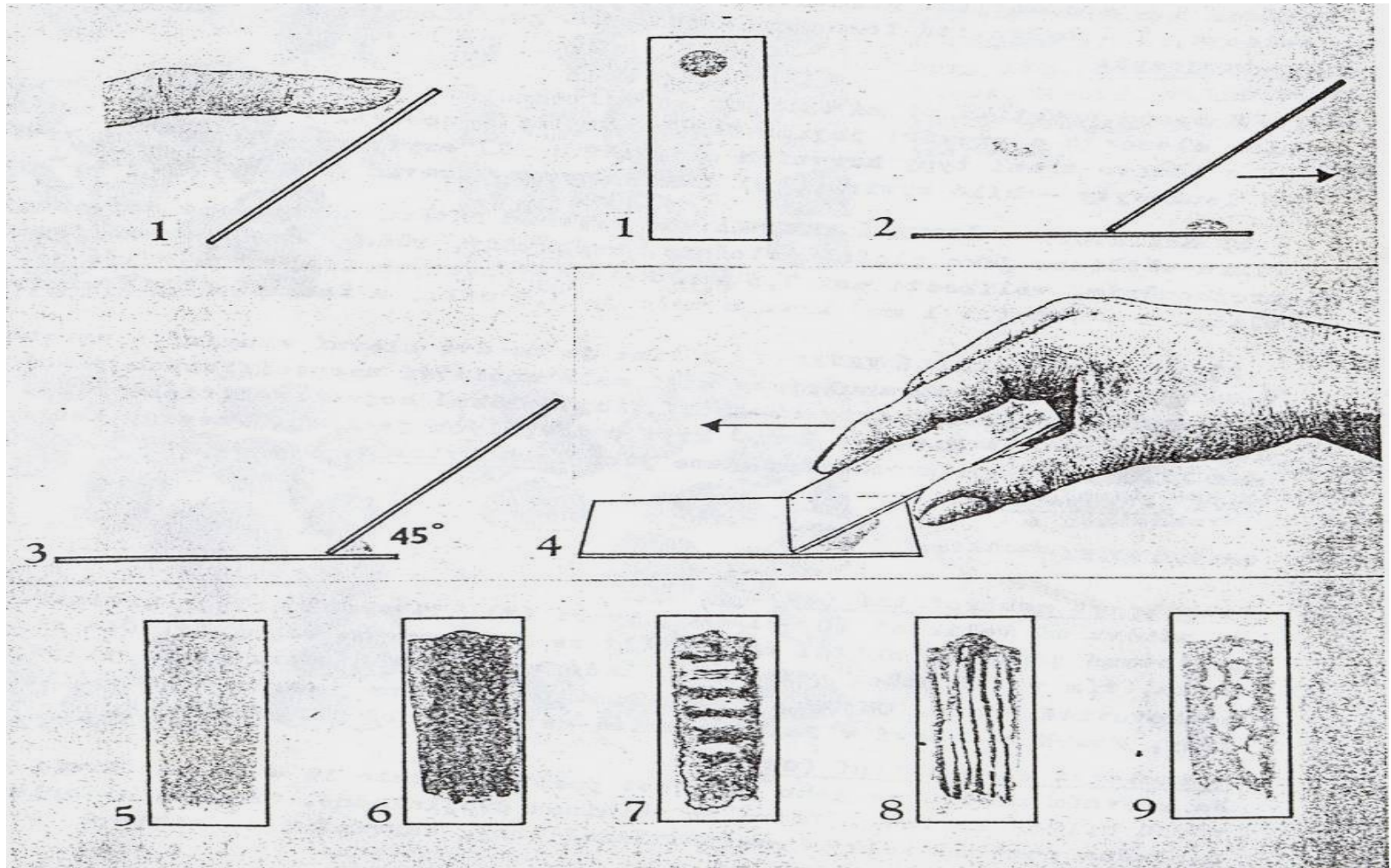


Příprava krevního roztěru



Správně

Příliš tlustý
Moc krve

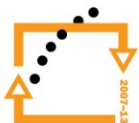
Nerovnoměrný
tah
Třásla se ruka

Krev se
srážela

Mastné
sklíčko

Barvení roztěrů

- Standardním barvením pro krevní nátěry je tzv. **panoptické barvení dle Pappenheima**.
- Postup barvení:
 1. Celý nátěr na 3 minuty pokryjeme May-Grünwaldovým barvivem.
 2. Opatrně přikapáváme destilovanou vodu tak, aby se původní barvivo nesmylo. Cílem je nechat působit takto naředěné barvivo (1:1) další 1 minutu.
 3. Barvivo slijeme, můžeme opláchnout vodou.
 4. Na nátěr naneseeme Giemsa-Romanowského barvivo. Toto barvivo musí být před barvením vždy čerstvě naředěné přibližně 1:9 (na 10 ml destilované vody 10 - 15 kapek barviva). Necháme působit přibližně 15 minut (10 - 20 minut).
 5. Barvivo slijeme a důkladně opláchneme pod tekoucí vodou.
 6. Spodní stranu sklíčka očistíme utěrkou.
 7. Je vhodné ihned zkontrolovat probarvenost krevních buněk a eventuelně preparát ještě dobarvit.



Barvení pomocí hotových barvicích sad

Výhody:

- rychlé (cca 1 – 2 min)
- roztoky již připraveny
- vydrží dlouho (měsíce)
- lze skladovat při pokojové teplotě
- používají se opakovaně

Nevýhody:

- Neposkytují tak dobré výsledky jako klasické barvicí techniky
- Ve výzkumu nebo při hodnocení sporných patologických nálezů je lepší použít klasické techniky, přestože jsou časově náročnější

Příklady:

barvicí sada Leukodif (Pliva Lachema)
