

Hematologická vyšetření

1. Základní hematologická vyšetření
 - krevní obraz (KO), diferenciál, sedimentace
2. Hemokoagulační vyšetření
 - zjištění koagulačních poměrů krve, rychlosti srážení krve
3. Imunohematologická vyšetření
 - vyšetření krevní skupiny, Rh faktoru
4. Vyšetření kostní dřeně
 - hematonekologie
5. Molekulárně genetická vyšetření
 - průkaz specifických mutací (trombofilní stavy)

Hematologická vyšetření

- Hematologické laboratoře
- Hematologicko-transfúzní oddělení

Zásady správného odběru:

- stejné jako u biochemických parametrů
- dotaz na léčbu antikoagulanty - zde pozor – dnes i přímé inhibitory FXa ve formě tablet!
- otevřený systém – poškození krevních buněk!

Hematologická vyšetření

Žádanka:

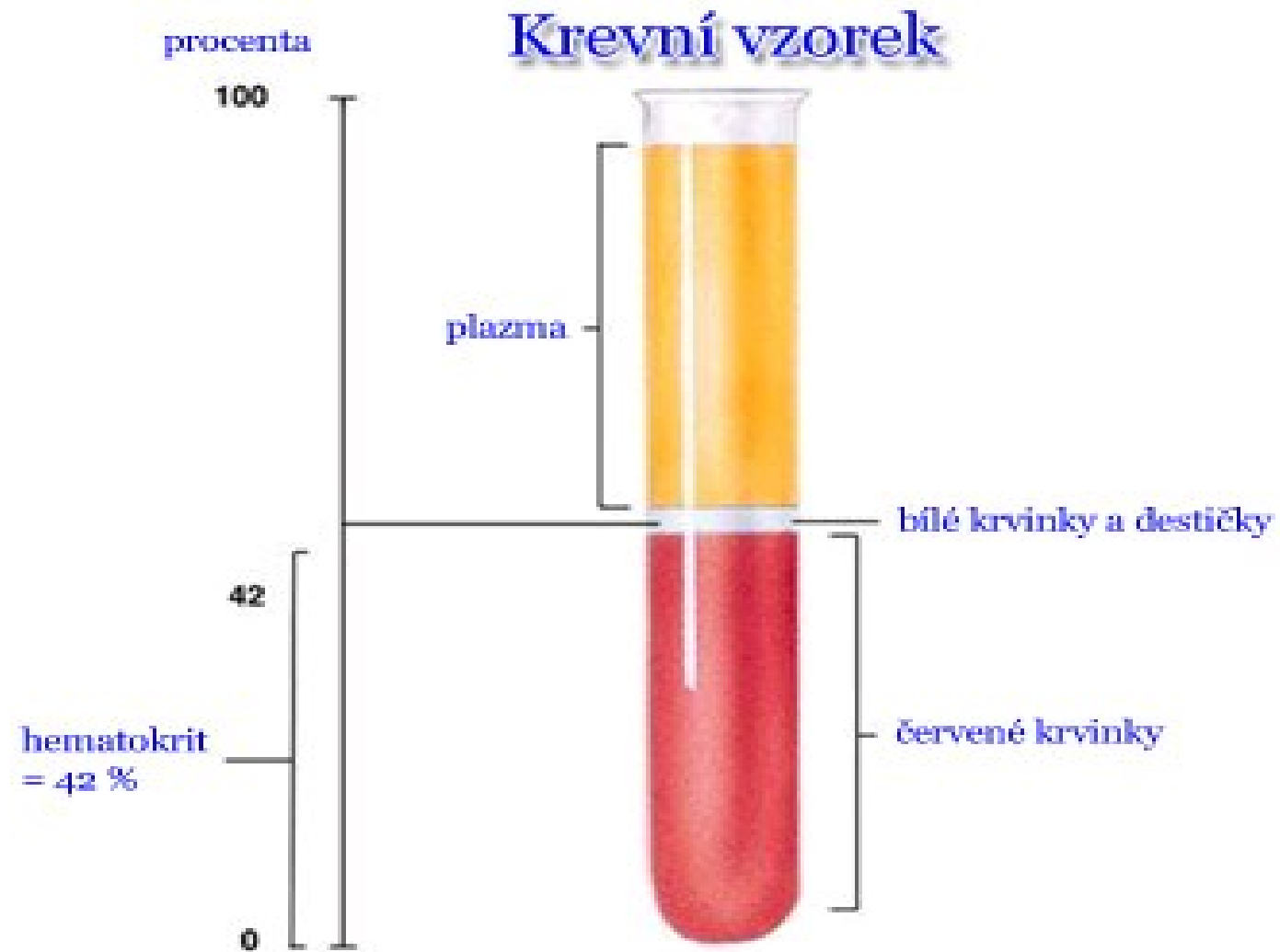
- výběr - podle typu hematologického vyšetření
 - hematologické, hemokoagulační, imunohematologické + transfúzní přípravky
- řádně vyplněná
 - jméno, příjmení, rodné číslo, diagnóza, léky, datum odběru, podpis lékaře a setry
- označení požadovaných vyšetření
- označení odebraného materiálu

