

# **Vyšetřované parametry na hematologických analyzátorech a mikroskopicky**

Bourková L., OKH FN Brno

# Parametry krevního obrazu *(zkratky)*

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

➤ **RBC** - erythrocyty  
*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*

# Parametry KO – pro klinické účely

- **\*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
- **\*RETI** ( $10^9/L$ , %)
- **IRF** (podíl)   
{ nezralé RETI/všechny RETI }
- **IPF** (podíl)   
{ nezralé PLT/všechny PLT }

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

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

# Parametry KO – doplňkové parametry

## ➤ WBC

- ✓ vitalita
- ✓ 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

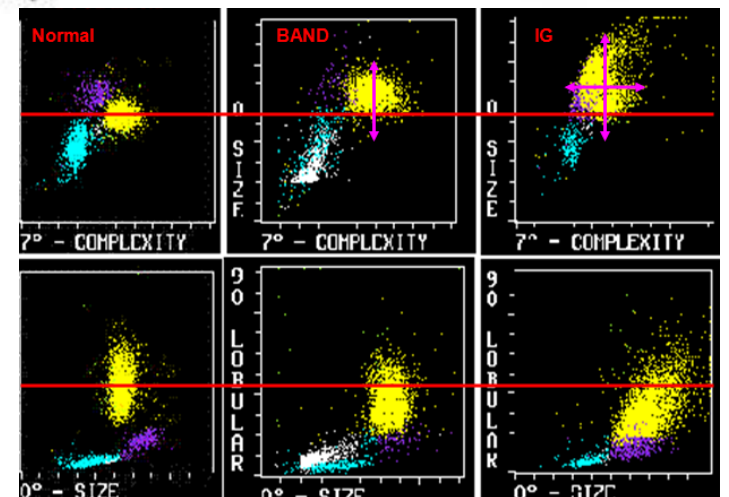
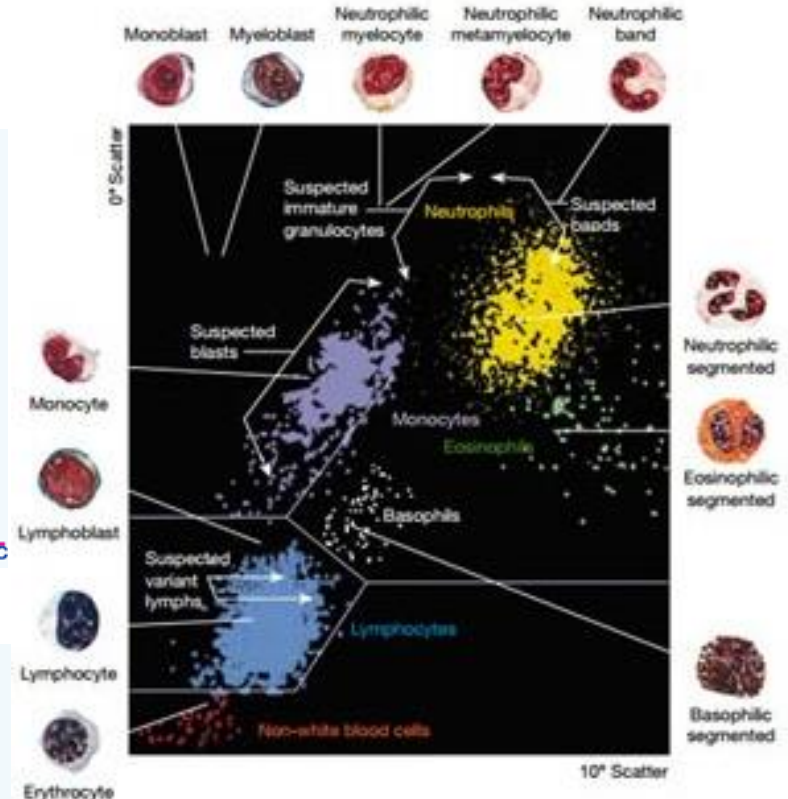
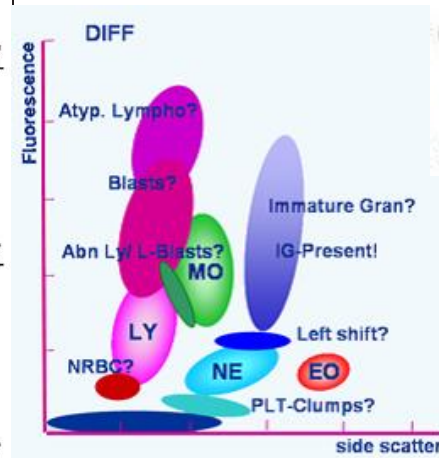
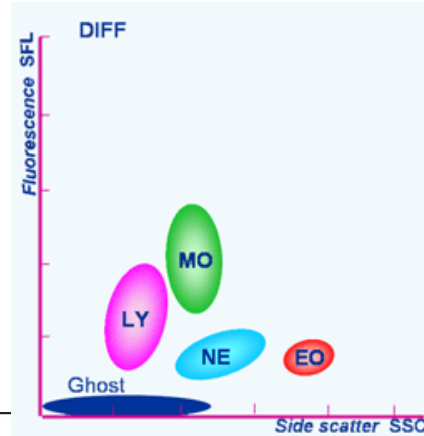
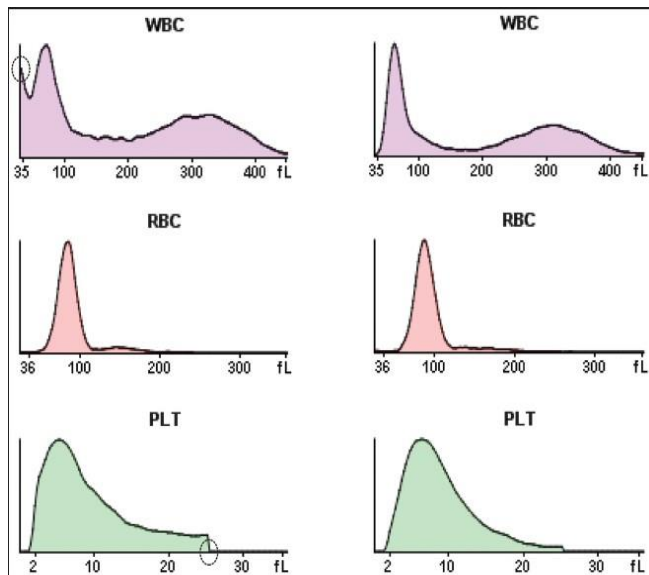
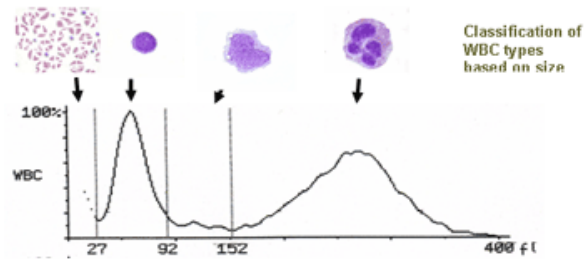
## ➤ PLT

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

## ➤ RBC

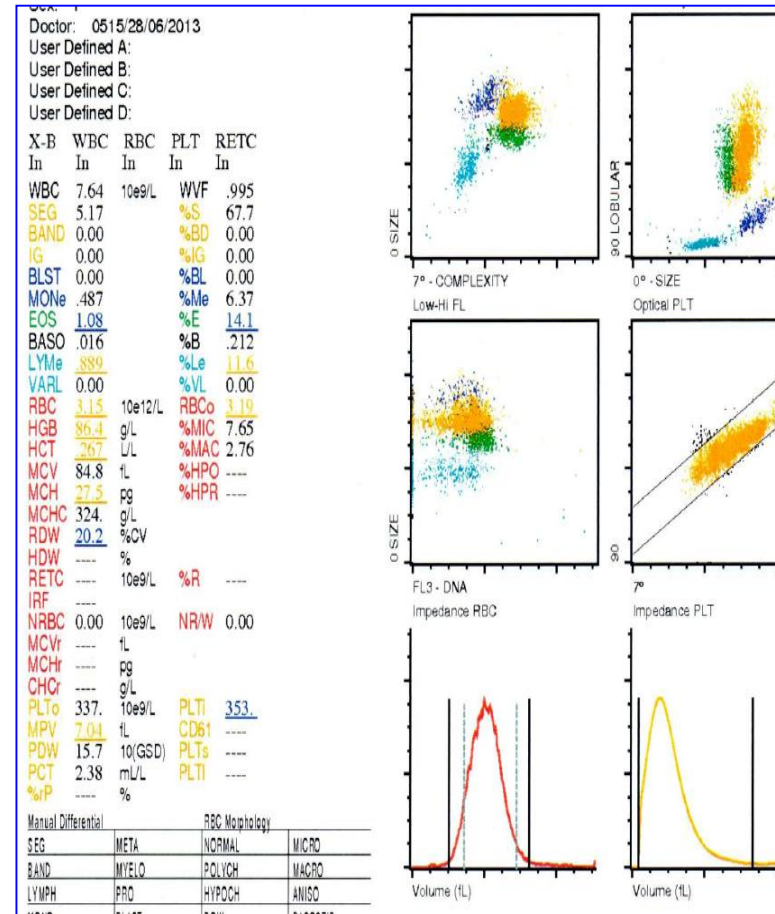
- ✓ podíl: mikrocytů, makrocytů
- ✓ podíl: hypochromních, hyperchromních RBC
- ✓ HDW (HGB distribution width)  
heterogenita HGB v RBC
- ✓ střední objem RETI
- ✓ střední množství HGB v RETI
- ✓ střední koncentrace HGB v RETI
- ✓ množství schistocytů  
(fragmentů RBC)
- ✓ suspektní patologická hlášení

# 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



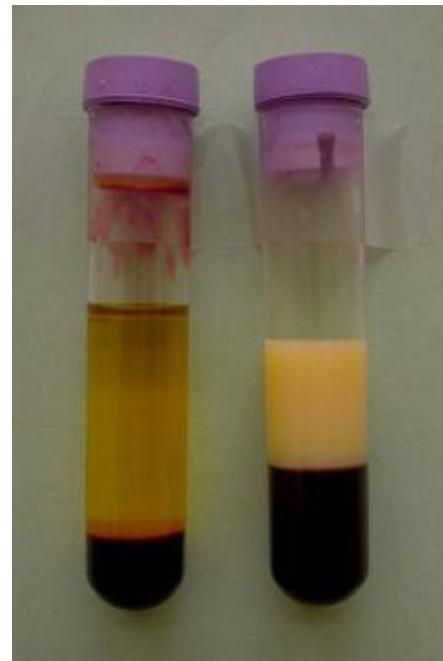
normální vzorek  
s normálním HCT



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



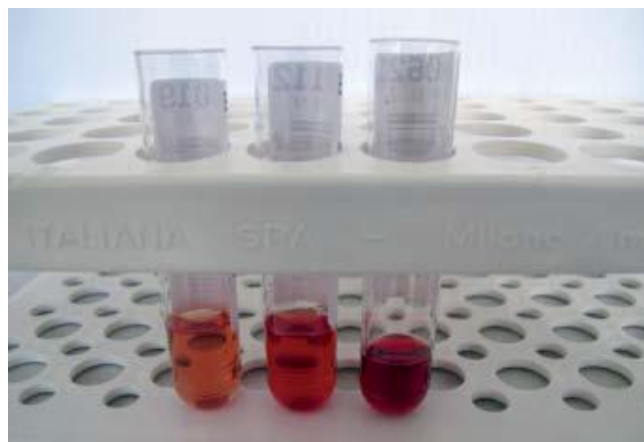
chylózní vzorek



ikterické vzorky a hemolytické vzorky

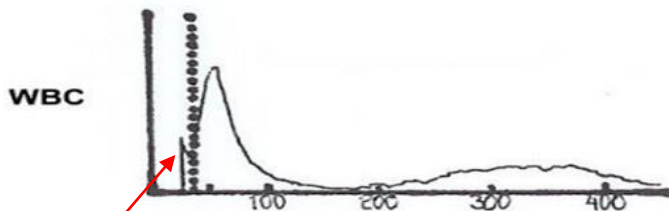


různé stupně hemolytických vzorků

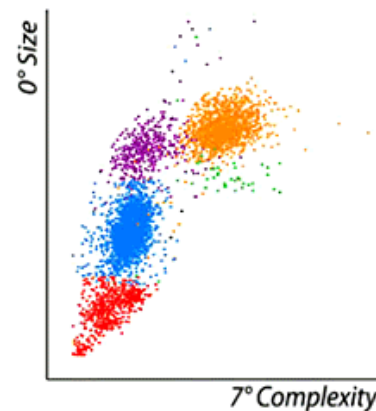


# Hodnocení WBC

- 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*)



