

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** ($10^9/\text{L}$, %)
(dif: NEU, LYM, MONO, EO, BASO)
- ***RBC** ($10^{12}/\text{L}$)
- ***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** ($10^9/\text{L}$, NRBC/100WBC)
- ***PLT** ($10^9/\text{L}$)
- ***MPV** (fL)
- **PCT** {PLTxMPV} (mL/L)
- **PDW** {z počtu a objemů MPV} (%CV)
heterogenita velikosti PLT populace
- **IPF** (podíl)
{nezralé PLT/všechny PLT}
- ***RET** ($10^9/\text{L}$, %)
- **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

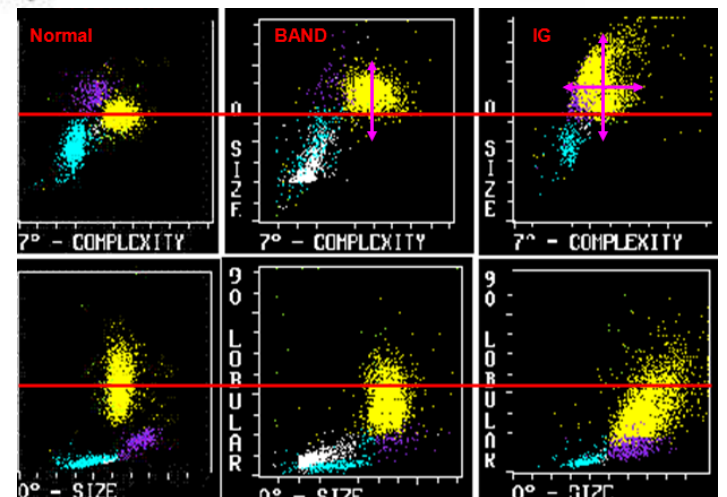
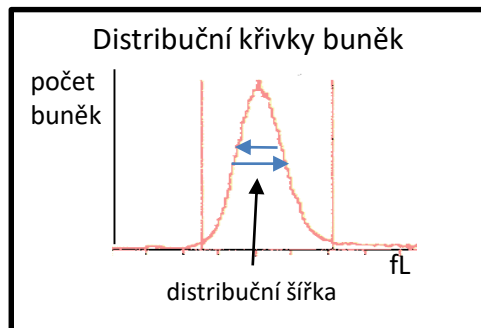
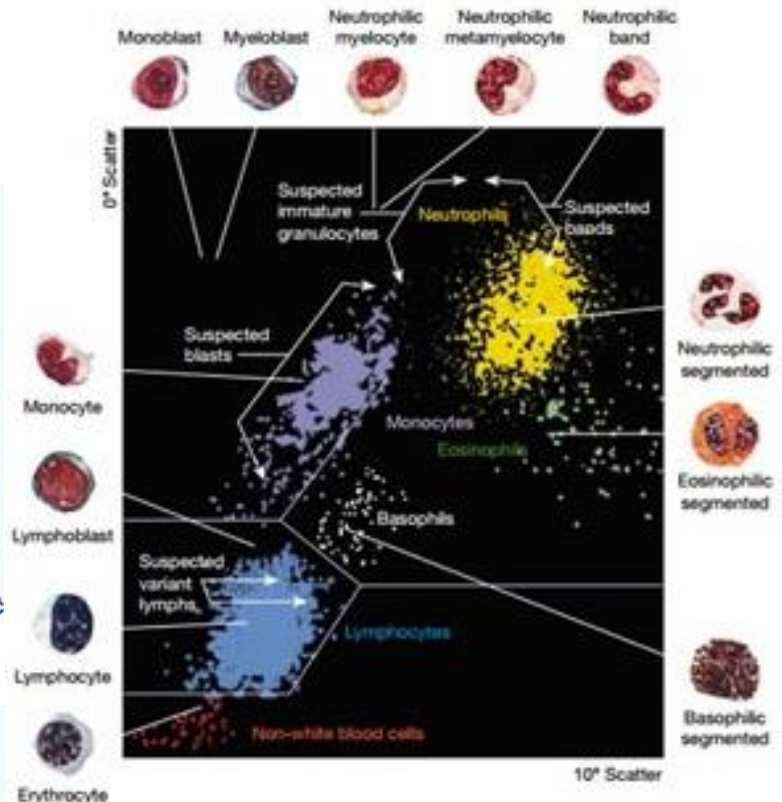
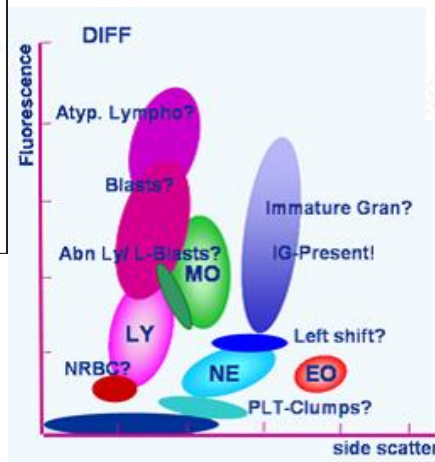
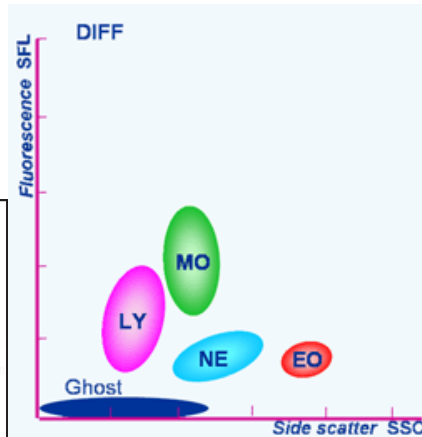
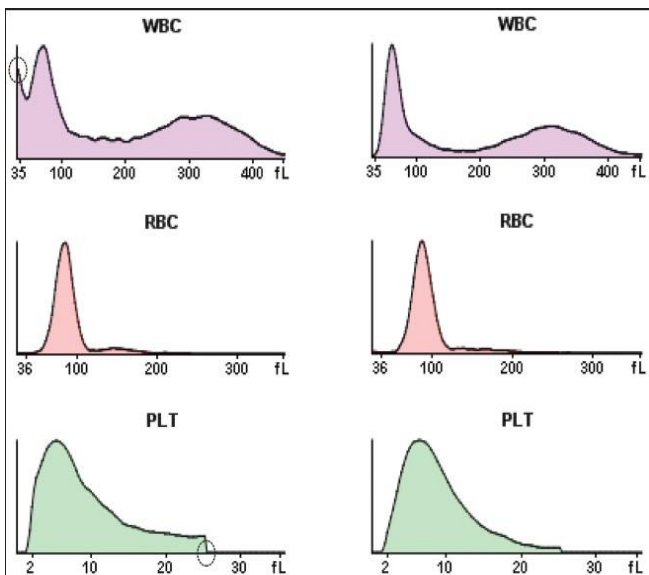
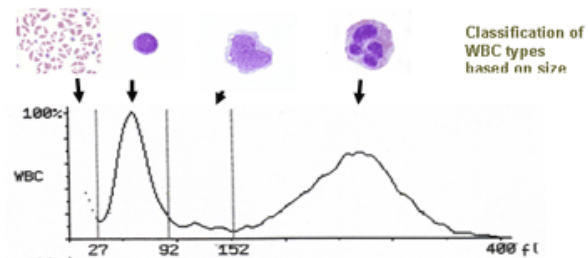
➤ PLT

- ✓ počet malých PLTs
- ✓ počet velkých PLTs
- ✓ 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 vyztřálých RETI
- ✓ množství schistocytů (fragmentů RBC)
- ✓ suspektní patologická hlášení

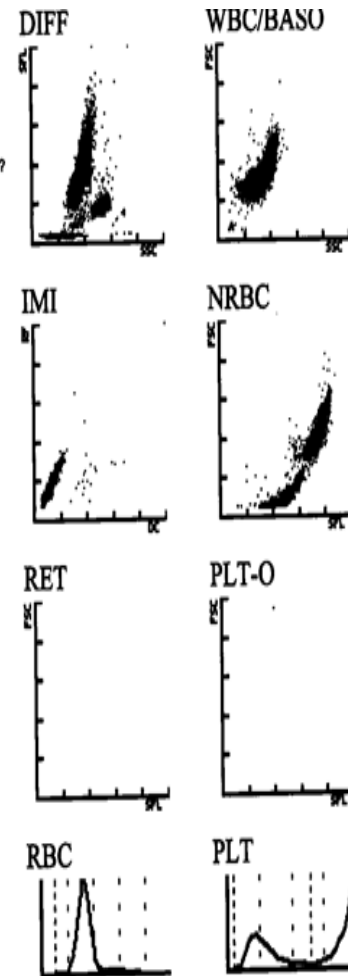
Grafické zobrazení analýzy krevních buněk - příklady



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

WBC	11.56	[10 ⁹ /L]	WBC (P Message(s))
NEUT	1.15	[10 ⁹ /L]	Lymphocytosis
LYMPH	8.21	[10 ⁹ /L]	Monocytosis
MONO	1.61	[10 ⁹ /L]	Basophilia
EO	0.02	[10 ⁹ /L]	Atypical Lympho?
BASO	0.57	[10 ⁹ /L]	Abn Lympho/Blasts?
IG	0.04	[10 ⁹ /L]	
RBC	5.15	[10 ¹² /L]	
HGB	139	[g/L]	
HCT	0.417	[Ratio]	Microcytosis
MCV	81.0	[fL]	
MCH	27.0	[pg]	
MCHC	333	[g/L]	
RDW-CV	14.3	[%]	
RET		[10 ⁹ /L]	[%]
IRF		[Ratio]	
RET-He		[pg]	
IPF		[%]	
NRBC	0.00	[10 ⁹ /L]	0.0 [100WBC]
PLT	148	[10 ⁹ /L]	
MPV	11.4	[fL]	
PDW	15.2	[fL]	
PCT	0.17	[%]	



normální vzorek
s normálním HCT



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



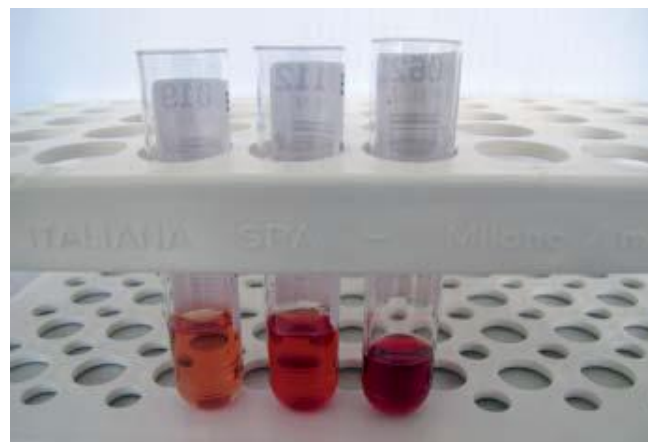
chylózní vzorek



ikterické vzorky a hemolytické vzorky

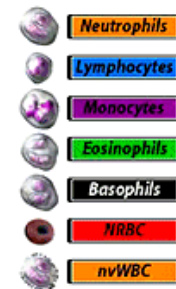
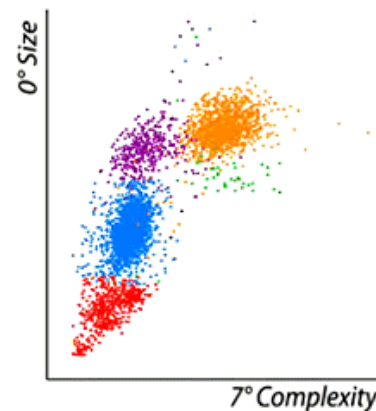
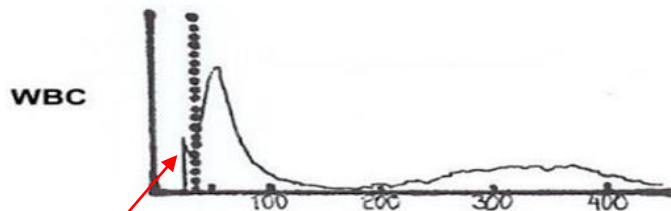


