

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Zdravotně sociální fakulta

**Ovlivnění jednotlivých parametrů krevního obrazu
v závislosti na množství krve odebrané do zkumavky**

bakalářská práce

Autor práce: Pavla Předotová
Studijní program: Specializace ve zdravotnictví
Studijní obor: Zdravotní laborant
Vedoucí práce: MUDr. Karel Blažek, Ph.D.

Datum odevzdání práce: 3. 5. 2013

Abstrakt

Hematologie je vědní obor zabývající se studiem krve a jejích složek – zejména krevních elementů – červených krvinek, bílých krvinek a krevních destiček. V stěžejním vyšetření hematologie – krevním obraze – je hodnoceno nejen jejich množství, ale i morfologie. Vyšetření je prováděno z malého vzorku nesrážlivé žilní krve, kterou je pro toto vyšetření nutno odebírat do zkumavek s vhodným antikoagulantem, nejčastěji je to K_2EDTA nebo K_3EDTA . Jejich nevýhodou je však možnost ovlivnění krevních destiček, což může vést k jejich falešně nižším počtům, tzv. trombocytopenii.

Při odběru musí být dodržen poměr odebírané krve a antikoagulantu, jinak může dojít ke změnám v hodnotách krevního obrazu. Při odebírání tzv. uzavřeným odběrovým systémem je ve zkumavce vakuum, díky němuž se do zkumavky nasaje pouze přesně potřebné množství krve. Nicméně i při tomto typu odběru může dojít k chybám, jejichž následkem je poměr krev – antikoagulant porušen. Při odběru tzv. otevřeným odběrovým systémem je prostor pro chybu danou lidským činitelem ještě větší. Laboratorní personál je povinen chybně odebrané vzorky odmítnout vyšetřit. Jelikož některým skupinám pacientů (malé děti, senioři, obézní pacienti, atd.) bývá obtížné odebrat krev, dochází pak často k nátlaku na laboratoř ze strany odebírajícího personálu, aby i chybně odebrané vzorky zpracovala.

Cílem této práce bylo ověřit, nakolik má chybný odběr ve smyslu poměr krev – antikoagulant vliv na jednotlivé parametry krevního obrazu. Výběrový soubor tvořilo sto pacientů, kteří byli odesláni svým ošetřujícím lékařem na odběr krve do odběrové místnosti společnosti Synlab Czech, s.r.o., U Tří lvů 4, České Budějovice v období od prosince roku 2011 do června roku 2012. V souboru byli zdraví i nemocní pacienti ve věku od 10 do 77 let.

Všem sto pacientům byly při stejném odběru odebrány dvě zkumavky s antikoagulantem K_2EDTA od výrobce Becton Dickinson – BD Vacutainer. Do první zkumavky byly dle pokynů výrobce odebrány 2 ml krve, do druhé zkumavky bylo u padesáti pacientů odebráno pouze 0,5 ml krve, u druhých padesáti pacientů 3,5 ml

krve. Veškeré odběry byly provedeny lege artis, podle pokynů standardního operačního postupu firmy Synlab Czech, s.r.o. .

Po odběru byly tyto vzorky změřeny v laboratoři Synlab Czech, s.r.o., U Tří lvů 10, České Budějovice na analyzátoru Advia 120, výrobce Bayern HealthCare LLC, výrobní číslo IR28850224, rok uvedení do provozu 2011. Analyzátor je denně kontrolován systémem interního hodnocení kvality a je i v systému externího hodnocení kvality. Vzorky byly zpracovány do dvou hodin po odběru, což odpovídá příručce Preanalytická fáze 2005.

Sledováno bylo všech 13 hodnot, které firma Synlab Czech, s.r.o. vydává na výsledkových listech jako krevní obraz.

Výsledky správně a chybně odebrané zkumavky byly mezi sebou porovnávány pomocí párového t-testu. Hypotéza předpokládala, že odchylky nastanou u obou chyb odběrů u všech třinácti parametrů krevního obrazu na hladině významnosti 95%.

Tato hypotéza se nepotvrdila, ani v jednom z chybných odběrů nebyly ze statistického hlediska odchylky ve všech třinácti parametrech.

V případě zkumavky, do které bylo krve odebráno více, než požaduje výrobce zkumavek, ze statistického hlediska nedošlo k odchylkám v žádném z měřených parametrů. U zkumavky, kde bylo nabráno méně krve, než určil výrobce zkumavek, došlo v krevním obrazu ke statistickým odchylkám u šesti z osmi měřených parametrů. Ke statisticky významnému zvýšení došlo u počtu červených krvinek (o 0,85%), množství hemoglobinu (o 0,97%), hodnoty hematokritu (o 2,19%) a MCV (o 1,41%). Ke snížení došlo u hodnoty MCHC (o 1,23%) a krevních destiček (o 4,96%). Odchylka u krevních destiček je významná a mohla by pravděpodobně být způsobena působením vyšší koncentrace antikoagulantu EDTA. U diferenciálu bílých krvinek došlo ke statisticky významné odchylce jen u hodnoty monocytů (snížení o 6,35%). Při vyšetření krevního obrazu ze zkumavky, do níž bylo odebráno více krve, než udává výrobce zkumavek, nedošlo k žádným statisticky významným odchylkám. Dalo by se tedy uvažovat o tom, že takto chybně provedené odběry by mohly být používány k vyšetření krevního obrazu. Pokud bylo krve nabráno méně, ke statisticky významným odchylkám

dochází téměř u poloviny parametrů krevního obrazu. Klinicky nejdůležitější je z nich snížení počtu krevních destiček o 4,96%. Přesto lze říci, že ani tato hodnota pravděpodobně není natolik významná, aby chybně odebraný vzorek nemohl být v akutních případech vyšetřen.

Pokud by závěry této práce byly potvrzeny i dalšími výzkumy, bylo by možno v těch případech, kdy odchylka nebude považována za statisticky ani klinicky významnou, zefektivnit zdravotnickou péči. Vedle úspory peněz z veřejného zdravotního pojištění za opakovaně prováděné odběry krve, by mohlo být dosaženo úspory času a práce jak personálu odebírajícího krev, tak personálu v laboratoři a v neposlední řadě k šetření pacientů, kteří by nemuseli v případě chybně provedeného odběru (ve smyslu chybný poměr antikoagulantu a odebrané krve) být odebíráni znovu.

Klíčová slova: krevní obraz, EDTA, preanalytika, odběr krve

Abstract

Haematology is the branch of science engaged in the study of blood and its components – especially blood cells – red blood cells, white blood cells and blood platelets. In the core haematology examination – the blood count – not only their amount is evaluated but also the morphology. The examination is made on small samples of incoagulable venous blood which must be taken into test tubes with suitable anticoagulant, most commonly K_2EDTA or K_3EDTA . Their disadvantages are that they can influence the blood platelets which can lead to falsely smaller amount, so-called thrombocytopenia.

When blood taking, the right ratio of blood and anticoagulant must be kept, otherwise changes in blood count may occur. When taking blood using so-called enclosed taking system, there is a vacuum in the tube, therefore only exactly required amount of blood is sucked into the tube. However, even with this type of blood taking, errors may occur which result into the unbalance of blood and anticoagulant. When taking blood using so-called opened taking system, the human error probability is even higher. Laboratorians are bound to reject examination of incorrectly taken samples. Since it is difficult to take blood from some patient groups (children, elderly, obese patients, etc.), there is often put a pressure on laboratories from the staff to process also the incorrectly taken samples.

The aim of this study is to state the level of impact of the incorrect blood taking, within the meaning of the blood – anticoagulant ratio, on the particular parameters of the blood count. The sample consisted of one hundred patients who were invited by their physician for blood tests to the Synlab Czech., s.r.o. company, U Tří lvů 4, České Budějovice in the period from December 2011 to June 2012. There were healthy and sick patients aged 10-77 years in the sample.

All one hundred patients were taken within the same examination two test tubes with anticoagulant K_2EDTA made by Becton Dickinson – BD Vacutainer. According to instructions, 2 ml of blood were taken into the first tube. Into the second tube, from the

fifty patients only 0.5 ml of blood were taken, from the another fifty patients 3.5 ml. All samples were taken lege artis referring to the operating standards of Synlab Czech, s.r.o. company.

These samples were measured in the laboratory of Synlab Czech, s.r.o. company, U Tří lvů 10, České Budějovice using the Advia 120 analyzer made by Bayern HealthCare LLC, serial number IR28850224, installed in 2011. The analyzer is checked daily within the system of internal quality assessment and it is also in the system of external quality assessment. Samples were processed within two hours after taking, corresponding the manual Preanalytical phase 2005.

All 13 parameters issued by Synlab Czech, s.r.o. company on the result sheet as a blood count were analysed. The results from correctly and incorrectly taken samples were compared using a paired t-test. Hypothesis assumed that deviations will occur at both sampling errors for all thirteen blood count parameters at the significance level of 95%.

This hypothesis was not confirmed, there were no deviations of statistical significance in all of thirteen parameters in any incorrectly taken samples.

In the case of test tube where more blood than required was taken, there were no deviations of statistical significance in any of thirteen parameters.

In the case of test tube where less blood than required was taken, there were deviations of statistical significance in six of eight measured parameters. A statistically significant increase occurred in the number of red blood cells (by 0.85%), haemoglobin amount (by 0.97%), haematocrit values (by 2.19%) and MCV (by 1.41%). The decrease occurred in MCHC values (by 1.23%) and platelet count (4.96%). The deviation of platelet count is significant and could probably be caused by influence of a higher concentration of EDTA anticoagulant.

The differential white blood cell count was statistically significantly different only in the monocyte value (reduction of 6.35%).

Within examination of samples from tube where more blood than required was taken, there were no statistically significant deviations. Therefore, we may assume that such incorrectly taken samples could be used for blood count examination. When taking less blood than required, statistically significant deviations occur in almost half of the blood count parameters. The platelet reduction of 4.96% is clinically the most important. Nevertheless, we can say that even this value is probably not significant enough to not use the incorrectly taken sample in acute cases.

If the conclusions of this study are confirmed by other studies, it could be possible to make health care more effective in cases where deviation is considered to be neither statistically nor clinically significant. In addition to saving money on health insurance because of repeated blood taking, there could be achieved savings of time and labour of staff and laboratory personnel and, finally, it would be more considerate to patients who would not have to be examined again in case of incorrectly taken sample (within the meaning of incorrect anticoagulant and blood ratio).

Keywords: blood count, EDTA, preanalytics, blood taking

Prohlášení

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to – v nezkrácené podobě – v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných fakultou – elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 3. 5. 2013

.....

Pavla Předotová

Poděkování

Velké poděkování patří MUDr. Karlu Blažkovi, Ph.D., za jeho trpělivou pomoc a rady při vedení mé práce. Dále velmi děkuji Ing. Janu Moudrému, Ph.D., za cenné připomínky při zpracování mé práce. Děkuji i firmě Synlab Czech, s.r.o. za umožnění realizace mých pokusů.

Obsah

ABSTRAKT	2
ABSTRACT.....	5
OBSAH	10
SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	11
ÚVOD.....	12
1 TEORETICKÁ ČÁST	15
1.1 HEMATOLOGIE, KREVŇNÍ OBRAZ.....	15
1.1.1 Parametry krevního obrazu.....	19
1.2 FÁZE ZPRACOVÁNÍ	25
1.2.1 Preanalytická fáze	26
1.2.2 Analytická fáze.....	27
1.2.3 Postanalytická fáze.....	28
1.3 MOŽNÉ CHYBY V PREANALYTICKÉ FÁZI.....	28
1.3.1 Odběr krve a chyby při něm	31
1.4 ANALYZÁTORY MĚŘÍCÍ KREVŇNÍ OBRAZY	37
2 HYPOTÉZY A METODIKA VÝZKUMU	44
2.1 METODIKA VÝZKUMU	44
2.2 HYPOTÉZY	46
3 VÝSLEDKY	47
4 DISKUZE	56
5 ZÁVĚR	62
SEZNAM INFORMAČNÍCH ZDROJŮ	65
SEZNAM PŘÍLOH.....	76
PŘÍLOHA A – MATERIÁL PRO ODBĚR MENŠÍHO MNOŽSTVÍ KRVE, NEŽ JE POŽADOVÁNO VÝROBCEM ZKUMAVEK.....	77
PŘÍLOHA B – MATERIÁL PRO ODBĚR VĚTŠÍHO MNOŽSTVÍ KRVE, NEŽ JE POŽADOVÁNO VÝROBCEM ZKUMAVEK.....	78
PŘÍLOHA C – ANALYZÁTOR ADVIA 120.....	79
PŘÍLOHA D – PARAMETRY ČERVENÉHO KREVŇNÍHO OBRAZU MĚŘENÉ NA ANALYZÁTORU ADVIA 120.....	80
PŘÍLOHA E - SOUHRNNÉ VÝSLEDKY	81

Seznam použitých zkratek

aPTT – aktivovaný parciální tromboplastinový čas

baso - bazofil

BOZP – bezpečnost a ochrana zdraví při práci

EDTA, Na₂EDTA, K₂EDTA, K₃EDTA – ethylendiamintetraoctová kyselina a její disodná, didraselná, tridraselná sůl

eo – eozinofil

hct – hematokrit

hgb, hb – hemoglobin

lym - lymfocyt

MCH – mean cell/corpuscular hemoglobin

MCHC - mean cell/corpuscular hemoglobin concentration

MCT – mean cell/corpuscular thickness

MCV - mean cell/corpuscular volume

mono - monocyty

MPV – mean platelet volume

neu - neutrofil

Pct - plateletcrit

PDW – platelet distribution width

Plt - platelet

RBC – red blood cell

RDW, RDW-SD – red cell distribution width, red cell distribution width – standard deviation

WBC – white blood cell

Úvod

Hematologie je vědní obor, který se zabývá studiem krve a všemi jejími složkami. Stěžejním vyšetřením je v hematologii vyšetření krevního obrazu, tedy vyšetření krevních elementů, především jejich počtu a morfologie. Z krevních elementů se vyšetřují tři základní – červené krvinky, bílé krvinky a krevní destičky.

Červené krvinky (erytrocyty) jsou nejběžnějšími krvinkami, jejich množství se udává v milionech na mikrolitr krve ($10^{12}/l$). Jsou to bezjaderné buňky bikonkávního tvaru, které obsahují krevní barvivo hemoglobin. Hemoglobin váže v plicích kyslík, přenáší ho do tkání a z tkání přináší zpět do plic oxid uhličitý. Snížení hemoglobinu pod určitou mez se nazývá anémie neboli chudokrevnost, která je často spojena se snížením hematokritu a množstvím červených krvinek. Jde o jednu z nejčastějších hematologických chorob.

Dalším vyšetřovaným krevním elementem jsou bílé krvinky neboli leukocyty. Jejich počet se udává v $10^9/l$. Podle tvaru jádra je dělíme na mononukleáry, které obsahují jedno nečleněné jádro. Mezi mononukleáry řadíme lymfocyty, monocyty, plazmocyty. Polymorfonukleáry mají členité jádro a podle barvitelnosti zrnek v cytoplazmě se dělí na neutrofilní (neutrální zbarvení), eozinofilní (hnědočervená eozinofilní barva) a (fialovočerná barva, jakou mají barviva bazické povahy). Základní funkcí bílých krvinek je podíl na imunitě organismu. Častou hematologickou chorobou je nádorová porucha krvetvorby leukemie, při níž bývá obvykle zvýšený počet bílých krvinek, snížený počet červených krvinek a krevních destiček.

Krevní destičky jsou bezjaderné krevní elementy. V podstatě nejde o buňky jako takové, ale o útržky buněk obsažených v kostní dřeni – megakaryocytů. Mají velmi důležitou úlohu při zástavě krvácení neboli hemostáze. Počet krevních destiček se stejně jako počet bílých krvinek udává v $10^9/l$.

Tyto krevní elementy jsou volně rozptýleny v krvi, z které zabírají 45 %. Zbylých 55 % je tekutá část krve – plazma. Plazma je roztok bílkovin, malých organických molekul a elektrolytů, v němž voda tvoří přibližně 90 %.

Celkový objem krve je asi 7 % hmotnosti těla. Její funkcí je mimo již zmíněného přenosu kyslíku a oxidu uhličitého i roznášení živin a hormonů po těle, odnášení metabolitů buněk z tkání, termoregulace, udržování homeostázy, atd.

Vyšetření krevního obrazu je běžným screeningovým vyšetřením, používá se k němu žilní krev odebraná do zkumavky s vhodným antikoagulantem, aby se zabránilo srážení krve. Jako antikoagulant se užívá EDTA – ethylendiaminotetraoctová kyselina, nejčastěji K_2EDTA , K_3EDTA nebo Na_2EDTA . Při odběru musí být dodržen poměr antikoagulantu a krve, který určuje výrobce odběrových zkumavek. Není-li tento poměr dodržen, je laboratoř povinna odmítnout vzorek vyšetřit. Chyba v poměru krve a antikoagulantu může vzniknout z mnoha různých důvodů. Při tzv. uzavřeném způsobu odběru může vzniknout jen chyba, kdy krve je odebráno méně, než požaduje výrobce odběrových zkumavek. Ta vznikne např. použitím proexpirovaných zkumavek, kdy vakuum může být narušené, nebo i předčasným vytažením jehly ze žíly. Při tzv. otevřeném způsobu odběru můžou nastat obě chyby v poměru odebrané krve a antikoagulantu – může být odebráno větší množství krve, ale i menší množství krve, než je požadováno. To je umožněno tím, že odběrový personál nejprve odebere krev do stříkačky a z ní teprve přenáší krev do zkumavky s antikoagulantem, při čemž může snadno nastat chyba.

Často je velmi těžké odebrat krev malým dětem, obézním pacientům, seniorům nebo i nemocným po chemoterapiích. Proto bývá ze strany odběrového personálu častý nátlak na laboratoř, aby krev byla vyšetřena i přesto, že v preanalytické fázi nastaly chyby, např. zmíněný nesprávný poměr antikoagulant – krev.

Cílem této studie bylo vyčíslit rozdíly v krevním obrazu mezi chybně a správně provedeným odběrem krve (ve smyslu poměru antikoagulant – krev) a zhodnotit jejich významnost. Možnost využívat k rozborům i alespoň některé chybně odebrané vzorky, by měla pozitivní dopad v několika rovinách a přinesla by např. finanční a časové

úspory a v neposlední řadě i šetření pacientů a možnost u akutních případů jednat rychleji i v případě chybných odběrů.

1 Teoretická část

1.1 Hematologie, krevní obraz

Ke stanovení diagnózy a k včasnému a úspěšnému léčení významně přispívá mimo jiné laboratorní vyšetření biologického materiálu. Za biologický materiál jsou považovány různé tělesné tekutiny, výměšky a tkáně, které lze od pacientů získat (Rozsypalová et al. 2002). Vyšetřování tkání a tělesných tekutin dělíme např. na hematologická vyšetření, biochemická vyšetření, histologická a cytologická vyšetření, mikrobiologická, mykologická a parazitologická vyšetření, cytogenetická vyšetření (Pacovský and Sucharda 2002, Rozsypalová et al. 2002).

Hematologie, původně malý podobor vnitřního lékařství, opírající se o pozorování klinická a patologicko-anatomická, doplněná velmi skromnými možnostmi morfológico-laboratorními, výrazně rozšířila v posledních letech svou náplň. Obor, dříve převážně omezený na vnitřní lékařství, pediatrii a patologickou anatomii, se stal jednoznačně oborem interdisciplinárním, který nejen využívá, ale i pomáhá oborům od hematologie značně vzdáleným a celospolečensky neobyčejně důležitým (Donner 1985). Hematologicky jsou vyšetřovány vlastnosti krve a její složení (počet a tvar červených krvinek, množství krevního barviva hemoglobinu, srážlivost krve, atd.) (Rozsypalová et al. 2002).

Krev se se zřetelem na své fyziologické funkce někdy považuje za složku pojiva, jindy za samostatný orgán (Navrátil et al. 2008). Je to vysoce specializovaná tekutina, která zabezpečuje v těle životní funkce. Skládá se z buněk – krvinek – a tekuté části – plazmy, obsahující bílkovinné, tukové a sacharidové látky, jako i množství organických i anorganických solí a plynů, kterými společně zabezpečuje život člověka (Sakalová et al. 1995). Navrátil et al. (2008) dodává, že krev proudí uzavřeným cévním systémem; je důležitým spojovacím a transportním systémem; zajišťuje nepřetržitou výměnu látek mezi buňkami a napomáhá udržovat stálost vnitřního prostředí, jak tkáňových, tak krevních buněk.

Ačkoli některé klinicky důležité vlastnosti krve mohou být popsány pomocí chemických nebo fyzikálních veličin, hematologická hodnocení skoro vždy vyžadují, aby byly vyčísleny krevní elementy a rozlišena morfologie každého typu. Tyto studie mohou být zpracovány manuálními metodami, ale takový postup je časově náročný a zdlouhavý. Elektronické metody byly rozvinuty, aby zajistily analýzu krve s co nejméně chybami (Beutler et al. 1995). Také Howard and Hamilton (1997) uvádí, že diagnostika většiny krevních poruch je možná z kombinace klinické historie, klinického vyšetření a relativně rutinních laboratorních testů. Hematologické laboratoře jsou nyní vysoce závislé na komplexním elektronickém přístrojovém vybavení. Toto stále se zdokonalující laboratorní vybavení (až na úroveň mikromolekulární hematologie) umožňuje vedle praktické diagnostiky i výzkum některých teoretických otázek (Donner 1985).

Laboratorní vyšetření jsou v rámci problematiky krevních onemocnění nepostradatelnou metodou. To se slučuje i s názorem Anděla et al. (2001), který uvádí, že anamnézou a fyzikálním vyšetřením vzniklé podezření na onemocnění krvetvorby je nutné podepřít adekvátním laboratorním vyšetřením.

Základní vyšetřovací metodou je téměř ve všech lékařských praxích rozbor krve. Odebírá se srážlivá krev nebo krev s protisrážlivým roztokem (např. pro vyšetření krevního obrazu, sedimentace, Quickův test, aPTT). Z protisrážlivých roztoků se užívá nejčastěji 3,8% citrónan sodný, heparin, K₃EDTA (Rozsypalová et al. 2002). Do hematologické diagnostiky patří i imuno hematologie, kde se stanovuje nejčastěji krevní skupina a screening protilátek, dále pak řada biochemických a zobrazovacích metod, typické je však vyšetření krevních elementů a posuzování schopnosti krve koagulovat (srážet se) (Pacovský and Sucharda 2002).

Krevními elementy jsou míněny buněčné součásti (asi 45 % z celkového objemu krve), mimo ně krev obsahuje plazmu (asi 55 % z celkového objemu) (Navrátil et al. 2008).

Jako krevní elementy označujeme tyto tři typy buněk:

- 1) Erythrocyty – červené krvinky (z řeckého erythro = červený, cytos = buňka)

2) Leukocyty – bílé krvinky, které se dělí na:

- a) Polymorfonukleáry (pro různý tvar jádra se zjednodušeně nazývají polynukleáry). Podle barvitelnosti zrněk v cytoplazmě dostaly názvy neutrofilní (neutrální zbarvení), eozinofilní (hnědočervená eozinofilní barva) a bazofilní (fialovočerná barva, jakou mají barviva zásadité povahy).
- b) Mononukleáry (s jedním nečleněným jádrem) – mezi ně řadíme lymfocyty, monocyty, plazmocyty.

3) Trombocyty – krevní destičky (Sakalová et al. 1995).

Určení počtu bílých krvinek, červených krvinek a krevních destiček v krvi bylo dlouho základní procedurou hematologie (Beutler et al. 1995).

Vyšetření krevních elementů a jejich vlastností v hematologii se nazývá krevní obraz. Součástí krevního obrazu tedy, jak již bylo zmíněno, není jediný údaj. Skládá se z několika hodnot, z nichž některé se měří, další jsou z nich odvozené výpočtem (Anděl et al. 2001). Krevní obraz tak vyjadřuje jednak množství krevního barviva hemoglobinu, vyjádřeného jako koncentrace v celé krvi a množství a koncentrace v jedné červené krvince, jednak zastoupení krevních elementů (červené krvinky, krevní destičky, jednotlivé typů bílých krvinek). Součástí vyšetření je i stanovení velikosti červených krvinek (MCV – mean cellular volume), která je vodítkem především ke klasifikaci anémií (Pacovský and Sucharda 2002), (Adam et al. 2007).

Podrobnější informace o jednotlivých typech bílých krvinek lze získat z diferenciálního krevního obrazu. Termínem diferenciální krevní obraz neboli diferenciální rozpočet bílých krvinek označujeme vyhodnocení všech typů bílých krvinek ve vzorku periferní krve. Počty jednotlivých bílých krvinek vyjadřujeme jednak jejich procentuálním zastoupením z celkového počtu bílých krvinek a jednak jejich absolutní koncentrací. (Adam et al. 2007)

V současnosti již existuje v hematologii ale více než 400 vyšetřovacích metod (Navrátil et al. 2008), základem je přesto i nadále již zmiňované stanovení krevního obrazu (Anděl et al. 2001). Navrátil et al. (2008) dodává, že hodnocení základních měřených a vypočítaných parametrů usnadňuje diferenciální diagnostiku vnitřních

chorob (záněty, nádory), změny morfologie bílých krvinek napomáhají při diagnostice hematologických onemocnění, lymfomů a leukemií, morfologie červených krvinek vypovídá o původu anémie.

Krev téměř všech pacientů s hlavními krevními onemocněními je vyšetřována právě z důvodu určení přítomnosti anémie nebo leukocytárních změn. Další abnormality mohou být v krvi detekovány při kvantitativních nebo kvalitativních studiích koagulačních, morfologických či imunohematologických (Beutler et al. 1995).

Pro charakterizaci krve pacientů s anémií je tedy užitečné znát velikost červených krvinek, množství hemoglobinu v erytrocytu a množství hemoglobinu v erytrocytech (Wintrobe 1934, Dítě et al. 2007). Snížený počet červených krvinek a hemoglobinu pod fyziologickou normu se sníženým MCV a MCH je indikací k dalšímu vyšetření, které určí lékař (Adam et al. 2007).