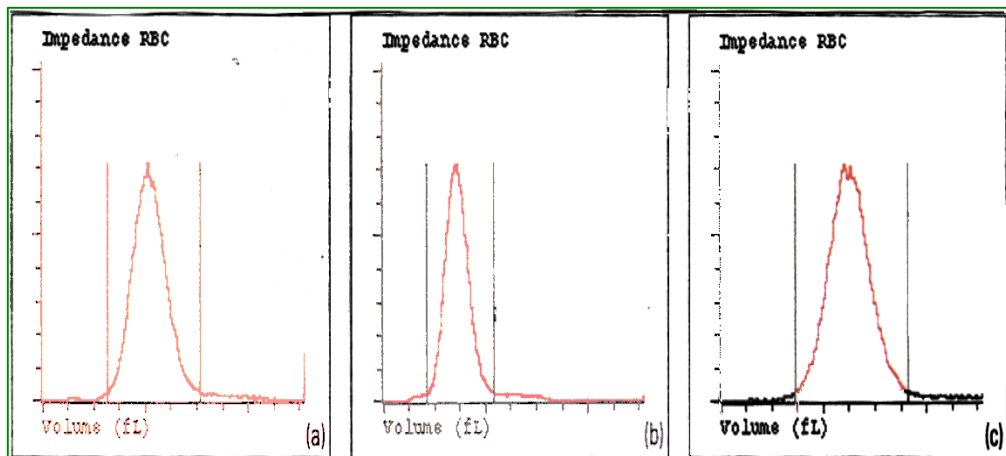
možné interference



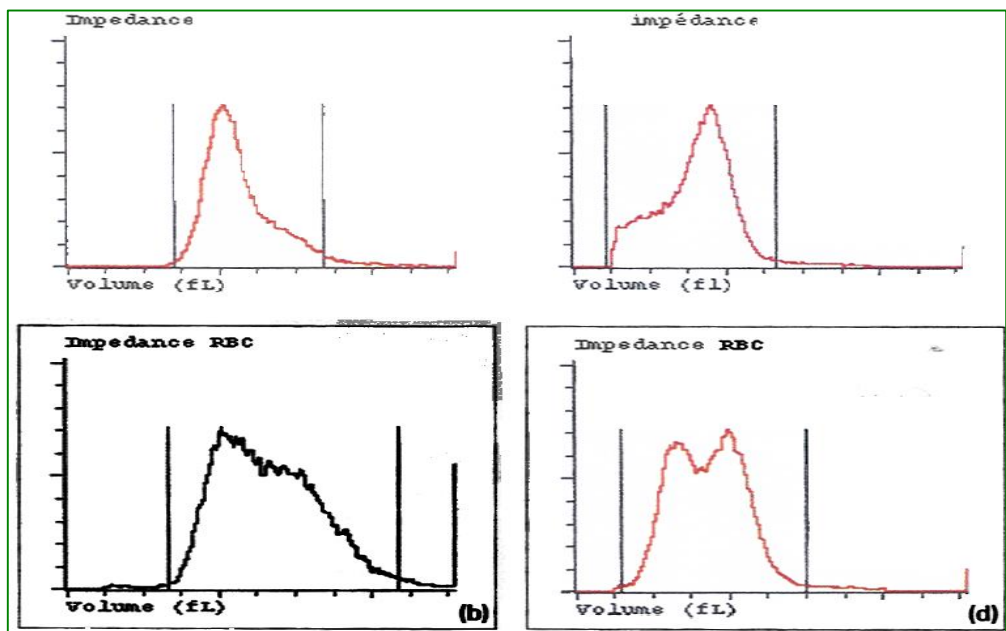


# Hodnocení RBC

- 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

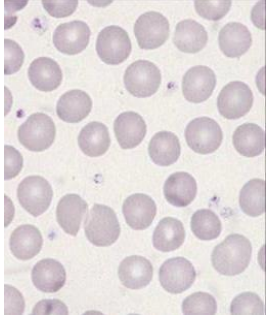


Impedanční histogramy RBC - RDW (vysoké)  
 nad horní hranici referenčních mezí  
 (a) - příměs makrocytů  
 (b) - vysoký podíl makro  
 (c) - masivně mikrocyty (*schistocyty*)  
 (d) - mikrocyty + normocyty

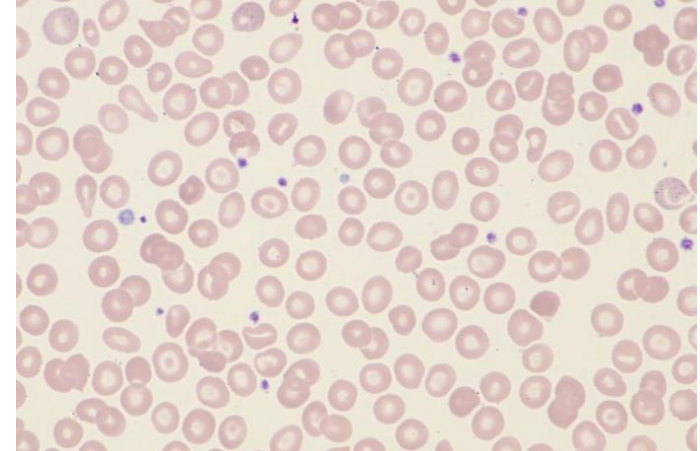
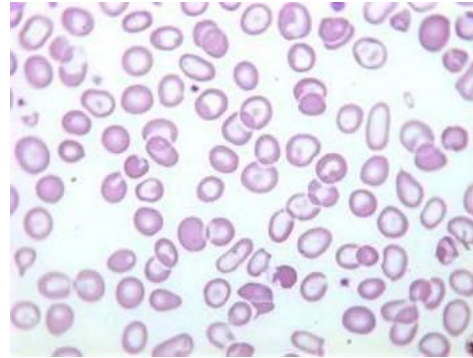
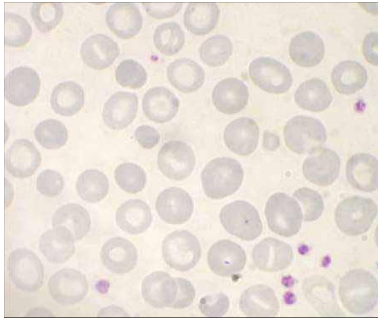
# Morfologie RBC

[http://www.sekk.cz/infoservis/2006\\_Morfologie\\_erytrocytu.pdf](http://www.sekk.cz/infoservis/2006_Morfologie_erytrocytu.pdf)

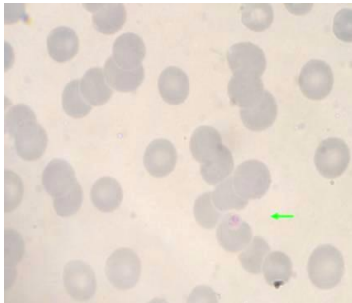
normocyty



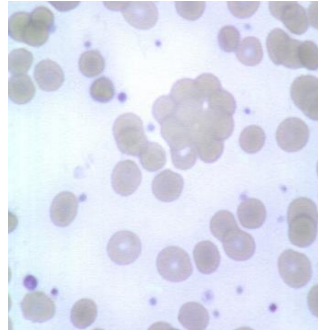
anizocytóza, anizochromie, tvarové odchylky RBC



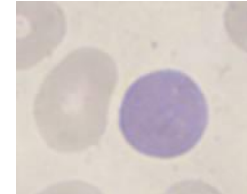
penízkovatení RBC



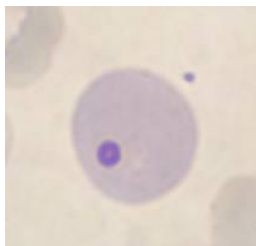
aglutinace RBC



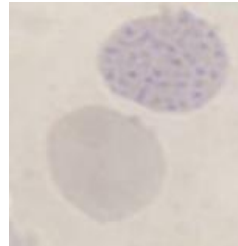
polychromázie



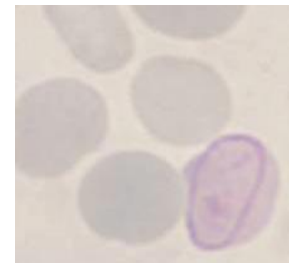
Howell-Jollyho tělíčko



bazifilní tečkování

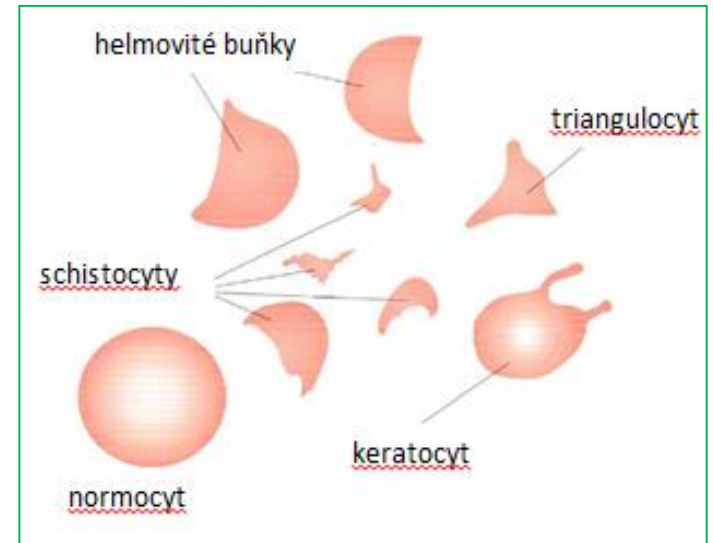
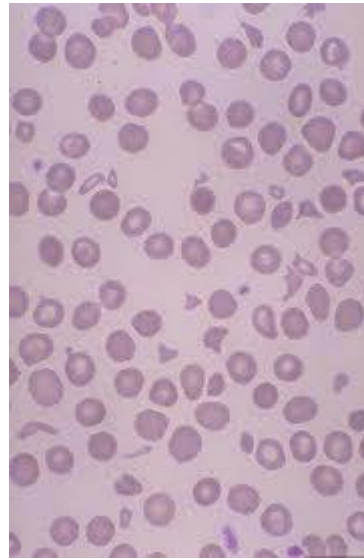
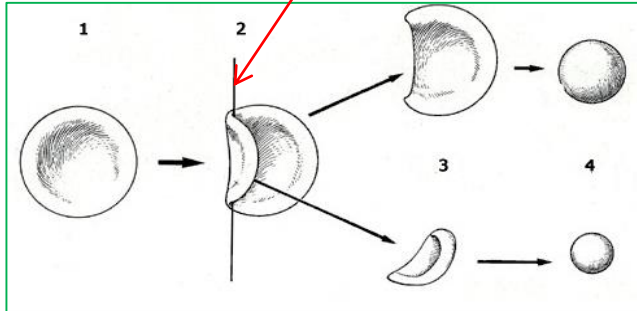