různé stupně hemolytických vzorků



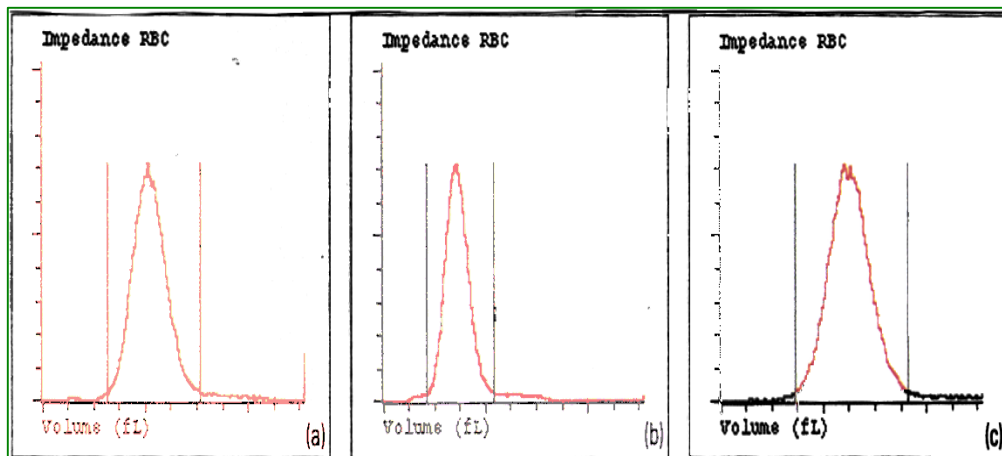
Hodnocení WBC

- 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*)

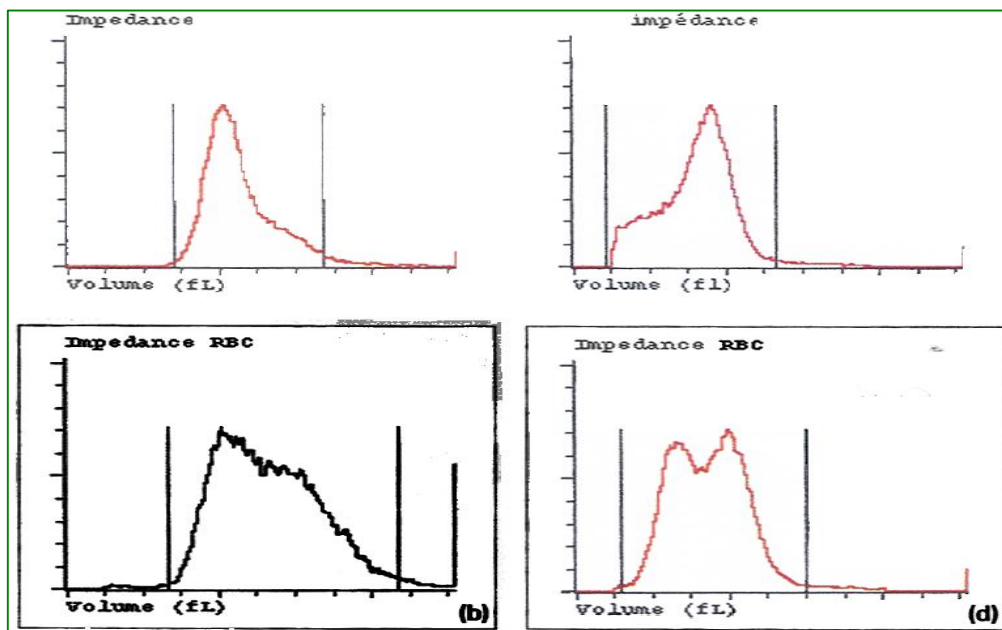


Hodnocení RBC

- 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) - mikrocety (c) - makrocety



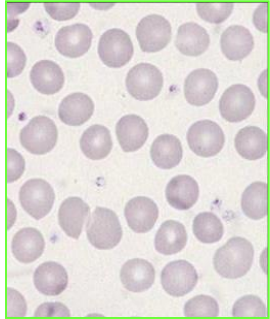
Impedanční histogramy RBC - RDW (vysoké)
nad horní hranici referenčních mezí

(a) - příměs makrocetů
(b) - vysoký podíl makro
(c) - masivně mikrocety (*schistocety*)
(d) - mikrocety + normocety

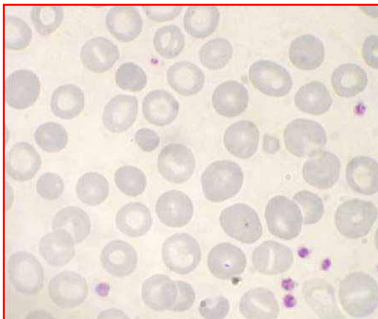
Morfologie RBC

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

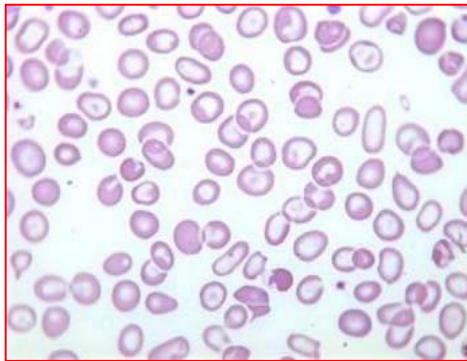
normocyty



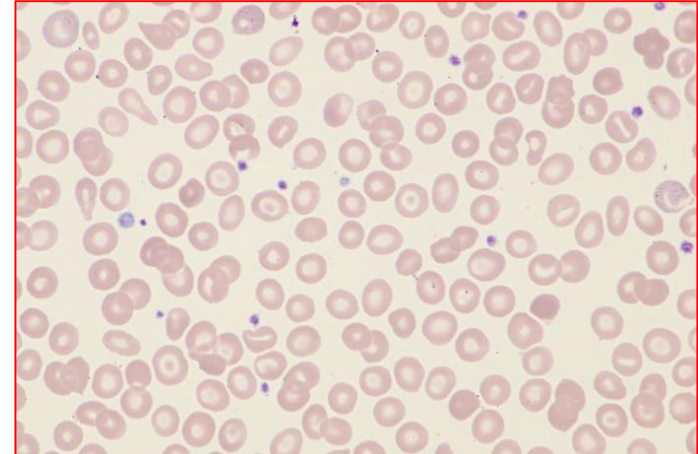
anizocytóza



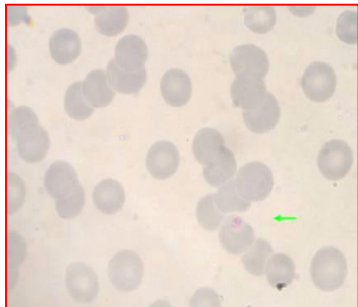
anizochromie



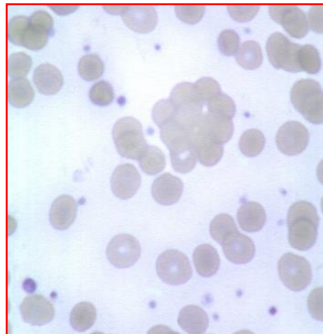
tvarové odchylky RBC



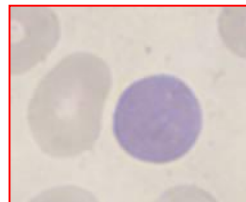
penízkovitění RBC



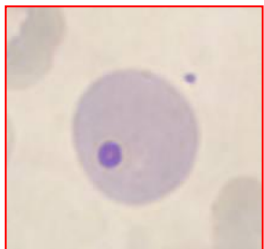
aglutinace RBC



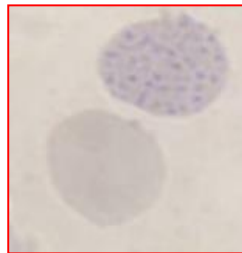
polychromázie



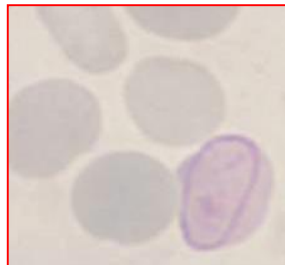
Howell-Jollyho tělísko



bazifilní tečkování



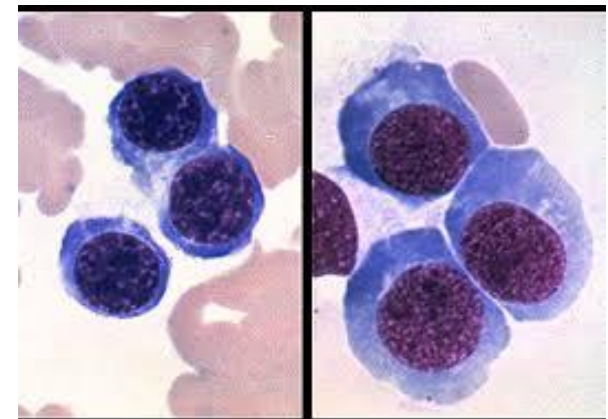
Cabotovy prstence



NRBC

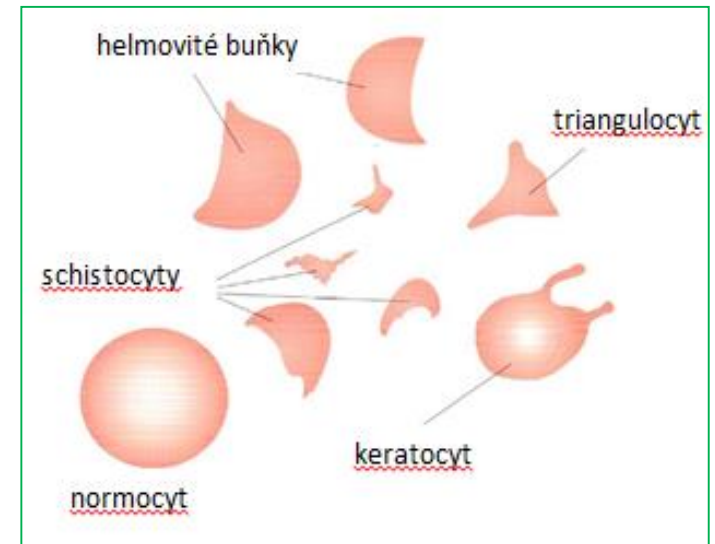
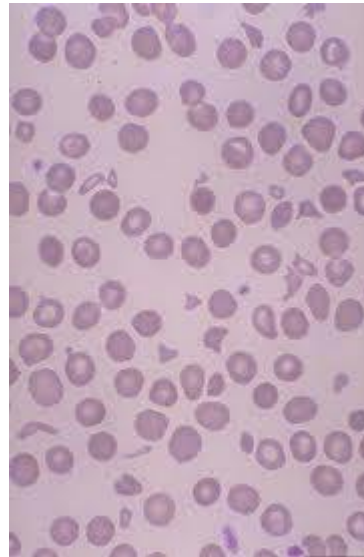
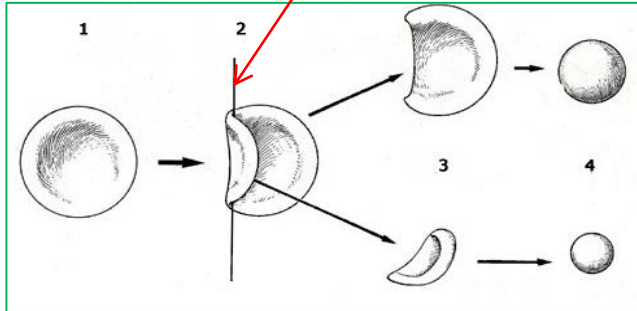
X

