

# 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:

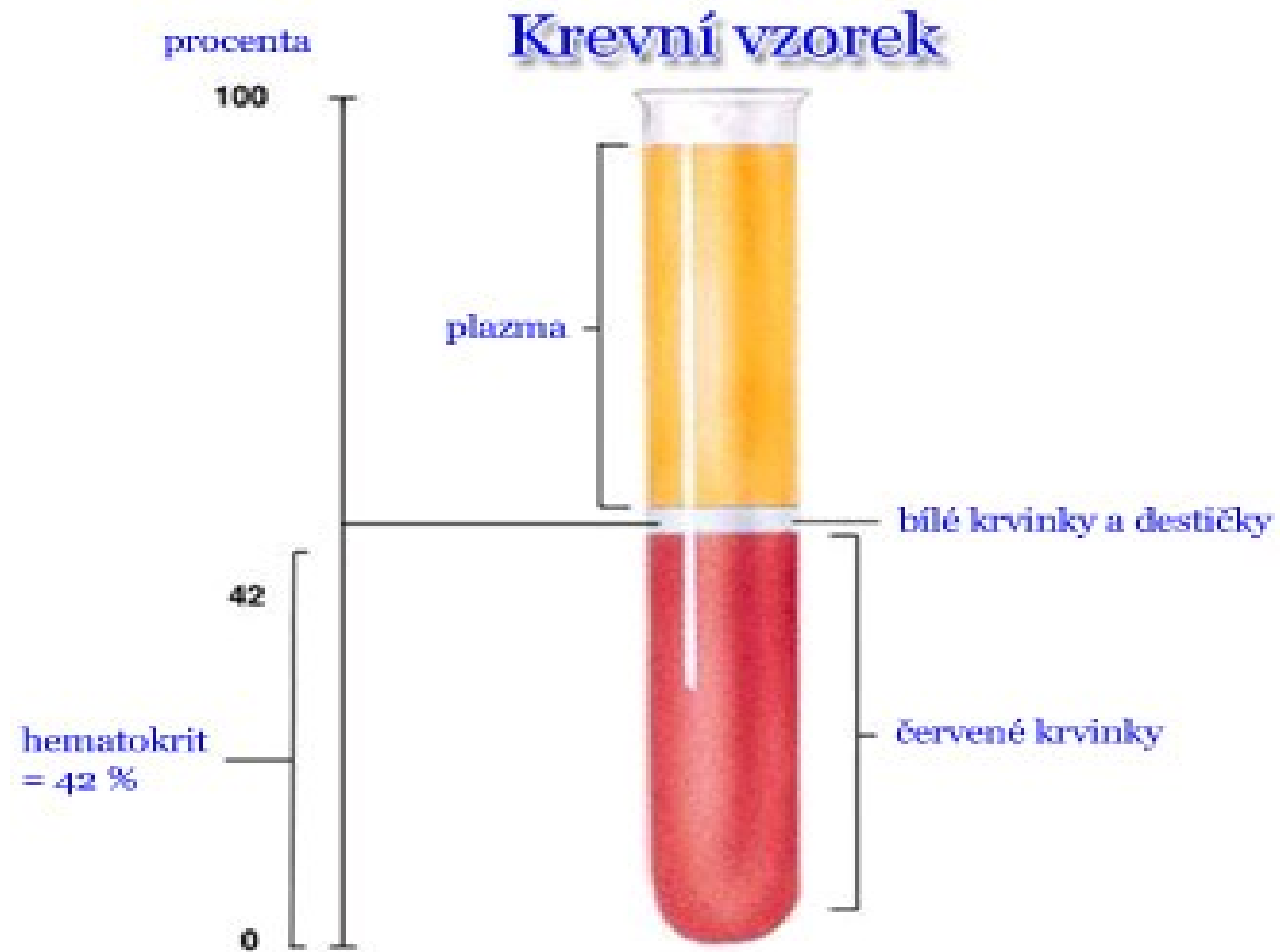
- výběr - podle typu hematologického vyšetření
  - hematologické, hemokoagulační, imunohematologické + transfúzní přípravky
- řádně vyplněná
  - jméno, příjmení, rodné číslo, diagnóza, léky, datum odběru, podpis lékaře a setry
- označení požadovaných vyšetření
- označení odebraného materiálu

