютининов».

Реактивы. 1. Антиглобулиновая сыворотка.

2. Тромбоцитные взвеси доноров и сыворотка больного готовятся как для реакции тромбагглютинации.

3. 5% раствор трилона.

Ход определения. Реакция состоит из двух этапов: сенсibilизация кровяных пластинок донора сывороткой больного, отмывание и наблюдение агглютинации после добавления антиглобулиновой сыворотки.

Для сенсibilизации кровяных пластинок смешивают в силиконовых видалевских пробирках 0,3 мл используемой сыворотки и 0,15 мл донорской тромбоцитной взвеси (2—3 образца). Эту смесь в течение полутора часов взбалтывают, желательнее при 4°. Сенсibilизированные кровяные пластинки трижды отмывают 5% раствором трилона, центрифугируют. Полученный осадок кровяных пластинок помещают на предметное стекло и проверяют под микроскопом с увеличением в 100 раз на отсутствие агглютинатов. К капле тромбоцитной взвеси добавляют трехкратный объем антиглобулиновой сыворотки, покачивают вращательным движением и через 10 минут читают результат под микроскопом. Одновременно пробу ставят с 2—3 донорскими тромбоцитными взвесями, полученными в тот же день, и 6 донорскими сыворотками в качестве контроля.

Интерпретация. Непрямая проба Кумбса позволяет выявлять в сыворотке больных тромбоцитопенической пурпурой неполные антитела. В начале острой аутоиммунной тромбоцитопении при проведении непрямой пробы Кумбса образуются крупные, видимые при увеличении в 70 раз скопления кровяных пластинок. В процессе лечения преднизолоном, АКТГ и другими гормональными препаратами эти агглютинаты делаются мельче, появляется большое количество свободно лежащих кровяных пластинок.

Прямой метод потребления антиглобулиновой сыворотки (Nelken)

Принцип. Титрование антиглобулиновой сыворотки до и после контакта с кровяными пластинками больного (т. е. использованной в прямой пробе Кумбса). Метод состоит из трех этапов: 1) сенсibil-

билизации испытуемых кровяных пластинок, 2) сенсibilизации резусположительных эритроцитов сывороткой, содержащей неполные резус-антитела, и 3) титрование антиглобулиновой сыворотки, бывшей в контакте с пластинками больного, с помощью сенсibilизированных эритроцитов.

Реактивы. 1. Антиглобулиновая сыворотка.

2. Для сенсibilизации кровяные пластинки получают из крови больного тем же способом, что при пробах Кумбса, и готовят тромбоцитную взвесь, содержащую 400 000 кровяных пластинок в 1 мм³. К 2 объемам антиглобулиновой сыворотки в рабочем разведении добавляют по одному объему испытуемых тромбоцитных взвесей. Эту смесь ставят на 30 минут в термостат при 37°. После центрифугирования надосадочную жидкость (антиглобулиновая сыворотка, истощенная кровяными пластинками больного) отсасывают. Для сенсibilизации эритроцитов готовят негустую взвесь из резусположительных эритроцитов, трижды отмывают в физиологическом растворе и один объем этой взвеси соединяют с 3 объемами сыворотки антирезус и эту смесь помещают на 30 минут на водяную баню при 37°. Для титрования антиглобулиновой сыворотки готовят ее двукратные разведения по схеме, представленной в табл. 15.

Таблица 15

СХЕМА ВЫПОЛНЕНИЯ ПРЯМОЙ ПРОБЫ С ПОТРЕБЛЕНИЕМ
АНТИГЛОБУЛИНА

Номер пробирки	1	2	3	4	5	6	7	8	Потребле- ние анти- глобулина в %
Разведение	1	2	4	8	16	32	64	128	
Титр антиглобулина	30	60	120	240	480	960	1920	3840	
Наличие агглютина- ции эритроцитов до контакта с тромбо- цитами	+	+	+	+	+	+	+	+	0
После контакта с тромбоцитами до- нора	+	+	+	+	+	+	+	—	23,9
После контакта с тромбоцитами боль- ного Д. В., 5 лет	—	—	—	—	—	—	—	—	100,0
До лечения	—	—	—	—	—	—	—	—	99,2
В процессе лечения } преднизолоном }	+	+	—	—	—	—	—	—	98,4

Ход определения. В каждую пробирку добавляют по 1/3 объема взвеси сенсibilизированных эритроцитов и учитывают наличие агглютинации эритроцитов. Одновременно исследуют антиглобулино-

вую сыворотку до и после контакта ее с кровяными пластинками больного и 3—4 доноров (последних в качестве контроля).

Интерпретация. Потребление антиглобулиновой сыворотки выражают в процентах путем вычисления его на основании двух титров антиглобулина: одного — после контакта с кровяными пластинками, сенсibilизированными сывороткой больного (C), другого — после контакта с несенсibilизированными тромбоцитами (T). Расчет проводят по формуле:

$$X = 100 \cdot \frac{T - C}{T}.$$

Результат считается положительным, если потребление антиглобулиновой сыворотки составляет не менее 30%.

КОСТНЫЙ МОЗГ

ПОЛУЧЕНИЕ КОСТНОГО МОЗГА МЕТОДОМ ПУНКЦИИ

Пункцию грудины по методу Аринкина производят при помощи иглы Кассирского, которая удобна и безопасна, так как имеет предохранительный щиток. Щиток-ограничитель может быть установлен на требуемую глубину в зависимости от толщины кожи и подкожной клетчатки и гарантирует от прокола задней пластинки грудины.

Насасывание костного мозга производят шприцем «Рекорд» емкостью не менее 10—20 мл. Для обеспечения требуемого вакуума предварительно проверяют, чтобы шприц не пропускал воздуха.

Производят прокол рукоятки и тела грудины на уровне III—IV ребра по средней линии. Передняя стенка тела грудины тоньше и имеет ровную или слегка вогнутую поверхность, наиболее удобную для пункции. Кроме того, эта область костного мозга содержит большее количество клеток. Во время пункции костного мозга больной лежит на спине.

У детей существует опасность прокола грудины ввиду ее большей эластичности и индивидуальных различий в толщине кости. Поэтому у детей, особенно новорожденных и грудных, предпочтительно делать пункцию в верхней трети большеберцовой кости с внутренней стороны дистального эпифиза бедренной кости или пяточной кости.

Пункцию подвздошной кости производят на 1—2 см кзади от передней ости.

Можно пунктировать ребра и остистые отростки позвонков (удобнее III и IV поясничные позвонки). При пункции остистых отростков позвонков пациент занимает сидячее положение, наклонившись вперед.

- Посуда и оборудование.** 1. Игла Кассирского.
2. Шприц 10—20 мл.
3. Часовое стекло.
4. Предметные и покровные стекла.
5. Вата и стерильные марлевые тампоны.

- Реактивы.** 1. Спирт.
2. Йод.
3. Эфир.
4. 1—2% раствор новокаина,

Б. Хлорэтил.

Техника пункции. Место пункции дезинфицируют спиртом и йодной настойкой. Затем кожу, подкожную клетчатку и надкостницу при помощи тонкой иглы инфильтрируют 1—2% раствором новокаина в количестве 2 мл. Можно производить анестезию кожи хлорэтилом, а также производить пункцию и без обезболивания.

Шприц и пункционную иглу стерилизуют сухим методом или кипячением и тщательно высушивают спиртом, а затем эфиром.

Перед тем как сделать укол, при помощи винтовой нарезки предохранитель-ограничитель устанавливают на необходимую глубину прокола и вставляют мандрен. Предложено придерживаться следующих ориентировочных данных установки щитка-ограничителя при пункции грудины (табл. 16).

Таблица 16

Возраст больного в годах	Установка щитка-ограничителя в мм для длины иглы		
	для исто- щенных больных	для больных среднего питания	для больных хорошего питания
До 3	2—3	3—4	4—5
4—5	3—4	4—5	5—6
6—10	5—6	6—7	7—8
11—14	7—8	8—9	9—10
15—17	9—10	10—11	11—12
Старше 17	10—11	11—12	12—13

Иглу направляют перпендикулярно к груди по ее средней линии, быстрым движением прокалывают кожу и подкожно-жировую слои и проходят наружную пластинку грудины. В этот момент уменьшается сопротивление и игла, как бы проваливаясь, входит в полость костного мозга. При этом она устанавливается вертикально и неподвижно. Если игла не находится в неподвижном состоянии, не вынимая ее, отодвигают предохранитель несколько выше и вновь продвигают иглу в полость костного мозга. Однако следует помнить, что при наличии рака, миеломной болезни, остеомиелита и других остеолитических процессов игла, попадая в очаг поражения, встречает меньшее сопротивление и плохо фиксируется в кости.

После того как игла войдет в полость костного мозга, вынимают мандрен и плотно насаживают шприц.

Далее оттягивают поршень шприца и насаживают не более 0,5—1 мл костного мозга (при большем количестве пунктата в нем может содержаться больше периферической крови).

Если не удастся получить костный мозг, то, не вынимая иглы, снимают шприц, вставляют вновь мандрен и переводят иглу в другое положение — выше, ниже или в стороны. Затем снова с помощью шприца насаживают немного пунктата.

После взятия костного мозга иглу, не разъединяя со шприцем, извлекают из грудины, а место прокола закрывают стерильной наклейкой.

Полученный материал переносят на часовое стекло, затем выбирают кусочки костного мозга и готовят из них тонкие мазки. Если пунктат содержит примесь крови, то последнюю удаляют с помощью фильтровальной бумаги или отсасывают пастеровской пипеткой. Если же получено большое количество жидкого костного мозга, то методом лейкоконцентрации (отделив клетки от плазмы) из осадка делают мазки. Очень большое практическое значение имеет правильное приготовление мазка из ткани костного мозга, иначе примесь периферической крови не дает представления о клеточном составе костного мозга. В хорошо приготовленном препарате клетки расположены густо, но отдельно, и их структура хорошо видна. Рекомендуется делать как можно больше мазков, используя для этого весь полученный материал костного мозга.

Мазки необходимо готовить быстро, так как свертывание костного мозга наступает быстрее, чем периферической крови. При этом клетки повреждаются настолько, что их невозможно дифференцировать.

При гипопластических и апластических состояниях костного мозга мазки содержат небольшое количество клеток, а иногда они полностью отсутствуют. Вопрос о том, является ли это следствием патологических процессов или результатом неправильно проведенной пункции, можно решить при повторной пункции.

Мазки пунктата фиксируют и окрашивают так же, как и мазки периферической крови, но лучшее окрашивание получается при применении метода Паппенгейма — Крюкова.

ТРЕПАНОБИПСИЯ ПОДВЗДОШНОЙ КОСТИ

Необходимость прижизненного изучения гистологических препаратов, полученных методом трепанобиопсии, появляется тогда, когда при пункции не удается получить достаточно содержимого костного мозга, подтверждающего тот или иной патологический процесс.

Гистологический метод приобретает особо важное значение при таких заболеваниях, как лейкозы, эритремия, остеомиелосклероз, гипо- и апластические процессы и др.

Для прокола и извлечения кусочка костной ткани М. Г. Абрамов предложил пользоваться иглой-троакаром (модифицированной иглой Мачульского). Игла сконструирована по принципу стерильной иглы Кассирского. Толщина иглы-троакара 3 мм, внутренний диаметр 2 мм, длина 4 см. Периферический конец иглы имеет подобие фрезы и спиралевидное очертание, благодаря чему игла приобретает способность при ее вращении срезать костную ткань. Составными частями иглы являются мандрен (стиллет с заостренным концом) и рукоятка.

Техника трепанобиопсии. Прокол производят в гребешок подвздошной кости, отступя 2—3 см кзади от ее передней верхней ости. Технически удобнее прокалывать левую подвздошную кость. Место прокола дезинфицируют спиртом и йодной настойкой. Предварительно иглу стерилизуют сухим методом или кипячением и высушивают спиртом и эфиром. На сухой игле при помощи винтовой

нарезки устанавливают щиток-ограничитель на необходимую глубину прокола, с учетом толщины подкожного жира. Перед введением иглы-троакара производят анестезию кожи, подкожной клетчатки и надкостницы 2% раствором новокаина. Проникнув иглой-троакаром в мягкие ткани, нащупывают концом заостренного мандрена место кости, где должен быть произведен прокол. Иглу вводят в костную ткань под некоторым давлением, вращательными движениями. При появлении ощущения прочной фиксации иглы мандрен извлекают. Разъединив мандрен и ручку, последнюю вновь навинчивают на иглу, зафиксированную в кости. Производя вращательное движение по часовой стрелке, иглу без большого труда удается ввести в спонгиозное вещество костной ткани. После этого вращательным движением иглу извлекают. Цилиндрический столбик костной ткани, находящийся в игле, выталкивают мандреном из просвета иглы на предметное стекло, а оттуда переносят в банку с формалином и отправляют для гистологического исследования. Из оставшегося на стекле, в игле и мандрене костного мозга делаются мазки. Чаще всего удается вырезать и извлечь кусочек костной ткани длиной от 6 до 10 мм, иногда больше.

Макроскопически трепанат (спонгиозная костная ткань) у здоровых людей и у больных с гиперпластическими процессами богат костным мозгом.

При тяжелых формах апластического процесса трепанат желтого цвета, что обуславливается почти полным исчезновением костномозговых элементов и заменой их жировой тканью.

При всех формах остеомиелосклероза и миелофиброза извлеченный кусочек костной ткани выглядит нередко «сухим», и из него удается извлечь лишь очень небольшое количество костного мозга для приготовления мазков.

Гистологическая картина костномозговой ткани при различных заболеваниях подробно описана М. Г. Абрамовым в книге «Клиническая цитология» (Медгиз, 1962).

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА КЛЕТОК

Пунктат костного мозга на часовом стекле осторожно растирают стеклянной палочкой и быстро насыщают в смеситель для эритроцитов до метки 0,5, а затем до метки 101 набирают 3—5% уксусной кислоты (забор костного мозга можно также производить пробирочным методом по Николаеву). После этого смеситель сильно встряхивают до получения гомогенной смеси, выпускают из капиллярной части жидкость, а последующие капли подливают в камеру и подсчитывают клетки, как лейкоциты крови.

Общее количество ядерных элементов колеблется в больших пределах, по-видимому, вследствие неодинакового состава костномозговой ткани в различных ее участках. У здоровых людей количество костномозговых клеток составляет от 45 000 до 250 000 в 1 мм³.

Подсчет форменных элементов костного мозга в камере не является необходимым. В большинстве случаев ограничиваются подсчетом процентного отношения различных форм ядерных клеток в мазке пунктата. При этом о количестве клеток судят ориентировочно по мазкам.

МИЕЛОГРАММА

Мазки пунктата костного мозга просматривают сначала с малым увеличением и отбирают те, которые содержат наибольшее количество клеток.

При малом увеличении нужно тщательно просмотреть по возможности все мазки для выявления комплексов клеток при микрометастазах злокачественных опухолей, клеток Березовского — Штернберга, клеток Пирогова — Ланганса и др. При этом же увеличении нужно обратить внимание на количество мегакариоцитов, есть ли они в мазках, много их или мало. После тщательного просмотра мазков приступают к счету клеток костного мозга. Подсчитывают не менее 500 клеток и вычисляют процент каждого вида клеток.

Подсчет можно производить двумя способами:

1) по методу Кост считают отдельно клетки лейкопоза и эритропоза. Сосчитывают 500 (или 1000) клеток лейкопоза, а количество клеток красной крови вычисляют на 100 клеток лейкопоза.

Нормальный клеточный состав костного мозга при этом методе подсчета (по данным лаборатории больницы имени С. П. Боткина) следующий:

Ретикулярные клетки:	
плазматические	0,4—0,6%
лимфоидные	2—3%
макрофаги	0—1%
Гемоцитобласты	0—0,1%
Миелобласты	1,4—1,6%
Промиелоциты	2—3%
Нейтрофилы:	
миелоциты	3—8,4%
метамиелоциты	6—8%
палочкоядерные	25—33%
сегментоядерные	20—27%
Эозинофилы:	
миелоциты	0,6—1%
метамиелоциты	0,2—1,5%
палочкоядерные	0,6—1%
сегментоядерные	1—1,3%
Базофилы:	
миелоциты	0—0,2%
сегментоядерные	0,4—0,8%
Лимфоциты	9—10%
Моноциты	1—2%
На 100 клеток белой крови:	
эритроциты	0—0,08%
Нормобласты:	
базофильные	1—3%
полихроматофильные	6—8%
оксифильные	12—14%

2) по методу Аринкина считают подряд все клетки костного мозга и вычисляют проценты каждого вида клеток. У здоровых людей в миелограммах имеются значительные различия по данным отдельных авторов (табл. 17).

Таблица 17

НОРМЫ ПРОЦЕНТНОГО СОДЕРЖАНИЯ ФОРМЕННЫХ ЭЛЕМЕНТОВ
СТЕРИЛЬНОГО ПУНКТАТА У ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ

Клеточные элементы	По данным М. И. Ари- кина, 1938	По данным Г. А. Алексеева, 1940	По данным Х. Х. Власова и Ф. Э. Файн- штейна, 1952
Гемогистобласты	—	—	0,0—1,0
Гемоцитобласты	—	0,0—1,2	0,0—1,2
Миелобласты	1,0—1,4	0,25—6,4	0,6—1,6
Промиелоциты Н	0,8—1,4	0,5—8,0	1,2—3,4
Промиелоциты Э	—	0,0—0,5	0,0—0,6
Промиелоциты Б	—	0,0—0,1	—
Миелоциты Н	4,2—10,0	4,5—16,8	6,4—11,8
Миелоциты Э	0,4—1,2	0,5—4,0	0,0—1,4
Миелоциты Б	—	0,0—1,5	0,0—0,6
Метамиелоциты Н	1,6—5,0	9,0—21,6	8,2—16,8
Метамиелоциты Э	0,0—0,3	0,3—4,0	0,0—1,4
Метамиелоциты Б	—	0,0—0,1	—
Палочкоядерные Н	40,0—51,0	14,0—33,0	14,2—24,6
Палочкоядерные Э		0,5—3,2	0,0—1,8
Палочкоядерные Б		0,0—0,1	—
Сегментоядерные Н	0,5—0,8	13,0—27,0	14,2—26,6
Сегментоядерные Э		1,0—3,75	0,6—2,4
Сегментоядерные Б		0,0—0,25	0,0—1,0
Лимфоциты	10,0—13,0	1,2—11,5	4,0—9,4
Моноциты	1,8—4,0	0,25—2,0	0,0—1,2
Плазматические клетки	0,4—1,0	0,1—1,0	0,0—1,6
Ретикуло-эндотелиальные клетки	3,5—12,2	0,1—1,0	0,0—0,4
Мегакариоциты	0,8—1,6	0,01—0,2	0,0—1,8
Эритробласты (проэритро- бласты)	0,0—1,6	0,50—6,0	6,0—15,7
Мегалобласты	0	0	0
Нормобласты	11,2—14,2	16,0—32,5	5,6—13,8

У детей в различные возрастные периоды выявлены некоторые различия в миелограмме (табл. 18).

При оценке пунктата костного мозга, кроме общего количества подсчитанных клеток, необходимо учитывать и соотношение между молодыми и более зрелыми формами нейтрофилов, так называемый костномозговой индекс созревания нейтрофилов. В норме этот индекс меньше единицы и по Г. И. Алексееву равен 0,6—0,8. Получается из формулы:

$$\frac{\text{промиелоциты} + \text{миелоциты} + \text{метамиелоциты}}{\text{палочкоядерные} + \text{сегментоядерные}}$$

Индекс созревания эритробластов — это отношение количества гемоглобинсодержащих нормобластов (в патологических случаях мегалобластов) к количеству всех клеток эритробластического ряда:

$$\frac{\text{полихроматофильные} + \text{оксифильные нормобласты}}{\text{эритробласты} + \text{пронормобласты} + \text{полихроматофильные и оксифильные нормобласты}}$$

В норме этот индекс по Г. И. Алексееву равен 0,8.

Интерпретация. При оценке миелограммы необходимо знать динамику периферической крови и состояние больного. Помимо количественных сдвигов клеток лейкопоза и эритропоза, надо учитывать их созревание.

При увеличении эритробластических и лейкобластических элементов с задержкой их созревания в периферической крови может наблюдаться уменьшение количества лейкоцитов и эритроцитов. В других же случаях (например, при эритремии) в костном мозгу отмечается увеличенное количество нормобластов без нарушения их созревания, что сопровождается увеличением числа эритроцитов в крови.

При оценке пунктата костного мозга очень важно отношение количества элементов лейкопоза к числу элементов эритробластического ряда. У здоровых людей это соотношение $\frac{\text{лейко}}{\text{эритро}} = 4:1$ или 3:1.

При гиперплазии элементов эритропоза количество клеток увеличивается за счет клеток эритропоза и соотношение $\frac{\text{лейко}}{\text{эритро}}$ уменьшается, достигая величины 1:1 и меньше.

Такая картина наблюдается при различных формах малокровия (постгеморрагическая, гемолитическая и пернициозная анемия).

При нелеченой пернициозной анемии увеличение клеток происходит преимущественно за счет мегалобластов, а в начале ремиссии за счет эритронормобластов. При этом соотношение $\frac{\text{лейко}}{\text{эритро}}$ достигает 1:8. При полной ремиссии оно приближается к норме.

При уменьшении элементов гранулопоза наблюдается также уменьшение соотношения $\frac{\text{лейко}}{\text{эритро}}$. Такая картина встречается при агранулоцитозе.

НОРМАЛЬНАЯ МИЕЛОГРАММА В РАЗЛИЧНЫЕ ВОЗРАСТНЫЕ

Клетки	1-й день жизни		Конец периода новорожденности	
Эритробласты				
базофильные	0,5—10,0	5,0	0,0—3,0	1,0
полихроматофильные . .	7,5—30,0	15,0	0,0—10,0	3,0
оксифильные	7,5—30,0	15,0	2,0—20,0	6,0
Всего	—	35,0	—	10,0
Гранулоциты				
миелобласты	0,2—5,0	2,5	0,2—5,0	2,0
промиелоциты	0,2—5,0	3,0	0,5—7,5	3,5
Нейтрофилы				
миелоциты	2,0—20,0	6,0	5,0—20,0	10,0
метамиелоциты	5,0—25,0	12,5	5,0—25,0	12,5
палочкоядерные	5,0—25,0 (—35,0) ¹	12,5	10,0—25,0 (—35,0)	15,0
сегментоядерные	10,0—30,0 (—45,0)	15,0	10,0—25,0 (—35,0)	15,0
Эозинофилы	0,0—5,0	1,0	0,5—7,5	2,5
Базофилы	0,0—0,5	0,05	0,0—1,0	0,05
Всего	—	52,0	—	60,0
Моноциты	3,0—15,0	7,5	2,0—10,0	5,0
Лимфоциты	—	—	—	—
Ретикулярные клетки	0,0—10,0	5,0	10,0—40,0	25,0
Плазмциты	0,0—1,0	0,1	0,0—1,5	0,1
Мегакариоциты	—	0,1	—	0,1

¹ В скобках цифры, вызывающие сомнение.

Таблица 18

ПЕРИОДЫ (В ПРОЦЕНТАХ) (ПО ДАННЫМ ОПИТЦА И ВЕЙКЕРА)

Грудной возраст		Дошкольный возраст		Школьный возраст		Взрослые	
0,5—5,0	2,5	1,0—6,0	2,5	1,0—8,0	3,0	0,5—7,5	3,5
5,0—20,0	10,0	3,0—10,0	5,0	3,0—10,0	6,0	2,0—15,0	7,0
5,0—12,5	7,5	5,0—20,0	10,0	5,0—20,0	11,0	5,0—25,0	12,0
—	20,0	—	17,5	—	20,0	—	22,5
0,2—5,0	1,5	0,2—5,0	1,0	0,2—5,0	1,0	0,5—5,0	1,0
0,5—10,0	2,5	0,5—7,5	2,5	0,5—10,0	3,0	0,0—7,5	3,0
5,0—15,0	10,0	5,0—20,0	12,5	5,0—25,0	15,0	5,0—25,0	15,0
5,0—15,0	10,0	5,0—20,0	12,5	5,0—25,0	15,0	5,0—20,0	15,0
5,0—15,0	8,0	5,0—15,0	10,0	5,0—20,0	12,5	5,0—25,0	15,0
1,0—15,0	7,0	1,0—15,0 (—25,0)	8,5	1,0—15,0 (—30,0)	8,0	0,5—15,0 (—35,0)	7,0
1,0—7,5	4,0	1,5—7,5 (—20,0)	5,0	1,0—7,0 (—20,0)	4,0	1,5—7,5 (—25,0)	4,0
0,0—1,0	<0,05	0,0—0,5	<0,1	0,0—1,0	<0,2	0,0—1,0	<0,5
—	43,0	—	52,0	—	58,5	—	60,5
0,5—5,0	2,0	1,0—5,0	3,0	0,5—4,0	1,5	0,5—3,0	2,0
—	—	—	—	—	—	2,5—15,0	7,5
15,0—50,0	35,0	15,0—40,0	27,5	10,0—35,0	20,0	1,5—20,0	6,5
0,0—2,0	<0,5	0,0—2,5	<0,5	0,2—2,5	0,5	0,5—3,0	1,0
—	<0,5	—	<0,5	—	<0,5	—	<0,5

При одновременном уменьшении числа клеток лейкопоза и эритропоза может сохраниться нормальное соотношение между ними и в то же время оба указанные выше ростка будут подавлены.

Подобное состояние встречается при гипо- и апластических процессах. Резкое увеличение количества костномозговых элементов с увеличением соотношения $\frac{\text{лейко}}{\text{эритро}}$ свидетельствует о гиперплазии миелоидных элементов, встречается при лейкозах, инфекциях, интоксикациях и других состояниях.

МОРФОЛОГИЯ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА

РЕТИКУЛЯРНЫЕ КЛЕТКИ

В кроветворных органах наряду с дифференцированной тканью (паренхима), состоящей в костном мозгу из клеток миелоидного ряда, а в селезенке и лимфатических узлах из клеток лимфатического ряда, имеются клетки ретикулярной ткани (стромы).

Среди ретикулярных элементов различают следующие формы: 1) малые лимфоидные ретикулярные клетки, 2) большие лимфоидные ретикулярные клетки, или гемогистобласты, 3) клетки Феррата, 4) плазматические клетки, 5) макрофаги и 6) липофаги.

Малые лимфоидные ретикулярные клетки имеют сходство с лимфоцитами, и эти два типа клеток не всегда можно дифференцировать. У малых лимфоидных ретикулярных клеток ядро круглое или овальное, с четко очерченными границами, содержащее большое количество базихроматина. Изредка в ядрах можно обнаружить ядрышки. Цитоплазма окружает ядро узким ободком и окрашивается в синий цвет. Встречаются малые лимфоидные ретикулярные клетки с биполярно вытянутой цитоплазмой и несколько удлиненными ядрами. В цитоплазме иногда содержится немного азурофильных зерен.

В норме малые лимфоидные ретикулярные клетки обнаруживаются в пунктате костного мозга и лимфатических узлов только как редкие экземпляры (0,1—0,3%), а в селезенке от 1 до 10%.

Большие лимфоидные ретикулярные клетки — гемогистобласты величиной от 15 до 30 мк. Благодаря синцитиальному расположению клетки не имеют правильной формы.

Ядро клеток круглое или овальное, с нежносетчатой ажурной структурой, без резкого разграничения между бази- и оксихроматином, светлое, содержит 1—2 ядрышка.

Цитоплазма обильная и окрашивается в светло-голубой или серовато-голубой цвет, иногда с нежной, пылевидной или палочковидной азурофильной зернистостью. В норме в кроветворных органах большие лимфоидные ретикулярные клетки обнаруживаются в виде единичных экземпляров.

Клетки Феррата представляют собой ретикулярные клетки, неспособные в нормальных условиях к дальнейшему развитию и приобретающие способность к кроветворению лишь при определенных патологических условиях. Существует также мнение, что клетки Феррата — это промиелоциты, раздавленные и распластанные при приговлении мазков.

Клетки Феррата имеют крупные размеры, достигающие 35—40 мк, неправильной, чаще всего полигональной формы.

Ядро круглое, бледное, занимает около половины клетки и, как правило, располагается эксцентрично. Нити базихроматина грубоватые, расположены широкими полосами с просветами бесцветного оксихроматина. В ядре имеются хорошо очерченные 1—3 ядрышка.

Цитоплазма широкая, часто с расплывчатыми очертаниями, нечетко отделенная от окружающей среды, окрашивается в светло-голубой цвет. В ней имеется большое количество мелкой, пылевидной азурофильной зернистости.

Клетки Феррата в кроветворных органах встречаются в норме в виде единичных экземпляров. Их количество резко возрастает при заболеваниях, сопровождающихся гиперплазией ретикуло-эндотелия.

Атипичные ретикулярные клетки встречаются при ретикулозах — лейкозах. Среди них различают следующие виды:

1. Клетки небольших размеров. Ядра занимают большую часть клетки, неправильной формы, богатые хроматином, некоторые имеют ядрышки. Цитоплазма нерезко отграниченная, в виде небольшого ободка бледно-синего цвета, вакуолизированная, иногда содержащая темно-фиолетовую или красно-фиолетовую зернистость. Клетки могут встречаться в синцитиальной связи.

2. Клетки, схожие с большими лимфобластными ретикулярными клетками (гемогистобласты), больших размеров, неправильной полигональной формы. Ядра их чаще круглые или овальные, могут быть с вдавлением, структура нежная, окрашиваются в светло-фиолетовый цвет. Имеют 1—2 ядрышка. Цитоплазма широкая, без четких контуров, окрашивается в светло-синий цвет. Эти клетки чаще всего встречаются в синцитии.

3. Клетки, схожие с моноцитами, имеющие нежные ядра с многочисленными извилинами в них, а иногда разделенные на части, окаймленные как бы воздушной, легкой протоплазмой. В некоторых ядрах также обнаруживают ядрышки.

4. Гигантские многоядерные клетки и клетки с резко выраженной плазматизацией, приобретающие благодаря этому сходство с миеломными клетками.

Ретикулярные клетки, встречающиеся при инфекционном мононуклеозе: а) клетки больших размеров (до 20 мк и более) с молодой нежногубчатой структурой ядра и широкой протоплазмой, окрашивающиеся то в более темный, то в более светлый синий цвет; б) клетки меньших размеров (до 10—12 мк) с ядром круглой или бобовидной формы, нередко расположенным эксцентрично, имеющим грубопетлистое строение. Протоплазма резко базофильная, более интенсивно окрашенная по периферии, иногда очень светлая; в) клетки размерами более, чем зрелые лимфоциты, с моноцитарным ядром и довольно интенсивно окрашенной в синий цвет протоплазмой, в которой также иногда обнаруживают азурофильные зерна. При этом заболевании ретикулярные клетки называют лимфомоноцитами или атипичными мононуклеарами.

Плазматические клетки по степени зрелости разделяют на плазмобласты, проплазмциты и плазмциты (зрелые плазматические клетки).

Плазмобласты имеют размер от 16 до 30 мк. Ядро занимает большую часть клетки и располагается в центре или несколько эксцентрично. Оно имеет нежную структуру, богато базихроматином,

имеющим тенденцию к радиальному расположению. Ядро содержит одно или несколько крупных ядрышек, не всегда четко видимых.

Цитоплазма значительных размеров, окрашивается в интенсивно синий цвет. Вокруг ядра имеется характерная зона просветления. В норме эти клетки могут содержаться в пунктате лимфатического узла и в селезенке в виде единичных экземпляров.

Проплазмциты (клетки Тюрка) — являются переходными формами от плазмобласта к зрелым плазматическим клеткам. По размеру они больше, чем зрелые плазматические клетки, иногда достигают 20 мк в диаметре.

Ядро занимает большую часть клетки и чаще расположено эксцентрично, богато базихроматином, но в некоторых его частях сохраняется нежносетчатое строение. В ядре еще могут быть видны остатки ядрышек.

Цитоплазма резко базофильная с просветлением вокруг ядра, однако встречаются клетки с более светлой цитоплазмой и менее выраженной перинуклеарной зоной. В ней могут быть видны вакуоли.

Плазмциты — зрелые плазматические клетки (клетки Унна) разнообразны как по форме, так и по размерам.

Встречаются малые плазматические клетки до 8 мк в диаметре и большие клетки диаметром до 20 мк. Ядро имеет почти постоянную величину, а изменяется большей частью величина цитоплазмы. Ядро круглое или чаще овальное и расположено эксцентрично, имеет характерную грубую колесовидную структуру.

Цитоплазма окрашивается в интенсивно синий цвет с ясным просветлением вокруг ядра. В цитоплазме могут быть различной величины вакуоли, придающие ей ячеистое строение.

Нередко встречаются многоядерные плазматические клетки, содержащие 2—3 и более ядер. Последние бывают одинаковой или различной величины. Плазматические клетки больших размеров могут иметь цитоплазму, окрашенную в серо-голубой цвет с менее отчетливой перинуклеарной зоной или с отсутствием ее.

В норме в пунктате костного мозга находят зрелые плазматические клетки в количестве 0,25—1%, а в пунктате лимфатического узла и селезенки плазмобласты, проплазмциты и зрелые плазматические клетки в количестве 0,1—0,8%.

В периферической крови в норме плазматических клеток не находят. Они появляются в крови при ряде инфекций (корь, краснуха, ветряная оспа), сывороточной болезни, некоторых болезнях кожи, инфекционном мононуклеозе (болезнь Филатова), агранулоцитозе, туберкулезе, лимфогранулематозе, тяжелом сепсисе, крупозной пневмонии, актиномикозе, циррозе печени, миеломной болезни. При некоторых формах множественной миеломы молодые плазматические клетки могут поступать в периферическую кровь в большом количестве, напоминая картину лейкоза. Морфология плазматических клеток при миеломной болезни имеет характерные черты — миеломные клетки (см. ниже).

Миеломные клетки имеют большие размеры, достигающие иногда 40 мк и более в диаметре.

Ядро нежное, содержит 1—2 больших или несколько мелких ядрышек, окрашенных в голубой цвет. Нередко встречаются клетки многоядерные с 3—5 ядрами. В ядре имеются вакуоли.

Цитоплазма больших размеров, окрашивается в различные цвета: светло-сиреневый, светло-фиолетовый, интенсивно фиолетовый, а

иногда принимает красноватый оттенок, обусловленный присутствием гликопротеидов.

В некоторых случаях даже отдельные части цитоплазмы одной и той же клетки окрашиваются в разные оттенки. Околоядерное просветление выражено менее четко или отсутствует. В редких случаях находят гиалиновые включения — тельца Русселя, в количестве 1—2, величиной 2—4 мк. При окраске азур-эозином они окрашиваются в красный цвет.

В исключительных случаях в протоплазме миеломных клеток встречаются кристаллические включения игольчатой или ромбической формы (белковой природы), ярко-розового цвета¹. При наличии кристаллов в клетке миеломная болезнь протекает более остро.

Макрофаги представляют собой фагоцитирующие ретикулярные клетки. В периферической крови они известны как гистиоциты, однако правильнее называть их макрофагами (И. И. Мечников). Клетки различной величины, в основном больших размеров.

Молодые клетки имеют круглое или овальное ядро нежной структуры, содержащее иногда 1—2 ядрышка светло-синего цвета. Цитоплазма голубого цвета, нерезко очерчена.

У более зрелых клеток ядро грубее, цитоплазма широкая, голубого цвета и нерезко очерчена, содержит различные включения: азурофильные зерна, обломки клеток, эритроциты, глыбки пигмента, жировые капли, иногда бактерии и т. п.

Встречаются макрофаги недеятельные, не имеющие в протоплазме включений (макрофаги в покое).

Липофаги — это макрофаги, фагоцитирующие жиры и липонды. Они могут быть различной величины, достигая 40 мк и более.

В протоплазме имеется обильная мелкая вакуолизация за счет содержания капель жира, растворившихся во время фиксации препарата в спирту. В некоторых случаях мелкие капли могут сливаться, образуя одну большую, которая заполняет всю цитоплазму и оттесняет ядро к периферии. В нативных мазках жир выглядит в виде блестящих, резко преломляющих свет капель. При добавлении судана капли жира окрашиваются в оранжевый цвет.

В норме в пунктате костного мозга, лимфатического узла и селезенки встречаются единичные липофаги.

Большое количество их встречается при апластических процессах в кроветворной ткани.

Клетки Гоше относятся к ретикулярным элементам, макрофагам, содержащим вещество керазин (из группы цереброзидов). Клетки больших размеров (около 30—40 мк, некоторые 80 мк) имеют круглую, овальную или полигональную форму.

Ядро занимает меньшую часть клетки и обычно оттеснено к периферии. Ядро грубое, комковатое, местами пикнотичное. Иногда наблюдаются двухъядерные клетки.

Цитоплазма светлая, широкая, занимает большую часть клетки. Наличие керазина создает впечатление слоистости цитоплазмы.

Реакция на жир всегда отрицательна.

Описанные клетки обнаруживают в пунктатах костного мозга и селезенки, при керазинном ретикулозе, болезни Гоше.

¹ Н. Е. Андреева. Проблемы гематологии и переливания крови, 1963, № 8, стр. 46—48.

Клетки, подобные клеткам Гоше, встречаются при болезни Пика — Нимана (фосфатидный липоидоз) и болезни Шулера — Христиана (холестериновый липоидоз). Отличить их более точно можно только посредством химического исследования содержащихся в них веществ.

Тучные (тканевые) клетки (базофилы соединительной ткани) образуются из ретикулярных клеток. Размер клеток колеблется в пределах от 10 до 14 мк. Ядро круглое или овальное, неопределенной структуры, окрашивается в красновато-фиолетовый цвет. Цитоплазма широкая с обильной зернистостью красновато-фиолетового цвета.

В норме они встречаются в пунктате лимфатического узла и селезенки до 0,1%. В большом количестве обнаруживаются в костном мозгу при базофильных лейкозах.

ГЕМОЦИТОБЛАСТЫ

Клетка образуется из гемоцитобласта (большой лимфоидной ретикулярной клетки). Из гемоцитобластов дифференцируются все кровяные элементы гранулоцитарного, эритроцитарного, лимфоцитарного ряда. Величина гемоцитобластов колеблется от 12 до 20 мк, ядерно-протоплазменное соотношение различно и зависит от степени развития протоплазмы, но чаще увеличено за счет ядра.

Ядра располагаются обычно в центре, иногда эксцентрично. Форма ядра круглая или овальная, иногда с небольшим вдавлением. Структура ядра очень нежная, состоит из тонких густых нитей хроматина, которые располагаются очень правильно, образуя нежную сеть. Чем меньше величина клетки, тем плотнее располагаются нити базихроматина, не образуя комочков. Ядро красится в красновато-фиолетовый цвет. В ядре имеются ядрышки в количестве от 1 до 3 и более, но в микрогенерациях и дегенеративных формах они часто не видны. Ядрышки красятся чаще в голубоватый или синий цвет, слегка маскируемый красно-фиолетовым оттенком. Вокруг ядрышек отмечается приподнятый валик.

Цитоплазма окрашивается в сине-голубые тона. Вокруг ядра имеется небольшая зона просветления. Иногда в цитоплазме обнаруживается зернистость в виде зерен и нитей, окрашенных в красный или в фиолетово-красный цвет.

У здорового человека гемоцитобласты находят в костном мозгу в небольшом количестве (до 1,5%).

При гиперпластических процессах кроветворной системы (острые лейкозы) обнаруживают патологические формы гемоцитобластов, характеризующиеся резким полиморфизмом, различной величиной (от 20 мк до карликовых форм — микрогемоцитобласты) и неодинаковой формой. Ядра также отличаются полиморфизмом, имеют лапчатую бухтообразную, бобовидную форму, иногда напоминают ядра зрелых нейтрофилов. Некоторые авторы называют такие клетки парамелобластами.

Структура ядер патологических гемоцитобластов может оставаться нежносетчатой, содержать большие, иногда неправильной формы ядрышки, схожие с опухолевыми. Иногда ядра имеют грубую структуру с плотно располагающимися нитями базихроматина и окрашивающиеся в темно-фиолетовый цвет.

Цитоплазма у патологических гемоцитобластов окрашивается чаще в более светлые синие цвета, иногда содержит азурофильную

зернистость (напоминают промиелоциты) или красноватые палочки (тельца Ауэра), накопления жира и пероксидазы¹.

Известные трудности представляет дифференцировка микрогемоцитобластов от лимфоцитов, так как микрогемоцитобласты имеют конденсированные ядра с плотно располагающимся хроматином. В отличие от лимфоцитов гемоцитобласты не образуют плотных комков хроматина, характерных для лимфоцитов. Микрогемоцитобласты можно дифференцировать в очень тонких мазках и при безукоризненной фиксации и окраске их. Последнего можно достигнуть применением метода окраски по Паппенгейму — Крюкову.

ГРАНУЛОЦИТЫ

Миелобласт — родоначальная клетка элементов зернистого (гранулоцитарного) ряда развивается из гемоцитобласта. Размер клетки от 12 до 20 мк.

Ядро занимает большую часть клетки, окрашивается в красновато-фиолетовый цвет, имеет круглую или овальную форму. Структура ядра мало отличается от структуры ядра гемоцитобласта, хотя можно отметить несколько менее нежную сетчатость его. В ядре обнаруживается от 2 до 7 ядрышек, окрашивающихся в светло-синий, а иногда и красновато-фиолетовый цвет.

Цитоплазма при окраске становится светло-синей.

Гемоцитобласты и миелобласты морфологически трудно различимы, поэтому многие исследователи не дифференцируют эти два вида клеток. Выделение миелобластов целесообразно только для того, чтобы подчеркнуть направленность дифференцировки гемоцитобластов.

В норме в костном мозгу миелобластов содержится от 1 до 3%.

При острых лейкозах и тяжелых обострениях хронических миелозов встречаются патологические миелобласты в виде микрогенераций с утраченной нежносетчатой структурой ядра и выраженным его полиморфизмом.

Промиелоцит образуется в процессе деления миелобласта, далее из него образуются более зрелые зернистые лейкоциты.

Величина клетки колеблется от 14 до 24 мк.

Ядро занимает большую часть клетки. Форма ядра круглая, овальная или с небольшим вдавлением. Часто ядро располагается эксцентрично. Структура ядра клетки либо с равномерным расположением нитей базихроматина, либо более грубая за счет утолщений нитей базихроматина. В ядре могут быть видны ядрышки, которые не всегда хорошо выражены.

Цитоплазма промиелоцитов разнообразна. Чаще она имеет значительные размеры, иногда в виде небольшого ободка. У более молодых клеток окрашивается в разные оттенки синего цвета, по мере созревания клеток в розовато-голубой цвет. В цитоплазме имеется различное количество недифференцированной, довольно крупной, типа азурофильной, зернистости, однако окрашивающейся иногда в различные цвета.

Промиелоциты нередко трудно отдифференцировать от молодых нейтрофильных и эозинофильных миелоцитов.

¹ М. С. Дульцин и др. Проблемы гематологии и переливания крови, 1965, № 9.

В норме в пунктате костного мозга количество промиелоцитов колеблется в пределах 0,8—6,7%.

Миелоциты варьируют в размерах от 8 до 18 мк.

Ядро миелоцита круглое, овальное, иногда с вдавлением, занимает примерно половину объема клетки. Структура ядра в виде чередования более темных участков базихроматина с более светлыми участками оксихроматина.

В ядре миелоцита ядрышки отсутствуют. Вокруг ядра имеется большой ободок протоплазмы. У зрелых нейтрофильных миелоцитов она окрашивается в бледный розовато-фиолетовый цвет, у молодых в различные оттенки синего, а у эозинофильных и базофильных миелоцитов в голубой цвет.

В цитоплазме нейтрофильного миелоцита имеется большое количество мелких и крупных нейтрофильных зерен, расположенных по всей цитоплазме и окрашивающихся в розово-синеватый или в фиолетовый цвет.

У эозинофильного миелоцита в цитоплазме содержатся в большом количестве крупные круглые эозинофильные зерна, окрашивающиеся в желтовато-красный цвет. У более молодых эозинофильных миелоцитов наблюдается незрелая зернистость, окрашивающаяся в темно-синий или в темный фиолетово-красный цвет.

У базофильного миелоцита в цитоплазме содержится базофильная зернистость, количество и форма которой различны. Эта зернистость при окраске приобретает синий, сине-розовый и красновато-фиолетовый цвет.

При патологических процессах, особенно при лейкозах, отмечается несоответствие в развитии ядра и протоплазмы клеток.

В норме в костном мозгу количество нейтрофильных миелоцитов колеблется от 5,4 до 14,5%, эозинофильных от 0,4 до 3% и базофильных от 0,1 до 0,5%.

Метамиелоциты (юные). Размер их от 10 до 16 мк. Ядро занимает около половины клетки и имеет подковообразную, почкообразную, колбасообразную или «S»-образную форму. Ядро более компактное по сравнению с миелоцитами.

У нейтрофильного метамиелоцита ядро содержит интенсивно окрашенные грубые комочки базихроматина, чередующиеся со светлым оксихроматином. Цитоплазма бледно-розового цвета, но иногда бывает сероватой или светло-синей. В цитоплазме содержится розово-синеватого или фиолетового цвета (нейтрофильная) зернистость, разная по величине и распространенная по всей протоплазме.

Эозинофильный метамиелоцит имеет более бледно окрашенное ядро, за счет рыхлой хроматиновой сети. Цитоплазма окрашивается в бледно-голубой цвет, содержит большое количество эозинофильной зернистости, распространенной по всей цитоплазме и окрашивающейся в желтовато-красный или в фиолетовый цвет.

Базофильные метамиелоциты не всегда можно точно определить, так как они имеют неясные очертания ядра. Поэтому клетки, которые нельзя с уверенностью отнести к метамиелоцитам по форме и структуре ядра, но которые имеют базофильную зернистость, рекомендуется считать зрелыми полиморфноядерными базофилами.

В норме в костном мозгу содержится: нейтрофильных метамиелоцитов от 8 до 16,8%, эозинофильных — от 1,5 до 4%, базофиль-

ных — от 0 до 0,1%. В периферической крови в норме могут встречаться единичные экземпляры.

Зрелые гранулоциты см. раздел «Морфология лейкоцитов».

ЛИМФОЦИТЫ

Основным местом образования лимфоцитов служит кроветворная ткань селезенки и лимфатических узлов. В детском возрасте в этих органах лимфоцитов образуется больше, чем у взрослых, особенно при некоторых инфекциях.

По степени зрелости лимфоциты делят на лимфобласты, пролимфоциты и зрелые лимфоциты.

Лимфобласт является материнской клеткой лимфоидного ряда, образуется из гемоцитобластов.

Размер лимфобластов колеблется от 12 до 18 мк.

Ядро занимает большую часть клетки и имеет круглую или овальную форму. Структура ядра нежная, но по сравнению с ядром миелобластов оно более грубое, комковатое. Темные участки базихроматина в ядре лимфобласта незаметно переходят в светлую хроматиновую основу — оксихроматин. В ядре чаще имеется одно крупное ядрышко, менее резко отграниченное, чем у миелобласта.

Цитоплазма окрашивается в синий цвет, но меньшей интенсивности, чем у миелобласта. Отчетливо выражено околоядерное просветление (перинуклеарная зона). Зернистость в цитоплазме не содержится.

Лимфобласт имеет сходство с миелобластом и отличить лимфобласты от миелобластов трудно. Молодые миелобласты, как и лимфобласты, не дают положительной оксидазной и пероксидазной реакции. Дифференцировать их помогает окружающий фон препарата. Если в мазке имеется большое количество зрелых лимфоцитов и пролимфоцитов, то это указывает на гиперплазию лимфоидной ткани. Молодые клетки, находящиеся в мазке и имеющие сходство с лимфобластами, могут быть отнесены в этом случае к лимфобластам.

В периферической крови и костном мозгу у здорового человека лимфобластов не бывает. Их обнаруживают при лимфолейкозе в небольшом количестве.

В норме в пунктате лимфатического узла содержится лимфобластов от 0,1 до 0,5%, а в пунктате селезенки от 0,1 до 0,2%.

Пролимфоцит (большой лимфоцит, молодой лимфоцит).

Размер клетки от 12 до 15 мк. Ядро круглое или овальное, изредка с небольшим вдавлением. Ядро занимает большую часть клетки, имеет более грубую структуру, чем у лимфобласта. Нити базихроматина местами собраны в более крупные, плотные участки и окрашиваются в более темный цвет. В середине ядра у большинства клеток имеется просветление, напоминающее ядрышко. Четких ядрышек в ядре не обнаруживается.

Цитоплазма окрашивается в светло-синий цвет, а ближе к ядру — светлее (перинуклеарная зона).

Иногда в цитоплазме клеток обнаруживается зернистость в скудном количестве, в виде крупных, неравномерной величины зерен, окрашивающихся азуrom в красный цвет (азуровая зернистость).

В норме в периферической крови и в костном мозгу пролимфоциты могут встречаться в виде единичных экземпляров. В пунктате

нормального лимфатического узла их содержится 65—80%, а в селезенке до 60%.

Лимфоциты зрелые — наиболее часто встречающаяся форма в нормальной периферической крови (см. «Кровь»).

МОНОЦИТЫ

Моноциты развиваются из ретикулярных клеток и гемоцитобластов в селезенке, лимфатических узлах, костном мозгу, печени, соединительной ткани (подкожная клетчатка, строма органов, адвентиция сосудов).

Моноциты выполняют фагоцитарные функции и являются макрофагами. Они фагоцитируют микроорганизмы и остатки клеточных образований. Увеличение количества моноцитов рассматривается как защитная реакция ретикуло-гистиоцитарной системы.

Монобласт — родоначальная клетка моноцитарного ряда величиной 12—20 мк с большим, чаще круглым нежносетчатым, бледно окрашенным ядром. В ядре хорошо видны 2—3 ядрышка. Цитоплазма сравнительно небольшая, без зернистости, окрашена в голубоватые тона.

Промоноцит таких же размеров, как монобласт. Ядро круглое, нити базихроматина несколько утолщены по сравнению с монобластом. Четких нуклеол нет. Цитоплазма серовато-голубоватого, а иногда синего цвета окружает ядро значительным ободком, в ней может находиться мелкая азурофильная зернистость. Зрелые моноциты см. раздел «Морфология лейкоцитов».

ЭРИТРОБЛАСТЫ

Эритробласт (проэритробласт, по некоторым авторам) — родоначальная клетка эритробластического ряда, образующаяся из гемоцитобласта. Величина ее около 20 мк. Ядро большое, овальное или круглое. Нити базихроматина располагаются равномерно, образуя нежные сплетения, но они более крупного калибра по сравнению с гемоцитобластом. Ядро окрашивается в темный красно-фиолетовый цвет. В ядре обнаруживаются 1—4 ядрышка, окрашивающиеся в синий цвет.

Цитоплазма имеет различные размеры и окрашивается в интенсивно синий цвет. В некоторых клетках вокруг ядра образуется более светлая перинуклеарная зона.

Пронормобласт (базофильный эритробласт, по некоторым авторам). Размер колеблется от 10 до 20 мк. Форма круглая или овальная. Базихроматин ядра состоит из более грубых нитей, чем у эритробласта, и в нем видны большие участки оксихроматина. Цитоплазма значительной величины, окрашивается в синий цвет. Ядрышек нет.

Базофильный нормобласт несколько меньше пронормобласта (от 10 до 18 мк). Ядро круглое, грубое и имеет тенденцию к радиальному расположению хроматина. Ядрышек нет. Цитоплазма окрашивается в светло-синий цвет.

Полихроматофильный нормобласт. Размер 9—12 мк. Форма круглая или овальная. Ядро грубое, имеет характерную радиарную (колесовидную) структуру. Цитоплазма клеток, накапливая гемоглобин, воспринимает кислые краски и в зависимости от степени насыщения гемоглобином при окраске приобретает цвет от серовато-синего до серовато-розового.

Оксифильный нормобласт. Размер колеблется от 7 до 10 мк. В зависимости от степени созревания клетки ядерно-протоплазмное соотношение различно. У более зрелой клетки ядро занимает меньшее пространство (вследствие сморщивания, пикноза ядра).

Накопление гемоглобина заканчивается в оксифильном нормобласте, благодаря чему цитоплазма его окрашивается в бледно-розовый цвет.

Эритробласты и нормобласты встречаются в нормальном костном мозгу в количестве 20—22%, а в периферической крови при патологических состояниях.

Патологические формы эритробластов и нормобластов наблюдаются при некоторых патологических состояниях (острый сепсис, апластические анемии, острый лейкоз, тяжелые инфекционные заболевания, после облучения и др.). Изменяется морфология ядра и цитоплазмы клеток различных стадий созревания. Ядро теряет нормальную структуру, хроматин становится однородным. Встречаются эритробласты с плотным, пикнотичным базихроматином, как у зрелых нормобластов. Цитоплазма может быть вакуолизированной. Цвет ее не соответствует степени созревания ядра.

Мегалобласты — большие эмбриональные эритробласты. В костном мозгу и в периферической крови появляются в постэмбриональной жизни только при патологических состояниях, связанных с дефицитом гемопоэтического фактора — витамина В₁₂. Морфологические различия мегалобластов от нормобластов представлены в табл. 19.

Таблица 19
ГЛАВНЫЕ КАЧЕСТВЕННЫЕ РАЗЛИЧИЯ МЕГАЛОБЛАСТОВ И НОРМОБЛАСТОВ

Величина клетки	Мегалобласт	Нормобласт
	14—25 мк	7—18 мк
Ядро	Очень молодое. Нежная структура сохраняется в полихроматофильных и частично в оксифильных формах (медленное созревание). Не имеет колесовидной структуры	Значительно грубее, чем у мегалобласта. Колесовидная структура обнаруживается на стадии полихроматофильных форм
Цитоплазма	Более широкая, раннее накопление в ней гемоглобина. У промегалобластов и базофильных мегалобластов вокруг ядра имеется розоватое окрашивание. У полихроматофильных мегалобластов ввиду большого содержания гемоглобина цитоплазма окрашивается в светлые тона с розоватым оттенком	Более узкая. Гемоглобин накапливается у полихроматофильных нормобластов, но меньше, чем мегалобластов, поэтому цвет цитоплазмы более базофильный

Мегалобласты в зависимости от степени созревания делятся на промегалобласты и базофильные, полихроматофильные, оксифильные мегалобласты.

Промегалобласт — родоначальная клетка мегалобластического ряда. Размеры варьируют от 16 до 25 мк.

Встречаются промегалобласты гигантских размеров — до 40 мк, называемые гигантобластами.

Ядро круглое или овальное, занимает большую часть клетки.

Структура ядра чрезвычайно нежная. Сеть хроматина имеет губчатую структуру. Количество базихроматина и оксихроматина одинаково. Ядро красится в светлый вишнево-красный цвет. В ядре имеются ядрышки.

Ободок цитоплазмы больше, чем у эритроблеста, окрашивается в синий цвет. Часто обнаруживается перинуклеарная зона с розоватым оттенком.

Базофильный мегалобласт. Размер чаще одинаков с промегалобластом.

Ядро круглое или овальное. Структура ядра нежная, но несколько грубее, чем у промегалоблеста. Базихроматин в виде небольших скоплений. Ядро окрашивается в красновато-фиолетовый цвет. Ядрышек нет.

Цитоплазма значительных размеров, при окраске становится светло-синей. Часто обнаруживается перинуклеарная зона, окрашенная в розоватый цвет.

Полихроматофильный мегалобласт. Клетка может быть одинаковой величины с базофильным мегалобластом или меньше его.

Ядро несколько уменьшается, а ободок протоплазмы по сравнению с базофильным мегалобластом увеличивается. Базихроматин ядра соединяется в некоторых местах в кучки, которые, будучи беспорядочно разбросанными, придают ему пестрый вид. Однако ядро остается еще молодым, но грубее, чем у предыдущей стадии, цитоплазма окрашивается в светлый серо-розовый цвет.

Оксифильный мегалобласт. Клетка представляет собой зрелый мегалобласт, богатый гемоглобином. Из этой клетки образуется мегалокит.

Величина клетки колеблется от 15 до 20 мк. У более молодых оксифильных мегалобластов ядро сравнительно большое, но по мере созревания оно становится меньше, а площадь, занимаемая цитоплазмой, относительно увеличивается. Ядро в некоторых местах еще сохраняет свою типично мегалобластную структуру как доказательство его замедленного по сравнению с цитоплазмой созревания. По мере созревания клетки ядро вследствие скучивания базихроматина становится грубым, но никогда не принимает колесовидной формы. Цитоплазма окрашивается в интенсивный красновато-розовый цвет.

Патологические формы мегалобластов. При тяжелых формах мегалобластических анемий в костном мозгу обнаруживают большое количество дегенеративных форм мегалобластов в различных стадиях зрелости:

1. Клетки с ядрами, утерявшими нормальную структуру, а иногда и очертание. Ядро может принимать фантастическую форму или распадается на много кусочков (кариорексис). Нередко встречаются двухъядерные мегалобласты или обнаруживаются ядра в состоянии пикноза и лизиса.

2. Клетки с атипичной окраской цитоплазмы. Преобладают гряз-

довато-синие тона. В цитоплазме часто содержатся ядерные осколки.

3. Клетки с измененным ядерно-протоплазменным соотношением.

В некоторых случаях в связи с трудностью определения мегалобластов необходимо для большей убедительности находить все переходные, типичные, неизменные формы от промегалобластов до оксифильных мегалобластов.

МЕГАКАРИОЦИТЫ

Для количественной оценки пользуются следующими методами:

- 1) подсчетом в камере, 2) подсчетом в мазках по полям зрения, 3) подсчетом на количество всех ядерных клеток костного мозга.

Подсчет в счетной камере

Принцип. Разведение пунктата костного мозга уксусной кислотой (1 : 20) для гемолиза эритроцитов с последующим подсчетом мегакариоцитов в счетной камере. Разведение пунктата костного мозга и методика подсчета аналогичны подсчету лейкоцитов в крови.

Мегакариоциты в камере видны в виде крупных клеток с полиморфным гиперсегментированным ядром и широкой зоной цитоплазмы. Недостатком метода является неточность его, так как в камере не распознаются мелкие формы (мегакариобласты, голые ядра и др.), которые не попадают в счет. Преимущество метода — равномерное распределение клеток в счетной камере. У здорового человека в 1 мм³ пунктата костного мозга при подсчете в счетной камере обнаруживается 30—50 мегакариоцитов.

Подсчет в мазках по полям зрения

Принцип. В мазках пунктата костного мозга подсчитывают мегакариоциты при малом увеличении микроскопа с выведением средних цифр.

Мегакариоциты отчетливо видны в мазках при малом увеличении в виде крупных клеток (в 15—20 раз больше лейкоцита) с интенсивно фиолетовым гиперсегментированным ядром и широкой зоной зернистой цитоплазмы. Недостатком метода является его неточность, так как в мазках мегакариоциты располагаются неравномерно, сосредотачиваясь больше по краям препарата и в конце мазка.

У здорового человека в мазках пунктата костного мозга в 250 полях зрения содержится 5—12 мегакариоцитов.

Подсчет в мазках на число всех ядерных клеток

Принцип. В мазках пунктата костного мозга при выведении миеограммы (подсчет не менее 500 клеток) отмечается процент мегакариоцитов. Недостаток метода тот же, что и при подсчете в мазках по полям зрения.

В среднем у здорового человека в пунктате костного мозга 0,2—0,8% мегакариоцитов. Более точное количественное представление о мегакариоцитах получается при подсчете их в срезах костного мозга, взятого при трепанобиопсии.

Интерпретация. Резкое увеличение количества мегакариоцитов в костном мозгу наблюдается при идиопатической тромбоцитопенической пурпуре (болезнь Верльгофа), эритремии, начальной стадии хронического миелоза, при циррозе печени с явлениями гиперспленизма.

Уменьшение количества мегакариоцитов характерно для большинства системных гиперпластических процессов (острый лейкоз, ретикулоз, хронический лимфаденоз), а также для гипопластических и апластических состояний кроветворения.

МЕГАКАРИОЦИТАРНАЯ ФОРМУЛА

Для оценки качественного состава мегакариоцитов предложены различные мегакариоцитарные формулы в соответствии с классификацией мегакариоцитов.

Мегакариобласты — родоначальные клетки мегакариоцитарного ряда, по морфологии ближе всего стоящие к гемоцитобластам. Они крупнее гемоцитобластов (около 20 мк). Ядро круглое, с мелкосетчатой структурой хроматина, иногда сплетенного в виде клубка. Структура ядра грубее, чем у гемоцитобласта, нередко видны ядрышки. Цитоплазма базофильная, беззернистая, имеет вид узкого ободка. Часто контуры клеток неровные с отростками цитоплазмы и образованием «голубых» пластинок.

Промегакариоциты — клетки больших размеров, чем предыдущие. Ядро крупнее, чем у мегакариобласта, имеет несколько более грубую структуру и тенденцию к полиморфизму (бухтообразные вдавления, линии шнуrowания ядра и пр.).

Цитоплазма базофильная, беззернистая в виде узкого ободка, иногда с отростками и образованием «голубых» пластинок.

Мегакариоциты базофильные — клетки больших размеров, чем предыдущие, в 2 раза больше мегакариобластов. Ядро может быть бухтообразным с нежной структурой базихроматина или более зрелым многолопастным. Цитоплазма клеток голубого цвета, иногда с азурофильной зернистостью, имеет вид неширокого ободка.

Мегакариоциты полихроматофильные — гигантские клетки диаметром 40—50 мк. Ядро многолопастное, иногда свернуто в виде клубка или состоит из отдельных шаров. Структура ядра грубая, нередко наблюдается пикноз его.

Ядерно-цитоплазматическое соотношение на этой стадии уже изменено в пользу цитоплазмы. Последняя имеет широкую зону, окрашена в светло-голубой цвет, содержит обильную зернистость различных оттенков (красноватая, светло-фиолетовая, фиолетовая). Зернистость в цитоплазме не всегда расположена равномерно. В отдельных участках клетки ближе к периферии, можно наблюдать скопления мелких зернышек, окруженные ободком гиалиновой голубой цитоплазмы. Иногда цитоплазма клеток вся заполнена такими скоплениями, напоминающими по величине и структуре сформированные кровяные пластинки. Наконец, в клетках можно наблюдать отделение от цитоплазмы готовых пластинок.

Мегакариоциты оксифильные — клетки крупнее предыдущих, имеют диаметр 60—70 мк. Ядро многолопастное, иногда состоящее из

фрагментов. Нередко встречаются многоядерные клетки. Ядро окрашено в темно-фиолетовый цвет, резко пикнотично. Цитоплазма образует огромную зону, имеет розовый оттенок и содержит обильную красноватую зернистость. Иногда клетки занимают почти все поле зрения микроскопа.

Иволютивные формы образуются в результате вызревания мегакариоцитов с постепенным отторжением вещества цитоплазмы и ядра в процессе образования пластинок.

Эти формы имеют полисегментированное разреженное ядро и большую зону бледно-розовой цитоплазмы с пылевидной, едва различимой зернистостью.

Голоядерные формы могут возникать из иволютивных мегакариоцитов и в результате бурного распада их на пластинки. В этом случае свободные ядра имеют остатки плазмы.

Дегенеративные изменения могут наблюдаться во всех формах и проявляются в виде резкой сегментации ядра, сморщивания его, вакуолизации цитоплазмы.

Для выведения мегакариоцитарной формулы (парциальная мегакариоцитограмма) дифференцируют не менее 50—100 клеток (в нескольких мазках пунктата костного мозга). Для более быстрого нахождения клеток мазок просматривают по краям и в конце препарата под малым увеличением. Обнаруженную клетку дифференцируют с иммерсионным объективом.

По данным Е. А. Кост, здоровые люди имеют следующую мегакариоцитарную формулу:

Мегакариобласты	0 — 0,5%
Промегакариоциты	4 — 12%
Переходные формы	15 — 32%
Зрелые формы	30 — 44%
Иволюционные формы	28—30%

Г. И. Алексеев¹ в качестве нормы приводит следующую мегакариоцитарную формулу:

Мегакариобласты	2 — 6%
Мегакариоциты базофильные	4 — 8%
» полихроматофильные	42,6 — 65%
» оксифильные	8,3 — 19,0%
Иволютивные формы	3,6 — 9,2%
Свободные ядра	6,0 — 13,2%
Дегенеративные формы	3,5 — 7,8%

Интерпретация. Сдвиг мегакариоцитограммы влево с увеличением молодых форм может наблюдаться при различных состояниях, характеризующихся пролиферацией мегакариоцитов, в частности при тромбоцитопенической пурпуре (болезнь Верльгофа), постгеморрагической анемии, хроническом миелолейкозе, циррозе печени с гиперспленизмом и др. При этом образование пластинок наблюдается не только у зрелых форм, но и на ранних стадиях мегакариоцитопоза. Резкая диссоциация в развитии ядра и цитоплазмы мегакариоцитов с формами раздражения, с плазматизацией цитоплазмы встречается при злокачественных новообразованиях, септических состояниях, абсцессе легкого. При этом дегенеративные изменения наблюдаются и в кровяных пластинках (старые формы, вакуолизация и пикноз грануломера и др.).

¹ Г. И. Алексеев. Проблемы гематологии и переливания крови, 1959, № 6, стр. 33.

ОЦЕНКА ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ МЕГАКАРИОЦИТОВ

О пластинкообразующей функции мегакариоцитов можно составить представление по двум формам клеток — пластинкосодержащим и пластинкообразующим.

Пластинкосодержащие мегакариоциты содержат в цитоплазме крупную зернистость, по величине и структуре напоминающую кровяные пластинки. Эти клетки можно считать функционально активными, подготовленными для пластинкообразования. Пластинкосодержащие мегакариоциты подсчитывают в мазках пунктата костного мозга при выведении мегакариоцитограммы. При обычном морфологическом исследовании мегакариоцитов не всегда легко решить вопрос о пластинкообразовательной функции мегакариоцитов. Более точное представление дает цитохимическое исследование этих элементов на гликоген (см. «Цитохимические методы исследования»). У здоровых людей содержится около 40% пластинкосодержащих форм.

Пластинкообразующие мегакариоциты — клетки, в которых уже произошло отшнуровывание кровяных пластинок. В цитоплазме и вне клетки лежат свободные пластинки. У здоровых людей количество пластинкообразующих форм мегакариоцитов составляет 8—20%.

Интерпретация. Увеличение количества функционально активных мегакариоцитов наблюдается при эритремии, у больных после спленэктомии и при других заболеваниях, сопровождающихся тромбоцитозом. Уменьшение количества функционально активных мегакариоцитов свидетельствует об угнетении пластинкообразующей функции мегакариоцитов и наблюдается при тромбоцитопенической пурпуре и некоторых симптоматических тромбоцитопениях (циррозы печени, тиреотоксикоз и др.).

ОСТЕОБЛАСТЫ И ОСТЕОКЛАСТЫ

Остеобласты представляют собой клетки больших размеров (25—35 мк). Форма их удлинённая, неправильная или цилиндрическая. Ядро клеток круглое или овальное, занимает меньшую часть клетки. Расположенное большей частью эксцентрично, оно как бы «выталкивается из клетки». Иногда можно видеть, что ядро только одним краем примыкает к цитоплазме клетки, остальной же частью лежит вне ее. Окрашивается ядро в темный фиолетово-красный цвет. В ядре имеются небольшие бледно-голубые ядрышки, иногда различной величины.

Цитоплазма больших размеров и по периферии имеет пенное строение, окрашивается от синего с фиолетовым оттенком до сероголубого цвета. Нередко цитоплазма одной и той же клетки приобретает разные оттенки. Остеобласты имеют некоторое сходство с миеломными клетками и проплазмочитами.

Остеобласты принимают участие в образовании костной ткани. В норме в пунктате костного мозга они почти не встречаются.

Остеокласты — клетки, которые в эмбриональном периоде участвуют в развитии костной ткани. Во взрослом организме появление их связано с процессом рассасывания самой костной ткани.

Остеокласты очень разнообразные по величине и форме клетки. Наиболее часто встречаются крупные экземпляры, достигающие 60—

80 мк и больше. Форма клеток овальная, полигональная, чаще неправильная, с большим количеством (чаще 6—15) ядер. Ядра группируются или располагаются в цитоплазме разбросанно. Размер ядер достигает 12 мк. Форма их круглая или овальная. Они окрашиваются в светло-фиолетовый цвет. В ядрах обнаруживаются одиночные маленькие ядрышки.

Цитоплазма при окраске становится светло-синей, фиолетовой или розовой. Иногда можно наблюдать в одной и той же клетке различную окраску. Цитоплазма по периферии клетки слабо контурируется, иногда образует широкие отростки, постепенно сливающиеся с общим фоном препарата. Вокруг ядра отмечается узкая зона просветления. В некоторых клетках в цитоплазме имеются включения в виде зерен или небольших глыбок неправильной формы (гемосидерин). Имеют некоторое сходство с клетками Ланганса, зрелыми мегакариоцитами и клетками инородных тел.

Остеокласты обнаруживаются в пунктате костного мозга в местах переломов костей, при болезни Педжета, саркомах, метастазах рака в кости и некоторых других заболеваниях, связанных с рассасыванием костной ткани.

КАРТИНА ПУНКТАТА КОСТНОГО МОЗГА ПРИ НЕКОТОРЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

РЕТИКУЛОЗЫ. При острых и подострых ретикулозах-лейкозах в пунктате костного мозга в зависимости от формы заболевания и стадии процесса обнаруживают различный клеточный состав. Пунктат костного мозга в некоторых случаях получают с большим трудом.

При отсутствии разрастания ретикулярной ткани или наличии очаговых разрастаний в костном мозгу отмечают умеренную реакцию миелоидной ткани и небольшое увеличение ретикулярных клеток.

При массивных разрастаниях ретикулярных элементов в костном мозгу пунктат состоит в основном из различных полиморфных ретикулярных клеток. Наряду с ними в костном мозгу имеется небольшое количество клеток миелоидного ряда, а также гемоцитобластов. Число мегакариоцитов резко уменьшено. Если в пунктате костного мозга преобладают не ретикулярные клетки, а гемоцитобласты, то нужно думать об остром лейкозе — гемоцитобластозе.

При хронических ретикулозах-лейкозах в пунктате в зависимости от формы и стадии процесса находят различные количества полиморфных ретикулярных клеток (от единичных до значительного количества), нередко в синцитии. Обнаруживают клетки миелоидной ткани в различных стадиях созревания и скопления эритробластов. Количество мегакариоцитов уменьшено. Иногда пунктат костного мозга скудный или его совсем не удается получить.

При опухолевой форме ретикулоза в пунктате, взятом непосредственно из мест опухоли, находят большое количество атипичных молодых, чаще больших размеров ретикулярных клеток с полиморфными ядрами, занимающими большую часть клетки, нежной структуры и с наличием в них ядрышек различной величины и формы. Протоплазма в этих клетках небольшая, окрашивается в синий или голубой цвет, нередко вакуолизирована, а иногда с протоплазматиче-

ческими отростками. Имеется также много делящихся клеток и гигантских многоядерных элементов.

При реактивном ретикулозе, который может быть сопутствующим симптомом при аллергических и инфекционных заболеваниях, злокачественных опухолях различных локализаций, токсических воздействиях, изменения в кроветворных органах развиваются вторично и могут бесследно исчезнуть по окончании основного патологического процесса.

Когда основной патологический процесс протекает хронически, в пунктате костного мозга большей частью находят мало клеток. Среди сохранившихся клеток много плазматических и единичных гемоцитобластов, миелобластов и миелоцитов.

В тех случаях, когда основной процесс протекает остро, в пунктате костного мозга находят большое количество ретикулярных клеток и клеток грануло- и эритропоэза. Среди них обнаруживают участки недифференцированных и незрелых клеток белого и красного ростков.

ЛЕЙКОЗЫ. Лейкоз острый. В большинстве случаев в пунктате выявляется много разнообразных, иногда трудно дифференцируемых гемоцитобластов, реже миелобластов. Встречаются ретикулярные клетки, причем можно видеть все постепенные переходы их в гемоцитобласты.

Острому лейкозу свойственна клеточная анаплазия, которая и приводит к усиленной патологической пролиферации и прекращению нормальной дифференциации лейкоцитов. Благодаря этому в пунктате костного мозга находят только единичные миелоциты и переходные формы от них к зрелым нейтрофилам.

В начальных стадиях болезни эритропоэз еще сохранен, а при прогрессировании процесса количество эритробластов резко уменьшается, доходя до единичных экземпляров в препарате. Количество мегакариоцитов, как правило, резко уменьшается с самого начала болезни. В отдельных случаях пунктат костного мозга очень скудный и напоминает картину апластического процесса.

Хлорлейкоз (хлорома). Хлорлейкоз характеризуется опухолевидными разрастаниями зеленого цвета. Пигмент опухоли относится к протопорфиринам (продукт неполного синтеза гемоглобина). Макроскопически пунктат имеет зеленоватый цвет. После пребывания на свету зеленый цвет исчезает, но его можно восстановить перекисью водорода.

При микроскопическом исследовании пунктата обнаруживают различные формы гемоцитобластов и миелобластов с обилием митозов при резком уменьшении гранулоцитов, нормобластов и мегакариоцитов.

Острый эритромиелоз (синдром Ди Гульельмо). Заболевание рассматривается как вариант острого лейкоза. В пунктате обнаруживают гиперплазию эритробластических элементов, большое количество базофильных и полихроматофильных нормобластов, увеличение эритробластов, резко уменьшено количество оксифильных нормобластов. Среди эритронормобластов преобладают клетки больших размеров с молодыми, причудливой формы ядрами, «мегалобластоподобные» элементы, много клеток в состоянии митоза, отмечается увеличение гемоцитобластов, число зрелых форм резко уменьшено. Количество мегакариоцитов уменьшено или они отсутствуют.

Хронический миелолейкоз. Большое значение имеет пункция костного мозга при алейкемических формах, когда в периферической крови нет типичной картины хронического миелоэоза, а в пунктате находят общее увеличение клеток (иногда до 800 000 в 1 мм³ и более). В этих случаях отмечают увеличение содержания промиелоцитов, большое количество миелоцитов и метамиелоцитов (базофильные, нейтрофильные и эозинофильные), сравнительно большое количество зрелых лейкоцитов, увеличенное число гемоцитобластов и миелобластов. Эритропоэз некоторое время сохраняется в пределах нормы, однако с прогрессированием процесса количество эритроноормобластов уменьшается. Для начальной стадии характерно увеличение количества мегакариоцитов с сохраненной функцией вызревания, но при прогрессировании процесса количество мегакариоцитов и образование из них кровяных пластинок уменьшаются.

При обострении хронического миелоэоза можно обнаружить много гемоцитобластов (до 80—90%) и резкое снижение количества эритроноормобластов («гемоцитобластный криз»).

Лимфолейкоз. В начальной стадии лимфолейкоза в костном мозгу увеличивается общее количество клеток за счет зрелых лимфоцитов, небольшого количества пролимфоцитов и единичных лимфобластов. Гранулопоэз, эритропоэз и мегакариоцитарный росток сохраняются. При прогрессировании процесса увеличивается количество зрелых лимфоцитов и пролимфоцитов и в меньшей степени лимфобластов, а количество гранулоцитов, эритроноормобластов и мегакариоцитов постепенно уменьшается.

ЭРИТРЕМИЯ (ИСТИННАЯ ПОЛИЦИТЕМИЯ — БОЛЕЗНЬ ВАКЕЗА). Отмечается небольшое количество костномозговых элементов, что объясняется полнокровием костного мозга (одно из проявлений плеторы). В парциальной эритрограмме обнаруживают повышенное количество базофильных и полихроматофильных нормобластов. Количество эритробластов (проэритробластов) не увеличено, а часто даже несколько снижено.

В случаях эритремии с лейкемической картиной крови в пунктате наблюдается сдвиг влево с преобладанием миелоцитов и промиелоцитов, иногда с увеличением миелобластов и гемоцитобластов. Характерно увеличение количества мегакариоцитов с активной пластинкообразовательной функцией, что ведет к увеличению содержания кровяных пластинок в периферической крови.

Большое диагностическое значение при полицитемии имеет трепанобиопсия. В гистологическом препарате костного мозга обнаруживается резко выраженная гиперплазия всех трех ростков кроветворения, причем наиболее резко выражен мегакариоцитоз. Жировая ткань почти полностью вытеснена клетками костного мозга.

АНЕМИИ. Исследование пунктата костного мозга при анемиях имеет практическую ценность только тогда, когда результаты его сопоставляются с данными периферической крови. На этом основании А. А. Багдасаров и М. С. Дульцин дифференцируют состояния кроветворения при анемиях на несколько типов.

Регенераторный, нормобластический тип кроветворения характеризуется ускоренным созреванием эритроцитов. В пунктате увеличено количество эритроноормобластов, преимущественно за счет полихроматофильных и оксифильных форм. Количество ретикулоцитов в костном мозгу больше, чем в периферической крови. Увеличено также количество миелоцитов и мегакариоцитов. В периферической кро-

ви могут наблюдаться анемия нормохромная и нормоцитарная (реже макроцитарная), умеренный лейкоцитоз с нейтрофильным сдвигом до миелоцитов, выраженный тромбоцитоз с незначительным качественным сдвигом в составе тромбоцитов. Чаще такое состояние гемопоэза вызывается кровопотерей.

Гипорегенераторный, нормобластический тип кроветворения характеризуется замедленным созреванием эритроцитов. Лейко-эритро-нормобластическое соотношение уменьшено за счет увеличения количества нормобластов базофильных и полихроматофильных и уменьшения оксифильных форм с преобладанием микрогенераций. Отмечается нарушение нормального созревания нормобластов, выражающееся в диссоциации созревания ядра и протоплазмы. Встречаются элементы с пикнотизированными ядрами и фрагментацией их. Увеличено количество промиелоцитов, понижено количество зрелых нейтрофилов. Иногда можно обнаружить и уменьшенное отшнуровывание кровяных пластинок от мегакариоцитов.

Эти изменения характерны для железодефицитных анемий (при недостаточной секреции желудка, инфекциях, хронических кровопотерях, заболеваниях селезенки, недостатке тиреогормона и других факторах).

Макронормобластический тип эритропоэза характеризуется гиперплазией эритропоэза за счет преобладания макроэритробластов и макронормобластов. Характерно несоответствие в степени созревания материнских клеток — патологических и нормальных эритроцитов. Отмечается торможение созревания элементов лейкопоэза и мегакариопоэза. В периферической крови обнаруживается нормомакроцитарная анемия. Цветной показатель в пределах 0,9—1,1, иногда и ниже. Отмечается умеренная лейкопения с относительным лимфоцитозом и монопенией. Количество кровяных пластинок уменьшено. Среди них наблюдаются гигантские кровяные пластинки. Чаще макронормобластический тип эритропоэза наблюдается при недостаточности гематоэтической функции печени.

Мегалобластический тип кроветворения характеризуется наличием в костном мозге большого количества мегалобластов различной степени зрелости, а среди них и фугур митоза и амитоза. Отмечается задержка созревания эритроцитов, что выражается в относительно увеличенном количестве эритробластов, пронормобластов и резком уменьшении количества гемоглобинсодержащих нормобластов. Со стороны лейкопоэза отмечается некоторое увеличение процента миелобластов, промиелоцитов и миелоцитов и уменьшение числа сегментоядерных нейтрофилов. Мегакариоциты имеют полиморфные ядра, и в протоплазме их азурофильная зернистость отсутствует.

В периферической крови мегалоцитарная гиперхромная анемия с пониженным количеством ретикулоцитов. Обнаруживаются тельца Жолли и кольца Кебота. Отмечаются лейкопения, нейтропения, относительный лимфоцитоз и эозинопения, тромбоцитопения.

Причина данной анемии — недостаток витамина В₁₂ и фолиевой кислоты.

Арегенераторный апластический тип кроветворения характеризуется наличием единичных ядросодержащих клеток эритро- и лейкопоэза. Мегакариоциты либо отсутствуют, либо встречаются единичные дегенеративные формы без азурофильной зернистости или в виде голых ядер. Иногда в виде отдельных скоплений видны ретикулярные клетки и гемоцитобласты. Нередко в пунктате костного мозга

обнаруживается большое количество жира. В периферической крови налицо выраженная панцитопения (уменьшение всех видов клеток).

Гипопластический тип кроветворения при подострых формах характеризуется менее выраженным уменьшением ядросодержащих клеток. Процент нормобластов выше нормы или в пределах нормы, но всегда обнаруживается значительный сдвиг их за счет увеличения базофильных форм, которые могут встречаться в виде скоплений. Увеличено количество плазматических клеток, иногда гемогистобластов, гемоцитобластов, миелобластов и промиелоцитов.

При хроническом течении гипопластического процесса пунктат костного мозга состоит из небольшого количества клеток. Отмечается задержка вызревания эритро-, лейко- и тромбоцитов, увеличивается процент ретикулярных клеток и гемоцитобластов. В периферической крови выраженная в различной степени панцитопения, большое количество макроцитов диаметром 9—12 мк. Цветной показатель 1,0 или выше.

Пернициозная анемия (болезнь Аддисона — Бирмера). При дифференциальной диагностике исследование пунктата костного мозга целесообразно делать до введения антианемических веществ.

В пунктате при обострении болезни обнаруживают большое количество мегалобластов, преимущественно промегалобластов и базофильных мегалобластов (60% и более), придающих препарату синий цвет. В менее тяжелых случаях находят большое количество полихроматофильных и оксифильных мегалобластов и меньшее количество базофильных форм. Могут встречаться мегалобласты гигантских размеров. Наряду с макрогенерациями наблюдаются мегалобласты мезогенераций, а также дегенеративные формы микрогенераций.

Фигуры митотического деления мегалобластов составляют 3—5%.

Отмечается резкое уменьшение количества нормобластов.

Меняется соотношение между элементами лейкопоза и элементами красного ростка. Оно становится равным 1:6—1:4 вместо 3:1—4:1 при нормальном костном мозге.

В гранулоцитарном ряде количество зрелых нейтрофилов уменьшено с увеличением промиелоцитов, миелоцитов и метамиелоцитов. Обнаруживаются гигантские и полисегментированные нейтрофилы с более нежной структурой и причудливой формой ядер и светло-синей протоплазмой. Нередко отмечается вакуолизация ядра и протоплазмы.

Количество мегакариоцитов понижено или нормально, образование из них кровяных пластинок недостаточно, в результате чего количество последних в периферической крови уменьшено.

После введения в организм антианемических веществ мегалобластический тип кроветворения в костном мозгу заменяется эритронормобластическим.

Отдельные, более зрелые формы мегалобластов могут еще обнаруживаться в костном мозгу среди большого количества нормобластов различной степени созревания. Нормобласты располагаются чаще островками, находясь иногда еще в синцитиальной связи. В дальнейшем эритропоз полностью нормализуется.

Под влиянием лечения в костном мозгу улучшаются также гранулоцитарный и мегакариоцитарный ростки.

Мегалобластическое кроветворение, кроме аддисон-бирмеровской анемии, встречается при: 1) раке желудка (особенно его фундального отдела), 2) резекции желудка, 3) заболеваниях типа спру, 4) беременности на IV—V месяце или в послеродовом периоде, 5) глистной инвазии, особенно при наличии широкого лентеца.

Мегалобласты могут встречаться также при: 1) вскармливании детей козьем молоком, 2) хронических гепатитах, 3) остром лейкозе (в начале болезни), 4) гемолитической, хронической (семейной) анемии.

Дифференцировать анемию Аддисона—Бирмера от перечисленных заболеваний и состояний по цитологической картине пунктата костного мозга без дополнительных данных (анамнез, клинические, рентгенологические и другие исследования) не представляется возможным.

Агранулоцитоз. В пунктате в зависимости от стадии и тяжести процесса обнаруживается различный клеточный состав. В начале заболевания уменьшается образование палочкоядерных и сегментоядерных форм до полного их отсутствия в костном мозгу. Одновременно появляется большое количество миелоцитов с множественными митозами. Много клеток находится в состоянии распада. Такой костный мозг называется миелоцитарным.

В дальнейшем происходит нарушение образования метамиелоцитов и миелоцитов, а процент промиелоцитов увеличивается. Развитие клеток гранулопоэза на этой стадии обрывается и костный мозг называется промиелоцитарным. В этот период значительно уменьшается общее количество клеток, в первую очередь за счет нейтрофилов.

