

Doporučení laboratorní sekce České hematologické společnosti ČLS JEP

HODNOCENÍ NÁTĚRU ASPIRÁTU KOSTNÍ DŘENĚ

Zpracovaly: Buliková A., Mikulenková D.

Spoluautoři: Faber E., Smolej L.

Revize: Buliková A., Faber E., Mikulenková D.

Recenzent: Členové Laboratorní sekce ČHS ČLS JEP

Schváleno Laboratorní sekcí ČHS ČLS JEP: 1. 12. 2017

Schváleno výborem ČHS ČLS JEP: 19. 2. 2018

Verze: 2, *revize 1*

Platnost od: *8.11.2022*

Přechodné období (platí i nahrazovaný dokument) do: *8.2.2023*

Poznámky:

Změny oproti předešlému dokumentu jsou vyznačené modrou kurzívou.

Obsah

1	ÚVOD	2
2	PŘÍPRAVA MATERIÁLU	2
3	VLASTNÍ HODNOCENÍ	3
3.1	Zvětšení 100–400×	3
3.2	Zvětšení 1000×	3
3.2.1	<i>Kvantitativní hodnocení – myelogram (početní zastoupení jednotlivých buněk, viz též Referenční meze myelogramu dospělých)</i>	4
3.2.2	<i>Kvalitativní hodnocení – hodnocení morfologických změn – slovní komentář</i>	6
3.2.3	<i>Cytochemické vyšetření</i>	8
3.2.4	<i>Zdroje chyb</i>	8
4	VYHODNOCENÍ A ZÁPIS VÝSLEDKU	8
5	KONTROLA KVALITY	9
5.1	Kontrola kvality nátěru aspirátu a jeho obarvení	9
5.2	Interní kontrola kvality (VKK)	9
5.3	Externí kontrola kvality (EHK)	9
5.3.1	<i>externí materiál zahraničních firem nabízejících tuto službu</i>	9
5.3.2	<i>fotografie nátěru aspirátu kostní dřeně firmy SEKK s.r.o.</i>	9
5.3.3	<i>mezilaboratorní porovnání</i>	9
6	POUŽITÉ ZKRATKY	9
7	LITERATURA	10

Doporučení laboratorní sekce České hematologické společnosti ČLS JEP

1 Úvod

Hodnocení nátěru aspirátu kostní dřeně je součástí diagnostického vyšetřovacího postupu u pacientů s hematologickými chorobami, či u pacientů, u kterých existuje podezření (např. z nátěru periferní krve) na hematologické onemocnění, které je nutné hodnocením aspirátu kostní dřeně ověřit. Součástí hodnocení je stanovení relativního rozpočtu hematopoetických buněk (myelogram) a morfologický popis hematopoetických vývojových řad a dalších buněk přítomných v kostní dřeni.

2 Příprava materiálu

Odběr aspirátu pro cytologické zhodnocení kostní dřeně se provádí speciální punkční jehlou, a to z hrudní kosti, či z lopaty kosti kyčelní. U menších dětí je punkční místo v horní třetině holenní kosti. Standardně se dřeňová krev odebírá do větší (20 ml) injekční stříkačky bez přidání protisrážlivých činidel. Doporučuje se při prvním nasátí vzorku odebrat maximálně 0,5 ml (nejlépe kolem 0,3 ml) a z tohoto odběru provést vlastní nátěry. Druhá aspirace většího množství vzorku do stříkačky se využívá k vyšetření průtokovou cytometrií, a následující pak pro cytogenetická, molekulárně genetická a další vyšetření. Aspirovaná dřeň pro tato vyšetření je z injekční stříkačky přemístěna do připravené zkumavky s příslušnými médii (dle zvyklostí pracoviště). První porce aspirované dřeně (nejlépe její částice) se bez časového prodloužení nanese na podložní sklo, či na Petriho misku. Roztěrovým sklem se co nejrychleji rozetře na připravená podložní skla, doporučuje se provést alespoň 6 nátěrů *k eventuálnímu cytochemickému vyšetření* (dále viz Doporučení ČHS ČLS JEP „Příprava a barvení nátěru periferní krve a aspirátu kostní dřeně, včetně kontrolní činnosti“). Alternativní možností je provést nátěry aspirátu kostní dřeně, která je transportována v antikoagulačním činidlo soli EDTA. Z tohoto vzorku je nutné nátěry provést co nejrychleji, maximálně však do doby stability krevního obrazu, tj. do 5 hodin. Jedná se o případy, kdy nelze provést nátěr aspirátu v místě odběru, nebo je k dispozici pouze vzorek dřeně k vyšetření průtokovou cytometrií.

