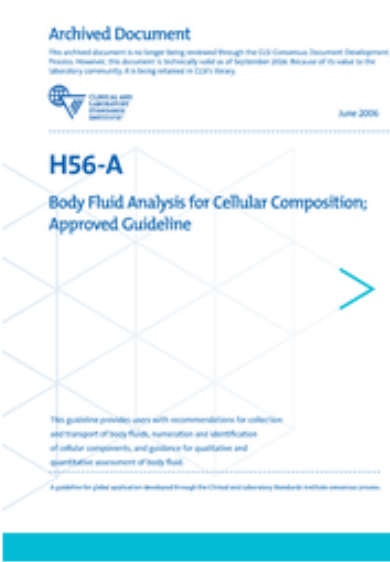


ANALIZA STANICA U UZORCIMA EKSTRAVASKULARNIH TEKUĆINA

Vanja Radišić Biljak

HKMB TTE Analiza odabranih ekstravaskularnih uzoraka u laboratorijskoj medicini

2006.!



[Read Sample](#)

Standard Document First Edition Hematology

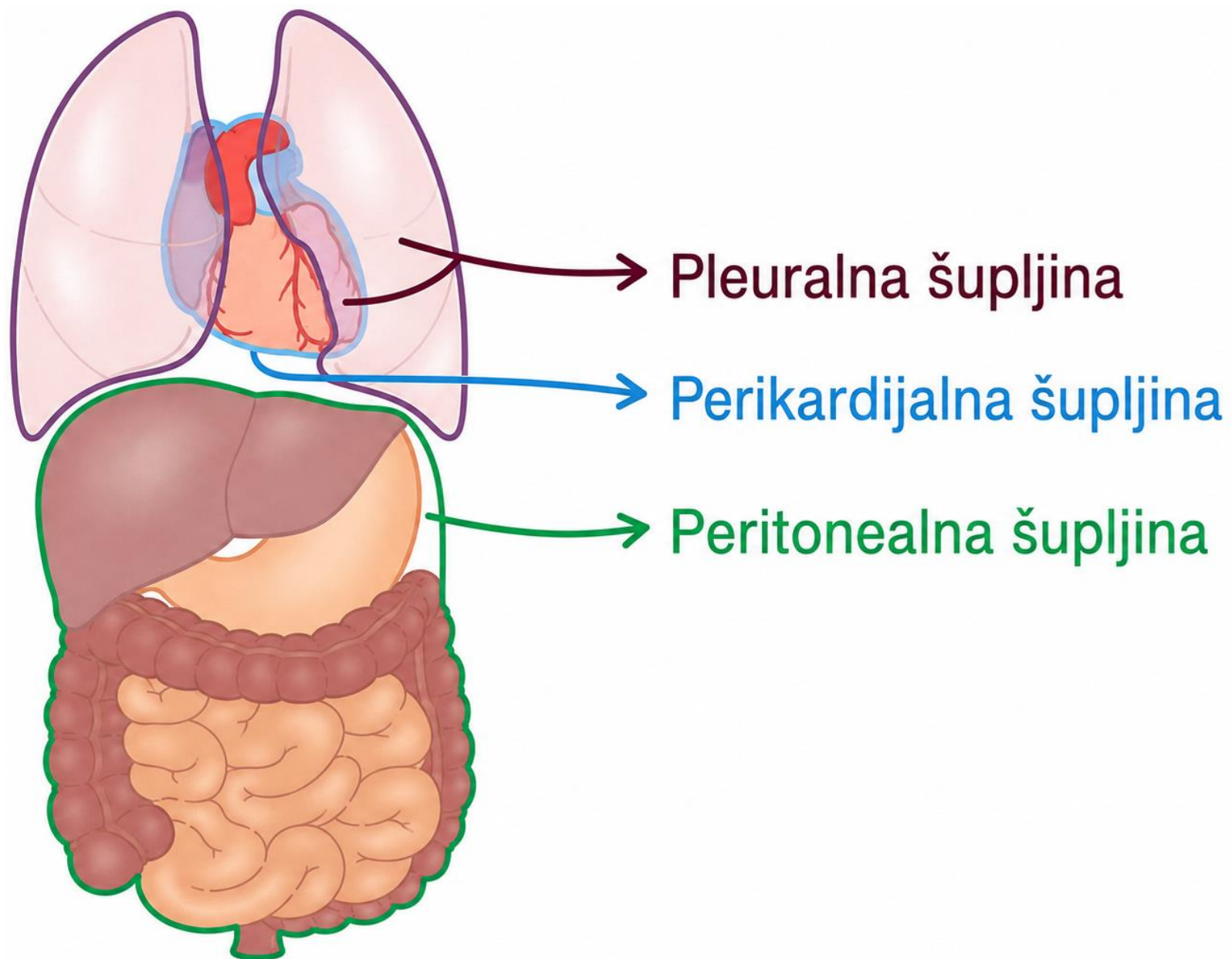
CLSI H56

Body Fluid Analysis for Cellular Composition

This CLSI document provides recommendations for standardizing body fluid collection, transport, and cellular analysis. It offers guidance on numeration, identification, and qualitative and quantitative assessment to support accurate and reliable results.

Date of Publication	Chairholder
July 10, 2006	Diane I. Szamosi, MA, MT(ASCP)SH









01-2020/v.1.

**Laboratorijska analiza ekstravaskularnih
tjelesnih tekućina: Nacionalne preporuke
Hrvatskog društva za medicinsku biokemiju i
laboratorijsku medicinu. Dio I. – Serozne tekućine**

**Lara Milevoj Kopčinović, Jelena Culej,
Anja Jokić, Marija Božović, Irena Kocijan**



02-2020/v.1.

**Laboratorijska analiza ekstravaskularnih
tjelesnih tekućina: Nacionalne preporuke
Hrvatskog društva za medicinsku biokemiju i
laboratorijsku medicinu. Dio II. – Zglobna tekućina**

**Anja Jokić, Lara Milevoj Kopčinović,
Jelena Culej, Irena Kocijan, Marija Božović**

Automatizirane metode trebaju
biti metode izbora za brojenje i diferenciranje sta-
nica u seroznim tekućinama.



NAČINI BROJENJA STANICA

RUČNO BROJENJE STANICA

PREDNOSTI	NEDOSTATCI
- Niski troškovi analize - Potreban mali volumen uzorka - Broj eritrocita, leukocita i ukupnog broja stanica s jezgrom	- Visoka nepreciznost - Visoka varijabilnost između operatera - Vremenski dugotrajno - Zahtijeva dobro educirano osoblje

AUTOMATIZIRANO BROJENJE STANICA

PREDNOSTI	NEDOSTATCI
- Kraće vrijeme izvođenja analize - Nema pripreme uzorka - Potreban mali volumen uzorka - Dostupni komercijalni kontrolni uzorci	- Problem granice detekcije u brojenju stanica - Moguće nepouzdanost mjerenja u uzorcima s vrlo malim brojem stanica

Automatiziranu analizu stanica u seroznim tekućinama treba provoditi u skladu s uputama proizvođača i isključivo na uzorcima koje je proizvođač odobrio





ADVIA® 2120
ADVIA® 2120i
Hematology Systems

Siemens Healthcare Diagnostics Inc.

Customer Bulletin
2010-08

Body Fluid Application

Body Fluid Application

Intended Use

The ADVIA 2120/2120i automated hematology analyzer Body Fluid Application is an *in vitro* diagnostic test for the enumeration of the total nucleated cell (TNC) count and RBC count for pleural, peritoneal, and peritoneal dialysis (PD) specimens collected in dipotassium EDTA dehydrate (K₂ EDTA) or tripotassium EDTA anhydrous (K₃ EDTA).

