

# 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:

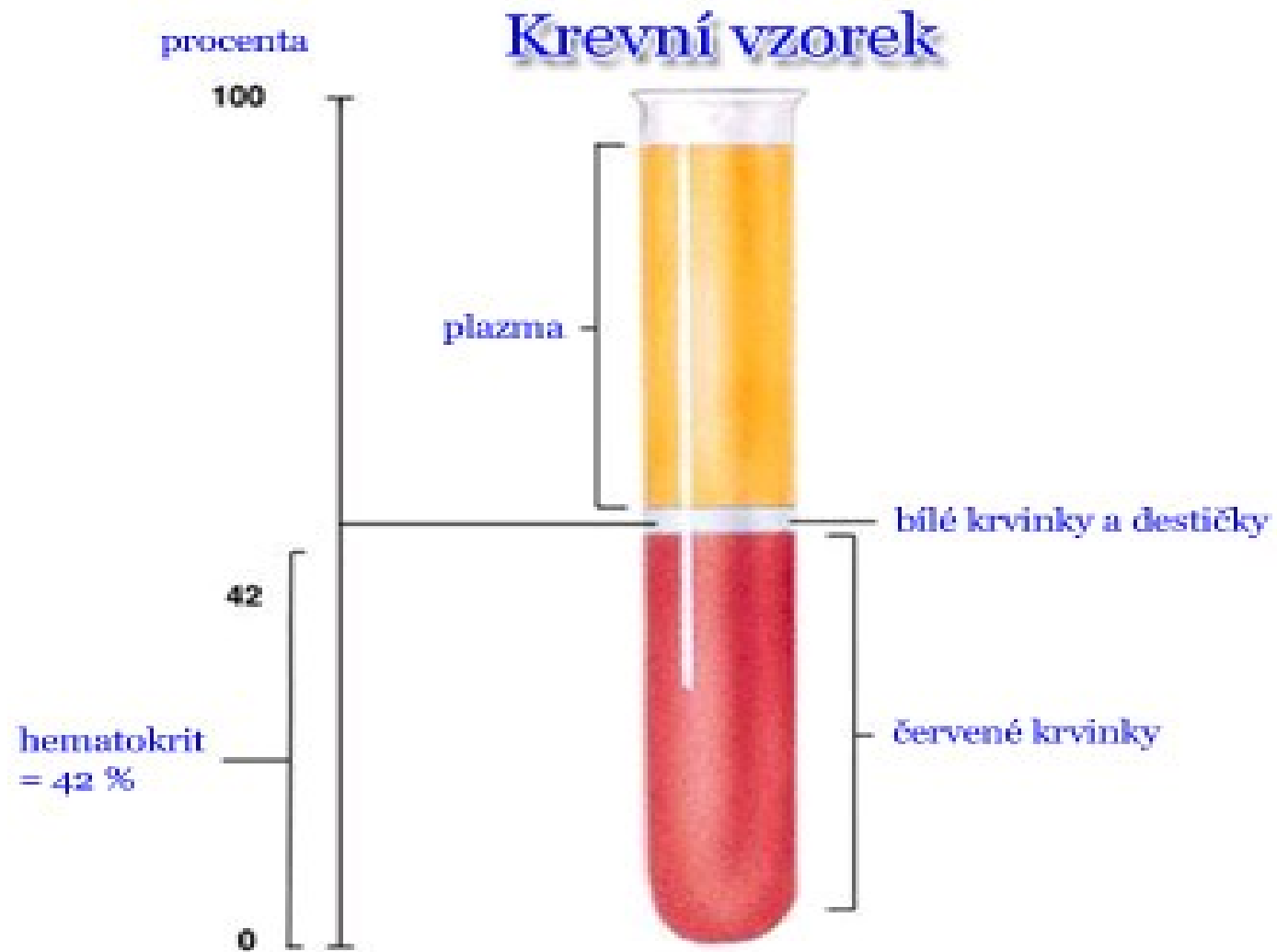
- výběr - podle typu hematologického vyšetření
  - hematologické, hemokoagulační, imunohematologické + transfúzní přípravky
- řádně vyplněná
  - jméno, příjmení, rodné číslo, diagnóza, léky, datum odběru, podpis lékaře a setry
- označení požadovaných vyšetření
- označení odebraného materiálu