Aspirát se po zaschnutí při laboratorní teplotě (nejméně však 30 minut a dle množství částic či tukových složek) barví panoptickým barvením dle May-Grünwald-Giemsy (postup viz Doporučení ČHS ČLS JEP „Příprava a barvení nátěru periferní krve a aspirátu kostní dřeně včetně kontrolní činnosti“).

K upřesnění diagnostiky onemocnění je vhodné doplnit cytochemické vyšetření, *např. na přítomnost myeloperoxidázy či na přítomnost železa v kostní dřeni*.

V některých, spíše ojedinělých případech nelze aspirát odebrat, např. v rámci fibrotických změn kostní dřeně, či při masivní infiltraci dřeně malignitou. V těchto případech je nutné vyšetřit kostní dřeň histologicky a event. k orientačnímu cytologickému zhodnocení kostní dřeně zhotovit otiskové preparáty trepanobioptického válečku.

Pro náležité zhodnocení preparátu z aspirace kostní dřeně punkční či trepanobioptickou jehlou je *nutné* mít k dispozici hodnoty krevního obrazu a nátěr periferní krve a klinické informace o pacientovi. Každá laboratoř, v níž se hodnocení preparátů z aspirace či aspirační biopsie provádí, musí mít nastaven vlastní systém získávání těchto informací. Za minimální rozsah informací se považuje:

- vstupní suspektní klinická diagnóza, resp. diferenciálně diagnostická rozvaha od klinického lékaře,
- zhodnocení stavu hemopoetických orgánů (uzliny, slezina, játra),

Hodnocení nátěru aspirátu kostní dřeně

Doporučení laboratorní sekce České hematologické společnosti ČLS JEP

- další dostupné relevantní klinické a laboratorní nálezy (osobní anamnéza, hodnoty krevního obrazu aj.)
- podávaná léčba.

3 Vlastní hodnocení

Mikroskopické hodnocení obarveného nátěru aspirátu kostní dřeně začíná vždy přehledným zhodnocením při menším zvětšení (100–400×), a to i v okrajích a konečných cípech nátěru, kde mohou být vytlačeny větší buňky či kompaktní shluky patologických buněk. Pak následuje vlastní hodnocení při zvětšení 1000×. Vyšetření provádí garant výkonu (lékař se specializovanou odbornou způsobilostí v oboru Hematologie a transfuzní lékařství), který je zodpovědným pracovníkem ke konečnému uvolnění výsledku tohoto vyšetření pro klinické lékaře a který je schopen uvést interpretaci s event. klinickou rozvahou. Ta by měla být součástí výsledku. Na *hodnocení* vyšetření se mohou podílet i oprávnění pracovníci (laborant, VŠ nelékař).

3.1 Zvětšení 100–400×

Je určeno pro zhodnocení:

- a) kvality nátěru a kvality jeho obarvení – např. modravé zbarvení pozadí při přítomnosti paraproteinu,
- b) buněčnosti nátěru – celularitu nátěru aspirátu srovnáváme s hodnotami krevního obrazu a rozpočtu leukocytů (možnost příměsi periferní krve při ztíženém odběru v rámci fibrózy kostní dřeně aj.). Buněčnost nátěru vyjadřujeme buď slovně, nebo číselně, lze využít pěti až sedmistupňovou škálu (příklady: velmi bohatá-bohatá-bohatší-středně bohatá-chudší-chudá-velmi chudá), či jen popis hyper-, normo – a hypocelulární, či s podílem příměsi periferní krve, pro kterou je hodnocení aspirátu omezené. V tomto případě v aspirátu chybí dřevňová ložiska, je patrné výrazné snížení až chybění mladších stádií v jednotlivých vývojových řadách, jsou sníženy zastoupené či chybí dřevňové buňky (megakaryocyty, erytroblasty) a zároveň jsou relativně zvýšeně zastoupené buňky aktuálně přítomné v periferní krvi (segmenty, tyče, lymfocyty, monocyty; u chronické myeloidní leukemie i celá vývojová řada granulopoezy) za současně neodpovídající (např. snížené) buněčnosti aspirátu,
- c) přítomnosti a morfologie megakaryocytů,
- d) orientačního zastoupení jednotlivých vývojových řad včetně jejich nerovnoměrné distribuce (tendence větších elementů se kumulovat v okrajových částech preparátu),
- e) přítomnosti ostrůvků erytropoezy,
- f) přítomnosti velkých fyziologických i patologických buněk, případně jejich trsů zejména v okrajích či konečných cípech nátěrů,
- g) přítomnosti ojedinělých patologických buněk u těžce hypocelulárních nátěrů,
- h) výběru těch úseků preparátu, kde jsou buňky náležitě rozprostřeny (nepřekrývají se) a jsou vhodné pro hodnocení při větším zvětšení.

3.2 Zvětšení 1000×

Při tomto zvětšení popisujeme jednotlivé buňky (morfologický popis) a počítáme jejich zastoupení (myelogram). K hodnocení si – pokud to lze – vybíráme část nátěru, ve které jsou

Hodnocení nátěru aspirátu kostní dřeně

Doporučení laboratorní sekce České hematologické společnosti ČLS JEP

buňky rovnoměrně rozprostřeny. U vstupního vyšetření aspirátu kostní dřeně se doporučuje spočítat 500 jaderných buněk; u kontrolních či hypocelulárních nátěrů pak alespoň 250–300 jaderných buněk, pokud to lze. V případech, kdy není splnění tohoto početního zastoupení možné či účelné, je nutný komentář v popisu. Nátěr v mikroskopu hodnotíme meandrovitým či bajonetovým rovnoměrným pohybem objektivu nad podložním sklem nejlépe na šířku skla od jednoho okraje k druhému (viz Doporučení ČHS ČLS JEP „Postup při hodnocení nátěru periferní krve“).

3.2.1 Kvantitativní hodnocení – myelogram (početní zastoupení jednotlivých buněk, viz též Referenční meze myelogramu dospělých)

Myelogram odpovídá poměrnému zastoupení jaderných buněk v kostní dřeni, které je vyjádřeno v procentech. Přítomnost buněk, které se do běžného rozpočtu nezařazují, se udává v poměrném zastoupení (tj. např. N/100, N/250, N/300, resp. N/500). Do myelogramu (procentuální vyjádření) započítáváme granulopoezu, erytropoezu, lymfocytopenoezu, monocytopenoezu, mastocyty (viz 3.2.1.5) a další definované buňky (viz 3.2.1.6.). Buňky granulo – a monocytopenoezy se početně zahrnují do společné skupiny myelopoezy.

3.2.1.1 Buňky granulopoezy

- a) Neutrofilní řada: jasně definované myeloblasty, promyelocyty, myelocyty, metamyelocyty, tyče a segmenty.
- b) Eozinofilní řada: nezralé a zralé (resp. možno rozlišovat eozinofilní promyelocyty, myelocyty, metamyelocyty, tyče a segmenty).
- c) Bazofilní řada: nezralé a zralé (resp. možno rozlišovat bazofilní promyelocyty, myelocyty, metamyelocyty, tyče a segmenty).

3.2.1.2 Buňky monocytopenoezy:

- a) monocyty,
- b) atypické monocyty – susp. reaktivní či susp. patologické, vč. promonocytů, s výjimkou leukemických forem (viz níže).

3.2.1.3 Buňky erytropoezy:

- a) proerytroblasty,
- b) bazofilní erytroblasty (resp. časně erytroblasty),
- c) polychromatofilní erytroblasty (resp. intermediální erytroblasty),
- d) ortochromní erytroblasty (resp. pozdní erytroblasty).