Diff-Quik (Medion Diagnostics)

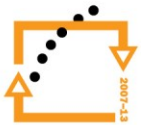
Postup barvení :

Roztěr musí být suchý

1. Fixační činidlo (metanol) 5 x 1 s
2. Eozin 5 x 1 s
3. Azur 5x 1 s
4. Oplach (fosfátový pufr pH 7,4 nebo dest. voda)

Mezi jednotlivými kroky
neoplachujeme ani
nesušíme

Nechat zaschnout a pozorovat pod imerzí



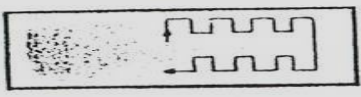
Vyhodnocování krevního roztěru

- Pozorujeme zásadně pod imerzí
- Správná oblast pro hodnocení: **kde se krvinky příliš nedotýkají**
- **V této oblasti prohlížet preparát při tzv. meandrovitém pohybu (C)**
- **Krevní diferenciál** (dif): procentické zastoupení jednotlivých typů leukocytů
- Krevní obraz: kompletní hodnocení počtu a morfologie formovaných krevních elementů
- Orientační pomůcka: na jeden leukocyt připadá asi 700 erytrocytů

		%
NEUTR. GR.	### II	65
NEUTR. TYČE	I	2
EOS. GR.	III	3
BASOF. GR.	I	1
MONOCYTY	III	4
LYMFOCYTY	### III II	25

B

C



Úkoly:

- Připravit cvičný roztěr **z myší krve (jeden nebo více)**
- Obarvit myší roztěr a orientačně prohlédnout – **nevyhodnocovat !!!**
- **Vyhodnotit učitelem dodaný roztěr lidské krve:**

Zakreslit jednotlivé typy krvinek (erytrocyt, trombocyty, 5 typů leukocytů)

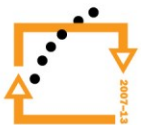
Vyhodnotit diferenciál (u 50 leukocytů určit typ a vypočíst z toho jejich procentické zastoupení).

Srovnat určený diferenciál s fyziologickými hodnotami, které je nutné vyhledat v textu ve složce 😊

