

Edgar Faber a kolektiv

Základy hematologické diagnostiky

3., přepracované a doplněné vydání



Možná nastal čas použít ponatinib už po prvním selhání 2G TKI^{1,2}

Iclusig přináší perspektivní možnosti léčby CML na základě dat i zkušeností^{3,4}

**ICLUSIG**
(ponatinib) tablets

BECAUSE TOMORROW MATTERS



1. Hochhaus A, et al. Leukemia. 2020;34:966–84; 2. Lipton JH, et al. Leuk Res. 2015;39:58–64; 3. Cortes JE, et al. Blood. 2018;132(4):393–404. 4. Cortes J, et al. Blood. 2021;138(21):2042–2050.

Iclusig 15 mg

S: Ponatinibum 15 mg v 1 potahované tabletě. **I:** Iclusig je indikován u dospělých pacientů s následujícími stavy: chronická, akcelerovaná nebo blastická fáze chronické myeloidní leukémie (CML) při rezistenci k dasatinibu nebo nilotinibu; intoleranci dasatinibu nebo nilotinibu a u pacientů, u nichž není z klinického hlediska vhodná následná léčba imatinibem; nebo přítomnosti mutace T315I; akutní lymfoblastická leukémie s pozitivním Philadelphia chromozomem (Ph+ ALL) při rezistenci k dasatinibu a u pacientů, u nichž není z klinického hlediska vhodná následná léčba imatinibem; nebo přítomnosti mutace T315I. **KI:** Hypersenzitivita na léčivou látku nebo na kteroukoliv pomocnou látku. **ZU:** Myelosuprese: Iclusig bývá spojován se závažnou trombocytopenií, neutropenií a anémií. Po dobu prvních 3 měsíců je třeba každé 2 týdny vyšetřovat krevní obraz; poté se vyšetřuje jednou měsíčně nebo podle klinické indikace. Myelosuprese byla obecně reverzibilní a obvykle ustoupila po dočasném vysazení nebo snížení dávky. U pacientů léčených přípravkem Iclusig se vyskytl arteriální okluz. Riziko vzniku arteriálního okluzu má pravděpodobně vztah k dávce. Před zahájením léčby ponatinibem je třeba zhodnotit kardiovaskulární stav pacienta. V případě arteriálního okluzu nebo tromboembolie je třeba podávání přípravku okamžitě přerušit. Během léčby je třeba sledovat a hodnotit krevní tlak při každé lékařské kontrole a hypertenzi je třeba léčit až do normalizace. Používání inhibitorů dráhy VEGF u pacientů s hypertenzí nebo bez hypertenze může přispět k tvorbě aneurysmat a/nebo arteriálních disekcí. U pacientů s rizikovými faktory, jako jsou hypertenze nebo aneurysma v anamnéze, se má před zahájením užívání přípravku Iclusig toto riziko pečlivě zvážit. U pacientů je třeba soustavně sledovat známky či příznaky srdečního selhání a ty je třeba léčit podle klinické indikace, včetně přerušování léčby přípravkem Iclusig. U pacientů s rozvojem závažného srdečního selhání je třeba zvážit ukončení léčby ponatinibem. Iclusig bývá rovněž spojován s pankreatitidou. Může být potřebné přerušit užívání přípravku nebo snížení dávek. Jestliže je zvýšení hladiny lipázy provázeno břišními příznaky, podávání Iclusigu je třeba přerušit a pacienty vyšetřit, zda nemají známky pankreatitidy. U pacientů s pankreatitidou nebo zvýšenou konzumací alkoholu v anamnéze se doporučuje zachovávat opatrnost. Pacienti se závažnou nebo velmi závažnou hypertriglyceridemií je nutno správně léčit, aby se riziko pankreatitidy snížilo. Nelze vyloučit klinicky významný vliv na interval QT. Iclusig může vést ke zvýšení hladin ALT, AST, bilirubinu a alkalické fosfatázy. Testy jaterních funkcí mají být prováděny před zahájením léčby a sledovány v pravidelných intervalech podle klinické indikace. Při závažné nebo těžké hemoragii je třeba léčbu přípravkem Iclusig přerušit a vyhodnotit stav pacienta. U pacientů, kteří jsou chronickými nosiči viru hepatitidy B, dochází k reaktivaci po zahájení léčby inhibitory tyrosinkinázy BCR-ABL. Před zahájením léčby přípravkem Iclusig mají být pacienti vyšetřeni na infekci HBV. U pacientů s poruchou funkce jater a ledvin (s odhadovanou clearance kreatininu <50 ml/min nebo pacientů v terminálních stádiu onemocnění ledvin), je třeba opatrnost. U starších pacientů je vyšší pravděpodobnost vyskytu nežádoucích účinků. Iclusig obsahuje monohydrát laktózy. Při řízení nebo obsluhování strojů se doporučuje opatrnost. **NÚ:** Časté závažné NÚ (>1/100): pneumonie, pankreatitida, bolest břicha, fibrilace síní, pyrexie, infarkt myokardu, ischemická choroba dolních končetin, anémie, angina pectoris, febrilní neutropenie, snížení počtu trombocytů, hypertenze, včetně přerušování léčby přípravkem Iclusig, včetně srdečního selhání, cévní mozková příhoda, sepse, akutní poškození ledvin, infekce močových cest, zvýšení hladiny lipázy. Velmi časté NÚ (>1/10): infekce horních cest dýchacích, anémie, trombocytopenie, neutropenie, snížení chuti k jídlu, insomnie, bolest hlavy, závratě, hypertenze, dyspnoe, kašel, bolest břicha, průjem, zvracení, zácpa, nauzea, zvýšení hladiny lipázy, zvýšení hladiny ALT a AST, vyrážka, suchá kůže, pruritus, bolest kostí, artralgie, myalgie, bolesti zad, svalové spazmy, únava, astenie, periferní edémy, pyrexie, bolest. Časté NÚ (> 1/100 až < 1/10): pneumonie, sepse, folikulitida, celulitida, pancytopenie, febrilní neutropenie, leukopenie, lymfocytopenie, hypotyreóza, dehydratace, retence tekutin, hypokalémie, hyperglykemie, hyperurikémie, hypofosfátemie, hypertriglyceridemie, hypokalémie, snížení tělesné hmotnosti, hyponatremie, cévní mozková příhoda, mozkový infarkt, periferní neuropatie, letargie, migréna, hyperestezie, hypestezie, parestezie, tranzitní ischemická ataka, rozmazané vidění, suché oko, periorbitální edém, otok očních víček, konjunktivitida, zhoršení zraku, srdeční selhání, infarkt myokardu, městnavé srdeční selhání, ischemická choroba srdeční, angina pectoris, perikardiální výpotek, fibrilace síní, snížení ejekční frakce, akutní koronární syndrom, flutter síní, ischemická choroba dolních končetin, periferní ischemie, stenóza periferní tepny, intermitentní klaudikace, hluboká žilní trombóza, návaly horka, zčervenání, plicní embolie, pleurální výpotek, epistaxe, dystonie, plicní hypertenze, pankreatitida, zvýšení hladiny amylázy v krvi, gastroezofageální refluxní choroba, stomatitida, dyspepsie, abdominální distenze, břišní diskomfort, sucho v ústech, krvácení do žaludku, zvýšení hladiny krevního bilirubinu, zvýšení hladiny alkalické fosfatázy v krvi, zvýšení hladiny gama-glutamyltransferázy, svědivá vyrážka, exfoliativní vyrážka, erytém, alopecie, kožní exfoliace, noční pocení, hyperhidróza, ptechie, ekchymóza, bolest kůže, exfoliativní dermatitida, hyperkeratóza, hyperpigmentace kůže, muskuloskeletální bolest, bolest šlaj, muskuloskeletální bolest na hrudi, erektilní dysfunkce, zimnice, chřipkovitě onemocnění, bolest na hrudi jiného než kardiálního původu, hmatná rezistence, otok obojeje. Pacienti musí být upozorněni na to, aby podezření na kožní reakce ihned hlásili, zejména pokud budou tyto reakce spojeny s tvorbou puchýřů, olupováním, postižením sliznic nebo systémovými příznaky. **U:** Opatrnost je třeba při podávání spolu se silnými inhibitory CYP3A4, které mohou zvyšovat koncentrace ponatinibu v séru a při léčbě je třeba se vyvarovat podávání silných induktorů CYP3A4, které mohou snižovat koncentrace ponatinibu v séru. Ponatinib je inhibitorem P-gp a BCRP in vitro. Může mít potenciál pro zvyšování plazmatických koncentrací souběžně podávaných substrátů P-gp nebo BCRP a může zvyšovat jejich terapeutický účinek a nežádoucí účinky. Při souběžném podávání ponatinibu s těmito léčivými přípravky se doporučuje pečlivý lékařský dohled. **TL:** Ženám ve fertilním věku léčeným přípravkem Iclusig je třeba doporučit, aby neotěhotněly, mužům je třeba doporučit, aby během léčby nepočali dítě. Je nutno používat účinnou metodu antikoncepce. Studie na zvířatech prokázaly reprodukční toxicitu. Pokud je přípravek užíván v těhotenství, pacientka musí být informována o potenciálním riziku pro plod. Kojení má být během léčby přerušeno. **D:** Doporučená zahajovací dávka ponatinibu je 45 mg jednou denně. Riziko vzniku arteriálního okluzu má pravděpodobně vztah k dávce. Zvažte snížení dávky přípravku Iclusig na 15 mg u pacientů s chronickou fází CML, kteří dosáhli velké cytogenetické odpovědi. Léčba má pokračovat, dokud se u pacienta neobjeví známky progresse onemocnění nebo nepřijatelné toxicity. Při ztrátě odpovědi lze dávku znovu zvýšit na dříve tolerovanou dávku 30 mg nebo 45 mg 1 x denně. Tablety mají být polykány celé, nerozžvýkáno ani rozpuštěno, lze užívat s jídlem nebo bez jídla. Úpravu dávkování je třeba zvážit při projevech hematologické i nehematologické toxicity. V případě těžkých nežádoucích účinků je nutno léčbu vysadit. U pacientů, jejichž nežádoucí účinky odezněly nebo jsou mírnější, lze zvážit opětovné zahájení podávání přípravku Iclusig a zvyšování dávků zpět na denní dávku užívanou před výskytlem nežádoucího účinku, pokud je to z klinického hlediska vhodné. **DRR:** Inocyte Biosciences Distribution B.V., Paasheuvelweg 25, 1105 BP Amsterdam, Nizozemsko. Reg.č.: EU/1/13/839/001. **Uchovávaní:** Uchovávejte v původním obalu, aby byl přípravek chráněn před světlem. Uzavřenou nádobku s vysoušedlem ponechte v lahvičce. **Datum poslední revize textu SPC:** 24. 3. 2022. Přípravek je vázán na lékařský předpis a je hrazen zdravotními pojišťovnami. Seznamte se, prosím, se Souhrnem údajů o přípravku (SPC).



