

Postup při hodnocení nátěru periferní krve

Doporučení České hematologické společnosti ČLS JEP

Zpracovaly: Matýšková M., Buliková A., Kačírková P., Bourková L.

Schváleno na schůzi výboru České hematologické společnosti dne 24.11.2003

Revize 1: 11/2006, Matýšková M., Bourková L., Fátorová I., Mikulenková D.

Připomínkováno členy LS – uzávěrka 20.11.2006

Hodnocení nátěru periferní krve se týká

- 1) hodnocení kvantitativních
 - a. nejčastěji diferenciální počet leukocytů
 - b. počet erytroblastů na 100 leukocytů
- 2) hodnocení relativního počtu – na 1000 erytrocytů (zařazeno jen pro informaci)
 - a. počet schistocytů
 - b. počet trombocytů
- 3) hodnocení morfologických změn (včetně jejich semikvantitativního případně i kvantitativního hodnocení)
 - a. erytrocytů
 - b. leukocytů
 - c. trombocytů

Hodnocení se běžně provádí z nátěru obarveného panoptickým barvením dle May-Grünwalda Giemsy-Romanowskeho.

Vlastní hodnocení

začíná vždy přehledným zhodnocením nátěru, teprve pak následuje hodnocení krevních buněk.

a) přehledné zhodnocení nátěru při zvětšení 200 – 400x

Při přehledném prohlížení hodnotíme

- buněčnost, kvalitu a obarvení nátěru
- rozložení buněk – to znamená: jednak se hodnotí přítomnost buněk v koncových a okrajových částech nátěru (zde mohou být nahromaděny velké a patologické buňky), tak v hustých místech nátěru (zde se mohou nacházet mikrosraženiny trombocytů, které v místě s nízkou buněčností nemusíme najít).

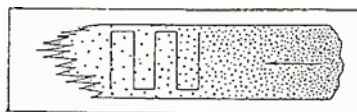
Malé zvětšení nám také pomůže najít optimální místo k počítání leukocytů i k hodnocení morfologie všech buněčných elementů (je důležité u leukopenických pacientů).

b) zvětšení 1000x

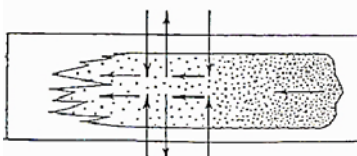
K hodnocení si vybíráme část nátěru, ve které jsou buňky rovnoměrně rozprostřeny (erytrocyty se nepřekrývají). Nejčastěji se jedná o místo cca 1 cm od konce nátěru (někteří autoři doporučují místo v rozsahu 1 – 3 cm od konce nátěru).

Nátěr v mikroskopu hodnotíme meandrovitým či bajonetovým rovnoměrným pohybem objektivu na podložním skle přes vrstvu imersního oleje – nejlépe na šířku skla od jednoho okraje k druhému (viz obr.):

meandrovitý pohyb



bajonetový pohyb



1) Kvantitativní hodnocení

- a) Diferenciální počet leukocytů v periferní krvi počítáme běžně na 100 leukocytů, u patologických nálezů či při hodnocení externí kontroly kvality je v rámci zpřesnění doporučováno hodnocení na 200 i více elementů.
- Ve fyziologickém nátěru nalézáme tyto elementy bílé řady: neutrofilní segmenty, neutrofilní tyče, eozinofilní segmenty, bazofilní segmenty, lymfocyty a monocyty.
 - Patologicky mohou být v nátěru periferní krve přítomna všechna vývojová stádia krevních elementů a vzácně při hematogenním rozsevu i ne-hematopoetické maligní buňky a krevní paraziti
- b) V nátěru přítomné erytroblasty vyčíslíme početně na 100 leukocytů – (počet erytroblastů/100 WBC)
- Fyziologicky normoblasty nalézáme pouze u novorozenců.
 - Patologicky u hemolytických anémií, hematologických malignit apod.

2) Hodnocení relativního počtu

- a) Počet schistocytů – vztahuje se na 1000 erytrocytů (zápis: počet schistocytů/1000 RBC)
- b) Počet trombocytů – orientační vyšetření, využívá se např. při podezření na pseudotrombocytopenii – opět se spočítá počet trombocytů na 1000 erytrocytů a dle vzorce (viz dále) se přepočítá počet trombocytů na litr:

$$\frac{\text{zjištěný počet trombocytů} \cdot \text{RBC}}{1000}$$

kde: (RBC = počet erytrocytů / l)

3) Hodnocení morfologických změn - provádíme popisem z celého nátěru.