1. Základní hematologická vyšetření

a) Krevní obraz (hemogram) – běžné screeningové vyšetření

- kvantitativní - stanovení počtu krevních elementů, hemoglobinu a hematokritu
 - Erytrocyty
 - Leukocyty
 - Trombocyty
 - Hemoglobin Hb (g/l)
 - Hematokrit (Hct) – objemový poměr erytrocytů a plazmy

Hematokrit



1. Základní hematologická vyšetření

a) Krevní obraz

- Kvalitativní vyšetření erytrocytů
 - střední objem erytrocytu (MCV – mean corpuscular volume) - Hct/Ery
 - průměrné množství Hb v erytrocytech (MCH – mean Hb concentration) - Hb/Ery
 - střední koncentrace Hb v erytrocytech (MCHC - mean corpuscular hemoglobin concentration) - $\text{MCH}/\text{MCV} = \text{Hb}/\text{Hct}$

1. Hematologická vyšetření

a) Krevní obraz

Indikace:

- běžné screeningové vyšetření (operace, těhotenství)
- krevní choroby
- záněty

Odběr:

- venózní nesrážlivá krev

Stanovení:

- Hct - automatické analyzátory (coultry)
- krevní roztěr

1. Hematologická vyšetření

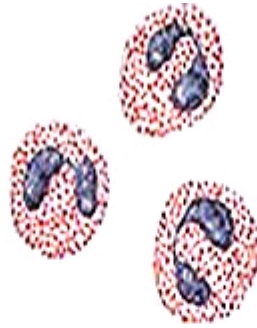
b) KO + diferenciál

- KO + stanovení počtu jednotlivých druhů bílých krvinek
 - Neutrofily
 - Eozinofily
 - Bazofily
 - Monofily
 - Lymfocyty
 - Monocyty
- Odběr:
 - venózní nesrážlivá krev
- Stanovení:
 - automatický analyzátor krvinek
 - manuálně pod mikroskopem

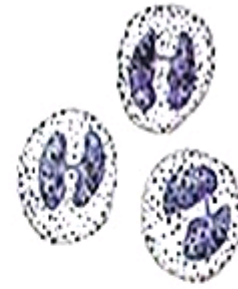
Leukocyty



Neutrophils



Eosinophils



Basophils



Lymphocytes



Monocytes



Platelets



Erythrocytes

1. Hematologická vyšetření

c) Mikroskopické hodnocení krevního nátěru

- velikost erytrocytů (mikrocyty, normocyty, makrocyty)
- tvar erytrocytů (ovalocyty, sférocyty, schistocyty, poikilocyty)
- změny granulocytů
- morfologie trombocytů

Indikace:

- následný test, pokud jsou abnormální výsledky vyšetření krevního obrazu
- podezření na nemoci krve tvorby, nebo na zvýšený rozpad krvinek

1. Hematologická vyšetření

c) Mikroskopické hodnocení krevního nátěru

Odběr:

➤ periferní krev

Stanovení:

➤ manuální vyšetření pod mikroskopem

1. Hematologická vyšetření

d) Sedimentace erytrocytů (FW)