Děkujeme společnostem, které v této publikaci inzerují nebo její vydání jiným způsobem podpořily (v abecedním pořadí):

Altium International s.r.o.
Angelini Pharma Česká republika s.r.o.
Beckman Coulter Česká republika s.r.o.
BIOHEM a.s.
BIOMEDICA ČS, s.r.o.
Bristol-Myers Squibb spol. s r.o.
GlaxoSmithKline, s.r.o.
Novartis s.r.o.
Pfizer, spol. s r.o.
SCHOELLER INSTRUMENTS, s.r.o.
Sysmex CZ s.r.o.
Takeda Pharmaceuticals Czech Republic s.r.o.
Zentiva, k.s.
Swixx Biopharma s.r.o.
Quickseal International, s.r.o.

Edgar Faber a kolektiv

Základy hematologické diagnostiky

3., přepracované a doplněné vydání

Upozornění pro čtenáře a uživatele této knihy

Všechna práva vyhrazena. Žádná část této tištěné či elektronické knihy nesmí být reprodukována a šířena v papírové, elektronické či jiné podobě bez předchozího písemného souhlasu nakladatele. Neoprávněné užití této knihy bude **trestně stíháno**.

Automatizovaná analýza textů nebo dat ve smyslu čl. 4 směrnice 2019/790/EU a použití této knihy k trénování AI jsou **bez souhlasu nositele práv zakázány**.

prof. MUDr. Edgar Faber, CSc., a kolektiv

ZÁKLADY HEMATOLOGICKÉ DIAGNOSTIKY

3., přepracované a doplněné vydání

Editor:

prof. MUDr. Edgar Faber, CSc.

Hemato-onkologická klinika Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci a Fakultní nemocnice Olomouc

Kolektiv autorů:

MUDr. Martin Čerňan, Ph.D.

prof. MUDr. Edgar Faber, CSc.

MUDr. Dana Galuszková, Ph.D., MBA

MUDr. Veronika Hanáčková

MUDr. Antonín Hluší, Ph.D.

MUDr. Iva Holusková, Ph.D.

Mgr. Jarmila Juráňová

MUDr. Zuzana Kubová

MUDr. Jiří Masopust

prof. MUDr. Mgr. Jiří Minařík, Ph.D.

RNDr. Martin Novák, Ph.D.

MUDr. Aleš Obr, Ph.D.

MUDr. Tomáš Pika, Ph.D.

prof. MUDr. Vít Procházka, Ph.D.

MUDr. Renata Procházková, Ph.D.

doc. MUDr. Peter Rohoň, Ph.D.

doc. MUDr. Tomáš Sztokowski, Ph.D.

Mgr. Helena Urbánková, Ph.D.

MUDr. Jana Zuchnická

Recenzenti:

prof. MUDr. Miroslav Penka, CSc.

Interní hematologická a onkologická klinika a Oddělení klinické hematologie Lékařské fakulty Masarykovy univerzity a Fakultní nemocnice Brno

prof. MUDr. Vlastimil Ščudla, CSc.

III. interní klinika – nefrologická, revmatologická a endokrinologická Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci a Fakultní nemocnice Olomouc

První vydání publikace bylo podpořeno Evropským sociálním fondem v operačním programu Vzdělávání pro konkurenceschopnost v rámci řešení projektu CZ.1.07/2.2.00/07.0294.

Třetí vydání publikace bylo podpořeno grantem Univerzity Palackého IGA_LF_2024_01 a grantem Ministerstva zdravotnictví ČR: MH CZ – DRO FNOL, 00098892.

Kapitola 15 připravena s podporou Projektu Národního ústavu pro výzkum rakoviny (Program EXCELES, ID: LX22NPO5102) – Financováno Evropskou unií – Next Generation EU.

Vydání odborné knihy schválila Vědecká redakce nakladatelství Grada Publishing, a.s.

Obrázek na obálce reprodukován se souhlasem autora: olejomalba Jana Knapa „Bez názvu“ z roku 1993.

Obrázky pro třetí vydání dodali autoři. Obrázky 1.1 a 1.2 překreslil a upravil Jiří Hlaváček.

Cover Photo © Jan Knap, 2024

Cover Design © Grada Publishing, a.s., 2024

© Grada Publishing, a.s., 2024

Vydala Grada Publishing, a.s.

U Průhonu 22, Praha 7

jako svou 9319. publikaci

Šéfredaktorka lékařské literatury MUDr. Michaela Lízlerová

Odpovědná redaktorka BcA. Radka Jančová, DiS.

Jazyková korektura Jana Křivánková

Sazba a zlom Monika Vejrostová

Počet stran 364

3. vydání (v Gradě 1.), Praha 2024

Tisk Iva Vodáková – Durabo

Názvy produktů, firem apod. použité v knize mohou být ochrannými známkami nebo registrovanými ochrannými známkami příslušných vlastníků, což není zvláštním způsobem vyznačeno.

Postupy a příklady v této knize, rovněž tak informace o lécích, jejich formách, dávkování a aplikaci jsou sestaveny s nejlepším vědomím autorů. Z jejich praktického uplatnění však pro autory ani pro nakladatelství nevyplývají žádné právní důsledky.

ISBN 978-80-271-7383-9 (ePub)

ISBN 978-80-271-7382-2 (pdf)

ISBN 978-80-271-5032-8 (print)

Kniha vychází s podporou společnosti Novartis



Editor

prof. MUDr. Edgar Faber, CSc.

Hemato-onkologická klinika Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci
a Fakultní nemocnice Olomouc

Kolektiv autorů

MUDr. Martin Čerňan, Ph.D.

Hemato-onkologická klinika Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci
a Fakultní nemocnice Olomouc

prof. MUDr. Edgar Faber, CSc.

Hemato-onkologická klinika Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci
a Fakultní nemocnice Olomouc

MUDr. Dana Galuszková, Ph.D., MBA

Transfuzní oddělení Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci
a Fakultní nemocnice Olomouc

MUDr. Veronika Hanáčková

Hemato-onkologická klinika Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci
a Fakultní nemocnice Olomouc

MUDr. Antonín Hluší, Ph.D.

Hemato-onkologická klinika Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci
a Fakultní nemocnice Olomouc

MUDr. Iva Holusková, Ph.D.

Transfuzní oddělení Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci
a Fakultní nemocnice Olomouc

Mgr. Jarmila Juráňová

Hemato-onkologická klinika Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci
a Fakultní nemocnice Olomouc

MUDr. Zuzana Kubová

Hemato-onkologická klinika Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci
a Fakultní nemocnice Olomouc

MUDr. Jiří Masopust

Transfuzní oddělení Masarykovy nemocnice v Ústí nad Labem, o. z., Krajské
zdravotní, a. s.

prof. MUDr. Mgr. Jiří Minařík, Ph.D.

Hemato-onkologická klinika Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci
a Fakultní nemocnice Olomouc

RNDr. Martin Novák, Ph.D.

Hemato-onkologická klinika Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci
a Fakultní nemocnice Olomouc

MUDr. Aleš Obr, Ph.D.

Hemato-onkologická klinika Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci
a Fakultní nemocnice Olomouc

MUDr. Tomáš Pika, Ph.D.

Hemato-onkologická klinika Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci
a Fakultní nemocnice Olomouc

prof. MUDr. Vít Procházka, Ph.D.

Hemato-onkologická klinika Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci
a Fakultní nemocnice Olomouc

MUDr. Renata Procházková, Ph.D.

Transfuzní oddělení Krajské nemocnice Liberec, a.s.

doc. MUDr. Peter Rohoň, Ph.D.

Ústav lékařské genetiky a genomiky Lékařské fakulty Masarykovy Univerzity
a Fakultní nemocnice Brno

doc. MUDr. Tomáš Szotkowski, Ph.D.

Hemato-onkologická klinika Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci
a Fakultní nemocnice Olomouc

Mgr. Helena Urbánková, Ph.D.

Hemato-onkologická klinika Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci
a Fakultní nemocnice Olomouc

MUDr. Jana Zuchnická

Klinika hematoonkologie Fakultní nemocnice Ostrava

Recenzenti

prof. MUDr. Miroslav Penka, CSc.

Interní hematologická a onkologická klinika a Oddělení klinické hematologie
Lékařské fakulty Masarykovy univerzity a Fakultní nemocnice Brno

prof. MUDr. Vlastimil Ščudla, CSc.

III. interní klinika – nefrologická, revmatologická a endokrinologická Lékařské
fakulty Univerzity Palackého v Olomouci a Fakultní nemocnice Olomouc



VÍCE ZRALÝCH ERYTHROCYTŮ PRO VAŠE PACIENTY S MDS

Reblozyl® (luspatercept) - první a jediný lék podporující zrání erytrocytů
- Vám pomůže u pacientů snížit nebo dokonce odstranit transfúzní zátěž.^{1,4}

MDS = myelodysplastický syndrom.

