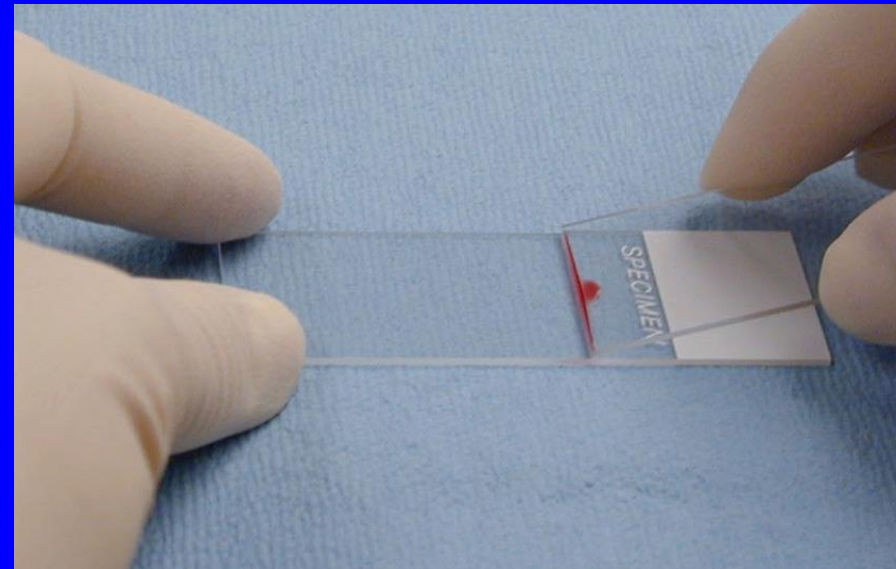
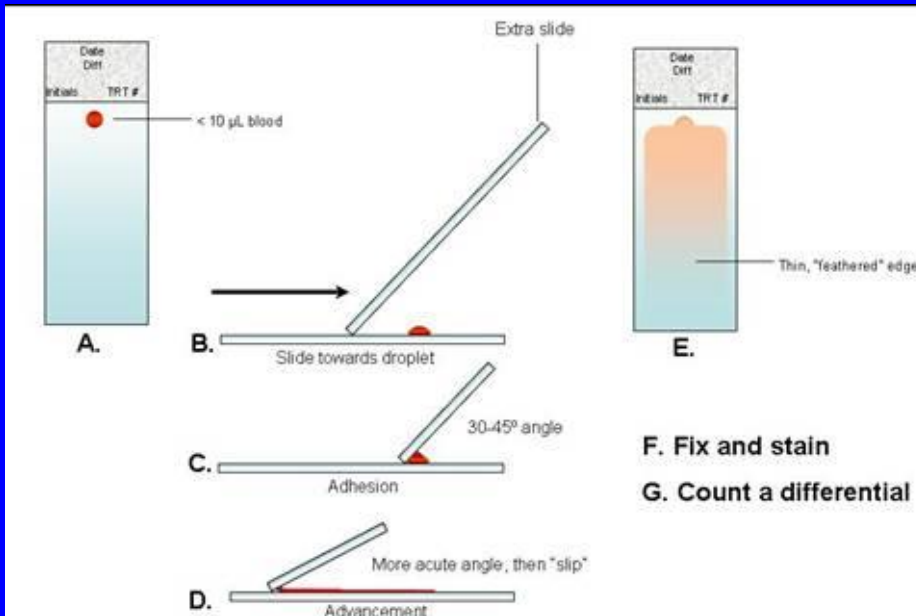


Příprava a barvení nátěru periferní krve

Bourková L., OKH FN Brno

Zhotovení nátěru krve

- **řídí se hodnotou hematokritu** (*HCT - podíl erytrocytů na celkovém objemu krve*) (*pro manuální i přístrojové provedení preparátu*)
- potřeby: podložní sklíčko, roztírací sklíčko
- 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)

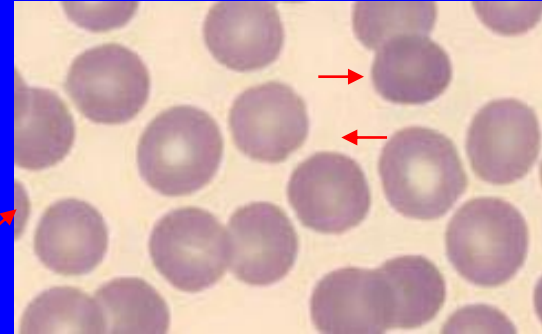
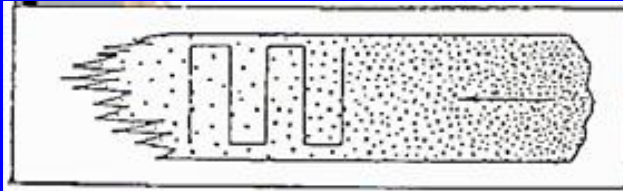


Barvení - May-Grünwald / Giemsa-Romanowski (Pappenheimova metoda)

- před barvením musí nátěr zaschnout
- základní složky barvení:
 - fixace: roztok May-Grünwald (metanol + barviva)
 - barvení: Giemsa-Romanowski (metanol + glycerin + fosfátové pufrý + barviva)
 - pH 6,8 – 7,0
 - x artefakty:
 - pH < 6,8 růžové zbarvení nátěru (nálezy falešně vyžralých buněk)
 - pH > 7,0 modré zbarvení nátěru (nálezy falešně nezralých buněk)
 - 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
- kombinací těchto barev potom vzniká výsledné obarvení
- další metody: Wrightova (jednoduchá), Leishmanova (rychlá, orientační)

Hodnocení

- komplexně celý nátěr (WBC, RBC, PLT)



- v rovnoměrně rozetřeném místě
- zvětšení 1000x s imerzním olejem (*morfologie buněk*),
zvětšení 200/100x (*přehledné prohlížení nátěru*)
- 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 (200) leukocytů
 - kostní dřeň: 250 (500) jaderných elementů
- vydávané výsledky pro nátěr periferní krve i KD: [%]
- Nesprávné barvení způsobuje artefakty a chybné hodnocení
morfologie buněk. Pozor na nečistoty a vlhkost.

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, podíl jádra a cytoplazma v buňce (N/C poměr)
- 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)

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