megaloblast

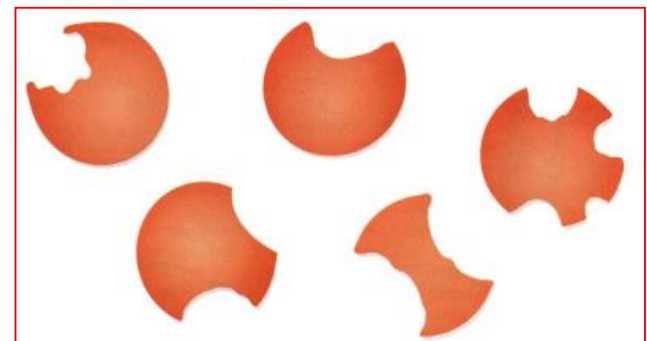
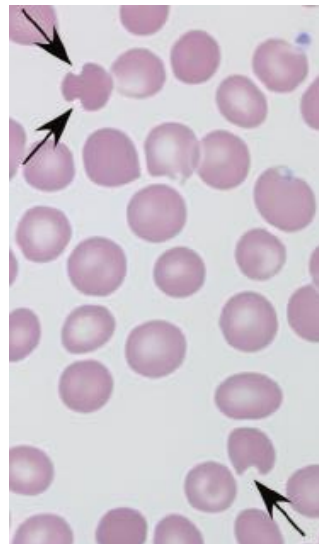
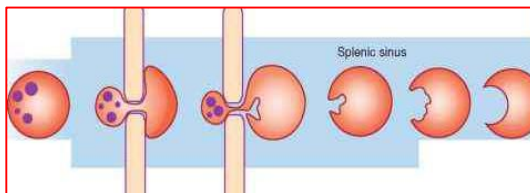


Schistocyt (tvarové odchylky)

mechanismus vzniku:
přetržení erytrocytu
na fibrinových vláknech



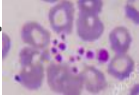
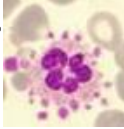
Bite cells
(„vykousnuté“ buňky)



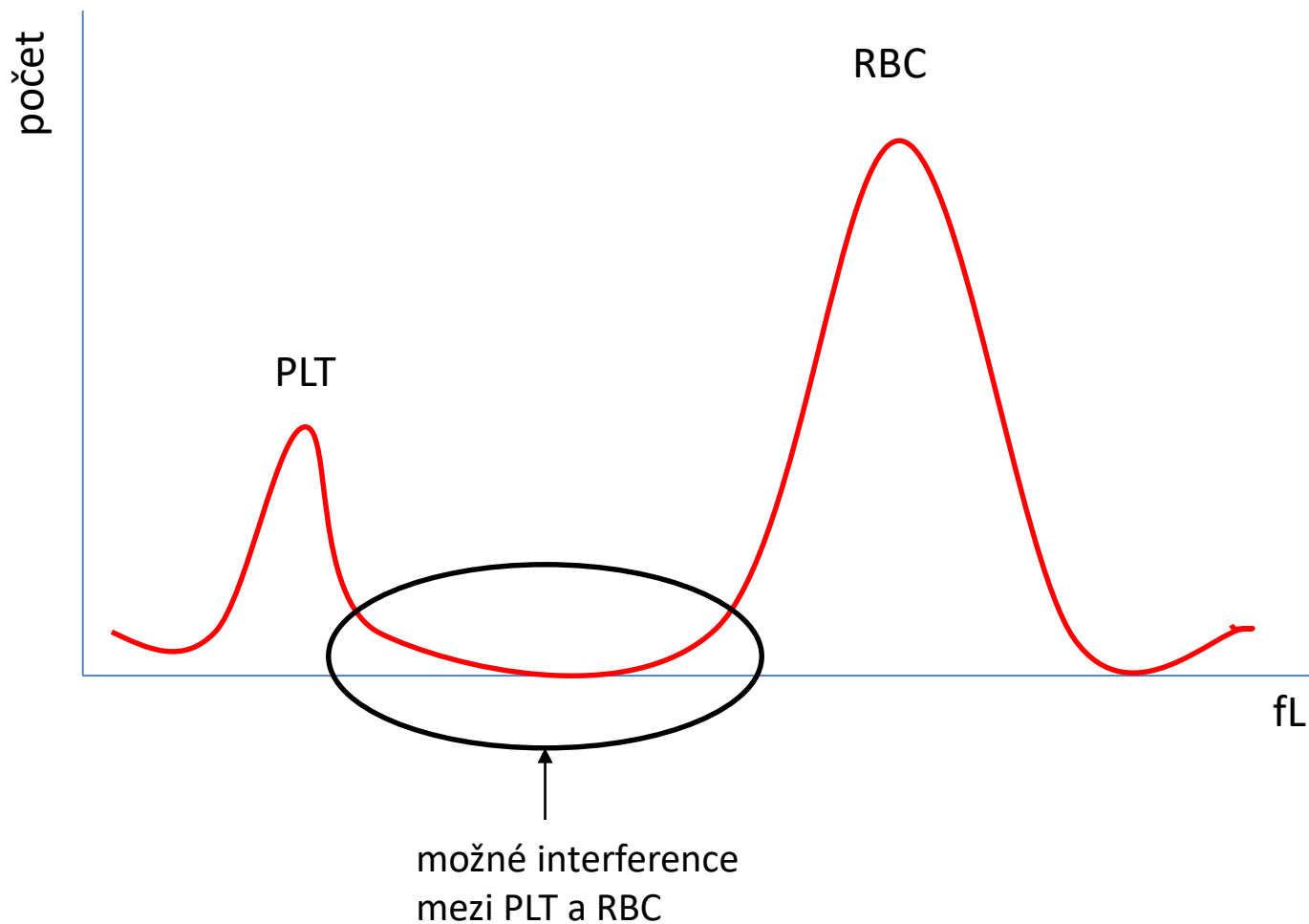
Hodnocení PLT

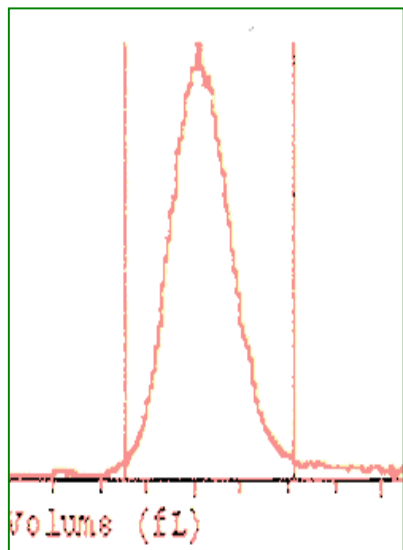
- parametry: PLT, MPV
 - ✓ hodnotit numerické výsledky
 - ✓ nelze sledovat morfologii (*MPV je pouze střední objem všech PLT, neinformuje o rozložení celé populace*)
- parametry: PDW + distribuční křivky (*šířka, rozložení, umístění na ose*)
 - ✓ lze posuzovat morfologii
 - ✓ základní přístrojové ukazatele 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

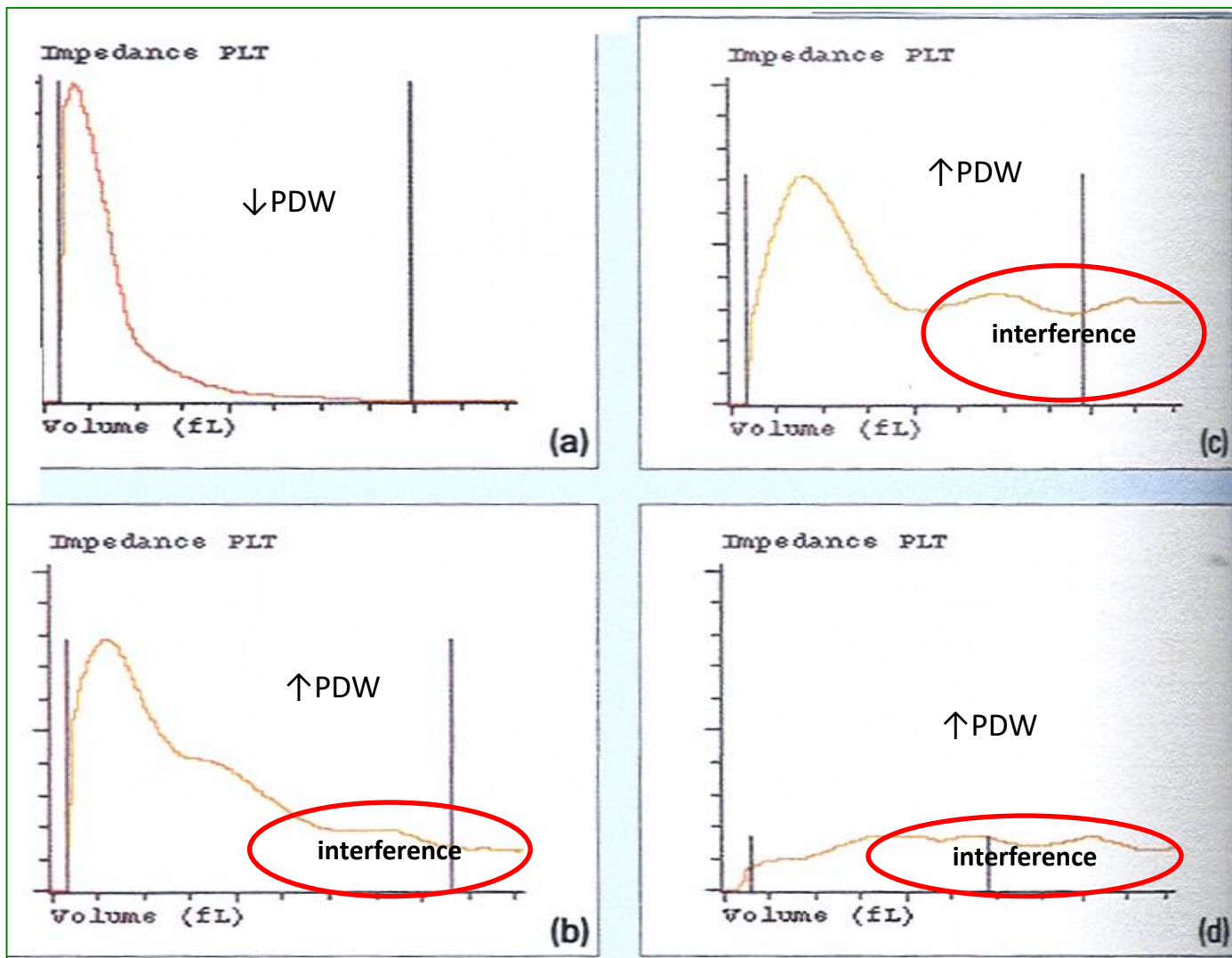
- Při odběru periferní krve do (K₂,K₃,Na₂)EDTA jsou přítomny shluky PLT  nebo satelitoza PLT .
- in vivo: skutečný počet PLT
- in vitro:
 - ✓ odběr do (K,Na)EDTA: falešně snížený počet PLT /pseudotrombocytopenie (může nastat za přítomnosti protilátek, ale i u zdravých jedinců)
 - ✓ odběr do MgSO₄: správný 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

