

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2020

Karolína Adamcová

Univerzita Pardubice

Fakulta chemicko-technologická

Vliv množství odebrané krve na parametry krevního obrazu a diferenciální
rozpočet leukocytů

Karolína Adamcová

Bakalářská práce

2020

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2019/2020

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE (projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Karolína Adamcová**
Osobní číslo: **C17138**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: **Vliv množství odebrané krve na parametry krevního obrazu a diferenciální rozpočet leukocytů**
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

Teoretická část:

1. Seznamte se s mezinárodními a národními pokyny pro odběry krve včetně informací o použití vhodných antikoagulantů pro stanovení krevního obrazu a diferenciálního rozpočtu leukocytů.
2. Zjistěte odborné poznatky o vlivu porušení daného poměru krev – antikoagulant na přesnost výše uvedených stanovení.
3. Informace přehledně zpracujte, použijte obrázky, schémata a grafy a ze získaných literárních údajů a vašich experimentálních výsledků vyvoďte závěry o vlivu poměru odebrané krve a anti-antikoagulancia na přesnost výše uvedených stanovení.

Experimentální část:

1. Proveďte experimentální ověření vlivu chybného odběru krve na přesnost jednotlivých parametrů krevního obrazu a na diferenciální rozpočet leukocytů.
2. Prostudujte modelové případy správného odběru 3 ml krve (100%), a nesprávných odběrů krve 1,5 ml (50%) a 0,75 ml (25%) a výsledky jednotlivých stanovení statisticky zpracujte.
3. Experimentální studii proveďte dle pokynů odborných pracovníků hematologicko-transfuzního oddělení Nemocnice Havlíčkův Brod v rámci běžných odběrů u dárců krve.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

1. Pecka M.: Laboratorní hematologie v přehledu – buňka a krvetvorba, I. vydání, 2002, Nakladatelství FINIDR
2. Pecka M., Bláha M.: Praktická hematologie – Laboratorní metody, I. vydání, 2010, FINIDR.
3. Penka M., Tesařová E.: Hematologie a transfúzní lékařství I, I. vydání, 2011, Grada.

Vedoucí bakalářské práce: **prof. Ing. Alexander Čegan, CSc.**
Katedra biologických a biochemických věd

Konzultanti bakalářské práce: **Mgr. Vlasta Bruknerová**
Nemocnice Havlíčkův Brod, Hematologická ambulance
Ing. Martina Špryncová
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **20. prosince 2019**
Termín odevzdání bakalářské práce: **3. července 2020**

L.S.

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2020

Prohlášení

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 06. 07. 2020

Karolína Adamcová

Poděkování

Velice ráda bych poděkovala Mgr. Vlastě Bruknerové a Ing. Martině Špryncové za poskytnutí odborných materiálů a cenných rad potřebných pro psaní mé bakalářské práce. Děkuji také za odborné vedení prof. Ing. Alexanderovi Čeganovi, CSc. V neposlední řadě děkuji za ochotu a trpělivost, kterou při psaní práce nešetřili. Děkuji i hematologicko-transfuznímu oddělení v Nemocnici Havlíčkův Brod za to, že mi umožnilo realizovat ve svých laboratořích praktickou část mé bakalářské práce. Velké poděkování patří také rodině a přátelům, kteří mi po celou dobu mého studia na Univerzitě Pardubice byli tou největší oporou.

ANOTACE

Bakalářská práce je zaměřena na to, jak mohou být ovlivněny parametry krevního obrazu a diferenciálního rozpočtu leukocytů vzhledem na množství odebrané krve. Teoretická část přibližuje základní pojmy hematologie (např. erytrocyty, leukocyty, plazma...), preanalytickou, analytickou a postanalytickou fázi vyšetření a v neposlední řadě také analyzátory. V praktické části je popsán pracovní postup a následně vyhodnoceny výsledky.

KLÍČOVÁ SLOVA

krevní obraz, odběr krve, hematologie, protisrážlivé činidlo

TITLE

Influence of blood collection on blood count parameters and leukocyte differential budget

ANNOTATION

The Bachelor thesis is focused how the amount of taken blood sample effects complete blood count parameters and differential leukocytes count. The theoretical part explains the basic terms of hematology (e. g. erythrocytes, leukocytes, blood plasma...), pre-analytical, analytical and post-analytical phases examination and also analyzers. The practical part of the thesis describes the working procedure and then the results are evaluated.

KEYWORDS

blood count, blood samples, hematology, anticoagulant

OBSAH

| | |
|--|----|
| ÚVOD | 14 |
| 1 TEORETICKÁ ČÁST | 15 |
| 1.1 Úvod do hematologie..... | 15 |
| 1.2 Krevní obraz | 17 |
| 1.2.1 Možnosti stanovení krevního obrazu..... | 17 |
| 1.2.1.1 Mikroskopické stanovení..... | 18 |
| 1.2.1.2 Elektronické stanovení..... | 18 |
| 1.2.2 Parametry krevního obrazu..... | 19 |
| 1.3 Diferenciální rozpočet leukocytů..... | 21 |
| 1.3.1 Parametry diferenciálního rozpočtu leukocytů | 21 |
| 1.4 Fáze zpracování | 26 |
| 1.4.1 Preanalytická fáze | 26 |
| 1.4.1.1 Neovlivnitelné biologické vlivy preanalytické fáze | 26 |
| 1.4.1.2 Ovlivnitelné biologické vlivy preanalytické fáze | 27 |
| 1.4.1.3 Transport materiálu do laboratoře..... | 27 |
| 1.4.1.4 Skladování materiálu | 28 |
| 1.4.1.5 Chyby v preanalytické fázi | 28 |
| 1.4.2 Analytická fáze | 29 |
| 1.4.3 Postanalytická fáze | 29 |
| 1.5 Hematologické analyzátory | 30 |
| 1.5.1 Analyzátor Sysmex XN 1000 | 30 |
| 2. PRAKTICKÁ ČÁST | 33 |
| 2.1 Metodika výzkumu a popis vzorků..... | 33 |
| 2.2 Přístrojové vybavení a pomůcky..... | 33 |
| 2.3 Chemikálie a další materiál..... | 34 |
| 2.4 Princip stanovení..... | 34 |
| 2.5 Postup práce..... | 34 |
| 2.5.1 Vlastní měření..... | 35 |
| 2.6 Hypotéza | 35 |

| | |
|---------------------------------|----|
| 3. VÝSLEDKY A DISKUZE | 36 |
| 4. ZÁVĚR | 43 |
| SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY | 45 |
| PŘÍLOHY | 50 |

Seznam použitých zkratek

| | |
|--------|--|
| ALP | alkalická fosfatáza |
| ALT | alaninaminotransferáza |
| AST | aspartátaminotransferáza |
| CK | kreatinkináza |
| FSC | forward scatter (přímé rozptylové světlo) |
| GGT | gama-glutamyltransferáza |
| Hct | hematokrit |
| Hb | hemoglobin |
| HTO | hematologicko-transfuzní oddělení |
| KO | krevní obraz |
| KODIFA | krevní obraz s diferenciálním rozpočtem leukocytů na analyzátoru |
| LDL | low density lipoprotein (nízkodenzitní lipoprotein) |
| MCH | mean cell/corpuscular hemoglobin (množství hemoglobinu v erytrocytu) |
| MCHC | mean cell/ corpuscular hemoglobin concentration (koncentrace hemoglobinu v erytrocytu) |
| MCV | mean cell/corpuscular volume (střední objem erytrocytů) |
| MPV | mean platelet volume (střední objem trombocytů) |
| NHB | Nemocnice Havlíčkův Brod |
| NRBC | normoblasty |
| Pct | plateletcrite (trombocytární hematokrit) |
| PDW | platelet distribution width (distribuční šíře velikosti trombocytů) |
| Plt | platelet (trombocyty) |
| RBC | red blood cells (počet červených krvinek) |

| | |
|-----|---|
| RDW | red cell distribution width (distribuční šíře velikosti erytrocytů) |
| SFL | side fluorescence light (boční fluorescenční světlo) |
| SSC | side scatter (boční rozptylové světlo) |
| VTP | výrobní technický postup |
| WBC | white blood cells (počet bílých krvinek) |
| WDF | white blood cells differential (diferenciační kanál bílých krvinek) |
| WNR | white blood nuclear cells (nukleární buňky bílých krvinek) |
| WPC | white blood cells precursor (prekurzory bílých krvinek) |

SEZNAM ILUSTRACÍ, TABULEK A GRAFŮ

| | |
|---|----|
| Obrázek 1: Červené krvinky | 19 |
| Obrázek 2: Krevní destičky | 20 |
| Obrázek 3: Neutrofilní granulocyt | 22 |
| Obrázek 4: Dělení neutrofilů dle segmentů jader a jejich procentuální zastoupení v organismu | 22 |
| Obrázek 5: Eosinofilní granulocyt | 23 |
| Obrázek 6: Basofilní granulocyt | 23 |
| Obrázek 7: Monocyt | 24 |
| Obrázek 8: Lymfocyt | 25 |
| Obrázek 9: Hematologický analyzátor Sysmex XN 1000 | 31 |
| Obrázek 10: Scattergramy určující pozice definované jednotlivými kanály | 31 |
| Obrázek 11: Analyzátor Sysmex XN 1000 | 56 |
| Obrázek 12: Parametry červeného a bílého krevního obrazu naměřené na analyzátoru Sysmex XN 1000 | 57 |
| | |
| Tabulka 1: Diferenciální rozpočet leukocytů u dospělého člověka | 21 |
| Tabulka 2: Hodnoty KO a diferenciálního rozpočtu leukocytů při správném odběru | 50 |
| Tabulka 3: Hodnoty KO a diferenciálního rozpočtu leukocytů při chybném odběru (50 %) .. | 52 |
| Tabulka 4: Hodnoty KO a diferenciálního rozpočtu leukocytů při chybném odběru (25 %) .. | 54 |
| | |
| Graf 1: Porovnání hodnot WBC při odběru správného množství dle požadavků výrobce zkumavek a při jeho nedodržení (odebráno pouze 50 % a 25 % požadovaného množství krve) | 36 |
| Graf 2: Porovnání hodnot RBC při odběru správného množství dle požadavků výrobce zkumavek a při jeho nedodržení (odebráno pouze 50 % a 25 % požadovaného množství krve) | 37 |
| Graf 3: Porovnání hodnot Hb při odběru správného množství dle požadavků výrobce zkumavek a při jeho nedodržení (odebráno pouze 50 % a 25 % požadovaného množství krve) | 37 |
| Graf 4: Porovnání hodnot Hct při odběru správného množství dle požadavků výrobce zkumavek a při jeho nedodržení (odebráno pouze 50 % a 25 % požadovaného množství krve) | 38 |

| | |
|--|----|
| Graf 5: Porovnání hodnot MCV při odběru správného množství dle požadavků výrobce zkumavek a při jeho nedodržení (odebráno pouze 50 % a 25 % požadovaného množství krve) | 38 |
| Graf 6: Porovnání hodnot MCH při odběru správného množství dle požadavků výrobce zkumavek a při jeho nedodržení (odebráno pouze 50 % a 25 % požadovaného množství krve) | 39 |
| Graf 7: Porovnání hodnot MCHC při odběru správného množství dle požadavků výrobce zkumavek a při jeho nedodržení (odebráno pouze 50 % a 25 % požadovaného množství krve) | 39 |
| Graf 8: Porovnání hodnot PLT při odběru správného množství dle požadavků výrobce zkumavek a při jeho nedodržení (odebráno pouze 50 % a 25 % požadovaného množství krve) | 40 |
| Graf 9: Porovnání hodnot NEU při odběru správného množství dle požadavků výrobce zkumavek a při jeho nedodržení (odebráno pouze 50 % a 25 % požadovaného množství krve) | 40 |
| Graf 10: Porovnání hodnot LYMPH při odběru správného množství dle požadavků výrobce zkumavek a při jeho nedodržení (odebráno pouze 50 % a 25 % požadovaného množství krve) | 41 |
| Graf 11: Porovnání hodnot MONO při odběru správného množství dle požadavků výrobce zkumavek a při jeho nedodržení (odebráno pouze 50 % a 25 % požadovaného množství krve) | 41 |
| Graf 12: Porovnání hodnot EO při odběru správného množství dle požadavků výrobce zkumavek a při jeho nedodržení (odebráno pouze 50 % a 25 % požadovaného množství krve) | 42 |
| Graf 13: Porovnání hodnot BASO při odběru správného množství dle požadavků výrobce zkumavek a při jeho nedodržení (odebráno pouze 50 % a 25 % požadovaného množství krve) | 42 |

ÚVOD

Krevní obraz a diferenciální rozpočet leukocytů patří mezi základní vyšetření, která mohou odhalit závažná hematologická onemocnění. Prognózu těchto onemocnění může v mnoha případech zlepšit jejich včasné zjištění.

Vyšetření krevního obrazu s diferenciálním rozpočtem leukocytů se provádí z malého množství nesrážlivé žilní krve, která je odebírána do zkumavek s protisrážlivým činidlem (nejčastěji K_2EDTA nebo K_3EDTA). Při odběru musí být vždy dodržen poměr odebrané krve a protisrážlivého činidla ve zkumavce. Poměr určuje výrobce odběrových zkumavek.

Odběry se rozlišují na tzv. otevřený a uzavřený odběrový systém. Při odběru tzv. otevřeným odběrovým systémem je větší prostor pro chybu. Laboratorní pracovníci jsou však nuceni k tomu, aby chybně nabrané vzorky odmítli vyšetřit. V mnohých případech však dochází k nátlaku na laboratoř ze strany odebírajícího personálu, aby i chybně odebrané vzorky zpracovala.

Cílem této studie je zjistit, zda má chybný odběr (ve smyslu chybný poměr antikoagulantu a odebrané krve) vliv na jednotlivé parametry krevního obrazu s diferenciálním rozpočtem leukocytů. Cílem také je zhodnotit, jestli je u některých rozborů možné využívat některé chybně odebrané vzorky. Pokud by se prokázalo, že je možnost u některých rozborů tyto vzorky využívat, mělo by to pozitivní vliv na pacienty, kterým by nemusel být vzorek opět odebírán. Další výhodou by byly finanční a časové úspory.

1 TEORETICKÁ ČÁST

1.1 Úvod do hematologie

Hematologie je vědní obor, jenž se zabývá studiem krve a všemi jejími složkami. Zaobírá se buňkami krve z hlediska jejich morfologie, kvantity a funkce. V druhé řadě se zabývá srážlivostí krve a všemi faktory, které se na srážení podílejí. (Rozsypalová, 2002)

Krev se skládá z tekuté složky (krevní plazmy) a buněčných elementů (červených krvinek, bílých krvinek a krevních destiček). Je to vysoce specializovaná tělesná tekutina proudící uzavřeným cévním systémem. Mezi buňkami zajišťuje nepřetržitou výměnu látek. Napomáhá udržovat stálost vnitřního prostředí. Krev rozlišujeme na srážlivou (nativní) a nesrážlivou.

Srážlivá krev je krev bez antikoagulačních činidel. Za normálních okolností se v této krvi aktivují srážecí procesy a dochází tedy k jejímu srážení. V nesrážlivé krvi jsou antikoagulační činidla, která zabraňují srážení. Celkové množství krve v organismu činí 7 – 8 % tělesné hmotnosti - u dospělého člověka tedy 5 – 6 litrů. (Pecka, 2004)

Plazma (z řeckého *plassein* = tvořit) je extracelulární nažloutlá, průhledná, lehce zkalená tekutina. Nacházejí se v ní krevní buňky (červené krvinky, bílé krvinky, krevní destičky, za patologických stavů i jiné typy buněk). Získává se stáčením nesrážlivé krve a zaujímá cca 50 – 55 % celkového objemu krve. Plazma je tvořena z 92 % vody, 7 % bílkovin a 1 % tvoří anorganické a organické látky. (Pecka, 2004)

Erytrocyty (z řeckého *erythros* = červený a *kýtos* = buňka) jsou nejpočetněji zastoupenými krvinkami v krvi. Zaujímají cca 40 – 45 % celkového objemu krve. Jejich počet u žen se udává $3,8 - 4,9 \cdot 10^{12}/l$, u mužů $4,3 - 5,7 \cdot 10^{12}/l$. (HTO, 2020) Ženy mají v poměru ke své váze o 5 % červených krvinek méně než muži.

Erytrocyty jsou neúplné buňky bikonkávního tvaru a jejich vnitřek je vyplněn hemoglobinem, jehož základní funkcí je přenos kyslíku z plic do tkání. Erytrocyty v lidském těle zaujímají celkový povrch, který se odhaduje přibližně na $3\,250\text{ m}^2$. (Pecka, 2004)

Leukocyty (z řeckého *leukos* = bílý a *kýtos* = buňka) se tvoří z tkáně mezenchymu a uplatňují se v řadě obranných reakcí organismu. (Pecka, 2010) Počet bílých krvinek se udává $3,9 - 9,4 \cdot 10^9/l$. (HTO, 2020). Jsou to bezbarvé krvinky, které obsahují jádro. Podle tvaru jádra je dělíme na mononukleáry a polymorfonukleáry. (Pecka, 2010) Mononukleáry (agranulocyty) obsahují nečleněné jádro a dále se rozdělují na monocyty a lymfocyty.

Polymorfonukleáry (granulocyty) obsahují členité jádro a dále se rozdělují podle barvitelnosti granul v cytoplazmě na neutofily, eosinofily a basofily. (Pecka, 2004)

Trombocyty (z řeckého *trombos* = sedlina, sraženina a *kýtos* = buňka) jsou nejmenší buňky v krvi, které neobsahují jádro. Jedná se spíše o útržky megakaryocytů než o buňku. Jejich počet se udává $130 - 380 * 10^9/l$. (HTO, 2020) Krevní destičky se za fyziologických dějů účastní zástavy krvácení a regeneraci cév. (Pecka, 2004)

Krvinky lze počítat pomocí mikroskopu a analyzátorů (poloautomaty, automaty). K měření parametrů krevních buněk se nejčastěji používá kapilární nebo žilní krev, která se odebírá za standardních podmínek. (Pecka, 2006) Jako protisrážlivé přísady se využívá soli kyseliny ethylendiaminotetraoctové (K_3EDTA a K_2EDTA). Hlavním rozdílem mezi solemi je pH, které tyto látky vytváří a jejich rozpustnost. pH K_3EDTA se přibližuje fyziologické hranici pro pH krve, kdežto pH K_2EDTA se pohybuje zlehka nad hodnotou 5. (Pecka, 2010)

Při hematologickém vyšetření je velmi důležité dodržovat správný poměr odebrané krve a protisrážlivého činidla. Existují i zkumavky pro menší množství odebíraného materiálu např. k odběrům u dětí. Pokud dojde k nedodržení poměru odebrané krve a protisrážlivého činidla, laboratoř je nucena vzorek odmítnout vyšetřit. Výrobce odběrových zkumavek vždy určuje poměr krve a antikoagulantu.