Zmiňované hodnoty jsou v podstatě základem pro hodnocení anémií na morfologickém podkladu. (Wintrobe 1934). Anémie lze dělit na makrocytární, normocytární a mikrocytární. Toto velmi praktické dělení se v klinice stalo široce užívaným zvláště po zavedení hematologických analyzátorů krevních elementů, které umožňují přesné měření jednotlivých parametrů popisujících červenou složku periferní krve: nejen počet červených krvinek, koncentraci hemoglobinu, hematokrit, ale i střední objem erytrocytu (MCV), střední obsah hemoglobinu v červené krvince (MCH), střední koncentraci hemoglobinu v červených krvinkách (MCHC) a dále šíři distribuce červených krvinek (RDW), z níž lze usuzovat na anizocytózu, či naopak homogenní populaci červených krvinek co do velikosti (Dítě et al. 2007).

Krevní obraz se však neprovádí jen u krevních onemocnění, ale patří, obdobně jako biochemické metody, mezi obligátní vyšetření např. i u interních a chirurgických pacientů. Donedávna se krevní obraz vyšetřoval klasicky „ručně“ (Anděl et al. 2001). Dnes je kompletní krevní obraz typickým hematologickým vyšetřením a je realizován specializovanými automatickými počítači buněk. (Howard and Hamilton 1997, Pacovský and Sucharda 2002), které hodnotí krev jak kvantitativně, tak i kvalitativně (Williams et al. 2006). Nicméně i přes dostupnost moderních technologií, jednoduché

tradiční techniky, jako např. nátěr krve či kostní dřeně na sklíčko, barvení a světelná mikroskopie, zůstávají základními součástmi hematologického repertoáru (Howard and Hamilton 1997).

Posouzení nátěru z periferní krve umožňuje posouzení vzhledu všech krevních elementů, včetně krevních destiček a jejich shluků a přesnější diferenciální rozpočet bílých krvinek, než dokáží automaty (Pacovský and Sucharda 2002). Při podezření na krevní onemocnění by tedy lékař měl vyžádat nejen strojový (automatickým analyzátozem vyhodnocený), ale také mikroskopický diferenciální krevní obraz (diferenciální rozpočet bílých krvinek), neboť např. patologické bílé krvinky, jejichž detekce vede ke stanovení diagnózy, nemusí být zachyceny ve strojovém diferenciálním krevním obraze, ale pouze při hodnocení mikroskopickém (Adam et al. 2007).

Strojový krevní obraz je nutno interpretovat s citlivostí a počátečním zaměřením na koncentraci hemoglobinu, celkový počet bílých krvinek a počet krevních destiček. Většina krevních abnormalit klinického významu je totiž spojena s odchylkou minimálně jedné z uvedených hodnot (Howard and Hamilton 1997). Podle množství stanovených údajů se dříve rozlišoval „malý“ a „velký“ krevní obraz. Součástí velkého krevního obrazu je množství hemoglobinu, hematokritu, červených krvinek, MCH, MCHC, MCV, množství bílých krvinek, diferenciál bílých krvinek, množství retikulocytů, trombocytů (Anděl et al. 2001).

1.1.1 Parametry krevního obrazu

Z jiného hlediska krevní obraz dělíme na tzv. červený krevní obraz, bílý krevní obraz a krevní destičky. Do červeného krevního obrazu řadíme červené krvinky a jejich vypočítané či měřené hodnoty a vlastnosti. Červené krvinky jsou bezjaderné buněčné elementy bikonkávního tvaru, jejichž jedinou buněčnou strukturou je cytoplazmatická membrána a jejichž vnitřek je vyplněn krevním barvivem hemoglobinem (Navrátil et al. 2008, Pecka 2006). Koncentrace hemoglobinu je měřena fotometricky po konverzi na stabilní deriváty, nejčastěji na cyanmethemoglobin (Williams et al. 2006). Pro přesné

změření je nezbytné připravit stabilní derivát ze všech forem hemoglobinu v krvi. (Beutler et al. 1995).

Krevní obraz a tedy i hladina hemoglobinu se mění v souvislosti s věkem, pohlavím, kvalitou stravy, fyzickým zatížením (sportem), kouřením, kvalitou dýchaného vzduchu, životem ve vyšších nadmořských výškách, těhotenstvím a dalšími vlivy fyziologicky, takže je lépe stanovit krajní meze poněkud širěji. Jakákoli změna, zvláště rychle vzniklá, byť ještě v rozmezí referenčních hodnot, si ale přesto (nebo spíše právě proto) zaslouží pozornost (Anděl et al. 2001). Referenční hodnoty krevního obrazu si každá laboratoř tvoří sama (Pecka 2006), v České republice je to především na základě doporučení České hematologické společnosti.

Při posuzování výsledků krevního obrazu je pak tedy nutno řídit se referenčním rozmezím pro krevní obraz v dané laboratoři, které se může mírně lišit od hodnot uvedených v jiných zdrojích (Anděl et al. 2001). Hodnoty hemoglobinu v krvi se udávají v g/l, ale i v g/dl (Bain et al. 2012). Normy pro hemoglobin se mohou lišit zdroj od zdroje, např. Beutler et al. (1995) uvádí, že norma u mužů je 14,0-17,5 g/dl, zatímco u žen je to 12,3-15,3g/dl. To je dáno i tím, že muži v poměru ke své váze mají o 5 % červených krvinek více než ženy (Navrátil et al. 2008). Orkin et al. (2009) pak udává normu u mužů 13,0-16,0 g/dl, u žen 12,0-16,0 g/dl. Normy se významně liší i v různém věku.

Červené krvinky, tedy RBC (Red Blood Cells), se měří pomocí optické cytometrie (Anonym1 2005). Jejich počet se vyjadřuje množstvím v 1 l krve (Pecka 2006), v případě červených krvinek tedy v $10^{12}/l$ nebo $10^6/\mu l$. Podobně jako u hemoglobinu se liší i normy červených krvinek: Orkin et al. (2009) udává u mužů normu $4,5-5,3 * 10^{12}/l$, u žen $4,1-5,1 * 10^{12}/l$. S normou u žen souhlasí i Beutler et al. (1995), zatímco u mužů uvádí normu $4,52-5,90 * 10^{12}/l$. Oproti tomu Pecka (2006) stanovuje u mužů referenční meze $4,3-5,7 * 10^{12}/l$ a u žen $3,8-4,9 * 10^{12}/l$.

Základní funkcí červených krvinek je přenos O_2 z plic do tkání a CO_2 opačným směrem. (Pecka 2006). K tomu dochází právě prostřednictvím hemoglobinu, který má schopnost reverzibilně vázat a uvolňovat O_2 a CO_2 . (Trojan et al. 2003).

Další součástí krevního obrazu je hematokrit. Je to celkový buněčný objem červených krvinek (Wintrobe 1933), lze jej tedy vyjádřit jejich poměrem k plazmě (Navrátil et al. 2008). Udává se buď jako bezrozměrné číslo, kdy jednotkou je vlastně litr na litr (Beutler et al. 1995), nebo v procentech. Normu v absolutních hodnotách udává Beutler et al. (1995) u mužů 0,42 – 0,50, u žen 0,36 – 0,45, Pecka (2006) uvádí u mužů jako normu 0,42 – 0,52, zatímco u žen 0,37 – 0,47.

Hematokrit lze měřit po centrifugaci nesrážlivé krve jako vrstvu červených krvinek (Pecka 2006). V elektronických analyzátoch je vypočítáván ze změřeného počtu červených krvinek a MCV (Wintrobe 1933, Sacker 1975, Nelson and Morris 1991, Anděl et al. 2001, Pecka 2006). Správné určení hematokritu tedy vyžaduje antikoagulant, který nemění MCV, jako např. Na₂EDTA nebo K₃EDTA (kyselina ethylendiaminotetraoctová) nebo heparin (Wintrobe 1933, Sacker 1975, Nelson and Morris 1991).

Střední objem červených krvinek (MCV = mean cell/corpuscular volume) vyjadřuje průměrný objem buňky v hodnocených červených krvinkách (Pecka 2006). Průměrný objem červené krvinky může být vypočítáván z množství červených krvinek, které je měřeno jako počet buněk v mikrolitru krve, a celkového buněčného objemu, tedy hematokritu. Ten je, jak už bylo řečeno, určován podílem krve zabraným červenými krvinkami. (Wintrobe 1932), MCV je pak uváděno ve femtolitrech (Pecka 2006), kdy norma u dospělých je dle Beutlera et al. (1995) 80-96 fl, dle Pecky (2006) 84-98 fl. V porovnání s červenými krvinkami dospělých jsou červené krvinky novorozenců o něco větší a červené krvinky starších dětí o něco menší. (Pecka 2006)

MCV lze ale i měřit přímo na analyzátoch (Williams et al. 2006, Pecka 2006). K měření se využívá průtokové cytometrie (Kunicka et al. 2001).

Důležitou součástí červeného krevního obrazu je i hodnota MCH (mean cell/corpuscular hemoglobin), tedy množství hemoglobinu v červené krvince, které je vypočteno jako podíl obsahu hemoglobinu v litru krve a počtu červených krvinek v litru krve (Wintrobe 1932, Williams et al. 2006). MCH Je uváděno v pikogramech

hemoglobinu v červené krvince, normu u dospělých pak Beutler et al. (1995) uvádí 27,5 – 33,2 pg.

Poslední z často uváděných hodnot červeného krevního obrazu je střední koncentrace hemoglobinu v červených krvinkách, tedy MCHC (mean cell/corpuscular hemoglobin concentration). Koncentrace hemoglobinu v červených krvinkách je vypočtena jako podíl množství hemoglobinu v g/dl a celkového buněčného objemu v bezrozměrném čísle, respektive v l/l (Wintrobe 1932), (Williams et al. 2006). Norma dle Williamse et al. (2006) je u dospělých 33,4 – 35,5 g/l.

Do červeného krevního obrazu se však řadí i širší distribuce červených krvinek, RDW (Red cell Distribution Width). Jde o širší nejčtenějších populací červených krvinek v histogramu červených krvinek podle MCV, která informuje o anizocytoze, (Pecka 2006), protože reflektuje variabilitu velikosti červených krvinek. U některých analyzátorů je vypočítávána (Williams et al. 2006). Většina automatických analyzátorů kalkuluje RDW jako variační v %, ev. jako RDW-SD (směrodatnou odchylku) ve fl (Bessman et al. 1983).

K vyšetřením základních parametrů červeného krevního obrazu mohou být podle typu analyzátoru vyšetřovány také počty retikulocytů a normoblastů (Penka et al. 2001). Některé přístroje z řady pětipopulačních analyzátorů krevních buněk poskytují další parametry krevních buněk zejména z oblasti červené krevní řady, jde např. o střední tloušťku červené krvinky (MCT), povrch červené krvinky, atd. Jejich význam pro kliniku se v některých případech teprve zkoumá a zjišťuje (Pecka 2006).

Další součástí krevního obrazu je tzv. bílý krevní obraz. Jeho základní složkou je celkový počet bílých krvinek (WBC – White Blood Cells), který je zároveň nejvariabilnější složkou krevního obrazu, ostatní hodnoty jsou u zdravých jedinců poměrně stálé (Anděl et al. 2001, Dylevský 2009). Do bílého krevního obrazu dále patří i rozpočet bílých krvinek = diferenciální rozpočet leukocytů = „diferenciál“, který lze stanovit na analyzátorech krvinek a/nebo mikroskopicky v obarveném nátěru (Pecka 2006).

Počty bílých krvinek jsou měřeny v krevních vzorcích vhodně ředěných roztoky, které hemolyzují červené krvinky (Pinkerton et al. 1970, Lewis and Bentley 1977). Poté jsou podle typu přístroje měřeny impedančně nebo opticky (Penka et al. 2001). Stejně jako u červených krvinek i zde platí, že výsledek je udáván v počtu buněk v litru krve (Pecka 2006), v případě bílých krvinek pak v $10^9/l$. Beutler et al. (1995) uvádí jako normu u dospělých $4,4-11,3 \cdot 10^9/l$, zatímco Pecka (2006) $4-9 \cdot 10^9/l$.

Funkce jednotlivých typů bílých krvinek je složitě regulována, buňky v rámci imunitního systému vzájemně interagují a kooperují tak, aby odpověď organismu na cizorodý materiál byla co nejefektivnější a nejúčinnější (Kittnar et al. 2011). Z imunologického hlediska se bílé krvinky dělí na fagocyty (neutrofilny, eosinofily, monocyty) a imuncyty (lymfocyty) (Pecka 2006).

Z morfologického hlediska se bílé krvinky dělí na polymorfonukleární, zjednodušeně polynukleáry, které jsou označovány též jako granulocyty. Obsahují lysozomy a sekreční granula. Druhým typem jsou mononukleáry, označované i jako agranulocyty (Navrátil et al. 2008).

Granulocyty dělíme podle barvitelnosti cytoplazmatických zrn na neutrofilní bílé krvinky (barví se neutrálními barvivy), eosinofilní bílé krvinky (barví se kyselými barvivy) a basofilní bílé krvinky (barví se zásaditými barvivy). Agranulocyty tvoří dva typy buněk: lymfocyty a monocyty (Dylevský 2009).

Techniku rozpoznávání různých typů krvinek zavedl Ehrlich v roce 1898 (rozpoznával krvinky obarvené pomocí anilínových barviv). Analyzátoary krvinek poskytují buď tzv. „třípopulační diferenciál“ nebo „pětipopulační diferenciál“. Pětipopulační diferenciál rozlišuje v bílé řadě lymfocyty, monocyty, bazofily, eosinofily a neutrofilny. Není schopen odlišit nesegmentované formy neutrofilny (tyče) od segmentovaných forem. Toto odlišení lze v současné době provést jen mikroskopickým hodnocením, pokud se nezvažují jiné drahé techniky (např. imunofenotypizace) (Pecka 2006).

Automatické analyzátoary udávají jak relativní, tak absolutní počty jednotlivých typů bílých krvinek (Bain et al. 2012). Relativní počet je zastoupení určitého typu buněk

z celku, nejčastěji ze sta bílých krvinek, zatímco absolutní počet = relativní počet jednotlivých typů bílých krvinek * celkový počet bílých krvinek. Je to tedy zastoupení určitého morfologického typu buněk v určitém objemu (Pecka 2006). Automatické analyzátoři udávají absolutní počty pro každý typ bílých krvinek, a protože procentuální vyjádření je méně vhodné pro správnou indikaci jejich absolutního nárůstu nebo poklesu, Mezinárodní koncil pro standardizaci v hematologii doporučuje, aby diferenciál bílých krvinek byl vždy udáván jako absolutní počty na objemovou jednotku krve (Bain et al. 2012).

Normy se opět liší podle věku, u dospělých lze vyjádřené absolutními počty shrnout takto: neutrofilů $1,8-7,7 * 10^9/l$, eozinofilů $0-0,45 * 10^9/l$, basofilů $0-0,2 * 10^9/l$, lymfocyty $1,0-4,8 * 10^9/l$ a monocyty $0-0,8 * 10^9/l$ (Beutler et al. 1995).

Elektronické metody, které zajišťují rychlou a přesnou klasifikaci základních typů bílých krvinek, založené nejvíce na fyzikálních vlastnostech buněk, jsou rozvinuty a běžně se používají. Jde např. o způsob klasifikace buněk na základě velikosti a peroxidázové reakci, nebo systém klasifikace postavený na objemu buněk, nebo na kombinaci objemu buněk, vodivosti a rozptylu světla (Williams et al. 2006). Jakmile však jde o diagnostiku onemocnění krevetvorby a přístroj vytiskne nález patologický, bývá většinou nutné zhotovit „klasický“ krevní nátěr (některé drahé automaty jej jsou schopny na požádání zhotovit), obarvit jej panopticky a popřípadě zpřesňovat diagnózu pomocí cytochemických barvicích metod, průtokové cytometrie, event. i elektronové mikroskopie (Anděl et al. 2001).

Poslední zatím nezmíněnou součástí krevního obrazu jsou krevní destičky (trombocyty, Platelets – Plt). Krevní destičky jsou fragmenty cytoplazmy megakaryocytů (Navrátil et al. 2008) a hrají významnou úlohu při zástavě krvácení (hemostáze) a při uzávěru cév krevní sraženinou (trombóze) (Pecka 2006, Navrátil et al. 2008).

Za normálních podmínek, pokud krev koluje v cévách, je v tekutém stavu. To je určováno rovnovážným stavem krevního srážení a jeho regulačními mechanismy. Po narušení celistvosti cévní stěny a z řady jiných příčin dochází k rozkolísání dynamické

hemokoagulační rovnováhy a následně k aktivaci srážecích mechanismů (Navrátil et al. 2008).

Krevní destičky jsou obvykle měřeny elektronicky, ale lze využít i manuálních metod (Beutler et al. 1995). Elektronicky lze počet krevních destiček stanovit 3 různými způsoby: impedančně, opticky, imunologicky. V krevním obrazu můžeme stanovit mimo počtu krevních destiček ale i jejich ostatní parametry: střední objem krevních destiček (MPV), histogram krevních destiček podle jejich objemu, výpočet šíře distribuce krevních destiček (PDW), destičkový hematokrit (Pct) (Pecka 2006).

Jako i u ostatních typů krevních buněk se i množství krevních destiček udává jako jejich počet v 1 l krve, v případě krevních destiček pak $10^9/l$ (Pecka 2006). Beutler et al. (1995) uvádí jako normu $172-450 * 10^9/l$, zatímco Česká hematologická společnost $150-400 * 10^9/l$ (Anonym2 2013) a Pecka (2006) $130-380 * 10^9/l$.

1.2 Fáze zpracování

Laboratorní vyšetření slouží zejména k diagnostickým účelům. Svůj význam mají při monitorování průběhu nemoci a určování prognózy onemocnění, ale též při preventivních vyšetřeních nebo screeningových programech. Až 70 % lékařských rozhodnutí u hospitalizovaných pacientů je učiněno na základě laboratorního vyšetření (Krška et al. 2011). Postup hematologických vyšetření je následující: a) rozlišení problémů u pacienta; b) převoz vzorku k analýze do laboratoře nebo kliniky, tvorba souhrnných dat a výsledků; a c) to nejdůležitější – návrat výsledků k pacientovi (Gross and Roath 1996). Vyšetření musí být cílené, účelně indikované, spolehlivé a kvalifikovaně interpretované (Krška et al. 2011).

Krevní obraz je jedno ze základních vyšetření pro diagnostiku a sledování léčby řady onemocnění. Proto je třeba znát nejen důvody, proč toto vyšetření požadovat, ale i okolnosti, které souvisí s vlastním vyšetřováním na hematologických analyzátoch. K získání co nejvíce informací z daného vyšetření je třeba ze strany laboratoře respektovat preventivní zásady vyšetření, zohledňovat výsledky předchozích vyšetření a přihlížet k souvisejícím informacím (diagnóza, věk, pohlaví, léčba pacienta). Krevní

obraz je komplexní soubor výsledků, které spolu úzce souvisí, nelze tedy posuzovat žádnou hodnotu bez návazností na ostatní parametry. Pochopení nejen souvislostí mezi výsledky krevního obrazu, ale i všech preventivních zásad vede ke správné interpretaci výsledků (Penka et al. 2011).

Fáze zpracování dělíme na preanalytickou (kam patří právě rozlišení problémů u pacienta, odběr a převoz vzorku do laboratoře, příjem vzorku v laboratoři), analytickou (tvorba dat a výsledků) a postanalytickou (návrat vzorků k pacientovi a jejich správné vyhodnocení lékařem). Pro správné zpracování nejen krevního obrazu je nutné, aby všechny fáze zpracování proběhly bez chyb. Počet laboratorních chyb relativně klesá vlivem automatizace preanalytických, analytických a také zčásti již postanalytických postupů, vlivem nesmírného rozvoje informačních technologií, standardizace a dalších faktorů. Absolutní počty chyb ale zůstávají vysoké vlivem rostoucího počtu vyšetření. Je jasné, že řada chyb je díky používání informačních technologií zavčas zachycená a nemá vliv na úroveň péče o pacienta, nebo dokonce na zvýšení rizika poškození jeho zdraví. Nicméně i tak podle různých údajů 26-30 % laboratorních chyb dokonce pacienta poškodí. Dramatický je na chybovosti vysoký podíl lidského faktoru (Friedecký 2010).

1.2.1 Preanalytická fáze

Preanalytická fáze je soubor všech situací, postupů a operací, kterými projde vzorek analyzovaného materiálu od ordinace vyšetření po vložení vzorku do analytického přístroje (Mikšová et al. 2006, Krška et al. 2011). Struktura preanalytické fáze vypovídá o všech faktorech a skutečnostech, které mají vliv na výsledek laboratorních vyšetření (Mikšová et al. 2006). Zahrnuje tedy především přípravu vyšetřovaného na odběr, odběr biologického materiálu, jeho uchování a transport do laboratoře (Krška et al. 2011).

I zde hraje významnou roli lidský faktor, velký podíl odpovědnosti za odběr a odeslání materiálu má sestra (Rozsypalová et al. 2002), která svou činností obojí ovlivňuje (Mikšová et al. 2006).

1.2.2 Analytická fáze

Do analytické fáze spadá analýza vzorku v laboratoři. Automatizace laboratorních postupů zasáhla i do hematologie. Jde o urychlení a zpřesnění vyšetření na straně jedné, ale i o šetření laboratorních pracovníků na straně druhé, takže jejich fyzická a intelektuální kapacita je uvolněna pro činnosti, které prozatím automatizovat nelze. Počítací chyba analyzátoru, jíž je výsledek zatížen, je vzhledem k velkému množství vyšetřených elementů velmi malá (i méně než 1 %) (Anděl et al. 2001).

Stanovení na analyzátorech krvinek má i svá úskalí a určitá omezení, na která se musí během stanovení pamatovat. Vzorky mohou obsahovat složky nebo látky, které brání přesnému stanovení jednotlivých parametrů na krevních analyzátorech. Při vyšetření parametrů na analyzátorech krvinek se vyskytuje těsná provázanost jedněch parametrů s jinými (některé se dokonce vypočítávají z měřených parametrů), může pak docházet k tomu, že nepřesné stanovení jedné složky může mít vliv na stanovení jiné složky. Některé interference přitom přímo závisí na vyšetřovací technologii daného analyzátoru (impedanční, optická, imunologická), jiné jsou na způsobu stanovení nezávislé. Poznat možné ovlivnění (interferenci) znamená vydávat správné výsledky, naopak nepoznané interference mohou mít negativní klinické následky (Pecka 2006).

Aby se předešlo chybám, jsou pro vyhodnocování krevních obrazů stanoveny následující preventivní zásady:

- Znat principy měření daného analyzátoru
- Znat limitní hodnoty linearity jednotlivých měřených parametrů pro daný analyzátor
- Sledovat hodnoty pozadí (background) pro měřené parametry daného analyzátoru
- Sledovat návaznost mezi numerickými a grafickými výsledky pro určité parametry
- Respektovat souvislosti mezi jednotlivými parametry
- Interpretovat možné interference a vlivy pro daný typ měření
- Interpretovat specifická hlášení přístroje

- Sledovat správnost odběru
- Ověřovat patologické výsledky krevních obrazů mikroskopicky
- Sledovat výsledky kontrolních měření

Jejich pečlivé dodržování by mělo pomoci předejít většině chyb v analytické fázi zpracování (Penka et al. 2011).

1.2.3 Postanalytická fáze

Z faktorů postanalytické fáze nejvíce ovlivňují bezpečnost pacienta: hlášení kritických hodnot, doba odezvy, validace dat výsledkových protokolů a komentáře výsledků (Friedecký 2010). Výsledky jsou v hematologické laboratoři hotové většinou do několika hodin (Rozsypalová et al. 2002). Poté následuje jejich kontrola laboratorními pracovníky a vedoucími lékaři. Až poté dojde k tisku výsledku a jeho transportu zpět ordinujícímu lékaři, přičemž tento transport může probíhat i elektronickou cestou.

1.3 Možné chyby v preanalytické fázi

Zdroje preanalytické variability lze charakterizovat jako zdroje ovlivnění výsledků vyšetření, které se vyskytují před odběrem biologického materiálu, při odběru biologického materiálu a mezi odběrem biologického materiálu a analýzou (Jabor and Zámečník 2005). Prvním krokem preanalytické fáze je ordinace vyšetření. Při stanovení diagnózy je třeba snažit se volit metody, které mohou diagnózu stanovit přesně a v relativně krátkém čase. Při indikaci vyšetření nesmíme zapomínat na možné riziko pro pacienta i při relativně málo invazivních vyšetřeních. Je třeba volit adekvátní metody vyšetření, a to nejen z hlediska etického, ale i ekonomického. Při volbě metod je nutné užívat určitý algoritmus a snažit se zvolit metody co nejvíce specifické s vysokou diagnostickou výtěžností. Pro správnou a vhodnou volbu metod jsou nezbytné široké teoretické znalosti (Krška et al. 2011). Proto vznikají speciální příručky, v kterých je vysvětlení způsobu odběru krve, metodický postup a význam vyšetření pro diagnostiku hematologických chorob (Navrátil et al. 2008).

Při vyšetřování musíme zvažovat přínos vyšetření pro pacienta, a to i z hlediska postupu při získávání pozitivního či negativního výsledku testu. Každá metoda má být správně indikována a tzv. indikační vymezení by měla být v budoucnu součástí terapeutických a diagnostických standardů. Lékař si musí uvědomit, co očekává od daného vyšetření při negativním nebo pozitivním výsledku (Krška et al. 2011).

Řízení preanalytické fáze je úkolem laboratoří, které jsou povinny vybavit své klienty jednoznačnými instrukcemi o přípravě pacienta, odběru, skladování a transportu (případně předanalytické úpravě vzorku, je-li prováděna odebírajícím personálem) biologického materiálu do laboratoře (Jabor and Zámečník 2005). I přes možnost využívání těchto příruček preanalytická fáze produkuje více než 50 % chyb. (Friedecký 2010). To uvádí i Krška et al. (2011), který konstatuje, že v preanalytické fázi vznikají až dvě třetiny chyb celého laboratorního procesu, přičemž tyto chyby mohou vést k mylným závěrům jak pozitivním, tak negativním.

V rámci preanalytické fáze je nutné uvědomit si interferenci biologickými vlivy, vliv odběru materiálu a vliv transportu a skladování.