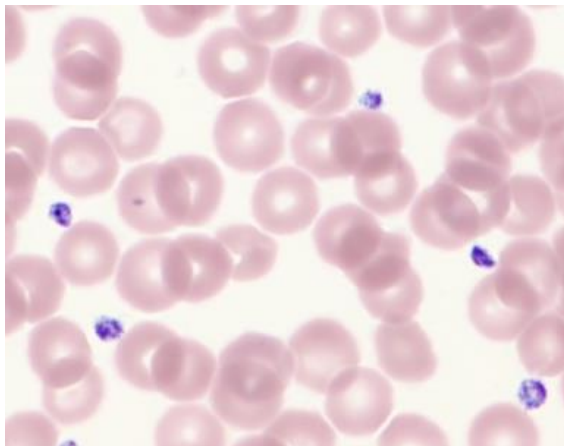


Impedanční histogramy PLT

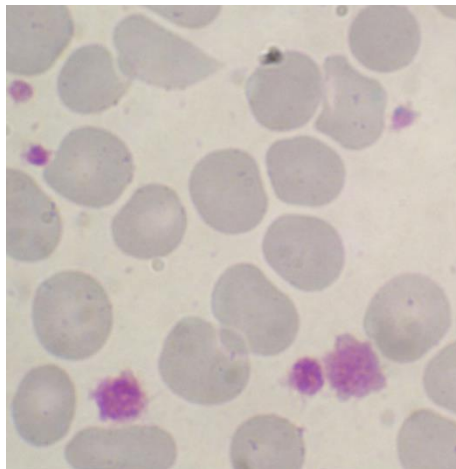
(a) – nízké MPV, (b-d) - interference

Morfologie PLT

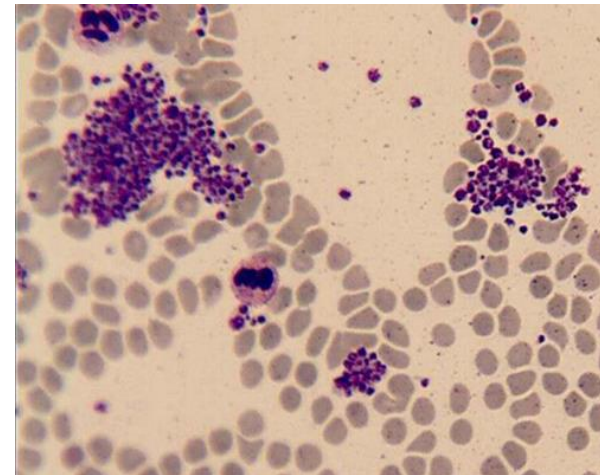
fyziologické PLT



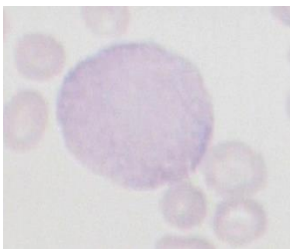
anizocytóza PLT



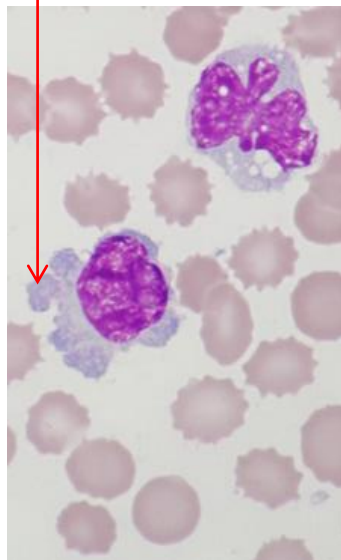
sraženiny, shluky PLT



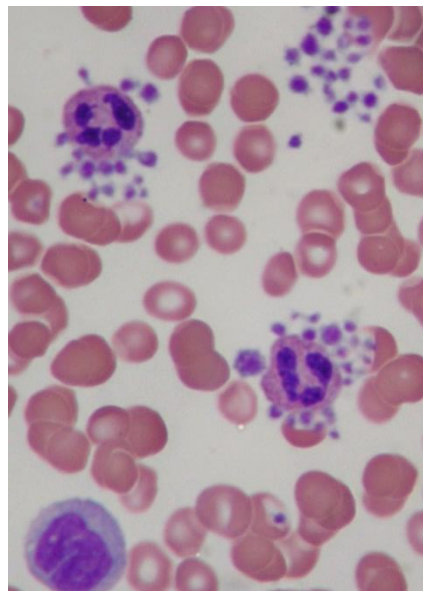
makro, gigantické PLT



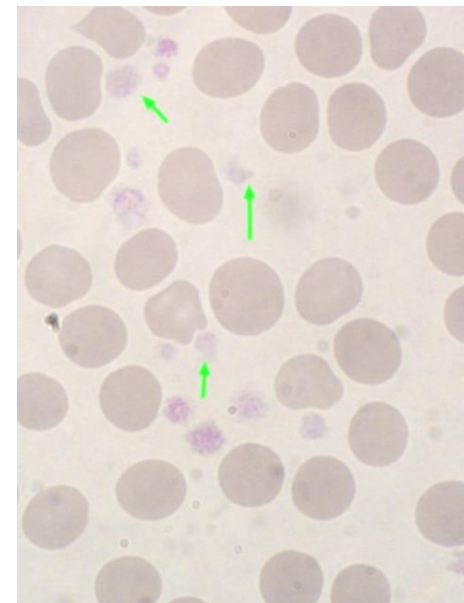
fragmenty cytoplazmy WBC



satelitóza PLT



hypogranulární PLT



Hodnocení morfologie - důležité základní parametry

WBC

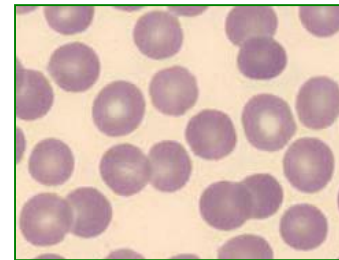
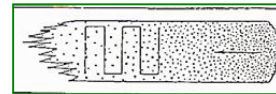
- velikost buněk: malé, střední, velké
- charakteristika jádra: holá jádra, poměr jádra k cytoplazmě, jaderný chromatin, jadérka (*přítomnost, nepřítomnost, počet, velikost*), členitost a tvar jádra (*hypo-, hypersegmentace NE*), velikost jádra, podíl jádra a cytoplazmy v buňce (*N/C poměr*)
- charakteristika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

RBC

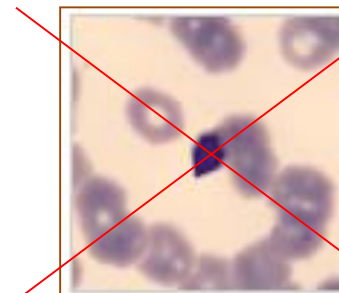
- velikost buněk (*MCV, RDW, distribuční křivka*)
- odchylky:
 - ✓ barevné (*MCH, MCHC*)
 - ✓ tvarové, inkluze, shluky
- jaderné buňky

PLT

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



správné zorné pole



nesprávné zorné pole

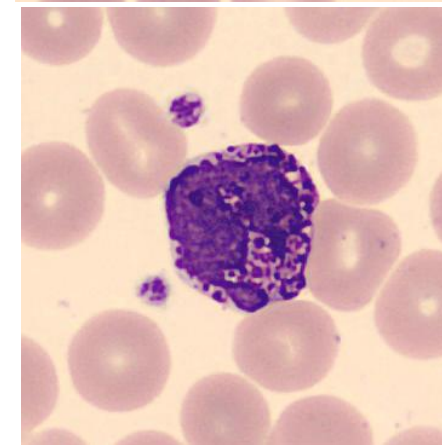
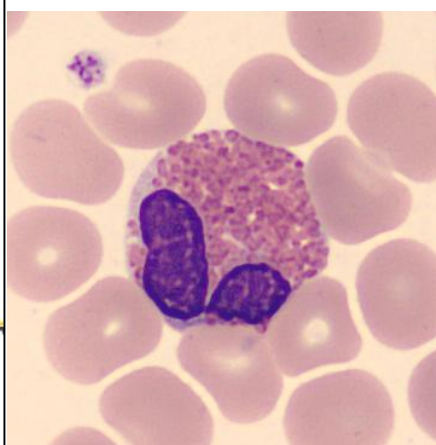
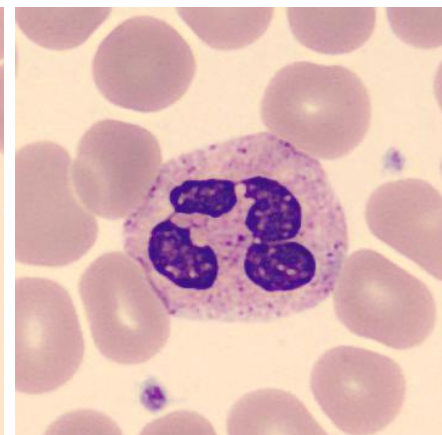
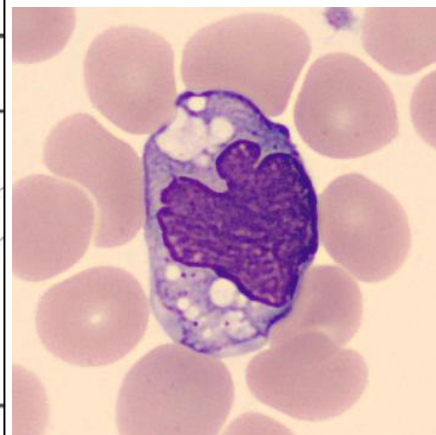
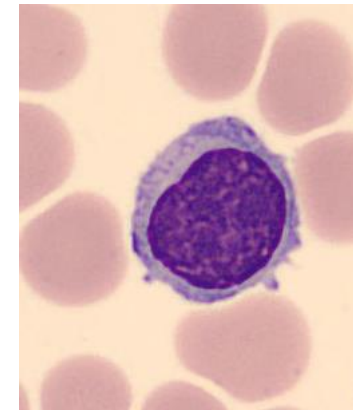
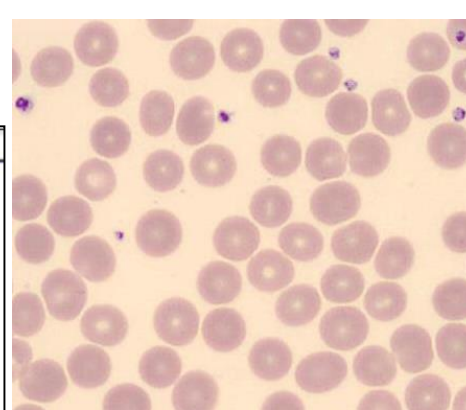
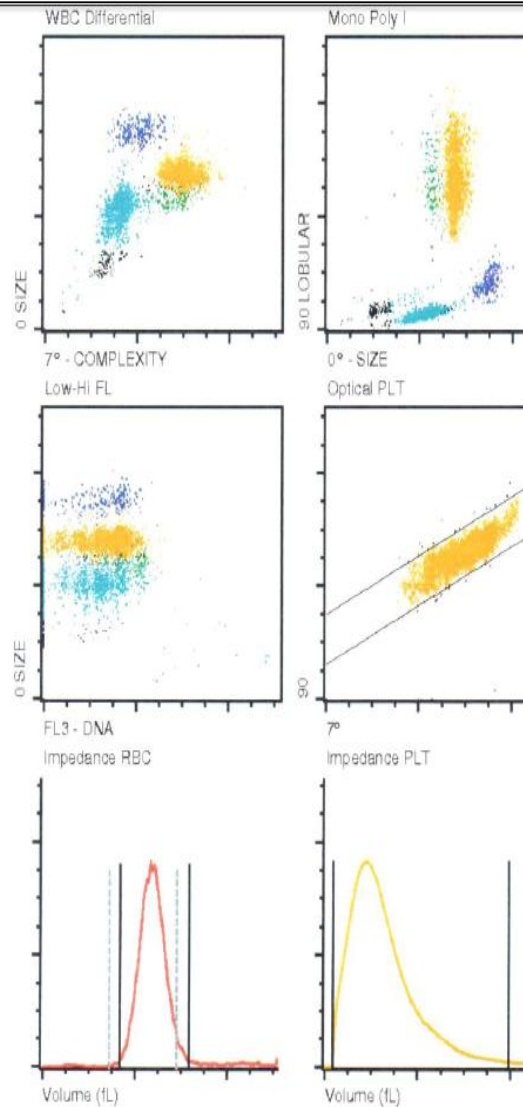
***Příklady přístrojové analýzy krevního obrazu
a diferenciálního rozpočtu WBC***