Cabotovy prstence

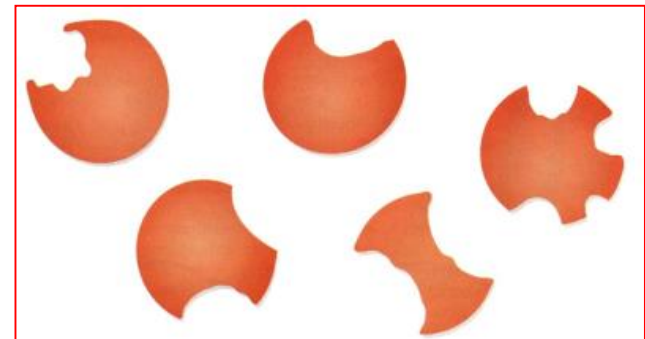
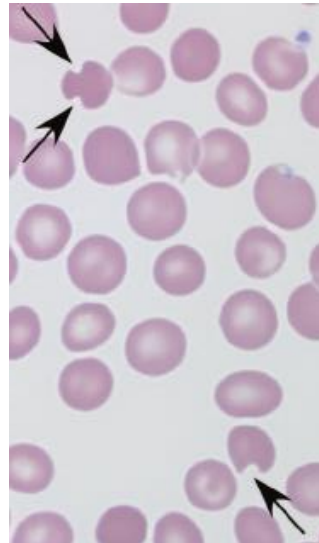
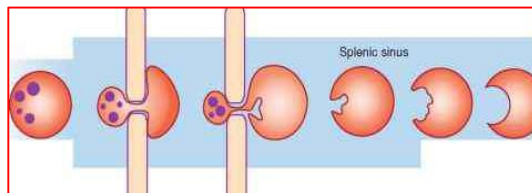


# Schistocyty (tvarové odchytky)

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

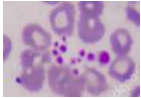
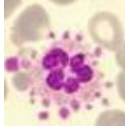
## ❖ interference způsobují:

- ✓ 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*)

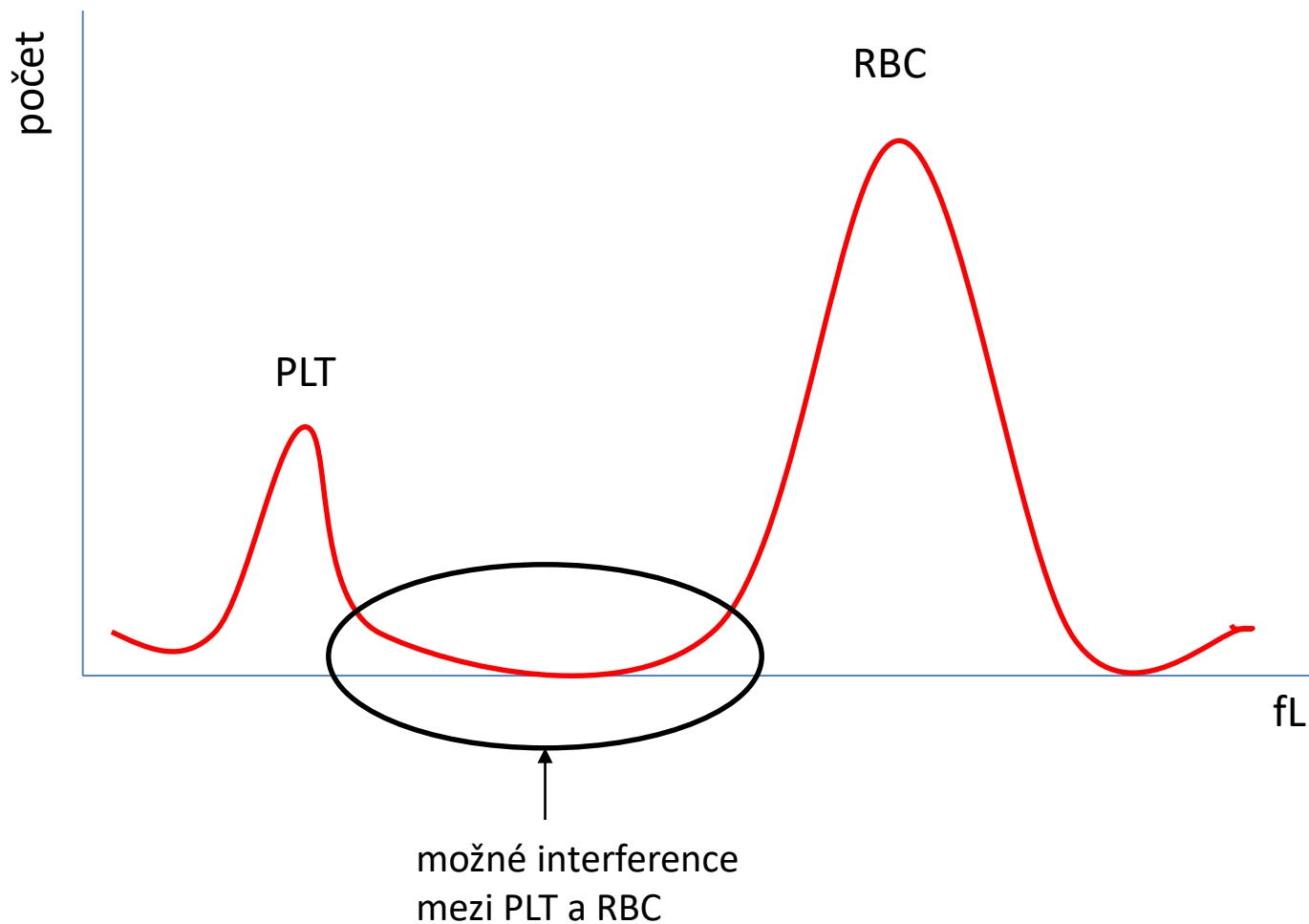
## ❖ kontrola/ověření počtu PLT:

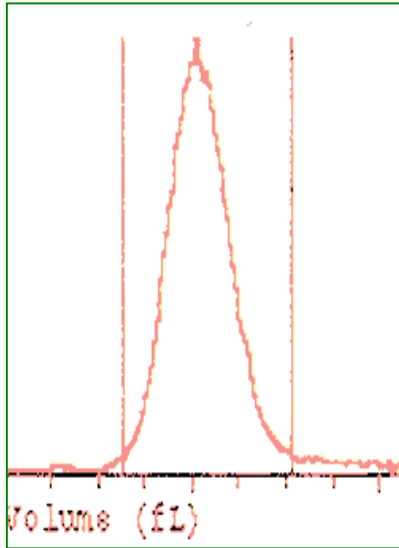
- ✓ jinou metodou než byla primární analýza
  - opticky nebo impedančně
  - fluorescenční metoda
- ✓ mikroskopicky
- ✓ analýza vzorku s jiným protisrážlivým činidlem - s kationtem  $Mg^{2+}$  ( $MgSO_4$ )

# Pseudotrombocytopenie - PTPC (falešná trombocytopenie)

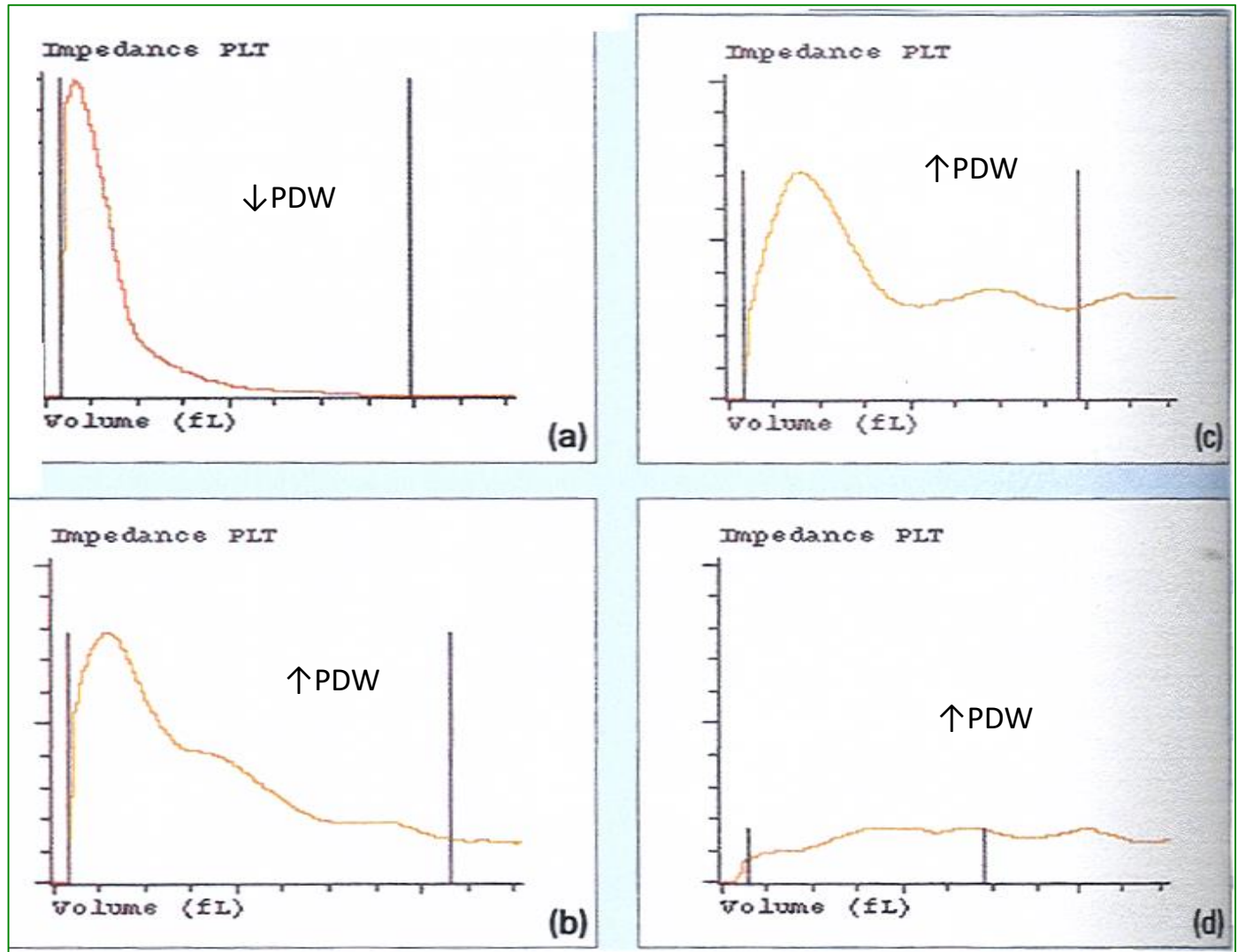
- Při odběru periferní krve do (K<sub>2</sub>,K<sub>3</sub>,Na<sub>2</sub>)EDTA jsou přítomny shluky PLT  nebo satelitóza PLT .
- in vivo: skutečný počet PLT
- in vitro:
  - ✓ odběr do (K,Na)EDTA: falešně snížený počet PLT /pseudotrombocytopenie (může nastat i u zcela zdravých jedinců)
  - ✓ odběr do MgSO<sub>4</sub>: správný počet PLT
- EDTA-indukovaná PTPC je založena na autoprotilátkách namířených proti trombocytárnímu fibrinogenovému receptoru GpIIb/IIIa, který je demaskován EDTA.

