

# LABORATORNÍ LISTY

č. 14/2019

Duben 2019

Vážené kolegyně a kolegové,

v tomto čísle laboratorních listů Vám přinášíme podrobnější informace o barvení mikroskopických preparátů v hematologii. Příjemné čtení.

## POUŽÍVANÉ BARVENÍ MIKROSKOPICKÝCH PREPARÁTŮ V HEMATOLOGII

Vyšetření krevního obrazu pomocí analyzátorů má svá úskalí a určitá omezení. V přítomnosti některých složek (např. EDTA) se mohou vyskytnout jevy jako pseudotrombocytopenie (agregace krevních destiček), aglutinace erytrocytů či neutrofilů. I proto se při hematologické diagnostice využívá mikroskopická analýza (hodnocení) nátěru periferní krve (preparát). Nátěr se provádí z kapky nesrážlivé homogenizované krve a pomocí roztíracího skla se rovnoměrně rozvrství na odmaštěné podložní sklo v tenké vrstvě až „do ztracena“. Poté se nechá důkladně zaschnout pro izolaci jednotlivých krevních elementů a jejich přilnutí ke sklu.

Konkrétní hodnocení mikroskopického preparátu je možné až po jeho obarvení. K odlišení jednotlivých druhů buněčných krevních elementů se v naší laboratoři využívá **Pappenheimova panoptická barvicí metoda**. Preparát je nejprve 10 minut barven a zároveň fixován v roztoku *May-Grünwald* obsahujícím barvivo eozin, poté omyt pufovacím roztokem o pH 7 (destilovanou vodou) a dobarven po dobu dalších 10 minut naředěným roztokem *Giemsa-Romanowski* obsahujícím barvivo azur, opět omyt a po řádném zaschnutí mikroskopován. Kyselý barvivo eozin Y dává oranžovočervené zbarvení hemoglobinu a eosinofilním granulům a zásadité barvivo azur B dává modrošedé zbarvení nukleovým kyselinám, granulům bazofilů a jemným granulům v neutrofilech. Dále vznikají různé kombinace těchto dvou základních barviv (barev). Tak se zjišťuje typ leukocytů (případné anomálie), erytrocytů i trombocytů a hodnotí se jejich tvar, počet a velikost. Správně obarvený preparát by měl mít na pohled světle růžovofialovou barvu a jednotlivé krevní elementy při mikroskopické analýze mají:

**erytrocyty** - růžovošedou barvu

**krevní destičky (2)** - světle modrou cytoplazmu a tmavě růžová granula

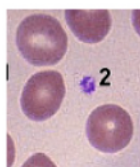
**neutrofil** - světle růžovou cytoplazmu, růžová až červenohnědá granula a fialovočervené jádro

**eosinofil** - cihlově červená až oranžovohnědá granula

**bazofil** - fialovočervená granula

**lymfocyt** - bledě modrou průhlednou cytoplazmu

**monocyt** - šedomodrou cytoplazmu.



neutrofil



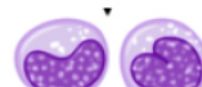
eosinofil



bazofil



malý lymfocyt



monocyt



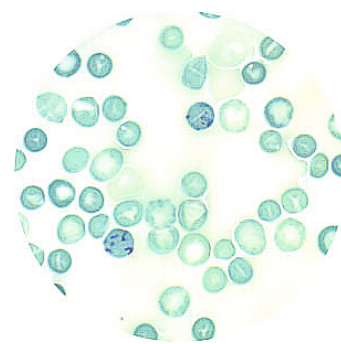
Institut laboratorní  
medicíny

Sang Lab - klinická laboratoř, s. r. o.  
Bezručova 10, 360 01 Karlovy Vary  
Karlovarské imunologické centrum s. r. o.  
Bezručova 10, 360 01 Karlovy Vary  
TECTUM spol. s r. o.  
Bezručova 10, 360 01 Karlovy Vary  
Jiří Voženilek spol. s r. o.  
Pražská 258, 276 01 Mělník

Hematocentrum s. r. o.  
nám. Dr. M. Horákové 1313/8, 360 01 Karlovy Vary  
VARAPALO s. r. o.  
nám. Dr. M. Horákové 1313/8, 360 01 Karlovy Vary  
ALERGOAMB s. r. o.  
Bezručova 10, 360 01 Karlovy Vary

[www.labin.cz](http://www.labin.cz)

Další v naší laboratoři používané **panoptické barvení** periferní krve je **brilantkresylovou modří** (supravitální barvivo) pro prokázání přítomnosti retikulocytů (mladých forem erytrocytů). Kdy je periferní krev nejprve inkubována po dobu 20 až 30 minut s barvivem a poté je proveden nátěr tenké vrstvy na odmaštěné podložní sklo. Mikroskopicky se určí počet žlutozelených erytrocytů s modře zbarvenými vlákénky či zrnky, vznikajícími účinkem barviva ze zbytků endoplazmatického retikula a Paladeho zrn s mitochondriemi. Vyjadřuje se jako počet retikulocytů na 1000 erytrocytů.



Dále existují speciální cytochemické barvicí metody k rozpoznání struktur a součástí jednotlivých krevních elementů, které při panoptickém barvení nejsou patrné, jako jsou například lipidy, bílkoviny, cukry a železo. Tyto speciální metody se provádějí ve 3 krocích – fixace, vlastní cytochemická reakce a dobarvování jader. Konkrétně se jedná například o **Perlsovu reakci** pro průkaz **přítomnosti železa** v erytrocytech, erythroblastech a makrofázích, které nebylo či nemohlo být z důvodu poruchy syntézy hemoglobinu do molekuly hemoglobinu zabudováno. Vhodné pro rozpoznání sideroblastické, hemolytické a megaloblastové anémie, myelodysplastického syndromu, či leukemií. Nebo barvení **Sudanovou černí B** pro průkaz **lipidů** v buněčných strukturách pro rozlišení myeloblastické či monoblastické leukémie od lymfoblastické.



Institut laboratorní  
medicíny

Sang Lab - klinická laboratoř, s. r. o.  
Bezručova 10, 360 01 Karlovy Vary  
Karlovarské imunologické centrum s. r. o.  
Bezručova 10, 360 01 Karlovy Vary  
TECTUM spol. s r. o.  
Bezručova 10, 360 01 Karlovy Vary  
Jiří Voženílek spol. s r. o.  
Pražská 258, 276 01 Mělník

Hematocentrum s. r. o.  
nám. Dr. M. Horákové 1313/8, 360 01 Karlovy Vary  
VARAPALO s. r. o.  
nám. Dr. M. Horákové 1313/8, 360 01 Karlovy Vary  
ALERGOAMB s. r. o.  
Bezručova 10, 360 01 Karlovy Vary

[www.labin.cz](http://www.labin.cz)