1.2 Krevní obraz

Krevní obraz řadíme mezi základní vyšetření, která se využívají k diagnostice a sledování léčby různých nemocí. Pro hodnocení krevního obrazu je důležité znát důvody tohoto vyšetření i okolnosti, které souvisí s vlastním stanovením na analyzátorech. K získání velkého množství informací z tohoto vyšetření je třeba ze strany laboratoře respektovat preventivní zásady vyšetření, zohledňovat výsledky předchozích vyšetření, ale také přihlížet k souvisejícím informacím jako je např. diagnóza, věk, pohlaví a léčba pacienta. (Penka, 2011) Mezi preventivní zásady řadíme znalost principů měření daného analyzátoru, referenčních hodnot jednotlivých parametrů pro daný analyzátor, respektování souvislostí mezi jednotlivými parametry, ověřování patologických výsledků na mikroskopu apod. (Pecka, 2010)

Vyšetření krevního obrazu zahrnuje stanovení počtu krevních buněk a jejich parametrů. Rozlišují se dva základní typy: osmiparametrový a víceparametrový krevní obraz.

Do osmiparametrového krevního obrazu řadíme leukocyty (WBC), erytrocyty (RBC), hemoglobin (Hb), hematokrit (Hct), střední objem erytrocytů (MCV), střední množství (koncentrace) Hb erytrocytu (MCH), střední koncentraci Hb v erytrocytech (MCHC) a trombocyty (Plt). (Pecka, 2010)

Víceparametrový krevní obraz zahrnuje navíc širší distribuce erytrocytů (RDW), destičkový hematokrit (Pct), širší distribuce trombocytů (PDW) a střední objem trombocytů (MPV). Popřípadě další parametry dle možností jednotlivých analyzátorů. (Pecka, 2010)

Krevní obraz je tedy komplexní soubor výsledků, které spolu úzce souvisí, ale není možné posuzovat jednu hodnotu bez návaznosti na ostatní parametry. (Penka, 2011)

1.2.1 Možnosti stanovení krevního obrazu

Před vlastním vyšetřením homogenizujeme vzorek na speciálním valivém zařízení, kde se nesrážlivá krev míchá cca 10 minut. Toto zařízení zajišťuje rovnoměrné promísení materiálu v celém obsahu zkumavky. Při homogenizaci se zkumavka otáčí a zároveň naklání. Po odebrání zkumavky z valivé míchačky se doporučuje nádobku asi 5 – 7krát otočit o 180°, aby došlo k plynulému promísení obsahu. (Pecka, 2010)

Krevní vzorek nelze ihned po odběru vyšetřit. Je nutné vyčkat minimálně 15 – 20 minut. Tato doba je potřebná k tomu, aby po nabrání krve do zkumavky s antikoagulačním činidlem došlo ke vzájemnému vyrovnání koncentračních gradientů vně a uvnitř krvinky. (Matějková, 2019)

1.2.1.1 Mikroskopické stanovení

Principem mikroskopického stanovení je smíchání krve v určitém poměru s ředícím, barvicím nebo fixačním roztokem, který zvýrazní počítanou krevní buňku a ostatní elementy potlačí nebo rozruší. U erytrocytů je stabilizačním roztokem Hayemův roztok, který obsahuje HgCl_2 . Erytrocyty se volumetricky sférují a získávají kovový nádech. Vzorek se ředí v poměru 1 : 200. U leukocytů je stabilizačním roztokem Thürkův roztok. Obsahuje ledovou kyselinu octovou a genciánovou violet'. Ledová kyselina octová rozruší erytrocyty a trombocyty, neporuší však leukocyty. Genciánová violet' obarví modře jádra leukocytů. Vzorek se ředí v poměru 1 : 20. U trombocytů je stabilizačním roztokem roztok prokainu. Obsahuje prokain hydrochlorid, který vyvolá útlum metabolických procesů v krevní destičce. Membrána krevní destičky se zaoblí a opticky zvýrazní. Při použití metody dle Piettových se zředěná krev ponechá stát 20–30 minut. Dochází ke stabilizaci a zvýraznění trombocytů a k narušení erytrocytů. Vzorek se ředí v poměru 1 : 20. (Pecka, 2010)

Dále je počet krevních buněk přepočten na 1 litr krve. K mikroskopickému stanovení se používá různých typů mikroskopů. Zvětšení se upravuje individuálně dle velikosti buněk a typu počítací komůrky. Komůrky mají přesně definovaný kalibrovaný vnitřní objem. V hematologii byla nejvíce používanou Bürkerova komůrka, ale mohou se používat i jiné v závislosti na tom, jaké typy buněk počítáme: Fuschsova-Rosenthalova, Neubauerova, případně komůrka Nageotte uzpůsobená pro nízké počty krevních buněk. V Bürkerově komůrce počítáme erytrocyty a trombocyty ve 20 obdélnících a leukocyty v 50 středních čtvercích. (Pecka, 2010)

1.2.1.2 Elektronické stanovení

V posledním desetiletí je zaznamenán výrazný rozvoj hematologických analyzátorů. Analyzátory poskytují informace o počtu, velikosti, tvaru a složení buňky. Použití jednotlivých principů umožňuje různé kvantitativní i kvalitativní analýzy. (Pecka, 2010)

V analyzátorech dochází nejprve k rozdělení buněk pomocí speciálních systémů tak, aby byla pokud možno měřena pouze jedna buňka. Současně dochází k naředění krevního vzorku, který se následně rozdělí do dvou cest. V jedné cestě se počítají erytrocyty a trombocyty (výraznější ředění), ve druhé cestě se počítají leukocyty, kdy se zjišťuje jejich diferenciální rozpočet (méně výrazné ředění). (Pecka, 2010) V mnohých případech se parametry určují přímo, jiné se zjišťují výpočtem z naměřených hodnot. (Dacie, 2001)

Poloautomatické analyzátory (poloautomaty) vyžadují manuální předředění vzorku. V dnešní době se tato kategorie přístrojů již nepoužívá.

Automatické analyzátory (automaty) využívají vlastní automatické řídící systémy k nařazení vzorku. Rychlost automatických analyzátorů je 60–150 krevních vzorků/hod. (Pecka, 2010)

1.2.2 Parametry krevního obrazu

Jedním ze základních vyšetření krevního obrazu je červený krevní obraz (RBC – Red Blood Cells), což je celkový počet červených krvinek v krvi. Životnost erytrocytů (obrázek 1) je 120 dní. Fyziologické hodnoty RBC jsou $3,8 - 4,9 \cdot 10^{12}/l$ u žen a $4,3 - 5,7 \cdot 10^{12}/l$ u mužů. (HTO, 2020)



Obrázek 1: Červené krvinky

Zdroj: <https://www.symptomy.cz/anatomie/krev>

Hemoglobin (Hb) je červené krevní barvivo, jehož funkcí je přenos kyslíku do tkání a odpadních látek opačným směrem. Molekula hemoglobinu se skládá ze čtyř podjednotek. Každá podjednotka je tvořena bílkovinnou (globin) a nebílkovinnou (hem) částí. Hemoglobin se také uplatňuje jako nárazníkový systém. Fyziologické hodnoty Hb jsou u žen 120 – 160 g/l a u mužů 135 – 175 g/l. (Trojan, 2003)

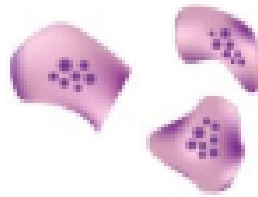
Hematokrit (Hct) představuje poměr neboli zlomek objemu krve, který obsahuje červené krvinky. Hct se obvykle neměří na analyzátozech, spíše se počítá vynásobením počtu RBC a MCV. Tato vypočítaná hodnota bývá přesnější, protože přímá metoda na analyzátoru zahrnuje malé množství krevní plazmy, která je zachycena mezi krvinkami. Fyziologické hodnoty jsou u žen 0,35 – 0,47 a u mužů 0,40 – 0,50. (Lippi, 2012)

Střední objem červených krvinek (MCV = mean cell/corpuscular volume) definuje objem červených krvinek a je vyjádřen ve femtolitrech (fl) nebo jako krychlové mikrony (μm^3). Fyziologické hodnoty pro MCV jsou 87 ± 7 fl. (Sarma, 1990) MCV lze měřit přímo pomocí průtokové cytometrie nebo výpočtem z nezávisle měřeného počtu erytrocytů a hematokritu (rozdělení hematokritu počtem erytrocytů). (Lippi, 2012)

Množství hemoglobinu v červené krvince (MCH = (mean cell/corpuscular hemoglobin) kvantifikuje množství hemoglobinu v červených krvinkách. Tento parametr se vypočítá vydělením celkového množství hemoglobinu počtem červených krvinek v daném objemu krve. Normální hodnoty pro MCH jsou 29 ± 2 pikogramů (pg) na buňku. (Lippi, 2012)

Průměrná koncentrace korpuskulárního hemoglobinu (MCHC) je míra koncentrace hemoglobinu v daném objemu erytrocytů. Vypočítá se dělením hemoglobinu hematokritem. Fyziologické hodnoty jsou v rozmezí 320 – 360 g/l. (Lippi, 2012; HTO, 2020)

Hodnoty krevních destiček (Plt = platelets) se získávají kombinací impedancečního měření a optické metody (fluorescenční průtoková cytometrie). Živostnost trombocytů je udávána 9 – 10 dní. Referenční rozmezí u mužů i žen je $130 - 380 \cdot 10^9/l$. (HTO, 2020) Trombocyty (obrázek 2) obsahují alfa granula, denzní granula a lysozomy s enzymy. Alfa granula jsou velmi důležitá pro krevní srážlivost. (Šajdíková, 2011)



Obrázek 2: Krevní destičky

Zdroj: <https://www.symptomy.cz/anatomie/krev>

Doplňujícím vyšetřením krevního obrazu je bílý krevní obraz, zejména celkový počet bílých krvinek (WBC - White Blood Cells). Do bílého krevního obrazu se řadí i diferenciální rozpočet bílých krvinek, kterému se věnuji v další kapitole 1.3. (Dylevský, 2009)

1.3 Diferenciální rozpočet leukocytů

Diferenciální rozpočet leukocytů se může provádět jako součást vyšetření krevního obrazu. Bílé krvinky jsou značně morfologicky i funkčně rozmanité. Nestačí proto zjistit jejich absolutní počet, ale je třeba v krevním nátěru zhodnotit i zastoupení jednotlivých druhů (neutrofilů, eosinofilů, basofilů, monocytů a lymfocytů). I při normálním celkovém počtu leukocytů může být určitý druh zmnožen nebo naopak zastoupen v menší míře. (Roušar, 2012)

V tabulce č. 1 je zaznamenán druh bílé krvinky, jeho počet, vlastnosti a funkce u zdravého dospělého člověka.

Tabulka 1: Diferenciální rozpočet leukocytů u dospělého člověka

| Leukocyt | Počet [%] | Vlastnosti | Význam |
|-----------|-----------|---|---|
| Neutrofil | 57 – 67 | Jádro: 2 – 5 segmentů | Fagocytóza, mikrofágy |
| Eosinofil | 1 – 3 | Jádro: 2 segmenty spojené můstkem chromatinu, cihlově červená granula | Alergická reakce |
| Basofil | 0 – 1 | Segmentované jádro, překryté tmavou basofilní granulou | Alergická reakce, zánět |
| Monocyt | 3 – 8 | Nehomogenní ledvinovité jádro, vakuoly | Fagocytóza, makrofágy |
| Lymfocyt | 24 – 40 | Jádro: kondenzované, zabírá 90% buňky | B-lymfocyty: protilátky T-lymfocyty: buněčná imunita |

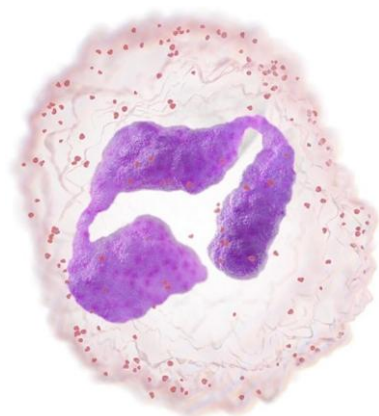
Zdroj: (Trojan, 2003)

1.3.1 Parametry diferenciálního rozpočtu leukocytů

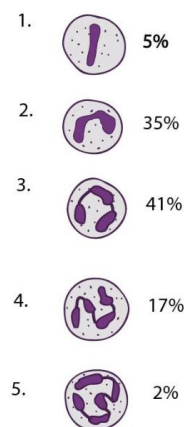
Bílé krvinky pocházejí z různých prekurzorových buněk. Myeloidní bílé krvinky jsou produkovány v kostní dřeni, lymfoidní probíhá také v kostní dřeni, ale i v primárních a sekundárních lymfatických orgánech. Funkce jednotlivých leukocytů se do určité míry liší, nicméně všechny působí v rámci obranných mechanismů organismu. Životnost leukocytů je různá, granulocyty žijí cca 2–3 dny, kdežto lymfocyty několik měsíců, let a někdy i celý život. (Janeway, 2001)

Neutrofilní granulocyty zobrazené na obrázku 3 jsou nejpočetnější a nejdůležitější buněčnou složkou nespecifické imunitní reakce. (Janeway, 2001) Patří do kategorie granulocytů (polymorfonukleárů) jejichž znakem jsou granula v cytoplazmě. Granula dělíme na specifická a azurofilní. Specifická granula se objevují ve stádiu metamyelocytu a myelocytu. Obsahují lysozym, kolagenázu a laktoferin. Azurofilní granula se vyskytují ve stádiu promyelocytu a obsahují myeloperoxidázu, defenziny, protézy, hydrolázy, lysozym

a kationické proteiny. (Toman, 2009) Neutrofilly se podle tvaru jádra rozdělují na neutrofilní tyče a neutrofilní segmenty (obrázek 4). Zralé neutrofilly mívají 2 – 5 segmentů, nejmladší formy nemají jádro segmentované. U starých buněk se může vyskytovat tzv. hypersegmentované jádro, kdy jádro obsahuje více než 5 segmentů. Přestup neutrofilů z krve do tkání zprostředkovávají integriny, což jsou povrchové adhezivní proteiny napomáhající adhezi na cévní stěnu. (Šajdíková, 2011) Funkcí těchto buněk je ochrana před bakteriemi, viry a plísňovými infekcemi. Jsou to první buňky, které se nachází v místě nějaké infekce a musí rychle a silně reagovat. Proto se v místě poškození nachází ve zvýšených koncentracích. Mají schopnost fagocytózy – nazýváme je jako tzv. mikrofágy. (Edwards, 2005) Velikost neutrofilů bývá průměrně 10 – 14 μm . (Pecka, 2002)



Obrázek 3: Neutrofilní granulocyt



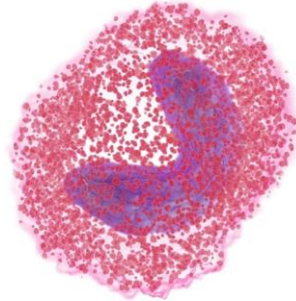
Obrázek 4: Dělení neutrofilů dle segmentů jader a jejich procentuální zastoupení v organismu

Zdroj: Obrázek 3: <https://www.sysmex-europe.com/n/academy/knowledge-centre/white-blood-cells.html>

Obrázek 4: <http://fb.lt.cz/skripta/v-krev-a-organy-imunitniho-systemu/3-formovane-krevni-elementy/>

Eosinofilní granulocyty (obrázek 5) řadíme také do kategorie polymorfonukleárů. Jejich hlavním znakem jsou eosinofilní granula, která obsahují myeloperoxidázu, lipidy, histamin, plazminogen, kationové proteiny a neurotoxin. Množství myeloperoxidázy v granulích se zvyšuje s postupným dozráváním buněk. Granula eosinofilů jsou větší než granula nacházející se v cytoplasmě neutrofilů. Jádro granulí obsahuje hlavní bazický protein, který je cytotoxický pro parazity. Hlavní bazický protein se váže na povrch parazitů a poškozuje jejich buněčnou membránu. Hlavní funkcí eosinofilů je tedy ničení parazitů. Jsou schopny i fagocytózy, ale méně než neutrofilly. Zralé eosinofily přežívají v krevním oběhu 12 – 24 hodin, ale jejich počet během dne kolísá. Zvýšené hodnoty neboli eosinofilie může

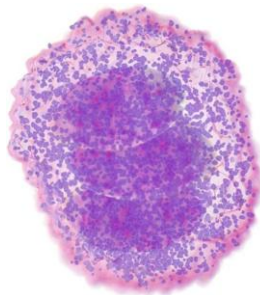
být i při alergické reakci nebo poukazovat na maligní onemocnění, protože je indikátorem některých typů neoplazie. (Edwards, 2005; Pecka, 2006; Šajdíková, 2011) Jádru eosinofilů bývá zpravidla tvořeno dvěma segmenty. (Šajdíková, 2011) Velikost eosinofilů je 10 – 16 μm , bývají tedy větší než neutrofilů. (Pecka, 2002)



Obrázek 5: Eosinofilní granulocyt

Zdroj: <https://www.sysmex-europe.com/n/academy/knowledge-centre/white-blood-cells.html>

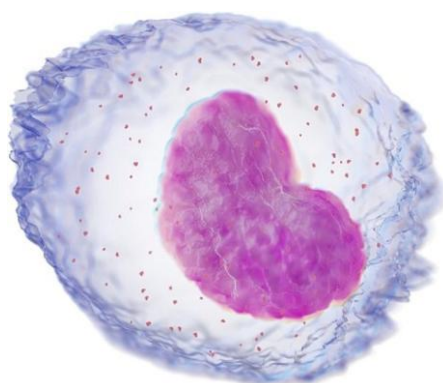
Basofilní granulocyty (obrázek 6) jsou relativně vzácné. Vzhledem k obtížnosti získání velkého počtu těchto buněk nejsou biochemicky dobře popsány. Hlavním znakem basofilů jsou basofilní granula v cytoplasmě, která jsou však ve vodě rozpustná. Obsahují histamin, serotonin, heparin a další složky, které zprostředkovávají alergickou a zánětlivou reakci. Histamin je v basofitech přítomen ve velkém množství, a to 1 – 3 pg/buňka. Biologická funkce basofilů vzniká vazbou na histaminové receptory (H_1 nebo H_2) cílových buněk. Obsazení H_1 receptorů má za následek kontrakci hladkého svalstva průdušek a gastrointestinálního traktu, zatímco obsazení H_2 receptorů zprostředkovává sekreci žaludeční kyseliny parietálními buňkami, dále také reguluje funkci některých lymfocytů. Prudké uvolnění granul při alergické či zánětlivé reakci může vyvolat anafylaktický šok. Zralé basofily přežívají 4 – 7 dní v krevním oběhu. Jádru bývá nepravidelné, laločnaté s malým množstvím chromatinu. Basofily jsou zpravidla o něco menší než neutrofilů, a tedy i eosinofilů. Jejich velikost je 10 – 12 μm . (Edwards, 2005; Pecka, 2006; Pecka, 2002; Šajdíková, 2011)



Obrázek 6: Basofilní granulocyt

Zdroj: <https://www.sysmex-europe.com/n/academy/knowledge-centre/white-blood-cells.html>

Monocyty (obrázek 7) patří do skupiny mononukleárních buněk tedy agranulocytů. Pochází z myeloidní vývojové řady, jejíž buňky jsou produkovány jen v kostní dřeni. Tyto buňky jsou odpovědné za běžnou i patologickou destrukci erytrocytů. Jádro může být oválné, fazolovité, améboidní nebo tvaru podkovy jako u neutrofilů. (Thrall, 2012) Monocyty nejsou skladovány, ale rychle se uvolňují do oběhu. Ve tkáních se stávají makrofágy – schopnost fagocytózy. Jsou schopné vypustit jen interleukin, látku, která potencuje B a T lymfocyty. Účastní se fibrinolýzy vylučováním aktivátorů plasminogenu. (Blumenreich, 1990) Monocyty mají velmi důležitou úlohu v imunitní reakci organismu. Dokážou se rychle přesouvat na místo infekce, diferencovat se na makrofágy a dendritické buňky a vyvolat imunitní odpověď. Buňky monocyto-makrofágového systému mohou pohlcovat cizorodé částice a rozkládat je na antigeny, které pak nesou na svém povrchu. Zvýšený počet monocytů indikuje různé patologické stavy např. infekci. Může se však také objevit i v případech zhoubných onemocnění. (Vydra, 2015)

