

Vyšetřované parametry na hematologických analyzátorech a mikroskopicky

Bourková L., OKH FN Brno

Parametry krevního obrazu *(zkratky)*

➤ **WBC** - leukocyty
White Blood Cells
(bílé krvinky)

➤ **RBC** - erytrocyty
Red Blood Cells
(červené krvinky)

➤ **HGB**
Hemoglobin

➤ **HCT**
Hematocrit

➤ **MCV**
Mean Cell Volume
(střední objem RBC)

➤ **PLT** - trombocyty
Platelets
(krevní destičky)

➤ **NRBC**
normoblasty

➤ **RETI**
Reticulocyte

Diferenciální rozpočet WBC

➤ **NEU**
(neutrofily)

➤ **LYM**
(lymfocyty)

➤ **MONO**
(monocyty)

➤ **EO**
(eozinofily)

➤ **BASO**
(basofily)

➤ **MCH**
Mean Corpuscular HGB

➤ **MCHC**
Mean Corpuscular HGB
Concentracion

➤ **RDW**
RBC distribution width
(distribuční šíře velikosti RBC)

➤ **MPV**
Mean PLT Volume
(střední objem PLT)

➤ **PCT**
Platelets crit (trombocrit)

➤ **PDW**
PLT distribution width
(distribuční šíře velikosti PLT)

➤ **IPF**
Immature PLT factor

➤ **IRF**
Immature RETI factor

➤ **Ret-He**
Střední množství HGB v RETI

Parametry KO - (a)

- ***WBC** a ***DIF** ($10^9/L$, %)
(dif:NEU,LYM,MONO,EO,BASO)
- ***RBC** ($10^{12}/L$)
- ***HGB** (g/L)
- ***MCV** (fL)
- **HCT** {RBCxMCV}(L/L)
- **MCH** {HGB/RBC} (pg)
průměr celkového HGB na jeden erytrocyt
- **MCHC**{HGB/HCT}(g/L)
průměr koncentrace HGB na jeden erytrocyt
- **RDW** {z počtu a objemů RBC} (%CV)
heterogenita velikosti RBC populace
- ***NRBC** ($10^9/L$, NRBC/100WBC)
- ***PLT** ($10^9/L$)
- ***MPV** (fL)
- **PCT** {PLTxMPV} (mL/L)
- **PDW** {z počtu a objemů MPV} (%CV)
heterogenita velikosti PLT populace
- **IPF** (podíl)
{nezralé PLT/všechny PLT}
- ***RETI** ($10^9/L$, %)
- **Ret-He** (pg)
- **IRF** (podíl)
{nezralé RETI/všechny RETI}

Referenční meze - doporučení ČHS pro děti a dospělé:
<https://labsekce.hematology.cz/referencni-meze/>

Poznámka: * = přímo měřené parametry; ostatní parametry jsou počítané

Parametry KO - (b)

➤ WBC

- ✓ vitalita
- ✓ počet buněk predikujících přítomnost / nástup progenitorových buněk CD34+
- ✓ susp.počet: tyčí, nezralých granulocytů (IG), blastů, atypických LY
- ✓ suspektní patologická hlášení

➤ BF (*body fluid* - tělní tekutiny)

- ✓ počet WBC
PMN - polymorfonukleáry
MN - mononukleáry
- ✓ počet RBC

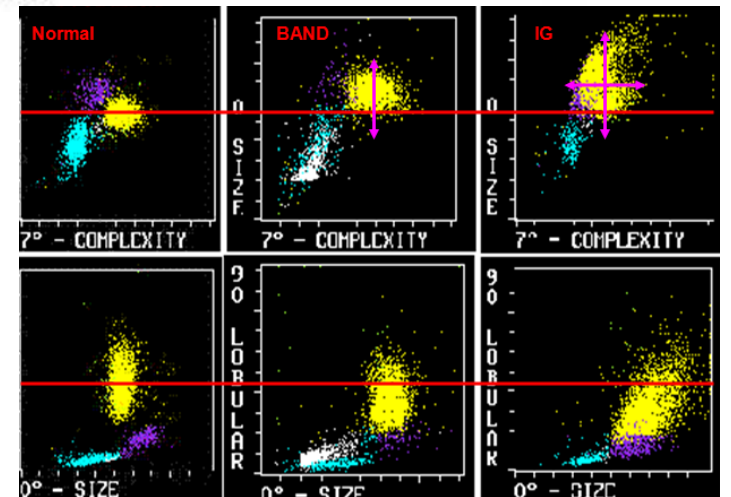
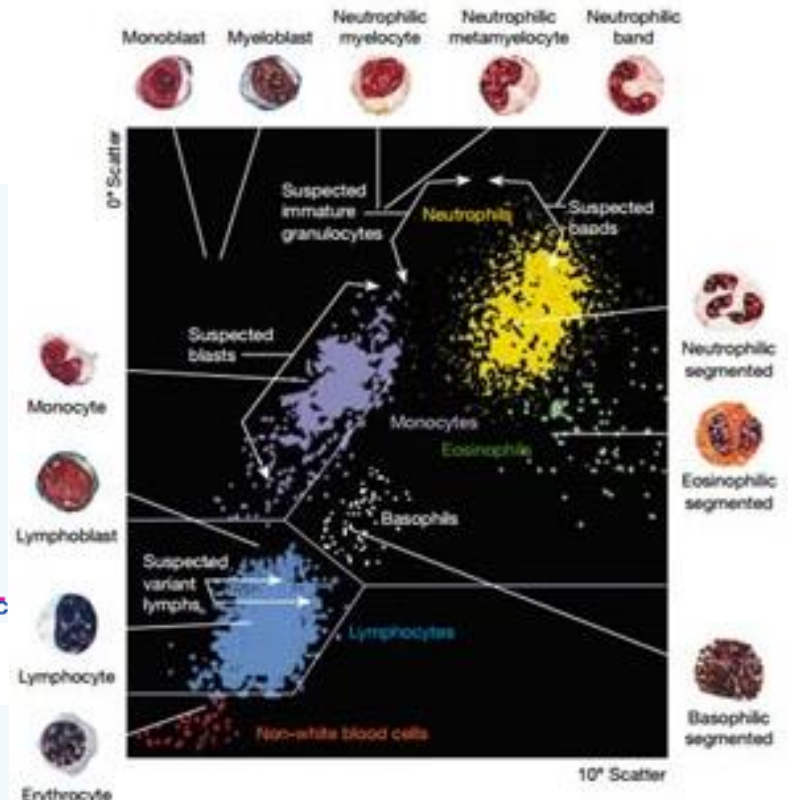
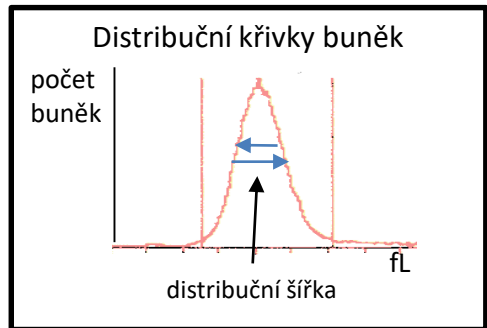
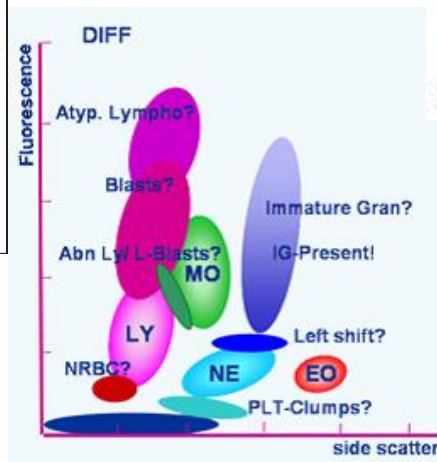
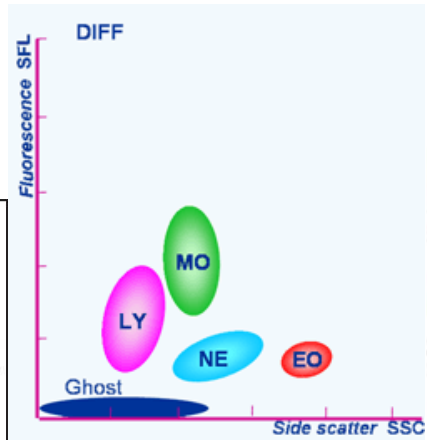
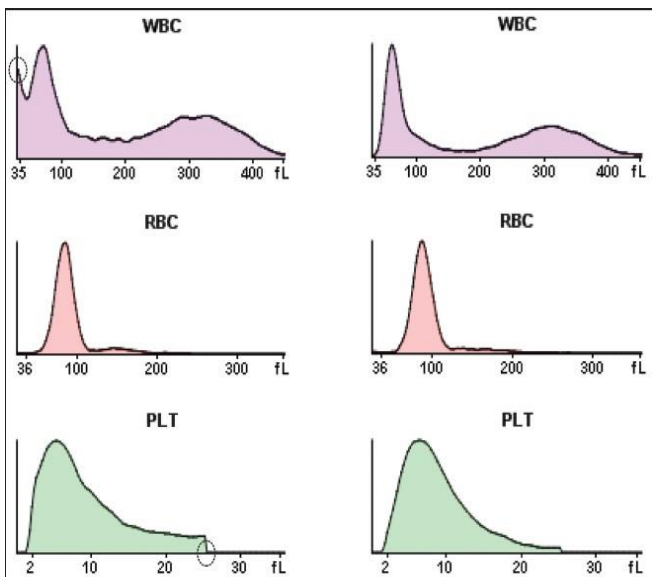
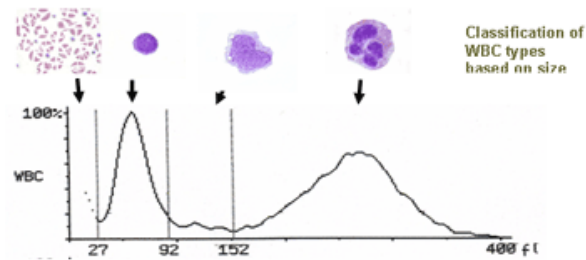
➤ PLT

- ✓ počet malých PLTs
- ✓ počet velkých PLTI
- ✓ suspektní patologická hlášení nebo sraženiny

➤ RBC

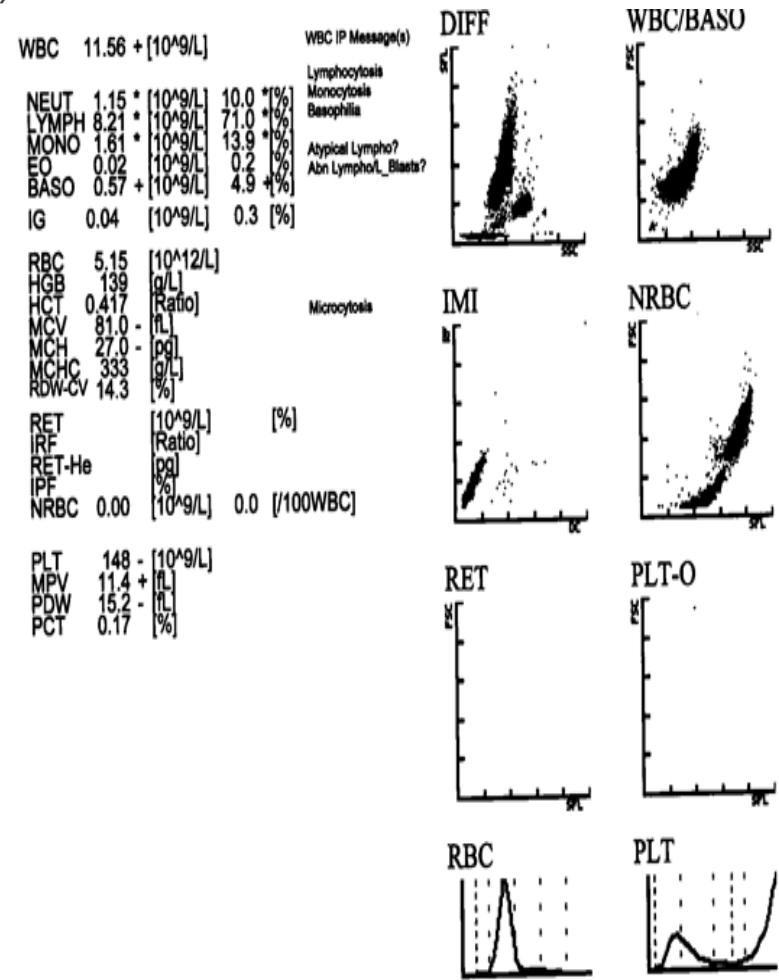
- ✓ podíl: mikrocytů, makrocytů
- ✓ podíl: hypo/hyperchromních RBC
- ✓ HDW (HGB distribution width) heterogenita HGB v RBC
- ✓ střední objem RETI
- ✓ podíly různě vyzrálých RETI
- ✓ množství schistocytů (fragmentů RBC)
- ✓ suspektní patologická hlášení