# 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

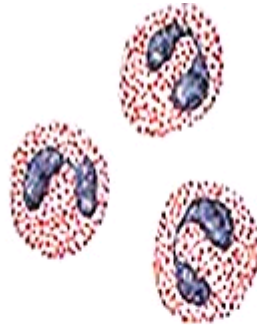
- KO + stanovení počtu jednotlivých druhů bílých krvinek
  - Neutrofily
  - Eozinofily
  - Bazofily
  - Monofily
  - Lymfocyty
  - Monocyty
- Odběr:
  - venózní nesrážlivá krev
- Stanovení:
  - automatický analyzátor krvinek
  - manuálně pod mikroskopem



# 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 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 sepse z konzervy)

# Předtransfuzní vyšetření - pacient

Sestra:

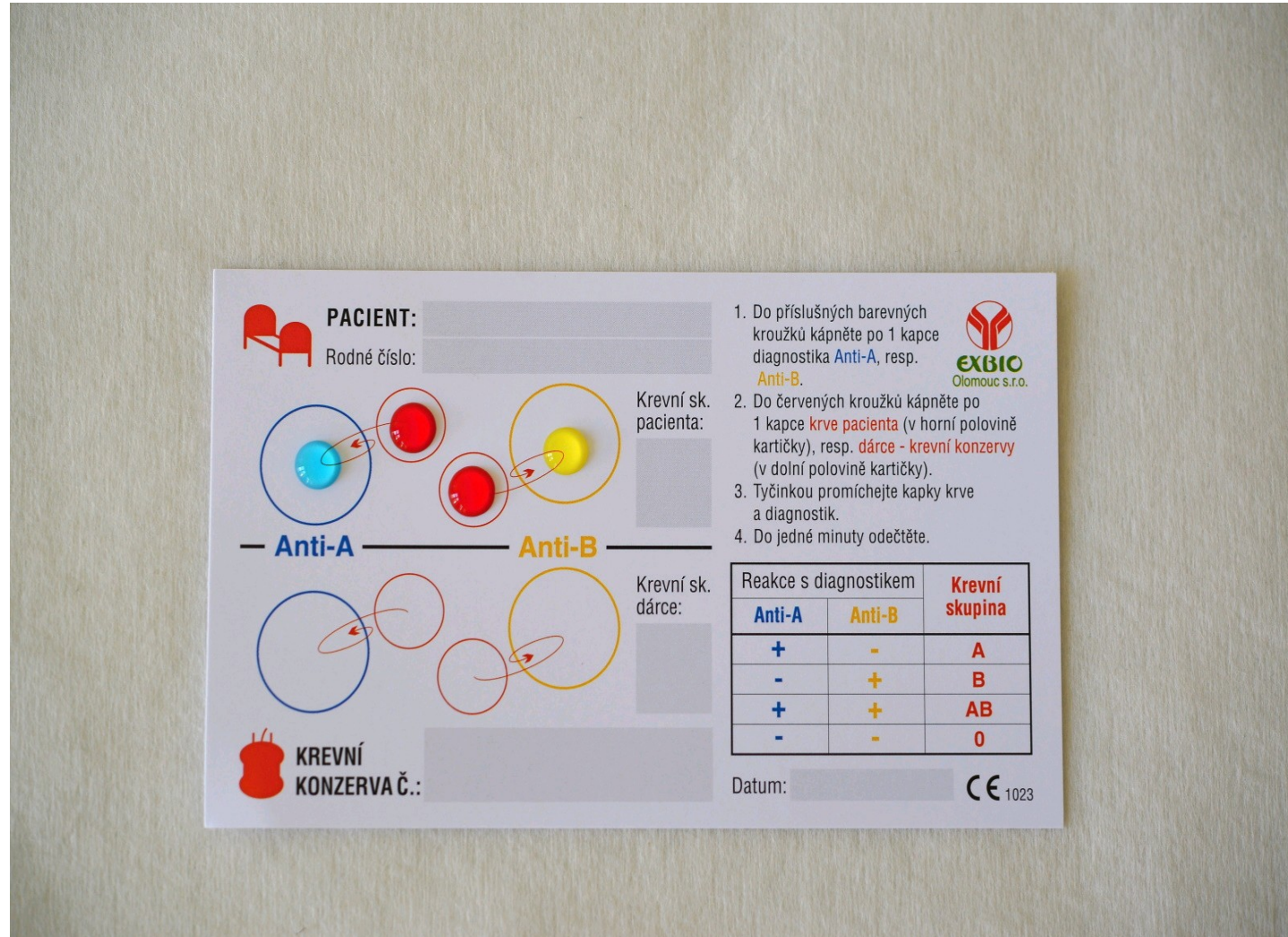
- ověření totožnosti
- měření: teplota, pulz, krevní tlak, dechová frekvence
- vyšetření moči
- kontrola dokumentace (pacient, krevní konzerva)
- sangvíttest

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  $-196\text{ C}$

- 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