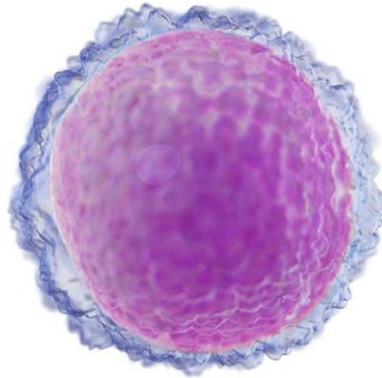


Obrázek 7: Monocyt

Zdroj: <https://www.sysmex-europe.com/n/academy/knowledge-centre/white-blood-cells.html>

Lymfocyty (obrázek 8) jsou malé buňky pocházející z lymfoidních kmenových buněk. Jejich vývoj probíhá jak v kostní dřeni, tak i v primárních a sekundárních lymfatických orgánech. Tyto malé buňky nemají žádnou funkční aktivitu, dokud nenarazí na antigen. Jsou pozoruhodné tím, že dokážou vyvolat specifickou imunitní odpověď proti prakticky jakémukoli cizímu antigenu. Po rozpoznání antigenu se buňka zvětšuje, aby vytvořila lymfoblast, poté se prolifерuje a diferencuje na efektorovou buňku specifickou pro antigen. Existují tři hlavní třídy lymfocytů – B lymfocyty (B buňky), T lymfocyty (T buňky) a NK buňky. B lymfocyty se po aktivaci diferencují na plazmatické buňky, které vylučují protilátky. T lymfocyty se dělí na dvě hlavní třídy. Jedna třída rozlišuje aktivaci na cytotoxické T lymfocyty, které ničí buňky infikované virem, zatímco druhá třída T lymfocytů se diferencuje na buňky, které aktivují jiné buňky, jako jsou B lymfocyty a makrofágy. T a B

lymfocyty nesou obrovský repertoár receptorů, které jsou na svých vazebných místech pro antigen velmi rozmanité. Třetí třída lymfoidních buněk, tedy NK buňky postrádají receptory specifické pro antigen a jsou součástí přirozeného imunitního systému. Tyto buňky cirkulují v krvi jako velké lymfocyty s charakteristickými cytotoxickými granuly. Jsou schopné rozeznat a zabít některé abnormální buňky (např. nádorové buňky, buňky infikované virem) a jsou považovány za důležité v přirozené imunitní obraně proti intracelulárním patogenům. (Janeway, 2001a)



Obrázek 8: Lymfocyt

Zdroj: <https://www.sysmex-europe.com/n/academy/knowledge-centre/white-blood-cells.html>

1.4 Fáze zpracování

1.4.1 Preanalytická fáze

Preanalytická fáze zahrnuje soubor dějů a operací, které probíhají před vlastním zahájením analyzování (Zima, 2007). Norma Mezinárodní organizace pro standardizaci (ISO) 15189: 2013 pro laboratorní akreditaci definuje preanalytickou fázi jako „*procesy, které začínají v chronologickém pořadí na žádost lékaře a zahrnují žádost o vyšetření, přípravu a identifikaci pacienta, odběr primárního vzorku (vzorků) a transport do laboratoře a uvnitř laboratoře a končí zahájením analytického vyšetření.*“ Preanalytickou fázi rozlišujeme na mimolaboratorní a laboratorní. (Plebani, 2006)

Mimolaboratorní preanalytická fáze zahrnuje přípravu pacienta před odběrem. Z velké části závisí na informovanosti a disciplinovanosti pacienta, odběr biologického materiálu, centrifugaci a transportu materiálu do laboratoře. Centrifugace se provádí jen tehdy, není-li možnost rychlého transportu vzorku do laboratoře. (Kiechle, 2007; Racek, 2006; Zima, 2007)

Nejčastěji se odebírá venózní krev získaná venepunkcí, u malých dětí a nedonošenců se odebírá krev kapilární. Odběr krve může v mnoha případech zkreslovat výsledky vyšetření. Aby byly výsledky co nejpřesnější, musí být dodržovány odběrové podmínky. Při hematologickém vyšetření se odběr provádí zpravidla na lačno (10 – 12 hodin), 1 den před odběrem pacient vynechává tučná jídla a nejméně 12 hodin před odběrem nekouří a nepije alkohol, dále omezí tělesnou aktivitu na minimum a vyvaruje se stresu. (Pecka, 2010) Laboratorní preanalytická fáze zahrnuje příjem a registraci vzorku, centrifugaci, skladování vzorku a přípravu před vlastním stanovením. (Kiechle, 2007; Racek, 2006; Zima, 2007)

V rámci této fáze je velmi důležité si uvědomit vzájemné působení biologických vlivů a dále také vliv odběru, transportu a skladování materiálu. Správná laboratorní praxe snižuje riziko chyb a jejich nepříznivých klinických důsledků. (Lippi, 2017)

1.4.1.1 Neovlivitelné biologické vlivy preanalytické fáze

Rasa – odlišnost metabolických cest (např. enzymatická aktivita, množství svalové hmoty, která má za následek aktivitu kreatinkinázy).

Pohlaví – všeobecně jsou u mnohých analytů vyšší normální hodnoty u mužů. Do puberty jsou tyto rozdíly minimální. Rozdíly nejsou jen v aktivitě pohlavních hormonů, ale také v koncentraci/aktivitě ALT, AST, ALP, CK, kyseliny močové, močoviny, hemoglobinu, feritinu a železa.

Věk – věk hraje významnou roli v řadě biochemických dějů. Některé analyty lineárně stoupají od narození, jiné dosahují maxima v dětství a následně prudce klesají.

Gravidita – změny hodnot analytů v těhotenství mohou být dány řadou mechanismů, jako např. zvýšením ALP, plazmatických transportních proteinů v plazmě, tělesného objemu a tedy zvýšenou clearancí kreatininu apod.

Biologické cykly – nejznámější je denní cyklus kortizolu, kdy svého maxima dosahuje v ranních hodinách a minima ve večerních hodinách s možnou odchylkou až 250 %. Odběr musí být proveden mezi 6 – 7 hodinou ranní.

1.4.1.2 Ovlivnitelné biologické vlivy preanalytické fáze

Hmotnost – pacienti s obezitou mívají ku příkladu běžně zvýšené koncentrace cholesterolu (LDL), triacylglycerolů, kyseliny močové, kortizolu a inzulínu.

Životní styl a stravovací návyky – zanedbání těchto faktorů může často vést k mylné interpretaci laboratorních výsledků. Před a při stravování dochází k vyplavování hormonů, enzymů a některé analyty se dokonce přesouvají do jiných kompartmentů. Největší výchyly se projevují v koncentracích glukózy, železa, lipidů a ALP. (Krška, 2011)

Alkohol – konzumace alkoholu vede ke zvýšení ALT, AST, GGT, kortizolu, adrenalinu a estradiolu. Dlouhodobý abusus způsobuje hypoglykémii a ketoacidózu, dále se zvyšuje koncentrace laktátu a kyseliny močové. (Krška, 2011)

Kouření – řada analytů je ovlivněna působením nikotinu. Například zvyšuje koncentraci cholesterolu, triacylglycerolů, karcinoembryonálního antigenu, naopak snižuje hladinu imunoglobulinů a vitamínu B12. (Zima, 2010)

Léky a drogy – užívané léky mají vliv na biologické procesy *in vivo* (cytotoxicita, zvýšení transportních proteinů), ale také na fyzikálně-chemické interference *in vitro* (imunochemická stanovení). Laboratoř musí být informována o medikaci pacienta. (Krška, 2011)

Fyzická zátěž – fyzická aktivita ovlivňuje složení tělních tekutin a koncentraci jednotlivých analytů. Závisí ovšem na délce a intenzitě cvičení. Namáhavé cvičení způsobuje hypoglykémii a prudký nárůst laktátu. (Zima, 2010)

1.4.1.3 Transport materiálu do laboratoře

Za předpokladu, že se jedná o infekční materiál, dochází k transportu v uzavřených a označených boxech nebo kontejnerech. Využívají se speciálně upravené plastové nádoby, které musí splňovat náročné požadavky, jako např. těsnost, odolnost proti otřesům, změna tlaku při letecké přepravě. Pokud není uvedeno jinak, k transportu dochází při teplotě mezi 20

a 25 °C. Odebraný materiál musí být vždy co nejrychleji dopraven do laboratoře. Vzorek pro vyšetření krevního obrazu má být zpracován do 2 – 5 hodin od odběru. (Pecka, 2010) Některé druhy materiálů je nutné do laboratoře transportovat ihned bez zdržení. Jde například o výtěry, stěry, sputum, stolice, sperma, plodovou vodu... (HTO, 2020)

1.4.1.4 Skladování materiálu

Při skladování je důležité, aby byl materiál správně uzavřen a zabránilo se tak zahuštění vzorku odpařováním, kontaminací mikroorganismy a metabolismem krevních elementů.

Pro většinu analytů postačuje skladování při teplotě 4 °C za předpokladu, že bude zpracován do 24 – 48 hodin, maximálně však do týdne. (Krška, 2011)

1.4.1.5 Chyby v preanalytické fázi

Technická specifikace vydaná Mezinárodní organizací pro normalizaci (ISO / TS 22367) definuje laboratorní chybu jako „*neplnění plánované akce, jak bylo zamýšleno, nebo použití nesprávného plánu k dosažení cíle, ke kterému dochází v kterékoli části laboratorního cyklu, od objednání vyšetření po podávání zpráv o výsledcích a přiměřeného tlumočení a reakce na ně*“.

Laboratorní specialisté prokázali, že 70 % chyb vzniká v preanalytické fázi vyšetření. (Carraro, 2007) Dále bylo prokázáno, že k většině těchto chyb dochází v mimolaboratorní fázi zdravotnickým personálem, který není pod kontrolou laboratoře. Pro prevenci preanalytických chyb je nejspolehlivějším postupem sestavení preanalytické standardizace. (Lippi, 2006) Dalším úskalím je, že čím je systém automatizovanější, tím těžší je odhalit vzniklé chyby. (Lippi, 2019)

Mezi nejčastější chyby patří chyby vzniklé při odběru vzorku a jeho následném transportu.

Chyby vzniklé při odběru – nedostatečný objem je nejčastějším faktorem vedoucí k odmítnutí vzorku. Dalšími chybami může být nevhodná zkumavka, hemolyzované a sražené vzorky, nesprávně označená zkumavka či nelegální ručně psané označení. (Dikmen, 2015; Gokhan, 2018)

Chyby vzniklé při transportu vzorku – nedodání vzorku včas do laboratoře, nedodržení teploty, nesprávné uložení a následné poškození při přepravě. (Zima, 2007)

Snížení chybovosti v preanalytické fázi je nezbytné pro zajištění nákladové efektivnosti, spokojenosti pacientů a kvalitní laboratorní služby. (Plebani, 2009)

1.4.2 Analytická fáze

Analytická fáze je prováděna v laboratořích v souladu s postupy a správné laboratorní praxe. Zahrnuje vnitřní a vnější kontrolu kvality, která minimalizuje chyby analytického procesu. (Pecka, 2010) Je zajišťována zdravotními laboranty, biochemiky nebo analytickými chemiky. (Dastych, 2008) V dnešní době je spousta laboratorních postupů automatizována, ať už z důvodu úspory času či laboratorních pracovníků. (Anděl, 2001) Stanovení na analyzátorech má ovšem svá úskalí, která by se neměla opomíjet. Vzorky mohou obsahovat složky, které brání přesnému stanovení jednotlivých parametrů. Při měření krevního obrazu na analyzátorech existuje jistá provázanost jednotlivých parametrů, proto může docházet k tomu, že nepřesné stanovení jedné složky může mít vliv na stanovení složky jiné. Rozpoznat možnou interferenci znamená vydávat správné výsledky. (Pecka, 2006)

1.4.3 Postanalytická fáze

Postanalytická fáze je závěrečnou fází celého procesu testování. Zahrnuje vyhodnocení výsledků laboratorních testů, jejich včasné zveřejnění, a to zejména kritických výsledků, přípravu zprávy o laboratorním testu, vydání této zprávy, skladování a likvidaci vzorků, archivaci laboratorní dokumentace a postanalytické ukazatele kvality. Četnost laboratorních chyb během postanalytické fáze je nižší než četnost chyb během preanalytické fáze. Jednotliví laboratorní pracovníci mohou být zapojeni do této fáze, avšak v souladu se svými kompetencemi. Všechny postupy pro postanalytickou fázi jsou nedílnou součástí ISO 15189:2013, což umožňuje přísnou kontrolu kvality postanalytické laboratorní práce. Vyhodnocení výsledků zkoušek, které nejsou potvrzeny a uvolněny ihned po analýze v rámci automatizovaného výběru a hlášení zkoušek, musí být vyhodnoceny prostřednictvím dvou vzájemně nezávislých činností:

- a) přezkoumání výsledků zkoušek
- b) potvrzení výsledků zkoušek.

Přezkoumání zahrnuje porovnání výsledků s referenčními/kritickými hodnotami, diagnostiku pacienta a výsledky předchozích testů, jsou-li k dispozici. Po tomto srovnání jsou výsledky potvrzeny jako přijatelné nebo jsou doporučeny další postupy (opakování zkoušky). Toto přezkoumání může odhalit chyby nebo nové problémy v preanalytické i analytické fázi (jako je nesprávná identifikace vzorku). (Krléza, 2019)

1.5 Hematologické analyzátory

Automatizované hematologické analyzátory zaujaly klíčové místo v hematologických laboratořích kvůli vysokým analytickým výkonům v počtu krevních buněk a jejich schopnosti odlišovat abnormální buňky. Instalace a kalibrace analyzátoru jsou prováděny podle doporučení výrobce, kontrola kvality podle doporučení normy EN-ISO 15189. (Becker, 2016) Hematologické analyzátory poskytují rychlé a přesné výsledky, další výhodou je spolehlivost a poměrně malé množství krve potřebné k vyšetření. (Pecka, 2006) Tyto analyzátory si samy odebírají potřebný objem krve z uzavřené zkumavky, díky tomu vylučují riziko vzniku aerosolu a případnou možnost profesionální nákazy. (Anděl, 2001)

I přes vysoce kvalitní výkony a rozšířené možnosti automatizovaných analyzátorů hraje v hematologických laboratořích stále důležitou roli ruční vyšetření krevních nátěrů. Každá laboratoř má svá vlastní rozhodovací kritéria nebo pravidla pro validaci kvantitativních abnormalit nebo kvalitativních změn. (Hur, 2011)

1.5.1 Analyzátor Sysmex XN 1000

Po uvedení analyzátoru XN 1000 (Sysmex, Kobe, Japonsko) v roce 2011 byla zavedena nová technologie pro stanovení rozdílu bílých krvinek (WBC). Tento analyzátor využívá technologii impedance toku pláště k měření počtu krevních destiček a RBC (kanál RBC) jakož i fluorescenční průtokovou cytometrii pro měření a diferenciaci WBC (kanál WBC). Dále využívá tři nových kanálů, diferenciální kanály bílých krvinek (WDF), nukleární buňky bílých krvinek (WNR) a prekurzory bílých krvinek (WPC), s optimalizovaným oddělením buněčných populací a systematickým počtem červených krvinek (NRBC). (Aguadero, 2018; Becker, 2016)

Na obrázku 9 je vyobrazen samostatně stojící stolní analyzátor Sysmex XN 1000. Významně snižuje manuální zásahy obsluhy a šetří tak čas i práci. Vyšetří 100 vzorků za 1 hodinu. Kapacita podavače vzorků je pět stojanů po deseti vzorcích. Diagnostické aplikace si vybírá podle potřeby. (pokyny pro použití XN Series)



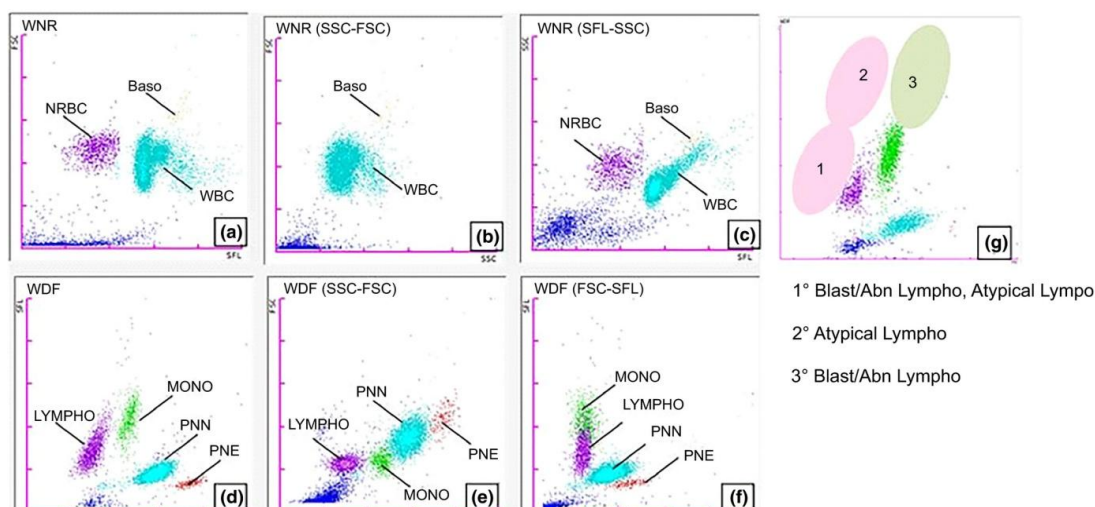
Obrázek 9: Hematologický analyzátor Sysmex XN 1000

Zdroj: <https://www.labx.com/item/sysmex-xn-1000-hematology-analyzer/11381466>

Krevní buňky jsou analyzovány optickým měřením založeným na průtokové cytometrii, po lýze červených krvinek a destiček, permeabilizaci leukocytů membránou a zavedení fluorochromu, který se váže na nukleové kyseliny leukocytů a NRBC.

Scattergramy jsou generovány po trojrozměrné analýze každého buněčného signálu podle objemu buněk (FSC: dopředné rozptylové světlo), buněčné struktury (SSC: boční rozptylové světlo) a buněčné fluorescence (SFL: boční fluorescenční světlo).

Na obrázku 10 jsou zobrazeny scattergramy určující pozice definované jednotlivými kanály, a to: (a, b, c) Pozice NRBC, basofilů (BASO), leukocytů (WBC) definované kanálem WNR. (d, e, f) Pozice neutrofilů (NEUT) a eosinofilů (EO), lymfocytů (LYMPHO), monocytů (MONO) definovaných kanálem WDF. (g) Pozice atypických a abnormálních lymfocytů definovaných kanálem WDF.