Постепенно с прогрессированием процесса происходит уменьшение всех клеточных элементов костного мозга (гранулоциты, эритрономбласты и мегакарициты), все большее расстройство вызревания их и увеличение клеточной дегенерации. В протоплазме нейтрофилов обнаруживается патологическая зернистость. В некоторых случаях находят большое количество малых и больших лимфоидных ретикулярных клеток, плазматические клетки, макрофаги, жировые клетки (ретикулярный костный мозг), единичные нейтрофилы, эритрономбласты и мегакарициты. Такой костный мозг еще может быть способен к полному восстановлению. Процесс считается малообратимым только при отсутствии клеток в костном мозгу.

МИЕЛОМНАЯ БОЛЕЗНЬ РУСТИЦКОГО—КАЛЕРА. При диффузном миеломатозе исследование пунктата костного мозга дает возможность установить правильный диагноз в 100% случаев, а при узловой форме только тогда, когда пункционная игла попадает прямо в миеломатозный узел.

В пунктате обнаруживают большое количество плазматических клеток различной степени зрелости и особые атипичные незрелые плазматические клетки, называемые «миеломными» (типа плазмобластов, проплазмоцитов), которые в нормальном пунктате костного мозга не встречаются (см. «Плазматические клетки»). Количество «миеломных» клеток и зрелых плазматических клеток в пунктате колеблется от 20 до 99% и зависит от формы болезни и от участка, выбранного для пункции. Часто «миеломные» клетки располагаются в виде гнезд. В единичных случаях в пунктате преобладают малые лимфоидные ретикулярные клетки. Как правило, резко снижается эритро-, лейко- и тромбоцитопоэз.

* * *

ПРИ ИНФЕКЦИЯХ в большинстве случаев наблюдается увеличение количества клеток костного мозга за счет промиелоцитов и миелоцитов, уменьшение сегментоядерных нейтрофилов, иногда повышение количества эозинофилов. При хронических инфекциях в костном мозгу чаще всего возрастает число палочкоядерных нейтрофилов. Общее количество эритронормобластов несколько увеличено или может оставаться нормальным, но уменьшаются оксифильные формы. Нередко увеличивается количество плазматических клеток и моноцитов. Число мегакариоцитов повышается за счет незрелых форм.

Описанная картина костного мозга может наблюдаться как при лейкоцитозах, так и при лейкопениях в периферической крови.

ИНФЕКЦИОННЫЙ МОНОНУКЛЕОЗ (болезнь Филатова — Пфейффера). В пунктате костного мозга при этом заболевании находят увеличенное количество ретикулярных клеток, плазматических и небольшое количество атипичных, одноядерных, часто неправильной формы клеток (лимфомоноциты).

ЛИМФАТИЧЕСКИЕ УЗЛЫ

ПОЛУЧЕНИЕ ПУНКТАТА

Этот метод имеет большое диагностическое значение, так как ряд заболеваний сопровождается увеличением лимфатических узлов. Если пунктат получить не удастся, прибегают к биопсии лимфатического узла для гистологического исследования.

Пунктировать увеличенные лимфатические узлы можно в различных частях тела, но наиболее доступны из них шейные, подмышечные, паховые лимфатические узлы. Выбор лимфатического узла для пункции имеет большое значение, особенно в тех случаях, когда предполагают наличие туберкулеза или лимфогранулематоза. Желательно пунктировать два лимфатических узла средней плотности, давностью примерно 2—3 месяца. При наличии только одного увеличенного лимфатического узла нужно брать материал из разных участков его.

Посуда и оборудование. 1. Шприц 5- или 10-граммовый.

2. Иглы.

3. Предметные и покровные стекла.

4. Вата или марлевые тампоны.

Реактивы. 1. Спирт.

2. Эфир.

3. Иод.

Пункцию производят 5- или 10-граммовым шприцем «Рекорд» с хорошо пригнанным поршнем к цилиндру. Иглы должны быть новыми, достаточно тонкими, от № 16 до № 25, длиной 3—4 см, желательнее с удлиненным срезом.

Иглу и шприц стерилизуют сухим методом или кипячением и затем тщательно высушивают спиртом и эфиром. В зависимости от расположения исследуемых лимфатических узлов больной должен лежать или сидеть. Место прокола дезинфицируют спиртом и йодной настойкой.

Чаще пункцию производят без обезболивания, но можно применять хлорэтил или охлаждение кожи в области укола эфиром. Прокол делают иглой с насаженным на нее шприцем. Лимфатический узел при этом необходимо фиксировать левой рукой. Оттягивая поршень насыщают небольшое количество содержимого лимфатического узла. Если это не удается, то не вынимая иглы, переводят ее в другое положение — выше, ниже или в стороны — и снова аспирируют содержимое узла. Затем следует разъединить иглу со шприцем и после этого быстрым движением извлечь. После чего, надев на иглу

шприц, быстро выдувают содержимое иглы на предметное стекло и готовят тонкие мазки. При значительной примеси крови в полученном материале рекомендуется выбрать светлые крупинки, если они есть, и размазывать их тонким слоем по предметному стеклу или готовить препараты по принципу отпечатков.

Мазки высушивают на воздухе, фиксируют и красят так же, как периферическую кровь. Лучшее окрашивание получается при применении метода Паппенгейма — Крюкова (см. «Окраска мазков крови»).

Окрашенные препараты вначале тщательно просматривают под малым увеличением микроскопа (объектив 8X, окуляр 7X или 10X), а затем изучают морфологию клеток с иммерсионной системой.

Клеточный состав пунктата нормального лимфатического узла

Лимфоидные ретикулярные клетки	0 — 0,8%
Плазматические клетки	0,2 — 0,6%
Макрофаги	0,1 — 0,5%
Тучные тканевые клетки	0 — 0,1%
Липофаги	0 — 0,1%
Лимфобласты	0,1 — 0,5%
Пролимфоциты	65,0 — 80,0%
Лимфоциты	20,0 — 35,0%
Нейтрофилы	3,0 — 10,0%
Эозинофилы	0 — 0,5%

(описание клеток см. в разделе «Морфология клеток»).

КАРТИНА ПУНКТАТА ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ ПРИ НЕКОТОРЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

ЛЕЙКОЗЫ. При остром лейкозе увеличение лимфатических узлов у взрослых встречается редко, у детей — довольно часто. Они плотные и безболезненные, но при быстром росте или при воспалительных реакциях становятся болезненными.

В пунктате находят большое количество гемоцитобластов (метаплазия), единичные нейтрофилы, нормобласты и лимфоциты. Последние могут встречаться в мазке группами среди гемоцитобластов.

При хроническом миелолейкозе лимфатические узлы чаще увеличены у детей. При цитологическом исследовании в пунктате основная масса клеточных элементов состоит из клеток миелоидного ряда.

При лимфолейкозе происходит генерализованное увеличение лимфатических узлов. Они чаще бывают больших размеров и располагаются пакетами, не спаянными между собой и с подлежащими тканями, эластично-тестоватой консистенции, безболезненны.

Цитологическая картина пунктата характеризуется наличием различной степени зрелости лимфоцитов, среди которых преобладают пролимфоциты. Характерной особенностью является также наличие телец (теней) Боткина — Гумпрехта.

ЛИМФОГРАНУЛЕМАТОЗ. Макроскопически полученный пунктат белесовато-серый, чаще кровавистый с примесью ясно видимых крупинок, напоминающих зерна пшена или манной крупы.

Различают три стадии патологического процесса. Клеточный состав пунктата в этих стадиях различный.

1. В гиперпластической стадии в пунктате лимфатического узла преобладают клетки лимфаденоидной ткани. Обнаруживают значительное количество ретикулярных клеток различной степени зрелости, клеток эндотелия синусов, а также единичные нейтрофилы и эозинофилы.

2. Для гранулематозной стадии процесса характерно наличие в пунктате лимфатических узлов гигантских клеток Березовского — Штернберга, эозинофилов и ретикулярных клеток.

Клеточный состав в этой стадии пестрый. Количество лимфоцитов уменьшается, появляется много молодых плазматических и уродливых ретикулярных клеток.

Клетки Березовского — Штернберга могут быть единичные в препарате (необходимо тщательно искать при малом увеличении микроскопа). Иногда они встречаются в значительном количестве.

Различают два вида клеток Березовского — Штернберга: 1. Более зрелые элементы больших размеров (до 80 мк в диаметре). Они имеют много круглых и дольчатых ядер, сгруппированных обычно в центральной части клетки, чаще всего беспорядочно. Контуры отдельных ядер, вследствие тесного прилегания друг к другу, не всегда отчетливо вырисовываются. Ядра содержат много нитей базихроматина, расположенных в виде коротких толстых палочек с выраженными между ними светлыми промежутками оксихроматина. В ядре содержатся 2—4, реже больше ядрышек разнообразной величины и формы, окрашивающихся в синий цвет. Некоторые ядрышки имеют очень большие размеры, до величины малого лимфоцита.

Протоплазма большей частью значительная, гомогенная или ячеистая с неправильными контурами и красится в светло-голубой или серовато-синий цвет. Иногда в ней находят единичные азурофильные включения. Описанные клетки нередко имеют сходство с опухолевыми клетками и мегакариоцитами.

2. Другой вид клеток Березовского — Штернберга, так называемые молодые клетки, несколько меньших размеров, круглой формы, с одним ядром, занимающим почти всю площадь клетки. Структура ядра нежная, состоит из тонких нитей базихроматина, местами слегка глыбчатая. В ядре имеются разнообразной величины и формы 2—4 ядрышка, окрашивающиеся в синий цвет.

Протоплазма чаще всего окрашивается в интенсивно синий цвет.

Описанная форма представляет собой одну из стадий развития многоядерных клеток Березовского — Штернберга и имеет такое же диагностическое значение, как и предыдущая. С уверенностью их можно диагностировать тогда, когда имеются другие элементы лимфогранулематоза: эозинофилы, разнообразные ретикулярные клетки, плазмобласты, атипичные моноциты, тучные клетки, нейтрофилы.

3. В третьей стадии — склеротической происходит образование соединительной ткани. В пунктате находят единичные лимфоциты, плохо сохранившиеся ретикулярные клетки, клетки Березовского — Штернберга, голые ядра или обломки различных клеток, нити фибрина. Можно встретить также клетки типа фибробластов, фиброцитов. Они имеют вытянутую форму. Ядро их овальное, располагается в клетке центрально. Протоплазма, вытянутая с обоих полюсов клетки, окрашивается в серовато-голубоватый цвет.

ЛИМФОСАРКОМА. Увеличенные лимфатические узлы локализуются вначале большей частью в шейной области. В дальнейшем наблюдается увеличение и других групп их.

При цитологическом исследовании пунктата при мелкоклеточной лимфосаркоме обнаруживают большое количество плотно расположенных мелких клеток, которые имеют большое сходство с лимфоцитами. Среди мелких клеток встречаются и более крупные, которые трудно дифференцировать от пролимфоцитов и лимфобластов. Диагностика в этих случаях затруднена. Возникает необходимость в производстве биопсии лимфатического узла и пункции костного мозга.

При крупноклеточной форме лимфосаркомы в пунктате отмечается наличие большого количества (90% и более) довольно крупных круглых клеток. Большая часть этих клеток занята ядром. Ядро чаще круглое, но встречаются и бобовидной формы. Оно состоит из нежных переплетающихся нитей базихроматина и содержит 2—4 ядрышка.

Протоплазма небольших размеров, окрашена в синий или голубой цвет. Нередко в ней имеются различной величины вакуоли.

РЕТИКУЛОСАРКОМА. Вначале поражается какая-либо одна группа лимфатических узлов, которые могут быть средней плотности и не спаяны между собой. Но затем процесс быстро распространяется на другие группы, увеличенные лимфатические узлы становятся более плотной консистенции и спаиваются между собой.

В пунктате обнаруживают большое количество клеток. Большинство из них приближается по морфологическим чертам к клеткам лимфосаркомы. Клетки достигают 30—40 мк в диаметре. Располагаются они в препарате одиночно или группами. Чаще клетки неправильной формы. Встречаются единичные двухъядерные и трехъядерные экземпляры гигантских размеров. Ядра этих клеток имеют округлую, овальную, бобовидную, лапчатую и другую форму и расположены большей частью центрально. Структура ядра нежная. При окраске они приобретают оттенок от светлого до темного красно-фиолетового. В ядре имеются различной величины и формы резко очерченные ядрышки, окрашивающиеся в синий цвет. Часто встречаются фигуры деления.

Протоплазма у большинства клеток широкая, расплывчатая, окрашивающаяся в светло-синий, а у некоторых клеток в темно-синий цвет. Нередко в ядре и протоплазме имеются вакуоли.

Кроме описанных клеток, в препарате при ретикулосаркоме могут быть в небольшом количестве молодые ретикулярные клетки, зрелые лимфоциты, единичные нейтрофилы и эозинофилы.

МЕТАСТАЗЫ РАКА. При метастазах рака в регионарные лимфатические узлы раковая опухоль постепенно вытесняет нормальную ткань лимфатического узла. Поэтому в полученном пунктате обнаруживают большое количество клеточных элементов опухоли. В начале метастазирования находят отдельные клетки опухоли или небольшие группы их среди значительного количества клеток лимфаденоидной ткани.

Признаки раковых клеток: большие размеры, достигающие 70—80 мк. Наряду с клетками гигантских размеров встречаются небольшие по величине клетки разнообразной формы.

Ядерно-протоплазменное соотношение в них нарушено за счет увеличения размера ядра. Ядро занимает большую часть клетки.

Диаметр ядра клетки иногда достигает до 40—50 мк. Форма ядра разнообразная, часто неправильная и причудливая. Нередко в одной и той же клетке имеются ядра, разные по величине и форме. Встречаются синцитиальные образования с большим количеством ядер. Протоплазма окружает ядро большей частью небольшим ободком.

Структура ядра то нежная, то более грубая. Базихроматин распределен неравномерно. Количество делящихся клеток увеличено, много фигур митозов.

В некоторых клетках ядрышки больших размеров, окрашиваются в темно-синий цвет, в других же клетках они очень мелкие, слабо окрашивающиеся. Форма их чаще круглая или овальная, иногда угловатая.

В цитоплазме и ядре часто имеются дегенеративные изменения: жировое перерождение цитоплазмы и нередко ядра, вакуолизация, лизис и пикноз ядер, появление голоядерных клеток.

Иногда обнаруживают раковые клетки в состоянии фагоцитоза. Диагноз метастаза рака в лимфатический узел ставится не на основании изменений в каких-либо отдельных клетках, а по сумме всех цитологических признаков, обнаруженных при детальном изучении препаратов и с учетом клинических и лабораторных данных больного.

САРКОМА. Метастазы саркомы в лимфатические узлы встречаются крайне редко. Еще реже наблюдаются первичные саркомы узлов. Диагноз саркомы на основании исследования пунктата лимфатических узлов нужно ставить осторожно.

БОЛЕЗНЬ БРИЛЛЯ — СИММЕРСА (макрофолликулярная лимфобластома). Чаще увеличиваются лимфатические узлы шеи на любой ее стороне, но заболевание может начинаться и с увеличения подмышечных, паховых и других узлов. Величина их может резко варьировать от мелких до очень больших размеров. В одних случаях лимфатические узлы могут месяцами оставаться тех же размеров, в других происходит более быстрое их увеличение и генерализация процесса. Они мягкой консистенции, подвижны и безболезненны.

При цитологическом исследовании обнаруживают особые клетки, которые можно разделить на три типа. К первому типу относят клетки больших размеров со средним диаметром около 21 мк, с круглым крупносетчатым ядром, с бледными ядрышками и светлой, почти прозрачной или слабо базофильной протоплазмой, которая благодаря вакуолям часто кажется пенистой. В протоплазме отдельных клеток имеются азурофильные зерна. Второй тип — это переходный вид клеток с ядром более богатым хроматином и более грубой структурой его. Они меньше по размеру, чем первые. К третьему типу относят клетки, схожие с пролимфоцитами.

Установить точный диагноз можно лишь на основании гистологического исследования биопсированного лимфатического узла.

БОЛЕЗНЬ БЕНЬЕ — БЕКА — ШАУМАНА (саркоид Бека, доброкачественный лимфогранулематоз). При болезни Бенье — Бека — Шаумана видимые лимфатические узлы у большинства больных не увеличены. У некоторых больных могут отмечаться лишь отдельные узлы, увеличенные до размеров зерна фасоли, или небольшие конгломераты.

При цитологическом исследовании обнаруживают большое количество пролимфоцитов, меньшее количество зрелых лимфоцитов и среди них эпителиоидные клетки и гигантские клетки типа клеток Пирогова — Ланганса.

Однако отмечено (И. А. Кассирский), что эпителиоидные и гигантские клетки при этом заболевании имеют некоторые особенности: 1) не столь выражена регулярность палисадовидного расположения ядер у гигантских клеток по сравнению с гигантскими клетками при туберкулезе; 2) имеется азурофильная зернистость в протоплазме эпителиоидных и гигантских клеток; 3) протоплазма у эпителиоидных клеток более широкая, чем у эпителиоидных клеток при туберкулезе, и 4) в протоплазме эпителиоидных клеток наблюдается вакуолизация.

При дифференциальной диагностике следует иметь в виду заболевания со сходной морфологией (туберкулез, сифилис, туляремия).

ОСТРЫЙ ЛИМФАДЕНИТ. Заболевание возникает в результате проникновения в лимфатические узлы различных вредных веществ, инфекционной или неинфекционной природы.

В начальной стадии воспаления клеточный состав пунктата лимфатического узла почти нормальный: большое количество пролимфоцитов, небольшое количество зрелых лимфоцитов, единичные лимфоциты, эндотелий синусов, ретикулярные клетки и клетки типа моноцитов. Иногда встречаются макрофаги и нейтрофилы.

Во второй стадии пунктат состоит из большого количества нейтрофилов, большая или меньшая часть которых находится в дегенеративном состоянии. Кроме нейтрофилов, имеются лимфоциты, лимфоидные и моноцитонидные клетки и макрофаги. Можно обнаружить микробов, которые располагаются как в протоплазме нейтрофилов и макрофагов, так и внеклеточно. При обычной окраске они становятся фиолетовыми.

В третьей стадии острого лимфаденита образуется гной. Пунктат состоит преимущественно из нейтрофилов в различных стадиях распада детрита и нитей фибрина. Обнаруживаются также макрофаги, небольшое количество лимфоидных и моноцитонидных клеток. Иногда встречаются так называемые гигантские клетки инородных тел — клетки больших размеров (до 35 мк), содержащие по 3—5 и более ядер без деления цитоплазмы. Ядра круглые или овальные, реже вытянутой формы, располагаются, как правило, беспорядочно по всей клетке. Структура ядер грубая. Цитоплазма значительных размеров, окрашивается в синий или сине-фиолетовый цвет. Часто в ней содержатся включения в виде мелких зерен темно-розового цвета. В препаратах иногда находят микробов.

ТУБЕРКУЛЕЗНЫЙ ЛИМФАДЕНИТ. Лимфатические узлы при туберкулезном лимфадените различной величины, чаще расположены пакетами, спаяны между собой и с окружающей клетчаткой и кожей. Нередко образуются свищи.

Различают пять форм туберкулезного поражения лимфатических узлов:

1. **Диффузная лимфаденоидная гиперплазия.** В пунктате в этот период не удастся найти какие-либо специфические изменения, характерные для туберкулеза.

2. **Милиарный туберкулез лимфатических узлов.** В пунктате обнаруживают большое количество лимфоцитов различной степени зре-

лости (больше пролимфоцитов), небольшое количество молодых плазматических клеток. Могут также встречаться единичные макрофаги и клетки эндотелия синусов. В отдельных случаях можно обнаружить и эпителиоидные клетки и клетки Пирогова—Ланганса.

Эпителиоидные клетки имеют диаметр 16—18 мк. Они неправильной, округлой или несколько вытянутой формы. Ядро вытянутое, напоминает форму огуречного семени, нежное, с небольшим количеством базихроматина, состоящего из точечной сеточки. Часто в ядрах содержится по одному маленькому ядрышку.

Протоплазма окружает ядро относительно широким ободком, без четких границ, а нередко едва заметна. Окрашивается в голубовато-дымчатый цвет.

Гигантские многоядерные клетки Пирогова—Ланганса развиваются из эпителиоидных клеток. При этом в делении их участвуют только ядра, а протоплазма лишь увеличивается в размере. Клетки значительных размеров (80—90 мк и больше). Характерным является расположение ядер по периферии клетки, в результате чего они образуют форму кольца. Часто в окрашенных препаратах не видно такого расположения ядер из-за нарушения целостности клетки при приготовлении мазка, а обнаруживается только беспорядочное групповое расположение ядер.

Клетки эндотелия синусов обнаруживаются в небольшом количестве. Форма их круглая или неправильная, структура ядра мелкозернистая, рыхлая, в петлях его могут отмечаться нуклеолы. Протоплазма клеток окрашивается в синий цвет. Иногда имеются азурофильные зерна, разбросанные по всей протоплазме.

3. Туберкулезная крупноклеточная гиперплазия в отличие от второй фазы характеризуется появлением множественных бугорков с диффузным образованием эпителиоидной бугорковой ткани и наличием клеток Пирогова—Ланганса.

4. Творожистый, казеозный, туберкулезный лимфаденит. Пунктат макроскопически имеет вид крупинок творога. При микроскопическом исследовании в окрашенном препарате обнаруживаются бесструктурные крупные и мелкие фиолетовые образования (казеоз). Для подтверждения диагноза туберкулеза необходимо найти эпителиоидные клетки или клетки Пирогова—Ланганса.

В небольшом проценте случаев в казеозном пунктате можно найти туберкулезные микобактерии, поэтому необходимо произвести окраску мазков по Цилю—Нильсену. Для этой цели используют окрашенный мазок, в котором был обнаружен казеоз. При окрашивании на туберкулезные микобактерии ранее окрашенный мазок не обесцвечивают.

5. Индуративный туберкулезный лимфаденит. В этот период лимфатические узлы на ощупь очень плотные, иногда «хрящевой» консистенции, безболезненны. Прокол лимфатического узла производится с некоторым затруднением. Пунктат очень скудный, состоит из небольшого количества зрелых лимфоцитов, среди которых обнаруживают и элементы ретикулярной ткани, фибробласты и фиброциты.

При наличии описанной выше картины поставить диагноз очень трудно, так как образование соединительной ткани является исходом лимфаденита и нетуберкулезной природы.

ТУЛЯРЕМИЯ. При цитологическом исследовании пунктата находят большое количество лимфоцитов, эпителиоидные клетки в виде значительных скоплений, а иногда также гигантские клетки Пирогова — Ланганса. Могут обнаруживаться, кроме того, различные ретикулярные клетки.

При нагноении в пунктате находят нейтрофилы в различных стадиях распада.

Характер клеточных элементов при туляремии может быть тождественным с цитологической картиной туберкулезного или острого лимфаденита, поэтому одно цитологическое исследование при данном заболевании решающего значения иметь не может.

АКТИНОМИКОЗ. Макроскопически пунктат желтовато-зеленого цвета. Нередко в нем содержатся белесоватые крупинки, в которых, как правило, имеются друзы лучистого грибка.

Для микроскопического исследования необходимо выбрать зернышки и приготовить нативный препарат. При подозрении на наличие друз и мицелия лучистого грибка этот препарат нужно окрасить по Граму (см. «Мокрота»).

Клеточный состав пунктата лимфатического узла при актиномикозе не представляет ничего специфического. Могут встречаться элементы воспалительного процесса, иногда с наличием ксантомных клеток.

ЛЕПРА (проказа). Пункция лимфатического узла производится главным образом для поисков лепрозных палочек. В пунктате при лепре находят вакуолизированные («пенистые») лепрозные клетки, которые являются производными ретикулярных клеток. Диаметр этих клеток колеблется от 30 до 50 мк. Протоплазма значительной величины и у многих клеток почти вся занята вакуолями различной величины, тесно примыкающими друг к другу. Вакуоли содержат липиды, а поэтому при обычной окраске выглядят как пустоты.

Кроме этих клеток, в пунктате находят гигантские клетки с центрально расположенными ядрами и обрывками вакуолизированной протоплазмы, напоминающие лепрозные клетки. Встречаются различной степени зрелости плазматические клетки, лимфоциты, гигантские клетки инородных тел, а также клетки, схожие с эпителиоидными.

ПОДОСТРЫЙ ВОЛЧАНОЧНЫЙ СЕПСИС (системная красная волчанка). В пунктате наблюдается увеличенное количество плазматических клеток различной степени зрелости и много макрофагов. Количество лимфоцитов уменьшено. Подобные изменения могут встречаться и при других заболеваниях.

При достаточном количестве пунктата можно при соответствующей обработке произвести исследование на волчаночные клетки (см. «Исследование клеток LE»).

СИФИЛИТИЧЕСКИЕ ЛИМФАДЕНИТЫ. Лимфатические узлы при сифилисе могут быть поражены во всех периодах болезни. Однако чаще всего они обнаруживаются увеличенными в первой и второй стадиях болезни. Большей частью поражение локализуется в паховых областях. Пораженные лимфатические узлы носят множественный характер. Они довольно плотной консистенции, подвижны и безболезненны, чаще имеют овальную форму и характеризуются небольшими размерами.

Большое диагностическое значение пункция лимфатических узлов при сифилисе имеет в начале заболевания, когда реакция Вассер-

мана может еще не быть положительной. В этот период болезни в пунктате лимфатических узлов в 80% случаев обнаруживают спирохеты.

При цитологическом исследовании пунктата находят большое количество пролимфоцитов. Наблюдается большое число клеток в стадии митоза. В некоторых случаях обнаруживают плазматические клетки и макрофаги.

Диагноз можно поставить с уверенностью только тогда, когда в пунктате есть спирохеты.

ПАХОВЫЙ ЛИМФОГРАНУЛЕМАТОЗ НИКОЛА — ФАВРА (четвертая венерическая болезнь). Обычно поражаются паховые узлы, часто с двух сторон, однако встречается и диффузное поражение всей лимфатической системы. Лимфатические узлы принимают значительные размеры и, спаяваясь между собой, образуют общий пакет.

В первой стадии заболевания в пунктате находят кровь вследствие резко выраженной гиперемии, а при микроскопическом исследовании среди большого количества лимфоцитов определяют отдельные группы нейтрофилов.

Во второй стадии пунктат тягучий, вязкий, на вид гнойный. При микроскопическом исследовании среди большого количества лимфоцитов находят отдельные группы нейтрофилов. В поздних стадиях болезни количество последних может резко увеличиваться и даже превалировать над другими элементами пунктата. Помимо лимфоцитов и нейтрофилов, имеются плазматические клетки различной степени зрелости. Встречаются и эпителиоидные клетки.

ИНФЕКЦИОННЫЙ МОНОНУКЛЕОЗ (болезнь Филатова). Наиболее типичное расположение увеличенных лимфатических узлов — по заднему краю грудино-ключично-сосковой мышцы, но вместе с тем увеличиваются и другие узлы. Размеры их колеблются от величины фасоли до величины лесного ореха. В первые дни болезни они небольшие, затем быстро увеличиваются, достигая к 4—6-му дню наибольших размеров. Лимфатические узлы плотны, подвижны, не спаяны между собой и болезненны.

Клеточный состав пунктата пестрый. Характерной особенностью его является наличие значительного количества разнообразных ретикулярных клеток, среди которых различают атипичные одноядерные клетки часто неправильной формы (лимфомастоциты).

В пунктате имеются клетки, схожие с плазмацитами, плазмобластами, пролимфоцитами и лимфобластами. Кроме перечисленных клеток, в пунктате лимфатического узла обнаруживают большое количество пролимфоцитов, ретикулярных клеток и немного зрелых лимфоцитов.

ЦИТОХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Наиболее распространены цитохимические исследования полисахаридов, липидов, нуклеиновых кислот, ферментов и др.

Цитохимические методы основаны на использовании специфической химической реакции для обнаружения указанных веществ в клетках. При цитохимическом исследовании чаще пользуются полуколичественной оценкой результатов, основанной на степени интенсивности специфической окраски. В зависимости от нее делят все элементы на 4 степени: отрицательные, т. е. неокрашенные (—), слабо положительные (+), положительные (++) и резко положительные (+++). Для количественного выражения результатов можно вычислять средний цитохимический показатель по Astaldi¹. С этой целью дифференцируют 100 исследуемых клеток по указанной выше системе. Полученный процент клеток в каждой группе умножают на соответствующее данной группе число (+). Сумма этих величин, деленная на 100, представляет собой средний цитохимический показатель для одной клетки. Некоторые авторы выражают цитохимический результат в единицах, не производя деления на 100 (пример расчета см. в разделе «Гликоген»).

Метод полуколичественной оценки является ориентировочным, но позволяет сравнивать распределение различных веществ в разных клеточных элементах или в одних и тех же клетках при разных патологических состояниях организма в динамике, в связи с проводимой терапией и т. д.

Наиболее точные количественные представления о цитохимии некоторых веществ (например, нуклеиновых кислот) дает метод фотометрии, который из-за сложности не получил широкого распространения.

ГЛИКОГЕН

Метод Шабадша

Принцип. Использование окислителей и образование альдегидных соединений, легко реагирующих с реактивом Шиффа (фуксинсернистая кислота). В местах локализации гликогена образуется

¹ G. Astaldi, L. Verga. Acta haematologica, 1957, 17, 3, 129—136.

вишнево-фиолетовое окрашивание, по интенсивности которого можно судить о количестве гликогена в клетках при микроскопическом исследовании препаратов.

Посуда и оборудование. 1. Химические стаканы емкостью 50 мл или кюветы.

2. Мерные цилиндры.
3. Градуированные пипетки.
4. Колбы емкостью 250 мл.
5. Воронки.
6. Горелки.
7. Термостат.

Реактивы. 1. 0,03 М раствор периодата калия (230 мг периодата растворяют в 100 мл дистиллированной воды). Готовят перед употреблением.

2. Реактив Шиффа. 1 г основного фуксина (или специального фуксина для фуксин-сернистой кислоты) растворяют в 200 мл кипящей дистиллированной воды. По мере охлаждения в раствор добавляют 1 г метабисульфита калия и 20 мл 1 N раствора соляной кислоты. Оставляют на сутки. Для полного обесцвечивания добавляют растолченную таблетку карболена, оставляют на сутки, затем фильтруют. Реактив сохраняют в темноте (лучше на холоду). Годен к употреблению в течение нескольких месяцев (легкая степень покраснения свидетельствует о непригодности реактива).

3. Сернистая вода. К 10 мл 10% раствора метабисульфита калия добавляют 200 мл дистиллированной воды и 10 мл нормального раствора соляной кислоты. Готовят перед употреблением.

4. Реактив Шабдаша. К 100 мл этилового спирта добавляют

1,8 г нитрата меди (CuNO_3) и 0,9 г нитрата кальция [$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$].

5. 1 N раствор соляной кислоты (82,5 мл концентрированной соляной кислоты удельного веса 1,19 доливают дистиллированной водой до 1 л).

6. 0,1% спиртовой раствор светло-зеленой краски (лихтгрюн).

Ход исследования. Препараты в виде мазков или отпечатков последовательно подвергают следующей обработке:

1. Фиксируют (тотчас после приготовления) в этиловом спирту или жидкости Шабдаша в течение 30 минут.
2. Промывают в двух сменах дистиллированной воды.
3. Погружают в раствор периодата на 20 минут (в темноте).
4. Промывают в двух сменах дистиллированной воды.
5. Споласкивают в сернистой воде (в течение 1—2 минут).
6. Окрашивают реактивом Шиффа в течение 30—40 минут (в темноте).
7. Промывают в трех сменах сернистой воды в течение 3 минут.
8. Промывают в трех сменах дистиллированной воды в течение 3 минут.
9. Окрашивают светло-зеленой краской (лихтгрюн) в течение 10—20 секунд.
10. Промывают в дистиллированной воде.

Для проведения реакции удобно все растворы поместить в химические стаканчики или кюветы и переносить препараты в указанной выше последовательности.

Гликоген окрашивается в вишнево-фиолетовый цвет на зеленом фоне препарата. Кроме гликогена, положительную реакцию

могут давать кислые и нейтральные мукополисахариды, мукопротеины, гликопротеины и др.

Гликоген легко отдифференцировать от других веществ пробой со слюной.

Проба со слюной

Препарат помещают в свежесобранную слюну и оставляют на 30 минут в термостате. Затем производят окраску на гликоген приведенным выше методом. Инкубация препаратов со слюной способствует расщеплению гликогена и отрицательной окраске с реактивом Шиффа.

Расчет количества гликогена производят по указанному выше полуколичественному принципу.

Пример расчета. При исследовании нейтрофилов в мазках крови, окрашенных на гликоген, обнаружено:

- 10% клеток резко положительных (+++)
- 30% » положительных (++)
- 50% » слабо положительных (+) и
- 10% » отрицательных (-).

Содержание гликогена в нейтрофилах в единицах вычисляют следующим образом: $(10 \times 3) + (30 \times 2) + (50 \times 1) + (10 \times 0) = 140$ единиц. Средний цитохимический показатель гликогена равен $\frac{140}{100} = 1,4$.

Интерпретация. В мазках периферической крови гликоген содержится в цитоплазме нейтрофилов (в виде обильной мелкой зернистости), цитоплазме лимфоцитов (в виде небольшого количества крупных зерен) и тромбоцитах (в виде одиночных крупных зерен). В пунктате костного мозга гликоген выявляется во всех нейтрофилах, лимфоцитах (изредка) и мегакариоцитах. У здоровых людей независимо от пола и возраста количество интенсивно окрашенных нейтрофилов крови (+++) колеблется в пределах 2—12%, средней интенсивности окраски (++) — в пределах 72—90%, слабо окрашенных (+) — от 4 до 18%. Средний цитохимический показатель 1,71—2,04.

Увеличение гликогена в нейтрофилах наблюдается при различных воспалительных процессах, полицитемии, хроническом миелозе, диабете, уменьшение — при агранулоцитозах, лучевой болезни и др.

В лимфоцитах крови здоровых людей в среднем насчитывается около 30 гранул гликогена. У больных с пролиферацией лимфоцитов резко увеличено количество гликогеновых зерен.

Исследование гликогена в мегакариоцитах костного мозга может быть использовано для оценки функциональной активности этих элементов. В норме число гликогенположительных мегакариоцитов составляет 56—62%¹. При болезни Верльгофа и симптоматических тромбоцитопениях число гликогенположительных форм значительно снижено. После спленэктомии количество гликогенположительных клеток повышается до нормальных цифр.

¹ Р. П. Золотницкая. Лабораторное дело, 1967, 5, 271.

Цитохимическое исследование гликогена в клетках влагалищного эпителия является показателем функционального состояния яичников, так как в норме у женщин обнаруживают много гликогена в клетках, а при нарушении функции яичников наблюдается обеднение клеток гликогеном¹.

В опухолях содержание гликогена различно: зрелые доброкачественные опухоли содержат много гликогена, в незрелых раковых опухолях количество гликогена резко уменьшено. Снижение гликогена в опухолевых клетках, вероятно, может быть использовано как показатель злокачественности опухоли.

ЛИПИДЫ

Принцип. Окраска на липиды основана на применении красящих веществ, растворяющихся в жирах (судан III, судан IV, черный судан и др.). Для выявления нейтрального жира пользуются суданом III, окрашивающим жир в оранжевый цвет. Липиды выявляются лучше суданом черным (черное окрашивание). В гематологических исследованиях чаще применяется окраска мазков раствором судана III.

Окраска суданом III

Метод Гольдмана

Посуда и оборудование. 1. Химические стаканчики или кюветы.
2. Мерные цилиндры.
3. Пипетки.
4. Воронки.
5. Горелка.

Реактивы. 1. Раствор судана. К 100 мл 70° спирта добавляют 20 мл дистиллированной воды, 1,2 г α -нафтола и в избытке судан III. Раствор кипятят в течение 10 минут и фильтруют. После охлаждения добавляют 0,3 мл 2% раствора перекиси водорода.

2. 40° этиловый спирт (к 100 мл 96° спирта прибавить 144,5 мл дистиллированной воды).

3. Формалиновый спирт (1 часть формалина и 4 части 96° спирта).

4. 70° этиловый спирт (к 100 мл 96° спирта прибавить 39,18 мл дистиллированной воды).

Ход исследования. 1. Мазки крови фиксируют в формалиновом спирту в течение 1—3 минут.

2. Промывают в дистиллированной воде.

3. Помещают в 40° этиловый спирт на 3 минуты.

4. Красят в растворе судана III в течение 10 минут.

5. Докрашивают ядра краской Гимза или гематоксилином в течение 5—10 минут. Липиды выявляются в виде оранжевых зерен.

¹ Г. Л. Дозорцева. Функциональная диагностика в акушерстве и гинекологии на основе цитологического исследования, Минск, 1952, стр. 37—39.

Окраска суданом черным

Реактивы. 1. Насыщенный раствор судана черного в 70° спирту.
2. 70° этиловый спирт (см. метод Гольдмана).
3. 30° этиловый спирт (к 100 мл 96° спирта прибавить 224,08 мл дистиллированной воды).

4. Формалин 40% продажный.

Ход исследования. 1. Мазки фиксируют формалином.

2. Помещают в 70° спирт на 30 секунд.

3. Окрашивают в растворе судана черного от 5 до 30 минут.

4. Промывают в 30° спирту 30 секунд.

5. Промывают дистиллированной водой.

6. Докрашивают ядра клеток гематоксилином или краской Гимза.

Липиды выявляются в виде черных или темно-серых зерен.

Интерпретация. В мазках периферической крови липиды содержатся в цитоплазме нейтрофилов в виде обильной зернистости. Большинство нейтрофилов (69—80%) у здоровых людей красятся интенсивно (+++), 18—36% дают окраску средней интенсивности (++) и 10% слабо окрашены (+). Средний цитохимический показатель 2,68—2,78. Небольшое количество липидов обнаруживают в моноцитах и тромбоцитах. Количество липидов при острых лейкозах уменьшено, при хронических миелозах увеличено.

НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ

Принцип. Использование реакций основных компонентов нуклеиновых кислот: углеводов, фосфорной кислоты и оснований.

Дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК)

Метод Фельгена

Дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) определяется главным образом реакцией на углеводы. Дезоксирибоза, входящая в состав ДНК, при гидролизе превращается в альдегид, дающий красно-фиолетовое окрашивание с реактивом Шиффа.

Посуда и оборудование. 1. Химические стаканы или кюветы (емкостью 50 мл).

2. Мерные цилиндры.

3. Градуированные пипетки.

4. Воронки.

5. Колбы емкостью 250 мл.

6. Водяная баня.

Реактивы. 1. Реактив Шиффа.

2. 1 N раствор соляной кислоты.

3. Сернистая вода. Описание приготовления этих реактивов см. метод Шабадша для определения гликогена.

4. 0,1% спиртовой раствор светло-зеленой краски.

5. Жидкость Карнуа (6 частей абсолютного спирта, 3 части хлороформа и 1 часть уксусной кислоты).

Ход исследования. 1. Фиксируют в жидкости Карнуа в течение 6—10 минут.

2. Споласкивают в дистиллированной воде в течение 2 минут.

3. Мазки споласкивают в холодной 1 N соляной кислоте, затем подвергают их гидролизу в соляной кислоте при 60° в течение 4—15 минут, чаще 8—12 минут.

4. Промывают дистиллированной водой.

5. Окрашивают реактивом Шиффа в течение 1 часа.

6. Промывают в трех сменах сернистой воды в течение 3 минут.

7. Промывают в трех сменах дистиллированной воды в течение 3 минут.

8. Докрашивают светло-зеленым красителем (лихтгрюн).

9. Промывают в дистиллированной воде.

ДНК окрашивается в фиолетовый цвет на зеленом фоне препарата.

Интерпретация. ДНК является составной частью ядра клетки. В клетках крови по мере их созревания содержание ДНК повышается. В зрелых нейтрофилах здоровых людей число клеток с интенсивно окрашенными ядрами (+++) составляет 42,3%, количество клеток с ядрами средней интенсивности окраски (++) 57,7%. У больных гипо- и апластической анемией обнаружено уменьшение ДНК в гранулоцитах и лимфоцитах¹. Значительное уменьшение количества ДНК в клетках крови описано при экспериментальной лучевой болезни. Цитохимическое исследование ДНК может быть использовано для доказательства ядерного происхождения различных включений клеток.

Рибонуклеиновая кислота (РНК)

Метод Браше

Рибонуклеиновая кислота (РНК) цитохимически чаще определяется путем сравнения двух препаратов, один из которых предварительно обработан рибонуклеазой, растворяющей РНК. Второй мазок окрашивают метилгрюнпиронином, специфически реагирующим с РНК и дающим розовое или светло-фиолетовое окрашивание.

Посуда и оборудование. 1. Химические стаканы.

2. Мерные цилиндры.

3. Пипетки.

4. Мерные колбы.

5. Делительные воронки.

6. Термостат.

Реактивы. 1. Краску метилгрюнпиронин готовят следующим образом. Раствор А:

5% водный раствор пиронина	15,5 мл
2% водный раствор метилового зеленого	10 мл
дистиллированная вода	250 мл

Метиловый зеленый предварительно очищают хлороформом следующим образом: в делительную воронку наливают 2% водный раствор метилового зеленого (около 30—40 мл), сверху добавляют хлороформ, хорошо встряхивают. Хлороформ экстрагирует примесь метилового фиолетового. При этом фиолетовый слой хлороформа опускается на дно делительной воронки. Открывая кран, выливают

¹ Ф. Э. Файнштейн. Апластические и гипопластические анемии. М., 1965.

хлороформ. Процедуру следует повторить несколько раз до тех пор, пока слой хлороформа будет бесцветным.

Раствор Б : $\frac{M}{5}$ ацетатный буфер рН 4,8.

Для его приготовления необходимо смешать 40 мл $\frac{M}{5}$ раствора уксусной кислоты (1,2 г концентрированной уксусной кислоты долить до 1 л дистиллированной водой) и 60 мл $\frac{M}{5}$ раствора ацетата натрия (16,4 г ацетата натрия долить до 1 л дистиллированной водой).

Перед употреблением растворы А и Б смешивают в равных количествах. Смесь годна в течение 2—3 недель.

Более простой метод приготовления метилгрюнпиронина (по Унна) заключается в следующем:

метиловый зеленый	0,15 г
пиронин	0,25 г
спирт 96°	2,5 мл
глицерин	20 мл
карболовая кислота 0,5% раствор	до 100 мл

2. 0,1% водный раствор рибонуклеазы. Готовят перед употреблением. Сохраняют в течение 2—3 дней на холоду.

Ход исследования. Один мазок окрашивают следующим образом.

1. Фиксируют в жидкости Карнуа (см. метод Фельгена) в течение 10 минут.

2. Промывают в дистиллированной воде (2—3 смены).

3. Окрашивают краской метилгрюнпиронин в течение 10—20 минут.

4. Быстро споласкивают дистиллированной водой (15 секунд).

Второй мазок обрабатывают рибонуклеазой следующим образом:

1. Помещают в раствор рибонуклеазы на 30 минут (в термостате при 37°).

2. Тщательно промывают дистиллированной водой.

3. Окрашивают краской метилгрюнпиронин в течение 10—20 минут.

4. Быстро споласкивают дистиллированной водой. В мазках, обработанных рибонуклеазой, РНК отсутствует. Сравнивая два мазка, устанавливают локализацию и примерное количество РНК, которая окрашивается в розовый цвет. Для точного количественного определения пуриновых и пиримидиновых оснований, входящих в состав РНК, пользуются спектрографией в ультрафиолетовых лучах. Однако этот метод не имеет широкого применения ввиду его сложности.

Интерпретация. РНК содержится в основном в цитоплазме клеток. В ядре ее можно обнаружить только в ядрышках. В клетках крови по мере их созревания количество РНК уменьшается. Параллельное исследование препаратов крови, окрашенных метилгрюнпиронином и по Романовскому, доказывает связь РНК с базофильной клеткой. Все молодые клетки (гемогистиобласты, проэритробласты, гемоцитобласты, миелобласты, лимфобласты и др.), а также особенно плазматические клетки содержат много РНК. Богаты РНК клетки злокачественных опухолей, регенерирующих тканей, эмбриональные клетки, иммунологически активные элементы. В мазках **пунктатов**

лимфатических узлов обнаружено большое количество РНК в клетках Березовского — Штернберга при лимфогранулематозе¹.

Нуклеиновые кислоты принимают участие в синтезе клеточных белков, в процессах роста и созревания клеток. Доказана роль нуклеиновых кислот в передаче наследственных признаков.

ФЕРМЕНТЫ

Наибольшее распространение получило цитохимическое исследование следующих ферментов: оксидазы, пероксидазы, цитохром-оксидазы, кислой и щелочной фосфатазы и др.

Все методы определения окислительных ферментов основаны на обработке препаратов реактивами, которые при окислении на местах локализации оксидаз быстро дают цветную реакцию.

Оксидаза

Принцип. Использование наддиоксидазной реакции: смесь α -нафтола и диметил-парафенилендиамина с одним атомом кислорода образует лейкобазу, которая при обработке клеточной оксидазой окисляется до индофенолового синего, и в местах локализации оксидазы образуется синий осадок. Имеются предположения, что наддиоксидаза и цитохромоксидаза — один и тот же фермент.

Посуда и оборудование. 1. Химические стаканы.

2. Мерные цилиндры.

3. Градуированные пипетки.

4. Горелка.

Реактивы. 1. 1% щелочной раствор α -нафтола. 1 г α -нафтола кипятят в 100 мл дистиллированной воды и прибавляют по каплям 25% раствор едкого кали (КОН) до растворения α -нафтола.

2. 1% водный раствор диметил-парафенилендиамина.

Оба раствора нестойки, их следует сохранять в темной посуде и употреблять в течение 1—2 недель. Перед употреблением смешивают равные части указанных растворов.

3. Раствор Люголя.

4. 0,5% водный раствор ацетата лития.

5. Формалиновый спирт: смесь 1 части формалина и 4 частей 96° спирта.

Ход исследования. 1. Мазки фиксируют формалиновым спиртом в течение 2—3 минут.

2. Промывают в дистиллированной воде.

3. Красят свежеприготовленным раствором α -нафтола и диметил-парафенилендиамина в течение 4—5 минут.

4. Промывают в проточной воде.

Мазки исследуют тотчас после окраски, так как оксидазная окраска нестойкая и быстро исчезает. В случае необходимости сохранения окраски:

5. Помещают мазки на 1 час в раствор Люголя (разбавленный дистиллированной водой 1:1).

6. Обрабатывают мазки слабым раствором ацетата лития (на 10 мл дистиллированной воды 1—2 капли 0,5% раствора ацетата лития) в течение 10 минут.

¹ Ф. В. Курдыбайло. Проблемы гематологии и переливания крови, 1959, 5, стр. 26.

7. Споласкивают в дистиллированной воде.
8. Докрашивают квасцовым кармином или сафранином.

Оксидаза выявляется в виде гранул синего цвета.

Интерпретация. Оксидаза содержится в клетках крови и костного мозга, главным образом в гранулоцитах. Резко положительная окраска наблюдается в среднем у 5% клеток. Примерно 50% клеток дают положительную (++) и 35% — слабо положительную (+), реакцию на оксидазу. Средний цитохимический показатель 1,4—1,9. В лимфоцитах и моноцитах фермент отсутствует.

Уменьшение фермента отмечено у больных с гипопластической анемией и при тяжелом течении острого лейкоза¹. В опухолевых клетках, особенно в малодифференцированных клетках с выраженной атипией, содержание оксидазы значительно повышено².

Пероксидаза

Метод Грехема — Кнолля

Принцип. Определение пероксидазы основано на использовании бензидина, который в присутствии перекиси водорода и пероксидазы переходит в коричневый оксibenзидин.

Посуда. 1. Химические стаканы.

2. Мерные цилиндры.

3. Пипетки.

Реактивы. 1. 4% формалиновоспиртовой раствор (10 частей 40% формалина и 90 частей 96° спирта).

2. Пероксидазный реактив: растворить бензидин (на кончике ножа) в 6 мл 96° спирта, прибавить 4 мл воды и 0,02 мл 3% перекиси водорода. Реактив годен к употреблению в течение 5—6 дней.

3. Краска Романовского.

Ход окраски. 1. Фиксируют свежие мазки (1—2-дневной давности) 4% формалиновоспиртовым раствором в течение 30 секунд.

2. Обмывают препараты в проточной воде и высушивают.

3. Заливают пероксидазным реактивом на 5 минут.

4. Тщательно промывают в проточной воде и высушивают.

5. Докрашивают краской Романовского.

Пероксидаза выявляется в цитоплазме клеток в виде коричневых гранул.

Метод Сато

Принцип. При воздействии на мазки крови водного раствора бензидина в присутствии перекиси водорода и сульфата меди гранулы цитоплазмы окрашиваются в синий цвет.

Реактивы. 1. 0,5% водный раствор сульфата меди.

2. 0,2 г бензидина растирают в ступке с небольшим количеством воды, добавляют 200 мл дистиллированной воды при комнатной температуре, фильтруют и прибавляют 4 капли 3% раствора перекиси водорода (0,02 мл). При хранении в темноте годен в течение года.

¹ Э. И. Терентьева, Л. И. Казанова, Ф. Э. Файнштейн. Проблемы гематологии и переливания крови, 1960, № 2, стр. 3.

² С. И. Алкадарский. Архив патологии, 1959, № 10, стр. 19.

3. 1% водный раствор сафранина.
4. 4% формалиновоспиртовой раствор (см. метод Грехема — Кнолля).

Ход исследования. 1. Фиксируют свежие мазки 4% формалиновоспиртовым раствором в течение 1 минуты.

2. Тщательно промывают водой и высушивают.
3. Помещают в раствор сульфата меди на 1 минуту.
4. Промывают в дистиллированной воде.
5. Помещают в раствор бензидина на 2 минуты.
6. Промывают в дистиллированной воде.
7. Докрашивают раствором сафранина в течение 1—2 минут.

Пероксидаза выявляется в виде синих гранул.

Интерпретация. В кровяных элементах пероксидаза содержится преимущественно в цитоплазме гранулоцитов. Среди нейтрофилов 3—16% окрашены резко положительно (+++), 60—90% положительно (++) и остальные слабо положительно (+). Средний цитохимический показатель 1,79—2,06. Фермент появляется в кровяных клетках на стадии промиелоцитов и у ряда миелобластов (более зрелых). Не содержат фермента недифференцированные элементы (гемоцитобласты, часть миелобластов, лимфобласты, монобласты).

Первоначальные предположения о возможности использования реакции на пероксидазу для дифференцирования острого лейкоза миелоидного типа от лимфатического не оправдались. Уменьшение активности фермента в гранулоцитах отмечено у больных острым лейкозом и агранулоцитозом, а также после лечения кортикостероидами. Увеличение активности пероксидазы обнаружено при тяжелых формах хронического миелоза.

Щелочная фосфатаза

Принцип. В наиболее принятых методах (Гомори, Вахштейн и др.) реакция основана на инкубации препаратов в субстрате β-глицерофосфата натрия в щелочной среде. Под влиянием щелочной фосфатазы освобождаются неорганические фосфаты, которые осаждаются кальцием в виде кальциевых фосфатов. При добавлении нитрата кобальта образуется фосфат кобальта, который под действием сульфида аммония превращается в кобальтовый сульфид черного цвета.

Метод Гомори

Посуда и оборудование. 1. Химические стаканы.

2. Мерные цилиндры.

3. Пипетки.

4. Колбы.

5. Термостат.

6. Вытяжной шкаф.

7. Аппарат Киппа.

8. Холодильник.

Реактивы. 1. Субстрат следующего состава готовят перед употреблением:

β-глицерофосфат натрия	0,25г
мединал	0,25г

10% раствор хлорида кальция	0,85 мл
2% раствор хлорида магния	2,5 мл
дистиллированная вода	50 мл

2. 2% раствор нитрата кобальта.
3. 1% водный раствор сульфида аммония. Готовят из насыщенного раствора сульфида аммония, получаемого насыщением гидроксида аммония сероводородом в аппарате Киппа путем обработки сульфида железа концентрированной соляной кислотой. Для 1% раствора берут 1 мл насыщенного раствора на 100 мл дистиллированной воды. Из-за резкого запаха реактив следует готовить под вытяжкой.

4. Слабый раствор азур II готовят из 1% раствора азур II (5 мл на 50 мл дистиллированной воды).

5. Фиксатор: абсолютный метиловый спирт — 9 частей и 40% раствор формалина — 1 часть. Сохраняют в холодильнике.

Ход окраски. 1. Фиксируют мазки в течение 1 минуты тотчас после их взятия и высыхания.

2. Помещают в субстрат на 1 сутки в термостат при 37°.

3. Ополаскивают дистиллированной водой.

4. Помещают в 2% раствор хлорида кальция на 7 минут.

5. Помещают в 2% раствор нитрата кобальта на 4 минуты.

6. Тщательно промывают дистиллированной водой.

7. Погружают в 1% раствор сульфида аммония на 1 минуту.

8. Ополаскивают дистиллированной водой.

9. Докрашивают слабым раствором азур II.

Щелочная фосфатаза выявляется в виде черного или темно-серого окрашивания.

Интерпретация. В клетках крови щелочная фосфатаза содержится преимущественно в цитоплазме гранулоцитов, возрастая по мере созревания клеток. У здоровых людей около 20% зрелых нейтрофилов крови имеют слабо положительную реакцию (+); остальные клетки фермента не содержат. Средний цитохимический показатель 0,1—0,9. Количество щелочной фосфатазы в нейтрофилах увеличивается при многих воспалительных процессах, инфекциях, злокачественных новообразованиях, острых лейкозах, лимфаденозах, гипопластических анемиях¹, эритремии² и др. Резкое снижение содержания фермента (вплоть до полного исчезновения) наблюдается при хроническом миелозе. Поэтому исследование щелочной фосфатазы может быть использовано для дифференциальной диагностики между миелолейкозом и лейкомоидными реакциями.

Сульфгидрильные группы

Принцип. Использование реакции с нитропруссидом натрия с образованием розовой или светло-фиолетовой окраски в местах локализации сульфгидрильных групп.

Реактивы. 1. 5% раствор ацетата цинка.

2. 2—5% раствор нитропруссид натрия (в раствор добавляется кристалл сульфата аммония и 1—2 капли концентрированного раствора гидроксида аммония).

¹ Л. И. Казанова, Э. И. Терентьева, Ф. Э. Файнштейн. Клиническая медицина, 1958, № 7, стр. 129.

² Н. М. Плотникова. Терапевтический архив, 1964, № 10, стр. 107.

3. Фиксатор (формалиновый спирт).

Ход исследования. 1. Фиксируют мазки в течение 1 минуты.

2. Помещают в 5% раствор уксуснокислого цинка на 20 секунд.

3. Промывают дистиллированной водой.

4. Помещают в раствор нитропруссид натрия на 2—5 минут.

Этот метод позволяет выявлять свободные сульфгидрильные группы. Сульфгидрильные группы окрашиваются в розовый цвет.

Интерпретация. В клетках крови сульфгидрильные группы содержатся главным образом в цитоплазме гранулоцитов. Уменьшение их в клетках крови обнаруживается при гипопластических анемиях. Значительное снижение отмечено также в опухолевых клетках, некритизированных элементах¹.

Ретикулин

Принцип. Цитохимическое исследование ретикулина основано на методе серебряной импрегнации и выявлении ретикулина в виде волокон черного цвета.

Метод Гомори (модификация Боровичени)

Реактивы. 1. 2% раствор железноаммонийного сульфата, готовится перед употреблением.

2. Раствор Гомори для серебрения: к 20 мл 10% нитрата серебра прибавляют 4 мл 10% едкого калия. Затем по каплям прибавляют 25% раствор аммиака, непрерывно взбалтывая до полного растворения коричневого осадка. Затем вновь добавляют по каплям 5—6 мл 10% раствора нитрата серебра и взбалтывают до прекращения растворения осадка. Раствор готовят каждый раз перед употреблением.

3. 40% раствор формалина в разведении 1:10.

4. 5% раствор гипосульфита натрия.

Ход окраски. 1. Окрашенные по Романовскому препараты погружают на 4—5 секунд в 2% раствор железноаммонийного сульфата.

2. Промывают 2—3 секунды дистиллированной водой.

3. Помещают в раствор Гомори на 4—5 секунд.

4. Промывают дистиллированной водой.

5. Помещают в разведенный раствор формалина на 4—5 секунд.

6. Промывают дистиллированной водой.

7. Погружают на 4—5 секунд в 5% раствор гипосульфита натрия.

8. Промывают дистиллированной водой.

Ретикулин выявляется в клетках в виде переплетающихся волокон черного цвета.

Интерпретация. Ретикулин обнаруживается в ретикулярных клетках костного мозга и лимфатических узлов. Окраска на ретикулин может быть использована для установления ретикулярной природы клеточных элементов.

Недостатком метода является возможность выявления с помощью серебрения и коллагеновых волокон.

¹ С. С. Касабян. Архив патологии, 1959, № 7, стр. 32.

Сидеробласты и сидероциты

Принцип. Использование реакции на берлинскую лазурь с образованием в цитоплазме клеток зернышек синего цвета.

Реактивы. 1. 1% раствор железистосинеродистого калия $[K_4Fe(CN_6)]$.

2. 0,1 N раствор соляной кислоты (8,2 мл концентрированной соляной кислоты доводят дистиллированной водой до 1 л).

3. 0,1% раствор сафранина.

4. Метиловый спирт (метанол).

Ход окраски. 1. Фиксируют мазки метанолом в течение 10—20 минут.

2. Высушивают препараты на воздухе.

3. Помещают в смесь равных частей раствора железистосинеродистого калия и соляной кислоты на 15—20 минут. Рекомендуется держать химический стакан с указанной смесью на водяной бане при температуре 50—56°.

4. Промывают в проточной воде в течение 10—15 минут.

5. Споласкивают дистиллированной водой.

6. Докрашивают раствором сафранина (несколько секунд).

Сидеробласты и сидероциты содержат в цитоплазме синие зернышки (диаметр 0,2—1,5 мк).

Интерпретация. У здоровых людей 3% эритроцитов периферической крови содержат негемоглобинное железо (сидероциты). В костном мозгу 15—40% эритробластов являются сидеробластами. Количество сидеробластов в костном мозгу уменьшается при железодефицитных анемиях, повышается при усиленном гемолизе эритроцитов, нарушенном синтезе гемоглобина (отравление свинцом и др.), после спленэктомии.

Цитохимические методы исследования позволяют выявить локализацию отдельных химических веществ в клетках, что может быть использовано для изучения обменных процессов, оценки функционального состояния клеток, изучения их гистогенеза.

Наибольшее распространение цитохимические методы находят при цитологических исследованиях злокачественных новообразований и в гематологических исследованиях.

Следует иметь в виду, что цитохимический метод может быть использован только в качестве дополнения к морфологическому исследованию, но не может его заменить. Недостатком всех цитохимических реакций является их приблизительная качественная оценка, основанная на степени интенсивности окраски.

ЛЮМИНЕСЦЕНТНАЯ МИКРОСКОПИЯ

Принцип. Люминесцентная микроскопия — микроскопия светящегося объекта на темном фоне. Первичное свечение объекта или свечение флюорохромированного препарата (вторичная люминесценция) происходит под действием ультрафиолетовых лучей или коротковолнового синего света.

Люминесцентная микроскопия сводится к облучению ультрафиолетовыми лучами микроскопических объектов с целью вызвать люминесценцию составляющих их структур. Наблюдение свечения в микроскопе позволяет делать заключения о физико-химическом состоянии биологических объектов в целом или их частей, например судить о распределении нуклеиновых кислот, степени их полимеризации, состоянии обмена веществ в клетке, степени «поврежденности» и т. д. В тех случаях, когда собственная люминесценция («первичная») биологических объектов незначительна, прибегают к созданию комплексов исследуемых веществ с люминофорами. Возникающая при этом люминесценция комплекса («вторичная») служит также источником информации о процессах, протекающих в молекулах этого комплекса.

Аппаратура. I. Источники возбуждающего света:

- 1) кварцевая горелка;
- 2) лампы сверхвысокого давления: СВДШ-250 и СВД-120А — источники длинноволнового синего и коротковолнового синего света;
- 3) лампы накаливания. Недостатки: небольшая яркость свечения и отсутствие ультрафиолетовых лучей, что не позволяет наблюдать люминесценцию объектов в синем спектре.

II. Микроскопы:

- 1) микроскопы с наклонным тубусом типа МБИ-1, МБР-1, МБИ-4 и др. Любой из перечисленных микроскопов может быть приспособлен к люминесцентному устройству ОИ-17 или ОИ-18;
- 2) люминесцентные микроскопы ЛМ-1, ЛМ-2, ЛМ-3. Эти микроскопы снабжены дополнительными оптическими устройствами (фазово-контрастное устройство, конденсор темного поля, фотонасадка);
- 3) ультрафиолетовые микроскопы МУФ-2, МУФ-3, МУФ-5. Микроскопы имеют кварц-флюоритовую и зеркально-линзовую оптику, свободно пропускающую ультрафиолетовые лучи. С помощью этих микроскопов наблюдают первичную люминесценцию объектов.

III. Опак-иллюминатор — приспособление, значительно увеличивающее яркость люминесцирующего объекта за счет способности избирательно отражать на препарат около 90% сине-фиолетовых и

ультрафиолетовых лучей. Опак-иллюминатор может быть съемным или жестко вмонтированным в корпус микроскопа. Съемный opak-иллюминатор является частью люминесцентного устройства ОИ-17. Он устанавливается между тубусом микроскопа (МБИ-1, МБР-1 и др.) и окуляром.

IV. Светофильтры:

1) пропускающие (входные, возбуждающие) фильтры выделяют из возбуждающего света свет определенной длины волны. Их расположение — между источником света и микроскопом.

Входные светофильтры для возбуждения люминесценции ультрафиолетовыми лучами — УФС-3 толщиной 3 и 5 мм, для возбуждения люминесценции сине-фиолетовыми лучами — ФС-1 толщиной 2 и 4 мм, СС-14 или СС-15 толщиной 2 мм, СС-4 (2 мм), СС-8 (2 мм). Последние 2 светофильтра используют вместе.

Вспомогательные входные светофильтры: теплозащитные стекла СЗС-14 и СЗС-7, которые срезают ультрафиолетовую часть спектра стекла БС-8; нейтральный светофильтр из стекла НС-10, молочное стекло МС-13;

2) запирающие (поглощающие) светофильтры поглощают синие лучи, засвечивающие поле зрения микроскопа. Они располагаются между препаратом и глазом исследователя, защищают глаз от действия возбуждающего света. При работе с opak-иллюминатором их надевают на окуляр.

Запирающие светофильтры: ЖС-3 толщиной 2 и 4 мм, ЖС-18 и ЖС-19, тартрациновые светофильтры плотностью 1Н и 2Н.

Входные светофильтры УФС-3 используют с запирающими ЖС-3.

Входные светофильтры из стекол ФС-1 используют с запирающими фильтрами из стекол ЖС-18, ЖС-19 с тартрациновыми.

Реактивы. I. Иммерсионные жидкости. Обязательное условие их применения — они не должны быть источником вторичной люминесценции под воздействием возбуждающего света:

1) нефлюоресцирующие иммерсионные жидкости, прилегающиеся к люминесцентным устройствам и микроскопам;

2) кедровое масло с добавлением перегнанного нитробензола (0,2—0,3 мл нитробензола на 1 мл кедрового масла);

3) анизол;

4) диметилфталат.

Анизол и диметилфталат применяют при зеленой флюоресценции препаратов;

5) глицерин (профильтрованный через активированный уголь);

6) вазелиновое масло;

7) парафиновое масло.

Объективы водной иммерсии с бидистиллированной водой позволяют получать четкое изображение. Увеличение объекта несколько меньше увеличения этого же объекта при масляной иммерсии.

II. Флюорохромы — естественные или синтетические красящие вещества.

Собственная (первичная) люминесценция структурных компонентов клеток крови и тканей незначительна. Поэтому для визуализации их прибегают к специальному флюорохромированию, т. е. введению в клетки красителей, соединение которых с клеточными элементами приводит к образованию оптически активных комплексов. Красители-флюорохромы при этом подбирают таким образом, чтобы

обладающей хорошей избирательной способностью вступать в комплексы с определенными частями клетки, они в то же время не меняли бы существенно обменные процессы, т. е. не имели бы токсичного действия. Это особенно важно для витальных и суправитальных методов исследования клеток и в меньшей степени для фиксированных препаратов.

Большинство флюорохромов — сложные органические соединения. Физико-химические свойства наиболее распространенных флюорохромов приведены в табл. 20.

Таблица 20

МАКСИМУМ СВЕТОВОЙ АБСОРБЦИИ И ДИАПАЗОН ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ НЕКОТОРЫХ ФЛЮОРОХРОМОВ

Флюорохромы	Максимум (длина волн в мμк)		Диапазон люминесценции (длина волн в мμк)	Цвет
	световой абсорбции	люминесценции		
Акридин оранжевый	495	585	530—630	Желто-зеленый
Аурамин	—	—	490—590	Зеленый
Берберин-сульфат (кислый)	350/420	548	420—570	Желто-зеленый
Корифосфин О	458	530	470—660	Зеленый
Эозин	527	580	540—640	Желтый
Эухризин	444	530	470—660	Зеленый
Уранин	490	527	500—600	Желто-зеленый
Родамин В	560	615	550—700	Оранжевый
Риванол	363/414	530	450—640	Зеленый
Трипафлавин	—	—	460—680	Желто-зеленый

МЕТОДЫ ФЛЮОРОХРОМИРОВАНИЯ

Витальный метод

Реактивы. Широко применяемый флюорохром — акридин оранжевый (АО). В концентрациях для вторичной люминесценции обладает минимальной токсичностью. АО избирательно реагирует с нуклеиновыми кислотами (ДНК и РНК) клетки. АО с ДНК соединен по типу внедрения (молекула АО внедрена в пространство между двойными спиралями молекулы ДНК).

Основной водно-солевой раствор АО готовят растворением 100 мг акридина оранжевого в 100 мл дистиллированной или биди-

стиллированной воды. Раствор хранят в пузырьке из темного стекла с корковой или притертой стеклянной пробкой, в темноте. Срок хранения до 1 года.

Рабочий раствор АО готовят 10—100-кратным разбавлением основного раствора физиологическим раствором или раствором Рингера — Локка. Рабочий раствор хранят в холодильнике, используют в течение 3—5 дней.

Раствор Рингера — Локка:	
хлорид натрия	9 г
хлорид калия	0,42 г
хлорид кальция	0,24 г
бикарбонат натрия	0,1 г
глюкоза	1 г
дистиллированная вода	до 1000 мл

Кроме раствора АО, используют следующие смеси:

1. Рабочие водно-солевые растворы:	
акридин оранжевый (1 : 10 000)	0,2 мл
конго красный (1 : 10 000)	0,4 мл
фуксин кислый (1 : 10 000)	2 капли
раствор Рингера — Локка (или физиологический)	2 мл
2. Рабочие водно-солевые растворы:	
акридин оранжевый (1 : 10 000)	0,2 мл
фуксин основной (1 : 10 000)	2 капли
раствор Рингера — Локка (или физиологический)	2 мл

Первую и вторую смеси готовят перед употреблением. Роль флюорохромов в смесях различна: конго красный тушит люминесценцию нормальных ядер и отчетливо выявляет ядра поврежденных клеток. Фуксин основной отчетливо выявляет цитоплазматическую зернистость.

Приготовление препаратов. Способ 1. Раствор флюорохрома или смесь флюорохромов разливаются в видалевские пробирки по 0,4 мл. Затем в эти пробирки прибавляют исследуемую кровь, взятую из пальца, или какой-нибудь другой субстрат в количестве 1—5 делений капилляра от гемометра Сали.

Необходимые условия стандартизации при приготовлении препаратов: 1) контакт флюорохрома (или смеси) с исследуемым материалом не должен превышать 50 минут; 2) смесь флюорохрома с материалом должна находиться в темном месте; 3) температура помещения должна быть 15—20°.

После контакта флюорохрома (или смеси флюорохромов) с исследуемым материалом каплю смеси наносят на предметное стекло и накрывают покровным. Излишек жидкости, выступающий за края, отсасывают фильтровальной бумагой. Во избежание высыхания препарат сохраняют во влажной камере, края стекла иногда парафинируют.

Смешивать кровь и флюорохром в смесителе не рекомендуется, так как это не обеспечивает хорошего смешивания. Кроме того, смесители труднее мыть и сушить, чем видалевские пробирки.

Способ 2. Каплю исследуемого материала на предметном стекле смешивают с каплей рабочего раствора (1 : 10 000, 1 : 50 000 и др.) акридина оранжевого и накрывают покровным стеклом.

Способ 3. На часовом стекле смешивают несколько частей цитратной (гепаринизированной) крови с одной частью рабочего раствора (1 : 10 000, 1 : 50 000). Каплю смеси наносят на предметное стекло и накрывают покровным.

Суправитальный метод

Посуда. Предварительно заготавливают большое количество чистых предметных стекол с нанесенным на них тонким слоем спиртового раствора флюорохромов или их смесей. Используют различные флюорохромы.

Реактивы. 1. Спиртовые растворы акридина оранжевого в разведении 1 : 2500, 1 : 10 000, 1 : 25 000.

2. Спиртовые растворы примулина в разведении 1 : 10 000, 1 : 2500, 1 : 25 000.

3. Спиртовые растворы трипафлавина в разведении 1 : 10 000, 1 : 2500, 1 : 25 000.

4. Смесь спиртовых растворов:

акридин оранжевый (1 : 2500)	0,1 мл
конго красный (1 : 1000)	0,2 мл
фуксин кислый (1 : 1000)	3 капли

Стекла с флюорохромом могут долго сохраняться в темноте. Приготовление препарата. На стекло с флюорохромом (или их смесью) наносят каплю крови, костного мозга или другого исследуемого материала. Делают мазок (как мазок крови), который сразу же помещают во влажную камеру на 5—30 минут. Препарат можно исследовать сразу после приготовления и спустя длительное время. Хранить препараты следует в сухом темном месте.

Фиксированные флюорохромированные препараты

Способ 1. Мазки крови (или других субстратов) фиксируют метиловым спиртом, высушивают на воздухе, заливают на 3—5 минут рабочим водно-солевым раствором акридина оранжевого (разведение от 1 : 1000 до 1 : 50 000).

Способ 2 — метод Берталанффи.

1. Фиксируют мазки крови (или других субстратов) в смеси Никифорова 10—30 минут. Зафиксированы могут быть как свежие мазки, так и мазки, приготовленные несколько месяцев тому назад.

2. Промывают в 3 спиртовых растворах 80, 70 и 50° по 10—12 секунд в каждом.

3. Промывают в дистиллированной воде 1—2 секунды.

4. Промывают мазки в 1% уксусной кислоте в течение 1 минуты.

5. Споласкивают в дистиллированной воде 1—2 секунды.

6. Окрашивают 0,01% раствором акридина оранжевого на фосфатном буфере рН 6,0 в течение 3 минут.

7. Промывают в фосфатном буфере рН 6,0 1 минуту.

8. Погружают в 0,1 М раствор хлорида кальция на 40 секунд — 2 минуты (для дифференцировки ядерных структур от цитоплазматических; ядро при такой окраске становится зеленым).

9. Споласкивают в фосфатном буфере (рН 6,0) 1—3 секунды.
10. Закрывают препарат под покровное стекло, края которого парафинируют.

Препарат может сохраняться во влажной камере несколько часов без парафинирования.

Флюорохромированный мазок может быть обесцвечен в 50° этиловом спирту в течение 5 минут и окрашен любым способом для морфологического исследования.

Из применяемых растворов все, кроме фосфатного буферного, могут быть использованы многократно. Сохраняются в холодильнике до 1½—2 месяцев. Буферный фосфатный раствор с рН 6,0 можно использовать в течение 5—7 дней.

Интерпретация. Флюорохромирование препаратов по способу Бергаламффи позволяет проводить как морфологическое, так и цитохимическое исследование форменных элементов крови и других клеток. Ядра клеток, содержащие ДНК, окрашиваются в зеленый цвет. Цитоплазма клеток, содержащих РНК, окрашивается в оранжево-красный цвет. Специфичность цитохимической окраски акридином оранжевым на ДНК и РНК по способу Бергаламффи подтверждается действием на нуклеиновые кислоты специфических ферментов — дезоксирибонуклеазы и рибонуклеазы. Под влиянием ферментов ДНК и РНК расщепляются, зеленое и красное свечение ядер и цитоплазмы клеток исчезает. Флюорохромирование фиксированных препаратов по первому способу придает одинаковый оранжевый цвет ядру и цитоплазме клеток (в которых есть РНК) и поэтому не позволяет устанавливать распределение ДНК и РНК в клетке.

Выявление липидов в клетках крови и других тканей (метод Берга)

Реактивы. 1. Чистый кофеин (1,5—2 мг) растворяют в 100 мл дистиллированной воды в течение 2 суток до полного насыщения раствора. Нерастворившийся кофеин удаляют фильтрованием.

2. 3,4-бензпирен растворяют в ацетоне (несколько миллиграммов в 10 мл ацетона). Раствор фильтруют.

3. Растворы кофеина и 3,4-бензцирена смешивают в пропорции 1:10. К смеси добавляют равное количество дистиллированной воды, раствор фильтруют.

Ход исследования. 1. Мазок крови (или другого субстрата) флюорохромируют в смеси 3,4-бензпирена и кофеина в течение 1 минуты.

2. Окрашивают в рабочем водно-солевом растворе акридина оранжевого в разведении 1:10 000 в течение 1 минуты.

3. Мазок накрывают покровным стеклом и хранят во влажной камере. Микроскопию следует производить не позже, чем через 30 минут после приготовления препарата.

Интерпретация. Липиды имеют вид ярко-голубых или голубовато-серых капель и точек на фоне розовато-серого или серо-красного цвета цитоплазмы лейкоцитов. Ядра при этом имеют различные зеленые тона.

Оценка количества липидов при работе методом Берга может производиться в соответствии со специально разработанной шкалой.

ЛЮМИНЕСЦЕНТНАЯ МИКРОСКОПИЯ В ГЕМАТОЛОГИИ

КЛЕТКИ КРОВИ И КОСТНОГО МОЗГА ЗДОРОВЫХ ЛИЦ

Витально флюорохромированные акридином оранжевым (АО) препараты

Морфологические особенности форменных элементов периферической крови и костного мозга, характер свечения ядер и цитоплазматической субстанции клеток витально флюорохромированных (АО) препаратов показаны в табл. 21.

Ядра большинства лейкоцитов через 30—50 минут с момента взятия крови светятся ярко-зеленым цветом различных оттенков (у 94—99% ядер лейкоцитов), ядра у 1—6% лейкоцитов (в основном зрелых гранулоцитов) — желтым или зеленовато-желтым цветом. Кроме того, обнаруживается 2—4% лейкоцитов с нарушенной морфологией ядра и цитоплазмы.

Во всех форменных элементах крови и костного мозга акридин оранжевый выявляет цитоплазматическую зернистость, неидентичную зернистости в аналогичных клетках при окраске по Паппенгейму — Крюкову. Способность живой цитоплазмы клеток концентрировать краситель на каких-либо структурах в виде гранул — защитная реакция. В цитоплазме мертвых лейкоцитов при витальном флюорохромировании оранжево-красных гранул нет.

Суправитально флюорохромированные препараты

Данные о вторичной люминесценции форменных элементов крови и костного мозга при окраске различными флюорохромами приведены в табл. 22.

Таблица 21

ФОРМЕННЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ КРОВИ И КОСТНОГО МОЗГА ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ В ВИТАЛЬНО ФЛЮОРОХРОМИРОВАННЫХ ПРЕПАРАТАХ АО

Форменные элементы крови и костного мозга	Ядро	Цитоплазматическая субстанция
Гемоцитобласт	Интенсивно зеленое, единичные нуклеолы, более ярко светящиеся, чем ядро	Оранжево-красные немногочисленные гранулы, беспорядочно-расположенные в цитоплазме
Миелобласт	То же	Свечение цитоплазмы более ярко-зеленое, чем у зрелых форм. По всей цитоплазме разбросаны единичные и сгруппированные оранжево-красные гранулы овальной, округлой и палочковидной формы

Форменные элементы крови и костного мозга	Ядро	Цитоплазматическая субстанция
Промиелоцит	Темно-зеленое, нуклеолы светятся более светло-зеленым цветом	Более темно-зеленая, чем ядро. По цитоплазме разбросана многочисленная мелкая оранжево-красная зернистость, отсутствующая только в вырезке ядра. Сквозь зернистость просвечивает черная или темно-зеленая цитоплазма.
Нейтрофильный гранулоцит	Хроматин светится диффузно, однородным ярко-зеленым цветом. Интенсивность свечения ядер нарастает в ряду миелоцит — сегментоядерный нейтрофил	Тускло-зеленая, местами зеленовато-розовая. По всей цитоплазме разбросана многочисленная оранжево-красная зернистость. По интенсивности и характеру свечения не удается дифференцировать нейтрофильную, эозинофильную и базофильную зернистость
Базофильный гранулоцит	То же	Размер эозинофильной и базофильной зернистости крупнее, чем нейтрофильной
Лимфоцит	Яркость свечения превышает свечение всех ядер форменных элементов периферической крови. Структура ядер дольчато-бугристая, интенсивность свечения отдельных участков ядра различна. Хорошо выявляются контуры оболочки ядер	Диффузно-зеленая или розовато-зеленая. По всей цитоплазме (чаще ближе к ядру и особенно в вырезке его) обнаруживается оранжево-красная зернистость округлой и неправильной формы. Количество гранул 2—6. У широкопротоплазменных лимфоцитов этой зернистости больше, чем у малых лимфоцитов
Моноцит	Зеленое, интенсивность свечения меньше, чем у лимфоцита. Структура ядра складчатая,	Темно-зеленая, значительное количество округлых и удлинённых оранжево-красных гра-

Форменные элементы крови и костного мозга	Ядро	Цитоплазматическая субстанция
Проэритробласт	рельефная, что создается чередованием более темно-зеленых участков со светло-зелеными Зеленое, хроматиновая сеть нежная. Интенсивность свечения слабая. Нуклеолы светятся более ярко-зеленым цветом	нул. В некоторых местах гранулы концентрируются в виде крупных вакуолей Темно-зеленая, содержит многочисленную оранжево-красную зернистость или единичные крупные гранулы
Базофильный эритробласт	Зеленое, интенсивность свечения более высокая, чем у ядра проэритробласта. Хроматиновая сеть грубее	То же
Полихроматофильный эритробласт	Зеленое, более яркое, чем у базофильного эритробласта	На фоне тускло-зеленой цитоплазмы единичные ярко-оранжевые гранулы, иногда зернистость отсутствует
Оксифильный эритробласт	Хроматин ядра имеет вид гомогенной, бесструктурной массы. Свечение ярко-зеленое	Сливается с фоном
Ретикулоцит	Сетчато-нитчатое вещество светится ярко-красным цветом. Строма ретикулоцита не выявляется. Деформация свободно плавающих эритроцитов приводит к тому, что ретикулоциты принимают своеобразную форму «паучков»	
Эритроцит Мегакариоцит	— От нежно-зеленого до более темно-зеленого. Структура хроматина от нежнопетливой до более грубой	Не флюоресцирует От тускло-зеленой до серовато-розовой. В более зрелых клетках оранжевая и красно-оранжевая
Тромбоцит	Гналомер флюоресцирует нежно-зеленым, грануломер — оранжево-красным	—
Плазматическая клетка	Ярко-зеленое, структура хроматина плотная. Свечение разных участков ядра не всегда однородное	Темно-зеленая с различным количеством гранул: от единичных до многочисленных, плотно прилегающих друг к другу

Большинство сегментоядерных нейтрофилов здоровых людей содержит значительное и умеренное количество зернистости, 8—12% клеток имеют незначительную зернистость. Метод суправитального окрашивания в отличие от витального позволяет дифференцировать гранулоциты по видам специфической зернистости и классифицировать клетки так же, как и при окраске паноптическим методом Паппенгейма—Крюкова (табл. 22).

Суправитальное флюорохромирование триафлавином и примулином выявляет, кроме того, лейкоциты патологически измененные, имеющие желтовато-розовую флюоресценцию ядер, тусклую, неравномерно расположенную зернистость цитоплазмы, выходящую за пределы клетки и т. д. Количество их не превышает 2—5%. Таким образом, эти флюорохромы, как и акридин оранжевый, хорошо выявляют функциональную неполноценность лейкоцитов.

Фиксированные препараты, флюорохромированные акридином оранжевым

Данные о вторичной люминесценции форменных элементов крови и костного мозга, обработанных этим методом и методом Бергаланфи, представлены в табл. 23.

В табл. 24 дана полуколичественная оценка (в условных единицах) содержания РНК в элементах крови и костного мозга здоровых людей.

Количество РНК в условных единицах на одну клетку рассчитывают по формуле:

$$\frac{ax + by + cz}{100},$$

где: $a=3$, $b=2$, $c=1$ —условные баллы интенсивности окраски, а именно: a —значительное содержание РНК (+++), b —умеренное содержание РНК (++) , c —незначительное содержание РНК (+);

x , y , z —количество клеток с соответствующей интенсивностью окраски;

100—общее количество подсчитанных клеток.

Этот метод дает возможность получать сравнительные данные (содержание РНК и других цитохимических веществ), несмотря на то, что имеется известная неточность в системе оценки интенсивности окраски.

Подсчет количества форменных элементов крови и костного мозга

- Посуда и оборудование.** 1. Смесители для лейкоцитов.
2. Видалевские пробирки.
3. Счетная камера.
4. Покровные и предметные стекла.

ФОРМЕННЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ КРОВИ И КОСТНОГО МОЗГА ЗДОРОВЫХ ЛЮ

Форменные элементы крови и костного мозга	Флюорохром — акридин оранжевый 1:2 500	
	ядро	цитоплазматическая субстанция
1. Гемогистио-бласт 2. Гемоцитобласт 3. Миелобласт 4. Промиелоцит	Зеленовато-розоватое, зеленовато-желтоватое или зеленое. Структура у 1—крупнопетлистая или неравномернопетчатая, иногда складчатая, у 2 и 3—тонкосетчатая, у 4—такая же, как у предыдущих, но встречаются утолщенные тяжи хроматина. Нуклеолы оранжево-красные, зеленовато-розоватые или более ярко-зеленые, чем хроматин ядра	Многочисленные оранжево-красные гранулы плотно прилегают друг к другу. Выцветание гранул под действием ультрафиолетовых лучей происходит через несколько минут
5. Нейтрофильный гранулоцит	Зеленое. Яркость свечения возрастает в ряду: миелоцит — метамиелоцит, палочкоядерный, сегментоядерный. Структура ядра зависит от степени зрелости. Особенно отчетливый рисунок ядра у палочкоядерного и сегментоядерного нейтрофила	Многочисленные оранжево-красные гранулы разной величины и формы. Они выцветают под действием ультрафиолетовых лучей в течение 1—2 минут. Цитоплазма клеток темно-зеленая, сливающаяся с темным фоном
6. Эозинофильный гранулоцит	Наблюдается то же самое, что и у предыдущего элемента. Рисунок ядра у зрелых эозинофилов менее отчетлив, чем у нейтрофильного гранулоцита	Желто-зеленые, крупные, круглые, хорошо контурируемые гранулы, устойчивые по отношению к ультрафиолетовым лучам. Цвет цитоплазмы не определяется из-за обильной грануляции

Таблица 22

ДЕЙ В СУПРАВИТАЛЬНО ФЛЮОРОХРОМИРОВАННЫХ ПРЕПАРАТАХ

Флюорохром — трипафлавин 1:1 000		Флюорохром — примулин 1:1 000	
ядро	цитоплазматическая субстанция	ядро	цитоплазматическая субстанция
Желтое, гомогенной структуры, нуклеолы не выявляются	Слабо розоватая или розовато-желтоватая	Тускло-зеленое, гомогенной структуры. Нуклеолы не выявляются	Тускло-зеленая
Желтовато-зеленое или зеленовато-желтое, гомогенной структуры	Светло-зеленая с очень мелкими желтовато-зеленоватыми гранулами, быстро выцветающими под действием ультрафиолетовых лучей	Разные оттенки цвета от зеленого до зеленовато-коричневого, гомогенной структуры	Матово-зеленая с многочисленными мелкими ярко-салатного цвета гранулами, быстро тускнеющими в ультрафиолетовых лучах
То же	Светло-зеленая, гранул не выявляется	То же	Многочисленные крупные ярко-изумрудного цвета гранулы, быстро тускнеющие под действием ультрафиолетовых лучей

Форменные элементы крови и костного мозга	Флюорохром — акридин оранжевый 1:2 500	
	ядро	цитоплазматическая субстанция
7. Базофильный гранулоцит	Наблюдается то же самое, что и у предыдущего элемента, но рисунок хроматина ядра сглажен	Темно-красно-оранжевые, темно-коричневые или темные, неравномерные по величине и форме гранулы, устойчивые по отношению к ультрафиолетовым лучам. Цитоплазма желтовато-розовая, темная или темно-зеленая
8. Лимфоцит 9. Моноцит	Зеленое или несколько желтовато-зеленое, у 8 хорошо выявляется глыбчатый рисунок хроматина с включением оранжевых участков различной величины и формы, у 9 — светлые нити хроматина чередуются с более темными, создавая впечатление рельефности, дольчатости	У 8 многочисленные, плотно прилегающие друг к другу оранжево-красные гранулы, заполняющие всю цитоплазму. Реже цитоплазма не содержит гранул (или гранулы единичные) и светится тусклым зеленоватым цветом, у 9 — крупные и мелкие гранулы оранжево-красного цвета, неравномерно расположенные в тускло-зеленой цитоплазме (иногда многочисленная мелкая зернистость оранжевого цвета). Изредка цитоплазма диффузно-розового цвета. Гранулы 8 и 9 выцветают под действием ультрафиолетовых лучей через 1—2 минуты
10. Проэритробласт 11. Эритробласт базофильный 12. Эритробласт поли-	Ярко-зеленое, структура ядра у 10 имеет плотносетчатый рисунок, у 11—13 постепенно становится все более радиальной. Яркость свечения ядра усили-	Цитоплазма у 10 оранжевая или оранжево-красная, у 11 — оранжевая, у 12 — единичные оранжево-красные гранулы на темно-зеленом фоне, у 13 — тем-

Флюорохром — триафлавин 1:1 000		Флюорохром — примулин 1:1 000	
ядро	цитоплазматическая субстанция	ядро	цитоплазматическая субстанция
Желтовато-зеленое или зеленовато-желтое, гомогенной структуры	Оранжевые или красновато-оранжевые, неравномерные по величине и форме гранулы на фоне тускло-зеленой цитоплазмы	Разные оттенки цвета от зеленого до зеленовато-коричневого, гомогенной структуры	Матово-зеленая цитоплазма, крупные неравномерные ярко-зеленые, иногда темные гранулы, тускнеющие под действием ультрафиолетовых лучей
Зеленое, желтое или розоватое, гомогенной структуры		Желтовато-зеленое, гомогенной структуры	Коричневато-желтая или желто-розовая
Ярко-зеленое	Желтоватая или розовато-желтоватая	Зеленое	Зеленая, сливается по цвету с ядром

Форменные элементы крови и костного мозга	Флюорохром — акридин оранжевый 1:2 500	
	ядро	цитоплазматическая субстанция
хроматофильный 13. Эритробласт оксифильный	ваается в ряду проэритробласт — оксифильный эритробласт, яркость последнего самая интенсивная по сравнению со всеми форменными элементами крови и костного мозга. Нуклеола в ядре проэритробласта оранжевого цвета	но-зеленая. Оранжевый цвет цитоплазмы и гранул выцветает под действием ультрафиолетовых лучей через несколько минут
14. Ретикулоцит	Оранжево-красный ретикулум проявляется в виде клубка, глыбок, отдельных мелких зернышек и точек. По отношению к ультрафиолетовым лучам неустойчив	
15. Эритроцит	Четко контурируемое черное или темно-зеленое образование, имеющее просветление в центре	
16. Мегакариоцит	Зеленое или желто-зеленое	Оранжево-красные гранулы в слабо розовой или тускло-зеленой цитоплазме
17. Тромбоцит	Желто-оранжевое на зеленом фоне плазмы	
18. Плазматическая клетка	Зеленое. Структура ядра плотная. В ядре оранжево-красные включения различной формы	На фоне темно-зеленой цитоплазмы многочисленные, плотно прилегающие друг к другу оранжевые, оранжево-желтые гранулы

Продолжение табл. 22

Флюорохром — трипфлавин 1:1 000		Флюорохром — примулин 1:1 000	
ядро	цитоплазматическая субстанция	ядро	цитоплазматическая субстанция
	Ярко-оранжевый ретикулум проявляется в виде клубка, зерен, точек. По отношению к ультрафиолетовым лучам неустойчив		
Желтовато-зеленое	Слабо розовая или желтовато-розовая	Контурится в виде темного образования	Контурится в виде темного образования
	Гомогенная желтовато-зеленоватая	Тускло-зеленое	Тускло-зеленая
		Гомогенное	Матово-зеленая

ФОРМЕННЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ КРОВИ И КОСТНОГО МОЗГА ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ
В ФИКСИРОВАННЫХ И ОКРАШЕННЫХ АКРИДИНОМ ОРАНЖЕВЫМ ПРЕПАРАТАХ

Форменные элементы крови костного мозга	Ядро		Цитоплазматическая субстанция		
	метод Берталанффи	метод фиксированных и окрашенных акридином оранжевым препаратов	метод Берталанффи		метод фиксированных и окрашенных акридином оранжевым препаратов
			цвет свечения	количество РНК	
1. Гемогистиобласт	Желтовато-зеленое. Структура крупнопетлистая. Нуклеолы оранжевые, зеленовато-розовые	Оранжевое, интенсивно светящиеся, оранжево-красные ядрышки	Красно-оранжевый	++	Гомогенная оранжевая цитоплазма без зернистости
2. Гемоцитобласт	Желтовато-зеленоватое или зеленое		Красно-оранжевый		То же
3. Миелобласт	Структура тонкосетчатая. Нуклеолы оранжевые, нечетко ограниченные			+++ или ++	
4. Промиелоцит	Желтовато-зеленоватое или зеленое. В тонкосетчатой структуре хроматина встречаются утолщенные тяжи хроматина, компактные гомогенные включения. Нуклеолы такие же, как у предыдущих клеток	Оранжевое, могут быть оранжево-красные ядрышки	Красно-оранжевый	+++ или ++	Оранжевая с большим или меньшим количеством зеленой зернистости

Продолжение табл. 23

Форменные элементы крови и костного мозга	Ядро		Цитоплазматическая субстанция		
	метод Берталанффи	метод фиксированных и окрашенных акридином оранжевым препаратов	метод Берталанффи		метод фиксированных и окрашенных акридином оранжевым препаратов
			цвет свечения	количество РНК	
Нейтрофильный ряд	5. Миелоцит		Оранжевый	+ или ++	Оранжевая с обильной ярко-зеленой зернистостью
	Метамиелоцит		Тускло-оранжевый	Следы	
	Палочкоядерный		Розовато-зеленый или зеленый	0	
Эозинофильный ряд	Сегментоядерный	Зеленое. Яркость свечения возрастает в ряду миелоцит — сегментоядерный.	Темно-зеленый	0	
	6. Миелоцит	Структура ядер в этом ряду становится все более гомогенной	Оранжевый	+ или ++	Оранжевая с крупной равномерно расположенной темно-зеленой зернистостью
	Метамиелоцит		Тускло-оранжевый	Следы	
	Палочкоядерный		Розовато-зеленый или зеленый	0	
Сегментоядерный		Темно-зеленый	0		

Форменные элементы крови и костного мозга	Ядро		Цитоплазматическая субстанция		
	метод Берталандфи	метод фиксированных и окрашенных акридином оранжевым препаратов	метод Берталандфи		метод фиксированных и окрашенных акридином оранжевым препаратов
			цвет свечения	количество РНК	
Базофильный ряд 7. Миелоцит Метамиелоцит Палочкоядерный Сегментоядерный 8. Пролимфоцит	Зеленое или желтовато-зеленое. Структура зерна более равномерная, чем у лимфоцита. Компактные гомогенные включения, обладающие более ярко-зеленым свечением. По всей поверхности ядра оранжевые включения различной величины и формы		Оранжевый	+ или ++	Оранжевая с неравномерно расположенной темно-зеленой зернистостью
Тускло-оранжевый			Следы		
			Розовато-зеленый или зеленый	0	
			Темно-зеленый	0	

Форменные элементы крови и костного мозга	Ядро		Цитоплазматическая субстанция		
	метод Берталандфи	метод фиксированных и окрашенных акридином оранжевым препаратов	метод Берталандфи		метод фиксированных и окрашенных акридином оранжевым препаратов
			цвет свечения	количество РНК	
9. Лимфоцит	Зеленое. Рисунок хроматина глыбчатый с оранжевыми включениями различной формы и величины	Оранжевое	Оранжевый	++ или +	Оранжевая, отделена от ядра узким темным контуром. Зернистость не выявляется
10. Моноцит	Более густого зеленого цвета, чем у лимфоцита. Хроматин имеет рельефную структуру, благодаря чему свечение различных участков отличается неоднородностью	Грубое оранжевое, неравномерно окрашенное	Оранжево-коричневый	+ или ++	Тускло-зеленая цитоплазма с обильными мелкими тускло-оранжевыми включениями
11. Прозритробласт	Ярко-зеленое. Структура ядра имеет плотносетчатый рисунок	У 11, 12, 13 — оранжевое, в ядре 12 — интенсивно светящееся оранжево-красное ядрышко	Красный	+++	У 11, 12, 13 — оранжевые тона

Форменные элементы крови и костного мозга	Ядро		Цитоплазматическая субстанция		
	метод Берталанффи	метод фиксированных и окрашенных акридином оранжевым препаратов	метод Берталанффи		метод фиксированных и окрашенных акридином оранжевым препаратов
			цвет свечения	количество РНК	
12. Базофильный эритробласт 13. Полихроматофильный эритробласт 14. Оксифильный эритробласт 15. Ретикулоцит	Оранжевое ядрышко. У 12—14 структура ядра становится все более радиальной, у 14—приобретает однородность. Яркость свечения усиливается в ряду 11—14 У 14 ядро ярко-зеленое с желтоватым оттенком	Дифференциация базофильных и полихроматофильных эритробластов возможна в известной степени только по их структурным особенностям, у 14—оранжевое однородное ядро	Оранжевый Тускло-оранжевый или свечения нет Темно-оранжевый	+++ или ++ Следы или 0 Следы	У 14—темно-зеленая (как у эритроцитов) Сетчато-нитчатое вещество в фиксированных мазках выявляется с трудом в виде мелких зернышек с тускло-красным свечением

Форменные элементы крови и костного мозга	Ядро		Цитоплазматическая субстанция		
	метод Берталанффи	метод фиксированных и окрашенных акридином оранжевым препаратов	метод Берталанффи		метод фиксированных и окрашенных акридином оранжевым препаратов
			цвет свечения	количество РНК	
16. Эритроцит			Свечения нет	0	Четко контурируемое черное или темно-зеленое образование с просветлением в центре на зеленом фоне плазмы
17. Мегакариоцит	Зеленое или желто-зеленое, неоднородное по свечению и структуре отдельных участков	Оранжевое	Коричневато-зеленый или зеленовато-оранжевый	от 0 до ++	Светло-зеленая, желтая, часто оранжево-желтая
18. Тромбоцит 19. Плазматическая клетка	Желто-оранжевые образования на зеленом фоне плазмы Желто-зеленое. Структура хроматина плотная, свечение отдельных участков ядра неодинаково по интенсивности. Встречаются небольшие оранжево-красные включения	Оранжевое	Яркое оранжево-красное свечение	+++	Оранжевая

Таблица 24

СОДЕРЖАНИЕ РИБОНУКЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ В КЛЕТКАХ
КРОВИ И КОСТНОГО МОЗГА ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ
(СРЕДНИЕ ВЕЛИЧИНЫ СОДЕРЖАНИЯ РНК В УСЛОВНЫХ ЕДИНИЦАХ
НА ОДНУ КЛЕТКУ; МЕТОД БЕРТАЛАНФФИ)

Название клетки крови (костного мозга)								
незрелая клетка (ретиккуляр- ная, гемоци- тобласт)	миелоцит	сегментоядерный гранулоцит	проэритробласт	базофильный эритробласт	полихромато- фильный эри- тробласт	оксифильный эритробласт	лимфоцит	моноцит
2,2	1,0	0	2,9	2,8	1,4	0	1,5	1,0

Подсчет лейкоцитов в камере с флюоресцирующей сеткой

Кровь набирают в смеситель до метки 0,5 и разводят раство-
ром акридина оранжевого 1:10 000 (1:20 000) до метки 11.
Раствор акридина оранжевого разливают в видалевские пробирки по
0,4 мл. Кровь исследуемого набирают до метки в капилляр от гемо-
метра Сали и вносят в видалевскую пробирку.

Подсчет количества лейкоцитов производят обычным способом.

Подсчет количества лейкоцитов по полям зрения

Кровь берут, как в первом случае. Подсчет лейкоцитов произво-
дят с окуляром 15 и объективом 8. Заранее для данного увеличения
вычисляют площадь поля зрения. Если диаметр поля зрения равен
0,8 мм, то площадь поля зрения равна $3,14 \times 0,4^2 = 0,5 \text{ мм}^2 (\pi r^2)$.
Количество лейкоцитов рассчитывают по формуле

$$\frac{a \cdot b \cdot 10}{v \cdot z}$$

где:

a — количество подсчитанных клеток;

b — разведение в меланжере или видалевской пробирке;

v — количество подсчитанных полей зрения;

z — площадь одного поля зрения.

Умножение на 10 производят ввиду того, что высота камеры
равна 0,1 мм. Практически количество подсчитанных лейкоцитов
умножают на соответствующий коэффициент. Точность увеличи-
вается при подсчете большего количества полей зрения.

Подсчет клеток пунктата костного мозга производят аналогично.

Подсчет кровяных пластинок

1. Жидкие препараты

Для взятия крови из пальца пользуются 14% раствором сульфата магнесии ($MgSO_4$) или 2% раствором буры, см. «Счет кровяных пластинок».

Небольшую каплю крови смешивают на предметном стекле с каплей раствора акридина оранжевого 1:10 000 (или 1:5000). Смесь накрывают покровным стеклом. Жидкость не должна выходить за пределы покровного стекла. Не следует отсасывать избыток смеси фильтровальной бумагой, так как счет тромбоцитов будет неверным. Подсчет производят с иммерсионным объективом по полям зрения. Количество эритроцитов в тех же полях зрения подсчитывают при обычном освещении.

2. Суправитально флюорохромированные акридином оранжевым препараты. Способ приготовления препаратов описан выше.

Счет тромбоцитов производят при иммерсионном объективе по полям зрения на 1000 эритроцитов. Эритроциты имеют темно-зеленые очертания, легко сосчитываются в поле зрения.

3. Фиксированные флюорохромированные акридином оранжевым препараты. Способ 1. Мазки крови фиксируют 3—4 минуты метиловым спиртом и флюорохромируют основным раствором акридина оранжевого (1:1000). Подсчет тромбоцитов производят с иммерсионным объективом по полям зрения на 1000 эритроцитов.

Способ 2. Окраска тромбоцитов и эритроцитов водным раствором спиртового экстракта датиски коноплевой по методу Зубжинского.

Реактивы. 1. Сухие корни растения датиски коноплевой.

2. Этиловый спирт 75°.

Приготовление краски. Одну весовую часть сухих корней растения датиски коноплевой заливают 10 частями 75° этилового спирта. Экстракцию производят в течение 5 дней. Настойку фильтруют и хранят в темном сосуде (основной раствор).

Рабочий раствор готовят разведением 1 части основного раствора в 10 частях дистиллированной воды нейтральной реакции. Рабочий раствор может храниться в темноте в течение одного месяца.

Ход окраски. 1. Фиксируют мазки метиловым спиртом.

2. Окрашивают рабочим раствором флюорохромирования.

3. Промывают дистиллированной водой.

Эритроциты светятся желто-золотистым, кровяные пластинки ярко-зеленым цветом.

Исследование эритроцитов

Эритроциты здорового человека при витальном флюорохромировании АО не флюоресцируют. Подсчет их может быть произведен при совмещении люминесцентной микроскопии со светлопольной, темнопольной или фазово-контрастной.

Эритроциты выявляются при суправитальном флюорохромировании и при флюорохромировании АО фиксированных препаратов.

В мазках крови и костного мозга, окрашенных по методу Берга (для выявления липидов), эритроциты выявляются в виде темных образований, окаймленных голубыми точками. В фиксированных маз-

ках, окрашенных водным раствором спиртового экстракта датиски коноплевой, эритроциты светятся желто-золотистым цветом.

Флюоресциты — эритроциты, обладающие первичной красной флюоресценцией, которая обусловлена присутствием в них порфиринов. В крови здорового человека флюоресциты составляют 0,1—1% эритроцитов.

Подсчет флюоресцитов

Способ 1. Небольшую каплю крови наносят на предметное стекло и накрывают покровным. Жидкость не должна выступать за пределы его. Подсчитывают флюоресциты с иммерсионным объективом на 1000 эритроцитов. Иммерсионный объектив фокусируют на препарат с помощью дополнительного освещения от обычного источника света (под действием ультрафиолетовых или синих лучей флюоресциты быстро угасают).

Способ 2. Каплю крови смешивают на покровном стекле с каплей АО 1:10 000, 1:20 000. Смесь накрывают покровным стеклом и исследуют, как в первом случае.

При обоих способах флюоресцирующие эритроциты определяют по яркому рубиново-красному свечению, длящемуся 8—12 секунд (иногда дольше), затем они гаснут. Подсчет флюоресцитов производят на 1000 эритроцитов (последние определяются подсвечиванием поля зрения обычным источником света).

Интерпретация. Выявление флюоресцитов имеет диагностический и прогностический интерес. Появление их в большом количестве свидетельствует о нарушении процесса гемоглобинообразования. При некоторых анемиях (железодефицитные, свинцовое отравление) количество флюоресцитов составляет 10% и более.

Подсчет ретикулоцитов

Витально флюорохромированные АО препараты

Реактив. 3,8% раствор цитрата натрия.

Способ 1. Кровь из пальца смешивают в пробирке с изотоническим (3,8%) раствором цитрата натрия в соотношении 4:1. В пробирку прибавляют равное количество рабочего раствора АО в разведении 1:10 000. После тщательного смешивания капельку смеси наносят на предметное стекло, накрывают покровным.

Способ 2. Каплю крови из пальца смешивают на предметном стекле с каплей рабочего раствора АО 1:10 000, накрывают покровным.

Способ 3. Кровь из пальца набирают в смеситель для лейкоцитов до метки I, затем до метки II рабочий раствор АО в разведении 1:5000. Содержимое смесителя перемешивают в течение 2 минут. После этого каплю смеси наносят на предметное стекло, накрывают покровным.

При всех 3 способах приготовления препаратов жидкость не должна выходить за пределы покровного стекла.

В приготовленных препаратах различают: 1) оксифильные ретикулоциты — ретикулоциты, имеющие темную, сливающуюся с фоном строму; 2) полихроматофильные ретикулоциты — ретикулоциты с тускло-зеленым свечением стромы; 3) полихроматофилы — эритроциты, имеющие тускло-зеленое свечение.

Суправитально флюорохромированные АО препараты

Способ приготовления препаратов см. выше.

Сетчато-нитчатое вещество флюоресцирует ярким красно-оранжевым свечением. Эритроциты имеют темно-зеленые очертания, легко поддающиеся счету по полям зрения.

Полихроматофильные ретикулоциты и полихроматофилы при этом способе не выявляются.

Тромбоциты имеют желто-оранжевое свечение и могут быть подсчитаны одновременно с ретикулоцитами.

Подсчет ретикулоцитов в фиксированных флюорохромированных АО мазках крови не производят, так как сетчато-нитчатое вещество выявляется нечетко. Полихроматофилы имеют оранжево-коричневое свечение.

Подсчет ретикулоцитов в люминесцентном микроскопе по сравнению с обычным более точен: обнаруживаются мельчайшие зерна сетчато-нитчатого вещества.

При суправитальном флюорохромировании яркость и четкость выявления структуры сетчато-нитчатого вещества дает возможность дифференцировать ретикулоциты по степени зрелости: форма клубка, полносетчатые, неполносетчатые и остаточные (классификация Гейлмейера).

При витальном флюорохромировании АО крови выявляют 2 разновидности ретикулоцитов: оксифильные и полихроматофильные, а также полихроматофилы. Другие методы окраски ретикулоцитов позволяют обнаружить только оксифильные ретикулоциты.

Интерпретация. У здоровых лиц ретикулоциты представлены только оксифильными формами.

При увеличении абсолютного числа ретикулоцитов преобладание полихроматофилов и полихроматофильных ретикулоцитов свидетельствует о резком усилении интенсивности регенерации красной крови, что наблюдается при постгеморрагических, гемолитических и других формах малокровия. Уменьшенное количество ретикулоцитов с преобладанием полихроматофилов и полихроматофильных ретикулоцитов сигнализирует об истощении резервов эритропоэза.

Базофильно-зернистые эритроциты при витальном флюорохромировании АО, как и при флюорохромировании фиксированных препаратов, выявляются в виде включений желтовато-зеленых тонов. Различают 4 вида эритроцитов с базофильной пунктацией: 1) эритроциты с базофильной пунктацией; 2) полихроматофилы с базофильной пунктацией; 3) оксифильные ретикулоциты с базофильной пунктацией; 4) полихроматофильные ретикулоциты с базофильной пунктацией.

При незначительной степени хронического свинцового отравления наибольшее количество элементов с базофильной пунктацией составляют базофильно-пунктированные эритроциты. Остальные виды элементов с базофильной зернистостью содержатся в небольшом количестве.

При витальном флюорохромировании АО тельца Жолли представляют собой шаровидные ярко-зеленые включения, кольца Кебота — тонкие кольцевидные образования зеленого цвета. Для лучшей видимости этих образований целесообразно пользоваться дополнительным подсвечиванием от обычного источника освещения. При этом выявляется строма эритроцитов.

При суправитальном флюорохромировании АО и флюорохромировании АО фиксированных препаратов кольца Кебота и тельца Жолли светятся красным. При флюорохромировании по способу Бер-таланффи эти образования имеют зеленое свечение.

Определение осмотической стойкости лейкоцитов

Посуда и оборудование. См. «Подсчет форменных элементов».

Реактивы. 1. 0,2% раствор хлорида натрия.

2. Рабочий раствор акридина оранжевого в разведении 1 : 20 000.

Ход определения. В пробирку, содержащую 1 мл 0,2% раствора хлорида натрия, прибавляют 0,4 мм³ крови, взятой из пальца, и оставляют на 2 часа при комнатной температуре. Затем сливают верхний слой раствора. Каплю осевшей на дно жидкости, содержащей форменные элементы крови, смешивают с каплей раствора АО в разведении 1 : 20 000. После приготовления препарата его исследуют при иммерсионном увеличении.

Результаты исследования осмотической резистентности лейкоцитов выражаются лейкоцитарной формулой с учетом сохранившихся, измененных и разрушенных клеток.

Изменения лейкоцитов в гипотоническом растворе проявляются увеличением размеров клеток, цитоцитозом, вакуолизацией цитоплазмы, сливанием отдельных красно-оранжевых гранул в один конгломерат. Ядра лейкоцитов гомогенизируются, увеличиваются в размере, нередко выходят за пределы цитоплазмы. Начальной фазой нарушения являются изменения в цитоплазме, в дальнейшем присоединяются изменения в ядре.

В крови здоровых лиц обнаруживается меньшая резистентность гранулоцитов по сравнению с лимфоцитами.

Исследование длительности хранения лейкоцитов в лейкоцитарной массе

Этим методом определяют годность лейкоцитарной массы для переливания больным, а также судьбу лейкоцитов, перелитых экспериментальным животным.

Реактив. Основной раствор акридина оранжевого в разведении 1 : 1000.

Ход определения. С п о с о б 1. На предметном стекле каплю лейкоцитарной массы смешивают с каплей раствора АО 1 : 1000. Препарат накрывают покровным стеклом и сразу же рассматривают с водной или масляной иммерсией.

Ядра жизнеспособных лейкоцитов светятся зеленым цветом, ядра лейкоцитов с начальными патологическими признаками — желтым, нежизнеспособные лейкоциты флюоресцируют красным цветом. Ответ дают на основании подсчета 100 лейкоцитов. Количество лейкоцитов с зелеными, желтыми и красными ядрами выражают в процентах.

С п о с о б 2. Исследование жизнеспособности лейкоцитов в лейкоцитарной массе может производиться с помощью определения осмотической стойкости лейкоцитов.

КАРТИНА КРОВИ И КОСТНОГО МОЗГА ПРИ НЕКОТОРЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ КРОВЕТВОРНОГО АППАРАТА

При некоторых заболеваниях системы крови люминесцентная картина крови и костного мозга может быть достаточно характерной.

Острый лейкоз

Витально флюорохромированные АО препараты. Ядра ретикулярных клеток и гемоцитобластов имеют темно-зеленое свечение, нуклеолы флюоресцируют ярко-зеленым. Цитоплазма тускло-зеленая с наличием или отсутствием оранжево-красных гранул.

Суправитально флюорохромированные АО препараты. Ядра незрелых клеток нежной структуры, зеленовато-желтые или оранжево-желтоватые с яркими оранжевыми включениями. В цитоплазме многочисленная оранжевая зернистость.

Сегментоядерные нейтрофилы, как правило, не содержат зернистости или содержат очень небольшое количество желтовато-розовых гранул.

Флюорохромированные препараты по Бергаланффи. Ядра незрелых клеток нежносетчатого строения светятся зеленовато-желтоватым или зеленовато-оранжевым цветом. Такой цвет ядер объясняется многочисленными включениями оранжево-красного цвета различной формы и величины. Цитоплазма клеток чаще всего флюоресцирует ярко-оранжевым или ярко-красным цветом.

У больных острым лейкозом выявляются оксифильные и полихроматофильные ретикулоциты, полихроматофилы. У больных эритролейкозом полихроматофилы и полихроматофильные ретикулоциты преобладают над оксифильными ретикулоцитами.

Хронический лимфолейкоз

Витально флюорохромированные АО препараты. Лимфоциты имеют ярко-зеленую люминесценцию ядер. Структура хроматина ядер глыбчатая. Лимфобласты имеют нежную структуру ядер с четко контурируемыми нуклеолами, светящимися более интенсивно. В цитоплазме лимфоидных элементов обнаруживается различное количество оранжевых гранул, как правило, округлой формы.

Суправитально флюорохромированные АО препараты. Лимфоциты имеют характерную грубую структуру ядер, светящихся ярко-зеленым цветом и имеющих оранжевые включения.

Ядра лимфобластов имеют более нежное строение хроматина, больше оранжевых включений. В цитоплазме лимфоидных элементов многочисленная зернистость оранжевого цвета.

Сегментоядерные нейтрофилы отличаются хорошо выраженной оранжевой зернистостью.

Флюорохромированные препараты по Бергаланффи. Ядра лимфоцитов флюоресцируют ярко-зеленым цветом, имеют оранжевые включения. Хорошо выявляется глыбчатая структура ядер. Ядра лимфобластов имеют зеленовато-желтоватый оттенок. Структура хроматина более грубая, чем структура гемоцитобласта. Цитоплазма лимфобласта светится оранжевым цветом. Степень интенсивности свече-

ния умеренная или значительная. Цитоплазма лимфоцита светится оранжевым цветом большей или меньшей интенсивности.

В начальном периоде лимфолейкоза преобладают оксифильные ретикулоциты. В период обострения встречается много полихроматофильных ретикулоцитов и полихроматофилов.

Миеломная болезнь

Витально флюорохромированные АО препараты. В препаратах костного мозга обращают на себя внимание одно-, двух-, иногда многоядерные миеломные и плазматические клетки.

Ядра плазматических клеток ярко-зеленые, не всегда однородные по свечению, структура ядерного хроматина плотная. Ядра миеломных клеток светятся более спокойным зеленым цветом. Отчетливо контурируются ядрышки, флюоресцирующие ярко-зеленым.

В темно-зеленой цитоплазме плазматических и миеломных клеток может быть различное количество оранжевых гранул: от единичных до многочисленных, плотно прилегающих друг к другу.

Суправитально флюорохромированные АО препараты. Ядра плазматических и миеломных клеток зеленые с различным количеством оранжевых включений (большим в миеломных). В цитоплазме значительное или умеренное количество плотно прилегающих друг к другу оранжево-красных гранул.

Флюорохромированные препараты по Берталанфи. Ядра плазматических клеток имеют грубую структуру, светятся желто-зеленым цветом, содержат небольшие оранжево-красные включения. Структура ядер миеломных клеток однородная, более нежная, чем структура плазматических клеток. Хроматин ядер миеломных клеток пронизан многочисленными оранжевыми включениями различной величины и формы.

Цитоплазма всех клеток плазматического ряда имеет яркое оранжево-красное свечение.

Анемии

Витально флюорохромированные АО препараты. При железодефицитных анемиях, сатурнизме встречаются флюоресциты.

В зависимости от состояния больных и стадии развития процесса соотношение между полихроматофилами, полихроматофильными ретикулоцитами и оксифильными ретикулоцитами изменяется. Начало ремиссии характеризуется исчезновением полихроматофильных форм. Преобладание полихроматофильных ретикулоцитов и уменьшение оксифильных характеризуют недостаточную компенсаторную возможность эритропоэза костного мозга. Исследование ретикулоцитов в витально флюорохромированных препаратах имеет не только диагностическое, но и прогностическое значение.

При приобретенной гемолитической анемии содержание полихроматофильных форм обычно значительное. То же самое наблюдается при постгеморрагических анемиях.

При анемии, сопровождающей развитие злокачественной опухоли, преобладают полихроматофилы и полихроматофильные ретикулоциты.

ЛЮМИНЕСЦЕНТНАЯ МИКРОСКОПИЯ В ИММУНОГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Аутоиммунные антитела могут вырабатываться к эритроцитам, лейкоцитам и тромбоцитам. Известны иммунные анемии, лейкопении и тромбоцитопении. Метод люминесцентной микроскопии может быть использован для оценки реакции лейкоагглютинации и тромбоагглютинации.

Ход исследования. К капле исследуемой взвеси лейкоцитов на предметном стекле прибавляют каплю рабочего раствора АО в разведении 1 : 20 000.

Агглютинацию лейкоцитов и тромбоцитов обнаруживают при малом увеличении, дифференциацию видов лейкоцитов — при большом увеличении.

При оценке лейко- и тромбоагглютинации люминесцентным методом удается дифференцировать лейкоциты и тромбоциты от эритроцитов без предварительного разрушения их уксусной кислотой.

ЛЮМИНЕСЦЕНТНАЯ МИКРОСКОПИЯ В ДИАГНОСТИКЕ НЕКОТОРЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Дифференциальная диагностика механической и инфекционной желтух (по Ю. Н. Зубжицкому)

Реактивы. 1. 0,25% раствор хлорида натрия.

2. Основной раствор АО (разведение 1 : 1000).

Рабочий раствор АО готовят разведением основного раствора АО (1 : 1000) 0,25% раствором хлорида натрия в 10 раз.

Ход определения. Рабочий раствор АО в разведении 1 : 10 000 набирают в смеситель до метки 1 и втягивают в расширение смесителя. Туда же до метки 0,5 набирают цитратную кровь и смешивают с флюорохромом в течение 1 минуты. Каплю смеси наносят на предметное стекло и накрывают покровным с небольшим механическим давлением.

Далее производят подсчет нормальных, измененных и разрушенных клеток в процентах. При желтухе механического происхождения разрушенных лейкоцитов гораздо больше, чем нормальных. У здоровых людей и у больных эпидемическим гепатитом лейкоциты устойчивы к такому воздействию.

Очевидно, повышенная чувствительность лейкоцитов к совместному действию 3 факторов — гипотонии внешней среды, флюорохрома и давления (покровным стеклом) — связана с влиянием желчи на оболочку лейкоцитов больных механической желтухой.

Исследование феномена клеток красной волчанки (LE-клеток)

Метод витального флюорохромирования АО крови см. выше.

Клетки LE имеют несколько большую величину по сравнению с нормальными лейкоцитами. Гомогенное включение флюоресцирует зеленым цветом, оттесняет ядро к периферии. Интенсивность свечения включений LE-клеток различна. Иногда оно более интенсивно, иногда такое же, как ядер сегментоядерных лейкоцитов.

Суправитальное флюорохромирование АО препаратов

Цитратную кровь больных красной волчанкой инкубируют при комнатной температуре в течение 2 часов. Каплю крови наносят на покровное стекло, которое накладывают на предметное стекло с предварительно нанесенным на него тонким слоем спиртового раствора АО в разведении 1 : 2500.

Тела LE-клеток имеют гомогенную структуру, флюоресцируют светло-зеленым цветом.

Ядра лейкоцитов светятся более темно-зеленым цветом, некоторые ядра лейкоцитов бесцветны.

Флюорохромирование фиксированных препаратов крови (метод Уигнол, Каллинг и Вессар, 1961)

Реактивы. 1. Реактив Шиффа. 1 г двухлористого акрифлавина смешивают с 2 г метабисульфита калия, растворяют в 200 мл дистиллированной воды и прибавляют 20 мл 1 N раствора соляной кислоты.

2. Метиловый спирт.

3. 1 N раствор соляной кислоты.

4. 1% раствор кислого алкоголя.

5. Абсолютный спирт.

6. Ксилол.

7. Синтетическая резина.

Ход определения. 1. Мазок фиксируют в метиловом спирту 2 минуты.

2. Помещают в 1 N раствор соляной кислоты при 60° на 3 минуты.

3. Промывают водой.

4. Погружают в реактив Шиффа на 20 минут.

5. Промывают в 2 порциях 1% кислого алкоголя (в первой 5 минут, во второй 10 минут).

6. Промывают в абсолютном алкоголе несколько раз.

7. Просветляют ксилолом.

8. Заключают в синтетическую резину.

LE-включение флюоресцирует светло-желтым цветом на темном фоне, ДНК ядер — ярко-желтым цветом.

Люминесцентная микроскопия мочи

У здоровых людей наблюдается первичная флюоресценция мочи от светло-голубого до ярко-голубого, иногда до фиолетового цвета.

У больных экземой, порфириновой болезнью, вирусным гепатитом и др. флюоресценция мочи может быть ценным диагностическим тестом.

У больных вирусным гепатитом выявление желтой флюоресценции мочи происходит раньше, чем выделяются желчные пигменты и возникают объективные признаки болезни Боткина. Метод люминесцентного исследования мочи способствует выявлению не только явных, но и бессимптомных форм болезни Боткина.

У больных с заболеваниями кожи аллергического характера моча флюоресцирует зеленым цветом.

У больных с заболеваниями кожи, связанными с нарушением порфиринового обмена, моча светится розово-красным цветом различной степени интенсивности.

Люминесценция мочи при злокачественных опухолях
(по С. И. Василову, Г. М. Акману, А. К. Табаторовичу, 1960)

Ход определения. Мочу дважды центрифугируют, разливают в пробирки по 10 мл в каждую. Изменение интенсивности люминесценции мочи производят в диапазонах длин волн: 400—440, 440—480, 480—520, 520—540 мкм.

Максимум спектра флюоресценции мочи здоровых людей приходится на диапазон 440—480 мкм.

У больных со злокачественными новообразованиями в спектре свечения мочи отмечается два и более максимумов, максимумы флюоресценции мочи приходятся на длины волн в пределах 440—520 мкм.

Выявление трихомонад
(по А. Б. Деражне, 1961)

Реактивы. 1. Основной раствор АО 1 : 1000.

2. Рабочий раствор АО разведение 1 : 40 000 на фосфатном буфере рН 7,0.

Ход определения. На край чистого предметного стекла наносят исследуемый материал, делают тонкий мазок, высушивают. Хранить препарат можно в сухом темном месте длительное время. Перед исследованием на мазок наносят несколько капель рабочего раствора АО. На препарат накладывают покровное стекло, избыток краски отсасывают фильтровальной бумагой, исследуют.

Трихомонады меньше клеток плоского эпителия и больше лейкоцитов. Ядро вытянутое, овальной формы, светится зеленым или желто-оранжевым цветом. Цитоплазма кирпично-красная, иногда желто-коричневая. Люминесцентная микроскопия трихомонад позволяет обнаружить их чаще, чем при обычных методах цитологического исследования.

Выявление возбудителя туберкулеза

Метод люминесцентной микроскопии высокочувствителен для выявления туберкулезных микобактерий, так как позволяет обнаружить не только единичные экземпляры, но и туберкулезных микобактерий, которые под действием антибиотиков перестают окрашиваться обычными красителями. Люминесцентным методом без предварительной флотации выявляется на 17%, а с применением флотации на 26% больше находок туберкулезных микобактерий, чем окраской по Цилю—Нильсену.

Реактивы. 1. Раствор аурамина 00 (первая пропись). 0,1 г аурамина 00 растворяют в 100 мл дистиллированной воды. Для растворения аурамина без осадка раствор ставят в термостат на несколько часов при температуре 37°. К 100 мл раствора аурамина добавляется 0,5 мл 5% раствора карболовой кислоты. Раствор аурамина при добавлении карболовой кислоты не должен давать хлопьев.

2. Раствор аурамина 00 (вторая пропись). 0,1 г аурамина 00 растворяют в 85 мл дистиллированной воды. В приготовленный раствор добавляют 10 мл 2% раствора хлорида магния ($MgCl_2$) на дистиллированной воде и 5 мл жидкого фенола.

3. Раствор «тушителя». Для работы на первой прописи: 1 г кислого фуксина растворяется в 390 мл дистиллированной воды. В полученный раствор добавляют 10 мл ледяной уксусной кислоты. Для работы по второй прописи: 0,1 г тиазинового красного растворяют в 85 мл дистиллированной воды, к этому раствору приливают 10 мл 2% раствора хлорида магния и 5 мл жидкого фенола.

4. Солянокислый спирт. Реактив одинаков для обеих прописей. К 90 мл 96° спирта приливают 4 мл концентрированной соляной кислоты, всыпают 4 г химически чистого хлорида натрия, доливают дистиллированную воду до метки 100 (значительное количество соли остается в осадке).

5. Фиксатор Никифорова см. «Кровь».

Все реактивы необходимо хранить во флаконах с притертыми пробками или резиновыми пробками, покрытыми фольгой. Растворы аурамина 00 и тиазинового красного хранят во флаконах из темного стекла.

Ход определения. 1. Мазки из исследуемого материала (гноя, экссудат, спинномозговая жидкость, мокрота) готовят на чистых предметных стеклах.

2. Высушивают и фиксируют в смеси Никифорова в течение 10 минут.

3. Окрашивают раствором аурамина 00 по первой или второй прописи окраски (табл. 25).

Таблица 25

СХЕМА ОКРАСКИ ТУБЕРКУЛЕЗНЫХ МИКОБАКТЕРИЙ ЛЮМИНЕСЦИРУЮЩИМИ КРАСИТЕЛЯМИ (по Ю. П. ЗУБЖИЦКОМУ)

Первая пропись (Hagemann, 1938)	Вторая пропись (Degommier, 1957)
Окраска аураминол 00 15 минут	Окраска аураминол 00 в смеси с хлоридом магния 20 минут
Промывание водой	Промывание водой
Дифференциация солянокислым спиртом 5 минут	Дифференциация солянокислым спиртом 5 минут
Промывание водой	Промывание водой
Обработка раствором «тушителя» (кислый фуксин с ледяной уксусной кислотой) 2 минуты	Обработка раствором «тушителя» (тиазинорый красный в смеси с хлоридом магния) 2 минуты
	Дифференциация солянокислым спиртом 3 минуты
Промывание водой	Промывание водой

4. Промывают дистиллированной водой.

5. Заливают сверху солянокислым спиртом для обесцвечивания.

6. Промывают водопроводной водой и докрашивают «тушителем», который уменьшает свечение всех форменных элементов, слизи и со-

здает высокий контраст между светящимися туберкулезными палочками и темным фоном.

7. Тщательно промывают водой, сушат на воздухе (первая пропись) и микроскопируют.

Макроскопически препараты имеют красно-малиновую окраску. Микроскопически при первом способе окраски фон поля темный, микобактерии туберкулеза золотисто-зеленые, при втором способе туберкулезные микобактерии имеют красную люминесценцию.

Ориентировочный просмотр препаратов начинают с применения сухого объектива 40×. Характер видимых структур уточняют с помощью масляной иммерсии. Отчетливо видны форма микробов, зернистость и структура концов туберкулезных микобактерий. Люминесцентная микроскопия не гарантирует от ошибок при дифференциации истинных туберкулезных микобактерий от кислотоустойчивых сапрофитных микобактерий (особенно это относится к моче).

Ответ «микобактерии туберкулеза обнаружены» дается только в случае, если палочки обладают типичной структурой и число найденных возбудителей не менее 2 в препарате (кроме промывных вод бронхов и желудка).

В мазках из промывных вод желудка и бронхов положительный ответ дается только при обнаружении типичных туберкулезных палочек в количестве не менее 3—4 в препарате.

ЛЮМИНЕСЦЕНТНАЯ МИКРОСКОПИЯ В ЦИТОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКЕ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ

Отличие раковых клеток от соответствующих клеток нормальной ткани основано на значительном увеличении количества РНК в цитоплазме и ядрышках злокачественных клеток. Надежно выявляется РНК в клетках только гистохимическим методом окраски. Поэтому для получения однозначных результатов исследования при цитологической диагностике рака необходимо пользоваться не прижизненным или суправитальным способами люминесцентной микроскопии, а способом Берталанффи.

При окраске препаратов этим методом становится возможным как морфологическое, так и цитохимическое исследование субстрата. Морфологическое исследование сводится к обнаружению в мазке комплексов и групп атипичных эпителиальных клеток с выраженным клеточным и ядерным полиморфизмом.

Выявляются следующие морфологические признаки: сдвиг ядерно-цитоплазматического отношения в сторону ядра, изменение формы ядра, неравномерная сеть хроматина ядер, множественность ядер, увеличение количества и размера нуклеол. Ядра раковых клеток при окраске методом Берталанффи светятся ярко-белесоватым или светло-зеленоватым, цитоплазма — ярко-оранжевым или ярко-красным цветом. Цитоплазма клеток плоского эпителия светится темно-зеленым цветом, коричневатого (или серовато)-зеленым, ядра — светло-зеленым. Наличие в клетках ороговения вызывает появление диффузно-оранжевого свечения.

ФАЗОВОКОНТРАСТНАЯ МИКРОСКОПИЯ

Метод фазовоконтрастной микроскопии находит все более широкое применение, так как дает возможность исследовать живые малоконтрастные объекты в неокрашенном виде. Фазовоконтрастная микроскопия применяется в гематологических, цитологических, бактериологических и других исследованиях.

Принцип фазовоконтрастного метода заключается в искусственном смещении фаз колебаний световых волн с образованием новых колебаний с большей амплитудой, что создает условия для увеличения контрастности исследуемых объектов. Фазовые смещения световых волн достигаются нанесением на фронтальную линзу объектива микроскопа кольцеобразного темного слоя из редких элементов.

Посуда и оборудование. 1. Обычный биологический микроскоп.
2. Фазовоконтрастное устройство (КФ), в набор которого входят специальный конденсор с кольцевыми диафрагмами, фазовый объектив (Ф) и вспомогательный микроскоп.

3. Осветительная лампа к микроскопу (ОИ-7, ОИ-18).

4. Предметные и покровные стекла.

5. Пастеровские пипетки с резиновым баллоном.

Ход исследования. 1. Для получения фазового эффекта обычные конденсор и объективы микроскопа заменяют фазовыми.

2. Установив револьвер фазового конденсора на «0», подбирают освещение по Келлеру следующим образом: осветительную лампу микроскопа помещают на расстоянии 5—20 см от микроскопа, сужают ее диафрагму и направляют лучи на плоское зеркало так, чтобы четкое изображение лампочки было в центре зеркала. Если не получается четкого изображения витков нити лампочки, то перемещают патрон лампочки, добиваясь четкого изображения. Поворачивая зеркало, отбрасывают изображение нити лампочки на конденсор, затем открывают до предела ирисовую диафрагму конденсора. Устанавливают препарат при малом увеличении. Сужают отверстие полевой диафрагмы, затем, передвигая конденсор, устанавливают его при таком положении, когда в плоскости препарата в поле зрения появляется ярко освещенное пятно с резкими контурами. Центрируют его с помощью зеркала и открывают полевую диафрагму до равномерного освещения всего поля зрения.

3. Устанавливают нужный фазовый объектив, с которым собираются работать, и, поворачивая револьвер конденсора, устанавливают кольцевую диафрагму конденсора таким образом, чтобы в окне окуляра

конденсора при этом была цифра, соответствующая увеличению объектива.

4. Вынимают окуляр и в тубус микроскопа вставляют вспомогательный микроскоп.

5. Освободив винт вспомогательного микроскопа, передвигают окулярную часть до получения четкого изображения кольцевой щели диафрагмы конденсора (светлое кольцо) и кольцевой фазовой пластинки объектива (темное кольцо). В таком положении винт вспомогательного микроскопа закрепляют.

6. С помощью центрировочных винтов конденсора совмещают кольцевую щель диафрагмы конденсора и кольцо фазовой пластинки объектива.

7. Заменяют вспомогательный микроскоп необходимым окуляром (удобнее окуляр $10\times$ или $15\times$).

8. При переходе на другой объектив следует передвинуть револьвер фазового конденсора на соответствующий объективу номер (40, 90 и т. д.) и установить с помощью вспомогательного микроскопа совпадение колец конденсора и объектива (см. п. 6).

Приготовление препаратов не отличается от способа приготовления обычных нативных препаратов. Небольшую каплю исследуемого материала наносят на предметное стекло и накрывают покровным. Для большей сохранности препаратов их можно окаймлять вазелином или парафином. Препараты должны быть тонкими, материал не должен выходить за край покровного стекла.

ФАЗОВОКОНТРАСТНАЯ МИКРОСКОПИЯ В ГЕМАТОЛОГИИ

При фазовоконтрастном исследовании хорошо видны ядра клеток и структура цитоплазмы, что позволяет использовать этот метод в гематологических исследованиях.

ИССЛЕДОВАНИЕ КРОВИ И КОСТНОГО МОЗГА

Метод фазовоконтрастной микроскопии можно применить для ориентировочного обзорного исследования препаратов крови и костного мозга. Дифференцировать большинство клеток по форме и расположению ядра, структуре ядра и цитоплазмы, ядерно-плазменному соотношению удастся при большом увеличении, особенно отчетливо при использовании иммерсионного фазового объектива ($90\times$).

Меньше возможностей имеет метод при дифференцировке незрелых элементов (гемоцитобласты, миелобласты, лимфобласты, проэритробласты и др.). В этом отношении он уступает микроскопии окрашенного препарата.

Фазовоконтрастный метод применяется также в основном в научных исследованиях для изучения митотической активности костного мозга, подвижности кровяных клеток, резистентности эритроцитов к различным гемолизирующим веществам и др.

ИССЛЕДОВАНИЕ КРОВЯНЫХ ПЛАСТИНОК

Кровяные пластинки благодаря своим малым размерам и не-контрастности в обычном микроскопе исследуются в окрашенных

мазках. С помощью фазовоконтрастного метода можно исследовать пластинки в неокрашенном виде с целью подсчета их количества (см. «Кровь») и для оценки функционального состояния.

Кровяные пластинки при фазовоконтрастном исследовании имеют более темную плотную центральную часть — хромомер и периферическую более светлую, бесструктурную часть — гиаломер. У большинства клеток здоровых людей в нативном препарате образуются тонкие отростки гиаломера, что придает клетке звездчатую форму.

Оценка функционального состояния пластинок основана на подсчете количества отростчатых (функционально активных) форм¹.

Ход исследования. 1. Кровь берут из пальца в количестве 0,02 мл и помещают в пробирку с 4 мл физиологического раствора.

2. После отстаивания эритроцитов (через 30—60 минут) из верхней светлой части жидкости готовят нативные препараты.

3. С помощью иммерсионного фазового объектива (90×) подсчитывают не менее 100 тромбоцитов, отмечая количество пластинок отростчатой формы.

Интерпретация. У здоровых людей 75% тромбоцитов имеют отростчатую форму. У больных тромбоцитопенической пурпурой (болезнь Верльгофа) и при некоторых симптоматических тромбоцитопениях количество пластинок с образованием отростков уменьшено.

ФАЗОВОКОНТРАСТНАЯ МИКРОСКОПИЯ ПРИ ЦИТОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Метод фазовоконтрастной микроскопии применяется при цитологическом исследовании мочи, мокроты, выпотных жидкостей, отделяемого влагалища. В последнем случае хорошие результаты получены при исследовании функционального состояния яичников по клеточной реакции.

Благодаря контрастности изображения легко выявляются комплексы клеток и признаки злокачественности: полиморфизм ядер клеток, нарушение ядерно-плазменного соотношения, гипертрофия ядрышек, бугристость контуров ядра и др.

ФАЗОВОКОНТРАСТНАЯ МИКРОСКОПИЯ ПРИ ДРУГИХ ЛАБОРАТОРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Метод фазовоконтрастной микроскопии применяется для диагностики различных **патогенных простейших**. Из жгутиковых можно обнаружить трипанозомы благодаря их оживленному движению. В пунктатах костного мозга и селезенки у больных висцеральным лейшманиозом видны подвижные лейшмании. Большое практическое значение имеет исследование вагинальных выделений на *Trichomonas vaginalis* и дуоденального содержимого на *Lambliа intestinalis* с помощью метода фазового контраста.

Весьма четко проводится дифференциальная диагностика различных видов амёб.

¹ Р. П. Зологницкая, Лабораторное дело, 1965, 5, 264.

Метод позволяет диагностировать различные грибковые заболевания (бластомикозы, пневмомикозы и др.).

При бактериологических исследованиях возможны наблюдения над строением и размножением бактерий, лизисом клеток под влиянием бактериофага, подсчет колоний бактерий и др.

Для диагностики отхождения околоплодных вод метод имеет преимущество, так как не требует специальной окраски. В препаратах четко видны клетки влагалищного эпителия, кожи плода и волоски кожи плода¹.

¹ В. З. А х м е р о в. Диагностика отхождения околоплодных вод методом фазово-контрастной микроскопии. Труды Сталинабадского медицинского института, 1958, т. 34, стр. 135.

МОЧА

Весь материал, доставляемый в клинко-диагностическую лабораторию (моча, желудочное содержимое, кал, мокрота и пр.), должен иметь сопроводительный бланк, содержащий: фамилию, имя и отчество больного, дату, название посылаемого материала, предполагаемый диагноз и указание, какие исследования требуется произвести.

Сведения о больном, диагноз, откуда взят материал и пр. необходимы врачу-лаборанту, так как они помогают вести исследование в нужном для установления диагноза направлении.

Мочу собирают в чистую посуду и исследуют не позже 30 минут—1½ часов после ее выделения. Длительное стояние ведет к изменению физических свойств, размножению бактерий и разрушению элементов осадка мочи. В случаях необходимости для хранения мочи используют:

1) жидкость Мюллера (10 г сульфата натрия, 25 г бихромата калия, 100 мл воды). Добавляют в количестве 5 мл на 100 мл мочи;

2) хлороформную воду (5—7,5 мл хлороформа на 1 л воды) в количестве 20—30 мл на 1 л мочи. Присутствие этого реактива затрудняет химический анализ мочи;

3) хранение на холоду (лучший способ хранения).

Посуда и оборудование. 1. Пробирки (химические и центрифужные).

2. Штативы.

3. Лотки.

4. Пипетки пастеровские.

5. Пипетки градуированные.

6. Мерные цилиндры на 10—15 и 50—100 мл.

7. Горелка.

8. Колбы плоскодонные на 50 мл.

9. Песочные часы.

10. Предметные стекла.

11. Покровные стекла.

12. Банки на 300—500 мл.

13. Чашки Петри.

14. Воронки.

15. Резиновые баллончики.

16. Водяная баня.

17. Термометр.

18. Фильтровальная бумага.

19. Центрифуга.

20. Микроскоп.

21. Урометр.

22. Поляриметр.

ФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

КОЛИЧЕСТВО выделяемой за сутки мочи (диурез) в норме у взрослых колеблется от 1000 до 2000 мл, составляя в среднем 50—80% принятой жидкости. Дети, в зависимости от возраста, выделяют меньшее количество мочи.

Количество выделенной мочи является показателем не только функционального состояния аппарата мочеотделения. На суточный диурез влияет ряд экстраренальных факторов. Диурез увеличивается при приеме большого количества жидкости, при употреблении пищевых веществ, повышающих диурез (арбуз, тыква и др.). Ограничение приема жидкости, усиленное потоотделение, понос, рвота ведут к уменьшению диуреза. В патологии полиурия (свыше 2000 мл) наблюдается при заболеваниях почек (хронические нефриты и пиелонефриты, в период уменьшения отеков у почечных больных и др.), при сахарном диабете, алиментарной дистрофии и пр. Олигурия наблюдается при заболеваниях почек (острые диффузные нефриты), недостаточности кровообращения, повышенной гидрофильности тканей, задержке натрия в тканях и пр.

Анурия может быть следствием тяжелого поражения почечной паренхимы (при острых диффузных нефритах), почечнокаменной болезни (закупорка мочеточников). В результате болевых раздражений может возникнуть рефлекторная анурия. Длительная анурия (свыше 5—7 суток) ведет к уремии.

ЦВЕТ мочи колеблется от светло-желтого до насыщенно желтого. Окраска мочи в норме зависит от содержания пигментов урохрома, урозетрина, уророзина и др. Интенсивность окраски меняется параллельно с удельным весом и количеством выделенной мочи.

Моча насыщенно желтого цвета обычно концентрированная, имеет высокий удельный вес и выделяется в небольшом количестве. Бледная моча чаще имеет низкий удельный вес, что наблюдается при полиурии.

В патологии цвет мочи может быть: 1) от зеленовато-желтого до коричневого в присутствии желчных пигментов; 2) красный, бурый, красновато-желтый от примеси крови, гемоглобина; 3) темно-бурый и черный при меланозах, алкаптонурии.

Цвет мочи может изменяться после приема медикаментов: красный или розовый цвет обуславливают пирамидон, антипирин, сульфонал, темно-бурый и черный — салол, нафтол и др., синеватый — метиленовый синий, зеленовато-желтый и коричневый — ревеня, александрийский лист и др.

ПРОЗРАЧНОСТЬ (МУТНОСТЬ). Нормальная свежесвыпущенная моча прозрачна. Мутность может быть вызвана: солями, клеточными элементами, бактериями, жиром (липурия).

Причину помутнения определяют следующими пробами. Нагревают 2—3 мл мочи. Исчезновение помутнения указывает на наличие уратов, усиление — на наличие фосфатов. Последние растворяются после добавления 2—3 капель 10% уксусной кислоты. Исчезновение помутнения от добавления нескольких капель щелочи говорит о присутствии кристаллов мочевой кислоты. Исчезновение помутнения от добавления эфира (несколько миллилитров эфира на 2—3 мл мочи) указывает на жир.

Если помутнение не исчезает от приведенных выше проб, следовательно, оно зависит от присутствия клеточных элементов или бактерий, что распознается при микроскопическом исследовании.

РЕАКЦИЯ МОЧИ в норме при смешанной пище кислая или слабокислая (рН в пределах 5,3—6,5). Реакция должна определяться в свежесобранной моче, так как при стоянии мочи выделяется углекислота и рН сдвигается в щелочную сторону.

Ориентировочный способ определения реакции мочи при помощи синей и красной лакмусовой бумаги. Степень кислотности этим методом определить нельзя. При определении реакции пользуются одновременно двумя видами лакмусовой бумаги, погружая в мочу две полоски. При исследовании возможны следующие результаты:

1. Синяя бумажка краснеет, красная не изменяется — реакция кислая.

2. Красная синееет, синяя не изменяется — реакция щелочная.

3. Оба вида бумажки не изменяют цвета — реакция нейтральная.

4. Оба вида бумажки меняют цвет — реакция амфотерная.

Более точным является определение реакции мочи с помощью жидких индикаторов.

Способ Магаршак. Приготовление индикатора: 1) 0,1% спиртовой раствор нейтрального красного — 2 объема; 2) 0,1% спиртовой раствор метиленового синего — 1 объем. Смесь стойкая.

Ход определения. В пробирку вносят 1—2 мл мочи и добавляют по 1 капле индикатора. Встряхивают и определяют рН по табл. 26.

Таблица 26

Цвет	рН
Интенсивно фиолетовый	—6,2
Фиолетовый	—6,4
Светло-фиолетовый	—6,6
Серо-фиолетовый	—6,8
Темно-серый	—7,0
Серый	—7,2
Серо-зеленый	—7,4
Светло-зеленый	—7,6
Зеленый	—7,8

Способ Андреева. Готовят впрок 1% спиртовой раствор бромтимолового синего. Для работы его разводят в 4 раза (0,25%). При исследовании разливают мочу по 2—3 мл по пробиркам, в которые добавляют по 1—2 капли индикатора. Граница переходных тонов индикатора лежит в пределах рН от 6,0 до 7,6. Желтый цвет соответствует кислой реакции, бурый — слабокислой, травянистый — нейтральной, буровато-зеленый — слабо щелочной, зеленый или насыщенно зеленый — щелочной. Практическое выполнение этой реакции очень просто.

Определение реакции мочи с помощью индикаторных бумажек (например, «альбуфан» и др.) широко входит в практику и выполнимо в любых условиях.

Ход определения. На бумажных ленточках нанесены цветные полоски с цифровым обозначением рН. Среди них одна цветная полоска соответствует индикатору.

Индикаторную бумажку погружают в испытуемую жидкость так, чтобы все полоски были смочены. Вынув бумажку, немедленно сравнивают цвет индикатора с цветной шкалой, имеющей цифровые обозначения рН. Тожественность окраски индикатора с какой-либо полоской шкалы указывает величину рН. Для клинического анализа мочи реакцию можно определять каким-либо из указанных способов (недопустимо, как иногда делают в практике, судить о реакции мочи по осадку).

При необходимости точного определения кислотности мочи прибегают к определению рН методом Михаэлиса или к методу титрования.

Интерпретация. Реакция мочи может меняться в зависимости от пищевого рациона (преобладание в пище животных белков приводит к резко кислой реакции, при овощной диете — щелочная реакция).

При патологии резко кислая реакция наблюдается при лихорадочных состояниях, диабете (особенно при наличии ацетоновых тел), при голодании, недостаточности почек и т. д.

Щелочная реакция мочи отмечается при циститах и пиелитах, гематурии, после рвоты и поносов, при рассасывании экссудатов и трансудатов, приеме некоторых медикаментов (например, соды), при употреблении минеральных вод.

УДЕЛЬНЫЙ ВЕС МОЧИ зависит от количества растворенных в ней веществ, определяется при помощи ареометра (урометра).

Удельный вес нормальной мочи колеблется в пределах 1,012—1,020.

Посуда и оборудование. 1. Цилиндр на 50—100 мл.

2. Урометр.

Удобнее пользоваться урометром, имеющим деления от 1,000 до 1,050. При отсутствии его пользуются парными урометрами — один с делениями 1,000—1,030, другой — 1,030—1,060.

Ход определения. Мочу наливают в цилиндр, избегая образования пены. Урометр осторожно погружают в жидкость; верхняя часть урометра должна оставаться сухой. Когда урометр перестанет погружаться, его слегка толкают сверху, иначе он опускается меньше, чем следует. После прекращения колебаний по нижнему мениску мочи на шкале урометра отмечают удельный вес. Урометр не должен касаться стенок цилиндра, поэтому диаметр цилиндра должен быть несколько шире расширенной части урометра.

Измеряя удельный вес мочи, нужно учитывать окружающую температуру, так как урометры приспособлены для температуры 15°. При температуре выше 15° объем мочи увеличивается, концентрация и удельный вес понижаются. Температура ниже 15° ведет к обратным явлениям. Колебания температуры в пределах 3° в ту или другую сторону значения не имеют. При больших колебаниях, измеряя удельный вес, следует вносить поправку: на каждые 3° выше 15° необходимо прибавить 0,001 и на каждые 3° ниже 15° вычитать 0,001.

Иногда встречаются урометры, приспособленные к температуре 20 и 22°, поэтому, прежде чем определять удельный вес, нужно знать, на какую температуру рассчитан урометр.

Белок повышает удельный вес мочи, но только при содержании выше 3—5‰. Поэтому на каждые 3‰ белка к удельному весу прибавляют 0,001.

1‰ сахара повышает удельный вес на 0,004. При необходимости вносят соответствующую поправку (например, при испытании функционального состояния почек больных сахарным диабетом необходимо корректировать цифры удельного веса).

Если мочи доставлено мало, ее разводят в 2—3 раза дистиллированной водой, измеряют удельный вес, последние две цифры полученного удельного веса умножают на степень разведения.

Определение удельного веса пикнометром гораздо более точно, но технически труднее.

Удельный вес незначительных количеств мочи (например, несколько капель, полученных катетером) можно определить с помощью смеси жидкостей. В цилиндр наливают смесь хлороформа и бензола и добавляют в нее каплю исследуемой мочи. Если капли идут ко дну, то удельный вес мочи выше удельного веса смеси; если капля остается на поверхности, то ниже. Прибавлением хлороформа (если капля идет ко дну) или бензола (если капля остается на поверхности) регулируют смесь, чтобы капля осталась посередине жидкости. В таком случае удельный вес мочи равен удельному весу смеси. Удельный вес смеси определяют урмометром.

Интерпретация. Для нормально функционирующих почек характерны широкие колебания удельного веса в течение суток, что связано с периодическим приемом пищи, воды и потерей жидкости организмом (потоотделение, дыхание).

Постоянно низкие цифры удельного веса (1,005—0,012) — гипозостенурия — указывают на нарушение концентрационной функции почек (хронический нефрит, сморщенная почка). Низкий удельный вес, как временное явление, наблюдается при алиментарной дистрофии, после обильного питья, при уменьшении отеков и др. Высокий удельный вес, как правило, имеет место при олигоурии (острый нефрит, образование в полости экссудата и др.). При полиурии высокий удельный вес характерен для сахарного диабета.

ЗАПАХ МОЧИ особого диагностического значения не имеет. Свежевыпущенная нормальная моча без запаха. При стоянии мочи появляется аммиачный запах. В свежвыпущенной моче аммиачный запах наблюдается при циститах, пиелитах, пиелонефритах и др. Резко зловонная моча наблюдается при употреблении в пищу чеснока, хрена. Наибольшее диагностическое значение имеет запах мочи у больных диабетом. В случае появления у них ацетоновых тел в моче отмечается «плодовый» или «яблочный» запах.

ХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

БЕЛОК

Качественные пробы на белок основаны на его осаждении реактивами или нагреванием.

Условия определения белка в моче:

1. Моча должна иметь кислую реакцию. Мочу щелочной реакции подкисляют несколькими (2—3) каплями уксусной кислоты

(5—10%). Излишек уксусной кислоты вызывает образование растворимых ацидальбуминов, что ведет к превращению пробы положительной в отрицательную.

2. Моча должна быть прозрачной. Помутнение устраняется фильтрованием через бумажный фильтр. Если помутнение не исчезает, добавляют инфузорную землю, тальк или жженую магнезию (около 1 чайной ложки на 100 мл мочи), взбалтывают и фильтруют.

3. Качественную пробу следует проводить в двух пробирках, одна из них контрольная.

Качественные пробы

Проба с сульфосалициловой кислотой

Реактив: 20% раствор сульфосалициловой кислоты. Если нет продажной сульфосалициловой кислоты, можно приготовить ее следующим способом: к 26 г салициловой кислоты прибавляют 18—20 мл концентрированной серной кислоты. Постепенно нагревают до температуры 95—100°. Состав превращается в кристаллическую массу сульфосалициловой кислоты. Остудив, разводят водой до объема 150 мл. Получается 20% раствор сульфосалициловой кислоты.

Ход определения. К 3—4 мл профильтрованной мочи прибавляют 4—6 капель реактива. При положительной пробе появляется помутнение. Проба с сульфосалициловой кислотой считается одной из самых чувствительных.

Проба кольцевая

Реактив. 1. Азотная кислота концентрированная или 50% раствор или

2. Реактив Ларионовой. Готовят насыщенный раствор хлорида натрия; 20—30 г соли растворяют в 100 мл воды при подогревании, дают отстояться до охлаждения. Надосадочную жидкость сливают, фильтруют. К 99 мл фильтрата прибавляют 1 мл крепкой азотной кислоты. Вместо азотной кислоты можно добавить 2 мл концентрированной соляной кислоты¹.

Ход определения. В пробирку наливают 1—1,5 мл азотной кислоты или реактив Ларионовой и пипеткой накладывают мочу, стараясь не взбалтывать жидкость в пробирке. При наличии белка на границе двух жидкостей появляется белое кольцо.

Беловатые кольца, появляющиеся выше границы наложения, образуются за счет выпадения солей. Эти кольца исчезают при осторожном подогревании. Проба с реактивом Ларионовой имеет ряд преимуществ: 1) на границе наложения не бывает пигментных колец, которые часто образуются при наложении мочи на азотную кислоту и мешают распознать белковое кольцо; 2) кольца получаются более четкие, чем с азотной кислотой; 3) экономия азот-

¹ Л. П. Кравец. Лабораторное дело, 1964, № 9, стр. 553.

ной кислоты; 4) более удобен в работе, попадая на ткань, не прожигает ее.

Качественных проб на белок существует очень много. Здесь приводятся те, которые прочно вошли в практику.

Количественное определение белка

Способ Брандберга (Робертса—Стольникова)

Принцип. Если при насливании мочи на азотную кислоту на границе двух жидкостей появляется тонкое белое кольцо между 2-й и 3-й минутой, то в исследуемой моче содержится 0,033‰ белка.

Ход определения. В пробирку наливают 1—1,5 мл азотной кислоты и осторожно по стенке пробирки насливают мочу (см. кольцевую качественную пробу на белок). Замечают время после насливания. При появлении белкового кольца раньше 2 минут после насливания мочу следует развести водой. В пробирку точно отмеривают количество мочи и воды. Производят повторное насливание разведенной мочи. При этом подбирают такое разведение ее, при насливании которого кольцо образуется между 2-й и 3-й минутой. Количество белка вычисляют путем умножения 0,033‰ на степень разведения. Степень разведения мочи подбирают в зависимости от вида кольца, т. е. от ширины, компактности и времени его появления (табл. 27).

Таблица 27
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСНОВНЫХ ЦЕЛЬНЫХ РАЗВЕДЕНИЙ

Свойства кольца	Нитевидное	Широкое	Компактное
Степень разведения	в 2 раза	в 4 раза	в 8 раз

Расчет количества белка в зависимости от разведения мочи см. табл. 28.

Таблица 28
РАЗВЕДЕНИЕ МОЧИ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ БЕЛКА
ПО СПОСОБУ БРАНДБЕРГА

Количество мочи в мл	Количество воды в мл	Степень разведения	Количество белков в ‰
1	1	2	0,066
1	2	3	0,099
1	3	4	0,132
1	4	5	0,165
1	5	6	0,198
1	6	7	0,231
1	7	8	0,264
1	8	9	0,297
1	9	10	0,33

Интерпретация. В нормальной моче содержится незначительное количество белка, которое не определяется качественными пробами. Принято считать, что нормальная моча белка не содержит. При ряде заболеваний в моче появляется белок — протеинурия (альбуминурия). Протеинурии (альбуминурии) делятся на две группы — внепочечные и почечные.

Внепочечные протеинурии наблюдаются при заболеваниях мочевыводящих путей (циститы, пиелиты, уретриты и др.). При этих заболеваниях в мочу попадает жидкость белкового характера — экссудат. Количество белка не бывает большим, как правило, не более 1‰.

Почечные протеинурии делятся на две подгруппы — функциональные и органические. При функциональных белок чаще всего появляется вследствие нарушения проницаемости почечного фильтра (капилляров почки). Наблюдается при сильных раздражениях почечного фильтра факторами химическими, термическими, психическими и др. (например, после холодных купаний, физических напряжений, сильных эмоций).

Органические протеинурии — результат органического поражения паренхимы почки и увеличения проницаемости капилляров. Наблюдаются при острых и хронических гломерулонефритах, нефрозах, инфекционных и токсических состояниях, застойных явлениях в почках.

Ортостатическая альбуминурия развивается чаще всего у детей дошкольного и школьного возраста (объясняется вазомоторными нарушениями в кровоснабжении почек). Для этой формы типично появление белка в моче при вертикальном положении тела и отсутствие белка, если моча выделена лежа.

По другой классификации почечные альбуминурии в зависимости от их продолжительности делят на транзиторные и длительные. К транзиторным относятся функциональные, лихорадочные, токсические, а к длительным — протеинурии при нефритах, нефрозах и пр.

Количество белка при почечных протеинуриях больше, чем при внепочечных, цифры могут колебаться от 2 до 20‰ и более. Нефрозы протекают, как правило, с наиболее выраженной протеинурией (10—20‰).

Большая часть белков при почечной протеинурии плазменного происхождения. Это доказано электрофоретическим методом исследования. Электрофоретическое исследование белков в моче имеет большое значение в диагностике парапротеинурии.

АЛЬБУМОЗЫ (ПРОТЕОЗЫ)

Принцип. Альбумозы — это продукты расщепления белков, принцип определения которых основан на том, что они не свертываются при кипячении, но дают положительную биуретовую реакцию и высаливаются некоторыми солями, особенно сульфатом аммония и ацетатом цинка в кислой среде.

Реактивы. 1. Насыщенный раствор хлорида натрия.

2. Концентрированный раствор едкого натра.

3. Слабый раствор сульфата меди (почти бесцветный).

Ход определения. К моче, подкисленной уксусной кислотой, прибавляют насыщенный раствор хлорида натрия ($\frac{1}{3}$ объема), ки-

пятят и горячую жидкость фильтруют. Альбумозы проходят в фильтрат, в котором их присутствие определяют биуретовой реакцией. К фильтрату прибавляют: $\frac{1}{2}$ объема концентрированного раствора едкого натра и несколько капель слабого раствора сульфата меди. При положительной пробе получается красно-фиолетовое окрашивание.

При положительной пробе с сульфосалициловой кислотой мочу нагревают. Если муть исчезает и вновь появляется при охлаждении, это означает, что моча содержит альбумозы или белковое тело Бенс-Джонса.

Интерпретация. Нормальная моча альбумоз не содержит. Следы могут быть в нормальной моче в случае примеси семенной жидкости. В патологии альбумозы могут встречаться в моче при лихорадочных состояниях, переливании крови и плазмы, рассасывании экссудатов и трансудатов, распаде опухолей.

БЕЛКОВОЕ ТЕЛО БЕНС-ДЖОНСА

Это гетерогенная группа патологических белков (парапротеинов), которые осаждаются при температуре 45—60°.

Ход определения. К 10 мл мочи прибавляют 3—4 капли 10% уксусной кислоты (рН мочи 5,0—6,0), реакция лучше идет, если прибавить небольшое количество насыщенного раствора хлорида натрия. Осторожно нагревают на водяной бане, постепенно повышая температуру. Если в моче имеются белковые вещества Бенс-Джонса, то при температуре 45—60° появляется диффузное помутнение или выпадает осадок. Когда осадок выпал, прибавляют 1—2 капли слабой уксусной кислоты до слабо кислой реакции, нагревают, доводя до кипения. Осадок при этом растворяется. При охлаждении вновь появляются помутнение и осадок.

Эта проба недостаточно чувствительна. Более высокое диагностическое значение имеет электрофоретическое исследование мочи.

Интерпретация. Белковое тело Бенс-Джонса определяется при парапротеинемиях (миеломная болезнь, болезнь Вальденштрема, некоторые формы ретикулозов).

ВИНОГРАДНЫЙ САХАР (ГЛЮКОЗА)

Большинство качественных проб основано на редуцирующей способности глюкозы.

Проба Бенедикта

Принцип. Реакция основана на свойстве глюкозы восстанавливать гидрат окиси меди в щелочной среде в гидрат закиси меди (желтый цвет) или закись меди (красный цвет).

Приготовление реактива. В однолитровую мерную колбу наливают 700 мл воды, добавляют 173 г цитрата натрия, 100 г безводного (или 200 г кристаллического) карбоната натрия. Нагревают до растворения. Отдельно растворяют 17,3 г сульфата меди в 100 мл воды. Смешивают оба раствора, непрерывно взбалтывая, после охлаждения доливают водой до 1 л.

Ход определения. В пробирку наливают 5 мл реактива и прибавляют 8—10 капель мочи. Пробу нагревают 2 минуты на пламени или 5 минут в кипящей водяной бане. Дают пробирке остыть 5—7 минут. При наличии сахара появляется зеленая, желтая или красная окраска жидкости с осадком. При зеленой окраске без наличия осадка проба считается отрицательной.

Проба Бенедикта является самой надежной, так как при большом разведении мочи (8—10 капель мочи и 5 мл реактива) восстанавливающее действие других редуцирующих веществ мочи выражено слабо.

Проба Гайнеса

Принцип см. «Проба Бенедикта».

Приготовление реактива: 1) 13,3 г химически чистого кристаллического сульфата меди растворяют в 400 мл воды; 2) 50 г едкого кали растворяют в 400 мл воды; 3) 15 г чистого глицерина разводят в 200 мл воды. Смешивают первый и второй растворы и тотчас приливают третий. Реактив стоек.

Ход определения. К 3—4 мл реактива прибавляют 8—12 капель мочи, кипятят или ставят в кипящую водяную баню. В присутствии сахара появляются желтая или красная окраска жидкости и осадок. В практике более принята следующая модификация: 1 капля мочи и 9 капель реактива доводят до кипения.

Проба Нилендера

Принцип. Проба основана на восстановлении глюкозой нитрата висмута в металлический.

Приготовление реактива. 2 г нитрата висмута растирают в ступке с 4 г сегнетовой соли, растворяют в 100 мл 10% едкого натра и фильтруют. Реактив бесцветный. Хранят в бутылке из темного стекла.

Ход реакции. К моче прибавляют реактив в соотношении 2:1 и кипятят 3 минуты. В присутствии сахара появляется окраска от коричневой до черной, при стоянии образуется темный осадок. Эта проба чаще, чем другие, выпадает положительной при отсутствии сахара в моче. Положительный результат получается в присутствии других редуцирующих веществ, находящихся в моче (белок, лекарственные вещества: антипирин, салициловая кислота, антибиотики — биомидин, тетрациклин).

Метод индикаторных бумажек

В мочу опускают бумажку, пропитанную специальным реактивом. В присутствии сахара получается синяя окраска, характерная для глюкозы. Сравнивают интенсивность окраски с цветным стандартом и ориентировочно определяют концентрацию глюкозы.

В случае получения сомнительных результатов качественной пробы рекомендуется провести несколько проб с разными реактивами.

Интерпретация. Нормальная моча содержит глюкозу в виде следов, не превышающих 0,02%, что обычными качественными пробами не выявляется. Появление сахара в моче (глюкозурия) может быть физиологическим и патологическим.

Физиологическая глюкозурия наблюдается при введении с пищей большого количества углеводов (алиментарная), после эмоционального напряжения (эмоциональная глюкозурия), после приема некоторых лекарств (диуретин, кофеин, кортикостероиды), при отравлениях (морфин, хлороформ, фосфор). Реже наблюдается почечная (ренальная) глюкозурия, обусловленная повышенной проницаемостью почек в отношении глюкозы и появлением ее в моче при нормальном количестве сахара в крови. Патологическая глюкозурия чаще всего бывает диабетической (сахарный диабет), реже тиреогенной (тиреотоксикоз), гипофизарной (синдром Иценко—Кушинга), печеночной (бронзовый цирроз печени) и др. Для правильной оценки глюкозурии (особенно у больных диабетом) необходимо исследовать на сахар мочу, собранную за сутки.

ДРУГИЕ ВИДЫ САХАРОВ (левулеза, лактоза, галактоза).

При необходимости пользуются различными пробами (цветные качественные, бродильные, вращение поляризованного света, образование озазонов и пр.). Из этих проб специфическими являются только бактериальное разложение, хроматографическое исследование и энзимные пробы.

МОЛОЧНЫЙ САХАР (ЛАКТОЗА)

Лактоза дает те же реакции восстановления, что и глюкоза. Плоскость поляризации вращает вправо.

Качественная реакция на лактозу

Реактивы. 1. 10% раствор едкого натра.

2. Аммиак (не слабее 10%).

Ход определения. К 8—10 мл мочи приливают 4—5 мл аммиака и 5—10 капель щелочи, нагревают на водяной бане при температуре 60—70°. В присутствии лактозы появляется розовое окрашивание. Глюкоза дает желтое окрашивание.

Количество лактозы определяют в поляризационном аппарате. Полученный результат умножают на 0,947.

Интерпретация. Лактоза появляется в моче беременных и кормящих женщин. Положительная качественная реакция на лактозу позволяет исключить в этих случаях глюкозурию, которая обусловлена другой патологией.

ФРУКТОЗА (ЛЕВУЛЕЗА)

Реактивы. 1. Резорцин.

2. Соляная кислота концентрированная.

Ход определения. Растворяют несколько зерен резорцина в 8 мл концентрированной соляной кислоты, прибавляют двойное количество мочи и быстро нагревают в водяной бане. Пробу не

следует долго кипятить, так как при этом из глюкозы может образоваться левулеза. При наличии левулезы проба окрашивается в вишнево-красный цвет. Проба считается положительной при быстром появлении интенсивной окраски.

Моча, содержащая левулезу, дает все реакции на виноградный сахар и вращает плоскость поляризации влево. При определении ее количества в поляриметре полученный результат умножают на 0,54. Так как фруктоза большей частью встречается одновременно с глюкозой, то вращения влево обнаружить не удастся.

Интерпретация. Левулеза иногда встречается в моче при нарушении обмена веществ и при диабете (вместе с глюкозой).

КЕТОНОВЫЕ (АЦЕТОНОВЫЕ) ТЕЛА

К кетоновым телам относятся ацетон, ацетоуксусная и β -оксимасляная кислоты. Кетоновые тела в моче встречаются совместно, поэтому раздельное определение их клинического значения не имеет.

Качественные реакции на кетоновые тела основаны на их взаимодействии с нитропруссидом натрия в щелочной среде и появлении цветной реакции (образование комплексных соединений).

Проба Ланге

- Реактивы.** 1. Уксусная кислота 80%.
2. Нитропруссид натрия (свежеприготовленный 10% раствор).
3. Аммиак.

Ход определения. К 12—15 мл мочи приливают около 1 мл уксусной кислоты и около 0,5 мл раствора нитропруссид натрия. Затем наклоняют аммиак. В положительном случае на границе двух жидкостей появляется фиолетовое кольцо. Кольцо может появиться не сразу, а в течение 2—3 минут.

Другая модификация этой пробы удобна тем, что можно использовать готовый реактив нитропруссид натрия.

Приготовление реактива. 6 г нитропруссид натрия растворяют в 100 мл 30% уксусной кислоты.

Ход определения. К 5—6 мл мочи прибавляют несколько капель реактива (до цвета «чая») и наклоняют аммиак. В положительном случае на границе жидкостей появляется фиолетовое кольцо.

Проба Легалья

Реактивы. 1. Свежеприготовленный водный раствор нитропруссид натрия (5%).

2. 10—15% раствор едкого натра.

3. Уксусная кислота ледяная.

Ход определения. К 5—6 мл мочи прибавляют несколько капель реактива № 1 и 0,5 мл реактива № 2. Получается красное окрашивание. Добавляют 0,5—1 мл реактива № 3. Если красный цвет исчезает, проба отрицательная, если сохраняется — положительная. Если получается слабо розовая окраска, то проба считается также положительной.

Определение с помощью сухого реактива (или таблеток)

Приготовление сухого реактива: нитропрусида натрия 1 г, сульфата аммония 20 г, карбоната натрия безводного 20 г. Отвешенные реактивы тщательно растираются в ступке до получения мелкого однородного порошка. Порошок хранить в хорошо закупоренной стеклянной банке в сухом месте.

Ход исследования. Предметное стекло кладут на лист фильтровальной бумаги. На стекло помещают небольшое количество (на кончике ножа) сухого реактива и капают на него 2—3 капли мочи. При наличии кетоновых тел получается окрашивание от розового до темно-фиолетового (появление окраски может наступать в течение 2—3 минут).

Интерпретация. В нормальной моче содержится минимальное количество кетоновых тел, которое не обнаруживается обычными качественными пробами.

Положительные реакции на кетоновые тела появляются чаще всего при тяжелом сахарном диабете. Присутствие их наблюдается также при голодании, безуглеводной диете, лихорадке, у детей при рвоте и поносе.

БИЛИРУБИН

Большинство качественных проб на билирубин основано на превращении его в зеленый биливердин под воздействием окислителей (йод, азотистая кислота, трихлоруксусная кислота и др.).

Проба Розина

Реактивы. 1. Люголевский раствор (1 г йода, 2 г йодистого калия и 300 мл дистиллированной воды) или
2. 1% спиртовой раствор йода.

Ход определения. На 4—5 мл мочи наслаивают один из этих реактивов. В положительном случае на границе между жидкостями появляется зеленое кольцо.

Проба Фуше

Реактивы. 1. 15% раствор хлорида бария.
2. 25% раствора трихлоруксусной кислоты 100 мл и 10% раствора полторахлористого железа 10 мл (реактив Фуше).

Ход определения. К 10—12 мл мочи прибавляют половину объема хлорида бария, смешивают и фильтруют. Хлорид бария осаждают билирубин. На вынутый из воронки фильтр (положив его предварительно на сухую фильтровальную бумагу) капают реактив Фуше 2—3 капли. В положительном случае на фильтре появляются зелено-синие или голубоватые пятна.

Проба Фуше считается наиболее чувствительной. Эта проба особенно рекомендуется для тех случаев, когда получены неясные или сомнительные результаты с другими реактивами.

Качественная реакция на билирубин с метиленовым синим дает сомнительные результаты, так как зеленая окраска может быть не за счет окисления билирубина, а в результате смеси желтого цвета мочи с метиленовым синим.

Интерпретация. Определение желчных пигментов в моче имеет большое диагностическое значение. Билирубин (прямой) в моче появляется главным образом при обтурационных желтухах, а также при паренхиматозном поражении печени (болезнь Боткина, хронический гепатит, цирроз печени и др.). При гемолитической желтухе билирубин в моче не обнаруживается.

ЖЕЛЧНЫЕ КИСЛОТЫ

Проба Гея

40—60 мл фильтрованной мочи оставляют в колбе на 20—30 минут. Затем на ее поверхность насыпают серный порошок. Если частицы серы начинают тонуть, проба положительная (так как уменьшается поверхностное натяжение вследствие увеличения выделения желчных кислот и солей). Проба отрицательная, если серный цвет задерживается на поверхности. Наилучшие результаты получаются при разведении мочи до удельного веса 1,015. Проба становится положительной при концентрации желчных кислот и солей выше 0,01%.

Проба Петтенкофера

К 10 мл мочи прибавляют небольшое количество раствора сахара и взбалтывают до образования пены. После этого добавляют по каплям концентрированную серную кислоту.

При наличии желчных кислот пена становится пурпурно-красной.

Интерпретация. В нормальной моче содержится минимальное количество желчных кислот. При механической желтухе оно постоянно повышено; часто отмечается увеличение его и при паренхиматозной желтухе. При гемолитической желтухе количество желчных кислот не увеличено.

Количественный метод определения желчных кислот в моче см. в статье Д. В. Старосельского (Лабораторное дело, 1962, № 1, стр. 16).

УРОБИЛИН

Качественных проб на уробилин предложено много. Здесь приводятся наиболее прочно вошедшие в практику.

Определение с помощью спектроскопа

Мочу фильтруют. Если она сильно концентрирована, ее разводят водой. Пробирку с мочой держат перед щелью спектроскопа, направляя спектроскоп на свет. Уробилин дает полосу поглощения между синей и зеленой частью спектра. При большом количестве уробилина поглощается вся синяя часть спектра.

Спектроскопическому определению уробилина мешает присутствие билирубина, гемоглобина и его дериватов.

Для того чтобы избавиться от этих веществ, поступают следующим образом: к 8 мл мочи прибавляют 2 мл 10% раствора хлорида кальция или бария и несколько капель аммиака до ясно щелочной реакции, затем фильтруют.

Проба Шлезингера

Принцип. Появление флюоресценции уробилина за счет образовавшихся цинкуробилиновых комплексов.

Реактивы. 1. Насыщенный спиртовый раствор ацетата цинка (10 г на 100 мл 96° спирта).