Biologické vlivy dělíme na:

- Dané a neovlivnitelné (rasa, věk, pohlaví) (Mikšová et al. 2006). Jabor a Zámečník (2005) mezi dané a neovlivnitelné řadí mimo rasu, věk a pohlaví i cyklické variace, intraindividuální variabilitu a graviditu, přičemž totéž uvádí i Špinar et al. (2008).
- Proměnlivé a ovlivnitelné (dieta, pohyb, styl života, léky, hmotnost, kouření, alkohol atd.) (Mikšová et al. 2006, Špinar et al. 2008). Mezi proměnlivými a ovlivnitelnými zmiňuje Jabor a Zámečník (2005) navíc i nadmořskou výšku, mechanické trauma a stres.

Vlivům odběru materiálu se bude věnovat další kapitola.

Nezanedbatelný je i vliv doby mezi odběrem a analýzou vzorku. V každém případě je důležité seznámit se s podmínkami transportu a skladování biologického materiálu pro vyšetřovaný analyt, které jsou součástí laboratorních příruček jednotlivých laboratoří, kam lékaři zasílají biologický materiál na vyšetření. Laboratorní nebo

preanalytická příručka obsahuje, jak již bylo zmíněno, další potřebné informace o jednotlivých analytech a podrobnější informace o preanalytické fázi či době, dokdy bude materiál vyšetřen (Krška et al. 2011).

Mezi vlivy transportu a skladování patří:

- Efekty času, teploty a mechanických vlivů během transportu vzorku
- Standardizace způsobů posílání vzorků do vzdálené laboratoře
- Skladování vzorků v laboratoři (Mikšová et al. 2006, Špinar et al. 2008).

Jabor a Zámečník (2005) sem řadí i vliv konzervačních látek, vliv materiálu odběrové nádoby, vliv srážení. I jen částečně vysrážený vzorek (špatný poměr protisrážlivých činidel, aktivace koagulace) zkresluje, až znemožňuje vyšetření parametrů krevního obrazu včetně diferenciálního rozpočtu a krevního srážení.

Transport materiálu má být šetrný a rychlý, musí být prováděn při adekvátní teplotě a vhodných světelných podmínkách. V případě, že je vzorek transportován neprodleně po odběru do laboratoře, postačuje pro transport většinou pokojová teplota. Při delším transportu (déle než 30 minut) a vzhledem k zevním klimatickým podmínkám je vhodnější posílat materiál v chladicím boxu (Krška et al. 2011). Během transportu je tedy nutno sledovat teplotu v dopravním boxu s vzorky a čas transportu primárního vzorku do laboratoře. Laboratoř pak sleduje celkovou dobu od odběru vzorku do analýzy, přičemž doba transportu je součástí této doby (Charvát et al. 2013).

Čas, který uplyne od odběru vzorku do jeho zpracování, hraje v preanalytice podstatnou roli. Dochází ke změnám metabolismu krevních buněk spojeným s nedostatečnou tvorbou makroenergetických látek, které udržují funkci a tvar buněk. Tyto změny se pak mohou promítnout do výsledku vyšetření (Pecka 2006). Doba, která uběhne od odběru vzorku do jeho zpracování, musí být kratší než stabilita vzorku. Stabilitou vzorku se rozumí doba, která uplyne od odběru primárního vzorku do jeho vyšetření, aniž by se hladina vyšetřovaných analytů změnila. U krevního obrazu je udávána stabilita při teplotě +15 až +25 °C pět hodin (Charvát et al. 2013, Jabor a Zámečník 2005).

Určitá pravidla je potřeba dodržet i při skladování, kdy je nutné, aby byl materiál dobře uzavřen a zabránilo se zahuštění vzorku odpařováním, mikrobiální kontaminací, vlivu světla a samozřejmě metabolismu krevních elementů (Krška et al. 2011).

1.3.1 Odběr krve a chyby při něm

Pro správný výsledek je nezbytné zajistit nejen správné provedení vlastního odběru, ale rovněž poučení pacienta, jak se na odběr připravit. Potřebné jsou také znalosti o faktorech ovlivňujících preanalytickou fázi laboratorního vyšetření (Krška et al. 2011). V preanalytické fázi hematologických vyšetření hraje odběr krve zásadní roli, přičemž vliv má:

- Způsob a kvalita odběru
 - Doba odběru (cirkadiánní rytmy, menstruační cyklus, poslední jídlo před odběrem apod.)
 - Infuzní terapie
 - Pozice a poloha při odběru
 - Místo odběru
 - Kapilární odběr
 - Specifikace odběrových zkumavek, antikoagulantů, stabilizátorů, separačních gelů
 - Systém odběrových zkumavek
 - Množství potřebného materiálu (přibližně 2-4x více, než je nutné k analýze)
- (Mikšová et al. 2006, Krška et al. 2011).

Vliv má ale i doba, po kterou je při odběru přiložen turniket (manžeta) (Špinar et al. 2008). Během odběru krve musí být trvání zatažení paže minimalizováno, aby nedošlo ke srážení krve ve vzorku (Beutler et al. 1995). Z hematologických parametrů se pak může zvýšit počet červených krvinek, hemoglobin a hematokrit (Pecka et al. 2010). Chybné je i „cvičení“ rukou před odběrem, které se nedoporučuje. Vyšetření také ovlivňuje hemolýza. Zásadní vliv má i výběr protisrážlivých činidel a nedodržení

poměru mezi krví a protisrážlivým činidlem (Špinar et al. 2008). Tento nepoměr vede buď ke změnám objemu červených krvinek, nebo ke srážení krve (Anděl et al. 2001).

S těmito vlivy pak souvisí i nejčastější chyby při odběru krve:

- Pacient nebyl nalačno
- V době odběru anebo těsně před odběrem byla pacientovi aplikována infuze
- Byla zvolena nevhodná doba odběru (během dne řada biochemických a hematologických hodnot kolísá)
- Řada úzkostlivých pacientů dlouho před odběrem nejí ani nepije a výsledná dehydratace ovlivní výsledky

Tyto chyby ovlivňují nejen hematologická, ale i další vyšetření.

Poučení pacienta hraje klíčovou roli v celém procesu laboratorního vyšetření krve a je nezbytné pro jeho správnost (Krška et al. 2011). Krev se odebírá nejčastěji ráno nalačno, a proto je třeba upozornit pacienta na odběr včas dopředu (Rozsypalová et al. 2002). Odběr nalačno pro většinu laické populace znamená nesnídat, ale odběrem nalačno se rozumí, že pacient 10-12 hodin nejedl, byl v relativním klidu a odběr byl proveden v ranních hodinách (Krška et al. 2011). Kratší lačnění než 10 hodin je nedostatečné a delší je nevhodné (Špinar et al. 2008). Pro hematologická vyšetření je však význam nedodržení této doby nižší.

Odběr se provádí ráno mezi šestou a osmou hodinou nejen kvůli snazšímu lačnění, ale i proto, že většina látek podléhá cirkadiálnímu rytmu (Anděl et al. 2001). Doporučuje se též vypít před odběrem 2-3 dl vody (Krška et al. 2011). Příjem tekutin je velmi vhodný, je správné i ráno před odběrem krve pít neslazené nealkoholické tekutiny (vodu, neslazenou minerálku či ovocný čaj), aby pacient nebyl dehydratován (Špinar et al. 2008).

Dále je nutno počítat s tím, že každý pacient je před odběrem více či méně rozrušen. Je potřeba jej ujistit, že jde o běžné vyšetření, zkontrolovat, zda je opravdu nalačno a zajistit, aby asi 20 minut před odběrem v klidu ležel nebo seděl (Rozsypalová et al. 2002).

Jednou z nezbytných podmínek správně provedeného vyšetření je správně vyplněná žádanka, kde je kromě identifikačních údajů (jméno, rodné číslo pojištěnce, pojišťovna apod.) důležité uvádět také dobu odběru (pokud je odběr prováděn v ambulanci), diagnózu pacienta, chronickou medikaci a odebíraný materiál (Krška et al. 2011). Před odběrem je třeba zjistit, na které vyšetření má být krev odebrána, a podle toho připravit označené nádoby a žádanky. Je nutné znát dobře postup při odběrech na jednotlivá vyšetření a přesně jej dodržet (Rozsypalová et al. 2002). Musíme mít na mysli způsob odběru v závislosti na typu biologického materiálu, mít správný odběrový materiál (odlišná stabilizační nebo protisrážlivá činidla), postupovat odpovídající technikou a v poslední řadě správně poučít a připravit pacienta (Krška et al. 2011).

Vzorky je nutné pečlivě označit a v co nejkratší době odeslat na vyšetření (Rozsypalová et al. 2002), protože především přesná a jednoznačná identifikace biologického materiálu patří k obecným zásadám při jeho odběru (Krška et al. 2011).

Nesprávný odběr může ohrozit pacienta a véde k nárůstu nákladů na léčbu (Mikšová et al. 2006), proto je nutné dodržovat následující obecné zásady pro odběr materiálu:

- 1) Před odběrem srozumitelně informovat a poučít pacienta.
- 2) Před odběrem srozumitelně informovat a poučít pacienta.
- 3) Odpovědět na všechny jeho otázky.
- 4) Připravit pečlivě všechny pomůcky.
- 5) Čitelně označit odběrové nádoby identifikačními údaji pacienta.
- 6) Pečlivě vyplnit žádanku.
- 7) Je-li třeba zpracovat vyšetření urychleně, připsat na průvodku „STATIM“.
- 8) Zachovat správný postup odběru, dbát, aby nebyl materiál znehodnocen (chybným odběrem, znečištěním, nedostatečným označením).
- 9) Chránit sebe i pacienta před přenosem infekce.
- 10) Vzorky odeslat společně se správně vyplněnou průvodkou co nejdříve do laboratoře (Rozsypalová et al. 2002).

Mikšová et al. (2006) navíc dodává, že je nutné dodržet požadavky na transport. Není-li stanoveno jinak, provést vyšetření do 2 hodin po odběru a po celou dobu je zajistit proti znehodnocení, výsledky vyšetření pak evidovat (zakládají se do záznamu výsledky) a stále dodržovat zásady BOZP. To konstatuje i Rozsypalová et al. (2002), která navíc uvádí, že některé z materiálů odebírá lékař, jiné sestra, ale také laborant. Materiál má tedy být odebrán přesně, včas a řádně označený odeslán do příslušné laboratoře, odpovědně vyšetřen a zhodnocen a systematicky lékařem využit.

K měření parametrů krevních buněk se na automatických analyzátořech používá buď kapilární, nebo žilní krev, která se odebírá za standardních podmínek (Pecka 2006). To se shoduje s tvrzením Kršky et al. (2011), který uvádí, že nejčastěji se používá venózní krev získaná venepunkcí, u malých dětí a nedonošenců se pak odebírá kapilární krev. Venepunkce se má provádět u pacienta, který je v klidu, paže má být zatažena. Neměla by se používat paže, na které jsou výrazné jizvy, hematom či zavedená infuze a u žen paže na straně po provedené mastektomii. Odběry se provádějí ze žil na volární straně předloktí nebo v loketním ohbí. Je možné využít i žíly na hřbetu ruky, ovšem je třeba si uvědomit rizika u diabetiků a osob s horší cirkulací (vznik možných trofických defektů) (Krška et al. 2011).

Odběr z chladného místa může vést k nesprávným výsledkům, hlavně v bílých krvinkách. I při technicky správném odběru je počet červených krvinek, obsah hemoglobinu a hematokrit poněkud nižší v krvi kapilární než v krvi venózní (Anděl et al. 2001).

Testy jsou realizované z malého vzorku nesrážlivé žilní krve; běžný antikoagulant je ethylen-diamin-tetraoctová kyselina (EDTA) (Howard and Hamilton (1997)). Využívá se solí kyseliny etylendiaminotetraoctové (K_3EDTA a K_2EDTA). Rozdíl mezi těmito substancemi je v pH, které tyto látky vytváří v systému odebrané krve. pH K_3EDTA se blíží fyziologické hranici pro pH krve, zatímco pH K_2EDTA se pohybuje lehce nad hodnotou 5. Rozdíly jsou i ve fyziologickém působení na krevní buňky a v rozpustnosti obou solí (Goosens et al. 1991). Mimo K_3EDTA a K_2EDTA se užívá jako protisrážlivé činidlo i Na_2EDTA (Penka et al. 2011).

Nevýhodou EDTA solí je v případě jejich použití možnost ovlivnění krevních destiček. Soli EDTA mohou v některých případech vyvolat přímou agregaci krevních destiček působením na jejich membránové glykoproteiny nebo ovlivní membránu neutrofilů, která pak může vázat krevní destičky na svém povrchu – tzv. destičkový satelitismus (International Council, 1993) .

Na většině pracovišť se užívá soubor pomůcek na uzavřený způsob odběru (Rozsypalová et al. 2002). Tento vakuový systém je čistší styl odběru krve, kde krev nepřichází do styku se vzduchem, protože krev teče skrz sterilní jehlu rovnou do sterilní zkumavky (Sood 1999).

Ke všem druhům odběru mají být pomůcky přehledně uloženy na pojízdném vozíku, jejich seznam je následující:

- 1) Sterilní jehly pro jedno použití zasazené do kónusu se závitem, z jeho druhé strany vychází jehla asi 2 cm dlouhá s gumovým ventilem (na ni se napojuje zkumavka), před použitím jsou obě jehly kryté
- 2) Držák jehly z plastu se závitem – zavaděč (napojí se na závit jehly a s jeho pomocí se zavádí jehla do žíly)
- 3) Vzduchotěsné uzavřené zkumavky s vakuem přesně odměřeným podle toho, kolik krve má být na určité vyšetření odebráno, jsou barevně odlišeny
- 4) Dezinfekční prostředek
- 5) Tampony nebo čtverce
- 6) Popruh na zatažení paže
- 7) Rouška z PVC k ochraně prádla
- 8) Leukoplast
- 9) Emitní miska
- 10) Stojánek na zkumavky
- 11) Ochranné rukavice (Rozsypalová et al. 2002).

Postup odběru krve:

Nejprve musí proběhnout verbální potvrzení totožnosti nemocného, v lůžkových zařízeních se totožnost kontroluje i s údaji na identifikačním náramku (Workman and

Bennett 2002). K potvrzení totožnosti se užití údaje o jménu pacienta a o jeho rodném čísle (Mullins 2007). Identifikační chyby jsou zvláště nebezpečné kvůli možnosti vážných až katastrofálních následků (Friedecký 2010).

Před odběrem je nutné označit zkumavky, které budou k odběru použity, identifikačními údaji pacienta. Pomůcky si připravíme k ruce a oblékneme si ochranné rukavice (Rozsypalová et al. 2002). Standardní poloha pacienta při odběru je poloha vsedě (Krška et al. 2011). Paži s vybranou žilou nemocnému pohodlně položíme a podložíme rouškou z PVC (Rozsypalová et al. 2002). Ke zvýšení prokrvení lze před vlastním odběrem použít teplý vlhký obklad nebo teplou vodní lázeň (Krška et al. 2011, Rozsypalová et al. 2002).

Místo vpichu musí být dezinfikováno (Mullins 2007). K dezinfekci se užívá dezinfekční roztok schválený hygienickou službou (Anděl et al. 2001). Po dezinfekci místa vpichu se přiloží turniket, jeho přiložení nemá být delší než jedna minuta a pacient by neměl paži pumpovat (Krška et al. 2011).

Odstraníme dolní kryt jehly a na závit kónusu přišroubujeme závit zavaděče – držáku jehly. Sejmeme kryt jehly určené ke vpichu. Jehlu zavedeme do žíly (Rozsypalová et al. 2002). Vpich jehlou do žíly musí být hladký, přímý, bez zbytečné manipulace v tkáních. K hematologickým odběrům, vzhledem k tomu, že se měří fyziologické charakteristiky krvinek a krevní plazmy, se doporučuje používat jehly o větší světlosti (21G) (Pecka et al. 2010). Po vpichu vybereme zkumavku pro požadovaný odběr a vložíme ji do zavaděče tak, aby krátká jehla s gumovým ventilem pronikla zátkou zkumavky (Rozsypalová et al. 2002).

Doporučené pořadí odběrů z jednoho vpichu je následující: zkumavky pro hemokultury, zkumavky bez protisrážlivých činidel, zkumavky pro hemokoagulaci, ostatní zkumavky s protisrážlivými činidly; k hematologickému vyšetření se použije zpravidla druhá, případně další odběrová nádobka. Nikdy se nepoužívá první, protože odběrový systém není zcela inertní k fyziologickým vlastnostem krvinek a plazmy, v systému může docházet k vychytávání krevních destiček (Pecka et al. 2010).

Jakmile začne proudit krev do zkumavky, lze turniket odstranit (Krška et al. 2011). Ve zkumavce je vyčerpán vzduch, k nasátí krve do systému dojde vlivem vakua (Pecka et al. 2010), potřebné množství krve tedy vteče do vakuové zkumavky automaticky (Sood 1999, Rozsypalová – Ošetřovatelství II).

Naplněnou zkumavku vyměníme za jinou – k dalšímu odběru podle ordinace (gumový ventil zabrání vytékání krve ze žíly) (Rozsypalová et al. 2002). Bezprostředně po naplnění je nutné krev ve zkumavce promíchat opakovaným otáčením zkumavky (minimálně pětkrát, netřepat!) (Krška et al. 2011, Anděl et al. 2001), aby došlo k účinnému promísení krve s antikoagulační látkou (Pecka et al. 2010).

Po naplnění poslední odběrové zkumavky je tato sejmuta, jehla je vytažena ze žíly (Mullins 2007). Někteří nemocní nesnesou pohled na vlastní krev, a dokonce upadnou do krátkodobého kolapsu. Je potřeba tomu předejít a odvést jejich pozornost. Na místo vpichu pevně přimáčkneme tampon. Nemocný má podržet 2–3 minuty paži ohnutou v lokti (Rozsypalová et al. 2002). Tampon z místa vpichu odstraníme až po úplném zastavení krvácení (Mullins 2007). Poté se přiloží náplast, kterou se doporučuje ponechat na místě alespoň 15 minut po odběru (Krška et al. 2011). Po odběru se pomůcky k jednomu použití a použitý materiál odstraní do odpadků. Ostatní pomůcky se umyjí, dezinfikují a uloží na vyhrazené místo (Rozsypalová et al. 2002).

Kromě uvedeného odběru krve uzavřeným způsobem existují i jiné techniky. Lze použít např. stříkačku, která zároveň slouží jako zkumavka. V některých zdravotnických zařízeních se odebírá krev stříkačkami a jehlami k jednomu použití do běžných zkumavek. Je tu však nebezpečí případného přenesení infekce na sestru. Pomůcky a postup jsou podobné jako při podávání léků do žíly (Rozsypalová et al. 2002).

1.4 Analyzátory měřící krevní obrazy

Výpočet červených krvinek, bílých krvinek a krevních destiček může být prováděn manuální metodou na speciálně navržených počítačkách za použití mikroskopů (Pecka 2006), ale elektronické metody zajišťují preciznější data a jsou nyní šířeji využívány pro rutinní krevní obraz (Williams et al. 2006, Pecka 2006).

Metody elektronického počítání množství buněk jsou nyní široce využívány a umožňují přesné vyčíslení všech tří typů buněk (Beutler et al. 2005). Bez technizace je praktická medicína nepředstavitelná, zvláště pak v „revoluční technizaci“ posledních desetiletí. Technika zásadně obohatila diagnostiku. Diagnostika některých chorobných stavů a jejich sledování je bez techniky nemožné. Vyrůstá nabídka diagnostické a terapeutické diagnostiky (Pacovský and Sucharda 2002).

Zhotoví-li erudovaný laborant za pracovní směnu kvalitně s rozpočtem na 100 buněk asi 10-14 krevních obrazů, moderní počítače jsou schopny vyprodukovat při sečtení až 20 000 buněk více než 100 nálezů za hodinu (Anděl et al. 2001), což souhlasí s Lesseve et al. (2004), který uvádí, že automatické hematologické analyzátory jsou navrženy tak, aby analyzovaly fyzikální a chemické vlastnosti tisíců buněk. S rostoucím počtem buněk vyšetřených analyzátozem se ale zvětšuje pravděpodobnost, že dvě nebo více z nich budou detekčním zařízením označeny jako jedna, což vede k falešně nižším množstvím buněk (Beutler et al. 2005).

Výsledky kompletních krevních obrazů z těchto analyzátorů nahradily tradiční manuální metody (Lantis et al. 2003). Automatická analýza je nezávislá na pozorovateli, má lepší reprodukovatelnost a je alternativou k pozorování pod mikroskopem, protože odečty hematologického analyzátoru dobře korelují s odečty podle standardní manuální metody, ačkoli ta poskytuje další diagnostické informace o krevním obrazu (Lesseve et al. 2004).

Při srovnání s mikroskopickými diferenciálními počty leukocytů automatické diferenciální počty vykazují dobrou korelaci pro neutrofilů, lymfocytů, eozinofilů a monocytů (Buttarelo et al. 1997, Jones et al. 1998, Stamminger et al. 2002, Aulesa et al. 2003, Muller et al. 2006). Oproti tomu bazofily srovnávané s měřením pomocí metody průtokové cytometrie, kde bylo užito znaků CD 123 a CD 193 jako bazofilních markerů, často korelují velmi špatně, obzvláště u Advia 120 (Siemens Healthcare Diagnostics, Deerfield, IL). To může být dáno tím, že Advia počítá bazofily jako buňky odolné vůči kyselému prostředí, ale v některých vzorcích se vyskytují patologické buňky odolné prostředí a ty pak zapříčiňují falešně zvýšené počty bazofilů (Amundsen et al. 2012).

Hematologické analyzátory však ve většině situací poskytují rychlé a přesné výsledky (Zandecki et al. 2007). Výhodou automatických analyzátorů je tedy nejen jejich rychlost a přesnost, ale i spolehlivost a poměrně malé množství krve potřebné k vyšetření (Pecka 2006). Je zřejmé, že automatická technika umožňuje vyčíslení ohromně velkého množství buněk a tudíž může být preciznější než manuální metody (Beutler et al. 2005). Tradiční přezkoumání všech výsledků automatizovaných hematologických přístrojů pomocí úpravy, barvení a mikroskopického vyšetření krevního obrazu z většiny institucí již zmizelo (Pierre 2002).

Výsledek studie, kterou publikovali Ike et al. (2010), je rozdílný od dřívější zprávy Pierre (2002) a Novis et al. (2006), kteří uváděli, že automatizované hematologické přístroje jsou přesnější v rozpoznávání vzorků s distribuční nebo morfologickou abnormalitou než tradiční vizuální metoda. Ike et al. (2010) uvádí, že odečty automatizovaného hematologického analyzátoru (Sysmex KX-21N) dobře korelovaly s manuálními metodami. Výsledky této studie potvrzují, že odečty automatizovaného hematologického analyzátoru jsou stejně spolehlivé jako standardní manuální metoda, i když tato metoda poskytuje další diagnostické informace v podobě krevního obrazu. Toto je v souladu s dřívějším tvrzením Atilola et al. (1996) a McCarthy et al. (2005). Proto by ruční mikroskopické vyšetření krve mělo být při zjištění závažných odchylek v krevním obraze použito k ověření automatizovaných metod, jak již dříve navrhoval Lantis et al. (2003).

Moderní, plně automatické přístroje pracují tak, že si samy odebírají potřebný objem krve z uzavřené zkumavky, a tak vylučují riziko vzniku aerosolu a případnou možnost profesionální nákazy (Anděl et al. 2001). Otevírá se však problém efektivního využití techniky a stanovení priorit technického vybavení podle rozdílných funkcí jednotlivých pracovišť v hierarchii zdravotnické péče. Technizace klinické medicíny klade nové požadavky na pracovníky, jejich kvalifikaci a počet (Pacovský and Sucharda 2002). Náročné přístroje vyžadují kvalifikované laboranty, kteří jsou schopni s přístrojem správně zacházet. Je ovšem též třeba zabezpečit speciálně vyškolené techniky – opraváře (Hrubiško et al. 1983). Dnes jsou nezbytní specialisté – technici pro

provoz náročné technologie, analytici a programátoři, různí odborníci v diagnostických laboratořích (Pacovský and Sucharda 2002).

Porozumění roli automatických počítačů krvinek v klinické praxi a konkrétně i jejich limitům je totiž důležité k pochopení, jak jsou numerické hodnoty generovány (Howard and Hamilton 1997). Přesné a správné určení krevních buněk je nezbytné pro odpovídající klinické hodnocení (Beutler et al. 2005). Počet krvinek se proto v současné době měří na analyzátořech krvinek, které dnes poskytují podle typu přístroje od 24 do 48 parametrů včetně diferenciálního rozpočtu bílých krvinek, histogramů a scattergramů červených krvinek, bílých krvinek a krevních destiček (Pecka 2006).

Např. ADVIA 2120 (Siemens Medical Solutions Diagnostics, Tarrytown, NY, USA) je plně automatizovaný hematologický analyzátor, který zajišťuje kompletní krevní obraz a diferenciální počty bílých krvinek (Urrechaga 2010). Automatické analyzátoři mají dva kanály pro počítání buněk (Howard and Hamilton 1997). Nejprve dochází k tomu, že se buňky pomocí speciálních systémů řadí tak, aby byla pokud možno měřena jen jedna buňka. Současně dochází k naředění krevního vzorku, který se rozdělí do dvou cest (Pecka 2006). V prvním mohou být počítány červené krvinky a krevní destičky a v druhém jsou červené krvinky lyzovány pro následnou analýzu bílých krvinek. Extra kanál je často užíván pro diferenciální rozpočet bílých krvinek a počet retikulocytů (Howard and Hamilton 1997). Červené krvinky a krevní destičky jsou izovolumetricky sférovány pro jejich snadnější zpracování v analyzátoru. Některé z parametrů se měří přímo, jiné se zjišťují výpočtem z hodnot měřených parametrů (Pecka 2006).