- FW = podle Fahrea a Westergrena
- rychlost klesání erytrocytů ve vzorku nesrážlivé krve (sedlivost)
- závisí hlavně na velikosti sedimentujících částic
- erytrocyty mají tendenci vytvářet válcovité shluky → sedimentují rychleji než samostatné erytrocyty
 - tvorbu shluků podporují některé bílkoviny, hlavně fibrinogen a γ -globuliny
- sedimentace krve zrychluje zejména při zánětech, infekčních chorobách, těhotenství
- Nespecifické vyšetření – neurčí příčinu zánětu

1. Hematologická vyšetření

d) Sedimentace erytrocytů

- Odběr:
 - venózní nesrážlivá krev (aditivum - citrát sodný)
 - odebírat jako poslední zkumavku
- Stanovení:
 - stojánky

2. Hemokoagulační vyšetření

Zjištění koagulačních poměrů krve a rychlosti srážení krve

- z venózní krve
- z kapilární krve

Indikace:

- screeningové vyšetření – před invazivními výkony
- krvácivé (modřiny) nebo trombofilní stavy
- monitorování antikoagulační léčby (**Warfarin x Heparin**)

Antikoagulační léčba

Warfarin

- nepřímý antikoagulační prostředek
- inhibuje působení vitamínu K \Rightarrow blokuje syntézu vitamin K-dependentních koagulačních faktorů (II, VII, IX a X)
- účinek ovlivněn dietou – potraviny s vitamínem K (zelí, grep), některými antibiotiky nebo analgetiky
- nemá antidotum

Heparin

- katalyticky působí na antitrombin, který inhibuje trombin
- nepřechází placentou (lze podávat v těhotenství)
- antidotum - protaminsulfát

Antikoagulační léčba

Nová perorální přímá antikoagulancia:

Selektivní inhibitory faktoru Xa

- blokují přeměnu protrombinu na trombin a tím zabraňují tvorbě trombu (např. Rivaroxaban, Apixaban – Eliquis)
- antidotum - andexanet alfa

2. Hemokoagulační vyšetření

a) Hemokoagulační vyšetření z venózní krve

- **PT** (prothrombin time)– protrombinový čas (Quickův test)
 - rychlost přeměny protrombinu na trombin
 - **kontrola při léčbě Warfarinem**
- **INR** – (index) poměr PT/normál
 - ↑ srážlivost = nižší INR; prodloužená srážlivost = ↑INR
 - **kontrola při léčbě Warfarinem**
- **APTT** – aktivovaný parciální tromboplastinový čas
 - ke zjištění koagulačních faktorů vnitřního srážení
 - **kontrola při léčbě Heparinem**
- **Fibrinogen (Fbg)**
 - bílkovina krevní plazmy důležitá pro srážení krve
 - stanovení plazmatické koncentrace - norma je mezi 1,5–4,5 g/l

2. Hemokoagulační vyšetření

a) Hemokoagulační vyšetření z venózní krve

Odběr:

- nesrážlivá krev (citrát, EDTA)
- neodebírat jako první zkumavku!* (atraumatický odběr, při požadování samostatného odběru napřed odebrat 5ml do zkumavky, která se nepoužije)
- včasné dodání do laboratoře - zpracovat do 4hod

* nebezpečí kontaminace tkáňovými složkami z místa vpichu

2. Hemokoagulační vyšetření

b) Hemokoagulační vyšetření z kapilární krve

Vyšetření na krvácivost – srážlivost

- vpichem do ušního lalůčku
- sleduje se doba krvácení
- fyziologické hodnoty 2-7minut

Indikace:

- vzácně - vyšetření u krvácivých chorob

3. Imunohematologická vyšetření

- vyšetření krevní skupiny
- Rh faktoru (Rh systém)
- křížové zkoušky
- protilátky

Indikace

- vyšetření před transfúzí krve

Odběr:

- venózní srážlivá krev

4. Vyšetření kostní dřeně

Poruchy krvetvorby

- Aspirační biopsie kostní dřeně – sternální punkce
 - zhodnocení pouze přítomnosti a charakteru jednotlivých buněk
 - z oblasti hrudní kosti
 - speciální jehla
 - 0,5-2ml do stříkačky
 - roztěrový preparát – mikroskopické hodnocení
 - cytogenetické vyšetření
- Histobiopsie – trepanobiopsie
 - úplný vzorek – můžeme hodnotit strukturu tkáně s viditelnými vzájemnými vztahy mezi buňkami
 - z lopaty kyčelní kosti
 - speciální jehla (průměr 2mm)

5. Molekulárně genetická vyšetření

Určení Leidenské mutace FV nebo mutace genu pro protrombin u trombofilních stavů spojených s žilním tromboembolizmem

- Tromboembolická nemoc (žilní trombóza a plicní embolie, TEN)

Indikace:

- po opakovaných trombózách
- před zahájením kombinované perorální hormonální antikoncepce a/nebo hormonální substituční léčby estrogeny u žen s pozitivní osobní anamnézou prodělané TEN, nebo s pozitivní rodinnou anamnézou výskytu TEN
- u těhotných žen s pozitivní osobní nebo rodinnou anamnézou prodělané TEN

Transfuze

transplantace krve nebo krevních složek

- alogenní transfuze – využití krevních produktů dárců
- autologní transfuze – vlastní uschovaná krev

Transfuzní přípravky

- plná krev
- plazma
- erytrocyty
- trombocyty

Transfuze

Krevní deriváty

- albumin
- srážení faktory
- Imunoglobuliny
- Fibrinogen

Indikace:

- oběhová nestabilita (anémie) - Hb pod 80 g/l (výjimka ICHS)
- krvácení
- těžká trombocytopenie
- hemofilie

Předtransfuzní vyšetření - laboratoř

- vyšetření krevních skupin AB0 a Rh systému dárce i příjemce
- screening séra příjemce na přítomnost nepravidelných protilátek
 - nepřímý Coombsův test (erytrocyty dárce x plazma příjemce)
- screening na infekční onemocnění dárce
- legislativa x vědecké poznání
 - dle platné legislativy nedostatečná paleta testovaných parametrů!
 - dárce po prvním odběru vyplní dotazník, po inkubační době proběhne druhý odběr už bez dotazníkového šetření!
 - netestují se např.: viry (mononukleóza, hepatitida-inkubační doba 90 dní!); návykové látky; zánětlivé markery (známa seps z konzervy)

Předtransfuzní vyšetření - pacient

Sestra:

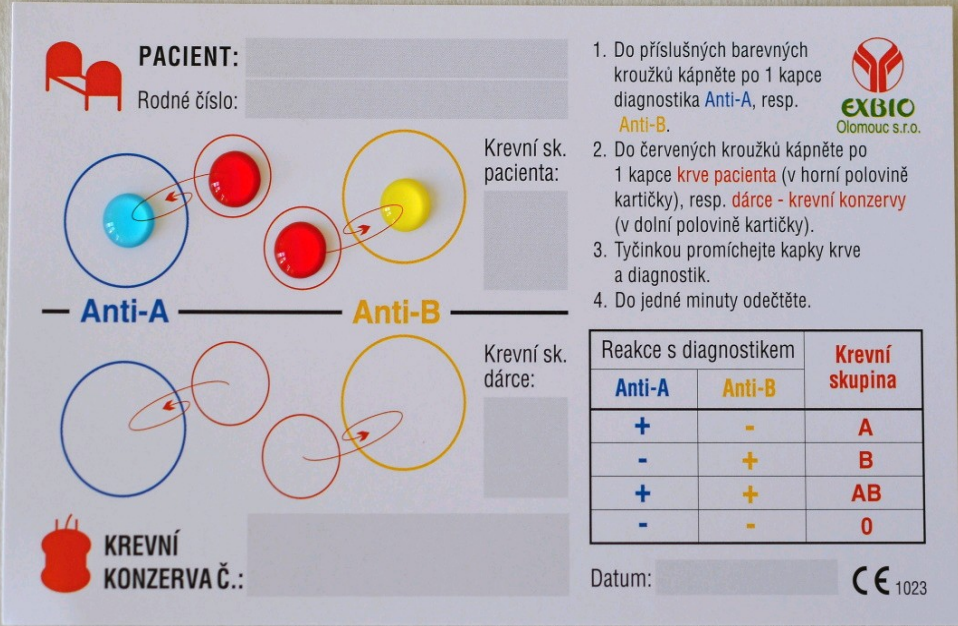
- ověření totožnosti
- měření: teplota, pulz, krevní tlak, dechová frekvence
- vyšetření moči
- kontrola dokumentace (pacient, krevní konzerva)
- sangvíttest

