

Digitální morfologie – pomocník v hodnocení nátěrů periferní krve

D. Mikulenková

Nátěr periferní krve je zpravidla vyšetřován při podezření na hematologické či hematoonkologické onemocnění, provedení nátěru je po vyšetření pacienta v tomto případě indikováno lékařem. Dále se mikroskopické hodnocení nátěru krve doplňuje při definovaných patologických hodnotách krevního obrazu. Laboratoř si dle spektra vyšetřovaných vzorků definuje hodnoty krevního obrazu (KO) či patologické změny (hlášky), u kterých musí nátěr krve provést a zjistit tak příčinu patologie. Některá hematologická onemocnění vyvolávají život ohrožující stav a k jejich stanovení může přispět i „obyčejný“ nátěr periferní krve.

Pomocníkem při hodnocení nátěru periferní krve jsou v současné době na našem trhu již běžně dostupné přístroje pro digitální morfologii (DM). V nabídce pro hodnocení nátěru periferní krve jsou přístroje od firmy Cellavison (DI60, DC-1) a od firmy Scopio. Výhodou těchto přístrojů je to, že vyšetřovací proces je plně standardizovaný a plně automatizovaný. Součástí přístroje je systémový počítač a vlastní jednotka pro snímání obrazu z nátěru, která obsahuje mikroskop, digitální barevný fotoaparát a čtečku

QR kódů. U obarveného nátěru je proveden rozpočet na 100 jaderných buněk. Je možné, aby si počet hodnocených buněk laboratoř nastavila sama, některé laboratoře z důvodu vyšetřování vzorků od hematologických pacientů mají nastaven rozpočet na 200 jaderných buněk. Analyzátor provede preklasifikaci buněk při zvětšení 1000 krát dle svých nastavených algoritmů, obsluhující personál rozdělení buněk kontroluje a ev. upravuje zařazení leukocytů do jiné populace. Výhodou je přehled nafocených buněk v jednotlivých skupinách, což při běžném mikroskopování logicky nelze. Další výhodou je možnost porovnat si jednotlivé populace buněk v určité skupině s druhou skupinou společně na jedné obrazovce, lze si tedy porovnat velikost buněk, tvar jádra, strukturu chromatinu, prostornost cytoplazmy, její zbarvení či přítomnost inkluzí v ní, a poté si jednotlivé buňky správně ev. přeradit do druhé skupiny. Dále přístroj umožňuje si jednotlivé buňky či skupinu buněk zvětšit a rozlišit tak jemné detaily ve struktuře. Konzultace a zařazení sporných buněk za pomoci zkušeného personálu je další nespornou výhodou, zároveň je umožněna i edukace méně zkušených laboratorních pracovníků. Dalším krokem při vyšetření nátěru krve je přehledné hodnocení morfologie erytrocytů a trombocytů, je prováděno na 500 krát zvětšení s možností přiblížit si jednotlivé elementy a odhalit například přítomnost malarických plazmodií v erythrocytech. Trombocyty větší, než fyziologické jsou samostatně vyfoceny a prezentovány společně, lze pak odhalit přítomnost makrotrombocytů, které mohou způsobovat chyby při měření KO (velké trombocyty mohou být chybně započítány do erythrocytů a ve výsledku KO je chybně uvedena trombocytopenie).



Obr. 1 Hematologická linka

Po podpisu přihlášeného pracovníka může hodnocení nátěru včetně komentáře k hodnoceným elementům odejít do laboratorního informačního systému (LIS). Tzv. primární data z DM jsou archivována, je možno se k fotografiím vrátit a podívat se zpětně na výsledek a ev. zhodnotit morfologii a rozpočet buněk vůči současnému nátěru.

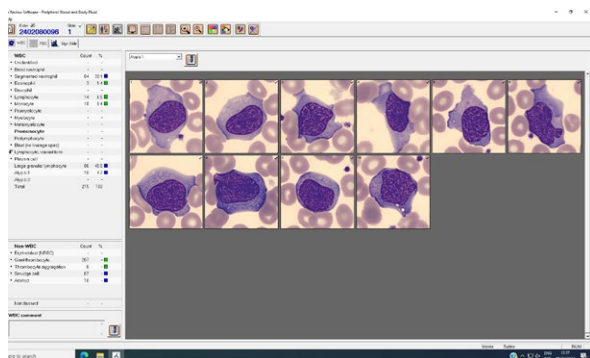
Zásadní pro celý proces končící zhodnocením nátěru krve je dodržení správné preanalytické fáze, tedy použití vhodné techniky nátěru (tloušťka, délka) a standardizované obarvení nátěru dle definovaného protokolu. Oba procesy v současné době mohou být též standardizované a automatizované pomocí nátěrového a barvicího automatu, který je společně s DM zapojen do celé hematologické linky (Obr. 1). Pokud laboratoř není vybavena tímto přístrojem, musí si přípravu standardizovaných obarvených nátěrů zajistit sama zkušeným personálem.