2. Раствор Люголя.

Ход определения. К 4—5 мл мочи приливают равное количество реактива (реактив предварительно взбалтывают) и 1 каплю раствора Люголя. Оставляют на 10 минут, затем фильтруют. Пробирку просматривают на темном фоне в отраженном свете. При наличии уробилина образуется зеленая флюоресценция. Некоторые медикаменты, например атебрин, дают положительную пробу Шлезингера. Для разграничения настоящей положительной пробы и медикаментозной прибавляют разведенную соляную или серную кислоты. Флюоресценция, вызванная уробилином, исчезает, медикаментозная остается.

Проба Флоренса

Реактивы. 1. Концентрированная серная кислота.

2. Эфир.

3. Концентрированная соляная кислота.

Ход определения. 8—10 мл мочи подкисляют несколькими каплями серной кислоты, взбалтывают и приливают несколько мл эфира. Закрывают пробирку плотно пробкой и осторожно смешивают жидкости, катая пробирку по столу. В другую пробирку наливают 2—3 мл концентрированной соляной кислоты. Пипеткой отсасывают из первой пробирки эфирный слой и наслаивают его на соляную кислоту. На границе жидкостей в присутствии уробилина образуется розовое кольцо различной интенсивности.

Проба Богомолова

Реактивы. 1. Насыщенный раствор сульфата меди.

2. Концентрированная соляная кислота.

3. Хлороформ.

Ход определения. К 10—15 мл мочи прибавляют 2—3 мл насыщенного раствора сульфата меди. Если получается помутнение от образовавшейся гидроксиды меди, прибавляют несколько капель соляной кислоты до прояснения раствора. Через 5 минут прибавляют 2—3 мл хлороформа и взбалтывают. При наличии уробилина хлороформ окрашивается в розово-красный цвет.

Определение уробилина в моче флюорометром нашло применение в практике. Преимуществом этого метода являются отсутствие необходимости реактивов, простота и быстрота выполнения¹.

Интерпретация

Из вышеуказанных качественных проб на уробилин самым простым и быстрым методом является спектроскопический.

¹ О. К. Ерыкалова. Лабораторное дело, 1964, № 2, стр. 99.

Проба Флоренса наиболее чувствительна и может давать положительный результат при нормальном содержании уробилина в моче.

Определение уробилина имеет большое клиническое значение. Присутствие его в количествах, превышающих норму, может быть при гемолитических состояниях (гемолитическая желтуха, гемоглобинурия, некоторые инфекции, например малярия и др.), при заболевании печени (гепатиты, цирроз печени, отравления и пр.), при кишечных заболеваниях и лихорадочных состояниях, что связано с токсическим поражением печени. Большое диагностическое значение имеет исследование уробилина в моче при желтухах. Полное отсутствие уробилина указывает на обтурационную желтуху. Повышение уробилина обнаруживается при паренхиматозной и гемолитической формах желтух.

КРОВЬ И КРОВЯНЫЕ ПИГМЕНТЫ

Кровь можно обнаружить в моче микроскопически (см. «Осадки мочи») и химическими реакциями. Химические реакции на кровь см. «Кал».

Гемоглобин

Для диагноза гемоглобинурии необходимо доказать наличие гемоглобина в моче одной из химических проб. При отсутствии эритроцитов в осадке (при микроскопическом исследовании) желательно спектроскопически определить природу пигмента.

Гемосидерин

Реакция на берлинскую лазурь

Реактивы. 1. 5% раствор соляной кислоты.

2. 2—5% водный раствор железистосинеродистого калия (желтая кровяная соль).

Ход определения. Центрифугируют 15 мл мочи. К осадку прибавляют несколько капель соляной кислоты и несколько капель железистосинеродистого калия. Делают препарат и микроскопируют. Через 2—5 минут (может быть, и раньше) в клетках в положительном случае видны сине-зеленые зернышки. При разрушении клеток гемосидерин лежит свободно.

Интерпретация. Гемосидерин в моче встречается главным образом при гемолитических анемиях с внутрисосудистым гемолизом (болезнь Маркиава—Микели и др.).

Порфирины

Исследование мочи на порфирины связано со значительными техническими трудностями. Большая часть качественных проб и количественных методов определения основывается на их свойствах флуоресцировать при ультрафиолетовом свете.

Миоглобин¹

Реактив. Кристаллический сульфат аммония.

Ход определения. В 5 мл мочи растворяют 2,8 г кристаллического сульфата аммония и фильтруют. Если фильтрат имеет красно-коричневый цвет, то в моче имеется миоглобин (миоглобинурия), если цвет фильтрата нормальный, следовательно, в моче присутствовал гемоглобин, 80% которого осаждается реактивом.

Интерпретация. Миоглобинурии встречаются при тяжелых травмах мышц, электротравмах, тяжелых миозитах и др.

Индикан

Принцип. Превращение индикана в индоксил минеральной кислотой и последующее окисление индоксила (хлорным железом или марганцовокислым калием) в индиго синее или красное.

Проба Яффе

Реактивы. 1. Соляная кислота концентрированная.

2. Хлороформ.

3. 2% раствор марганцовокислого калия.

Ход определения. 8—10 мл мочи смешивают с равным объемом соляной кислоты, приливают 1—2 мл хлороформа и 1—2 капли марганцовокислого калия. Пробирку закрывают и многократно опрокидывают, не взбалтывая. В присутствии индикана хлороформ окрашивается в голубой, синий или розовый цвет. При наличии в моче йодистых солей хлороформ также дает розовую окраску. В таком случае добавляют кристаллик гипосульфита. Исчезновение розовой окраски хлороформа говорит о присутствии йодистых солей. При наличии индикана розовая окраска не исчезает.

Проба Обермейера

Реактивы. 1. 0,2—0,4 г хлорного железа растворяют в 100 мл концентрированной соляной кислоты. Реактив не стоек.

2. Хлороформ.

Ход определения. 10 мл мочи смешивают с равным объемом реактива, добавляют 1—2 мл хлороформа и опрокидывают пробирку несколько раз. Синее окрашивание хлороформа указывает на присутствие индикана в моче.

Интерпретация

В нормальной моче индикан содержится в незначительном количестве, которое не обнаруживается обычными качественными пробами.

Индиканурия встречается при интенсивном гниении белковых веществ в кишечнике (колит, непроходимость кишечника, рак, абсцесс кишечника, перитонит, запоры и пр.), а также при усиленном распаде белков в организме (опухоль, эмпиема, абсцессы и др.).

¹ Г. П. Шульцев. Клиническая медицина, 1963, № 1, стр. 12.

ЦВЕТНАЯ ОСАДОЧНАЯ РЕАКЦИЯ КИМБАРОВСКОГО (ЦОРК)

Реактив. 5% водный раствор нитрата серебра, реактив хранится в бутылке из темного стекла.

Ход исследования. В 3 пробирки наливают по 1 мл свежесобранной мочи. Затем приливают реактив: в первую пробирку — 1 мл, во вторую — 0,75 мл, в третью — 0,5 мл. Каждую пробирку нагревают до кипения, постоянно взбалтывая. Дают остыть 1—2 минуты.

В положительном случае выпадает цветная реакция, интенсивность которой зависит от выраженности патологического процесса. Различают цвета: черный, грифельный, темно-серый, коричневый. Химизм реакции не выяснен.

Интерпретация. Реакция неспецифическая, выпадает положительной при самых разнообразных патологических процессах. Считают, что эта реакция имеет значение для оценки тяжести процесса и эффективности лечения. Основное ее значение, по-видимому, прогностическое.

МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ОСАДКА МОЧИ

Исследование осадка производится двумя способами: 1) ориентировочным и 2) количественным.

Ориентировочный метод

Ориентировочный метод является более распространенным, но менее точным и дает приблизительное представление о содержании элементов в осадке. Полученные результаты зависят от количества мочи, взятой для центрифугирования, количества оборотов центрифуги, правильного приготовления препаратов.

Приготовление препарата. В центрифужную пробирку наливают 10—15 мл мочи, центрифугируют 5—7 минут при 1500—2000 об/мин. После центрифугирования центрифужную пробирку быстро опрокидывают для удаления надосадочной жидкости, затем переводят в исходное положение так, чтобы осадок остался на дне.

Осадок размешивают пипеткой (лучше пастеровской с тонким концом и маленьким резиновым баллончиком). Небольшую каплю осадка помещают на предметное стекло и покрывают покровным. При соблюдении этих правил препарат всегда имеет более или менее одинаковую величину.

Не рекомендуется: 1) микроскопировать препараты без покровных стекол, так как при этом портится оптическая система микроскопа (при переводе на большое увеличение объектив нередко смачивается мочой) и получаются препараты неодинаковой толщины;

2) приготавливать препараты из всего осадка (производный размер препарата не дает правильного представления о количестве форменных элементов осадка).

Препараты микроскопируют сначала с малым увеличением (окуляр 10×, объектив 8×), а затем с большим (окуляр 10×, объектив 40×). Среднее цифровое выражение найденного количества

элементов (например, эритроцитов, лейкоцитов, цилиндров) дают приблизительно, указывая, сколько их в поле зрения. Для других элементов (эпителиальные клетки, кристаллы и др.) принято давать оценку «много», «мало», «незначительное количество».

Количественные методы

Принцип. Определение числа форменных элементов (эритроциты, лейкоциты, цилиндры) в суточном количестве мочи с помощью счетной камеры.

Посуда и оборудование. 1) Счетная камера (удобнее пользоваться камерой Фукса — Розенталя).

2) Градуированная центрифужная пробирка.

3) Мерная посуда (цилиндр, мензурка).

Метод Каковского — Аддиса¹

Ход исследования. 1. Мочу собирают за 10—12 часов (больной мочится перед сном, отмечает время и собирает мочу после сна за 10—12 часов). У женщин мочу собирают катетером. При наличии в моче солей необходимо освободиться от них: ураты растворяют подогреванием, фосфаты — добавлением уксусной кислоты.

2. Собранную мочу тщательно размешивают и измеряют ее количество.

3. Для получения осадка берут количество мочи, выделенное за 12 минут, которое определяют по формуле:

$$x = \frac{V}{t \cdot 5}.$$

x — количество мочи, выделенное за 12 минут;

V — объем собранной мочи в миллилитрах;

t — время, за которое собрана моча ($\frac{1}{5}$ часа = 12 минутам).

Например: $V = 780$ мл; $t = 13$ часов; $x = \frac{780}{13 \cdot 5} = 12$ мл (количество мочи, выделенное за 12 минут).

4. Рассчитанное количество мочи помещают в градуированную центрифужную пробирку и центрифугируют 5 минут при 2000 об/мин.

5. Отсасывают пипеткой надосадочную жидкость, оставляя 0,5 мл осадка (если осадок большой, оставляют 1 мл). Осадок смешивают пипеткой, затем заполняют счетную камеру. Считают отдельно лейкоциты, эритроциты и цилиндры.

Расчет. 1. Определяют количество клеток в 1 мм^3 так же, как подсчет форменных элементов спинномозговой жидкости).

2. Полученное число клеток в 1 мм^3 умножают на $60\,000^2$, что составляет количество форменных элементов мочи, выделенное за сутки. Если количество оставленного осадка было 1 мл, то найденное число форменных элементов умножают на 120 000.

Число Каковского — Аддиса для нормальной мочи: эритроциты до 1 000 000, лейкоциты до 2 000 000, цилиндры до 20 000.

¹ А. С. Нечипоренко. Урология, 1961, № 4.

² После центрифугирования оставлено 0,5 мл, т. е. 500 мм^3 . Количество мочи выделено за 12 минут, т. е. за $\frac{1}{5}$ часа. Таким образом, количество клеток в суточной моче будет: найденное количество клеток в $1 \text{ мм}^3 \times 500 \times 5 \times 24 = 60\,000$.

Метод Амбурже

Ход исследования. 1. Мочу собирают за 3 часа (180 минут), размешивают. 2. Для получения осадка 10 мл мочи помещают в градуированную пробирку, центрифугируют 5—6 минут при 2000 об/мин.

3. Отсасывают надосадочную жидкость, оставляют 1 мл осадка. Осадок перемешивают, заполняют камеру, производят подсчет клеток в 1 мм³ (см. выше).

Расчет. Полученное число элементов в 1 мм³ умножают на 1000 (1 мл осадка = 1000 мм³) и делят на 10 (так как осадок получен из 10 мл). Полученное после деления число умножают на количество миллилитров мочи, собранной за 3 часа, и делят на 180 (3 часа). Найденное число соответствует количеству элементов, выделенных почками за 1 минуту (минутный объем).

Расчет выражается формулой:

$$H = x \cdot \frac{1000}{S} \cdot \frac{V}{t},$$

где: H — количество клеток в минутном объеме;

x — количество клеток в 1 мм³;

V — объем мочи за 3 часа;

S — количество мочи, взятое для центрифугирования;

t — время, за которое собрана моча.

Минутный объем в норме: лейкоцитов 2500, эритроцитов 2000.

Преимущество метода: 1) он более приемлем в условиях амбулаторной практики; 2) его считают более точным, так как аутолиз клеток маловероятен в условиях сбора мочи за короткий срок.

При необходимости цифры минутного объема можно рассчитать на 24 часа и таким образом получить число Каковского—Алдиса.

Интерпретация. Методы Каковского—Алдиса и Амбурже применяются в диагностике неясных или скрыто протекающих форм пиелонефрита, нефрита и пиелита.

ЭЛЕМЕНТЫ МОЧЕВОГО ОСАДКА

Различают организованный и неорганизованный осадок.

Организованный осадок

Эритроциты в мочевом осадке могут быть: 1) неизмененные, т. е. содержащие гемоглобин в виде дисков желтовато-зеленоватого цвета, и 2) измененные, свободные от гемоглобина, бесцветные, имеющие вид одноконтурных или двухконтурных колец. Такие эритроциты наблюдаются в моче с низким удельным весом, с высоким рН, при длительном пребывании их в моче; 3) эритроциты сморщенные, с неровными зубчатыми краями обнаруживаются в концентрированной моче с высоким удельным весом.

За эритроциты могут быть приняты такие элементы, как дрожжевые грибки или кристаллы оксалатов круглой формы. Дифференцировать эти элементы помогают следующие признаки:

1) грибки чаще овальной формы, почкующиеся, более резко преломляют свет и имеют голубоватый оттенок. Оксалаты обычно раз-

ной величины (от очень мелких до крупных), отличающиеся от размеров эритроцитов, и резко преломляют свет;

2) прибавление к препарату осадка капли слабой уксусной кислоты вызывает гемолиз эритроцитов с образованием бесцветных колец, в то время как грибки и оксалаты не изменяются.

Интерпретация. В нормальной моче взрослых и детей может быть незначительное количество эритроцитов (5 на 1 мм^3 мочи). При выделении 2500 эритроцитов в 1 мм^3 моча становится красной (макрогематурия). В случае микрогематурии эритроциты обнаруживаются микроскопически при нормальной окраске мочи.

Гематурии делят на почечные и внепочечные. Почечные гематурии связаны с органическим поражением почек (острые и хронические нефриты, нефрозо-нефриты, геморрагический диатез, злокачественные новообразования и пр.). Почечная гематурия может быть и функционального происхождения, связанная с повышением проницаемости почечного фильтра, наблюдается при физических перенапряжениях (например, у футболистов после матча и др.).

Внепочечные гематурии развиваются при заболеваниях мочевого пузыря, лоханок, мочеточников, травмах.

Лейкоциты обнаруживаются в моче в виде небольших зернистых клеток округлой формы. В моче с низким удельным весом лейкоциты разбухают и становятся больших размеров. При длительном стоянии мочи, при наличии большого количества бактерий в лейкоцитах наблюдаются дегенеративные изменения, распад.

Лейкоциты в моче представлены главным образом нейтрофилами и содержатся в небольшом количестве в нормальной моче (до 2 000 000 в сутки).

Интерпретация. Увеличение лейкоцитов до очень больших количеств (пиурия) свидетельствует о воспалительных процессах в почках и мочевыводящих путях (туберкулез почки, пиелиты, циститы, пиелонефриты и др.). У женщин лейкоциты могут попадать в мочу из половых органов, поэтому в случае пиурии мочу следует повторно взять катетером. Иногда в моче обнаруживают эозинофилы, отличающиеся от других лейкоцитов обильной равномерной, слегка преломляющей свет зернистостью. Наличие их может указывать на циститы и пиелиты аллергической природы.

Видоизмененные лейкоциты, так называемые клетки Штернгеймера—Мельбина. Для их обнаружения предложен реактив следующего состава.

Раствор № 1: генцианвиолета 3 г, этилового спирта 20 мл, оксалата аммония 0,8 г, дистиллированной воды 80 мл.

Раствор № 2: сафранина 0,25 г, этилового спирта 10 мл, дистиллированной воды 100 мл.

Рабочий раствор: 3 части первого раствора + 97 частей второго. Сохраняется в течение 3 месяцев.

Ход определения. Центрифугируют свежую утреннюю мочу. К осадку прибавляют 1—2 капли реактива, размешивают, каплю берут на стекло, покрывают покровным и микроскопируют. При этом различают два вида лейкоцитов: одни имеют ядро пурпурно-красного цвета и бесцветную или бледно-розовую протоплазму, другие бледно-синие, иногда бледно-фиолетовое ядро и почти бесцветную протоплазму. Бледно-синие клетки называются клетками Штернгеймера—Мельбина, в цитоплазме которых заметно активное движение гранул.

Интерпретация. Клетки Штернгеймера — Мельбина не имеют специфического значения, но при пиелонефрите их находят почти в 95% случаев. Поэтому отсутствие их ставит этот диагноз под сомнение.

Эпителиальные клетки. В мочевом осадке при микроскопическом исследовании обнаруживают клетки плоского, переходного и почечного эпителия.

Клетки плоского эпителия полигональной или округлой формы, больших размеров (в 3—4 раза больше лейкоцита), бесцветные, с небольшим ядром, располагаются в виде отдельных экземпляров или пластинами.

Клетки плоского эпителия попадают в мочу из влагалища, наружных половых органов и частично из мочеиспускательного канала, выстланного многослойным плоским эпителием.

Интерпретация. Особого диагностического значения клетки плоского эпителия не имеют. В большом количестве их обнаруживают в моче женщин, собранной без соответствующего туалета. Пласты клеток плоского эпителия в моче, взятой катетером, указывают на измененное состояние слизистой оболочки мочевого пузыря (метоплазия). Такая картина наблюдается при лейкоплакии мочевого пузыря и мочеточников, что рассматривается как предраковое состояние.

Клетки переходного эпителия различной формы (полигональные, «хвостатые», цилиндрические, округлые) и величины (в 3—8 раз больше лейкоцита) имеют желтоватую окраску, интенсивность которой зависит от концентрации мочи и наличия пигментов¹, имеют довольно крупное ядро. Среди клеток часто встречаются двухъядерные и многоядерные экземпляры. В клетках часто имеются дегенеративные изменения в виде грубой зернистости и вакуолизации цитоплазмы.

Переходный эпителий выстилает слизистую оболочку мочевого пузыря, мочеточников, почечных лоханок, крупных протоков предстательной железы и простатического отдела мочеиспускательного канала.

Интерпретация. В нормальной моче встречаются единичные клетки. Усиленная эксфолиация клеток может быть при острых воспалительных процессах мочевого пузыря и лоханок, интоксикациях, инструментальных урологических исследованиях (цистоскопия, катетеризация и пр.), а также при почечнокаменной болезни и новообразованиях мочевого пузыря.

Клетки почечного эпителия неправильной круглой формы, угловатые или четырехугольные, небольших размеров (в 1½—2 раза больше лейкоцита), слегка желтоватого цвета. В цитоплазме клеток обычно выражены дегенеративные изменения: зернистость, вакуолизация, жировая инфильтрация. В результате этих изменений ядра часто не выявляются. Клетки почечного эпителия относятся к кубическому и призматическому эпителию, выстилающему почечные каналы.

Интерпретация. Клетки почечного эпителия в нормальной моче не обнаруживаются. Наблюдается появление их в моче при нефри-

¹ Полиморфизм клеток переходного эпителия объясняется строением переходного эпителия.

тах, особенно в большом количестве при нефрозах, интоксикациях, лихорадочных состояниях и инфекционных заболеваниях, расстройствах кровообращения и пр. Клетки почечного эпителия в состоянии жировой дистрофии встречаются при хроническом нефрозе (амилоидно-липидном), некоторых острых отравлениях, лечении препаратами висмута. Эти клетки более крупных размеров, с наличием каплей жира, резко преломляющих свет. При распаде клеток капли жира лежат свободно. При добавлении к осадку раствора судана III капли жира окрашиваются в оранжевый цвет, что облегчает распознавание в клетках жировой дистрофии. Обнаружение липоидов в моче имеет значение для диагностики амилоидно-липидного нефроза и производится в поляризационном микроскопе (см. «Липоиды»).

В практической работе лабораторий при дифференцировании эпителиальных клеток употребляются термины «круглые клетки», «хвостатые» и пр. Такие термины нельзя считать правильными, так как они не отображают принадлежность клеток к той или другой эпителиальной ткани, а следовательно, нельзя определить, к какому отделу мочевыделительной системы они относятся. Между тем термины «почечный эпителий», «переходный эпителий», «плоский эпителий» указывают на локализацию процесса.

При дифференцировании клеток важно учитывать окружающий фон препарата и помнить, что такие факторы, как pH среды, осмотическое давление, концентрация мочи, продукты жизнедеятельности бактерий, изменяют морфологию клеток.

Цилиндры представляют собой белковые или клеточные образования канальцевого происхождения, имеют цилиндрическую форму и различную величину. В мочевом осадке различают следующие виды цилиндров: гиалиновые, зернистые, восковидные, эпителиальные, эритроцитарные, гемоглобиновые, лейкоцитарные.

Гиалиновые цилиндры имеют нежные контуры, прозрачны, при ярком освещении плохо заметны. На поверхности может быть легкая зернистость за счет аморфных солей или клеточного детрита. Образуются при свертывании белка.

Зернистые цилиндры имеют более резкие контуры, состоят из плотной зернистой массы желтого цвета или бесцветные. Образуются из распавшихся клеток почечного эпителия, а также при свертывании белка в результате изменений физико-химических условий в канальцах.

Восковидные цилиндры имеют резко очерченные контуры, гомогенную с блеском структуру слегка желтоватого цвета. Образуются из уплотненных гиалиновых цилиндров при задержке их в канальцах.

Эпителиальные цилиндры имеют четкие контуры, состоят из клеток почечного эпителия.

Эритроцитарные цилиндры желтоватого цвета состоят из массы эритроцитов, образуются при почечной гематурии.

Гемоглобиновые цилиндры коричневатого цвета, состоят из продуктов распада гемоглобина, схожи с зернистыми цилиндрами.

Лейкоцитарные цилиндры образуются из массы лейкоцитов, обнаруживаются при гнойных процессах в почках.

Кроме цилиндров, образованных из белка и клеток, в мочевом осадке встречаются иногда образования цилиндрической формы из

аморфных солей, не имеющие практического значения. Эти образования растворяются путем подогревания препарата или прибавлением к препарату капли щелочи или кислоты. Образованию цилиндров способствуют следующие условия: 1) кислая среда (рН 4,8—5,3); 2) определенное соотношение осаждаемого и осаждающего коллоида. Нарушенным соотношением коллоидов в моче можно объяснить расхождение между количеством белка и наличием цилиндров; 3) измененное состояние внутренней поверхности канальца.

Интерпретация. В нормальной моче может быть небольшое количество гиалиновых цилиндров (2000—20 000 за сутки). Появление большого количества различных цилиндров (цилиндрурия) наблюдается при органических поражениях почек (нефриты, нефрозы и пр.), различных патологических состояниях (инфекционные болезни, застойная почка, состояния ацидоза, лихорадка). Цилиндрурия может быть у здоровых людей после тяжелой физической нагрузки. Вид цилиндров особого диагностического значения не имеет. Существенными являются их присутствие в моче, количество и окружающий фон препарата.

Неорганизованный осадок

Неорганизованный осадок мочи состоит из солей, выпавших в осадок в виде кристаллов или аморфных масс. Характер солей зависит от коллоидного состояния мочи, рН и других свойств. При кислой реакции мочи обнаруживаются:

Мочевая кислота — полиморфные кристаллы (ромбической, шестигранной формы, вид бочонков, брусков и др.), окрашенные в желтый цвет (иногда бесцветные). Кристаллы мочевой кислоты растворяются в щелочах, не растворяются в кислотах. Макроскопически в осадке мочи имеют вид золотистого песка.

Ураты — аморфные мочекислые соли. Располагаются кучками желтовато-коричневатого цвета. Растворяются при нагревании и при добавлении щелочей. При действии кислот (уксусная или соляная) постепенно превращаются в бесцветные кристаллы мочевой кислоты ромбической формы. Макроскопически ураты после центрифугирования имеют вид плотного кирпично-розового осадка. В таких случаях необходимо освободиться от солей, так как они мешают микроскопическому исследованию. С этой целью используют реактив Селена (4 г буры и 4 г борной кислоты растворяют в 100 мл дистиллированной воды). В центрифужную пробирку после удаления надосадочной мочи наливают реактив Селена, смешивают, центрифугируют вновь и микроскопируют осадок.

Щавелевокислая известь (оксалаты) встречается в кислой моче, но может быть и в моче со щелочной реакцией. Кристаллы имеют форму октаэдров («почтовые конверты»), а также круглую или овальную форму. Растворяются в соляной кислоте, не растворяются в щелочи и уксусной кислоте.

Углекислый кальций в форме мелких шариков. Растворяется в кислотах, выделяя углекислоту.

При щелочной реакции мочи обнаруживают:

Кислый мочекислый аммоний (в моче детей может быть при кислой реакции). Имеет форму гирь и шаров, часто с отростками. Растворяется при нагревании и в щелочах. При добавлении кислот (соляная или уксусная) образуются бесцветные ромбические кристаллы мочевой кислоты.

Трипельфосфаты — бесцветные кристаллы в форме «гробовых крышек». Растворяются в кислотах, не растворяются в щелочах.

Фосфаты — аморфные массы солей сероватого цвета часто вместе с трипельфосфатами. Растворяются в кислотах, не растворяются в щелочах. Макроскопически осадок белого цвета.

Нейтральная фосфорнокислая известь — кристаллы клиновидной формы, часто располагающиеся розетками, бесцветные (иногда могут быть в моче при слабкокислой реакции). Растворяются в кислотах, не растворяются в щелочах.

Интерпретация. Особого диагностического значения неорганизованный осадок не имеет. Большое количество кристаллов мочевой кислоты и уратов встречается при лихорадочных состояниях, процессах, связанных с массивным распадом клеток (лейкозы, опухоли), при почечнокаменной болезни и др.

В патологической моче встречаются:

Цистин — имеет вид шестигранных бесцветных прозрачных плиток, обнаруживается при кислой реакции мочи. Растворяется в щелочах, аммиаке, минеральных кислотах. Не растворяется в уксусной кислоте, спирту, ацетоне, эфире.

Тирозин — кристаллы в виде тонких игл, собранных в пучки. Обнаруживается в моче с кислой реакцией. Растворяется в щелочи, минеральных кислотах. Нерастворим в спирту, ацетоне, эфире.

Лейцин — блестящие мелкие шары с радиальной и концентрической исчерченностью. Встречаются в моче с кислой реакцией. Растворяются в минеральных кислотах и щелочах. Не растворимы в спирту, ацетоне, эфире.

Нахождение этих кристаллов имеет диагностическое значение, поэтому для распознавания их недостаточно одних морфологических признаков. Необходимо использовать все микрохимические реакции, характерные для них, так как некоторые формы этих кристаллов имеют сходство с кристаллами мочевой кислоты, жиром, нейтральной фосфорнокислой известью.

Интерпретация. Кристаллы лейцина, тирозина и цистина наблюдаются при подострой дистрофии печени, отравлениях фосфором.

Жирные кислоты имеют вид тонких игл, иногда собранных в пучки. Встречаются редко, при патологических процессах, сопровождающихся жировой дистрофией и распадом клеток.

Холестерин имеет вид тонких четырехугольных бесцветных пластинок с обломанным углом. Обнаруживаются при патологических процессах, сопровождающихся распадом и жировой дистрофией клеток. В моче встречается редко.

Билирубин — кристаллы в виде мелких желтовато-коричневых иголок, складывающихся в пучки или в виде зернышек. Обнаруживаются в моче с желчными пигментами. Билирубин растворяется в щелочах и хлороформе. С азотной кислотой дает зеленое окрашивание.

Гематондин — кристаллы в форме ромбов или иголок, которые могут складываться в пучки и звезды. Цвет золотисто-желтый. Являются продуктом распада гемоглобина. В своей молекуле не содержат железа. Образуются в некротизированной ткани, в глыбине гематом и в больших участках кровоизлияний.

Гемосидерин — золотисто-желтые аморфные зернышки, находящиеся внутри клеток (в отличие от гематондина). Представ-

ляет продукт распада гемоглобина и дает положительную реакцию на берлинскую лазурь, так как содержит железо. Обнаруживается при внутрисосудистом гемолизе (болезнь Маркиафава—Микели).

Липоиды обнаруживаются в поляризационном микроскопе, где они дают двойное преломление света. Двойкопреломляющие свет капли жира внутри- и внеклеточные имеют вид блестящего креста на темном фоне.

Обнаруживаются при нефрозах (особенно амилоидно-липидных).

Лекарственные кристаллы встречаются при приеме некоторых медикаментов.

Кристаллы пиримидона выпадают в виде коричневатых иголок, похожих на кристаллы билирубина, но длиннее, образующих пучки и звезды. Цвет мочи при этом розовато-красноватый.

Кристаллы сульфаниламидных препаратов отличаются большим полиморфизмом. Почти всегда окрашены в желтоватый цвет, имеют вид снопов, шаров, брусков и т. д. Многие из них имеют сходство с кристаллами мочевой кислоты. Распознавание их производится при помощи индикаторной бумажки.

Реактив. 1 г парадиметиламидобензальдегида, 2 мл концентрированной HCl, 98 мл 2,24% раствора химически чистой щавелевой кислоты.

Приготовление индикаторной бумаги. Фильтровальную бумагу пропитывают реактивом, высушивают, нарезают тонкими небольшими полосками, хранят в темном месте. Полоску бумаги опускают в осадок мочи. В присутствии кристаллов сульфаниламидных препаратов бумажка дает моментальное ярко-желтое окрашивание.

ИССЛЕДОВАНИЕ МОЧИ НА ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ

Опухолевые клетки могут быть обнаружены в моче, в отсеке и смыве из мочевого пузыря.

Метод Эрлиха

Ход исследования. Свежевыделенную утреннюю мочу отстаивают 1—2 часа. Пипеткой со дна собирают осадок и центрифугируют. Отстоявшуюся мочу разливают небольшими порциями в чашки Петри, просматривают на черном и светлом фоне и извлекают (если есть) плотноватые частицы сероватого и красноватого цвета, которые помещают на предметное стекло, растягивают и покрывают покровным. Другие препараты готовят из осадка после центрифугирования. Мочу для исследования на опухолевые клетки нельзя брать после урологического инструментального обследования, так как травмирование слизистой оболочки может привести к повышенной экфолиации клеток и к их деформации, в результате чего может быть ошибочное толкование.

Получение отсоса из мочевого пузыря

При подозрении на опухолевый процесс мочевого пузыря можно взять отсос. После опорожнения мочевого пузыря вводят катетер. На свободный конец катетера надевают шприц Жане и отсасывают содержимое пузыря. Из добытого материала готовят препараты.

Получение смыва мочевого пузыря¹

Смыв производится следующим раствором: 96° спирта 15 мл, 1% раствора новоканна 81 мл. Раствор готовят стерильно. Для процедуры необходимо 50—100 мл раствора.

Мочевой пузырь освобождают, промывают и на 10 минут вводят указанный выше раствор (для усиления эксфолиации клеток). Затем пузырь опорожняют (у женщины с помощью катетера). Полученный материал центрифугируют. Из осадка готовят препараты, которые сначала просматривают в нативном виде. При наличии подозрительных клеток фиксируют и красят по Романовскому. В нативном препарате не всегда можно уловить все признаки злокачественности клеток. Поэтому требуется обязательное сочетание исследования нативного и окрашенного препарата.

Признаки злокачественности клеток: 1) полиморфизм величины, а часто и формы клеток; отдельные клетки могут быть гигантских размеров; 2) нарушения ядерно-протоплазменного соотношения в сторону увеличения ядра, иногда до гигантских размеров; 3) неправильная, часто уродливая форма ядра; 4) наличие в ядрах нуклеол, часто больших, множественных, неправильной формы; 5) часто встречающиеся клеточные митозы; 6) способность клеток к фагоцитозу; 7) химическая анаплазия, гиперхромия ядра и резкая базофилия цитоплазмы отдельных клеток.

Небольшое количество одиночно расположенных клеток с перечисленными признаками не считается достоверным. Для подтверждения диагноза необходимо искать групповое их расположение и в виде комплексов. Для распознавания клеток с признаками злокачественности требуется просмотр большого количества препаратов и опыт исследователя.

Злокачественные опухоли могут подвергаться распаду и некрозу. Присутствие в препаратах клеток с дегенеративными явлениями (резкая вакуолизация, жировая дистрофия, детрит) и продуктов тканевого распада (гематоидин, холестерин, некротизированные тканевые клочки) является подозрительным на злокачественную опухоль. Такой материал требует особо тщательного исследования. Клетки злокачественных опухолей находят в моче при опухолях мочевого пузыря, предстательной железы и др. При опухолях половых органов и женской половой сферы опухолевые элементы также могут попадать в мочу. При опухолях почек злокачественные клетки в моче находят чрезвычайно редко. Подозрительными признаками на злокачественный процесс почки являются: 1) наличие в мочевом осадке кристаллов гематоидина, 2) жирнопереожденных клеток, 3) мелких некротизированных клочков и эритроцитов.

¹ В. Г. Кузьмин. Вопросы онкологии, 1963, № 11.

БАКТЕРИОСКОПИЧЕСКОЕ И БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МОЧИ

В случае необходимости выяснения инфекционной природы заболевания мочевой системы прибегают к посеву, для чего мочу собирают в стерильную посуду. Бактериоскопическое исследование производят главным образом с целью обнаружения туберкулезных микобактерий.

Сбор мочи. Утреннюю порцию мочи собирают в стерильную посуду, отстаивают 1—2 часа. Образовавшийся осадок собирают пипеткой в центрифужную пробирку, центрифугируют. Из осадка готовят препараты, хорошо высушивают (плохо высушенные препараты сползают при окраске), фиксируют и красят по Цилю — Нильсену (см. «Мокрота»).

МОЧЕВЫЕ КАМНИ

Мочевые камни могут быть мочекислые, оксалатовые, фосфатные, цистинные.

Посуда и оборудование. 1. Платиновая пластинка.

2. Ступка фарфоровая.

3. Пробирки.

4. Центрифуга.

5. Фарфоровый тигель.

Реактивы. 1. Соляная кислота.

2. Азотная кислота.

3. Аммиак.

4. Ледяная уксусная кислота.

5. Молибденовокислый аммоний.

6. 30% раствор едкого натра.

Ход исследования. Камень измельчают в ступке. Частицы камня сжигают на листочке платины. Если остаются преимущественно несгорающие частицы, — это фосфаты, карбонаты, щавелевокислая известь. Если частицы сгорают, — это мочевиная кислота, цистин, ксантин, фибрин. Присутствие оксалатов дает своеобразное красное тление, при этом образуется окись кальция, которая изменяет цвет фенолфталеиновой бумаги, смоченной в воде, на красный. Цистин горит синеватым пламенем и дает запах серной кислоты. Другую часть порошка растворяют в крепкой соляной кислоте. Та часть, которая растворяется, — раствор А, нерастворенная часть — осадок I.

Осадок I. Нерастворенными остаются органические субстанции и мочевиная кислота. Осадок отделяют центрифугированием. Часть его осторожно выпаривают в фарфоровом тигле с каплей азотной кислоты до высыхания: мочевиная кислота дает покраснение, добавление аммиака — пурпурно-красное окрашивание, а добавление едкого натра — сине-фиолетовое (мурексидная проба).

Другую часть сжигают на листочке платины. При сгорании мочекислых соединений появляется запах синильной кислоты.

Раствор А (солянокислый) может содержать щавелевокислую и сернокислую известь, фосфаты, цистин, ксантин.

Прибавляют немного аммиака, выпадает осадок (II) из фосфатов и оксалатов. Осадок II отделяют центрифугированием и прибавляют к нему ледяную уксусную кислоту и воду. Растворяются

фосфаты (раствор Б), нерастворимыми остаются оксалаты, а также цистин. Центрифугируют, получают осадок III. Осадок III: оксалаты растворяют в соляной кислоте. При нейтрализации аммиаком они вновь выпадают. При сжигании частицы осадка происходит тление и образуется щелочно реагирующий порошок.

Раствор Б. Уксуснокислый раствор делят на две пробирки. В одну прибавляют немного оксалата аммония. Если в растворе находилась фосфорнокислая известь, то она выпадает в виде кристаллов щавелевокислого кальция. Их отфильтровывают и к фильтрату (раствор Б) прибавляют аммиак $\frac{1}{3}$ объема. Появление кристаллического осадка указывает на присутствие магнезии и фосфорнокислых солей.

Во вторую пробирку прибавляют несколько капель азотной кислоты и молибденовокислого аммония, слегка подогревают. Пожелтение и выпадение небольшого осадка доказывают присутствие фосфорной кислоты. Это говорит о наличии фосфата кальция.

Проба на карбонаты. На предметное стекло помещают каплю соляной кислоты и немного измельченного камня. Под микроскопом наблюдают за выделением пузырьков углекислоты.

Проба на аммиак. Часть измельченного камня переносят в пробирку и взвешивают в воде, прибавляют немного 30% раствора едкого натра, слегка подогревают, держа над пробиркой красную лакмусовую бумажку. Пары аммиака вызывают посинение бумаги. Если обе последние пробы дают отрицательный результат, то камень не содержит магниальных соединений.

ДИАСТАЗА

Принцип основан на переваривании крахмала диастазой.

Посуда и оборудование. 1. Штатив.

2. Пробирки.

3. Градуированные пипетки.

4. Химический стакан на 200 мл.

5. Мерные колбы на 100 мл.

6. Водяная баня.

7. Термометр.

Реактивы. 1. Физиологический раствор (0,85% раствор хлорида натрия).

2. Буферный раствор фосфата рН 7,2.

3. Тoluол.

4. Раствор крахмала: 60—70 мл физиологического раствора нагревают до кипения. В отдельную пробирку наливают 2—3 мл физиологического раствора и всыпают туда 1 г растворимого крахмала, тщательно размешивают его стеклянной палочкой, вливают его тонкой струей в кипящий физиологический раствор и смешивают. Пробирку несколько раз ополаскивают небольшими порциями физиологического раствора, выливая их в тот же стакан, дают вскипеть. По охлаждении переносят в мерную колбу на 100 мл и доливают физиологический раствор до метки. Этот 1% раствор крахмала разводят в 10 раз физиологическим раствором. К 90 мл полученного 1% раствора крахмала приливают 10 мл буферного раствора фосфатов с рН 7,2 и 10 мл толуола (при хранении в прохладном темном

месте раствор стоек в течение 3 месяцев). При отсутствии фосфатного буфера 1‰ раствор крахмала годен в течение нескольких дней

5. Приблизительно 0,02 N раствор йода: 20 мл 0,1 N раствора отмеривают в мерную колбу емкостью в 100 мл и доводят до метки водой. Можно пользоваться раствором Люголя.

Ход исследования. 1. В штатив ставят 15 пробирок, разливают в каждую пробирку, кроме первой, по 1 мл физиологического раствора.

2. В первую и вторую пробирку наливают по 1 мл испытуемой мочи, смешивают.

3. Из второй пробирки переносят 1 мл смеси в третью, смешивают и 1 мл смеси переносят в четвертую и т. д. до пятнадцатой, из которой 1 мл смеси выливают. Объем жидкости в каждой пробирке 1 мл. Разведения смеси начиная со второй пробирки: 2, 4, 8 и т. д.

4. В каждую пробирку наливают по 2 мл 1‰ раствора крахмала и ставят весь штатив на 15 минут в водяную баню при 45°, после чего штатив переносят в холодную воду (для прекращения действия фермента).

5. После этого в каждую пробирку вносят по одной капле 0,02 N раствора йода и наблюдают за стойкостью окрашивания в пробирках (синего, красно-синего, красного или желтого). Если окраска исчезает быстро, то прибавляют по каплям йод, пока она не будет исчезать несколько минут.

Расчет. В той пробирке, где жидкость окрашена в синий цвет, диастатического действия нет. Оно закончилось в предыдущей пробирке, которую и берут для расчета.

Например: в шестой пробирке имеется непереваренный крахмал. Вычисляют, какое количество мочи содержится в пятой пробирке (разведение 1:16), где нет синего оттенка. $\frac{1}{16}$ мл мочи переваривает 2 мл крахмала, 1 мл мочи — 32 мл крахмала.

Результат: d (диастаза) $\frac{45^\circ}{15} = 32$ единицы.

Интерпретация. В нормальной моче диастаза содержится в небольшом количестве—16—64 единицы. Количество выше 128 единиц указывает на патологию (панкреатит, некроз поджелудочной железы, заболевание желчных путей). При продолжительной закупорке протока поджелудочной железы количество диастазы в моче может снизиться. При почечной недостаточности диастаза в моче отсутствует.

ЖЕЛУДОЧНОЕ СОДЕРЖИМОЕ

Исследование желудочной секреции может производиться методами желудочного зондирования и беззондовыми методами.

МЕТОДЫ ЖЕЛУДОЧНОГО ЗОНДИРОВАНИЯ

- Посуда и оборудование.**
1. Толстый зонд (длина 75 см, толщина 10—12 мм).
 2. Тонкий зонд (длина 1,5 м, толщина 3—5 мм).
 3. Лотки.
 4. Бюретки.
 5. Штатив Бунзена.
 6. Химические стаканчики на 50—100 мл.
 7. Воронки.
 8. Градуированные пипетки.
 9. Пробирки.
 10. Штативы для пробирок.
 11. Стекла предметные.
 12. Стекла покровные.
 13. Баня водяная.
 14. Термометр.
 15. Чашки Петри.
 16. Пипетки с баллонами.

ОДНОМОМЕНТНЫЙ СПОСОБ

Извлечение содержимого желудка с помощью толстого зонда производят натощак или после пробного завтрака. Чаще применяют пробный завтрак Боаса — Эвальда: 35 г черствого белого хлеба и 400 мл некрепкого чая. Детям дают 20—25 г хлеба и 150—200 мл чая. Предложенные пробные завтраки в виде обеда и др. употребляются реже.

Больной должен возможно медленнее и тщательнее прожевывать завтрак в течение 10 минут для предотвращения закупорки зонда комками хлеба. Извлечение желудочного содержимого производят через 60 минут (по Боасу — Эвальду). Взятие через 45 минут считают более удобным, так как откачиваемой жидкости в это время больше, а извлечение производится более легко. С другой стороны, это менее целесообразно, так как за это время происходит меньшая

подготовка пробного завтрака для дальнейшего кишечного переваривания. Если через 45 минут после пробного завтрака желудочный сок не получен, на следующий день следует повторить зондирование через 25—30 минут. В этих случаях лучше исследовать фракционным методом.

Перед исследованием желудочного содержимого больной накануне с вечера не должен ничего есть, пить и курить. После приема пробного завтрака до извлечения желудочного сока больной должен находиться в спокойном состоянии. После введения зонда обязательно извлекают все желудочное содержимое. При преждевременном извлечении зонда желудочное содержимое откачивается в меньшем количестве, что не дает представления об истинном его количестве и об истинной секреции, так как пищевая масса, располагающаяся в желудке слоями, содержит неодинаковую концентрацию соляной кислоты в каждом слое.

Метод извлечения желудочного содержимого толстым зондом прост, доступен и относительно легко переносится больными. Недостатком его является неполное отображение процесса секреции, так как содержимое желудка извлекается в какой-то отдельный момент секреции. Кроме того, производится анализ не чистого желудочного сока, а смеси его с пробным завтраком.

МНОГОМОМЕНТНЫЙ СПОСОБ (ФРАКЦИОННЫЙ)

При фракционном методе исследования желудочное содержимое добывают тонким зондом. В этом случае применяют разнообразные, главным образом жидкие пробные завтраки: спиртовой (15 мл спирта и 285 мл воды), кофенный (0,2 г кофеина и 400 мл воды), бульонный, капустный (7—10% отвар капустного порошка), пивной и др. Для этого метода также можно использовать хлебный завтрак Боаса—Эвальда, для чего была предложена специальная олива (Э. Г. Соловей).

Добывание содержимого тонким зондом

Зонд вводят натощак. При помощи шприца извлекают все желудочное содержимое или же производят повторные отсасывания в течение 30 минут. Затем через воронку вводят жидкий пробный завтрак. После введения каждые 10 или 15 минут отсасывают шприцем по 10 мл желудочного содержимого, которое помещают в отдельные пробирки. Откачивание производят до момента эвакуации пробного завтрака (т. е. до момента исчезновения голубой окраски, если пробный завтрак был подкрашен метиленовой синькой) или хлеба (если применялся завтрак Боаса—Эвальда). После этого откачивают каждые 15 минут в течение часа и определяется часовое напряжение секреции, т. е. количество желудочного сока, полученное за единицу времени.

Метод двойного зонда¹

Двойной зонд состоит из двух тонких резиновых трубок. На конце одной из них имеется резиновый баллон, другой конец свободен.

¹ К. М. Быков и И. Т. Курцин, *Терапевтический архив*, 1949, № 1.

Зонд вводится натошак и откачивается содержимое. Затем через трубку, соединенную с баллоном, в желудок нагнетают воздух до объема 250 мл. При этом создается умеренное растяжение желудка (как бы пищевыми массами). Через вторую трубку вводят химический раздражитель — 300 мл 5% алкоголя или 200 мл капустного сока. Этот метод позволяет получить чистый желудочный сок раздельно в обе фазы сокоотделения — сложнорефлекторную и нервно-химическую. Авторы считают, что с помощью этого метода можно дать оценку состояния эвакуаторно-моторной деятельности желудка, установить тип желудочной секреции и оценить функциональное состояние нервно-железистого аппарата. Однако сложность методики и длительность исследования ограничивают возможность широкого его применения. Поэтому данный метод используют главным образом с научно-исследовательской целью¹.

Фракционный метод исследования более точен и позволяет судить о секреторной и отчасти моторной функции желудка в динамике. Для суждения об этом обращают внимание на количество сока, полученное натошак (в норме 50—60 мл), максимальный подъем секреции (в норме через 60 минут) и часовое напряжение (в норме 50—100 мл в час). Отрицательными сторонами этого метода являются: 1) многочисленность предложенных пробных завтраков, что затрудняет их выбор (обладают различным сокогонным эффектом); 2) предложенные завтраки жидкие, что исключает жевательный акт, имеющий большое значение; 3) отсутствует давление, создаваемое комком пищи на стенку желудка, и 4) отсутствует влияние психического фактора, связанного с приемом пищи.

В настоящее время из всех жидких пробных завтраков большее преимущество отдается капустному (7% отвар сухой капусты). Пробный завтрак из раствора кофенна обладает слабым и неопределенным действием. Алкогольный завтрак не может быть отнесен к физиологическим пищевым раздражителям. Под влиянием спирта происходит частичное слущивание эпителия, что приводит к увеличению слизи в желудочном соке. При фракционном методе исследования, кроме жидких пробных завтраков, можно использовать хлебный завтрак (по Э. Г. Соловью). Хлебный завтрак физиологичен (участвует акт жевания и создается давление комка пищи на стенку желудка), и при этом можно судить о моторной функции желудка.

Противопоказаниями к извлечению желудочного содержимого зондом являются: гипертония, декомпенсация сердечной деятельности, портальная гипертензия, склонность к кровотечениям, аневризма аорты, острые отравления и ожоги слизистой оболочки пищевода и желудка, беременность и др.

ИССЛЕДОВАНИЕ ЖЕЛУДОЧНОГО СОДЕРЖИМОГО

У здорового человека натошак желудок пуст или может содержать до 50 мл сока. Содержимое кислой реакции, свободная соляная кислота не обнаруживается (химическое и микроскопическое исследование см. ниже).

¹ А. Я. Губергриц. Диагностическое значение результатов лабораторных исследований. Медгиз, М., 1960.

При получении свыше 40—50 мл сока и наличии свободной соляной кислоты чаще можно думать о гиперсекреции. Нахождение остатков пищи, видимых макроскопически или при микроскопическом исследовании (например, мышечные волокна, жир, растительная клетчатка и пр.), указывает на нарушение эвакуаторной функции желудка.

ФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

Количество желудочного содержимого, добытое толстым зондом после пробного завтрака, при нормальной секреции 100—120 мл. Большое количество (200—300 мл) может быть при замедленном опорожнении желудка, повышенной секреции, расширении желудка. Меньшее количество (20—40 мл при условии, если желудок полностью опорожнен) может быть при ускоренной эвакуации содержимого и при пониженной секреции, но чаще эти нарушения бывают одновременно.

Коэффициент расслоения. При стоянии желудочное содержимое делится на два слоя — жидкий и плотный. При нормальной секреции соотношение жидкой части и плотной равно 1:1 или 1:2. При увеличении жидкой части можно думать о гиперсекреции, а при увеличении плотной — о замедленной эвакуации. Но этот признак ненадежен.

Химификация (степень измельчения) хлеба до некоторой степени позволяет судить о состоянии секреторной функции (о наличии соляной кислоты и пепсина). Химификация может быть хорошая, если остаток пробного завтрака имеет вид гомогенной массы. Химификация может быть плохая при пониженной секреции и при плохом прожевывании хлеба (отсутствие или снижение соляной кислоты). В этом случае остаток пробного завтрака имеет вид комковатой массы.

Запах нормального желудочного содержимого слегка кисловатый или напоминает запах хлеба. При застое пищи в желудке, особенно при снижении или отсутствии соляной кислоты, запах может быть за счет образовавшихся продуктов брожения (масляная, уксусная и молочная кислоты). Гнилостный запах может быть при гниении белков пищи (застойные явления в результате стеноза привратника), а также и при распаде раковой опухоли.

Цвет нормального желудочного содержимого слегка сероватый. Примесь желчи окрашивает содержимое в желтый цвет (при ахилии) или в зеленый (при наличии свободной соляной кислоты). Присутствие крови изменяет окраску желудочного содержимого от красного до коричневого цвета в зависимости от количества крови и степени кислотности среды.

Слизь в очень небольшом количестве является нормальной составной частью желудочного содержимого. Для суждения о содержании слизи медленно переливают плотный осадок желудочного содержимого из одной посуды в другую. Следует придавать значение только той слизи, которая тесно перемешана с остатком пробного завтрака. Слизь, плавающая на поверхности или располагающаяся в виде грубых хлопьев и комков, обычно бывает из полости рта, носоглотки. При гастритах и других органических поражениях слизистой оболочки желудка нахождение слизи имеет некоторое диагностическое значение, так как она может быть в значительных количествах.

ХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Свободная соляная кислота

Качественная реакция с диметиламидазобензолом

Принцип. Использование индикатора, изменяющего цвет в присутствии свободной соляной кислоты.

Реактив: 0,5% спиртовой раствор диметиламидазобензола.

Ход исследования. В пробирку наливают небольшое количество (около 1 мл) желудочного сока и добавляют 1 каплю диметиламидазобензола. В присутствии свободной соляной кислоты появляется красное окрашивание. В отсутствие ее окрашивание желтое и розовато-желтое (цвет «семги»).

Реакция с бумажкой конго

Реактив: красная бумажка конго.

Ход исследования. Красную бумажку конго смачивают желудочным соком. В присутствии свободной соляной кислоты бумажка синееет.

Молочная кислота

Принцип. Качественные реакции основаны на появлении желто-зеленого цвета в результате образования молочно-кислого железа.

Проба с карболовой кислотой

Реактивы. 1. 1% раствор карболовой кислоты.

2. 10% раствор хлорного (полутрахлористого) железа.

Ход исследования. К 2—3 мл карболовой кислоты приливают 1 каплю хлорного железа. Полученный раствор темно-фиолетовой окраски разводят водой до светло-фиолетовой. Приливают по каплям профильтрованный желудочный сок. В присутствии молочной кислоты появляется лимонно-желтое окрашивание.

Реакция с хлорным железом

Реактив: 10% раствор хлорного (полутрахлористого) железа.

Ход исследования. К 15—20 мл дистиллированной воды приливают 2—3 капли хлорного железа. Вода окрашивается в слабо желтый цвет. Реактив разливают в две пробирки и в одну из них приливают по каплям желудочный сок; другая пробирка является контрольной. В присутствии молочной кислоты жидкость окрашивается в лимонно-желтый цвет. Для ясности в контрольную пробирку рекомендуется прибавить 2—3 капли слабого раствора молочной кислоты.

Присутствие свободной соляной кислоты снижает чувствительность этих проб. Поэтому при наличии свободной соляной кислоты следует проводить пробу с эфирной вытяжкой.

Проба с эфирной вытяжкой

- Реактивы.** 1. Эфир.
2. 10% раствор хлорного железа.
3. 1% раствор карболовой кислоты.

Ход исследования. 5—10 мл профильтрованного желудочного сока тщательно взбалтывают с 8—10 мл эфира. Верхний слой отсасывают пипеткой и переносят в стаканчик. Эфир выпаривают на водяной бане, остаток растворяют в 2—3 мл воды и с этим раствором производят одну из вышеуказанных проб на молочную кислоту.

Интерпретация. Молочная кислота в желудочном содержимом образуется в результате: 1) жизнедеятельности палочек молочно-кислого брожения, что наблюдается в застойном желудочном соке в отсутствие свободной соляной кислоты, и 2) как продукт метаболизма раковой клетки.

Кровь

Ввиду того что небольшие количества крови довольно легко могут попадать в желудочное содержимое при взятии его зондом, качественная реакция на кровь не имеет большого диагностического значения. Для решения вопроса о происхождении крови в желудочном содержимом большую роль играет исследование на кровь испражнений, которое надо производить обязательно до взятия желудочного содержимого (Способ определения см. «Кал»).

Количественное определение кислотности

Принцип. Раздельное титрование общей кислотности, свободной и связанной соляной кислоты желудочного содержимого ведется щелочью с применением индикаторов, которые в зависимости от pH среды меняют окраску. Индикатор фенолфталеин (индикатор на общую кислотность) в кислой среде остается бесцветным, в щелочной — окрашивается в розовый цвет. Индикатор диметиламидазобензол в присутствии свободной соляной кислоты окрашивается в ярко красный цвет, в ее отсутствие дает желтое или оранжевое окрашивание. Индикатор ализаринсульфоновокислый натрий дает слабо желтое окрашивание в кислой среде, при переходе в щелочную — фиолетовое. В присутствии этого индикатора оттитровываются все кислые валентности, за исключением связанной соляной кислоты.

Метод Михаэлиса

- Реактивы.** 1. 1% спиртовой раствор фенолфталеина.
2. 0,5% спиртовой раствор диметиламидазобензола.
3. 0,1 N раствор едкого натра.

Ход определения. Для титрования берут 5 мл профильтрованного желудочного сока. Все кислореагирующие вещества определяют в одной порции. Прибавляют 1—2 капли фенолфталеина и 1—2 капли диметиламидазобензола. Отмечают: 1) уровень щелочи в бю-

ретке перед началом титрования, титруют щелочью при постоянном помешивании;

2) уровень щелочи при переходе первоначально красного цвета в желтовато-розовый (цвет «семги»);

3) уровень щелочи при переходе цвета в лимонно-желтый в начале его появления;

4) уровень щелочи при переходе окраски в стойкий розовый цвет.

Р а с ч е т. Количество щелочи, пошедшее на титрование от первоначального уровня до цвета «семги» (т. е. разность между вторым и первым уровнями) соответствует количеству свободной соляной кислоты.

Количество щелочи, пошедшее на титрование от первоначального уровня до стойкого розового цвета (т. е. разность между четвертым уровнем и первым) соответствует общей кислотности.

Количество щелочи, пошедшее на титрование до уровня, который соответствует среднему арифметическому между третьим и четвертым, равно всей соляной кислоте (сумме свободной и связанной). Связанная соляная кислота определяется путем вычитания цифры свободной соляной кислоты из цифры, равной всей соляной кислоте.

Разность между общей кислотностью и суммой свободной и связанной соляной кислоты равна кислотному остатку (органические кислоты и кислореагирующие фосфаты).

П р и м е р. I уровень в бюретке 4

II	»	»	»	5,4 (цвет «семги»)
III	»	»	»	6 (цвет лимонно-желтый)
				6,4 среднее арифметическое
IV	»	»	»	6,8 (цвет розовый)

Для титрования взято 5 мл желудочного содержимого, расчет ведется на 100 мл. Поэтому количество потраченной щелочи при дальнейшем расчете умножается на 20 (если для титрования берется 10 мл, то умножается на 10).

1. Свободная HCl	$5,4 - 4 = 1,4 \times 20 = 28$.
2. Общая кислотность	$6,8 - 4 = 2,8 \times 20 = 56$.
3. Вся соляная кислота (свободная + связанная)	$6,4 - 4 = 2,4 \times 20 = 48$
4. Связанная соляная кислота	$48 - 28 = 20$
5. Кислотный остаток	$56 - 48 = 8$

Метод Тепффера

Принцип тот же.

Реактивы. 1. 1% спиртовой раствор фенолфталеина.

2. 0,5% спиртовой раствор диметиламиноазобензола.

3. 1% водный раствор ализаринсульфоновокислого натрия.

Ход определения. В 2 стаканчика наливают по 5 мл желудочного содержимого. В первой порции определяют общую кислотность и свободную соляную кислоту так же, как указано в методе Михаэлиса.

Во вторую порцию желудочного сока прибавляют 1 каплю индикатора ализаринсульфоновокислого натрия. Титруют до исчезновения желтой и до появления слабо фиолетовой окраски и высчитывают количество щелочи, пошедшей на титрование. В присутствии этого индикатора нейтрализуются все кислореагирующие вещества, за исключением связанной соляной кислоты. Количество связанной соля-

ной кислоты узнается путем вычитания количества щелочи, пошедшей на титрование второй порции из цифры общей кислотности.

Пример

Первая порция.

I	уровень щелочи в бюретке	2	(начало титрования)		
II	»	»	»	3,5	(цвет «семги»)
III	»	»	»	4,6	(розовый цвет)

Вторая порция.

- IV уровень щелочи в бюретке 6,6 (светло-фиолетовый цвет)
- Расчет. 1. Свободная соляная кислота $3,5 - 2 = 1,5 \times 20 = 30$.
2. Общая кислотность $4,6 - 2 = 2,6 \times 20 = 52$.
3. Все кислореагирующие вещества, кроме связанной соляной кислоты, $6,6 - 4,6 = 2 \times 20 = 40$.
4. Связанная соляная кислота $52 - 40 = 12$.

Титрование с ализаринсульфоновокислым натрием особенно рекомендуется при отсутствии свободной соляной кислоты, ибо в таких случаях связанная соляная кислота может быть иногда и в норме, и повышенной. Об отсутствии не только свободной, но и связанной соляной кислоты можно судить, если при добавлении в желудочное содержимое индикатора ализаринсульфоновокислого натрия сразу появляется фиолетовая окраска.

Метод определения кислотности в одной порции с тремя индикаторами¹

- Реактивы. 1. 1% спиртовой раствор фенолфталеина.
2. 0,5% спиртовой раствор диметиламидаозобензола.
3. Индикатор: 0,5 г метилрота, 0,5 г майгрюнвальда, 100 мл 50% спирта.

Ход исследования. Для титрования берут 5 мл желудочного содержимого. Добавляют 1 каплю фенолфталеина и 1 каплю диметиламидаозобензола. Титруют до появления цвета «семги», затем добавляют 1 каплю индикатора № 3; при этом цвет меняется и переходит в розовато-фиолетовый. Титруют до первоначального появления зеленого цвета и далее до появления розовой окраски.

При титровании этим методом связанную соляную кислоту определяют по количеству щелочи, пошедшей на титрование от начала зеленого цвета до розового.

Пример

I	уровень щелочи в бюретке	3			
II	»	»	»	4,8	(цвет «семги»)
III	»	»	»	5,2	(начало зеленого)
IV	»	»	»	6	(розовый).

1. Свободная соляная кислота $4,8 - 3 = 1,8 \times 20 = 36$.
2. Связанная соляная кислота $6 - 5,2 = 0,8 \times 20 = 16$
3. Общая кислотность $6 - 3 = 3 \times 20 = 60$.

¹ А. В. Брем. Клиническая медицина, 1952, № 8.

Микрохимический способ определения кислотности¹

Принцип. Титрование щелочью производится из микробюретки (при отсутствии ее можно заменить градуированной пипеткой на 1 мл или микропипеткой). Метод используется при получении небольших количеств желудочного сока. Титрование 2 или 2,5 мл сока, как это нередко делается, неточно и приводит к ошибочным результатам, особенно при сниженной секреции.

Оборудование: микробюретка или пипетки градуированные (0,2 или 1 мл).

Реактивы те же, что и для метода Михаэлиса.

Ход исследования. В стаканчик помещают 1 мл желудочного сока и 5 мл дистиллированной воды. Добавляют 1 каплю диметиламиноазобензола. Титруют 0,1 N раствором едкого натра и отмечают количество щелочи, пошедшее на титрование до цвета «семги». Прибавляют каплю фенолфталеина и титруют до розовой окраски.

Расчет. 1. Свободная соляная кислота = количеству щелочи, пошедшему на титрование до цвета «семги», умноженному на 100. Например: истрачено щелочи 0,4. Свободная соляная кислота = $0,4 \times 100 = 40$.

2. Общая кислотность = количеству щелочи, пошедшему на все титрование, уменьшенному на 0,05 и умноженному на 100. Например: на все титрование истрачено 0,6. Общая кислотность = $(0,6 - 0,05) \times 100 = 55$.

Величина 0,05 называется индикаторной поправкой. При резко сниженной кислотности более точные результаты получаются при индикаторной поправке, равной 0,03 мл.

Этот метод может быть использован также при титровании желудочного содержимого или рвотных масс, окрашенных желчью, кровью или примесью пищи. При обычном методе титрования в этих случаях посторонняя окраска мешает правильно определить изменение цвета в процессе титрования.

Количество свободной соляной кислоты (или общей кислотности) иногда выражают в миллиграмм-процентах. Известно, что 1 мл 0,1N раствора едкого натра эквивалентен 1 мл 0,1 N раствора соляной кислоты или 0,00365 г хлористого водорода. Поэтому, умножая 0,00365 на количество миллиметров 0,1 N раствора щелочи, пошедшей на титрование 100 мл желудочного сока, узнают процентное содержание соляной кислоты в исследуемом соке.

Интерпретация. Кислореагирующие вещества желудочного содержимого: свободная и связанная соляная кислота, органические кислоты и кислореагирующие фосфаты. Сумму их принято обозначать общей кислотностью.

Кислотность желудочного содержимого в норме: общая 40—60, свободная соляная кислота 20—40, связанная соляная кислота 10—20, кислотный остаток до 10 (чаще 4—6—8). Свободная соляная кислота содержится в желудке в виде диссоциированных ионов водорода и хлора, всегда присутствует при нормальной секреции.

Увеличение свободной соляной кислоты (гиперацидное состояние) наблюдается при гиперсекреции слизистой

¹ Ф. Г. Горбенко. Клиническая медицина, 1953, № 10.

желудка, язве двенадцатиперстной кишки и др. Понижение свободной соляной кислоты (гипацидное состояние) наблюдается при пониженной секреции, гастритах, опухолях желудка, инфекционных заболеваниях и пр. Отсутствие свободной соляной кислоты (анацидное состояние, ахлоргидрия) может быть при гастритах, опухолях, кишечных заболеваниях, атрофии слизистой оболочки желудка, болезни Аддисона — Вирмера. Гипацидное и анацидное состояния могут быть также при функциональном нарушении секреции (тяжелые психические переживания, рефлекторное торможение и др.). Связанная соляная кислота содержится в желудочном содержимом в виде недиссоциированных белково-соляных молекул, связанных с белками (воспалительный экссудат, белки распадающейся опухоли, белки пищи). Количество связанной кислоты увеличивается при гастритах, опухолях желудка, нарушениях моторной функции желудка и др. Органические кислоты — молочная, масляная, уксусная, валериановая — обнаруживаются иногда в желудочном содержимом в результате брожения, застоя или поступления их с пищей. Постоянного параллелизма между общей кислотностью и содержанием свободной соляной кислоты в желудочном содержимом не существует. Иногда наблюдается высокая общая кислотность при нормальной или даже низкой свободной соляной кислоте, что зависит от повышения органических кислот или увеличения связанной соляной кислоты.

Дефицит соляной кислоты

Дефицит соляной кислоты определяется в желудочном содержимом, не содержащем свободной соляной кислоты.

Принцип основан на добавлении к желудочному соку соляной кислоты до появления положительной качественной реакции на свободную соляную кислоту.

Реактивы. 1. 1% спиртовой раствор диметиламидаозобензола.
2. 0,1 N раствор соляной кислоты.

Ход исследования. К 5 мл (или 10 мл) профильтрованного желудочного сока прибавляют 1 каплю диметиламидаозобензола и титруют 0,1 N раствором соляной кислоты до появления красного цвета. Количество соляной кислоты, потраченное на 100 мл желудочного содержимого, соответствует дефициту соляной кислоты.

Интерпретация. При полном прекращении секреции на связывание белков в 100 мл желудочного содержимого расходуется 20 мл 0,1 N соляной кислоты. Дефицит соляной кислоты выше 20 мл может служить указанием на присутствие продуктов распада: гноя, крови, тканевого распада и пр.

Гистаминовая проба

Гистаминовая проба проводится в тех случаях, когда в желудочном содержимом отсутствует свободная соляная кислота. Проба дает возможность отличить истинную ахилию от функциональной.

Принцип основан на парентеральном введении гистамина, повышающем секрецию соляной кислоты, пепсина и мукопротеидов.

Реактив. 0,1% раствор солянокислого гистамина.

Ход исследования. Натощак откачивают тонким зондом желудочное содержимое. Под кожу вводят 0,5 мл 0,1% раствора солянокислого гистамина. После введения каждые 15 минут откачивают желудочное содержимое и определяют его количество и свободную соляную кислоту. Практикуется проведение пробы в сочетании с фракционным зондированием. Нужно помнить, что гистамин может давать осложнения (гистаминовый шок).

Интерпретация. Если после инъекции гистамина соляная кислота не обнаруживается, это служит указанием на органическое поражение слизистой оболочки желудка (истинная ахилия). Преимущества гистамина: 1) можно строго дозировать и получить чистый желудочный сок; 2) стимулирует желудочную секрецию там, где другие раздражители не оказывают действия.

Белок

Белок определяют в профильтрованном желудочном соке теми же методами, как и в моче. Можно определять белок в промывных водах желудка.

Интерпретация. Количество белка, по данным некоторых авторов, у здоровых лиц в различные фазы секреции равно 0,033%. В промывных водах, взятых натощак, белок не определяется совсем или определяется в виде следов. Количество белка увеличено при раке желудка (до 0,1—0,5%), язвенной болезни, гастритах, а также заболеваниях печени и почек.

За последние годы предложено изучение белков и переваривающей способности желудочного сока методом электрофореза¹. Методом электрофореза в желудочном содержимом выделены две глобулиновые фракции — мукопротеины и мукопротеозы, соотношение их в норме составляет 0,45 : 0,55. У больных язвенной болезнью увеличивается фракция мукопротеинов. При анацидном и гипацидном гастрите преобладают мукопротеозы.

Определение пепсина

Пепсин в желудочном содержимом можно определять несколькими методами.

Метод Метта

Принцип. Использование протеолитической активности желудочного сока, который расщепляет коагулированный яичный белок.

Посуда и оборудование. 1. Стекланные трубочки диаметром 2 мм, длиной 2—2,5 см.

2. Пробирки.

3. Штатив.

4. Баня.

5. Термостат.

6. Линейка миллиметровая.

Реактивы. 1. 0,1 N раствор соляной кислоты.

¹ И. Г. Масевич. Терапевтический архив, 1959, № 12.

2. Яичный белок профильтрованный.

3. Глицерин.

Приготовление белковой трубочки. Белок из нескольких яиц фильтруют сквозь тряпочку. Если в белке имеются пузыри воздуха, ставят его на несколько часов в эксикатор. Приготавливают тонкостенные стеклянные трубочки с просветом 1 или 2 мм, тщательно моют их, сушат и нарезают кусочками длиной 2—2,5 см. Палочки помещают в пробирку с налитым туда профильтрованным белком. Когда просвет трубочек наполнится белком, пробирку ставят в водяную баню и кипятят до тех пор, пока белок не свернется. По остывании трубочки вынимают, обмывают водой и хранят в глицерине.

Ход определения. В пробирку наливают 5 мл фильтрата желудочного содержимого, опускают в него 2—3 белковые трубочки и ставят на сутки в термостат. Если желудочное содержимое не содержит свободной соляной кислоты, то его предварительно подкисляют 0,1 N раствором соляной кислоты. Через 24 часа трубочки вынимают и с обоих концов измеряют в миллиметрах длину переваренного белка, причем для ответа берут среднее арифметическое этих измерений. В норме средняя величина равняется 2—3 мм белкового столбика. Некоторые указывают сумму длины переваренных столбиков белка; в норме она равна 8—12 мм.

Метод створаживания молока

Принцип. Использование способности пепсина створаживать молоко.

Посуда и оборудование. 1. Пробирки.

2. Штатив.

3. Градуированные пипетки на 5 и 1—2 мл.

4. Воронки.

5. Баня (или термостат).

6. Термометр.

Реактивы. 1. Дистиллированная вода.

2. Молоко свежее кипяченое фильтрованное.

3. 1% раствор хлорида кальция.

Ход определения. 1. В 6 пронумерованных пробирок разливают дистиллированную воду: в первую 5 мл, во все остальные по 2,5 мл.

2. Затем в первую пробирку вносят 0,5 мл профильтрованного желудочного сока. Смешивают, забирают 2,5 мл разведенного желудочного сока и переносят во вторую пробирку и т. д., разводя таким образом желудочное содержимое каждый раз в 2 раза. Получают следующие разведения желудочного сока: 1:10, 1:20 и т. д. до 1:320. Седьмая пробирка контрольная.

3. После разведения желудочного сока в каждую пробирку вносят по 1,25 мл 1% раствора хлорида кальция.

4. В каждую пробирку приливают по 2,5 мл молока. Контрольная пробирка содержит 2,5 мл дистиллированной воды, 1,25 мл 1% раствора хлорида кальция и 2,5 мл молока.

Все пробирки встряхивают и ставят на 20 минут в водяную баню при 40° или в термостат. По истечении времени отмечают, какое разведение дало створаживание молока. В норме разведение 1:160 еще дает створаживание.

Метод Пятницкого

Принцип. См. метод створаживания молока.

Реактивы. 1. Ацетатный буфер: 42 г сухого химически чистого едкого натра растворяют сначала в 400—500 мл дистиллированной воды. После охлаждения переносят раствор в литровую мерную колбу, приливают 115 мл 80% уксусной кислоты и доливают воду до метки (рН этого буфера 5—5,1).

2. Молочно-ацетатная смесь: смешивают равные объемы свежего коровьего молока и ацетатного буфера. В закупоренной склянке может храниться в прохладном месте около недели. Отстоявшийся слой жира рекомендуется удалить.

Ход определения. 1. В пробирку наливают 5 мл молочно-ацетатной смеси (при 25°).

2. Быстро добавляют микропипеткой 0,1 мл желудочного сока.

3. Быстро перемешивают содержимое пробирки. Затем, наклоняя и поднимая пробирку, следят за стекающим по стенке молоком. Момент приливания смеси и появления на стенке пробирки мелких хлопьев казеина отмечают по секундомеру.

Количество пепсина, свертывающее 5 мл молочно-ацетатной смеси в 60 секунд, принимают за единицу пепсина.

Расчет единиц пепсина на 1 мл испытуемого желудочного сока проводят делением 60 на число секунд, при котором наступило свертывание молока в опыте, с последующим умножением полученного частного на 10. Норма 40—60 единиц.

Метод Туголукова¹

Принцип. Использование протеолитического действия пепсина *in vitro*. При смешивании испытуемого материала, содержащего протеолитический фермент с белковым субстратом, происходит расщепление белка. По количеству переваренного белка судят о содержании пепсина.

Посуда и оборудование. 1. Пробирки центрифужные с точной градуировкой.

2. Пробирки химические.

3. Пипетки градуированные на 10, 1 и 2 мл.

4. Микропипетки.

5. Центрифуга.

Реактивы. 1. Дистиллированная вода.

2. Сухая плазма (2% раствор сухой плазмы на 0,1 N растворе соляной кислоты).

3. 10% трихлоруксусная кислота.

Ход определения. 1. В пробирку наливают 9,9 мл дистиллированной воды и вносят микропипеткой 0,1 мл профильтрованного желудочного сока, тщательно перемешивают, ополаскивая несколько раз пипетку в содержимом пробирки.

2. В градуированную центрифужную пробирку помещают 1 мл разведенного в 100 раз желудочного сока (опыт).

3. В другую градуированную центрифужную пробирку помещают 1 мл прокипяченного разведенного сока (контроль).

¹ Лабораторное дело, 1955, № 1.

4. В каждую пробирку добавляют по 2 мл раствора сухой плазмы. Пробирки ставят в термостат при 37° на 20 часов.

5. После этого в каждую пробирку добавляют по 2 мл 10% раствора трихлоруксусной кислоты, перемешивают содержимое путем вращения пробирки между ладонями, оставляют стоять 2—3 минуты для полного осаждения белка и центрифугируют 10 минут при 1500 об/мин.

6. Определив величину осадка в опытном и контрольном образцах, вычисляют показатель переваривания субстрата по формуле:

$$M = (A - B) \cdot \frac{40}{A},$$

где:

M — показатель переваривания;

A — величина осадка в контроле;

B — объем осадка в опыте;

40 — постоянная величина, установленная экспериментальным путем.

По данным табл. 29, производят пересчет на содержание фермента в исследуемом биологическом материале в миллиграммах стандартного пепсина. Так как для исследования берут 1 мл разведенного в 100 раз желудочного сока, полученный результат умно-

Таблица 29

ПЕРЕСЧЕТ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПЕРЕВАРИВАНИЯ БЕЛКОВОГО СУБСТРАТА (РАСТВОРА СУХОЙ ПЛАЗМЫ) НА СОДЕРЖАНИЕ ПЕПСИНА В 0,01 МЛ ЖЕЛУДОЧНОГО СОКА ИЛИ ПЕПСИНОГЕНА В 1 МЛ МОЧИ

Показатель переваривания (M)	Содержание пепсина или уропепсिनогена (в мг)	Показатель переваривания (M)	Содержание пепсина или уропепсिनогена в мг
1	0,005	20	0,08
2	0,008	21,5	0,09
3	0,01	22,5	0,1
4	0,015	23	0,12
5	0,017	24	0,16
6	0,02	25	0,2
7	0,025	26	0,27
8	0,027	27	0,34
9	0,03	28	0,42
10	0,035	29	0,5
11	0,037	30	0,59
12	0,040	31	0,68
13	0,045	32	0,77
14	0,047	33	0,86
15	0,05	34	0,96
16	0,055	35	1,06
17	0,062	36	1,2
18	0,067	37	1,5
19	0,075	—	—

жают на 10 000. В этом случае содержание пепсина будет выражено в миллиграмм-процентах.

Пример. Величина осадка в контроле 1 мл, а в опыте 0,5 мл. Показатель переваривания белка (m) будет равен $(1 - 0,5) \cdot \frac{40}{1}$ или

20. Находим по табл. 29 эту величину. Она соответствует 0,08 мг стандартного пепсина. Следовательно, в 100 мл желудочного сока содержится 800 мг% пепсина. В норме «часовое напряжение» пепсина после пробного завтрака М. К. Петровой и С. М. Рысе (капустный завтрак) равно 2,1—4,5 г%.

Интерпретация. Определение пепсина позволяет установить ахилию (отсутствие в желудочном соке пепсина и свободной соляной кислоты). Ахилия может быть органической (при атрофии слизистой оболочки, опухолях, болезни Аддисона—Бирмера) и функциональной (вызванной тяжелыми нервно-психическими переживаниями, воздействием токсических веществ и др.).

МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Микроскопическому исследованию подлежат порции, полученные натощак и после пробного завтрака. Качество микроскопического исследования зависит от правильного приготовления и количества просмотренных препаратов.

- Посуда.** 1. Предметные стекла.
2. Покровные стекла.
3. Пастеровская пипетка с баллончиком.
4. Чашки Петри.
Реактивы. 1. Судан III.
2. Раствор Люголя.
3. Физиологический раствор.

Приготовление препаратов производят из осадка, образовавшегося после отстаивания желудочного содержимого и перенесенного в чашку Петри. Для исследования берут капли кашицеобразной массы из остатка пробного завтрака, затем выбирают слизь и различные образования, отличающиеся цветом и формой от общего фона осадка, которые рекомендуется отмыть в физиологическом растворе. Указанные элементы помещают на предметное стекло и покрывают покровным. Необходимо из каждой исследуемой порции приготовить не менее трех препаратов: нативный, с раствором Люголя и суданом III. В случае необходимости изучения клеточного состава препараты окрашивают по Романовскому.

Пищевые остатки

Крахмальные зерна в виде бесцветных округлых, различной величины образований со слоистым строением. В препарате с раствором Люголя красятся в темно-синий цвет. В большом количестве их обнаруживают в кислом желудочном содержимом, взятом после пробного завтрака. При ахилии и при пониженной кислотности количество крахмальных зерен уменьшено, слоистость выражена не отчетливо.

Растительная клетчатка неперевариваемая разнообразна по структуре и форме. В небольшом количестве содержится всегда в белом хлебе, поэтому в нормальном желудочном содержимом обнаруживается в небольшом количестве. При нарушении эвакуаторной функции желудка может быть более разнообразная и в большом количестве.

Растительная клетчатка перевариваемая имеет вид округлых клеток с тонкой оболочкой. Внутри клеток иногда содержится крахмал. В препарате с раствором Люголя такие клетки окрашиваются в синий цвет. Перевариваемая клетчатка в нормальном желудочном содержимом не встречается. Ее присутствие указывает на нарушение эвакуаторной функции желудка.

Мышечные волокна в виде цилиндрической формы образований желтоватого цвета с поперечной исчерченностью. В нормальном желудочном содержимом не обнаруживаются. Наличие их указывает на застойные явления и нарушение эвакуаторной функции желудка.

Жир нейтральный встречается в виде круглых капель различной величины или в виде игл жирных кислот. В норме не обнаруживается или может быть незначительное количество капель нейтрального жира. Находят в застойном желудочном содержимом.

Микроорганизмы

Дрожжевые грибки— овальные, сильно преломляющие свет образования величиной немного меньше эритроцита; характерны почкующиеся формы. Вместе с крахмальными зернами всегда присутствуют в желудочном содержимом.

Сарцины (кокки, деление которых происходит в трех взаимно перпендикулярных направлениях) имеют вид перевязанных туюков. В нормальном желудочном содержимом не обнаруживаются. Присутствие их указывает на застой желудочного содержимого при наличии свободной соляной кислоты.

Палочки молочнокислого брожения— длинные грубые, слегка изогнутые, чаще лежат под углом. Встречаются в желудочном соке, не содержащем свободной соляной кислоты.

ЭЛЕМЕНТЫ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА

Слизь обнаруживают в виде полупрозрачных тяжей. Большое количество слизи может быть при катаральных состояниях слизистой оболочки желудка. Слизь, содержащая воздух и плавающая на поверхности, диагностического значения не имеет.

Лейкоциты имеют вид голых ядер нейтрофилов (при наличии свободной соляной кислоты) или неизмененных (такие же как в моче) при анацидном состоянии. Располагаются в основном в слизи (оценку см. ниже).

Эпителий цилиндрический. Клетки имеют коническую форму, иногда располагаются рядами (палисадообразно), с овальным ядром, находящимся в суженной части клетки. Такие клетки обнаруживаются в слизи желудочного содержимого с пониженным содержанием и отсутствием свободной соляной кислоты. При наличии свободной соляной кислоты находят голые ядра клеток овальной или круглой формы (значение этих клеток см. ниже).

Эритроциты неизменные редко встречаются в желудочном содержимом, так как быстро разрушаются. При этом образуется солянокислый гематин коричневатого цвета, имеющий вид аморфной массы. О присутствии крови под микроскопом можно судить по участкам слизи, окрашенным в коричневатый цвет.

Интерпретация. Обнаружение в желудочном содержимом слизи, содержащей лейкоциты, ядра лейкоцитов, клетки цилиндрического эпителия, отложения солянокислого гематина, может указывать на органическое поражение слизистой оболочки желудка (гастрит, язвенный процесс, полипоз, рак и пр.).

Слизь, содержащая лейкоциты в сочетании с клетками плоского эпителия (из полости рта) и альвеолярными макрофагами (из дыхательных путей), не должна приниматься во внимание.

ИССЛЕДОВАНИЕ НА ЭЛЕМЕНТЫ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОГО НОВООБРАЗОВАНИЯ

Клетки опухоли могут быть обнаружены в желудочном содержимом, промывных водах желудка и отсеке из пищевода.

Исследование желудочного содержимого. Из плотной части желудочного содержимого, взятого толстым зондом после пробного завтрака, выбирают частицы, отличающиеся на общем фоне цветом, формой, плотностью. Частицы промывают в чашке Петри с физиологическим раствором и из них готовят нативные препараты. При обнаружении подозрительных клеток (признаки злокачественности клеток см. в разделе «Моча») препарат необходимо красить по Романовскому.

Исследование промывных вод желудка. В желудочном содержимом клеточные элементы подвергаются значительным дегенеративным изменениям, поэтому рекомендуется при обследовании больных на злокачественные новообразования исследовать промывные воды желудка.

Взятие материала. 1. Вечером перед сном больному промывают желудок с целью освобождения от остатков пищи.

2. Утром натощак вводят зонд и промывают желудок двумя порциями (по 300—500 мл) физиологического раствора. Первые и вторые промывные воды направляют в лабораторию.

3. Промывные воды отстаивают 1½—2 часа, надосадочную жидкость сливают, осадок разливают в чашки Петри небольшими порциями. Из осадка выбирают все видимые на глаз частицы и из них готовят препараты.

Исследование отсека из пищевода. При подозрении на опухоль пищевода больному натощак вводят зонд меньшего диаметра («детский»). На конце зонда вырезают ножницами два дополнительных отверстия. Зонд осторожно вводят до входа в желудок. На наружный конец зонда надевают шприц Жане. Вынимают зонд медленно, с остановками, насыкая шприцем слизь со стенки пищевода. По извлечении зонд промывают изнутри и снаружи физиологическим раствором. Из полученного материала (тканевые клочки, слизисто-кровянистые тяжи и др.) готовят препараты нативные и окрашенные. По сравнению с эзофагоскопией этот метод является безопасным и более легким для больных.

БЕЗЗОНДОВЫЕ МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЖЕЛУДОЧНОЙ СЕКРЕЦИИ

Беззондовые методы не могут заменить полностью исследование желудочного содержимого, полученного зондом, и дают ориентировочное представление о желудочной секреции. Применяются в случае противопоказаний к зондированию желудка, при массовых обследованиях, в детской практике.

Десмоидная проба

Принцип. Оценка кислотности по окраске мочи после введения в желудок метиленового синего.

Реактивы. 1. Метиленовый синий.

2. Тонкая резина (например, напальчники).

Ход определения. 1. В мешочек из тонкой эластичной резины помещают 0,15 г метиленового синего, завязывают кетгутom № 5. Концы нити коротко обрезают. Приготовленный мешочек имеет не более 0,5 см в диаметре.

2. Натощак за 3—5 часов до еды больной проглатывает десмоидный мешочек.

3. Собирают 3 порции мочи через 3 часа, 5 и 20 часов. Определяют время появления и интенсивность окраски мочи. Пробу повторяют через 1—2 дня. Повторную пробу ставят после еды.

Интерпретация. 1. При нормальной секреции первая порция мочи не окрашена, вторая бледно-зеленая, третья окрашена более интенсивно. Соляная кислота растворяет кетгут, краска всасывается и выделяется с мочой.