Obrázek 10: Scattergramy určující pozice definované jednotlivými kanály

Zdroj: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/ijlh.12436>

Kanál WNR vyhodnocuje počty leukocytů a basofilů a poskytuje systematický počet NRBC. Kanál WDF poskytuje počet neutrofilů, lymfocytů, eosinofilů, monocytů, nezralých granulocytů a vysoký počet fluorescenčních lymfocytů (HFLC). Používá se pro detekci abnormálních buněk (jako jsou např. blasty) a reaktivních buněk. Analyzátor Sysmex XN 1000 nabízí také kanál WPC, který je využíván pro rozlišení atypických a abnormálních lymfocytů. (Becker, 2016)

Ačkoliv jsou metody analyzátorů velmi sofistikované, nedokážou nahradit trénované lidské oko. Je známo, že udávají nepřesný počet trombocytů u těžkých trombocytopenií. (Segal, 2005)

2. PRAKTICKÁ ČÁST

2.1 Metodika výzkumu a popis vzorků

Tato práce je zaměřena na sledování hodnot krevního obrazu a diferenciálního rozpočtu leukocytů při dodržení poměru krev-protisrážlivé činidlo tak, jak požaduje výrobce odběrových zkumavek Vacuette, a jeho nedodržení, tedy odebráním menšího množství vzorku (50 % a 25 %).

K analýze bylo zpracováno 50 vzorků od dárců krve odebraných na hematologicko-transfuzním oddělení Nemocnice Havlíčkův Brod, Husova 2624, 580 01 Havlíčkův Brod. Odběr probíhal v období od 1. 3. 2020 do 30. 4. 2020. Testováni byli dospělí, zdraví muži i ženy.

V rámci jednoho odběru byly dárcům odebrány celkem tři zkumavky. V první zkumavce bylo odebráno správné množství vzorku, tedy 3 ml. Ve druhé poloviční množství, tedy 1,5 ml a ve třetí zkumavce pouze jednu čtvrtinu, tedy 0,75 ml. U všech odběrů byla krev odebírána vakuovým systémem.

Všechny odběry byly provedeny v souladu s doporučeními uvedených v Laboratorní příručce HTO NHB a s výrobním technickým postupem VTP 2.12 Vlastní odběr dárců krve. Dodržení těchto pokynů je jednou z podmínek pro správné odebrání a zpracování biologického materiálu a zaručuje správné stanovení výsledků.

2.2 Přístrojové vybavení a pomůcky

- Odběrové zkumavky s protisrážlivým činidlem K₃EDTA
 - Výrobce Greiner Bio-One
 - LOT: A1912384, expirace: 22. 03. 2021
- Analyzátor Sysmex XN 1000
 - Výrobce: Sysmex Corporation, Japonsko
 - Rok výroby: 2014
- Tiskárna
 - Typ: Cannon PIXMA TS205
- Třepačka Mix 30
 - Výrobce: Tool s. r. o.
 - Rok výroby: 2003

- Přepěťová ochrana
- Lihový fix
- Stojan na zkumavky
- Turniket
- Odběrový vak

2.3 Chemikálie a další materiál

- CELLPACK DCL a CELLPACK DFL slouží jako diluenty plné krve
- SULFOLYSER je reagencie používaná pro stanovení koncentrace Hb v krvi
- Lysercell WNR a Lysercell WDF jsou lyzační reagencie
- Flourocell WNR, Flourocell WDF jsou barvicí reagencie
- CELLCLEAN se používá jako alkalický detergent
- Kontrolní krev XN CHECK slouží ke kontrole kvality

Používané reagencie vyrábí Sysmex Europe GmbH, jejichž dodavatelem je SYSMEX CZ s.r.o.

2.4 Princip stanovení

Pro vyšetření krevního obrazu se využívá plně automatizovaného analyzátoru Sysmex XN 1000. Principem analýzy je hydrodynamická fokusace a průtoková cytometrie pomocí polovodičového laseru. Objem vzorku při zpracování je 88 μ l. Sysmex XN 1000 hodnotí výsledky komplexně, případně upozorňuje na patologické nálezy. Na analyzátoru lze provést tato vyšetření: KO, KODIFA, retikulocyty (RET), nízký počet WBC (LW) a vyšetření tělních tekutin.

2.5 Postup práce

Odebraný vzorek byl nejprve řádně promíchán na třepače Mix 30, následně bylo zkontrolováno množství odebrané krve či přítomnost sraženiny. Analyzátor byl nastaven do manuálního režimu vzhledem k menšímu množství odebraného vzorku. Analyzátor by sám nedokázal nasát správné množství pro analýzu, proto byly zkumavky vkládány otevřené. Dalším důvodem pro manuální nastavení bylo, aby nedošlo ke snímání čárového kódu v držáku a aby výsledky pacienta nebyly přeneseny do laboratorního informačního systému.

2.5.1 Vlastní měření

V prvním kroku byl analyzátor převeden do manuálního módu stisknutím tlačítka se symbolem šipky. Následně zvoleno vyšetření KODIFA a zapsána identifikace materiálu. Při objemech 1,5 ml a 0,75 ml bylo nutností zaškrtnout políčko Cap Open, kdy se zkumavky vkládaly otevřené. Po zadání všech potřebných informací byla zkumavka se vzorkem vložena do podavače a stisknutím modrého tlačítka zahájena analýza. Analyzátor sám zhodnotil výsledek, který byl vidět na monitoru v číselné podobě a v grafickém znázornění. Byly sledovány všechny hodnoty, které HTO NHB řadí do vyšetření krevního obrazu:

- RBC udávané v $10^{12}/l$
- Hb udávané v g/l
- Hct
- MCV udávané ve fl
- MCH udávané v pg
- MCHC udávané v g/l
- Plt udávané v $10^9/l$
- WBC udávané v $10^9/l$
- Diferenciální rozpočet leukocytů (neutrofilů, eosinofilů, basofilů, monocytů, lymfocytů) udávaný v %

Naměřené hodnoty správně odebraných vzorků byly porovnávány se vzorky menších objemů (1,5 ml a 0,75 ml).

2.6 Hypotéza

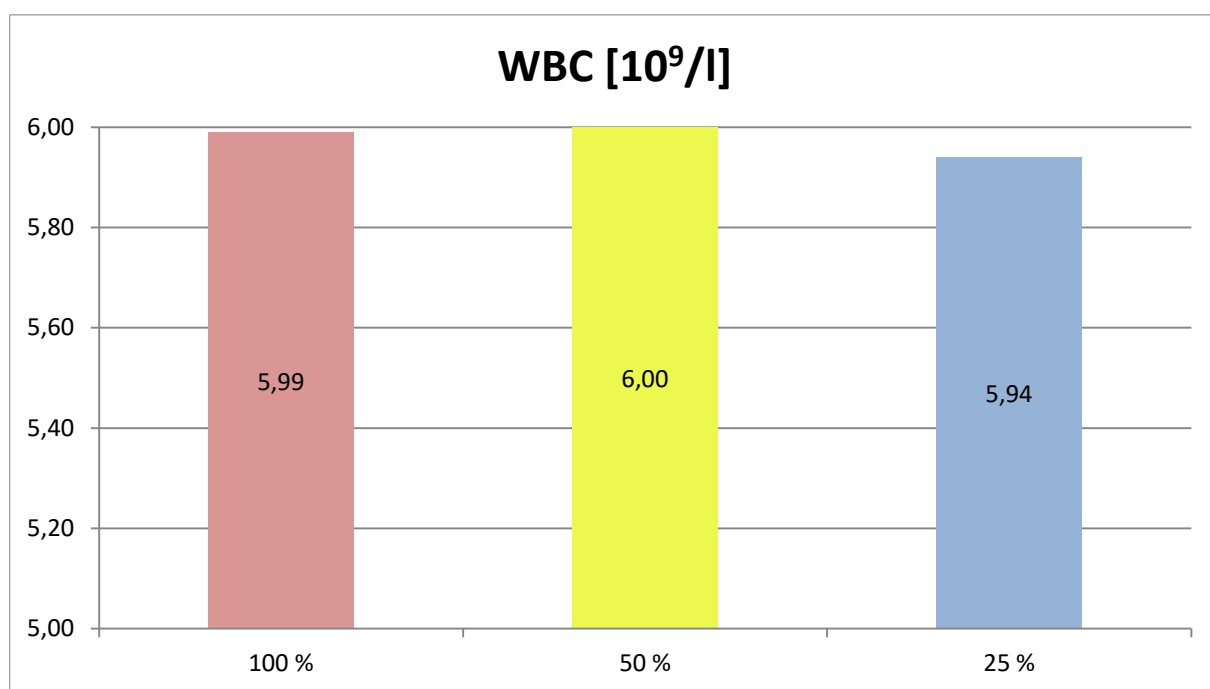
HYPOTÉZA 1: Odchytky vzniklé při chybných odběrech budou významné u všech třinácti sledovaných hodnot KO s diferenciálním rozpočtem leukocytů. Chybné odběry byly přesně definovány jako odebírání menšího množství krve o 50 % a 75 %, než požaduje výrobce vakuových zkumavek.

HYPOTÉZA 2: Odchytky vzniklé při chybných odběrech budou významné pouze u některých sledovaných hodnot KO s diferenciálním rozpočtem leukocytů. Chybné odběry byly přesně definovány jako odebírání menšího množství krve o 50 % a 75 %, než požaduje výrobce vakuových zkumavek.

3. VÝSLEDKY A DISKUZE

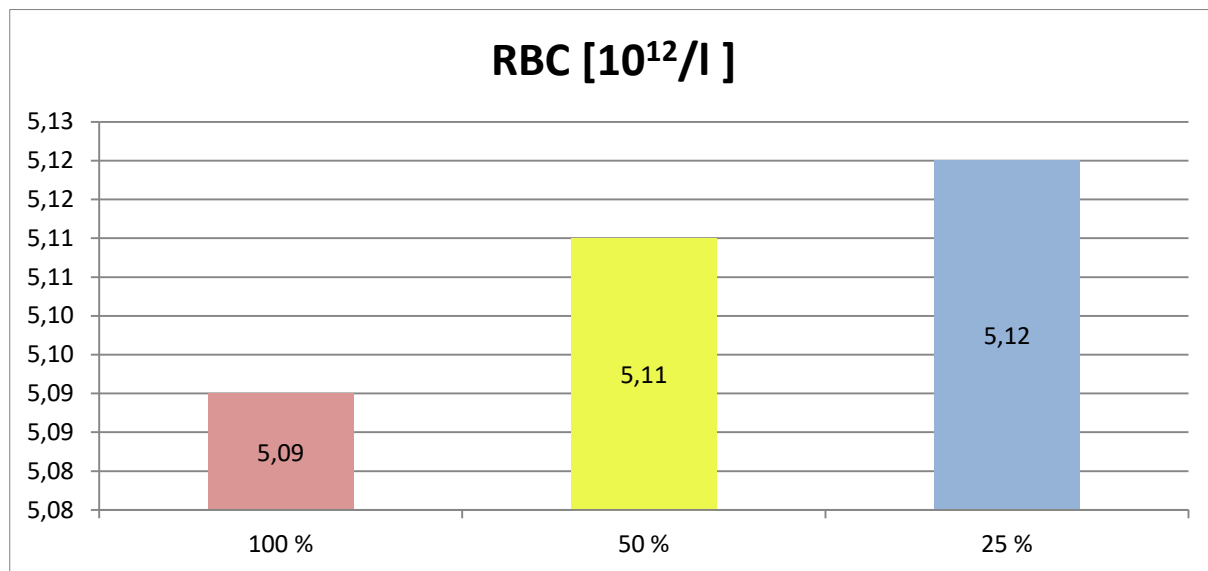
V této práci bylo zhodnoceno celkem třináct parametrů krevního obrazu. Parametry byly hodnoceny ve všech třech zkumavkách o objemu 100 %, 50 %, 25 %, které byly odebrány v rámci jednoho odběru u dárců krve (viz příloha A). Při sledování hodnot se předpokládalo, že dojde k významným změnám u všech třinácti parametrů nebo ke změnám alespoň některých sledovaných hodnot krevního obrazu s diferenciálním rozpočtem leukocytů. Hypotéza č. 1 se nepotvrdila, neboť nedošlo k významnému vychýlení u všech sledovaných hodnot. Potvrdila se hypotéza č. 2, kdy se významně změnilo 7 hodnot.

Z grafu č. 1 je patrné, že pokud se do zkumavky odebere o 50 % méně krve, než požaduje výrobce zkumavek, nedojde téměř k žádnému vychýlení hodnot bílých krvinek. Pokud dojde k odebrání o 75 % méně krve, než požaduje výrobce zkumavek, dojde k poklesu množství bílých krvinek a to z $5,99 \cdot 10^9/l$ na $5,94 \cdot 10^9/l$, tedy pokles o $0,05 \cdot 10^9/l$ (odchylka 0,83 %).



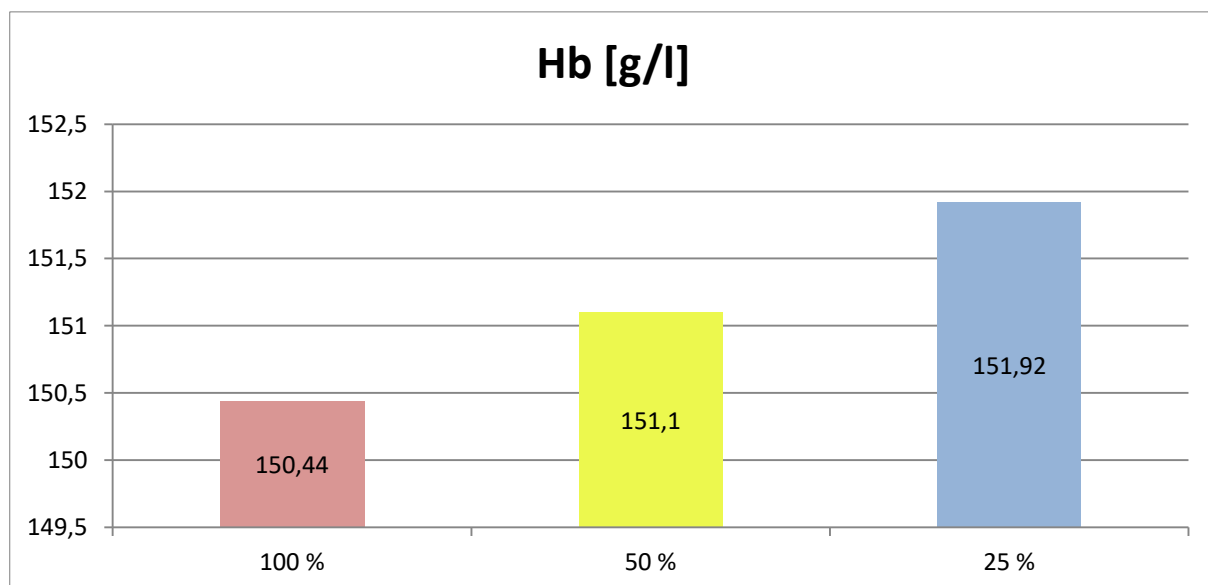
Graf 1: Porovnání hodnot WBC při odběru správného množství dle požadavků výrobce zkumavek a při jeho nedodržení (odebráno pouze 50 % a 25 % požadovaného množství krve)

Z grafu č. 2 je patrné, že v obou případech dojde ke zvýšení hodnot červených krvinek. Ve správně odebrané zkumavce bylo naměřeno $5,09 \cdot 10^{12}/l$, ve druhé s 50 % vzorku $5,11 \cdot 10^{12}/l$ (odchylka 0,39 %) a ve třetí zkumavce s 25 % vzorku $5,12 \cdot 10^{12}/l$ (odchylka 0,59 %). Při darování krve je paže dárce po celou dobu odběru stažena turniketem, což může mít za následek falešně zvýšené hodnoty červených krvinek. (HTO, 2020)



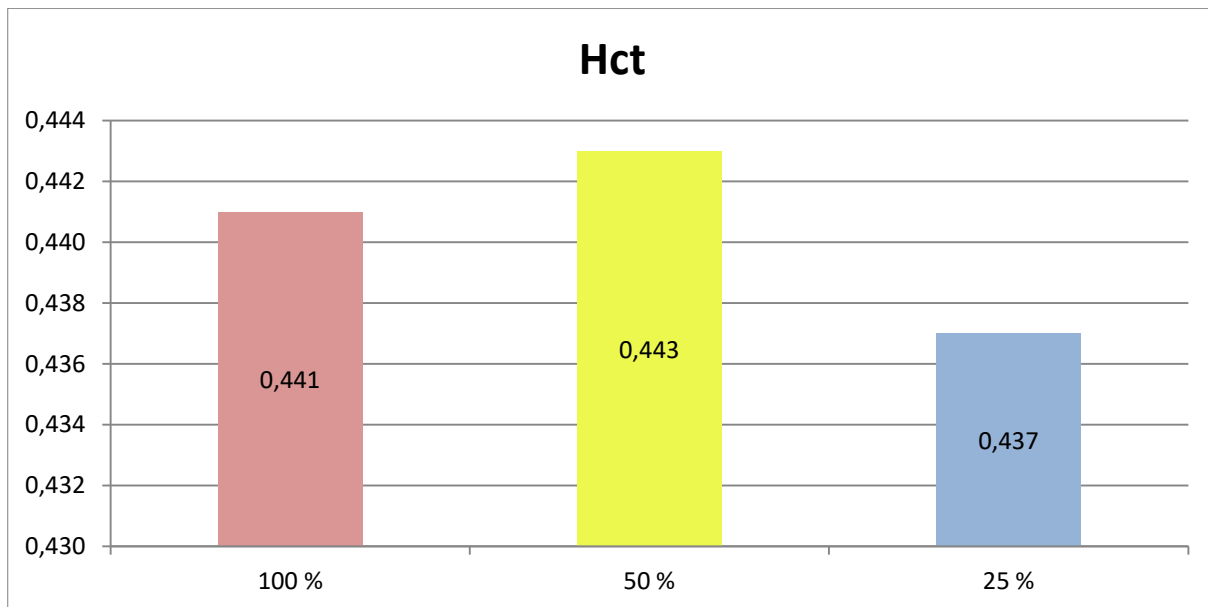
Graf 2: Porovnání hodnot RBC při odběru správného množství dle požadavků výrobce zkumavek a při jeho nedodržení (odebráno pouze 50 % a 25 % požadovaného množství krve)

Z grafu č. 3 je patrné, že v obou případech dochází ke zvýšení hodnot hemoglobinu. Ve správně odebrané zkumavce bylo naměřeno 150,44 g/l, ve druhé zkumavce s 50 % vzorku 151,1 g/l (odchylka 0,44 %) a ve třetí s 25 % vzorku 151,92 g/l (odchylka 0,98 %).



