

Nátěr krve na skle

Bourková L., OKH FN Brno

Zhotovení nátěru krve

- řídí se hodnotou hematokritu
- potřeby:
podložní sklíčko, roztírací sklíčko
 - sklíčka musí být čistá (*z důvodu falešné kontaminace cizími buněčnými elementy, bakteriemi atd.*)
- roztírací sklíčko položit před kapku krve na podložním skle pod úhlem cca 30 - 40° (*nikdy ne do kapky krve*); po doteku krve a roztíracího skla se krev rozlije podél hrany skla; po té rychle krev rozetřít po podložním skle
- sílu nátěru zvažovat – čím větší úhel, tím silnější nátěr
- nátěr musí být: rovnoměrný, přiměřeně tenký, dlouhé okraje musí být rovné, na konci přechází „do ztracena“ (alespoň 1 – 2 cm)

Barvení

- Důležité: správné provedení, zaschnutí, fixování, barvení nátěrů
- Zamezení vlhkosti v roztocích a na nátěru (již 1% příměs vody v metanolu může znemožnit správnou interpretaci vyšetření, zvláště morfologie erytrocytů)
- Nejběžnější metoda barvení:
May-Grünwald / Giemsa-Romanowski
„MGG“ (*Pappenheimova metoda*) - nejpoužívanější metoda, nejlepší obarvení a zobrazení morfologie buněk
- Další metody např.:
Wrightova (jednoduchá), Leishmanova (rychlá, orientační)
- Správný immerzní olej
- *kontroly nabarvených nátěrů*

Barvení - MGG

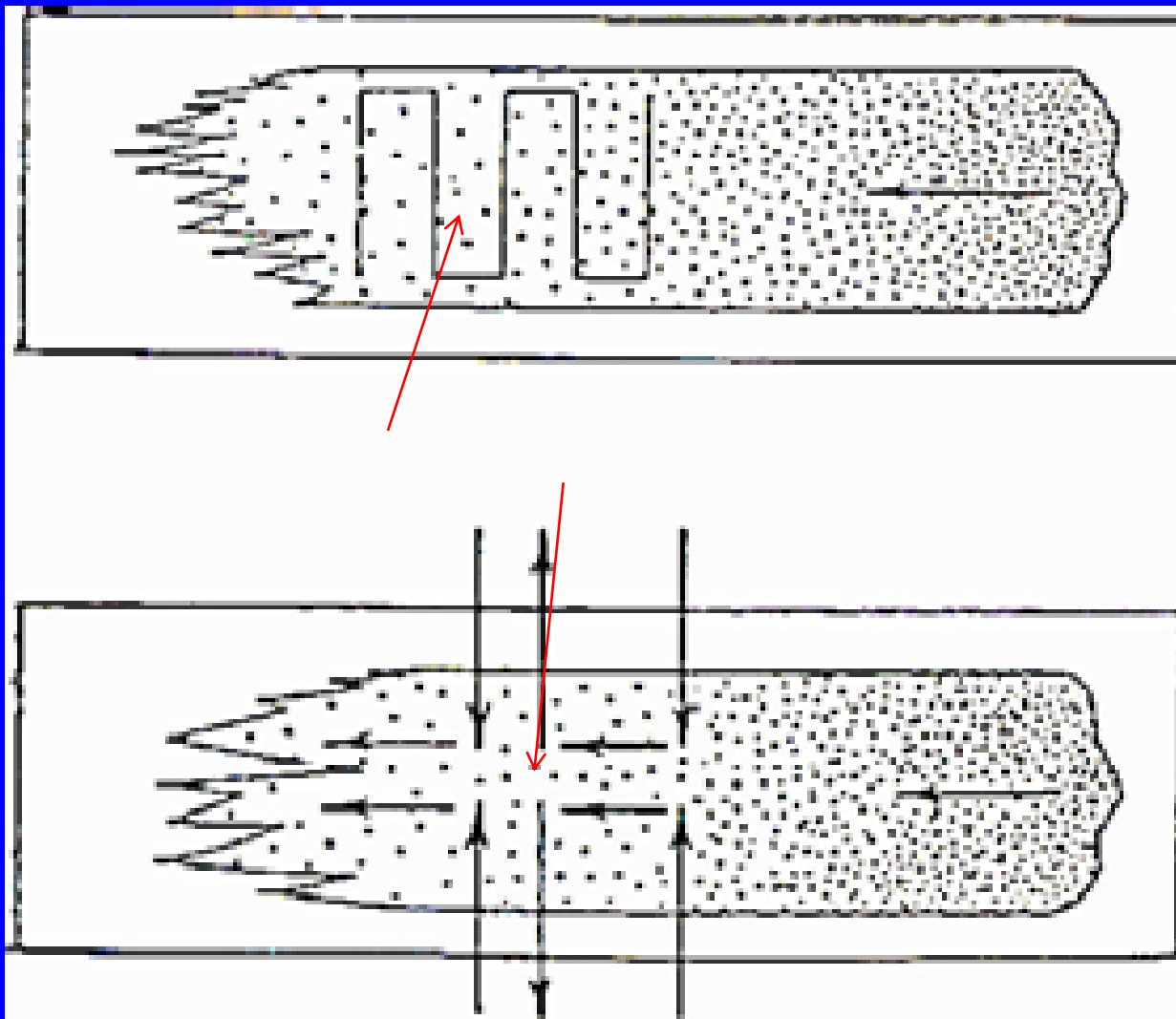
- Základní složky barvení:
 - fixace: metanol + barviva
 - barvení: metanol + glycerin + fosfátové pufrы + barviva
 - pH 6,8 – 7,0
 - Kationtové (zásadité) barvy, jako je např. azur B, se váží na aniontovou složku a dávají modrošedá zbarvení nukleových kyselin (DNA nebo RNA), nukleoproteinů, granulí bazofilů a slabě barví granula neutrofilů.
 - Aniontové (kyselé) barvy, jako je např. eosin Y, se váží na kationtovou složku proteinů a dávají oranžovočervená zbarvení hemoglobinu a eozinofilním granulím
- Celkové barvení se skládá z řady různých kombinací těchto barev, které nakonec dávají výsledný vzhled nabarveného nátěru.