Alternativně lze v rámci této řady dle velikosti a N/C synchronie rozlišovat: makroerytroblasty a megaloblasty bazofilní, polychromní a ortochromní, a takto je vyjádřit v rozpočtu, resp. lze zastoupení megaloblastických elementů vyjádřit v popisu morfologických odchylek (viz níže).

3.2.1.4 Buňky lymfocytopenoezy:

- a) normální lymfocyty,
- b) LGL,
- c) atypické lymfocyty susp. reaktivní,
- d) atypické lymfocyty susp. nádorové (patologické lymfocyty v rámci dg. CLL, HCL, leukemizovaných lymfomů vč. FL, MCL, SMZL aj., MF/SS, LGL leukémie, prolymfocyty u PLL, resp. CLL/PLL a CLL),
- e) atypické lymfocyty nejasného významu,

Hodnocení nátěru aspirátu kostní dřeně

Doporučení laboratorní sekce České hematologické společnosti ČLS JEP

- f) plazmocyty, plazmablasty (alternativně lze vyjadřovat morfologicky abnormální formy v % zastoupení).

3.2.1.5 Mastocyty

- a) Normální mastocyty
- b) Patologické formy

3.2.1.6 Další buňky zahrnuté do myelogramu:

- a) morfologicky nerozlišitelné či obtížně rozlišitelné blastické elementy (blasty velmi nezralého charakteru, megakaryoblasty, či monoblasty nenádorového původu),
- b) hematogony, které mohou mít vzhled blastických elementů a jsou to mladé progenitorové B-lymfocyty (*10–20 μm velké, s vysokým N/C poměrem, s kulatým jádrem ojedinele se zářezem, s velmi jemným, homogenním chromatinem, výjimečně s jadérky, s úzkým či nepatrným lemem agranulární cytoplazmy*),
- c) leukemické blasty a jejich ekvivalenty, do kterých patří:
 - myeloblasty, monoblasty, megakaryoblasty u akutních myeloidních leukemií, resp. i u chronické myelomonocytární leukemie, promyelocyty včetně „faggot cell“ u akutní promyelocytární leukemie, promonocyty u akutní myeloidní leukémie typu myelomonocytární či monocytární/monoblastická a taktéž promonocyty u chronické myelomonocytární leukemie. Tyto blasty *resp. jejich ekvivalenty* se nezahrnují do granulopoezy v rámci rozpočtu a jejich přesné zařazení v rámci jednotlivých klinických diagnóz se řídí WHO klasifikací. Dále sem patří lymfoblasty u akutních lymfoblastických leukemií/prekurzorových lymfoblastických lymfomů a blastické elementy u DLBCL, BL, či jiných lymfoproliferací ze „zralých“ buněk, kdy však patologické elementy mají jasně morfologicky vzhled blastů (např. blastická forma lymfomu z plášťové zóny).

V rámci rozpočtu myelogramu je nutno zmínit, že některé rozpočty jednotlivých patologických buněk pro specifické diagnózy a diferenciální diagnózy nemusí být dostatečné ke stanovení diagnózy i v rámci vyhodnocených 500 jaderných buněk dřeně (akutní myelomonocytární leukemie x chronická myelomonocytární leukemie typu 2, *MDS-IB2* × AML). Limitaci tohoto hraničního rozpočtu buněk, který neumožňuje ani po pečlivém přepočtu buněk jasně stanovit diagnózu, je nutno zmínit v závěru výsledku. Doporučujeme myelogram *zhodnotit opakovaně (vstupní diagnostické nátěry i několika odborníky současně), z jednoho preparátu a na více buněk (např. na 1000 elementů); výsledek celkově zhodnotit v kontextu s nálezem v periferní krvi a s výsledkem cytochemie.*

Do myelogramu resp. rozpočtu jaderných buněk dřeně dle ICSH nejsou zahrnuty:

- a) makrofágy a jejich alternativy včetně buněk Gaucherových či pseudo-Gaucherových, tukových, sea-blue forem,
- b) megakaryocyty, promegakaryocyty,
- c) osteoblasty/osteoklasty,
- d) buňky nádorové při metastatickém postižení dřeně solidními tumory, buňky Reed – Sternbergové, či Hodgkinovy u Hodgkinova lymfomu.

Je možné zastoupení těchto elementů vyjádřit poměrem (např. 1/250 jaderných buněk).

Hodnocení nátěru aspirátu kostní dřeně

3.2.2 Kvalitativní hodnocení – hodnocení morfologických změn – slovní komentář

Morfologicky popisujeme každou vývojovou řadu zvlášť – její početní a poměrné zastoupení, přítomnost jednotlivých stádií, jejich morfologické změny.

3.2.2.1 Granulopoeza

- a) Celkové početní zastoupení řady – zvýšené, přiměřené, snížené či řada chybí, nerovnoměrné s navýšením či chyběním jednotlivých stádií, maturační blok ve vyzrávání, posun doleva (k nezralým formám), posun doprava (ke zralým formám), zastoupení neutrofilů, eozinofilů, bazofilů, mastocytů.
- b) Odchytky velikosti granulocytů – mikro – či makro- až megalofomy, anizocytóza buněk.
- c) N/C asynchronie ve vyzrávání jádra a cytoplazmy.
- d) Atypie morfologie jádra – tvar či uložení, struktura chromatinu (atypické shlukování/políčkování jaderného chromatinu), Pelger-Huëtova anomálie či její pseudoforma, prstenčité formy jader, hypersegmentace, hyposegmentace/opožděná segmentace, přetrvávání nukleolů, jaderné fragmenty v cytoplazmě.
- e) Atypie morfologie cytoplazmy – zbarvení vč. homogenity; granularita (snížená či chybějící, přiměřená, zvýšená, resp. toxická), zbarvení, *velikost* a hrubost granul, jejich distribuce (dysgranularita); přítomnost inkluzí (např. Döhleho inkluzí, Auerových tyčí včetně jejich snopců, tzv. faggot cells u APL, Chédiakiho-Highashiho granula, resp. jejich pseudoformy); přítomnost parazitů; vakuolizace cytoplazmy; ohraničení cytoplazmy.

3.2.2.2 Monocytopoeza

- a) Zastoupení monocytů (přiměřené, *chybění monocytů*, monocytóza).
- b) Morfologické změny monocytů (hypo/alobulizace jádra, bazofilie cytoplazmy, nadměrná vakuolizace cytoplazmy).
- c) Přítomnost nezralých forem (promonocyty, monoblasty).
- d) Přítomnost atypických/*aktivovaných* forem monocytů.

3.2.2.3 Erytropoeza

- a) Zastoupení přiměřené, erytropoeza snížená/zvýšená.
- b) Normoblastová, makro – a mikroblastová, megaloblastová, dimorfní, či kombinace např. makro-normoblastová, anizocytární.
- c) Odchytky jádra: megaloblastoidie (elementy s megaloblastoidií jsou větší než odpovídající normoblasty, mají N/C asynchronii, ale méně vyjádřenou než jasné megaloblasty a struktura jaderného chromatinu je hutnější a hrubší než u megaloblastů, ale jemnější než u normoblastů), karyorhexe, karyoschíza, vícejadernost, jaderné můstky, *neokrouhlá či lobulizovaná jádra*, pulverizace.
- d) Odchytky cytoplazmy: porucha hemoglobinizace, vakuolizace, přítomnost inkluzí (bazofilní tečkování, Howellova-Jollyho tělíška, Pappenheimerova tělíška), intercytoplazmatické můstky.
- e) N/C asynchronie.
- f) Trsy erytroblastů, rofeocytóza.

Doporučení laboratorní sekce České hematologické společnosti ČLS JEP

3.2.2.4 Megakaryocyty

- a) Zastoupení přiměřené, počet megakaryocytů snížený/zvýšený, četné poškozené buňky, četnost holých jader.
- b) Trsy megakaryocytů.
- c) Dysplastické změny: hyposegmentace/ hypolobulizace (malé hyposegmentované/hypolobulizované formy); jádra bez lobulizace (monolobulizace), vícečetná/separovaná jádra (multinuklearita); mikroformy; malé dvoujaderné elementy.
- d) Jiné morfologické odchylky: emperipoléza, vakuolizace cytoplazmy, velké až gigantické formy s pravidelnými jádry; *hyperlobulizovaná jádra*.