Grafické zobrazení analýzy krevních buněk - příklady



Obecná pravidla při hodnocení KO

- respektovat princip a specifika (*např. linearitu a přesnost*) analýzy daného přístroje
- hodnotit:
 - ✓ numerické výsledky (*sledovat měřené a počítané parametry*)
 - ✓ grafické výsledky
 - ✓ hlášení analyzátoru
 - ✓ zohledňovat a sledovat potenciální interference
 - ✓ hodnotit KO jako celek - *nepřesné stanovení jedné složky ovlivní nepřesné stanovení jiné složky* → klinické důsledky
- zohledňovat klinická hlediska:
 - ✓ diagnóza
 - ✓ léčba
 - ✓ historie pacienta
 - ✓ vzhled vzorku (*hemolytický, ikterický, chylózní*)
 - ✓ správný odběr (*množství, typ zkumavky*)
- ❖ posuzovat následnou kontrolu mikroskopem



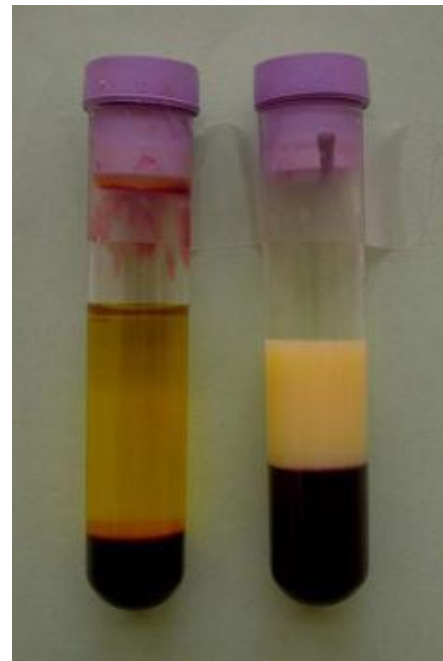
normální vzorek
s normálním HCT



patologický vzorek
WBC = $900 \times 10^9/L$



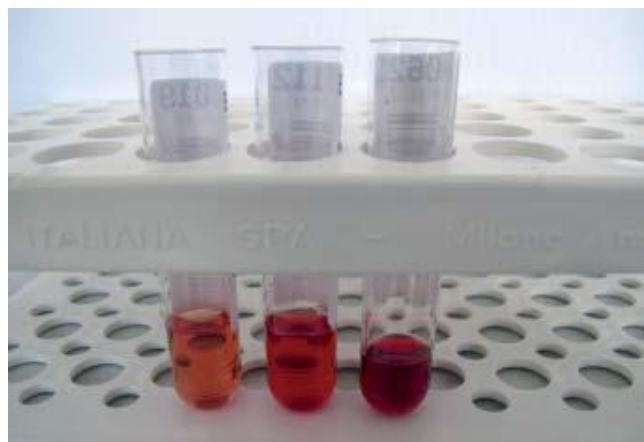
chylózní vzorek



ikterické vzorky a hemolytické vzorky

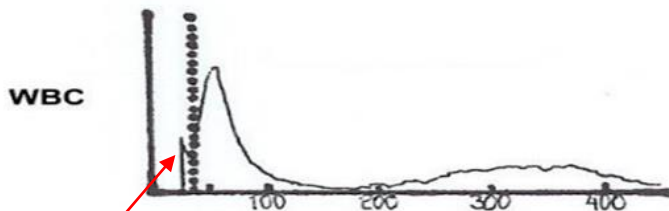


různé stupně hemolytických vzorků

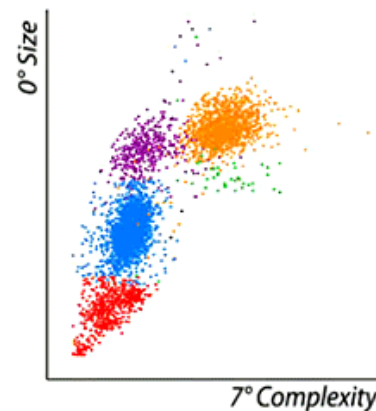


Hodnocení WBC

- počet WBC
- vyváženost rozpočtu v dif
- patologická hlášení
- ❖ interference - falešné navýšení počtu WBC způsobují :
 - ✓ NRBC (*jaderné buňky*)
 - ✓ rezistentní RBC (*nezlyzované erytrocyty v měřícím systému*)
 - ✓ holá jádra (*z křehkých rozbitých buněk*)
 - ✓ shluky nebo sraženiny PLT (*zkreslují celý krevní obraz*)



možné interference

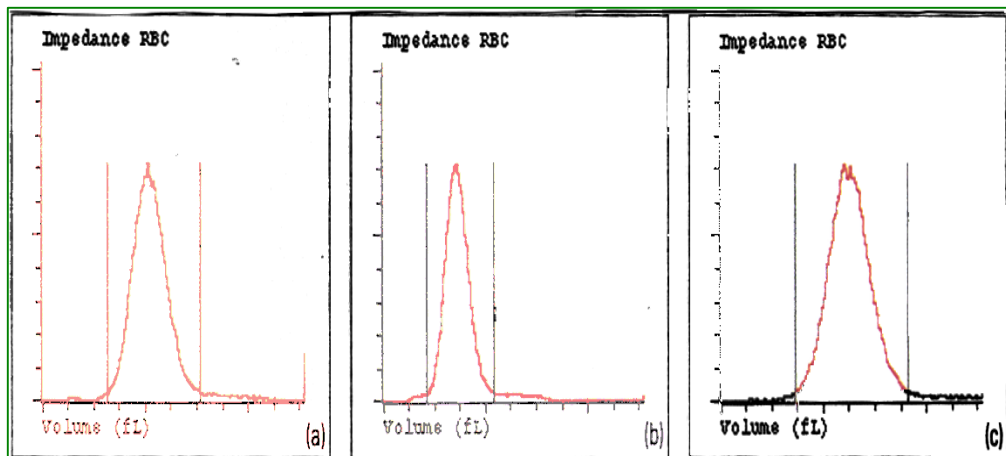


Hodnocení RBC

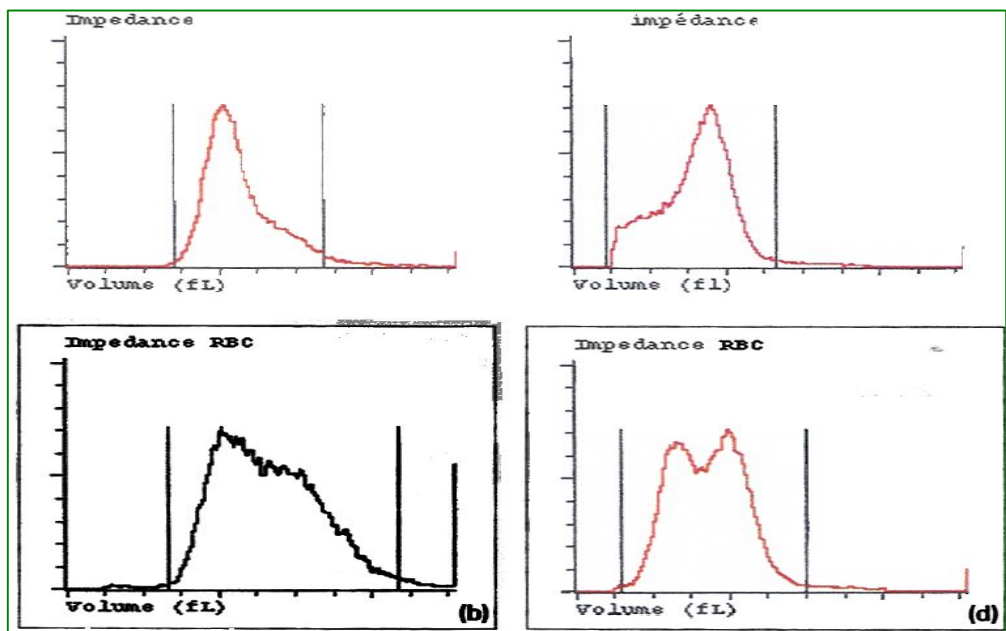
- parametry: RBC, HGB, HCT, MCV
 - ✓ hodnotit numerické výsledky
 - ✓ nelze posuzovat morfologii (*MCV je pouze střední objem všech RBC, neinformuje o rozložení celé populace*)

- parametry: MCH, MCHC, RDW + distribuční křivka (*šířka, vrcholy*)
 - ✓ lze posuzovat morfologii
 - ✓ základní přístrojové ukazatele morfologie
 - MCH, MCHC: normochromie, hypochromie, hyperchromie
 - RDW + křivka: isocytóza, anizocytóza (*homogenní, heterogenní populace RBC*)

- ❖ interference - chybné, nesouvisející výsledky pro měřené a počítané parametry RBC způsobují:
 - ✓ shluky nebo sraženiny PLT (*zkreslují celý krevní obraz*)
 - ✓ aglutinace RBC (*např. chladové protilátky*)
 - ✓ hemolytický, ikterický, chylózní vzorek



Impedanční histogramy RBC- RDW normál
 (a) - normál (b) - mikrocyty (c) - makrocyty

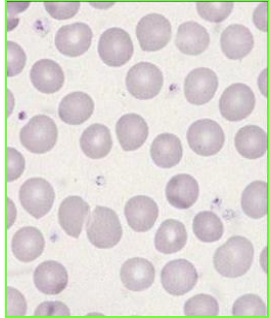


Impedanční histogramy RBC - RDW (vysoké)
 nad horní hranici referenčních mezí
 (a) - příměs makrocytů
 (b) - vysoký podíl makro
 (c) - masivně mikrocyty (*schistocyty*)
 (d) - mikrocyty + normocyty