# Souvislost distribučních křivek PLT a RBC





Impedanční histogram  
normál



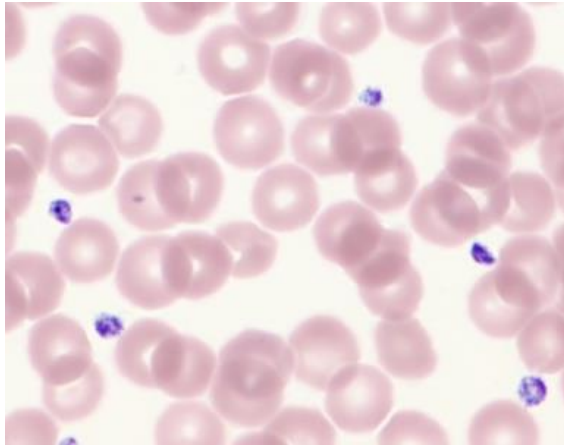
## Impedanční histogramy PLT

(a) – nízké MPV, (b-d) - interference

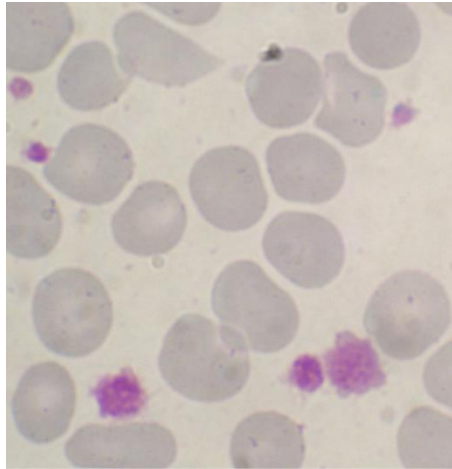


# Morfologie PLT

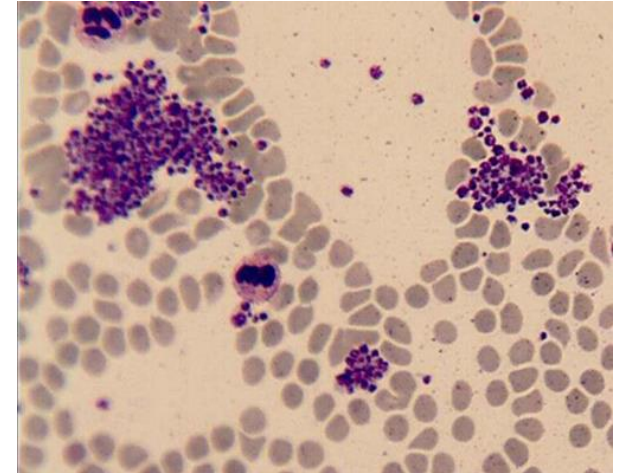
fyziologické PLT



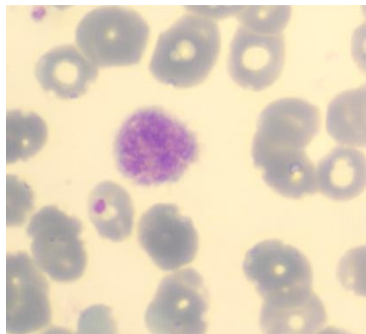
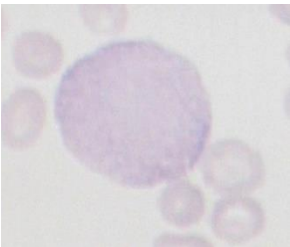
anizocytóza PLT



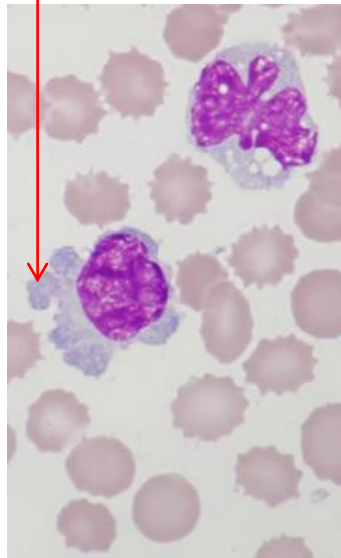
sraženiny, shluky PLT



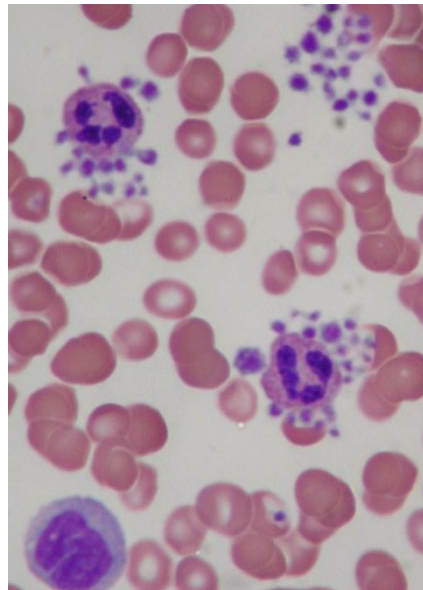
makro, gigantické PLT



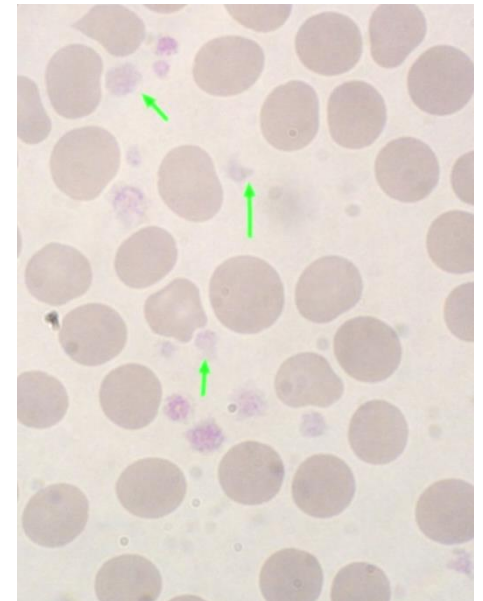
fragmenty cytoplazmy WBC



satelitóza PLT



hypogranulární PLT



# Hodnocení morfologie

## WBC

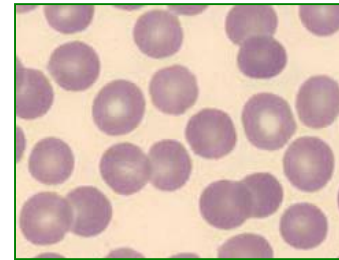
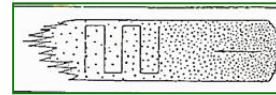
- velikost buněk: malé, střední, velké
- charakteristika jádra: holá jádra, poměr jádra k cytoplasmě, jaderný chromatin, jadérka (*přítomnost, nepřítomnost, počet, velikost*), členitost a tvar jádra (*hypo-, hypersegmentace NE*), velikost jádra
- charakteristika cytoplazmy: granulace, hypogranulace,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

## RBC

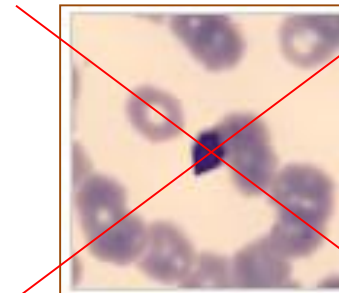
- velikost buněk (*MCV, RDW, distribuční křivka*)
- odchylky:
  - ✓ barevné (*MCH, MCHC*)
  - ✓ tvarové, inkluze, shluky
- jaderné buňky

## PLT

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



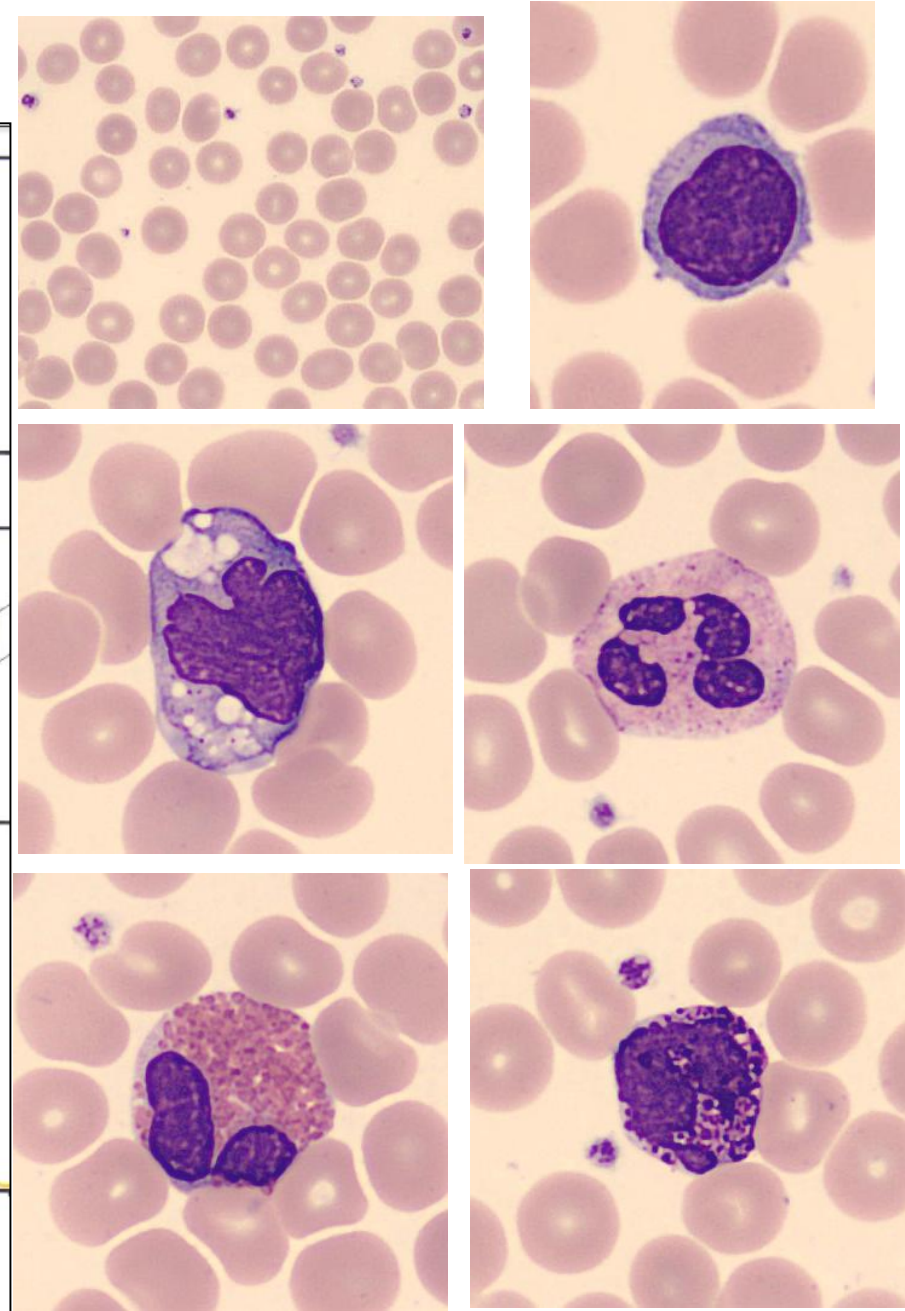
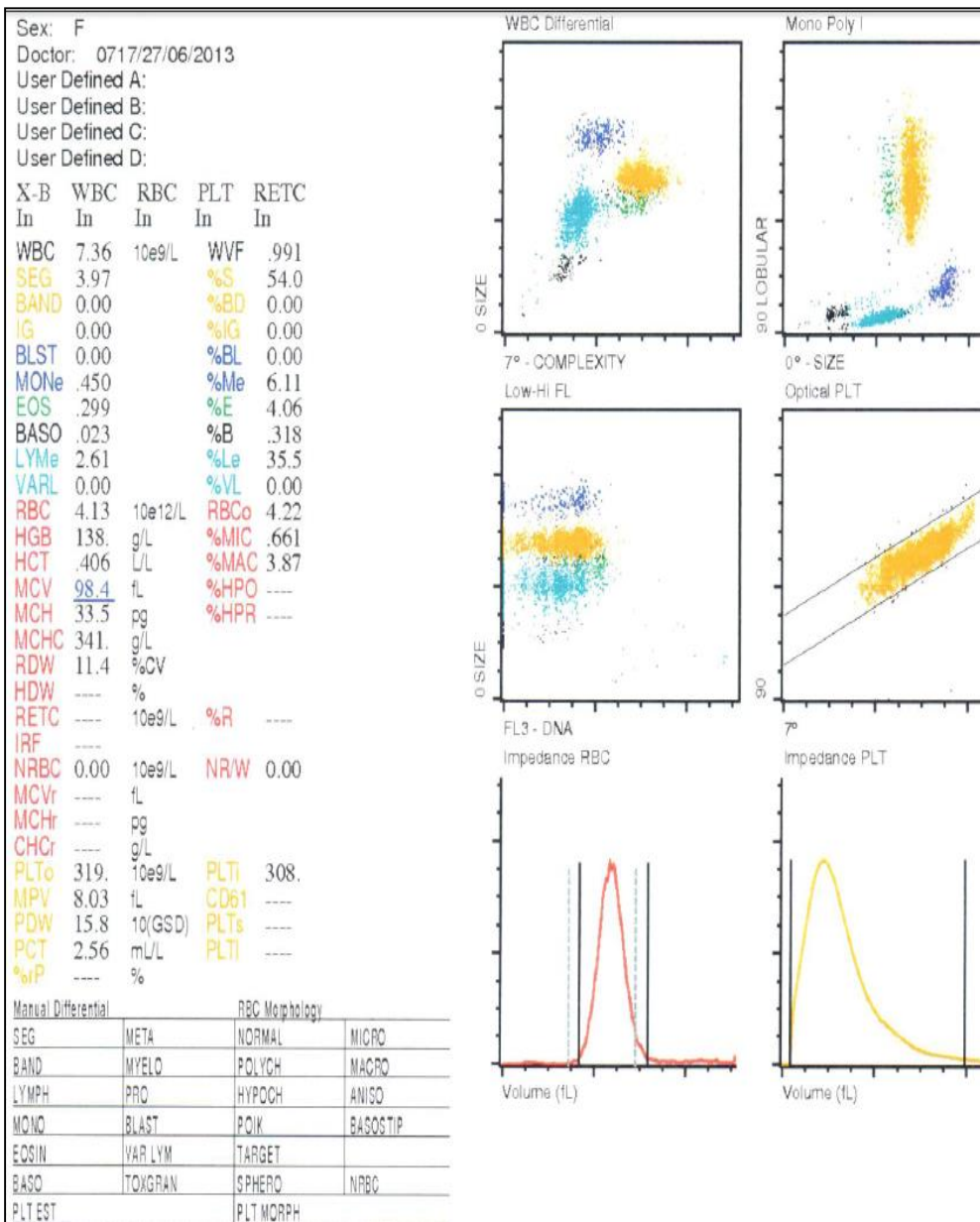
správné zorné pole