Novější hematologické analyzátoři představily pro počítání buněk a pro zlepšení výkonů u diferenciálních počtů bílých krvinek rozptyl světla, elektrickou impedanci, radiofrekvenční vodivost, a/nebo cytochemii (Buttarelo et al. 1997, Jones et al. 1998, Stamminger et al. 2002, Aulesa et al. 2003, Muller et al. 2006), právě proto poskytnou několik desítek parametrů, včetně buněčné hladiny hemoglobinu, informace o velkých destičkách a jaderných červených krvinkách, stejně jako rutinní hemogram. (Kratz et al. 2006). Analyzátoři krvinek využívají k rozlišení jednotlivých typů krvinek dříve

vyjmenované principy, pomocí nichž speciálně upravenými softwarovými programy pomyslně distribuují krvinky do určitých prostorových oblastí – vytváří prostorové histogramy tzv. scattergramy (Pecka 2006).

Vyzkoušeno bylo několik principů měření (Anděl et al. 2001). Nyní jsou pro počítání buněk a zjišťování jejich velikosti dva základní postupy: elektrická impedance a rozptyl světla (Howard and Hamilton 1997). V roce 2001 pracovalo asi 90 % všech analyzátorů na principu impedančním, který byl vyvinut 40 let předtím. Je založen na faktu, že krvinka se oproti izotonickému ředícímu roztoku chová jako izolant – nevodič (Anděl et al. 2001). Metoda elektrické impedance je tedy založena na velmi nízké vodivosti elektřiny (Howard and Hamilton 1997). Naředěná suspenze krevních částic je násilně vhnána do měřicí květy. Vně i uvnitř květy je polarizované stejnosměrné elektrické pole. Vnikne-li částice do vstupního otvoru, změní se měrný odpor prostředí a vybudí se určité napětí, které se změří na voltmetru (Pecka 2006, Beutler et al. 2005). Počet impulsů odpovídá počtu částic prošlých aperturou a amplitudy impulsů odpovídají objemům příslušných částic (Anděl et al. 2001).

Na analyzátorech krevních částic stanovujeme počet červených a bílých krvinek většinou právě impedančně. Při měření bílých krvinek se do jejich počtu zahrnují všechny jaderné elementy, tedy i normoblasty, kdežto optické systémy normoblasty eliminují a jsou schopny vydat jejich absolutní počty (Pecka 2006).

Dalším způsobem měření buněk je metoda optická. Krevní částice se dostává do interakce s fokusovaným světelným paprskem, jehož zdrojem je halogenová žárovka nebo laser. Buňky rozptylují paprsek světla a detektor převádí rozptyl do impulsů odpovídajících velikosti buněk (Howard and Hamilton 1997, Anděl et al. 2001, Beutler et al. 2005).

Pro sofistikovanější měření jako např. diferenciální rozpočet bílých krvinek mohou být použity obě metody společně s přidáním dalších metod závislých na biochemických reakcích a absorpci světla (Howard and Hamilton 1997). Využívá se např. vysokofrekvenční střídavé elektrické pole, fluorescence a imunofluorescence, laser – optická analýza (světelný paprsek a rozptyl světelného paprsku), cytochemické metody,

průtoková cytometrie, spektrofotometrie, hydrodynamická fokusace, softwarová analýza (Pecka 2006).

Ačkoli jsou tyto metody sofistikované, automatické počítače buněk nedokáží nahradit trénované lidské oko. Výsledky mimo běžný numerický rozsah analyzátorů nebo přítomnost nezvyklých cirkulujících buněk (např. leukemické buňky) mohou být označeny jako abnormalita. To upozorní operátora, který se vrátí k původnímu vzorku krve a udělá nátěr krve na sklo (Howard and Hamilton 1997).

ADVIA 120 analyzuje bílé krvinky pomocí cytochemické myeloperoxidázové (MPO) reakce a pomocí světelného paprsku odraženého od lobularity jádra bílých krvinek (Nahm et al. 2008, Kang et al. 2008), což potvrzuje i (Bononi et al. 2009) a (Bononi et al. 2001), který udává, že ADVIA 120 měří bílé krvinky pomocí bílého světla a laserové technologie prostřednictvím dvou oddělených kanálů: peroxidáza kanál identifikuje prostřednictvím wolframové optiky a cytochemie různé typy bílých krvinek [neutrofilů, monocytů, eosinofilů, lymfocytů, a velké neobarvené buňky (LUC)] na základě jejich velikosti a barvitelnosti. Bazofilů / lobularity kanál, který používá systém laserového rozptylu světla, poskytuje cenné informace o zralosti stupně každého jádra bílé krvinky měřením jaderné lobularity a hustoty, což umožňuje identifikaci tzv. "blastů". Bononi et al. (2001) ještě dodává, že zbarvení neutrofilů, monocytů a eosinofilů je založeno na úrovni jejich peroxidázové aktivity. Lymfocyty, bazofily, a LUC neobsahují peroxidázu a zůstanou neobarvené. Po srovnání s diferenciálem odvozeným peroxidázovým kanálem, je přístroj schopen generovat šestidílný diferenciální rozpočet a i jiné než různé morfologické znaky bílých krvinek: jaderné červené krvinky, nezralé granulocyty, atypické buňky a blasty. Kromě toho přístroj vypočítá procento blastů v periferní krvi.

Z červeného krevního obrazu pak Advia 120 měří např. hemoglobin pomocí průtokové cytometrie v kyanidu a kyanid-free metodami. Průtoková cytometrie je založena na nízkém a vysokém úhlu rozptylu laserového světla a používá se pro měření koncentrace hemoglobinu a objemu jednotlivých červených krvinek (Kunicka et al. 2001). Díky pokrokům v technologii, tj. automatizovaným hematologickým

analyzátorům, je možné zaznamenávat různé krevní parametry, mezi něž patří i velikost a tvar krevních destiček (Kunická et al. 2000). ADVIA 120 nabízí i různé další parametry týkající se krevních destiček, jako je mimo střední objem trombocytů (MPV) i distribuce šířky objemu trombocytů (PDW), trombokrit (PCT), průměrná hmotnostní koncentrace trombocytů (MPC), distribuce šířky hmotnostní koncentrace trombocytů (PCDW) a podobné. (Giacomini et al. 2001) ADVIA 120 je také schopna počítat částice o velikosti v blízkosti trombocytu a s indexem lomu lišícím se od trombocytu v důsledku jeho obsahu hemoglobinu (Lesseve et al. 2004).

Ačkoli hematologické analyzátory poskytují spolehlivá vyšetření krevního obrazu, je známo, že bývá nepřesný počet trombocytů u těžkých trombocytopenií (Segal et al. 2005), což potvrzuje i Pierre (2002), který říká, že v ojedinělých případech se v souvislosti buď s krevními destičkami, nebo s jinými parametry z krevního obrazu mohou vyskytnout nesprávné výsledky.

2 Hypotézy a metodika výzkumu

2.1 Metodika výzkumu

V této práci byly sledovány hodnoty krevního obrazu při dodržení poměru krev-antikoagulant tak, jak jej požaduje výrobce odběrových vakuových zkumavek. Hodnoty byly porovnány s chybným odběrem ve smyslu nedodržení poměru krev-antikoagulant.

Výběrový soubor tvořilo sto pacientů, kteří byli odesláni na odběr do odběrové místnosti Synlab Czech s.r.o., U Tří lvů 4, České Budějovice svým ošetřujícím lékařem v období od prosince roku 2011 do června roku 2012. V souboru byli zdraví i nemocní pacienti ve věkovém rozmezí od 10 do 77 let.

Všem sto pacientům byla odebrána zkumavka s dodržáním poměru krev-antikoagulant dle pokynů výrobce (tedy 2 ml krve) a v rámci stejného odběru i druhá zkumavka, kde tento poměr nebyl dodržen.

U poloviny (tedy padesáti) pacientů byl tento poměr porušen tak, že krve bylo odebráno o 75 % méně, než požaduje výrobce, tedy 0,5 ml.

U druhé poloviny pacientů byl poměr porušen opačným směrem, odebráno bylo o 75 % krve více, než požaduje výrobce, tedy 3,5 ml.

Použitý materiál:

odběrové zkumavky s antikoagulantem K₂EDTA od výrobce Becton Dickinson – BD Vacutainer, šarže č. 1101236, expirace 8/2012

Pacientům, u kterých mělo být odebráno krve méně, než uvádí výrobce, byla krev odebrána vakuovým systémem:

jehly od firmy Becton Dickinson – BD Vacutainer, velikost 21G x 1,5", šarže 360213, expirace 4/2016

nástavce na jehly (viz příloha A)

U pacientů, kterým mělo být odebráno více krve, než uvádí výrobce, bylo nutno krev odebrat stříkačkou a teprve poté naplnit zkumavky s antikoagulantem:

stříkačky vyrobené firmou BD Discardit II, velikost 10 ml, šarže 1110134, expirace 9/2016.

jehly značky Terumo Neolus, velikost 21G x 1½", šarže 1012011, expirace 11/2015 (viz příloha B)

Veškeré odběry byly provedeny v souladu se standardním operačním postupem SOPA.ČB10 01 verze 01 Odběr vzorků žilní a kapilární krve, laboratoře Synlab Czech, s.r.o. a příručkou QS 13 Provoz odběrových pracovišť, laboratoře Synlab Czech, s.r.o.. Transport do laboratoře a příjem vzorku v laboratoři byl realizován podle pokynů příručky QS 11 verze 01 Postupy předcházející laboratorní vyšetření, laboratoře Synlab Czech, s.r.o.. Vzorky byly zpracovány do dvou hodin po odběru. To je v souladu s ohledem na stabilitu vzorku uvedenou v příručce Preanalytika 2005, která uvádí, že stabilita krevního obrazu je při +20 až +25 °C 5 hodin.

Veškeré vzorky byly měřeny na analyzátoru Advia 120, výrobce Bayer HealthCare LLC, výrobní číslo IR28850224, rok uvedení do provozu 2011, v laboratoři Synlab Czech, s.r.o., U Tří lvů 10, České Budějovice (viz příloha C). Vzorky byly před měřením vytemperovány na laboratorní teplotu a řádně promíchány, jak stanovuje výrobce přístroje v Příručce operátora Advia 2120 Návod k obsluze.

Sledovány byly veškeré hodnoty, které společnost Synlab Czech s.r.o. řadí do vyšetření krevního obrazu:

Množství červených krvinek (erytrocyty, RBC), udávané v $10^6/\mu\text{l}$

Krevní barvivo červených krvinek (hemoglobin, Hb), udávané v g/dl

Podíl červených krvinek v krvi (hematokrit, Hkt), udávaný v %

Průměrný objem červené krvinky (MCV), udávaný ve fl

Množství krevního barviva v červené krvince (MCH), udávané v pg

Koncentrace krevního barviva v červených krvinkách (MCHC), udávaná v g/dl

Množství krevních destiček (trombocyty, PLT), udávané v $10^3/\mu\text{l}$

Množství bílých krvinek (leukocyty, WBC), udávané v $10^3/\mu\text{l}$

Množství základních typů bílých krvinek (diferenciál leukocytů), tedy neutrofilů, lymfocytů, monocytů, eozinofilů, basofilů, udávané v procentech i v absolutních počtech bílých krvinek (viz příloha D)

Výsledky chybně a správně nabraného vzorku každého jednotlivého pacienta byly vzájemně statisticky porovnány pomocí párového t-testu, kdy hypotézu H_0 zamítneme na hladině α , platí-li:

$$|T| = \left| \frac{(\bar{X} - \Delta)\sqrt{n}}{S} \right| \geq t_{n-1}(\alpha)$$

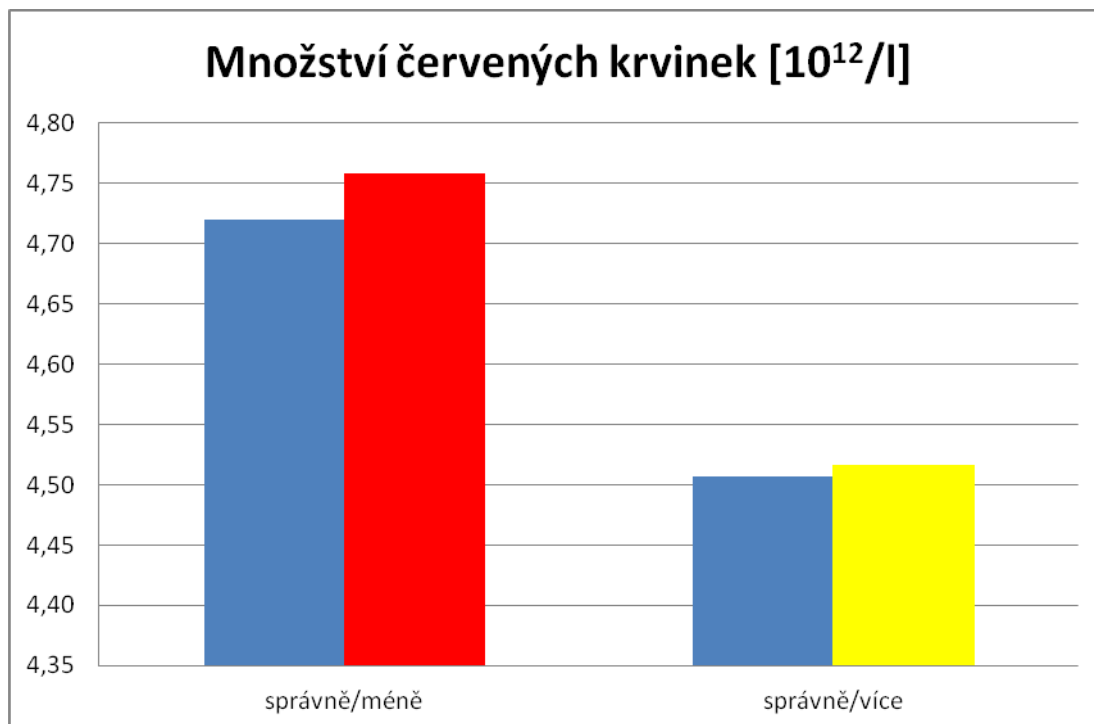
Párový t-test používáme, pokud jsou u každého z n objektů změřeny dvě veličiny. Rozhodování probíhá na hladině $\alpha = 0,5$.

2.2 Hypotézy

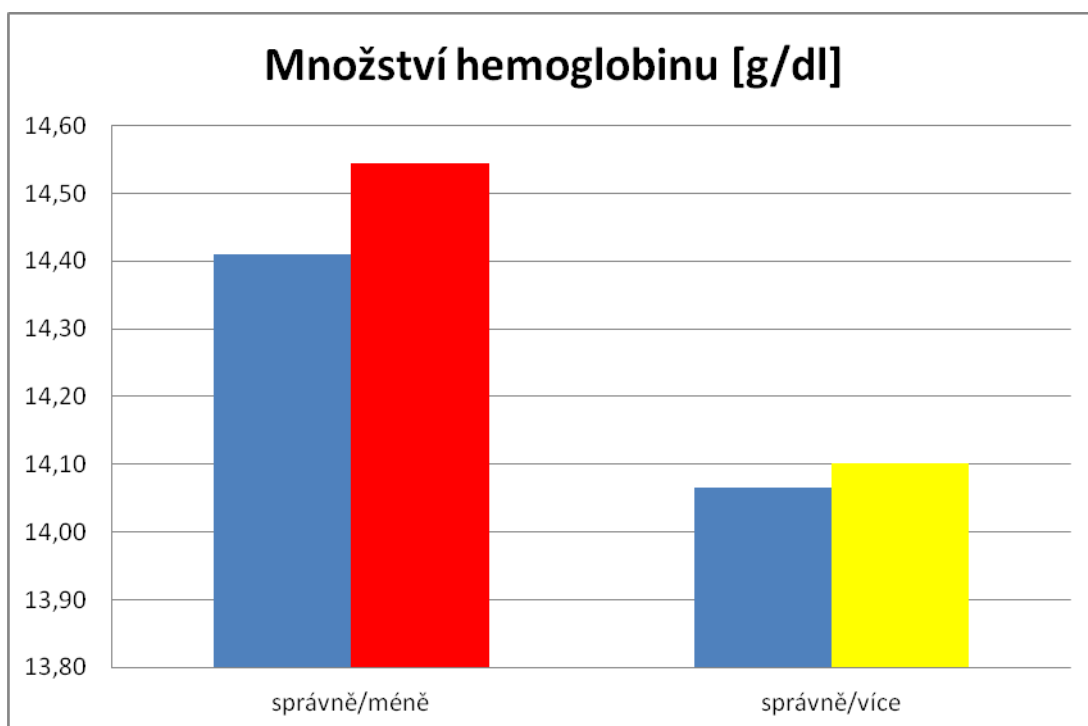
Hypotéza 1: odchylky vzniklé při chybném odběru při odebrání menšího množství krve, než požaduje výrobce zkumavek, budou statisticky významné při hladině významnosti 95 % u všech třinácti sledovaných hodnot krevního obrazu.

Hypotéza 2: odchylky vzniklé při chybném odběru při odebrání většího množství krve, než požaduje výrobce zkumavek, budou statisticky významné při hladině významnosti 95 % u všech třinácti sledovaných hodnot krevního obrazu.

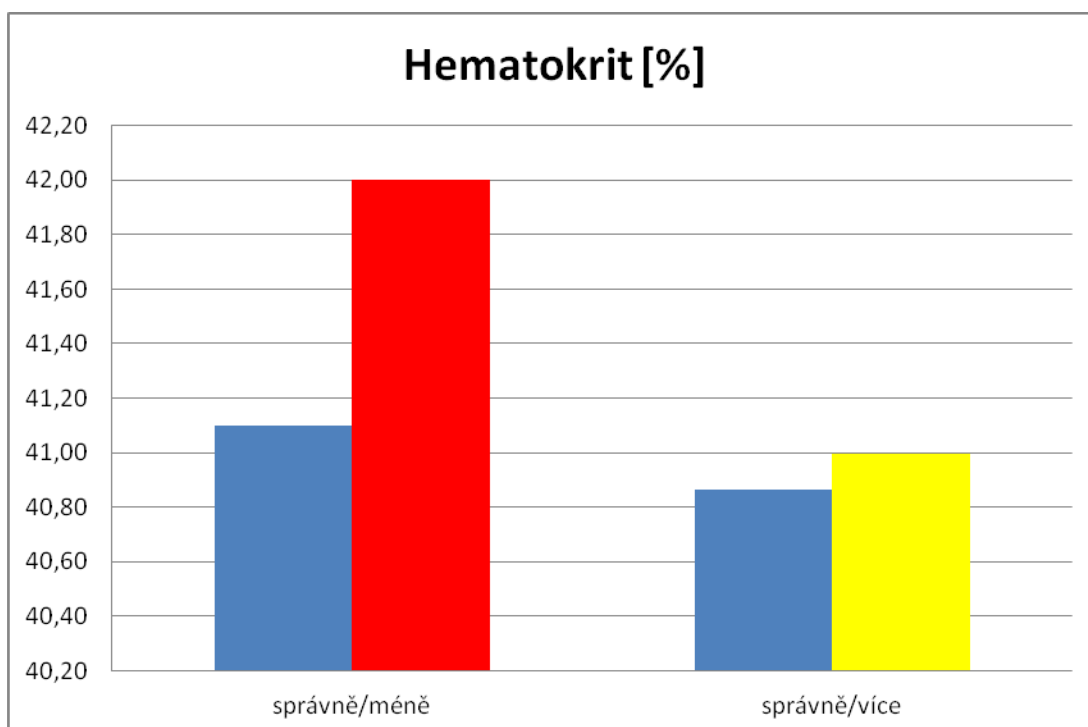
3 Výsledky



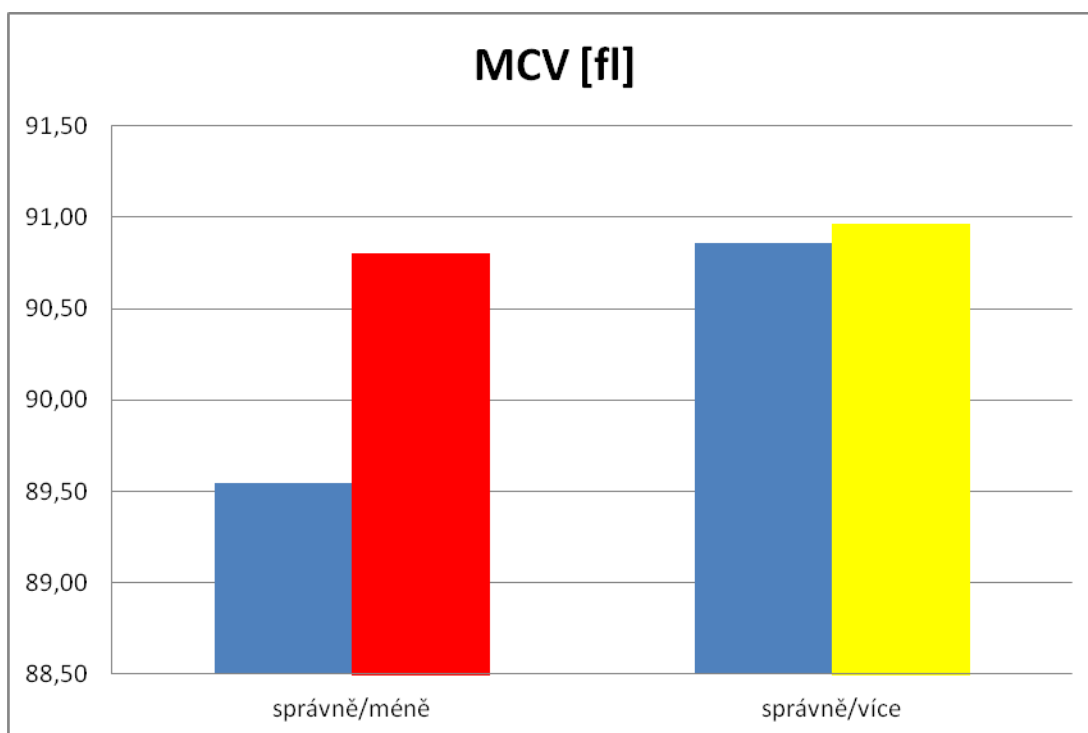
Graf č. 1: Porovnání množství červených krvinek [$10^{12}/l$] při odběru dle požadavků výrobce zkumavek a při chybném odběru (větší/menší množství krve, než udává výrobce zkumavek)



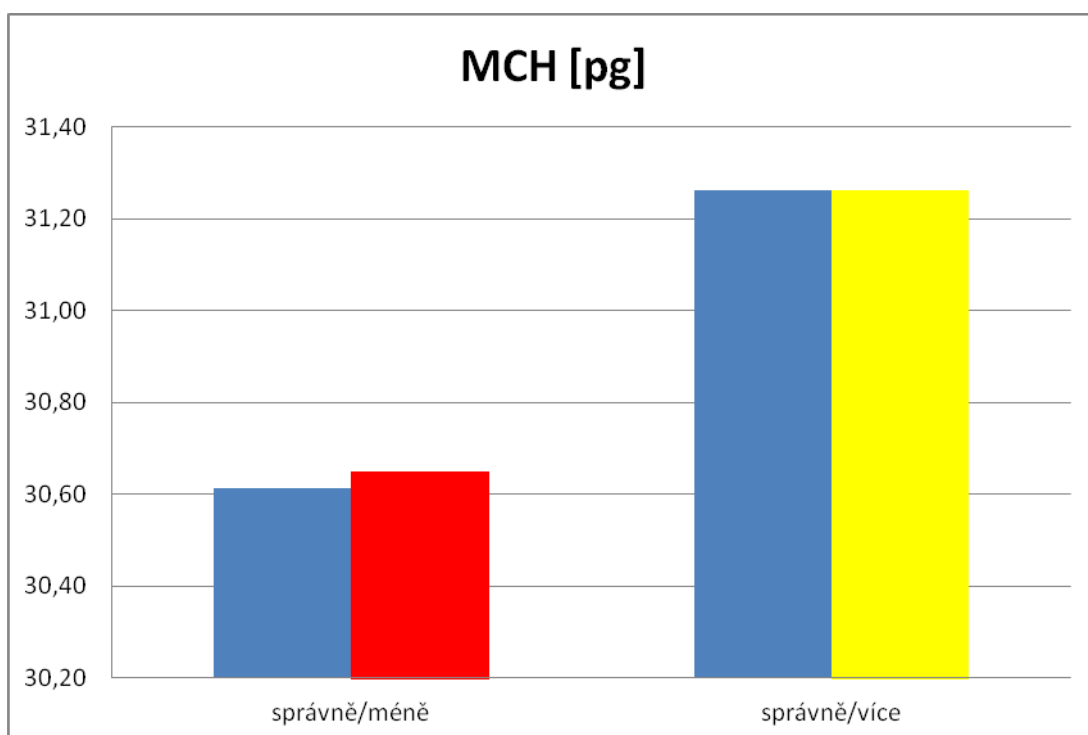
Graf č. 2: Porovnání množství hemoglobinu [g/dl] při odběru dle požadavků výrobce zkumavek a při chybném odběru (větší/menší množství krve, než udává výrobce zkumavek)



