

**Univerzita Karlova v Praze  
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové  
katedra biologických a lékařských věd**

**Hodnocení diferenciálního rozpočtu leukocytů v periferní krvi  
mikroskopicky a analyzátozem**

(bakalářská práce)

Hradec Králové 2009  
Zuzana Černochová

Prohlašuji, že předložená práce je mým původním autorským dílem, které jsem vypracovala samostatně. Veškerou literaturu a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, v práci řádně cituji a jsou

uvedeny v seznamu použité literatury.

V Mořkově .....

Podpis.....

Poděkování:

Na tomto místě bych poděkovala MUDr. Marku Wróblovi za odborné vedení práce a připomínky, které mi v průběhu psaní udělil.

Děkuji Mgr. Jaroslavě Machákové za velkou podporu, její obětavou pomoc a dobré rady, které mi poskytovala po celou dobu psaní této práce.

## **OBSAH**

1. SOUHRN .....	4
2. SUMMARY .....	5
3. ÚVOD .....	6
4. TEORETICKÁ ČÁST .....	7
4.1. Leukocyty .....	7
4.1.1. Fyziologie bílých krvinek .....	7
4.1.3. Tvorba a vývoj bílých krvinek .....	8
4.1.4. Kmenová buňka .....	9
4.1.5. Charakteristika vyžívání buněk .....	<b>Chyba! Záložka není definována.</b>
4.2. Krevní obraz na analyzátoru CELL-DYN Sapphire. <b>Chyba! Záložka není definována.</b>	
Obrázek č.1 : Analyzátor CELL-DYN Sapphire .....	<b>Chyba! Záložka není definována.</b>
4.2.1. Způsoby měření .....	<b>Chyba! Záložka není definována.</b>
4.2.2. Impedanční metoda .....	<b>Chyba! Záložka není definována.</b>



## 1. SOUHRN

Vyšetření krevního obrazu patří k rutinnímu laboratornímu vyšetření. V naší laboratoři máme analyzátor firmy Abbott - analyzátor CELL-DYN Sapphire. Umožňuje přímé měření 5-ti populačního diferenciálu WBC, retikulocytů a měření CD znaků (CD 61, CD 3/4/8) pomocí monoklonálních protilátek. Tento přístroj pracuje na základě speciální technologie MAPSS (Multi–Angle-Polarized-Scatter-Separation). Přístroj CELL-DYN Sapphire počítá, měří velikost a třídí krevní buňky pomocí průtokové cytometrie, která počítá a měří vlastnosti buněk nebo částic unášeným proudem kapaliny při jejich průchodu skrze snímací zónu. Dle zadaných kritérií provádíme mikroskopické hodnocení, které je také nedílnou součástí naší laboratoře. Hodnocení krevních nátěrů má význam jednak kontrolní - pro srovnání naměřených hodnot vydaných hematologickým analyzátozem a diferenciálním rozpočtem hodnoceným mikroskopicky a také ke zhodnocení morfologických změn jednotlivých krevních buněk.

## 2. SUMMARY

Testing blood picture is one of the routine laboratory tests. In our laboratory we have analyzer of firm Abott- analyzer CELL-DYN Sapphire. It allows direct measurement of 5-differential WBC population and measurement reticulocyte CD features (CD 61, CD3/4/8) with monoclonal antibodies. This device works on the basis of a special technology MAPPS (Multi-Angle-Polarized-Scatter-Separation). The CELL-DYN Sapphire calculates, measures by size and sorts blood cells using flow cytometry which counts and measures properties of cells or particles driftlines stream of liquid in their passage trough the sensing zone. According to the set of criteria is performed microscopic evaluation which is also an integral part of our laboratory. Evaluation of blood **smears** is important both for control – a comparison of measured values issued haematological analyzer and differential **count** and evaluated microscopically to assess the morphological in various blood cells.

### 3. ÚVOD

Leukocyty jsou důležitou součástí krve, které zjistíme z vyšetření krevního obrazu. Počet a charakter těchto parametrů nám umožní diagnostikovat často závažná onemocnění.

Stanovení leukocytů s diferenciací rozpočtem patří k běžnému vyšetření krevního obrazu ve všech hematologických laboratořích.

Toto téma se může však zdát jako velmi běžné, samozřejmě, ale vzhledem k dnešním možnostem využití různých moderních technik, může být přesto velmi diskutabilní a také v některých bodech, které jsou v mé práci uvedené, odlišné. Ve své práci bych chtěla stručně nastínit možnosti stanovení naší laboratoře. Je zde popsána základní fyziologie a charakteristika jednotlivých buněk, dále způsoby, principy měření, vyhodnocovací techniky a praktické možnosti barvicí techniky. V závěrečné části jsou ukázky možné odlišnosti hodnocení automatické a ruční práce.