3.2.2.5 Buňky lymfocytopenie

- a) Zastoupení lymfocytů přiměřené, lymfocyty jsou sníženy/zmnoženy.
- b) Zastoupení plazmocytů normální, plazmocyty jsou zmnoženy, resp. relativně zmnoženy.
- c) Morfologie lymfocytů – popsat odchylky u atypických forem.
- d) Morfologie plazmocytů – popsat morfologii atypických forem.

3.2.2.6 Mastocyty

- a) Zastoupení mastocytů – přítomny ojedinělé buňky, či je zastoupení navýšené.
- b) Morfologie mastocytů – popsat odchylky ve tvaru buňky a jádra, v množství granulí.

3.2.2.7 Nádorové/leukemické blasty

- a) Popsat morfologii nádorových blastů resp. minimálně jejich pravděpodobné zařazení – myeloblasty (granulované, ngranulované, výskyt Auerových tyčí, nepravidelná jádra, štěpená jádra), monoblasty, promonocyty, megakaryoblasty, resp. jejich vzájemné poměry, lymfoblasty resp. elementy Burkittova lymfomu.
- b) *Procentuální* zastoupení myeloblastů, monoblastů, promonocytů, *patologických erytroblastů* či megakaryoblastů je nezbytné pro vyjádření jednotlivých podtypů akutní myeloidní leukemie (akutní myeloidní leukemie s vyzráváním, akutní myelomonocytární leukemie, akutní monoblastická/monocytární leukémie, akutní megakaryocytární leukémie, *akutní erytroidní leukemie*).

3.2.2.8 Buňky do rozpočtu nezahrnuté

- a) Makrofágy (a jejich alternativy) – přiměřené, zmnožené, makrofágy nedetekovány.
- b) Přítomnost speciálních druhů makrofágů jako jsou buňky Gaucherovy či pseudo-Gaucherovy, tukové makrofágy, sea-blue formy; ev. přítomnost hemofagocytózy, či přítomnost parazitů.
- c) Přítomnost buněk dřeni cizích je nutné popsat detailně včetně přítomnosti jejich shluků, rozet či filament, a tam, kde je to možné, vyslovit se k pravděpodobné genezi.

3.2.2.9 Extracelulární materiál

- a) Hmoty paraproteinu (kulovité šedomodře se barvicí hmoty, či objemný nepravidelně tvarovaný, homogenně růžově se barvicí materiál, či krystaly).
- b) Formy parazitů (malarická plazmodia, leishmanie, toxoplazma, aj.).
- c) Extra – či intracelulární bakterie v mikro – i makrofázích.

Hodnocení nátěru aspirátu kostní dřene

3.2.3 Cytochemické vyšetření

Cytochemické vyšetření se používá k upřesnění diagnózy a je pomocným vyšetřením v rámci diferenciálně diagnostické rozvahy. Mezi základní cytochemická vyšetření, jejichž metodiky je včetně vyhodnocení výsledků nutné mít na pracovištích zpracované, je vyšetření myeloperoxidázy a vyšetření na přítomnost železa.