nesprávné zorné pole

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

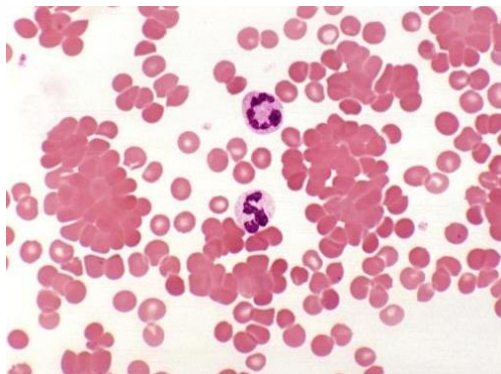
# Fyziologický vzorek



# Chladové protilátky

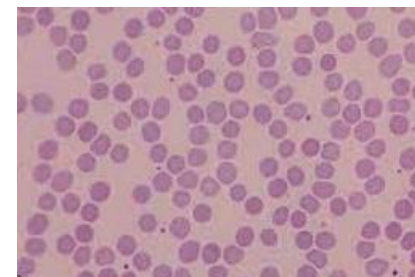
## KO – před zahřátím

WBC	7.57	[10 <sup>9</sup> /L]	WBC IP Message	
NEUT	5.01	[10 <sup>9</sup> /L]	66.2	[%]
LYMPH	1.57	[10 <sup>9</sup> /L]	20.7	[%]
MONO	0.71 +	[10 <sup>9</sup> /L]	9.4	[%]
EO	0.17	[10 <sup>9</sup> /L]	2.2	[%]
BASO	0.11 +	[10 <sup>9</sup> /L]	1.5 +	[%]
IG	0.10	[10 <sup>9</sup> /L]	1.3	[%]
RBC	3.23	[10 <sup>12</sup> /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 <sup>9</sup> /L]
IRF	28.6	[%]		
RET-He	32.7	[pg]		
NRBC	0.00	[10 <sup>9</sup> /L]		
	0.0	[/100WBC]		
IPF		[%]		
PLT	535 +	[10 <sup>9</sup> /L]		
MPV	9.2	[fL]		
PDW	9.4	[fL]		
PCT	0.49 +	[%]		



## KO – po zahřátí

WBC	7.79	[10 <sup>9</sup> /L]	WBC IP Message	
NEUT	5.13	[10 <sup>9</sup> /L]	65.9	[%]
LYMPH	1.62	[10 <sup>9</sup> /L]	20.8	[%]
MONO	0.72 +	[10 <sup>9</sup> /L]	9.2	[%]
EO	0.19	[10 <sup>9</sup> /L]	2.4	[%]
BASO	0.13 +	[10 <sup>9</sup> /L]	1.7 +	[%]
IG	0.08	[10 <sup>9</sup> /L]	1.0	[%]
RBC	3.80 -	[10 <sup>12</sup> /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 <sup>9</sup> /L]
IRF	27.0	[%]		
RET-He	33.0	[pg]		
NRBC	0.00	[10 <sup>9</sup> /L]		
	0.0	[/100WBC]		
IPF		[%]		
PLT	526 +	[10 <sup>9</sup> /L]		
MPV	9.0	[fL]		
PDW	9.2	[fL]		
PCT	0.47 +	[%]		



# Satelitóza trombocytů

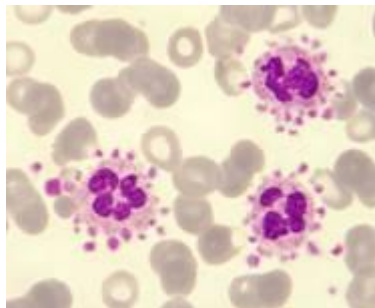
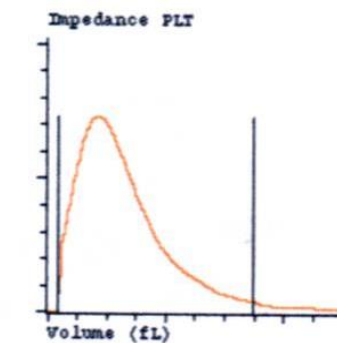
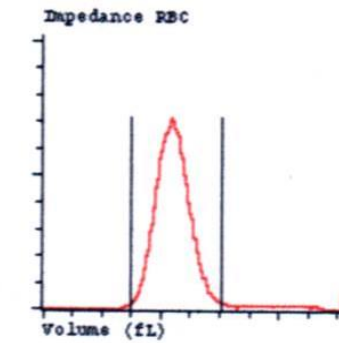
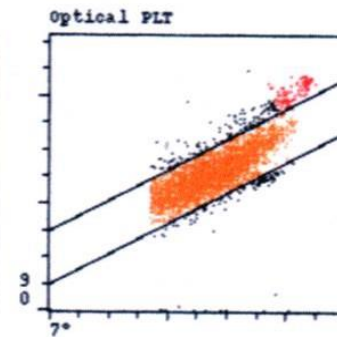
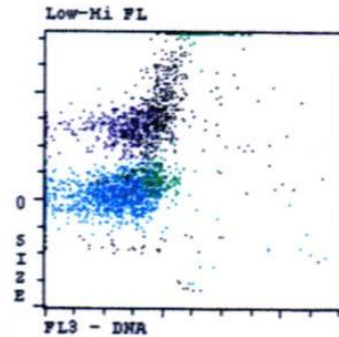
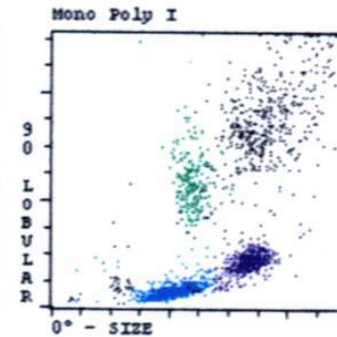
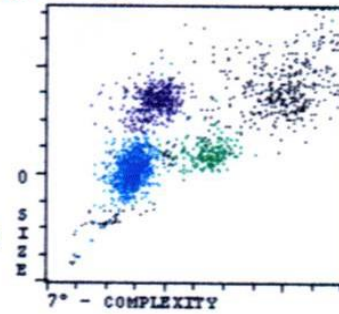
**WBC** 3.20\*10e9/L    **WVF** .954\*  
**NEU** 0.00\*        **%N** 0.00\*  
**LYM** 2.00\*        **%L** 62.6\*  
**MONO** .663\*      **%M** 20.7\*  
**EOS** .512\*        **%E** 16.0\*  
**BASO** .023\*        **%B** .732\*

\*InvalidData    **WBC Differential**

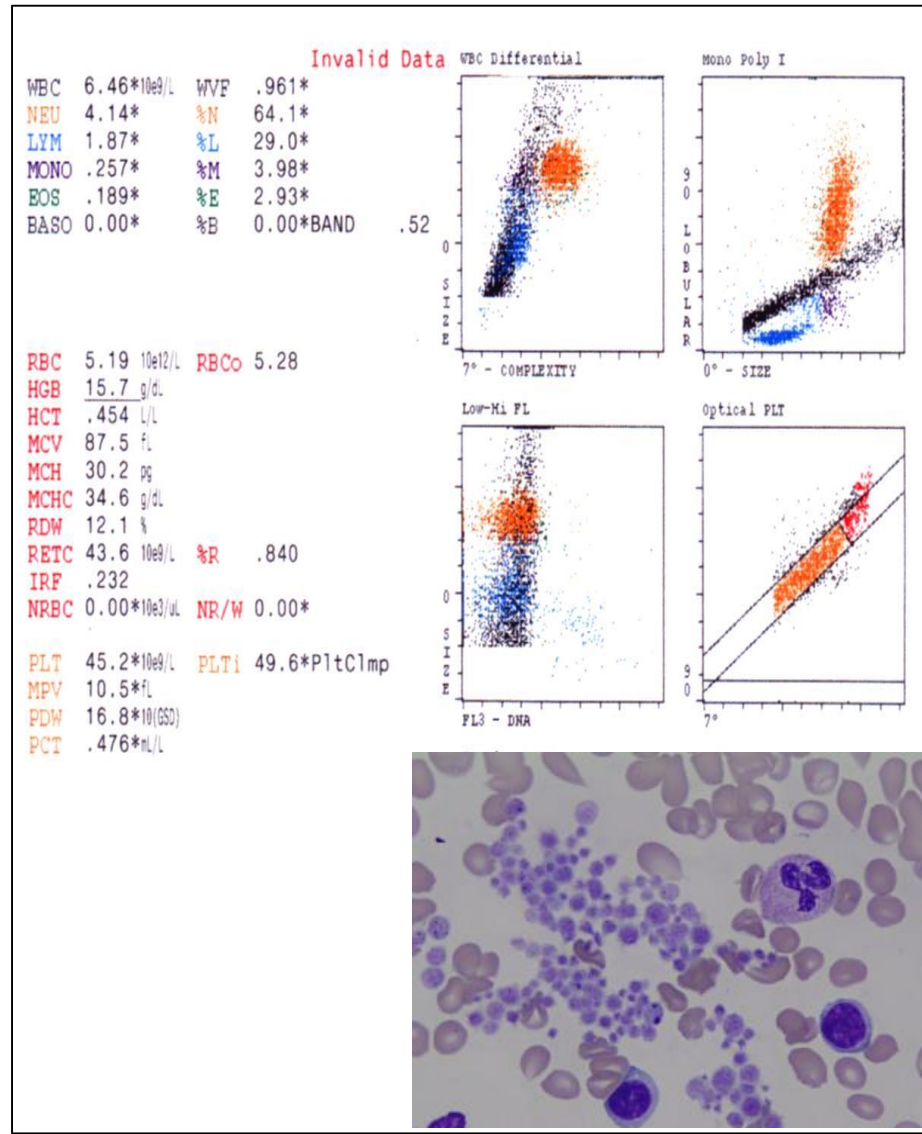
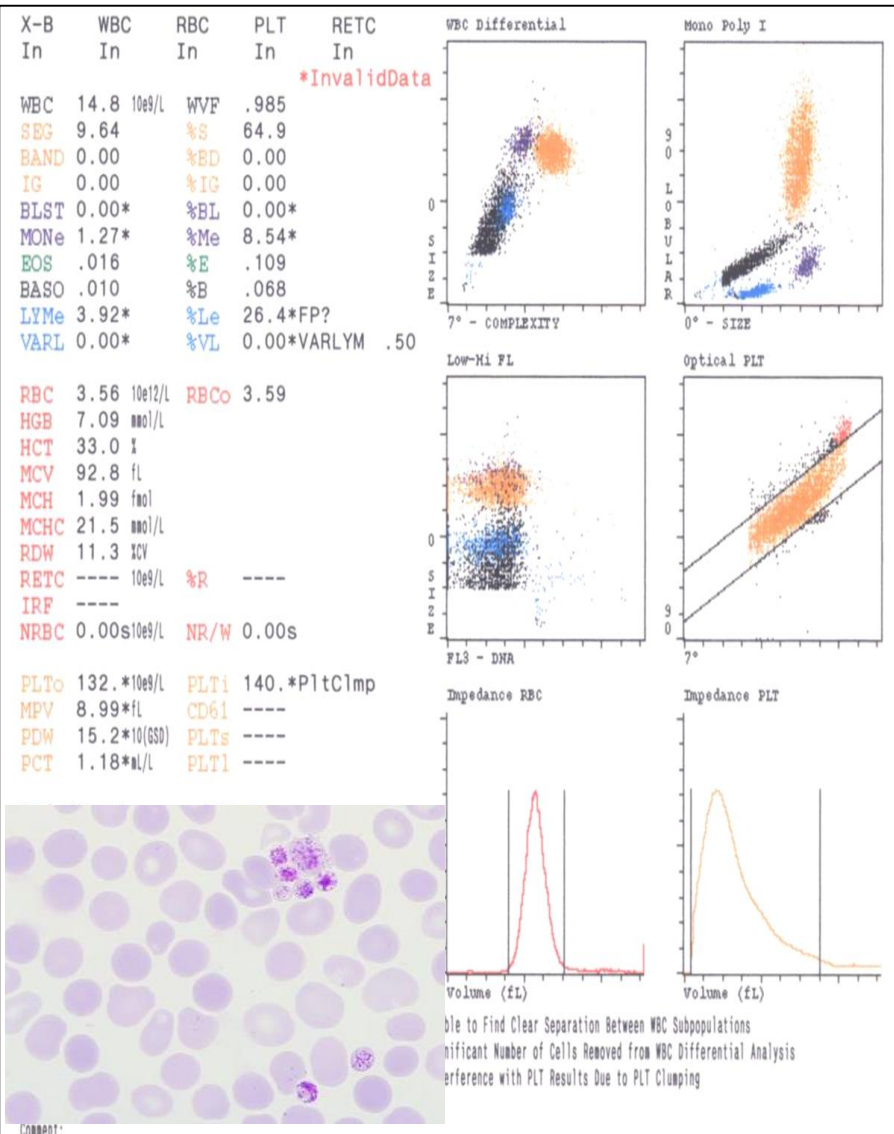
VARLYM .50