Reblozyl®
(luspatercept)

Reference: 1. Reblozyl - souhrn údajů o přípravku (SmPC) v platném znění. 2. Suragani RN, Cadena SM, Cawley SM, et al. Transforming growth factor-β superfamily ligand trap ACE-536 corrects anemia by promoting late-stage erythropoiesis. *Nat Med.* 2014;20(4):408-414. 3. Attie KM, Allison MJ, McClure T, et al. A phase 1 study of ACE-536, a regulator of erythroid differentiation, in healthy volunteers. *Am J Hematol.* 2014;89(7):766-770. 4. Musallam KM, Rivella S, Vichinsky E, et al. Non-transfusion-dependent thalassemias. *Hematologica.* 2013;98(6):833-844.

ZKRÁCENÉ INFORMACE O LÉČIVÉM PŘÍPRAVKU

▼ Tento léčivý přípravek podléhá dalšímu sledování. To umožní rychlé získání nových informací o bezpečnosti. Žádáme zdravotnické pracovníky, aby hlásili jakákoli podezření na nežádoucí účinky.

Název léčivého přípravku: Reblozyl® 25 mg prášek pro injekční roztok, Reblozyl® 75 mg prášek pro injekční roztok. **Složení:** Jedna injekční lahvička obsahuje luspaterceptum 25 mg nebo 75 mg. **Indikace:** Reblozyl je indikován u dospělých k léčbě anémie se závislostí na transfuzích v důsledku myelodysplastického syndromu (MDS) velmi nízkého, nízkého a středního rizika. Reblozyl je indikován u dospělých k léčbě anémie související s beta-talasemií se závislostí na transfuzích i bez závislosti na transfuzích. **Dávkování a způsob podání:** Doporučená počáteční dávka je 1 mg/kg 1x za 3 týdny. **MDS** - Pokud po nejméně 2 po sobě následujících počátečních dávkách není pacient nezávislý na transfuzích červených krvinek (RBC) nebo nedosáhne-li hladina hemoglobinu (Hb) ≥ 10 g/dl a zvýšení Hb je < 1 g/dl, dávka se má zvýšit na 1,33 mg/kg. Pokud po nejméně 2 po sobě následujících dávkách 1,33 mg/kg není pacient nezávislý na transfuzích RBC nebo nedosáhne-li hladina hemoglobinu (Hb) ≥ 10 g/dl a zvýšení Hb je < 1 g/dl, dávka se má zvýšit na 1,75 mg/kg. Dávka se nemá zvyšovat častěji než po 6 týdnech (2 podání) a nemá překročit maximální dávku 1,75 mg/kg každé 3 týdny. Dávka se nemá snižovat bezprostředně po odložení dávky. U pacientů s hladinou hemoglobinu (Hb) > 9 g/dl před podáním luspaterceptu, kteří dosud nedosáhli transfúzní nezávislosti, může být zapotřebí vyšší dávka. **Beta-talasemie se závislostí na transfuzích** - U pacientů bez odpovědi definované jako snížení transfúzní zátěže RBC alespoň o třetinu po alespoň 2 po sobě následujících dávkách (6 týdnů) při počáteční dávce 1 mg/kg se má dávka zvýšit na 1,25 mg/kg. Dávka se nemá zvyšovat nad maximální dávku 1,25 mg/kg každé 3 týdny. **Beta-talasemie bez závislosti na transfuzích** - U pacientů bez odpovědi definované jako zvýšení hladiny Hb oproti výchozí hodnotě o ≥ 1 g/dl po alespoň 2 po sobě následujících dávkách (6 týdnů) při stejné velikosti dávky (při absenci tranfúzní nejméně 3 týdny po poslední dávce) se má dávka zvýšit o jednu úroveň dávky. Dávka nemá přesáhnout maximální dávku 1,25 mg/kg každé 3 týdny. **Snížení a odložení dávky** - Při zvýšení hladiny Hb > 2 g/dl během 3 týdnů bez podání transfuze se má dávka snížit o jednu úroveň. Pokud hladina Hb bez transfúzí zůstává vyšší než 12 g/dl po dobu alespoň 3 týdnů, má se dávka odložit, dokud hladina Hb nepoklesne pod 11 g/dl. Pokud současně dojde k rychlému zvýšení hladiny Hb (> 2 g/dl během 3 týdnů bez transfuze), po odložení dávky je třeba zvážit snížení dávky o jednu úroveň. Dávka se nemá snižovat pod 0,8 mg/kg (MDS/beta-talasemie se závislostí na transfuzích), resp. pod 0,6 mg/kg (beta-talasemie bez závislosti na transfuzích). Při nežádoucích účincích 2. stupně, hypertenzi a jiných přetrvávajících nežádoucích účincích ≥ 3 . stupně se má léčba přerušit, při závažných komplikacích způsobených výskytem extramedulární hematopoetické (EMH) tkáně se má léčba ukončit. Pokud pacienti ztratí odpověď na léčbu, mají se posoudit příčinné faktory (např. krvácení). Léčba se má ukončit, pokud se u pacientů po 9 týdnech léčby (3 dávky) při maximální dávce neprojevilo snížení transfúzní zátěže (beta-talasemie se závislostí na transfuzích), zvýšení Hb (beta-talasemie bez závislosti na transfuzích) nebo snížení transfúzní zátěže včetně nulového zvýšení Hb (MDS), pokud není nalezeno vysvětlení pro selhání odpovědi, nebo pokud se objeví nepříjemná toxicita. Pacienti s poruchou funkce ledvin mají být sledováni kvůli případné úpravě dávky. Přípravek je pro subkutánní podání a doporučený maximální objem na jedno injekční místo je 1,2 ml. **Kontraindikace:** Hypersenzitivita na léčivou látku nebo na kteroukoli pomocnou látku. **Těhotenství.** Stav vyžadující léčbu omezující růst (EMH) tkáně. **Zvláštní upozornění a opatření pro použití:** U pacientů s beta-talasemií a MDS byly hlášeny trombocytopenické příhody; jejich výskyt nesouvisel se zvýšenými hladinami Hb. U pacientů s beta-talasemií byl pozorován výskyt EMH tkáně a příznaky komprese míchy v důsledku EMH tkáně. Před každým podáním je nutno sledovat krevní tlak, protože u pacientů s MDS i beta-talasemií léčených luspaterceptem bylo pozorováno zvýšení krevního tlaku. U pacientů s beta-talasemií léčených luspaterceptem se vyskytl traumatické zlomeniny. **Interakce s jinými léčivými přípravky:** Studie interakcí nebyly provedeny. **Fertilita, těhotenství a kojení:** Ženy ve fertilním věku musí během léčby přípravkem a ještě nejméně 3 měsíce po podání poslední dávky používat účinnou antikoncepci. Před zahájením léčby musí být u žen ve fertilním věku proveden těhotenský test. U těhotných žen nesmí být léčba zahájena. Není známo, zda se luspatercept nebo jeho metabolity vylučují do mateřského mléka. **Nežádoucí účinky:** MDS - nejčastějšími nežádoucími účinky byly únava, průjem, nauzea, astenie, závratě, periferní edém a bolest zad. Nejčastější účinky ≥ 3 . stupně zahrnovaly hypertenzní příhody, synkopu, dyspnoe, únavu a trombocytopenii. Nejčastějšími závažnými nežádoucími účinky byly infekce močových cest, dyspnoe a bolest zad. **Beta-talasemie se závislostí na transfuzích** - nejčastějšími nežádoucími účinky byly bolest hlavy, kosti a kloubů. Nejčastějším nežádoucím účinkem ≥ 3 . stupně byla hyperurikémie. Nejzávažnějšími nežádoucími účinky byly tromboembolické příhody. **Beta-talasemie bez závislosti na transfuzích** - nejčastějšími nežádoucími účinky byly bolest kostí, hlavy, kloubů a zad, prehypertenze a hypertenze. Nejčastějšími nežádoucími účinky ≥ 3 . stupně a nejzávažnějšími nežádoucími účinky byla traumatická zlomenina. Pro další informace viz Souhrn údajů o přípravku. **Podmínky uchování:** U chladničky při teplotě 2–8 °C. Chraňte před mrazem a světlem. **Velikost balení:** 1 injekční lahvička. **Držitel rozhodnutí o registraci:** Bristol-Myers Squibb Pharmá EEIG, Dublin, Irsko. **Registrační čísla:** EU/1/20/1452/001-002. **Poslední revize textu:** 03/2024.

Před předepsáním si přečtěte úplný souhrn údajů o přípravku (SPC). Výdej léčivého přípravku je vázán na lékařský předpis. Léčivý přípravek je hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění v indikacích anémie závislé na transfuzích v důsledku MDS nebo související s beta-talasemií. Podrobné informace o tomto léčivém přípravku jsou k dispozici na webových stránkách Evropské agentury pro léčivé přípravky (EMA) <http://ema.europa.eu> nebo jsou dostupné u zástupce držitele rozhodnutí o registraci v ČR: Bristol-Myers Squibb spol. s r.o., Budějovická 778/3, 140 00 Praha 4, www.bms.com/cz.

*Všimněte si prosím změn v Souhrnu údajů o přípravku.