Gelenkspunktatmessung an den ADVIA®Hämatologie Systemen von SIEMENS

Vorbereitung der Gelenkspunktate

Herstellen der Arbeitslösung: Hyaluronidase - Lösung 1000 U/L:
1 mg Lyophilisat in 1 mL Aqua bidest lösen und
davon 50 µL in Eppendorf-Cups portionieren.
Haltbarkeit mindestens 1 Monat im Kühlschrank

Probenvorbereitung/Ansatz: 1 mL Punktat + 50 µL Hyaluronidase-Lösung
30 min bei Raumtemperatur stehen lassen,
mischen und am ADVIA® messen

Reagenz: Hyaluronidase von SIGMA, Typ V, Lyophilisat; ≥1,500 Units/mg

- Hyaluronidase, 500 mg Bestellnummer: H6254-500 mg, 251,50 €
- Hyaluronidase, 1 g Bestellnummer: H6254-1g, 433,50 €

Tel.: Auftragsannahme Sigma: 0800 - 5155000

NAČINI DIFERENCIRANJA STANICA

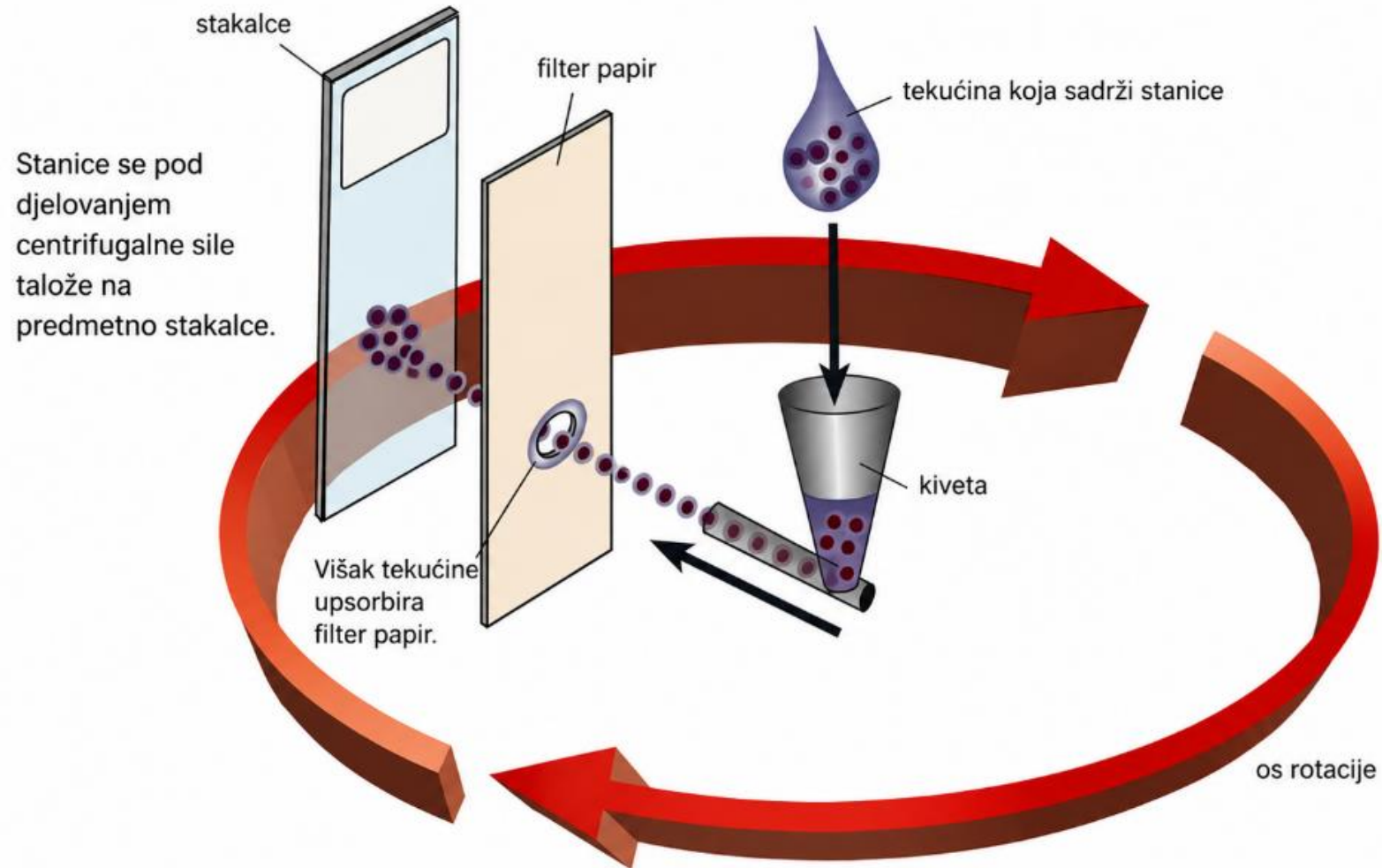
CITOPREPARAT

PREDNOSTI	NEDOSTATCI
- Moguća identifikacija malignih stanica	- Bojenje varira od laboratorija do laboratorija - Proces citocentrifugiranja može utjecati na promjene morfologije stanica

AUTOMATIZIRANO

PREDNOSTI	NEDOSTATCI
- 2-dijelna diferencijalna slika (mono- i polimorfonukleari) za koju su dostupni komercijalni kontrolni uzorci	- ograničenje u detekciji malignih stanica Kritički dobro proučiti grafove raspršenja i histograme kako bi se uočile abnormalnosti koje zahtijevaju ponavljanje analize ručnim metodama.

Načela citocentrifuge



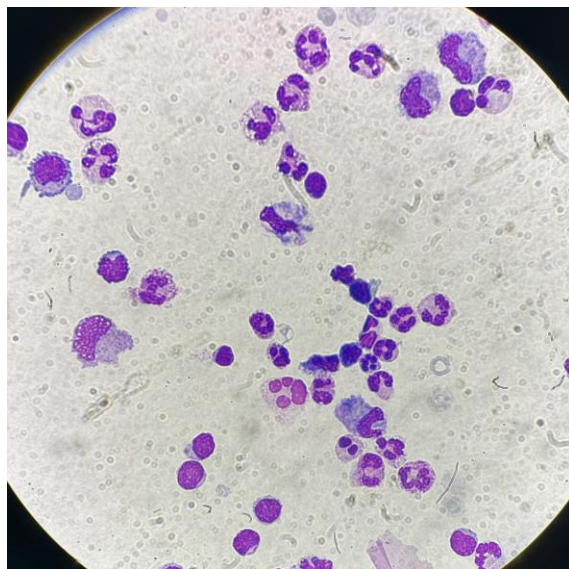
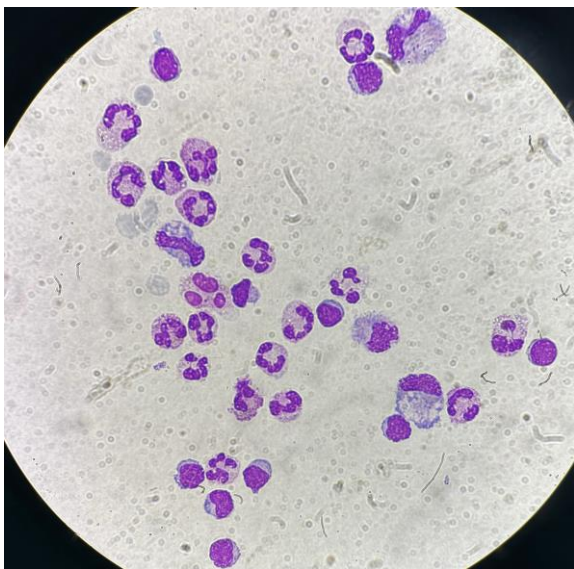
Uzorak tjelesne tekućine dodaje se u kivetu. Djelovanjem centrifugalne sile stanice se talože na površini stakalca u obliku kružne zone.

KAKO DO KVALITETNOG RAZMAZA?