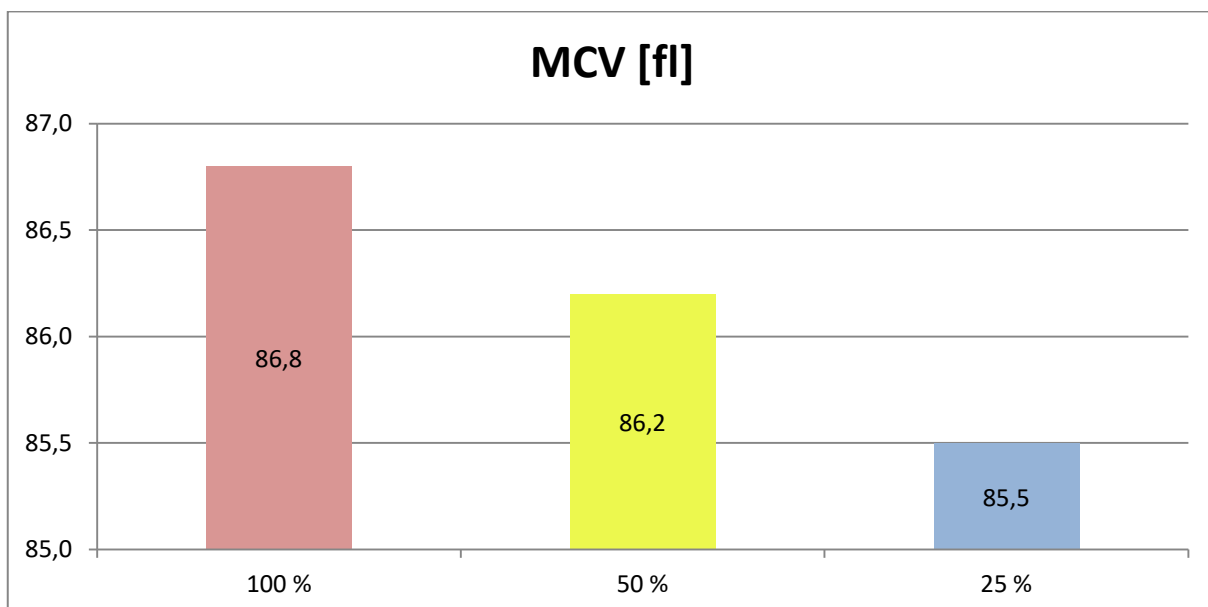
Graf 3: Porovnání hodnot Hb při odběru správného množství dle požadavků výrobce zkumavek a při jeho nedodržení (odebráno pouze 50 % a 25 % požadovaného množství krve)

Z grafu č. 4 je patrné, že hodnoty hematokritu se zvýšily ve zkumavce s 50 % krve z 0,441 na 0,443 (odchylka 0,45 %). Výsledek je však v rozporu se zjištěním vědců, kteří tvrdí, že vyšší koncentrace EDTA ve vzorku snižuje hodnotu hematokritu (Jabor, 2008). Ve zkumavce s 25 % krve došlo ke snížení hodnoty na 0,437 (odchylka 0,91 %).



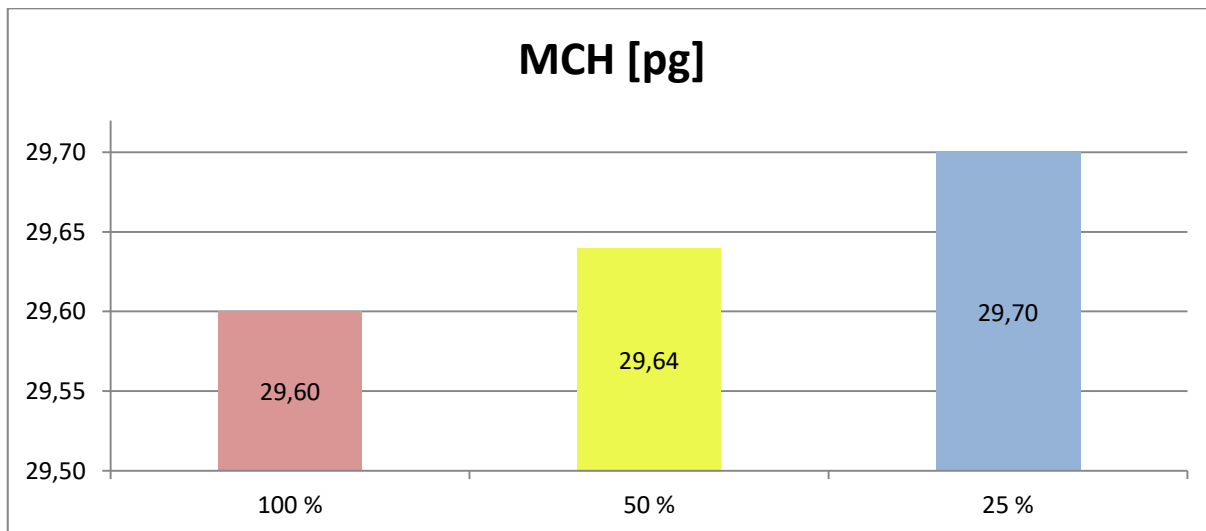
Graf 4: Porovnání hodnot Hct při odběru správného množství dle požadavků výrobce zkumavek a při jeho nedodržení (odebráno pouze 50 % a 25 % požadovaného množství krve)

Z grafu č. 5 je patrné, že při použití K_3 EDTA dochází při vyšších koncentracích ke srašťování červených krvinek a tím k poklesu hodnot MCV z 86,8 fl na 86,2 fl (odchylka 0,69 %) a následně 85,5 fl (odchylka 1,5 %). (Anděl, 2001)



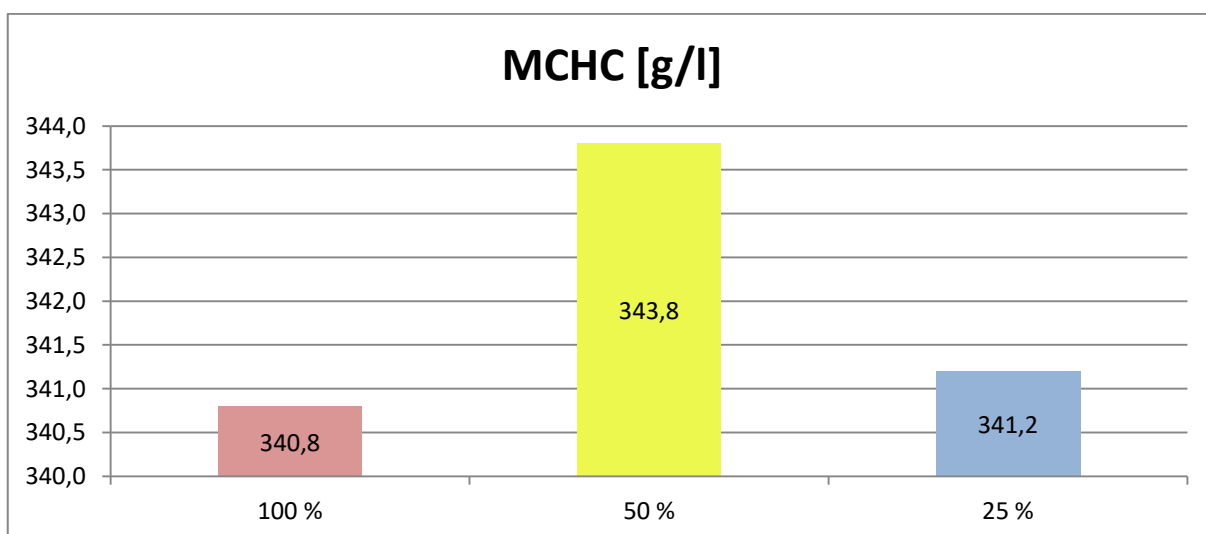
Graf 5: Porovnání hodnot MCV při odběru správného množství dle požadavků výrobce zkumavek a při jeho nedodržení (odebráno pouze 50 % a 25 % požadovaného množství krve)

Z grafu č. 6 je patrné, že nedochází k zásadním rozdílům hodnot MCH při správném i chybně nabraném odběru krve. Z grafu také vyplývá, že čím menší množství krve se odebere, tím je odchylka větší, proto ve vzorku s menším množstvím krve (25 %) je hodnota MCH o 0,34 % větší než u správného odběru.



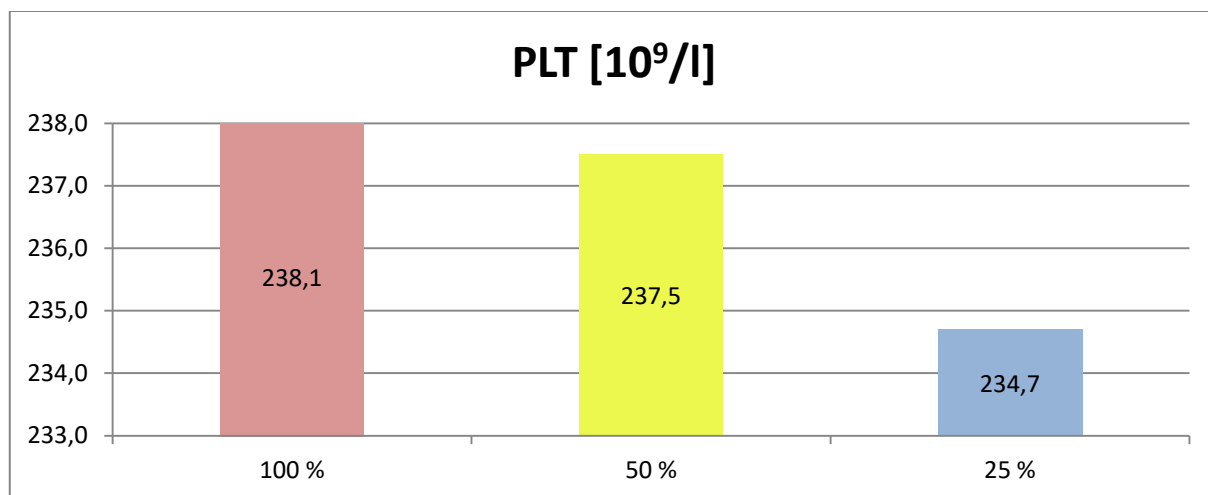
Graf 6: Porovnání hodnot MCH při odběru správného množství dle požadavků výrobce zkumavek a při jeho nedodržení (odebráno pouze 50 % a 25 % požadovaného množství krve)

Z grafu č. 7 je patrné, že při odběru polovičního množství krve dochází k významné odchylce střední koncentrace hemoglobinu v erytrocytu. Při správném odběru je hodnota MCHC 340,8 g/l. Při odběru o 50 % vzorku je MCHC 343,8 g/l, což je hodnota o 3 g/l vyšší (odchylka 0,88 %). Při odběru 25 % krve dochází k mírnému zvýšení hodnot MCHC a to na 341,2 g/l, tedy o 0,4 g/l (odchylka 0,12 %).



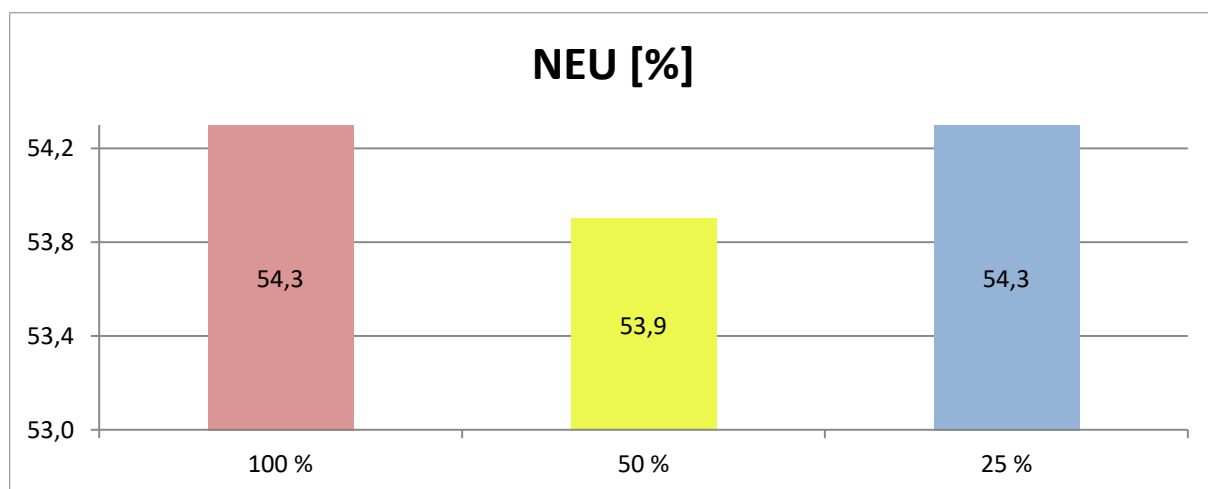
Graf 7: Porovnání hodnot MCHC při odběru správného množství dle požadavků výrobce zkumavek a při jeho nedodržení (odebráno pouze 50 % a 25 % požadovaného množství krve)

Z grafu č. 8 je patrné, že při odběru menšího množství krve dochází k velmi významnému poklesu krevních destiček. Při správném odběru je hodnota krevních destiček $238,1 \cdot 10^9/l$. Při odběru 50 % krve tato hodnota klesá na $237,5 \cdot 10^9/l$, tedy o $0,6 \cdot 10^9/l$ (odchylka 0,25 %). Při odběru 25 % krve klesá na $234,7 \cdot 10^9/l$, tedy o $3,4 \cdot 10^9/l$ (odchylka 1,43 %). Tyto výsledky mohou svědčit o tzv. pseudotrombocytopenii, která je způsobena větším množstvím K_3EDTA ve vzorku, jež má za následek shlukování krevních destiček (Choe, 2013).



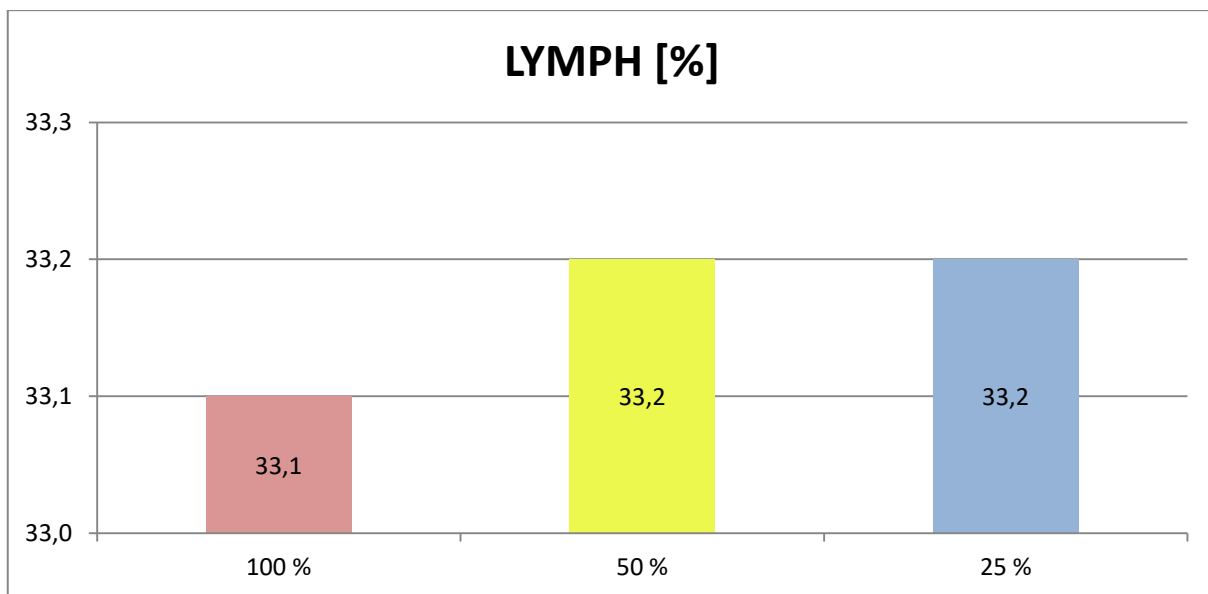
Graf 8: Porovnání hodnot PLT při odběru správného množství dle požadavků výrobce zkumavek a při jeho nedodržení (odebráno pouze 50 % a 25 % požadovaného množství krve)

Z grafu č. 9 je patrné, že při odběru menšího množství krve o 50 %, než požaduje výrobce zkumavek, dojde k poklesu hodnot neutrofilů z 54,3 % na 53,9 %, sníží se tedy o 0,4 %. Při odběru menšího množství krve o 75 %, než požaduje výrobce zkumavek, nedojde k žádnému vychýlení hodnot neutrofilů.



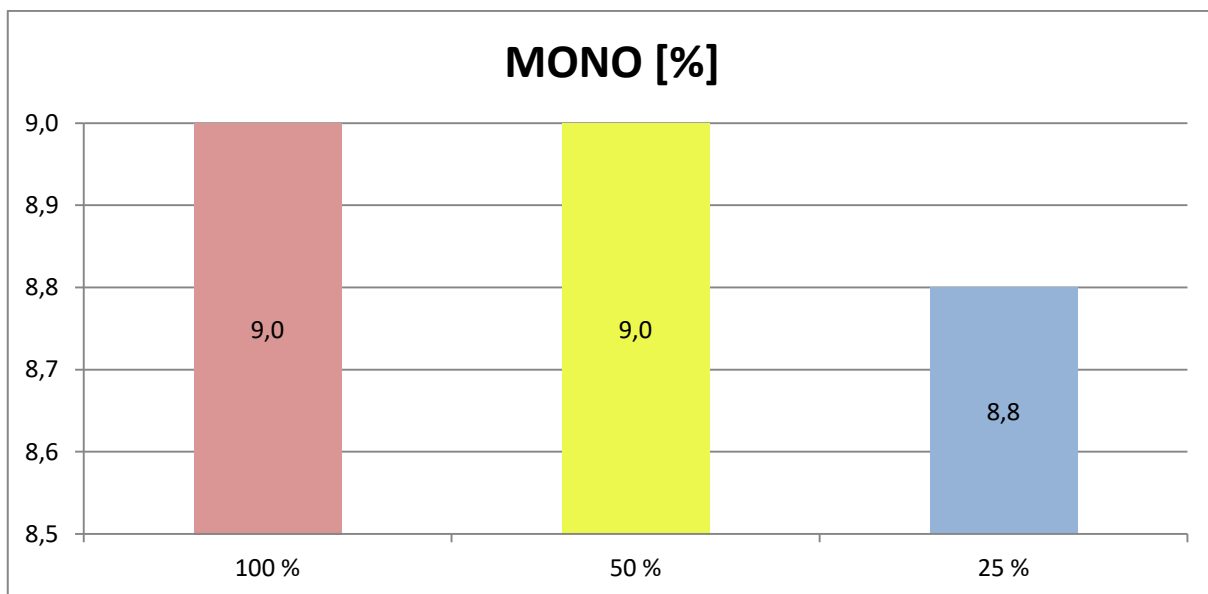
Graf 9: Porovnání hodnot NEU při odběru správného množství dle požadavků výrobce zkumavek a při jeho nedodržení (odebráno pouze 50 % a 25 % požadovaného množství krve)

Z grafu č. 10 jsou patrné jen malé rozdíly v hodnotách lymfocytů. Při obou nesprávných odběrech je hodnota zvýšena z původních 33,1 % na 33,2 %, tedy o 0,1 %. Stejně jako u předchozího grafu jsou tyto odchylky nevýznamné.