Naše pracoviště je přístrojem pro DM vybaveno již od r. 2008, kdy jsme si pořídili DM96, od r. 2016 jsme v rámci linky XN3000 začali používat další přístroj, a to DI-60. V současné době používáme již jen druhý přístroj se dvěma klienty (vyhodnocovací stanice). Většinu mikroskopických hodnocení nátěru krve provádíme jen digitálně, mikroskopicky hodnotíme vzorky s leukocytózou a ty, které musíme natřít pro přítomnost chladových protilátek ručně. Mikroskop používáme v některých případech ke kontrole sporných elementů, pokud diferencujeme na mikroskopu, tak někdy s výhodou si pak vzorek necháme zhodnotit na DM, kde si můžeme srovnat jednotlivé popu-

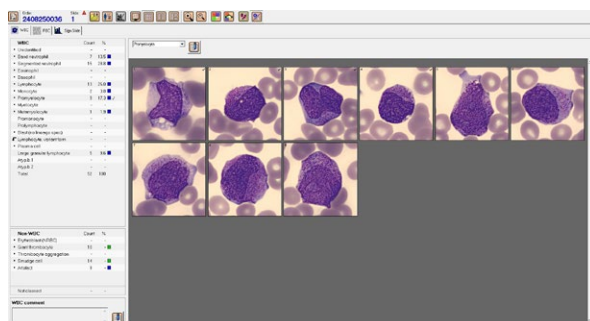
lace buněk, např. lymfocytů, které vykazují nejvyšší morfologický rozptyl ve velikosti a charakteru jádra a prostorosti cytoplazmy (Obr. 2). Specifické pro naše pracoviště je vyšetřování vzorků od pacientů s podezřením na akutní leukemii, kteří mají těžkou leukopenii. Typickým příkladem je akutní promyelocytární leukemie (APL), při které v periferní krvi nacházíme leukemické promyelocyty (Obr. 3). A právě digitální morfologie u těžké leukopenie, kterou se APL projevuje a u které je v nátěru krve těchto patologických buněk jen pár, může tyto patologické promyelocyty v nátěru najít. Některé těžce patologické vzorky s leukocytózou [počet leukocytů > $50 \times 10^9 /L$] do analyzátoru ale nedáváme, na jednotlivých obrázcích přístroj nafotí více buněk najednou a pro personál je rychlejší buňky zhodnotit mikroskopicky. A poslední velkou výhodou je konzultace nálezu s odborníkem morfologem, a to formou poslání nafocené obrazovky s jednotlivými skupinami podezřelých buněk, či poslání jednotlivých fotek ke konzultaci e-mailem, v rámci celé ČR.

Přístroj máme plně zapojený do rutinního procesu, máme nastavenou interní kontrolu kvality a hodnocení nátěru laboratorním personálem na DM kontrolujeme externími vzorky v rámci EHK. Hodnocení nátěru periferní krve na DM jako metody máme ve shodě s normou ISO:15189 a máme tuto metodu posouzenou ČIA o.p.s.

Dle mých zkušeností DM může pomoci při optimalizaci laboratorního procesu a ulehčit přetížení laboratorního personálu. Hodnocení nátěru periferní krve je automatizované a standardizované, digitalizace nálezu pomáhá v edukaci personálu a fotografie buněk lze s výhodou konzultovat s odborníky napříč ČR. Dle výkonnostní charakteristiky laboratoře si v současné době může laboratoř vybrat přístroj, který jí bude vyhovovat. Výhodou je pořízení celé hematologické linky, která při nedostatku laboratorního personálu, což je bohužel problém současnosti, může nahradit „několikery ruce“ a uspořit tak čas.



Obr. 2 Reaktivní lymfocyty



Obr. 3 Periferní krev u APL