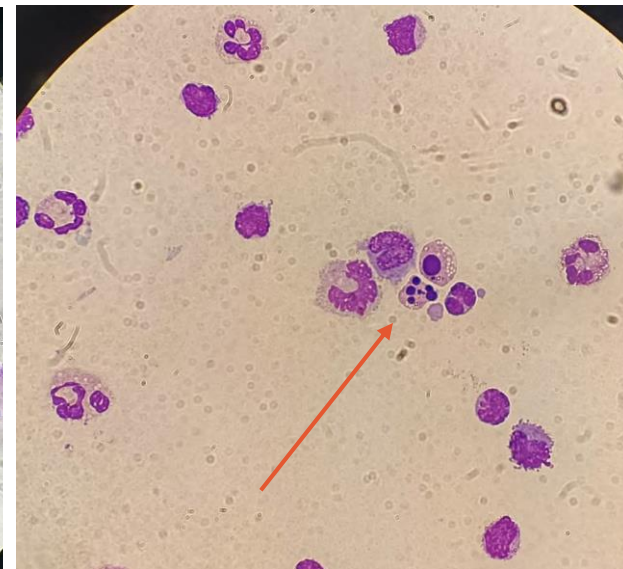
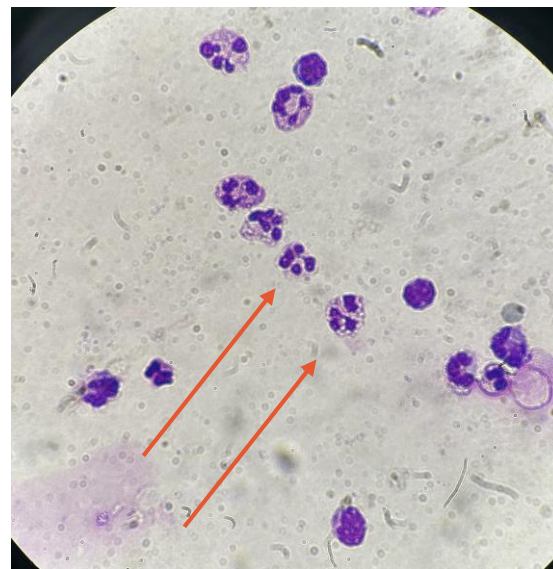
- Najbolje je koristiti svjež uzorak zbog brze razgradnje stanica

ASCITES, LKC $551 \times 10^6/L$ (50.5% MN, 49.5% PMN), TNC $558 \times 10^6/L$

ODMAH PO PRIMITKU UZORKA



NAKON 16h NA SOBNOJ TEMPERATURI



KAKO DO KVALITETNOG RAZMAZA?

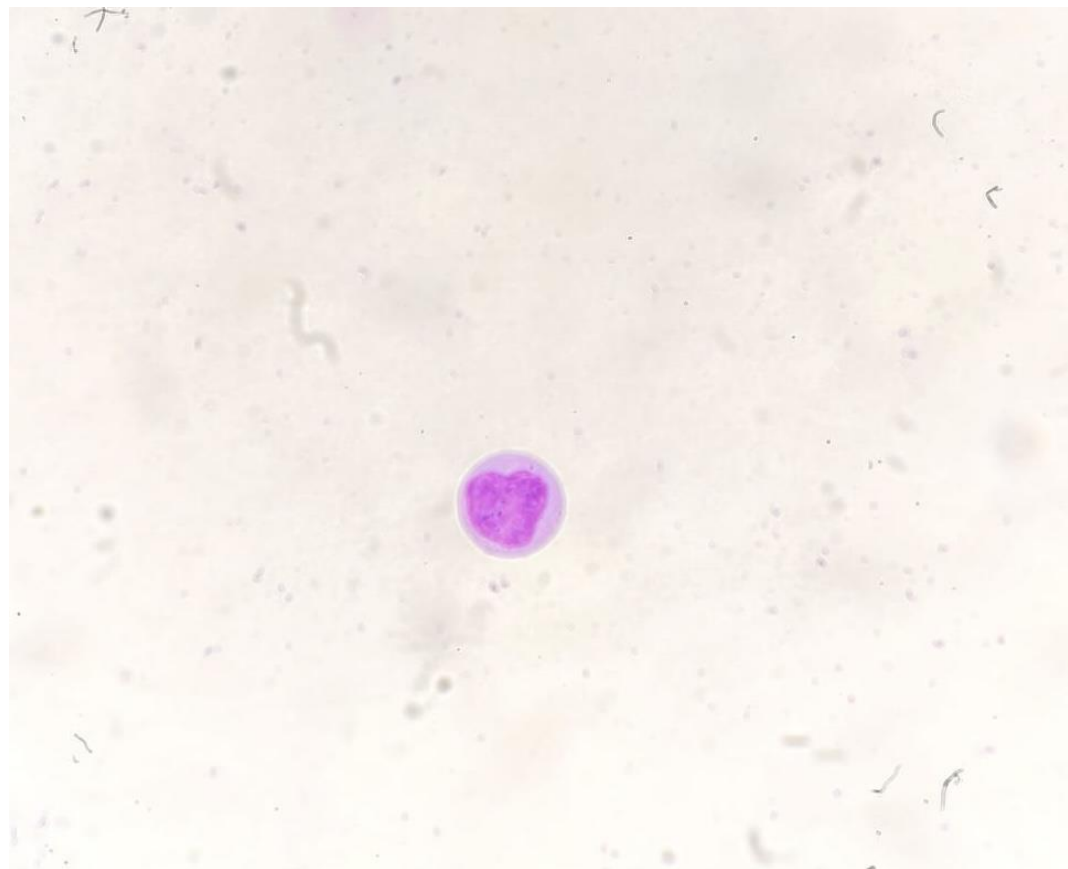
- Najbolje je koristiti svjež uzorak zbog brze razgradnje stanica
- Uzorci mogu sadržavati fibrin i druge proteine koji mogu začepiti filtarske kartice – poželjno je centrifugirati alikvot uzorka te talog stanica isprati u FO

KAKO DO KVALITETNOG RAZMAZA?

- Najbolje je koristiti svjež uzorak zbog brze razgradnje stanica
- Uzorci mogu sadržavati fibrin i druge proteine koji mogu začepiti filtarske kartice – poželjno je centrifugirati alikvot uzorka te talog stanica isprati u FO
- U prisutnosti ugruška nije preporučeno brojenje stanica, međutim može se pripremiti citopreparat koji se može pregledati na prisutnost malignih stanica