-
- **V mezičase se seznámit s manipulací s automatickými pipetami**



EVROPSKÁ UNIE



Popis formovaných krevních elementů

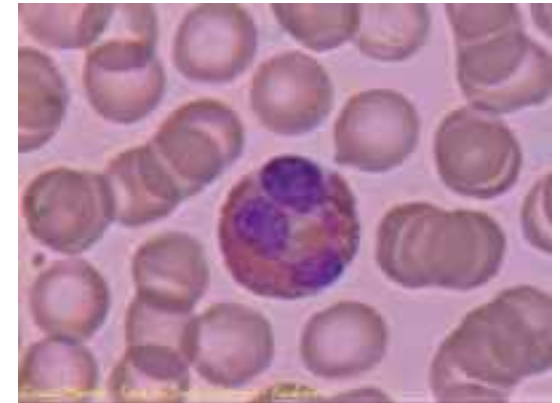
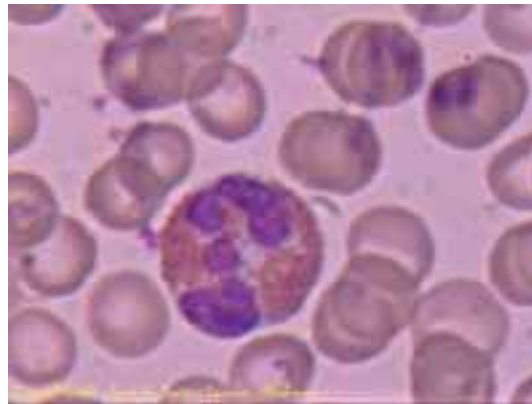
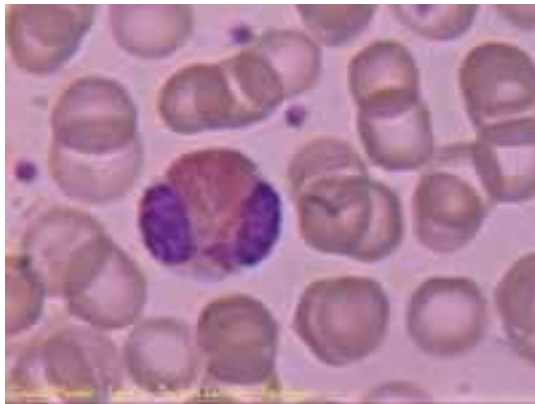
Granulocyty:

v cytoplasmě mají granula, jádro bývá segmentované

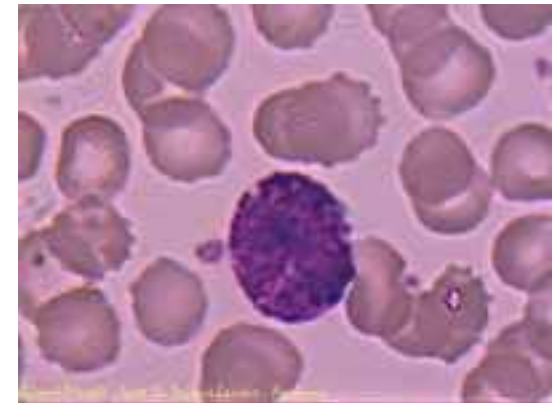
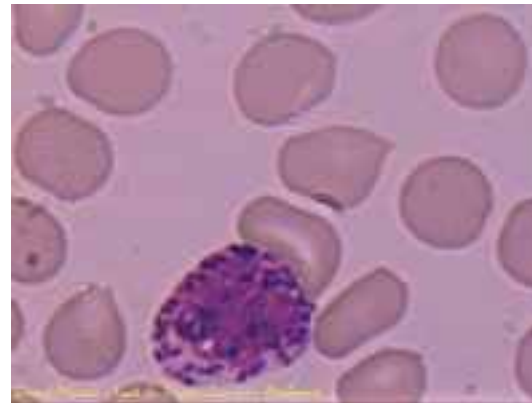
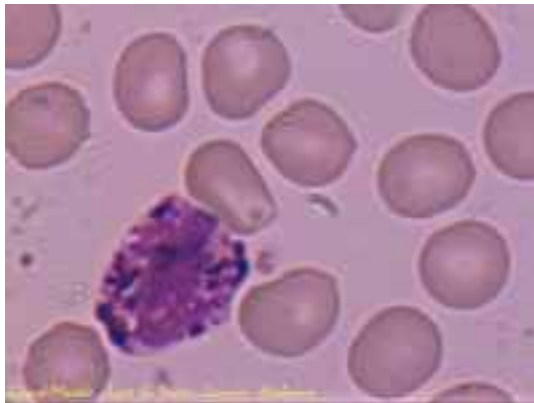
- **Neutrofil:** velikost 10 – 12 μm , cytoplasmata se barví slabě růžově, jádro tmavě modré, segmentované (2 – 7 segmentů) Průměrný počet segmentů se vyjadřuje pomocí Hynkova čísla, které odráží stupeň zralosti neutrofilů. Granula se barví kyselým i zásaditým barvivem a mají proto nevýraznou narůžovělou barvu, jsou velmi malá, sotva rozlišitelná. **Hlavní funkcí neutrofilů je fagocytóza cizorodých částic a jejich rozklad pomocí lyzomárních enzymů.**