Lékař i sestra:

- biologický pokus

Sangvitest

Diagnostické soupravy s předtištěnými kartami



PACIENT: _____
Rodné číslo: _____

Krevní sk. pacienta: _____

Anti-A **Anti-B**

Krevní sk. dárce: _____

KREVNÍ KONZERVA Č.: _____

Datum: _____

EXBIO
Olomouc s.r.o.

1. Do příslušných barevných kroužků kápněte po 1 kapce diagnostika **Anti-A**, resp. **Anti-B**.
2. Do červených kroužků kápněte po 1 kapce **krve pacienta** (v horní polovině kartičky), resp. **dárce - krevní konzervy** (v dolní polovině kartičky).
3. Tyčinkou promíchejte kapky krve a diagnostik.
4. Do jedné minuty odečtěte.

Reakce s diagnostikem		Krevní skupina
Anti-A	Anti-B	
+	-	A
-	+	B
+	+	AB
-	-	0

CE 1023

Biologický pokus

Pokud vyjde sangvitetest negativně:

- 10 - 20 ml krve z konzervy do žíly pod proudem
- 1 až 2 min zpomalení na minimum
- neprojeví-li se nepříznivá reakce 2x opakovat
- pozorování příjemce během celého pokusu (10 až 15 min) - lékař i sestra
- sestra pokračuje ve sledování pacienta po celou dobu transfuze

Vitální indikace – při nebezpečí z prodlení:

- křížová zkouška se vyšetřuje orientačně smícháním krví na sklíčku
- biologický pokus se neprovádí
- správnost orientačního testu se ověří laboratorními testy

Transfuze

Výměna krevních konzerv:

- každá konzerva je podána novou sterilní převodovou soupravou
- z původního převodu může zůstat v žíle původní jehla
- u každé konzervy má být znovu provedena kontrola krevních skupin sangvitemem a biologická zkouška

Ukončení:

- při zůstatku 10 ml krve v konzervě
- opětovné změření tepu, krevního tlaku, pulzu pacienta
- vyšetření moči (bílkovina, krevní barviva)
- zaznamenání času ukončení transfuze
- uložení konzervy do chladničky na 24 hodin (opatření pro případ dodatečné kontroly krve při pozdní potransfuzní reakci)

Potransfuzní komplikace

- Časné
- Pozdní – imunologické, infekce

Časné:

- pyretické (zimnice, třesavka)
- kožní (vyrážka, svědění)
- zvracení
- dušnost
- oběhové – u KVO musí kapat pomalu (“srdce nestíhá přečerpávat”)
- akutní hemolytické (boleti v zádech) - inkompatibilita AB0 systému

Dnes - např. možnost doživotní změny krevní skupiny pomocí **imunoadsorpce** (založeno na vychytávání antigenů s následující razantní imunosupresí)

- autologní transplantace kostní dřeně (dříve se skutečně odebírala kostní dřeň):

- odebrání krvetvorných buněk vyplavených do krve po podání takzvaných růstových faktorů (separátor krevních elementů)

- krvetvorné buňky se ve speciálním transfuzním vaku a roztoku zamrazí při teplotě $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$

- intenzivní chemoterapie (úplné zničení krvetvorby)

- samotná transplantace formou transfúze do žíly (kmenové buňky se samy usazují v prostorách kostní dřeně a postupně začínají produkovat jednotlivé krvinky)

- po dvou týdnech od převodu buněk, dochází k plnému obnovení krvetvorby

Základní vyšetřovací metody v hematologii

Krevní nátěry

Automatické analyzátory:

- coultry
- analyzátory krvinek

Průtoková cytometrie – určení populace lymfocytů, typů a různých stádií zralosti leukocytů (CD klasifikační systém)