Poznámka: preparáty lze také připravovat na nátěrových a barvicích automatech.

Hodnocení

- komplexně celý nátěr (WBC, RBC, PLT)
- v rovnoměrně rozetřeném místě
- zvětšení 1000x, 200x (100x)
- zbarvení nátěru
- zbarvení buněk
- hodnotit buňku v kontextu s celým nátěrem
- hodnotit periferní nátěr v souvislosti s přístrojovým KO a přístrojovým hlášením
- minimální běžný počet hodnocených buněk:
 - periferní krev: 100 leukocytů
 - kostní dřeň: 250 jaderných elementů
- vydávané výsledky pro nátěr periferní krve i KD: [%]

Hodnocení nátěru

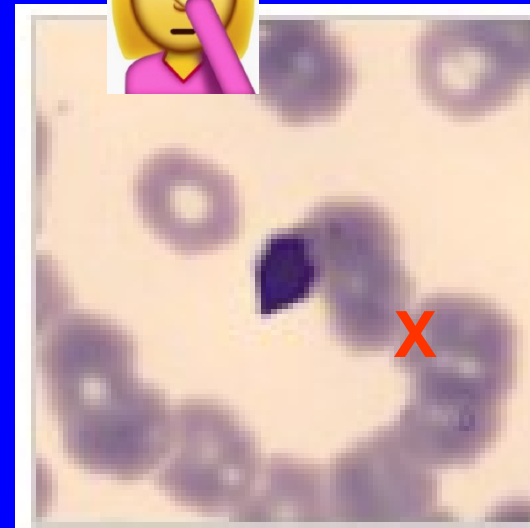
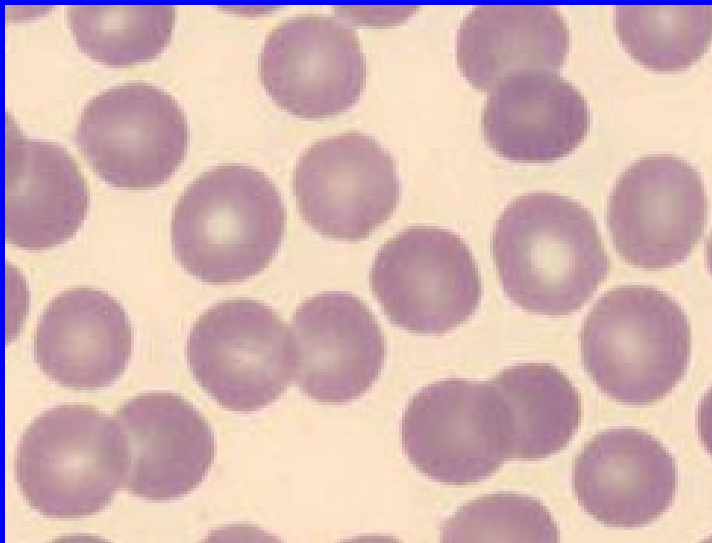


Místa pro hodnocení nátěrů

správné místo na skle



špatné místo na skle !!!



Leukocyty

- Velikost buněk: malé, střední, velké
- Charakteristika jádra: jaderné stíny, holá jádra, poměr jádra k cytoplazmě, jaderný chromatin, jadérka (přítomnost, nepřítomnost, počet, velikost), členitost a tvar jádra (variantní lymfocyty, reaktivní lymfocyty), velikost jádra (tyče, metamyelocyty), hypo-,hyper segmentace NE
- Charakteristika cytoplazmy: granulace, bez granulace, specifická, nespecifická, toxická granulace, barevný odstín cytoplazmy (zralost buňky, reaktivní lymfocyty), vakuolizace, barevné inkluze, Auerovy tyče, okraje cytoplazmy (členité, hladké, vlasaté)
Velké granulované lymfocyty – LGL (large granular lymphocytes)

Poznámka

Granulocytární elementy (segmentované leukocyty):

- *primární granulace (nespecifická):*
 - *od promyelocytu až po segment*
 - *azurofilní*
- *sekundární granulace (specifická):*
 - *od myelocytu až po segment*
 - *neutrofily*
 - *eozinofily*
 - *bazofily*

Erytrocyty

- Velikost (*MCV, RDW, distribuční křivka*)
- Barevné odchylky (*MCH, MCHC*)
- Tvarové odchylky
- Buněčné inkluze
- Shluky
- Rozložení
- Jaderné elementy (NRBC)

Trombocyty

- Velikost (*MPV, PDW, distribuční křivka*)
- Granulace
- Shluky (satelitóza)
- Fragmenty (RBC, WBC)
- MGK, holá jádra MGK
- Kontrola mikroskopicky při početních a morfologických anomáliích
- Odběr do hořčíku (*citrátu*)
- Imunologické vyšetření PLT s CD61