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
WBC	7.36	10e9/L	WVF	.991
SEG	3.97		%S	54.0
BAND	0.00		%BD	0.00
IG	0.00		%IG	0.00
BLST	0.00		%BL	0.00
MONe	.450		%Me	6.11
EOS	.299		%E	4.06
BASO	.023		%B	.318
LYMe	2.61		%Le	35.5
VARL	0.00		%VL	0.00
RBC	4.13	10e12/L	RBCo	4.22
HGB	138.	g/L	%MIC	.661
HCT	.406	L/L	%MAC	3.87
MCV	<u>98.4</u>	fL	%HPO	---
MCH	33.5	pg	%HPR	---
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	---
%tP	---	%		

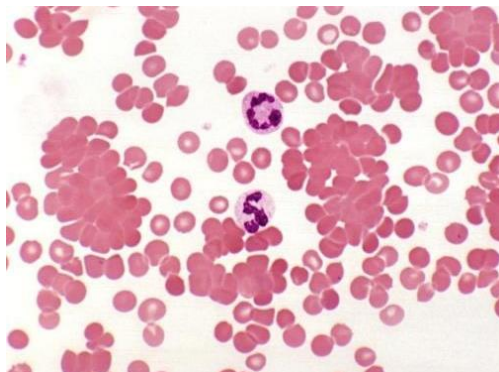
Manual Differential	RBC Morphology	
SEG	META	NORMAL
BAND	MYELO	POLYCH
LYMPH	PRO	HYPDCH
MONO	BLAST	POIK
EOSIN	VAR LYM	TARGET
BASO	TOXGRAN	SPHERO
PLT EST		PLT MORPH



Chladové protilátky

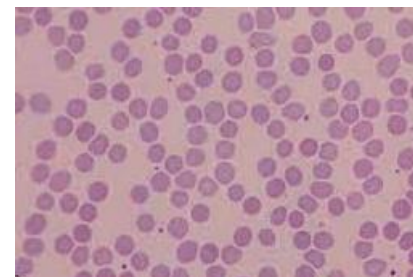
KO – před zahřátím

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 +	[%]		

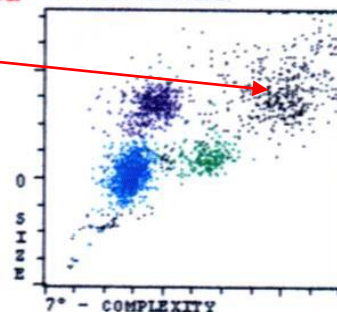


Satelitóza trombocytů

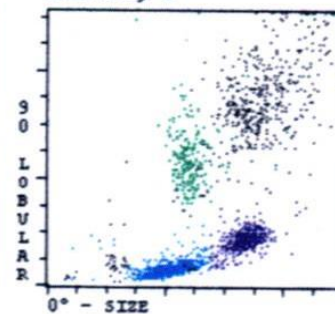
WBC	3.20*10e9/L	WVF	.954*
NEU	0.00*	%N	0.00*
LYM	2.00*	%L	62.6*
MONO	.663*	%M	20.7*
EOS	.512*	%E	16.0*
BASO	.023*	%B	.732*

*InvalidData

WBC Differential



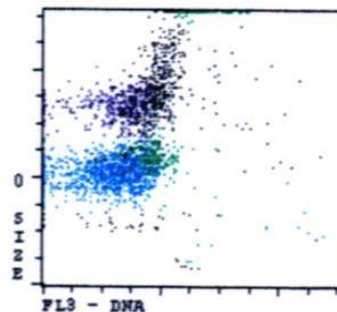
Mono Poly I



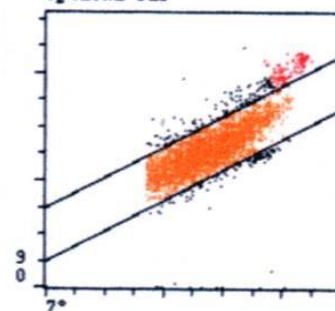
VARLYM .50

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*	

Low-Mi FL

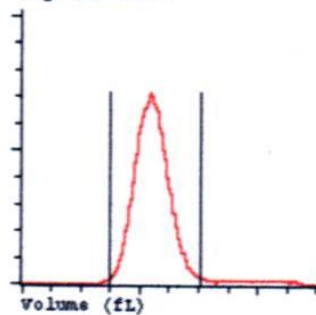


Optical PLT

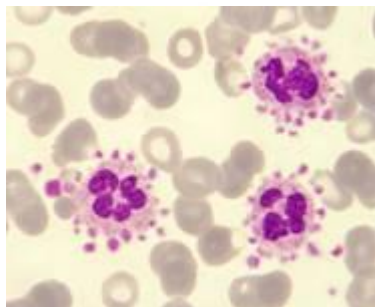
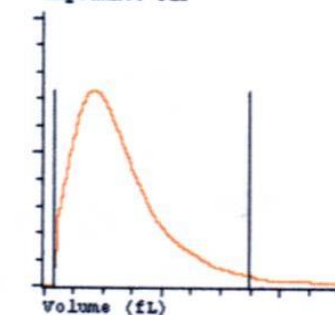


PLT	156.	10e9/L	PLTi	162.
MPV	8.48	fL		
PDW	16.9	10(GSD)		
PCT	1.32	nL/L		

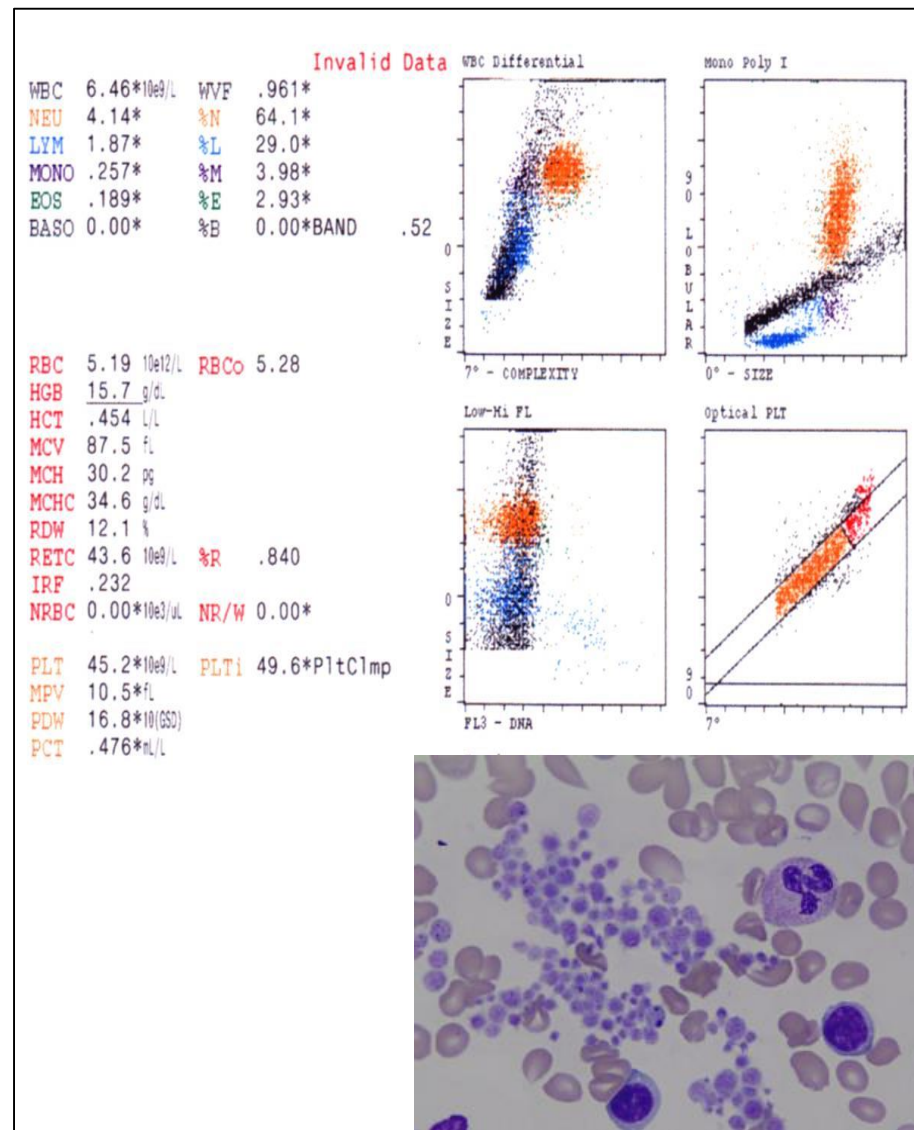
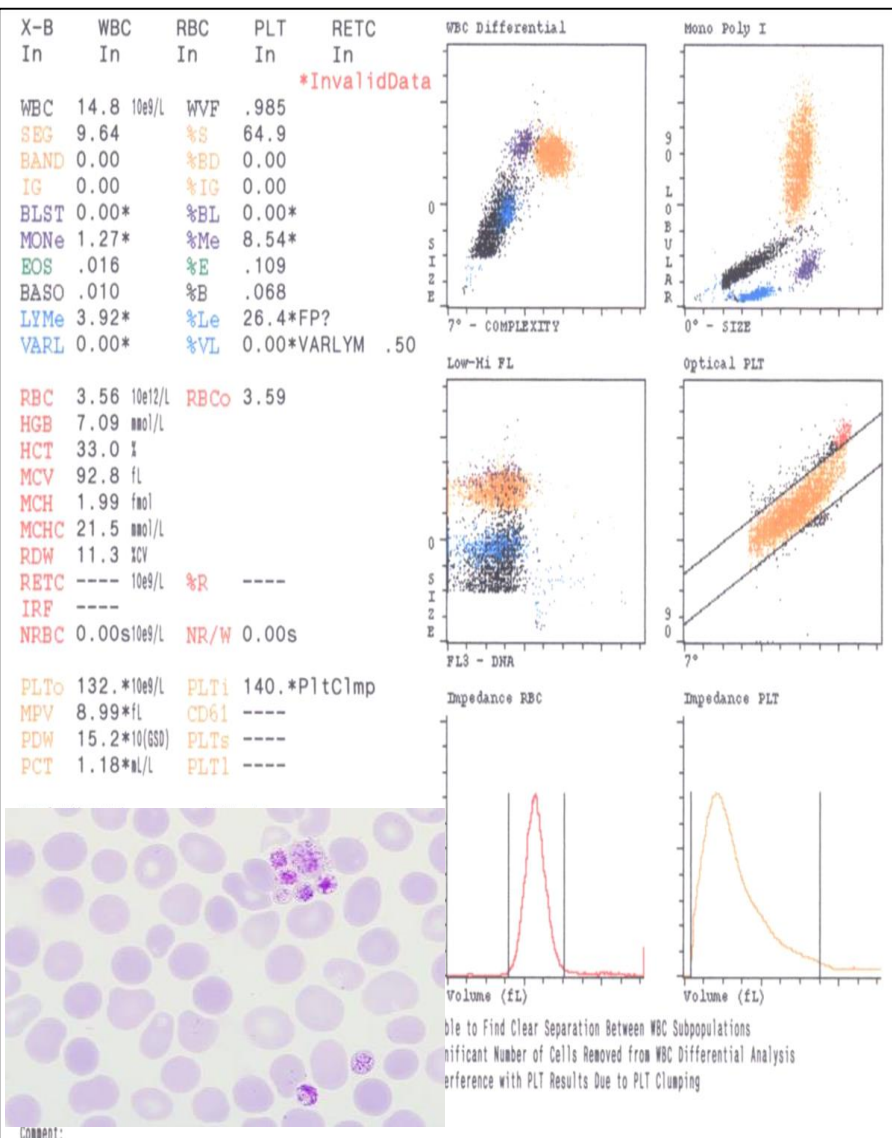
Impedance RBC