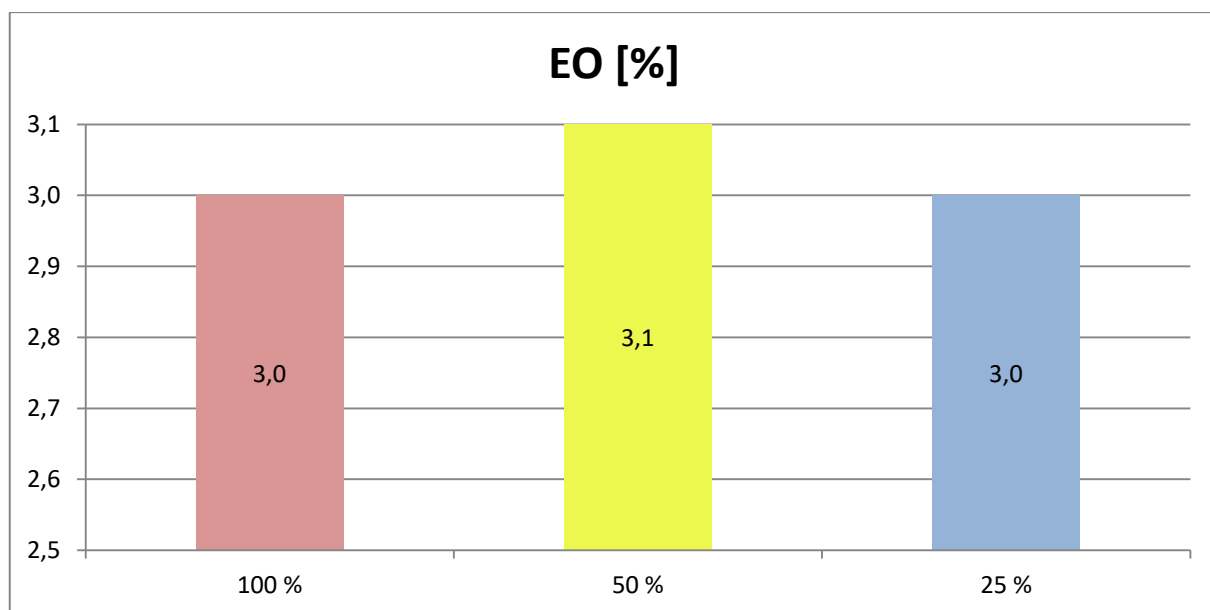
Graf 10: Porovnání hodnot LYMPH při odběru správného množství dle požadavků výrobce zkumavek a při jeho nedodržení (odebráno pouze 50 % a 25 % požadovaného množství krve)

Z grafu č. 11 je patrné, že při odběru menšího množství krve o 50 %, než požaduje výrobce zkumavek, nedojde k žádnému vychýlení hodnot monocytů. Při odběru menšího množství krve o 75 %, než požaduje výrobce zkumavek, dojde ke snížení hodnot z 9 % na 8,8 %, tedy o 0,2 %.



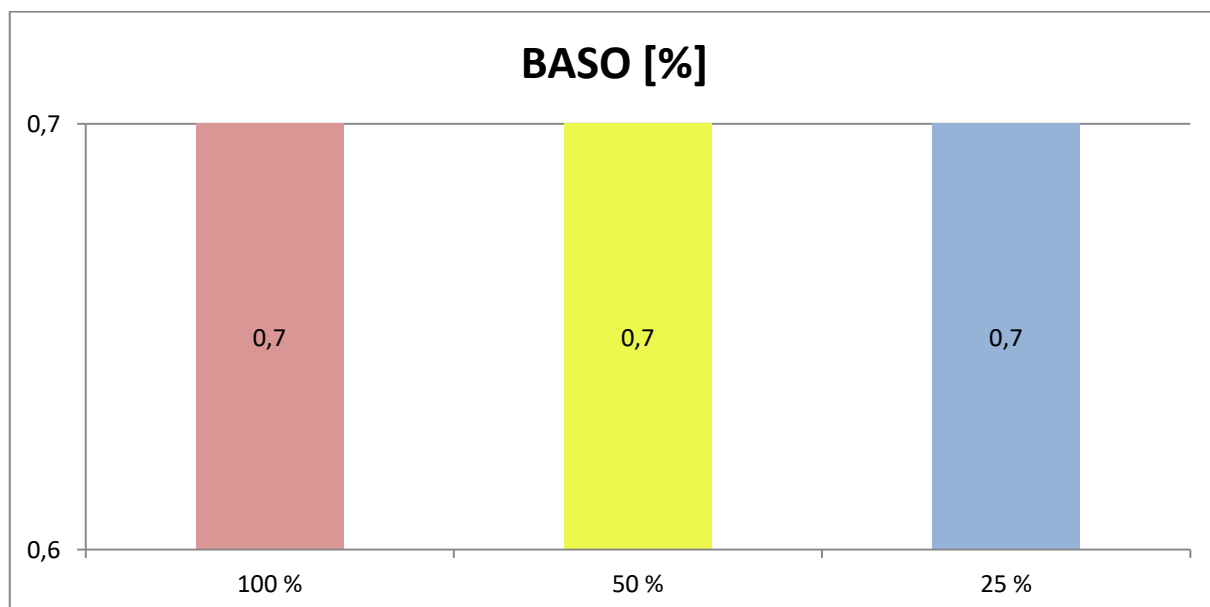
Graf 11: Porovnání hodnot MONO při odběru správného množství dle požadavků výrobce zkumavek a při jeho nedodržení (odebráno pouze 50 % a 25 % požadovaného množství krve)

Z grafu č. 12 je patrné, že nedošlo téměř k žádným odchylkám. Hodnoty eosinofilů se změnilly pouze v případě odběru s menším množstvím krve o 50 %, a to z 3 % na 3,1 %. Rozdíl činí 0,1 % a tato odchylka je nevýznamná.



Graf 12: Porovnání hodnot EO při odběru správného množství dle požadavků výrobce zkumavek a při jeho nedodržení (odebráno pouze 50 % a 25 % požadovaného množství krve)

Z grafu č. 13 je patrné, že při odběru menšího množství krve, než požaduje výrobce zkumavek, nedojde k žádnému vychýlení hodnot basofilů.



Graf 13: Porovnání hodnot BASO při odběru správného množství dle požadavků výrobce zkumavek a při jeho nedodržení (odebráno pouze 50 % a 25 % požadovaného množství krve)

4. ZÁVĚR

Úvodní teoretická část byla zaměřena na složení krve, přiblížení pojmu krevní obraz, jeho parametry a možnosti stanovení. Další část přiblížila diferenciální rozpočet leukocytů, popis jednotlivých buněk bílých krvinek a fáze zpracování. V preanalytické fázi byly zmíněny ovlivnitelné a neovlivnitelné vlivy preanalytické fáze, transport materiálu do laboratoře, skladování materiálu a chyby preanalytické fáze. Posledním tématem teoretické části byly hematologické analyzátoři.

Praktická část byla věnována sledování třinácti parametrů krevního obrazu s diferenciálním rozpočtem leukocytů u dárců krve (zdravých jedinců) při správném odběru a dvou chybných odběrech ve smyslu krev-protisrážlivé činidlo. Od každého dárce byly odebrány celkem tři zkumavky obsahující 100 %, 50 % a 25 % krve. Takto bylo odebráno třikrát 50 vzorků od zdravých jedinců a byly získány tři skupiny výsledků: první skupina výsledků byla tvořena 50 vzorky při správném odběru, druhou skupinu tvořily náběry, kde bylo odebráno o 50 % méně krve, a třetí skupinu představovaly vzorky, kde bylo o 75 % méně krve, než požaduje výrobce odběrových zkumavek.

Výsledky analýz byly uspořádány do tabulek a grafů. Z grafů vyplývá, že došlo k významným změnám pouze u některých sledovaných hodnot krevního obrazu s diferenciálním rozpočtem leukocytů. Tím se potvrdila hypotéza č. 2 (Odchytky vzniklé při chybných odběrech budou významné pouze u některých sledovaných hodnot KO s diferenciálním rozpočtem leukocytů. Chybné odběry byly přesně definovány jako odebrání menšího množství krve o 50 % a 75 %, než požaduje výrobce vakuových zkumavek). Významně se změnilo celkem sedm hodnot KO s diferenciálním rozpočtem leukocytů.

V rámci prvního chybného odběru (o 50 % méně krve, než požaduje výrobce zkumavek) byly zjištěny odchytky, které byly způsobené vyšším množstvím protisrážlivého činidla ve vzorku. V závislosti na množství protisrážlivého činidla se zvyšují hodnoty RBC, Hb a MCH. U MCH nedochází k zásadním rozdílům hodnot. Množství červených krvinek se zvýšilo o 0,39 % ve srovnání se správně odebranými vzorky a množství hemoglobinu se zvýšilo o 0,44 % opět ve srovnání se správně odebranými vzorky. Zvýšena byla i hodnota hematokritu, a to o 0,45 %. Stejně jako u MCH nedochází k zásadním rozdílům hodnot u lymfocytů, eosinofilů (zvýšené o 0,1 %) a neutrofilů (snížené o 0,4 %). K nejvýznamnější odchylce došlo u hodnot MCHC, kdy velikost odchylky byla 0,88 %. Ke snížení hodnot došlo u MCV o 0,69 %, PLT o 0,25 %. Počet WBC, monocytů a basofilů byl v případě tohoto odběru nezměněn.

V rámci druhého chybného odběru (o 75 % méně krve, než požaduje výrobce zkumavek) byly zjištěny zásadní rozdíly u hodnot RBC, Hb, Hct, MCV, PLT a WBC. Hodnoty RBC a Hb byly zvýšeny v porovnání se správně odebranými vzorky. Množství červených krvinek se zvýšilo o 0,59 %, hemoglobinu o 0,98 %. Dále byly zvýšené hodnoty MCH o 0,34 %, MCHC o 0,12 %, což je ve srovnání s prvním chybným odběrem menší zvýšení hodnot. Posledním parametrem, u kterého došlo ke zvýšení hodnot, jsou lymfocyty. Jejich hodnoty se zvýšily o 0,1 %, což není významná odchylka. Ke snížení hodnot došlo u Hct, MCV, PLT, MONO a WBC. Hodnoty hematokritu poklesly o 0,91 %, MCV o 1,5 %, krevních destiček o 1,43 %, monocytů o 0,2 % a počet bílých krvinek o 0,83 %. U hodnot neutrofilů, eosinofilů a basofilů nedošlo k žádným změnám.

Pokud by i další studie potvrdily závěr této práce, mohly by se přijímat k vyšetření i chybně odebrané vzorky (ve smyslu chybný poměr antikoagulantu a odebrané krve) pro stanovení parametrů, u kterých odchylka nebyla považována za významnou. Pozitivní vlivy této možnosti by se projevíly nejen v rovinách finančních a časových úspor, ale především v rovině péče o pacienta, kterému by nemusel být vzorek opět odebírán.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

AGUADERO, V. a kol. *Evaluation of Biological Fluid Analysis Using the Sysmex XN Automatic Hematology Analyzer. Cytometry Part B* [online]. 2018, 21 September 2018, 836 – 844 [cit. 2020-04-05].

ANDĚL, M., GREGOR, P. a kol. *Vnitřní lékařství díl IIIb, Hematologie*, Karolinum, Praha 2001. ISBN 80-7262-085-1.

BECKER, P. a kol. *Int. Jnl. Lab. Hem: Performance evaluation of the Sysmex XN-1000 hematology analyzer in assessment of the white blood cell count differential in pediatric specimens* [online]. 2016, 11 January 2016, 38, 54 – 63 [cit. 2020-04-05]. DOI:10.1111/ijlh.12436

BLUMENREICH M. S. *The White Blood Cell and Differential Count*. In: Walker HK, Hall WD, Hurst JW, editors. *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations*. 3rd edition. Boston: Butterworths; 1990. Chapter 153. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK261/>. ISBN -10: 0-409-90077-X.

CARRARO, P. a M. PLEBANI. *Clin Chem: Errors in a Stat Laboratory: Types and Frequencies 10 Years Later* [online]. 2007; 1 July 2007, 53 (7): 1338 – 1342. Dostupné z: <https://doi.org/10.1373/clinchem.2007.088344>.

CHOE, W. H. a kol. *International Journal of Laboratory hematology: Pseudothrombocytopenia or platelet aggregation as a possible cause of low platelet counts in patients with viral infection: a case rating from one institution focusing on hepatitis A virus infection*. [online]. 2013; February 2013, 35 (1): 70 – 76 [cit. 2020-05-11].

DACIE J. and S.J. LEWIS. *Practical haematology*. Ninth edition. London: Churchill Livingstone, 2001. ISBN 978-0-7020-6696-2.

DASTYCH, M., BREINEK, P., a kol. *Klinická biochemie*. 1. vydání. Brno: Masarykova univerzita, 2008. ISBN 978-80-210-4572-9.

DIKMEN, Z. G. a kol. *Biochem Med: Specimen rejection in laboratory medicine: Necessary for patient safety?* [online]. 2015; 15 October 2015, 25 (3): 377 – 385 [cit. 2020-03-29]. DOI: 10.11613 / BM.2015.037.

DYLEVSKÝ, I. *Funkční anatomie*. Praha: Grada, 2009. ISBN 978-80-247-3240-4.

EDWARDS, S. W. *Biochemistry and physiology of the neutrophil*. 1st pbk. version. Cambridge [England]; New York: Cambridge University Press, 2005. ISBN 978-0-521-01850-0.

GOKHAN, C. *Iranian Journal of Pathology: The Evaluation of Error Types and Turnaround Time of Preanalytical Phase in Biochemistry and Hematology Laboratories* [online]. 2018, 17 Jul 2018, 13(2), 173 – 178 [cit. 2020-03-29].

Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6339495/#B3>

Hematologicko-transfuzní oddělení: hematologie, imunoematologie: Dozorový audit B NASKL. *Laboratorní příručka*. 7. vydání. Havlíčkův Brod, 2020 [cit. 2020-03-03]

HUR, M. a kol. *International Journal of Laboratory Hematology: Optimization of laboratory workflow in clinical hematology laboratory with reduced manual slide review: comparison between Sysmex XE-2100 and ABX Pentra DX120*. [online]. 2011, 22 June 2011, 33: 434 – 440. DOI:10.1111/j.1751-553X.2011.01306.x

JABOR, A. a kol. *Vnitřní prostředí*. Praha: Grada, 2008. ISBN 978-80-247-1221-5.

JANEWAY C. A. a kol. *Immunobiology: The Immune System in Health and Disease. 5th edition. The components of the immune system*. New York: Garland Science; 2001. K dispozici na adrese: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK27092/>. ISBN -10: 0-8153-3642-X.

JANEWAY C. A. a kol. *Immunobiology: The Immune System in Health and Disease. 5th edition. Glossary*. New York: Garland Science; 2001a.

K dispozici na adrese: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK10759/>. ISBN -10: 0-8153-3642-X.

KIECHLE, F. L. *An Introduction to Phlebotomy, College of American pathologist (CAP): So You're Gong to Collect a Blood Specimen*, 15th edition. 2007. ISBN 978-194109634-5

KRLEZA L J. a kol. *Biochem Med (Zagreb): Post-analytical laboratory work: national recommendations from the Working Group for Post-analytics on behalf of the Croatian Society of Medical Biochemistry and Laboratory Medicine*. [online]. 2019; 15 Jun 2019, 29(2). [cit. 2020-03-30]. DOI:10.11613/BM.2019.020502

LIPPI, G. a kol. *Behalf of the Working Group for Preanalytical Phase (WG-PRE), European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM): Preanalytical challenges – time for solutions*, *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)* [online]. 2019, 2 Feb 2019, 57(7), 974 – 981 [cit. 2020-03-30]. Dostupné z: <https://doi.org/10.1515/cclm-2018-1334>

LIPPI, G. a C. GUIDI. *Clin Lab: Preanalytic indicators of laboratory performances and quality improvement of laboratory testing* [online]. 2006; 52(9–10): 457 – 462. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17078472>

LIPPI, G., GUIDI, C., FAVALORO, E. J. a M. PLEBANI. *In Vitro and In Vivo Hemolysis: An Unresolved Dispute in Laboratory Medicine* [online]. 1. Germany: Library of Congress Cataloging-in-Publication Data, 2012 [cit. 2020-03-09]. ISBN 978-3-11-024614-8. Dostupné z: https://mafiadoc.com/giuseppe-lippi-a-gianfranco-cervellin-a-emmanuel-j-_5ba15165097c4702588b45e3.html

LIPPI, G. a D. GIAVARINA. *Clinical Biochemistry: Blood venous sample collection: Recommendations overview and a checklist to improve quality* [online]. 2017; 50 (10 – 11): 568 – 573. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2017.02.021>. [cit. 2020-04-20]

MATĚJKOVÁ, S. a M. PILOUSKOVÁ. *LABORATORNÍ PŘÍRUČKA: Hematologicko-transfuzní oddělení Oblastní nemocnice Příbram, a.s.* [online]. 4. vydání. Příbram, 2019 [cit. 2020-01-21].

Dostupné z: <http://www.nemocnicepribram.cz/oddeleni-laboratore/hematologie-a-krevni-transfuze/informace-pro-lekare>

Mezinárodní organizace pro normalizaci / technické specifikace. *Lékařské laboratoře – snižování chyb pomocí řízení rizik a neustálým zlepšováním*. ISO / TS 22367: 2008.

Mezinárodní organizace pro standardizaci. ISO 15189: 2013: *Zdravotnické laboratoře – Požadavky na kvalitu a způsobilost*.

PECKA, M. *Laboratorní hematologie v přehledu*. [3. díl], Fyziologie a patologie hemostázy. Český Těšín: FINIDR, 2004. ISBN 80-86682-00-5.

PECKA, M. *Praktická hematologie: Laboratorní metody*. Český Těšín: Infiniti art, 2010. ISBN 978-80-903871-9-5.

PENKA, M. a E. SLAVÍČKOVÁ. *Hematologie a transfuzní lékařství*. Praha: Grada, 2011. ISBN 978-80-247-3459-0.

PLEBANI M. *Clin Chem Lab Med: Errors in clinical laboratories or errors in laboratory medicine?* [online]. 2006; 29 May 2006, 44(6): 750 – 759. Dostupné z: <https://doi.org/10.1515/CCLM.2006.123>

PLEBANI, M. a L. SCIACOVELLI. *Clinica Chimica Acta: The IFCC Working Group on laboratory errors and patient safety* [online]. 2009, 6 June 2009, 1(404), 79 – 85 [cit. 2020-03-29]. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cca.2009.03.025>.

Dostupné z: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0009898109001478?via=ihub&fbclid=IwAR1Bx7b_jAlXVuat8UdmO5IMYXef1YVxrfL8IeVCa6J4f5P8GEzWZlSEGOU

RACEK, J. *Klinická biochemie. 2.*, přepracované vydání. Praha: Galén, 2006. ISBN 80-726-2324-9.

ROUŠAR, T. *Laboratorní cvičení z hematologie*. Pardubice: Univerzita Pardubice, 2012. ISBN 978-80-7395-462-8.

SARMA P. R. *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations. 3rd edition. Red Cells Indices*. Boston: Butterworths; 1990. Chapter 152. K dispozici na adrese: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK260/>. ISBN 10: 0-409-90077-X

SEGAL H. C. a kol. *British Journal of Haematology: Accuracy of platelet counting haematology analysers in severe thrombocytopenia and potential impact on platelet transfusion*. [online] 2005, 1 February 2005, 128(4). 520–525. [cit. 2020-04-05]. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2004.05352.x

ŠAJDÍKOVÁ, M. a J. FONTANA. *Funkce buněk a lidského těla: Formované krevní elementy* [online]. 2011 [cit. 2020-03-15]. Dostupné z: <http://fb.lt.cz/skripta/v-krev-a-organy-imunitního-systemu/3-formovane-krevni-elementy/>

THRALL, M. A. *Veterinary hematology and clinical chemistry*. 2nd ed. Chichester: Wiley-Blackwell, 2012. ISBN 978-081-3810-270.