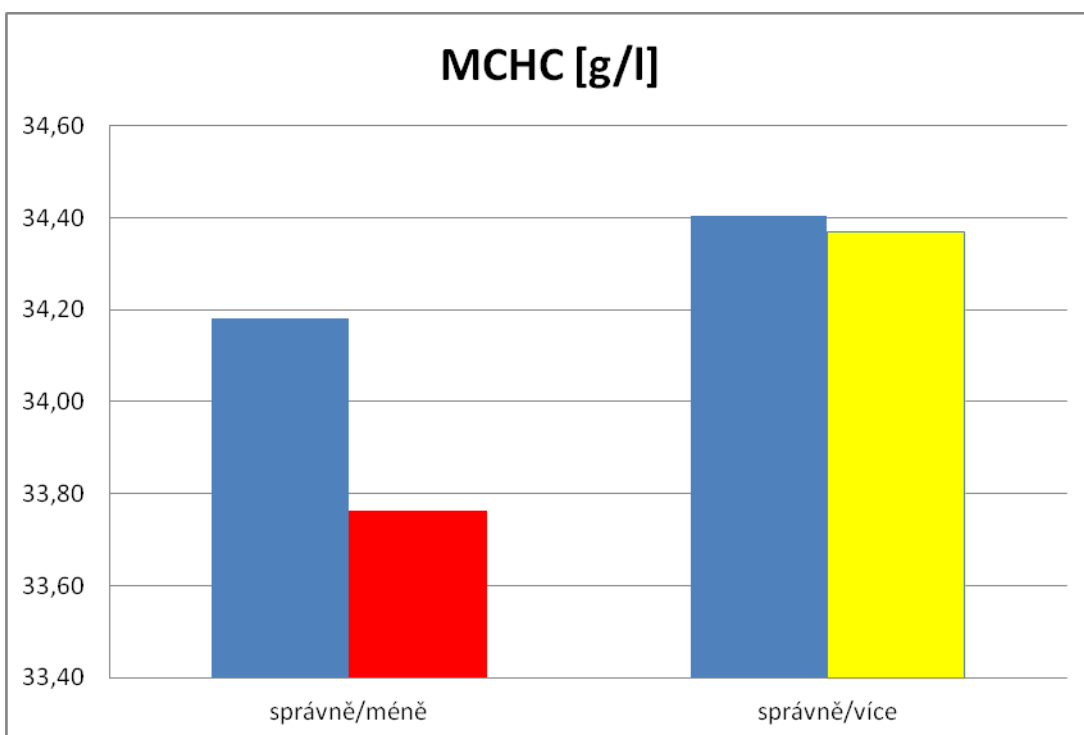
Graf č. 3: Porovnání hematokritu [%] při odběru dle požadavků výrobce zkumavek a při chybném odběru (větší/menší množství krve, než udává výrobce zkumavek)



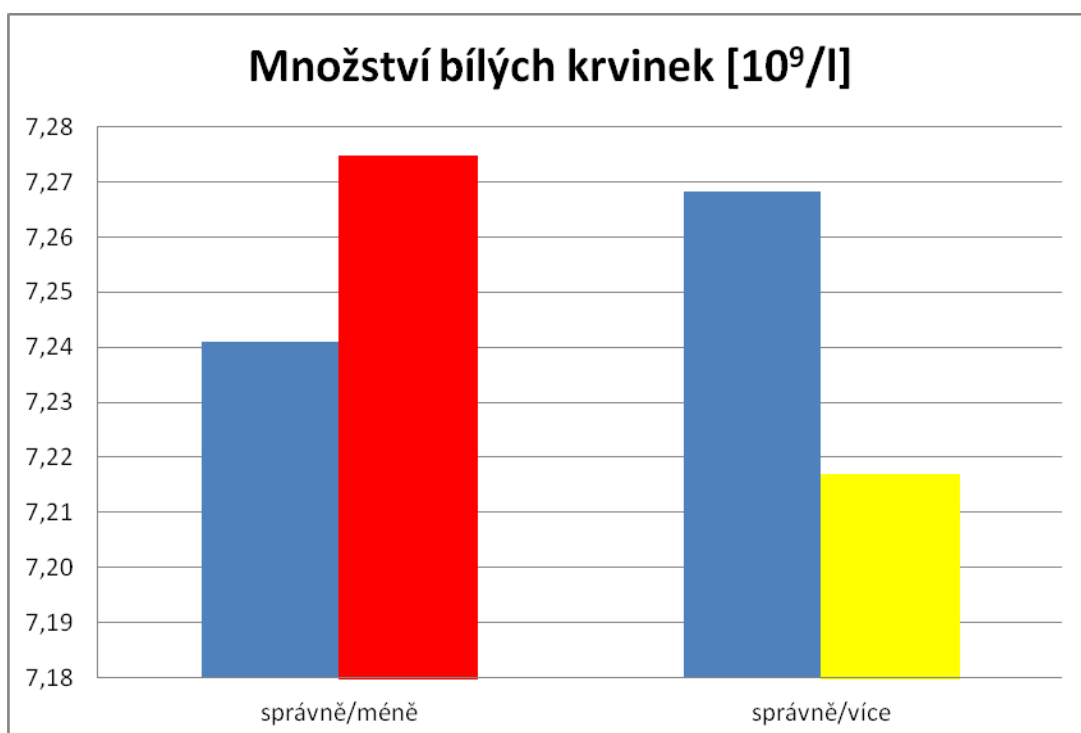
Graf č. 4: Porovnání MCV [fl] při odběru dle požadavků výrobce zkumavek a při chybném odběru (větší/menší množství krve, než udává výrobce zkumavek)



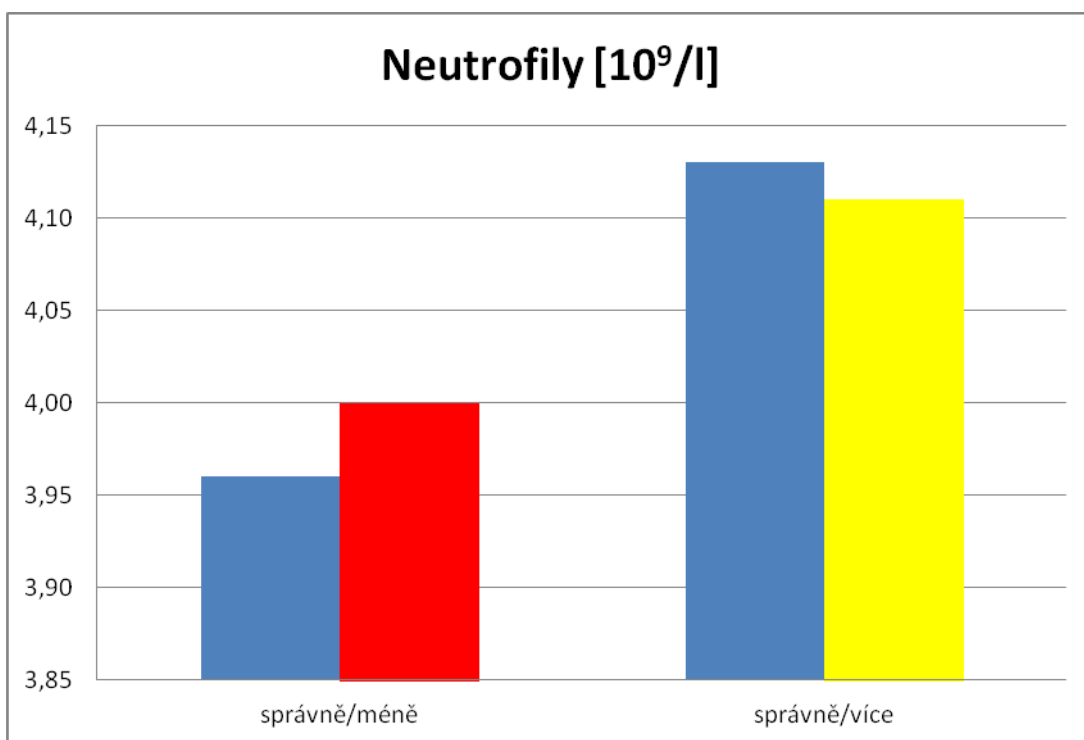
Graf č. 5: Porovnání MCH [pg] při odběru dle požadavků výrobce zkumavek a při chybném odběru (větší/menší množství krve, než udává výrobce zkumavek)



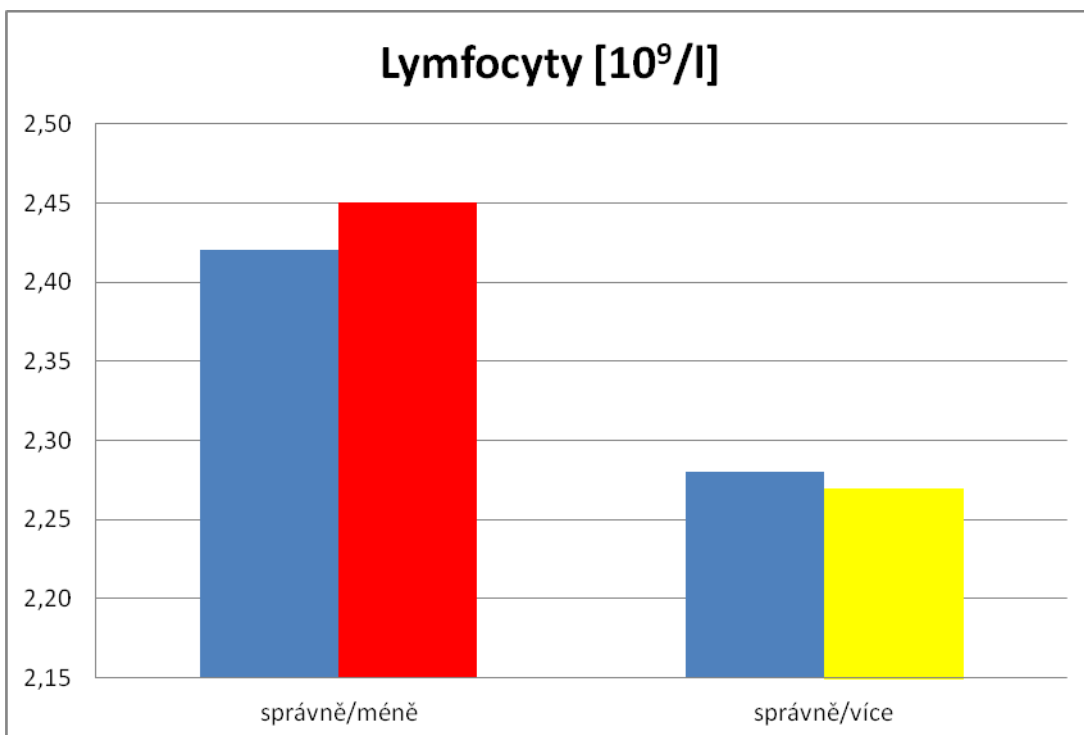
Graf č. 6: Porovnání MCHC [g/l] při odběru dle požadavků výrobce zkumavek a při chybném odběru (větší/menší množství krve, než udává výrobce zkumavek)



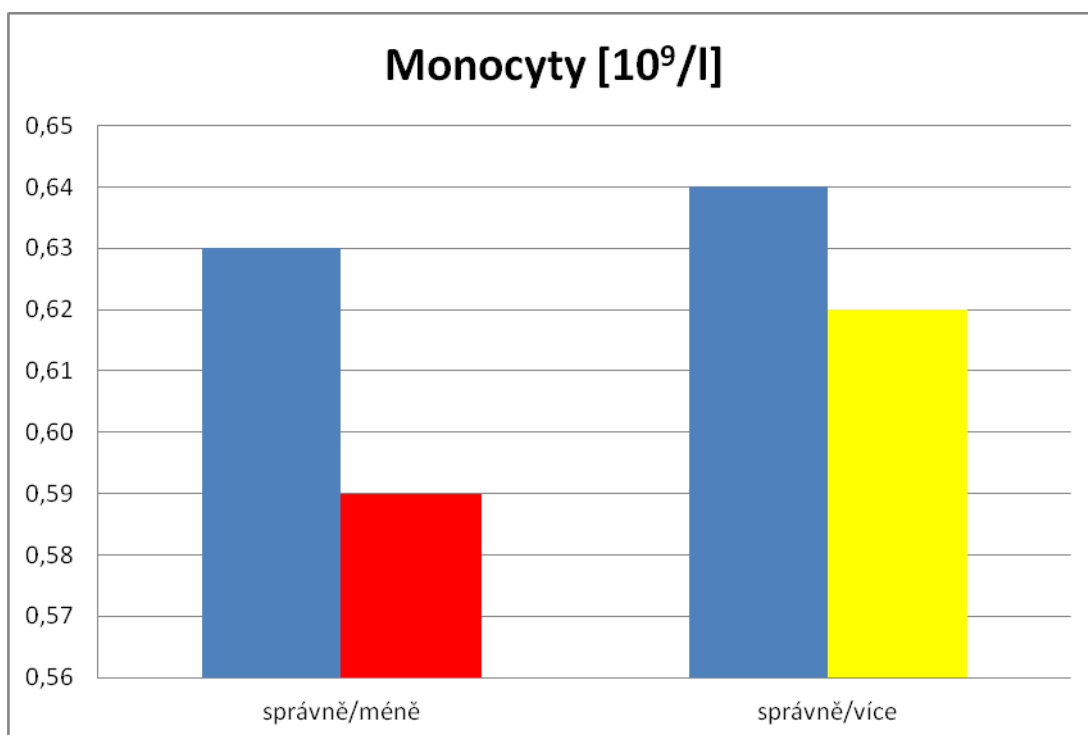
Graf č. 7: Porovnání množství bílých krvinek [$10^9/l$] při odběru dle požadavků výrobce zkumavek a při chybném odběru (větší/menší množství krve, než udává výrobce zkumavek)



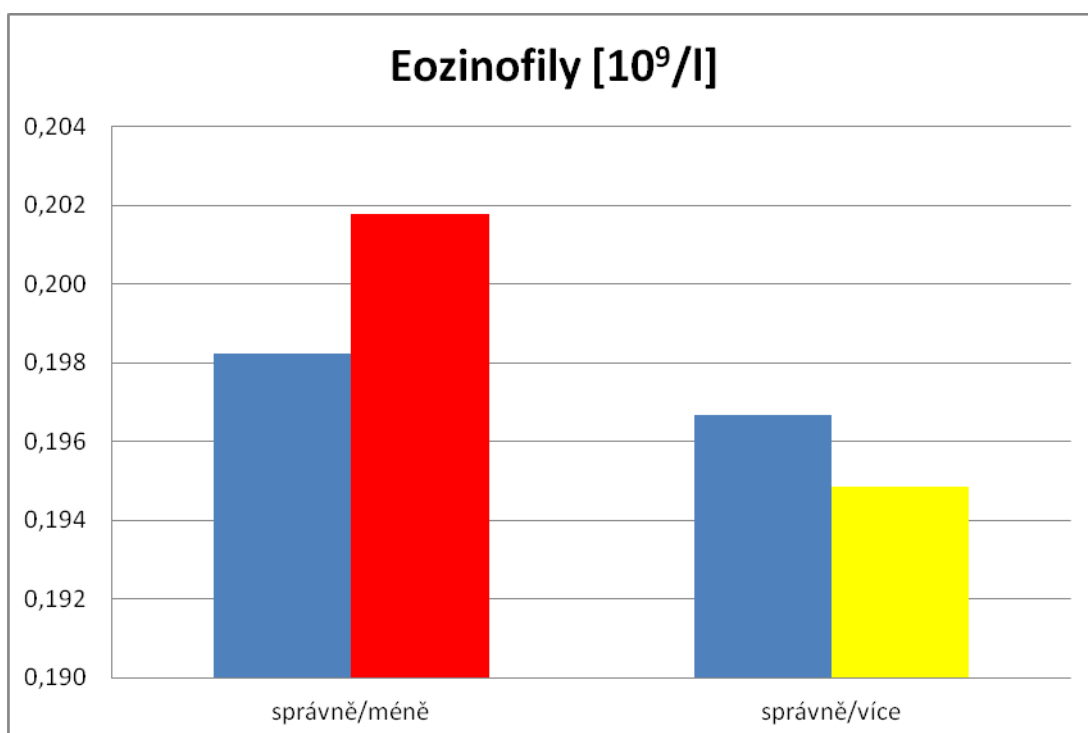
Graf č. 8: Porovnání množství neutrofilů [$10^9/l$] při odběru dle požadavků výrobce zkumavek a při chybném odběru (větší/menší množství krve, než udává výrobce zkumavek)



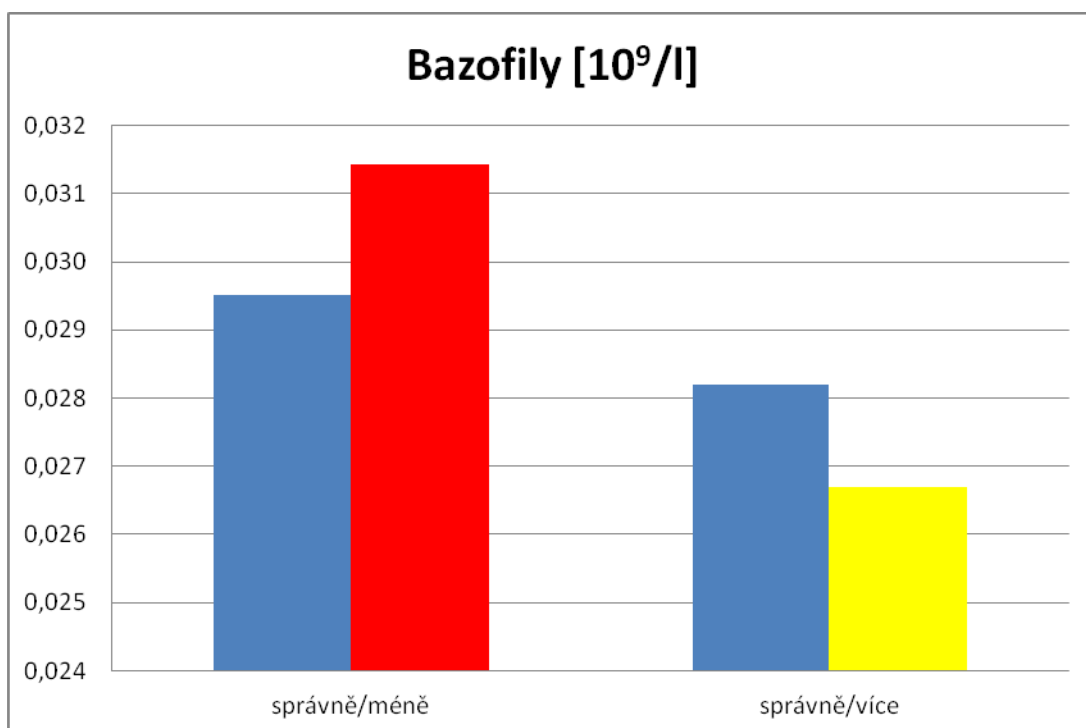
Graf č. 9: Porovnání množství lymfocytů [$10^9/l$] při odběru dle požadavků výrobce zkumavek a při chybném odběru (větší/menší množství krve, než udává výrobce zkumavek)



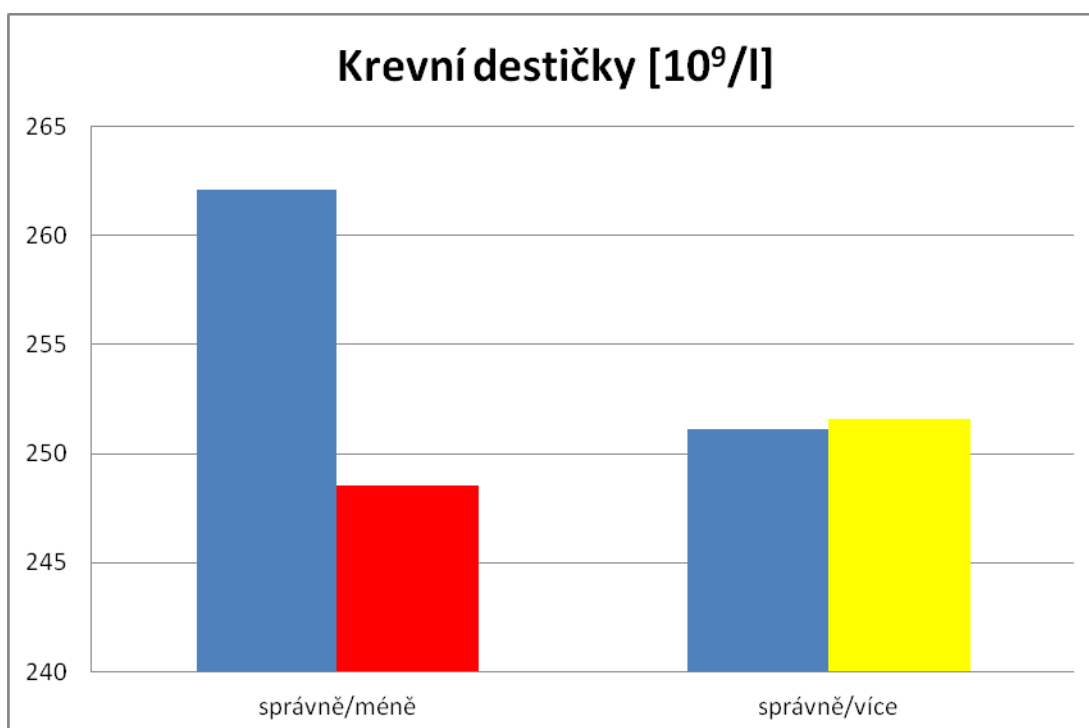
Graf č. 10: Porovnání množství monocytů [$10^9/l$] při odběru dle požadavků výrobce zkumavek a při chybném odběru (větší/menší množství krve, než udává výrobce zkumavek)



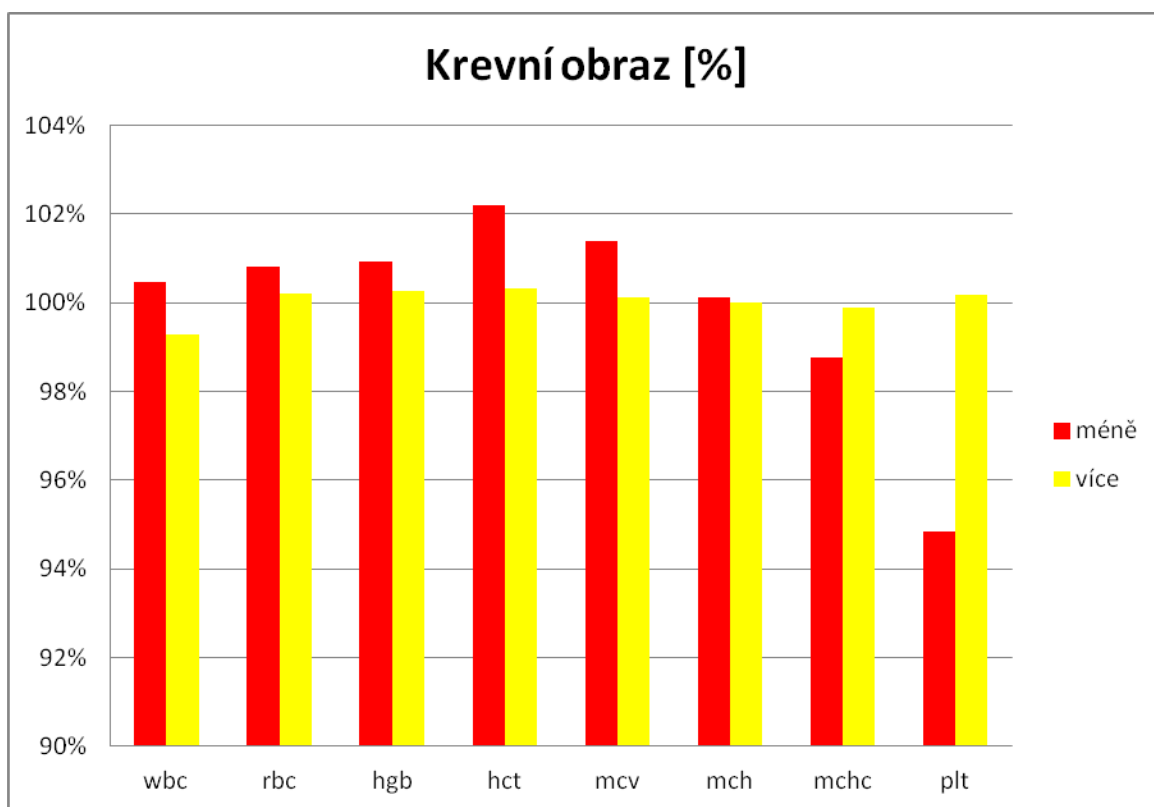
Graf č. 11: Porovnání množství eozinofilů [$10^9/l$] při odběru dle požadavků výrobce zkumavek a při chybném odběru (větší/menší množství krve, než udává výrobce zkumavek)



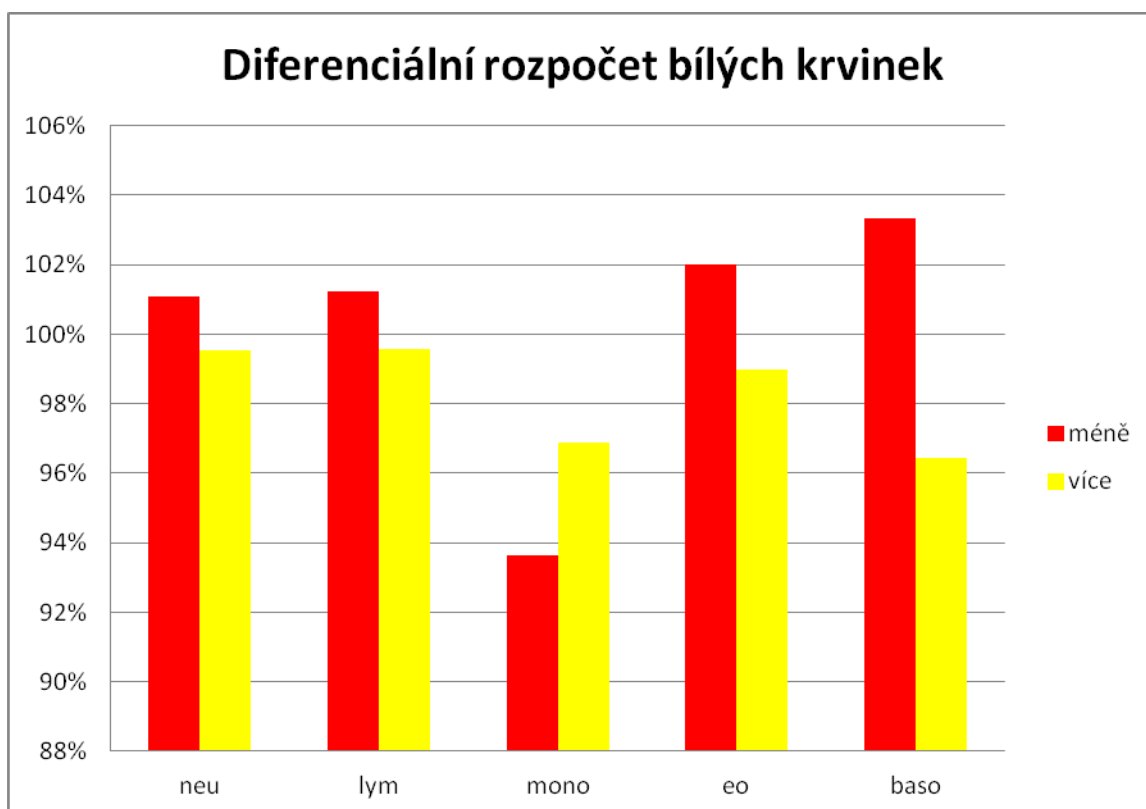
Graf č. 12: Porovnání množství bazofilů [$10^9/l$] při odběru dle požadavků výrobce zkumavek a při chybném odběru (větší/menší množství krve, než udává výrobce zkumavek)



Graf č. 13: Porovnání množství krevních destiček [$10^9/l$] při odběru dle požadavků výrobce zkumavek a při chybném odběru (větší/menší množství krve, než udává výrobce zkumavek)



Graf č. 14: Odchylka chybných odběrů od odběrů podle požadavků výrobce zkumavek



Graf č. 15: Odchylka chybných odběrů od odběrů podle požadavků výrobce zkumavek

Tabulka č. 1: Významnost odchylky chybných odběrů od odběrů podle požadavků výrobce zkumavek

Krevní obraz [Pr > t]								
	wbc	rbc	hgb	hkt	mcv	mch	mchc	plt
méně	0,4083	0,0002	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	0,5328	< 0,0001	< 0,0001
více	0,1094	0,5533	0,4857	0,3062	0,0035	1,0000	0,5793	0,8306

Tabulka č. 2: Významnost odchylky chybných odběrů od odběrů podle požadavků výrobce zkumavek

Diferenciální rozpočet bílých krvinek [Pr > t]					
	neu	lym	mono	eo	baso
méně	0,0228	0,2533	< 0,0001	0,4658	0,3248
více	0,3146	0,7851	0,1499	0,9037	0,4695

4 Diskuze

V této práci bylo hodnoceno třináct položek krevního obrazu vždy u dvou zkumavek odebraných při stejném odběru jednomu pacientovi (z hlediska poměru krev-antikoagulant chybný a správný odběr), viz příloha E. U parametrů sledovaných při chybných odběrech se předpokládalo, že dojde ke statisticky významným odchylkám, a to v obou variantách chybného odběru. Tato hypotéza se však nepotvrdila. U chybných odběrů, kdy bylo nabráno více krve, než požaduje výrobce odběrových zkumavek, nedošlo ke statisticky významné odchylce ani v jednom případě. U druhé varianty chybného odběru, tedy při odebrání méně krve, než udává výrobce odběrových zkumavek, se statisticky významně odchýlila více než polovina sledovaných hodnot. Odchytky v závislosti na druhu chyby se u jednotlivých parametrů liší. Lze předpokládat, jak uvádí Lippi et al. (2006), že chyba ve smyslu nesprávného objemu odebrané krve nastane méně pravděpodobně při odběru krve školeným laboratorním personálem než zdravotní sestrou. Rozdíl však není příliš významný.