# 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) -  $\text{Hct/Ery}$
  - průměrné množství Hb v erytrocytech (MCH – mean Hb concentration) -  $\text{Hb/Ery}$
  - 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

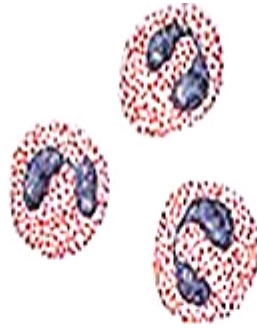
- KO + stanovení počtu jednotlivých druhů bílých krvinek
  - Neutrofily
  - Eozinofily
  - Bazofily
  - Monofily
  - Lymfocyty
  - Monocyty
- Odběr:
  - venózní nesrážlivá krev
- Stanovení:
  - automatický analyzátor krvinek
  - manuálně pod mikroskopem



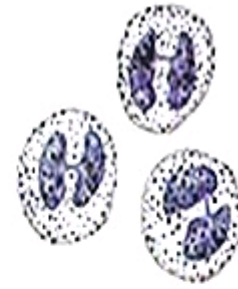
# Leukocyty



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  $\gamma$ -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:

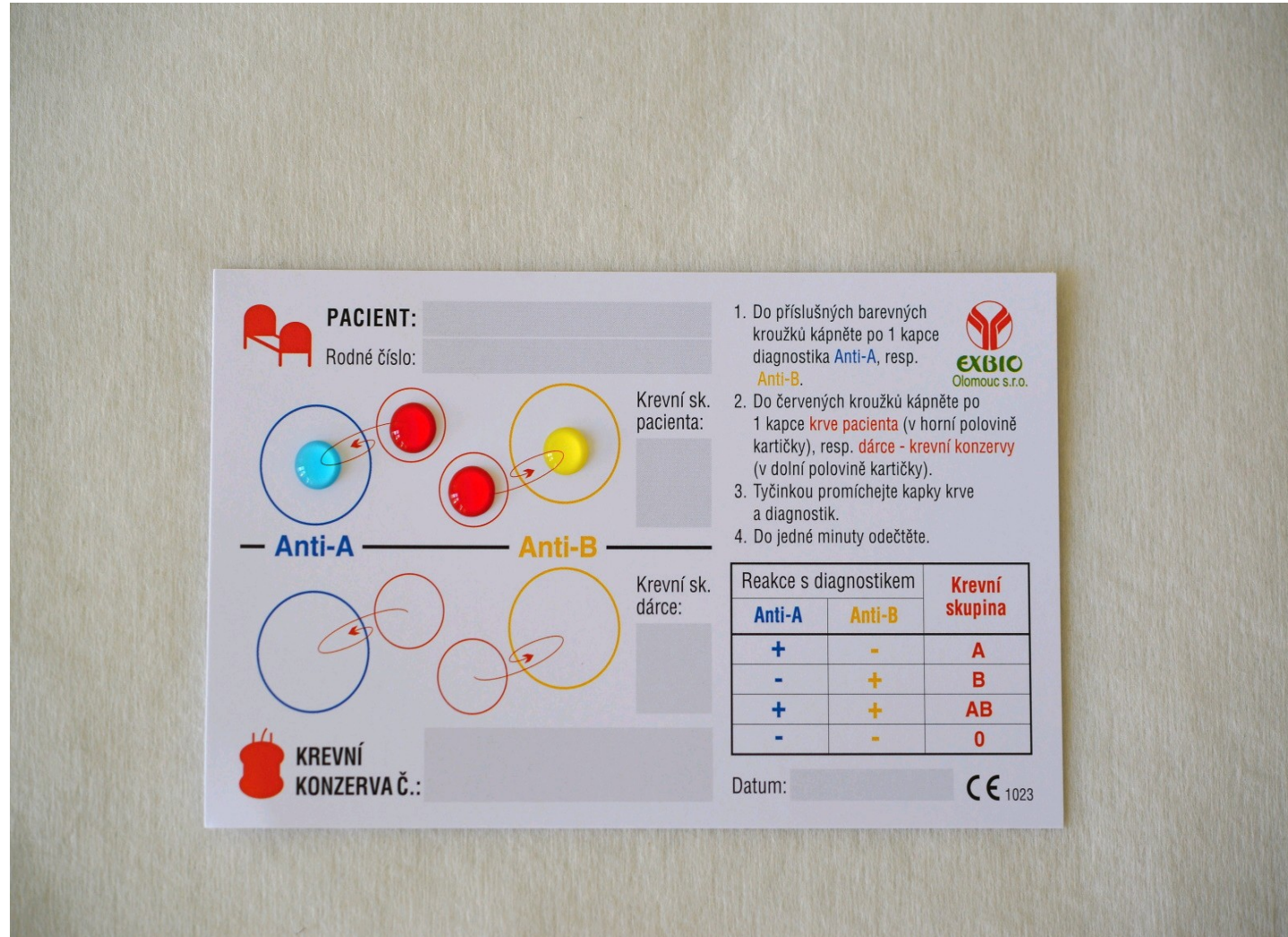
- ověření totožnosti
- měření: teplota, pulz, krevní tlak, dechová frekvence
- vyšetření moči
- kontrola dokumentace (pacient, krevní konzerva)
- sangvíttest