**PRIKAZ MONOCITA U
CITOSPIN PREPARATU
UZORKA LIKVORA**

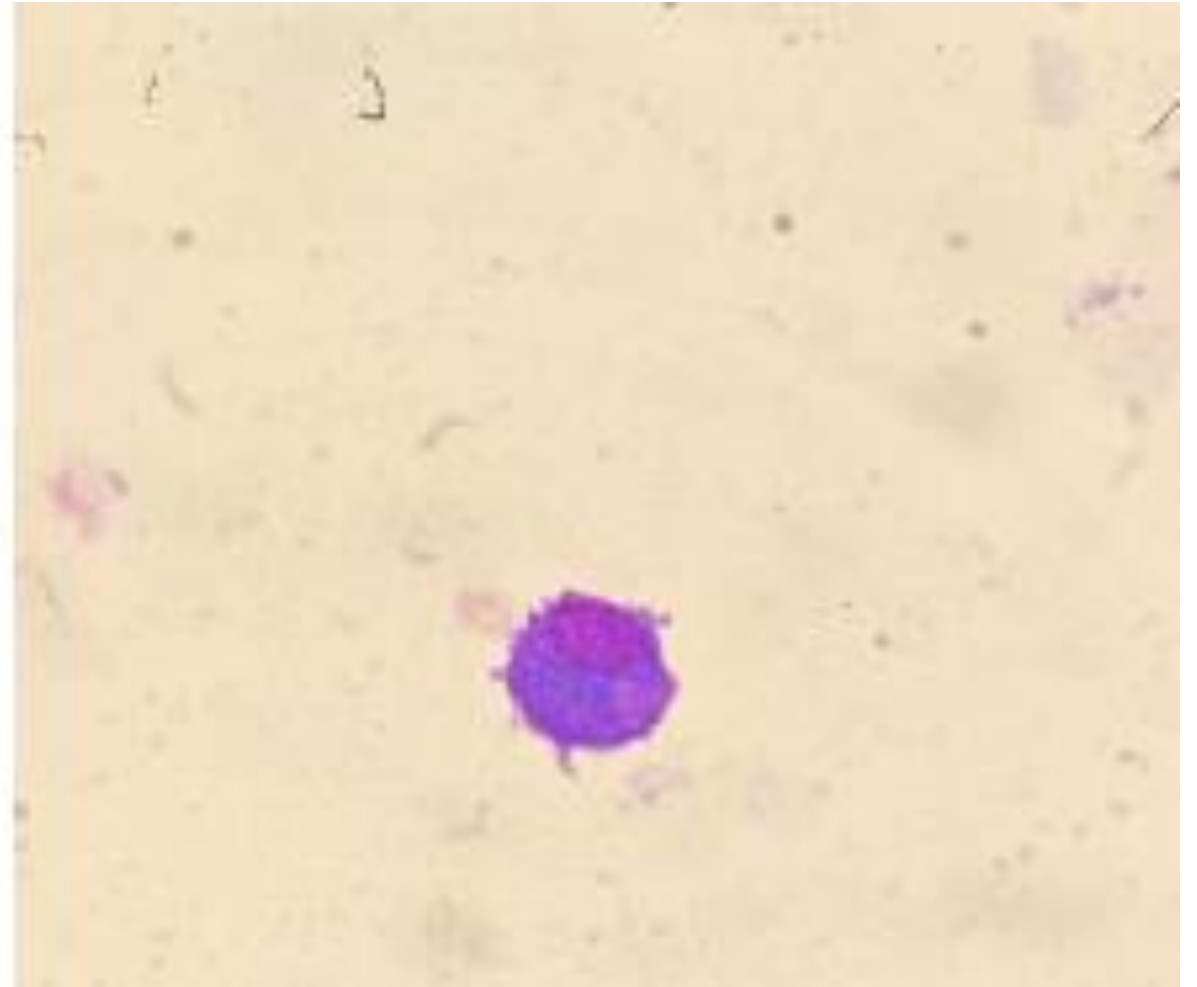
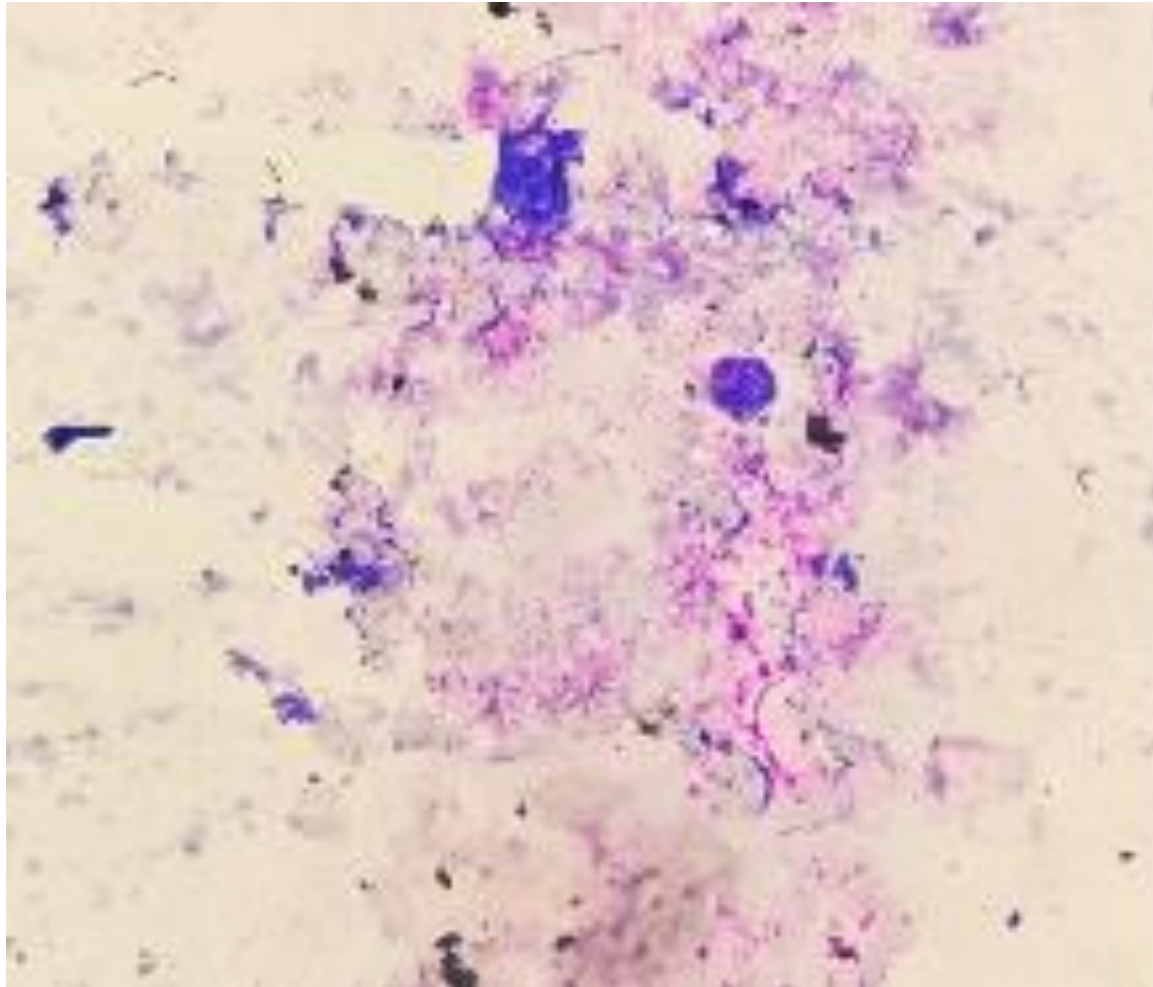
LEUKOCITI $2 \times 10^6/L$



KAKO DO KVALITETNOG RAZMAZA?

- Najbolje je koristiti svjež uzorak zbog brze razgradnje stanica
- Uzorci mogu sadržavati fibrin i druge proteine koji mogu začepiti filtarske kartice – poželjno je centrifugirati alikvot uzorka te talog stanica isprati u FO
- U prisutnosti ugruška nije preporučeno brojenje stanica, međutim može se pripremiti citopreparat koji se može pregledati na prisutnost malignih stanica
- U viskoznu sinovijalnu tekućinu potrebno je dodati enzim hijaluronidazu