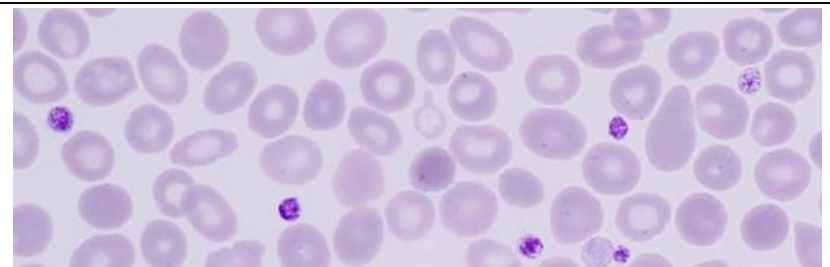
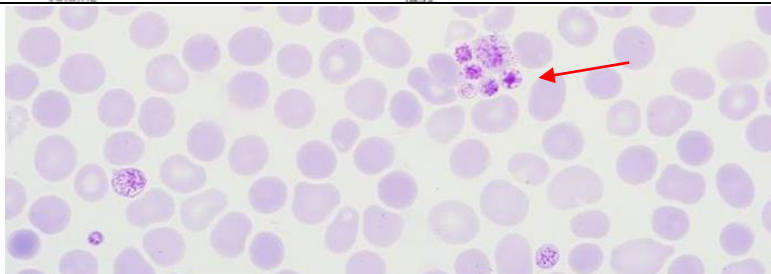
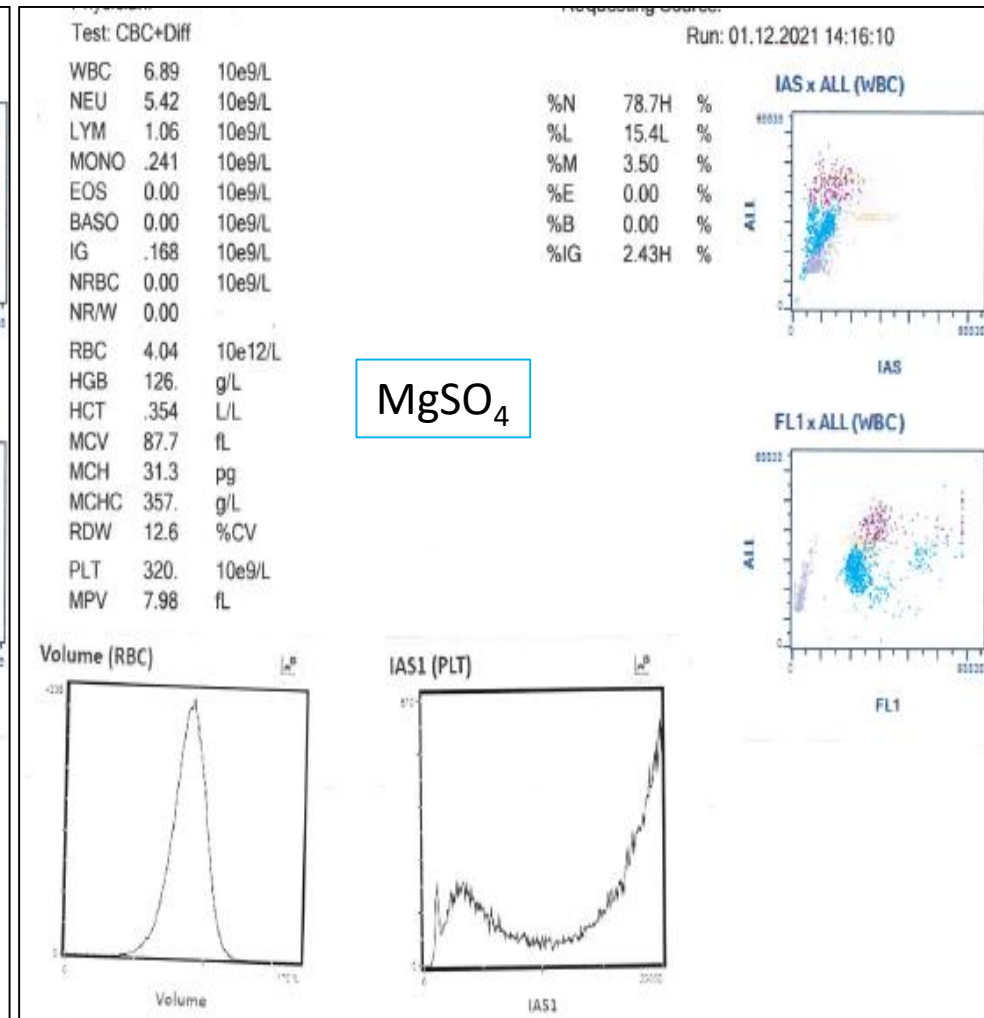
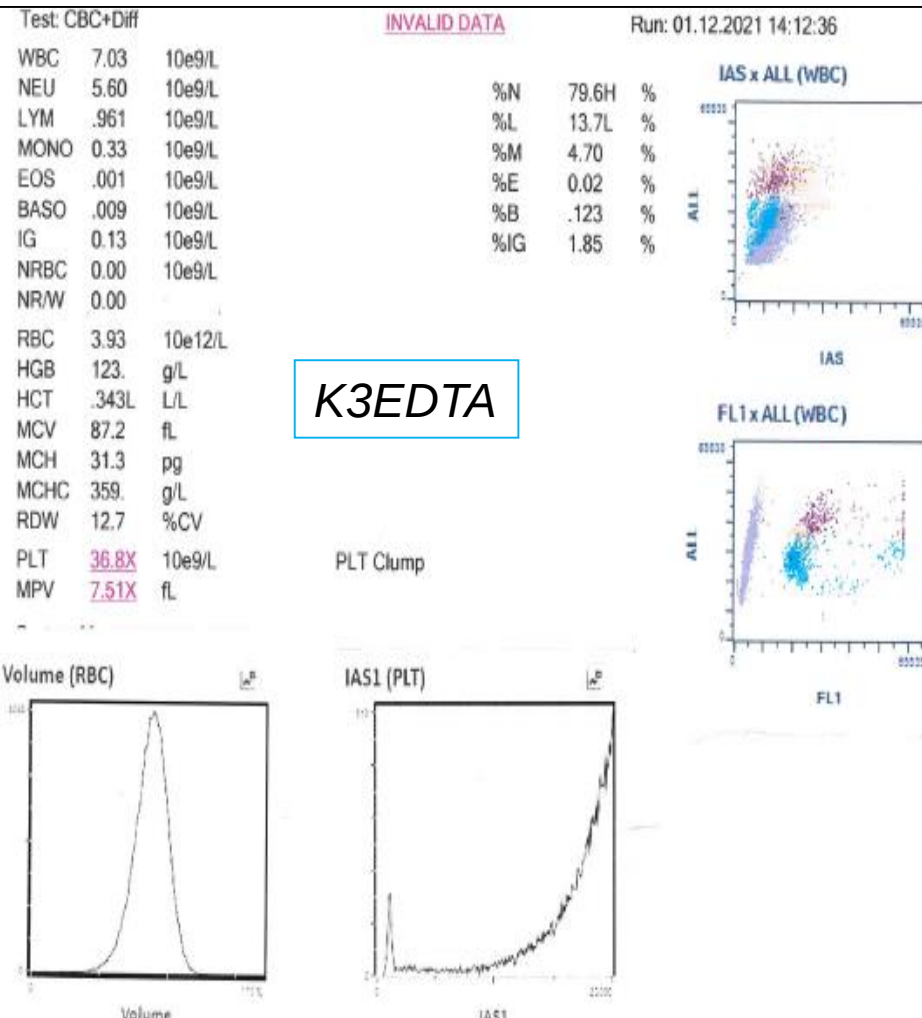
Impedance PLT