2007-CZ-2400009

 Bristol Myers Squibb®

Bristol-Myers Squibb spol. s r.o.
Budějovická 778/3, 140 00 Praha 4 | telefon: +420 221 016 111 | www.bms.com/cz

Obsah

Předmluva ke třetímu vydání publikace

Základy hematologické diagnostiky XVII

1	Principy vyšetření krevního obrazu (Jarmila Juráňová)	1
1.1	Červené krvinky (erythrocyty)	1
1.2	Bílé krvinky (leukocyty)	3
1.3	Krevní destičky (trombocyty)	3
1.4	Principy počítání krevních částic na hematologických analyzátorech	3
2	Příčiny falešných výsledků krevního obrazu (Jarmila Juráňová)	9
2.1	Normoblasty	9
2.2	Erythrocyty rezistentní na lýzu	10
2.3	Pseudotrombocytopenie	10
2.4	Aglutinace erythrocytů	12
2.5	Aglutinace neutrofilů	13
2.6	Jiné možné příčiny falešných výsledků krevního obrazu	13
3	Jak správně mikroskopovat (Jarmila Juráňová)	15
3.1	Postup při hodnocení manuálního diferenciálního rozpočtu	15
3.2	Hodnocení nátěru periferní krve	16
3.3	Postup při hodnocení myelogramu (aspirátu kostní dřeně)	17
3.4	Hodnocení nátěru aspirátu kostní dřeně	18
4	Barvení mikroskopických preparátů používaná v hematologii (Jarmila Juráňová)	21
4.1	Hodnocení krevních nátěrů obarvených panopticky	21
4.2	Zdroje chyb při obarvení nátěru periferní krve či kostní dřeně	22
4.3	Mikroskopické stanovení retikulocytů	22
4.4	Průkaz železa (Perlsova reakce)	23
4.5	Průkaz myeloperoxidázy (peroxidázová reakce, MPOX, POX)	23
4.6	PAS reakce (Periodic Acid-Schiff, reakce kyseliny jodisté se Schiffovým činidlem) – průkaz glykogenu	24
4.7	Barvení Sudanovou černí B – průkaz lipidů	24
4.8	Průkaz naftol AS-D chloracetát esterázy	24
4.9	Průkaz nespecifických esteráz s blokádou fluoridem sodným (ANAE + NaF, α -naftylacetát esteráza s blokádou fluoridem sodným)	25
4.10	Průkaz alkalické fosfatázy leukocytů	25
4.11	Průkaz kyselé fosfatázy s rezistencí na kyselinu L-vinnou (TRAP – tartrát rezistentní kyselá fosfatáza, kyselá fosfatáza rezistentní k přítomnosti kyseliny vinné)	26

5	Popis jednotlivých druhů normálních buněk v periferní krvi a kostní dřeni (<i>Jarmila Juráňová, Edgar Faber</i>)	27
5.1	Hemopoeza	27
5.2	Pluripotentní kmenové buňky	27
5.3	Progenitorové kmenové buňky	28
5.4	Myelopoeza	30
5.5	Lymfopoeza	36
6	Vyšetřovací metody hemostázy (<i>Jana Zuchnická</i>)	39
6.1	Odběr vzorku	39
6.2	Zpracování vzorku	40
6.3	Skladování vzorků plazmy	40
6.4	Dělení testů hemostázy podle principů stanovení	40
6.5	Přístroje používané pro vyšetření hemostázy	41
6.6	Globální testy	43
6.7	Skupinové testy	44
6.8	Specifické testy	47
6.9	Diagnostika von Willebrandovy choroby	52
6.10	Diagnostika heparinem indukované trombocytopenie (HIT)	52
6.11	POCT (Point-of-care testing)	53
7	Průtoková cytometrie (<i>Martin Novák</i>)	55
7.1	Úvod	55
7.2	Principy průtokové cytometrie	55
7.3	Fluorescence	59
7.4	Interakce záření a analytu	60
7.5	Protilátky	60
7.6	Využití	60
8	Cytogenomické a molekulárněbiologické vyšetřovací metody v nádorové hematologii (<i>Helena Urbánková</i>)	65
8.1	Chromozomové pruhovací techniky	65
8.2	Fluorescenční <i>in situ</i> hybridizace	67
8.3	Array komparativní genomová hybridizace	69
8.4	Materiál pro vyšetření molekulárněbiologickými metodami	71
8.5	Polymerázová řetězová reakce	71
8.6	Sekvenační techniky	72
9	Imunohematologie (<i>Iva Holusková</i>)	75
9.1	Imunohematologické techniky	75
9.2	Imunohematologická vyšetření u pacientů	78
9.3	Imunohematologická diagnostika autoimunitní hemolytické anemie (AIHA)	83
9.4	Imunohematologická diagnostika hemolytického onemocnění plodu a novorozence (HON)	90

10	Diferenciální diagnostika vybraných změn v krevním obraze (<i>Edgar Faber</i>)	95
10.1	Leukocytóza a neutrofilie	95
10.2	Monocytóza	99
10.3	Monocytopenie	99
10.4	Bazofilie	100
10.5	Lymfocytóza	101
10.6	Lymfopenie	101
11	Hematologické projevy při vybraných onemocněních a stavech (<i>Edgar Faber, Martin Čerňan</i>)	105
11.1	Hematologické projevy při endokrinních onemocněních	105
11.2	Hematologické projevy při jaterních onemocněních	105
11.3	Hematologické projevy při malabsorpčním syndromu	110
11.4	Hematologické projevy při revmatologických onemocněních	111
11.5	Hematologické projevy při renálních onemocněních	112
11.6	Hematologické projevy při infekční mononukleóze	113
11.7	Hematologické projevy při infekci virem lidské imunodeficiency (HIV)	115
11.8	Hematologické projevy při covid-19	116
11.9	Hematologické projevy při malárii	117
12	Anemie (<i>Jana Zuchnická</i>)	121
12.1	Obecný úvod	121
12.2	Sideropenická anemie	123
12.3	Anemie chronických onemocnění	127
12.4	Talasemie	130
12.5	Megaloblastové anemie – anemie z poruchy syntézy DNA	132
12.6	Aplastické anemie – anemie ze selhání hemopoetických buněk	137
12.7	Hemolytické anemie	139
12.8	Akutní posthemoragická anemie	150
13	Poruchy hemostázy (<i>Antonín Hluší</i>)	153
13.1	Krvácivé stavy	153
13.2	Trombofilní stavy	173
14	Útlumy krvetvorby (<i>Edgar Faber</i>)	177
14.1	Aplastická anemie	177
14.2	Paroxysmální noční hemoglobinurie (PNH)	181
14.3	Izolovaná aplazie erytropoezy	183
14.4	Neutropenie	185
15	Myelodysplastické syndromy (neoplazie) (<i>Peter Rohoň, Martin Čerňan</i>)	189
15.1	Definice	189
15.2	Výskyt	189
15.3	Subjektivní potíže	189

15.4	Fyzikální nálezy	190
15.5	Laboratorní výsledky	190
15.6	Vývoj MDS klasifikace	192
15.7	Morfologický nálezy	193
15.8	Diferenciální diagnostika	194
16	Akutní leukemie (<i>Martin Čerňan, Tomáš Szotkowski</i>)	197
16.1	Akutní myeloidní leukemie	197
16.2	Akutní promyelocytární leukemie	201
16.3	Akutní lymfoblastické leukemie	204
16.4	Akutní leukemie nejasné linie a akutní leukemie se smíšeným fenotypem	206
17	Chronické myeloproliferativní stavy (<i>Edgar Faber, Peter Rohoň</i>)	209
17.1	Chronická myeloidní leukemie	209
17.2	Polycythaemia vera	215
17.3	Esenciální trombocytémie	219
17.4	Primární myelofibróza	222
17.5	Stavy spojené s nádorovou proliferací eozinofilů	226
17.6	Systémová mastocytóza	230
17.7	Chronická myelomonocytární leukemie	231
17.8	Další typy chronických myeloproliferativních onemocnění	234
18	Vybraná onemocnění monocyto-makrofágového systému (<i>Edgar Faber</i>)	237
18.1	Histiocytóza z Langerhansových buněk	237
18.2	Maligní histiocytóza	238
18.3	Hemofagocytující lymfohistiocytóza	239
18.4	Gaucherova nemoc	240
19	Maligní lymfomy (<i>Aleš Obr, Veronika Hanáčková, Vít Procházka</i>)	243
19.1	Epidemiologie, klasifikace, stážování (<i>Aleš Obr</i>)	243
19.2	Hodgkinova choroba (<i>Veronika Hanáčková</i>)	246
19.3	Difuzní B-velkobuněčný lymfom (<i>Veronika Hanáčková</i>)	250
19.4	Folikulární lymfom (<i>Aleš Obr</i>)	255
19.5	Lymfom z buněk pláště (<i>Aleš Obr</i>)	259
19.6	Lymfom marginální zóny (<i>Aleš Obr</i>)	262
19.7	Lymfoplazmocytární lymfom / Waldenströmova makroglobulinemie (<i>Vít Procházka</i>)	264
19.8	Vysoce agresivní B-lymfomy (<i>Aleš Obr</i>)	268
19.9	Lymfomy ze zralých T- a NK-buněk (<i>Aleš Obr</i>)	270
19.10	Kožní lymfomy (<i>Aleš Obr</i>)	273
20	Chronické proliferativní stavy (<i>Aleš Obr, Zuzana Kubová</i>)	277
20.1	Chronická lymfocytární leukemie (<i>Zuzana Kubová</i>)	277
20.2	Vlasatobuněčná leukemie (<i>Zuzana Kubová</i>)	281
20.3	Splenický B-lymfom marginální zóny (<i>Aleš Obr</i>)	284

20.4	T-prolymfocytární leukemie (<i>Aleš Obr</i>)	286
20.5	Leukemie z velkých granulárních lymfocytů (<i>Zuzana Kubová</i>)	288
21	Monoklonální gamapatie (<i>Jiří Minařík, Tomáš Pika</i>)	291
21.1	Mnohočetný myelom (<i>Jiří Minařík</i>)	291
21.2	Monoklonální gamapatie nejistého významu (<i>Jiří Minařík</i>)	298
21.3	Systémová AL-amyloidóza (<i>Tomáš Pika</i>)	300
22	Potransfuzní reakce (<i>Dana Galuszková, Jiří Masopust, Renata Procházková</i>)	305
22.1	Definice, klasifikace a příznaky potransfuzních reakcí	305
22.2	Infekční komplikace transfuze	306
22.3	Imunitní komplikace transfuze	307
22.4	Kardiovaskulární a metabolické komplikace transfuze	310
	Seznam zkratk	315
	Seznam literatury	325
	Internetové odkazy	326
	Souhrn	327
	Summary	329
	Rejstřík	331