UTJECAJ DODATKA ENZIMA HIJALURONIDAZE U UZORAK SINOVIJALNE TEKUĆINE NA KVALITETU CITORAZMAZA

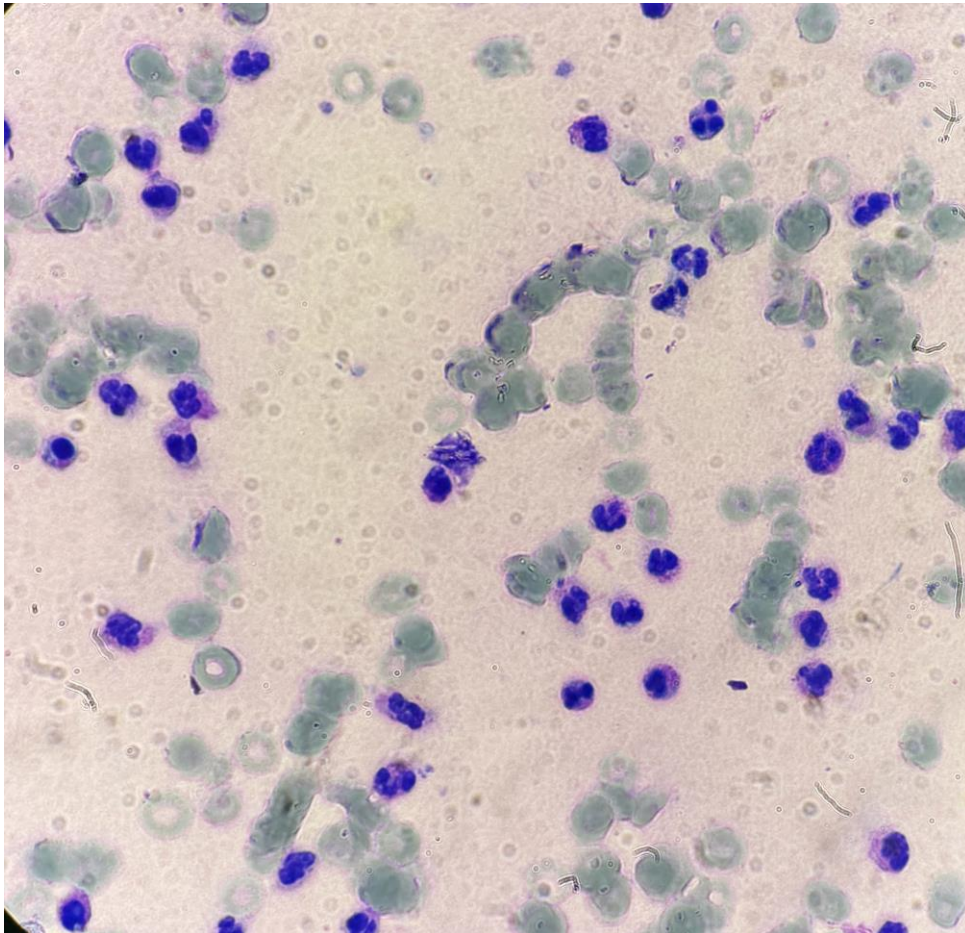


KAKO DO KVALITETNOG RAZMAZA?

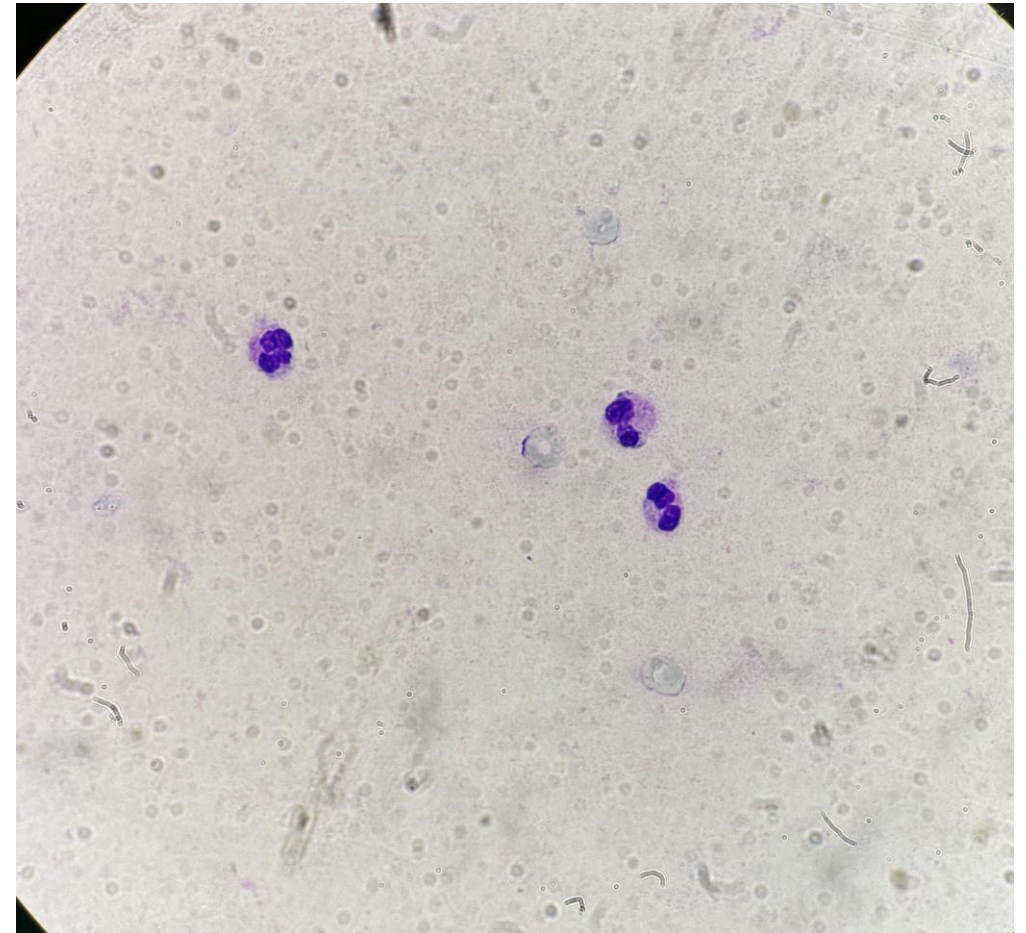
- Najbolje je koristiti svjež uzorak zbog brze razgradnje stanica
- Uzorci mogu sadržavati fibrin i druge proteine koji mogu začepiti filtarske kartice – poželjno je centrifugirati alikvot uzorka te talog stanica isprati u FO
- U prisutnosti ugruška nije preporučeno brojenje stanica, međutim može se pripremiti citopreparat koji se može pregledati na prisutnost malignih stanica
- U viskoznu sinovijalnu tekućinu potrebno je dodati enzim hijaluronidazu
- Da bi se izbjegla izrada pregustog razmaza, uzorke s velikim brojem stanica potrebno je razrijediti prije citocentrifuge