Z grafu číslo 1. je zřejmé, že pokud se do zkumavky odebere méně krve, než požaduje výrobce zkumavek, dojde k mírnému zvýšení množství červených krvinek, a to ze $4,72 * 10^{12}/l$ na $4,76 * 10^{12}/l$, tedy o $0,04 * 10^{12}/l$ (0,85 %). Oproti tomu ve zkumavce, kde bylo odebráno krve více, než je požadováno, došlo jen k nepatrným změnám v počtu červených krvinek. Ve správně odebrané zkumavce bylo v tomto případě naměřeno $4,51 * 10^{12}/l$, v chybně odebrané zkumavce $4,52 * 10^{12}/l$. Hodnota p-value chybného odběru s odebráním menšího množství krve je 0,0002, což znamená, že jde o statisticky významnou odchylku. U hodnoty chybného odběru s odebráním většího množství krve je p-value 0,5533, jde tedy o odchylku statisticky nevýznamnou (viz tabulka č. 1 na str. 56). Červené krvinky mohou být falešně zvyšovány až o 10 % i zatažením paže při odběru na déle než 2 minuty nebo odběrem bezprostředně po fyzické námaze. Naopak falešné snižování může být v přítomnosti aglutininů (Anonym3 2013).

Hodnoty hemoglobinu se při porovnávání správně a chybně odebrané zkumavky ve smyslu poměr antikoagulant – krev liší více v případě, kdy je nabráno méně krve, jak je zřejmé z grafu číslo 2. V tomto případě došlo k navýšení množství hemoglobinu ze 14,41g/dl na 14,55 g/dl, což je zvýšení o 0,14 g/dl (0,97 %). U zkumavky, kde bylo nabráno krve více, došlo opět jen k zanedbatelnému navýšení z 14,07 g/dl na 14,10 g/dl. P-value (tabulka č. 1) je v případě zkumavky s menším množstvím krve $< 0,0001$, to odpovídá statisticky významné odchylce. Oproti tomu u zkumavky s větším množstvím krve je p-value 0,4857, odchylka tedy není statisticky významná. Falešné zvýšení hemoglobinu až o 3 g/dl může způsobit i hypertriacylglycerolemie – lipémie, leukocytóza ($> 20 * 10^9/l$), nebo trombocytóza ($> 700 * 10^9/l$) (Anonym3 2013).

U hematokritu došlo ve zkumavce, kde bylo odebráno méně krve, k výrazné změně, opět k navýšení. V tomto případě jde o zvýšení o 0,9 % z 41,10 % na 42,00 %. Při porovnání, kdy jako správný výsledek bude považována hodnota ze správně provedeného odběru, se tedy hodnota hematokritu zvyšuje o 2,19 %. To je v rozporu se zjištěním Jabora et al. (2008), že vyšší koncentrace EDTA snižuje hematokrit. V případě, kdy bylo odebráno do zkumavky více krve, než je norma, dochází k velmi mírnému zvýšení množství hematokritu, konkrétně z 40,86 % na 40,99 %, viz graf č. 3. Jak je zřejmé z tabulky č. 1, tyto závěry potvrzuje i hodnota p-value, která u menšího množství krve ve zkumavce odpovídá $< 0,0001$, tedy statisticky významné odchylce, zatímco u většího množství krve ve zkumavce je tato hodnota 0,3062, odchylka proto není významná. K falešnému zvýšení hematokritu může docházet i při leukocytóze nebo zvýšení retikulocytů, až o 10 % i zatažením paže při odběru na déle než 2 minuty nebo odběrem bezprostředně po fyzické námaze (Anonym3 2013).

Graf č. 4 ukazuje zvýšení hodnot MCV při variantě chybného odběru, kdy bylo nabráno méně krve, než je požadováno. Jabor et al. (2008) uvádí, že při používání K_3EDTA by oproti v této studii užívanému antikoagulantu K_2EDTA docházelo při vyšších koncentracích antikoagulantu ke srašťování červených krvinek, a tím i snižování MCV. Za použití K_2EDTA však bylo MCV chybným odběrem zvýšeno z 89,55 fl na 90,81 fl, což znamená zvýšení o 1,26 fl (1,41 %). To se shoduje i s tvrzením Anděla et al. (2001), který říká, že chybný odběr je příčinou změn

v hodnotách MCV. Nepotvrdilo se to však u chyby, kdy bylo odebráno více krve, než je požadováno. V tomto případě jsou změny velmi malé, konkrétně z 90,86 fl na 90,97 fl. I zde je v případě menšího množství krve p-value < 0,0001, odchylka je tedy statisticky významná. Oproti tomu p-value v případě většího množství krve je 0,0035, jde tedy ještě o odchylku nevýznamnou (viz tabulka č. 1). MCV může vycházet falešně vyšší i při hyperglykemii nad 30 mmol/l nebo při přítomnosti aglutininů (Anonym3 2013).

U hodnot MCH nedochází k zásadním rozdílům mezi chybným a správným odběrem ani v jednom případě chybného odběru, což je patrné i z grafu č. 5. Je-li nabráno krve méně, MCH je zvýšeno z 30,61 pg na 30,65 pg. Je-li krve nabráno více, ke změně nedochází vůbec, MCH je v obou případech 31,26 pg. V případě MCH jsou obě odchylky statisticky nevýznamné, u zkumavky s menším množstvím krve je p-value 0,5328, u většího množství krve dokonce není odchylka žádná, p-value je 1,0000, což je patrné z tabulky č. 1. Výpočet MCH může selhat u leukocytózy ($> 50 \cdot 10^9/l$) a u hypertriacylglycerolemie – lipémie (Anonym3 2013).

Oproti tomu u MCHC ke změnám dochází u obou typů chybných odběrů (viz graf č. 6). Pokud je krve nabráno méně, hodnoty MCHC poklesnou z 34,18 g/l na 33,76 g/l, což je snížení o 0,42 g/l (1,23 %). Pokud je krve nabráno více, MCHC klesá méně výrazně – z 34,40 g/l na 34,37 g/l. Zde dochází u menšího množství krve opět ke statisticky významné odchylce, p-value je < 0,0001, u většího množství krve oproti tomu není odchylka statisticky významná, p-value je 0,5793 (tabulka č. 1). Stejně jako u MCV i zde může docházet k falešnému zvýšení při hyperglykemii nad 30 mmol/l (Anonym3 2013).

Hodnoty bílých krvinek se v obou chybných odběrech vychýlily opačnými směry. U zkumavky s menším množstvím odebrané krve došlo ke zvýšení počtu bílých krvinek ze $7,24 \cdot 10^9/l$ na $7,27 \cdot 10^9/l$, zatímco u zkumavky s větším množstvím odebrané krve došlo ke snížení počtu bílých krvinek ze $7,27 \cdot 10^9/l$ na $7,22 \cdot 10^9/l$ (graf č. 7). Z tabulky č. 1 je zřejmé, že u bílých krvinek jsou obě hodnoty statisticky nevýznamné. V případě, kdy je nabráno méně krve, je p-value 0,4083, je-li nabráno krve více, je p-value 0,1094. K pseudoleukocytóze může docházet v přítomnosti kryoglobulinů

(Anonym3 2013). U některých pacientů se projevuje citlivost na EDTA, což má za následek silnou a ireverzibilní agregaci trombocytů. Tato agregace může také uměle zvýšit počet leukocytů (Anonym4 2009).

Graf č. 8 znázorňuje odchylky v absolutním počtu neutrofilů. Pokud je nabráno méně krve, hodnoty se mění z $3,96 * 10^9/l$ na $4,00 * 10^9/l$, pokud je krve nabráno více, mění se jen mírně, a to ze $4,13 * 10^9/l$ na $4,11 * 10^9/l$. Statisticky nevýznamné jsou i tyto odchylky, v prvním případě je p-value 0,0228, v druhém pak 0,3146 (tabulka č. 2). To je v rozporu s tvrzením Bunešové et al. (2011), která říká, že nedostatečný objem materiálu vzhledem k dodržení poměru krve a aditiva je důvodem k odmítnutí vzorku.

I u grafu č. 9 jsou patrné jen malé rozdíly. V případě odběru, kde je nabráno krve méně, se hodnoty lymfocytů změnily z $2,42 * 10^9/l$ na $2,45 * 10^9/l$. Ve zkumavce, kde bylo nabráno krve více, než požaduje výrobce, z $2,28 * 10^9/l$ na $2,27 * 10^9/l$, dochází tedy jen k malému snížení. Stejně jako u předchozích dvou grafů, jsou i zde odchylky nevýznamné – je-li nabráno krve méně, p-value je 0,2533. Je-li nabráno krve více, hodnota p-value je 0,7851. Rozdíl hodnot je tedy opravdu jen minimální, to lze opět odečíst v tabulce č. 2. I zde jsou tyto naměřené hodnoty v rozporu s tvrzením Bunešové et al. (2011), která uvádí, že nedostatečný objem materiálu vzhledem k dodržení poměru krve a aditiva je důvodem k odmítnutí vzorku.

U monocytů (graf č. 10) jsou v případě snížení množství krve ve zkumavce rozdíly markantnější. Hodnoty monocytů jsou sice sníženy jen o $0,04 * 10^9/l$, ale při množství ve správně odebrané zkumavce $0,63 * 10^9/l$ a v chybně odebrané zkumavce $0,59 * 10^9/l$ to znamená rozdíl 6,35 %. To je v souladu s informací Anonym4 (2009), že nadměrné nebo nedostatečné naplnění zkumavky může mít za následek srážení krve nebo chybné výsledky testu. Je-li do zkumavky nabráno krve více, snížení hodnot monocytů je nižší, tedy z $0,64 * 10^9/l$ na $0,62 * 10^9/l$. V případě monocytů je rozdíl u zkumavky, kde bylo nabráno méně, statisticky významný, p-value je $< 0,0001$. Pokud bylo krve nabráno více, p-value vyšlo 0,1499, odchylka není statisticky významná (viz tabulka č. 2).

Z grafu č. 11 je zřejmé, že výsledky v obou chybně odebraných zkumavkách se liší jen nepatrně. Ve zkumavce s nižším množstvím krve se množství eozinofilů zvýšilo z $0,198 * 10^9/l$ na $0,202 * 10^9/l$. Ve zkumavce s vyšším množstvím krve je ještě menší rozdíl – z $0,197 * 10^9/l$ na $0,195 * 10^9/l$. V případě eozinofilů jsou obě odchylky statisticky nevýznamné, v prvním případě je hodnota p-value (tabulka č. 2) 0,4658. V druhém pak 0,9037, což znamená, že tyto hodnoty se téměř nelišily. To je v souladu s tvrzením Zimy et al. (2008), že draselné soli EDTA mají malý vliv na laboratorní testy.

Hodnoty bazofilů se změnilы shodně o $0,001 * 10^9/l$. V případě nižšího množství krve šlo o zvýšení z $0,030 * 10^9/l$ na $0,031 * 10^9/l$, v případě vyššího množství krve pak o snížení z $0,028 * 10^9/l$ na $0,027 * 10^9/l$, viz graf č. 12. P-value je u menšího množství krve 0,3248 a u většího množství krve 0,4695, obě tyto hodnoty v tabulce č. 2 značí, že odchylky nebyly statisticky významné.

Graf č. 13 znázorňuje změny v množství krevních destiček. Dobře patrný je rozdíl u zkumavky, kde bylo krve odebráno méně, množství krevních destiček zde klesá z $262 * 10^9/l$ na $249 * 10^9/l$, což je rozdíl $13 * 10^9/l$ (4,96 %). To je v souladu s Lukášem et al. (2009), který udává, že EDTA může způsobit pseudotrombocytopenii, tedy falešné snížení počtu krevních destiček (Lukáš et al. 2009), pokud není dodržen poměr 0,1 ml EDTA na 2 ml krve (Vytejčková et al. 2013). Může to být způsobeno tzv. „fenomémem EDTA“, kdy dochází ke shlukování krevních destiček ve vzorcích odebraných do antikoagulantu EDTA, toto lze řešit novým odběrem do citrátu. Nebo tzv. „satelitismem“ krevních destiček, kdy některé krevní destičky přilnou k membráně bílých krvinek (Penka et al. 2011, Anonym4 2009).

Několik studií, ve kterých byl analyzátor Advia 120 použit ke sledování aktivace krevních destiček, bylo již publikováno, ale v současné době je k dispozici jen málo informací o vlivu preanalytických proměnných, a zejména o správné volbě antikoagulantů a optimálních podmínkách pro uchovávání vzorků (Macey et al. 2002).

Je-li krve nabráno více, nedochází k tak velkým rozdílům. V této studii došlo k minimálnímu zvýšení, konkrétně z $251 * 10^9/l$ na $252 * 10^9/l$. Hodnoty p-value jsou

zde rozdílné, u zkumavky s menším množstvím krve je tato hodnota $< 0,0001$, odchylka je tedy statisticky významná. Při větším množství je p-value 0,8306, odchylka je tedy minimální a statisticky není významná (tabulka č. 1).

Grafy č. 14 a č. 15 zobrazují odchylku chybných odběrů od odběrů podle požadavků výrobců zkumavek. Hodnota sto procent znázorňuje hodnotu správně provedeného odběru, sloupce pak ukazují hodnoty zjištěné u obou typů chybného odběru.

Z grafu č. 14 je patrné, že v rámci krevního obrazu je významnější rozdíl u hodnot krevních destiček (odběr s menším množstvím krve, než požaduje výrobce zkumavek). Může zde dojít k pseudotrombocytopenii, což je, jak uvádí Doubek et al. (2012), falešné snížení počtu krevních destiček. Kyselina ethylendiamintetraoctová (EDTA) je antikoagulant doporučovaný pro odběry krve určené k vyšetření krevního obrazu, nicméně může způsobovat právě zmíněné shlukování trombocytů (Macey et al. 2002). To může být minimalizováno vhodnými postupy při odběru krve, ale musí být využita i vhodná antikoagulační a skladovací teplota, aby bylo možné zachovat stupně aktivace, která existovala in vivo. Dále může být aktivace in vitro ovlivněna nejen antikoagulantem, ale také teplotou, při které jsou uloženy vzorky, a časem, který uplynul od odběru (Golanski et al. 1996, Hickerson et al. 2002, McCarthy 2001). Významné rozdíly nastávají i u hodnot hematokritu (odběr s menším množstvím krve, než požaduje výrobce zkumavek). Naopak u hodnoty MCH se ani jeden typ chybného odběru téměř neliší od správného odběru. K dalším změnám, resp. ke snížení o 1-2 %, u sledovaných hodnot by dle tvrzení Jabora et al. (2008) zřejmě došlo, pokud by byl použit antikoagulant K_3EDTA místo použitého K_2EDTA .

Hodnoty zjišťované v rámci diferenciálního rozpočtu bílých krvinek jsou souhrnně znázorněny v grafu č. 15. Zřetelnější odchylky jsou u obou typů chybného odběru u hodnoty bazofilů a monocytů, statisticky významná je však pouze odchylka u hodnoty monocytů, kdy bylo nabráno krve méně, než požaduje výrobce zkumavek. K minimální odchylce dochází u hodnot neutrofilů a lymfocytů v obou variantách chybných odběrů.

5 Závěr

V rámci studie byly zjištěny mírné, klinicky nevýznamné odchylky, jejichž statistická významnost se lišila v závislosti na typu chyby při odběru. V případě, že při odběru krve pro vyšetření krevního obrazu nebyl dodržen poměr antikoagulantu K₂EDTA a krve, a to tak, že bylo odebráno o 75 % krve více, než požaduje výrobce odběrových zkumavek, všechny parametry krevního obrazu a diferenciálního rozpočtu bílých krvinek zůstaly bez statistické odchylky. V krevním obraze došlo k nejvýraznější odchylce u množství bílých krvinek, konkrétně ke snížení této hodnoty o 0,69 %, avšak ani tato odchylka není statisticky významná, což tedy vyvrací hypotézu číslo 2 (Odchylky vzniklé při chybném odběru při odebrání většího množství krve, než požaduje výrobce zkumavek, budou statisticky významné při hladině významnosti 95 % u všech třinácti sledovaných hodnot krevního obrazu.). Množství červených krvinek, hemoglobinu, hematokrit, hodnota MCV, MCH a MCHC, i počet krevních destiček zůstaly téměř beze změn.

U diferenciálního rozpočtu bílých krvinek došlo při odebrání většího množství krve v rámci studie k většímu rozptylu hodnot, nicméně ani jedna z nich není statisticky významná. Absolutní počty neutrofilů a lymfocytů se téměř nelišily od výsledků správně provedeného odběru. V případě monocytů došlo při chybném odběru ke snížení hodnot o 3,12 % a v případě bazofilů dokonce o 3,57 %.

Z těchto zjištění lze odvodit, že takto chybně provedené odběry na vyšetření krevního obrazu by nemuselo být nutné v laboratoři odmítat vyšetřit, neboť změna parametrů krevního obrazu v těchto případech není příliš výrazná a odchylky nejsou statisticky a ani klinicky významné. Výsledky by bylo ale nutné podložit rozsáhlejším výzkumem, který by zahrnoval i jiné poměry odebrané krve s antikoagulantem a byl by proveden na dostatečně širokém, důkladně sestaveném (s ohledem na pohlaví a věk pacientů apod.) validovaném výběrovém souboru pacientů.

U druhého typu chybných odběrů bylo krve odebráno o 75 % méně, než požaduje výrobce odběrových zkumavek. Poměr antikoagulantu ke krvi se tedy zvýšil. Výsledky krevního obrazu se v tomto případě statisticky významně změnily u šesti z osmi měřených parametrů, což vyvrací hypotézu číslo 1, tedy že odchylky vzniklé při chybném odběru při odebrání většího množství krve, než požaduje výrobce zkumavek, budou statisticky významné při hladině významnosti 95 % u všech třinácti sledovaných hodnot krevního obrazu. Ke zvýšení hodnot došlo u čtyř parametrů. Množství červených krvinek se zvýšilo o 0,85 %, hemoglobinu o 0,97 %, hodnota hematokritu byla falešně zvýšena o 2,19 %, MCV o 1,41 %. V případě MCHC dochází k poklesu o 1,23 %. K největší odchylce došlo u krevních destiček, ty se vlivem chybného odběru falešně snížily o 4,96 %. Tato odchylka je pravděpodobně způsobena tím, že antikoagulantu EDTA je u tohoto typu chybných odběrů více v poměru ke krvi a EDTA působí proti aktivaci několika faktorů krevního srážení, při němž i krevní destičky hrají významnou roli.

V diferenciálním rozpočtu bílých krevních buněk se při odběru, kdy bylo odebráno krve méně, než je určeno výrobcem zkumavek, mírně zvýšily hodnoty neutrofilů, lymfocytů, eozinofilů i bazofilů. Statisticky významnou změnou je však pouze snížení monocytů o 6,35 %, což je zároveň největší rozdíl mezi správně a chybně odebranou zkumavkou, který byl v této studii zaznamenán.

Ačkoli v této variantě chybného odběru došlo k velkému množství statisticky významných odchylek, daly by se všechny tyto změny považovat za klinicky nepřilíš významné.

V případě, že by se i dalšími výzkumy závěry této práce potvrdily, bylo by možno v těch případech, kdy by odchylka nebyla označena za statisticky a zejména klinicky významnou, dosáhnout zefektivnění zdravotnické péče. Vedle úspory peněz z veřejného zdravotního pojištění za opakovaně prováděné odběry krve, by mohlo být dosaženo úspory času a práce jak personálu odebírajícího krev, tak personálu v laboratoři a v neposlední řadě k šetření pacientů, kteří by nemuseli v případě chybně provedeného odběru (ve smyslu chybný poměr antikoagulantu a odebrané krve) být odebírání znova.

To by bylo výhodou i pro správné stanovení diagnózy, neboť hodnoty krevního obrazu se mění poměrně rychle a často je právě ke správnému stanovení diagnózy potřeba znát aktuální stav pacienta. Dojde-li však v laboratoři k odmítnutí chybně nabraného vzorku, je nutno pacienta pozvat do ordinace na opakovaný odběr, nicméně hodnoty pacientova krevního obrazu se během této prodlevy mohou výrazně změnit a to může zkomplikovat správné určování diagnózy. Využití z hlediska poměru antikoagulantu a krve chybně odebraných vzorků by mělo být zvaženo alespoň u akutních případů.

Seznam informačních zdrojů

Adam Z, Vorlíček J, Bednařík J, Bolčák K, Čermáková Z, Doubek M, Dvořák K, Fojtík Z, Hájek R, Husa P, Chaloupka R, Chlupová G, et al. Hematologie pro praktické lékaře, Galén, Praha 2007.

Amundsen EK, Henriksson CE, Holthe MR, Urdal P. Is the Blood Basophil Count Sufficiently Precise, Accurate, and Specific? Three Automated Hematology Instruments and Flow Cytometry Compared. American Journal of Clinical Pathology. 137: 86-92, 2012

Anděl M, Gregor P, Horák J, Kment M, Widimský P. Vnitřní lékařství díl IIIb, Hematologie, Karolinum, Praha 2001.

Anonym1. Advia 2120 Hematology system - Příručka operátora, Bayer HealthCare LLC, Dublin 2005.

Anonym2. Doporučení pro hematologickou laboratoř - referenční meze, dostupné na www.hematology.cz/doporučení-chs-meze.php (citováno 15. 3. 2013)

Anonym3. Několik poznámek k laboratorní hematologii s ohledem na odběr materiálu a stabilitu vzorku, dostupné na <http://84.244.89.42/soubory/LEK%20-%20Pokyny%20pro%20odber%20a%20interpretaci%20vysledku.pdf> (citováno 20. 3. 2013)

Anonym4. Microtube for Automated Process with K₂EDTA, Becton, Dickinson and Company, Franklin Lakes 2009.

Atilola LR, Kamensky LA. Routine differential leucocyte count. In Ike SO, Nubila T, Ukaejiofo EO, Nubila IN, Shu EN, Ezema I. Comparison of haematological parameters determined by the Sysmex KX - 2IN automated haematology analyzer and the manual counts. BMC Clinical Pathology, 10: 3, 2010

Aulesa C, Pastor I, Naranjo D, Piqueras J, Galimany R. Validation of the Coulter LH 750 in a hospital reference laboratory. In Kang SH, Kim HK, Ham CK, Lee DS, Cho HI. Comparison of four hematology analyzers, CELL-DYN Sapphire, ADVIA 120, Coulter LH 750, and Sysmex XE-2100, in terms of clinical usefulness. *International Journal Of Laboratory Hematology*. 30: 480-486, 2008.

Bain JB, Bates I, Laffan MA, Lewis SM. *Dacie and Lewis Practical Haematology: Expert Consult: Online and Print*, Elsevier Churchill Livingstone, Edinburgh 2012.

Bessman JD, Gilmer PR, Gardner FH. Improved classification of anaemias by MCV and RDW. In Pecka M. *Laboratorní hematologie v přehledu: Fyziologie a patofyziologie krevní buňky*, FINIDR, Český Těšín 2006.

Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, Kipps TJ. *Williams Hematology*, McGraw-Hill Companies, USA 1995.