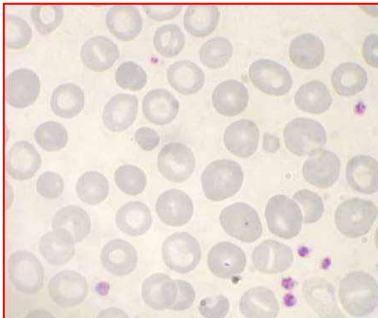
Morfologie RBC

http://www.sekk.cz/infoservis/2006_Morfologie_erytrocytu.pdf

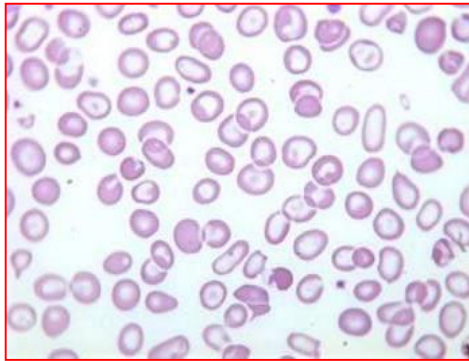
normocyty



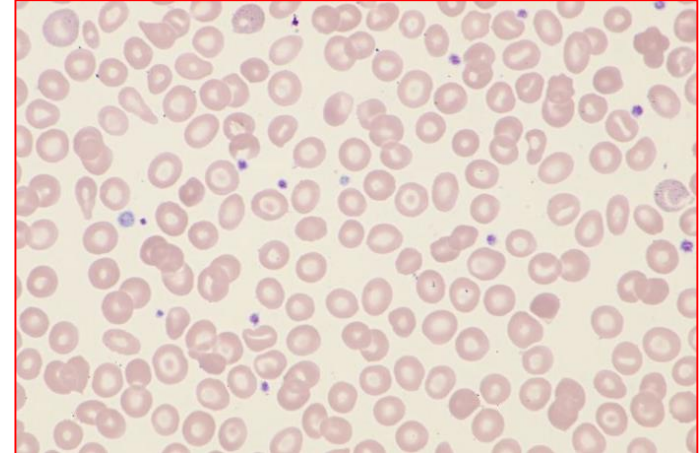
anizocytóza



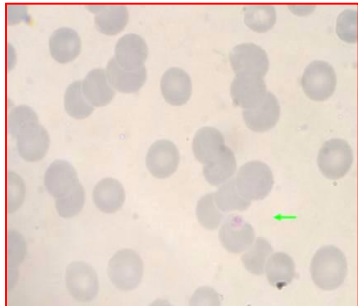
anizochromie



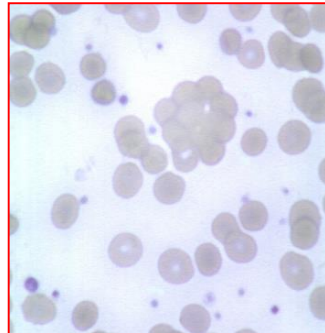
tvarové odchylky RBC



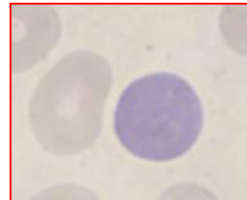
penízkovitění RBC



aglutinace RBC



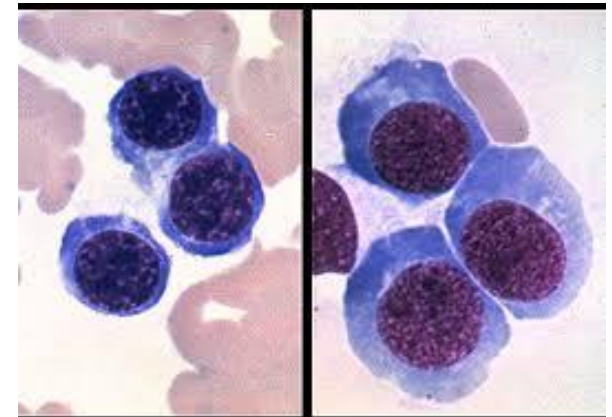
polychromázie



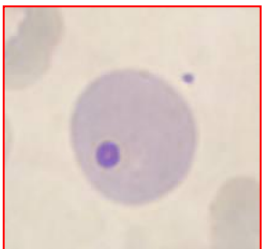
NRBC

X

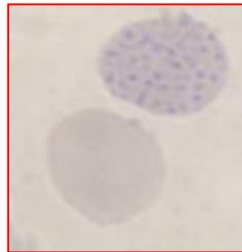
megaloblast



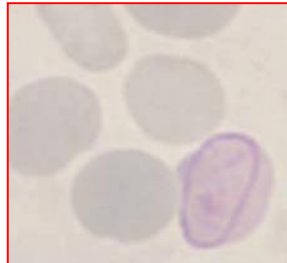
Howell-Jollyho tělísko



bazifilní tečkování

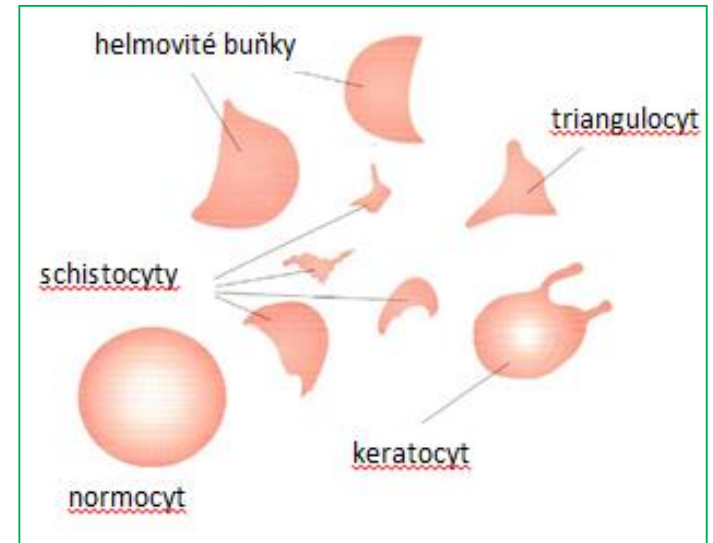
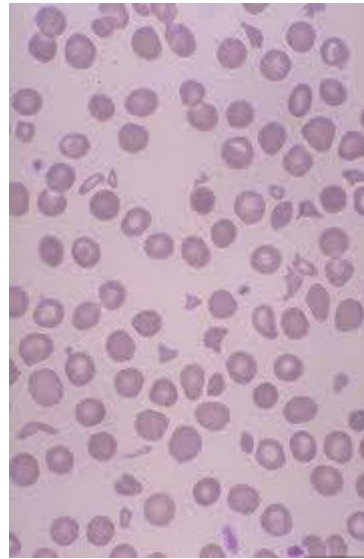
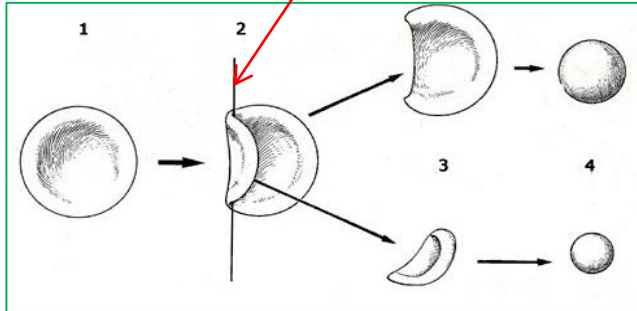


Cabotovy prstence

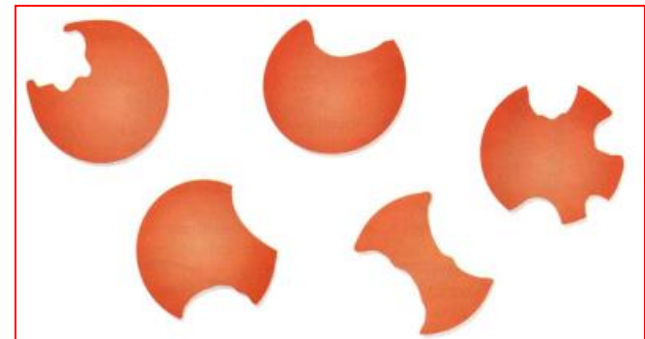
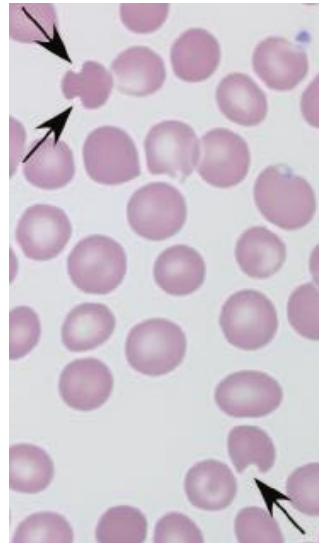
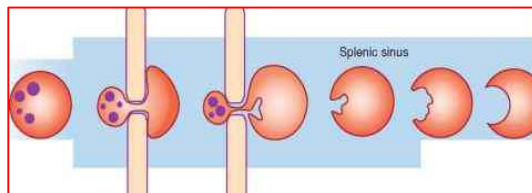


Schistocyty (tvarové odchytky)

mechanismus vzniku:
přetržení erytrocytu
na fibrinových vláknech



Bite cells
(„vykousnuté“ buňky)



Hodnocení PLT

➤ parametry: PLT, MPV

- ✓ hodnotit numerické výsledky
- ✓ nelze sledovat morfologii (*MPV je pouze střední objem všech PLT, neinformuje o rozložení celé populace*)

➤ parametry: PDW + distribuční křivky (*šířka, rozložení, umístění na ose*)

- ✓ lze posuzovat morfologii
- ✓ základní přístrojové ukazatele morfologie
 - isocytóza, anizocytóza (*homogenní, heterogenní populace PLT*) dle referenčního rozmezí
 - netrombocytární elementy

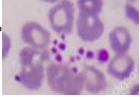
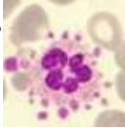
❖ interference způsobují:

- ✓ chybné snížení počtu PLT: (*SW vyloučí buňky z populace*)
 - makro/gigantické PLT
 - sraženiny
 - shluky při falešná trombocytopenie/**pseudotrombocytopenie** (*reakce na soli (K,Na)EDTA, satelitóza*)
- ✓ chybné zvýšení počtu PLT: (*SW zařadí buňky do populace*)
 - mikro RBC
 - buněčné fragmenty (schistocyty, fragmenty leukocytární cytoplazmy...)
 - netrombocytární příměsy (*makromolekuly proteinů, kontaminace reagensy*)

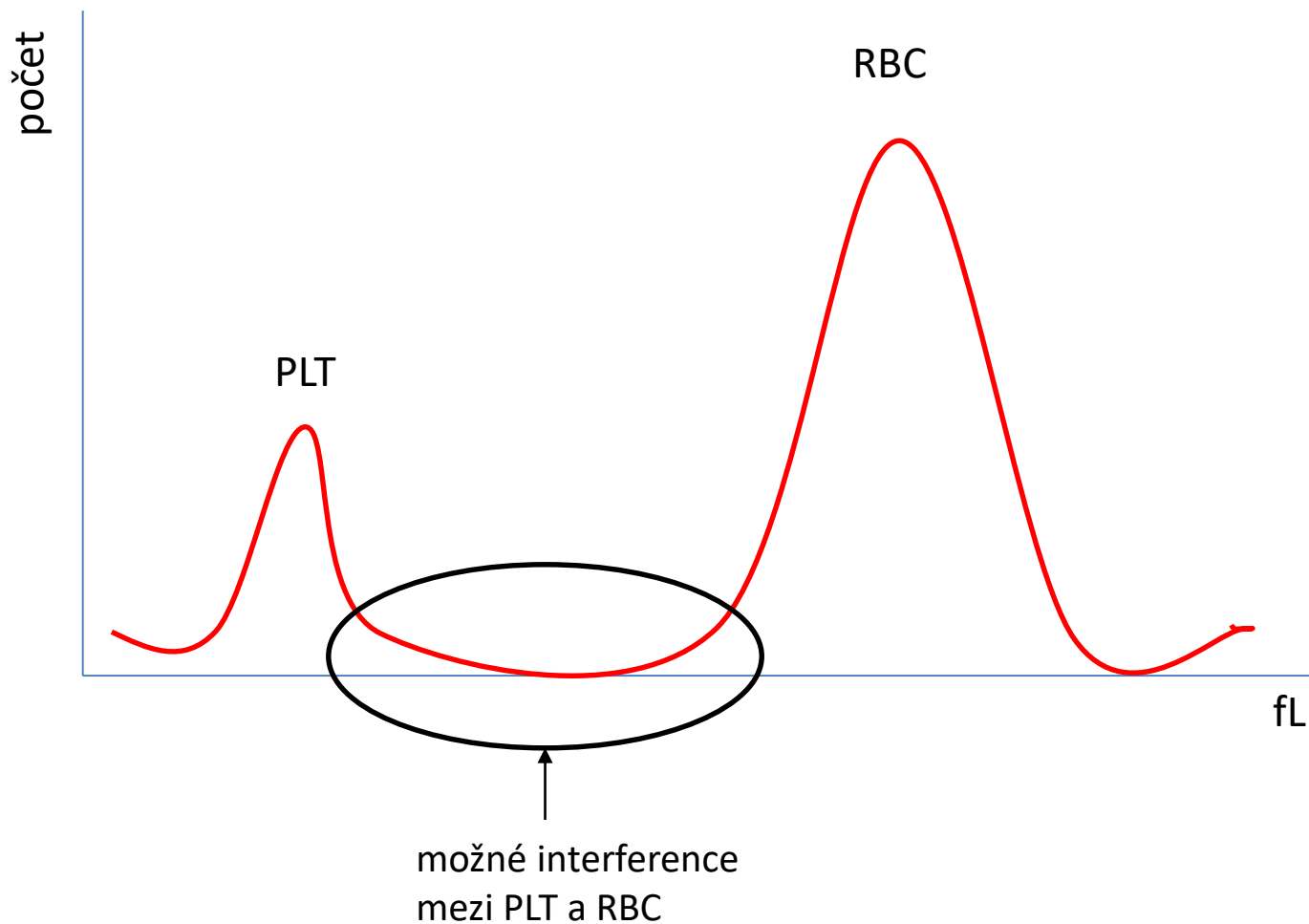
❖ kontrola/ověření počtu PLT:

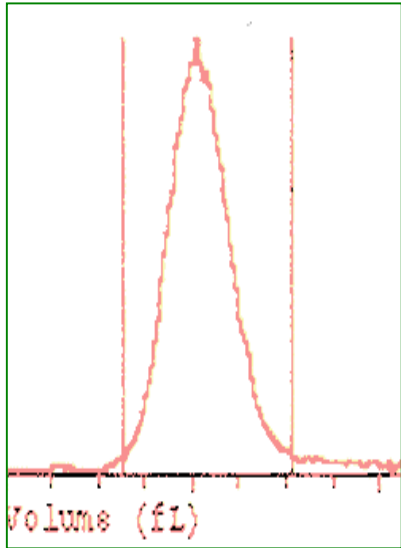
- ✓ jinou metodou než byla primární analýza
 - opticky nebo impedančně
 - fluorescenční metoda
- ✓ mikroskopicky
- ✓ analýza vzorku s jiným protisrážlivým činidlem - s kationtem **Mg²⁺** (MgSO₄)