2. При гиперацидном состоянии все три порции мочи окрашены.

3. При пониженной кислотности наблюдается незначительное окрашивание только третьей порции.

4. Отсутствие окраски во всех трех порциях наблюдается при ацидном состоянии.

Метод ионообменных смол

Принцип. Большинство этих методов основано на приеме резорбируемых ионообменных смол, связанных с каким-нибудь легко поддающимся исследованию низкомолекулярным соединением (краситель, хинин, р-аминосалициловая кислота и др.). В желудке Н-ионы вступают в реакцию с ионообменной смолой, освобождая эквивалентное количество низкомолекулярного соединения, которое резорбируется и может быть количественно определено в моче.

К методу ионообменных смол относятся несколько проб: 1) хининовая проба, 2) диагнексовая проба (Diagnex Blue), 3) PAS-проба (р-аминосалициловая проба), 4) проба с гастротестом.

Хининовая проба

Реактив. Ионообменная смола марки КБ-4-2п.

Ход исследования. Вначале смолу переводят в Н-форму. Затем проводят насыщение 0,1% раствором хинина. Подготовленный ионит высушивают, готовя навески, чтобы каждый порошок содержал 50 мг хинина. Больному натощак дают 100 мл 15% раствора спирта. Спустя 30 минут больной освобождает мочевой пузырь и принимает порошок ионита и четверть стакана воды. Через 2 часа собирают мочу, измеряют объем и определяют в ней хинин.

Интерпретация. По количеству выделенного хинина судят о кислотности желудочного сока. Установлено: выделение хинина в пределах 50—150 мг соответствует норме, менее 50 мг — пониженным и более 150 мг — повышенным показателям кислотности желудочного сока.

Уропепсин

Метод Уэста¹

Принцип. Определение времени свертывания казеина молока под влиянием пепсина мочи.

Реактивы. 1. Ацетатный буфер (ледяная уксусная кислота 9,2 мл, сухой химически чистый натрий 4,2 г, дистиллированная вода до 100 мл, рН буфера 4,9).

2. Молочно-ацетатная смесь (смешивают в равных объемах свежее нежирное молоко и ацетатный буфер).

3. 2 N раствор соляной кислоты.

4. 0,2% водный раствор метилоранжа.

5. Дистиллированная вода.

Ход определения. Мочу собирают за определенный промежуток времени и определяют ее количество.

В пробирку берут 3,8 мл мочи, добавляют 0,2 мл 2 N раствора соляной кислоты и 1 каплю 0,2% водного раствора краски метилоранж. Ставят пробирку в термостат при 37° на 1 час. После этого берут 0,1 мл активированной мочи, 1 мл ацетатного буфера и 0,9 мл дистиллированной воды (все реактивы подогревают до +37°). Затем в каждую пробирку добавляют 0,5 мл молочно-ацетатной смеси, опускают в водяную баню при 37° и по секундомеру отмечают начало створаживания молока. Количество уропепсина вычисляется по формуле:

$$X = \frac{10 \cdot V}{Y \cdot S \cdot h} \text{ ед/час,}$$

где: V — все выделенное количество мочи в миллилитрах;

Y — количество мочи, взятое для анализа (т. е. 0,1 мл);

S — время, за которое моча собрана, в часах;

h — время створаживания молока в секундах.

У здоровых людей количество уропепсина колеблется от 17 до 56 ед/час. При получении результата с очень низкими или очень высокими цифрами опыт следует повторить с большим или меньшим количеством мочи (0,2—0,4 или 0,01 мл).

¹ Л. И. Идельсон. Терапевтический архив, 1958, № 2.

Метод Туголукова

Принцип. Определение фермента основано на протеолитическом действии пепсина *in vitro*. При смешивании мочи с белковым субстратом происходит переваривание белка. По количеству переваренного белка судят о содержании уропепсина.

Посуда и оборудование. 1. Точно градуированные центрифужные пробирки.

2. Градуированные пипетки.

3. Термостат.

4. Стеклянные палочки.

5. Центрифуга.

Реактивы. 1. 2% раствор сухой плазмы, приготовленный на 0,1 N растворе соляной кислоты.

2. 10% раствор трихлоруксусной кислоты.

Ход определения. Уропепсиноген определяют или в суточном количестве мочи, или в моче, полученной натощак. В последнем случае количество уропепсина обозначают в миллиграммах в час. Для этого отмечают время первого и второго мочеиспускания и объем мочи при втором мочеиспускании.

1. В градуированную центрифужную пробирку помещают 1 мл мочи. Для контроля в другую пробирку берут прокипяченную мочу.

2. В каждую пробирку прибавляют по 2 мл раствора сухой плазмы.

3. Пробирки ставят в термостат.

4. После этого в каждую пробирку добавляют по 2 мл 10% раствора трихлоруксусной кислоты.

5. Перемешивают стеклянной палочкой для получения однородной суспензии и центрифугируют 10 минут при 1500 об/мин.

6. Определяют величину осадка в опыте и контроле и вычисляют показатель переваривания субстрата по формуле:

$$M = (A - B) \cdot \frac{40}{A},$$

где:

M — показатель переваривания;

A — величина осадка в контроле;

B — объем осадка в опыте;

40 — постоянная величина, установленная экспериментальным путем.

7. По табл. 30 производят пересчет показателя переваривания на содержание фермента в исследуемой моче в миллиграммах стандартного пепсина.

Полученный результат исследования в 1 мл умножают на количество мочи.

8. Определение напряжения пепсиногена в моче, полученной натощак, производят по следующей формуле:

$$\frac{V \cdot n}{t},$$

где: V — объем мочи при втором мочеиспускании;

n — содержание пепсиногена в 1 мл мочи;

t — время (в часах) между первым и вторым мочеиспусканием.

Пример. Время первого мочеиспускания 7 часов, второго — 9 часов. Выделилось 100 мл мочи. В 1 мл мочи определено 0,04 мг уропепсिनогена. Напряжение пепсिनогена в моче натошак равно $\frac{100 \cdot 0,04}{2}$ или 2 мг/час. Норма: выделение пепсिनогена с мочой за сутки 38—96 мг, «часовое напряжение» натошак 2—3 мг/час.

Таблица 30

ПЕРЕСЧЕТ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПЕРЕВАРИВАНИЯ БЕЛКОВОГО СУБСТРАТА (РАСТВОРА СУХОЙ ПЛАЗМЫ) НА СОДЕРЖАНИЕ ПЕПСИНА В 0,01 МЛ ЖЕЛУДОЧНОГО СОКА ИЛИ ПЕПСИНОГЕНА В 1 МЛ МОЧИ

Показатель переваривания (М)	Содержание пепсина или уропепсिनогена в мг	Показатель переваривания (М)	Содержание пепсина или уропепсिनогена в мг
1	0,005	20	0,08
2	0,008	21,5	0,09
3	0,01	22,5	0,1
4	0,015	23	0,12
5	0,017	24	0,16
6	0,02	25	0,2
7	0,025	26	0,27
8	0,027	27	0,34
9	0,03	28	0,42
10	0,035	29	0,5
11	0,037	30	0,59
12	0,040	31	0,68
13	0,045	32	0,77
14	0,047	33	0,86
15	0,05	34	0,96
16	0,055	35	1,06
17	0,062	36	1,2
18	0,067	37	1,5
19	0,075	—	—

Интерпретация. Определение уропепсина дает возможность судить о пепсинообразовательной функции желудка, так как выделение пепсина происходит экскреторным путем (в полость желудка) и инкреторно (в кровь с последующим выделением с мочой). Более полное представление о секреторной деятельности можно получить при одновременном исследовании желудочного сока, полученного зондом, и определении уропепсина. Однако строгого параллелизма между содержанием пепсина в желудочном соке и пепсिनогена в моче установить не удастся. Пониженное выделение уропепсина отмечают при болезни Аддисона — Бирмера, гипацидном и анацидном гастрите. Повышенное количество уропепсина наблюдается при язве двенадцатиперстной кишки, гиперацидном гастрите. Уровень уропепсина повышается при лечении больных стероидными гормонами.

Метод радиотелеметрии

Метод радиотелеметрии (эндозондирование) основан на измерении рН, температуры желудочного сока и давления желудка при помощи миниатюрного радиопередатчика, проглатываемого больным. В настоящее время метод используется только с научной целью.

Гастромукопротеиды

При изучении функционального состояния слизистой оболочки желудка практический интерес представляет определение гастромукопротеидов и других высокомолекулярных белков желудочного сока. Эти вещества играют роль не только в пищеварительной функции, но и в других функциях организма, в частности кроветворении. Определение этих веществ производится методом электрофореза (метод Гласса) — см. «Биохимические методы исследования».

РВОТНЫЕ МАССЫ

Исследование рвотных масс производится так же, как желудочного содержимого (определение физических свойств, химический анализ и микроскопическое исследование).

СОДЕРЖИМОЕ ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ

Содержимое двенадцатиперстной кишки, извлекаемое путем дуоденального зондирования, представляет собой смесь желчи, секрета поджелудочной железы, секрета двенадцатиперстной кишки и иногда небольшого количества желудочного сока.

ИЗВЛЕЧЕНИЕ ДУОДЕНАЛЬНОГО СОДЕРЖИМОГО

Посуда и оборудование. 1. Тонкий резиновый зонд с оливой.
2. Штатив с пробирками.
3. Шприц на 10 или 20 мл.
4. Лакмусовая бумага или индикатор.
5. Чашки Петри.
6. Предметные и покровные стекла.
7. Пастеровские пипетки с баллончиком.
Для детей грудного возраста употребляют нелатонные катетеры.

Техника введения зонда. При зондировании надо создать больному спокойную обстановку, отвлекать его внимание разговором, чтением и т. п. Нельзя оставлять больного в комнате одного. Исследование производят натощак. Прокипяченный и остывший зонд дают проглотить больному (конец с оливой). Предлагают спокойно дышать с закрытым ртом и постепенно продвигают оливу к корню языка. Больной в это время сидит на стуле или лежит с приподнятой верхней половиной туловища. Когда олива находится у корня языка, больной должен сделать несколько глотательных движений; при этом олива проскальзывает в пищевод. Далее олива и зонд спускаются самостоятельно благодаря перистальтическим движениям пищевода. Во время прохождения зонда по пищеводу больного кладут на правый бок с подложенным под него валиком. При нормальных условиях для прохождения оливы через привратник требуется 5—20 минут. При этом у края зубов должна быть метка 60 см. Новорожденным вводят катетер приблизительно на 25 см, детям 6 месяцев — приблизительно на 30 см, 1 года — на 35 см, 2—6 лет — на 40—50 см, 6—14 лет — на 45—55 см, взрослым — на 60—80 см.

В случае неполучения желчи проверяют положение оливы рентгеноскопически. Если этой возможности нет, производят пробы с молоком или с введением воздуха.

Проба с молоком. Больному дают выпить немного молока и тотчас извлекают его шприцем. Если олива в желудке, извлекается молоко, если же олива в двенадцатиперстной кишке, молока не получают.

Проба с воздухом. Шприцем вводят через зонд немного воздуха. При нахождении оливы в желудке больной ощущает поступление воздуха. Если никаких ощущений нет, то зонд находится в двенадцатиперстной кишке.

При попадании оливы в двенадцатиперстную кишку желчь начинает по каплям вытекать через зонд, конец которого опускается в первую пробирку. По мере истечения желчи конец зонда переносят в следующую пробирку каждые 5 минут.

Первая порция желчи золотисто-желтого цвета, прозрачная, вытекает неравномерно, с более или менее продолжительными промежутками. Эта порция называется А, или «дуоденальная желчь». Вытекающая мутная жидкость свидетельствует о примеси желудочного содержимого и имеет кислую или нейтральную реакцию. Желчь А собирают в пробирки около 10 минут. Для получения пузырной желчи вводят через зонд вещество, вызывающее сокращение желчного пузыря (20—30 мл 30% раствора сульфата магнесии, 30 мл 10% раствора пептона, желток, некоторые минеральные воды, 50 мл 40% раствора сахара, 20 мл 10% раствора хлорида натрия) или инъекции питуитрина.

Через 5—25 минут после введения раздражителя начинает вытекать темно-оливковая вязкая пузырная желчь — порция В. Иногда рефлекс наступает еще до введения раздражителя. Если пузырная желчь не появляется или появляется позже, то это свидетельствует о пониженной возбудимости желчного пузыря или о закупорке его камнем или опухолью. У 5% здоровых людей рефлекс отсутствует. Если после введения раздражителя сокращение желчного пузыря не наступило, раздражитель (тот же самый или какой-либо другой) вводят повторно. Если исследование затягивается вследствие неполучения рефлекса и это становится мучительным для больного, то процедуру следует прекратить и назначить повторное зондирование не раньше чем через 24 часа.

Не рекомендуется назначать больным два исследования одновременно: фракционное исследование желудочного содержимого и после него дуоденальное зондирование. Такой метод не физиологичен и очень утомителен для больных, но, несмотря на это, практикуется довольно часто.

Продолжительность выделения порции В в норме 10—25 минут. Время выделения желчи сокращается при уменьшении емкости пузыря (наличие камней, опухоли). Большая продолжительность истечения пузырной желчи (свыше 25 минут) может быть при растяжении пузыря (застойный желчный пузырь, атония желчного пузыря), дискинезиях, наличии спаек, мешающих нормальному сокращению стенок пузыря. Количество пузырной желчи в норме равно 30—50 мл. Увеличение его свыше 100—120 мл наблюдается при застое желчи и растяжении пузыря, и иногда при дискинезиях. При сочетании расширения полости пузыря с недостаточной сократительной способностью его стенок опорожнение может быть

частичным, в то же время количество полученной желчи — нормальным. После выделения пузырной желчи появляется более светлая, золотисто-желтого цвета желчь — порция С (печеночная желчь, похожая на порцию А). После получения 2—3 пробирок этой желчи зонд извлекают, предварительно пропустив через него раствор глюкозы или воду во избежание появления у больного ощущения горечи во рту. Полученную желчь исследуют как можно быстрее, так как клеточные элементы разрушаются под действием ферментов. Для предотвращения их действия иногда добавляют в пробирки формалин (2 мл 10% раствора). Однако некоторые авторы считают, что формалин не только не предохраняет клетки от разрушения, но и деформирует их.

ФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЖЕЛЧИ

Цвет желчи порций А и С в норме золотисто-желтый, порции В — темно-оливковый или коричневый и зависит от содержания прямого билирубина (билирубинглюкуронид) и биливердина. При повышенном содержании билирубина в желчи цвет более темный (плейохромия), что особенно характерно для усиленных процессов гемолиза (например, гемолитической анемии). Бледная окраска желчи наблюдается при уменьшении поступления билирубина в желчь и задержке желчных пигментов в крови, что связано с нарушением функции печеночных клеток (гепатиты, циррозы печени, физиологические гипербилирубинемии). Отсутствие окраски желчи может быть при внутрипеченочной закупорке (инфекционный гепатит, цирроз), а также при закупорке желчного протока (камень, опухоль и др.). Зеленоватого цвета прозрачная желчь указывает на застой или инфекцию. Зеленоватая, но мутная желчь может быть от примеси желудочного содержимого (происходит образование биливердина под влиянием соляной кислоты желудочного сока). Такая желчь диагностического значения не имеет и не исследуется. Очень темная, почти черная окраска порции В наблюдается при патологическом сгущении желчи в пузыре (тяжелые застойные явления и воспалительные процессы). Слабая окраска порции В, мало отличающаяся от цвета порции А, бывает при хронических воспалительных процессах желчного пузыря, сопровождающихся атрофией его слизистой оболочки. Так называемая белая желчь объясняется разрушением желчных пигментов и образованием их лейкосоединений (при хронических холециститах и закупорке желчного пузыря).

Прозрачность всех трех порций в норме полная. Помутнение от примеси гноя практически не наблюдается или бывает чрезвычайно редко. При воспалительных процессах обычно выпадают хлопья слизи. Помутнение желчи зависит главным образом от попадания в желчь желудочного сока. Такая желчь не исследуется.

Консистенция порций А и С слегка вязкая, порции В — вязкая. Последнее объясняется значительной концентрацией желчи в пузыре (в 18—20 раз).

Количество выделяемой желчи около 50 мл в час или 800—1000 мл в сутки. Присутствие оливы несколько усиливает секрецию. Увеличение количества желчи наблюдается при гемолитической желтухе, язве двенадцатиперстной кишки и др., уменьше-

ние — при закупорке желчного протока, паренхиматозной желтухе, ангиохолите и других заболеваниях.

Удельный вес желчи порции А 1,007—1,015, порции В — 1,016—1,032, порции С — 1,007—1,010. Величины удельного веса отражают концентрацию плотных веществ, в первую очередь билирубина.

Выраженное снижение удельного веса порции В указывает на понижение концентрационной способности желчного пузыря (при воспалительных процессах). Повышение удельного веса свидетельствует о сгущении желчи, что бывает при застойном желчном пузыре (воспаление, атония), спокойно протекающей желчнокаменной болезни, а также может быть при дискинезиях.

Реакция порции А — слабо щелочная, порций В и С — щелочная. Примесь желудочного сока меняет реакцию на кислую. Пузырная желчь имеет рН 6,8, печеночная 7,5. При воспалительных процессах желчного пузыря реакция становится кислой (рН 4,0—4,5).

ХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Химическое исследование дуоденального содержимого не имеет большого практического значения.

БЕЛОК. Желчь подкисляют 0,4% раствором уксусной кислоты до нейтральной реакции на лакмус (при кислой реакции выпадают желчные кислоты, мешающие определению белка). Прибавляют немного хлорида натрия и кипятят. Образующиеся при этом хлопья указывают на альбуминохолию.

В нормальной желчи белок не содержится. Иногда он встречается при воспалительных процессах в желчных ходах, а также при ряде других заболеваний — малярии, воспалении легких, нефритах. Наличие белка не является достоверным показателем поражения печени и желчных путей, и диагностическое значение этого исследования невелико.

БИЛИРУБИН в желчи определяется так же, как в сыворотке крови. В норме содержание билирубина: в порциях А и С до 25 мг%, в порции В — 200—400 мг%.

Пониженное содержание билирубина наблюдается при механической желтухе, болезни Боткина, циррозе печени, калькулезном холецистите, повышенное — при гемолитической желтухе и при других заболеваниях, сопровождающихся усиленным распадом эритроцитов (анемия Аддисона—Бирмера, малярия и пр.).

УРОБИЛИН в нормальной желчи не определяется, но при некоторых патологических процессах, например циррозе печени, повышенном распаде эритроцитов и др., уробилин может быть обнаружен. Определяется так же, как и в моче.

ЖЕЛЧНЫЕ КИСЛОТЫ. В желчи обнаруживают главным образом гликохолевую и таурохолевую желчные кислоты. Определение ведется сталагмометрическим способом. Полученные этим методом данные о количестве желчных кислот являются только ориентировочными. Уменьшение количества желчных кислот наблюдается при болезни Боткина, циррозах печени, заболеваниях желчного пузыря и желчных путей.

Определение количества желчных кислот помогает установить пузырное происхождение желчи в случае, когда порция В не име-

ет характерной окраски, так как содержит большее количество желчных кислот по сравнению с порциями А и С.

ХОЛЕСТЕРИН определяется в желчи так же, как и в крови. В норме холестерин в порциях А и С содержится в пределах 40—80 мг%, в порции В его значительно больше (200—400 мг%). Увеличение холестерина в желчи наблюдается при желчнокаменной болезни, иногда при холецистите и других заболеваниях, понижение — при болезни Боткина, циррозе печени, хроническом гепатите.

КРОВЬ определяют в желчи так же, как в каловых массах.
ФЕРМЕНТЫ. Диастазу определяют по Вольгемуту (см. «Моча»). В норме содержание фермента у новорожденных — 40—80 единиц, в возрасте 2—6 месяцев — 160—640 единиц, 6—12 месяцев — 320—2500 единиц, у взрослых и детей старше 1 года — 1500—10 000 единиц.

Липаза. У детей старше 3 месяцев и у взрослых в норме содержится липазы 4—9 ед/мл по методу Фрейденберга. Липолитическая активность дуоденального сока понижается при фиброзе поджелудочной железы, атрезии желчных путей и т. д.

Трипсин определяют по Бауману. В норме у взрослых и детей после первого месяца жизни обнаруживается около 100 единиц. Активность трипсина снижается при острых панкреатитах, интоксикации, фиброзе поджелудочной железы.

Методики определения ферментов см. в руководствах и справочниках по биохимическим методам исследования.

МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Для исследования берут желчь без примеси желудочного сока. Желчь выливают на чашки Петри, выбирают слизистые клочки на предметные стекла и готовят препараты. Затем желчь центрифугируют и делают из осадка препараты, которые микроскопируют сначала с малым, потом с большим увеличением. Количество просматриваемых препаратов должно быть большое (10—20).

При микроскопии желчи обнаруживают следующие элементы: 1) клетки, 2) кристаллические образования, 3) животные паразиты, 4) бактерии.

Нормальная желчь не содержит почти никаких клеточных элементов; иногда в ней имеется небольшое количество кристаллов холестерина.

КЛЕТОЧНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ

Эритроциты диагностического значения не имеют, так как появление их связано с травмой во время зондирования.

Лейкоциты могут быть неокрашенные и окрашенные желчью (имбигированные). Наличие большого количества обоих видов лейкоцитов, расположенных в тяжах слизи, может свидетельствовать о воспалительном процессе в желчевыводящей системе. Нужно иметь в виду частую возможность примеси лейкоцитов из полости рта, желудка, органов дыхания. Главными критериями желчного происхождения лейкоцитов являются фон препарата и сочетание лейкоцитов с цилиндрическим эпителием¹.

¹ Н. А. Скуя. Лабораторное дело, 1964, № 9.

Не следует придавать значения: 1) лейкоцитам только окрашенным и 2) расположению лейкоцитов в сочетании с клетками плоского эпителия, альвеолярными макрофагами, миелным и голоядерными формами лейкоцитов.

Эпителиальные клетки. Характерными для желчи являются клетки цилиндрического эпителия, располагающиеся в тяжах слизи одиночно или пластами. Они указывают на воспалительный процесс желчевыводящей системы и обнаруживаются вместе с лейкоцитами. Не следует принимать во внимание клетки плоского эпителия и альвеолярные макрофаги.

В дуоденальном содержимом могут обнаруживаться клетки злокачественных опухолей.

КРИСТАЛЛИЧЕСКИЕ ОБРАЗОВАНИЯ

Кристаллы холестерина в нормальной желчи содержатся изредка в небольшом количестве. Наличие большого количества холестерина не является еще доказательством желчнокаменной болезни, но свидетельствует об изменении коллоидальной стабильности желчи.

Билирубинат кальция представляет собой аморфные крупинки золотисто-желтого и коричневатого цвета. Встречается в сочетании с кристаллами холестерина. Присутствие билирубината кальция также свидетельствует об изменении коллоидальной стабильности желчи.

Кристаллы жирных кислот в виде игл встречаются в дуоденальном содержимом не часто и обнаруживаются при тех же состояниях, что и кристаллы холестерина и билирубината кальция. Жирные кислоты и мыла в пузырьной желчи (без примеси желудочного содержимого) могут служить указанием на падение рН желчи вследствие воспалительного процесса и понижение растворимости жирных кислот.

Микролиты — компактные круглые или неправильной формы (многогранные) образования, состоящие из извести, слизи и холестерина. В нормальной желчи не обнаруживаются. Для выявления микролитов необходимо тщательно просматривать большое количество препаратов. Препараты готовят из слизи и осадка. Наряду с микролитами в этом же препарате обычно находят билирубинат кальция, кристаллы холестерина, жирные кислоты. Формирование микролитов связано, возможно, с нарушением коллоидной стабильности желчи.

Термином «песок» обозначают мелкие, распознаваемые только под микроскопом крупинки различной величины и окраски (бесцветные, преломляющие свет, коричневые), располагающиеся кучками в хлопьях слизи. «Песок» обычно находят вместе с микролитами, кристаллами холестерина, он имеет то же значение, что и микролиты.

В практике неправильно обозначают термином «песок» следующее: 1) макроскопически видимый осадок выпавшего холестерина; 2) макроскопически видимый осадок желчных кислот, образующийся при попадании в желчь желудочного сока. В последнем случае появляется гомогенное помутнение тускло-желтого цвета, постепенно оседающее на дно; диагностического значения оно не имеет. Ошибочная трактовка в лаборатории этого образования как

«песок» приводит к неправильной его оценке в смысле возможности камнеобразования. Исходя из этих соображений, в ответах лабораторного исследования дуоденального содержимого следует избегать термина «песок».

БАКТЕРИОСКОПИЧЕСКОЕ И БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Бактериоскопическое исследование желчи не имеет практического значения. Для выяснения заболевания инфекционной природы прибегают к бактериологическому исследованию. Желчь для посева берут в стерильных условиях специальным зондом: на расстоянии 20—25 см от конца зонд разрезают и между его концами вставляют стеклянную трубочку. При взятии той или иной порции желчи для посева снимают резиновый конец, соединительную трубочку обжигают и желчь собирают в стерильную пробирку. Нормальная желчь стерильна. В посевах желчи при инфекционных заболеваниях желчевыводящих путей обнаруживается разная флора.

ПРОСТЕЙШИЕ (животные паразиты). В дуоденальном содержимом можно обнаружить яйца глистов: аскарид, печеночной двуустки, личинки кишечной угрицы (см. «Гельминты»).

Лямблии (*Lamblia intestinalis*) часто находят во всех порциях желчи в виде вегетативных форм. Цисты лямблий обнаруживают в кале.

Диагностическое значение лямблий подвижных и потерявших движение одинаково. Вопрос о патогенности лямблий остается спорным до настоящего времени. Существует взгляд, что лямблии присоединяются к ранее имевшему место воспалительному процессу и своим присутствием раздражают слизистую оболочку. Некоторые авторы отвергают этиологическую роль лямблий в заболеваниях желудочно-кишечного тракта.

Интерпретация

Исследование дуоденального содержимого не может дать точного представления о количественной стороне секреции желчи, дуоденального и панкреатического сока, так как в дуоденальном содержимом эти секреты находятся в неизвестных пропорциях. Однако наибольшую часть дуоденального содержимого составляет желчь, поэтому исследование чаще производится с целью уточнения диагностики заболеваний желчных путей, желчного пузыря и двенадцатиперстной кишки.

Трудности в оценке данных микроскопического исследования обусловлены: 1) частой примесью в желчи лейкоцитов, эпителиальных клеток из полости рта, желудка и органов дыхания; 2) присутствием ферментов, изменяющих морфологию клеточных элементов; 3) редкостью обнаружения элементов воспаления (лейкоциты и цилиндрический эпителий желчного происхождения) у больных с явно выраженной патологией желчного пузыря и желчных протоков.

Поэтому по данным микроскопического исследования желчи только до некоторой степени можно судить: 1) о воспалительных процессах желчевыводящей системы и 2) о процессах нарушения коллоидной стабильности желчи.

КАЛ

Сбор материала

Кал доставляют для исследования в количестве, полученном за одну дефекацию, свежевыделенным, в чистой сухой стеклянной или парафинированной посуде. Неправильно и негигиенично собирать кал в спичечные коробки, бумагу, пузырьки и другую неудобную посуду, что нередко практикуется. Нельзя направлять кал на исследование после клизм, после приема некоторых медикаментов, изменяющих перистальтику (например, белладонна, пилокарпин и др.) и влияющих на окраску кала (железо, висмут, барий), после введения свечей и приема внутрь касторового и вазелинового масла. Кал не должен содержать посторонних примесей, например мочи. В тех случаях, когда требуется количественный химический анализ (определение количества жира, аммиака и др.), следует собирать кал во взвешенную посуду и взвешивать его сразу после выделения (при стоянии испаряется вода и вес может быть определен неправильно).

Подготовка больного

Копрологическое исследование производится после предварительной подготовки больного, заключающейся в получении пробной диеты в течение 4—5 дней (при запорах кал берут для исследования через более длительный срок, при поносах — раньше). Подготовка преследует цель определить функциональную способность пищеварительного аппарата, так как пробные диеты содержат определенное количество разнообразных пищевых продуктов. Чаще применяются диеты Шмидта и Певзнера.

Диета Шмидта включает: 1—1,5 л молока, 2—3 яйца всмятку, 125 г слабо прожаренного рубленого мяса, 200—250 г картофельного пюре, слизистого отвара (40 г овсяной крупы), 100 г белого хлеба или сухарей, 50 г масла. Общая калорийность 2250 кал. Диета Шмидта является щадящей. При нормальном пищеварении пищевые остатки в кале не обнаруживаются.

Диета Певзнера включает: 400 г хлеба, из них 200 г черного, 250 г мяса, жаренного куском, 100 г масла, 40 г сахара, гречневая и рисовая каши, жареный картофель, морковь, салат, квашеная капуста, компот из сухих фруктов, свежие яблоки. Калорий-

ность достигает 3250 кал. Диета основана на принципе максимальной пищевой нагрузки для здорового человека. В норме при диете Певзнера в кале содержится большое количество неперевариваемой клетчатки и немного мышечных волокон.

Диета Певзнера дает большую нагрузку пищеварительному аппарату, поэтому при ней легче выявить небольшую степень недостаточности функции пищеварения, чем при диете Шмидта. Диетой Певзнера удобно пользоваться при обследовании больных в поликлинических условиях, так как она является обычным пищевым рационом здоровых людей.

При некоторых желудочно-кишечных заболеваниях диета Певзнера оказывает раздражающее действие (усиливает перистальтику), что может привести к неправильному толкованию копрологического анализа. Поэтому выбор диеты должен производиться с учетом состояния органов пищеварения больного, а также привычного для него характера питания.

При подготовке больного для исследования на скрытое кровотечение исключают в течение 3—4 дней мясо, рыбу, все виды зеленых овощей, а также помидоры и яйца весенней кладки. Эти пищевые вещества могут служить катализаторами в тех реакциях, которые применяются для обнаружения крови.

Посуда и оборудование. 1. Фарфоровые ступки.

2. Стекланные палочки.

3. Чашки Петри.

4. Воронки.

5. Предметные стекла.

6. Покровные стекла.

7. Пробирки.

8. Штативы.

9. Горелка.

10. Весы с разновесами.

11. Микроскоп.

ФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

Количество кала у здорового человека за сутки составляет 120—200 г. Изменение количества зависит от пищевого режима (при преобладании белков — уменьшение, при растительной пище — увеличение количества кала), а также от усвояемости пищи. Поэтому при состояниях, сопровождающихся нарушением усвоения пищи (ахилия, поражение поджелудочной железы, энтерит, спру, болезнь Гиршпрунга и др.) отмечается увеличение суточного выделения кала.

Форма нормального кала цилиндрическая, толщина 2—4 см, консистенция плотноватая (содержит 80—85% воды). Такой кал называется оформленным. Неоформленный или кашицеобразный кал наблюдается при усиленной перистальтике толстого кишечника, приводящей к уменьшению всасывания воды. Форма так называемого овечьего кала в виде плотных округлых комочков наблюдается при спастических запорах.

Лентовидная, карандашеобразная форма может быть вследствие какого-либо препятствия в прямой кишке (опухоль, геморроидальные узлы, полипы, спазм сфинктера).

Цвет нормального кала коричневый, зависит от наличия стеркобилина. Состав принятой пищи влияет на цвет кала: молочная диета придает более светлую окраску, а мясная — более темную. Растительные пигменты (хлорофилл), содержащиеся в щавеле, шпинате и др., придают калу зеленоватую окраску, свекла, черника, черная смородина окрашивают в черный или красноватый цвет. Некоторые лекарственные вещества, принятые внутрь, например барий, придают светло-желтый или беловатый цвет, карболен и висмут — черный, пурген — красноватый.

Желтая и золотисто-желтая окраска нормального кала грудных детей объясняется наличием в нем билирубина. Образование стеркобилина не происходит, так как в этом возрасте в кишечнике отсутствует флора, восстанавливающая билирубин в стеркобилин. При окислении билирубина в биливердин кал окрашивается в зеленый цвет.

Цвет кала изменяется при различных патологических процессах. Серый или белый — «глинистый» (ахоличный) кал наблюдается при обтурации желчных путей. Ярко-желтая окраска кала, обусловленная присутствием неизмененного билирубина, наблюдается при острых энтеритах и иногда при приеме внутрь антибиотиков. В последнем случае это объясняется угнетением жизнедеятельности кишечной флоры, участвующей в превращении билирубина в стеркобилин.

Красный цвет кала зависит от присутствия неизменной крови и наблюдается при кровотечении из нижних отделов кишечника (опухоль, геморрой, язва и др.). Черный цвет кала («дегтеобразный») обусловлен кровотечением из желудка или тонкого кишечника и связан с превращением гемоглобина в сернистое железо.

При некоторых инфекционных заболеваниях, например при холере, испражнения имеют вид рисового отвара, при брюшном тифе — вид горохового супа.

Запах кала обусловлен присутствием продуктов распада белков и зависит в основном от наличия индола и скатола. Поэтому при преобладании в пище белков отмечается более резкий запах, чем при растительной пище. Зловонный запах кала имеет место при гнилостных процессах (гнилостная диспепсия, распад опухоли и др.). Кисловатый запах обусловлен присутствием масляной, уксусной, валериановой кислот и наблюдается при преобладании в кишечнике бродильных процессов. Кал, выделяющийся при голодании, почти лишен запаха.

Запах кала отмечают в анализе только в тех случаях, когда он резко отличается от обычного.

Примеси остатков непереваренной пищи, растительной и белковой, обнаруживают при недостаточности желудочного и панкреатического переваривания, при плохом разжевывании пищи.

Слизь в нормальном кале может быть в виде тонкого, малозаметного блестящего налета. При воспалительных процессах обнаруживается в виде тяжей, клочков и плотных, лентовидной формы образований. В этих случаях слизь может быть с примесью крови.

Кровь в нормальном кале не обнаруживается. При кровотечениях может быть в виде прожилок, слизисто-кровянистых клочков и сгустков.

Гельминты и членики гельминтов иногда могут быть обнаружены макроскопически при глистной инвазии.

МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Реактивы. 1. Раствор судана III. Порошок судана тщательно растирается со спиртом в ступке. Затем постепенно приливается уксусная кислота. Цвет реактива ярко-красный. Для удаления осадка реактив фильтруют. При выпадении осадка добавляется 96° спирт и реактив повторно фильтруют.

2. Раствор Люголя. Йода 1 г, йодистого калия 2 г, дистиллированной воды 50 мл. Растворить йод в растворе йодистого калия с небольшим количеством воды, затем прибавить остальное количество воды.

3. 0,5% раствор метиленового синего.

4. Раствор уксусной кислоты 20—30%.

Приготовление нативных препаратов. Кусочек кала величиной с лесной орех помещают в ступку, добавляют немного водопроводной воды и растирают до консистенции жидкой кашицы. Капли приготовленной эмульсии стеклянной палочкой наносят на предметные стекла и готовят не менее четырех препаратов: нативный, с раствором Люголя, с метиленовым синим и уксусной кислотой или с суданом. При этом каплю эмульсии краем покровного стекла смешивают с каплей реактива, затем покрывают покровным стеклом. Часть нативных препаратов готовят из макроскопически видимых плотных частиц, которые отличаются цветом и консистенцией среди однородной эмульсии. При жидкой консистенции для приготовления препарата достаточно стеклянной палочкой нанести на стекло каплю кала.

При микроскопическом исследовании различают следующие элементы: остатки пищи, элементы слизистой оболочки кишечника, кристаллические образования.

ОСТАТКИ ПИЩИ

Детрит представляет собой аморфную массу, состоящую из мелких, но различной величины и формы зернистых образований, в силу чего масса детрита под микроскопом выглядит полиморфной.

Мышечные волокна (остатки белковой пищи) различают неизмененные и измененные. Неизмененные (или непереваренные) волокна желтого цвета, цилиндрической формы с обрезанными концами, имеют поперечную, реже продольную исчерченность. По мере переваривания мышечные волокна теряют исчерченность, поверхность становится гладкой, желтого цвета, форма округляется.

В нормальном кале немного переваренных мышечных волокон. Большое количество их (креаторея), особенно непереваренных, находят при недостаточности поджелудочной железы, понижении секреторной функции желудка, ускоренной перистальтике.

Соединительная ткань (остатки белковой пищи) в виде обрывков и тяжей сероватого цвета иногда бывает заметна макроскопически в тонком слое эмульгированного кала.

Микроскопически соединительная ткань имеет волокнистое строение, слегка преломляет свет. В нормальном кале соединительная ткань не содержится. Ее находят при ахилии, недостаточности поджелудочной железы, а также при употреблении в пищу сырого и плохо прожаренного мяса и при плохом прожевывании пищи.

Растительная клетчатка и крахмал (остатки углеводной пищи). Различают два вида клетчатки — непереваримую и переваримую. Непереваримая клетчатка в кишечнике человека не расщепляется и выделяется в таком же количестве, в каком она была в составе пищи. К ней относятся грубые части растительной пищи (кожица, сосуды, волоски и пр.). Непереваримая клетчатка имеет разнообразие резкие очертания, правильный рисунок, коричневатой, желтой или серой окраски.

Переваримая клетчатка состоит из округлых больших клеток, имеющих тонкую оболочку и ячеистое строение. Находится во всякой растительной пище, отличается от непереваримой нежным строением. В нормальном кале переваримая клетчатка отсутствует. В растворении ее принимает участие кишечная флора илеоцекальной области. Обнаруживается в кале при ускоренной эвакуации. При анацидном состоянии в желудке не происходит разрыхления переваримой клетчатки, поэтому она присутствует в виде больших групп клеток, не разъединенных между собой.

Крахмал распознается в препаратах с раствором Люголя. Может находиться внутри клеток переваримой клетчатки и внеклеточно в виде осколков различной величины. Под влиянием йода в зависимости от стадии переваривания крахмал приобретает фиолетовый или красноватый цвет. Без обработки препарата раствором Люголя его распознать трудно.

При нормальном пищеварении крахмал не обнаруживается, так как амилалитические ферменты пищеварительного тракта и ферменты бактерий слепой кишки расщепляют крахмал полностью.

Присутствие крахмала в кале всегда указывает на патологическое состояние пищеварения (заболевание тонких кишок, сопровождающееся ускоренной эвакуацией содержимого, и реже недостаточность поджелудочной железы).

Жир в кале обнаруживают в виде нейтрального жира, жирных кислот и мыл (соли жирных кислот). Нейтральный жир имеет вид капель, жирные кислоты обнаруживаются в виде капель, кристаллов игл и глыбок, мыла — в виде кристаллов игл и глыбок.

Для дифференцирования вида жиров готовят три препарата: нативный, с метиленовым синим (цвет препарата должен быть светло-синий или темно-голубой) и с раствором уксусной кислоты. Микроскопия первого препарата дает общее представление о наличии жира (капли, иглы, глыбки). При обнаружении жира в виде капель микроскопируют препарат с синькой. При этом капли нейтрального жира бесцветны, капли жирных кислот имеют голубой или синий цвет. При обнаружении игл и глыбок первый препарат подогревают (не доводя до кипения) и тотчас микроскопируют. Образование капель после нагревания указывает на наличие жирных кислот; при остывании препарата капли вновь превращаются в глыбки (препарат можно подогреть повторно). Если при нагревании капель не образовалось, а иглы и глыбки остаются, нагревают препарат с уксусной кислотой (до кипения). Образование капель после подогревания этого препарата говорит о присутствии мыл. Уксусная кислота расщепляет мыла и освобождает жирные кислоты, которые плавятся, образуя капли.

Дифференцировка жира с реактивом судан III.

Препарат готовят, как указано выше, с добавлением капли судан III. Капли нейтрального жира и капли жирных кислот окраши-

ваются в оранжевый цвет. Нагревание такого препарата ведет к расщеплению мыл (если они есть) и образованию капель жирных кислот, так как в реактив судан III входит уксусная кислота. Вновь образовавшиеся капли также окрашиваются в оранжевый цвет. Таким образом, этот реактив не позволяет отличить в препарате жир нейтральный от жирных кислот, а дает общее представление о содержании жира в кале.

Недостатком реактива судан III является свойство выпадать в осадок в виде иголок красного цвета, что затрудняет микроскопию.

Кристаллы жирных кислот и мыл в виде игол и глыбок вышеуказанными реактивами не окрашиваются.

Увеличение в кале нейтрального жира (стеаторея) наблюдается при недостаточной липолитической функции поджелудочной железы. Увеличение в кале жирных кислот и мыл имеет место при нарушении желчеотделения. Увеличение всех видов жиров наблюдается при ускоренной моторике кишечника, при энтеритах.

ЭЛЕМЕНТЫ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ КИШЕЧНИКА

Элементы слизистой оболочки кишечника — слизь, эритроциты, лейкоциты, эпителиальные клетки, макрофаги, клетки злокачественных опухолей. Клеточные элементы обнаруживают в слизи. Для этого отобранные кусочки слизи ополаскивают в физиологическом растворе и готовят препараты. В препаратах, приготовленных из каловых масс, среди детрита трудно обнаружить клеточные элементы, так как некоторые частицы детрита имеют сходство с лейкоцитами, эритроцитами и эпителиальными клетками. При недостаточном опыте нередко по таким препаратам дают ошибочное заключение о наличии клеточных элементов там, где их нет.

Слизь имеет вид светлых тяжей с наличием в них клеточных элементов.

В норме слизь микроскопически обнаруживается редко с единичными эпителиальными клетками и лейкоцитами. Количество слизи увеличивается при заболеваниях кишечника (колит, дизентерия, язвенные процессы и др.).

Клетки цилиндрического эпителия имеют удлиненную форму, несколько расширенную с одного конца, с овальным крупным ядром. Клетки располагаются в слизи в виде одиночно рассеянных экземпляров или же скоплениями и пластами. В них почти всегда выражены дегенеративные изменения — зернистость, вакуолизация, разбухание, в результате чего клетки округляются.

В большом количестве они обнаруживаются при острых воспалительных процессах, особенно катаральных, полипозе кишечника, опухолевых процессах и др.

Лейкоциты, расположенные в слизи группами и тяжами, большими скоплениями, указывают на воспалительные процессы кишечника. Обнаруживаются при дизентерии, амебиазе, язвенном колите, туберкулезе кишечника и др. В основном лейкоциты являются нейтрофилами.

Эозинофилы в виде единичных клеток часто находят среди нейтрофилов. Различают их по обильной равномерной зернистости, покрывающей всю клетку, и более темной окраске. Эозинофилы, как

правило, распределяются в слизи неравномерно, скоплениями. Эозинофилы в больших количествах обнаруживают при амебиазе и балантидиазе (наряду с кристаллами Шарко—Лейдена), гельминтозах и инвазиях другими кишечными простейшими, при аллергических состояниях.

Макрофаги, полибласты, плазматические клетки различить в нативном препарате невозможно. При необходимости цитологического исследования дифференцировка их производится в препаратах, приготовленных в виде тонких мазков из слизи и гноя и окрашенных по Романовскому. При цитологическом исследовании препаратов можно судить о наличии:

1) острого воспалительного процесса (в препаратах нейтрофилы и эритроциты, макрофаги);

2) хронического воспалительного процесса (лимфоциты, нейтрофилы, полибласты, плазматические клетки).

Эритроциты неизмененные в виде желтоватых дисков в норме не встречаются. Обнаруживаются в кале при язвенных, воспалительных процессах, трещинах слизистой кишечника, распаде опухолей и прочих поражениях толстого кишечника. При кровотечениях из более высоких отделов кишечника эритроциты разрушаются. В таких случаях вопрос о присутствии эритроцитов (крови) решается путем химической реакции на скрытую кровь.

Клетки злокачественных опухолей находят в препаратах, приготовленных с тампона или смывов со стенки кишечника, взятых при ректороманоскопии. Необходимо также использовать для цитологического исследования материал (слизисто-кровянистые массы), оставшийся на ректоскопе или на пальцах перчаток при пальцевом обследовании кишечника. Исследование кала производят только в том случае, если кал свежевыделен и на поверхности его имеются слизисто-кровянистые массы. Слизистые клочки промывают в физиологическом растворе и готовят нативные препараты и тонкие препараты для окраски методом Романовского. Признаки злокачественных клеток см. в разделе «Моча».

Целесообразно исследовать на опухолевые элементы оформленный кал и кал, не содержащий слизи, что нередко делается в практике.

КРИСТАЛЛИЧЕСКИЕ ОБРАЗОВАНИЯ

Кристаллы трипельфосфатов (фосфорнокислая аммиак-магнезия, форму кристаллов см. в разделе «Моча») встречаются в кале с резко щелочной реакцией при усилении гнилостных процессов. Образование их связано с распадом лецитина, нуклеина, в присутствии аммиака как продукта гниения белков и солей пищевого магния.

Щавелевокислая известь (оксалаты кальция) встречается в кале при употреблении в пищу большого количества овощей. В норме соляная кислота желудка превращает оксалаты кальция в хлористый кальций. Присутствие их в кале может служить признаком понижения кислотности желудочного сока.

Кристаллы холестерина (см. раздел «Моча») в кале диагностического значения не имеют.

Кристаллы Шарко—Лейдена имеют форму вытянутого ромба. В кале могут служить указанием на наличие гельминтов и кишечных

простейших (при амебиазе, балантидиазе и др.). Чаще встречаются в слизи в сочетании с эозинофилами. Обнаружение их указывает также на аллергический процесс в кишечнике.

Кристаллы билирубина могут быть в слизи жидких испражнений при профузных поносах.

Кристаллы гематоидина встречаются в кале после кровотечений и могут быть в некротизированных тканевых клочках, например при язвенных колитах.

Нерастворимые лекарственные препараты в кале: 1) сернокислый барий — мельчайшие крупинки серого цвета; 2) висмут — темно-бурые, почти черные прямоугольники, ромбы и бруски; 3) карболен — черные, угловатой неправильной формы частицы.

БАКТЕРИОСКОПИЧЕСКОЕ И БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Количество микробов в кале составляет 40—50% всего кала. При необходимости флору кала изучают методом посева.

В нативном препарате обнаруживают йодофильную флору, которая окрашивается в препарате с раствором Люголя в темно-синий, почти черный цвет. Йодофильная флора располагается скоплениями и кучками. Морфология ее различна: палочки, кокки, дрожжевые клетки и др. В микробах содержится крахмал или продукты его расщепления, поэтому при добавлении йода получается соответствующее окрашивание.

В нормальных условиях пищеварения йодофильная флора содержится в слепой кишке и нижней части подвздошной, где принимает участие в расщеплении углеводов (перевариваемая клетчатка). Результатом жизнедеятельности йодофильной флоры являются процессы брожения. По мере усвоения углеводов йодофильная флора убывает, в нормальном кале не содержится. Большое количество йодофильной флоры обнаруживают при усиленных процессах брожения в кишечнике (например, при бродильной диспепсии) и при ускоренной эвакуации кала.

Дрожжевые клетки чаще овальной или круглой формы располагаются кучками или в виде почкующихся форм. В нормальном кале могут быть в небольшом количестве. Большое количество указывает на несвежесть испражнений, так как в этих случаях размножается плесневый грибок. В патологии увеличение грибка в виде почкующихся форм и нитей мицелия наблюдается при кандидамикозах и дисбактериозе.

Бактериоскопическое исследование кала имеет только относительное значение. Например, окраска по Граму дает представление об общем содержании грамотрицательной и грамположительной флоры. В нормальном кале преобладает грамотрицательная.

Микобактерии туберкулеза обнаруживают в мазках, окрашенных по Цилю — Нильсену. Вероятность обнаружить их в препаратах, приготовленных из комочков слизи и гноя, весьма значительна.

ХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Посуда. 1. Бюретки.

2. Ступки.

3. Воронки.

4. Цилиндры.

5. Колбочки.

6. Градуированные пипетки.

7. Пробирки.

Реактивы. 1. Лакмусовая бумага красная и синяя или

2. Универсальная индикаторная бумага.

Реакция кала

Ход определения. Две полоски синей и красной лакмусовой бумаги смочить дистиллированной водой и приложить к каловым массам (см. «Моча»).

При определении с универсальной индикаторной бумагой последнюю смачивают дистиллированной водой и прикладывают к каловым массам. Полученный цвет сравнивают с цветным стандартом (см. раздел «Моча»).

В норме реакция кала нейтральная или слабо щелочная. Она зависит преимущественно от жизнедеятельности микробной флоры кишечника. Кислая реакция наблюдается при активизации йодофильной флоры, продуктами жизнедеятельности которой являются углекислота и органические кислоты. При активизации гнилостной флоры образуется аммиак и реакция кала становится щелочной.

Кровь

Принцип: каталитическое свойство гемоглобина и окисление веществ в присутствии окислителей (перекись водорода, азонирующий скипидар и др.) с образованием цветной реакции.

Бензидиновая проба

Реактивы. 1. Основной бензидин.

2. Раствор уксусной кислоты 50%; перед употреблением немного бензидина (на кончике ножа) растворяют в 5 мл уксусной кислоты.

3. Раствор перекиси водорода 3% или лучше пергидроль, разведенный в 10 раз.

Ход определения. Неразведенный кал наносят толстым слоем на предметное стекло, добавляют 2—3 капли раствора бензидина в уксусной кислоте и столько же перекиси водорода. Перемешивают стеклянной палочкой. Положительная реакция на кровь дает зеленое или сине-зеленое окрашивание в течение первых 2 минут. Окрашивание, наступившее после 2 минут, не учитывается.

Вместо перекиси водорода можно пользоваться перекисью бария. 0,025 г основного бензидина и 0,1 г перекиси бария растворяют в 5 мл 50% уксусной кислоты. Реактив готовят непосредственно перед употреблением.

Ход определения. Препарат готовят как указано выше, добавляют 2—4 капли реактива, отмечают изменение цвета в первые

2 минуты. В положительном случае появляется сине-зеленое окрашивание.

Бензидиновая проба считается наиболее чувствительной.

Проба с гваяковой смолой (Вебера ван Деена)

Реактивы. 1. Ледяная или 80% уксусная кислота.

2. Спирт 96°.

3. Эфир.

4. Свежеприготовленная гваяковая настойка: растертую в порошок гваяковую смолу, взятую на кончике ножа, всыпают в сухую пробирку, приливают 2—6 мл спирта, дают отстояться. Для реакции берут отстоявшуюся жидкость без осадка.

5. 3% перекись водорода.

6. Хлороформ.

Ход определения. 3—5 г кала растирают в ступке с уксусной кислотой до получения полужидкой массы и приливают равное количество эфира, тщательно размешивают и сливают в пробирку. Дают отстояться. Эфирный слой переносят в другую чистую пробирку, приливают 15—20 капель гваяковой настойки, 10—15 капель перекиси водорода. При наличии крови тотчас или через 1—3 минуты появляется синее или фиолетовое окрашивание.

Упрощенная гваяковая проба

Небольшое количество кала в виде мазка наносят на бумажный фильтр, положенный на чашку Петри. На мазок накапывают поровну (по 2—3 капли) уксусной кислоты, гваяковой настойки и перекиси водорода. В присутствии крови появляется сине-зеленое окрашивание.

Пирамидоновая проба

Реактивы. 1. 5% спиртовой раствор пирамидона (амидопирина).

2. 30% раствор уксусной кислоты.

3. Перекись водорода (см. выше).

Ход определения. Кал разводят приблизительно в 10 раз. Берут равные количества приготовленной эмульсии и раствора пирамидона (по 2—3 мл), прибавляют по 10—12 капель уксусной кислоты и перекиси водорода. В присутствии крови появляется сине-фиолетовое окрашивание. Интенсивность и время появления окраски зависят от количества крови. Отрицательный ответ дается через 2—3 минуты.

При производстве реакции на скрытую кровь посуда (предметные стекла, пробирки) и реактивы должны быть химически чистыми. В противном случае можно получить ложные положительные результаты. Рекомендуется делать серийные исследования кала на скрытую кровь.

Интерпретация

Положительные реакции на скрытую кровь обнаруживают при язвенных, воспалительных и опухолевых процессах в желудочно-кишечном тракте. Положительная реакция может также наблю-

даться при употреблении в пищу животных и растительных веществ, обладающих каталитическим свойством (рыба, мясо, зеленые растения и др.), поэтому в таких случаях необходима соответствующая диета.

Периодичность кровотечений чаще указывает на язвенную болезнь. Постоянная положительная реакция чаще бывает при злокачественных распадающихся опухолях.

Из приведенных выше проб наиболее чувствительной является проба с бензидином, выявляющая 0,2% крови. Проба с пиридоном менее чувствительна. Наименее чувствительной является проба с гваяковой смолой, которая открывает не менее 5% крови.

Стеркобилин (качественное определение)

Качественная реакция на стеркобилин производится в тех случаях, когда кал не имеет свойственной ему коричневой краски.

Реакция с сулемой (проба Шмидта)

Принцип. Образуется светло-красное соединение — гидробилирубиндихлористая ртуть.

Реактив. Насыщенный раствор сулемы (7 г сулемы растворяют в 100 мл дистиллированной воды при нагревании. После охлаждения фильтруют).

Ход реакции. Комочек кала величиной с лесной орех растирают в фарфоровой чашке с 3—4 мл реактива и оставляют стоять при комнатной температуре на сутки. В присутствии стеркобилина кал приобретает розовое окрашивание; интенсивность окраски может быть различной. Если в кале содержится неизменный билирубин, то окраска зеленая за счет образования биливердина.

Реакция с уксуснокислым цинком

Реактивы. 1. Насыщенный спиртовый раствор уксуснокислого цинка (приготовление см. «Уробилин мочи»).

2. Раствор Люголя.

Ход реакции. Комочек кала растирают с приблизительно десятикратным объемом дистиллированной воды, приливают равное количество (предварительно взболтанного) уксуснокислого цинка и несколько капель раствора Люголя. Фильтруют. Фильтрат дает зеленую флюоресценцию, которая лучше видна на черном фоне.

Спектроскопическое определение

Для исследования необходим спектроскоп.

Реактив: 10% раствор хлорида бария или кальция.

Ход определения. Готовят водную или спиртовую эмульсию кала, фильтруют. К фильтрату прибавляют реактив в количестве $\frac{1}{5}$ объема фильтрата. Фильтруют (для удаления билирубина). После фильтрования жидкость исследуют с помощью спектроскопа. Стеркобилин дает полосу поглощения в сине-зеленой части спектра (между фраунгоферовыми линиями E и F).

Стеркобилин (количественное определение)

Способ Адлера

Реактивы. 1. Спирт 96°.

2. Уксуснокислый цинк.

3. Эфир.

4. Йодная настойка.

5. Жидкость для разведения (20 г уксуснокислого цинка растворяют в 100 мл воды и прибавляют 100 мл спирта).

Ход определения. Измеряют вес суточного количества кала, перемешивают его, отвешивают 10 г и растирают в ступке с 20 мл петролейного эфира в течение 2—5 минут для извлечения индола и скатола, также дающих флюоресценцию. Окрашенный в желтый цвет эфир сливают и заменяют равным количеством свежего эфира до тех пор, пока эфир не перестанет давать желтое окрашивание. Бесцветные порции эфира не должны давать флюоресценции с раствором уксуснокислого цинка. Обработку кала эфиром производят 6—10 раз.

К промытому эфиром калу добавляют 1 г уксуснокислого цинка (в порошке), 10 мл спирта и 3 капли йодной настойки, тщательно перемешивают и фильтруют. Если фильтрат мутный, его фильтруют повторно, наливая жидкость на тот же фильтр. Затем фильтрат разводят. Рекомендуется сразу сделать разведение 1:100.

Градуированной пипеткой на 2 мл разливают убывающие количества разведенного фильтрата в ряд пробирок и приливают в каждую пробирку разводящей жидкости до объема 2 мл (табл. 31). Отмечают, какое из разведений дает еще слабую флюоресценцию,

Таблица 31

СОДЕРЖАНИЕ СТЕРКОБИЛИНА (УРОБИЛИНА) В ЗАВИСИМОСТИ ОТ РАЗВЕДЕНИЯ ФИЛЬТРАТА

Фильтрат в мл	Разводящая жидкость в мл	Уробилин в мг%	Фильтрат, разведение 1:10 в мл	Разводящая жидкость в мл	Уробилин в мг%	Фильтрат, разведение 1:100 в мл	Разводящая жидкость в мл	Уробилин в мг%
2,0	—	0,17	0,8	1,2	4,25	0,80	1,2	42,5
1,5	0,5	0,22	0,66	1,34	5,10	0,66	1,34	51,0
1,0	1,0	0,34	0,57	1,43	5,95	0,57	1,43	59,50
0,8	1,2	0,43	0,5	1,5	6,80	0,50	1,5	68,0
0,5	1,5	0,68	0,4	1,6	8,50	0,4	1,6	85,0
0,4	1,6	0,85	0,3	1,7	11,0	0,3	1,7	110,0
0,3	1,7	1,10	0,26	1,74	12,75			
0,26	1,74	1,28	0,2	1,80	17,05			
0,2	1,8	1,70	0,16	1,84	21,25			
0,16	1,84	2,13	0,13	1,87	25,50			
0,13	1,87	2,55	0,1	1,9	34,00			
0,1	1,9	3,40						

пользуясь темным фоном, и по таблице находят содержание в нем стеркобилина в миллиграмм-процентах. Эту величину умножают на вес суточного количества кала, деленный на 100.

Например, минимальная флюоресценция отмечена при разведении фильтрата 1 : 100 в пробирке с 0,3 мл фильтрата и 1,7 мл разводящей жидкости. В таблице это соответствует 110 мг% стеркобилина. Суточное количество кала 200 г. Суточное выделение стеркобилина

$$\frac{110 \cdot 200}{100} = 220 \text{ мг.}$$

Интерпретация. Нормальное содержание стеркобилина в суточном количестве кала колеблется в пределах 200—600 мг.

Повышение стеркобилина наблюдается при усиленном гемолизе эритроцитов (гемолитическая анемия, цирроз печени, анемия Аддисона — Бирмера и др.). Уменьшение содержания стеркобилина происходит при воспалительных процессах желчных путей (холангиты), при паренхиматозных гепатитах. Полное отсутствие стеркобилина в кале (ахоличный кал) имеет место при обтурации желчного протока (желчнокаменная болезнь, опухоль), а также в тяжелых случаях острого гепатита (болезнь Боткина).

Билирубин

Реактив. Реактив Фуше (см. «Моча»).

Кал растирают с водой в соотношении 1 : 20 и прибавляют по каплям реактив Фуше (но не больше, чем объем каловой эмульсии). В присутствии билирубина появляется зеленое или синее окрашивание.

Реакция с сулемой также открывает наличие билирубина (см. выше), но она менее чувствительна.

Белок

Метод Трибуле, видоизмененный А. В. Вишняковым

Принцип. Просветление жидкости при свертывании белка или муцина вследствие адсорбции этими веществами при их осаждении бактерий и детрита.

Реактивы. 1. Насыщенный раствор сулемы (см. «Качественная реакция на стеркобилин») или 20% раствор трихлоруксусной кислоты.

2. 20% раствор уксусной кислоты.

3. Дистиллированная вода.

Ход определения. Готовят 3% эмульсию кала (3 г кала и 100 мл дистиллированной воды или 1 г кала и 33 мл воды растирают в ступке). В 3 пробирки разливают эмульсию по 15 мл (или по 7,5 мл). В первую пробирку наливают 2 мл насыщенного раствора сулемы или 20% раствора трихлоруксусной кислоты, во вторую 2 мл 20% раствора уксусной кислоты и в третью, контрольную, 2 мл дистиллированной воды. Пробирки встряхивают и оставляют стоять при комнатной температуре на 18—24 часа. Регистрируют степень просветления жидкости по сравнению с контрольной пробиркой. Пол-

ное просветление (+++) — реакция резко положительная; значительное просветление (++) — реакция положительная и слабое просветление (+) — реакция слабо положительная. Просветление в первой пробирке указывает на наличие сывороточного белка, просветление во второй — на наличие слизи — муцина; в контрольной пробирке жидкость остается мутной.

Интерпретация. Нахождение растворимого белка в кале свидетельствует о воспалительных процессах слизистой оболочки кишечника, изъязвлениях, сопровождаемых клеточным распадом и кровотечением. Пищевой белок при отсутствии ускоренной перистальтики почти полностью подвергается расщеплению. Следовательно, положительная реакция имеет большее диагностическое значение. Отрицательные результаты имеют относительную ценность, так как при наличии воспаления, но при длительном нахождении каловых масс в толстом кишечнике белок подвергается бактериальному расщеплению.

Органические кислоты

Метод Гуаффона и Ру

Принцип. Гидрат окиси кальция, прибавленный к разведенному калу, образует с кислотами брожения растворимые соли, из которых соляная кислота вытесняет органические кислоты. Момент полного замещения органических кислот соляной кислотой улавливается диметиламиноазобензолом, изменяющим свой цвет при появлении свободной соляной кислоты. Количество органических кислот выражают в миллилитрах соляной кислоты, потраченной при титровании.

Реактивы. 1. 30% водный раствор полуторахлористого (хлорного) железа.

2. 1% спиртовой раствор фенолфталеина.

3. Гидрат окиси кальция (гашеная известь) в порошке.

4. 0,1 N раствор соляной кислоты.

5. 0,1 N раствор едкого натра.

6. 0,5% спиртовой раствор диметиламиноазобензола.

Ход определения. Кал хорошо размешивают, отвешивают 10 г и помещают в фарфоровую ступку. Отмеривают 100 мл дистиллированной воды и постепенно приливают к калу 80—90 мл воды, тщательно размешивая; сюда же прибавляют 2 мл раствора полуторахлористого железа и 20—30 капель фенолфталеина.

В другой ступке растирают 2 г гидрата окиси кальция с оставшейся дистиллированной водой и приливают в первую ступку. Все тщательно размешивают. Смесь должна иметь красный цвет. Если же красного окрашивания нет, прибавляют еще немного гидрата окиси кальция. Через 10 минут жидкость сливают с осадка на складчатый фильтр. Фильтрат должен быть красного цвета, прозрачен.

В химический стаканчик отмеривают 25 мл фильтрата и нейтрализуют его 0,1 N раствором соляной кислоты до слабо розового цвета. Случайно прилитый избыток соляной кислоты устраняется прибавлением нескольких капель 0,1 N раствора щелочи. Количество прибавленной для нейтрализации соляной кислоты при расчете не учитывается. Затем приливают 15 капель раствора диметиламиноазобензола и титруют 0,1 N раствором соляной кислоты до изменения желтого цвета исследуемой жидкости на розовато-оранжевый.

Расчет. Количество миллилитров соляной кислоты, пошедшей на титрование, соответствует содержанию органических кислот в 25 мл фильтрата. Для того чтобы привести к 100 мл фильтрата, что соответствует 10 г кала, полученную цифру умножают на 4. Эта цифра выражает содержание органических кислот в кале и она указывается в анализе.

Метод требует соблюдения следующих условий: 1) кал должен быть свежесвыделенным; 2) нельзя искусственно менять консистенцию кала, т. е. нельзя давать слабительные или вещества, уплотняющие консистенцию кала.

Интерпретация. Содержание органических кислот — молочной, масляной, уксусной, пропионовой, валериановой и др., выражается величиной 14—16 единиц (норма). При усилении брожения их количество достигает 20—25 и даже 30—40. Уменьшение количества органических кислот (до 6) может зависеть от усиления гнилостных процессов, подавляющих бродильную флору.

Аммиак

Метод Гуаффона и Ру

Принцип. К фильтрату кала, полученному, как при определении органических кислот (см. выше), прибавляют формалин. Последний соединяется с аминогруппой аммонийных солей, которые при этом теряют свои основные свойства. Освобождающиеся кислые радикалы оттитровываются щелочью. При этом способе определяют суммарно свободный аммиак, связанный аммиак и аминокислоты.

Реактивы. 1. 30% водный раствор полутораклористого (хлорного) железа.

2. 1% спиртовой раствор фенолфталеина.

3. Гидрат окиси кальция (гашеная известь) в порошке.

4. 0,1 N раствор соляной кислоты.

5. 0,1 N раствор едкого натра.

6. Формалин.

Ход исследования. 25 мл фильтрата (оставшегося от определения органических кислот, см. выше) нейтрализуют до бледно-розового цвета. Прибавляют 5 мл формалина нейтрализованного (перед употреблением продажный формалин разводят пополам дистиллированной водой и приливают 0,1N раствор щелочи в присутствии фенолфталеина до слабо розовой окраски) и титруют 0,1 N раствором щелочи до не исчезающего розового цвета.

Расчет. Количество потраченной 0,1 N щелочи умножают на 4 (см. выше), чтобы привести к 100 мл фильтрата, соответствующего 10 г кала.

Определение аммиака, как и органических кислот, в меньших количествах фильтрата нежелательно, так как можно получить ошибочные результаты.

Интерпретация. В норме содержание аммиака соответствует 2—4 единицам. Количество аммиака в кале является отражением интенсивности процессов гниения в толстом кишечнике. Увеличение количества аммиака до 8—10 единиц указывает на усиление процессов гниения. Гниению могут подвергаться белки пищи и белки пищеварительных соков. Практически пищевой белок расщепляется и всасывается в тонком кишечнике. Гнилостному распаду чаще подвергается

белок, выделяемый стенкой толстого кишечника. Поэтому увеличение в кале аммиака может служить указанием на воспалительный процесс в толстом кишечнике. При колитах, сопровождающихся частым стулом, количество аммиака может быть не повышенным, так как процесс распада белка при поносах не успевает дойти до образования аммиака.

Ферменты

В кале содержится ряд ферментов. Разделение их представляет значительную трудность. Наибольшее практическое значение имеет определение энтерокиназы и щелочной фосфатазы, количественное определение которых используется как биохимический тест для оценки деятельности кишечника¹.

КОПРОЛОГИЧЕСКИЕ СИНДРОМЫ

Нормальный: кал оформленный, коричневого цвета, мягкой консистенции, щелочной реакции. Микроскопически: детрит, на фоне которого немного переваренных мышечных волокон.

Замедленная эвакуация (запор): вид овечьего кала, цвет темно-коричневый, консистенция плотная, реакция щелочная. Микроскопически: детрит, непереваримая клетчатка.

Ускоренная эвакуация из тонкого кишечника: кал неоформленный, цвет желтый или ярко-желтый, консистенция полужидкой кашицы, реакция нейтральная или щелочная, положительная реакция на билирубин. Микроскопически: мышечные волокна в значительном количестве переваренные и непереваренные, много переваримой клетчатки и крахмала, значительное количество жира (нейтральный жир, мыла, жирные кислоты).

Нарушение секреторной функции желудка (ахилия): неоформленный или оформленный кал плотной или кашнеобразной консистенции, темно-коричневого цвета, реакция щелочная. Микроскопически: много непереваренных мышечных волокон, обнаруживается соединительная ткань, много переваримой клетчатки, немного крахмала.

Недостаточность поджелудочной железы: неоформленный маслянистый кал, серовато-желтого цвета, реакция щелочная. Микроскопически: большое количество непереваренных мышечных волокон (креаторея), нейтрального жира (стеаторея), переваримой клетчатки и крахмала. Может быть соединительная ткань.

Недостаточность желчеотделения: кал оформленный или неоформленный, цвет белый, глинистый, серовато-белый, консистенция твердая или мацеобразная, реакция кислая. Реакция на стеркобилин отрицательная. Микроскопически: немного переваренных мышечных волокон, большое количество жирных кислот и мыл, немного крахмала и переваримой клетчатки (но может и не быть).

Бродильная диспепсия: неоформленный кал с обилием пузырьков газа, цвет светло-коричневый или желтый, консистенция кашнеобраз-

¹ В. И. Алеева, С. Я. Михлин. Советская медицина, 1964, № 7; К. Б. Бахадуров. Клиническая медицина, 1964, № 5.

ная, реакция кислая. Микроскопически: немного мышечных волокон и мыл, большое количество переваримой клетчатки, крахмала и йодофильной флоры.

Поражение слизистой оболочки кишечника (дизентерия, амебиаз, язвенный колит и др.): примесь слизи, крови, гноя (в различных соотношениях) к каловым массам. Микроскопически: в слизи содержатся лейкоциты, эозинофилы, цилиндрический эпителий, эритроциты.

НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ КАЛА ДЕТЕЙ ГРУДНОГО ВОЗРАСТА

Первородный кал — меконий. Первое выделение мекония обычно наступает через 8—10 часов после рождения и продолжается в первые 2—3 дня. Общее количество колеблется от 70 до 100 г. Имеет вид вязкой, густой неоформленной массы темно-зеленого цвета, без запаха, кислой реакции.

При микроскопическом исследовании на фоне слизи пластины ороговеющего плоского эпителия, клетки цилиндрического эпителия, капли нейтрального жира, кристаллы билирубина и холестерина. Первые порции обычно флоры не содержат, в дальнейшем флора скудная.

Кал ребенка грудного возраста состоит из остатков пищеварительных соков (желчь), жировых элементов (нейтральный жир, жирные кислоты и мыла) и слизи. Кал детей, находящихся на грудном и искусственном вскармливании, несколько отличается по своим физическим свойствам.

Кал здорового ребенка, находящегося на грудном вскармливании. Количество 40—50—80 г, число дефекаций 2—3 раза. Кал неоформленный, консистенция кашицеобразная, цвет золотисто-желтый, зеленеет на воздухе. Запах кисловатый, реакция кислая. Химическая реакция на билирубин положительная. Микроскопически: большое количество жирных кислот и немного нейтрального жира, слизь, тесно перемешанная с калом, в которой может быть значительное количество лейкоцитов.

Кал здорового ребенка, находящегося на искусственном вскармливании. Более густая консистенция, цвет бледно-желтый (сероватый), на воздухе не зеленеет. Запах слегка аммиачный, реакция нейтральная или слабо щелочная. Микроскопически: много мыл, в остальном то же, что при грудном вскармливании. Кроме того, может быть растительная клетчатка в небольшом количестве.

При патологических состояниях (диспепсия и другие расстройства пищеварения, токсикозы, недостаточность поджелудочной железы) в кале детей грудного возраста содержится нейтральный жир в большом количестве.

Содержание в слизи нейтрофилов и цилиндрического эпителия указывает на катаральное состояние слизистой кишечника.

Слизь, содержащая большое количество эритроцитов и лейкоцитов, наблюдается при дизентерии. Нужно иметь в виду, что при тяжелом общем состоянии (например, при пневмонии) в кале детей также может быть обнаружена слизь с наличием эритроцитов и нейтрофилов¹.

¹ А. В. Говиндяева. Советская медицина, 1953, № 4.

КАЛОВЫЕ КАМНИ

Каловые камни (копролиты) — образования из уплотнившихся каловых масс. Образуются главным образом в области перегибов толстой кишки или в червеобразном отростке. Имеют очень твердую консистенцию и достигают крупных размеров; иногда они закрывают просвет кишки. Истинные кишечные камни (энтеролиты) по размеру меньше, чем копролиты, состоят из органического ядра, на котором откладываются слои минеральных солей, чаще всего фосфатов.

Формы энтеролитов. Типичные кишечные камни — шарообразные, тяжелые, твердые на разрезе, имеется концентрическая слоистость. Внутри содержат инородное тело (ядро конкремента).

Более легкие камни состоят главным образом из непереваренных остатков растительной пищи, пропитанных фосфорнокислыми солями.

Камни, образующиеся из лекарств, принятых внутрь, состоят из нерастворимых или трудно растворимых лекарств, принятых в порошке или таблетках (салол, магнезия и др.).

Кишечный песок — мелкие твердые зерна, состоящие из органического вещества и солей (углекислая известь, фосфорнокислая аммиак-магнезия).

Ход исследования: 1) конкремент распиливают; 2) часть измельченного камня сжигают в платиновом тигле. Если большая часть сгорает, то главная масса состоит из органического вещества. В этом случае состав конкремента удастся установить микроскопическим исследованием; 3) если при сжигании камень только обугливается, то в состав его входят главным образом неорганические вещества. В этих случаях производят качественное исследование.

В пробирку помещают небольшое количество измельченного камня, обливают разведенной соляной кислотой и слегка нагревают. Если при этом образуется газ, то это указывает на присутствие углекислых солей.

Нерастворимую в соляной кислоте часть осадка отделяют от соляной кислоты центрифугированием. Осадок состоит главным образом из органических кислот. Раствор может содержать фосфорнокислые соли (извести или магнезии), щавелевокислую известь, аммиак, следы белковых веществ. Ход определения составных частей такой же, как при исследовании мочевых камней.

ПРОСТЕЙШИЕ КИШЕЧНИКА

Простейшие кишечника, паразитирующие у человека, относятся к 4 классам: класс Rhizopoda — корненожки, или амобы, класс Flagellata — жгутиковые, класс Ciliata — ресничные, класс Sporozoa — споровики.

Большинство паразитов непатогенные, но некоторые являются причиной тяжелых заболеваний. В этих случаях диагноз заболевания ставится на основании нахождения паразитов при лабораторном исследовании.

В организме человека простейшие встречаются в виде вегетативных (подвижных) форм и стадии цист. Местом их локализации являются толстые и тонкие кишки, полость рта, печень и другие органы.

Материалами для исследования на простейшие могут служить каловые массы, слизь и смывы, полученные при ректоскопии, содержимое двенадцатиперстной кишки и желудка, зубной налет, слюна, содержимое гайморовой полости, содержимое абсцессов печени, легких и других органов, полученное при помощи пункции или после операции.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Кал должен быть обязательно свежесвыделенный. Исследовать необходимо не позже 15—20 минут после дефекации, так как вегетативные формы быстро погибают во внешней среде. Нельзя сохранять кал в термостате или в теплой воде, так как при этом происходят гибель и дегенеративные изменения вегетативных форм. В крайних случаях, когда невозможно исследовать испражнения сразу же после получения, их оставляют при температуре холодильника (3—5°), но не более чем на час. Вегетативные формы обнаруживают в жидких и полужидких испражнениях. В оформленном кале находят цисты, которые сохраняются в кале без изменений дольше, поэтому исследование таких фекалий можно производить в течение нескольких часов, но не более чем через сутки, сохраняя кал в прохладном месте.

Кал собирают в чистую сухую посуду без примеси воды, мочи и дезинфицирующих веществ. Кал на простейшие не исследуют после масляных клизм, приема бария, висмута и пр. Однократное исследование кала на простейшие с отрицательными результатами значе-

ния не имеет. Окончательный отрицательный ответ может быть дан только после 4—5-кратного исследования с промежутками в 2—3 дня. При повторном отрицательном результате допускается исследование кала после дачи солевого слабительного (сернистый магний). При исследовании кала на простейшие используют два метода: 1) метод нативного мазка и мазка с раствором Люголя (в большинстве клинико-диагностических лабораторий этот метод является основным) и 2) метод фиксированных окрашенных препаратов.

МЕТОД НАТИВНОГО МАЗКА

Посуда и оборудование. 1. Покровные и предметные стекла.
2. Деревянные палочки.
3. Чашки Петри.
4. Большое часовое стекло.
5. Бюксы.
6. Измерительный цилиндр.
7. Глазной пинцет.
8. Препаровальные иглы.
9. Микроскоп.

Приготовление нативного препарата и препарата с раствором Люголя

На предметное стекло наносят каплю физиологического раствора, в которой эмульгируют небольшое количество кала, взятое на кончике тонкой деревянной палочки. Из слизи и гноя препараты готовят отдельно. Для исследования необходимы тонкие и покрытые покровным стеклом препараты в количестве не менее 5—7. Препарат с раствором Люголя готовят также, как предыдущий, но вместо физиологического раствора берут каплю раствора Люголя.

Препараты микрофотографируют предварительно с малым увеличением (объектив 8×, окуляр 10×), затем с большим.

Препарат с физиологическим раствором в основном служит для обнаружения вегетативных форм простейших, которые распознаются по характеру движения и другим морфологическим признакам; в этом же препарате обнаруживают и цисты. Препарат с раствором Люголя выявляет более тонкую структуру простейших и в основном служит для дифференцирования цист.

МЕТОД ФИКСИРОВАННЫХ ОКРАШЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ (ОКРАСКА ЖЕЛЕЗНЫМ ГЕМАТОКСИЛИНОМ ПО ГЕЙДЕНГАЙНУ)

Метод сложный, занимает много времени и применяется только в крайних случаях, когда невозможно обойтись исследованием только нативных препаратов.

Посуда. 1. Чашки Петри или большое часовое стекло.
2. Бюксы.
3. Мерный цилиндр.
4. Глазной пинцет.

5. Препаровальные иглы.

6. Покровные стекла (тонкие, не более 0,17 мм).

Реактивы. 1. Жидкость Шаудина: 1 объем 96° спирта и 2 объема насыщенного раствора сулемы; к этой смеси непосредственно перед употреблением приливают ледяную (или крепкую) уксусную кислоту в количестве 3—5% к общему объему. Перед употреблением смесь слегка подогревают.

2. Спирт 70—96°.

3. Спирт-йод; к 70° спирту добавляют настойку йода до цвета портвейна.

4. 2,5—4% водный раствор железо-аммиачных квасцов. Раствор нестойкий, поэтому его готовят перед употреблением из 20% раствора. Кристаллы квасцов должны быть бледно-лилового цвета (без желтого налета).

5. Раствор гематоксилина: 1г кристаллического гематоксилина растворяют в 10 мл 96° спирта, доливают до 100 мл бидистиллированной водой (нейтральной реакции). Кристаллы гематоксилина должны быть желтого цвета, покрасневшие кристаллы непригодны. Приготовленный раствор должен быть соломенно-желтого цвета. Бутылку, прикрытую ватой, оставляют стоять на свету при комнатной температуре 2—3 недели, после чего раствор приобретает цвет портвейна. Перед употреблением нужное количество гематоксилина разводят таким же количеством дистиллированной воды.

6. Карбол-ксилол: 1 часть кристаллической карболовой кислоты и 3 части ксилола.

7. Ксилол.

8. Канадский бальзам.

Приготовление и окраска препаратов. Деревянной палочкой вытирают слизь или частицу кала и делают на покровном стекле тонкий равномерный мазок (готовят не менее 4 препаратов). Влажный препарат быстро опускают намазанной стороной вниз, на поверхность жидкости Шаудина (нагретой до появления паров), налитой в чашку Петри (или часовое стекло) на 2—5 минут. При правильном опускании стекло плавает на поверхности жидкости. Из жидкости Шаудина препараты мазком вверх переносят пинцетом в бюксы с 70° спиртом, затем в спирт-йод и чистый 70° спирт. В каждом растворе стекла лежат по 2 минуты. Стекла должны лежать свободно, не налегая одно на другое. Далее мазки промывают дистиллированной водой 2 минуты и переносят в бюкс с 2,5—4% раствором железо-аммонийных квасцов на сутки. Вынув мазки из квасцов, их быстро (1 секунду) промывают дистиллированной водой, дают стечь воде на фильтровальную бумагу и переносят в баночку с гематоксилином на сутки. Затем препараты кладут в водопроводную воду, налитую в чашку Петри на 5 минут, и далее дифференцируют 2% раствором квасцов (для удаления излишка краски) под контролем микроскопа. Дифференцирование производят следующим образом. С препарата, промытого водой, осторожно тряпочкой стирают осадок краски со стороны противоположной мазку. Покровное стекло кладут мазком вниз на предметное стекло. Под покровное стекло впускают раствор квасцов. Микроскопируют и отыскивают цисты или амебы или лейкоциты. Дифференцирование прекращают тогда, когда на сероватом фоне протоплазмы клеток отчетливо видны черные хроматиновые элементы ядер, черные хроматинные тела или эритроциты. После дифференцирования препа-

рат промывают водопроводной водой 10—15 минут. Дают стечь воде на фильтровальную бумагу, держа стекло ребром. Затем последовательно погружают в 70 и 96° спирт, карбол-ксилол и чистый ксилол, держа препарат в каждом растворе по 2 минуты. Обезвоженный таким образом препарат заключают в канадский бальзам: каплю канадского бальзама кладут на предметное стекло и осторожно накладывают на нее препарат намазанной стороной вниз, избегая при этом образования пузырей.

МЕТОД НАКОПЛЕНИЯ (КОНЦЕНТРАЦИИ) ЦИСТ

5—10 г кала размешивают в фарфоровой ступке с 2—3-кратным количеством водопроводной воды. Полученную взвесь разбавляют 500 мл воды и переливают в стеклянный цилиндр соответствующей емкости. Через 15 минут жидкую часть переливают в другой цилиндр, а осадок из крупных частиц выбрасывают. Через 24 часа жидкость сливают, а из образовавшегося тонкого осадка на дне готовят препараты и исследуют на простейшие. Для ускорения производства анализа часть жидкости, предназначенной для суточного отстаивания, можно отцентрифугировать и сделать препараты из осадка.

МОРФОЛОГИЯ ПРОСТЕЙШИХ

КЛАСС RHIZOPODA — КОРНЕНОЖКИ, ИЛИ АМЕБЫ

В кале можно обнаружить следующие виды амёб: *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba coli*, *Entamoeba hartmani*, *Endolimax nana*, *Jodamoeba bütschlii*, *Dientamoeba fragilis*.

В полости рта и иногда в легких находят *Entamoeba gingivalis*. Из перечисленных видов патогенное значение имеет *E. histolytica*. Все остальные непатогенные и имеют дифференциально диагностическое значение.

Entamoeba histolytica — дизентерийная амёба. Vegetативные формы живут и размножаются в жидком содержимом просвета слепой и восходящей части толстой кишки и называются просветными формами дизентерийной амёбы. По мере продвижения и сгущения каловых масс вегетативные формы, попадая в неблагоприятные для существования условия, превращаются в цисты. Такое состояние называется носительством.

При некоторых условиях дизентерийная амёба проникает в стенки толстой кишки, вызывая патологический процесс с образованием язвы и появлением слизисто-кровянистых выделений. В этих случаях амёбы принимают другие морфологические черты, заглатывают эритроциты и называются тканевыми формами дизентерийной амёбы (эритрофаги). Диагноз амёбной дизентерии (амебиаза) можно поставить только на основании обнаружения тканевых форм. По наличию в кале просветных форм и цист диагноз амебиаза ставить нельзя, так как эти формы встречаются при носительстве.

Тканевая форма *E. histolytica* в нативном препарате бесцветная, слегка преломляет свет, размер 20—25—60 мк. Внутренний слой протоплазмы (эндоплазмы) зернистый. Наружный слой (эктоплазма) более гомогенный, хорошо заметен при образовании псевдоподий (ложноножек). Особенно характерным для этой формы является вне-

запное точкообразное образование псевдоподий, в момент появления которых хорошо заметно как бы «переливание» эктоплазмы и поступательное движение амебы. Ядро у живой амебы трудно различимо. В протоплазме обнаруживаются эритроциты (характерный признак), часто в большом количестве. Другие включения (бактерии, грибки и пр.) бывают редко.

В окрашенных препаратах по Гейденгайну выявляются детали строения ядра: хроматиновое вещество, окрашенное в черный цвет, в виде мелких глыбок сконцентрировано на внутренней поверхности ядерной оболочки. Тканевую форму обнаруживают в жидких испражнениях или слизисто-кровянистых выделениях из толстых кишок. В случаях, когда имеется клинически подозрительная картина на амebную дизентерию, а в кале находят только просветные формы и цисты, необходимо исследовать кал больного многократно и пытаться отыскать тканевые формы, применив солевые слабительные.

Просветная форма в основном имеет строение тканевой формы, но меньших размеров (15—20 мк), движения менее энергичные, в протоплазме содержится немного бактерий, эритроциты не захватываются.

Просветные формы обнаруживают при затихании патологического процесса и у носителей.

Цисты *E. histolytica* правильной круглой или слегка овальной формы, размер от 8 до 15 мк, в среднем 11—12 мк, с хорошо заметной оболочкой. В нативном препарате цисты бесцветны, слегка преломляют свет. Зрелые цисты имеют 4 ядра, незрелые — 1 или 2 и большую гликогеновую вакуоль. Эти детали выявляются в препарате с раствором Люголя, где ядра имеют вид колец, преломляющих свет, с точечной карносомой в центре. Гликогеновая вакуоль — образование с расплывчатыми контурами, окрашенное в коричневый цвет. Вся циста имеет желтую окраску. Цисты обнаруживают, как правило, в оформленном кале.

В ответах результатов лабораторных исследований необходимо писать: «Обнаружены тканевые формы *E. histolytica*, что указывает на амebное поражение кишечника» или «Обнаружены просветные формы (или цисты) *E. histolytica*. Тканевых форм дизентерийной амeбы, безусловно указывающих на наличие амebного поражения кишечника, не найдено».