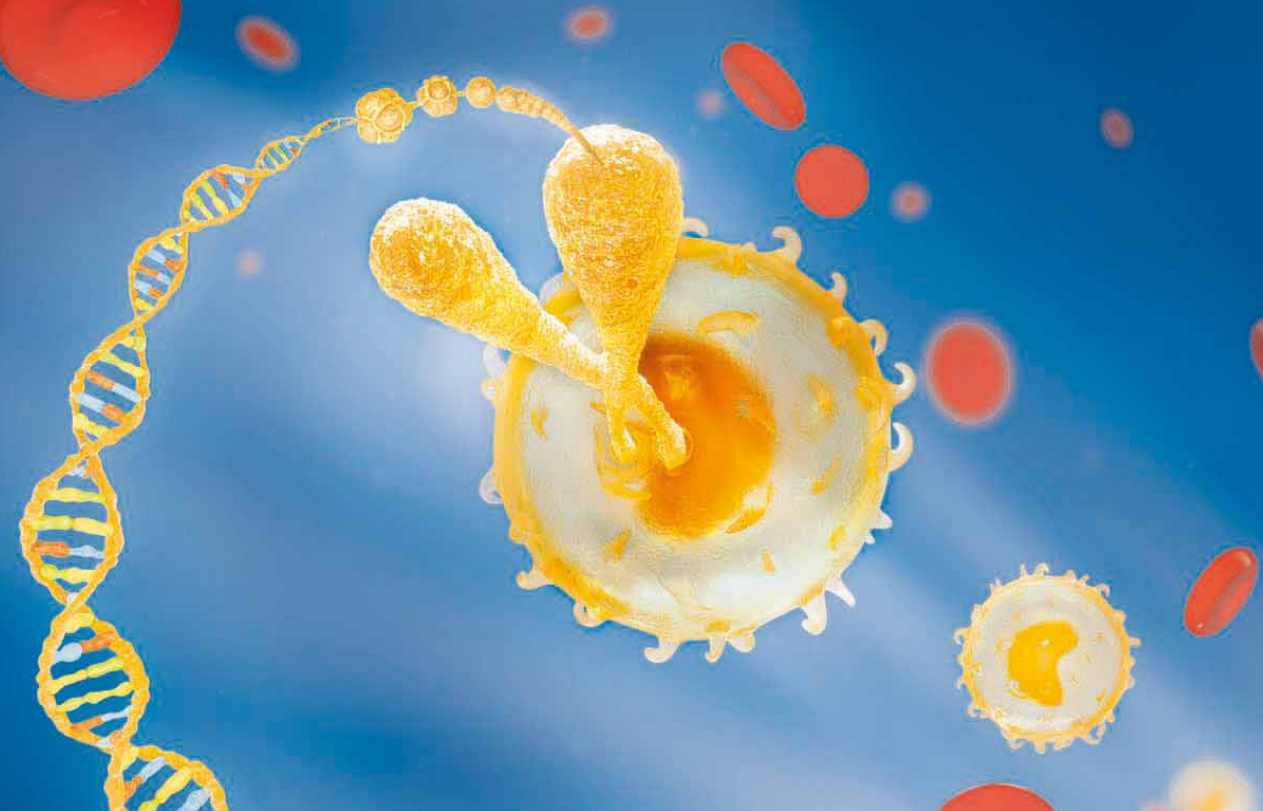
Předmluva ke třetímu vydání publikace

Základy hematologické diagnostiky

Držíte v rukou třetí, upravené a doplněné vydání publikace určené širokému spektru čtenářů – od studentů medicíny a laboratorních asistentů přes zdravotní sestry, praktické lékaře nebo internisty až po hematology. První vydání (vyšlo v roce 2012 ve vydavatelství Univerzity Palackého v rámci projektu OPVK CZ.1.07/2.2.00/07.0294 věnovaného internetové mikroskopické morfologii) se setkalo s příznivou odezvou čtenářů a obdrželo cenu České hematologické společnosti ČLS JEP za nejlepší monografii v roce 2013. Druhé, přepracované vydání vyšlo v roce 2015 ve vydavatelství Mladá fronta. Do současného vydání byly doplněny kapitoly o imunohepatologickém vyšetření, průtokové cytometrii, cytogenetice a molekulární genetice a diagnostice potransfuzních reakcí. Další doplňky se týkají například laboratorních přístrojů užívaných přímo u pacienta (tzv. point-of-care testing), nové WHO klasifikace hematologických malignit nebo hematologických projevů infekce covid-19. Publikace nadále zachovává původní koncepci: poskytnout na co nejmenším prostoru dostatečně přehledné a jasné informace nezbytné ke stanovení diagnózy hematologických onemocnění a stavů. To, čím se naše monografie odlišuje od obdobných publikací, je zařazení typických výsledků krevních obrazů, diferenciálních počtů bílých krvinek, koagulačních a případně biochemických vyšetření, ilustrujících jednotlivé diagnózy. Doufáme, že tím poskytneme čtenáři důležitý článek spojující teorii a praxi. Hematologie je příkladem relativně úzce specializovaného oboru vnitřního lékařství s řadou přesahů do dalších oblastí medicíny, který kontinuálně prodělává markantní rozvoj. Naakumulované poznatky o patogenezi onemocnění krve vyústily v léčebné postupy, které často zásadním způsobem změnilly prognózu nemocných. Doufáme, že naše publikace Vás bude motivovat k dalšímu studiu tohoto nesmírně zajímavého oboru.

V Olomouci, červenec 2024

prof. MUDr. Edgar Faber, CSc.



MACS[®] Cell Separation Technology

Discover what MACS Technology can do for your hematological research

- Enhanced precision for accurate results.
- Versatile to fit various research applications and sample types.
- Simplified processes to save time and resources.
- Cells are unharmed and viable after separation.

► miltenyibiotec.com

For more information please contact:

BIOHEM

produkty pre medicínu

BIOHEM a.s.

Zlatovská 2211 | 911 05 Trenčín | Slovakia

Phone +421 32 650 50 05 | biohem@biohem.sk

Unless otherwise specifically indicated, Miltenyi Biotec products and services are for research use only and not for therapeutic or diagnostic use. MACS and the Miltenyi Biotec logo are registered trademarks or trademarks of Miltenyi Biotec B.V. & Co. KG and/or its affiliates in various countries worldwide. Copyright © 2023 Miltenyi Biotec and/or its affiliates. All rights reserved.



Miltenyi Biotec

1 Principy vyšetření krevního obrazu

Jarmila Juráňová

Vyšetření krevního obrazu (KO) patří mezi základní laboratorní (hematologická) vyšetření. Výsledky KO přináší lékaři jednu z prvních informací o zdravotním stavu pacienta a jsou nezbytné pro stanovení diagnózy a monitorování léčby (ze screenin-gového vyšetření se často stává vyšetření diagnostické).

Vyšetření se provádí z nesrážlivé krve. Periferní krev pacienta se odebere do zkumavky s protisrážlivým činidlem (soli kyseliny etylendiaminotetraoctové K₃EDTA, popř. K₂EDTA).

KO se stanovuje na hematologických analyzátoch krvinek. Některé z parametrů KO se měří na analyzátoch přímo, jiné se zjišťují výpočtem z hodnot měřených parametrů.

Dále jsou uvedeny základní parametry krevního obrazu měřené na hematologic-kém analyzátoru.

1.1 Červené krvinky (erythrocyty)

Přímo měřené parametry:

RBC – počet erythrocytů (red blood cells) v litru krve, je závislý na pohlaví (vyšší hodnoty u mužů než u žen), věku, rase a dalších faktorech (např. způsob výživy, nad-mořská výška). Je udáván v jednotce **10¹²/l**.

HGB – hemoglobin udává množství krevního barviva v krvi, informuje o tíži ane-mie (lehká, středně těžká, těžká). Je stanovován v jednotce **g/l**.

Přímo měřené nebo vypočtené parametry:

HCT – hematokrit je poměr objemu erythrocytů k celkovému objemu krve, in-formuje o hustotě krve/stupni hydratace. Měří se buď přímo (jako integrál impulzů), nebo se vypočte dle vzorce:

$$\text{HCT} = \text{RBC} \cdot \text{MCV} \text{ (ratio)}$$

HCT je udáván jako **bezrozměrné číslo** (poměr, ratio).

MCV – střední objem erythrocytu (mean corpuscular volume) je průměrný objem buňky v hodnocených erythrocytech. Přináší základní informace o druhu / možné pří-čině anemie. Je to parametr důležitý pro diferenciální diagnostiku anemií. Dle MCV se dělí anemie na normocytární, mikrocytární či makrocytární. Je udáván v jednotce femtolitr (**fI**) a měří se buď přímo, nebo se vypočte dle vzorce:

$$\text{MCV} = \frac{\text{HCT}}{\text{RBC}} (\text{fl})$$

Vypočítané parametry:

MCH – střední množství hemoglobinu v erythrocytu (mean corpuscular hemoglobin) je průměrná hmotnost hemoglobinu v jedné červené krvince. Dle MCH se dělí anemie na normochromní, hypochromní a hyperchromní. Jednotkou jsou pikogramy (**pg**), vypočítá se ze vzorce:

$$\text{MCH} = \frac{\text{HGB}}{\text{RBC}} (\text{pg})$$

MCHC – střední koncentrace hemoglobinu v erythrocytu (mean corpuscular hemoglobin concentration) je průměrná koncentrace hemoglobinu v erythrocytu. Slouží ke zhodnocení normochromie, hypochromie a hyperchromie podobně jako MCH. Jednotkou je **g/l** (popř. **g/dl**) a vypočítá se ze vzorce:

$$\text{MCHC} = \frac{\text{HGB}}{\text{HCT}} (\text{g/l})$$

Mezi přímo měřené parametry patří také:

RDW – distribuční šíře erythrocytů (red cell distribution width), popisuje šíři největší populace erythrocytů v KO, stanovuje se jako variační koeficient (**CV**) v procentech (%) a/nebo jako směrodatná odchylka (**SD**) ve femtolitrech (**fl**). Informuje o izocytóze (homogenní populace erythrocytů) nebo anizocytóze (nehomogenní populace erythrocytů) v KO. Zvýšené hodnoty RDW (nad 15,2 %) ukazují na významnou anizocytózu (nehomogenitu objemů měřených erythrocytů).