Pseudotrombocytopenie (PST) - falešná trombocytopenie

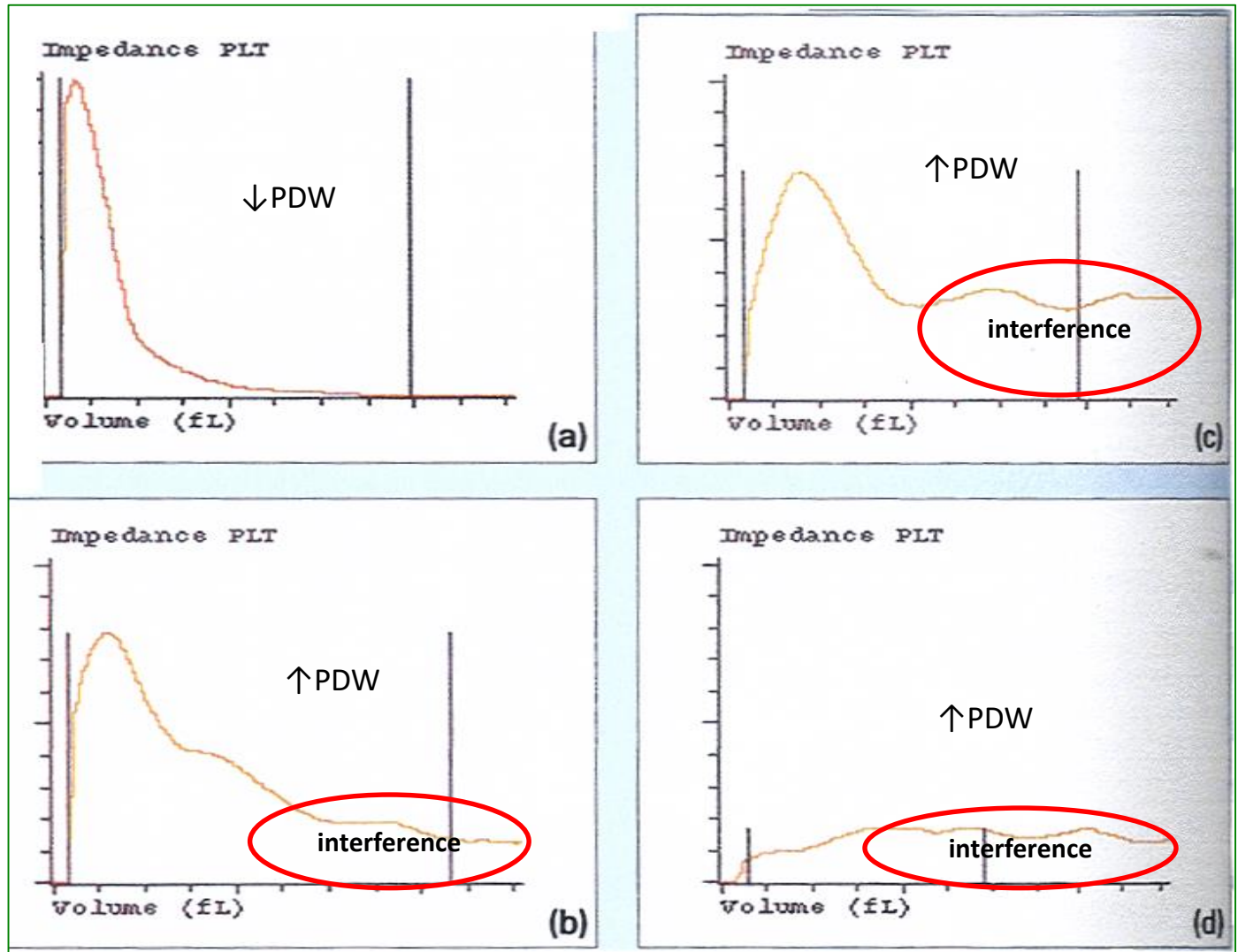
- Při odběru periferní krve do (K₂,K₃,Na₂)EDTA jsou přítomny shluky PLT  nebo satelitoza PLT .
- in vivo: skutečný počet PLT
- in vitro:
 - ✓ odběr do (K,Na)EDTA: falešně snížený počet PLT /pseudotrombocytopenie (může nastat za přítomnosti protilátek, ale i u zdravých jedinců)
 - ✓ odběr do MgSO₄: správný počet PLT
- EDTA-indukovaná PST: soli EDTA demaskují membránové proteiny trombocytů a neutrofilů
 - ✓ shluky: způsobují protilátky namířené proti demaskovaným membránám PLT
 - ✓ satelitismus: protilátky proti PLT vytvoří můstek mezi demaskovanou membránou NE a PLT

Souvislost distribučních křivek PLT a RBC





Impedanční histogram normál

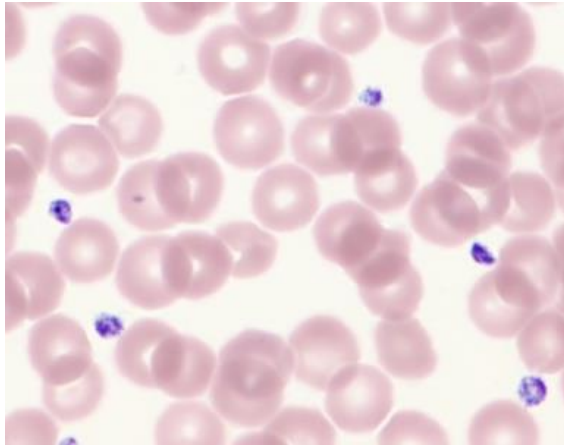


Impedanční histogramy PLT

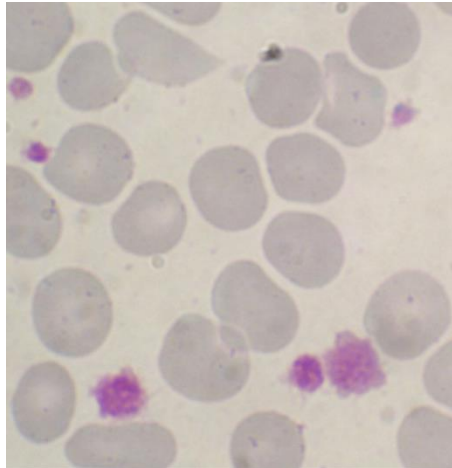
(a) – nízké MPV, (b-d) - interference

Morfologie PLT

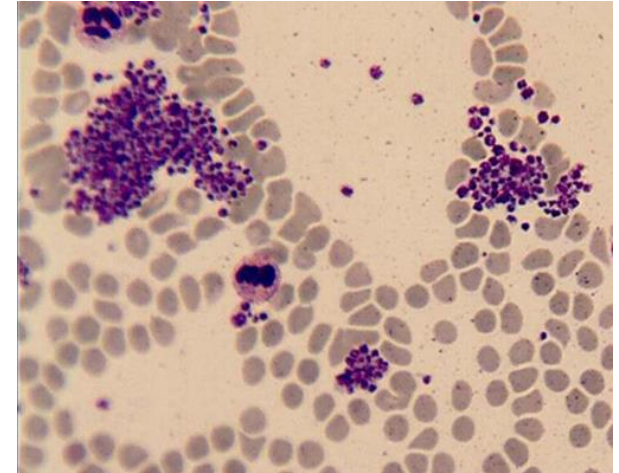
fyziologické PLT



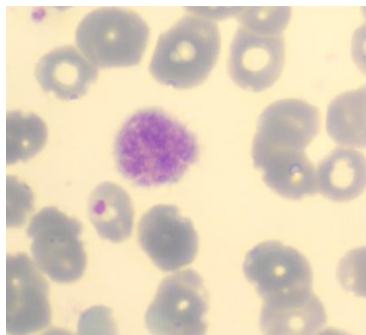
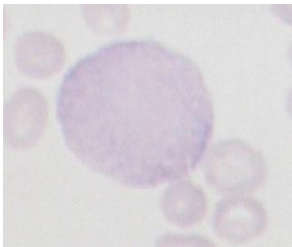
anizocytóza PLT



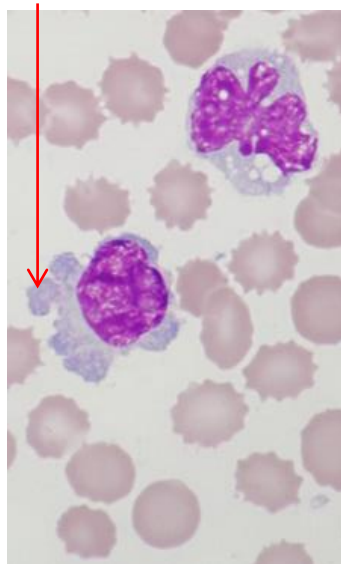
sraženiny, shluky PLT



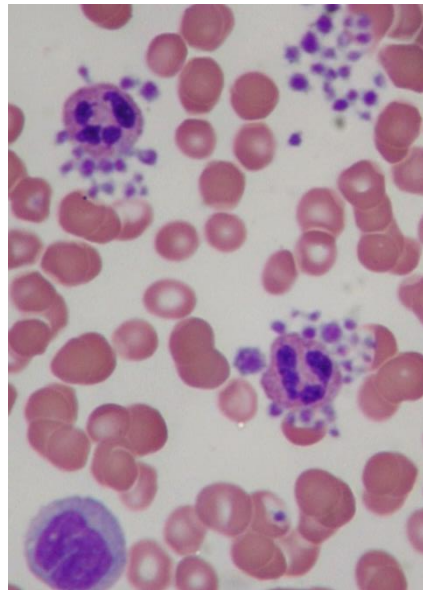
makro, gigantické PLT



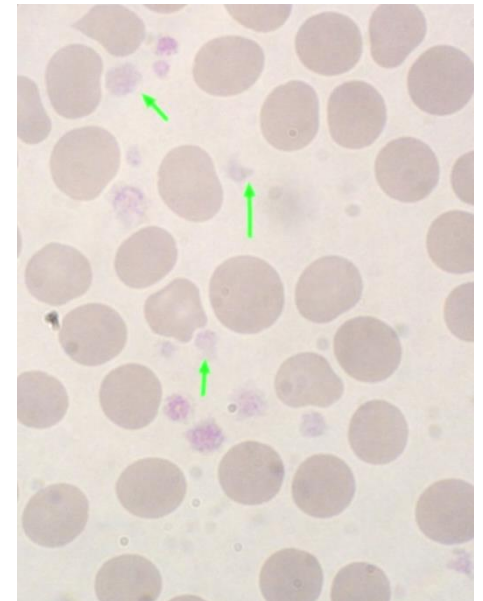
fragmenty cytoplazmy WBC



satelitóza PLT



hypogranulární PLT



Hodnocení morfologie - důležité základní parametry

WBC

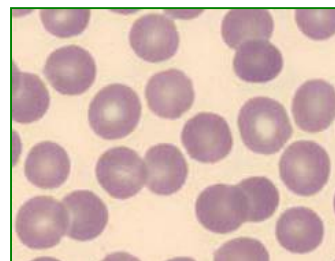
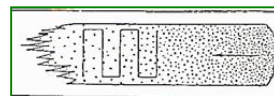
- velikost buněk: malé, střední, velké
- charakteristika jadra: holá jádra, poměr jádra k cytoplazmě, jaderný chromatin, jadérka (*přítomnost, nepřítomnost, počet, velikost*), členitost a tvar jádra (*hypo-, hypersegmentace NE*), velikost jádra, podíl jádra a cytoplazmy v buňce (*N/C poměr*)
- charakteristika cytoplazmy: granulace, hypogranulace, specifická (*NE, EO, BA*), nespecifická, toxická granulace, Auerovy tyče, barevný odstín cytoplazmy, vakuolizace, inkluze, okraje cytoplazmy (*členité, hladké, vlasaté*)

RBC

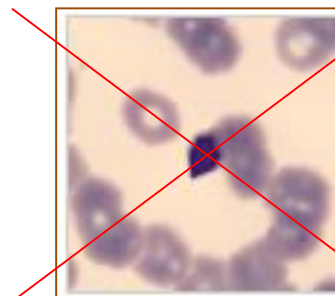
- velikost buněk (*MCV, RDW, distribuční křivka*)
- odchylky:
 - ✓ barevné (*MCH, MCHC*)
 - ✓ tvarové, inkluze, shluky
- jaderné buňky