- **Eozinofil:** velikost 12 – 14 μm , jádro ze dvou segmentů (brýlovité), granula větší než u neutrofilů, barví se cihlově červeně.
Hlavní funkcí eozinofilů je obrana proti endoparazitům a mohou se účastnit i alergických reakcí



- **Bazofil:** velikost 9 - 11 μm , jádro protáhlé, často esovitě, granula tmavě modrá, velká, barví se stejně jako jádro, proto se jeví jakoby jádro překrývala. Bazofily se účastní alergických reakcí.

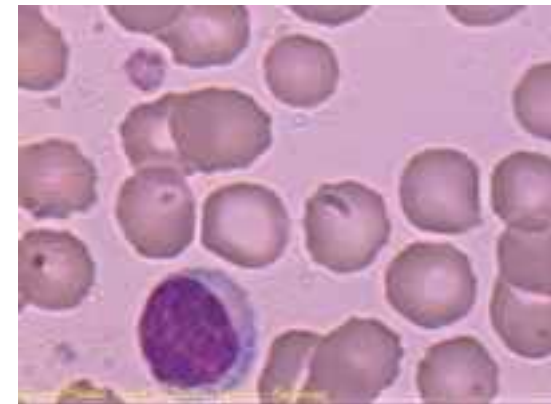
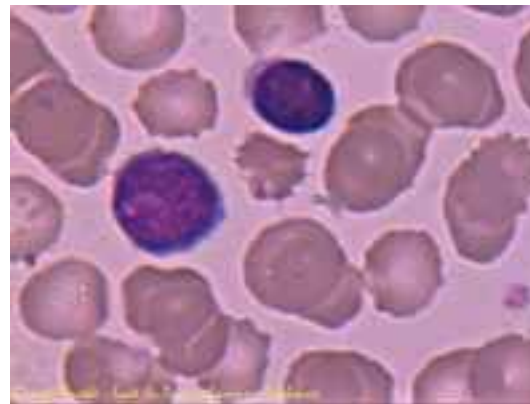
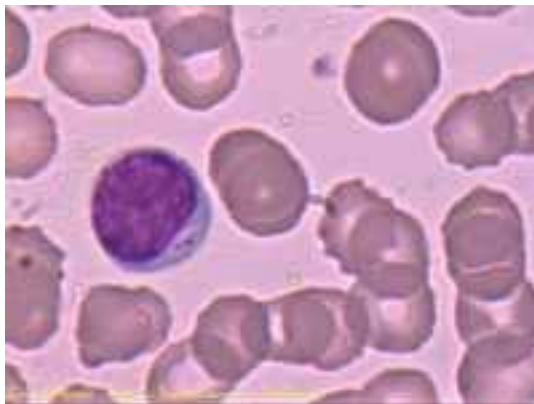


Popis formovaných krevních elementů

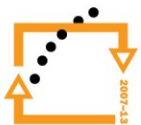
Agranulocyty:

v cytoplasmě nemají granula, jádro není segmentované

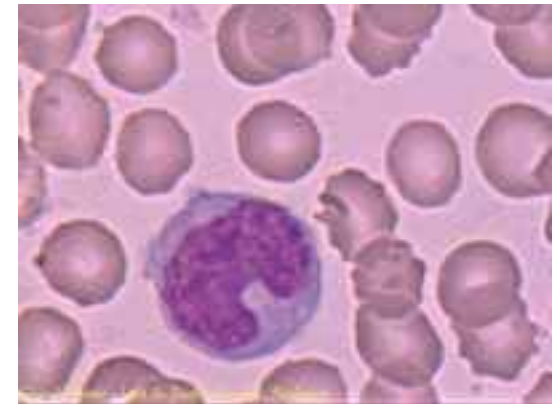
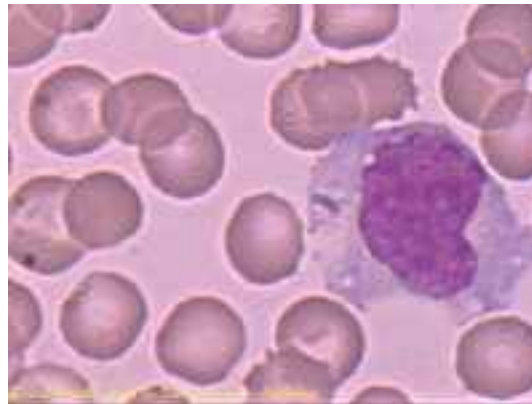
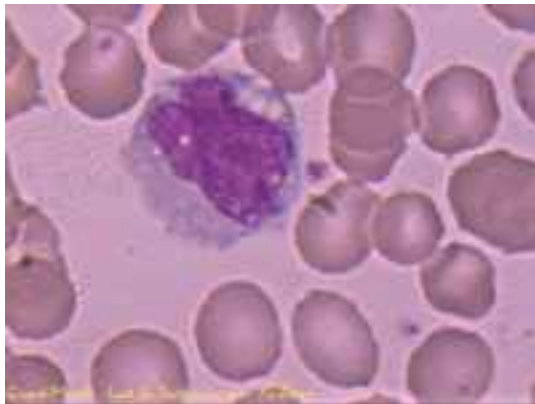
- **Lymfocyt:** velikost 6 – 12 μm podle stupně zralost (malí, střední a velké lymfocyty) , jádro okrouhlé hodně tmavé. Při diferenciaci (zrání) buňky přibývá cytoplasmy, jádro je stejné. Granula v cytoplasmě nejsou pouze drobná zrnitost. V roztěru nerozlišíme T a B lymfocyty, většina v periferní krvi jsou B lymfocyty. Hlavní funkce T lymfocytů je kooperace s dalšími imunitními buňkami při likvidaci cizorodých látek. Hlavní funkcí B lymfocytů je produkce protilátek.



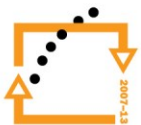
EVROPSKÁ UNIE



- **Monocyt:** velikost 14 – 20 μm , kulaté nebo oválně, jádro často ledvinovitého tvaru (záleží na směru pozorování). Chromatin je jemně zrnitý, jádro je vždy světlejší než u lymfocytů. Granula nejsou, cytoplasma se však může jevit jako mírně zrnitá. Hlavní funkcí je fagocytóza cizorodých částic za účelem jejího zpracování a předložení dalším buňkám imunitního systému.

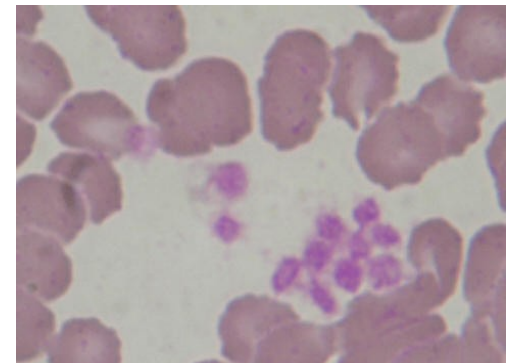
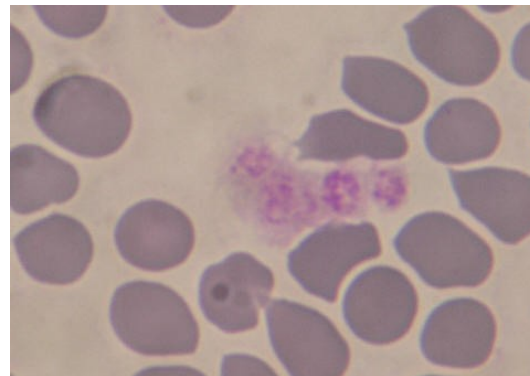
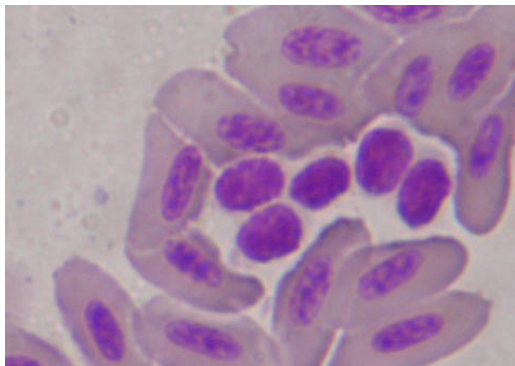