RET – retikulocyty jsou mladé červené krvinky obsahující zbytky RNA, odráží dynamiku změn v počtu erythrocytů, stanovují se relativně v podílu k celkovému počtu erythrocytů (**podíl jednotky**) a/nebo absolutně (**10⁹/l**). Snížené hodnoty RET ukazují na anemie z nedostatečné produkce erythrocytů, zvýšené hodnoty RET pak na anemie ze zvýšených ztrát erythrocytů. RET lze měřit přímo na analyzátoch (současně s měřením dalších hodnot KO). Při anemiích je vhodné tento výsledek korigovat na hodnotu normálního hematokritu, což poskytuje přesnější informaci o proliferačních možnostech kostní dřeně, jež jsou oslabeny např. při útlumech krvetvorby (viz kapitola 11). Korigovaný počet retikulocytů (**retikulocytární index RI**) se vypočítá vynásobením počtu retikulocytů (RET) poměrem zjištěného a normálního hematokritu (HCT):

$$\text{RI} = \text{RET} (\%) \times \frac{\text{zjištěný HCT}}{\text{normální HCT}}$$

1.2 Bílé krvinky (leukocyty)

Přímo měřené parametry:

WBC – počet leukocytů (white blood cells) v litru krve, je udáván v jednotce $10^9/l$.

DIF – analyzátorový pětipopulační diferenciální počet leukocytů (rozpočet leukocytů, analyzátorový diferenciál), je podle subpopulací leukocytů (neutrofilů, eozinofilů, bazofilů, monocytů, lymfocytů) vydáván **absolutně** v jednotkách $10^9/l$ a **relativně** v procentech (%).

1.3 Krevní destičky (trombocyty)

Přímo měřené parametry:

PLT – počet trombocytů (platelet) v litru krve, je udáván v jednotce $10^9/l$.

MPV – střední objem trombocytů (mean platelet volume), je udáván v jednotce femtolitr (fl).

Vypočítané parametry:

PDW – šíře distribuce trombocytů (platelet distribution width), jednotkou jsou femtolitry (fl) nebo procenta (%).

PCT – destičkový hematokrit (platelet hematocrit), je udáván jako **bezrozměrné** číslo nebo v **ml/l**.

Nová generace hematologických analyzátorů umožňuje stanovovat spolu s dalšími parametry KO i mladé retikulované trombocyty.

IPF – frakce nezralých trombocytů (immature platelet fraction) je vydávána **absolutně** v jednotkách $10^9/l$ a/nebo **relativně** v procentech (%).

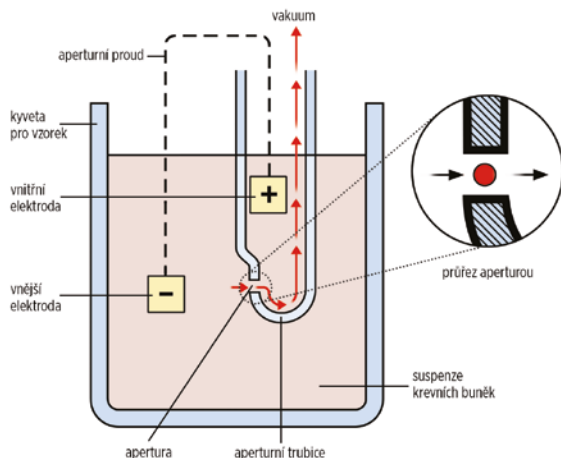
Vyjadřuje počet mladých (1–2 dny starých) trombocytů, které jsou retikulované (mají vyšší obsah RNA). IPF je markerem produkce trombocytů v kostní dřeni, podobně jako je počet retikulocytů (RET) markerem produkce erytrocytů. IPF je využívána v diferenciální diagnostice trombocytopenií. Pomáhá odlišit trombocytopenie způsobené sníženou produkcí trombocytů (nízká nebo normální hodnota IPF) od trombocytopenie způsobené zvýšenou destrukcí či spotřebou trombocytů (vysoká hodnota IPF).

1.4 Principy počítání krevních částic na hematologických analyzátoch

Po nasátí vzorku krve se buňky nejprve seřadí pomocí speciálního systému (**hydrodynamická fokusace**) za sebou do řady, aby byla počítána vždy jen jedna buňka (eliminuje se tak možná interference buněk). Současně dochází k **naředění vzorku krve** speciálním ředícím roztokem. Tato suspenze buněk je pak rozdělena do **dvou detekčních komor**. V jedné komoře se počítají **erytrocyty a trombocyty**, ve druhé pak **leukocyty a jejich diferenciální počet**.

Většina analyzátorů krevních částic (vydávající pětipopulační¹ diferenciální počet leukocytů) pracuje na základě dvou metod:

¹ Starší generace analyzátorů krvinek vydává třípopulační diferenciální počet leukocytů, který je méně přesný a spíše jen orientační.



Obrázek 1.1 Princip impedanční metody

- impedanční metoda (slouží pro počítání erytrocytů a trombocytů),
- optická metoda (slouží pro počítání leukocytů, pětipopulačního diferenciálního počtu leukocytů, normoblastů a retikulocytů. Lze jí také počítat trombocyty, např. u trombocytopenických pacientů).

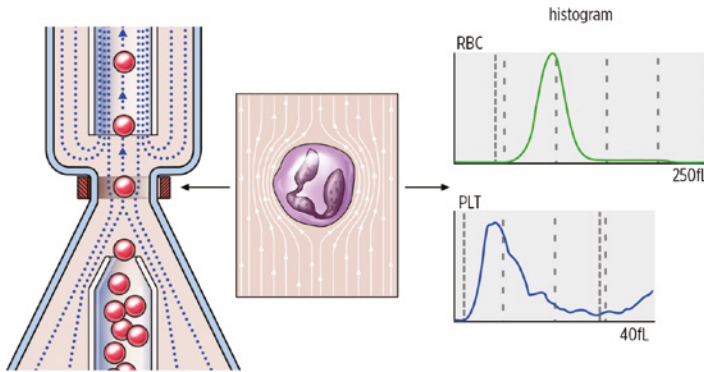
Existují analyzátoři, které používají k stanovení počtu trombocytů tzv. **imunologic-kou metodu** (využívá specifickou protilátku proti povrchovému antigenu CD61).

Velkou výhodou analyzátorů krevních elementů je skutečnost, že všechny informace získáme z jednoho odběru na vyšetření KO, případně z jednoho náběru analyzátořem.

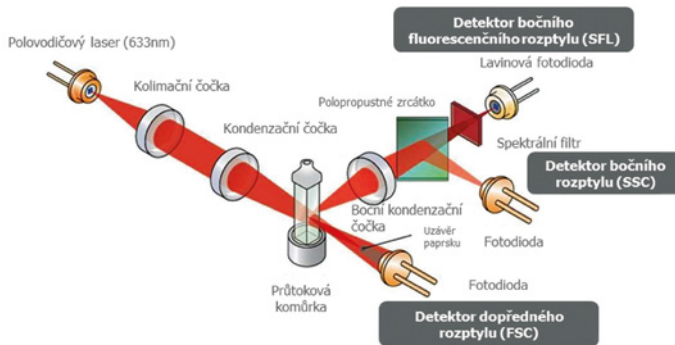
1.4.1 Impedanční princip

Jde o měření odporu (napětí mezi elektrodami) při průchodu elektrického proudu (obr. 1.1).

Po nasátí vzorku krve a jeho naředění ředicím roztokem (v příslušném poměru) je suspenze buněk vstříkována do detekční komůrky. Uvnitř detekční komůrky je malý otvor (**apertura**), po obou stranách apertury jsou dvě elektrody, na ně je přiváděn elektrický stejnosměrný proud. Buňky procházejí vodivým prostředím za využití **hydrodynamické fokusace** (která seřadí buňky za sebou) skrze aperturu (obr. 1.2). V okamžiku, kdy buňka prochází aperturou, dojde k přerušení proudu mezi elektrodami (zvýší se elektrická impedance) a vznikne **impedanční** (napěťový) **impulz** (1 impulz = 1 buňka). Četnost impulzů udává počet buněk, velikost impulzů udává objem buněk. Tyto impulzy jsou dále zpracovávány a vyhodnoceny počítačem. Výsledkem jsou tzv. **histogramy** (dvojměrná distribuce počtu buněk v závislosti na jejich velikosti). Impedanční metodou jsou nejčastěji detekovány RBC a PLT, u problematických vzorků krve lze tyto parametry detekovat optickou metodou.



Obrázek 1.2 Hydrodynamická fokusace, impedanční metoda
PLT – trombocyty, RBC – erytrocyty



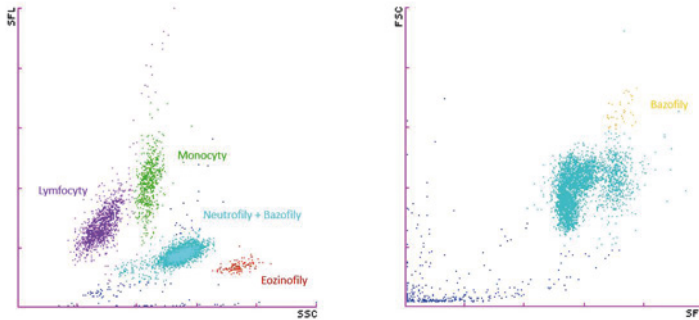
Obrázek 1.3 Princip optické metody²
FSC – detektor dopředného rozptylu, SFL – detektor bočního fluorescenčního rozptylu, SSC – detektor bočního rozptylu

1.4.2 Optický princip

Je založen na průchodu laserového paprsku skrze buňku (obr. 1.3). Laserový paprsek dopadá na průtokovou kyvetu, kterou procházejí buňky (za využití **hydrodynamické fokusace**). Průchozí element je ozářen a rozptyl odraženého paprsku je měřen pod třemi úhly.