PCR

Technika přípravy krevních nátěrů

- z čerstvě odebrané plné krve nebo nesrážlivé krve (EDTA, heparin)
- na kraj podložního sklíčka kápneme přiměřeně velkou kapku krve, přibližně 0,5 - 1 cm od okraje
- roztěrové sklíčko přiložíme jakoby před kapku a posuneme ho ke kapce, až se celá rozlije podél hrany roztěrového sklíčka
- sklíčkem roztíráme krev rovnoměrným, plynulým pohybem v postupně více ostrém úhlu od 45° do 30°
- ideální nátěr je rovnoměrně se ztenčující a přibližně 3 – 6 cm dlouhý

Technika přípravy krevních nátěrů

Barvení krevních nátěrů:

- tzv. panoptické barvení dle Pappenheima.









Postup barvení:

1. Celý nátěr na 3 minuty pokryjeme May-Grünwaldovým barvivem.
2. Opatrně přikapáváme destilovanou vodu tak, aby se původní barvivo nesmylo. Cílem je nechat působit takto naředěné barvivo (1:1) další 1 minutu.
3. Barvivo slijeme, můžeme opláchnout vodou.
4. Na nátěr naneseeme Giemsa-Romanowského barvivo. Necháme působit přibližně 15 minut (10 - 20 minut).
5. Barvivo slijeme a důkladně opláchneme pod tekoucí vodou.

Zkumavky používané v hematologii

- VACUTAINER® System BD
 - fialová – EDTA: plná krev, hematologická vyšetření
 - černá - citrát sodný: sedimentace
 - světle modrá – citrát sodný: koagulační vyšetření
 - růžová – K2EDTA: křížová zkouška
 - žlutá – tri-natrium citrát: transfúzní služba, imunohematologie (uchování erytrocytů)
- Odběrový systém Vacuette® (Greiner Bio One)
 - viz příloha pdf
- Odběrový systém SARSTEDT®
 - viz příloha pdf

VACUTAINER® System BD

Order of Draw	Tube Stopper Color	Additive	Dept.	Tests	Liquid Part post - centrifugation
1	Yellow 	Sodium polyethanol sulfonate (SPS)	Microbiology	Blood Culture	Plasma
2	Light Blue 	Sodium Citrate	Coagulation	PT, PTT	Plasma
3	Red (plain) 	No additive	Tube Blood Bank	Type, RH, antibody screen, type & crossmatch	Serum
4	Red & Grey or Gold 	Clot Activator	Routine Chemistry	All STAT tests + Iron, folate	Serum
5	Green 	Heparin	STAT Chemistry	BMP, CMP, Glucose, K, Troponin, Bilirubin	Plasma
6	Lavender 	K2EDTA	Hematology	CBC, ESR	Plasma
7	Pink 	EDTA	Gel Blood Bank	Type, RH, antibody screen, type & crossmatch	Plasma
8	Gray 	Sodium Fluoride (inhibits glycolysis)	Chemistry	Lactic Acid, Gluc (not run right away)	Plasma

Referenční rozmezí - VFN

Hematologické parametry

	Muži	Ženy	Jednotky
Sedimentace (FW)	2-5 (urychluje se věkem, pak 2-10)	3-10 (urychluje se věkem, pak 3-21)	mm/hod
Hemoglobin (Hb)	135-174	116-163	g/l
Hematokrit (Hct)	39-51	33-47	%
Počet erytrocytů	4,2-5,8	3,5-5,2	$\times 10^{12}/l$
Počet leukocytů	4,1-10,2	4-10,7	$\times 10^9/l$
Počet trombocytů	142-327	131-364	$\times 10^9/l$
MCV (střední objem ery)	82,6-98,4	82,3-100,6	fl
MCH (množství Hb v ery)	27-33	27-33	pg
MCHC (koncentrace Hb v ery)	32-36	32-36	g/dl

Referenční rozmezí - VFN

Hemokoagulační parametry

INR	60-150	%
PT	12-18	s
APTT	25,9-40	s

Odkazy:

Cytrometrie - <http://www.e-imunologie.cz/Pages/Player.aspx?id=92>

Kontakt:

barsta@atlas.cz