Lékař i sestra:

- biologický pokus

# Sangvitest

## Diagnostické soupravy s předtištěnými kartami



# 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 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 C

- intenzivní chemoterapie (úplné zničení krvetvorby)

- samotná transplantace formou transfúze do žíly (kmenové buňky se samy usazují v prostorech 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

# 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

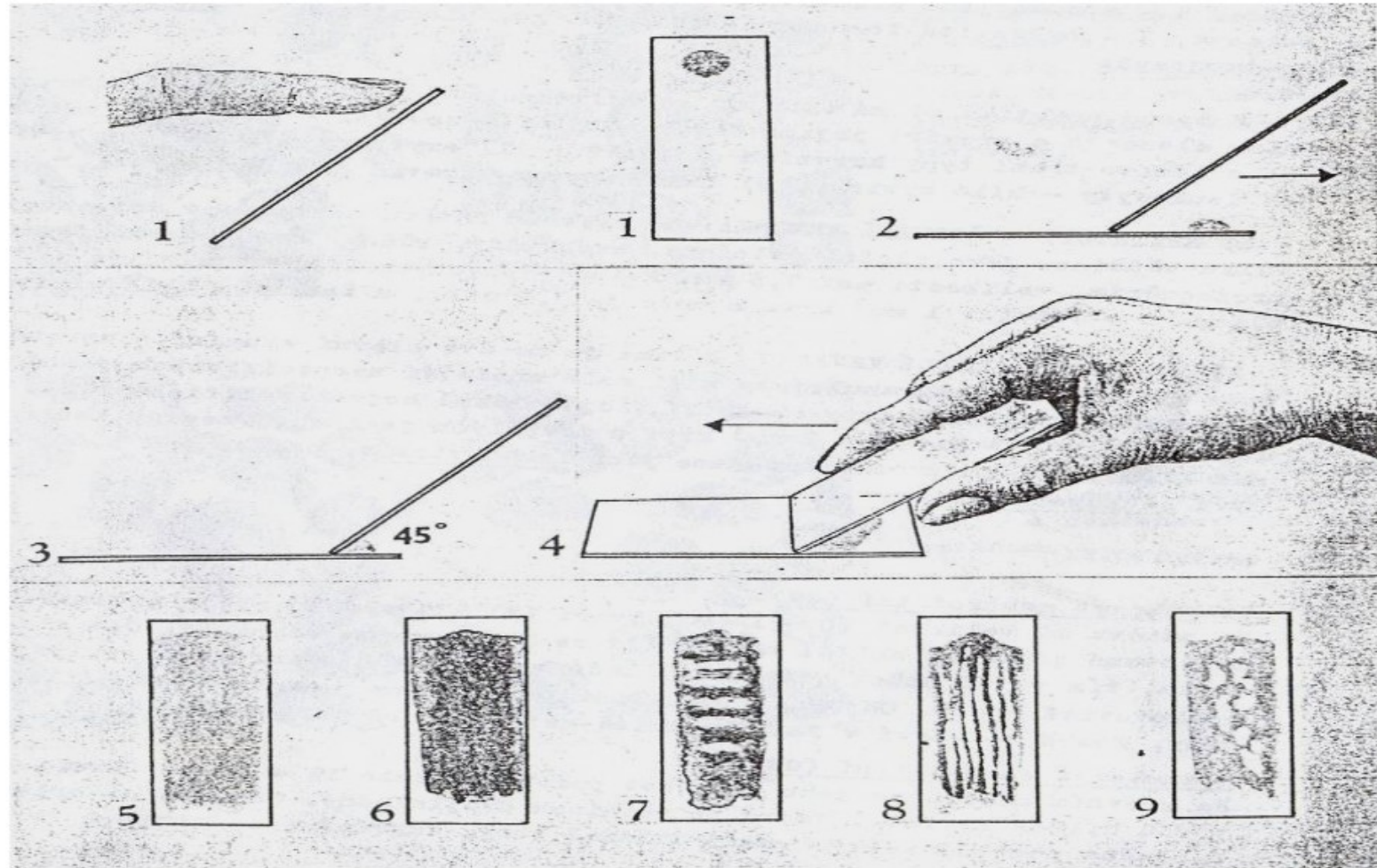
## Hemokoagulační parametry

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

TABULKA: SPRÁVNÉ POŘADÍ ODBĚRU KRVE

POŘADÍ ODBĚROVÝCH ZKUMAVEK	CO SE VYŠETŘUJE	ČINIDLO	BARVA ZKUMAVKY PODLE SARSTEDTU	POZNÁMKA
1. hemokultura	plná krev	speciální půda	speciální odběrové lahvičky na aerobní a anaerobní bakterie	bere se vždy jako první a odděleně, z jiného vpichu
2. biochemie, serologie	sérum	krasten (plastová zrníčka zabraňující hemolýze), na který je nabalen aktivátor srážení	bílá	
	sérum	krasten s aktivátorem srážení a separační gel	hnědá	
	plazma	protisrážlivé činidlo - heparinát litný	oranžová	biochemie statim
3. hemokoagulace	plná krev	protisrážlivé činidlo - citrát sodný	zelená	pokud je naordinován samostatně, je třeba odebrat 5 ml krve (tato zkumavka se nepoužije) a poté naplnit zkumavku na hemokoagulaci
4. krevní obraz	plná krev	protisrážlivé činidlo - K3EDTA	červená	
5. sedimentace	plná krev	protisrážlivý prostředek - citrát sodný	fialová	

# Příprava krevního roztěru



5 Správně









6 Příliš tlustý  
Moc krve

7 Nerovnoměrný  