**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 %CV  
**RETC** ---- 10e9/L    **%R** ----  
**IRF** ----  
**NRBC** 0.00\*10e9/L    **NR/W** 0.00\*

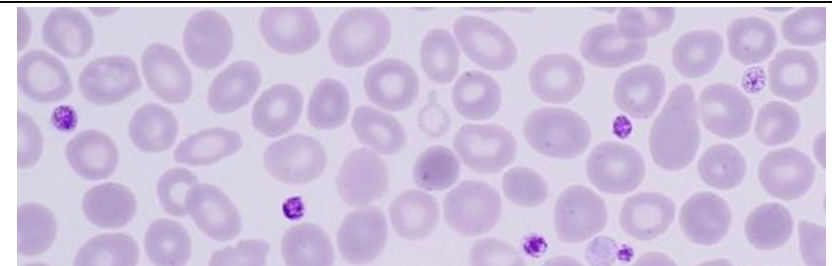
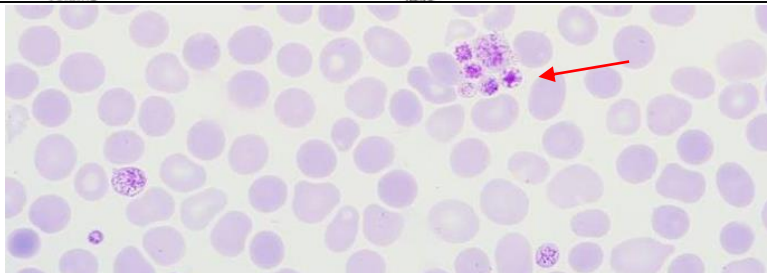
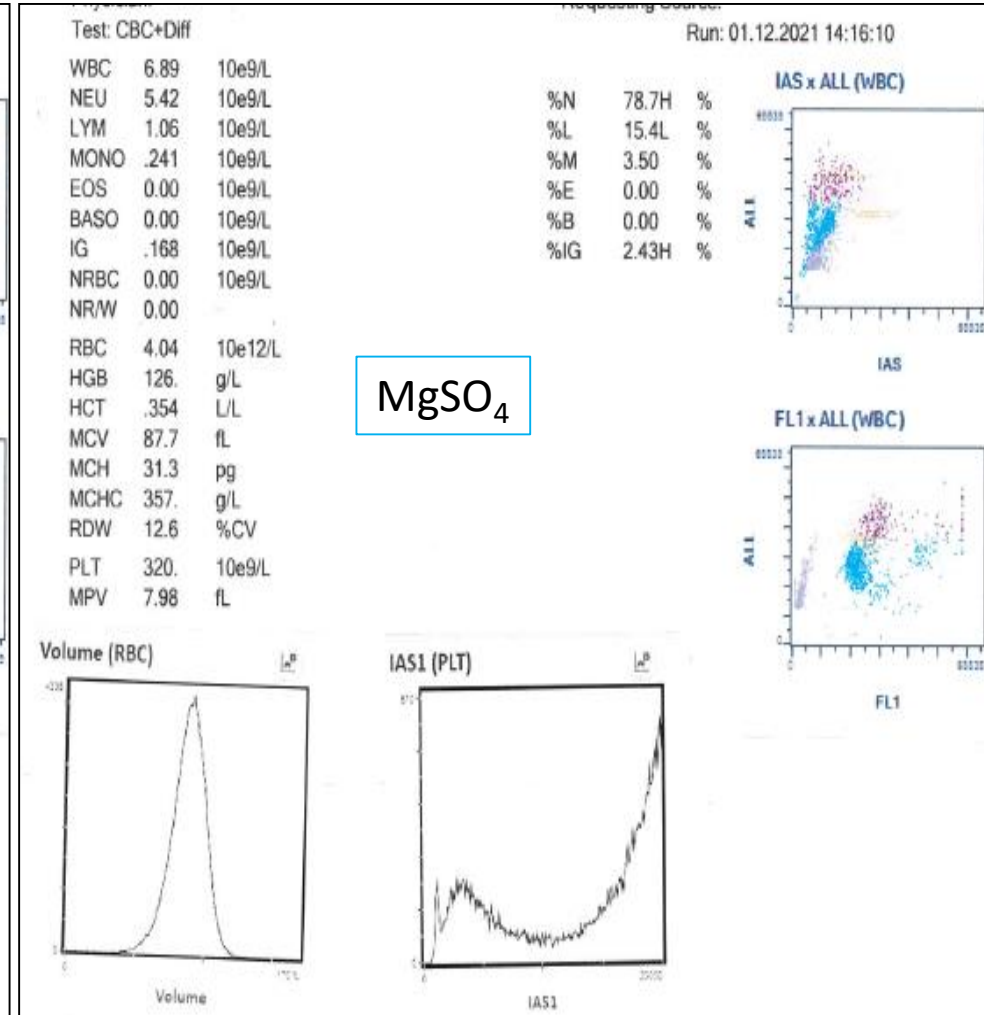
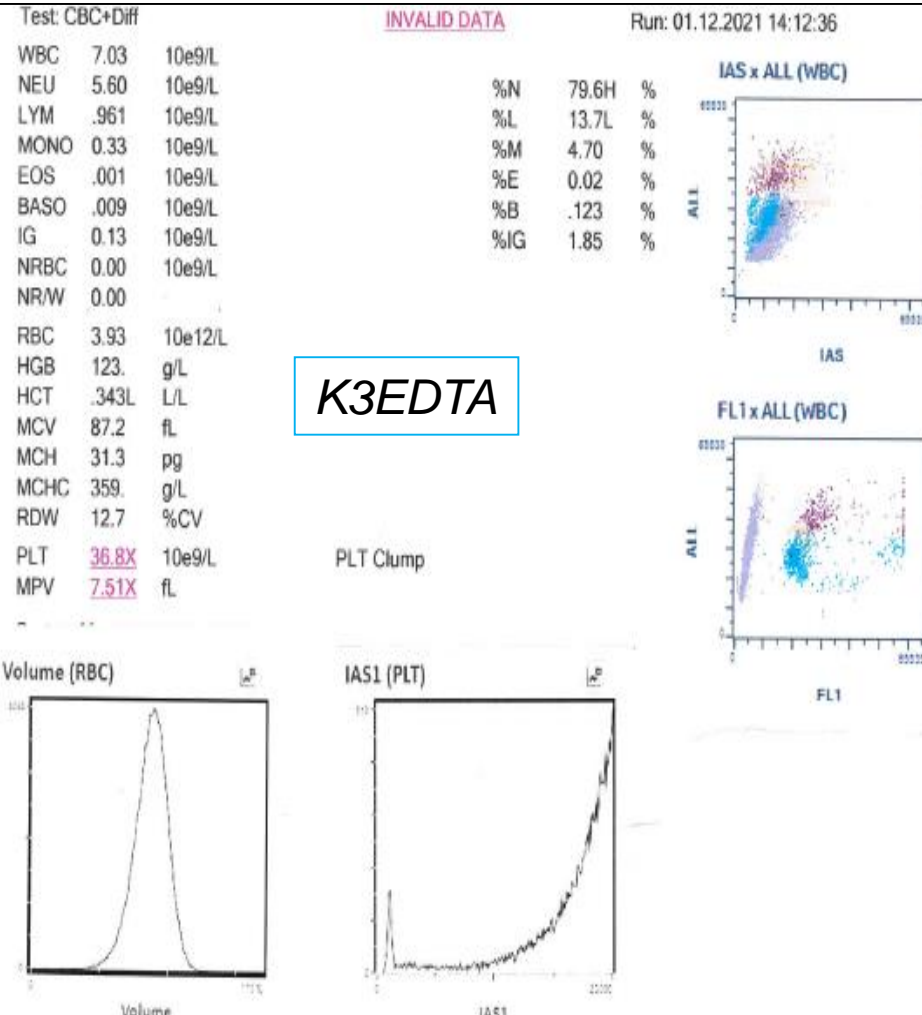
**PLT** 156. 10e9/L    **PLTi** 162.  
**MPV** 8.48 fl  
**PDW** 16.9 10(GSD)  
**PCT** 1.32 mL/L