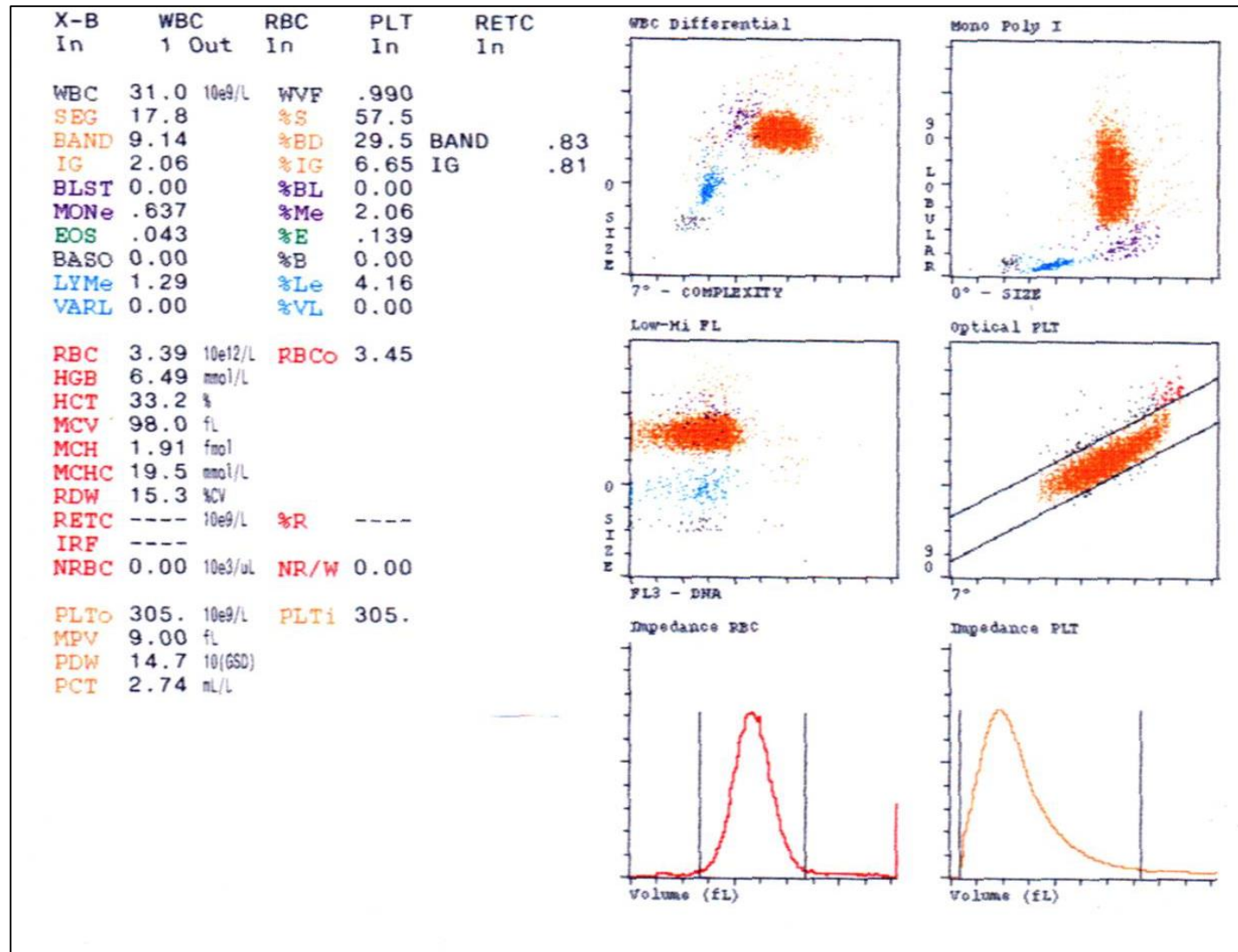
Příklady reakce na EDTA



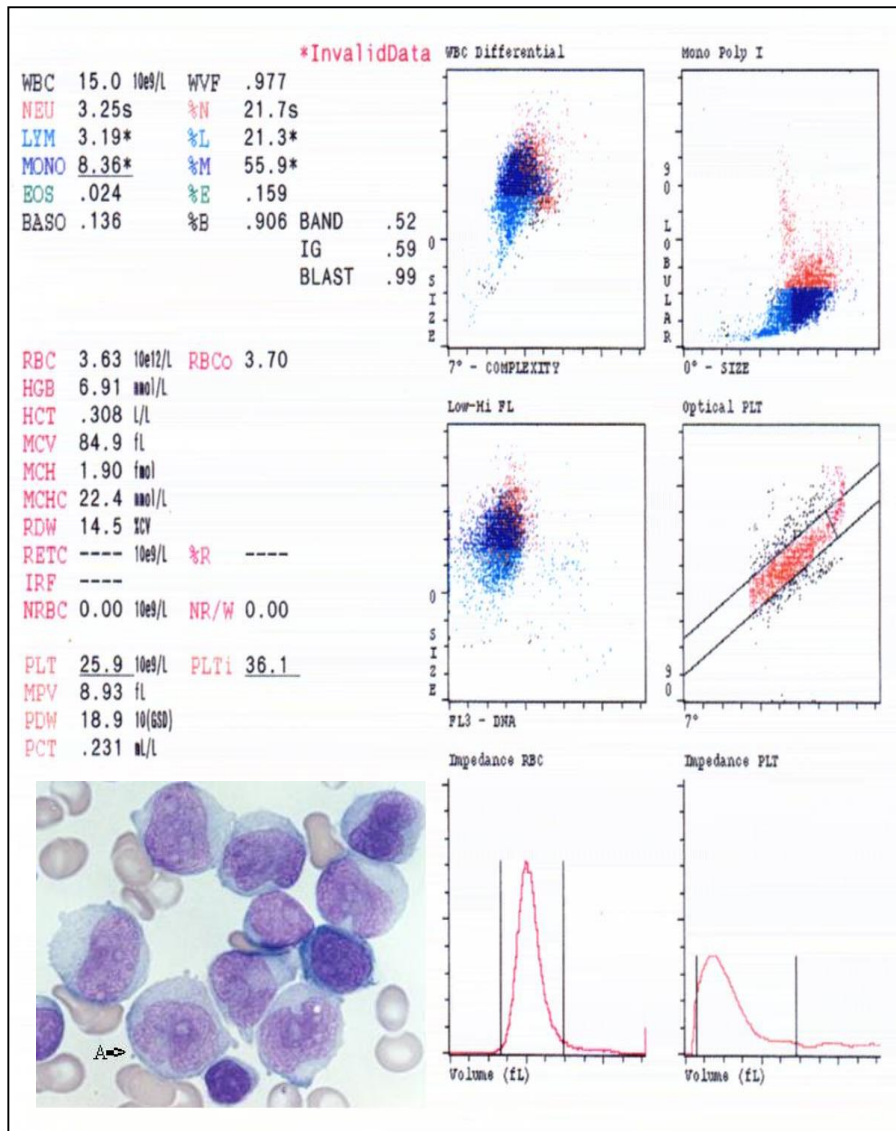
Pseudotrombocytopenie



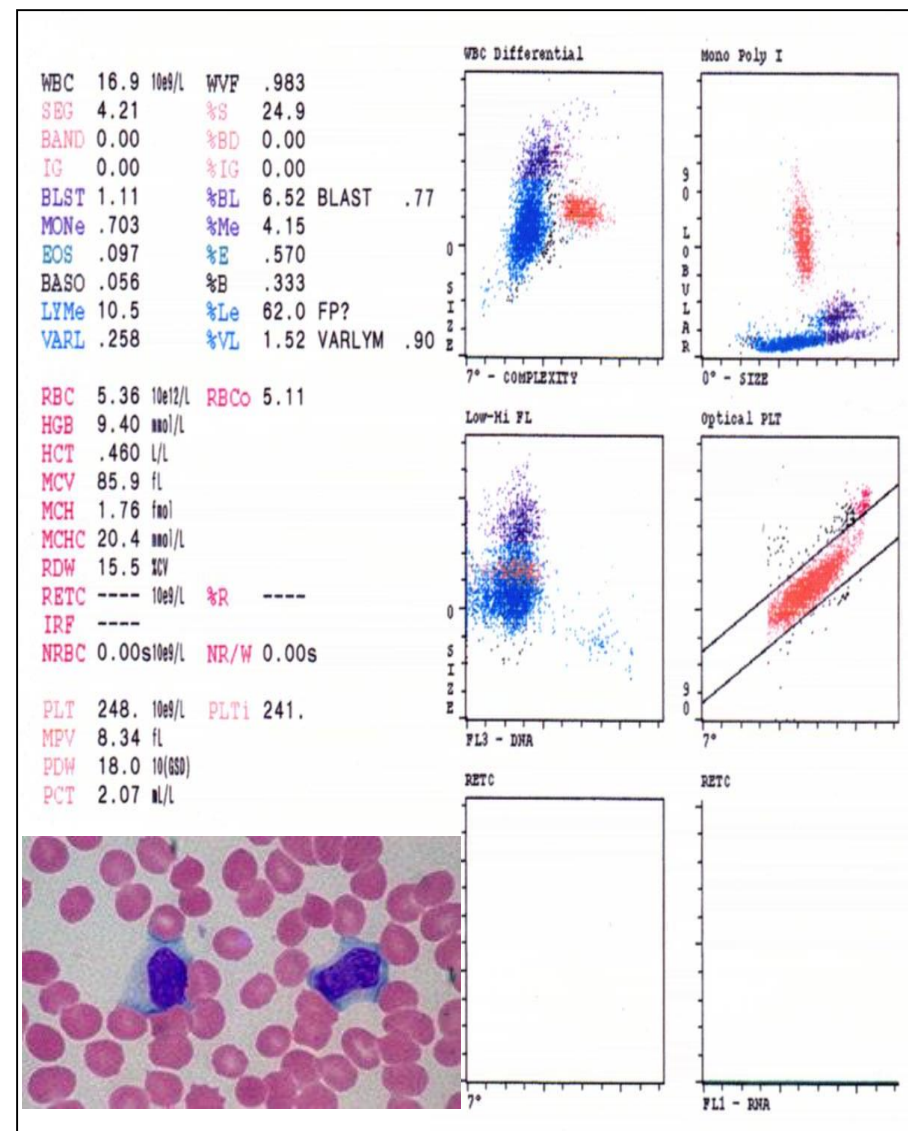
Infekce



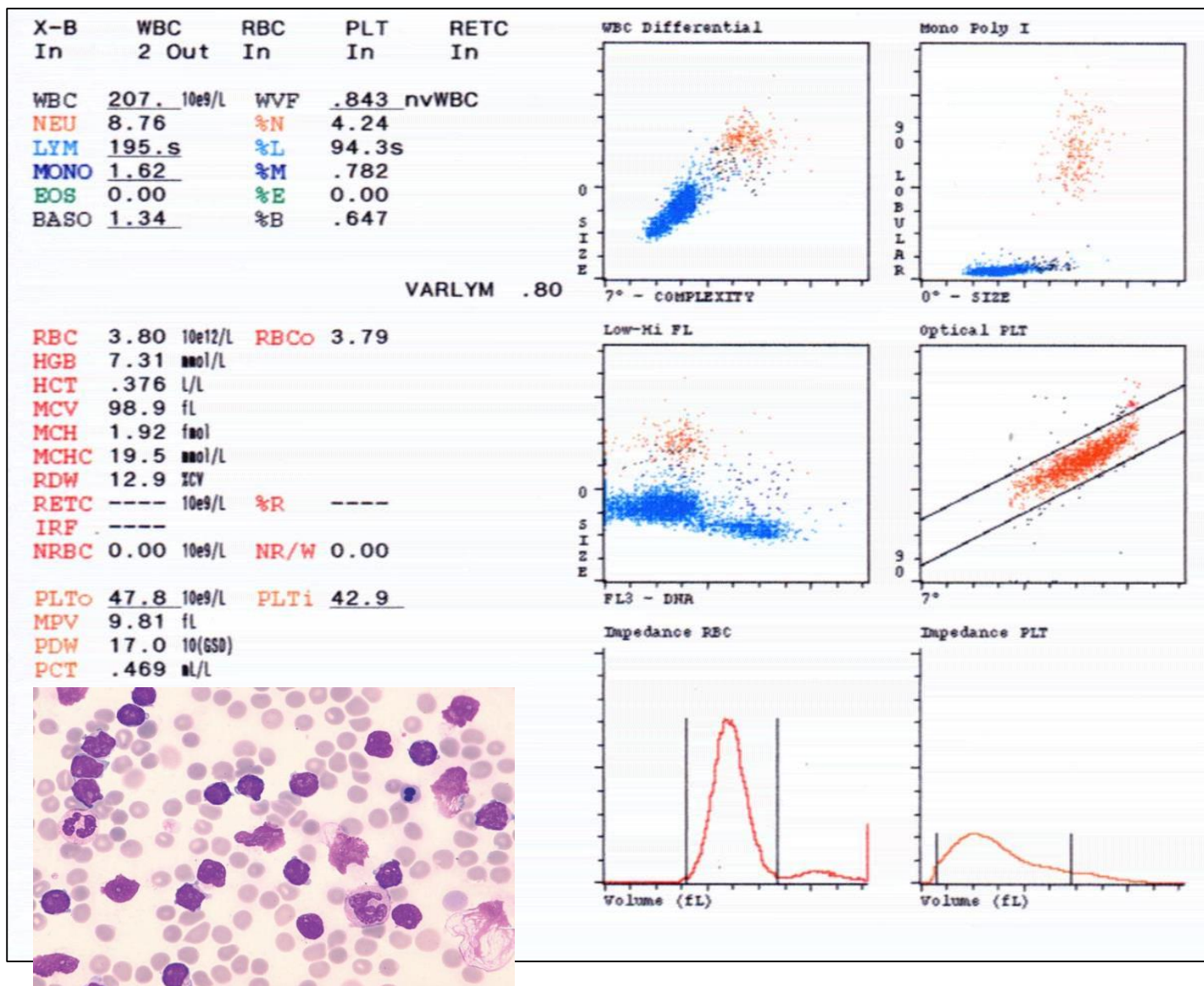
Monoblasty