Bononi A, Lanza F, Dabusti M, Gusella M, Gilli G, Menon D, Toso S, Crepaldi G, Marena B, Abbasciano V, Ferrazzi E. Increased myeloperoxidase index and large unstained cell values can predict the neutropenia phase of cancer patients treated with standard dose chemotherapy. *Cytometry*. 46: 92-97, 2001

Bononi A, Lanza F, Ferrari L, Gusella M, Gilli G, Abbasciano V, Campioni D, Russo A, Menon D, Albertini F, Stivano L, Barile C, Crepaldi G, Toso S, Ferrazzi E, Pasini F. Predictive value of hematological and phenotypical parameters on postchemotherapy leukocyte recovery. *Cytometry Part B: Clinical Cytometry*. 76b: 328-333, 2009

Bunešová M, Blažková J, Coufal P, Friedecký B, Kapustová M, Kotrbatý J, Malina P. Doporučení k převzetí biologického materiálu klinickou laboratoří, ČSKB, 2011. Dostupné na <http://www.cskb.cz/res/file/doporuceni/Preanal/Dop-preanalytika-2.pdf> (citováno 20. 3. 2013)

Buttarello M, Bulian P, Temporin V, Rizzotti P. Sysmex SE-9000 hematology analyzer: performance evaluation on leukocyte differential counts using an NCCLS H20-A

protocol. In Kang SH, Kim HK, Ham CK, Lee DS, Cho HI. Comparison of four hematology analyzers, CELL-DYN Sapphire, ADVIA 120, Coulter LH 750, and Sysmex XE-2100, in terms of clinical usefulness. *International Journal Of Laboratory Hematology*. 30: 480-486, 2008.

Dítě P, Fischerová B, Groch L, Hlinomaz O, Hofírek I, Hude P, Meluzín J, Novák M, Panovský R, Špinarová L, Toman J, Vítovec J, et al. *Vnitřní lékařství Galén, Praha* 2007.

Donner L. *Klinická hematologie*, Avicenum, Praha 1985.

Doubek M, Folber F, Janíková A, Panovská A, Šálek D, Tošková M. *Hematologická onkologie: Leukemie a lymfomy v humánní medicíně*, Veterinární a farmaceutická univerzita, Brno 2012.

Dylevský I. *Funkční anatomie*, Grada Publishing, Praha 2009.

Friedecký B. Kvalita v klinické laboratoři a bezpečnost pacientů, *Klin. Biochem. Metab.*, 18 (39): 136-143, 2010.

Giacomini JE, Legovini P, Gessoni G, Antico F, Valverde S, Salvadego MM, Manoni F. Platelet count and parameters determined by the Bayer ADVIA 120 in reference subjects and patients. In Kim HK, Kim JE, Ham CK, Lee DS, Park S, Cho HI. Prognostic value of platelet indices as determined by ADVIA 120 in patients suspected of having disseminated intravascular coagulation. *International Journal of Laboratory Hematology*. 30: 117-123, 2008

Golanski J, Pietrucha T, Baj Z, Greger J, Watala C. Molecular insights into the anticoagulant-induced spontaneous activation of platelets in whole blood—various anticoagulants are not equal. In Macey M, McCarthy D, Azam U, Milne T, Golledge P, Newland A. Ethylenediaminetetraacetic acid plus citrate-theophylline-adenosine-dipyridamole (EDTA-CTAD): A novel anticoagulant for the flow cytometric

assessment of platelet and neutrophil activation ex vivo in whole blood. *Cytometry Part B: Clinical Cytometry*. 51B: 30-40, 2003

Goosens W, Van Duppen V, Verwilghen RJ. K2 a K3EDTA: the anticoagulant of choice in routine haematology?. In Pecka M. *Laboratorní hematologie v přehledu: Fyziologie a patofyziologie krevní buňky*, FINIDR, Český Těšín 2006.

Gross S, Roath S. *Hematology - A problem-oriented approach*, Williams & Wilkins, Baltimore 1996.

Hickerson DH, Bode AP. Flow cytometry of platelets for clinical analysis. In Macey M, McCarthy D, Azam U, Milne T, Golledge P, Newland A. Ethylenediaminetetraacetic acid plus citrate-theophylline-adenosine-dipyridamole (EDTA-CTAD): A novel anticoagulant for the flow cytometric assessment of platelet and neutrophil activation ex vivo in whole blood. *Cytometry Part B: Clinical Cytometry*. 51B: 30-40, 2003

Howard RM, Hamilton JP. *Haematology*, Churchill Livingstone, New York 1997.

Hrubiško M, Drobná V, Hrubíšková K, Sakalová A, Šterusková M. *Hematologie a krevní transfúze I*, Avicenum, Brno 1983.

Charvát J, Hrachovinová I, Pecka M. Doporučení ČHS ČSL JEP ke stabilitě a k transportu primárních vzorků biologického materiálu do hematologické laboratoře. www.hematology.cz/doporuzeni-chs-meze.php (citováno 16. 3. 2013)

Ike SO, Nubila T, Ukaejiofo EO, Nubila IN, Shu EN, Ezema I. Comparison of haematological parameters determined by the Sysmex KX - 2IN automated haematology analyzer and the manual counts. *BMC Clinical Pathology*, 10: 3, 2010

International Council for standardization in haematology. Recommendation for EDTA anticoagulation of blood for hematology testing. In Pecka M. *Laboratorní hematologie v přehledu: Fyziologie a patofyziologie krevní buňky*, FINIDR, Český Těšín 2006.

Jabor A, Fenclová E, Franeková J, Herold, I, Holub Z, Kazda A, Kvasnicová V, Pagáčová L, Pikner R, Štern P, Švarcová M, Vávrová J, et al. Vnitřní prostředí, Grada Publishing, Praha 2008.

Jabor A, Zámečník M. Preanalytická fáze 2005, SEKK, Praha 2005.

Jones RG, Faust A, Glazier J, Matthews R, Potter B. CELL-DYN 4000: utility within the core laboratory structure and preliminary comparison of its expanded differential with the 400-cell manual differential count. In Kang SH, Kim HK, Ham CK, Lee DS, Cho HI. Comparison of four hematology analyzers, CELL-DYN Sapphire, ADVIA 120, Coulter LH 750, and Sysmex XE-2100, in terms of clinical usefulness. International Journal Of Laboratory Hematology. 30: 480-486, 2008.

Kang SH, Kim HK, Ham CK, Lee DS, Cho HI. Comparison of four hematology analyzers, CELL-DYN Sapphire, ADVIA 120, Coulter LH 750, and Sysmex XE-2100, in terms of clinical usefulness. International Journal Of Laboratory Hematology. 30: 480-486, 2008.

Kittnar O, Jandová K, Kuriščák E, Langmeier M, Marešová D, Mlček M, Mysliveček J, Pokorný J, Riljak V, Trojan S. Lékařská fyziologie, Grada Publishing, Praha 2011.

Krška Z, Zima T, Baňář P, Brůha R, Burget F, Daneš J, Demeš R, Dostálík J, Feyereisel J, Fraško R, Frýba V, Hanuš T, et al. Techniky a technologie v chirurgických oborech, Grada Publishing, Praha 2011.

Kunicka J, Fischer E, Murphy J, Zelmanovic D. Improved platelet counting using two-dimensional laser light scatter. 2000. In Flesesve J-F, Salignac S, Lecompte T, Bordignon P. Automated measurement of schistocytes after bone marrow transplantation. Bone Marrow Transplantation. 34: 357-362, 2004.

Kunicka J, Malin M, Zelmanovic D, Katzenberg M, Canfield W, Shapiro P, Mohandas N. (2001). Automated quantitation of hemoglobin-based substitutes in whole blood samples. In. Bauer N, Moritz A. Evaluation for Measurement of Hemoglobin and

Calculated Hemoglobin Variables with the ADVIA 120 and ADVIA 2120 System in Goats, *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 20: 593-597, 2008

Lantis KL, Harris RJ, Davis G, Renner N, Finn WG. Elimination of instrument-driven reflex manual differential leucocyte counts. Optimization of manual blood smear review criteria in a high-volume automated hematology laboratory. In Ike SO, Nubila T, Ukaejiofo EO, Nubila IN, Shu EN, Ezema I. Comparison of haematological parameters determined by the Sysmex KX - 2IN automated haematology analyzer and the manual counts. *BMC Clinical Pathology*, 10: 3, 2010

Lesesve JF, Salignac S, Lecompte T, Bordignon P. Automated measurement of schistocytes after bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplantation*. 34: 357-362, 2004.

Lewis SM, Bentley SA. Haemocytometry by laser-beam optics: Evaluation of the Hemac 630L. In Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, Kipps TJ. *Williams Hematology*, McGraw-Hill Companies, USA 1995.

Lippi G, Bassi A, Brocco A, Montagnana M, Salvagno GL, Guidi GC. Preanalytic error tracking in a laboratory medicine department: results of a 1-year experiences. In Friedecký B. Chyby neanalytických fází vyšetření ve zdravotnické laboratoři, *Klinická biochemie a metabolismus*. 2: 111-115, 2007

Lukáš K, Žák A, Kocík M, Onderková R, Macášek R, Donoval R, Lambert L, Bušek P, Starzyková V, Mráčková M, Argalácsová S, Dvořák K, et al. *Chorobné znaky a příznaky*, Grada Publishing, Praha 2009.

Macey M, Azam U, McCarthy D, Webb L, Chapman ES, Okrongly D, Zelmanovic D, Newland A. Evaluation of the anticoagulants EDTA and citrate, theophylline, adenosine, and dipyridamole (CTAD) for assessing platelet activation on the ADVIA 120 hematology system. *Clinical Chemistry*. 48: 891-899, 2002

McCarthy DA, Introduction to the general principles of sampel preparation. In McCarthy DA, MaceyMG (ed). Cytometric analysis of cell phenotype and function. 2001. In: Macey M, McCarthy D, Azam U, Milne T, Golledge P, Newland A. Ethylenediaminetetraacetic acid plus citrate-theophylline-adenosine-dipyridamole (EDTA-CTAD): A novel anticoagulant for the flow cytometric assessment of platelet and neutrophil activation ex vivo in whole blood. Cytometry Part B: Clinical Cytometry. 51B: 30-40, 2003

McCarthy JM, Capuilar T, Spellacy WN. The correlation between automated hematology and manually read smears for the determination of nucleated red blood cells in umbilical cord blood. 2005. In Ike SO, Nubila T, Ukaejiofo EO, Nubila IN, Shu EN, Ezema I. Comparison of haematological parameters determined by the Sysmex KX - 2IN automated haematology analyzer and the manual counts. BMC Clinical Pathology, 10: 3, 2010

Mikšová Z, Froňková M, Zajíčková M. Kapitoly z ošetrovatelské péče II, Grada Publishing, Praha 2006.

Muller R, Mellors I, Johannessen B, Aarsand AK, Kiefer P, Hardy J, Kendall R, Scott CS. European multi-center evaluation of the Abbott Cell-Dyn sapphire hematology analyzer. In Kang SH, Kim HK, Ham CK, Lee DS, Cho HI. Comparison of four hematology analyzers, CELL-DYN Sapphire, ADVIA 120, Coulter LH 750, and Sysmex XE-2100, in terms of clinical usefulness. International Journal Of Laboratory Hematology. 30: 480-486, 2008.

Mullins CA. Specimen Collection. In Rodak BF, Fristma GA, Keohane EM. Hematology, Elsevier Health Sciences, 2007.

Nahm CHH, Choil JW, Lee J. Delta Neutrophil Index in Automated Immature Granulocyte Counts for Assessing Disease Severity of Patients with Sepsis. Ann Clin Lab Sci Summer. 38: 241-246, 2008

Navrátil L, Bartůňková J, Benešová V, Dítě P, Dusilová-Sulková S, Horáček J, Jebavý L, Krákorová G, Kuna P, Malý J, Navrátil J, Neuwirthová H, et al. Vnitřní lékařství, Grada Publishing, Praha 2008.

Nelson DA, Morris MW. Basic examination of blood. In Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, Kipps TJ. Williams Hematology, McGraw-Hill Companies, USA 1995.

Novis DS, Walsh M, Wilkinson D, St Louis M, Ben-Ezra J. Laboratory productivity and the rate of manual blood smear review: College of American Pathologist q-probes study of 95,141 complete blood count determinations performed in 263 institutions. In Ike SO, Nubila T, Ukaejiofo EO, Nubila IN, Shu EN, Ezema I. Comparison of haematological parameters determined by the Sysmex KX - 2IN automated haematology analyzer and the manual counts. BMC Clinical Pathology, 10: 3, 2010

Orkin HS, Nathan DG, Ginsburg D, Look TA, Fisher DE, Lux SE. Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood, Saunders Elsevier, Philadelphia 2009.

Pacovský V, Sucharda P. Úvod do medicíny, Karolinum, Praha 2002.

Pecka M, Bláha M, Fátorová I, Kratochvíla J, Měřička P, Pešková E, Sadílek P, Váchová M, Vokurková D, Vrbacký F. Praktická hematologie, Infiniti art, Český Těšín 2010.

Pecka M. Laboratorní hematologie v přehledu: Fyziologie a patofyziologie krevní buňky, FINIDR, Český Těšín 2006.

Penka M, Blatný J, Bourková L, Bulíková A, Čech Z, Jelínková M, Kissová J, Kořístek Z, Kovářová L, Kuglík P, Matýšková M, Novotný J, et al. Hematologie a transfuzní lékařství, Grada Publishing, Praha 2011.

Penka M, Bulíková A, Matýšková M, Zavřelová J. Hematologie I, Grada Publishing, Praha 2001.

Pierre RV. The demise of the eye count leucocytedifferential. In Ike SO, Nubila T, Ukaejiofo EO, Nubila IN, Shu EN, Ezema I. Comparison of haematological parameters determined by the Sysmex KX - 2IN automated haematology analyzer and the manual counts. BMC Clinical Pathology, 10: 3, 2010

Pinkerton PH, Spence L, Ogilvie JC, Ronald WA, Marchant P, Ray PK. An assessment of the Coulter Counter Model S. In Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, Kipps TJ. Williams Hematology, McGraw-Hill Companies, USA 1995.

QS 11 Postupy předcházející laboratorní vyšetření, verze 01, Praha, Synlab Czech s.r.o.

QS 13 Provoz odběrových pracovišť, verze 3, Praha, Synlab Czech s.r.o.

Rozsypalová M, Haladová A, Šafránková A. Ošetřovatelství II, Informatorium, Praha 2002.

Sacker LS. Specimen collection. In Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, Kipps TJ. Williams Hematology, McGraw-Hill Companies, USA 1995.

Sakalová A, Bátorová A, Dobrotová M, Cupaníková D, Fehervízyová E, Holomáňová D, Chabroňová I, Krišlo V, Kubisz P, Mistrák M, Pavlíková D, Šteruská M. Hematológia a transfuzológia, Osveta, Žilina 1995.

Segal HC, Briggs C, Kunka S, Casbard A, Harrison P, Machin SJ, Murphy MF. Accuracy of platelet counting haematology analysers in severe thrombocytopenia and potential impact on platelet transfusion. British Journal of Haematology. 128: 520-525, 2005.

SOPA ČB10 01 Odběr vzorků žilní a kapilární krve, verze 01, Praha, Synlab Czech s.r.o.

Sood R. Medical Laboratory Technology, Jaypee Brothers Medical Publishers, New Delhi 1999.

Stamminger G, Auch D, Diem H, Sinha P. Performance of the XE-2100 leucocyte differential. In Kang SH, Kim HK, Ham CK, Lee DS, Cho HI. Comparison of four hematology analyzers, CELL-DYN Sapphire, ADVIA 120, Coulter LH 750, and Sysmex XE-2100, in terms of clinical usefulness. *International Journal Of Laboratory Hematology*. 30: 480-486, 2008.

Špinar J, Adam Z, Brázdil M, Dítě P, Groch L, Hlinomaz O, Hofírek I, Hrazdírová A, Chaloupka V, Kozák M, Křen L, Křikavová L, et al. *Propedeutika a vyšetřovací metody vnitřních nemocí*, Grada Publishing, Praha 2008.

Trojan S, Langmeier M, Hrachovina V, Kittnar O, Koudelová J, Kuthan V, Mareš J, Marešová D, Mourek J, Pokorný J, Sedláček J, Schreiber M, et al. *Lékařská Fyziologie*, Grada Publishing, Praha 2003.

Urrechaga E. The new mature red cell parameter, low haemoglobin density of the Beckman-Coulter LH750: clinical utility in the diagnosis of iron deficiency. *International Journal of Laboratory Hematology*. 32: 144-150, 2010

Vytejšková R, Sedlářová P, Wirthová V, Otradovcová I, Pavlíková P. *Ošetrovatelské postupy v péči o nemocné II*, Grada Publishing, Praha 2013.

Williams WJ, Coyle TE, Grziano SL, Landaw SA, Loughran TP, Nelson DA, Wright J, Zamkoff K. *Williams Hematology Companion Handbook*, McGraw-Hill Companies, USA 1996.

Wintrobe MM (1932). The size and hemoglobin content of the erythrocyte. In Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, Kipps TJ. *Williams Hematology*, McGraw-Hill Companies, USA 1995.

Wintrobe MM (1933). Macroscopic examination of the blood. In Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, Kipps TJ. *Williams Hematology*, McGraw-Hill Companies, USA 1995.

Wintrobe MM (1934). Anemia: Classification and treatment on the basis of differences in the average volume and hemoglobin content of the red corpuscles. In Beutler E,

Lichtman MA, Collier BS, Kipps TJ. Williams Hematology, McGraw-Hill Companies, USA 1995.

Workman BA, Bennett CL. Klíčové dovednosti sester, Grada Publishing, Praha 2008.

Zandecki M, Genevieve F, Gerald J, Gordon A. Spurious counts and spurious results on hematology analysers. In Ike SO, Nubila T, Ukaejiofo EO, Nubila IN, Shu EN, Ezema I. Comparison of haematological parameters determined by the Sysmex KX - 2IN automated haematology analyzer and the manual counts. BMC Clinical Pathology, 10: 3, 2010

Zima T, Racek J, Kreidlová M, Springer D, Kocna P, Draždáková M, Štěpán J, Marečková H, Seifert B, Laňková J, Mucha C, Vojtíšková J. Doporučené diagnostické a terapeutické postupy pro všeobecné praktické lékaře LABORATORNÍ METODY – Část 1. Biochemické metody, Klinická biochemie a metabolismus. 16 (37): 56-68, 2008

Seznam příloh

PŘÍLOHA A – MATERIÁL PRO ODBĚR MENŠÍHO MNOŽSTVÍ KRVE, NEŽ JE POŽADOVÁNO VÝROBCEM ZKUMAVEK	77
PŘÍLOHA B – MATERIÁL PRO ODBĚR VĚTŠÍHO MNOŽSTVÍ KRVE, NEŽ JE POŽADOVÁNO VÝROBCEM ZKUMAVEK	78
PŘÍLOHA C – ANALYZÁTOR ADVIA 120	79
PŘÍLOHA D – PARAMETRY ČERVENÉHO KREVNÍHO OBRAZU MĚŘENÉ NA ANALYZÁTORU ADVIA 120	80
PŘÍLOHA E - SOUHRNNÉ VÝSLEDKY	81

Příloha A – Materiál pro odběr menšího množství krve, než je požadováno výrobcem zkumavek



Obr. 1 – Materiál pro odběr menšího množství krve, než je požadováno výrobcem zkumavek. Zdroj: Autor

Příloha B – Materiál pro odběr většího množství krve, než je požadováno výrobcem zkumavek



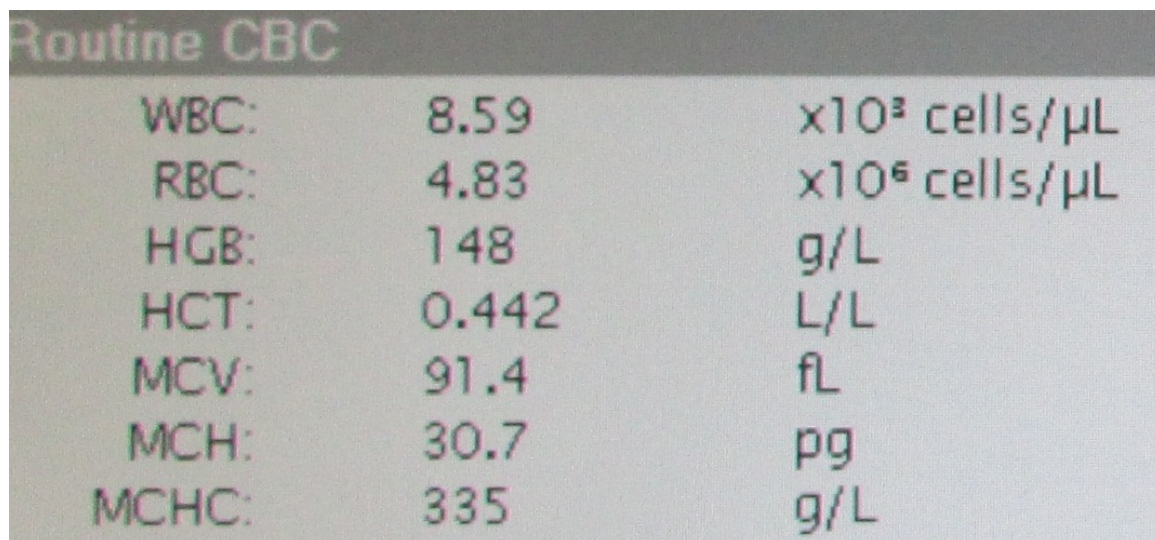
Obr. 1 – Materiál pro odběr většího množství krve, než je požadováno výrobcem zkumavek. Zdroj: Autor

Příloha C – Analyzátor Advia 120



Obr. 1 – Analyzátor Advia 120. Zdroj: Autor

Příloha D – Parametry červeného krevního obrazu měřené na analyzátoru Advia 120



The image shows a digital display of a routine complete blood count (CBC) test result. The title 'Routine CBC' is at the top. Below it, seven parameters are listed in three columns: the parameter name, the numerical value, and the unit. The parameters are WBC, RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, and MCHC.

Routine CBC		
WBC:	8.59	$\times 10^3$ cells/ μ L
RBC:	4.83	$\times 10^6$ cells/ μ L
HGB:	148	g/L
HCT:	0.442	L/L
MCV:	91.4	fL
MCH:	30.7	pg
MCHC:	335	g/L

Obr. 1 – Parametry červeného krevního obrazu měřené na analyzátoru Advia 120.

Zdroj: Autor

Příloha E - Souhrnné výsledky

Tab. 1 – Souhrnné výsledky. Zdroj: Autor

pacient č.	ročník	pohlaví	wbc		rbc		hgb		hct		mcv		mch		mchc		plt	
			správn	méně	správn	méně	správn	méně	správn	méně	správn	méně	správn	méně	správn	méně	správn	méně
1M	1939	žena	5,13	5,18	4,81	4,70	14,4	14,6	42,0	41,5	87,3	88,3	29,9	31,1	34,3	35,2	220	215
2M	1955	žena	5,85	5,42	4,42	4,45	13,5	13,6	40,5	40,9	91,6	91,9	30,5	30,6	33,3	33,3	263	252
3M	1970	muž	4,17	4,38	4,89	4,95	15,7	15,8	45,2	45,9	92,4	92,7	32,1	31,9	34,7	34,4	232	233
4M	1950	muž	7,33	7,23	5,10	5,12	16,3	16,3	47,2	47,5	92,5	92,8	32,0	31,8	34,5	34,3	259	250
5M	1986	žena	5,15	5,22	4,79	4,88	13,7	13,9	13,7	13,9	84,6	85,9	28,6	28,5	33,8	33,2	255	238
6M	1963	žena	9,71	9,45	4,71	4,70	14,4	14,5	14,4	14,5	92,1	93,0	30,6	30,9	33,2	33,2	289	254
7M	1958	muž	5,39	5,48	4,86	4,93	15,4	15,4	43,7	44,7	89,9	90,7	31,7	31,2	35,2	34,5	182	173
8M	1997	žena	5,98	5,86	4,36	4,44	13,0	13,3	37,6	38,8	86,2	87,4	29,8	30,0	34,6	34,3	184	175
9M	1968	žena	7,90	8,07	4,38	4,42	13,6	13,8	40,5	41,1	92,5	93,0	31,1	31,2	33,6	33,6	193	192
10M	1967	žena	9,98	10,42	4,92	4,93	14,3	14,4	42,4	42,8	86,2	86,8	29,1	29,2	33,7	33,6	319	299
11M	1968	žena	6,78	6,46	4,43	4,57	13,2	13,5	38,2	40,4	86,2	88,4	29,8	29,5	34,6	33,4	212	195
12M	1942	žena	6,62	6,63	4,45	4,46	13,9	14,0	42,5	43,5	95,5	97,5	31,2	31,4	32,7	32,2	276	253
13M	1983	žena	6,28	6,38	4,51	4,62	14,3	14,7	42,0	44,1	93,1	95,5	31,7	31,8	34,0	33,3	259	251
14M	1966	žena	4,99	5,29	4,51	4,59	14,7	14,9	41,9	43,5	92,9	94,8	32,6	32,5	35,1	34,3	214	202
15M	1974	muž	7,14	7,33	4,76	4,85	15,5	15,6	43,8	44,9	92,0	92,6	32,6	32,2	35,4	34,7	360	355
16M	1969	žena	5,82	5,60	4,45	4,52	13,9	14,1	40,5	41,6	91,0	92,0	31,2	31,2	34,3	33,9	308	292
17M	1983	žena	8,64	8,48	4,33	4,37	13,2	13,3	38,8	39,4	89,6	90,2	30,5	30,4	34,0	33,8	259	250
18M	1983	žena	7,89	8,03	4,78	4,79	14,0	14,2	40,6	41,4	84,9	86,4	29,3	29,6	34,5	34,3	358	347
19M	1975	muž	7,25	7,24	4,92	4,92	15,8	15,8	45,0	45,5	91,5	92,5	32,1	32,1	35,1	34,7	344	325
20M	1953	žena	4,74	4,46	3,80	3,83	12,8	12,9	38,5	39,3	101,3	102,6	33,7	33,7	33,2	32,8	294	301
21M	1985	žena	3,91	3,43	4,19	4,27	12,5	12,6	37,0	37,9	88,3	88,8	29,8	29,5	33,8	33,2	205	202
22M	1948	muž	6,24	6,12	4,54	4,71	13,8	14,0	41,0	43,0	90,3	91,3	30,4	29,7	33,7	32,6	211	195
23M	1964	žena	8,22	8,57	4,67	4,64	13,9	14,0	42,1	42,3	90,1	91,2	29,8	30,2	33,0	33,1	344	331
24M	1965	žena	4,82	4,87	4,36	4,45	13,8	14,1	41,2	42,5	94,5	95,5	31,7	31,7	33,5	33,2	221	217
25M	1961	žena	6,23	6,40	4,87	4,95	15,1	15,4	44,4	45,8	91,2	92,5	31,0	31,1	34,0	33,6	256	240