3.2.4 Zdroje chyb

- a) Vadný odběr – vzorek kontaminovaný *dezinfekční látkou*, či je přítomna významná periferní příměs (nekvalitní či vadný odběr) – toto je nutné zmínit ve výsledku jako limitaci hodnocení.
- b) Špatně provedený nátěr, který je:
 - velmi silný, hustý, krátký,
 - velmi řídký, tenký,
 - bez „konců“,
 - sražený rychlou aglutinací erytrocytů při nedostatečném zahřátí vzorku, či podložního skla při přítomnosti chladových aglutininů, či při hyperkoagulaci v rámci koagulopatie.
- c) Nekvalitní barvení
 - staré barvy,
 - špatné pH barev, či pufru, či vody.
 - špatná/nedostatečná fixace,
 - příliš rychlé schnutí nátěru (např. na topení)
 - barvení nedostatečně zaschlého nátěru,
 - „rychlobarvení“,
 - starý preparát (*více než měsíc*)
- d) Chybné zhodnocení
 - nátěr nebyl celkově prohlédnut na malém zvětšení, *nebylo zvoleno dostatečné zvětšení při hodnocení*,
 - nebyly zhodnoceny okraje a konce nátěru,
 - bylo vybráno nevhodné místo pro hodnocení,
 - bylo zhodnoceno málo jaderných buněk.
- e) Byl použit nekvalitní imerzní olej (znehodnocení buněk již po několika dnech)
- f) Hodnocení aspirátu provedeno na nekvalitním mikroskopu (malé zorné pole, nízká světelnost).

4 Vyhodnocení a zápis výsledku

Hodnocení obsahuje údaj o počtu hodnocených buněk, procentuální rozpočet buněk (myelogram), stručný a jednoznačný popis jednotlivých vývojových řad (jejich přítomnost či nepřítomnost), jejich morfologické změny, popis přítomných patologických buněk. A dále musí obsahovat závěr, ve kterém je uvedena diagnóza, podezření na diagnózu, či diferenciálně diagnostická rozvaha, případně doporučení na provedení dalších laboratorních vyšetření (průtoková cytometrie, histopatologický rozbor kostní dřeně, genetická vyšetření aj.).

V některých případech je závěr podpořen výsledkem cytochemického vyšetření. Vyhodnocení musí odrážet i event. limitace či problémy při hodnocení preparátu (např. aspirát s periferní

Doporučení laboratorní sekce České hematologické společnosti ČLS JEP

příměsí, hypo/acellularita aspirátu s odkazem na histologický rozbor kostní dřeně u aplastických anémií či u akutní megakaryoblastové leukemie, masivní infiltrace kostní dřeně u akutních leukemií s fibrózou aj.). U podezření na lymfoproliferativní onemocnění je vhodné uvést doporučení na vyšetření průtokovou cytometrií, u podezření na myeloproliferativní onemocnění je též vhodné uvést doporučení na provedení histologického vyšetření *kostní dřeně a cytogenetické/molekulárně genetické vyšetření*. Pokud nejsou k dispozici hodnoty KO či nátěr periferní krve, je nutné tuto skutečnost zohlednit v závěru a vyjádřit se k možnému omezení diagnostického hodnocení.

5 *Kontrola kvality*

Laboratoř musí mít nastavenou EHK i VKK, která se skládají z několika kontrolních činností:

5.1 *Kontrola kvality nátěru aspirátu a jeho obarvení*

Viz Doporučení ČHS ČLS JEP „*Příprava a barvení nátěru periferní krve a aspirátu kostní dřeně, včetně kontrolní činnosti*“.

5.2 *Interní kontrola kvality (VKK)*

Orientačně lze využít návod v Doporučení ČHS ČLS JEP „*Kontrola kvality mikroskopického hodnocení rozpočtu leukocytů a morfologie buněk v nátěru periferní krve*“. Frekvenci VKK si laboratoř nastaví sama, měla by být odvozena z počtu vyšetřených vzorků za rok.

5.3 *Externí kontrola kvality (EHK)*

Viz „*Doporučení ČHS ČLS JEP k externímu hodnocení kvality (EHK) v hematologické laboratoři*“. Lze využít tento materiál:

5.3.1 **externí materiál zahraničních firem nabízejících tuto službu,**

5.3.2 **fotografie nátěru aspirátu kostní dřeně firmy SEKK s.r.o.,**

5.3.3 **mezilaboratorní porovnání.**

6 *Použité zkratky*

<i>EDTA</i>	–	<i>etylendiaminotetraoctová kyselina</i>
<i>LGL</i>	–	<i>large granular lymphocytes (velké granulované lymfocyty)</i>
<i>N/C</i>	–	<i>nukleo/cytoplazmatický, -á</i>
<i>CLL</i>	–	<i>chronická lymfocytární leukémie</i>
<i>HCL</i>	–	<i>hairy cell leukemia (vlasatobuněčná leukémie)</i>
<i>FL</i>	–	<i>folikulární lymfom</i>
<i>MCL</i>	–	<i>mantle cell lymphoma (lymfom z pláštěvé zóny)</i>
<i>MF/SS</i>	–	<i>mycosis fungoides/Sézaryho syndrom</i>
<i>PLL</i>	–	<i>prolymfocytární leukémie</i>
<i>MDS</i>	–	<i>myelodysplastický syndrom</i>