# Příklady reakce na EDTA

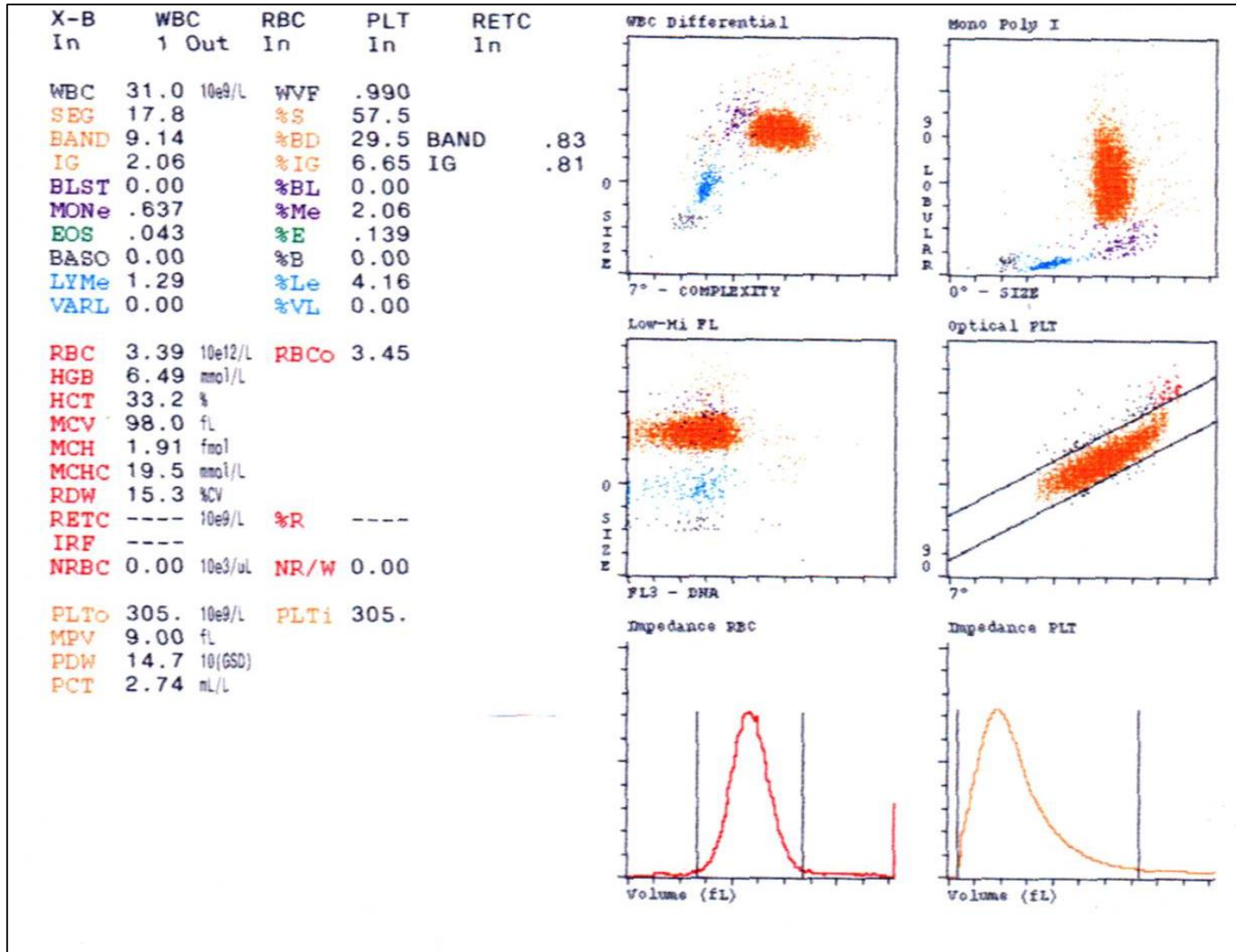


# Pseudotrombocytopenie

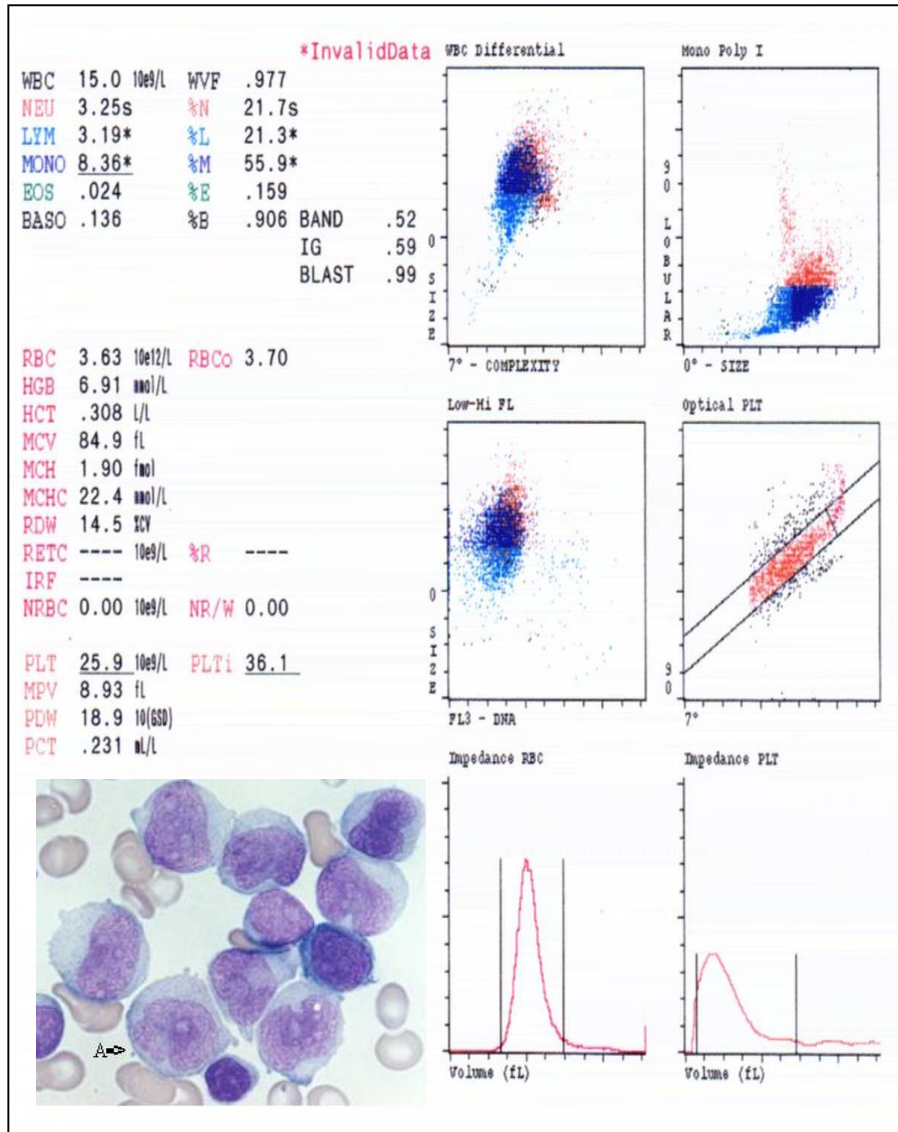




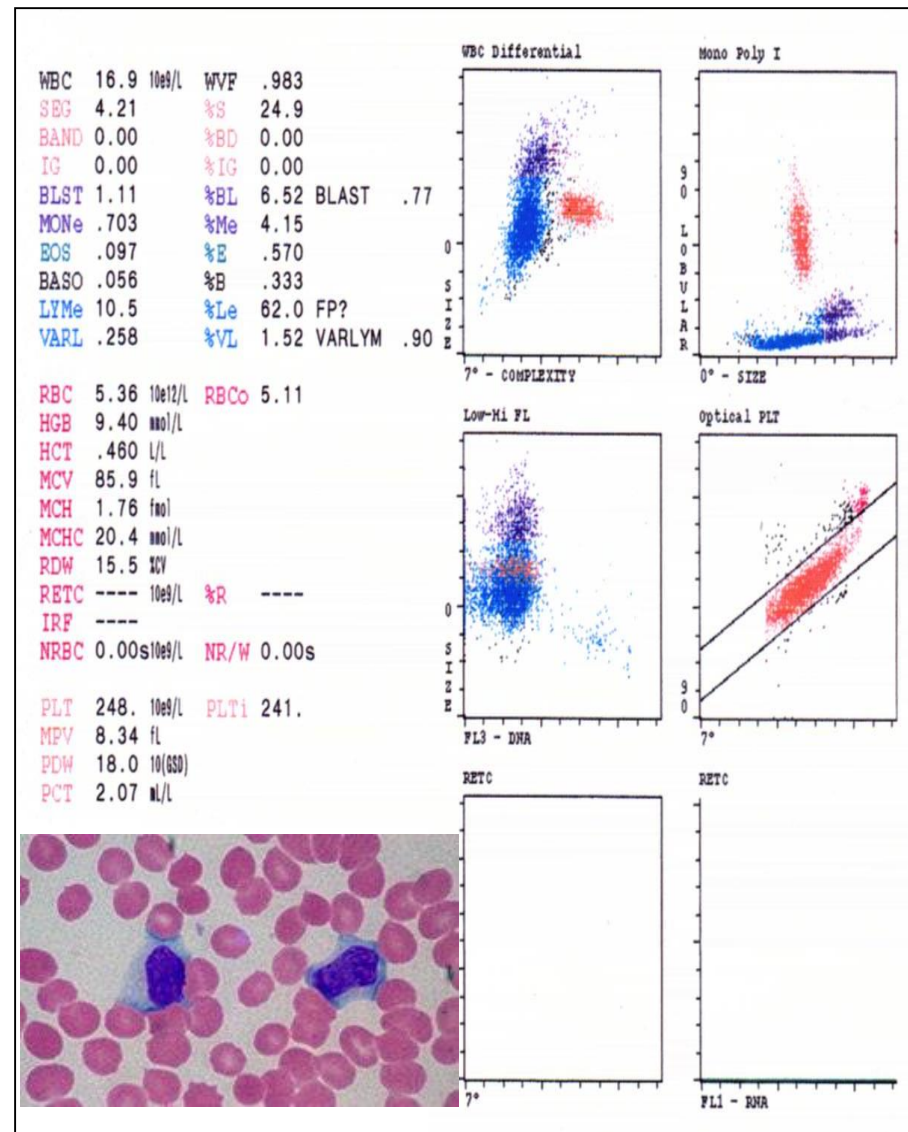
# Infekce



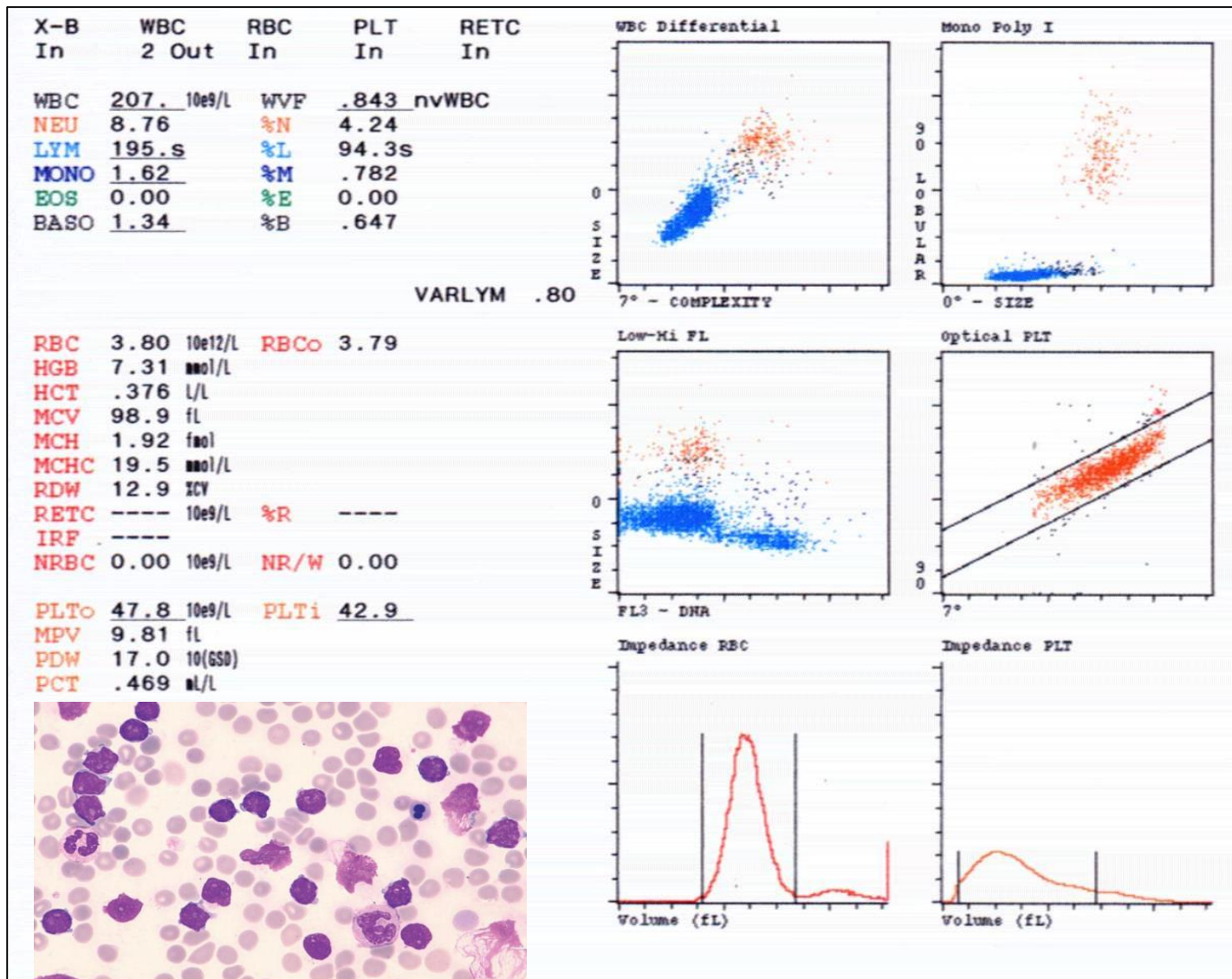
# Monoblasty



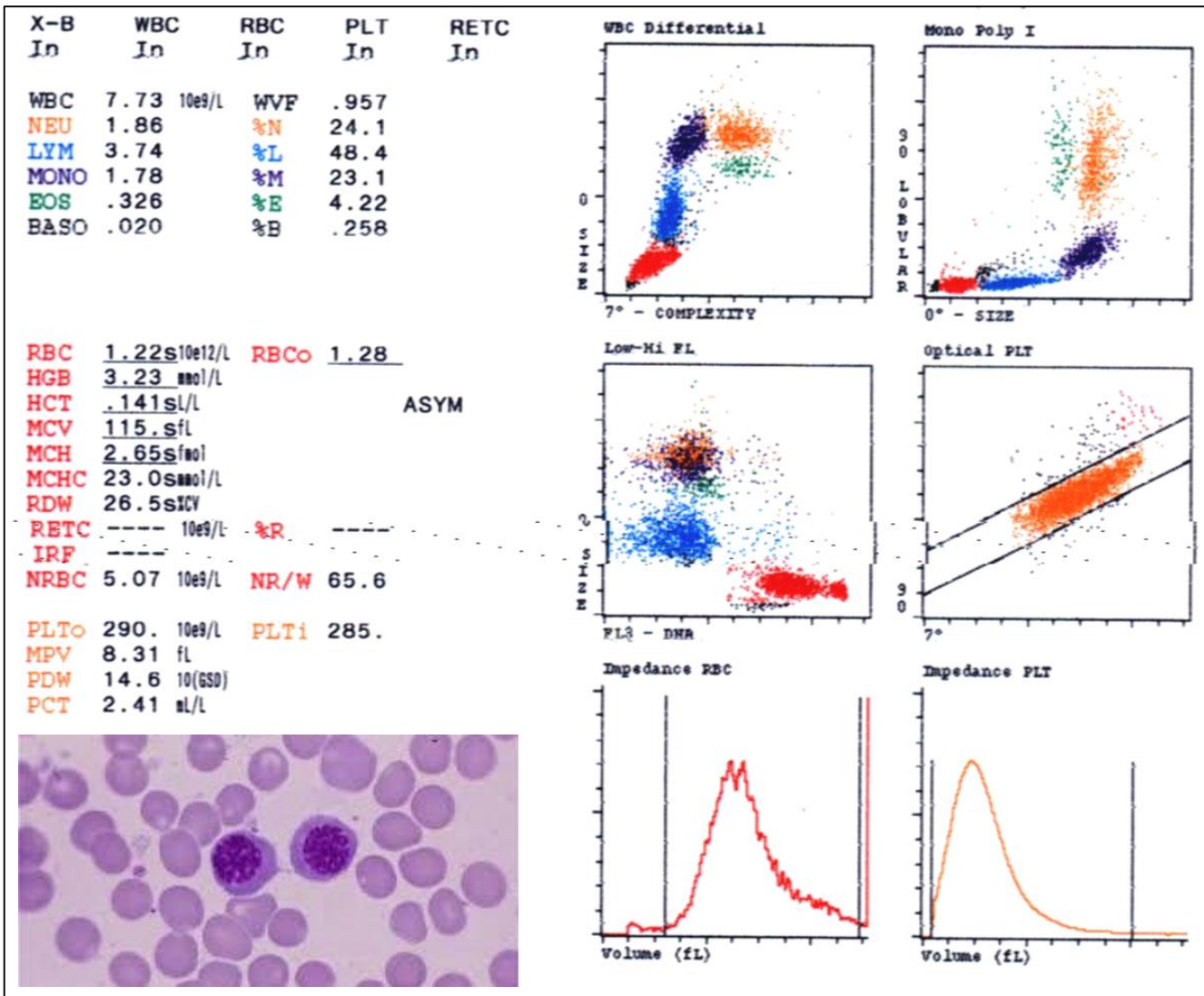