pacient č.	ročník	pohlaví	neu		lym		mono		eo		baso	
			správně	méně	správně	méně	správně	méně	správně	méně	správně	méně
1M	1939	žena	2,42	2,49	2,35	2,29	0,30	0,32	0,04	0,07	0,02	0,01
2M	1955	žena	3,79	3,56	1,62	1,47	0,38	0,33	0,04	0,04	0,02	0,02
3M	1970	muž	1,43	1,60	2,01	2,10	0,56	0,50	0,15	0,17	0,02	0,01
4M	1950	muž	3,09	3,06	2,96	2,86	1,04	1,03	0,20	0,23	0,04	0,05
5M	1986	žena	1,93	1,86	2,70	2,83	0,37	0,34	0,12	0,17	0,03	0,02
6M	1963	žena	6,82	6,60	1,92	2,10	0,83	0,61	0,13	0,12	0,02	0,02
7M	1958	muž	1,93	2,03	2,61	2,68	0,66	0,59	0,16	0,15	0,03	0,03
8M	1997	žena	2,73	2,74	2,42	2,37	0,69	0,65	0,11	0,09	0,03	0,02
9M	1968	žena	4,61	4,66	2,41	2,54	0,60	0,61	0,24	0,22	0,04	0,04
10M	1967	žena	7,03	7,30	1,95	2,18	0,74	0,66	0,24	0,26	0,03	0,02
11M	1968	žena	4,06	3,87	2,00	1,93	0,57	0,54	0,13	0,10	0,02	0,02
12M	1942	žena	4,20	4,13	1,54	1,65	0,50	0,47	0,34	0,32	0,04	0,06
13M	1983	žena	3,15	3,32	2,43	2,36	0,44	0,43	0,24	0,24	0,02	0,03
14M	1966	žena	2,68	2,84	1,83	1,95	0,39	0,41	0,08	0,08	0,01	0,01
15M	1974	muž	3,70	3,86	2,36	2,48	0,87	0,78	0,15	0,16	0,06	0,05
16M	1969	žena	2,74	2,67	2,09	1,97	0,60	0,56	0,29	0,30	0,10	0,10
17M	1983	žena	5,37	5,48	2,42	2,29	0,65	0,55	0,19	0,15	0,01	0,01
18M	1983	žena	4,06	4,21	2,94	3,09	0,67	0,52	0,19	0,19	0,02	0,02
19M	1975	muž	4,18	4,20	2,28	2,27	0,68	0,67	0,09	0,09	0,02	0,01
20M	1953	žena	2,50	2,35	1,80	1,64	0,37	0,39	0,06	0,06	0,01	0,02
21M	1985	žena	1,60	1,50	1,81	1,52	0,32	0,24	0,15	0,14	0,03	0,03
22M	1948	muž	3,19	3,15	1,87	1,89	0,63	0,56	0,51	0,50	0,03	0,02
23M	1964	žena	4,84	5,14	2,72	2,78	0,43	0,42	0,20	0,18	0,03	0,05
24M	1965	žena	3,08	3,18	1,25	1,28	0,43	0,35	0,05	0,05	0,01	0,01
25M	1961	žena	3,42	3,50	2,16	2,19	0,54	0,59	0,09	0,10	0,02	0,02

pacient č.	ročník	pohlaví	wbc		rbc		hgb		hct		mcv		mch		mchc		plt	
			správně	méně	správně	méně	správně	méně	správně	méně	správně	méně	správně	méně	správně	méně	správně	méně
26M	1941	muž	8,99	8,90	4,34	4,42	14,0	14,5	41,5	43,8	95,6	99,1	32,3	32,8	33,7	33,1	395	354
27M	1956	muž	7,16	7,57	4,90	4,96	15,2	15,3	44,4	45,3	90,6	91,3	31,0	30,8	34,2	33,8	321	311
28M	1983	muž	10,47	10,57	5,03	5,11	15,2	15,2	44,3	45,1	88,1	88,3	30,2	29,7	34,3	33,7	256	239
29M	1987	žena	4,74	4,74	4,62	4,70	13,0	13,1	39,3	40,4	85,1	86,0	28,1	27,9	33,1	32,4	204	183
30M	1990	žena	7,40	7,79	5,50	5,50	13,6	13,7	41,6	41,8	75,6	76,0	24,7	24,9	32,7	32,8	350	339
31M	1955	muž	4,83	4,68	5,89	6,07	14,9	15,0	43,3	45,8	73,5	75,5	25,3	24,7	34,4	32,8	251	234
32M	1935	muž	5,33	5,46	4,07	4,15	14,0	14,2	39,8	41,3	97,8	99,5	34,4	34,2	35,2	34,4	240	220
33M	1983	žena	5,98	6,06	4,94	4,93	15,0	15,1	41,6	42,2	84,2	85,6	30,4	30,6	36,1	35,8	176	164
34M	1988	žena	9,75	9,91	3,84	3,93	11,5	11,7	34,0	35,4	88,5	90,1	29,9	29,8	33,8	33,1	205	195
35M	1949	muž	8,54	8,73	4,92	4,89	14,6	14,7	43,4	43,6	88,2	89,2	29,7	30,1	33,6	33,7	200	182
36M	1970	žena	13,06	12,87	4,87	4,84	15,4	15,6	45,9	46,1	94,3	95,2	31,6	32,2	33,6	33,8	134	132
37M	1956	muž	6,90	7,30	5,36	5,27	15,7	15,6	45,7	45,5	85,3	86,3	29,3	29,6	34,4	34,3	296	277
38M	1944	muž	5,21	5,12	4,97	5,02	15,2	15,9	45,3	47,9	91,1	95,4	30,6	31,7	33,6	33,2	196	179
39M	1942	žena	6,51	6,83	4,61	4,65	13,7	13,9	40,0	40,9	86,8	88,0	29,7	29,9	34,3	34,0	340	339
40M	1985	muž	7,75	8,22	4,96	5,08	16,0	16,2	46,2	47,8	93,1	94,1	32,3	31,9	34,6	33,9	352	342
41M	1950	muž	7,13	7,19	4,35	4,46	15,0	15,1	42,5	43,9	97,7	98,4	34,5	33,9	35,3	34,4	173	163
42M	1954	muž	8,55	7,54	4,49	4,38	14,7	14,5	43,3	42,8	96,4	97,7	32,7	33,1	33,9	33,9	345	308
43M	1971	muž	8,47	9,11	4,83	4,82	14,5	14,6	41,8	42,2	86,5	87,6	30,0	30,3	34,7	34,6	295	273
44M	1983	muž	9,07	9,34	5,66	5,70	17,7	17,8	50,1	51,5	88,5	90,4	31,3	31,2	35,3	34,6	237	223
45M	1973	muž	5,62	5,07	4,95	4,92	15,6	15,5	45,0	45,2	90,9	91,9	31,5	31,5	34,7	34,3	275	267
46M	1981	muž	11,35	11,43	5,43	5,37	16,1	16,0	47,7	47,4	87,8	88,3	29,7	29,8	33,8	33,8	294	272
47M	1935	žena	6,58	6,66	4,45	4,63	13,3	13,3	38,9	40,7	87,4	87,9	29,9	28,7	34,2	32,7	246	235
48M	1950	žena	6,96	7,29	4,87	4,89	15,4	15,7	45,9	46,8	94,3	95,7	31,6	32,1	33,6	33,5	246	216
49M	1956	muž	8,86	9,36	5,33	5,21	15,2	15,0	45,0	44,9	84,4	86,2	28,5	28,8	33,8	33,4	199	189
50M	2002	muž	9,97	9,80	4,86	4,89	13,4	13,6	39,5	40,7	81,3	83,2	27,6	27,8	33,9	33,4	408	386

pacient č.	ročník	pohlaví	neu		lym		mono		eo		baso	
			správně	méně	správně	méně	správně	méně	správně	méně	správně	méně
26M	1941	muž	4,85	4,77	2,87	2,92	1,00	0,86	0,22	0,26	0,05	0,09
27M	1956	muž	4,32	4,54	2,33	2,49	0,34	0,39	0,14	0,12	0,03	0,02
28M	1983	muž	6,49	6,56	3,28	3,34	0,64	0,58	0,05	0,05	0,01	0,02
29M	1987	žena	1,68	1,64	2,41	2,53	0,54	0,48	0,09	0,08	0,02	0,01
30M	1990	žena	4,58	4,95	2,13	2,02	0,52	0,63	0,15	0,16	0,02	0,02
31M	1955	muž	2,02	2,05	2,17	2,05	0,45	0,37	0,17	0,18	0,02	0,03
32M	1935	muž	3,33	3,35	1,26	1,46	0,62	0,52	0,10	0,11	0,02	0,02
33M	1983	žena	3,41	3,42	1,73	1,80	0,72	0,66	0,11	0,16	0,01	0,02
34M	1988	žena	6,77	6,92	1,85	1,88	0,86	0,84	0,25	0,25	0,02	0,02
35M	1949	muž	5,37	5,45	2,14	2,20	0,58	0,60	0,43	0,45	0,02	0,03
36M	1970	žena	10,06	9,91	2,10	2,20	0,74	0,58	0,13	0,14	0,03	0,04
37M	1956	muž	4,07	4,39	1,87	2,11	0,66	0,48	0,29	0,30	0,01	0,02
38M	1944	muž	3,08	3,07	1,49	1,43	0,41	0,44	0,20	0,16	0,03	0,02
39M	1942	žena	3,76	3,89	2,16	2,30	0,41	0,40	0,15	0,19	0,03	0,04
40M	1985	muž	3,86	4,08	2,70	3,03	0,86	0,74	0,30	0,34	0,03	0,03
41M	1950	muž	4,29	4,26	1,97	2,02	0,74	0,76	0,11	0,12	0,03	0,03
42M	1954	muž	4,39	3,88	2,96	2,66	0,64	0,52	0,52	0,45	0,04	0,03
43M	1971	muž	4,79	5,17	2,81	2,98	0,69	0,73	0,17	0,22	0,01	0,02
44M	1983	muž	4,51	4,62	3,33	3,60	0,86	0,80	0,32	0,28	0,05	0,04
45M	1973	muž	2,85	2,65	2,12	1,88	0,51	0,43	0,13	0,09	0,01	0,02
46M	1981	muž	5,47	5,63	4,40	4,45	1,27	1,18	0,17	0,15	0,03	0,02
47M	1935	žena	2,43	2,43	3,07	3,10	0,56	0,60	0,46	0,47	0,06	0,06
48M	1950	žena	3,79	3,94	2,32	2,42	0,49	0,51	0,31	0,38	0,05	0,04
49M	1956	muž	4,20	4,37	3,44	3,73	0,78	0,77	0,39	0,43	0,05	0,06
50M	2002	muž	6,17	6,13	2,84	2,66	0,78	0,79	0,15	0,17	0,03	0,05

pacient č.	ročník	pohlaví	wbc		rbc		hgb		hct		mcv		mch		mchc		plt	
			správně	více	správně	více	správně	více	správně	více	správně	více	správně	více	správně	více	správně	více
1 V	1940	žena	5,66	5,37	4,19	4,12	13,1	13,1	39,2	38,6	93,6	93,7	31,3	31,8	33,4	33,9	203	201
2 V	1948	muž	4,67	4,52	5,28	5,26	16,9	17,0	48,3	48,2	91,5	91,6	32,0	32,3	35,0	35,3	156	160
3 V	1981	muž	4,51	4,52	4,91	4,94	15,4	15,2	43,7	44,0	89,0	89,1	31,4	30,8	35,2	34,5	226	230
4 V	1955	žena	3,15	3,01	3,37	3,36	10,8	10,5	31,5	31,5	93,5	93,8	32,0	31,3	34,3	33,3	161	108
5 V	1984	žena	10,50	9,97	4,63	4,72	14,4	14,6	41,8	42,6	90,3	90,3	31,1	30,9	34,4	34,3	316	320
6 V	1969	muž	5,56	5,37	5,48	5,45	16,6	16,9	48,6	48,6	88,7	89,2	30,3	31,0	34,2	34,8	176	167
7 V	1966	žena	9,45	8,95	4,12	4,19	12,9	12,9	38,0	38,6	92,2	92,1	31,3	30,8	33,9	33,4	340	342
8 V	1967	žena	8,33	8,31	4,85	4,91	14,8	14,7	42,8	43,4	88,2	88,4	30,5	29,9	34,6	33,9	348	362
9 V	1950	muž	8,54	8,52	4,58	4,61	15,4	15,5	44,2	44,4	96,5	96,3	33,6	33,6	34,8	34,9	145	148
10 V	1951	žena	4,60	4,57	4,57	4,56	14,7	14,7	42,8	42,8	93,7	93,9	32,2	32,2	34,3	34,3	201	199
11 V	1982	žena	11,06	11,29	3,26	3,23	10,4	10,4	30,9	30,4	94,8	94,1	31,9	32,2	33,7	34,2	233	229
12 V	1975	žena	7,71	7,63	4,21	4,21	12,3	12,2	36,4	36,4	86,5	86,5	29,2	29,0	33,8	33,5	208	213
13 V	1948	muž	6,04	6,03	4,66	4,70	14,1	14,1	41,9	42,4	89,9	90,2	30,3	30,0	33,7	33,3	186	189
14 V	1973	žena	7,44	7,39	4,37	4,34	14,2	14,2	41,6	41,4	95,2	95,4	32,5	32,7	34,1	34,3	341	333
15 V	1964	muž	10,40	10,34	4,34	4,39	13,6	13,6	40,4	40,9	93,1	93,2	31,3	31,0	33,7	33,3	378	385
16 V	1941	muž	12,11	12,27	3,89	3,94	13,1	13,0	38,0	38,3	97,7	97,2	33,7	33,0	34,5	33,9	375	347
17 V	1980	žena	9,49	9,68	4,11	4,07	12,7	12,7	37,8	37,4	92,0	91,9	30,9	31,2	33,6	34,0	257	254
18 V	1975	žena	5,38	4,79	4,74	5,39	13,9	16,2	40,1	45,6	84,6	84,6	29,3	30,1	34,7	35,5	243	191
19 V	1980	žena	8,71	9,12	4,60	4,50	13,5	13,1	40,3	39,4	87,6	87,6	29,3	29,1	33,5	33,2	396	457
20 V	1981	muž	7,25	7,24	5,07	5,04	17,0	17,0	46,9	46,8	92,5	92,9	33,5	33,7	36,2	36,3	202	199
21 V	1948	muž	5,15	5,15	4,59	4,55	13,9	13,9	41,8	41,7	91,1	91,6	30,3	30,6	33,3	33,3	213	217
22 V	1967	muž	6,60	6,35	5,09	5,10	15,3	15,3	44,6	44,8	87,6	87,8	30,1	30,0	34,3	34,2	195	207
23 V	1969	žena	5,39	5,46	4,23	4,18	13,2	13,2	38,5	38,2	91,0	91,4	31,2	31,6	34,3	34,6	274	284
24 V	1981	muž	5,65	5,67	5,34	5,31	16,5	16,5	47,1	46,8	88,2	88,1	30,9	31,1	35,0	35,3	196	194
25 V	1951	žena	6,13	6,06	4,60	4,69	15,1	15,0	43,1	44,0	93,7	93,8	32,8	32,0	35,0	34,1	180	185

pacient č.	ročník	pohlaví	neu		lym		mono		eo		baso	
			správně	více	správně	více	správně	více	správně	více	správně	více
1 V	1940	žena	3,37	3,12	1,60	1,59	0,54	0,50	0,13	0,14	0,02	0,02
2 V	1948	muž	2,32	2,36	1,67	1,58	0,51	0,40	0,16	0,16	0,01	0,02
3 V	1981	muž	2,39	2,50	1,57	1,44	0,36	0,42	0,17	0,15	0,02	0,01
4 V	1955	žena	1,09	1,03	1,51	1,51	0,39	0,34	0,15	0,13	0,01	0,00
5 V	1984	žena	7,48	7,10	2,22	2,15	0,54	0,47	0,25	0,22	0,02	0,03
6 V	1969	muž	3,83	3,71	1,12	0,96	0,39	0,48	0,21	0,20	0,01	0,02
7 V	1966	žena	6,54	6,14	2,22	2,10	0,61	0,62	0,06	0,08	0,02	0,01
8 V	1967	žena	4,71	4,79	2,80	2,67	0,46	0,48	0,35	0,36	0,02	0,02
9 V	1950	muž	4,83	4,85	2,65	2,59	0,89	0,87	0,14	0,18	0,04	0,03
10 V	1951	žena	2,10	2,11	1,96	1,91	0,29	0,31	0,18	0,19	0,07	0,05
11 V	1982	žena	7,89	8,24	2,16	2,01	0,90	0,91	0,09	0,09	0,03	0,03
12 V	1975	žena	5,01	4,97	1,78	1,82	0,85	0,78	0,06	0,05	0,01	0,01
13 V	1948	muž	2,81	2,83	2,13	2,08	0,64	0,62	0,44	0,47	0,02	0,03
14 V	1973	žena	3,86	3,81	2,69	2,75	0,75	0,71	0,10	0,09	0,04	0,04
15 V	1964	muž	5,55	5,52	3,00	3,01	1,74	1,71	0,07	0,06	0,04	0,04
16 V	1941	muž	7,45	7,53	3,17	3,29	1,26	1,24	0,16	0,13	0,07	0,07
17 V	1980	žena	5,90	6,09	2,57	2,57	0,82	0,81	0,18	0,19	0,02	0,02
18 V	1975	žena	2,43	2,21	2,25	2,07	0,49	0,34	0,16	0,15	0,05	0,02
19 V	1980	žena	5,14	5,34	2,85	2,97	0,63	0,70	0,09	0,09	0,01	0,02
20 V	1981	muž	4,90	4,83	1,66	1,72	0,61	0,60	0,07	0,08	0,01	0,01
21 V	1948	muž	2,61	2,61	1,39	1,40	0,47	0,47	0,64	0,65	0,04	0,02
22 V	1967	muž	4,23	4,02	1,77	1,61	0,47	0,55	0,12	0,15	0,01	0,01
23 V	1969	žena	2,33	2,26	2,55	2,65	0,39	0,45	0,09	0,08	0,03	0,02
24 V	1981	muž	2,06	2,20	2,65	2,67	0,69	0,59	0,24	0,20	0,01	0,01
25 V	1951	žena	2,84	2,92	2,16	2,07	0,37	0,36	0,70	0,66	0,07	0,05

pacient č.	ročník	pohlaví	wbc		rbc		hgb		hct		mcv		mch		mchc		plt	
			správně	více	správně	více	správně	více	správně	více	správně	více	správně	více	správně	více	správně	více
26 V	1951	žena	6,64	6,94	4,65	4,66	15,2	43,7	43,9	94,0	94,2	32,7	32,6	34,8	34,6	220	233	
27 V	1988	žena	8,06	8,14	4,74	4,72	14,3	41,9	41,9	88,4	88,8	30,2	30,3	34,1	34,1	415	426	
28 V	1983	žena	7,09	6,69	4,66	4,63	14,8	42,0	41,7	90,1	90,1	31,8	31,7	35,2	35,3	239	249	
29 V	1983	žena	10,21	10,30	4,11	4,06	12,6	37,3	36,8	90,8	90,6	30,7	31,0	33,8	34,2	325	321	
30 V	1968	žena	6,73	6,62	4,50	4,48	13,4	38,8	38,7	86,2	86,4	29,8	29,9	34,5	34,6	242	237	
31 V	1942	žena	7,97	7,97	4,35	4,31	14,0	40,8	40,4	93,8	93,7	32,2	32,0	34,3	34,2	233	247	
32 V	1939	muž	5,14	5,08	4,39	4,32	13,1	39,5	38,9	90,0	90,0	29,8	29,9	33,2	33,2	137	134	
33 V	1979	žena	6,16	6,06	3,99	3,98	13,4	38,0	38,2	95,2	96,0	33,6	33,4	35,3	34,8	285	277	
34 V	1969	žena	5,02	4,89	4,36	4,40	13,8	39,4	39,9	90,4	90,7	31,7	31,1	35,0	34,3	260	271	
35 V	1996	muž	8,29	8,58	5,21	5,26	15,1	44,4	45,1	85,2	85,7	29,0	30,0	34,0	35,0	215	209	
36 V	1967	žena	9,62	9,60	4,97	4,91	14,3	43,0	42,5	86,5	86,6	28,8	29,3	33,3	33,9	323	324	
37 V	1965	žena	4,10	4,18	4,23	4,27	13,6	39,8	40,1	94,1	93,9	32,2	31,9	34,2	33,9	173	174	
38 V	1974	žena	9,17	8,93	3,94	3,90	12,8	37,7	37,3	95,7	95,6	32,5	32,8	34,0	34,3	266	258	
39 V	1995	žena	6,00	6,17	4,57	4,61	13,0	38,9	39,3	85,1	85,2	28,4	28,4	33,4	33,3	335	341	
40 V	1981	žena	5,87	5,84	4,33	4,38	13,6	38,1	38,5	88,0	87,9	31,4	31,1	35,7	35,3	297	295	
41 V	1965	žena	8,85	8,59	4,74	4,66	14,4	43,3	42,7	91,4	91,6	30,4	31,1	33,3	34,0	289	294	
42 V	1962	žena	4,71	5,01	4,17	4,21	13,2	38,8	39,2	93,0	93,1	31,7	31,4	34,0	33,7	269	280	
43 V	1956	muž	8,03	7,86	4,52	4,60	15,2	42,2	43,0	93,4	93,5	33,6	33,3	36,0	35,6	303	314	
44 V	1982	žena	9,24	9,39	3,82	3,86	12,0	35,1	35,6	91,9	92,2	31,4	30,8	34,2	33,4	302	309	
45 V	1967	muž	12,90	12,85	4,96	4,94	14,8	42,1	42,0	84,9	85,0	29,8	30,2	35,2	35,5	286	283	
46 V	1983	žena	5,64	5,73	4,22	4,23	14,3	40,5	40,6	96,0	96,0	33,9	33,8	35,3	35,2	197	192	
47 V	1964	žena	9,87	10,10	5,12	5,08	15,3	44,6	44,3	87,1	87,2	29,9	29,9	34,3	34,3	329	331	
48 V	1952	muž	5,92	5,83	4,74	4,72	14,2	39,9	39,8	84,2	84,3	30,0	30,3	35,6	35,9	180	174	
49 V	1978	muž	7,25	6,68	4,59	4,54	15,6	44,3	43,9	96,5	96,7	34,0	33,9	35,2	35,1	151	154	
50 V	1956	muž	5,45	5,24	4,40	4,31	13,5	38,8	38,2	88,2	88,6	30,7	31,1	34,8	35,1	135	131	

pacient č.	ročník	pohlaví	neu		lym		mono		eo		baso	
			správně	více	správně	více	správně	více	správně	více	správně	více
26 V	1951	žena	3,43	3,67	2,41	2,53	0,61	0,60	0,15	0,12	0,03	0,02
27 V	1988	žena	4,00	3,99	3,27	3,36	0,70	0,70	0,08	0,08	0,01	0,01
28 V	1983	žena	4,14	3,79	2,23	2,24	0,57	0,50	0,13	0,14	0,02	0,02
29 V	1983	žena	7,35	7,34	2,36	2,45	0,36	0,36	0,13	0,14	0,01	0,00
30 V	1968	žena	4,02	3,97	2,07	2,03	0,54	0,51	0,09	0,09	0,01	0,02
31 V	1942	žena	5,50	5,52	1,65	1,67	0,47	0,38	0,31	0,34	0,04	0,05
32 V	1939	muž	3,18	3,25	1,00	0,96	0,78	0,70	0,16	0,15	0,02	0,02
33 V	1979	žena	3,42	3,24	2,27	2,31	0,34	0,38	0,11	0,10	0,02	0,03
34 V	1969	žena	2,67	2,43	1,50	1,53	0,48	0,51	0,30	0,34	0,07	0,08
35 V	1996	muž	4,58	4,68	2,86	2,95	0,58	0,66	0,26	0,28	0,01	0,01
36 V	1967	žena	6,63	6,77	2,04	2,01	0,65	0,55	0,28	0,25	0,02	0,03
37 V	1965	žena	2,45	2,56	1,19	1,23	0,40	0,33	0,05	0,05	0,01	0,01
38 V	1974	žena	7,13	6,97	1,28	1,28	0,65	0,57	0,08	0,10	0,02	0,02
39 V	1995	žena	3,49	3,63	1,90	1,88	0,52	0,57	0,08	0,08	0,01	0,01
40 V	1981	žena	3,31	3,24	2,02	2,02	0,41	0,40	0,09	0,12	0,04	0,06
41 V	1965	žena	5,92	5,69	2,45	2,41	0,38	0,37	0,07	0,08	0,03	0,04
42 V	1962	žena	2,36	2,49	1,89	2,01	0,34	0,38	0,09	0,08	0,04	0,05
43 V	1956	muž	4,69	4,66	2,50	2,40	0,70	0,66	0,11	0,11	0,03	0,03
44 V	1982	žena	6,28	6,42	2,12	2,16	0,70	0,68	0,13	0,12	0,01	0,01
45 V	1967	muž	6,81	6,89	4,76	4,70	1,02	0,96	0,28	0,27	0,03	0,03
46 V	1983	žena	2,96	3,00	1,37	1,53	1,29	1,19	0,01	0,00	0,01	0,01
47 V	1964	žena	4,91	5,01	4,02	4,03	0,79	0,90	0,13	0,13	0,03	0,03
48 V	1952	muž	3,03	2,98	2,07	2,01	0,48	0,55	0,32	0,27	0,02	0,02
49 V	1978	muž	3,23	3,00	3,26	3,07	0,59	0,46	0,14	0,12	0,03	0,03
50 V	1956	muž	2,61	2,61	2,00	1,87	0,59	0,57	0,22	0,18	0,03	0,01