PLT

- velikost (*MPV, PDW, distribuční křivka*)
- granulace, hypogranulace
- shluky, satelitóza
- fragmenty (*RBC, WBC*)
- MGK, holá jádra MGK



správné zorné pole



nesprávné zorné pole

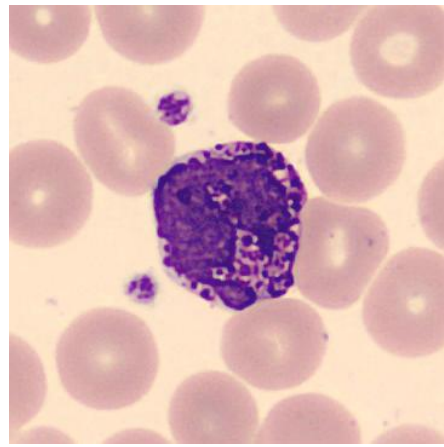
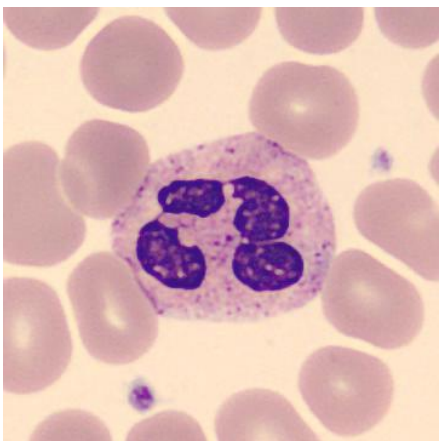
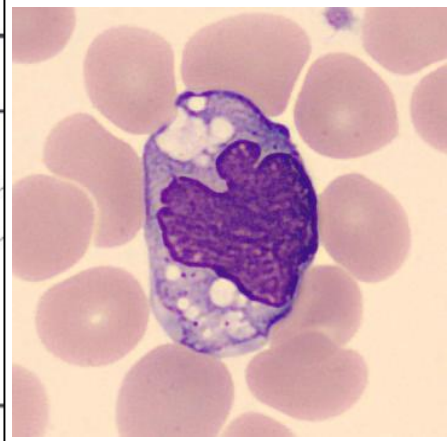
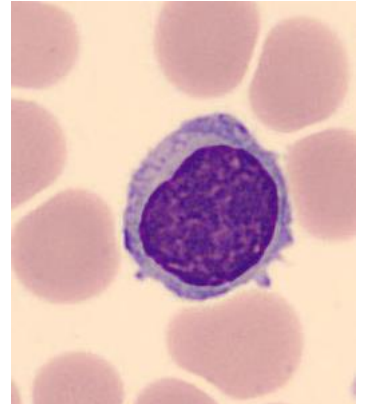
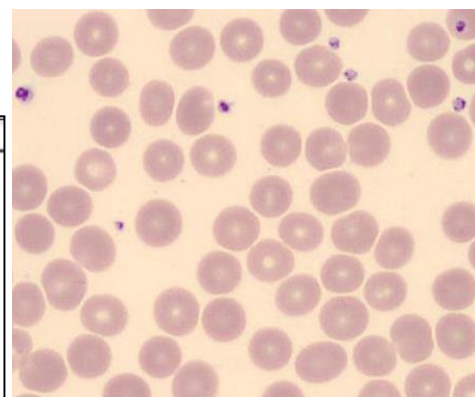
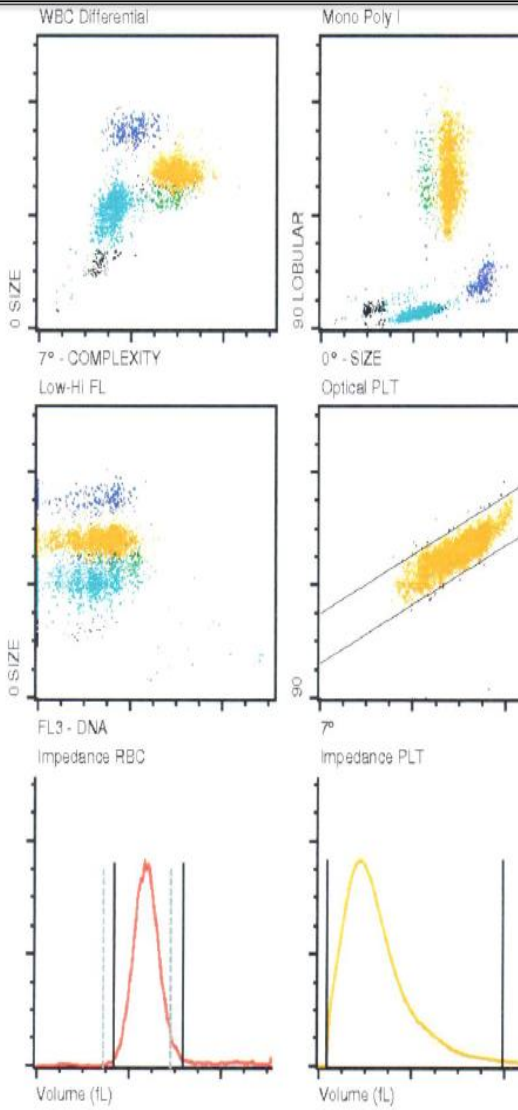
***Příklady přístrojové analýzy krevního obrazu
a diferenciálního rozpočtu WBC***

Fyziologický vzorek

Sex: F
 Doctor: 0717/27/06/2013
 User Defined A:
 User Defined B:
 User Defined C:
 User Defined D:

X-B In	WBC In	RBC In	PLT In	RETC In	WVF	%S	%BD	%IG	%BL	%Me	%E	%B	%Le	%VL	RBCo	%MIC	%MAC	%HPO	%HPR	NRW	PLTi	CD61	PLTs	PLTi
WBC	7.36	10e9/L			.991										4.22	.661	3.87			0.00	308.			
SEG	3.97					54.0																		
BAND	0.00					0.00																		
IG	0.00					0.00																		
BLST	0.00					0.00																		
MONe	.450					6.11																		
EOS	.299					4.06																		
BASO	.023					.318																		
LYMe	2.61					35.5																		
VARL	0.00					0.00																		
RBC	4.13	10e12/L			4.22																			
HGB	138.	g/L			.661																			
HCT	.406	L/L			3.87																			
MCV	98.4	fL																						
MCH	33.5	pg																						
MCHC	341.	g/L																						
RDW	11.4	%CV																						
HDW	---	%																						
RETC	---	10e9/L			%R	---																		
IRF	---																							
NRBC	0.00	10e9/L			NRW	0.00																		
MCVr	---	fL																						
MCHr	---	pg																						
CHCr	---	g/L																						
PLTo	319.	10e9/L			PLTi	308.																		
MPV	8.03	fL			CD61	---																		
PDW	15.8	10(GSD)			PLTs	---																		
PCT	2.56	mL/L			PLTi	---																		
%iP	---	%																						

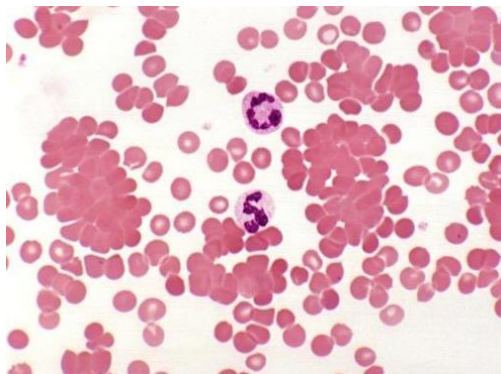
Manual Differential	RBC Morphology		
SEG	META	NORMAL	MICRO
BAND	MYELO	POLYCH	MAGRO
LYMPH	PRO	HYPDCH	ANISO
MONO	BLAST	POIK	BASOSTIP.
EOSIN	VAR LYM	TARGET	
BASO	TOXGRAN	SPHERO	NRBC
PLT EST		PLT MORPH	



Chladové protilátky

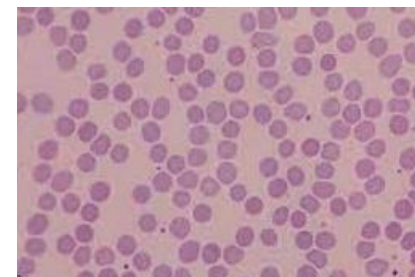
KO – před zahřátím

WBC	7.57	[10 ⁹ /L]	WBC IP Message	
NEUT	5.01	[10 ⁹ /L]	66.2	[%]
LYMPH	1.57	[10 ⁹ /L]	20.7	[%]
MONO	0.71 +	[10 ⁹ /L]	9.4	[%]
EO	0.17	[10 ⁹ /L]	2.2	[%]
BASO	0.11 +	[10 ⁹ /L]	1.5 +	[%]
IG	0.10	[10 ⁹ /L]	1.3	[%]
RBC	3.23	[10 ¹² /L]	RBC IP Message Turbidity/HGB Interf?	
HGB	117 *	[g/L]		
HCT	0.308	[L/L]		
MCV	95.4	[fL]		
MCH	36.2 *	[pg]		
MCHC	380 *	[g/L]		
RDW-CV	18.3 +	[%]		
RET	4.52	[%]	146.0	[10 ⁹ /L]
IRF	28.6	[%]		
RET-He	32.7	[pg]		
NRBC	0.00	[10 ⁹ /L]		
	0.0	[/100WBC]		
IPF		[%]		
PLT	535 +	[10 ⁹ /L]		
MPV	9.2	[fL]		
PDW	9.4	[fL]		
PCT	0.49 +	[%]		



KO – po zahřátí

WBC	7.79	[10 ⁹ /L]	WBC IP Message	
NEUT	5.13	[10 ⁹ /L]	65.9	[%]
LYMPH	1.62	[10 ⁹ /L]	20.8	[%]
MONO	0.72 +	[10 ⁹ /L]	9.2	[%]
EO	0.19	[10 ⁹ /L]	2.4	[%]
BASO	0.13 +	[10 ⁹ /L]	1.7 +	[%]
IG	0.08	[10 ⁹ /L]	1.0	[%]
RBC	3.80 -	[10 ¹² /L]	RBC IP Message	
HGB	116	[g/L]		
HCT	0.340	[L/L]		
MCV	89.5	[fL]		
MCH	30.5	[pg]		
MCHC	341	[g/L]		
RDW-CV	15.4	[%]		
RET	4.56	[%]	173.3	[10 ⁹ /L]
IRF	27.0	[%]		
RET-He	33.0	[pg]		
NRBC	0.00	[10 ⁹ /L]		
	0.0	[/100WBC]		
IPF		[%]		
PLT	526 +	[10 ⁹ /L]		
MPV	9.0	[fL]		
PDW	9.2	[fL]		
PCT	0.47 +	[%]		



Satelitóza trombocytů

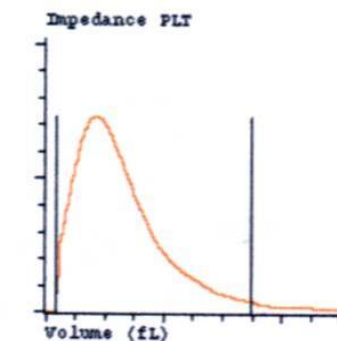
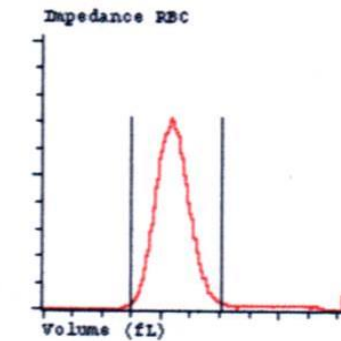
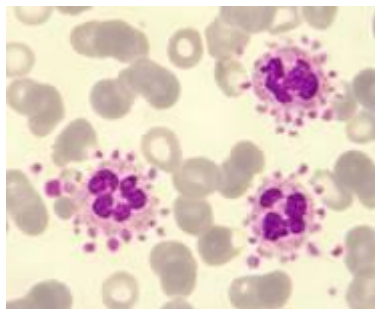
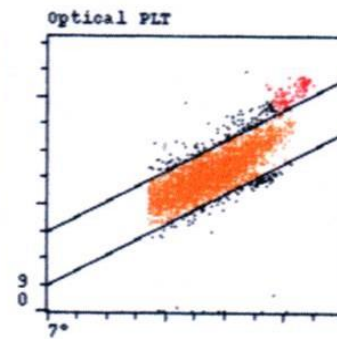
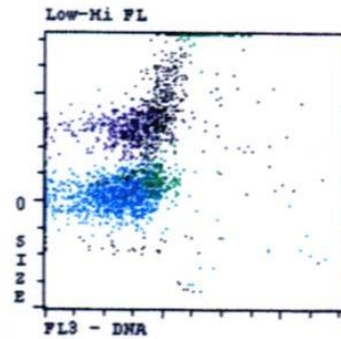
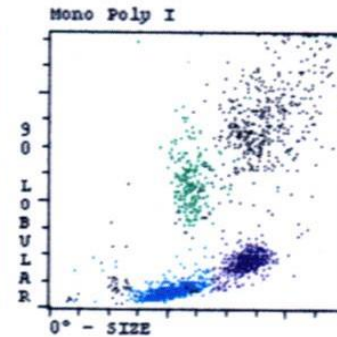
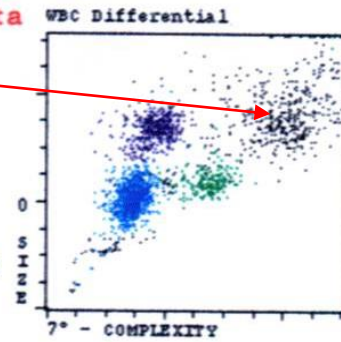
WBC	3.20*10e9/L	WVF	.954*
NEU	0.00*	%N	0.00*
LYM	2.00*	%L	62.6*
MONO	.663*	%M	20.7*
EOS	.512*	%E	16.0*
BASO	.023*	%B	.732*

