

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:

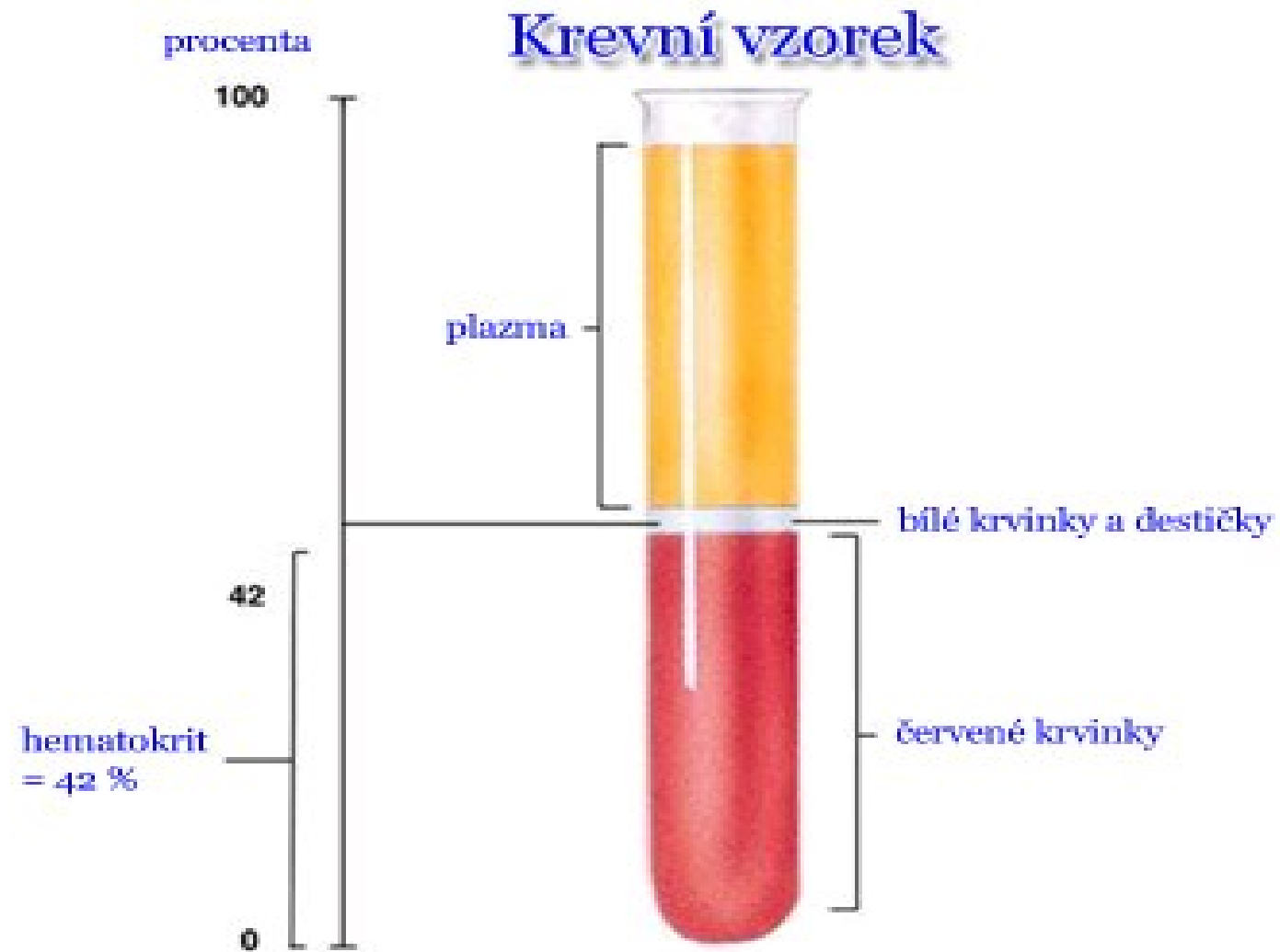
- výběr - podle typu hematologického vyšetření
 - hematologické, hemokoagulační, imunohematologické + transfúzní přípravky
- řádně vyplněná
 - jméno, příjmení, rodné číslo, diagnóza, léky, datum odběru, podpis lékaře a setry
- označení požadovaných vyšetření
- označení odebraného materiálu

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) - $\text{MCH/MCV} = \text{Hb/Hct}$

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

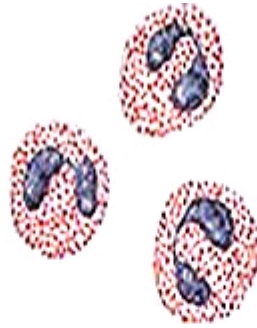
b) KO + diferenciál

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

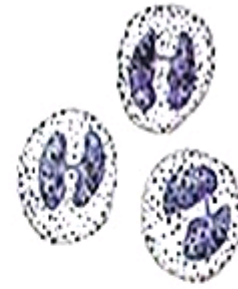
Leukocyty



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 estrogyeny 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 sepse 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.: _____

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 |

Datum: _____ **CE** 1023

Biologický pokus

Pokud vyjde sangvitest 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 kreví 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 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