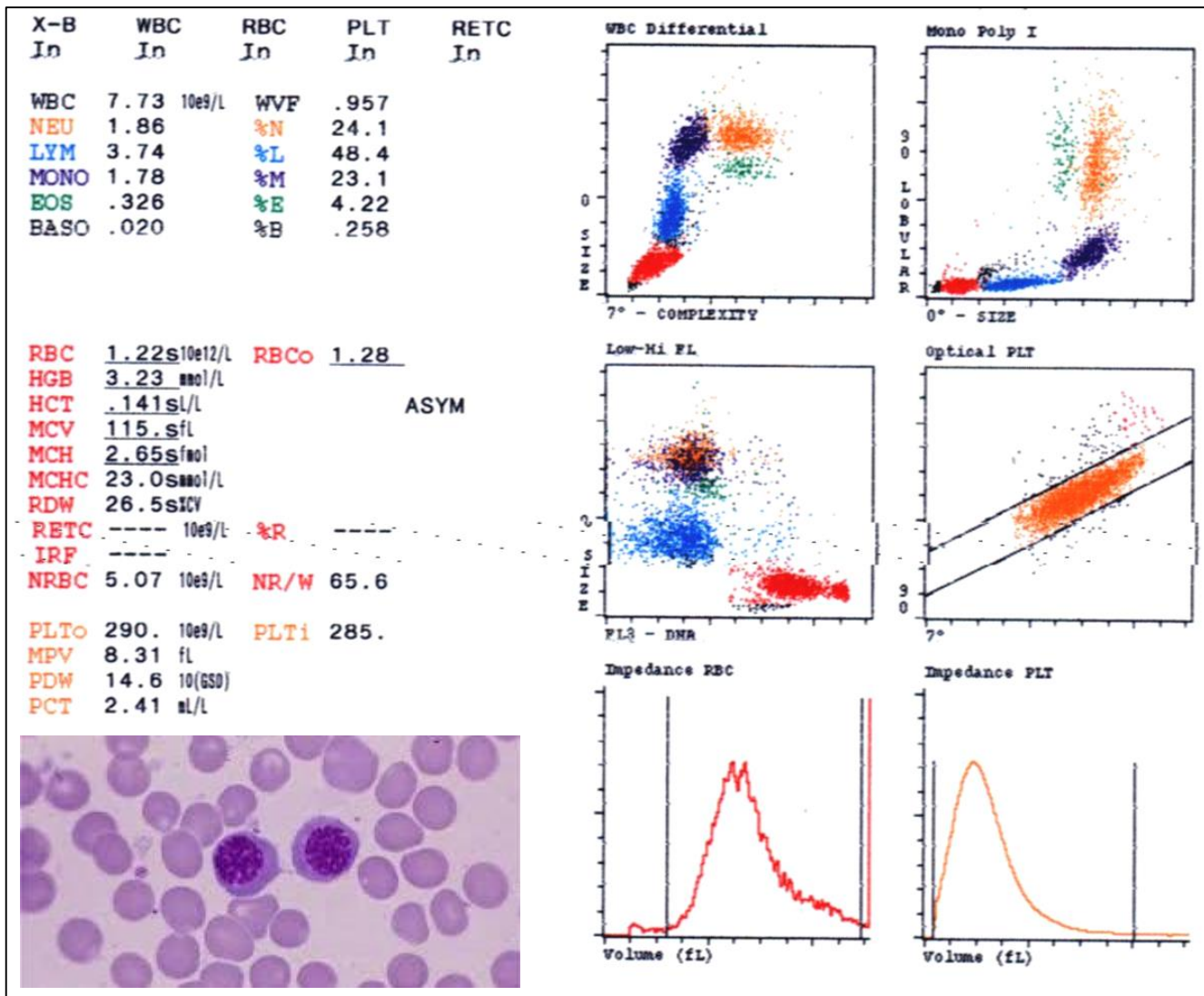
Mononukleóza



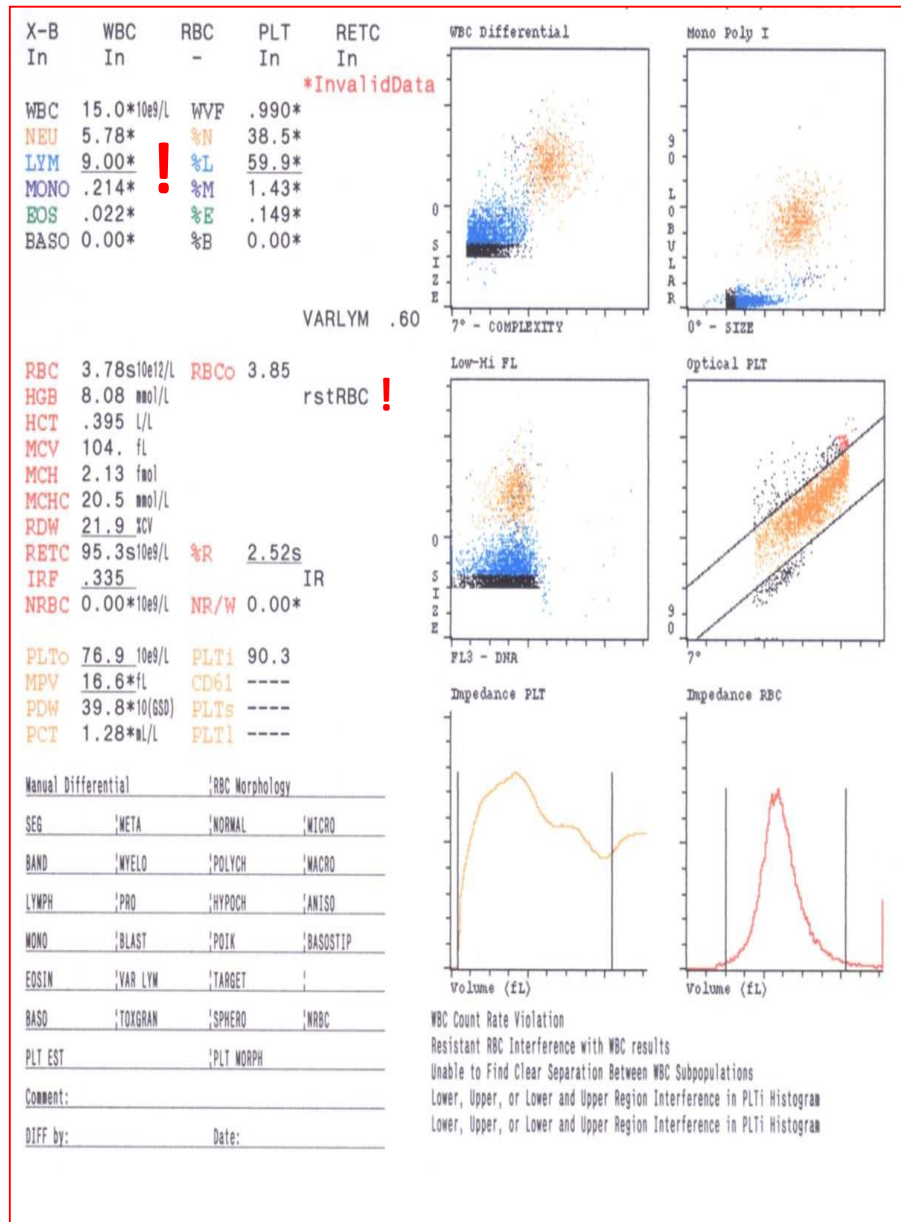
Chronická lymfatická leukémie



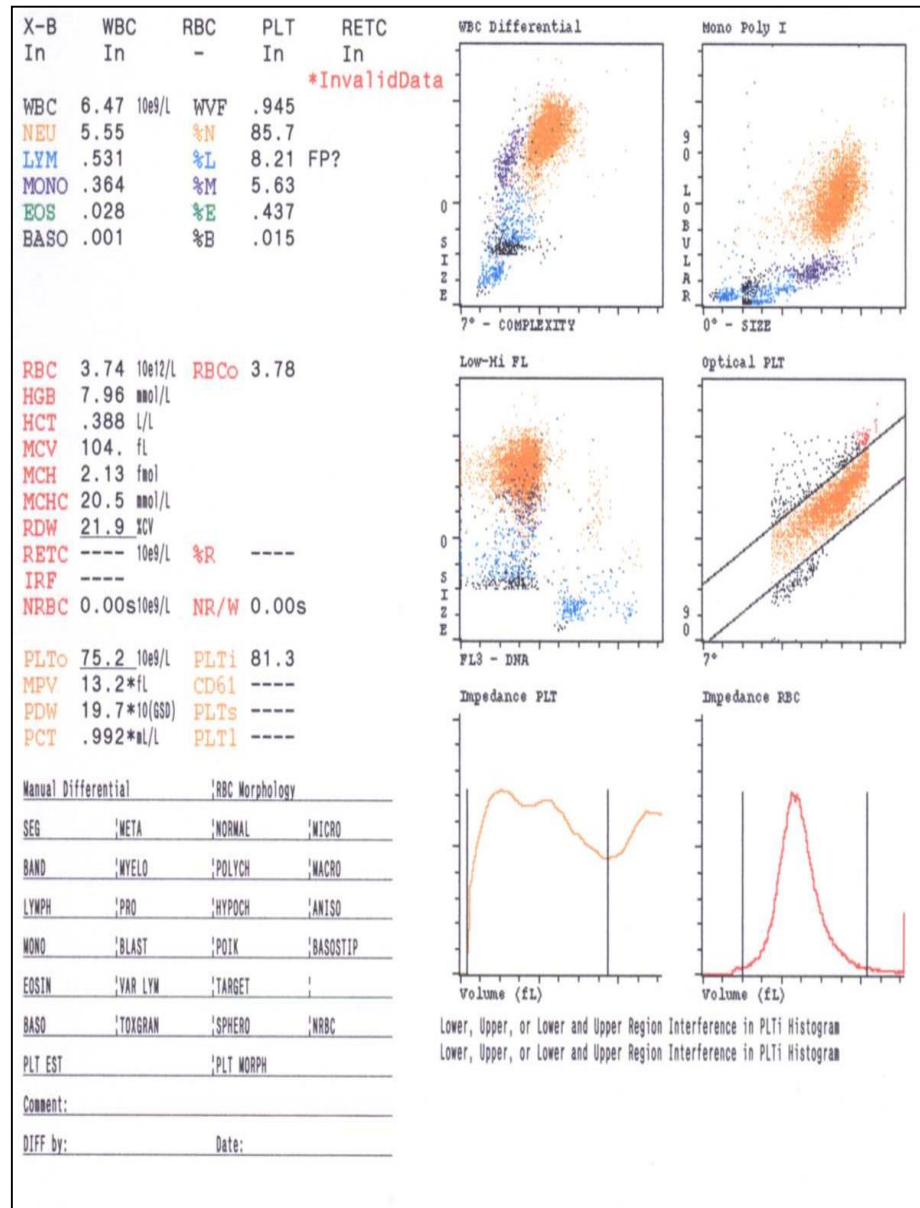
NRBC ve vzorku



Vzorek po dialýze



Po odstranění rstRBC



ALL a fragmenty cytoplazmy