TOMAN, M. *Veterinární imunologie. 2.*, doplněné a aktualizované vydání. Praha: Grada, 2009. ISBN 978-80-247-2464-5.

TROJAN S. a kol. *Lékařská fyziologie. 4.* vydání. Praha. Grada, 2003. ISBN 80-247-0512-5.

VYDRA, J. a P. CETKOVSKÝ. *Hematologie v kostce*. Praha: Mladá fronta, 2015. Aeskulap. ISBN 978-80-204-3698-6.

XN series (XN-1000)-Pokyny pro použití

ZIMA, T. *Interní medicína v praxi: Zásady přípravy pacienta k odběru krve a preanalytická část laboratorního vyšetření*. 2010, (12). ISSN 1803-5256.

ZIMA, T. *Laboratorní diagnostika*. 2., doplněné a přepracované vydání. Praha: Galén Karolinum, 2007. ISBN 978-807-2623-723.

PŘÍLOHY

PŘÍLOHA A

Tabulka 2: Hodnoty KO a diferenciálního rozpočtu leukocytů při správném odběru

| | WBC | RBC | Hb | Hct | MCV | MCH | MCHC | PLT | NEU | LYMPH | MONO | EO | BASO | Pohlaví |
|------------------|------|------|-----|-------|------|------|------|-----|------|-------|------|------|------|---------|
| Dárce 541 | 4,21 | 5,59 | 145 | 0,450 | 80,5 | 25,9 | 322 | 163 | 46,5 | 39,9 | 8,8 | 4,3 | 0,5 | M |
| Dárce 539 | 5,05 | 3,92 | 125 | 0,370 | 94,4 | 31,9 | 338 | 246 | 55,2 | 31,1 | 8,3 | 4,8 | 0,6 | Ž |
| Dárce 537 | 7,36 | 4,92 | 143 | 0,419 | 85,2 | 29,1 | 341 | 191 | 66,7 | 23,0 | 7,9 | 1,9 | 0,5 | Ž |
| Dárce 530 | 5,34 | 5,81 | 176 | 0,490 | 84,3 | 30,3 | 359 | 136 | 58,6 | 28,8 | 9,6 | 2,4 | 0,6 | M |
| Dárce 528 | 6,00 | 5,42 | 151 | 0,443 | 81,7 | 27,9 | 341 | 234 | 60,8 | 26,5 | 8,3 | 3,7 | 0,7 | M |
| Dárce 524 | 5,85 | 5,81 | 164 | 0,475 | 81,8 | 28,2 | 345 | 191 | 49,5 | 36,8 | 8,7 | 3,8 | 1,2 | M |
| Dárce 523 | 7,09 | 4,39 | 141 | 0,412 | 93,8 | 32,1 | 342 | 246 | 58,8 | 32,4 | 6,6 | 1,4 | 0,8 | M |
| Dárce 642 | 6,31 | 4,51 | 133 | 0,408 | 90,5 | 29,5 | 326 | 271 | 64,9 | 23,8 | 9,5 | 1,3 | 0,5 | Ž |
| Dárce 644 | 4,79 | 5,21 | 156 | 0,445 | 85,4 | 29,9 | 351 | 208 | 58,3 | 29,2 | 9,2 | 2,7 | 0,6 | M |
| Dárce 645 | 5,83 | 5,11 | 144 | 0,425 | 83,2 | 28,2 | 339 | 256 | 39,1 | 39,6 | 10,3 | 10,1 | 0,9 | M |
| Dárce 646 | 5,15 | 5,21 | 155 | 0,448 | 86,0 | 29,8 | 346 | 159 | 47,6 | 39,0 | 10,1 | 2,5 | 0,8 | M |
| Dárce 647 | 6,68 | 5,90 | 176 | 0,528 | 89,5 | 29,8 | 333 | 166 | 65,3 | 25,1 | 7,8 | 1,2 | 0,6 | M |
| Dárce 648 | 5,23 | 5,04 | 145 | 0,432 | 85,7 | 28,8 | 336 | 231 | 35,8 | 48,6 | 10,3 | 3,8 | 1,5 | M |
| Dárce 650 | 5,61 | 4,96 | 143 | 0,432 | 87,1 | 28,8 | 331 | 360 | 48,7 | 41,0 | 7,8 | 2,0 | 0,5 | Ž |
| Dárce 651 | 5,58 | 5,28 | 146 | 0,435 | 82,4 | 27,7 | 336 | 236 | 51,4 | 35,7 | 8,8 | 3,4 | 0,7 | Ž |
| Dárce 652 | 5,22 | 4,62 | 133 | 0,396 | 85,7 | 28,8 | 336 | 213 | 59,4 | 27,6 | 10,3 | 2,3 | 0,4 | Ž |
| Dárce 654 | 8,13 | 4,44 | 132 | 0,380 | 85,6 | 29,7 | 347 | 334 | 53,6 | 38,0 | 4,7 | 3,0 | 0,7 | Ž |
| Dárce 655 | 6,00 | 5,28 | 159 | 0,459 | 86,9 | 30,1 | 346 | 197 | 58,4 | 30,5 | 7,8 | 2,5 | 0,8 | M |
| Dárce 656 | 8,13 | 5,54 | 162 | 0,467 | 84,3 | 29,2 | 347 | 254 | 52,2 | 35,2 | 9,0 | 3,2 | 0,4 | M |
| Dárce 657 | 6,72 | 5,28 | 165 | 0,467 | 88,4 | 31,3 | 353 | 276 | 66,7 | 20,1 | 9,8 | 2,2 | 1,2 | M |
| Dárce 658 | 5,10 | 4,36 | 132 | 0,406 | 93,1 | 30,3 | 325 | 261 | 57,5 | 29,2 | 10,2 | 2,7 | 0,4 | M |
| Dárce 660 | 4,80 | 5,30 | 153 | 0,438 | 82,6 | 28,9 | 349 | 259 | 50,0 | 37,9 | 8,3 | 2,5 | 1,3 | M |
| Dárce 661 | 6,72 | 4,36 | 131 | 0,381 | 87,4 | 30,0 | 344 | 177 | 68,8 | 21,4 | 8,3 | 1,2 | 0,3 | Ž |
| Dárce 663 | 4,06 | 5,11 | 153 | 0,445 | 87,1 | 29,9 | 344 | 182 | 48,1 | 37,4 | 12,3 | 1,5 | 0,7 | M |

| | WBC | RBC | Hb | Hct | MCV | MCH | MCHC | PLT | NEU | LYMPH | MONO | EO | BASO | Pohlaví |
|-----------|------|------|-----|-------|------|------|------|-----|------|-------|------|-----|------|---------|
| Dárce 666 | 5,16 | 5,26 | 151 | 0,432 | 82,1 | 28,7 | 350 | 197 | 57,5 | 32,6 | 5,6 | 3,3 | 1,0 | M |
| Dárce 811 | 5,35 | 4,35 | 139 | 0,397 | 91,3 | 32,0 | 350 | 257 | 64,7 | 24,5 | 6,7 | 3,7 | 0,4 | M |
| Dárce 812 | 6,20 | 5,37 | 163 | 0,464 | 86,4 | 30,4 | 351 | 304 | 53,6 | 33,5 | 10,6 | 1,8 | 0,5 | M |
| Dárce 813 | 5,75 | 5,05 | 137 | 0,419 | 83,0 | 27,1 | 327 | 258 | 44,3 | 39,0 | 10,1 | 6,1 | 0,5 | Ž |
| Dárce 814 | 4,46 | 5,36 | 156 | 0,463 | 86,4 | 29,1 | 337 | 222 | 50,4 | 40,1 | 6,7 | 2,6 | 0,2 | M |
| Dárce 815 | 6,06 | 5,42 | 153 | 0,470 | 86,7 | 28,2 | 326 | 277 | 56,1 | 29,9 | 7,9 | 5,6 | 0,5 | M |
| Dárce 816 | 5,28 | 5,54 | 156 | 0,463 | 83,6 | 28,2 | 337 | 275 | 47,6 | 38,4 | 11,0 | 2,1 | 0,9 | M |
| Dárce 817 | 5,23 | 4,40 | 137 | 0,400 | 90,9 | 31,1 | 343 | 215 | 56,5 | 30,0 | 10,1 | 2,3 | 1,1 | M |
| Dárce 818 | 7,99 | 4,31 | 134 | 0,408 | 94,7 | 31,1 | 328 | 303 | 62,8 | 27,2 | 6,5 | 2,9 | 0,6 | Ž |
| Dárce 819 | 8,12 | 5,18 | 161 | 0,476 | 91,9 | 31,1 | 338 | 212 | 52,5 | 38,1 | 6,9 | 1,8 | 0,7 | M |
| Dárce 820 | 4,75 | 5,06 | 147 | 0,438 | 86,6 | 29,1 | 336 | 165 | 59,3 | 29,3 | 9,7 | 1,5 | 0,2 | M |
| Dárce 821 | 4,79 | 4,91 | 153 | 0,439 | 89,4 | 31,2 | 349 | 133 | 59,3 | 30,9 | 6,1 | 3,5 | 0,2 | M |
| Dárce 822 | 5,09 | 4,98 | 158 | 0,458 | 92,0 | 31,7 | 345 | 242 | 37,9 | 40,7 | 15,9 | 4,9 | 0,6 | M |
| Dárce 823 | 8,81 | 5,71 | 167 | 0,498 | 82,7 | 29,2 | 335 | 356 | 64,1 | 24,1 | 8,3 | 2,6 | 0,9 | M |
| Dárce 824 | 6,64 | 5,38 | 152 | 0,462 | 85,9 | 28,3 | 329 | 265 | 55,6 | 28,6 | 8,6 | 6,6 | 0,6 | M |
| Dárce 825 | 6,34 | 5,21 | 153 | 0,459 | 88,1 | 29,4 | 333 | 185 | 49,3 | 35,8 | 10,9 | 3,2 | 0,8 | M |
| Dárce 826 | 4,80 | 5,23 | 154 | 0,447 | 85,5 | 29,4 | 345 | 182 | 52,4 | 33,3 | 10,2 | 3,3 | 0,8 | M |
| Dárce 827 | 5,20 | 5,03 | 157 | 0,452 | 89,9 | 31,2 | 347 | 267 | 51,2 | 36,7 | 10,0 | 1,5 | 0,6 | M |
| Dárce 836 | 5,75 | 4,92 | 147 | 0,438 | 89,0 | 29,9 | 336 | 284 | 37,6 | 47,8 | 11,3 | 2,8 | 0,5 | M |
| Dárce 837 | 6,71 | 5,51 | 172 | 0,472 | 85,7 | 31,2 | 364 | 265 | 53,9 | 34,1 | 8,6 | 2,7 | 0,7 | M |
| Dárce 838 | 5,37 | 5,56 | 163 | 0,478 | 86,0 | 29,3 | 341 | 172 | 52,9 | 34,3 | 10,4 | 1,7 | 0,7 | M |
| Dárce 839 | 5,45 | 4,83 | 141 | 0,409 | 84,7 | 29,2 | 345 | 309 | 44,1 | 38,7 | 10,8 | 5,5 | 0,9 | M |
| Dárce 840 | 8,62 | 5,52 | 159 | 0,467 | 84,6 | 28,8 | 340 | 267 | 60,6 | 28,2 | 7,7 | 2,8 | 0,7 | M |
| Dárce 841 | 7,03 | 5,49 | 169 | 0,490 | 89,3 | 30,8 | 345 | 204 | 61,0 | 30,0 | 7,3 | 1,3 | 0,4 | M |
| Dárce 842 | 7,54 | 4,79 | 139 | 0,404 | 84,3 | 29,0 | 344 | 362 | 58,7 | 28,2 | 9,9 | 2,1 | 1,1 | M |
| Dárce 843 | 6,41 | 4,86 | 141 | 0,412 | 84,8 | 29,0 | 342 | 279 | 47,8 | 42,7 | 7,5 | 1,2 | 0,8 | Ž |

Tabulka 3: Hodnoty KO a diferenciálního rozpočtu leukocytů při chybném odběru (50 %)

| | WBC | RBC | Hb | Hct | MCV | MCH | MCHC | PLT | NEU | LYMPH | MONO | EO | BASO | Pohlaví |
|------------------|------|------|-----|-------|------|------|------|-----|------|-------|------|-----|------|---------|
| Dárce 541 | 4,29 | 5,53 | 145 | 0,441 | 79,7 | 26,2 | 329 | 166 | 46,1 | 40,8 | 8,2 | 4,2 | 0,7 | M |
| Dárce 539 | 4,92 | 3,88 | 124 | 0,362 | 93,3 | 32,0 | 343 | 214 | 54,0 | 30,3 | 10,4 | 4,7 | 0,6 | Ž |
| Dárce 537 | 7,42 | 4,86 | 142 | 0,411 | 84,6 | 29,2 | 345 | 186 | 66,5 | 23,5 | 7,7 | 1,9 | 0,4 | Ž |
| Dárce 530 | 5,18 | 5,81 | 174 | 0,488 | 84,0 | 29,9 | 357 | 146 | 57,0 | 29,3 | 8,9 | 4,4 | 0,4 | M |
| Dárce 528 | 6,08 | 5,43 | 155 | 0,440 | 81,0 | 28,5 | 352 | 238 | 60,5 | 26,8 | 8,4 | 3,8 | 0,5 | M |
| Dárce 524 | 5,70 | 5,76 | 166 | 0,467 | 81,1 | 28,8 | 355 | 182 | 47,9 | 38,4 | 8,6 | 3,9 | 1,2 | M |
| Dárce 523 | 7,27 | 4,38 | 142 | 0,408 | 93,2 | 32,4 | 348 | 248 | 59,7 | 31,2 | 7,0 | 1,4 | 0,7 | M |
| Dárce 642 | 6,54 | 4,49 | 133 | 0,404 | 90,0 | 29,6 | 329 | 274 | 64,7 | 24,2 | 9,3 | 1,2 | 0,6 | Ž |
| Dárce 644 | 4,73 | 5,19 | 157 | 0,439 | 84,6 | 30,3 | 358 | 211 | 57,2 | 30,0 | 9,5 | 2,7 | 0,6 | M |
| Dárce 645 | 5,92 | 5,18 | 146 | 0,425 | 82,0 | 28,2 | 344 | 256 | 38,4 | 42,6 | 9,0 | 9,0 | 1,0 | M |
| Dárce 646 | 5,35 | 5,21 | 157 | 0,444 | 85,2 | 30,1 | 354 | 158 | 46,9 | 40,4 | 9,7 | 2,4 | 0,6 | M |
| Dárce 647 | 6,86 | 5,98 | 177 | 0,529 | 88,5 | 29,6 | 335 | 168 | 64,3 | 26,7 | 7,9 | 0,7 | 0,4 | M |
| Dárce 648 | 5,16 | 5,03 | 145 | 0,429 | 85,3 | 28,8 | 338 | 229 | 37,2 | 47,9 | 9,3 | 3,7 | 1,9 | M |
| Dárce 650 | 5,56 | 4,98 | 144 | 0,423 | 85,1 | 29,0 | 340 | 369 | 48,2 | 40,5 | 8,5 | 2,3 | 0,5 | Ž |
| Dárce 651 | 5,91 | 5,27 | 147 | 0,432 | 82,0 | 27,9 | 340 | 234 | 51,0 | 36,0 | 8,8 | 3,4 | 0,8 | Ž |
| Dárce 652 | 5,27 | 4,69 | 134 | 0,401 | 85,5 | 28,6 | 334 | 172 | 56,9 | 29,2 | 10,6 | 2,7 | 0,6 | Ž |
| Dárce 654 | 8,08 | 4,45 | 132 | 0,364 | 81,8 | 29,7 | 363 | 333 | 51,8 | 39,6 | 4,6 | 3,1 | 0,9 | Ž |
| Dárce 655 | 6,10 | 5,37 | 159 | 0,646 | 86,4 | 29,6 | 343 | 205 | 57,8 | 30,2 | 8,2 | 3,1 | 0,7 | M |
| Dárce 656 | 8,00 | 5,59 | 161 | 0,467 | 83,5 | 28,8 | 345 | 255 | 52,6 | 35,1 | 7,9 | 4,0 | 0,4 | M |
| Dárce 657 | 6,49 | 5,35 | 167 | 0,471 | 88,0 | 31,2 | 355 | 291 | 64,2 | 21,6 | 10,6 | 2,2 | 1,4 | M |
| Dárce 658 | 5,07 | 4,34 | 134 | 0,401 | 92,4 | 30,9 | 334 | 257 | 57,9 | 30,4 | 8,5 | 2,6 | 0,6 | M |
| Dárce 660 | 4,87 | 5,30 | 153 | 0,435 | 82,1 | 28,9 | 352 | 256 | 50,9 | 37,0 | 8,0 | 3,3 | 0,8 | M |
| Dárce 661 | 6,81 | 4,41 | 131 | 0,382 | 86,6 | 29,7 | 343 | 178 | 70,2 | 20,1 | 8,1 | 1,2 | 0,4 | Ž |
| Dárce 663 | 4,08 | 5,21 | 154 | 0,452 | 86,8 | 29,6 | 341 | 232 | 48,5 | 37,0 | 12,0 | 1,5 | 1,0 | M |
| Dárce 666 | 5,11 | 5,28 | 151 | 0,433 | 82,0 | 28,6 | 349 | 204 | 58,3 | 31,3 | 6,7 | 2,9 | 0,8 | M |