Uvnitř analyzátorů se nacházejí detektory, které snímají a analyzují rozptýlené světlo. Tyto světelné signály nesou informace o charakteru buňky, jako jsou její **velikost**, složení (**komplexita**), **granularita** cytoplazmy a členitost (**lobularita**) jádra, jež se využívají k určení typu buňky. Pokud jsou přítomny atypické elementy, které analyzátor není schopen zařadit, oznámí to pomocí různých hlášení. Takto analyzátor upozorňuje na přítomnost nezařaditelných elementů (na mladší a reaktivní formy buněk, na atypické/patologické buňky nebo pouze na přítomnost holých jader). Analyzátor svá data statisticky zpracovává a pomocí použitých algoritmů pro jednotlivé

² Princip optické metody u analyzátorů Sysmex řady XN, které využívají technologii fluorescenční průtokové cytometrie.



Obrázek 1.4 Scattergramy (bodové grafy) ukazující normální distribuci leukocytů³
 FSC – detektor dopředného rozptylu, SFL – detektor bočního fluorescenčního rozptylu, SSC – detektor bočního rozptylu

parametry je i graficky znázorňuje do tzv. **scattergramů** (grafů, kde jsou hodnoty prezentovány jako jednotlivé barevné body; obr. 1.4).

Optickou metodou jsou detekovány WBC, pětipopulační diferenciální počet leukocytů, normoblasty, retikulocyty, nezralé granulocyty; je možné detekovat i RBC a PLT.

Nové moderní hematologické analyzátoři jsou dodávány jako celé linky, jejichž součástí je **nátěrový a barvicí automat**, který dokáže z vybraných vzorků krve připravit obarvené krevní nátěry. Ty lze dále digitálně zpracovávat a hodnotit v zařízení pro digitální zpracování obrazu pod dohledem laboratorního pracovníka (tzv. **digitální morfologie**). Automatický analyzátoři pro digitální morfologii může být rovněž zapojen do hematologické linky.

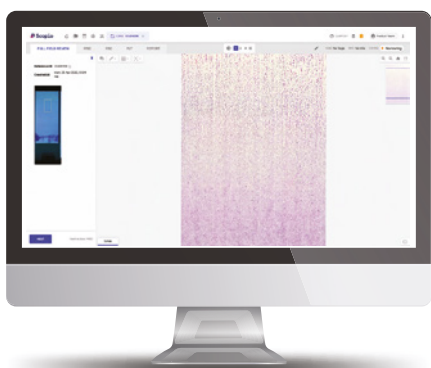
Referenční meze krevního obrazu pro dospělé jsou dostupné v aktuální verzi na: <https://labsekce.hematology.cz/referencnimeze/>.

³ Scattergramy zobrazené analyzátoři Sysmex řady XN.

Tabulka 1.1 Fyziologické hodnoty krevního obrazu; referenční meze pro dospělé nad 15 let

Základní hodnoty krevního obrazu				
Název	Zkratka	Muži	Ženy	Jednotky
Leukocyty	WBC	4–10	4–10	10 ⁹ /l
Erytrocyty	RBC	4,00–5,80	3,80–5,20	10 ¹² /l
Hemoglobin	HGB	135–175	120–160	g/l
Hematokrit	HCT	0,40–0,50	0,35–0,47	ratio (l/l)
Střední objem erytrocytů	MCV	82–98	82–98	fl
Hemoglobin erytrocytů	MCH	28–34	28–34	pg
Střední barevná koncentrace erytrocytů	MCHC	320–360	320–360	g/l
Šíře distribuce erytrocytů	RDW	10,0–15,2	10,0–15,2	%
Trombocyty	PLT	150–400	150–400	10 ⁹ /l
Střední objem trombocytů	MPV	7,8–12,8	7,8–12,8	fl
Retikulocyty	RET	0,005–0,025	0,005–0,025	podíl jednotky
Diferenciální počet leukocytů (analýzatorový)				
Lymfocyty (relativně)	Ly %	20–45	20–45	%
Lymfocyty (absolutně)	Ly #	0,80–4,00	0,80–4,00	10 ⁹ /l
Monocyty (relativně)	Mo %	2–12	2–12	%
Monocyty (absolutně)	Mo #	0,08–1,20	0,08–1,20	10 ⁹ /l
Neutrofilly (relativně)	Ne %	45–70	45–70	%
Neutrofilly (absolutně)	Ne #	2,00–7,00	2,00–7,00	10 ⁹ /l
Eozinofily (relativně)	Eo %	0–5	0–5	%
Eozinofily (absolutně)	Eo #	0,00–0,50	0,00–0,50	10 ⁹ /l
Bazofily (relativně)	Ba %	0–2	0–2	%
Bazofily (absolutně)	Ba #	0,00–0,20	0,00–0,20	10 ⁹ /l

DIGITÁLNA MORFOLÓGIA SCOPIO



ODOMKNITE POTENCIÁL ZOBRAZENIA BUNIEK
V PLNOM KONTEXTE



CELOPLOŠNÝ OBRAZ

TELEHEMATOLÓGIA

EFEKTIVITA

ŠTANDARDIZÁCIA



VZDIALENÝ PRÍSTUP V REÁLNO
ČASE. ODKIAĽKOL'VEK.



2 Příčiny falešných výsledků krevního obrazu

Jarmila Juráňová

Vyšetření krevního obrazu (KO) prováděné na analyzátoch krvinek má svá úskalí a určitá omezení, na která se musí během analýzy krevního vzorku pamatovat. Vzorky mohou obsahovat složky nebo látky bránící přesnému stanovení parametrů KO. Hovoříme o **interferenci** v KO. Některé interference přímo závisí na vyšetřovací metodě daného analyzátoru (impedanční, optická, imunologická), jiné jsou na způsobu stanovení nezávislé. Poznat tyto rušivé jevy (interferenci) znamená vydávat validní výsledky, naopak nepoznané interference mohou mít negativní důsledky v klinické praxi.

Interference (ovlivňující absolutní počty krevních buněk i diferenciální počet leukocytů) mohou být původu:

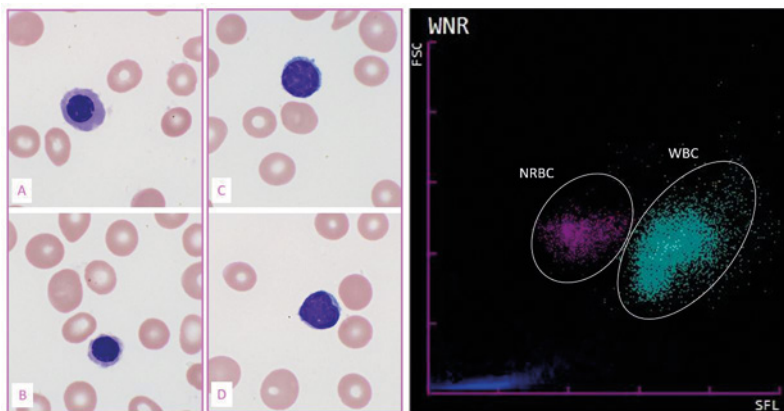
- **plazmatického** (např. kryoproteiny, paraproteiny, lipidy),
- **buněčného** (např. normoblasty, erytrocyty rezistentní na lýzu, velké trombocyty).
Dále se mohou vyskytnout jevy, které se projeví v přítomnosti některých složek:
- pseudotrombocytopenie,
- aglutinace erytrocytů,
- aglutinace neutrofilů,
- zvýšené hodnoty hemoglobinu při hyperlipemii a hyperbilirubinemii.

2.1 Normoblasty

U některých pacientů (např. předčasně narození novorozenci, pacienti s dg. talasemie, osteomyelofibrózy, myelodysplastického syndromu aj.) jsou do periferní krve vyplavovány nezralé jaderné buňky červené řady – **normoblasty (erytroblasty, NRBC)**. Tyto jaderné buňky (jmenovitě polychromní a ortochromní normoblasty) mají stejnou velikost jako lymfocyty.

Při měření leukocytů na analyzátoch krvinek impedanční metodou se do jejich počtu zahrnují všechny jaderné elementy, tedy i normoblasty.

Analyzátor tak chybně považuje normoblasty za lymfocyty a výsledný počet leukocytů je falešně vyšší. Optická metoda normoblasty separuje (od leukocytů) a je schopná vydat jejich absolutní i relativní počet (obr. 2.1).



Obrázek 2.1 Normoblasty

Na obrázcích A a B jsou dva normoblasty, pro srovnání jsou na obrázcích C a D dva lymfocyty. Na obrázku vpravo je scattergram měření normoblastů optickou metodou – oddělení populace NRBC od populace WBC (měřeno na analyzátoru Sysmex řady XN). FSC – detektor dopředného rozptylu, SFL – detektor bočního fluorescenčního rozptylu, NRBC – jaderné erytrocyty, WBC – leukocyty

2.2 Erytrocyty rezistentní na lýzu

Za některých, většinou patologických stavů (dědičné i získané abnormality) mohou být v krvi přítomny **RRBC**, tzn. na **lýzu rezistentní erytrocyty** (např. terčovitě erytrocyty). Vyskytují se např. u talasemie, hemoglobinopatie, onemocnění jater, u novorozenců (kvůli vysokému fetálnímu hemoglobinu).

Tento fenomén se výrazněji projevuje u analyzátorů krvinek s kratším časem lýzy. RRBC pak mohou ovlivňovat počty krvinek (sníží počet erytrocytů, zvýší počet leukocytů).