tah  
Třásla se ruka

8 Krev se  
srážela















9 Mastné  
sklíčko

# 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



**Odběrový systém Vacuette® (Greiner Bio One)**

Typ odběrové zkumavky	Barva víčka	Biologický materiál	Použití
S aktivátorem hemokoagulace	Červené 	Srážlivá žilní krev	Klinická biochemie, serologie
Akcelérátor hemokoagulace nebo natrium heparin nebo bez aditiv	Modré 	Srážlivá žilní krev	Stanovení stopových prvků
Lithium heparin, Natrium heparin, Amonium heparin	Zelené 	Nesrážlivá žilní krev	Klinická biochemie, imunologie
K <sub>3</sub> EDTA K <sub>2</sub> EDTA	Fialové 	Nesrážlivá žilní krev	Klinická hematologie, imunochemie, imunologie
Natrium citrát 1:9	Tyrkysově modrá 	Nesrážlivá žilní krev	Klinická hematologie, koagulace, agregace
Natrium fluorid	Šedá 	Nesrážlivá žilní krev	Klinická biochemie
Natrium citrát 1:4	Černá 	Nesrážlivá žilní krev	Sedimentace erytrocytů
ACD-A, ACD-B, CPDA	Žlutá 	Nesrážlivá žilní krev	Stanovení krevní skupiny
Bez aditiv	Bílá 	Srážlivá žilní krev	Imunochemie, transfuzní služba
K <sub>3</sub> EDTA Gel	Fialová (žlutý terčík víčko) 	Nesrážlivá žilní krev	Molekulární biologie, genetika
K <sub>3</sub> EDTA + aprotinin	Růžová 	Nesrážlivá žilní krev	Vyšetření nestabilních polypeptidových hormonů a enzymů
Pufrovaný citrát sodný + kys. citrónová	Bílá (červený terčík víčko) 	Nesrážlivá žilní krev	Klinická biochemie
Bez aditiv	Žlutá 	Srážlivá žilní krev	Klinická biochemie, mikrobiologie
Kyselina boritá	Žlutá (černý terčík víčko) 	Srážlivá žilní krev	Klinická biochemie, mikrobiologie