EVROPSKÁ UNIE

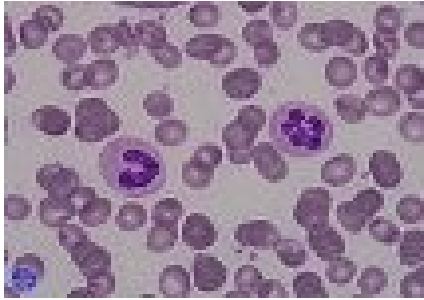


Popis formovaných krevních elementů

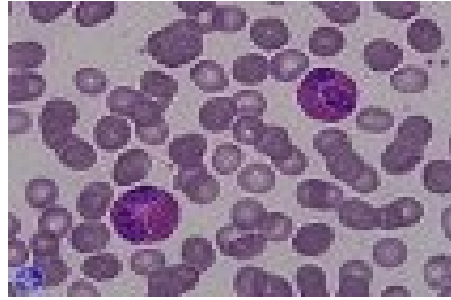
- **Erythrocyty:** velikost: 7 μm . Savčí erythrocyty jsou bezjaderné, oblast kde jádro před dozráním bylo se jeví jako světlejší disk. Erythrocyty ostatních tříd obratlovců jsou většinou oválné a mají vždy jádro.
- **Trombocyty:** krevní destičky, u savců jsou bezjaderné, jsou to vlastně odškrcené okrsky cytoplasmy z buněk, které se mazývají megakaryocyty a jsou trvale v kostní dřeni. Tyto okrsky cytoplasmy mají velikost asi 3 μm a často v roztěrech vytvářejí shluky. Trombocyty ostatních obratlovců jsou jaderné.



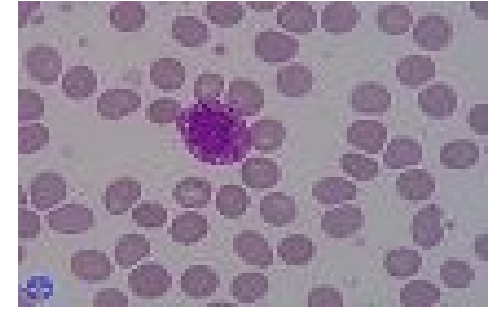
Granulocyty



neutrofil

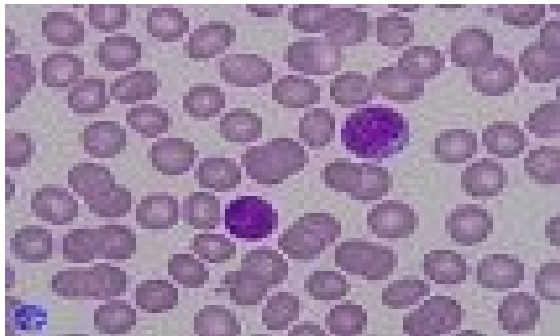


eozinofil

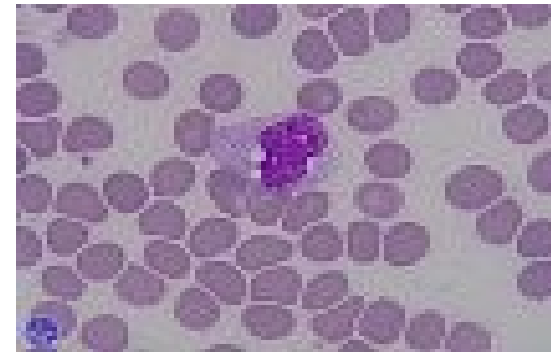


bazofil

Agranulocyty



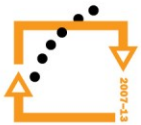
lymfocyt



monocyt



EVROPSKÁ UNIE



Použité zdroje:

- Atlas Hematologie zvířat:
http://projekty.sosvet.cz/2006_hematologie/index.htm
- Tichý a kol: Histologie, VFU Brno, 2000



EVROPSKÁ UNIE