*InvalidData

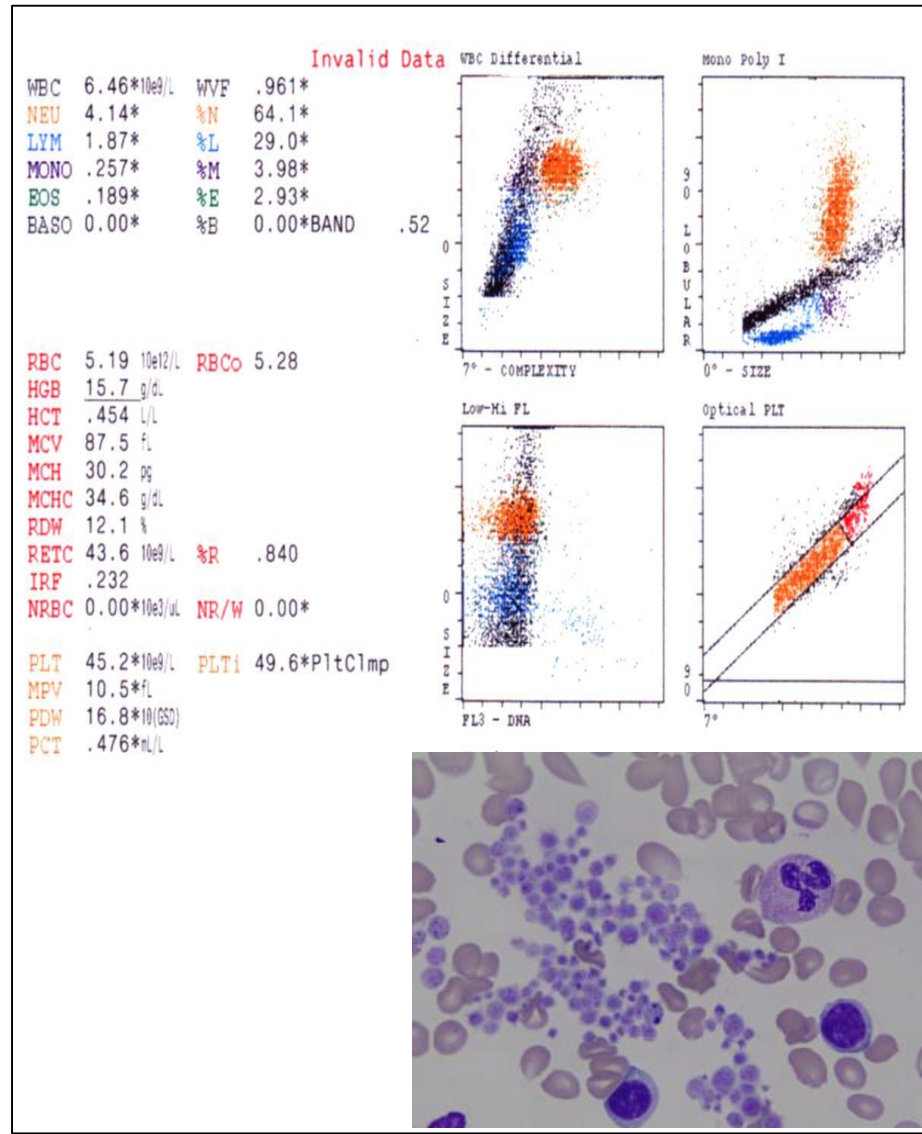
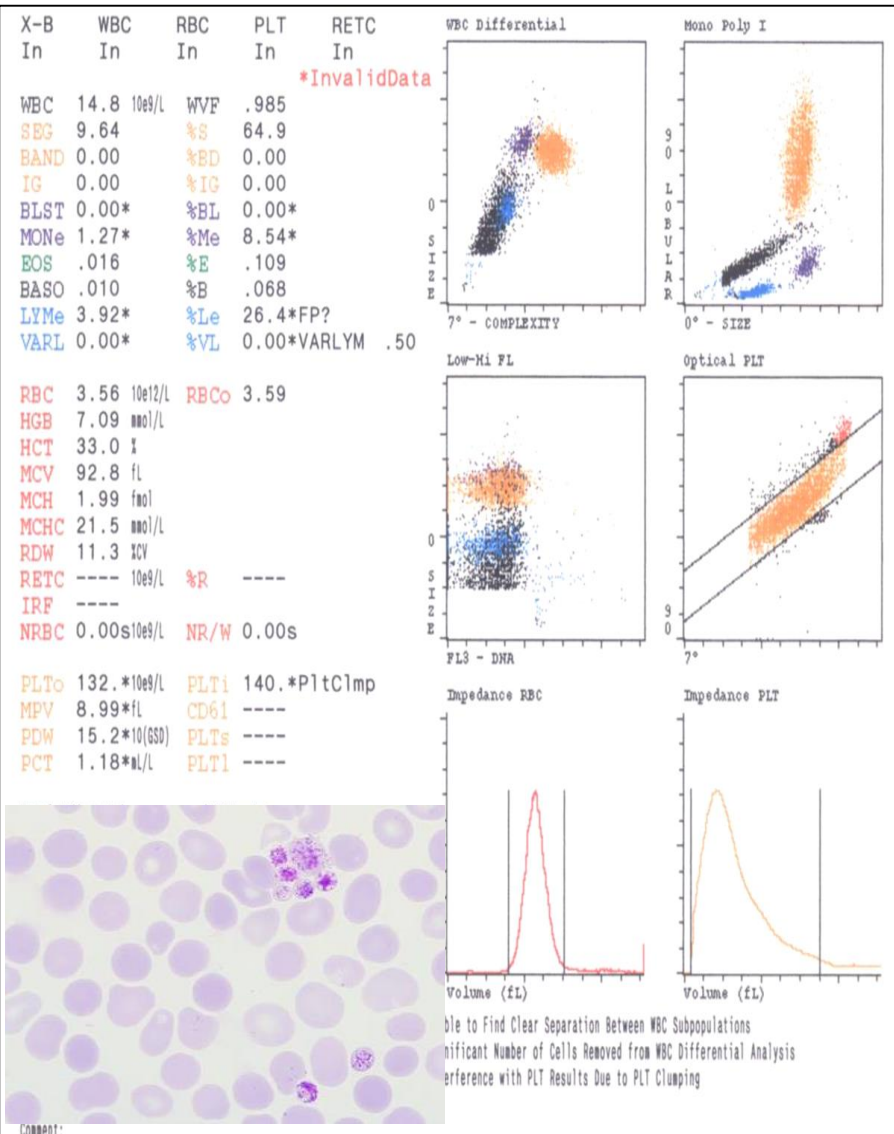
VARLYM .50

RBC	5.00	10e12/L	RBCo	4.84
HGB	9.50	mmol/L		
HCT	.455	L/L		
MCV	91.0	fL		
MCH	1.90	fmol		
MCHC	20.9	mmol/L		
RDW	12.4	SCV		
RETC	----	10e9/L	%R	----
IRF	----			
NRBC	0.00*10e9/L	NR/W	0.00*	

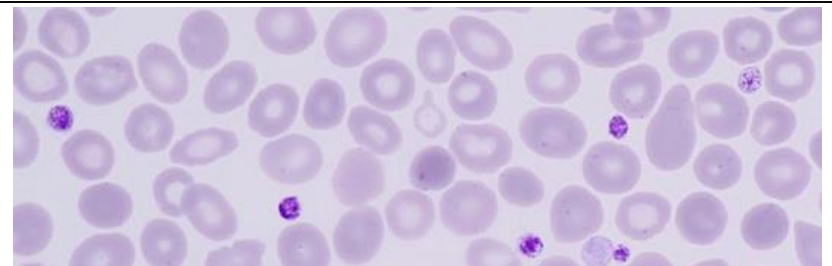
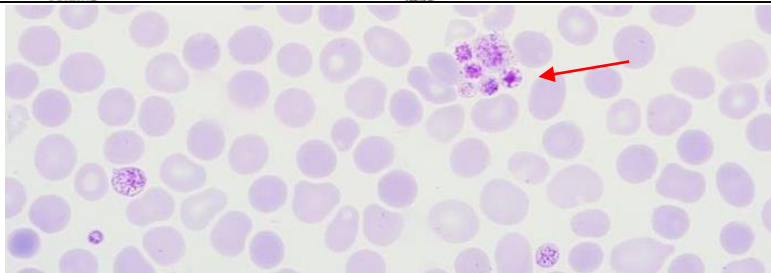
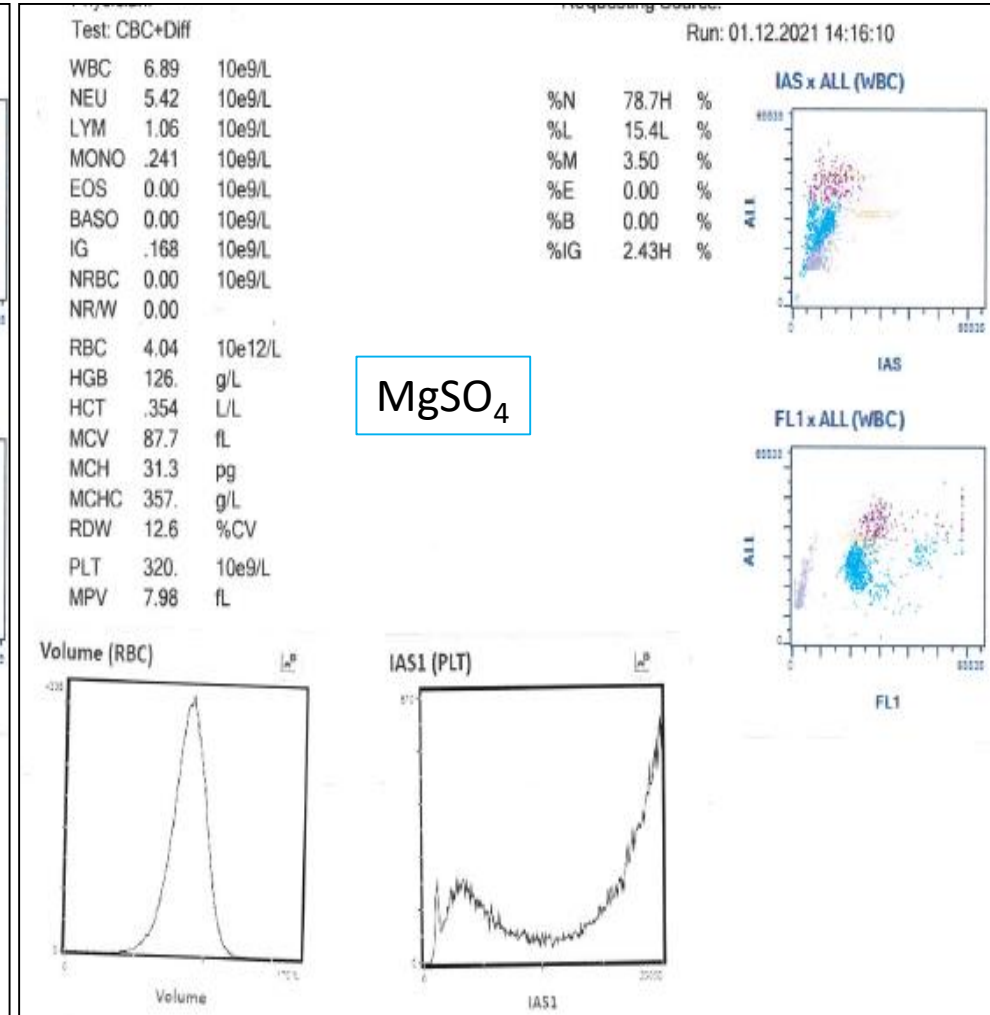
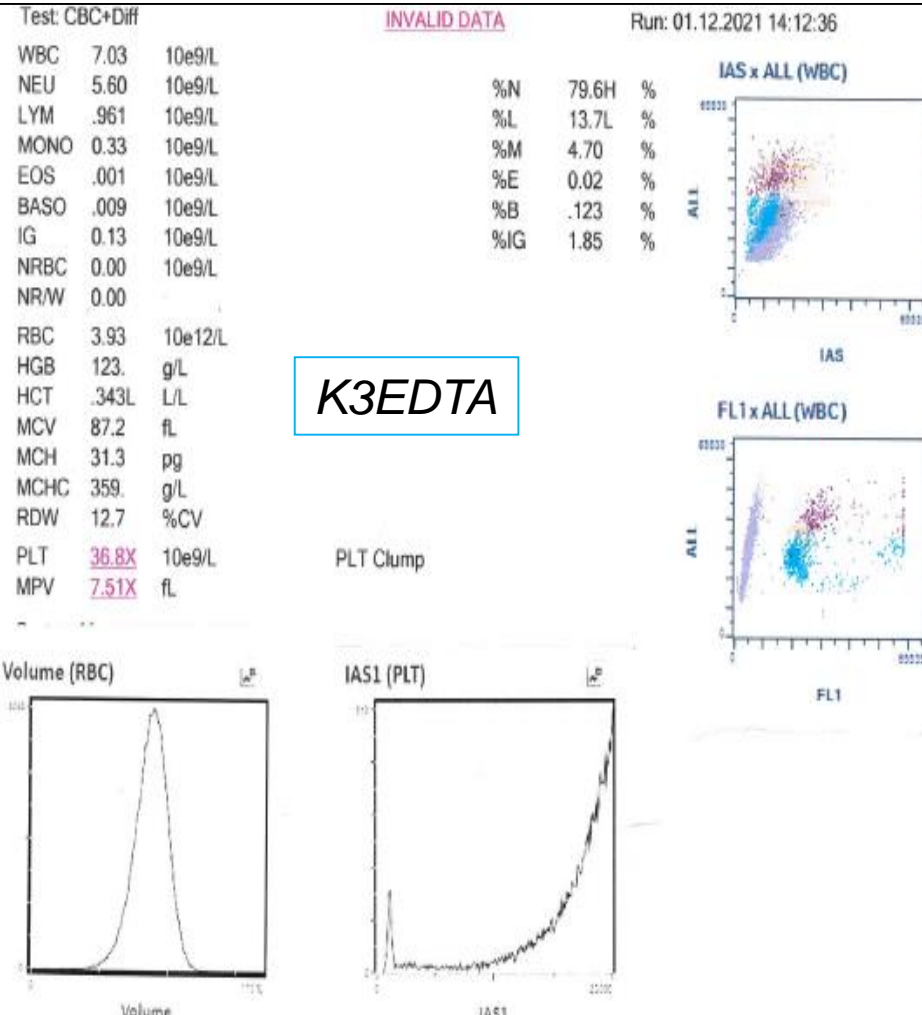
PLT	156.	10e9/L	PLTi	162.
MPV	8.48	fL		
PDW	16.9	10(GSD)		
PCT	1.32	nL/L		