**Odběrový systém SARSTEDT®**

Typ odběrové zkumavky	Barva víčka	Biologický materiál	Použití
S aktivátorem srážení vč. granulátu	Bílá 	Srážlivá žilní krev	Klinická biochemie, serologie
K <sub>3</sub> EDTA	Červená 	Nesrážlivá žilní krev	Klinická hematologie, imunochemie, imunologie
Natrium citrát (3,13%)	Zelená 	Nesrážlivá žilní krev	Koagulační vyšetření
Lithium heparin	Oranžová 	Nesrážlivá žilní krev	Klinická hematologie
Natrium citrát (3,8%) sedimentační kalibrovaná kapilára	Fialová 	Nesrážlivá žilní krev	Sedimentace erytrocytů

# BD Vacutainer® System










BD Diagnostics - Preanalytical Systems

## Tube Guide including Order of Draw

Please display this in your clinical areas beside your venepuncture equipment

St Vincents University Hospital - PRINTED 05/08

Blood samples should be taken in the following order:

Catalogue Number	Colour Code	Tube Type	Determinations	Special Instructions
		Blood Culture	Aerobic followed by anaerobic - if insufficient blood for both culture bottles, use aerobic bottle only	
Draw Volume	 Light Blue	Sodium Citrate	Coagulation Testing, PT, INR, APTT, D-Dimer, etc	
Draw Volume	 Red	Serum	LDH, Ionised Ca, Drugs (Phenytoin, Theophylline, Methotrexate, Lithium), Vitamin D, Parathyroid Hormone, Osmolality, Bone Markers, Endocrine Testing (excluding Thyroid)	
Draw Volume	 Gold	SST™ II	TSH, FT4, T3, Cortisol, Digoxin, GH, ADNA, Gastrin, B12 Folate, Ferritin, PSA, CEA, AFP, HCG, CA125, CA19.9, CA15.3, Immunoglobulins (IgG, IgA, IgM, IgE), Electrophoresis, B2 Microglobulin, Caeruloplasmin, Infectious Mono, CRP, Thyroid Ab, Liver Ab, Rheumatology, Coeliac Ab	
Draw Volume	 Light Green	PST™ II	UE, LFT, Cardiac Enzymes, Ca, Mg, Phosphate, Uric Acid, Total Protein, Amylase, Lipids, Bone Profile, Troponin, Iron Status, ACE	Please fill tubes to capacity, otherwise samples may not be accepted by the laboratory
Draw Volume	 Lavender	EDTA	Full Blood Count (FBC) and ESR C3 / C4, Haemoglobin A1c, Homocysteine, ACTH	1 tube for FBC & ESR. Separate tubes for each of the other tests. Homocysteine (sent on ice & state time taken)
Draw Volume	 Pink	Cross Match	Blood Transfusion Samples	
Draw Volume	 Grey	Fluoride Oxalate	Glucose	Please mix 8-10 times
Draw Volume	 Royal Blue	Trace Element	Trace Elements	

\*RECOMMENDED ORDER OF DRAW:

1. Blood culture bottles
2. COAGULATION Tubes
3. Tubes with NO ADDITIVES
4. OTHER Tubes with ADDITIVES

For further copies of this guide and questions regarding specific tests, please contact main Pathology Laboratory.

BD, BD Logo, Vacutainer and Hemogard are all trademarks of Becton, Dickinson & Company.  
\*Clinical and Laboratory Standards Institute (Formerly NCCLS) Guidelines H3-A5 Vol 23 No. 32, 5th Edition  
BD Diagnostics - Preanalytical Systems, Tel: 01865 781603

# Odkazy:

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

Kontakt:

barsta@atlas.cz