# Mononukleóza



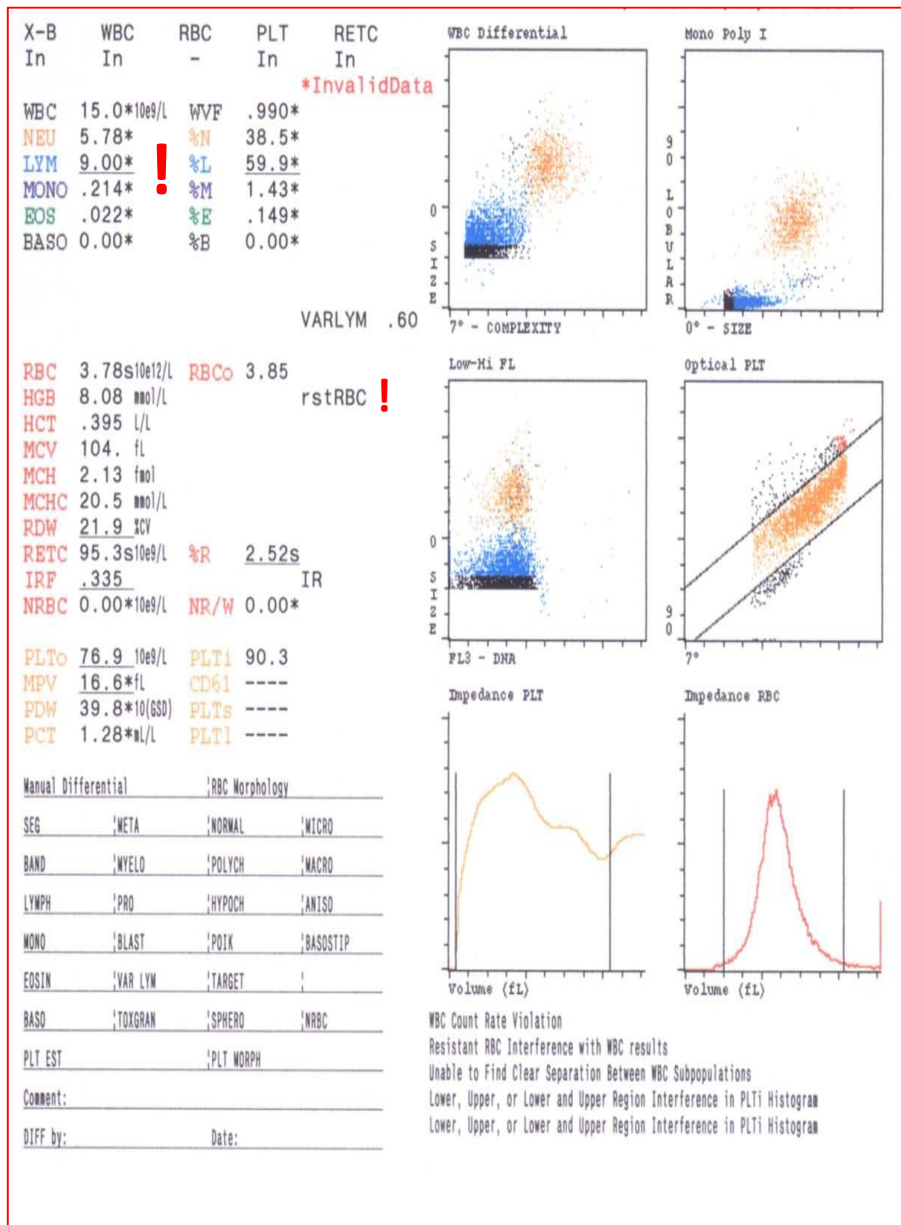
# Chronická lymfatická leukémie



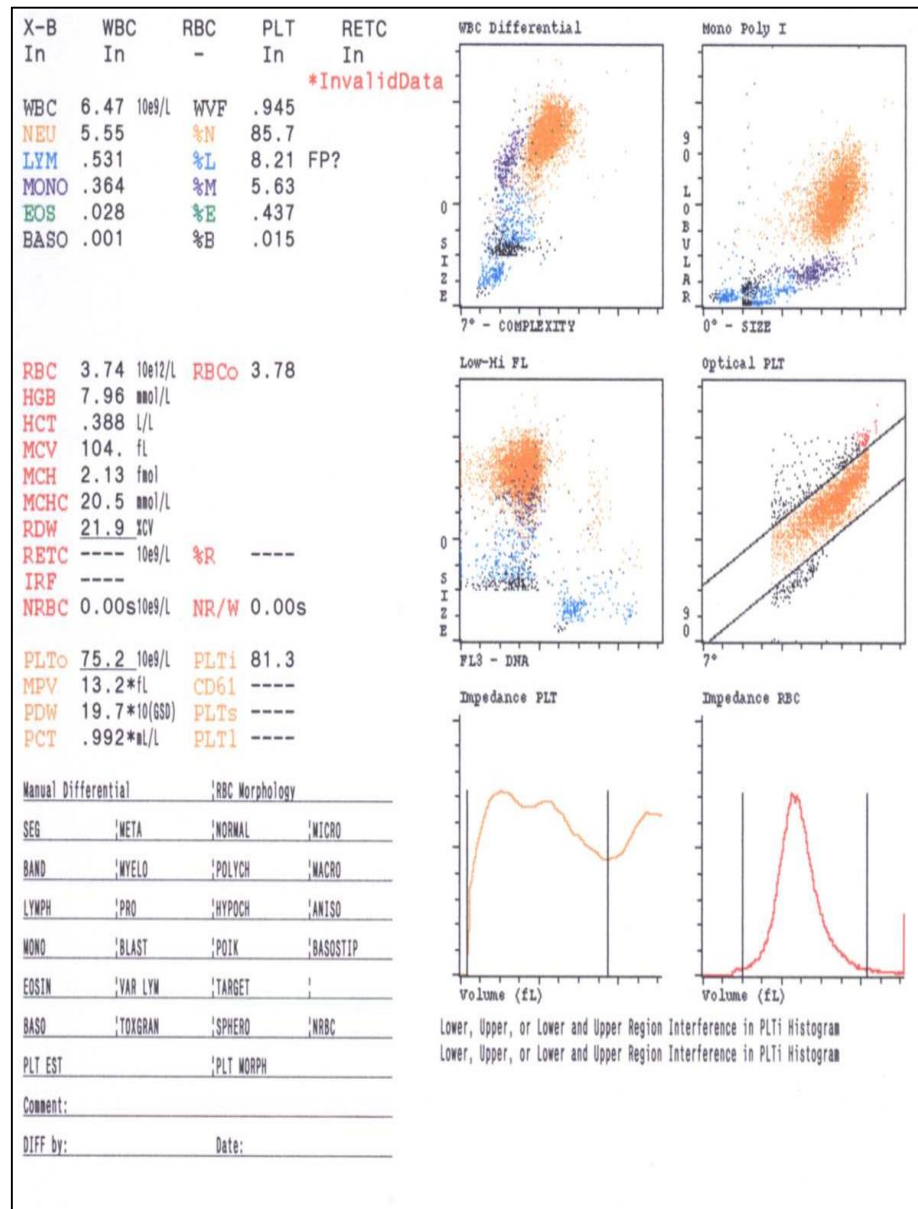
# NRBC ve vzorku



## Vzorek po dialýze



## Po odstranění rstRBC



# ALL a fragmenty cytoplazmy