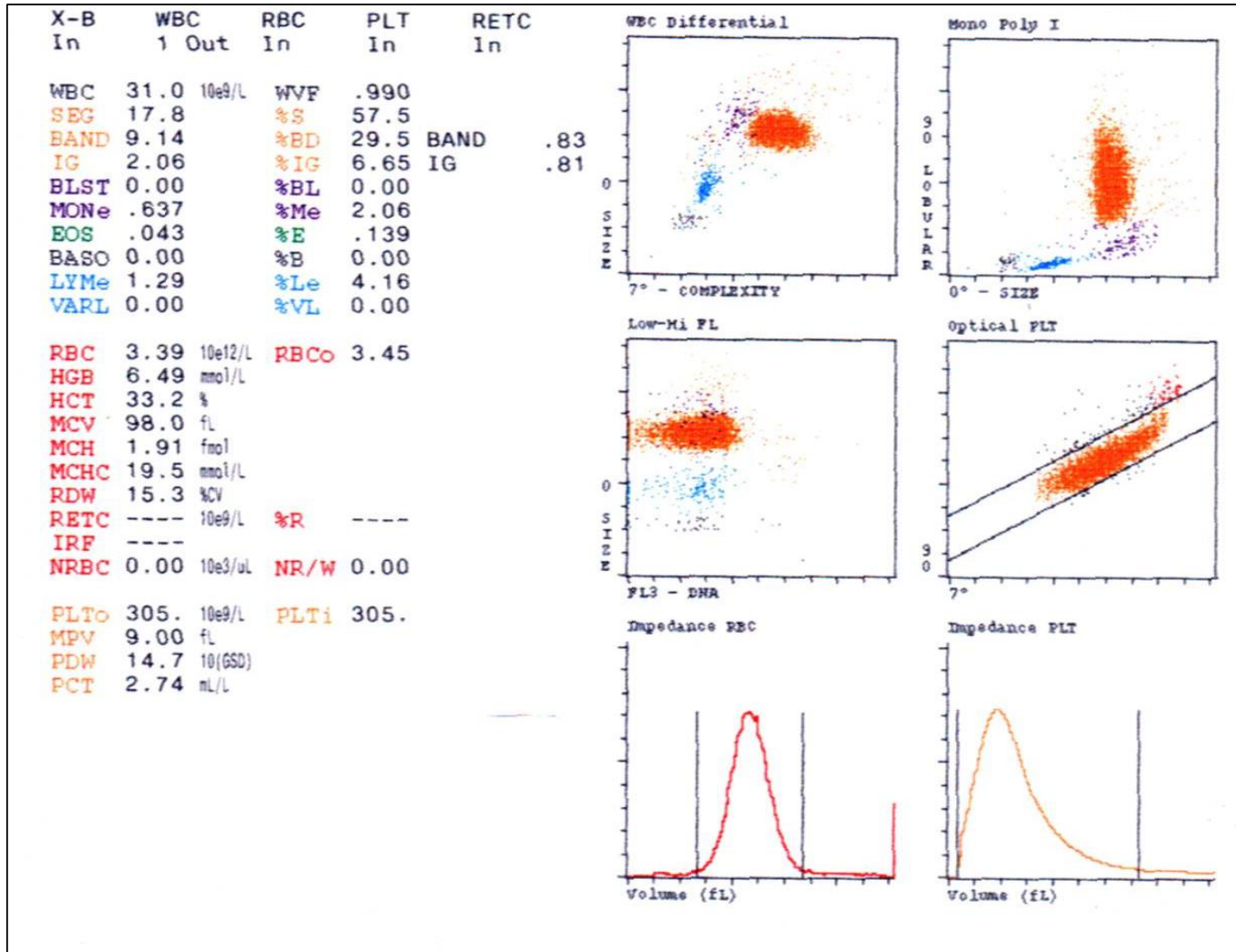
Příklady reakce na EDTA



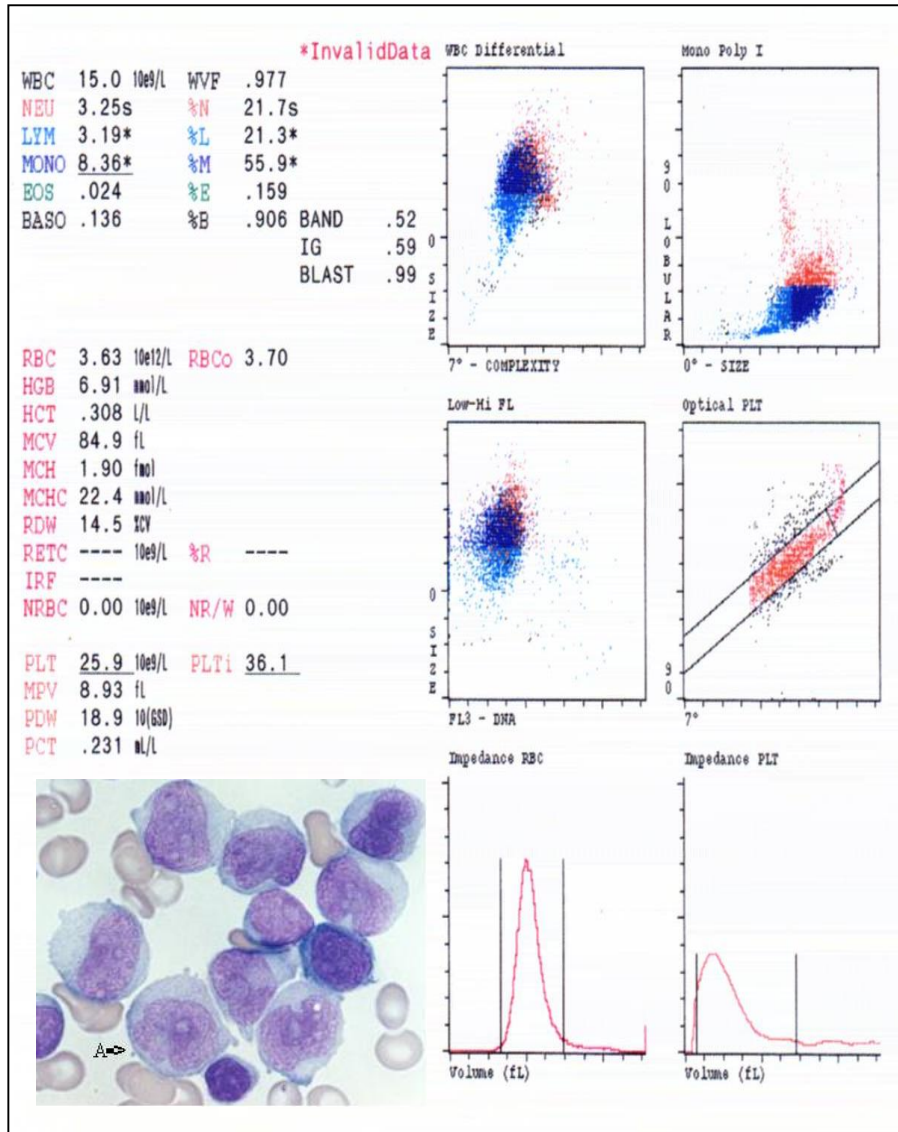
Pseudotrombocytopenie



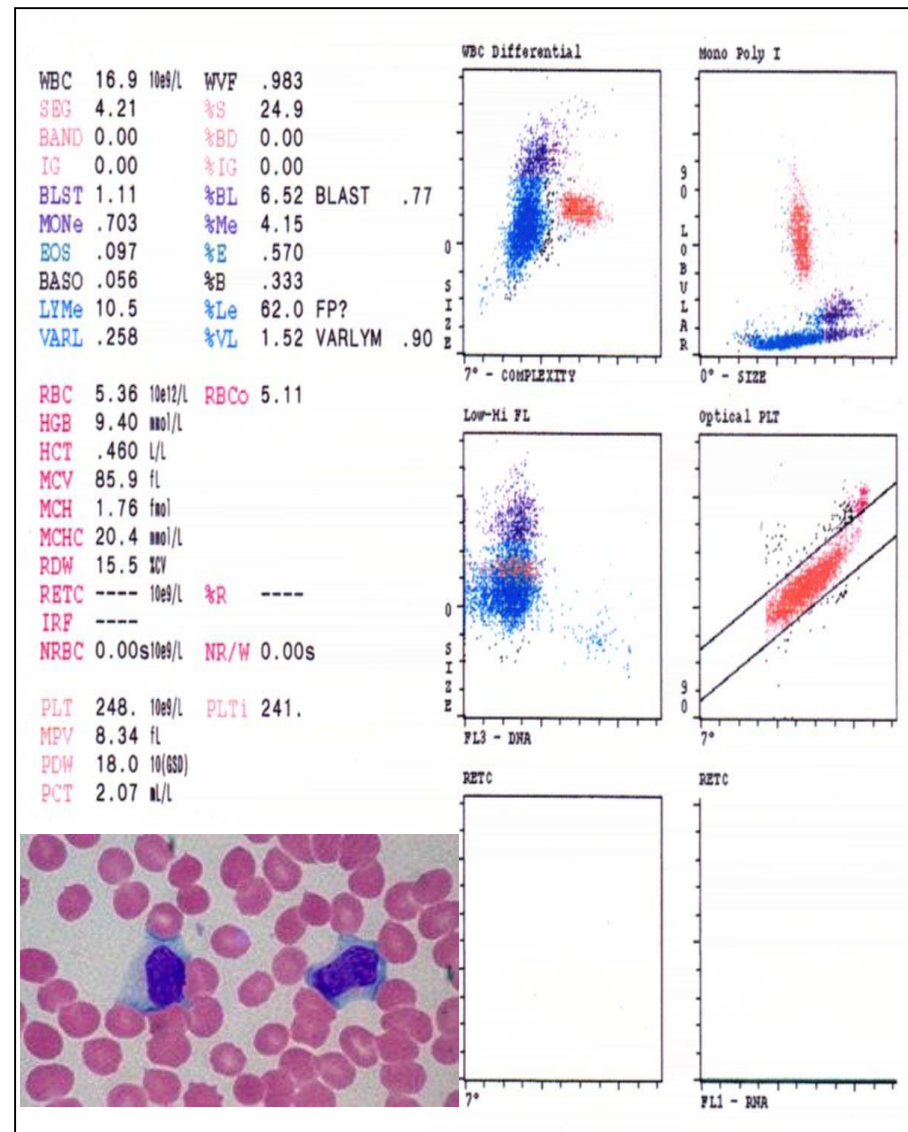
Infekce



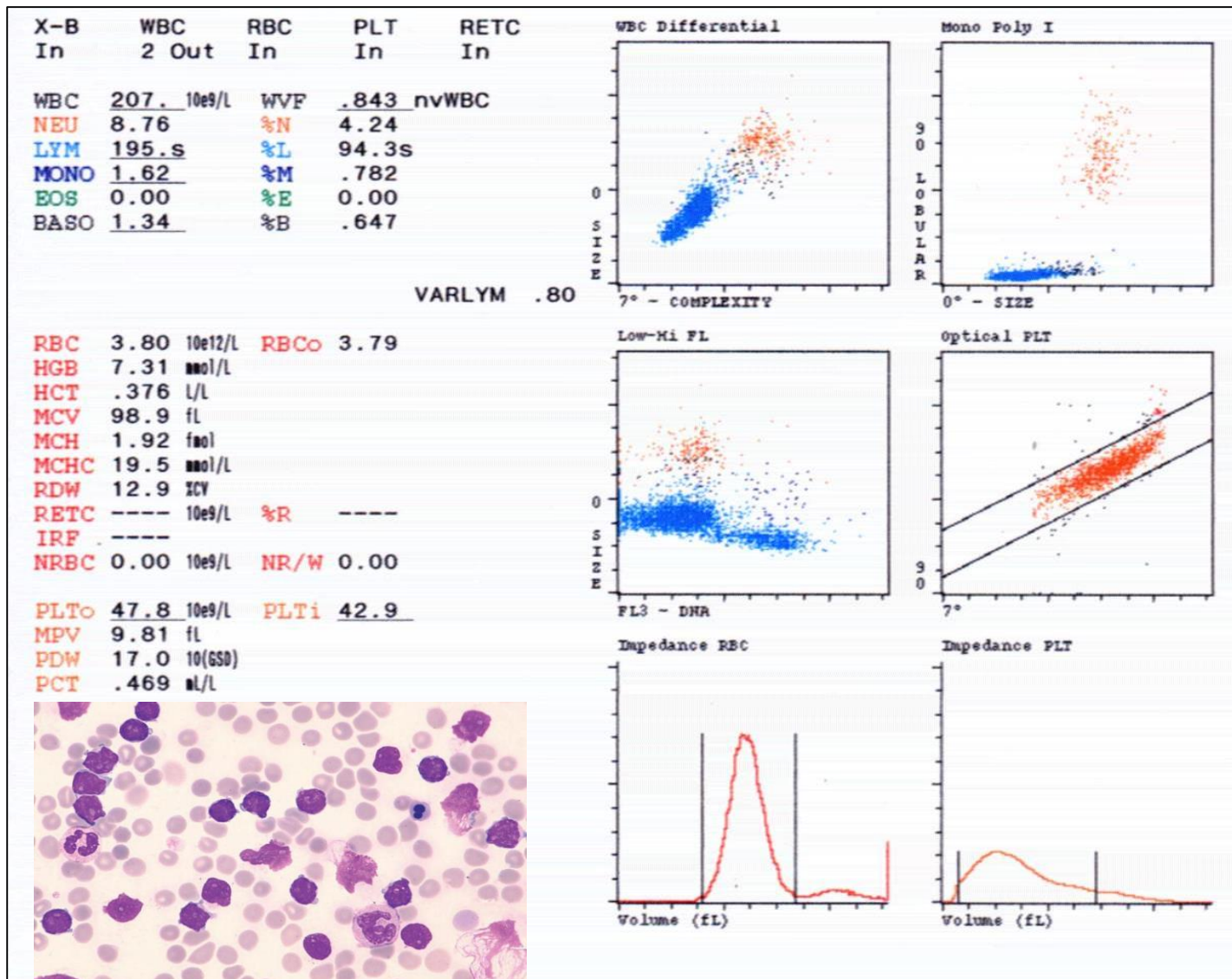
Monoblasty