Носительство дизентерийной амeбы среди здорового населения составляет 15—20%.

Entamoeba hartmani. Размер вегетативных форм 4—12 мк, малоподвижные, в протоплазме содержатся бактерии. Цисты мелкие (4—9 мк), имеют 1—2—4 ядра. Для человека непатогенна. Носительство среди здорового населения в 5—10% случаев.

Entamoeba coli — кишечная амeба, по морфологии похожа на дизентерийную амeбу, поэтому очень важно дифференциальное распознавание. Размер 20—30—60 мк. Эндоплазма грубозернистая, вакуолизированная, эктоплазмы нет, ядро заметно в виде кольца. В протоплазме имеются различные включения — бактерии, дрожжевые клетки, частицы пищевых остатков и др., эритроциты могут быть в очень редких случаях. Характер движения вялый, псевдоподии образуются очень медленно. Поступательное движение отсутствует, амeба как бы «топчется на месте». В препаратах, окрашенных по Гейденгайну, ядро схоже с ядром *E. histolytica*, но более богато хроматином, который в виде грубых зерен распола-

гается на внутренней оболочке ядра. В ядре имеется эксцентрично расположенная кариосома.

Цисты кишечной амебы значительно крупнее (табл. 32) и в нативных препаратах выглядят так же, как цисты дезинтерийной

Таблица 32

СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ПРИЗНАКИ СТРОЕНИЯ *E. HISTOLYTICA*, *E. COLI* И *E. HARTMANI* В НЕОКРАШЕННЫХ ПРЕПАРАТАХ

Признаки	<i>E. histolytica</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. hartmani</i>
Вегетативные формы			
Размеры в мк	15—60	15—60	4—12
Движения	Активное, поступательное	Амеба меняет форму, но не меняет место	Сходно с <i>E. histolytica</i>
Псевдоподии	Прозрачные гназиновые, пальцеобразные, образуются быстро, толчками	Прозрачные, широкие, образуются медленно	Сходно с <i>E. histolytica</i>
Ядро	Плохо различимо в свежих препаратах	Видно отчетливо	Не видно
Включения	Эритроциты, очень мало бактерий	Большое количество зерен крахмала, бактерий и пр.	Бактерии
Цисты размеры в мк	8—15 (в среднем 11)	10—20 (в среднем 15)	4—9 (в среднем 7,5)
Число ядер	4—в зрелых цистах, 1, 2, 3—в молодых	8—в зрелых цистах, 1, 2, 4—в молодых (редко 16 или 32)	4—в зрелых цистах, 1, 2, 3—в молодых
Хроматидные тела	В виде брусочков и палочек с округленными концами в большинстве цист	В виде палочек с острыми или расщепленными концами, встречаются редко	Большое количество в виде мелких брусочков
Вакуоль гликогеновая	В молодых цистах крупная с расплывчатыми контурами	В 1—2-ядерных цистах очень крупная, оттесняет ядра к оболочке цисты	Диффузная масса в центре ядра не во всех цистах

амебы, но в протоплазме видны ядра в виде колец. В препарате с раствором Люголя — число ядер зрелой цисты 8, иногда 16 и 32, молодые цисты имеют 1—2 и редко 4 ядра. В молодых цистах может быть гликогеновая вакуоль. *E. coli* для человека непатогенна. Носительство среди здорового населения составляет 20—30%.

E. gingivalis обитает в зубном налете полости рта. Можно иногда обнаружить в мокроте при абсцессах и других заболеваниях легких. Размеры вегетативных форм 20—40 мк. Подвижность слабая, ядро схоже с ядром *E. histolytica*. В протоплазме много бактерий, грибов, лейкоцитов. По данным одних авторов, цисты встречаются очень редко, по данным других, *E. gingivalis* цист не образует. Патогенность не ясна.

Endolimax nana — карликовая амеба. Размер вегетативной формы 6—12 мк. Движения вялые, поступательного движения не наблюдается. В протоплазме большое количество бактерий, эритроциты не фагоцитируют, ядро в нативном препарате не различимо. В окрашенном по Гейденгайну препарате ядро содержит крупную кариосому. Цисты овальной или круглой формы, размером 5—14 мк, в среднем 7 мк. В препаратах с раствором Люголя цисты окрашены в желтый цвет, ядра неразличимы. В препаратах, окрашенных по Гейденгайну, можно видеть от 1 до 4 ядер. Амеба не патогенна для человека. Носительство среди здорового населения составляет 15—20%.

Jodamoeba bütschlii. Размер вегетативной формы 8—20 мк, движения вялые, ядро не заметно, в протоплазме много бактерий. В окрашенных по Гейденгайну препаратах ядро содержит крупную кариосому.

Цисты имеют неправильную форму, размер 5—15 мк, в среднем 9 мк. В препаратах, обработанных раствором Люголя, имеется крупная, резко очерченная, интенсивно окрашенная в коричневый цвет гликогеновая вакуоль. Амеба не патогенна для человека. Носительство среди здорового населения 10—15%.

Dientamoeba fragilis. Известны только вегетативные формы. Размер 7—12 мк, движение активное, поступательное. Протоплазма вакуолизирована, содержит бактерии и пищевые частицы. Ядро в нативном препарате не видно. В окрашенных по Гейденгайну препаратах 2 ядра с крупной кариосомой. Патогенность для человека не выяснена. Встречается редко.

КЛАСС FLAGELLATA — ЖГУТИКОВЫЕ

Из класса жгутиковых в кишечнике человека паразитируют: *Lamblia intestinalis*, *Trichomonas hominis* и *Chylomastix mesnili*.

Lamblia intestinalis — лямблии кишечные паразитируют в двенадцатиперстной кишке и тонком кишечнике. Вегетативные формы встречаются в жидких и полужидких испражнениях. Имеют грушевидную форму. Длина 10—15 мк, ширина 7—10 мк. Тело состоит из двух симметрично расположенных половин, разграниченных аксостилем. От каждой половины отходят по 4 жгута (всего 8), в каждой имеется ядро. Движение поступательное, иногда вращательное. Все детали можно рассмотреть подробно только в окрашенных по Гейденгайну препаратах.

Цисты овальной формы, размер 8—14 мк. Хорошо заметна оболочка, внутри цист имеется сложный рисунок (ядра, аксостиль, жгуты). Детали хорошо видны в препарате, обработанном раствором Люголя. Патогенность изучена недостаточно (см. «Содержимое двенадцатиперстной кишки»). Среди здорового взрослого населения встречается в 7—12%, среди здоровых детей от 1 года до 4 лет — в 20—30% случаев.

Trichomonas hominis — паразитирует в толстом кишечнике. Вегетативная форма овальная, ядро расположено в передней части. Посередине тела проходит опорная нить — аксостиль. Органеллами движения служат жгуты, число их от 3 до 5. На краю тела с одной стороны имеется ундулирующая мембрана. Длина трихомонад от 7—20 мк, ширина 3—7 мк. Все детали строения можно определить в окрашенных по Гейденгайну препаратах. В нативном препарате трихомонад распознают по непрерывному волнообразному движению ундулирующей мембраны. В протоплазме обнаруживают бактерий, иногда эритроциты. Цист не образуют. Трихомонад находят в жидких и полужидких испражнениях. Большинство авторов их считает непатогенными. Среди здорового населения носительство 7—12%.

Trichomonas elongata по морфологии сходен с кишечной формой. Паразитирует в полости рта. При некоторых заболеваниях иногда встречается в мокроте, в пищеводе.

Trichomonas vaginalis (см. «Отделяемое половых органов») по строению близок к вышеописанным.

Chylomastix mesnili обитает в толстом кишечнике, иногда в нижнем отделе тонкого кишечника, тело грушевидной формы, размеры в длину 10—12 мк, в ширину 3—5 мк, имеет 4 жгута. Движения энергичные, поступательные и вращательные. В протоплазме содержатся бактерии и частицы пищевых остатков. Цисты 7—10 мк, овальной формы, напоминающей лимон, покрыты довольно толстой оболочкой. Для человека непатогенен. Встречается у 6—10% здоровых людей.

КЛАСС CILLIATA — РЕСНИЧНЫЕ

Balantidium coli — крупная инфузория (30 до 200 мк). Размножается в жидком содержимом нижних отделов тонкой, а также слепой кишки. Форма овальная, все тело покрыто множеством коротких ресничек, благодаря которым паразит быстро передвигается. В верхней части расположено щелевидное отверстие, выполняющее функцию рта. В протоплазме имеются пищеварительные и сократительные вакуоли. В нижней части расположено анальное отверстие.

Паразит имеет 2 ядра — макронуклеус и микронуклеус. Цисты правильной сферической формы, размером 50—60 мк с хорошо выраженной двухконтурной оболочкой. Все детали строения различимы в окрашенных по Гейденгайну препаратах.

Balantidium coli вызывает тяжелое заболевание — балантидиаз, сопровождающееся язвенным поражением толстого кишечника. Для балантидиаза характерен кал, состоящий из слизи, гноя и крови. Клинически трудно дифференцировать бациллярную дизентерию, амебиаз и балантидиаз, поэтому в таких случаях необходимо всестороннее обследование больных.

КЛАСС SPOROZOA — СПОРОВИКИ (КОКЦИДИИ)

Isopora belli (hominis) вызывают заболевание кокцидиоз. Паразитирует в ворсинках тонких кишок. Ооцисты удлиненно-овальной формы, размером 25—33 мк, протоплазма наполнена сильно преломляющими свет зернами.

Ооцисты в кале встречаются в конце заболевания или даже после его прекращения, вследствие чего поставить диагноз своевременно часто не представляется возможным. Кокцидиоз человека редкое заболевание.

Blastocystis hominis относятся к микроорганизмам грибкового характера, часто встречаются в кале. По внешнему виду похожи на цисты некоторых видов амёб. Круглые или овальные образования разных размеров — от 5 до 20 мк и более. Центральную часть занимает большая вакуоль с однородным, слабо преломляющим свет веществом (в препарате с раствором Люголя оно окрашивается в желтый цвет), которая окружена тонким слоем протоплазмы (как оболочкой). В протоплазме обнаруживаются одно или несколько ядер. Для человека *Blastocystis hominis* не патогенна. Могут встречаться и в нормальном кале. Питательной средой для них, по мнению некоторых авторов, является слизь. Поэтому наличие в кале *Blastocystis hominis* в большом количестве служит косвенным показателем гиперсекреции слизистой оболочки (катаральное ее состояние).

ТОКСОПЛАЗМЫ

Токсоплазмы — патогенные простейшие; систематическая классификация их в настоящее время не ясна.

Морфология. Токсоплазмы имеют форму полумесяца. Размер их — 4—7 мк в длину, 2—4 мк в ширину. Ядро шаровидной формы, при окраске по методу Романовского в нем видны красноватого цвета гранулы; цитоплазма голубого цвета. Токсоплазмы располагаются либо внутри цитоплазмы клеток различных органов («псевдоцисты») либо лежат свободно.

Методы исследования. Микроскопический метод. Препараты, приготовленные из спинномозговой жидкости (осадок после центрифугирования), мокроты, препараты-отпечатки различных органов исследуются по методу Романовского. Практическое значение этого метода не велико (токсоплазмы обнаруживаются в незначительном числе случаев).

Биологический метод. Заражение лабораторных животных (белые мыши и морские свинки) материалом, взятым у больных или у лиц, подозрительных на токсоплазмоз (ликвор, кровь, мокрота, измельченные кусочки органов и тканей). Метод используется в научно-исследовательских учреждениях.

Реакция связывания комплемента. Для постановки реакции необходимы: 1. Эритроциты барана. 2. Гемолитическая сыворотка. 3. Комплемент. 4. Антиген. 5. Исследуемая сыворотка. Техника постановки реакции подробно описана в наставлении, приложенном к сухому антигену для серологической диагностики токсоплазмоза.

Внутрикожная проба ставится с токсоплазмином.

Обследованию на токсоплазмоз подлежат женщины с отягченным акушерским анамнезом, дети, родившиеся от этих женщин, больные с этиологически неясными заболеваниями при наличии патологии нервной системы, органов зрения и слуха и имевшие контакт с животными.

ГЕЛЬМИНТЫ

Для установления диагноза гельминтозов исследуют испражнения, дуоденальное содержимое, мокроту, мочу, содержимое кист, кусочки тканей, кровь, перианальную и ректальную слизь, содержимое подногтевых пространств. Кроме того, определяют самопроизвольно вышедших и выделенных при лечении паразитов.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ИСПРАЖНЕНИЙ

Свежие испражнения, взятые из разных мест разовой порции в количестве около четверти стакана, доставляют в лабораторию в чистой стеклянной посуде.

Для контроля лечения в лабораторию направляют всю порцию испражнений, собранных в дни приема противоглистного средства и слабительного, вместе с крупным ленточным паразитом, если таковой выделился.

Для исследования испражнений применяют макрогельминтоскопические и микрогельминтоскопические методы.

МАКРОГЕЛЬМИНТОСКОПИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

Посуда и оборудование. 1. Высокие стеклянные банки на 5—10 л.

2. Предметные стекла шириной 5—6 см.

3. Предметные стекла.

4. Стеклянные палочки диаметром 10 мм с оплавленными концами.

5. Мелкое сито.

6. Тарелки глубокие с черным дном.

7. Черные фотокуветы.

8. Пинцет анатомический.

9. Перчатки медицинские.

10. Сильная 20-кратная лупа ручная.

Реактив. Глицерин.

Макрогельминтоскопические методы применяются для контроля эффективности дегельминтизации, определения вида выделяющихся паразитов или отошедших самостоятельно и их фрагментов (членики, часть стробилы).

ПРОСМОТР НЕВООРУЖЕННЫМ ГЛАЗОМ ИЛИ С ЛУПОЙ

Испражнения смешивают с водой до жидкой консистенции, переносят небольшими порциями в черную фотографическую ванночку или чашку Петри, поставленную на черный фон, и исследуют невооруженным глазом или с лупой для обнаружения мелких гельминтов (острицы, карликовый цепень, трихостронгилиды, анкилостоматиды и др.). Подозрительную на паразита частицу рассматривают в капле глицерина между двумя предметными стеклами, слегка сдавливая их.

МЕТОД ОТСТАИВАНИЯ

Все порции испражнений, собранные после дачи больному глистогонного препарата и слабительного, помещают в высокую стеклянную банку, широкий цилиндр или ведро, разбивают их сильной струей воды и отстаивают (гельминты опускаются на дно). Всплывшие комки, тяжи слизи извлекают и сохраняют для последующего исследования.

Мутный слой воды над осадком сливают без взмучивания. К осадку снова доливают чистую воду, перемешивают с осадком, вновь сливают и так до тех пор, пока верхний слой не станет прозрачным. Промытый осадок небольшими порциями просматривают в черных фотографических кюветах или тарелках с черным дном. Также невооруженным глазом и с лупой просматривают слизь, всплывшую при промывании испражнений.

Для контроля лечения гименолепидоза и трихостронгилоидоза промывную воду с осадка сливают через мелкое сито, так как карликовые цепни и трихостронгилиды часто всплывают из осадка.

Рассматривают осадок на сите и осадок промытых испражнений.

МЕТОД «ОТСЕИВАНИЯ»

Метод «отсеивания» пригоден для обнаружения крупных гельминтов (аскариды, крупные ленточные паразиты, власоглавы). Испражнения промывают водой в приборе из 3—4 металлических сит с отверстиями убывающего диаметра (прибор Воскресенского и др.). Разбиваемые водой частицы кала уносятся в отводящую трубку, а гельминты задерживаются на ситах. Метод непригоден для мелких гельминтов: они могут проходить через сито или разрушаться.

ОБНАРУЖЕНИЕ ГОЛОВКИ КРУПНОГО ЛЕНТОЧНОГО ПАРАЗИТА ПОСЛЕ ЕГО ИЗГНАНИЯ

Испражнения обрабатывают методом отстаивания. Учитывая, что головка нередко обрывается, промывные воды сливают через сито. Отмытого паразита извлекают из банки и ищут самый тонкий конец его с небольшим утолщением — головкой.

Обнаружив головку, с сильной лупой или под малым увели-

чением микроскопа рассматривают ее строение. Если на головке овально-квадратной формы четыре круглые присоски и между ними рудиментарный хоботок, то это бычий цепень; головка овально-квадратной формы с четырьмя круглыми присосками и хоботком с двойным венчиком крючков на нем — у свиного цепня; головка булавовидной формы с двумя щелями (ботриями) — у широкого лентеца. Если головка не обнаружена, то ее ищут в осадке на сите и в осадке промытых испражнений (рис. 9, 10, 12 см. на вклейке между стр. 352—353).

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИДА ЛЕНТОЧНЫХ ПАЗАЗИТОВ ПО ЧЛЕНИКУ

Обнаружив в испражнениях членик, отмывают его от испражнений в воде, подсушивают, прикладывая к фильтровальной бумаге, и помещают на несколько более широкое, чем обычное, предметное стекло. Отмечают форму членика: а) узкий длинный — бычий или свиной цепень; б) короткий, широкий — широкий лентец. Покрывают вторым стеклом и, легко сдавив членик между стеклами, отмечают в проходящем свете расположение матки в членике и ее строение: а) матка в центре членика петлистая, розетковидная — широкий лентец; б) основной канал матки расположен вдоль членика, боковых ответвлений с каждой стороны 18—30 — бычий цепень; в) основной канал расположен вдоль членика, боковых ответвлений с каждой стороны 7—10 — свиной цепень (рис. 11, 13, 14 см. на вклейке между стр. 352—353).

Если членик не поддается легкому сдавливанию, его помещают на несколько часов в воду с несколькими каплями глицерина для потери упругости. Членик бычьего цепня подвижен (исследование членика проводят в резиновых перчатках во избежание загрязнения рук онкосферами свиного цепня, выдавливаемыми из матки во время исследования).

МИКРОГЕЛЬМИНТОСКОПИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

Микрогельминтоскопическими методами пользуются для обнаружения яиц или личинок гельминтов в испражнениях.

Перед микрогельминтоскопическим исследованием просматривают испражнения для обнаружения самопроизвольно выделившихся гельминтов (аскариды, острицы), частей стробилы или отдельных члеников ленточных паразитов.

НАТИВНЫЙ МАЗОК

Небольшую частицу испражнений берут деревянной палочкой из различных участков доставленной порции, хорошо растирают ее на предметном стекле в капле 50% глицерина и делают на $\frac{2}{3}$ предметного стекла тонкий мазок. Просматривают под микроскопом не менее двух препаратов. Недостаток метода в том, что просматривается малое количество материала. Микроскопию всех препаратов производят предварительно с объективом 8×, окуляром 10× в затемненном поле, а затем с большим увеличением (объектив 40×, окуляр 10×).

МЕТОДЫ ОБОГАЩЕНИЯ

Метод Фюллеборна

Посуда и оборудование. 1. Узкие стаканчики или мазевые баночки емкостью 100—200 мл.

2. Проволочные петли диаметром не более 1 см, согнутые под прямым углом к стержню.

3. Предметные стекла.

4. Покровные стекла.

5. Горелка.

Реактив. Насыщенный раствор хлорида натрия (400 г хлорида натрия растворяют при кипячении в 1 л воды, фильтруют и хранят в хорошо закупоренной бутылки; удельный вес раствора 1,2).

Ход определения. 5—10 г испражнений помещают в баночку или стакан, тщательно растирают в насыщенном растворе хлорида натрия, приливая его постепенно по мере размешивания испражнений. Объем раствора берут приблизительно в 20 раз больше взятых испражнений. Тотчас после размешивания с поверхности смеси удаляют кусочком чистой бумаги всплывшие крупные частицы. Смесь оставляют стоять на 1—1½ часа.

Для микроскопического исследования снимают на два предметных стекла всю поверхностную пленку путем повторных прикосновений к ней плашмя проволочной петли и стряхивания с нее приставшей пленки на стекло. Покрывают покровными стеклами и микрокопируют (рис. 15).

По методу Фюллеборна плохо всплывают яйца трематод, тениид и неоплодотворенные яйца аскарид. Поэтому в дополнение к методу после снятия пленки с поверхности жидкость сливают, вз осадка берут несколько капель на предметное стекло, покрывают покровным стеклом и исследуют.

Метод Калантарян

Оборудование то же, что и для метода Фюллеборна.

Реактив. Насыщенный раствор азотнокислого натрия (селитра), удельный вес 1,4 (1 кг азотнокислого натрия растворяют в 1 л воды при кипячении; раствор остужают без фильтрации).

Ход определения. Испражнения смешивают с насыщенным раствором азотнокислого натрия в соотношении 1:20 (см. метод Фюллеборна).

В этом растворе быстро всплывают яйца всех видов, включая неоплодотворенные яйца аскариды, тениид и трематод. Исследуют только пленку, снимая ее через 10—15 минут после замешивания.

Метод «закручивания» по Шульману

Принцип. Центробежная сила, создаваемая быстрыми круговыми движениями палочки в смеси, вызывает скопление яиц и личинок у палочки.

Посуда. 1. Мазевые баночки или толстостенные стаканчики емкостью 200 мл.

2. Стекланные палочки с оплавленным концом диаметром 5 мм.
3. Предметные и покровные стекла.
Реактив. Физиологический раствор.

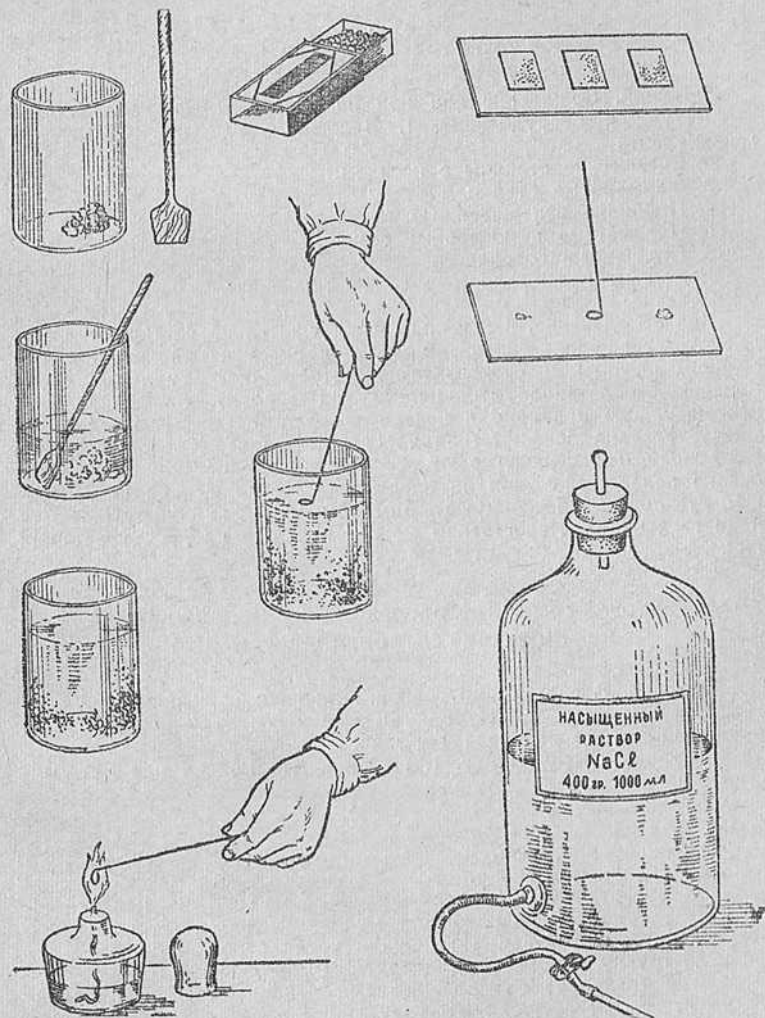


Рис. 15. Исследование испражнений по методу Фюллеборна.

Ход определения. 2—3 г испражнений тщательно размешивают стеклянной палочкой с 5-кратным объемом физиологического раствора или воды энергичными круговыми движениями. Быстро вынимают палочку из смеси, каплю смеси на конце палочки переносят на предметное стекло, покрывают покровным стеклом и микроскопируют.

Метод Телемана

Принцип. Осаждение яиц при помощи центрифугирования.

Посуда и оборудование. 1. Волосяные или капроновые маленькие сита.

2. Химические стаканы с носиком.

3. Фарфоровые ступки.

4. Пробирки центрифужные.

5. Предметные и покровные стекла.

6. Стеклянные воронки.

Реактивы. 1. 50% раствор соляной кислоты.

2. Серный эфир.

Ход определения. 5 г испражнений тщательно растирают в маленькой ступке или баночке, прибавляя смесь из равных объемов соляной кислоты и серного эфира. Полученную эмульсию через маленькое волосяное сито, надетое на воронку, процеживают в центрифужную пробирку и центрифугируют 1 минуту. После центрифугирования сливают жидкий слой с осадка. К осадку приливают воду и центрифугируют. Слив воду, 2—3 капли промытого осадка наносят пипеткой на предметное стекло и, покрыв покровным стеклом, микроскопируют. Методом Телемана обнаруживаются яйца всех видов. Недостатком метода является частая деформация яиц.

Метод Бермана — исследование испражнений на личинки (стронгилиды и др.)

Принцип. В силу термотропности личинки из испражнений активно переходят в теплую воду и скапливаются в нижней части резиновой трубки аппарата Бермана.

Посуда и оборудование. 1. Цедилка для молока или металлическое сито.

2. Зажим Мора.

3. Штатив.

4. Резиновая трубка.

5. Стеклянная воронка.

Ход определения. 5 г испражнений помещают на металлической сетке (удобней цедилка для молока) в стеклянную воронку, закрепленную в штативе. На нижний конец воронки надевают резиновую трубку с зажимом (аппарат Бермана).

Сетку (цедилку) с испражнениями приподнимают и в воронку наливают нагретую до 50° воду таким образом, чтобы нижняя часть сетки была погружена в воду. Через 2—4 часа зажим на резиновой трубке открывают и жидкость спускают в центрифужную пробирку. После центрифугирования (1—2 минуты) верхнюю часть

жидкости быстро сливают, а осадок в количестве около 1 мл наносят тонким слоем на предметные стекла и микроскопируют препарат без покровных стекол.

Метод Бермана эффективнее метода «закручивания» по Шульману.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ НЕКОТОРЫХ ДРУГИХ МАТЕРИАЛОВ

ИССЛЕДОВАНИЕ ДУОДЕНАЛЬНОГО СОДЕРЖИМОГО И ЖЕЛЧИ

Реактив. Серный эфир.

Ход определения. Полученные зондированием порции желчи А, В и С тщательно смешивают с равным объемом серного эфира и центрифугируют. Полученный осадок переносят на предметные стекла и исследуют под микроскопом. При наличии малого количества слизи и гноя центрифугируют, не смешивая с эфиром. Исследуют под микроскопом не только осадок, но и обязательно плавающие в жидкости хлопья, в которых могут находиться яйца гельминтов. В желчи можно обнаружить яйца описторхиса, фасциолы, микроцеллуума, анкилостоматид, китайской двуустки, личинки стронгилид, трихостронгилиды и (редко) элементы эхинококкового пузыря.

ИССЛЕДОВАНИЕ МОКРОТЫ

Посуда. 1. Чашки Петри.

2. Плоскодонная колбочка на 50—100 мл.

Реактив. 1—0,5% раствор едкого кали (КОН) или едкого натра (NaOH).

Ход определения. Мокроту разливают в чашки Петри тонким слоем, рассматривают на светлом и черном фоне. Отбирают частицы из «ржавых» образований, обрывки ткани и др. на предметное стекло и исследуют под микроскопом. При большом содержании гноя мокроту смешивают в колбочке с равным объемом 0,5% раствора едкой щелочи, встряхивают в течение 5 минут, помещают в водяную баню на 3 минуты, центрифугируют и исследуют под микроскопом осадок.

Обнаруживаются яйца легочной двуустки (в «ржавых» образованиях), яйца томинкса (редко), элементы эхинококкового пузыря (крючья, сколексы, обрывки наружной оболочки), мигрирующие личинки аскариды и анкилостоматид.

ИССЛЕДОВАНИЕ МОЧИ

Оборудование. Пастеровские пипетки с резиновым баллоном.

Ход определения. Из отстоявшейся утренней порции мочи больного отбирают придонный слой в центрифужные пробирки и производят накопление осадка (после центрифугирования слива-

ют с осадка мочу, к осадку приливают новую порцию мочи, центрифугируют, сливают с осадка, снова приливают мочу и так повторяют несколько раз). Слив в последний раз с осадка мочу, переносят осадок на предметные стекла, покрывают покровными стеклами и исследуют под микроскопом.

В моче могут быть обнаружены: яйца шистозомы кровяной, элементы эхинококкового пузыря (крючья, сколексы, выводковые капсулы, обрывки оболочки пузыря), мигрирующие личинки (аскариды, анкилостоматид), смываемые мочой с промежуточной личинки стронгилид, онкосферы бычьего цепня, яйца острицы и личинки укусной угрицы (сапрофит), сходные с личинками стронгилид.

ИССЛЕДОВАНИЕ ЖИДКОСТИ ЭХИНОКОККОВОГО ПУЗЫРЯ (КИСТЫ)

Жидкость, полученную проколом эхинококкового пузыря (кисты), центрифугируют и исследуют под микроскопом. В осадке обнаруживают крючья эхинококка, сколексы, обрывки наружной (кутикулярной) слоистой оболочки пузыря. Обрывки оболочки исследуют под большим увеличением микроскопа на месте обрыва, где хорошо видны концентрические слоистые пластинки, из которых состоит наружная оболочка пузыря.

ИССЛЕДОВАНИЕ ТКАНЕЙ

а) На цистицеркоз.

Оборудование. Препаровальные иглы.

Реактив. 4% раствор азотной кислоты.

Ход определения. Из доставленного в лабораторию кусочка ткани с помощью препаровальных игл извлекают подозрительный на цистицерк пузырек, сдавливают его между двумя предметными стеклами и исследуют под микроскопом для обнаружения головки свиного цепня. Пропитанный известью пузырек помещают в 4% раствор азотной кислоты на 1 час для декальцинации, после чего исследуют под микроскопом.

б) На трихинеллез.

Оборудование. 1. Препаровальные иглы.

2. Аппарат Бермана.

Реактивы. 1. 50% раствор глицерина.

2. Искусственный желудочный сок (0,5 г пепсина, 0,7 мл концентрированной соляной кислоты, 100 мл воды).

Ход определения. 1. Из биопсированного кусочка мышцы берут несколько частиц величиной с просяное зерно на предметные стекла, препаровальными иглами расщепляют их в 2 каплях 50% глицерина на тончайшие волокна, покрывают предметными стеклами, сильно сдавливают между ними и исследуют под микроскопом в затемненном поле зрения. Исследование можно производить не ранее чем на 12—14-й день болезни.

2. Метод переваривания мышц. Тщательно измельченный кусочек мышцы помещают в искусственный желудочный сок из расчета 1 г мышц на 60 мл желудочного сока. Смесь помещают на

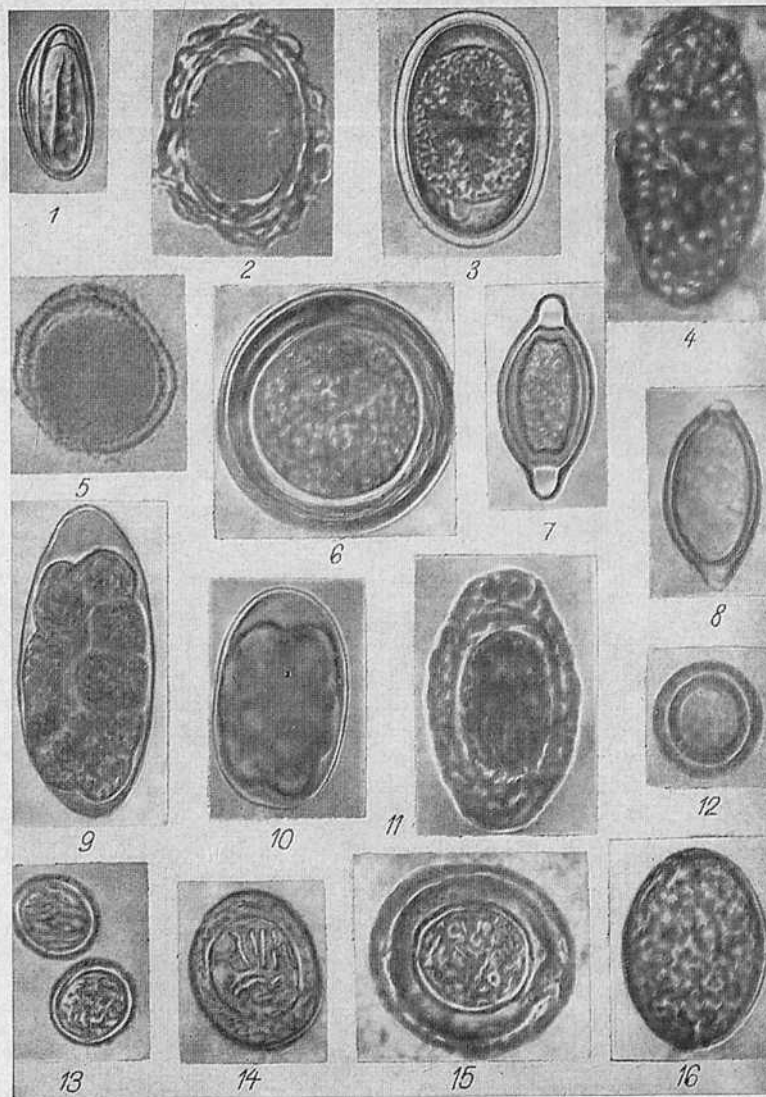


Рис. 16. Сравнительная величина яиц гельминтов (по Подъяпольской).

1 — яйцо острицы; 2 — аскарида; оплодотворенное яйцо, покрытое белковой оболочкой; 3 — аскарида, оплодотворенное яйцо без белковой оболочки; 4 — аскарида, неоплодотворенное яйцо; 5 — яйцо аскариды кошек; 6 — яйцо аскариды плотоядных; 7 — яйцо власоглава; 8 — яйцо Томинкса; 9 — яйцо трихостронгилюса; 10 — яйцо анкилостомы; 11 — яйцо диоктофимуса; 12 — онкосфера цепня вооруженного и невооруженного; 13 — онкосфера цепня тыквовидного; 14 — онкосфера цепня карликового; 15 — онкосфера цепня крысиного; 16 — яйцо широкого

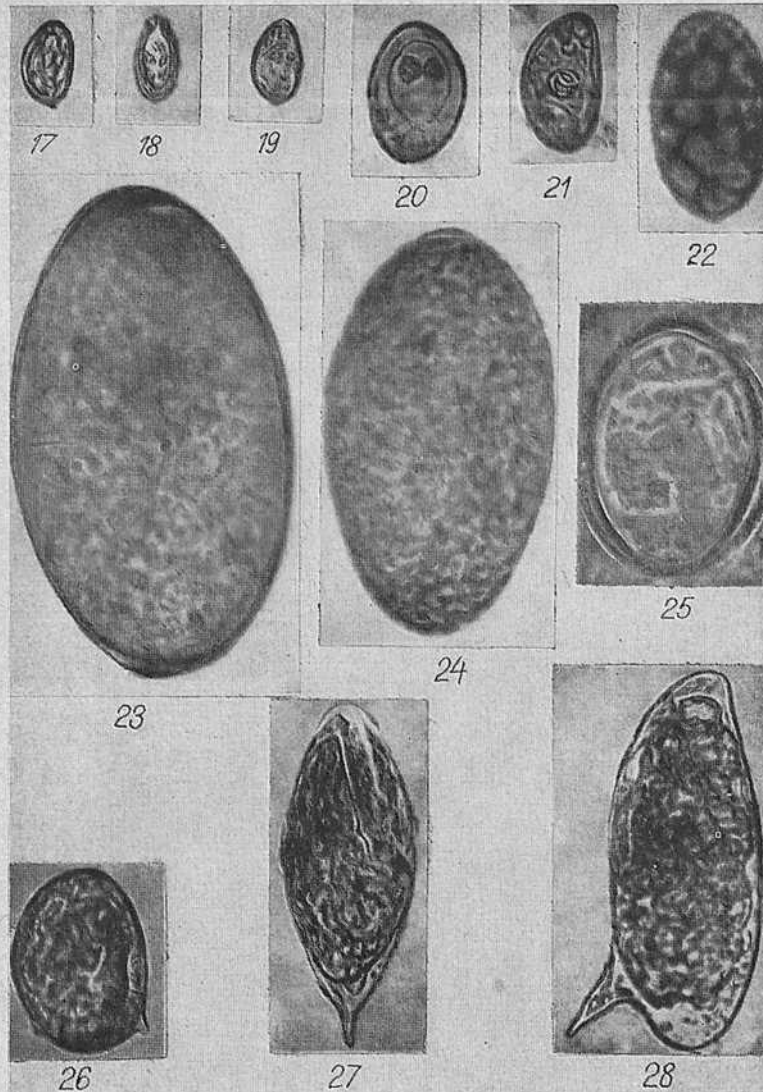


Рис. 16. Сравнительная величина яиц гельминтов (по Подъяпольской).

лентеца; 17 — яйцо двуустки кошачьей; 18 — яйцо двуустки китайской; 19 — яйцо метагонимус Июкогован; 20 — яйцо двуустки ланцетовидной; 21 — яйцо двуустки транзитное; 22 — яйцо нанофитис; 23 — яйцо двуустки печеночной; 24 — яйцо фасциолопсиса; 25 — яйцо двуустки легочной; 26 — яйцо двуустки японской; 27 — яйцо двуустки кровавой; 28 — яйцо двуустки мансони.

18 часов в термостат при 37° и хорошо перемешивают ее 4—5 раз. После переваривания мышц слой жидкости над ними сливают, к осадку приливают теплую воду (37—45°) и выливают в сеточку аппарата Бермана, воронку которого заполняют водой температуры 50°. Через 1 час жидкость из аппарата Бермана сливают в центрифужную пробирку и после центрифугирования исследуют под микроскопом в затемненном поле зрения.

ИССЛЕДОВАНИЕ КРОВИ ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ МИКРОФИЛЯРИЙ

- Реактивы.** 1. Краска Романовского.
2. 5% раствор формалина.
3. 3% раствор уксусной кислоты.
4. Концентрированный спиртовой раствор генцианвиолета.

Ход определения. У больного берут кровь днем и обязательно ночью в виде толстых капель на предметных стеклах. Толстые капли хорошо подсушивают, гемолизируют (выщелачивают по Романовскому) и исследуют под микроскопом с иммерсионной системой.

Метод обогащения микрофилярий.

К 20 каплям крови больного добавляют 5-кратный объем раствора, состоящего из 95 мл 5% формалина, 6 мл уксусной кислоты и 2 мл спиртового раствора генцианвиолета. Смесь центрифугируют, жидкость сливают, осадок центрифугируют еще раз с водой и, слив воду, исследуют под микроскопом.

СПЕЦИАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ НА ЭНТЕРОБИОЗ

СОСКОБ С ПЕРИАНАЛЬНЫХ СКЛАДОК ДЕРЕВЯННЫМ ШПАТЕЛЕМ

Посуда и оборудование. 1. Деревянные шпатели (спички с косо срезанным концом).

2. Пузырьки из-под пенициллина.
3. Коробки для упаковки пузырьков с пенициллином.
4. Предметные и покровные стекла.

- Реактивы.** 1. 50% раствор глицерина.
2. 0,5% раствор едкого кали или едкого натра.

Ход определения. Обследование детей производят утром до вставания их с постели. Шпателем, смоченным в 50% растворе глицерина или 1% растворе едкой щелочи, производят соскабливание со складок в окружности ануса. Полученный материал снимают со шпателя краем покровного стекла в каплю 50% раствора глицерина или 1% раствора щелочи на предметном стекле, покрывают тем же покровным стеклом и исследуют под микроскопом. При перевозке материала, особенно при массовом обследовании, удобно использовать пузырьки и коробки от пенициллина.

Производя соскоб с периаанальных складок, шпатель опускают в пузырек с 2—3 каплями 50% раствора глицерина и ставят пу-

зырек в ячейку коробки. Для исследования наносят каплю глицерина на предметное стекло, краем покровного стекла соскабливают со шпателя материал в каплю глицерина, покрывают ее тем же покровным стеклом и исследуют под микроскопом.

Метод пригоден для обследования детей раннего возраста (ясельного, дошкольного).

СОСКОБ С ПЕРИАНАЛЬНЫХ СКЛАДОК ВАТНЫМ ТАМПОНОМ (В. И. КЕВОРКОВА)

В пробирку с тампоном для взятия слизи из зева приливают около 5 мл кипяченой воды и выдают ее больному. Больной утром до вставания с постели, слегка отжав тампон о внутреннюю стенку пробирки, обтирает им перианальные складки вокруг ануса и вкладывает тампон в пробирку. В лаборатории тщательно взбалтывают тампон в пробирке с водой, воду центрифугируют, полученный осадок исследуют под микроскопом.

Метод удобен для обследования школьников и взрослых.

СОСКОБ ИЗ ПОДНОГТЕВЫХ ПРОСТРАНСТВ

Оборудование. 1. Пинцет.

2. Деревянные шпатели (спички).

Реактивы. 1. 0,5% раствор едкого кали или едкого натра.

2. 50% раствор глицерина.

Ход определения. Ноготь смачивают 0,5—1% раствором едкой щелочи. При помощи пинцета маленькими ватными тампонами обтирают край ногтя, ногтевое ложе и подногтевое пространство. Тампончики с взятым материалом помещают в центрифужки с 1% раствором едкой щелочи и центрифугируют в течение 3—5 минут. Осадок пипеткой переносят на предметное стекло и исследуют под микроскопом.

Материал из подногтевых пространств можно брать также шпателем (спичкой), смоченным 50% раствором глицерина, и исследовать как перианальный соскоб.

Метод удобен для массового обследования работников пищевых предприятий, но выявляет только около 90% больных энтеробиозом по сравнению с методом соскоба с перианальных складок.

РЕКТАЛЬНЫЙ СОСКОБ

Оборудование. 1. Глазной шпатель или деревянный.

2. Трубочка Шахматова.

Реактив. 50% раствор глицерина.

Шпатель или трубочку Шахматова вводят в анальное отверстие на 3 см, вращательными движениями соскабливают слизь со стенки кишки и исследуют слизь так же, как соскоб с перианальных складок. Метод менее удобен и менее эффективен, чем соскоб с перианальных складок.

Сравнительные данные о различных гельминтах приведены в табл. 33, 34, 35, 36, сравнительная величина яиц гельминтов на рис. 16.

Таблица 33

СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ДАННЫЕ О ЛЕНТОЧНЫХ ЧЕРВЯХ (Cestodaе) ЧЕЛОВЕКА

Род и вид (современное название)	Бычий (невооруженный) цепень	Свиной (вооруженный) цепень	Эхинококк	Карликовый цепень	Красный цепень	Цепень тыквидный	Лентец широкий
Длина тела	4—10 м	1,5—2 м	2—6 мм	1,5—3 см	20—60 см	25—35 см	2—20 м
Диаметр головок	1,5—2 мм	0,6—1,3 мм	0,3 мм	0,25—0,3 мм	0,2—0,5 мм	0,35—0,86 мм	0,8 мм 2 богрин (щели)
Присасывательный аппарат		Четыре присоски					
Крючья	Отсутствуют	Два ряда крючьев	Два ряда крючьев	Один ряд крючьев	Отсутствуют	3—4 ряда крючьев	Отсутствуют
Расположение половых отверстий	Латерально по краям членков, но чередуясь	То же	Латерально по краям членков с одной стороны	Латерально по краям	Латерально по краям	Латерально с двух сторон	Медиально на брюшной стороне членника
Зрелый членик	Подвижный						
Строение матки	Замкнутая (без выводного отверстия)	С боковыми ответвлениями: от основного ствола матки отходит с каждой стороны ветвей:	С боковыми лопастями	Мешковидная			Открытая (с выводным отверстием) петлистая, розетковидная
	18—30	7—10					

Неподвижные

Род и вид (современное название)	Бычий (невооруженный) цепень	Свиной (вооруженный) цепень	Эхинококк	Карликовый цепень	Крысиный цепень	Цепень тыквовидный	Лентец широкий
Форма и размеры яиц	Внутри яйца онкосфера (зародыш) с толстой, радиально исчерченной оболочкой темно-коричневого цвета, с 6 эмбриональными крючьями внутри. Размер онкосферы 31×40 мк. Бычий и свиной цепень по строению яиц не различимы. В испражнениях человека встречаются не яйца, а онкосферы		Размер онкосферы 30—36 мк (встречается в испражнениях собаки)	Овальная форма, тонкая бесцветная оболочка с онкосферой внутри. Размер яйца 40×50 мк	Круглая или овальная форма, толстая желтоватая оболочка, круглая, внутри крупная онкосфера; размер яйца 69—86×49—69 мк	Почти круглая, 8—20 яиц заключены в одну оболочку «кокон». В яйцах онкосферы 34×40 мк	Яйцевидная форма, гладкая оболочка серого цвета, с крупнозернистым содержимым внутри, на верхнем полюсе крышечка, на противоположном — бугорок (утолщение оболочки). Размер яиц 68—71×45 мк

В онкосфере 6 зародышевых крючочков

Таблица 34

КЛАСС СОСАЛЬЩИКИ (ТРЕМАТОДА)
Сравнительные данные

Семейство	Opisthorchidae		Dicrocoelidae	Fasciolidae
Вид (современное название)	<i>Opisthorchis felineus</i> Описторхис	<i>Cionorchis sinensis</i> Клонорхис	<i>Dicrocoelium lanceatum</i> Дикроцелиум	<i>Fasciola hepatica</i> Фасциола
Прежнее название	<i>Distomum sibiricum</i> Двуустка сибирская, кошачья	Двуустка китайская	<i>Dicrocoelium lanceolatum</i> Двуустка ланцетовидная	<i>Distomum hepaticum</i> Двуустка печеночная
Форма и размеры тела в мм	Листовидно удлинённая. 8—13×1,5—2 мм	Листовидно удлинённая. 10—20×2—4 мм	Ланцетовидная. 8—10×1,5—2,5 мм	Листовидная. 20—30×8—13 мм
Форма кишечника	Две трубки, слегка извилистые, оканчивающиеся слепо, расположенные латерально вдоль тела			Сильно ветвящиеся две трубки, оканчивающиеся слепо
Форма и расположение семенников	Два лопастных, в задней части тела, позади матки	Два древовидно ветвящихся, в задней части тела, позади матки	Два овальных, выемчатых, в передней части тела, впереди матки	Два ветвящихся, в средней части тела
Форма и расположение матки	Длинная петлистая			Петлистая, в передней части тела
	Впереди семенников		Позади семенников	

Семейство	Opisthorchidae		Dicrocoelidae	Fasciolidae
Расположение желточников	Латерально и в средней части тела		По бокам тела, слабо развиты	Вдоль всей длины по бокам тела и в задней его части
Форма и размеры яйца (в мк)	Крышечка на верхнем полюсе			
	Яйца очень мелкие, овальные, бледно-желтые, почти бесцветные. Полюс, где крышечка, несколько сужен. Оболочка тонкая, двухконтурная, вокруг крышечки слегка выступает, на противоположном полюсе образует утолщение в виде бугорка. Содержимое яйца мелкозернистое. 26—32×11—15 мк	Очень сходные с яйцами описторхиса, желтовато-коричневого цвета. Выступ оболочки у краев крышечки выражен более резко. 27—35×11—19 мк	Асимметричные — одна сторона уплощена и несколько вогнута (кофейное зерно). Оболочка толстая гладкая, от бледно-желтого до темно-коричневого цвета. На полюсе, противоположном крышечке, имеется утолщение оболочки в виде бугорка. Содержимое яйца грубозернистое, выделяются две крупные желточные клетки. 38—45×25—30 мк	Крупные, овальные. Оболочка двухконтурная, тонкая, гладкая, желтого цвета (иногда сероватая), образует на полюсе, противоположном крышечке, плоский бугорок. Внутри яйца многочисленные желточные клетки. 130—145×70—90 мк
Материал для обнаружения яиц	Желчь и испражнения	Желчь и испражнения	В желчи при истинной инвазии (редко). В испражнениях — транзитные яйца алиментарного происхождения	В желчи и испражнениях при истинной инвазии. В испражнениях — транзитные яйца алиментарного происхождения

Таблица 35

СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ДАННЫЕ О ФОРМЕ И РАЗМЕРЕ ЯИЦ НЕМАТОД

Вид паразита	Форма и размеры яиц
1. Аскарида человека — <i>Ascaris lumbricoides</i> а) оплодотворенное яйцо б) неоплодотворенное яйцо	а) Овальная (реже шаровидная) форма. Толстая, многослойная оболочка. Наружная белковая оболочка крупнобугристая с поверхности, бесцветная, но окрашивающаяся в темно-желтый или желто-бурый цвет пигмента испражнений. Внутри яйца — мелкозернистый шаровидный бластомер, занимающий все яйцо, за исключением полюсов. Размеры 50—70×40—50 мк б) Удлиненная, вытянутая, иногда трехгранная, грушевидная, неправильная форма. Белковая оболочка тонкая, мелкобугристая, уплощенная на полюсах, желтоватого цвета. Все содержимое яйца заполнено крупными полигональными желточными клетками (от полюса до полюса). Иногда яйца аскариды встречаются без белковой оболочки. Они прозрачные, бесцветные или серо-зеленоватого оттенка и покрыты ровной толстой оболочкой. Размеры 50—106×40—50 мк.
2. Власоглав <i>Trichocephalus trichiurus</i>	Яйцевидная, бочковидная форма. Толстая, многослойная оболочка золотисто-желтого или коричневого цвета (от пигмента испражнений). На полюсах имеются бесцветные, прозрачные пробковидные образования, внутри яйца — мелкозернистое содержимое. Размеры 50—54×22—23 мк.
3. <i>Thomynx aerofilus</i>	Бочковидная, асимметричная форма, бесцветная, толстая оболочка. На обоих полюсах имеются пробковидные образования. Оболочка покрыта сложным узорчатым барельефом из множества тонких, извитых выпуклых ребрышек, между которыми неправильные вдавления оболочки. Яйца обнаруживаются в мокроте и в фекалиях при проглатывании яиц с мокротой. Размеры 65—71×29—31 мк

Вид паразита	Форма и размеры яиц
4. Острица <i>Enterobius vermicularis</i>	Неправильная яйцевидная форма. Тонкая гладкая, бесцветная многослойная оболочка; одна сторона уплощена, другая выпукла. Внутри яйца зародыш на разной стадии развития, вплоть до личинки. Размеры 50—60×20—30 мк
5. Анкилостома <i>Ancylostoma duodenale</i>	Правильная овальная форма. Полуса яйца несколько уплощены. Тонкая, прозрачная, бесцветная оболочка. Внутри свежеежеженных яиц 4 бластомера, лежащие в центральной части яйца. Размеры 54—70×36—40 мк
6. Трихостронилус. Виды этого рода, встречающиеся у человека, по яйцам не диагностируются	Овальная, яйцевидная форма. Тонкая, прозрачная, бесцветная оболочка с одним тупым закругленным и другим острым концом. Внутри свежеежеженных яиц 16—30 бластомеров. Размеры 70—80×40—43 мк

Таблица 36
ЯЙЦА ТРЕМАТОД В СЛУЧАЯХ ЗАВОЗНЫХ ИЗ ТРОПИЧЕСКИХ И СУБТРОПИЧЕСКИХ СТРАН ТРЕМАТОДОЗОВ

Вид	Форма и размеры яйца в мк	Материал для обнаружения яиц
<i>Paragonimus westermani</i> s. <i>pin-gi</i> Двуустка легочная	Овальное с слегка уплощенными полюсами. На одном из полюсов крышечка, несколько вдвинутая внутрь яйца. Вокруг крышечки оболочка яйца образует небольшой выступ. Яйцо золотисто-коричневого цвета. Размеры 80—118×46—60 мк	Мокрота и при заглывании ее — испражнения
<i>Schistosoma haematobium</i> . Кровяная шистозома	Веретенообразной формы. Бесцветное. Крышечки не имеет. На одном из полюсов имеется шип, расположенный вдоль продольной оси яйца. Внутри яйца находится сформированный мирацидий. Размеры 120—190×50—73 мк	Моча
<i>Schistosoma mansoni</i> . Шистозома Мансона	Яйцо бесцветное, без крышечки, напоминает яйцо кровяной шистозомы. Шип в виде загнутого крючка расположен на боковой поверхности яйца. Размеры 140—160×60—70 мк	Испражнения
<i>Schistosoma japonicum</i> . Шистозома японская	Овальное, без крышечки, бледно-желтого цвета. На боковой поверхности ближе к одному из полюсов расположен тупой крючок. Размеры 75—90×53—75 мк	Испражнения

МОКРОТА

СБОР И ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЕ МАТЕРИАЛА

Свежевыделенную мокроту, полученную путем откашливания, собирают в чистую сухую склянку. Мокроту лучше собирать утром до приема пищи. Перед тем как выделить мокроту, больной должен тщательно вычистить зубы и прополоскать рот и глотку водой. Собирать мокроту за 1 или 3 суток (как иногда делается в практике) нецелесообразно, так как длительное стояние ведет к размножению флоры и аутолизу элементов мокроты. При необходимости мокроту сохраняют в прохладном месте, лучше в холодильнике.

Смывы из бронхов иногда заменяют исследование мокроты. Их производят с целью цитологического исследования, диагностики туберкулеза, злокачественных новообразований и др. Промывные воды получают через бронхоскоп. Шприцем вводят в бронхиальное дерево 20—30 мл физиологического раствора и тут же извлекают его в чистую посуду при помощи отсоса.

Обеззараживание мокроты и посуды, в которой находилась мокрота, производят физическими методами и с помощью дезинфицирующих жидкостей.

Кипячение. Материал заливают водой (воды берут в 2 раза больше, чем материала), добавляют соду и кипятят в течение одного часа.

Автоклавирование. Материал автоклавируют при 120° 30 минут.

Дезинфицирующие растворы. 5% раствор хлорамина или лучше хлорамин с активаторами (50 мл хлорамина и 50 г сернистого или хлористого аммония) растворяют в 1 л воды и оставляют на 2 часа. Готовят 2,5% раствор. Дезинфицирующего раствора берут в 2 раза больше, чем обеззараживаемого материала. Экспозиция 4 часа.

Посуда и оборудование. 1. Чашки Петри.

2. Инструменты для отбора мокроты: металлические палочки с расплюснутыми концами, препаровальные иглы и др.

3. Предметные стекла.

4. Покровные стекла.

5. Горелка.

6. Лотки.

7. Дезинфицирующая жидкость.

8. Микроскоп.

ФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

Мокроту помещают в чашку Петри, рассматривают попеременно на темном и светлом фоне, описывают физические свойства.

Количество мокроты (за сутки) зависит от характера патологического процесса. Большое количество мокроты (200—300 мл) наблюдается при абсцессе легкого, бронхоэктазах и т. п., скудное количество (2—5 мл) — при острых бронхитах, бронхиальной астме.

Характер. Мокрота неоднородна. В ее состав входят: слизь, гной, кровь, серозная жидкость, фибрин. Содержание в мокроте вышеуказанных субстратов определяет характер мокроты. Характер мокроты может быть: слизистый, слизисто-гнойный, слизисто-гнойно-кровянистый, серозный, серозно-гнойный, кровянисто-слизистый и пр.

При описании принято преобладающий субстрат ставить на второе место (например, слизисто-гнойная, когда преобладает гной и гнойно-слизистая, когда преобладает слизь, и т. д.).

Цвет зависит: 1) от характера мокроты (преобладание одного из субстратов мокроты придает ей соответствующий оттенок) и 2) от вдыхаемых частиц, окрашивающих мокроту. Сероватый, желтоватый, зеленоватый цвет мокроты зависит от содержания и количества гноя, ржавый, красный, коричневатый, желтый цвет — от примеси крови и продуктов ее распада. Серый и черный цвет дают мокроте уголь и пыль, белый — мучная пыль. Вдыхаемая пыль, содержащая красители, может окрашивать мокроту в голубой и другие цвета.

Консистенция зависит от состава мокроты. Вязкая консистенция наблюдается при наличии слизи, клейкая мокрота — при большой примеси фибрина, жидкая — в основном от наличия серозной жидкости, полужидкая — от присутствия серозной жидкости в слизисто-гнойной мокроте.

Запах. Неприятный запах свежевыделенной мокроты определяется при абсцессе легкого и гнилостный — при гангрене, распаде злокачественной опухоли. В остальных случаях свежевыделенная мокрота запаха не имеет.

Деление на слои наблюдается в случаях выделения мокроты при опорожнении обширных полостей в легком (абсцесс легкого, бронхоэктазы). Нижний плотный слой состоит из гноя, детрита. Верхний слой жидкий. На поверхности его иногда имеется третий — пенистый слой.

МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Полноценность исследования мокроты зависит от правильного приготовления и количества просмотренных препаратов.

Приготовление нативных препаратов. 1) материал выбирают из разных мест мокроты (слизь, гной, кровянистые участки); 2) необходимо также брать для исследования все частицы, выделяющиеся формой, окраской, плотностью.

Отбор материала производят металлическими палочками, помещают его на предметное стекло и покрывают покровным. Количество материала, взятого для одного препарата, должно быть таково, чтобы оно не выходило за пределы покровного стекла.

Смывы из бронхов выливают на чашку Петри, выбирают видимые кусочки, из которых готовят препараты. Жидкую часть центрифугируют, осадок используют для микроскопии. Препараты просматривают сначала с малым увеличением (объектив 8×, окуляр 10×), затем с большим (объектив 40×, окуляр 10×). Просмотр с малым увеличением дает ориентировочное представление о качестве выбранного материала, о количестве отдельных клеток, позволяет быстрее обнаружить элементы, встречающиеся в мокроте в небольшом количестве (эластические волокна, спирали Куршмана, клетки опухоли и пр.). Просмотр с большим увеличением необходим для детального исследования препарата. Следует учитывать, что элементы мокроты распределяются в препарате неравномерно, поэтому необходимо тщательное исследование серии препаратов.

КЛЕТочНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ

Лейкоциты всегда содержатся в мокроте в большем или меньшем количестве в зависимости от характера мокроты. Чем больше гноя в мокроте, тем больше лейкоцитов. Лейкоциты могут быть хорошо сохранившиеся или в различных стадиях дегенерации. Отдельные виды лейкоцитов исследуются в окрашенном препарате.

Эозинофилы распознаются в нативном препарате по более темной окраске и наличию в цитоплазме четкой, одинаковой, обильной, преломляющей свет зернистости. Распределяются в препаратах неравномерно, часто в виде больших скоплений в отдельных участках препарата. Эозинофилы встречаются при бронхиальной астме и других аллергических состояниях, при наличии гельминтов, эхинококка легкого, новообразований, эозинофильного инфильтрата.

Эритроциты имеют вид дисков желтоватого цвета. Единичные эритроциты могут встречаться в любой мокроте. В большом количестве обнаруживаются в мокроте, окрашенной кровью (легочное кровоотечение, инфаркт легкого, застой в малом круге кровообращения, новообразование легкого, туберкулез и др.).

Клетки плоского эпителия попадают в мокроту из полости рта, носоглотки. Особого диагностического значения не имеют, но затрудняют исследование. Наличие зубных протезов вследствие механического воздействия ведет к обильному отторжению плоского эпителия и усиливает его ороговение. Такие клетки могут быть ошибочно приняты за опухолевые или расценены как следствие метаплазии бронхиального эпителия.

Для уменьшения отторжения клеток плоского эпителия предлагают перед откашливанием мокроты полоскать полость рта водой, а затем 1% раствором квасцов (обладающих вяжущими свойствами и уменьшающих эксфолиацию клеток плоского эпителия)¹.

Цилиндрический мерцательный эпителий выстилает слизистую оболочку гортани, трахеи и бронхов. Клетки имеют удлиненную форму, расширенную у одного конца и суженную у другого. В клетке иногда видно крупное, овальной формы ядро. На расширенном конце клетки нередко имеются реснички. Клетки цилиндрического эпителия в препаратах мокроты чаще лежат группами или большими скоплениями, иногда в виде плотных клеточных

¹ А. В. Журавлев. Вопросы онкологии, 1964, № 9.

комплексов округлой или овальной резко очерченной формы. По краю этого комплекса иногда хорошо заметно активное движение ресничек, что ошибочно принимают за простейшие или за комплексы раковых клеток. Клетки мерцательного эпителия в большом количестве обнаруживают при острых катарах верхних дыхательных путей, бронхитах, бронхиальной астме, новообразованиях легкого, пневмосклерозах и др.

Альвеолярные макрофаги — большие клетки различной величины, чаще круглой формы с наличием в цитоплазме включений черно-бурого цвета. В препаратах располагаются в виде крупных скоплений, чаще в слизистой мокроте с небольшим количеством гноя. Обнаруживаются при разнообразных патологических процессах (пневмонии, бронхиты, профессиональные заболевания легких и др.).

Альвеолярные макрофаги, содержащие гемосидерин (старое название «клетки сердечных пороков») имеют в цитоплазме золотисто-желтые включения. С достоверностью их определяют реакцией на берлинскую лазурь.

Реакция на берлинскую лазурь

Реактивы. 1. 2—5% раствор соляной кислоты.

2. 5% раствор желтой кровяной соли.

Ход реакции. Кусочек мокроты помещают на предметное стекло, прибавляют 1—2 капли реактива № 1 и 1—2 капли реактива № 2. Перемешивают стеклянной палочкой и покрывают покровным стеклом. Излишек реактива отсасывают фильтровальной бумагой. При производстве этой реакции нельзя пользоваться металлическими палочками.

Гемосидерин, лежащий внутриклеточно, окрашивается в голубой или сине-зеленый цвет. Эти клетки обнаруживают в мокроте при застойных явлениях в легком, инфарктах легкого, кровоизлияниях.

Жирно перерожденные клетки (клетки с жировой дистрофией, липофаги, жировые шары) разной величины, чаще округлой формы, цитоплазма клеток заполнена каплями жира. Располагаются чаще скоплениями. При добавлении к препарату судана III капли жира окрашиваются в оранжевый цвет. Группы таких клеток часто встречаются при новообразовании легкого, а также могут быть при некоторых хронических заболеваниях (актиномикоз, туберкулез и др.).

Эластические волокна в мокроте имеют вид извитых блестящих тонких волокон равномерной толщины на всем протяжении, складывающихся пучками. Иногда рисунок их повторяет альвеолярное строение. Как правило, располагаются на фоне лейкоцитов и детрита. Указывают на распад легочной ткани. Обнаруживаются при туберкулезе легких, абсцессе, новообразовании, абсцедирующей пневмонии.

Коралловидные волокна — грубые, ветвящиеся образования с бугристыми утолщениями вследствие отложения на волокнах жирных кислот и мыл. При обработке их 10% раствором едкой щелочи мыла растворяются и выявляются обычного вида эластические волокна. Коралловидные волокна обнаруживают в мокроте при кавернозном туберкулезе.

Обызвествленные эластические волокна — грубые, пропитанные солями извести палочковидные образования. Обломки их напоминают вид пунктирной линии, состоящей из сероватых, преломляющих свет палочек. Обнаруживают в мокроте при распаде петрифицированного очага как результат туберкулезного процесса, абсцесса легкого, новообразования. Элементы распада петрифицированного очага носят название тетрады Эрлиха и включают: 1) обызвествленные эластические волокна, 2) аморфные соли извести, 3) кристаллы холестерина, 4) микобактерии туберкулеза.

Метод обработки мокроты щелочью для обнаружения эластических волокон. Мокроту смешивают с 2—3 объемами 10% едкой щелочи и кипятят до растворения. После охлаждения наливают в центрифужные пробирки с несколькими каплями 1% спиртового раствора эозина и центрифугируют. Из осадка готовят препараты. Эластические волокна окрашиваются в розовый цвет. Этот способ особых преимуществ перед исследованием нативных препаратов не имеет. Для обнаружения эластических волокон важно готовить препараты из хорошо отобранного материала (гнилые и более плотные комочки).

Спиральи Куршмана — уплотненные, закрученные в спираль слизевые образования. Центральная часть (осевая нить) резко преломляет свет, выглядит блестящей спиралью. По периферии слизь лежит более свободно и образует так называемую мантию. Спиральи Куршмана образуются при наличии спазма или сдавления бронхов, содержащих вязкий слизистый секрет, откашливающийся с трудом. Часто обнаруживаются в мокроте больных бронхиальной астмой, при опухолях легкого и других патологических процессах.

КРИСТАЛЛИЧЕСКИЕ ОБРАЗОВАНИЯ

Кристаллы Шарко — Лейдена имеют вид вытянутых, бесцветных блестящих ромбов различной величины. Их образование связывают с распадом эозинофилов. Кристаллы Шарко — Лейдена легко обнаружить в плотноватых желтоватых комочках мокроты, содержащей большие количества эозинофилов.

Кристаллы гематоидина имеют форму ромбов и иголок (иногда пучков и звезд) золотисто-желтого цвета. Являются продуктом распада гемоглобина, образуются в глубине гематом и обширных кровоизлияний, в некротизированной ткани. В препаратах мокроты располагаются на фоне детрита, эластических волокон.

Кристаллы холестерина — бесцветные четырехугольной формы таблички с обломанным ступенеобразным углом. Образуются при распаде жирно перерожденных клеток, задержке мокроты в полостях. Располагаются на фоне детрита. Встречаются при туберкулезе, новообразованиях, эхинококке легкого, абсцессе легкого и др.

Пробки Дитриха макроскопически имеют вид мелких желтовато-серых зернышек с неприятным запахом, содержатся в гнилой мокроте. Микроскопически представляют собой детрит, бактерии, кристаллы жирных кислот в виде игл и капелек жира. Образуются при застое мокроты в полостях, главным образом при абсцессе легкого, бронхоэктазах.

ЭЛЕМЕНТЫ ЭХИНОКОККА

Элементы эхинококка: 1) крючья эхинококка и 2) обрывки хитиновой оболочки пузыря. Обнаруживаются в препаратах из гнойной части мокроты, при вскрывшемся или нагноившемся эхинококке легкого.

ДРУЗЫ АКТИНОМИЦЕТОВ

Друзы актиномицетов макроскопически имеют вид мелких желтоватых зернышек, содержащихся в гнойной части мокроты. Микроскопически это сплетение тонкого мицелия, концы которого заканчиваются колбообразными вздутиями. Характерно при этом присутствие в мокроте ксантомных (жирно перерожденных) клеток. Друзы актиномицетов находят в мокроте при актиномикозе легкого.

Препарат, в котором обнаружены друзы, рекомендуется красить по Граму (см. ниже). При этом нити мицелия грамположительны, колбообразные вздутия — грамотрицательны.

МИЕЛИНОВЫЕ ОБРАЗОВАНИЯ

Миелиновые образования встречаются главным образом в слизистой или гнойно-слизистой мокроте, располагаются чаще среди альвеолярных макрофагов. Миелиновые образования имеют различную величину и форму (круглые, овальные, почкообразные). Контуры их нежные, слегка преломляют свет. Иногда образования лежат свободно, но могут заполнять и цитоплазму фагирующих их клеток (макрофаги). Происхождение миелина неясно. Диагностического значения он, по-видимому, не имеет.

ИССЛЕДОВАНИЕ НА КЛЕТКИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ

Исследуются нативные и окрашенные препараты. Для этого требуется большой опыт исследователя.

Мокроту помещают в чашки Петри в небольшом количестве и тщательно выбирают материал (см. выше) для нативных препаратов. Необходимо просматривать целую серию препаратов. С этой целью исследуют также смывы из бронхов (см. выше). Препараты, в которых обнаруживают клетки с признаками атипии, красят по Романовскому, гематоксилин-эозином и др.

Признаки злокачественности клеток изложены в главе «Моча».

Препараты мокроты, предназначенные для цитологического исследования, делают тонкими, для чего материал осторожно растягивают на стекле. Не следует готовить препараты путем растирания мокроты между двумя стеклами, так как при этом клетки травмируются.

В окрашенных препаратах распознают и другие клеточные элементы: альвеолярные макрофаги, лейкоциты, эпителий и др.¹

¹ Подробно исследование материала на опухолевые клетки см. атлас под ред. Н. Н. Шиллер-Волковой «Цитологическая диагностика злокачественных новообразований», М., 1964.

БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

ИССЛЕДОВАНИЕ НА ТУБЕРКУЛЕЗНЫЕ МИКОБАКТЕРИИ

Препарат готовят из гнойных частиц мокроты, которые выбирают из 4—6 разных мест. Отобранные частицы тщательно растирают до однородной массы. Высушивают на воздухе, фиксируют над пламенем горелки. При этом нужно избегать следующих ошибок: 1) изготовления слишком толстых препаратов (трудно искать бактерии); 2) фиксации плохо высушенных мазков (получается плохая окраска); 3) недостаточной фиксации, ведущей к сползанию препарата; 4) длительной фиксации над пламенем, вызывающей обугливание мокроты, что сильно отражается на качестве окраски.

Окраска по Цилю — Нильсену

Реактивы. 1. Карболовый фуксин (1 г основного фуксина растворяют в 10 мл этилового спирта, раствор выливают в 100 мл 5% раствора карболовой кислоты).

2. 3% спиртовой раствор соляной кислоты (3 мл соляной кислоты и 97 мл этилового спирта).

3. Водный 0,5% раствор метиленового синего.

Ход окраски. 1. На препарат кладут кусочек фильтровальной бумаги и наливают раствор карболового фуксина.

2. Препарат нагревают над пламенем горелки до появления паров, охлаждают и снова нагревают (3 раза).

3. Дают остыть, сбрасывают фильтровальную бумагу.

4. Опускают препарат в солянокислый спирт для обесцвечивания. Обесцвечивают до полного отхождения краски.

5. Промывают водой.

6. Докрашивают препарат метиленовым синим 20—30 секунд.

7. Промывают водой и высушивают на воздухе. Микроскопируют с иммерсионной системой.

Туберкулезные микобактерии окрашиваются в красный цвет, все остальные элементы мокроты и бактерии — в синий. Туберкулезные микобактерии имеют вид тонких, слегка изогнутых палочек различной длины, с утолщениями на концах или посередине, располагаются группами и поодиночке.

При окраске по Цилю — Нильсену в красный цвет красятся также кислотоупорные сапрофиты. Дифференциальная диагностика туберкулезных микобактерий и кислотоупорных сапрофитов ведется методами посева и заражением животных.

Исследование смыва из бронхов

Исследование смыва из бронхов на туберкулезные микобактерии производят так же, как и мокроты. Бактериоскопическое исследование не всегда удается, поэтому прибегают к методу флотации и люминесцентной микроскопии.

МЕТОД ФЛОТАЦИИ (ВСПЛЫВАНИЕ)

Метод Потенжера

Ход исследования. 1. Свежевыделенную мокроту (не более 10—15 мл) помещают в узкогорлую бутылку.

2. Приливают двойное количество 0,5% раствора едкой щелочи, смесь энергично встряхивают 10—15 минут.

3. Приливают 1 мл ксилола (можно бензина, толуола) и около 100 мл дистиллированной воды для разжижения мокроты, снова встряхивают 10—15 минут.

4. Доливают дистиллированную воду в таком количестве, чтобы уровень жидкости поднялся до горлышка бутылки.

5. Оставляют стоять на 40—50 минут.

6. Образовавшийся верхний беловатый слой снимают по каплям пипеткой и наносят на предметные стекла, предварительно подогретые до 60° (стекла для подогревания можно положить на металлический подносик и покрыть им водяную баню). Каждую последующую каплю наносят на предыдущую подсушенную.

7. Препарат фиксируют и красят по Цилю — Нильсену.

Наиболее известен в практике метод флотации, предложенный Потенжером. Другие методы обогащения (способ Когана, Петрова, метод с антиформинном) используются значительно реже.

Исследование методом люминесцентной микроскопии

Исследование методом люминесцентной микроскопии заключается в том, что туберкулезные микобактерии, окрашенные аурамином, люминесцируют под влиянием ультрафиолетовых лучей (методу люминесцентной микроскопии см. в соответствующем разделе).

Туберкулезные бактерии четко выявляются на темном фоне препарата в виде светящихся золотистых палочек. Преимущество метода состоит в том, что микроскопия производится с сухой системой и охватывает большее поле зрения, что ускоряет исследование.

ИССЛЕДОВАНИЕ НА ДРУГИЕ БАКТЕРИИ

Другие бактерии, встречающиеся в мокроте, например стрептококки, стафилококки, диплобациллы, палочки Фридендера и пр., могут быть распознаны только методом посева. Бактериологическое исследование препарата в этих случаях имеет только ориентировочное значение. Препараты красят метиленовым синим, фуксином или по Граму.

Окраска по Граму

Реактивы. 1. Карболовый раствор генцианвиолета (1 г генцианвиолета растворяют в 10 мл 96° спирта, раствор выливают в 100 мл 1—2% карболовой кислоты, взбалтывают).

2. Раствор Люголя (1 г йода, 2 г йодистого калия и 300 мл дистиллированной воды; йод и йодистый калий растворяют сначала в 5—8 мл воды, а затем приливают остальную воду).

3. 96° спирт или сырец.

4. 40% раствор карболового фуксина (10 мл карболового фуксина и 90 мл дистиллированной воды).

Ход исследования. 1. На фиксированный препарат кладут полоску фильтровальной бумаги и наливают раствор генцианвиолета. Красят 1½—2 минуты.

2. Бумажку сбрасывают и заливают препарат раствором Люголя на 2 минуты.

3. Раствор Люголя сливают и прополаскивают препарат в спирту до сероватого цвета.

4. Промывают водой и окрашивают 10% раствором карболового фуксина 10—15 секунд.

5. Промывают водой, высушивают препарат на воздухе.

ХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

БЕЛОК

Ход определения. 10 мл свежей мокроты помещают в широкую пробирку, приливают двойной объем 3% уксусной кислоты, взбалтывают, фильтруют через бумажный фильтр. В фильтрате определяют белок (см. «Моча»).

Интерпретация. Большого диагностического значения не имеет. Степень нарастания белка в мокроте зависит от выраженности патологического процесса. При хроническом бронхите мокрота содержит следы белка, а при туберкулезе может быть до 0,2% (в зависимости от активности процесса).

СПИННОМОЗГОВАЯ ЖИДКОСТЬ

ПОЛУЧЕНИЕ МАТЕРИАЛА

Спинальную жидкость получают путем прокола поясничной, субокципитальной области и мозговых желудочков. Количество жидкости, извлекаемое без вреда для больного, 8—10 мл. Общее количество жидкости во всех пространствах составляет от 80 до 120 мл и зависит от размеров черепа, возраста больного, пищевого режима и др.

Увеличение количества жидкости наблюдается при воспалительных процессах мозговых оболочек и сосудистых сплетений, а также при нарушении нормальной всасываемости ликвора, например при резком повышении венозного давления, гидроцефалии (до 500 мл).

Спинальную жидкость после взятия немедленно направляют в лабораторию для исследования. При стоянии жидкости клеточные элементы быстро разрушаются (цитоллиз). Цитоллиз происходит уже *in vivo*, но особенно сильно *in vitro*, что объясняется содержанием в ликворе цитотоксических веществ. При подозрении на туберкулезный менингит жидкость следует доставлять в двух пробирках; одну из них оставляют стоять, предохраняя от встряхивания, для обнаружения фибринозной пленки.

Посуда и оборудование. 1. Счетная камера Фукса — Розенталя или Горяева.

2. Смесители для лейкоцитов.

3. Часовые стекла.

4. Пипетки пастеровские и градуированные.

5. Пробирки (видалевские) агглютинационные, химические, центрифужные.

6. Покровные и предметные стекла.

ФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

Удельный вес спинномозговой жидкости, полученной путем люмбального прокола, довольно постоянный: 1,006—1,007. Удельный вес желудочковой жидкости несколько ниже: 1,002—1,004. Повышение удельного веса до 1,012—1,015 наблюдается при воспалительных процессах. Снижение удельного веса отмечается при гиперпродукции ликвора.

Цвет. Нормальная спинномозговая жидкость бесцветна. По виду она не отличается от воды, поэтому определение слабой ок-

раски ликвора производят путем сравнения ее с дистиллированной водой, налитой в пробирку такого же диаметра, как и ликвор.

Желтый цвет (ксантохромия), а также бурый и коричневатый указывают на патологию. Окраска обусловлена продуктами распада гемоглобина. Такая жидкость наблюдается при венозном застое в центральной нервной системе, опухолях мозга, наличии спаек. Ксантохромия как физиологический фактор встречается у новорожденных (почти у всех недоношенных и часто у доношенных). Это явление объясняется повышенной проницаемостью мозгового барьера к билирубину. После 8 дней пигмент исчезает, жидкость становится прозрачной. Желтая окраска жидкости может быть при наличии липохромов (что бывает очень редко) и примеси лекарственных веществ, например пенициллина.

Красная окраска зависит от наличия неизменной крови (эритрохромия), что может быть при ранении сосудов во время пункции, а также при свежих кровоизлияниях. В некоторых случаях отличить свежую кровь от ранее излившейся помогает центрифугирование. Если имеется примесь свежей крови, центрифугат бесцветный, в осадке эритроциты. Если кровь старая, центрифугат имеет красноватый или желтоватый оттенок. Случайная примесь крови особенно часто встречается в педиатрии, поэтому у детей почти безошибочно можно считать каждую эритрохромную случайной. Надежных способов распознавания случайной примеси крови и истинной в настоящее время не существует. В случаях примеси крови некоторые авторы предлагают способ вычисления допускаемой ошибки (в отношении цитоза и белка; см. ниже). Однако эти вычисления недостаточно точны, и к ним прибегают только в случае крайней необходимости. Поэтому спинномозговую жидкость, содержащую кровь, исследовать не рекомендуется, так как результаты исследования могут ввести врача в заблуждение.

Зеленоватая окраска ликвора может быть при окислении билирубина в биливердин и примеси гноя; при этом жидкость мутная.

Прозрачность жидкости определяют путем сравнения с дистиллированной водой. Нормальная жидкость прозрачна. Мутность спинномозговой жидкости зависит: 1) от присутствия большого количества клеточных элементов (эритроциты, лейкоциты). Жидкость становится прозрачной после центрифугирования с образованием осадка красного цвета в случае примеси эритроцитов или беловато-зеленоватого при наличии лейкоцитов; 2) от присутствия в ней микроорганизмов; при этом жидкость остается мутной и после центрифугирования; 3) от большого содержания в жидкости грубодисперсной фракции белка — фибриногена, что может придавать жидкости легкую опалесценцию.

Фибринозная пленка образуется в ликворе при большом содержании фибриногена. Имеет вид пленки или желеобразного сгустка. Появляется сразу после выпуска жидкости или после стояния. Следует иметь в виду, что свертывается только наружный слой фибриногена, образуя мешочек, наполненный жидкостью. Мешочек разрывают острым концом пипетки, а излившуюся жидкость подвергают исследованию. Кусочек свернувшегося фибрина исследуют микроскопически, так как он может содержать клеточные элементы.

Образование пленки наблюдается при менингитах (туберкулезный, серозный и пр.). При туберкулезном менингите в фибринозной пленке иногда обнаруживают туберкулезных микобактерий, поэтому в случаях, подозрительных на туберкулезный менингит, если пленка не образовалась, пробирку с жидкостью следует оставлять на сутки при комнатной температуре (не встряхивая).

МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Цитологическое исследование спинномозговой жидкости производят с целью определения цитоза, т. е. количества клеток в 1 мм^3 жидкости и дифференциации клеточных элементов.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЦИТОЗА

Реактивы. 1. Реактив Самсона	
ледяная уксусная кислота	30 мл
карболовая кислота	2 мл
спиртовой раствор фуксина (1 : 10)	2 мл
дистиллированная вода	до 100 мл
или 2. 10% раствор уксусной кислоты	5 мл
метилвиолет	0,1 г

Реактив Самсона стоек, сохраняет клетки в смеси без изменения в течение нескольких часов, предотвращает цитоллиз. Уксусная кислота растворяет эритроциты. Реактив окрашивает ядра клеток в интенсивный красноватый цвет, что облегчает счет клеток и их дифференцирование.

Ход определения. 1. Спинномозговую жидкость тщательно размешивают в течение 2 минут, катая пробирку между ладонями, и небольшое количество наливают на часовое стекло.

2. В смеситель для лейкоцитов набирают до метки I реактив Самсона, кончик смесителя вытирают и до метки II набирают спинномозговую жидкость.

3. Смеситель встряхивают и оставляют не менее чем на 10—15 минут для прокрашивания клеточных элементов. Если смесителя нет или жидкости очень мало, то ликвор отмеривают микропипеткой и смешивают ее с реактивом (реактива берут в 10 раз меньше) на часовом стекле или же отмеривают каплями, пользуясь одной и той же пипеткой для реактива и жидкости (например, одну каплю реактива и 10 капель спинномозговой жидкости смешивают на часовом стекле).

4. Окрашенную жидкость тщательно размешивают, первые 1—2 капли из смесителя выливают и заполняют камеру (технику заполнения камеры см. в разделе «Кровь»).

Камера Фукса—Розенталя для счета клеток спинномозговой жидкости более удобна, так как она имеет большую емкость. Площадь камеры Фукса—Розенталя равна 16 мм^2 , глубина $0,2 \text{ мм}$, емкость $3,2 \text{ мм}^3$. Сетка камеры состоит из 16 больших квадратов, каждый из которых разделен на 16 малых. Таким образом, вся сетка камеры разделена на 256 малых квадратов. Подсчет клеток производят во всей сетке с малым увеличением микроскопа (оку-

ляр 15×, объектив 8×). При очень большом количестве клеток допускается подсчет не всей сетки, а половины с последующим умножением результата на 2. Количество клеток в 1 мм³ вычисляют следующим образом.

Количество клеток, сосчитанное во всей камере (А), делят на 3,2 (емкость камеры) и умножают на $\frac{11}{10}$ (степень разведения). Число клеток в 1 мм³ (х) выражается формулой:

$$x = \frac{A \cdot 11}{3,2 \cdot 10}, \text{ т. е. приблизительно } \frac{A}{3}.$$

При использовании камеры Горяева для получения более точного результата необходимо считать не менее 3 камер, взяв затем среднее арифметическое. Емкость камеры Горяева 0,9 мм³.

$$\text{Число клеток в 1 мм}^3 \text{ выражается формулой: } x = \frac{A \cdot 11}{0,9 \cdot 10}$$

или $x = A \cdot 1,2$.

Конечные результаты подсчета выражают в 3 мм³ (если цитоз небольшой) или 1 мм³. Например: 1) цитоз = 12 в 3 мм³; 2) цитоз = 4 в 1 мм³. Цитоз выражают также в виде дроби со знаменателем 3. Например, цитоз = $\frac{12}{3}$ в 1 мм³. Ответ в виде дроби менее удобен и в настоящее время встречается реже.

Способ уточнения цитоза спинномозговой жидкости с примесью крови. В этом случае к собственным клеткам ликвора присоединяются клетки крови, поэтому цитоз будет увеличен.

Ход определения. Геморрагическую жидкость (размешанную) набирают в два смесителя: 1) с краской и 2) с физиологическим раствором. Смесители заполняют в указанных выше пропорциях.

Из первого и второго смесителя заполняют камеры. Из первого определяют цитоз, из второго — количество эритроцитов в 1 мм³ (например, эритроцитов 3000 в 1 мм³, цитоз 40 в 1 мм³). Далее узнают данные периферической крови больного, т. е. количество лейкоцитов и эритроцитов (например, эритроцитов 4 500 000, лейкоцитов 7500 в 1 мм³). В периферической крови на

каждый лейкоцит приходится $\frac{4\,500\,000}{7500} = 600$ эритроцитов. Составив уравнение

$$\begin{aligned} \text{на } 600 \text{ эритроцитов} & \text{— } 1 \text{ лейкоцит} \\ \text{на } 3000 \text{ эритроцитов} & \text{— } x \text{ лейкоцитов,} \end{aligned}$$

получим $x = \frac{3000}{600} = 5$ лейкоцитов. Истинный цитоз ликвора бу-

дет $40 - 5 = 35$ в 1 мм³.

Как указывалось выше, жидкость с большой примесью крови для исследования непригодна. К этому методу определения цитоза прибегают только в некоторых случаях.

После люмбальной пункции (через 5—10—15 минут) в периферической крови наступает значительно выраженный лейкоцитоз, который может превышать цитоз ликвора.