## 4. TEORETICKÁ ČÁST

### 4.1. Leukocyty

Leukocyt – bílá krvinka. Hlavní úlohou je schopnost ničit viry, bakterie, plísně, cizorodé částice, nádorově změněné buňky a všechny organismy cizí mikroorganismy.

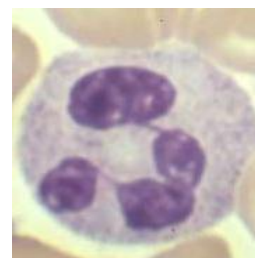
#### 4.1.1. Fyziologie bílých krvinek

Leukocyt je bezbarvá buňka, většinou kulovitého tvaru a je stálou součástí krve. U zdravého dospělého člověka se pohybuje počet mezi 5–10x 10<sup>9</sup>/l. U novorozenců může počet dosahovat až 30 x 10<sup>9</sup>/l, v kojeneckém věku se pohybuje okolo 11x10<sup>9</sup>/l. Koncentrace bílých krvinek je tedy ovlivněna pohlavím, věkem, výživou, tělesnou námahou, zdravotním stavem a mnoha dalšími faktory. Po jídle a při probíhajícím infekčním onemocnění jejich množství stoupá. Rozlišujeme několik druhů, morfologicky, funkčně odlišných konečných stádií. Všechny typy se různým způsobem podílejí na obranných reakcích organismu. Stav, kdy počet bílých krvinek poklesne pod fyziologickou normu, se nazývá leukopenie, opačný stav se nazývá leukocytóza. Bílé krvinky mají schopnost přilnout k různým povrchům (adhezivita), mají schopnost fagocytózy. Dokáží opustit krevní řečiště a vycestovat do okolní tkáně, tj. vaziva (diapedéza leukocytů). Bílé krvinky jsou pohyblivé buňky schopné améboidního pohybu. (*Hrubíško a kolektiv, 1981*)

V obvodové krvi nacházíme tyto leukocyty :

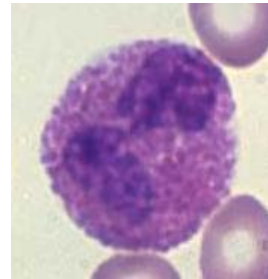


Neutrofilní tyče

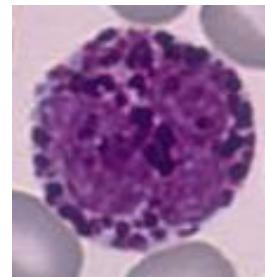


Neutrofilní segmenty

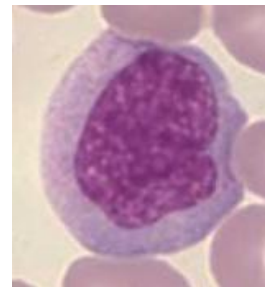
Eozinofilní segmenty



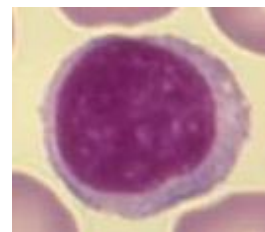
Bazofilní segmenty



Monocyty



Lymfocyty



Rozlišení z morfologického hlediska: zde se přihlíží k přítomnosti či nepřítomnosti specifických granulí v cytoplazmě.

Granulocyty - polymorfonukleáry (neutrofilní, eozinofilní, bazofilní)

Agranulocyty - mononukleáry (lymfocyty, monocyty, plazmocyty)

#### **4.1.3. Tvorba a vývoj bílých krvinek**

Vývoj krevních buněk probíhá v kostní dřeni od kmenových buněk přes progenitorové, až po velmi diferencované buňky. (Pecka, 2002)



#### 4.1.4. Kmenová buňka

Výchozí buňkou všech krvinek je buňka mezenchymu, jež se diferencuje v retikulární buňku, která se stává základem pro krvinky. Mění se v hemocytoblast, který se stává v zárodečném období kmenovou buňkou. Všechny krvinky v obvodové krvi mají po narození i v dospělosti jedince jedinou hemopoetickou tzv. pluripotentní kmenovou buňku, která se může vyvíjet jakýmkoliv směrem, tj. v mateřské buňky: červených, bílých krvinek a krevních destiček. Z kmenové pluripotentní buňky vznikají v průběhu několika prvních dělení první buňky, které jsou schopny se množit in vitro a dát vznik kultuře krve-tvorných buněk, tzv. TLC-IC (Long-Term-Culture-Initiating Cell). Dalším dělením a diferenciací vznikají z těchto buněk progenitorové buňky. ( *Kahanský, 1995*)

Mateřskou buňkou je progenitorová buňka CFU-GM (Granulocyte Erythrocyte Macrophage Megakaryocyte) - pro buňky myelopoézy.