Hodnocení nátěru aspirátu kostní dřeně

Doporučení laboratorní sekce České hematologické společnosti ČLS JEP

<i>RAEB</i>	–	<i>refrakterní anémie s přebytkem blastů</i>
<i>DLBCL</i>	–	<i>difúzní velkobuněčný B lymfom (difuse large B cell lymphoma)</i>
<i>BL</i>	–	<i>Burkittův lymfom</i>
<i>AML</i>	–	<i>akutní myeloidní leukémie</i>
<i>APL</i>	–	<i>akutní promyelocytární leukémie</i>
<i>ICSH</i>	–	<i>International Council for Standardization in Hematology</i>
<i>KO</i>	–	<i>krevní obraz</i>
<i>EHK</i>	–	<i>externí hodnocení kvality</i>
<i>VKK</i>	–	<i>vnitřní kontrola kvality</i>

7 Literatura

- ✓ Brown, B A. Hematology: Principles and procedures. London, Lea & Febiger 1993; 35-85, 97-105
- ✓ Barbara J. Bain: Blood cells - A Practical guide, Wiley Blackwell, London, 5th edition, 2015
- ✓ Bain B., Clark DM., Wilkins BS.: Bone marrow pathology, Wiley Blackwell, London, 4th edition, 2010, pp 630
- ✓ Barbara J. Bain, Imelda Bates, Mike A. Laffan and S. Mitchell Lewis: Dacie and Lewis Practical Haematology, Churchill Livingstone Elsevier, 11th edition, 2012
- ✓ Glassy EF (Ed): CAP Hematology and clinical microscopy resource committee, Color atlas of hematology Northfield, 1998, pp 370
- ✓ Foucar K.: Bone Marrow pathology, American Society for Clinical Pathology, Chicago, 2nd edition, 2001
- ✓ Hayhoe FGJ., Quaglino: Haematological Cytochemistry Churchill Livingstone, 1994
- ✓ Haferlach T., Bacher U., Thiel H., Diem H.: Kapesní atlas hematologie, 6. přepracované vydání, Grada, 2014
- ✓ Lee S-H., Erber WH., Porwit A., et al.: ICSH guidelines for the standardization of bone marrow specimens and reports. Int J Lab Hematol 2008; 30: 349-364
- ✓ Swerdlow SH., Campo E., Harris NL., Jaffe ES., Pileri SA., Stein H., Thiele J., Vardiman JW. (Eds): WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues, Lyon 2008; pp 439
- ✓ Zini G., Bain B., Bettelheim P., et al.: A European consensus report on blood cell identification: terminology utilized and morphological diagnosis concordance among 28 experts from 17 countries within the European LeukemiaNet network WP10, on behalf of ELN Morphology Faculty, BHJ 2010; 151: 359-364
- ✓ D. A. Arber, A. Orazi, R. Hasserjian, J. Thiele, M. J. Borowitz, M. M. Le Beau, C. D. Bloomfield, M. Cazzola and J. W. Vardiman: The 2016 revision to the WHO classification of myeloid neoplasm and acute leukemia, Blood, 19 May 2016, Volume 127, Number 20
- ✓ Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J (Eds). WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues (Revised 4th edition). IARC: Lyon 2017

Hodnocení nátěru aspirátu kostní dřene

Doporučení laboratorní sekce České hematologické společnosti ČLS JEP

- ✓ *Ian a Cree. WHO Classification of Haematolymphoid Tumours (5th edition). IARC: Lyon 2022*
- ✓ *BAIN, Barbara J. Leukaemia Diagnosis. 5th edition: Wiley Blackwell 2017*