Интерпретация. Нормальное содержание клеток в спинномозговой жидкости (цитоз) по данным Института нейрохирургии имени Бурденко, следующее: в жидкости из желудочков мозга 0—3 клетки в 3 мм³, в жидкости из большой цистерны 0—2

клетки в 3 мм³, в жидкости, полученной путем люмбальной пункции, 7—10 клеток в 3 мм³.

Цитоз у детей несколько выше:

до 3 месяцев	20—23 клетки в 1 мм ³
» 1 года	14—15 клеток » 1 »
от 1 года и до 2 лет	11—14 » » 1 »
» 2 до 5 лет	10—12 » » 1 »
» 5 » 7 »	8—10 » » 1 »
» 7 » 10 »	6—8 » » 1 »
старше 10 »	4—6 » » 1 »

Повышенный цитоз (плеоцитоз) наблюдается при воспалительных процессах оболочек мозга различной этиологии и органических поражениях вещества мозга (опухоли, сифилис, абсцесс и др.).

ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ КЛЕТОЧНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ

ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ В СЧЕТНОЙ КАМЕРЕ

В счетной камере с сухой системой (окуляр 15× или 10×, объектив 40×) можно дифференцировать почти все клеточные элементы. Реактив Самсона окрашивает ядра клеток в красновато-фиолетовый цвет, цитоплазма остается бесцветной. При этом обращают внимание на величину клеток, форму и расположение ядра, ядерно-протоплазменное соотношение, наличие включений в протоплазме и т. д. В практической работе этот метод используется наиболее часто.

ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ОКРАШЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Окраска по Розиной

Жидкость центрифугируют 7—10 минут. Надосадочную жидкость сливают, осадок помещают на обезжиренное стекло, легким покачиванием распределяют его на поверхности стекла. При небольшом цитозе (менее 50 в 3 мм³) осадок распределяют на участке 1 см², при цитозе, превышающем 100 в 3 мм³, — на участке 1,5—2 см², при цитозе 500 в 3 мм³ — на участке 2—3 см², через 1—2 минуты жидкость сливают. При очень большом количестве клеточных элементов и наличии крови осадок распределяют на всей поверхности предметного стекла и тотчас сливают. Стекло ставят в вертикальное положение. При этом достигается минимальная толщина мазка. Мазки высушивают в сушильном шкафу при температуре 40—50°. Затем фиксируют метиловым спиртом 1—2 минуты и красят по Романовскому. Мазок красят 6—12 минут (тонкий препарат с небольшим цитозом 6—7 минут, с большим цитозом и кровью 10—12 минут). Затем краску сливают, мазок промывают дистиллированной водой и высушивают. Если ядра имеют бледно-голубой цвет, мазок докрашивают еще 2—3 минуты.

Окраска по Возной

Осадок выливают на стекло, слегка покачивая его, жидкость равномерно распределяют на поверхности. Мазок высушивают при комнатной температуре в течение суток, фиксируют метиловым спиртом 5 минут, препарат покрывают раствором азур-эозина (таким же, как для окраски крови, но разведенным в 5 раз). Красят в течение 1 часа. Если клетки бледны, докрасивают неразведенной краской под контролем микроскопа от 2 до 10 минут. Чем больше форменных элементов в ликворе, особенно при наличии крови, тем больше надо дополнительно красить.

КЛЕТОЧНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ

Лимфоциты по величине сходны с эритроцитами. При дифференцировании клеток в камере лимфоциты, окрашенные фуксином, имеют округлое ядро и узкий неокрашенный ободок протоплазмы, иногда только с одной стороны (морфологию клеток в окрашенном препарате см. в разделе «Кровь»). Лимфоциты в небольшом количестве (8—10 в 3 мм³) встречаются в нормальной жидкости. Количество их увеличивается при опухолях центральной нервной системы (нерезко). Значительный и резкий лимфоидный плеоцитоз наблюдается при хронических воспалительных процессах в оболочках (туберкулезный менингит, цистицеркозный арахноидит и др.), в послеоперационном периоде (спустя несколько дней после операции вслед за нейтрофильным плеоцитозом) и пр.

Плазматические клетки. Фуксин хорошо окрашивает ядро и протоплазму, клетки крупнее лимфоцита, ядро круглое, эксцентрично расположенное, большое количество протоплазмы (размер клеток 6—12 мк). Плазматические клетки обнаруживают только в патологических случаях: при длительно текущих воспалительных процессах в мозгу и оболочках (энцефалит, туберкулезный менингит, цистицеркозный арахноидит), в послеоперационном периоде при вяло текущем заживлении раны.

Полибласты в счетной камере сходны с моноцитами. Размер клеток от 7 до 10 мк. В нормальной жидкости иногда могут встречаться в виде единичных экземпляров. В большом количестве могут быть после оперативного вмешательства на центральной нервной системе, при длительно текущих воспалительных процессах в оболочках (туберкулезный менингит, цистицеркоз) и др. Наличие полибластов в послеоперационном периоде говорит об активной тканевой реакции и нормальном заживлении раны.

Макрофаги могут иметь различную форму ядра, чаще отодвинутого к периферии, включение и вакуоли в цитоплазме. Величина от 7 до 17 мк, иногда 20—30 мк. В нормальном ликворе макрофаги не встречаются. Наличие макрофагов при нормальном цитозе наблюдается после кровотечения или воспалительного процесса.

Как правило, встречаются в послеоперационном периоде, что имеет хорошее прогностическое значение и говорит об активной

санации ликвора. При плеоцитозе отсутствие макрофагов является плохим признаком.

Зернистые шары (липофаги, клетки с жировой инфильтрацией, с жировой дистрофией) — это макрофаги с наличием в цитоплазме капель жира. В счетной камере имеют различную величину, чаще округлой формы, окрашены в темно-коричневый цвет, ядра клеток не видны. Зернистые шары обнаруживают в жидкости, полученной из мозговых кист, в очагах распада мозговой ткани, при опухолях.

Нейтрофилы (в камере) идентичны по виду нейтрофилам периферической крови. Наличие в ликворе нейтрофилов даже в минимальных количествах указывает на бывшую или имеющуюся воспалительную реакцию. Нейтрофилы могут быть при наличии свежей крови в ликворе и после операций на центральной нервной системе. Благодаря цитолитическим свойствам ликвора клетки, особенно нейтрофилы, подвергаются изменениям (лизис ядра, распад клеток, наличие голых ядер). Преобладание в ликворе неизмененных нейтрофилов свидетельствует об остром воспалительном процессе. Присутствие измененных указывает на затухание воспалительного процесса. Сочетание измененных нейтрофилов с сохранившимися служит признаком продолжающегося воспаления. Неизмененные нейтрофилы всегда обнаруживаются в ликворе с примесью свежей крови.

Эозинофилы в камере можно определить по характерной равномерной блестящей зернистости. Эозинофилы встречаются при субарахноидальных кровоизлияниях, токсических реактивных менингитах, туберкулезных и сифилитических менингитах, опухолях мозга, цистicerкозе. Для последнего характерны лимфоидный плеоцитоз, небольшое количество полибластов, плазматических клеток и эозинофилов.

Измененные клетки и тени клеток сохраняют только контуры цитоплазмы и остатки ядра. Определить природу таких клеток ни в камере, ни в окрашенных препаратах не представляется возможным.

Эпителиальные клетки (мезотелиальные, арахноэпителиальные), ограничивающие подпаутинное пространство, встречаются редко.

Довольно крупные клетки, чаще круглые с небольшими круглыми или овальными ядрами. В камере имеют сходство с клетками плоского эпителия, обнаруживаются при новообразованиях, иногда при воспалительных процессах.

Опухолевые клетки и их комплексы могут быть найдены в камере и в окрашенном препарате (признаки злокачественности клеток см. в разделе «Моча»). Злокачественные клетки могут относиться к следующим видам опухолей: медуллобластоме, мультиформной спонгиобластоме, астроцитоме, раку. Изучение этих клеток требует специальных знаний (см. Руководство по цитологии ликвора).

Кристаллы встречаются в спинномозговой жидкости редко. В случае распада опухоли в содержимом кисты можно обнаружить кристаллы гематоидина, холестерина, билирубина.

Элементы эхинококка — крючья, сколексы и обрывки хитиновой оболочки пузыря — могут быть при множественном эхинококкозе оболочек (их находят чрезвычайно редко).

БАКТЕРИОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

В спинномозговой жидкости чаще обнаруживают менингококков и туберкулезных микобактерий, реже пневмококков, стрептококков, стафилококков и др.

Менингококк. Для выявления менингококка (возбудитель эпидемического менингита) стерильно полученную жидкость немедленно отсылают в лабораторию для посева. При охлаждении жидкости менингококк быстро погибает. Для бактериоскопического исследования прозрачную жидкость предварительно центрифугируют и мазок делают из осадка; мутную жидкость не центрифугируют. Мазки красят по Граму (см. раздел «Мокрота»).

Пневмококк, стафилококк и др.— возбудители гнойного менингита — обнаруживаются при бактериоскопическом исследовании мазков, окрашенных по Граму. Достоверность их определяется посевом на соответствующие питательные среды.

Туберкулезные микобактерии чаще обнаруживаются в свежих случаях заболевания. Мазки готовят из: 1) осадка после центрифугирования, 2) фибриной пленки, образовавшейся при свертывании фибрина, в которую захватываются туберкулезные микобактерии. Фибриновая пленка очень тонка, приготовить из нее препараты трудно. Малейшее прикосновение к ней пипеткой или петлей ведет к сжиганию фибрина в комочек, который невозможно расправить. Поэтому лучше приготовить препарат из пленки путем растирания ее петлей в капле физиологического раствора при легком подогревании препарата или раздавливанием ее между двумя предметными стеклами. Размер препарата должен быть как можно меньше.

Так как туберкулезные микобактерии в спинномозговой жидкости обнаруживают сравнительно редко и в небольшом количестве, целесообразнее использовать метод флотации (см. раздел «Мокрота»).

Приготовленные мазки красят по Цилю—Нильсену. В случае отрицательного или сомнительного бактериоскопического исследования туберкулез диагностируют методом посева или биологической пробы.

ХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

БЕЛОК

Белок определяют в ликворе теми же методами, что и в моче. Чаще применяют капельный метод разведения, так как жидкости для исследования доставляется мало.

Методика определения собственного белка спинномозговой жидкости с примесью крови. При получении ликвора, окрашенного кровью, у больного из пальца берут кровь в пробирку с физиологическим раствором (такого же диаметра как пробирка с ликвором). Крови берут столько, чтобы получить окраску немного более интенсивную, чем спинномозговой жидкости. Окраску разведенной крови выравнивают в компараторе добавлением по каплям физиологического

раствора до окраски ликвора. Обе пробирки взбалтывают и центрифугируют. В обеих центрифугах определяют количество белка. Количество белка, определенное в разведенной крови, вычитают из количества белка спинномозговой жидкости. Остаток соответствует собственному количеству белка ликвора.

Пример. В спинномозговой жидкости с кровью белка 1,71‰, в разведенной крови больного 1,08‰. Собственный белок ликвора составляет $1,71 - 1,08 = 0,63\%$.

Эта методика не отличается точностью и применяется только в случае, если окрашенная кровью жидкость после центрифугирования бесцветна.

Интерпретация. Нормальное содержание белка в ликворе, полученном из желудочков мозга, от 0,12 до 0,2‰, из большой цистерны 0,1—0,22‰, при люмбальной пункции от 0,22 до 0,33‰.

Белок цереброспинальной жидкости состоит из двух фракций — альбуминов и глобулинов. Отношение глобулинов к альбуминам колеблется в пределах 0,2—0,3 (глобулинов 0,024—0,048%, альбуминов 0,168—0,24%).

Повышение белка отмечается при нарушении гемодинамики, воспалительных процессах, опухолях мозга, после операций на центральной нервной системе, а также в случае примеси крови.

Особенно большое увеличение белка наблюдается при венозном застое в сочетании с нарушением циркуляции жидкости (общий венозный застой, опухоли головного и спинного мозга). В этих случаях может быть нормальный цитоз или полностью отсутствуют клеточные элементы. Резкое выражение этого синдрома в сочетании с ксантохромией называется белково-клеточной диссоциацией (синдром Фроан).

Реакция Панди

Принцип основан на появлении мути при добавлении исследуемой жидкости, содержащей белок, к раствору карболовой кислоты.

Реактив Панди. 80—100 г чистой кристаллической карболовой кислоты растворяют в 1 л дистиллированной воды, размешивают и ставят в термостат на сутки при температуре 37° (за это время жидкость несколько раз взбалтывают). Реактив оставляют стоять 2—3 суток при комнатной температуре. Реактивом служит прозрачная жидкость над осадком. При изменении окружающей температуры и атмосферного давления реактив мутнеет, при подогревании просветляется и становится годным к употреблению.

Ход определения. На часовое стекло (или предметное) наливают несколько капель реактива Панди, сбоку помещают 1—2 капли спинномозговой жидкости. При положительной реакции соприкосновение реактива и жидкости вызывает помутнение, выраженность которого зависит от содержания белка. Степень помутнения обозначается плюсами: едва уловимая +, более заметная ++, ясно заметная +++, интенсивная муть ++++. Рассматривают результат реакции на темном фоне и отмечают его через 2 минуты.

Интерпретация. Реакция Панди отражает общее содержание белка в ликворе и не является специфически глобулиновой пробой. Реакция может быть использована как ориентир при определении общего количества белка.

Реакция Нонне — Апельта

Принцип: осаждение глобулинов насыщенным раствором сернистого аммония.

Реактив Нонне — Апельта. 850 г химически чистого нейтрального сернистого аммония высыпают в 1 л горячей дистиллированной воды. Раствор взбалтывают, доводят до кипения и полного растворения аммония. Оставляют стоять при комнатной температуре несколько дней. Раствор должен иметь рН 7,0 — 7,1. Если реакция кислая (при пробе на лакмус или индикатор), следует подщелочить крепким раствором аммиака, осторожно добавляя его по каплям.

Ход определения. В агглютинационную пробирку наливают немного реактива (0,5—1 мл) и настилают равное количество спинномозговой жидкости. Результат (появление на границе белого кольца) определяют через 2 минуты, затем жидкость слегка встряхивают и отмечают интенсивность помутнения. Реакцию выражают крестами (см. Реакцию Панди).

Интерпретация. Опалесценция наступает при содержании 0,3% белка в ликворе, что соответствует 0,05% глобулинов. При более низком содержании глобулинов реакция получается отрицательная. Указанная реакция дает только относительное представление о нормальном или патологическом содержании глобулинов. Более правильное представление о содержании глобулинов можно получить, используя количественные методы определения белковых фракций: метод Рушняка, метод электрофореза на бумаге и агаре.

Количество глобулинов особенно увеличивается при заболеваниях, сопровождающихся дегенерацией и распадом нервной ткани (прогрессивный паралич, сухотка спинного мозга, рассеянный склероз), и хронических воспалительных процессах.

Реакция Вейхброта

Принцип: осаждение глобулинов сулемой.

Реактив. Раствор сулемы 1 : 1000.

Ход определения. В агглютинационную пробирку наливают ликвор 0,7 мл и 0,3 мл раствора сулемы. Пробирку встряхивают, результат отмечают, рассматривая помутнение в пробирке на черном фоне. Оценивают результат так же, как при реакции Нонне — Апельта.

Интерпретация. Реакция не имеет особой диагностической ценности, ее не считают чисто глобулиновой. Скорее она должна рассматриваться как коллоидная.

Реакция Ланге с коллоидным золотом

Принцип. Используется высокодисперсный коллоидный раствор хлорного золота. Прибавление к нему патологического ликвора в присутствии электролитов вызывает коагуляцию, осаждение частиц и изменение цвета раствора.

Реактивы. 1. 0,4% раствор хлорида натрия.

2. 1% раствор хлорного золота (1 г хлорного золота растворяют в 100 мл бидистиллированной воды).

3. 1% раствор цитрата натрия.

4. Коллоидное золото. К 95 мл дистиллированной воды прибавляют 1 мл 1% раствора хлорного золота. Нагревают (на сетке) до

начала кипения. При появлении первых пузырьков добавляют 5 мл 1% раствора цитрата натрия, продолжают нагревать. Цвет жидкости из желтоватого переходит в голубоватый, затем в аметистовый и, наконец, в насыщенно красный.

Кипятят до получения пурпурного цвета (без тени фиолетового) После охлаждения реактив годен к употреблению.

Посуда и оборудование. 1. Штатив.

2. Пробирки.

3. Колба.

4. Пипетки градуированные.

5. Плитка электрическая.

Вся посуда должна быть химически чистой.

Ход исследования. В штатив помещают 12 пробирок. В первую пробирку наливают 0,9 мл 0,4% раствора хлорида натрия, в остальные — по 0,5 мл. В первую пробирку добавляют 0,1 мл испытуемой спинномозговой жидкости, хорошо размешивают, забирают из нее 0,5 мл и переносят во вторую, перемешивают, забирают 0,5 мл смеси и переносят в третью и т. д. Из последней пробирки 0,5 мл смеси выливают. Получают следующие разведения спинномозговой жидкости: 1 : 10, 1 : 20, 1 : 40, 1 : 80 и т. д. Во все пробирки прибавляют по 2,5 мл коллоидного раствора золота. В контрольную пробирку спинномозговую жидкость не добавляют. Пробирки встряхивают, оставляют стоять на сутки. Результат отмечают на следующий день.

Интерпретация. Нормальная спинномозговая жидкость не изменяет цвета коллоидного раствора золота. Цвет остается красным. Патологическая жидкость, прибавленная к коллоидному раствору золота, меняет его дисперсное состояние и цвет раствора. Соотношение глобулиновых фракций, количество альбуминов и щелочно-кислотное равновесие, очевидно, играют роль в изменении цвета. Получаемое изменение цветов принято оценивать цифрами: красный — 1, красновато-фиолетовый — 2, фиолетовый — 3, красно-синий — 4, синий — 5, голубой — 6, бесцветный с осадком — 7.

Различают 4 типа кривых: 1) нормальный тип. При этом изменения цвета не наступает совсем или же в 3—5 пробирках цвет немного отличается от контрольной; 2) дегенеративный тип кривой характеризуется изменением цвета коллоидного золота в левой половине ряда. Степень изменения может быть различная. Наблюдается как при специфическом (сифилис мозга), так и неспецифическом (рассеянный склероз, опухоли головного и спинного мозга, размягчение мозга и др.) поражении мозга; 3) воспалительный тип кривой — изменение цвета золота наступает в правой половине ряда. Такой тип кривой наблюдается при менингитах разной этиологии; 4) смешанный тип кривой — изменение цвета коллоидного раствора золота происходит как в левой, так и в средней части пробирок. Наблюдается при смешанных менинго-паренхиматозных поражениях (инфекционных и токсических).

Реакция Таката — Ара

Принцип реакции состоит в том, что к подщелоченной спинномозговой жидкости прибавляют смесь фуксина и сулемы. Нормальная спинномозговая жидкость изменяет окраску смеси в фиолетовый цвет. В патологических жидкостях наступает просветление с образованием осадка или же цвет остается красным.

- Реактивы.** 1. 10% раствор карбоната натрия.
2. 0,2% водный раствор фуксина (основного).
3. 0,02% раствор фуксина (готовят из 0,2% раствора).
4. 0,5% раствор сулемы.
5. Смесь фуксина и сулемы (берут 0,02% раствор фуксина и 0,5% раствор сулемы поровну; при смешивании сулему следует добавлять к фуксину).

Для реакции требуется бидистиллированная вода и химически чистая посуда.

Ход исследования. В пробирку наливают 0,5 мл спинномозговой жидкости, добавляют одну каплю раствора углекислого натрия, 0,15 мл смеси сулемы и фуксина. Результат отмечают через 24 часа.

Интерпретация. Результат реакции может быть 4 типов: 1) отрицательный тип (нормальный) — фиолетовый цвет не изменяется в течение 24 часов. Жидкость остается прозрачной; 2) дегенеративный тип: прибавление реактива вызывает выпадение сине-фиолетового осадка; над ним остается прозрачная жидкость; 3) воспалительный тип — розовая окраска смеси без осадка, с течением времени обесцвечивающаяся; 4) смешанный тип — прозрачная жидкость над розовым осадком.

Реакция Таката — Ара дополняет и подтверждает показания реакции с коллоидным золотом.

Триптофановая реакция

Реактивы. 1. Водный 2% раствор формалина (продажный формалин разводят в 20 раз: 1 часть формалина + 19 частей дистиллированной воды).

2. 0,06% водный раствор нитрата натрия; готовят в день постановки из основного 0,6% раствора.

3. Соляная кислота концентрированная.

Ход исследования. Жидкость, содержащая гной, для реакции непригодна. В широкую пробирку наливают 1,5 мл спинномозговой жидкости, прибавляют 7,5 мл соляной кислоты и 1—2 капли формалина. Смесь слегка встряхивают, дают постоять 5 минут, затем осторожно наклоняют 2 мл нитрата натрия.

Положительная реакция: через 2—3 минуты на границе между жидкостями появляется нежно-фиолетовое кольцо, которое при стоянии исчезает. Отрицательная реакция: кольцо или совсем не образуется или имеет коричневый цвет.

Реакция Левинсона

Реактивы. 1. 3% раствор сульфосалициловой кислоты.

2. 1% раствор сулемы.

Ход исследования. В две маленькие градуированные пробирки наливают по 2 мл спинномозговой жидкости. К одной приливают 1 мл раствора сульфосалициловой кислоты, к другой 1 мл 1% раствора сулемы. Пробирки оставляют стоять на 24 часа, после чего измеряют объем осадка. В норме в обеих пробирках небольшой осадок.

Интерпретация. При всех гнойных менингитах в пробирке с сульфосалициловой кислотой осадок примерно в 3 раза больше, чем в пробирке с сулемой.

При туберкулезном менингите (в других случаях редко) явление обратное: объем осадка в пробирке с сулемой в 3 раза больше осадка в пробирке с сульфосалициловой кислотой.

Диагностическое значение обеих указанных выше реакций ограниченное. Патогномоничность их для туберкулезного менингита не подтвердилась. При серозном менингите иной этиологии они тоже бывают положительны.

СЕРОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование производят при подозрении на сифилис, токсоплазмоз и целый ряд других заболеваний.

БИОХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определение сахара, хлоридов, мочевины, холестерина в спинномозговой жидкости, имеющих некоторое диагностическое значение в неврологической и нейрохирургической практике, см. в руководствах по биохимическим методам исследования.

ЭКССУДАТЫ И ТРАНССУДАТЫ

Выпотные жидкости — трансудаты и экссудаты добывают для исследования с помощью пункции серозных полостей (плевральной, брюшной, полости перикарда и др.).

Полученный материал собирают в чистую сухую посуду (колба, цилиндр), и все количество тотчас направляют на исследование. Не рекомендуется доставлять в лабораторию часть жидкости (одну пробирку из всего взятого пунктата).

ФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

Характер. Полостные жидкости по характеру делят на серозные, серозно-фибринозные, серозно-гнойные, гнойные, гнилостные, геморрагические, хилезные, хилусоподобные, псевдохилезные, холестериновые.

Трансудат — прозрачная, серозная, почти бесцветная или с желтоватым оттенком жидкость механического происхождения. Наблюдается при сердечной декомпенсации, нефрозах, кахексии, циррозах печени и др.

Серозный экссудат внешне мало отличается от трансудата, прозрачен, желтоватого цвета. При длительном стоянии может образоваться сгусток фибрина. Такой экссудат серозно-фибринозный. Наблюдается при экссудативных плевритах различной этиологии, чаще при туберкулезе.

Серозно-гнойный экссудат — мутная желтоватая жидкость с обильным рыхлым сероватым осадком.

Гнойный экссудат — мутный, желтовато-зеленоватого цвета, густой консистенции. Встречается при эмпиемах и перитонитах различной этиологии.

Гнилостный экссудат — мутный, серо-зеленого цвета с гнилостным запахом. Содержит много детрита, бактерий, кристаллов холестерина. Наблюдается при гангрене легкого с прорывом в плевральную полость, при присоединении гнилостной флоры, при огнестрельных ранениях и др.

Геморрагический экссудат — мутная, красноватого или буровато-коричневого цвета жидкость.

Сохранение красноватого или бурого цвета после центрифугирования с несомненностью указывает на геморрагический характер

экссудата. Если после центрифугирования жидкость желтого цвета с красным осадком, то можно думать о травматической примеси крови (во время пункции или в свежее образовавшемся геморрагическом экссудате).

В случае присоединения инфекции может быть сочетание геморрагического с гнойным экссудатом. Для выявления примеси гноя рекомендованы следующие пробы.

Проба Петрова. Добавление к исследуемому экссудату дистиллированной воды вызывает гемолиз эритроцитов. В случае чистого геморрагического экссудата жидкость становится прозрачной, если исследуют смесь крови с гнойным экссудатом — жидкость мутная.

Проба Эфендиева. Жидкость отстаивают в течение 2—3 часов. При отсутствии примеси гноя соотношение жидкой части и осадка равно 1:1. Присутствие гноя придает слою осадка больший объем с макроскопически видимым большим сероватым слоем лейкоцитов.

Геморрагические экссудаты наблюдаются при злокачественных новообразованиях, геморрагических диатезах, плевритах, осложняющих инфаркт легкого, травматических поражениях плевры или брюшины, циррозах печени и др.

Хилезный экссудат — молочного цвета мутная жидкость, содержащая большое количество жира. Добавление эфира и едкой щелочи вызывает просветление жидкости. Наблюдается при разрыве крупных лимфатических сосудов.

Хилусоподобный экссудат — похожая на хилезную мутная жидкость. Кроме жировых капель, содержит жирно перерожденные клетки. При добавлении эфира остается мутной или слегка просветляется. Наблюдается при хроническом воспалении серозных оболочек (туберкулез, цирроз печени, опухоли).

Псевдохилезный экссудат — мутная, молочного цвета жидкость, не содержащая жира. Наблюдается при липоидном нефрозе.

Холестериновый экссудат — густая опалесцирующая жидкость с желтоватым или шоколадным оттенком. Содержит блестящие хлопья, состоящие из скоплений кристаллов холестерина. Наблюдается при туберкулезе, раке легкого, парагонимозе, глистной инвазии.

Цвет жидкостей различен в зависимости от характера выпота. Транссудаты и серозные экссудаты имеют светло-желтый цвет. Гнойные экссудаты обычно желтовато-зеленого цвета с бурым оттенком от примеси крови. Большая примесь крови придает жидкости красновато-бурый оттенок (геморрагический экссудат). Молочно-белый цвет характерен для хилезных, хилусоподобных и псевдохилезных экссудатов. Холестериновый экссудат желтовато-буроватого цвета, иногда с коричневым оттенком. Желтушное окрашивание жидкости наблюдается при желтухе, перфорации кишечника, травмах печени и др.

Прозрачность жидкости также зависит от характера выпота. Транссудаты и серозные экссудаты прозрачны. Геморрагические, гнойные и хилезные экссудаты мутны.

Удельный вес полостных жидкостей определяют с помощью урومتра (см. раздел «Моча»). Он колеблется от 1,002 до 1,025. Транссудаты имеют более низкий удельный вес, чем экссудаты.

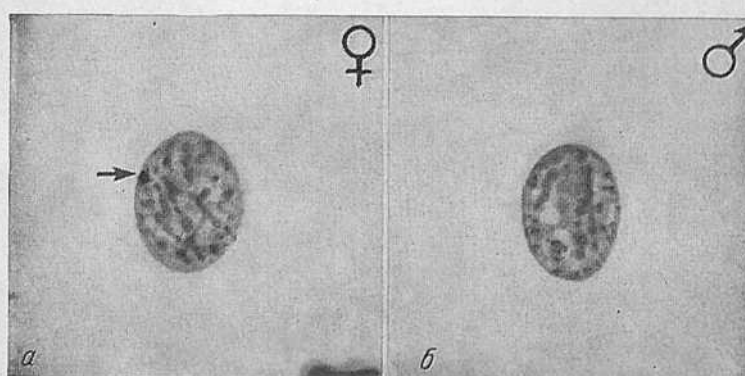


Рис. 17. Ядра эпителиальных клеток в мазках слизистой оболочки из ротовой полости. Увеличение $\times 1800$.
a — ядро с половым хроматином у женщины; *b* — ядро без полового хроматина у мужчины.

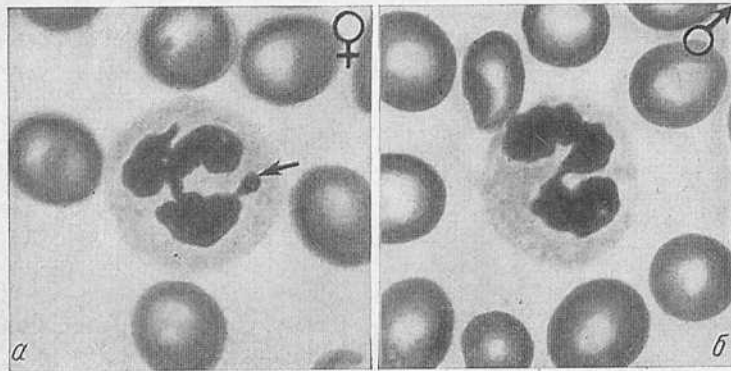


Рис. 18. Два нейтрофильных лейкоцита.
а — с добавочной ядерной долькой («барабанная палочка») у женщины; б — без добавочной дольки у мужчин.

Обычно удельный вес трансудатов не превышает 1,015. Минимальный удельный вес характерен для трансудата при нефрозе (в среднем 1,004), максимальный — для трансудата при недостаточности кровообращения III степени (в среднем 1,008).

Удельный вес экссудатов чаще в пределах 1,015—1,023. Дифференцирование экссудатов и трансудатов по удельному весу имеет относительное значение, так как нередко встречаются жидкости смешанного происхождения. В случае присоединения к трансудату воспалительной жидкости удельный вес повышается. Наоборот, разведение экссудата отечной жидкостью снижает величину удельного веса.

ХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

БЕЛОК

Белок определяют методом Брандберга (Робертса — Стольников) так же, как в моче. Более быстрым и точным методом является определение белка с помощью прибора рефрактометра, которое производится аналогично определению белка в сыворотке крови. Для детального исследования белковых фракций пользуются методом электрофореза.

Содержание белка в экссудатах и трансудатах различно и составляет для трансудатов 0,5—2,5%, а для экссудатов 3—5%. У больных с кахексией и алиментарной дистрофией экссудаты обычно содержат меньшее количество белка.

По составу белок жидкостей неоднороден. Он состоит из альбуминовых и глобулиновых фракций. В трансудатах преобладают альбумины, и альбумино-глобулиновый коэффициент ($\frac{A}{T}$) колеблется в пределах 2—4, в экссудатах коэффициент $\frac{A}{T}$ от 0,5 до 2.

Наибольшие различия в белковом составе наблюдаются во фракции α_2 -глобулинов. Наиболее высокое содержание их отмечено при экссудатах туберкулезной этиологии, менее высокое — при раковых экссудатах и наиболее низкое — в трансудатах.

Дифференцирование экссудатов и трансудатов по количеству белка также имеет относительное значение.

Проба Ривальта

Проба используется для отличия трансудатов от экссудатов. Последние содержат серомуцин (вещество глобулиновой природы), дающий положительную пробу Ривальта.

Ход определения. В цилиндр емкостью 100 мл с дистиллированной водой, подкисленной 2—3 каплями концентрированной уксусной кислоты, добавляют 1—2 капли исследуемой жидкости. Если образующееся беловатое облачко при добавлении жидкости опускается до дна цилиндра, проба положительная. Если падающие капли растворяются, исследуемая жидкость не содержит серомуцина — проба отрицательная.

Проба Ривальта не всегда позволяет отличить трансудат от экссудатов при смешанных жидкостях. Большое значение для их отличия имеет микроскопическое исследование.

МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Микроскопическое исследование выпотных жидкостей производят после центрифугирования и приготовления препаратов из осадка.

Экссудат, доставленный в лабораторию в свернувшемся виде, подвергают дефибринированию путем взбалтывания со стеклянными бусами. Исследование такой жидкости дает только ориентировочное представление о клеточном составе, так как часть клеток разрушается при дефибринировании или остается в сгустках фибрина.

Микроскопическое исследование жидкостей следует производить в нативных и окрашенных препаратах.

НАТИВНЫЕ ПРЕПАРАТЫ

Исследование нативных препаратов (каплю осадка наносят на предметное стекло и накрывают покровным стеклом) дает возможность ориентировочно судить о характере патологического процесса (количество клеточных элементов, преобладание различных элементов, наличие клеток опухолевой природы и пр.). Предварительно производят обзор препаратов с малым, затем с большим увеличением. Микроскопически в нативных препаратах можно обнаружить следующие элементы.

Эритроциты являются постоянными клетками жидкостей. В трансудатах и серозных экссудатах эритроциты находятся в небольшом количестве и связаны с травматической примесью крови (в момент прокола). Геморрагические экссудаты обычно содержат очень много эритроцитов, что значительно затрудняет исследование нативных препаратов. В этих случаях следует готовить тонкие препараты или добавлять каплю слабого раствора уксусной кислоты (для гемолиза эритроцитов), но такой препарат в дальнейшем красить нельзя.

Лейкоциты содержатся в небольшом количестве (до 15—20 в поле зрения) в трансудатах и в большом количестве в жидкостях воспалительного происхождения (особенно много их в гнойных экссудатах). Соотношение отдельных видов лейкоцитов исследуют в окрашенных препаратах.

Клетки мезотелия — крупные клетки размером до 25 мк. Обнаруживаются в большом количестве в трансудатах, в экссудатах при злокачественных новообразованиях, а иногда при туберкулезе. В трансудатах большой давности клетки мезотелия могут быть в виде скоплений с выраженными дегенеративными изменениями (вакуолизация цитоплазмы с эксцентрично расположенным ядром — так называемые перстневидные клетки).

Опухолевые клетки с выраженным полиморфизмом расположены обычно конгломератами без четких клеточных границ (см. Исследование мочи на опухолевые клетки).

Другие клеточные элементы в нативных препаратах не распознаются (см. Исследование окрашенных препаратов).

Помимо различных клеток, в нативных препаратах могут встречаться и неклеточные элементы.

Массы детрита в виде мелкозернистой сероватой массы. Характерны для гнойных экссудатов.

Жировые капли в виде резко преломляющих свет круглых капель, окрашивающихся суданом III. Их находят при гнойных экссудатах с большим клеточным распадом, при хилезных и хилусоподобных экссудатах.

Кристаллы холестерина — тонкие бесцветные таблочки с обрезанными углами. Обнаруживаются при старых осумкованных выпотах, чаще туберкулезного происхождения (холестериновые экссудаты).

Слизь обнаруживается крайне редко и является указанием на наличие бронхоплеврального свища.

Друзы актиномицетов (см. раздел «Мокрота») можно найти в плевральном экссудате при актиномикозе.

Фазовоконтрастное исследование нативных препаратов позволяет выявить морфологию различных клеточных элементов и лейкоцитарный состав выпотных жидкостей (подробно методику исследования с помощью фазовоконтрастного устройства см. в разделе «Фазовоконтрастная микроскопия»).

ОКРАШЕННЫЕ ПРЕПАРАТЫ

Небольшую каплю осадка жидкости помещают на предметное стекло. Препарат готовят как мазок крови, высушивают на воздухе и окрашивают обычными гематологическими методами. В случае геморрагического экссудата мазки следует готовить из верхнего слоя осадка, содержащего лейкоциты и другие клеточные элементы. Клеточные элементы экссудатов окрашиваются более интенсивно, чем клетки крови, поэтому красить препарат чаще следует не дольше 8—10 минут. Окрашенный препарат просматривают с малым увеличением, затем с иммерсионной системой. В мазках подсчитывают процентное соотношение отдельных видов лейкоцитов, исследуют морфологию других клеточных элементов.

В окрашенных препаратах обнаруживают следующие элементы.

Нейтрофильные лейкоциты — преобладающие клетки гнойного экссудата. По морфологии нейтрофилов можно судить о тяжести воспалительной реакции. Дегенеративные изменения нейтрофилов (токсигенная зернистость и вакуолизация протоплазмы, гиперсегментация и пикноз ядер и др.) с явлениями клеточного распада наблюдаются при наиболее тяжелых случаях гнойного воспаления. Нейтрофилы с явлениями фагоцитоза встречаются при более доброкачественных процессах. При серозном воспалении нейтрофилы можно обнаружить в начальной стадии процесса, а также в случаях неблагоприятного течения (туберкулезный экссудативный плеврит).

Лимфоциты являются преобладающими элементами серозного выпота (до 80—90% всех лейкоцитов). При экссудативном плеврите любой этиологии лимфоцитарный характер экссудата проявляется обычно на 2-й неделе заболевания.

Эозинофилы нередко встречаются в серозном экссудате и рассматриваются как аллергическое проявление процесса. Преобладание эозинофилов (30—80% всех лейкоцитов — эозинофильный

плеврит) наблюдается при ревматических выпотах, туберкулезе, травматическом плеврите, опухолях, паразитарных заболеваниях.

Плазматические клетки могут обнаруживаться в серозном или гнойном экссудате при затяжных воспалительных процессах и при травматических плевритах.

Полибласты — тканевые клетки различного размера с базофильной или серовато-голубой цитоплазмой и моноцитонидной формы ядром. Их находят в значительном количестве в гнойных экссудатах, особенно в случаях высоковирулентной флоры.

Макрофаги — крупные клетки, сходные с полибластами, с включениями в цитоплазме и неправильной формой ядра. Обнаруживаются при кровоизлияниях в плевральную полость, опухолях, гнойных плевритах.

Клетки мезотелия крупных размеров (до 30 мк), правильной формы, с центрально расположенным круглым ядром и широкой зоной цитоплазмы (от сероватого до темно-голубого цвета), иногда двухъядерные и многоядерные. Клетки мезотелия постоянно обнаруживаются в транссудатах, в экссудатах в начальной стадии воспалительного процесса, при реактивном раздражении плевры, а также при опухолях. В жидкостях большой давности отмечаются выраженные дегенеративные изменения этих клеток (вакуолизация цитоплазмы — так называемые перстневидные клетки, жировая дистрофия цитоплазмы).

Клетки опухоли резко варьирующих размеров, с выраженным клеточным полиморфизмом (различная величина, структура и окраска ядра, крупные ядрышки, анизохромия клеток и т. д.). Достоверными для диагноза злокачественных новообразований являются находки комплексов (конгломератов) опухолевых клеток. Подробно морфологию опухолевых клеток см. в разделе «Лимфатические узлы».

БАКТЕРИОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Сухие фиксированные мазки окрашивают по Цилю — Нильсену, Граму и т. д. Для исследования на туберкулезные бактерии экссудат подвергают длительному центрифугированию или обработке способом флотации (см. раздел «Мокрота»).

При необходимости производят посев и биологическую пробу на животных.

ВЫДЕЛЕНИЯ ПОЛОВЫХ ОРГАНОВ

ВЫДЕЛЕНИЯ ЖЕНСКИХ ПОЛОВЫХ ОРГАНОВ

Исследуют отделяемое влагалища, уретры и бартолиновых желез.

ОТДЕЛЯЕМОЕ ВЛАГАЛИЩА

Исследование отделяемого влагалища в гинекологической практике производят с целью определения функционального состояния яичников, выявления клеток злокачественной опухоли, обнаружения простейших и флоры (гонококки и др.), в акушерской практике — с целью диагностики раннего разрыва плодного пузыря.

В зависимости от целей исследования приготовление препаратов и окраска их могут быть различны.

Посуда и оборудование.

1. Пипетки.
2. Резиновый баллончик.
3. Предметные стекла.
4. Покровные стекла.
5. Микроскоп.

Исследование с целью определения функционального состояния яичников

Взятие материала производят из заднебокового свода влагалища. Материалом из заднего свода влагалища пользоваться не следует, так как в нем скапливаются ранее отторгнутые эпителиальные клетки. Содержимое насосывают стеклянной пипеткой с резиновым баллончиком. При необходимости получения большего количества материала содержимое можно брать гинекологической ложечкой. Материал, взятый ватным тампоном, для исследования непригоден.

Содержимое равномерно распределяют на предметном стекле. Мазки высушивают на воздухе и красят.

Окраска метиленовым синим

Реактив. 1% водный раствор метиленового синего.

На высушенный препарат наносят 1—2 капли метиленового синего, покрывают покровным стеклом. Красят 1—2 минуты. Затем мазок промывают дистиллированной водой следующим образом: у

одного края покровного стекла наносят 1—2 капли дистиллированной воды, к противоположному краю прикладывают полоску фильтровальной бумаги. Таким образом препарат промывают несколько раз до получения бледно-синей окраски, затем высушивают.

Окраска фуксином

Реактив. 3 г кислого фуксина растворяют в 100 мл 95° спирта. К 12 мл этого раствора прибавляют 100 мл дистиллированной воды.

На высушенный препарат наливают фуксин на 1 минуту, затем смывают водой, высушивают. Таким же способом можно красить мазки и метиленовой синей.

Окраска гематоксилин-эозином

Реактивы. 1. Смесь Никифорова.

2. Водный раствор гематоксилина (гематоксилина 1 г, калийных квасцов 50 г, йодистого натрия или калия 0,2 г, дистиллированной воды 1000 мл; раствор выдерживают на свету 14 дней, после чего он готов к употреблению).

3. 1% водный раствор эозина.

Высушенные мазки фиксируют в смеси Никифорова (10—15 минут). Окрашивают водным раствором гематоксилина 7—10 минут до слабо фиолетового цвета. Промывают проточной водой. Окрашивают 1% водным раствором эозина полминуты. Промывают проточной водой и высушивают.

Окраска по Романовскому (см. «Кровь»),

Окраска по Папаниколау

Реактивы. 1. Смесь Никифорова.

2. Спирты 95, 90, 80, 70 и 50°.

3. Гематоксилин Гарриса.

4. 0,25% раствор соляной кислоты.

5. Краска оранжевая Г.

6. Краска (ЕА-36).

7. Абсолютный спирт.

8. Ксилол.

9. Канадский бальзам.

Приготовление гематоксилина Гарриса. 1 г гематоксилина растворяют в 10 мл абсолютного спирта, 20 г калийных квасцов растворяют при нагревании в 200 мл дистиллированной воды. Через 24 часа оба раствора соединяют и прибавляют 0,5 г красной или желтой окиси ртути. Раствор нагревают до кипения, остужают и через 24 часа фильтруют.

Приготовление раствора краски оранжевая Г. К 100 мл 0,5% спиртового раствора оранжевой краски Г добавляют 0,015 г фосфорновольфрамовой кислоты.

Приготовление составной краски (ЕА-36). 45 мл 0,5% спиртового раствора светлой зеленой, 10 мл 0,5% спиртового раствора бисмаркбраун, 45 мл 0,5% спиртового раствора эозина желтоватого (водо- и спирторастворимого), 0,2 г фосфорновольфрамовой кислоты, капля насыщенного водного раствора углекислого лития.

Ход окраски. Мазки после фиксации проводят последовательно через сосуды, содержащие 80, 70 и 50° спирты и дистиллиро-

ванную воду. Затем красят 6 минут гематоксилином Гарриса, осторожно споласкивают дистиллированной водой и погружают (6 раз) в 0,25% раствор соляной кислоты. Далее на 6 минут кладут в сосуд с проточной водопроводной водой и обмывают дистиллированной водой. Затем проводят через 50, 70, 80 и 95° спирты. Обезвоженные таким образом препараты красят полторы минуты краской оранжевой Г, споласкивают в двух сменах 95° спирта и красят в течение полутора минут составной краской (ЕА-36). Мазки отмывают от избытка краски в трех сменах 95° спирта. Далее препараты просветляют проведением через абсолютный спирт, через смесь абсолютного спирта и ксилола в равных объемах и, наконец, через ксилол, после чего заключают в канадский бальзам.

Из приведенных выше окрасок самые простые — окраска фуксином и метиленовым синим, но эти окраски не дают полного представления обо всей цитологической картине. Метод Папаниколау сложен, требует много дефицитных и дорогостоящих реактивов, поэтому реже используется в практической работе лабораторий. Окраска по Романовскому вполне пригодна для цитологического исследования влагалищных мазков и выгодно отличается тем, что может применяться в любой лаборатории.

Клеточный состав влагалищного мазка

В мазках из влагалища различают 4 вида клеток плоского эпителия:

1. Клетки поверхностные большие (35—55 мк), полигональной формы, ядро маленькое (6 мк), пикнотичное. Клетки чаще располагаются раздельно. Цитоплазма клеток очень слабо окрашивается, ядро темное. В большом количестве встречаются главным образом с 9-го по 14-й день менструального цикла.

2. Промежуточные клетки большие (25—30 мк), форма неправильная, ядро более крупное, круглое или овальное. Клетки часто располагаются пластинами. Цитоплазма окрашивается интенсивнее, чем у поверхностных клеток, ядро более светлое. Встречаются во всех фазах менструально-овариального цикла.

3. Парабазальные клетки — меньших размеров, круглой или овальной формы, с большим круглым ядром. Диаметр ядра немного меньше, чем ширина ободка цитоплазмы. Красятся чаще в базофильные тона. Некоторые считают, что морфологические черты парабазальных клеток неясно различимы от клеток базальных.

4. Клетки базальные (или атрофические), округлой формы, несколько меньших размеров, чем парабазальные, ядро круглое, большое, занимает большую часть клетки. Цитоплазма окрашивается в интенсивные базофильные тона (некоторые авторы называют клетки с такой морфологией «парабазально-базальными»). Клетки встречаются во время менопаузы и единичные во время менструаций и после родов.

Интерпретация. Слизистая оболочка влагалища выстлана многослойным плоским эпителием. В зависимости от соотношения клеток разных слоев эпителия в мазках различают 4 типа клеточных реакций, которые позволяют судить о функциональном состоянии яичников:

1. Много базальных клеток и большое количество лейкоцитов. Этот тип мазка указывает на резкую недостаточность гормонов яичников (эстрогенов).

2. В мазке значительное количество базальных клеток, довольно много промежуточных, значительное количество лейкоцитов. Соответствует умеренно выраженной недостаточности гормонов.

3. В мазке преобладают промежуточные клетки, иногда нечетко контурированные, могут лежать пластами. Базальных клеток немного. Такая картина мазка указывает на легкую степень недостаточности эстрогенов.

4. Мазок состоит из поверхностных клеток. Такой тип мазка соответствует достаточной секреции эстрогенов.

Исследование влагалищного мазка нельзя производить при наличии воспалительных процессов (выделений), после влагалищных манипуляций, при внутривлагалищном применении медикаментов. После полового сношения мазки берут не раньше чем через 24 часа.

Тест влагалищного мазка применяется для установления показаний и контроля за результатами гормонотерапии. У женщин с нормальным овариально-менструальным циклом картина влагалищных мазков в зависимости от фазы цикла может быть третьей или четвертой (фаза пролиферации — третий тип реакции, в период овуляции и в ближайшие дни после нее — третий или четвертый).

Для решения вопроса о функциональном состоянии яичников в настоящее время применяют ряд цитохимических (определение гликогена и ферментов в клетках) и биохимических методов (определение ферментов во влагалищном содержимом, кислотности, молочной кислоты и др.).

В последние годы для исследования влагалищных мазков используется люминесцентная и фазово-контрастная микроскопия, данные которой дополняют трактовку функционального состояния яичников. Для более правильной оценки влагалищного мазка, кроме вида клеток и их количества, учитывают так называемые индексы; наибольшее значение они имеют для суждения о нарушении функции яичников.

К таким индексам относятся:

1. Карниопикнотический индекс — отношение числа поверхностных клеток с пикнотическими ядрами к общему числу клеток мазка.

2. Атрофический индекс (индекс глубоких клеток) — отношение числа базальных и парабазальных клеток к общему числу клеток мазка.

3. Индекс промежуточных клеток — отношение числа промежуточных клеток к общему числу клеток мазка.

4. Эозинофильный индекс — отношение числа эозинофильных поверхностных клеток к общему числу базофильных поверхностных клеток.

Все индексы выражаются в процентах.

При изучении цитологической картины влагалищного мазка можно использовать упрощенную схему Вида¹ (табл. 37).

Наибольшее значение имеет карниопикнотический индекс, показатели которого наиболее точно совпадают с уровнем выделения с мочой половых гормонов.

¹ G. Y. Wied Clin. pathol., 1955, 25, 7.

Таблица 37

Оценка кольпоцитогаммы

Реакция вла- галищного мазка	Индексы влагалищного эпителия в %		
	атрофи- ческий	промежточ- ных клеток	кариопико- тический
1	100	0	0
1—2	75	25	0
2	50	50	0
2—3	25	75	0
3	0	75	25
3—4	0	75—50	25—50
4	0	50—25	50—75

ИССЛЕДОВАНИЕ НА КЛЕТКИ НОВООБРАЗОВАНИИ

Материал, взятый из влагалища путем отсоса пипеткой с пораженного участка (эрозия, язва) тампоном или путем отпечатка, может служить для обнаружения клеток злокачественных опухолей. Из полученного отделяемого готовят тонкие препараты и красят по Романовскому или другими методами, принятыми в цитологии. Если количество полученного материала достаточное, просматривают предварительно нативные препараты.

Признаки злокачественных клеток см. в разделах «Моча», «Мокрота» и др.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛАГАЛИЩНОГО СОДЕРЖИМОГО
НА СТЕПЕНЬ ЧИСТОТЫ

Мазки для исследования на влагалищную палочку (палочка Дедерлейна) готовят, как для цитологического исследования. Красят по Граму (окраску и реактивы см. в разделе «Мокрота»). По своей морфологии палочка Дедерлейна грубая, толстая, грамположительная. Различают 4 степени чистоты влагалища.

Первая степень. В мазке чистая культура влагалищной палочки и единичные эпителиальные клетки. Картина, характерная для здорового состояния половых органов.

Вторая степень. Наряду с влагалищной палочкой имеются другие сапрофиты в виде грамтрицательной, слегка изогнутой палочки и небольшого количества лейкоцитов. Такая картина мазка нередко наблюдается в норме.

Третья степень. Влагалищная палочка отсутствует, в мазке разнообразная кокковая флора и большое количество эпителиальных клеток. Такая картина наблюдается при патологическом состоянии полового аппарата.

Четвертая степень. Отделяемое имеет вид гноя, влагалищная палочка отсутствует, разнообразная гноеродная флора, лей-

коциты. Такая картина наблюдается тогда, когда к основному заболеванию присоединяется воспалительный процесс слизистой влагалища (кольпит).

Основным условием для существования влагалищной палочки является высокая степень кислотности (рН 4,0—4,7). Во влагалищном содержимом и в эпителии содержится в большом количестве гликоген.

Существует тесная связь между рН влагалища и количеством гликогена. Кокковая флора соответствует низкому содержанию гликогена и низкой степени кислотности влагалищного содержимого. Степень чистоты может служить относительным тестом функционального состояния влагалища, особенно при аномалиях менструального цикла.

ИССЛЕДОВАНИЕ НА ТРИХОМОНАДЫ (TRICHOMONAS VAGINALIS)

Приготовление нативного препарата. Каплю отделяемого из влагалища, взятого пипеткой или петлей, наносят на предметное стекло, покрывают покровным и тотчас микроскопируют. В нативном препарате обнаруживают подвижные формы, которые распознаются по характерному движению ундулирующей мембраны. После потери движения паразит в нативном препарате распознать нельзя.

Окрашенные препараты. Каплю отделяемого распределяют на стекле тонким слоем. Мазки высушивают. Для окрашивания предложено много различных методов: метиленовый синий, окраска по Граму, метод Романовского и др.

Из перечисленных методов наиболее удобным является метод Романовского. При этой окраске трихомонады распознаются легко (ядро фиолетовое, протоплазма вакуолизирующаяся голубая, содержащая бактерий). При этом хорошо виден окружающий их клеточный фон (нейтрофилы, эозинофилы и эпителиальные клетки). В мазках, окрашенных метиленовым синим, трихомонады легко спутать с измененными клетками.

Бактериоскопическое исследование. Отделяемое влагалища исследуют в основном для обнаружения гонококков (см. ниже). В некоторых случаях можно обнаружить и другие патогенные микроорганизмы.

1. Палочка дифтерии при дифтерии половых органов. Истинную природу обнаруженной палочки устанавливают только путем бактериологического исследования и проверкой на вирулентность. Дифтерия половых органов — очень редкое заболевание.

2. *Bacillus crassus* — возбудитель острой язвы вульвы Чапина — Люпшютца. В этом случае при бактериологическом исследовании мазков гнойного отделяемого, окрашенных по Граму, обнаруживают грамположительные палочки длиной от 7—8 до 40 мк, с обрезанными концами, располагающиеся иногда короткими цепочками, а иногда лежащие внутриклеточно. Считают, что эта палочка тождественна влагалищной палочке Дедерлейна. Поражение вульвы и влагалища может быть также грибковой природы (например, грибок молочницы).

МИКРОСКОПИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ОТХОЖДЕНИЙ ОКОЛОПЛОДНЫХ ВОД

Изливающиеся воды при разрыве плодного пузыря принимают иногда за подтекающую мочу. Правильность трактовки в таких случаях устанавливается микроскопическим исследованием.

Реактивы. 1. Раствор судана III.

2. 1% водный раствор эозина.

Посуда и оборудование. 1. Центрифужные пробирки,

2. Предметные и покровные стекла.

3. Пипетки.

4. Центрифуга.

Ход исследования. Собранную жидкость помещают в центрифужную пробирку и центрифугируют. Надосадочную жидкость сливают, из осадка готовят препараты и микроскопируют.

ЭЛЕМЕНТЫ ОКОЛОПЛОДНЫХ ВОД

Элементы околоплодных вод: 1) «чешуйки» плода; 2) пушковые волосы (lanugo); 3) капли жира.

Определение «чешуек». Каплю осадка наносят на стекло и покрывают покровным стеклом. Тонким концом пипетки с баллоном впускают под покровное стекло каплю 1% водного раствора эозина, который равномерно прокрашивает препарат. Избыток краски отсасывают фильтровальной бумагой с противоположного края покровного стекла. Затем точно таким же путем препарат промывают водой. При микроскопии на розовом фоне обнаруживают неокрашенные, хорошо контурированные безъядерные клетки кожи плода («чешуйки»), которые часто лежат скоплениями. «Чешуйки» не воспринимают окраску эозином, так как они покрыты первородной смазкой (жир). Клетки влагалищного эпителия красятся в ярко-розовый цвет; ядра ясно выражены.

Определение жира. К капле осадка прибавляют каплю раствора судана III, покрывают покровным стеклом. При микроскопии видны капли жира, окрашенные в оранжевый цвет. При определении жира в околоплодных водах требуется тщательно обработанная посуда (обезжиренная).

Обнаружение пушковых волос (lanugo) производят в нативном препарате.

Интерпретация. Определение «чешуек» дает 99% положительных находок при исследовании раннего отхождения околоплодных вод, обнаружение капель жира — в 100%, lanugo выявляются редко. Отделяемое уретры и бартолиновых желез исследуют в основном для диагностики гонорей (см. ниже).

ВЫДЕЛЕНИЯ МУЖСКИХ ПОЛОВЫХ ОРГАНОВ

Исследуют сок простаты, семенную жидкость и отделяемое уретры.

СОК ПРОСТАТЫ

Взятие материала

Сок берут после энергичного массажа предстательной железы. В зависимости от количества его собирают на обезжиренное предметное стекло или в пробирку. Независимо от того, получен материал или нет, необходимо исследовать первую порцию мочи, выделенную после массажа, так как основная масса секрета затекает в мочевой пузырь и моча может содержать большое количество элементов простатического сока. Производят общий анализ сока и исследование на гонококки.

Общие свойства

Нормальный секрет простаты густой, вязкой консистенции, беловатого цвета, слабо щелочной реакции (рН 7,7—8,5), с характерным запахом. Нормальное количество жидкости колеблется в пределах от 1—2 капель до 3—4 мл.

Приготовление препарата

Каплю жидкости помещают на предметное стекло и покрывают покровным. Мочу с целью исследования на элементы простаты центрифугируют, препараты готовят из осадка. Исследуют нативный препарат, в некоторых случаях — препарат, окрашенный по Романовскому. Исследование препарата производят с малым и большим увеличением.

Микроскопическое исследование

Лейкоциты в нормальном секрете единичные. Количество их увеличивается при воспалительных процессах.

Эритроциты в нормальном секрете единичные (при энергичном массаже предстательной железы). Увеличенное количество наблюдается при воспалительных процессах.

Эпителиальные клетки. Выводные протоки предстательной железы выстланы цилиндрическим и переходным эпителием. Цилиндрический эпителий в большом количестве часто в состоянии белкового и жирового перерождения, встречается в начале воспалительных процессов и при опухолях.

Макрофаги встречаются при хронических воспалительных процессах и при застое секрета.

Гигантские клетки типа «инородных тел» могут быть в тех же случаях, что и макрофаги.

Амилоидные конкременты (тельца) представляют собой сгущенный секрет железы, имеют овальную форму и слоистое строение. В норме не встречаются. Наличие их указывает на застой секрета в железе, что может быть при воспалительных процессах,

аденомах, а также у лиц пожилого возраста, при гипертрофии железы.

Лецитиновые зерна — мелкие, блестящие, сильно преломляющие свет образования. Нормальный секрет богат ими. Уменьшение их количества наблюдается при злокачественных опухолях простаты.

Тельца Труссо — Лалемана — разнообразной формы образования желтоватого цвета, несколько напоминающие восковидные цилиндры (происхождение и значение их не выяснены).

Кристаллы Беттхера. Напоминают по форме кристаллы Шарко — Лейдена. Красятся в синий цвет при добавлении раствора Люголя. Природа их неясна.

Клетки злокачественных опухолей. Морфологически клетки рака простаты не отличаются от клеток рака другой локализации. Те же признаки атипизма, которыми пользуются для распознавания опухолевых клеток в других секретах, полностью применимы и при этом исследовании. Клетки чаще встречаются в виде комплексов с фестончатыми краями, со стертыми границами между клетками. Для обнаружения их просматривают нативные препараты, сочетая это исследование с окраской препаратов по Романовскому или Папенгейму.

Ретенционный синдром наблюдается при аденоме железы и выражается в обилии макрофагов, многоядерных клеток типа «инородных тел» и амилоидных телец.

СЕМЕННАЯ ЖИДКОСТЬ

В семенной жидкости исследуются в основном свойства сперматозоидов, обращая внимание на их количество, подвижность и форму головки.

Количество в норме до 100—150 млн. в 1 мл. Как правило, их бывает очень много в каждом поле зрения. Для более точной оценки можно считать в камере. Подвижность в нормальной семенной жидкости очень активная и сохраняется до 24 часов при комнатной температуре. В патологических случаях могут быть малоподвижные и неподвижные (мертвые) сперматозоиды, иногда одновременно подвижные и неподвижные. В этих случаях имеет значение подсчет процента тех и других форм. Подвижность может быть плохо заметна в вязкой жидкости, поэтому надо смотреть в разных полях зрения, в более разжиженной части препарата. Форма головки в норме грушевидная. В патологических случаях может быть прямоугольной, овальной, круглой, раздвоенной, иногда раздвоение средней части и хвоста. Изменение морфологии головки сперматозоида иногда лучше выявляется в окрашенном препарате.

Реактивы. 1. 1% раствор хлорамина.

2. Спирт.

3. Краска: карболового фуксина Циля 2 части, насыщенного спиртового раствора эозина 1 часть, спирта 1 часть.

4. 1% водный раствор метиленового синего.

Ход окраски. 1. Препарат высушивают, фиксируют над пламенем.

2. На несколько секунд наливают 1% раствор хлорамина (для удаления слизи) и промывают водой, затем спиртом.

3. Красят 2—3 минуты краской (фуксин-эозин).
4. Промывают водой.
5. Докрашивают метиленовым синим несколько секунд.
6. Промывают водой.

ИССЛЕДОВАНИЕ НА ГОНОКОККИ

Взятие материала

У женщин отделяемое берут одновременно из уретры, влагалища и шейки матки. Выделения из бартолиновых желез исследуют только по клиническим показаниям. Иногда берут выделения из прямой кишки: спустя 3—4 часа после опорожнения кишечника делают смыв физиологическим раствором, который центрифугируют, после чего исследуют осадок.

У мужчин берут отделяемое из уретры (утром до первого мочеиспускания), сок простаты, полученный после массажа железы, или мочу, выделенную после массажа. Кроме того, исследуют мочу, собранную утром после длительного воздержания от мочеиспускания. У девочек отделяемое берут из уретры, влагалища и прямой кишки (промывные воды).

Из полученного материала готовят тонкие мазки. Если материалом для исследования служит моча, то препараты готовят из осадка после центрифугирования.

Окраска препаратов

Высушенные и фиксированные над пламенем препараты (делают, как правило, не меньше двух препаратов) красят по Граму (см. «Мокрота») и метиленовым синим.

Окраска метиленовым синим

Фиксированные препараты заливают 0,5—1% водным раствором метиленового синего на 1 минуту; промывают водой и высушивают.

Окраска по Граму

Окраска по Граму требует особой тщательности, так как при недостаточном обесцвечивании гонококки могут сохранить окраску Грама, при слишком длительном обесцвечивании окраску могут терять другие грамположительные кокки (стафилококки, стрептококки). Это может повести к ошибочным результатам. Для цитологического исследования препараты красят по Романовскому (при этом нередко обнаруживают эозинофилы, особенно в период выздоровления).

При исследовании под микроскопом гонококки имеют форму кокков, парно расположенных. Поверхности, обращенные друг к дру-

гу, несколько уплощены. Гонококки часто располагаются кучками, в острых случаях заболевания находятся главным образом в лейкоцитах. При окраске по Граму обесцвечиваются и красятся в розовый цвет (грамотрицательно).

Интерпретация. Бактериоскопический метод, хотя и является основным для выявления гонококков, имеет ряд недостатков: сравнительно редкое обнаружение гонококков и трудность их дифференцирования от другой кокковой флоры, особенно в случаях, когда проводилось лечение. Однократный отрицательный результат не доказателен, поэтому требуются повторные исследования.

При исследовании мазков от больных гонореей в основном наблюдается бактериоскопическая картина трех видов.

1. Лейкоциты покрывают все поле зрения; часто гонококки расположены внутриклеточно. Имеются также гонококки, лежащие свободно. Другие микроорганизмы при этом не обнаруживаются.

2. Клеточная картина та же самая, но гонококков нет. Посторонняя флора отсутствует. Такая картина часто наблюдается при хронической гонорее.

3. Небольшое количество дегенерированных лейкоцитов и обильная посторонняя флора, появление которой говорит об улучшении течения процесса.

ПОЛОВОЙ ХРОМАТИН

Половым хроматином называют обнаруживаемый в соматических клетках человека и многих животных конденсированный комочек ядерного вещества, располагающийся в эпителиальных и других тканевых клетках внутри ядра, обычно около его оболочки (тельца Барра). В сегментированных нейтрофилах половой хроматин имеет вид ядерного отростка в форме «барабанной палочки».

Самым удобным объектом для выявления полового хроматина является эпителий слизистой оболочки рта. Несколько менее доступны эпителий уrogenитального тракта (стенки влагалища, уретры). Для исследования могут быть использованы также эпителиальные клетки в мочевом осадке.

Принцип. Клетки в процессе фиксации или окраски подвергаются воздействию кислоты (гидролизу). При этом хроматин ядра перестает резко окрашиваться, и на фоне его четко выявляется темный комочек, представляющий собой так называемый «гетеропикнотический участок» двух половых XX-хромосом, характерный для женского пола.

Практически после воздействия на клетки кислоты половой хроматин может быть окрашен в ядрах любой основной краской — гематоксилином, азуром II, тионином, толуидиновым синим, основным фуксином, генцианвиолетом, бисмарком коричневым и др.

Однако для этого краска должна воздействовать на влажный нативный препарат. Если же желательно получить постоянный окрашенный препарат, то его надо подвергать влажной фиксации, т. е. погружать в кислый фиксатор ранее высыхания.

ПОЛОВОЙ ХРОМАТИН В ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ РТА

Взятие материала

Материал для исследования забирают путем соскоба со слизистой оболочки внутренней стороны щеки или оттянутой книзу нижней губы. Соскоб производят металлическим (гистологическим) шпательем, изогнутым под углом, и с достаточным нажимом, однако совершенно безболезненно для обследуемого. С нижней губы можно делать соскоб узким краем нешлифованного предметного стекла. Половой хроматин в ядрах эпителиальных клеток слизистой оболочки полости рта см. на рис. 17, см. на вклейке между стр. 384 и 385.

Изготовление и окраска нативных препаратов

Наиболее четко половой хроматин выявляется при окрашивании нативных препаратов ацеторсеином или крезилвиолетом. Однако оба они, особенно последний, часто дефицитны. На практике могут быть использованы более ходовые в лабораториях краски, такие, как азури II.

Окраска азури II (по Шуренковой)

Реактивы. 1. Подкисленная вода:		
крепкая серная кислота, разведенная		
дистиллированной водой в соотношении		
1 : 9		0,5 мл
вода дистиллированная		250 мл
2. Основной раствор краски:		
азури II	1 г	
углекислый литий	0,5 г	
вода дистиллированная	75 мл	

(Предварительно полностью растворяют в воде углекислый литий, затем добавляют азури II.)

Рабочий раствор: основного раствора краски 1 часть, подкисленной воды 4—5 частей. При длительном стоянии портится, и его не следует готовить больше чем на неделю.

Ход окраски. На предметное стекло наносят 1—2 капли рабочего раствора краски и в них растирают полученный на шпатель или предметном стекле материал. После стояния смеси в течение 1—1½ минут ее покрывают тонким покровным стеклом, которое сильно прижимают к предметному через фильтровальную бумагу. Таким образом удаляют избыток жидкости. Покровное стекло должно быть прижато достаточно крепко и не сдвигаться с места.

Микроскопирование можно проводить с сильной сухой системой (40×10), но предпочтительно с иммерсионной (90×7).

Окраска нативных препаратов ацеторсеином. Изготовление краски: орсеина синтетического 1 г, ледяной уксусной кислоты 45 мл. Раствор подогревают до кипения, охлаждают и фильтруют, затем к нему добавляют 55 мл дистиллированной воды.

Изготовление препарата такое же, как и при описанной выше методике, при сильном надавливании на покровное стекло. Рекомендуется обвести покровное стекло парафином, чтобы воспрепятствовать его сдвиганию при микроскопировании.

Изготовление и окраска постоянных препаратов

Постоянные препараты можно красить или азури-эозином по Романовскому (краска Гимза) или же скоростным способом — подщелоченным азури по Шуренковой с последующей дифференцировкой подкисленной водой.

Окраска по Романовскому

Реактивы. 1. Краска Гимза. 1 капля краски на 1 мл дистиллированной воды.

2. Фиксатор. 1 часть уксусной ледяной кислоты на 3 части этилового спирта 96°.

Фиксация. Концом шпателя, которым забран материал, делают не очень тонкий мазок на предметном стекле и сразу же до его высыхания погружают в фиксатор на 10 мин. После этого препарат хорошо высушивают на воздухе.

Окраска. Краску Романовского — Гимза из расчета 1 капля на 1 мл наливают на фиксированный препарат на 30—40 мин., после чего смывают водой и препарат высушивают.

Скоростная окраска щелочным азуром (по Шуренковой)

Реактивы. 1. Фиксатор (см. окраску по Романовскому).

2. Щелочной азур по Шуренковой (основной раствор): азур II 1,0 г, углекислый литий 0,5 г, вода дистиллированная 75 мл.

Примечание. При дефиците углекислого лития он может быть заменен углекислым натрием.

3. Крепкая серная кислота разведенная: 1 часть серной кислоты и 9 частей воды.

4. Подкисленная вода: 0,5 мл разведенной серной кислоты (см. реактив 3) и 250 мл дистиллированной воды.

5. Жидкость для дифференцирования препаратов: подкисленную воду (реактив 4) разводят в три раза (1:2).

Окраска. Препарат фиксируют (см. выше). Основной раствор щелочного азура наливают в количестве 2—3 капли на сухой фиксированный мазок и распределяют по нему краем предметного стекла. Продолжительность окраски 1 минута. Препарат промывают водой и сушат на воздухе. Для ускорения можно пользоваться фильтровальной бумагой.

Сухой мазок ополаскивают (т. е. дифференцируют) в разведенной втрое подкисленной воде в течение 10 секунд, затем промывают простой водой, сушат и просматривают с иммерсионной системой.

ПОЛОВОЙ ХРОМАТИН В ЛЕЙКОЦИТАХ

Половой хроматин в сегментированных нейтрофилах носит название «барабанных палочек» (рис. 18 см. на вклейке между стр. 384—385) или ядерных отростков типа А (по Козенову). Он имеет вид круглой головки диаметром 1—1,5 мк, окрашивающейся интенсивно в такой же цвет, как и хроматин ядра, и сидящей на тонкой ножке на одном из ядерных сегментов. В палочкоядерных и двухсегментных нейтрофилах он встречается очень редко. Частота его варьирует у разных людей и зависит от индивидуальных особенностей, возраста, гормональной активности и, возможно, от других еще неизвестных причин. В норме у женщин должно быть не менее 6 нейтрофилов с такими отростками из 500 сосчитанных. Обычно же их бывает несколько больше (10:500). У мужчин такие ядерные отростки либо отсутствуют, либо встречаются менее чем в 1% нейтрофилов.

Кроме типичных «барабанных палочек» (отростки типа А), для нейтрофилов у женщин характерны так называемые сидячие узелки или отростки типа В. Они имеют вид округлых выпячиваний с поверхности ядерного сегмента и отличаются от отростков типа А полным отсутствием ножки. Другие ядерные отростки в виде палочек, крючочков, очень маленьких «барабанных палочек» обозначают как тип С. Очень редко встречаются довольно крупные ядерные отростки, несколько напоминающие тип А, но с центральным просветом, придающим им сходство с ракеткой. Они обозначаются как отростки типа D. Ни С, ни D не используются вообще для определения пола, хотя С, как правило, бывают более многочисленными у мужчин. Сумма отростков $A + B$, деленная на С, у женщин бывает больше 0,4, у мужчин меньше.

Интерпретация. В норме один комочек полового хроматина обнаруживается в 10—90% эпителиальных клеток промежуточного слоя у женщин, у мужчин же или совершенно отсутствует или выявляется крайне редко. Отсутствие полового хроматина у женщин и обнаружение его в значительном проценте клеток у мужчин всегда означает отклонение от нормы в состоянии и функциях половых желез и связано с ненормальным набором половых хромосом. Наличие двух комочков полового хроматина в ядре означает одну избыточную X-хромосому, наличие трех (что бывает очень редко) свидетельствует о присутствии в половом наборе четырех X-хромосом.

На практике определение полового хроматина производится для установления истинного пола у псевдогермафродитов, для выяснения причин стерильности у мужчин или женщин, для диагностики хромосомных болезней, связанных с аномалиями набора половых хромосом (болезни Клайнфельтера, Тернера), а также иногда для определения пола внутриутробного плода. В последнем случае исследуются клетки амниотической жидкости, добытой путем прокола. Результаты этого исследования используются как показания или противопоказания к искусственному прерыванию беременности в целях предупреждения наследственных заболеваний, связанных с полом. В некоторых случаях исследование полового хроматина может проводиться с судебно-медицинскими целями и для него могут быть использованы клетки любых тканей (эпителиальные, соединительнотканнные и др.).

Иногда отмечается несовпадение результатов исследования полового хроматина в эпителиальных клетках полости рта и в лейкоцитах. Причины этого не вполне ясны. Во всяком случае определение состояния набора половых хромосом (или пола обследуемого) по эпителиальным клеткам дает более точные результаты и осуществляется проще и быстрее, чем по лейкоцитам в мазках крови. Однако в отдельных сомнительных случаях желательны оба эти анализа.

ЖЕНСКОЕ МОЛОКО

ОТЛИЧИЕ ЖЕНСКОГО МОЛОКА ОТ КОРОВЬЕГО (ПРОБА УМИКОВА)

Принцип. При нагревании женского молока до 60° с аммиаком получается фиолетовое окрашивание.

Реактив. 10% раствор аммиака.

Получение молока. Молоко из молочной железы получают путем сцеживания руками или аппаратом в любое время между кормлениями ребенка, однако лучше сцедить небольшое количество молока до кормления и после него, а затем обе порции смешать. Лучшее время для взятия молока 9—10 часов утра (после второго кормления).

Ход исследования. В пробирку наливают 2 мл молока, добавляют 2 мл раствора аммиака. Затем пробирку встряхивают. Через несколько минут исследуемое молоко окрашивается в фиолетовый цвет.

Интерпретация. Окраска исследуемого молока в фиолетовый цвет указывает на принадлежность его женщине. Реакция особенно хорошо выражена в позднем лактационном периоде.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ УДЕЛЬНОГО ВЕСА

Исследуемое молоко наливают в стеклянный цилиндр и погружают в него ареометр. Цилиндр в строго вертикальном положении держат против света. Мениск молока указывает на шкале ареометра цифру удельного веса. Он колеблется между 1,026—1,036 при 15°. Если температура воздуха выше или ниже, на каждый градус добавляют (если она выше 15°) или убавляют (если она ниже 15°) к указанию ареометра 0,001. Молоко для исследования удельного веса лучше всего получать в течение второго часа после кормления ребенка.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЖИРОВ МОЛОКА (КОЛИЧЕСТВЕННОЕ)

Метод Бабкова

Принцип. Концентрированная серная кислота ведет к осаждению жира.

Реактивы. 1. Серная кислота удельного веса 1,83—1,834.

Состав	Молозиво	Молоко	
		здоровых	при мастите
Химико-физический	Калорийность (в ккал)	1100	—
	Удельный вес	1,050—1,060	—
	pH	—	—
	Электропроводность	—	—
	Вода	86,21 %	—
	Сухой остаток	12,98 %	—
	Зола	—	—
	Общий белок	3,37 %	3—4 %
	Холестерин	—	—
	Казеин	5,39 %	—
	Лактоза	3,77 %	5,0—3,8 %
	Жир	—	5—6 %
	Кефалин	—	—
	Лецитин	—	—
	Натрий	0,5	—
	Калий	—	—
	Хлориды	—	—
	Азот	—	—
	Азот остаточный	—	—
	Мочевина N	—	—
Аминокислоты N	—	—	
Креатин N	—	—	
Мочевая кислота	—	—	
		660	—
		1,026—1,036	—
		6,7—6,8	—
		0,583	—
		5·2·10 ² —2·3·10 ³	—
		86—88 %	—
		12 %	—
		0,21 мг%	—
		2 %	—
		9—13 мг%	—
		1 %	—
		6,5 %	—
		3,7 %	—
		3,2 мг%	—
		58,0—132,9 %	—
		15—20 мг%	—
		40—70 мг%	—
		60 мг%	—
		0,22—0,42 мг%	—
		20—37 мг%	—
		8—16 мг%	—
		4,9 мг%	—
		1,0—1,6 мг%	—
		1,7—4,4 мг%	—

Состав	Молозиво	Молоко	
		здоровых желез	при мастите
Витамин С	—	6,0—7,0 мг%	—
Каротин	—	0,2—0,8 мг%	—
Медь	64,1 мг%	43,3 мг%	—
Кальций	0,036 мг%	0,03 мг%	—
Фосфор	0,1137 мг%	0,015 мг%	—
Кобальт	—	10—25 мг%	—
Магний	—	3,6 мг%	—
Цинк	232,3—245 мг%	232,3—245,0 мг%	—
Никель	—	10—25 мг%	—
Общее количество клеток	15 000 000— 38 000 000	100 000—500 000	15 000 000— 80 000 000
Молозивные тельца	70—80 %	—	—
Лейкоциты	Преобладают ней- трофилы	Преобладают лим- фоциты	Преобладают ней- трофилы
Количество микробных колоний в 1 мл	—	400—800	1 500 000— 10 000 000
Характер микробной флоры	—	Белый негемоди- стический ста- филококк	Гемолитический стафилококк белый и золо- тистый

2. Кислотно-алкогольная смесь (равные части амилового спирта и концентрированной соляной кислоты).

Оборудование. Бутирометр.

Ход определения. Исследуемое молоко узкой пипеткой вливают в бутирометр до метки 5. Прибавляют серную кислоту до горлышка бутирометра. Затем вращательными движениями содержимое бутирометра доводят до гомогенной смеси. После этого горлышко бутирометра наполняют кислотно-алкогольной смесью и центрифугируют 1—2 минуты. Отделившийся жир отсчитывают по шкале бутирометра (в процентах). Если уровень жира не доходит до метки 0, прибавляют к смеси горячую воду и вновь центрифугируют. Если процент жира выше 5, содержимое бутирометра разводят равным объемом воды и вновь центрифугируют, а полученный при этом процент жира умножают на 2.

Среднее содержание различных химических веществ в женском молоке в норме и патологии показано в табл. 38.

МИКРОСКОПИЯ МОЛОКА

Ход исследования. На очищенное и обезжиренное предметное стекло наносят пипеткой одну каплю исследуемого молока и покрывают покровным стеклом. Препарат рассматривают в микроскопе при опущенном конденсоре при среднем увеличении. Видны капельки жира, большее или меньшее число лейкоцитов, бактерии.

Интерпретация. У здоровой женщины в молоке видно множество жировых капель, единичные лейкоциты, иногда бактерии. При воспалительных процессах (мастит) в препарате молока имеется большое число лейкоцитов (нейтрофилы) и микроорганизмов, главным образом стафилококков, в меньшей степени стрептококков; изредка встречаются и другие микробные ассоциации.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЫДЕЛЕНИЙ ИЗ СОСКА (СЕРОЗНАЯ ЖИДКОСТЬ) ВНЕ ЛАКТАЦИОННОГО ПЕРИОДА

Выделения из соска могут быть при заболеваниях молочной железы различной этиологии (воспалительные процессы, туберкулез, актиномикоз, мастопатия, новообразования и др.). Из полученного материала готовят нативные препараты (каплю отделяемого помещают на предметное стекло и покрывают покровным) и тонкие мазки для цитологического, а при необходимости и бактериоскопического исследования (окраску мазков для исследования с этой целью см. разделы «Кровь», «Мокрота» и др.).

Цитологическое исследование для решения вопроса о новообразовании требует большого опыта и навыка исследователя, поэтому необходимо использовать специальные руководства по этому вопросу¹.

При бактериоскопическом исследовании мазков можно обнаружить кокковую и палочковую флору. При подозрении на туберкулез препараты красят по Цилю — Нильсену.

¹ Н. Н. Шиллер-Волкова, Н. И. Никитина, К. А. Агамова, М. Л. Брин. Цитологическая диагностика злокачественных новообразований, 1964.