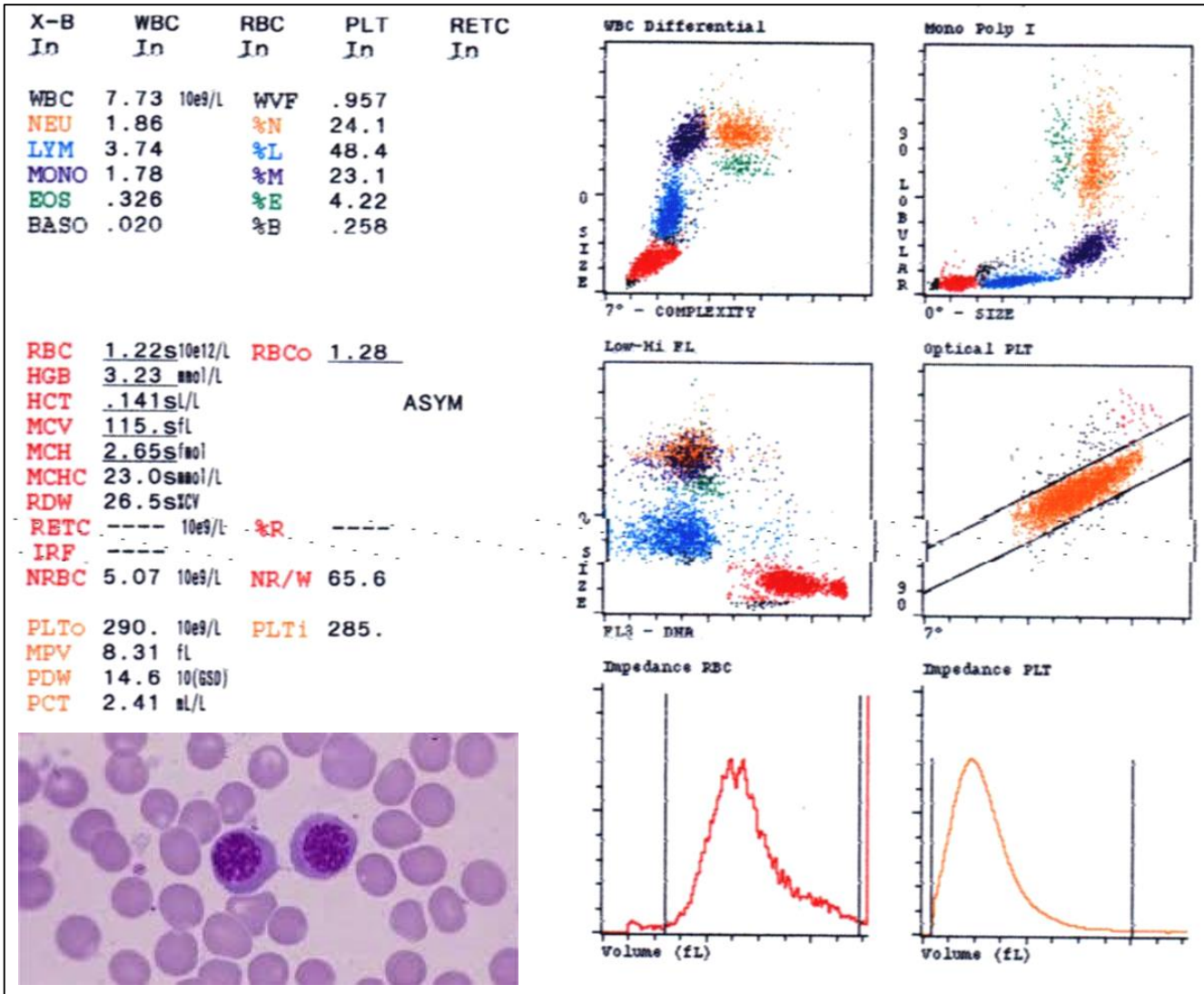
Mononukleóza



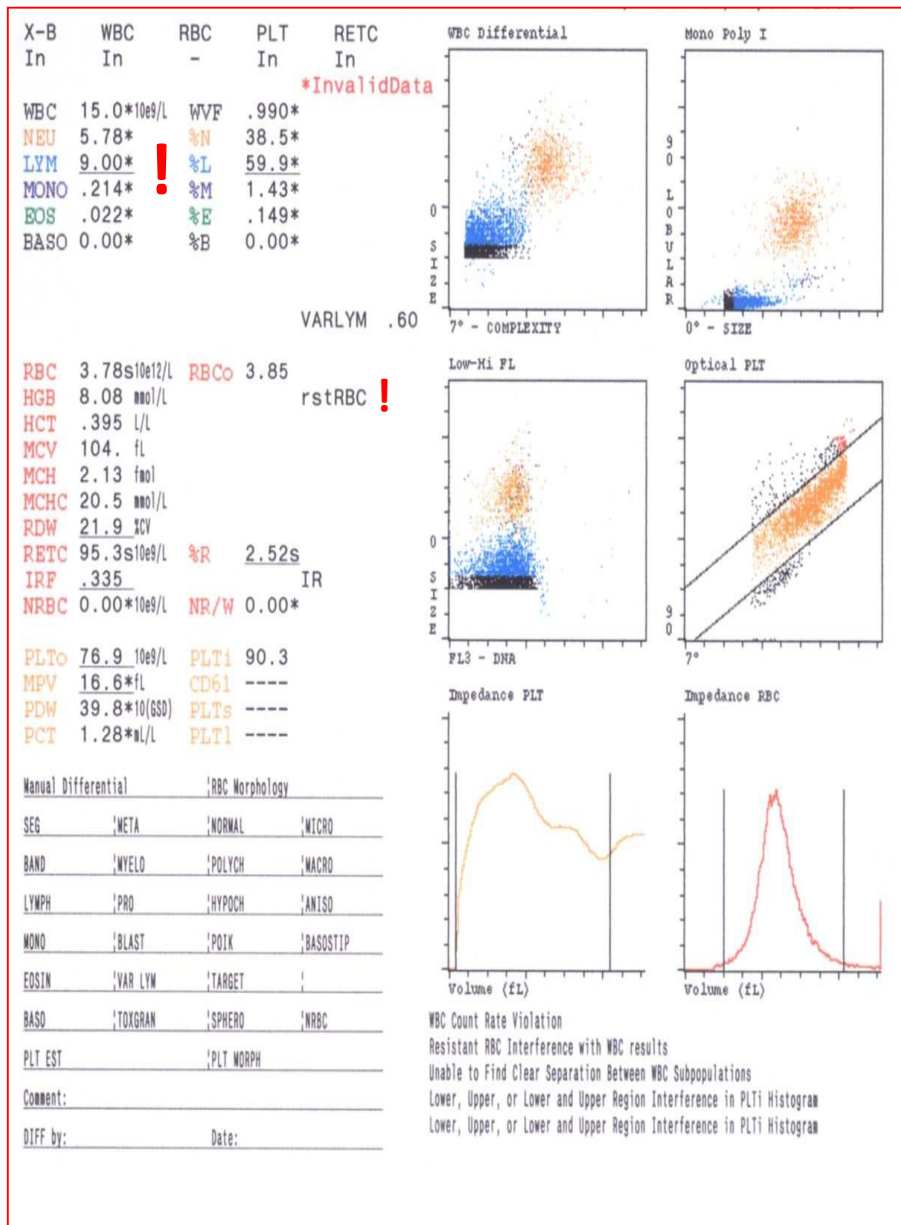
Chronická lymfatická leukémie



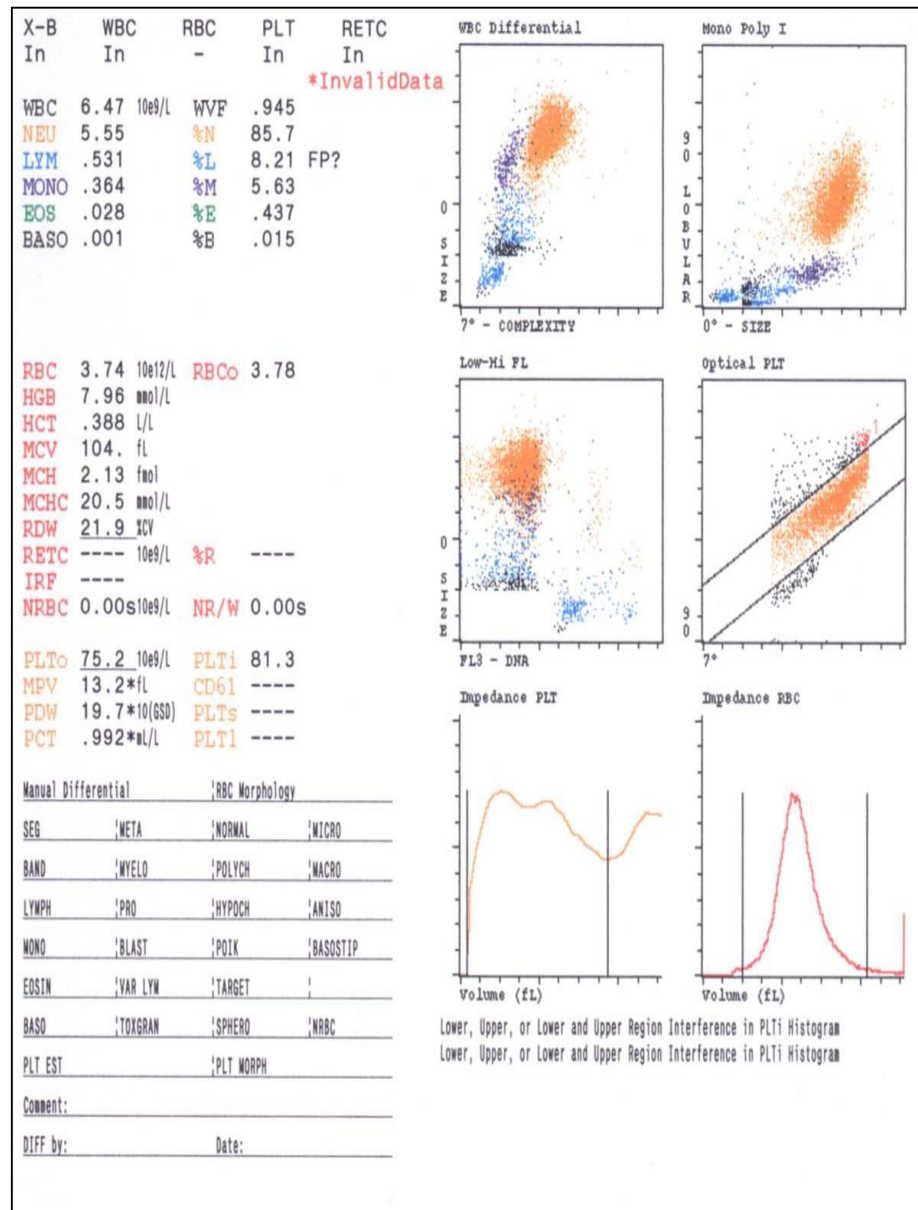
NRBC ve vzorku



Vzorek po dialýze



Po odstranění rstRBC



ALL a fragmenty cytoplazmy