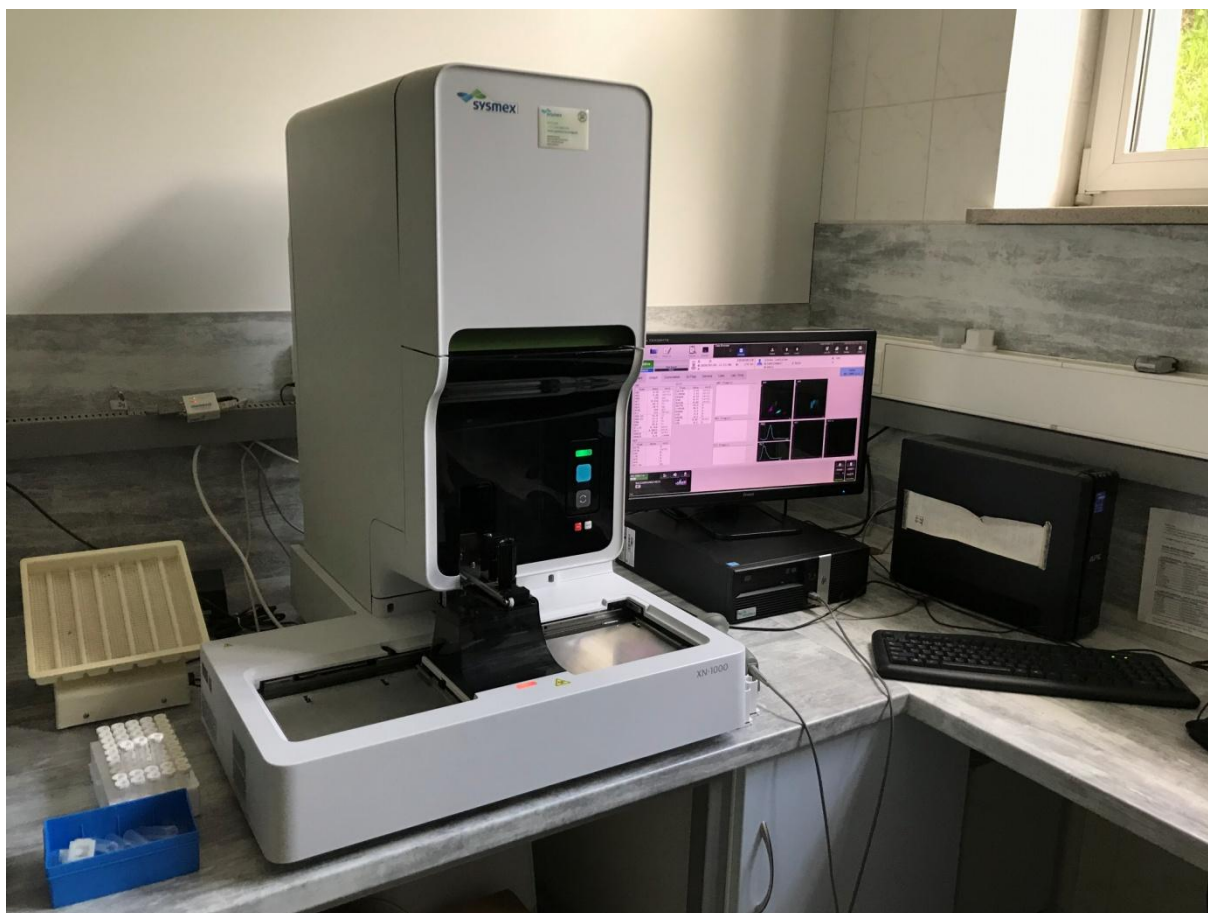
| | WBC | RBC | Hb | Hct | MCV | MCH | MCHC | PLT | NEU | LYMPH | MONO | EO | BASO | Pohlaví |
|------------------|------|------|-----|-------|------|------|------|-----|------|-------|------|-----|------|---------|
| Dárce 811 | 5,22 | 4,36 | 140 | 0,397 | 91,1 | 32,1 | 353 | 252 | 64,9 | 23,6 | 7,5 | 3,4 | 0,6 | M |
| Dárce 812 | 6,30 | 5,39 | 163 | 0,463 | 85,9 | 30,2 | 352 | 296 | 52,5 | 33,3 | 11,9 | 1,7 | 0,6 | M |
| Dárce 813 | 5,75 | 5,11 | 137 | 0,423 | 82,8 | 26,8 | 324 | 248 | 43,4 | 40,5 | 9,7 | 6,1 | 0,3 | Ž |
| Dárce 814 | 4,55 | 5,28 | 157 | 0,455 | 86,2 | 29,7 | 345 | 215 | 49,9 | 41,1 | 5,9 | 2,9 | 0,2 | M |
| Dárce 815 | 5,99 | 5,32 | 152 | 0,460 | 86,5 | 28,6 | 330 | 242 | 55,1 | 29,4 | 9,0 | 5,7 | 0,8 | M |
| Dárce 816 | 5,24 | 5,60 | 159 | 0,466 | 83,2 | 28,4 | 341 | 273 | 47,0 | 39,1 | 10,7 | 2,1 | 1,1 | M |
| Dárce 817 | 4,96 | 4,50 | 139 | 0,406 | 90,2 | 30,9 | 342 | 213 | 56,3 | 30,4 | 9,5 | 2,4 | 1,4 | M |
| Dárce 818 | 8,31 | 4,36 | 138 | 0,410 | 94,0 | 31,7 | 337 | 296 | 62,8 | 27,1 | 6,6 | 2,9 | 0,6 | Ž |
| Dárce 819 | 7,94 | 5,16 | 161 | 0,472 | 91,5 | 31,2 | 341 | 242 | 53,1 | 36,5 | 7,4 | 2,1 | 0,9 | M |
| Dárce 820 | 4,45 | 5,01 | 148 | 0,431 | 86,0 | 29,5 | 343 | 172 | 60,1 | 28,3 | 9,9 | 1,3 | 0,4 | M |
| Dárce 821 | 4,85 | 4,98 | 152 | 0,443 | 89,0 | 30,5 | 343 | 136 | 60,6 | 29,5 | 5,8 | 3,7 | 0,4 | M |
| Dárce 822 | 4,95 | 4,90 | 157 | 0,448 | 91,4 | 32,0 | 350 | 249 | 39,8 | 37,8 | 17,6 | 4,2 | 0,6 | M |
| Dárce 823 | 8,94 | 5,74 | 168 | 0,498 | 86,8 | 29,3 | 337 | 360 | 63,5 | 24,4 | 8,6 | 2,8 | 0,7 | M |
| Dárce 824 | 6,53 | 5,40 | 151 | 0,461 | 85,4 | 28,0 | 328 | 253 | 55,5 | 29,1 | 8,7 | 6,1 | 0,6 | M |
| Dárce 825 | 6,36 | 5,25 | 153 | 0,460 | 87,6 | 29,1 | 333 | 169 | 48,7 | 35,4 | 12,1 | 3,0 | 0,8 | M |
| Dárce 826 | 4,83 | 5,25 | 156 | 0,446 | 85,0 | 29,7 | 350 | 184 | 51,2 | 32,7 | 11,6 | 3,7 | 0,8 | M |
| Dárce 827 | 5,25 | 5,01 | 156 | 0,448 | 89,4 | 31,1 | 348 | 290 | 49,3 | 37,9 | 10,3 | 1,7 | 0,8 | M |
| Dárce 836 | 5,60 | 4,96 | 148 | 0,438 | 88,3 | 29,8 | 338 | 274 | 38,3 | 47,9 | 10,2 | 2,9 | 0,7 | M |
| Dárce 837 | 6,49 | 5,64 | 173 | 0,483 | 85,6 | 30,7 | 358 | 267 | 52,5 | 35,0 | 9,1 | 2,6 | 0,8 | M |
| Dárce 838 | 5,40 | 5,53 | 164 | 0,473 | 85,5 | 29,7 | 347 | 182 | 50,9 | 35,9 | 10,6 | 1,9 | 0,7 | M |
| Dárce 839 | 5,41 | 4,85 | 142 | 0,408 | 84,1 | 29,3 | 348 | 303 | 45,6 | 36,4 | 11,8 | 5,5 | 0,7 | M |
| Dárce 840 | 8,44 | 5,49 | 159 | 0,463 | 84,3 | 29,0 | 343 | 255 | 60,5 | 27,4 | 8,3 | 3,2 | 0,6 | M |
| Dárce 841 | 7,11 | 5,59 | 171 | 0,498 | 89,1 | 30,6 | 343 | 204 | 60,6 | 30,9 | 6,6 | 1,3 | 0,6 | M |
| Dárce 842 | 7,73 | 4,79 | 140 | 0,404 | 84,3 | 29,2 | 347 | 362 | 58,6 | 28,6 | 9,7 | 1,9 | 1,2 | M |
| Dárce 843 | 6,53 | 4,90 | 141 | 0,414 | 84,5 | 28,8 | 341 | 278 | 47,9 | 43,2 | 6,7 | 1,4 | 0,8 | Ž |

Tabulka 4: Hodnoty KO a diferenciálního rozpočtu leukocytů při chybném odběru (25 %)

| | WBC | RBC | Hb | Hct | MCV | MCH | MCHC | PLT | NEU | LYMPH | MONO | EO | BASO | Pohlaví |
|-----------|------|------|-----|-------|------|------|------|-----|------|-------|------|-----|------|---------|
| Dárce 541 | 4,15 | 5,64 | 146 | 0,446 | 79,1 | 25,9 | 327 | 165 | 46,0 | 40,7 | 8,7 | 4,1 | 0,5 | M |
| Dárce 539 | 5,00 | 3,91 | 126 | 0,360 | 92,1 | 32,2 | 350 | 238 | 54,2 | 31,6 | 8,8 | 5,0 | 0,4 | Ž |
| Dárce 537 | 7,38 | 4,94 | 143 | 0,411 | 83,2 | 28,9 | 348 | 179 | 67,6 | 22,6 | 7,7 | 1,6 | 0,5 | Ž |
| Dárce 530 | 5,25 | 5,92 | 177 | 0,491 | 82,9 | 29,9 | 360 | 142 | 59,0 | 29,0 | 8,2 | 3,4 | 0,4 | M |
| Dárce 528 | 6,15 | 5,49 | 154 | 0,441 | 80,3 | 28,1 | 349 | 229 | 60,0 | 27,0 | 8,3 | 3,9 | 0,8 | M |
| Dárce 524 | 5,81 | 5,83 | 167 | 0,469 | 80,4 | 28,6 | 356 | 192 | 47,1 | 38,6 | 8,8 | 4,1 | 1,4 | M |
| Dárce 523 | 6,91 | 4,42 | 143 | 0,409 | 92,5 | 32,4 | 350 | 237 | 61,5 | 30,1 | 6,2 | 1,3 | 0,9 | M |
| Dárce 642 | 6,72 | 4,52 | 135 | 0,401 | 88,7 | 29,9 | 337 | 262 | 64,5 | 24,4 | 9,2 | 1,3 | 0,6 | Ž |
| Dárce 644 | 4,67 | 5,20 | 156 | 0,435 | 83,7 | 30,0 | 359 | 202 | 56,3 | 31,7 | 9,0 | 2,4 | 0,6 | M |
| Dárce 645 | 5,72 | 5,12 | 146 | 0,416 | 81,3 | 28,5 | 351 | 253 | 38,0 | 41,6 | 10 | 9,4 | 1,0 | M |
| Dárce 646 | 5,27 | 5,20 | 156 | 0,440 | 84,6 | 30,0 | 355 | 152 | 47,9 | 39,7 | 9,7 | 1,9 | 0,8 | M |
| Dárce 647 | 6,70 | 5,94 | 178 | 0,519 | 87,4 | 30,0 | 343 | 162 | 65,9 | 24,3 | 8,2 | 0,9 | 0,7 | M |
| Dárce 648 | 5,35 | 5,07 | 145 | 0,428 | 84,4 | 28,6 | 339 | 221 | 37,9 | 47,3 | 9,0 | 4,1 | 1,7 | M |
| Dárce 650 | 5,72 | 4,97 | 144 | 0,423 | 85,1 | 29,0 | 340 | 369 | 46,9 | 43,0 | 7,7 | 1,7 | 0,7 | Ž |
| Dárce 651 | 5,60 | 5,34 | 148 | 0,433 | 81,1 | 27,7 | 342 | 236 | 52,5 | 36,1 | 7,7 | 3,0 | 0,7 | Ž |
| Dárce 652 | 5,16 | 4,74 | 136 | 0,399 | 84,2 | 28,7 | 341 | 214 | 58,1 | 28,5 | 10,3 | 2,5 | 0,6 | Ž |
| Dárce 654 | 7,94 | 4,49 | 133 | 0,377 | 84,0 | 29,6 | 353 | 334 | 52,6 | 39,3 | 4,2 | 3,1 | 0,8 | Ž |
| Dárce 655 | 6,00 | 5,33 | 159 | 0,454 | 85,2 | 29,8 | 350 | 197 | 57,4 | 30,8 | 7,7 | 3,3 | 0,8 | M |
| Dárce 656 | 7,87 | 5,63 | 161 | 0,466 | 82,8 | 28,6 | 345 | 250 | 51,3 | 36,7 | 7,6 | 3,8 | 0,6 | M |
| Dárce 657 | 6,36 | 5,31 | 166 | 0,461 | 87,0 | 31,3 | 359 | 276 | 65,5 | 21,1 | 10,4 | 1,7 | 1,3 | M |
| Dárce 658 | 5,02 | 4,41 | 135 | 0,403 | 91,4 | 30,6 | 335 | 256 | 57,3 | 30,3 | 9,2 | 2,8 | 0,4 | M |
| Dárce 660 | 4,89 | 5,37 | 154 | 0,436 | 81,2 | 28,7 | 353 | 250 | 50,7 | 36,8 | 7,8 | 3,5 | 1,2 | M |
| Dárce 661 | 6,65 | 4,39 | 130 | 0,375 | 85,4 | 29,6 | 347 | 174 | 69,6 | 21,2 | 7,5 | 1,1 | 0,6 | Ž |
| Dárce 663 | 4,02 | 5,19 | 155 | 0,445 | 85,7 | 29,9 | 348 | 242 | 48,8 | 36,6 | 11,9 | 1,5 | 1,2 | M |
| Dárce 666 | 5,08 | 5,31 | 151 | 0,432 | 81,4 | 28,4 | 350 | 197 | 57,1 | 32,9 | 5,9 | 3,3 | 0,8 | M |
| Dárce 811 | 5,10 | 4,41 | 143 | 0,396 | 89,8 | 32,4 | 361 | 252 | 65,6 | 22,7 | 7,8 | 3,5 | 0,4 | M |
| Dárce 812 | 6,28 | 5,47 | 165 | 0,464 | 84,8 | 30,2 | 356 | 307 | 52,9 | 34,1 | 11,0 | 1,4 | 0,6 | M |

| | | | | | | | | | | | | | | |
|------------------|------|------|-----|-------|------|------|-----|-----|------|------|------|-----|-----|---|
| Dárce 813 | 5,89 | 5,01 | 137 | 0,408 | 81,4 | 27,3 | 336 | 243 | 44,3 | 39,9 | 9 | 6,5 | 0,3 | Ž |
| Dárce 814 | 4,52 | 5,43 | 160 | 0,446 | 82,1 | 29,5 | 359 | 209 | 51,0 | 39,2 | 6,9 | 2,7 | 0,2 | M |
| Dárce 815 | 6,26 | 5,42 | 156 | 0,463 | 85,4 | 28,8 | 337 | 247 | 55,9 | 28,4 | 9,3 | 5,6 | 0,8 | M |
| Dárce 816 | 5,25 | 5,56 | 158 | 0,460 | 82,7 | 28,4 | 343 | 268 | 49,0 | 37,1 | 10,3 | 2,5 | 1,1 | M |
| Dárce 817 | 4,74 | 4,38 | 137 | 0,391 | 89,3 | 31,3 | 350 | 221 | 56,9 | 30,6 | 9,1 | 2,3 | 1,1 | M |
| Dárce 818 | 8,14 | 4,37 | 137 | 0,410 | 93,8 | 31,4 | 334 | 299 | 63,7 | 26,8 | 6,1 | 2,8 | 0,6 | Ž |
| Dárce 819 | 8,08 | 5,16 | 163 | 0,469 | 90,9 | 31,6 | 348 | 225 | 53,6 | 36,4 | 7,5 | 1,9 | 0,6 | M |
| Dárce 820 | 4,54 | 5,06 | 149 | 0,433 | 85,6 | 29,4 | 344 | 170 | 61,3 | 27,5 | 9,5 | 1,3 | 0,4 | M |
| Dárce 821 | 4,81 | 5,02 | 156 | 0,441 | 87,8 | 31,1 | 354 | 129 | 61,2 | 29,1 | 5,6 | 3,7 | 0,4 | M |
| Dárce 822 | 4,75 | 4,86 | 157 | 0,442 | 90,9 | 32,3 | 355 | 241 | 39,9 | 38,9 | 16,4 | 4,2 | 0,6 | M |
| Dárce 823 | 9,05 | 5,70 | 166 | 0,486 | 85,3 | 29,1 | 342 | 338 | 65,1 | 22,3 | 9,2 | 2,7 | 0,7 | M |
| Dárce 824 | 6,54 | 5,43 | 152 | 0,459 | 84,5 | 28,0 | 331 | 259 | 56,4 | 28,0 | 8,1 | 6,9 | 0,6 | M |
| Dárce 825 | 6,28 | 5,34 | 156 | 0,465 | 87,1 | 29,2 | 335 | 173 | 49,2 | 36,1 | 10,7 | 3,2 | 0,8 | M |
| Dárce 826 | 4,91 | 5,21 | 154 | 0,439 | 84,3 | 29,6 | 351 | 175 | 50,5 | 34,2 | 10,4 | 4,1 | 0,8 | M |
| Dárce 827 | 5,29 | 5,05 | 158 | 0,447 | 88,5 | 31,3 | 353 | 275 | 49,8 | 37,6 | 10,0 | 1,7 | 0,9 | M |
| Dárce 836 | 5,71 | 4,98 | 149 | 0,437 | 87,8 | 29,9 | 341 | 284 | 39,4 | 46,4 | 10,9 | 2,6 | 0,7 | M |
| Dárce 837 | 6,52 | 5,58 | 172 | 0,475 | 85,1 | 30,8 | 362 | 264 | 52,9 | 34,0 | 9,5 | 2,8 | 0,8 | M |
| Dárce 838 | 5,45 | 5,55 | 164 | 0,472 | 85,0 | 29,5 | 347 | 184 | 50,7 | 35,4 | 11,4 | 1,8 | 0,7 | M |
| Dárce 839 | 5,50 | 4,82 | 142 | 0,404 | 83,8 | 29,5 | 351 | 304 | 43,6 | 39,5 | 10,9 | 5,1 | 0,9 | M |
| Dárce 840 | 6,94 | 5,48 | 170 | 0,489 | 89,2 | 31,0 | 348 | 203 | 60,0 | 31,0 | 7,1 | 1,3 | 0,6 | M |
| Dárce 841 | 6,89 | 5,55 | 169 | 0,491 | 88,5 | 30,5 | 344 | 199 | 60,3 | 30,9 | 6,8 | 1,3 | 0,7 | M |
| Dárce 842 | 7,56 | 4,76 | 139 | 0,396 | 83,2 | 29,2 | 351 | 359 | 57,1 | 28,8 | 10,2 | 2,4 | 1,5 | M |
| Dárce 843 | 6,38 | 4,95 | 143 | 0,416 | 84,0 | 28,9 | 344 | 277 | 48,6 | 42,6 | 6,9 | 1,3 | 0,6 | Ž |

PŘÍLOHA B



Obrázek 11: Analyzátor Sysmex XN 1000

PŘÍLOHA C

| CBC | | | DIFF | | |
|--------|--------|---------------------|--------|------|--------------------|
| Item | Data | Unit | Item | Data | Unit |
| WBC | 6.26 | 10 ⁹ /L | NEUT# | 3.42 | 10 ⁹ /L |
| RBC | 4.81 | 10 ¹² /L | LYMPH# | 1.91 | 10 ⁹ /L |
| HGB | 139 | g/L | MONO# | 0.53 | 10 ⁹ /L |
| HCT | 0.416 | Ratio | EO# | 0.37 | 10 ⁹ /L |
| MCV | 86.5 | fL | BASO# | 0.03 | 10 ⁹ /L |
| MCH | 28.9 | pg | NEUT% | 54.6 | % |
| MCHC | 334 | g/L | LYMPH% | 30.5 | % |
| PLT | 215 | 10 ⁹ /L | MONO% | 8.5 | % |
| RDW-SD | 41.8 | fL | EO% | 5.9 | % |
| RDW-CV | 13.4 | % | BASO% | 0.5 | % |
| PDW | 13.3 | fL | IG# | 0.01 | 10 ⁹ /L |
| MPV | 10.8 | fL | IG% | 0.2 | % |
| P-LCR | 0.316 | Ratio | | | |
| PCT | 0.0023 | Ratio | | | |
| NRBC# | 0.00 | 10 ⁹ /L | | | |
| NRBC% | 0.0 | /100WBC | | | |

Obrázek 12: Parametry červeného a bílého krevního obrazu naměřené na analyzátoru Sysmex XN 1000