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

А

- Агглютинация бактериальная 151
— краевая 150
— ложная 150
— причины отсутствия 151
— реакция 149
— холодовая 151
Агранулоцитоз, пунктат костного мозга 196
Аддисона — Бирмера анемия, картина крови 92
— болезнь, пунктат костного мозга 195
Адлера способ количественного определения стеркобилина 329
Акридин оранжевый, диапазон люминесценции 222
— — максимум люминесценции 222
— — световой абсорбции 222
— — цвет 222
Актиномикоз, картина пунктата лимфатических узлов 205
Актиномицеты, друзы в мокроте 366
Акцелерин 116
Алексеева метод одновременного взятия, окраски и подсчета ретикулоцитов и кровяных пластинок 65
— номенклатура зрелых пельгеровских нейтрофилов 75
Альбуминурия ортостатическая 265
Альбумозы мочи 265
Альдера аномалия 75
Альтгаузена метод колориметрический количественного определения сахара мочи 268
— — подсчета количества кровяных пластинок 80
Амбурже метод микрофотоирования осадка мочи 278
Амеба дизентерийная 339
— — просветная форма 340
— — тканевая форма 340
— — цисты 340
— карликовая 342
— кишечная 340
Аммоний мочеислый кислый при микроскопии мочевого осадка 282
Анализ крови общий клинический 5
— — — взятие крови 5
Андреева метод определения реакции мочи 260
Анемия Аддисона — Бирмера, картина крови 92
— апластическая, картина крови 93
— гемолитическая, картина крови 92, 248
— — острая, картина крови 92
— железодефицитная, картина крови 91, 248
— Кули, картина крови 24
— пернициозная, картина крови 92
— — пунктат костного мозга 195
— постгеморрагическая, картина крови 91
— при злокачественной опухоли, картина крови 248
— — раке, картина крови 93
— пунктат костного мозга 193
— серповидноклеточная, картина крови 25
— у беременных женщин, картина крови 92
Анизохромия 62
Анизоцитоз 61
Анкилостома, яйцо, размер 360
— — форма 360
Аномалия Альдера 75
— Май — Хегглина 76
— пельгеровская 74
— псевдопельгеровская 75
— Хедика — Штейнбрика 75
Антигемофильский глобулин 116
Антигемофилия, коагулограмма 147
Антиглобулиновая сыворотка 157
Антиглобулин, потребление, схема выполнения прямой пробы 165
Антикоагулянты физиологические 120
Антитела антилейкоцитарные, определение 160
— — антитромбоцитарные неполные, проба Кумбса непрямая 164
— — — — — прямая 163
— — антиэритроцитарные, определение 154
— — — — — метод конгломинации на чашках Петри 156
— — — — — с применением желатинны 155
— — — — — солевой агглютинации 155

Антитела неполные, определение с применением антиглобулиновой сыворотки 157
 — — — проба Кумбса непрямая 157
 — — — — — прямая 158
 Антитромбин, определение 132
 Анурия 259
 Аппарат Нестерова 141
 — Папченкова 99
 Арикина метод пункции грудины 157
 Ас-глобулин, определение количественное 131
 — плазмы 116
 — сыворотки 116
 Аскарида человека, неоплодотворенное яйцо, размер 359
 — — — — — форма 359
 — — — оплодотворенное яйцо, размер 359
 — — — — — форма 359
 Аурамин, диапазон люминесценции 222
 — максимум люминесценции 222
 — — световой абсорбции 222
 — цвет 222
 Афибриногенемия, коагулограмма 144
 Ахилия 333
 Ацетоновые тела 270
 — — определение с помощью сухого реактива 271
 — — проба Ланге 270
 — — — Легалья 270

Б

Бабкова метод количественного определения жиров молока 404
 Базофильная пунктация эритроцитов 63
 Базофилы 71
 — норма в периферической крови 72
 — подсчет в камере 45
 Баночная проба 141
 Bacillus crassus 394
 Бека саркоид, картина пунктата лимфатических узлов 202
 Белковое тело Бенс-Джонса 266
 Белок в желчи, норма 314
 — — — определение 314
 Бенедикта проба на виноградный сахар мочи 266
 Бензол, интоксикация, картина крови 99
 Бенс-Джонса белковое тело 266
 Бенье — Бека — Шаумана болезнь, картина пунктата лимфатических узлов 202
 Берберин — сульфат кислый, диапазон люминесценции 222
 — — — максимум люминесценции 222
 — — — световой абсорбции 222
 — — цвет 222
 Берга метод флюорохромирования для выявления липидов в клетках крови 225
 Березовского — Штернберга клетки 200
 Бермана метод исследования ис-

пращений на личинки гельминтов 350
 Берталанффи способ флюорохромирования препаратов 224
 Бехтерева кристаллы в соке простаты 397
 Бешенство, картина крови 96
 Бианки и Мармонта метод определения механической резистентности эритроцитов 111
 Билирубинат кальция в желчи 316
 Билирубин в желчи, норма 314
 — — — определение 314
 — мочи 271
 — — проба Розина 271
 — — — Фуше 271
 — при микроскопии мочевого осадка 283
 Blastocystis hominis 344
 Боаса — Эвальда завтрак 289
 Богомолова качественная проба на уробилин в моче 273
 Болезнь Аддисона — Бирмера, пунктат костного мозга 195
 — Бенье — Бека — Шаумана, пунктат лимфатических узлов 202
 — Боткина, картина крови 94
 — Брилля — Симмерса, пунктат лимфатических узлов 202
 — Вакеза, пунктат костного мозга 193
 — Верльгофа, коагулограмма 146
 — — периферическая кровь 91
 — Гейне — Медина, картина крови 95
 — Кристмана, коагулограмма 146
 — Маркиафава — Микели, коагулограмма 144
 — Филатова, картина пунктата лимфатических узлов 206
 — Филатова — Пфейффера, пунктат костного мозга 197
 Болотова метод фиксации мазков крови 50
 Боровичени модификация метода цитохимического исследования ретикулина Гомори 218
 Бороса формула для определения средней толщины эритроцитов 106
 Боткина болезнь, картина крови 94
 Боткина — Гумпрехта тени 90
 Ботулизм, картина крови 93
 Брандберга количественное определение белка мочи 264
 Брилля — Симмерса болезнь, картина пунктата лимфатических узлов 202
 Бринкхауса определение потребления протромбина 125
 Бруцеллез, картина крови 94

В

Вакеза болезнь, пунктат костного мозга 193
 Вакуолизация 74
 Вебера — ван Деена проба с гваяковой смолой на скрытую кровь 327
 Вейхрбодта реакция определения белка в спинномозговой жидкости 379
 Верльгофа болезнь, картина периферической крови 91

Верльгофа болезнь, коагулограмма 146
 Вессара, Уигнола, Коллинга метод флюорохромирования фиксированных препаратов крови 250
 Вишнякова метод определения белка в кале (модификация метода Трубиле) 330
 Влагалища отделяемое 389
 — индекс атрофический 392
 — — карпопикнотический 392
 — — промежуточных клеток 392
 — — эозинофильный 392
 — исследование бактериоскопическое 394
 — — на клетки новообразований 393
 — — — степень чистоты 393
 — — — трихомонады 394
 — — определение функционального состояния яичников 389
 — — кольпоцитогарма, оценка 393
 — — мазок, клеточный состав 391
 — — препараты для цитологического исследования, приготовление 389
 — — окраска гематоксилин-эозином 390
 — — — метиленовым синим 389
 — — — по Папаниколэу 390
 — — — фуксином 390
 Владимирской метод концентрации лейкоцитов 45
 Власолав, яйцо, размер 359
 — — форма 359
 Возной окраска препаратов спинномозговой жидкости 375
 Волчаночный фактор 77
 Выделения из соска вне лактационного периода, исследование 408
 Вязкость крови, определение 101
 — — норма у взрослых 102
 — — — детей 102
 — плазмы у взрослых 102
 — сыворотки у взрослых 102

Г

Гайнеса проба на виноградный сахар мочи 267
 Гама метод определения кислотной резистентности эритроцитов 112
 Гамильтона-Патерсона модифицированный метод подсчета эритроцитов и лейкоцитов в одной пробе крови 33
 Гастромукопротеиды 310
 Гейя проба на желчные кислоты мочи 272
 Гейденгайна метод окраски железным гематоксилином 337
 Гейльмейера метод расчета количества щелочноустойчивого гемоглобина 19
 Гейне — Медина болезнь, картина крови 95
 Гейнда — Эрлиха тельца 62
 Гельминтоз, картина крови 98
 Гельминты 345
 — класс Cestodae 355
 — — Trematodae 357
 Гематойдин при микроскопии мочевого осадка 283

Гематокрит, определение 103
 Гематокритная величина 103
 Гематурия внепочечная 279
 — почечная 279
 Гемоглобин, аномальные формы, определение 17
 — — — электрофоретический метод исследования 17
 — — в моче 274
 — — количество у детей в возрасте от 1 года до 15 лет (таблица) 16
 — — методы определения 6
 — — — гемометром типа Сали 6
 — — — колориметром «Линсон Юниор» 13
 — — — корригированный 8
 — — — купросульфатный 9
 — — — цеанметгемоглобиновым фотометрическим 14
 — — норма 15
 — — для детей 16
 — — — женщин 15
 — — — мужчин 15
 — — определение при анемии Аддисона — Бирмера 8
 — — — желтухе 8
 — — — фотоэлектрическим эритрогемометром 10
 — — — фотоэлектроколориметром ФЭК-М 11
 — — содержание в эритроците, возрастные особенности 104
 — — — номограмма для вычисления 36
 — — среднее содержание в одном эритроците, определение 34
 — — фетальный, определение в мазках крови 21
 — — щелочноустойчивый, количественное определение по Зингеру 19
 — — норма у взрослых 21
 — — — детей старше 4—5 месяцев 21
 — — расчет количества по Гейльмейеру 19
 Гемоглобиноз 17
 — Е 25
 Гемоглобинопатия 17
 Гемоглобинурия 274
 Гемолизат, приготовление 18
 Гемометр Сали, определение гемоглобина 6
 — — — ошибки 8
 — — проверка точности 7
 Геморрагический диатез, коагулограмма 144
 — — новорожденных, коагулограмма 146
 Гемосидерин в моче, определение 274
 — — — реакция на берлинскую лазурь 274
 — — при микроскопии мочевого осадка 283
 Гемоцитобласт 180
 Гемофилия А, коагулограмма 145
 — В, коагулограмма 146
 — С, коагулограмма 146
 Гепарин крови свободный, определение (тест по методу Сирман) 131
 Гепатит хронический, коагулограмма 142

- Гепатит эпидемический, картина крови 94
 — — коагулограмма 142
 Гигантоцит 61
 Гиперсегментация ядер нейтрофилов врожденная 75
 — — эозинофилов врожденная 75
 Гипертоническая болезнь II и III стадии, коагулограмма 142
 Гиперхромия 16
 Гиперхромия 34, 61
 Гипоакцелеринемия, коагулограмма 145
 Гипоконвертинемия, коагулограмма 145
 Гипохромия 35, 61
 Гланцмана ретрактоэнзим (ингибитор тромбопластина) 118
 Глякоген, цитохимическое исследование 207
 — — — методом Шабаша 208
 — — — проба со слюной 209
 Глобулин антигемофильский 116
 Глюкоза мочи 266
 Гнойные осложнения, картина крови 97
 Гомори метод цитохимического исследования ретикулина (модификация Боровиченн) 218
 — — — щелочной фосфатазы 216
 Гонкокки, исследования выделений половых органов 398
 — — — — — взятие материала 398
 — — — окраска препаратов 398
 — — — метиленовым синим 398
 — — — по Граму 398
 Горяева камера 29
 — — — заполнение для подсчета эритроцитов 29
 Гоше клетки 179
 Грама метод окраски препаратов 268
 Гранулоцит 181
 Грехема — Кнолла, метод цитохимического исследования пероксидазы 215
 Грипп, картина крови 94
 Группа крови, определение 149
 — — — перекрестным методом 151
 — — — по стандартным эритроцитам 151
 — — — при помощи стандартных сывороток 150
 — — — проба на индивидуальную несовместимость 152
 Гуаффон и Ру метод определения аммиака в кале 332
 — — — — органических кислот в кале 331
 Гюффера коэффициент 19
- Д**
- Двенадцатиперстной кишки содержимое, исследование 311
 Длуустка легочная 360
 Дезоксирибонуклеиновая кислота, цитохимическое исследование 211
 Дейши метод определения телес Гейнца-Эрлиха 62
 Держине метод выявления трихомонад 251
 Дефибрированная кровь, получение 112
- Дефицит фактора I, коагулограмма 144
 — — II, коагулограмма 145
 Диастаза желчи, норма 315
 — мочи 287
 — — норма 288
 Диатез геморрагический ингибиторный, коагулограмма 148
 Ди Гульельмо, картина пунктата костного мозга 192
 — — синдром 90
Dientamoeba fragilis 342
 Диета Певзнера 318
 — Шмидта 318
 Дизентерия, картина крови 93
Dicococellidae, характеристика 357
 Диспепсия бродильная 333
 Дистиллированная вода, нейтрализация 52
 Дитриха пробки в мокроте 365
 Диурез 259
 Дифтерия, картина крови 95
 — половых органов, возбудитель 394
 Дрепаногемоглобиноз С 25
 Дрепаноталассемия 25
 Дрепаноцит 22, 61
 — окраска, изменения 61
 Дуке уколочная пробка 139
 Дуоденальное зондирование, проба с воздухом 312
 — — — молоком 312
 — — — техника введения зонда 311
 — — — содержимое, белок 314
 — — билирубин 314
 — — билирубинат кальция 316
 — — диастаза 315
 — — желчные кислоты 314
 — — извлечение 311
 — — исследование бактериологическое 317
 — — — бактериоскопическое 317
 — — — микроскопическое 315
 — — — на гельминты 351
 — — — химическое 314
 — — клеточные элементы 315
 — — кристаллические образования 316
 — — кристаллы жирных кислот 316
 — — — холестерина 316
 — — — кровь 315
 — — — лейкоциты 315
 — — — липаза 315
 — — микролиты 316
 — — «песок» 316
 — — простейшие 317
 — — трипсин 315
 — — уробилин 314
 — — ферменты 315
 — — холестерин 315
 — — эпителиальные клетки 316
 — — эритроциты 315
- Е**
- Endolimax nana* 342
Entamoeba coli 340, 341
 — *hartmani* 340, 341
 — *histolytica* 339, 341
- Ж**
- Желтуха гемолитическая семейная, картина крови 92

- Желтуха механическая и инфекционная, дифференциальная диагностика при люминесцентной микроскопии 249
- коагулограмма 142
- Желудок, нарушение секреторной функции 333
- Желудочное зондирование, 289
- метод двойного зонда 290
 - противопоказания 291
 - способ многомоментный (фракционный) 290
 - — — — — одномоментный 289
 - содержимое 289
 - взятие промывных вод 305
 - добывание тонким зондом 290
 - запах 292
 - исследование 291
 - — — — — беззондовое, десмоидная проба 306
 - — — — — метод нонообменных смол 306
 - — — — — радиотелеметрии 310
 - — — — — определение уропепсина 307
 - — — — — хиениновая проба 307
 - — — — — исследование микроскопическое 303
 - — — — — дрожжевых грибов 304
 - — — — — жира 304
 - — — — — клетчатки растительной непереваренной 304
 - — — — — крахмальных зерен 303
 - — — — — микроорганизмов 304
 - — — — — мышечных волокон 304
 - — — — — на элементы злокачественных новообразований 305
 - — — — — отсоса из пищевода 305
 - — — — — палочек молочнокислого брожения 304
 - — — — — пищевых остатков 303
 - — — — — приготовление препаратов 303
 - — — — — промывных вод желудка 305
 - — — — — сарцин 304
 - — — — — слизи 304
 - — — — — элементов слизистой оболочки желудка 304
 - — — — — эпителия цилиндрического 304
 - — — — — эритроцитов 305
 - — — — — качественная реакция с диметиламиноазобензолом 293
 - — — — — количество 292
 - — — — — коэффициент расслоения 292
 - — — — — кровь 294
 - — — — — молочная кислота 293
 - — — — — проба с карболовой кислотой 293
 - — — — — эфирной вытяжкой 294
 - — — — — реакция с бумажкой конго 293
 - — — — — хлорным железом 293
 - — — — — свободная соляная кислота 293
 - — — — — слизь 292
 - — — — — физические свойства 292
 - — — — — химификация 292
 - — — — — химическое исследование 293
 - — — — — цвет 292
- Желудочный сок, определение белка 299
- Желчеотделения недостаточность 333
- Желчные кислоты мочи, проба Гея 272
- — — — — Петтенкофера 272
 - — — — — определение 314
- Желчь, билирубинат кальция 316
- дуоденальная 312
 - исследование бактериологическое 317
 - — — — — бактериоскопическое 317
 - — — — — микроскопическое 315
 - — — — — на гельминты 351
 - клеточные элементы 315
 - количество 313
 - консистенция 313
 - кристаллические образования 316
 - кристаллы жирных кислот 316
 - — — — — холестерина 316
 - лейкоциты 315
 - микролиты 316
 - печеночная 313
 - порция А 312
 - — В 312
 - — С 313
 - прозрачность 313
 - простейшие 317
 - пузырная 312
 - реакция 314
 - удельный вес 314
 - физические свойства 313
 - цвет 313
 - эпителиальные клетки 316
 - эритроциты 315
- Жирные кислоты, кристаллы в желчи 316
- при микроскопии мочевого осадка 283
- Жолли тельца 62
- З**
- Завтрак Боаса — Эвальда 289
- капустный 290
 - кофейный 290
 - спиртовой 290
- Запор 333
- Зингера метод количественного определения щелочноустойчивого гемоглобина 19
- И**
- Isospora belli (hominis)* 344
- Иммерсионные жидкости, применяемые при люминесцентной микроскопии 221
- Иммунокоагулопатия, коагулограмма 148
- Иммунологические исследования, люминесцентная микроскопия 249
- Индекс адгезивности кровяных пластинок 88
- атрофичный влагалищного отделяемого 392
 - кариопикнотический влагалищного отделяемого 392
 - оседания эритроцитов 100
 - промежуточных клеток влагалищного отделяемого 392
 - ретракция кровяного сгустка 135
 - сдвиг ядер нейтрофилов 69
 - созревания эритробластов 173

Индекс фагоцитарный 79
 — эозинофильный влагалищного отделяемого 392
 Индикан в моче 275
 — — — проба Обермейера 275
 — — — Яффе 275
 Индиканурия 275
 Интоксикация туберкулезная хроническая у детей, картина крови 97
 Инфаркт миокарда, коагулограмма 141
 Инфекция, картина пунктата костного мозга 197
 Испражнения, исследования на гельминты 345
 — макрочелминтоскопическое исследование 345
 — — — метод «отсавания» 346
 — — — отстаивания 346
 — — — обнаружение головки крупного ленточного паразита после его изгнания 346
 — — — определение вида ленточных паразитов 347
 — — — просмотр невооруженным глазом или лупой 346
 — микрогельминтоскопическое исследование 347
 — — — метод Бермана 350
 — — — «закручивания» по Шульману 348
 — — — Калантарян 348
 — — — Телемана 350
 — — — Фюллеборна 348
 — — — нативный мазок 347

К

К-авитаминоз, коагулограмма 148
 Каковского — Алдиса, метод микроскопирования осадка мочи 277
 Кал, аммиак, определение методом Гуаффона и Ру 332
 — ахоличный 320
 — бактериологическое исследование 325
 — бактериоскопическое исследование 325
 — белок, определение методом Трибуле, видоизмененным Вишняковым 330
 — «глинистый» 320
 — детрит 321
 — дегтеобразный 320
 — дрожжевые клетки 325
 — жир 322
 — запах 320
 — йодофильная флора 325
 — клетки злокачественных опухолей 324
 — — цилиндрического эпителия 323
 — крахмал 322
 — кристаллические образования 324
 — кристаллы билирубина 325
 — — гематондина 325
 — — трипельфосфатов 324
 — — холестерина 324
 — — Шарко — Лейдена 324
 — кровь 320
 — лейкоциты 323
 — лекарственные препараты нерасстворимые 325

Кал, макрофаги 324
 — микроскопическое исследование 321
 — мышечные волокна 321
 — нормальный 333
 — органические кислоты, определение методом Гуаффона и Ру 331
 — особенности у детей грудного возраста 334
 — остатки пищи углеводной 322
 — первородный 334
 — плазматические клетки 324
 — полибласты 324
 — при ахилии 333
 — — броидильной диспепсии 333
 — — замедленной эвакуации 333
 — — нарушении секреторной функции желудка 333
 — — недостаточности желчеотделения 333
 — — — поджелудочной железы 333
 — — поражении слизистой оболочки кишечника 334
 — — ускоренной эвакуации из тонкого кишечника 333
 — приготовление нативных препаратов 321
 — примеси 320
 — растительная клетчатка 322
 — реакция 326
 — ребенка грудного возраста 334
 — — здорового, находящегося на грудном вскармливании 334
 — — — искусственном вскармливании 334
 — сбор материала 318
 — скрытая кровь, бензидиновая проба 326
 — — — гваяковая проба Вебера — ван Деена 327
 — — — — упрощенная 327
 — — — пирамидиновая проба 327
 — — слизь 320, 323
 — суточное количество в норме 319
 — соединительная ткань 321
 — ферменты, определение 333
 — физические свойства 319
 — форма 319
 — химическое исследование 326
 — цвет 320
 — щавелевокислая известь 324
 — эвакуация замедленная 333
 — — ускоренная из тонкого кишечника 333
 — элементы слизистой оболочки кишечника 323
 — эозинофилы 323
 — эритроциты 324
 Калантаряна метод исследования испражнений на гельминты 348
 Каловые камни 335
 Кальций ионизированный 116
 — углекислый при микроскопии мочевого осадка 282
 Камера Горяева, заполнение 29
 — Фукса — Розенталя 372
 Каммаяна и Лайонса метод определения фибриногена В 133
 Карнолиз 74
 Кариорексис 74

- Квикка модифицированный метод определения активности факторов протромбинового комплекса 128
- Кебота кольца 62
- Кетоновые тела 270
- Кислотность, гистаминовая проба 298
- дефицит соляной кислоты 298
 - количественное определение 294
 - метод Михаэлиса 294
 - — определения в одной порции с тремя индикаторами 296
 - — Тепффера 295
 - микрохимический способ определения 297
- Клетки Березовского — Штериберга 200
- Гоше 179
 - красной волчанки (LE-феномен) 76, 77
 - — в суправитально флюорохромированных АО препаратах 250
 - — флюорохромированных фиксированных препаратах крови (метод Уигнол, Каллинг и Вессар) 250
 - — определение по методу «кольца» 77
 - — — — — Snapper и Nathan, модифицированному М. Л. Киселевой 77
 - — — — — путем ротирования крови со стеклянными бусами 76
 - крови, структурные изменения 74
 - плоского эпителия мочевого осадка 280
 - Тарта 77
 - Тюрка 178
 - Унна 178
 - Феррата 177
 - Штернгеймера — Мельбина 279
 - — обнаружение в мочевом осадке 279
- Коагулограмма при различных заболеваниях, интерпретация 141
- Ковальского, Копека и Ниверовского метод определения фибринолитической активности крови 135
- Коклюш, картина крови 95
- Кокцидиоз 344
- Кокцидии 344
- Коллера фактор свертывающей системы крови 117
- Каллинга, Уигнола, Вессара метод флюорохромирования фиксированных препаратов крови 250
- Колориметрический способ определения рН воды 51
- Кольца Кебота 62
- Конвертин 116
- Концентрация водородных ионов (рН) воды, определение 51
- Кончаловского симптом жгута 140
- Копека, Ковальского и Ниверовского метод определения фибринолитической активности крови 135
- Копролиты 335
- Копрологический синдром нормальный 333
- Копрологическое исследование, подготовка больного 318
- Корикова П. Н. метод окраски ретикулоцитов 66
- Корифосфин О, диапазон люминесценции 222
- максимум люминесценции 222
 - — — световой абсорбции 222
 - — цвет 222
- Корь, картина крови 94
- Кост и Стенко метод исследования фагоцитоза 78
- Костный мозг здоровых людей, форменные элементы в фиксированных и окрашенных акридином оранжевым препаратах 236
- — клеточный состав в норме 171
 - — количество клеток в норме 170
 - — — — — определение 170
 - — миелограмма 171
 - — морфология клеток 176
 - — ретикулярные клетки 176
 - — форменные элементы в витально флюорохромированных акридином оранжевым препаратах 226
 - — — — — суправитально флюорохромированных препаратах 226
 - — — — — люминесцентная микроскопия 226, 230
 - — — — — гемогистиобласт 230
 - — — — — гемоцитобласт 226, 230
 - — — — — гранулоцит базофильный 227, 232
 - — — — — нейтрофильный 227, 230
 - — — — — эозинофильный 230
 - — — — — лимфоцит 227, 232
 - — — — — мегакариоцит 228, 234
 - — — — — миелобласт 226, 230
 - — — — — моноцит 227, 232
 - — — — — плазматическая клетка 228, 234
 - — — — — промиелоцит 227, 230
 - — — — — проэритробласт 228, 232
 - — — — — ретикулоцит 228, 234
 - — — — — тромбоцит 228, 234
 - — — — — эритробласт базофильный 228, 232
 - — — — — оксифильный 228, 234
 - — — — — полихроматофильный 228, 232
 - — — — — эритроцит 228, 234
 - — мазок, приготовление 169
 - — получение методом пункции 167
 - — — — — подсчет методом Аринкина 171
 - — — — — — Кост 171
 - — — — — — при люминесцентной микроскопии 229
 - — пунктат, картина при некоторых заболеваниях 191
- Коэффициент Гюфнера 19
- Краска Романовского, приготовление раствора 53
- Красной волчанки клетки 76
- Кристаллы лекарственные в мочевом осадке 284

- Кристаллы пиридина в мочевом осадке 284
 — сульфаниламидных препаратов в мочевом осадке 284
 — Шарко — Лейдена 365
 Кристмана болезнь, коагулограмма 146
 — фактор свертывающей системы крови 116
 Кроветворного аппарата заболевания, кровь 247
 — — костный мозг 247
 Кровоизлияние в мозг, коагулограмма 142
 Кровопотеря, коагулограмма 143
 — острая, картина периферической крови 91
 — хроническая, картина периферической крови 91
 Кровотворение, апластический регенераторный тип, пунктат костного мозга 194
 — гипопластический тип, пунктат костного мозга 195
 — макронормобластический тип, пунктат костного мозга 194
 — мегалобластический тип, пунктат костного мозга 194
 — нормобластический гипорегенераторный тип, пунктат костного мозга 194
 — регенераторный тип, пунктат костного мозга 193
 Кровотечение, длительность 139
 — в норме 139
 — скрытое, исследование, подготовка больного 319
 Кровь в желчи 315
 — моче 274
 — время рекальцификации плазмы по Хауэллу 125
 — свертывания, определение по методу Ли и Уайта 124
 — вязкость, определение 101
 — норма у взрослых 102
 — — детей 102
 — групповая принадлежность, определение 149
 — дефибринированная, получение 112
 — — способом Тодорова 113
 — здоровых людей, форменные элементы в фиксированных и окрашенных акридином оранжевым препаратах 236
 — иммунологические методы исследования 149
 — исследование для обнаружения микрофилярий 353
 — — физико-химическое 99
 — красная, математические показатели, возрастные особенности (таблица) 104
 — периферическая, анализ общий клинический 5
 — свертывание, механизм 118
 — современная схема по Тодорову 119
 — — фазы 120
 — — факторы 114
 — — плазменные 114
 — — тормозящие 120
 Кровь, толерантность к гепарину по Сиггу 130
 — фибринолитическая активность, определение 135
 — форменные элементы в витально флюорохромированных акридином оранжевым препаратах 226
 — — — суправитально флюорохромированных препаратах 226
 — — — фиксированных и флюорохромированных акридином оранжевым препаратах 229
 — — — люминесцентная микроскопия 226
 — — — — гемогистиобласт 230
 — — — — гемцитобласт 226, 230
 — — — — гранулоцит базофильный 227, 232
 — — — — нейтрофильный 227, 231
 — — — — эозинофильный 230
 — — — — лимфоцит 227, 232
 — — — — мегакариодит 228, 234
 — — — — мнелобласт 226, 230
 — — — — моноцит 227, 232
 — — — — плазматическая клетка 228, 234
 — — — — промиелоцит 227, 230
 — — — — проэритробласт 228, 232
 — — — — ретикулоцит 228, 234
 — — — — тромбоцит 228, 234
 — — — — эритробласт базофильный 228, 232
 — — — — оксифильный 228, 234
 — — — — полихроматофильный 228, 232
 — — — — эритроцит 228, 234
 — — подсчет при люминесцентной микроскопии 229
 Кровяной сгусток, растворение, механизм 120
 Кровяные пластинки 80
 — изучение методом реплик 85
 — — срезом 86
 — — и ретикулоциты, метод одновременного взятия, окраски и подсчета по Н. Г. Алексееву 65
 — морфология в световом микроскопе 82
 — — — — электронном микроскопе 85
 — — окраска по Нохту 82
 — — определение адгезивности 87
 — — подсчет 80
 — — в жидком препарате 243
 — — — камере без разрушения эритроцитов 81
 — — — — препаратах, суправитально флюорохромированных акридином оранжевым 243
 — — — — фиксированных и флюорохромированных акридином оранжевым 243
 — — — — по методу Альтгаузена 80
 — — — — Фейсли и Людина 81
 — — — — Фонио 80
 — — — с использованием автоматических счетчиков 81
 Кули анемия, картина крови 24
 Кумбса метод определения неполных антител, проба непрямая 157

Кумбса метод определения неполных антител, проба прямая 158
— — — — — антитромбоцитарных антител, проба непрямая 164
— — — — — прямая 163
Купросульфатный метод определения гемоглобина 8
Куршмана спирали 365
Кэстля метод определения механической резистентности эритроцитов 110

Л

Лайонса и Каммайна метод определения фибриногена В 133
Лактоза мочи 269
— — — — — качественная реакция 269
Ланге проба на кетоновые тела 270
— — — — — реакция с коллоидным золотом для определения белка в спинномозговой жидкости 379
Ларионова реактив для кольцевой пробы на белок мочи 263
Левинсона реакция определения белка в спинномозговой жидкости 381
Левулеза мочи 269
Легала проба на кетоновые тела 270
Лейкоагглютинины, реакция выявления 161
Лейкоз острый, картина пунктата костного мозга 192, 247
— — — — — лимфатических узлов 199
— — — — — коагулограмма 144
— — — — — кровь 89, 247
— — — — — хронический, коагулограмма 144
Лейкопения 40
— — — — — органическая 42
— — — — — функциональная 42
Лейкоцитарная взвесь, получение 160
— — — — — метод Ленинградского института переливания крови 161
— — — — — Центрального института переливания крови 160
— — — — — формула 68
— — — — — индекс сдвига ядер нейтрофилов 69
— — — — — крови детей в возрасте от 1 года до 15 лет (таблица) 69
— — — — — подсчет 68
— — — — — сдвиг влево 69
— — — — — вправо 69
Лейкоцитоз 40
— — — — — перераспределительный 40
— — — — — реактивный 41
— — — — — стойкий 42
Лейкоциты в желчи 313
— — — — — взятие крови, меланжерный метод 38
— — — — — пробирочный метод 38
— — — — — модифицированный метод 39
— — — — — исследование длительности хранения в лейкоцитарной массе 246
— — — — — концентрирование по методу Владимирской 45
— — — — — метод концентрации трилоном В₁ 47
— — — — — морфология 70

Лейкоциты мочевого осадка 279
— — — — — норма для взрослых 40, 70
— — — — — осмотическая стойкость, определение при люминесцентной микроскопии 246
— — — — — подсчет в камере с флюоресцирующей сеткой 242
— — — — — счетной камере 39
— — — — — источники ошибок 39
— — — — — по полям зрения 242
— — — — — с помощью целлюскопа фирмы «AB Ljungberg» 40
— — — — — резистентность осмотическая, определение 113
— — — — — метод Педерини 113
Лейции при микроскопии мочевого осадка 283
Лейшмана способ окраски мазков крови 54
Лейшманиоз, картина крови 96
ЛЕ-клетки при микроскопическом исследовании 77
Лемана определение активности протромбинового комплекса в крови 129
Лентец широкий, характеристика 355
Ленточные черви человека, сравнительные данные 355
Лепра, картина пунктата лимфатических узлов 205
Лептоспироз безжелтушный, картина крови 94
— — — — — желтушный, картина крови 94
L.E-феномен 76
Лимфаденит острый, картина пунктата лимфатических узлов 203
— — — — — сифилитический, картина пунктата лимфатических узлов 205
— — — — — туберкулезный индуративный, картина пунктата лимфатических узлов 204
— — — — — картина пунктата лимфатических узлов 203
Лимфаденоидная гиперплазия диффузная, картина пунктата лимфатических узлов 203
Лимфатический узел, пунктат 198
— — — — — картина при миллиарном туберкулезе 203
— — — — — некоторых заболеваниях 199
— — — — — туберкулезной крупноклеточной гиперплазии 204
— — — — — клеточный состав в норме 199
— — — — — пункция, техника 198
Лимфобласт 183
Лимфобластома макрофолликулярная, картина пунктата лимфатических узлов 202
Лимфогранулематоз доброкачественный, картина пунктата лимфатических узлов 202
— — — — — картина крови 91
— — — — — пунктата лимфатических узлов 199
— — — — — паховый Никола — Фавра, картина пунктата лимфоузлов 206
Лимфолейкоз, пунктат костного мозга 193
— — — — — лимфатических узлов 199

- Лимфолейкоз хронический, люминесцентная картина костного мозга 247
 — — люминесцентная картина крови 90, 247
 Лимфосаркома, картина пунктата лимфатических узлов 201
 Лимфоцит (ы) 72, 183
 — атипичные 72
 — большой 183
 — зрелый 184
 — молодой 183
 — морфология 72
 Липаза желчи, норма 315
 Липиды в клетках крови, выявление путем флюорохромирования методом Берга 225
 — окраска суданом III 210
 — — черным 211
 — цитохимическое исследование 210
 Липоиды при микроскопии мочевого осадка 284
 Липофаги 179
 Липурия 259
 Лихорадка геморрагическая, картина крови 96
 — паппатачи, картина крови 96
 Ли и Уайта метод определения времени свертывания крови 124
 Лучевая болезнь, коагулограмма 143
 Людина и Фейсли метод подсчета количества кровяных пластинок 81
 Люминесцентная микроскопия 220
 — — аппарата 220
 — — в гематологии 226
 — — — диагностике злокачественных опухолей 253
 — — — некоторых заболеваний 249
 — — — иммунологических исследований 249
 — — выявление возбудителя туберкулеза 251
 — — — трихомонад 251
 — — иммерсионные жидкости 221
 — — мочи 250
 — — принцип 220
 — — реактивы для приготовления препаратов 221
 — — флюорохром 221
 — — форменные элементы костного мозга 226
 — — — крови 226
 Люминесценция «вторичная» 220
 — мочи при злокачественных опухолях 251
 — «первичная» 220
 Лютровика и Марголиной модифицированный метод определения активности факторов протромбинового комплекса 129
- М**
- Магаршака метод определения реакции мочи 260
 Магро и Маса метод определения времени свертывания крови 139
 Мазок крови, метод сохранения для многократного микроскопирования 60
 Мазок крови, окраска 51
 — — — по модифицированному способу Буртянского 56
 — — — Нохту 55
 — — — Паппенгейму — Крюкову 55
 — — — Райту 56
 — — — Романовскому 53
 — — — Лейшману 54
 — — — патологической зернистости нейтрофилов 57
 — — — толстой капли 57
 — — окрашивание краской Романовского модифицированным методом Филиппсона 53
 — — — по Алексееву 54
 — — подготовка стекол 47
 — — приготовление 48
 — — симптом крошковатости 48
 — — способы быстрой окраски краской Романовского 54
 — — фиксация 48
 — — — парами фенола 50
 — — — по Болотову 50
 — — — Яхонтовой 49
 Май — Хегглина аномалия 76
 Макрогельминтоскопические методы исследований 345
 Макрофаги 179
 Макроцит 60
 Макферлейна метод определения ретракции кровяного сгустка 134
 Малярия, картина крови 96
 Марголиной и Лютровик метод модифицированный определения активности факторов протромбинового комплекса 129
 Маркиафава — Микели болезнь, коагулограмма 144
 Мармонта и Бианки метод определения механической резистентности эритроцитов 111
 Маса и Магро метод определения времени свертывания крови 139
 Мачабели модификация метода Бринкхауса для определения потребления протромбина 125
 Мегакариобласт 188
 Мегакариоцит 187
 — базофильный 188
 — оксифильный 188
 — оценка функционального состояния 190
 — пластинкообразующий 190
 — пластинкосодействующий 190
 — подсчет в мазках на число всех ядерных клеток 187
 — — — по полям зрения 187
 — — — счетной камере 187
 — полихроматофильный 188
 Мегакариоцитарная формула 188
 — — голоядерные формы 189
 — — дегенеративные изменения 189
 — — инволютивные формы 189
 — — у здоровых людей по данным Кост Е. А. 188
 Мегалобласт 185
 — базофильный 186
 — и нормобласт, качественные различия 185
 — оксифильный 186

- Мегалобласт, патологические формы 186
 — полихроматофильный 186
 Мегалокит 61
 Меконий 334
 Менингит эпидемический цереброспинальный менингококковый, картина крови 95
 Метабисульфитная проба на серповидность эритроцитов 22
 Метамиелоцит 182
 — базофильный 182
 — нейтрофильный 182
 — эозинофильный 182
 Метастазы рака в лимфатические узлы, картина пунктата 201
 Метод Адлера 329
 — Алексеева 65
 — Альтгаузера 80, 268
 — Амбурже 278
 — Андреева 260
 — Аринкина 157
 — Бакова 404
 — Берга 225
 — Бермана 350
 — Верталанфери 224
 — Бианки и Мармонта 111
 — Видвела 135
 — Боровичени в модификации Гомори 218
 — Бринкхауса (модификация Мачабели) 125
 — Вессари — Уигнола — Колинга 250
 — Вишнякова 330
 — Гомори 216
 — (модификация Боровичени) 218
 — Грехема — Кнолля 215
 — Каковского — Аддиса 277
 — Калантарян 348
 — Каммайна и Лайонса 133
 — Квика 128
 — Ковальского — Копека — Нивяновского 135
 — кольца 77
 — Корикова 66
 — Кост и Стенко 78
 — Кумбса 157, 158, 163, 164
 — Кэстля 110
 — Лайонса и Каммайна 133
 — Лейшмана 54
 — Лемана 129
 — Ли и Уайта 124
 — Людина и Фейссли 81
 — Лютровик и Марголиной 129
 — Магаршак 260
 — Магро и Маса 139
 — Макферлейна 134
 — Мармонта и Бианки 111
 — Метта 299
 — Михаэлиса 294
 — Новоселовой 76
 — Нохта 82
 — Оурена 130
 — Панченкова 99
 — Папаниколау 390
 — Паппенгейма — Крюкова 55
 — Педерцини 113
 — Пятницкого 301
 — Райта 56
 — Ру и Гуаффона 332
 — Рутберга 132
 — Сато 215
 Метод Сигга 130
 — Сирмана 131
 — Ситковского — Егорова 139
 — Снапера и Натана 77
 — Сухарева 140
 — Телемана 350
 — Тепфера 295
 — Трибуле 330
 — Туголукова 301
 — Уайта и Ли 124
 — Уэста 307
 — Фейссли и Людина 81
 — Филиппона 53
 — Флеминга 110
 — Флоренса 273
 — Фонио 140
 — Фрейфельд 58
 — Фуэнте Ита 134
 — Фюллеборна 348
 — Хауэлла 125
 — Цилля — Нильсена 367
 — Шамляна 108
 — Шена 110
 — Шлезингера 273
 — Шульмана 348
 — Шуренковой 402
 — Яхонтовой 49
 Миеловые образования в мокроте 366
 Миелобласт 181
 — норма в костном мозгу 181
 Миелограмма костного мозга 171
 — нормальная в различные возрастные периоды 174, 175
 Миелоз хронический, базофильно-эозинофильная ассоциация 90
 — — картина периферической крови 90
 — — — пунктата лимфатических узлов 199
 — — — пунктат костного мозга 193
 Миеломная болезнь, картина периферической крови 91
 — — костный мозг при люминесцентной микроскопии 248
 — — кровь при люминесцентной микроскопии 248
 — — Рустинского — Калера, пунктат костного мозга 196
 Миеломные клетки 178
 Миелоцит 182
 Микродрепаноцитоз 25
 Микролиты в желчи 316
 Микрометод Панченкова, определение скорости оседания эритроцитов 99
 Микроскопия люминесцентная 220
 Микросфероцит 61
 Микросфероцитоз 61
 Микрофилярии, исследования для обнаружения в крови 353
 Микроцит 60
 Михаэлиса метод определения кислотности 294
 Мозговых артерий тромбоз, коагулограмма 142
 Мокрота, альвеолярные макрофаги 364
 — — — содержащие гемосидерин 364
 — белок, определение 369
 — гемосидерин 364

- Мокрота, деление на слои 362
 — друзы актиномицетов 366
 — жирно перерожденные клетки 364
 — запах 362
 — исследование бактериологическое 367, 368
 — — окраска по Граму 368
 — — на гельминты 351
 — — клетки злокачественных опухолей 366
 — — на микобактерии туберкулеза 367
 — — — окраска по Цилю — Нильсену 367
 — — микобактерии туберкулеза метод Потенжера 368
 — — — метод люминесцентной микроскопии 368
 — — — флотации 368
 — — химическое 369
 — клетки плоского эпителия 363
 — клеточные элементы 363
 — коралловидные волокна 364
 — количество 362
 — консистенция 362
 — кристаллы гематодина 365
 — — холестерина 365
 — — Шарко — Лейдена 365
 — лейкоциты 363
 — метод обработки щелочью 365
 — миелиновые образования 366
 — микроскопическое исследование 362
 — обеззараживание 361
 — приготовление нативных препаратов 362
 — пробки Дитриха 365
 — реакция на Берлинскую лазурь 364
 — сбор материала 361
 — спирали Куршмана 365
 — физические свойства 362
 — характер 362
 — цвет 362
 — цилиндрический мерцательный эпителий 363
 — эластические волокна 364
 — — обызвествленные 365
 — элементы эхинокка 366
 — эозинофилы 363
 — эритроциты 363
 Молоко женское 404
 — — жиры, определение количественное 404
 — — — — методом Бабкова 404
 — — — — микроскопия 407
 — — — — отличие от коровьего (проба Умикова) 404
 — — — — среднее содержание веществ в норме 405
 — — — — при мастите 405
 — — удельный вес, определение 404
 Монобласт 184
 Мононуклеоз, картина крови 95
 — инфекционный, картина пунктата лимфатических узлов 206
 — — пунктат костного мозга 197
 Моноцит (ы) 184
 — морфология 73
 — норма в периферической крови 73
 Моноцитограмма 73
 — норма по Григоровой 73
 Моча 258
 — белок 262
 — — качественная проба 262
 — — — с сульфосалициловой кислотой 263
 — — — кольцевая 263
 — — — количественное определение 264
 — — — — по Брандбергу 264
 — — условия определения 262
 — запах 262
 — злокачественные клетки, признаки 285
 — исследование бактериоскопическое 286
 — — бактериологическое 286
 — — на гельминты 351
 — — — опухолевые клетки 284
 — — — — метод Эрлиха 284
 — — химическое 262
 — количество белка в норме 265
 — люминесцентная микроскопия 250
 — мутность, определение причины 259
 — осадок неорганизованный 282
 — — аммоний мочекислый кислотный 282
 — — — билирубин 283
 — — — гемосидерин 283
 — — — гематодин 283
 — — — жирные кислоты 283
 — — — кальций углекислый 282
 — — — кристаллы лекарственных 284
 — — — — пирамидона 284
 — — — — распознавание 284
 — — — — сульфаниламидов 284
 — — — лейцин 283
 — — — липонды 284
 — — — мочевиная кислота 282
 — — — оксалаты 282
 — — — ориентировочный метод микроскопирования 276
 — — — тирозин 283
 — — — трипельфосфаты 283
 — — — ураты 282
 — — — фосфаты 283
 — — — фосфорнокислая известь нейтральная 283
 — — — холестерин 283
 — — — щавелевокислая известь 282
 — — — организованный, элементы 278
 — — — — клетки почечного эпителия 280
 — — — количественная микроскопия методом Амбурже 278
 — — — — — Какковского — Аддиса 277
 — — — — количественный метод микроскопирования 277
 — — — — лейкоциты 279
 — — — — переходный эпителий 280
 — — — цилиндры 281
 — — — — восковидные 281
 — — — — гемоглобиновые 281
 — — — — гиалиновые 281
 — — — — зернистые 281
 — — — — лейкоцитарные 281
 — — — — условия образования 282
 — — — — эпителиальные 281
 — — — — эритроцитарные 281
 — — — — эпителиальные клетки 280

Моча, осадок, эпителиальные клетки плоские 280
 — — эритроциты 278
 — — — в норме 279
 — прозрачность (мутность) 259
 — разведение при определении белка по способу Брандберга 264
 — реакция 260
 — — определение ориентировочным способом 260
 — — — по способу Андреева 260
 — — — — Магаршака 260
 — — — с помощью индикаторных бумажек 260
 — сахар виноградный 269
 — — определение количественное 268
 — — — — колориметрическим методом Альтгаузена 268
 — — — — поляриметрическим методом 268
 — сбор 258
 — суточное количество 259
 — удельный вес 261
 — — — незначительного количества, определение 262
 — — — норма 261
 — — — — определение урометром 261
 — физические свойства 259
 — хранение 258
 — цвет 259
 — — после приема медикаментов 259
 — — при патологии 259
 Мочевая кислота при микроскопии мочевого осадка 282
 Мочевые камни 286
 — — проба на карбонаты 287
 — — — аммиак 287
 Мюллера жидкость для хранения мочи 258

Н

Недостаточность желчеотделения 333
 — кровообращения II Б степени, коагулограмма 142
 — — III степени, коагулограмма 142
 — поджелудочной железы 333
 — 3-го фактора пластинок, определение 127
 Нейтрализация дистиллированной воды 52
 Нейтрофилы 70
 — гиперсегментация ядер врожденная 75
 — костномозговой индекс созревания 173
 — палочкоядерные 70
 — — норма 70
 — патологическая зернистость, окраска методом Фрейфельд 58
 — — — — Шмелева 57
 — пельгеровские, номенклатура Алексеева 75
 — сегментоядерные 70
 — — норма 70
 Нематоды, размер яиц, сравнительные данные 359
 — форма яиц, сравнительные данные 359

Нестерова аппарат для пробы на резистентность капилляров 141
 Ниверовского, Ковальского и Копека метод определения фибринолитической активности крови 135
 Никола — Фавра паховый лимфогранулематоз, картина пунктата лимфатических узлов 206
 Нилендера проба на виноградный сахар мочи 267
 Номограмма для вычисления содержания гемоглобина в эритроците 36
 Нонне — Апелъта реакция определения белка в спинномозговой жидкости 379
 Нормобласт базофильный 184
 — и мегалобласт, качественные различия 185
 — оксифильный 185
 — полихроматофильный 184
 Нохта метод окраски кровяных пластинок 82
 — — — мазков крови 55
 Нуклеиновые кислоты, цитохимическое исследование 211

О

Обермейера проба на индикан мочи 275
 Объемный показатель эритроцитов 103
 Овалоцит 61
 Овалоцитоз 61
 Околоплодных вод отхождение, микроскопическая диагностика 395
 — — элементы 395
 Оксалаты при микроскопии мочевого осадка 282
 Оксдаза, цитохимическое исследование 214
 Олигурия 259
 Олигохромемия 16
 Opisthorchidae характеристика 357
 Оптическая плотность и соответствующее ей количество гемоглобина при исследовании на ФЭК-М растворов крови (таблица) 12
 Опухоль злокачественная, коагулограмма 144
 Орнитоз, картина крови 95
 Оспа ветряная, картина крови 94
 — натуральная, картина крови 94
 Остеобласт 190
 Остеокласт 190
 Острица, яйцо, размер 360
 — — форма 360
 Отсос из мочевого пузыря, получение для исследования мочи на опухолевые клетки 285
 Оурена метод определения истинного протромбина 130

П

Панди реакция определения белка в спинномозговой жидкости 378
 Панченкова аппарат 99
 — микрометод определения скорости оседания эритроцитов 99
 Папанниколу метод окраски препаратов отделяемого влагалища 390

- Паротит эпидемический, картина крови 94
 Панаглобулиния 151
 Папатачи лихорадка, картина крови 96
 Паппенгейма — Крюкова метод окраски мазков крови 55
 Певзнера диета 318
 Педерцини метод определения осмотической резистентности лейкоцитов 113
 Пельгеровская аномалия 74
 Пепсин, метод створаживания молока 300
 — определение методом Метта 299
 — — — Пятницкого 301
 — — — Туголукова 301
 Пернициозная анемия, пунктат костного мозга 195
 Пероксидаза, цитохимическое исследование 215
 — — — метод Грехема — Кюоля 215
 — — — — Сато 215
 «Песок» в желчи 316
 Петрова проба для исследования экссудата 384
 Петтенкофера проба на желчные кислоты мочи 272
 Печень, поражение паренхимы, коагулограмма 142
 Пигменты кровяные в моче 274
 Пикноз 74
 Пиурия 279
 Плазма, вязкость у взрослых 102
 Плазматические клетки 177
 Плазмобласты 177
 Плазмоциты 178
 Пландоцит 61
 Плеврит туберкулезный сухой, картина крови 98
 Пневмония казеозная, картина крови 98
 — острая, коагулограмма 143
 — хроническая, коагулограмма 143
 Поджелудочной железы недостаточность 333
 Подсчет базофилов 45
 — клеток костного мозга 171
 — кровяных пластинок 65, 80
 — лейкоцитарной формулы 68
 — ретикулоцитов 65
 — эритроцитов 29
 — — и лейкоцитов 33
 Полиомиелит эпидемический, картина крови 95
 Полнурия 259
 Полихроматофилия 62
 Полихроматофилы 244
 — определение в толстой капле 62
 Полицистемия истинная, пунктат костного мозга 193
 Половых органов выделения 389
 — — женских выделения 389
 — — — исследование на гонококки 398
 — — — мужских выделения 395
 — — — исследование на гонококки 398
 Порфирины мочи 274
 Потенжера метод исследования мокроты на микобактерии туберкулеза 368
 Почек поражения, коагулограмма 148
 Прайс-Джонса метод графической регистрации распределения эритроцитов по величине 64
 Проакцелерин 116
 Проба баночная 141
 — Бенедикта 266
 — Богомолова 273
 — Брандберга 264
 — Вебера — ван Деена 327
 — Гайнеса 267
 — Гейя 272
 — Кумбса непрямая 157
 — — прямая 158
 — Ланге 270
 — Легалья 270
 — на совместимость по резус-фактору 160
 — Ниландера 267
 — Обермейера 275
 — Петрова 384
 — Петтенкофера 272
 — Ривальта 385
 — Розина 271
 — Умикова 404
 — Фуше 271
 — Шмидта 328
 — Эфендиева 384
 — Яффе 275
 Пробки Дитриха в мокроте 365
 Проказа, картина пунктата лимфатических узлов 205
 Проконвертин 116
 Пролимфоцит 183
 Промегалобласт 186
 Промегакариоцит 188
 Промиелоцит 181
 Промоноцит 184
 Промывные воды бронхов 361
 Пронормбласт 184
 Проплазмоциты 176
 Простаты сок 396
 — — амиллоидные конкременты 396
 — — взятие материала 396
 — — гигантские клетки 396
 — — исследование микроскопическое 396
 — — клетки злокачественных опухолей 397
 — — кристаллы Бехтерева 397
 — — лецитиновые зерна 397
 — — макрофаги 396
 — — общие свойства 396
 — — приготовление препарата 396
 — — ретенционный синдром 397
 — — тельца Труссо — Лалемана 397
 — — эритроциты 396
 — — эпителиальные клетки 396
 Простейшие желчи 317
 — кишечника 336
 — — исследование, методы 336
 — — — фиксированных окрашенных препаратов 337
 — — — накопления (концентрации) цист 339
 — — — нативного мазка 337
 — — окраска железным гематоксилином по Гейденгайну 337
 — — препарат нативный, приготовление 337
 — — — окраска 338

Простейшие кишечника, препарат, приготовление 338
 — — — с раствором Люголя, приготовление 337
 — класс Sporozoa 344
 — Rhizonoda 339
 — Flagellata 342
 — Ciliata 343
 — морфология 339
 Протениурия внепочечная 265
 — почечная органическая 265
 — функциональная 265
 Протеозы мочи 265
 Протромбин 114
 — истинный, определение по Оурену 130
 — нарушение потребления, определение 125
 — определение потребления по Бринкхаусу в модификации Мачабели 125
 Протромбиновая активность остаточная 125
 Протромбиновое время крови 129
 Протромбиновый комплекс, определение активности методом Лемана 129
 — — — факторов (модифицированный метод Квика) 128
 — — — — — Марголиной и Лютровик 129
 Проуэра — Стюарта фактор свертывающей системы крови 117
 Псевдогемофилия, коагулограмма 147
 Псевдо-LE-клетки 77
 Пунктат грудины, процентное содержание форменных элементов в норме 172
 Пункция грудины по методу Аринкина 157
 — — у детей 157
 — подвздошной кости 157
 Пурпура фибринолитическая, коагулограмма 147
 Пятицкого метод определения пепсина 301
 рН воды, определение 51

Р

Райта метод окраски мазков крови 56
 Рак, метастазы в регионарные лимфатические узлы, картина пунктата 201
 Раения, картина крови 97
 Рвотные массы, исследование 310
 Реактив Ларионовой, приготовление 263
 Реакция Вейхрбодта 379
 — Нонне — Апельга 379
 — осадочная 276
 — Панди 99
 Ревматизм активный, коагулограмма 142
 — картина крови 97
 Резистентность капилляров, определение 140
 — лейкоцитов осмотическая, определение методом Педерцини, модифицированным Кучером 113

Резистентность эритроцитов кислотная, определение методом Гама 112
 — — — механическая 110
 — — — — — определение методом Мармонта и Бианки 111
 — — — — — Шена, Кэстла, Флеминга 110
 — — — осмотическая, определение 106
 — — — — — макроскопическим методом 107
 — — — — — методом Шамлян 108
 — — — — — микроскопическим методом 109
 — — — — — у больных желтухой 110
 — — — тепловая, определение 112
 Резус-принадлежность, определение 152
 — — метод конглотинации в сывороточной среде 154
 — — — — — с применением желатинины 152
 — — — ошибки 154
 Резус-фактор, проба на совместимость 160
 Ретикулин, цитохимическое исследование 218
 — — — метод Гомори (модификация Боровичени) 218
 Ретикулоз, картина периферической крови 89
 — — опухолевая форма, картина пунктата костного мозга 191
 — — пунктат костного мозга 89
 — — реактивный, картина пунктата костного мозга 192
 Ретикулоз — лейкоз хронический, картина пунктата костного мозга 191
 — — острый, картина пунктата костного мозга 191
 — — подострый, картина пунктата костного мозга 191
 Ретикулосаркома, картина пунктата лимфатических узлов 201
 — — периферической крови 91
 Ретикулоцит 64
 — группы зрелости 66
 — и кровяные пластинки, метод одновременного взятия, окраски и подсчета по Н. Г. Алексееву 65
 — — норма 66
 — — окраска по П. Н. Корикову 66
 — — оксифильный 244
 — — подсчет 66
 — — в витально флюорохромированных АО препаратах 244
 — — — суправитально флюорохромированных препаратах 245
 — — — счетной камере 67
 — — метод окраски бриллианткрезилблау 64
 Ретикулярные клетки атипичные 177
 — — встречающиеся при инфекционном мононуклеозе 177
 — — — костного мозга 176
 — — — — — лимфоидные большие 176
 — — — — — малые 176
 Ретрактоэзизм 118
 — — Гландмана 118
 Ретракция кровяного сгустка 118
 — — — индекс 135

Ретракция кровяного сгустка, определение микрометодом 135
 — — — — по методу Макферлейна 134
 Рибонуклеиновая кислота, содержание в клетках крови и костного мозга здоровых людей (таблица) 242
 — — — — цитохимическое исследование 212
 Ривальта проба для отличия трансудатов от экссудатов 385
 Риванол, диапазон люминесценции 222
 — — — — максимум люминесценции 222
 — — — — световой абсорбции 222
 — — — — цвет 222
 Родамин В, диапазон люминесценции 222
 — — — — максимум люминесценции 222
 — — — — световой абсорбции 222
 — — — — цвет 222
 Рोजа, картина крови 96
 Розенталя фактор свертывающей системы крови 117
 Розина качественная проба на билирубин мочи 271
 — окраска препаратов спинномозговой жидкости 374
 Романовского метод окраски мазков крови 53
 — — — — препаратов соскоба слизистой полости рта на выявление полового хроматина 402
 Ргуть, интоксикация, картина крови 99
 Ру и Гуаффона метод определения амниака в кале 332
 — — — — органических кислот в кале 331
 Румпель-Ледеде симптом жгута 140
 Рустичко — Калера миедомная болезнь, пунктат костного мозга 196
 Рутберга определение фибриногена в плазме 132

С

Сали гемометр, определение гемоглобина 6
 Сальмонеллез, картина крови 93
 Саркоид Бека, картина пунктата лимфатических узлов 202
 Сато метод цитохимического исследования пероксидазы 215
 Сахар виноградный мочи 266
 — — — — проба Бенедикта 266
 — — — — Гайнеса 267
 — — — — Нилендера 267
 — — — — определение методом индикаторных бумажек 267
 — — — — молочный мочи 269
 — — — — качественная реакция 269
 Свертывание крови, взятие крови для исследования 124
 — — — — графическая регистрация динамики 136
 — — — — методы исследования 121
 — — — — нарушения второй фазы, методы исследования 128
 — — — — первой фазы, методы исследования 125

Свертывание крови, определение ретракции кровяного сгустка микрометодом 135
 — — — — — по методу Макферлейна 134
 — — — — — скорость, определение методом Мас и Магро 139
 — — — — — Ситковского — Егорова 139
 — — — — — Сухареву 140
 — — — — — Фонно 140
 — — — — — степени 134
 — — — — — третья фаза (образование фибрина), методы исследования нарушений 132
 — — — — — фактор V, определение по методу Льюиса и Вейра 131
 — — — — — факторы 114
 — — — — — плазменные 114
 — — — — — тормозящие 120
 — — — — — тромбоцитарные 117
 Свертывающая система крови 114
 Свинец, интоксикация, картина крови 98
 Сегментация ядра клеток крови 74
 Семенная жидкость 397
 Сепсис волчаночный подострый, картина пунктата лимфатических узлов 205
 Серотонин 117
 Серповидноклеточная анемия, картина крови 25
 Сигга метод определения толерантности крови к гепарину 130
 Сидеробласты 63
 — — — — цитохимическое исследование 219
 Сидероциты 63
 — — — — цитохимическое исследование 219
 Симптом жгута 140
 — — — — инъекционный 140
 — — — — крошковатости мазка крови 48
 — — — — молоточковый 140
 — — — — пальпации 141
 — — — — укола 140
 — — — — щипка 140
 Синдром Ди Гульельмо 90
 — — — — картина пунктата костного мозга 192
 Сирмаи метод определения свободного гепарина крови 131
 — — — — тромбинового времени 130
 Системная красная волчанка, картина пунктата лимфатических узлов 205
 Ситковского — Егорова метод определения времени свертывания крови 139
 Сифилис, картина крови 98
 Скарлатина, картина крови 95
 Скорость оседания эритроцитов 100
 — — — — норма 100
 — — — — определение 99
 Смыв из бронхов, исследование 367
 — — — — микроскопическое 363
 — — — — мочевого пузыря, получение для исследования мочи на опухолевые клетки 285
 Сосальщички 357
 Спинномозговая жидкость, бактериоскопическое исследование 377
 — — — — биохимическое исследование 382

- Спинальная жидкость, дифференциация в счетной камере 374
- — — клеточных элементов 374
 - — — окрашенных препаратов 374
 - — — зернистые шары (липофаги) 376
 - — — измененные клетки 376
 - — — клетки опухолевые 376
 - — — эпителиальные 376
 - — — клеточные элементы 375
 - — — кристаллы 376
 - — — лимфоциты 375
 - — — макрофаги 375
 - — — микроскопическое исследование 372
 - — — нейтрофилы 376
 - — — окраска зеленоватая 371
 - — — красная (эритрохромия) 371
 - — — определение белка реакцией Вейхрброта 379
 - — — — Ланге с коллоидным золотом 379
 - — — — Левинсона 381
 - — — — Нонне — Апельта 379
 - — — — Панди 378
 - — — — Таката — Ара 380
 - — — — триптофановой реакцией 381
 - — — собственно белка с примесью крови 377
 - — — окраска по Возной 375
 - — — Розинной 374
 - — — плазматические клетки 375
 - — — полибласты 375
 - — — получение материала 370
 - — — прозрачность 371
 - — — серологическое исследование 382
 - — — тени клеток 376
 - — — удельный вес 370
 - — — фибринозная пленка 371
 - — — физические свойства 370
 - — — химическое исследование 377
 - — — цвет 370
 - — — желтый (ксантохромия) 371
 - — — цитоз, определение 372
 - — — уточнение при примеси крови 373
 - — — элементы эхинококка 376
 - — — эозинофилы 376
 - Сперматозоиды 397
 - Спираль Куршмана 365
 - Спленэктомия, коагулограмма 143
 - Способ Адлера 329
 - Андреева 260
 - Бергаланфи 224
 - Тодорова 113
 - Стеаторея 323
 - Стенко и Кост метод исследования фагоцитоза 78
 - Стенокардия, коагулограмма при тяжелых приступах 142
 - Стеркобилин, определение качественного 328
 - — — проба Шмидта 328
 - — — реакция с сулемой 328
 - — — — уксуснокислым цинком 328
 - — — спектроскопическое 328
 - — — количественное 329
 - — — способ Адлера 329
 - Стеркобилин, содержание в зависимости от разведения фильтрата 329
 - Столбняк, картина крови 96
 - Структурные изменения в клетках крови 74
 - Судан III, окраска липидов при цитохимическом исследовании 210
 - — — черный, окраска липидов при цитохимическом исследовании 211
 - Сульфгидрильная группа, цитохимическое исследование 217
 - Сухаревой метод определения времени свертываемости крови 140
 - Сыворотка антиглобулиновая 157
 - — — потребление, прямой метод 164
- Т**
- Таката — Ара реакция определения белка в спинномозговой жидкости 380
 - Талассемия большая, картина крови 24
 - — — малая, картина крови 24
 - Тарта клетки 77
 - Телемана метод исследования испражнений на гельминты 350
 - Тельца Гейнца — Эрлиха 62
 - — — определение по методу Дейчи 62
 - — — Жолли 62
 - Тени Воткина — Гумпрехта 90
 - Тепффера метод определения кислотности 295
 - Тест генерации тромбопластина, модифицированный метод Бигса и Дугласа 126
 - Тирозин при микроскопии мочевого осадка 283
 - Титрование сыворотки, содержащей реуэ-антитела 159
 - — — групповые антитела 160
 - Тиф брюшной, картина крови 93
 - — — возвратный, картина крови 95
 - — — сыпной, картина крови 95
 - Тифо-паратифозные заболевания, картина крови 93
 - Тодорова способ получения дефинированной крови 113
 - Токсикоинфекция пищевая, картина крови 93
 - Токсоплазма 344
 - Thomynx aerophilus, яйцо, размер 359
 - — — форма 359
 - Торна проба 44
 - Транссудат 383
 - — — бактериоскопическое исследование 388
 - — — белок, определение 385
 - — — клетки мезотелия 386, 388
 - — — опухоли 388
 - — — лейкоциты 386
 - — — микроскопическое исследование 386
 - — — нативные препараты, исследование фазово-контрастное 387
 - — — окрашенные препараты, приготовление 387
 - — — опухолевые клетки 386
 - — — отличие от экссудата, проба Ривальта 385
 - — — прозрачность 384

- Транссудат, удельный вес 384
 — физические свойства 383
 — химическое исследование 385
 — цвет 384
 — эритроциты 386
 Труссо — Лалемана тельца в соке простаты 397
 Трематоды, яйца в случаях завозных из тропических и субтропических стран трематодозов 360
 Трепанобиопсия подвздошной кости 169
 Трипифлавин, диапазон люминесценции 222
 — максимум люминесценции 222
 — — световой абсорбции 222
 — цвет 222
 Трипельфосфаты при микроскопии мочевого осадка 283
 Трипсин желчи, норма 315
 — — определение 315
 Трихинеллез, исследование тканей 352
 Трихомонады, выявление по Державе 251
Trichomonas elangata 343
 — *hominis* 343
 — *vaginalis* 343
 Трихостронгилус, яйцо, размер 360
 — — форма 360
 Тромбастения геморрагическая врожденная типа Гланцмана, коагулограмма 147
 Тромбин 115
 — образование 128
 Тромбиновое время, определение по Сирман 130
 Тромбоагглютинины, метод выявления 162
 Тромбокиназа 115
 — плазменная 115
 — тканевая 115
 Тромбопатия конституциональная типа Вилленбрандта — Юргенса, коагулограмма 147
 Тромбопластин 115
 — крови активный, образование 125
 — тест генерации, модифицированный метод Биггса и Дугласа 126
 Тромботест по методу Фуэнте Ита 134
 Тромботропин 116
 Тромбоцитарная формула 83
 — — норма по Пиксанову 85
 — — — — Соловьевой 83
 Тромбоцит 80
 Тромбоцитемия геморрагическая, коагулограмма 147
 Тромбоцитогарма возрастная (таблица) 85
 Тромбоцитная взвесь, приготовление 62
 Тромбоцитопеническая пурпура, коагулограмма 146
 Тромбоэластограф, принцип действия 137
 Тромбоэластография 136
 — взятие крови для исследования 137
 Трибуле метод определения белка в кале 330
 Туберкулез, выявление возбудителя методом люминесцентной микроскопии 251
 — картина крови 97
 — лимфатических узлов миллиарный, картина пунктата 203
 — фиброзно-кавернозный, картина крови 98
 — крупноклеточная гиперплазия лимфатических узлов, картина пунктата 204
 Туберкулезные микобактерии, схема окраски люминесцирующими красителями 252
 Туголукова метод определения пепсина 301
 — — — уропепсина 308
 Туляремия, картина крови 96
 — — пунктата лимфатических узлов 205
 Тучные клетки 180
 Тюрка клетки 178
- У**
- Уайта и Ли метод определения времени свертывания крови 124
 Уингола, Коллинга и Вессара метод флюорохромирования фиксированных препаратов крови 250
 Уколоточная пробка Дуке 139
 Умникова проба для отличия женского молока от коровьего 404
 Унна клетки 178
 Уранин, диапазон люминесценции 222
 — максимум люминесценции 222
 — максимум световой абсорбции 222
 — цвет 222
 Ураты при микроскопии мочевого осадка 282
 Уробилин в желчи, определение 314
 — мочи 272
 — — качественная реакция Богомолова 273
 — — — — Флоренса 273
 — — — — Шлезингера 273
 — — определение с помощью спектроскопа 272
 — — — Флюорометром 273
 Урометр 261
 Уропепсин, определение методом Уэста 307
 — — — Туголукова 308
 Уэста метод определения уропепсина 307
- Ф**
- Фагоцитарной активности показатель 79
 Фагоцитарный индекс 79
 Фагоцитоз, исследование 78
 — — по методу Кост и Стенко 78
 Фазовоконтрастная микроскопия 254
 — — в гематологии 255
 — — диагностика отхождения околоплодных вод 257
 — — исследование костного мозга 255
 — — — крови 255

- Фазово-контрастная микроскопия, исследование кровяных пластинок 255
- при бактериологических исследованиях 257
 - цитологических исследованиях 256
 - приготовление препаратов 255
- Фактор I 114
- дефицит, коагулограмма 144
 - II 114
 - III 115
 - IV 116
 - V 116
 - V (VI), дефицит, коагулограмма 145
 - VI 116
 - VII 116
 - дефицит, коагулограмма 145
 - VIII 116
 - дефицит, коагулограмма 145
 - IX 116
 - дефицит, коагулограмма 146
 - X 117
 - дефицит, коагулограмма 146
 - XI 117
 - дефицит, коагулограмма 146
 - XII 117
 - дефицит, коагулограмма 146
 - XIII 117
 - Коллера 117
 - Кристмаса 116
 - Проуэра — Стюарта 117
 - Розенталя 117
 - тормозящий тромбокиназу 118
 - Хагемана 117
 - тормозящие свертывание крови 120
- Fasciolidae 357
- Фейсли и Людина метод подсчета количества кровяных пластинок 81
- Феномен зоны 158
- клеток красной волчанки, исследование 249
- Ферменты желчи 315
- цитохимическое исследование 214
- Феррата клетки 177
- костного мозга 176
- Фибрин 114
- Фибриназа 114
- активность, определение 133
 - коагулограмма при дефиците 144
- Фибриноген 114
- В, определение по методу Каммайна и Лайонса 133
 - концентрация 136
 - образование 114
 - определение концентрации суховоздушным методом 132
 - плазмы, определение по методу Рутберга 132
 - состав 114
- Фибриногеназа 114
- Фибринолиз 120
- механизм 120
 - факторы 120
- Фибринолитическая активность крови, норма 136
- — — определение методом Ковальского, Конска и Ниверовского 135
 - — — Бидвелла 135
- Фибринолитическая пурпура, коагулограмма 147
- Фибриностабилизирующий фактор 117
- Филатова болезнь, картина пунктата лимфатических узлов 206
- Филатова — Пфейффера болезнь, пунктат костного мозга 197
- Филипсона метод модифицированный окрашивания мазков крови краской Романовского 53
- Флеминга метод определения механической резистентности эритроцитов 110
- Флоренса качественная проба на уробилин в моче 273
- подсчет 244
- Флюорохромирование 222
- витальный метод 222
 - липидов в клетках крови по методу Берга 225
 - препаратов по методу Берта-ланффи 224
 - суправитальный метод 224
- Флюорохромированные препараты фиксированные 224
- Флюорохромы 221
- максимум световой абсорбции и диапазон люминесценции (таблица) 222
- Флюорометр, определение уробилина в моче 273
- Фонио метод определения времени свертывания крови 140
- подсчета количества кровяных пластинок 80
- Фосфатаза щелочная, цитохимическое исследование 216
- — — метод Гомори 216
- Фосфаты при микроскопии мочевого осадка 283
- Фосфорнокислая известь нейтральная при микроскопии мочевого осадка 283
- Фотоэлектроколориметр ФЭК-М для определения гемоглобина крови 11
- Фрагментоз 74
- Фрейфельд окраска базофильной пунктации эритроцитов 59
- патологической зернистости нейтрофилов 58
- Фруктоза мочи 269
- Фука — Розенталя камера 372
- Фуше качественная проба на билирубин мочи 271
- Фуэте Ита метод определения тромботеста 134
- Фюллеборна метод исследования испражнений на гельминты 348

X

- Хагемана фактор свертывающей системы крови 117
- Хауэлла метод определения времени рекальцификации плазмы 125
- Хедиака — Штейнбринка аномалия 75
- Хирургические вмешательства, коагулограмма 143
- воспалительные заболевания, изменения со стороны периферической крови 96

Хлорлейкоз, картина пунктата костного мозга 192
Хлорома, картина пунктата костного мозга 192
Хлороформная вода для хранения мочи 258
Холестерин в желчи, норма 315
— кристаллы в желчи 316
— при микроскопии мочевого осадка 283
Холецистит острый, коагулограмма 142
Хроматин половой 400
— в эпителии слизистой оболочки рта 400
— — — — — взятие материала 400
— — — — — нативные препараты 401
— — — — — постоянные препараты 401
— в лейкоцитах 402
Хроматинолиз 74

Ц

Цветная осадочная реакция 276
Цветной показатель, возрастные особенности 104
— — — — — норма 35
— — — — — определение 35
Цианметгемоглобиновый фотометрический метод определения гемоглобина 14
Целлоскоп фирмы «AB Ljungberg», подсчет лейкоцитов 40
— — — — — эритроцитов 32
Цепень бычий (невооруженный), характеристика 355
— карликовый, характеристика 355
— крысиный, характеристика 355
— свиной (вооруженный), характеристика 355
— тыквовидный, характеристика 355
Цилиндрурия 282
Цилиндры мочевого осадка 281
— — — — — восковидные 281
— — — — — гемоглобиновые 281
— — — — — гиазиновые 281
— — — — — зернистые 281
— — — — — лейкоцитарные 281
— — — — — условия образования 282
— — — — — эпителиальные 281
— — — — — эритроцитарные 281
Циля — Нильсена метод окраски препаратов на микобактерии туберкулеза 367
Цирроз печени, коагулограмма 142
Цистин при микроскопии мочевого осадка 283
Цистицеркоз, исследование тканей 352
Цитоллиз — распад клетки 74
Цитохимические методы исследования 207
Цитохимический показатель средний 207

Ч

Черви ленточные 355
Чума, бубонная форма, картина крови 96
— легочная форма, картина крови 96
— септическая форма, картина крови 96

Ш

Шамляна метод определения осмотической резистентности эритроцитов 108
— прибор 108
Шарко — Лейдена кристаллы 324, 365
Шена метод определения механической резистентности эритроцитов 110
Шизоцит 61
Chylomastix mesnii 343
Шистозома кровяная 360
— Мансона 360
— японская 360
Шлезингера проба качественная на уробилин в моче 273
Шмелева окраска патологической зернистости нейтрофилов 57
Шмидта диета 318
— реакция с сулемой на стеркобилин 328
Штернгеймера — Мельбина клетки 279
— — обнаружение в мочевом осадке 279
Шульмана метод исследования испражнений на гельминты 348
Шуренковой метод скоростной окраски щелочным азуром препаратов соскоба слизистой полости рта на выявление полового хроматина 402
Шюфферовская зернистость эритроцитов 63

Щ

Щавелевокислая известь при микроскопии мочевого осадка 282

Э

Эксудат 383
— бактериоскопическое исследование 388
— белок, определение 385
— геморрагический 383
— гнилостный 383
— гнойный 383
— жировые капли 387
— клетки мезотелия 386, 388
— — опухолевые 386, 388
— — плазматические 388
— кристаллы холестерина 387
— лейкоциты 386
— — нейтрофильные 387
— лимфоциты 387
— макрофаги 388
— массы детрита 387
— микроскопическое исследование 386

- Экссудат, нативные препараты, исследование 366
 — — — фазовоконтрастное 387
 — окрашенные препараты, приготовление 387
 — отличие от транссудата, проба Ривальта 385
 — полибласты 388
 — проба Петрова 384
 — — Эфендиева 384
 — прозрачность 384
 — псевдохилезный 384
 — серозный 383
 — серозно-гноенный 383
 — слизь 387
 — удельный вес 385
 — физические свойства 383
 — характер 383
 — хилезный 384
 — хилусоподобный 384
 — холестеринный 384
 — химическое исследование 385
 — цвет 384
 — эозинофилы 387
 Эластические волокна в мокроте 364
 Электрофореграмма 18
 Электрофорез для определения аномальных форм гемоглобина 17
 Эллиптоцит 61
 Эндартерит облитерирующий, коагулограмма 142
 Энтеробиоз, соскоб из подногтевых пространств 354
 — — ректальный 354
 — — с перинальных складок ватным тампоном 354
 — — — — — деревянным шпателем 353
 — специальные методы исследования 353
 Энтеролиты, формы 335
 Эозин, диапазон люминесценции 222
 — максимум люминесценции 222
 — световой абсорбции 222
 — цвет 222
 Эозинофилия 71
 Эозинофилы 71
 — возрастные изменения (таблица) 44
 — — — детей 44
 — гиперсегментация ядер врожденная 75
 — норма в периферической крови 71, 44
 Эозинофилы, подсчет в камере 42
 — проба Торна 44
 Эпидемический гепатит, картина крови 94
 — паротит, картина крови 94
 Эпителиальные клетки в желчи 316
 — мочевого осадка 280
 Эритремия, картина периферической крови 90
 — коагулограмма 144
 — пунктат костного мозга 193
 Эритробласт (ы) 184
 — базофильный 184
 — индекс созревания 173
 — патологические формы 185
 Эритрогемметр фотоэлектрический для определения гемоглобина 10
 — — подсчет эритроцитов 31
 Эритромиелоз острый, картина периферической крови 90
 — — — пунктата костного мозга 192
 Эритроцит (ы), базофильная пунктация (зернистость) 63
 — — — окраска 59
 — величина, норма 60
 — — изменения 60
 — в желчи 315
 — включения 62
 — возрастные изменения количества (таблица) 33
 — диаметр, определение 63
 — заполнение камеры Горьева 29
 — индекс оседания 100
 — люминесцентная микроскопия 243
 — меланжерный метод взятия крови 26
 — морфология 60
 — мочевого осадка 278
 — — — измененные 278
 — — — неизмененные 278
 — — — сморщенные 278
 — норма для женщин 333
 — — — мужчин 33
 — объем общий, определение 103
 — — средний, возрастные особенности 104
 — — — определение 103
 — — — объемный показатель 103
 — определение среднего содержания гемоглобина 34
 — подсчет в счетной камере 29
 — — — — — источники ошибок 31
 — — с помощью целлюскопа фирмы «AB Ljungberg» 32
 — — фотоэлектрическим эритрогемметром 31
 — пробирочный метод взятия крови 27
 — — модифицированный метод взятия крови 28
 — показатель насыщения 36
 — — сферичности 106
 — — — возрастные особенности 104
 — — — норма 106
 — — — определение 106
 — проба на серповидность 22
 — — — метабисульфитная 22
 — — — — с метиленовым синим 22
 — — — — — янустроном 22
 — резистентность, определение 106
 — — кислотная, определение методом Гама 112
 — — механическая определение методом Мармонга и Бианки 111
 — — — — — Шена, Кэстла, Флеминга 110
 — — осмотическая, определение 106
 — — — — — микроскопическим методом 107
 — — — — — методом Шамляна 108
 — — — — — микроскопическим методом 109
 — — — — — у больных желтухой 110
 — — тепловая, определение 112
 — серповидные 61

Эритроцит(ы) серповидные, определение 22
— скорость оседания, норма 100
— — — определение микрометодом Панченкова 99
— толщина в зависимости от возраста 104
— — средняя, определение 106
— форма, изменения 61
— шюфферовская зернистость 63
Эритроцитоз 17
Эритроцитометрическая кривая, составление 64
Эрлиха метод исследования мочи на опухолевые клетки 284
Эухризин, диапазон люминесценции 222
— максимум люминесценции 222

Эухризин максимум световой абсорбции 222
— цвет 222
Эфендиева проба для исследования экссудата 384
Эхинококк, характеристика 355
— элементы в мокроте 366
Эхинококковый пузырь, исследование жидкости 352

Я

Язва острая вульвы Чапина — Липшютца, возбудитель 394
Яффе проба на индикан мочи 275
Яхонтовой метод фиксации мазков крови 49
Ящур, картина крови 96

СОДЕРЖАНИЕ

Предисловие	3
Кровь. Кандидат медицинских наук <i>М. И. Стенко</i>	5
Взятие периферической крови для общего клинического анализа	5
Гемоглобин	6
Методы определения	6
Нормы гемоглобина	15
Определение аномальных форм гемоглобина. Кандидат медицинских наук <i>А. С. Циркина</i>	17
Эритроциты. Кандидат медицинских наук <i>М. И. Стенко</i>	26
Взятие крови	26
Подсчет эритроцитов	29
Определение среднего содержания гемоглобина в одном эритроците	34
Цветной показатель	35
Определение	35
Лейкоциты	38
Взятие крови	38
Подсчет лейкоцитов	39
Получение лейкоконцентрата	45
Приготовление, фиксация и окраска мазков	47
Морфология эритроцитов	60
Ретикулоциты	64
Лейкоцитарная формула	68
Морфология лейкоцитов	70
Основные структурные изменения в клетках	74
Клетки красной волчанки (LE-феномен)	76
Исследование фагоцитоза	78
Кровяные пластинки (тромбоциты). Кандидат медицинских наук <i>М. И. Корневская</i>	80
Подсчет количества кровяных пластинок	80
Морфология кровяных пластинок в световом микроскопе	82
Морфология кровяных пластинок в электронном микроскопе	85
Картина периферической крови при некоторых заболеваниях. Доктор медицинских наук проф. <i>Е. А. Кост</i>	89
Заболевание кроветворного аппарата	89
Инфекции	93
Хирургические воспалительные заболевания	96

Ревматизм	97
Туберкулез	97
Сифилис	98
Гельминтозы	98
Интоксикации	98
Физико-химические исследования крови. Кандидат медицинских наук М. И. Стенко	99
Определение скорости оседания эритроцитов	99
Определение вязкости крови	101
Определение общего объема эритроцитов в цельной крови (гематокрит)	103
Определение среднего объема эритроцитов	103
Определение средней толщины эритроцитов	106
Определение резистентности эритроцитов	106
Получение дефибринированной крови	112
Определение осмотической резистентности лейкоцитов	113
Исследование гемостаза и свертывания крови. Кандидат медицинских наук В. Т. Морозова	114
Плазменные факторы	114
Тромбоцитарные факторы	117
Механизм свертывания крови	118
Факторы, тормозящие свертывание крови	120
Фибринолиз	120
Методы исследования системы свертывания крови.	121
Методы исследования свертывания цельной крови	124
Методы исследования нарушения I фазы процесса свертывания крови	125
Методы исследования нарушения II фазы свертывания крови	128
Методы исследования нарушения III фазы свертывания крови	132
Определение фибринолитической активности крови	135
Тромбоэластография	136
Скорость свертывания крови	139
Интерпретация коагулограмм при различных заболеваниях	141
Имунологические методы исследования	149
Определение групповой принадлежности	149
Определение резус-принадлежности	152
Определение антиэритроцитарных антител	154
Определение антилейкоцитарных антител	160
Определение антитромбоцитарных антител. Кандидат медицинских наук М. И. Корневская	162
Костный мозг. Кандидат медицинских наук М. И. Стенко	167
Получение костного мозга методом пункции	167
Трепанобиопсия подвздошной кости	169
Определение количества клеток	170
Миелограмма	171
Морфология клеток костного мозга	176
Ретикулярные клетки	176
Гемоцитобласты	180
Гранулоциты	181
Лимфоциты	183
Моноциты	184
Эритробласты	184

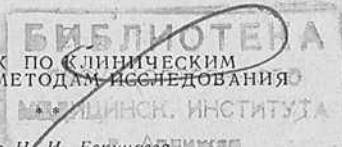
Мегакариоциты. Кандидат медицинских наук <i>Р. П. Золотницкая</i>	187
Мегакариоцитарная формула	188
Оценка функционального состояния мегакариоцитов	190
Остеобласты и остеокласты. Кандидат медицинских наук <i>М. И. Стенко</i>	190
Картина пунктата костного мозга при некоторых заболеваниях	191
Лимфатические узлы	198
Получение пунктата	198
Картина пунктата лимфатических узлов при некоторых заболеваниях	199
Цитохимические методы исследования. Кандидат медицинских наук <i>Р. П. Золотницкая</i>	207
Гликоген	207
Липиды	210
Нуклеиновые кислоты	211
Ферменты	214
Сульфгидрильные группы	217
Ретикулин	218
Сидероциты и сидеробласты	219
Люминесцентная микроскопия. Кандидат медицинских наук <i>Г. П. Молотилова</i>	220
Методы флюорохромирования	222
Люминесцентная микроскопия в гематологии	226
Клетки крови и костного мозга здоровых лиц	226
Подсчет количества форменных элементов крови и костного мозга	229
Определение осмотической стойкости лейкоцитов	246
Исследование длительности хранения лейкоцитов в лейкоцитарной массе	246
Картина крови и костного мозга при некоторых заболеваниях кроветворного аппарата	247
Люминесцентная микроскопия в иммунологических исследованиях	249
Люминесцентная микроскопия в диагностике некоторых заболеваний	249
Дифференциальная диагностика механической и инфекционной желтух (по Ю. Н. Зубжицкому)	249
Исследование феномена клеток красной волчанки (L.E-клеток)	249
Люминесцентная микроскопия мочи	250
Люминесценция мочи при злокачественных опухолях (по С. И. Василеву, Г. М. Акману, А. К. Габаторовичу, 1960)	251
Выявление трихомонад	251
Выявление возбудителя туберкулеза	251
Люминесцентная микроскопия в цитологической диагностике злокачественных опухолей	253
Фазовоконтрастная микроскопия. Кандидат медицинских наук <i>Р. П. Золотницкая</i>	254

Фазовоконтрастная микроскопия в гематологии	255
Исследование крови и костного мозга	255
Фазовоконтрастная микроскопия при цитологических исследованиях	256
Фазовоконтрастная микроскопия при других лабораторных исследованиях	256
Моча. Н. И. Бокуняева	258
Физические свойства	259
Химическое исследование	262
Белок	262
Альбумозы (протеозы)	265
Белковое тело Бенс-Джонса	266
Виноградный сахар (глюкоза)	266
Молочный сахар (лактоза)	269
Фруктоза (левулеза)	269
Кетоновые (ацетоновые) тела	270
Билирубин	271
Желчные кислоты	272
Уробилин	272
Кровь и кровяные пигменты	274
Индикан	275
Цветная осадочная реакция Кимбаровского (ЦОРК)	276
Микроскопическое исследование осадка мочи	276
Элементы мочевого осадка	278
Исследование мочи на опухолевые клетки	284
Бактериоскопическое и бактериологическое исследование мочи	286
Мочевые камни	286
Диастаза	287
Желудочное содержимое. Н. И. Бокуняева и кандидат медицинских наук Р. П. Золотницкая	289
Методы желудочного зондирования	289
Одномоментный способ	289
Многомоментный способ (фракционный)	290
Исследование желудочного содержимого	291
Физические свойства	292
Химическое исследование	293
Количественное определение кислотности	294
Определение пепсина	299
Микроскопическое исследование	303
Пищевые остатки	303
Микроорганизмы	304
Элементы слизистой оболочки желудка	304
Исследование на элементы злокачественного новообразования	305
Беззондовые методы определения желудочной секреции	306
Рвотные массы	310
Содержимое двенадцатиперстной кишки. Н. И. Бокуняева и кандидат медицинских наук Р. П. Золотницкая	311
Извлечение дуоденального содержимого	311
Физические свойства желчи	313
Химическое исследование	314

Микроскопическое исследование	315
Клеточные элементы	315
Кристаллические образования	316
Бактериоскопическое и бактериологическое исследование	317
<i>Кал. Н. И. Бокуняева</i>	<i>318</i>
Физические свойства	319
Микроскопическое исследование	321
Остатки пищи	321
Элементы слизистой оболочки кишечника	323
Кристаллические образования	324
Бактериоскопическое и бактериологическое исследование	325
Химическое исследование	326
Кровь	326
Стеркобилин	328
Билирубин	330
Белок	330
Органические кислоты	331
Аммиак	332
Ферменты	333
Копрологические синдромы	333
Некоторые особенности кала детей грудного возраста	334
Каловые камни	335
Простейшие кишечника. Н. И. Бокуняева	336
Методы исследования	336
Морфология простейших	339
<i>Гельминты. М. Н. Шалфеева</i>	<i>345</i>
Методы исследования испражнений	345
Макрогельминтоскопические методы	345
Микрогельминтоскопические методы	347
Методы исследования некоторых других материалов	351
Исследование жидкости эхинококкового пузыря (кисты)	352
Исследование тканей	352
Исследование крови для обнаружения микрофилярий	353
Специальные методы исследования на энтеробиоз	353
<i>Мокрота. Н. И. Бокуняева</i>	<i>361</i>
Физические свойства	362
Микроскопическое исследование	362
Исследование на клетки злокачественных опухолей	366
Бактериологическое исследование	367
Исследование на туберкулезные микобактерии	367
Исследование на другие бактерии	368
Химическое исследование	369
Спинномозговая жидкость. Н. И. Бокуняева и кандидат меди-	
цинских наук Р. П. Золотницкая	370
Физические свойства	370
Микроскопическое исследование	372

Дифференциация клеточных элементов	374
Бактериоскопическое исследование	377
Химическое исследование	377
Экссудаты и трансудаты. Кандидат медицинских наук	
<i>Р. П. Золотницкая</i>	383
Физические свойства	383
Химическое исследование	385
Микроскопическое исследование	386
Бактериоскопическое исследование	388
Выделения половых органов. Н. И. Бокунлева	389
Выделения женских половых органов	389
Отделяемое влагалища	389
Исследование с целью определения функционального состо- яния яичников	389
Исследование влагалищного содержимого на степень чистоты	393
Исследование на трихомонады	394
Микроскопическая диагностика отхождений околоплодных вод	395
Выделения мужских половых органов	395
Исследование на гонококки	398
Добавление.	
Половой хроматин	400
Половой хроматин в эпителиальных клетках слизистой оболоч- ки рта	400
Половой хроматин в лейкоцитах	402
Женское молоко	404
Исследование выделений из соска (серозная жидкость) вне лактационного периода	408

15879



Редактор *Н. И. Бокунлева* Корректор *Т. П. Осокина*
Техн. редактор *Н. К. Петрова*.
Художественный редактор *С. Елинсон*. Переплет художника *С. Соловьевой*

Сдано в набор 14/XII 1967 г. Подписано к печати 28/V 1968 г.
Формат бумаги 84×108^{1/32} 13,63 печ. л.—0,25 печ. л. вкл.
(условных 23,3 л.) 31,62 уч.-изд. л. Бум. тип. № 2. Тираж 75 000 экз.
Т04590 МС-02

Издательство «Медицина». Москва, Петроверигский пер., 6/8
Заказ 2239. Цена 1 р. 80 к.

Ордена Трудового Красного Знамени
Первая Образцовая типография имени А. А. Жданова
Главполиграфпрома Комитета по печати
при Совете Министров СССР
Москва, Ж-54, Вадовая, 28