UZORAK SINOVIJALNE TEKUĆINE LEUKOCITI $6705 \times 10^6/L$, UDIO NEUTROFILNIH GRANULOCITA 94%

PRIJE RAZRJEĐENJA

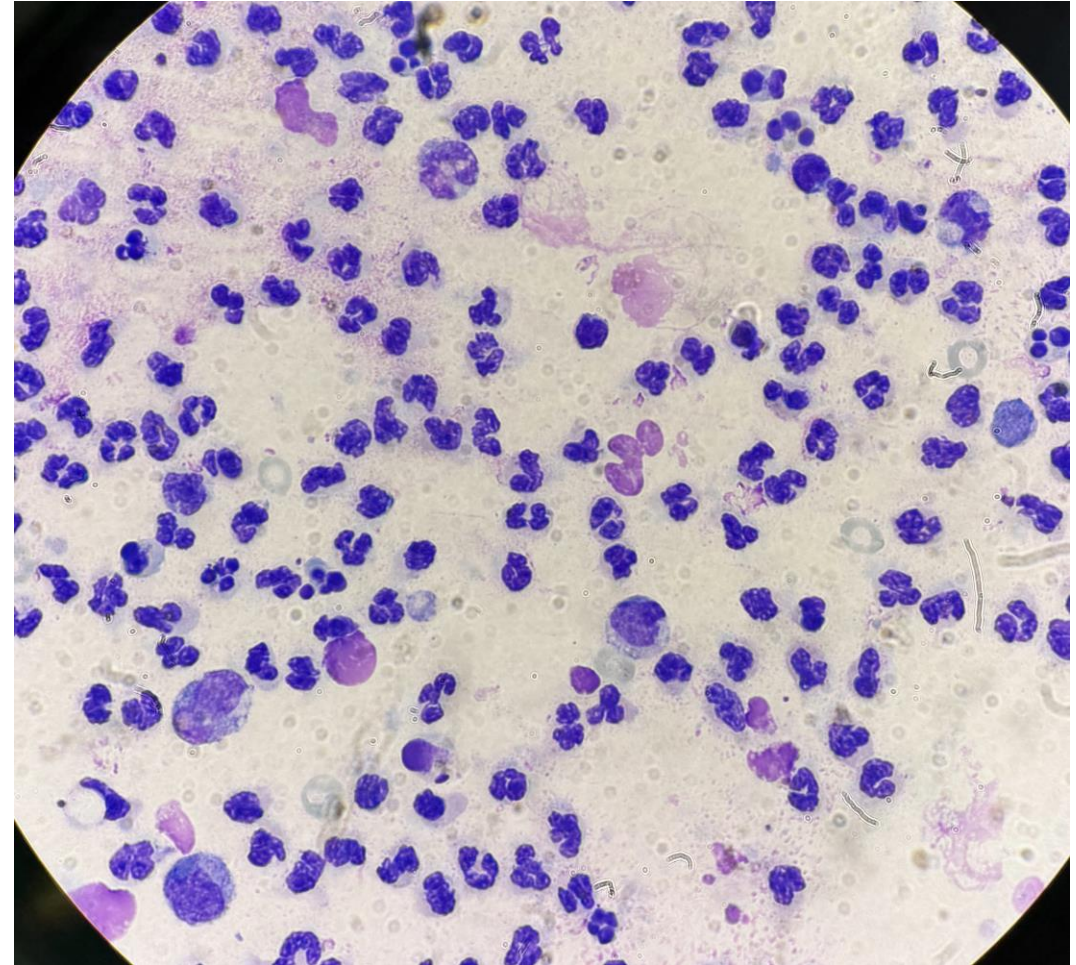
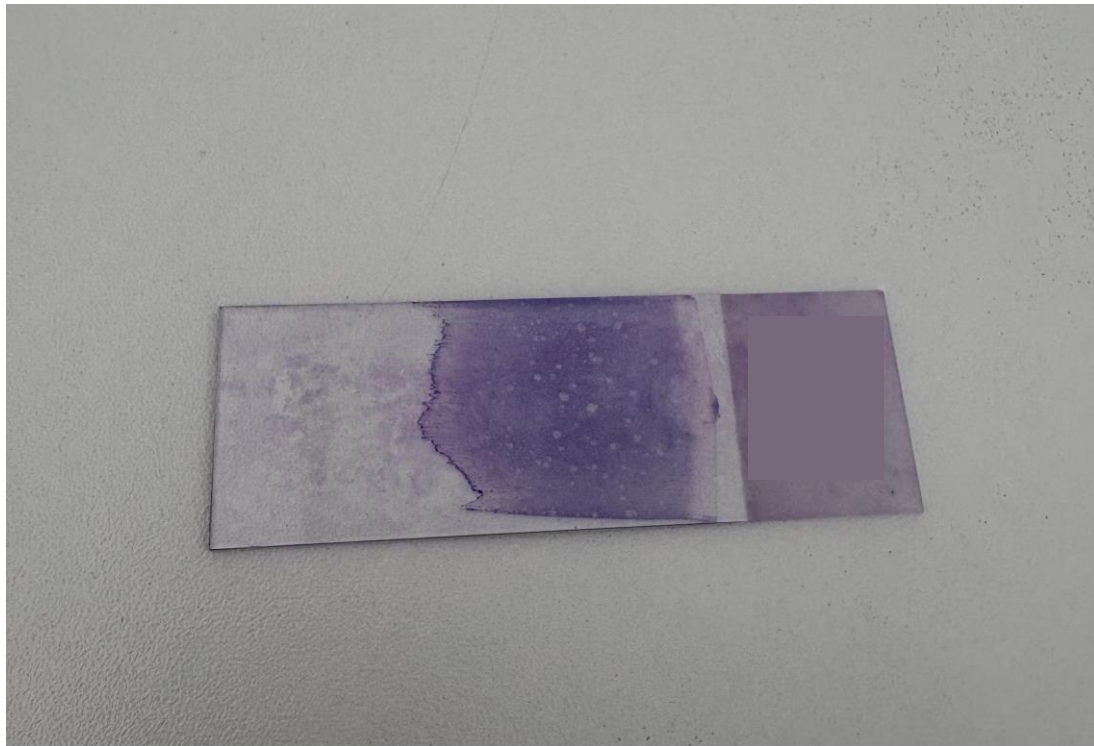


NAKON RAZRJEĐENJA



UZORAK SINOVIJALNE TEKUĆINE

LEUKOCITI $101776 \times 10^6/L$, UDIO NEUTROFILNIH GRANULOCITA 94%



KAKO DO KVALITETNOG RAZMAZA?

- Najbolje je koristiti svjež uzorak zbog brze razgradnje stanica
- Uzorci mogu sadržavati fibrin i druge proteine koji mogu začepiti filtarske kartice – poželjno je centrifugirati alikvot uzorka te talog stanica isprati u FO
- U prisutnosti ugruška nije preporučeno brojenje stanica, međutim može se pripremiti citopreparat koji se može pregledati na prisutnost malignih stanica
- U viskoznu sinovijalnu tekućinu potrebno je dodati enzim hijaluronidazu
- Da bi se izbjegla izrada pregustog razmaza, uzorke s velikim brojem stanica potrebno je razrijediti prije citocentrifuge
- Dodatak sterilnog 30% albumina može pojačati adherenciju stanica na staklo i smanjiti razgradnju stanica

KLINIČKA ZNAČAJNOST BROJA I VRSTE STANICA

Vrsta uzorka	Klinička značajnost			Referentni interval	Preporučena metoda*
	Broj stanica	Vrsta stanica	Broj eritrocita		
Pleuralna tekućina	Transudacijski izljevi: leukociti $<300 \times 10^6/L$	Eksudacijski izljevi uzrokovani akutnim upalnima stanjima (pneumonija, pankreatitis, bakterijska upala): neutrofilni granulociti >90%	Eksudacijski izljev: eritrociti $> 1000 \times 10^6/L$	Referentni intervali nisu dostupni	Automatizirani hematološki analizatori s postavkama za analizu tjelesnih tekućina
	Eksudacijski izljevi: leukociti $\geq 500 \times 10^6/L$	Eksudacijski izljevi uzrokovani virusnim infekcijama, tuberkulozom, malignim i autoimunim bolestima: limfociti >90%			

KLINIČKA ZNAČAJNOST BROJA I VRSTE STANICA

Vrsta uzorka	Klinička značajnost			Referentni interval	Preporučena metoda*
	Broj stanica	Vrsta stanica	Broj eritrocita		
Perikardijalna tekućina	Transudacijski izljevi: ukupni leukociti $<100 \times 10^6/L$	Bakterijski perikarditis: predominacija neutrofilnih granulocita	/	Fiziološki se mogu naći mezotelne stanice, limfociti, granulociti, makrofagi te u manjim udjelima eozinofili i bazofili. Udio limfocita u normalnoj perikardijalnoj tekućini je oko 53% te se limfocitozom smatra udio limfocita $>60\%$.	Automatizirani hematološki analizatori s postavkama za analizu tjelesnih tekućina
	Eksudacijski izljevi: ukupni leukociti $>1000 \times 10^6/L$				
	Bakterijski perikarditis, maligne bolesti i tuberkulozni perikarditis: ukupni leukociti $>10\,000 \times 10^6/L$				