Leukocyty – posuzuje se:

- celková charakteristika buňky - velikost buněk (malé, střední, velké); tvar buněk; N/C (= nukleo-cytoplazmatický poměr)
- charakteristika jádra – velikost; tvar; uložení (centricky, excentricky); ohraničení; struktura chromatinu (jemná, hrubá); jadérka (přítomnost, počet)
- charakteristika cytoplazmy – zbarvení vč. homogenity; granulace (přítomnost, počet, zbarvení, velikost, distribuce); inkluze; vakuolizace; ohraničení cytoplazmy (pravidelné, výběžky, neohraničené).

Takto můžeme popsat např.:

- u granulocytů hypersegmentaci (posun doprava) či hyposegmentaci neutrofilů, Pelgerovu-Huětovu anomálii či její pseudoformu, megaloidní (obrovské) segmenty, tyče či metamyelocyty, různé poruchy granulací (hypo-, hypergranularitu, toxickou granulaci), Dóhlehého inkluze, Auerovy tyče;
- u lymfocytů LGL (large granular lymphocytes – mohou fyziologicky tvořit 10 – 15% z celkového počtu lymfocytů v periferní krvi), reaktivní, atypické (nebo variantní) formy lymfocytů, „vlasaté“ či „vilózní“ lymfocyty, prolymfocyty apod.
- také si všímáme holých jader a jaderných stínů.

Trombocyty – hodnotíme

- orientačně počet
- velikost – normální, mikrotrombocyty, makrotrombocyty, anizocytóza trombocytů,
- přítomnost granulací – hypogranulární trombocyty,
- uložení v nátěru – shlukování – trombocytární agregáty, satelitismus trombocytů (trombocyty adherují na neutrofilní segmenty)

Erytrocyty - hodnotíme

- velikost erytrocytů – normocyty, mikrocyty, makrocyty, anizocytóza,
- barvu cytoplazmy – normochromní, hypochromní, polychromazie a jiné
- změny tvaru – poikilocytóza (různý tvar erytrocytů), sférocyty, terčovitě erytrocyty (target cells), dakrocyty (erytrocyty tvaru kapky), anulocyty, schistocyty (fragmenty erytrocytů), ovalocyty nebo eliptocyty (oválný tvar), akantocyty (erytrocyty s ostrými, nepravidelnými výběžky plazmy), echinocyty (erytrocyty s pravidelnými, zaoblenými výběžky), drepanocyty (srpkovité erytrocyty), stomatocyty (projasnění ve středu erytrocytu tvaru úst), keratocyty (horned cells = „rohaté“ buňky) a další.
- přítomnost inkluzí – bazofilní tečkování, Howell-Jollyho tělíska, Cabotovy prstence, Pappenheimerova tělíska
- penízkovatění (rouleaux) – nelze hodnotit v hustém nátěru

Pokud máme zájem na přesnějším hodnocení a např. porovnávání nálezů u jednotlivých pacientů, lze využít následující tabulku:

Morfologie erytrocytů - určení stupně poruchy

<i>Morfologie</i>	<i>Semikvantitativní hodnocení</i>
Polychromazie	1+ = 1 až 5 / zorné pole 2+ = 6 až 10 / zorné pole 3+ = > 10 / zorné pole
Slzičkovité erytrocyty (dakrocyty)	
Akantocyty	
Sférocyty	1+ = 3 až 10 / zorné pole 2+ = 11 až 20 / zorné pole 3+ = > 20 / zorné pole
Ovalocyty/eliptocyty	
Erytrocyty bizarních tvarů	
Terčovitě erytrocyty	
Stomatocyty	1+ = agregáty 3 – 4 erytrocytů 2+ = agregáty 5 – 10 erytrocytů 3+ = četné agregáty s oj. volnými erytrocyty
Penízkovatění – rouleaux ^{*)}	
Schizocyty (schistocyty)	
Drepanocyty	Semikvantitativní hodnocení se neužívá (hodnotí se jako pozitivní nebo negativní nález).
Bazofilní tečkování	
Pappenheimerova tělíska	
Howell - Jollyho tělíska	

^{*)} nutné odlišit od aglutinace!!