KLINIČKA ZNAČAJNOST BROJA I VRSTE STANICA

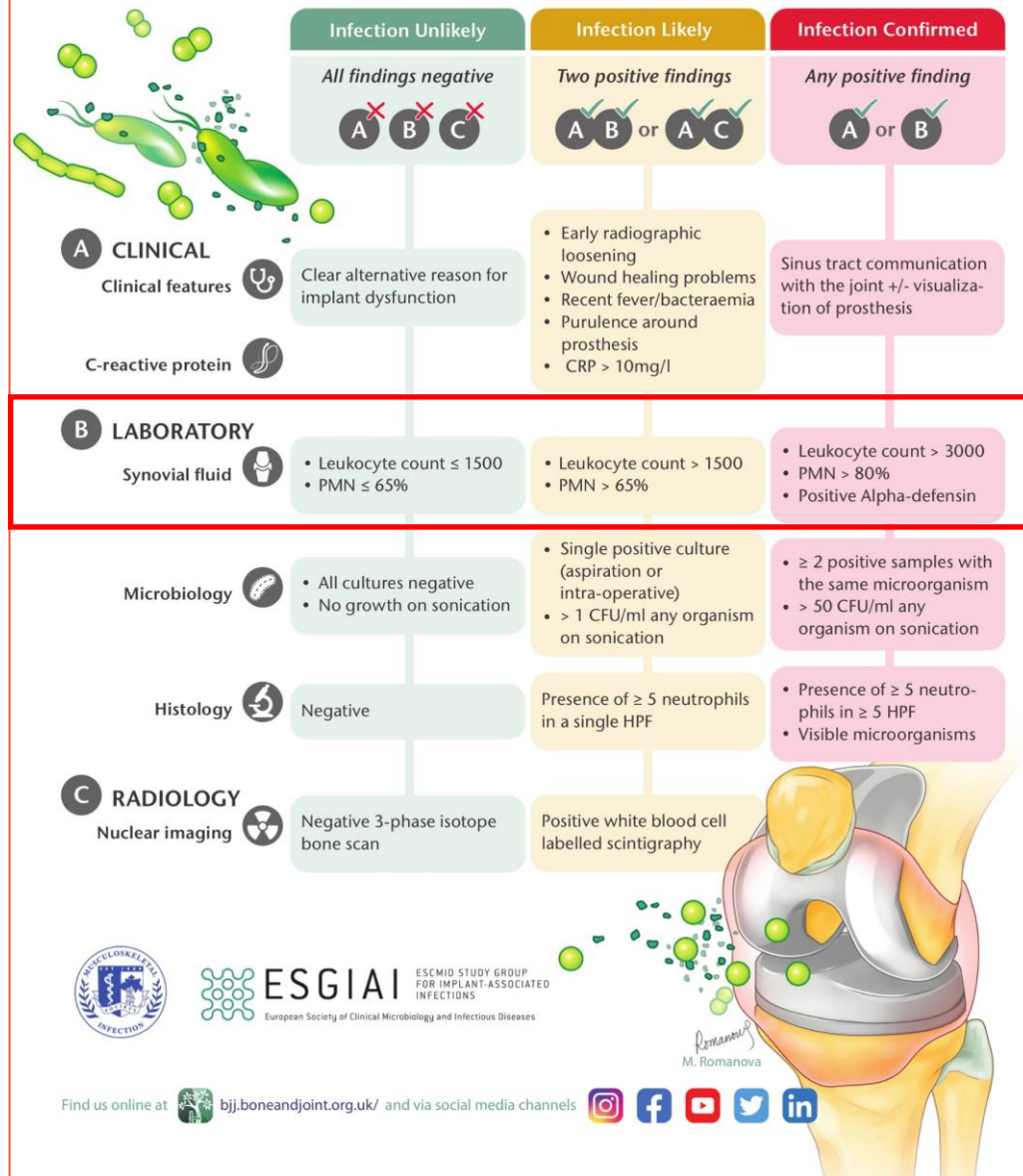
Vrsta uzorka	Klinička značajnost			Referentni interval	Preporučena metoda*
	Broj stanica	Vrsta stanica	Broj eritrocita		
Peritonealna tekućina (ascites)	/	Spontani bakterijski peritonitis: polimorfonuklearne stanice $\geq 250 \times 10^6/L$ (zlatni standard)	/	/	Automatizirani hematološki analizatori s postavkama za analizu tjelesnih tekućina

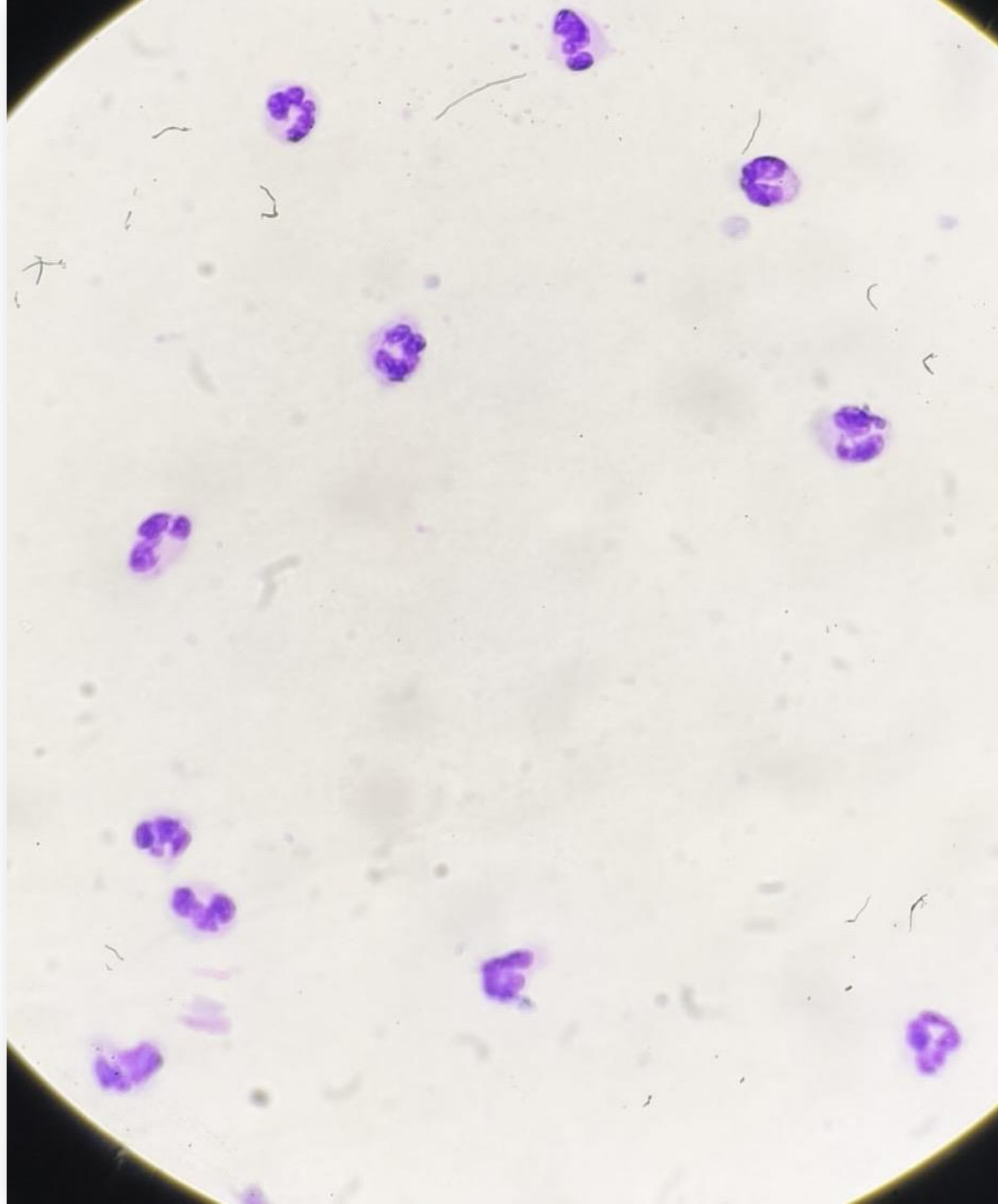
KLINIČKA ZNAČAJNOST BROJA I VRSTE STANICA

Vrsta uzorka	Klinička značajnost			Referentni interval	Preporučena metoda*
	Broj stanica	Vrsta stanica	Broj eritrocita		
Sinovijalna tekućina	Neupalni poremećaj: leukociti <2000 x 10 ⁶ /L	Neupalni poremećaj: %PMN <25%	/	Luekociti < 200 x 10 ⁶ /L Neutrofilni granulociti <25% Dominanto mononukleari (monociti > limfociti)	Automatizirani hematološki analizatori s postavkama za analizu tjelesnih tekućina
	Upalni poremećaj: leukociti 2000 – 50 000 x 10 ⁶ /L	Upalni poremećaj: %PMN >50%			
	Infektivni poremećaj: leukociti >50 000 x 10 ⁶ /L	Infektivni poremećaj: %PMN >75%			

The EBJIS definition of periprosthetic joint infection

McNally et al. Bone Joint Journal, January 2021





PRIKAZ NEUTROFILIJE U UZORKU
SINOVIJALNE TEKUĆINE
PACIJENTA S POTVRĐENOM
PERIPROTETIČKOM INFEKCIJOM
ZGLOBA

**LEUKOCITI $40751 \times 10^6/L$, UDIO
NEUTROFILNIH GRANULOCITA 89%**

TROMBOCITI?

LBC (counts/uL)	Interpretation
0 – 15,000	Immature
15,000 – 50, 000	Indeterminate
>50, 000	Mature

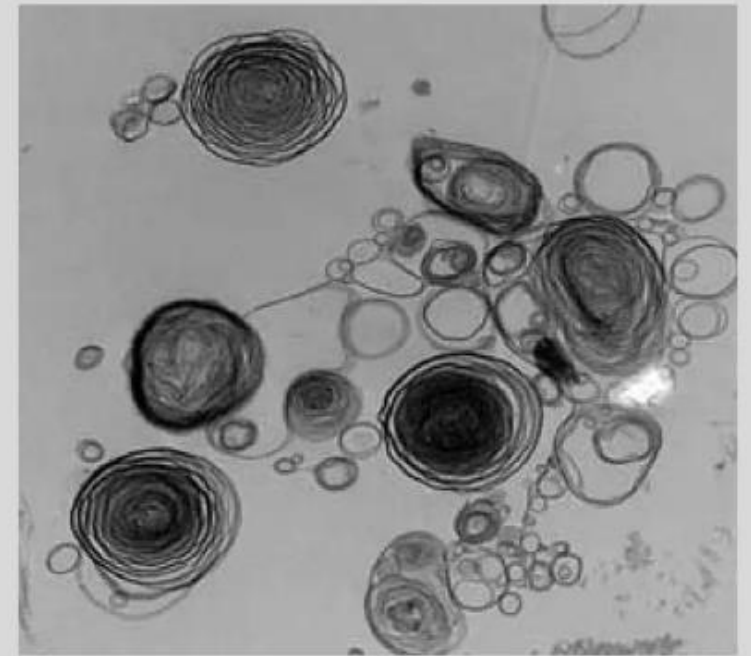


Fig: Lamellar bodies in amniotic fluid on hematology counters

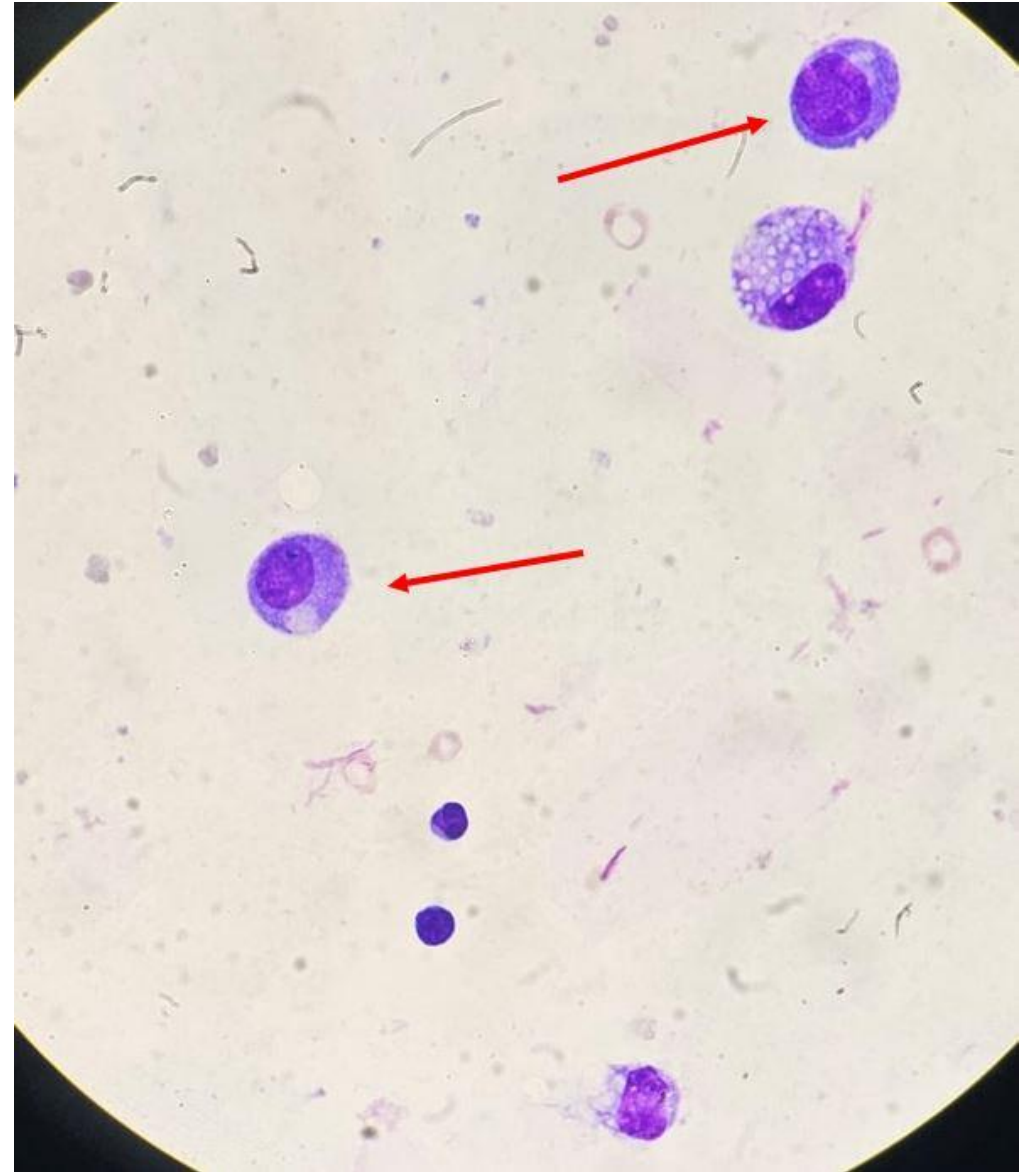
TNC ILI WBC?

ASCITES

UKUPAN BROJ STANICA S

JEZGROM **559** X 10⁶/L

BROJ LEUKOCITA **388** X 10⁶/L



IZVJEŠTAVANJE NALAZA

Vrsta uzorka	Način izvještavanja
Serozne tekućine (pleuralna, perikardijalna, peritonealna tekućina)	- izgled nativnog uzorka - broj eritocita i stanica s jezgrom ($10^6/L$ ili $10^9/L$) - morfolologija stanica (%): sve vrste stanica, monociti i makrofagi se mogu brojati kao jedna kategorija, nalaz neoplastičnih stanica je potrebno potvrditi s citologijom
Sinovijalna tekućina	- izgled nativnog uzorka - broj eritrocita i leukocita ($10^6/L$) - morfolologija stanica (%): segmentirani i neselementirani granulociti se broje kao jedna kategorija, jednako kao i monociti i makrofagi; nalaz atipičnih stanica dati u komentaru - nalaz bakterija je kritični nalaz koji je potrebno odmah iskomunicirati s liječnikom

HVALA NA PAŽNJI!