2.3 Pseudotrombocytopenie

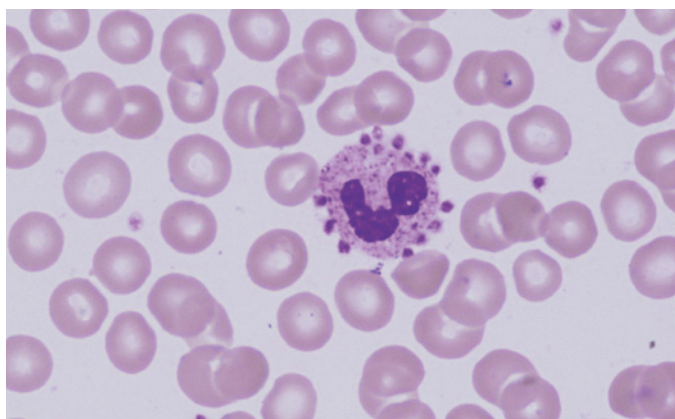
Při stanovení počtu trombocytů na analyzátoch krvinek přítomnost **agregátů (shluků) trombocytů** falešně snižuje počet trombocytů. V některých případech mohou agregáty trombocytů ovlivnit i počty leukocytů a erytrocytů.

Hovoříme o **pseudotrombocytopenii** (falešné trombocytopenii) v KO. Ve skutečnosti je v krevním vzorku trombocytů dostatek, jsou však „poshlukované“ a analyzátor není schopen je správně spočítat.

Shlukování může být způsobeno např.:

- nedostatečně promíchaným vzorkem krve s protisrážlivým činidlem (krev je sražená),
- přítomností protilátek proti trombocytům,
- fenoménem EDTA (změny na membráně trombocytů vyvolané přítomností soli EDTA).

Agregáty trombocytů mohou být v nátěru periferní krve přítomny i v rámci autoimunitních onemocnění nebo po některých infekcích.

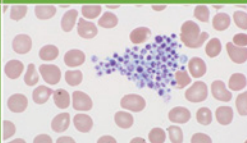
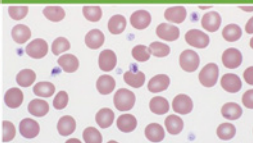


Obrázek 2.2 Destičkový satelitismus

Snížení počtu trombocytů může způsobit i jev zvaný **destičkový satelitismus** (soli EDTA ovlivní membránu neutrofilů, která pak může vázat trombocyty na svém povrchu po celém obvodu, a to do tvaru růžice) (obr. 2.2).

U analyzátorů krvinek s impedanční metodou počítání trombocytů mohou počet trombocytů ovlivnit např. makrotrombocyty či fragmenty cytoplazmy leukocytů. Vždy je pak nutná mikroskopická kontrola. Analyzátoři krvinek s optickou metodou počítání trombocytů dokáží většinu těchto problémů ošetřit.

Alternativně se dnes k odběru s výhodou využívá zkumavky s ionty magnesia (ThromboExact). Toto médium by mělo pseudotrombocytopenii eliminovat (zaručit, že se trombocyty „nepohlukují“), zároveň zde nedochází k ovlivnění hodnot ostatních parametrů KO. V některých případech však nelze ani při odběru do média

Krevní obraz	EDTA	ThromboExact
WBC ($\cdot 10^9/l$)	7,90	8,06
RBC ($\cdot 10^{12}/l$)	4,45	4,45
HGB (g/l)	140	141
HCT (ratio)	0,400	0,390
MCV (fl)	89,4	88,5
MCH (pg)	31,5	31,7
MCHC (g/l)	352	358
PLT ($\cdot 10^9/l$)	22	240
Mikroskopická kontrola trombocytů v nátěru	shluky trombocytů nalezeny	shluky trombocytů nenalezeny
Nátěr periferní krve		

Obrázek 2.3 Výsledky měření krevního obrazu z odběru do zkumavky EDTA a z odběru do zkumavky ThromboExact včetně mikroskopického hodnocení nátěru periferní krve (přítomnost a nepřítomnost shluků trombocytů). Dva zároveň odebrané vzorky jednoho pacienta.

ThromboExact tento jev zcela eliminovat, proto je u prvozáhytu vzorků s trombocytopenií nutná mikroskopická kontrola (obr. 2.3).

Poznámka:

Literatura popisuje také jev zvaný **pseudotrombocytóza**. Na rozdíl od pseudotrombocytopenie se tento jev vyskytuje vzácně např. u pacientů s těžkými popáleninami. Vlivem tepla dochází k narušení membrán erytrocytů a vznikají malé erytrocyty (mikrocyty), mikrosférocyty, fragmenty erytrocytů podobné schistocytům (mající velmi různorodé tvary). Zároveň je v krevním nátěru patrná výrazná anizopoikilocytóza erytrocytů. Všechny tyto buňky mohou být analyzátoři krvinek nesprávně počítány jako trombocyty. Dochází tak k falešně zvýšenému počtu trombocytů. Pseudotrombocytóza odezní po odstranění abnormálních erytrocytů z oběhu.

2.4 Aglutinace erytrocytů

Aglutinací erytrocytů rozumíme jejich shlukování, které může být zapříčiněno přítomností protilátek. Zralé erytrocyty aglutinují, pokud jsou potaženy protilátkami.

Může se jednat o protilátky:

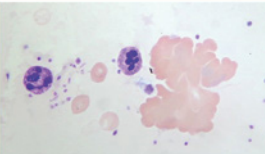
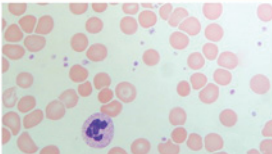
- chladové (nejčastěji),
- tepelné.

Při analýze takového vzorku krve na analyzátoři krvinek dochází k snížení počtu erytrocytů, a naopak k zvýšení parametru MCHC a MCH, hodnota hematokritu je nižší a neodpovídá hodnotě hemoglobinu.

Tento jev je možné eliminovat zahřátím vzorku na teplotu 37 °C (obr. 2.4). Současné moderní analyzátoři krvinek k tomu využívají speciální softwarovou aplikaci. Krevní nátěr pro mikroskopické hodnocení se provádí na nahřátém podložním skle.

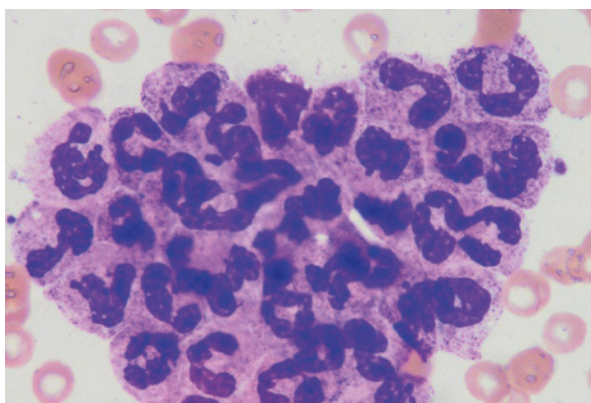
Musíme od sebe odlišit dva jevy:

Krevní obraz	Laboratorní teplota	Zahřátí vzorku na teplotu 37 °C
WBC (.10 ⁹ /l)	15,80	16,39
RBC (.10 ¹² /l)	0,39	3,21
HGB (g/l)	117	117
HCT (ratio)	0,040	0,328
MCV (fl)	102,6	102,2
MCH (pg)	300,0	36,4
MCHC (g/l)	2925	357
PLT (.10 ⁹ /l)	872	772

Nátěr periferní krve		
----------------------	---	---

Obrázek 2.4 Aglutinace erytrocytů

Hodnoty krevního obrazu u pacienta s aglutinací erytrocytů, kdy vzorek jeho krve byl nejprve měřen při laboratorní teplotě, a poté po zahřátí na teplotu 37 °C, včetně mikroskopického hodnocení nátěru (přítomnost a nepřítomnost aglutinace erytrocytů).



Obrázek 2.5 Aglutinace neutrofilů

- **aglutinaci erytrocytů** (způsobenou přítomností protilátek), přítomnou např. u dg. autoimunitní hemolytické anemie (AIHA), paroxysmální chladové hemoglobinurie, potransfuzní inkompatibility,
- **penízkovatění erytrocytů – rouleaux** (způsobené přítomností monoklonálního imunoglobulinu – paraproteinu). Jde o slepování erytrocytů s tvorbou řetízků.

Rouleaux se vyskytuje v krevním nátěru např. u pacientů s rozvinutou formou mnohočetného myelomu a Waldenströmovy makroglobulinemie.

2.5 Aglutinace neutrofilů

Velmi vzácně se může objevit i aglutinace (shlukování) neutrofilů (obr. 2.5). Je možné ji eliminovat zahřátím vzorku na 37 °C.

2.6 Jiné možné příčiny falešných výsledků krevního obrazu

Příčinou falešných výsledků KO mohou být i problémy spojené s exspirovanými zkumavkami, problémy související s technicky nesprávně provedeným odběrem (např. nesprávně odebrané množství krve, sražená krev, krev naředěná infuzí nebo ovlivněná transfuzními přípravky) či překročení doby stability vzorku krve. Jde o chyby v tzv. preanalytické fázi analytického procesu, které představují až 70 % všech laboratorních chyb.

2.6.1 Exspirované zkumavky

Vyšetření KO se provádí z nesrážlivé krve. Periferní krev pacienta se odebere do zkumavky s protisrážlivým činidlem, kterým jsou soli kyseliny etylendiaminotetraoctové (K_3EDTA , popř. K_2EDTA). EDTA vyvazuje vápník, tím se krev stává nesrážlivou. Soli EDTA jsou rozmístěny po stěnách zkumavky v lyofilizované podobě.

Poměr EDTA/krev se udává jako:

$$1,5 \pm 0,3 \text{ mg EDTA} / 1 \text{ ml krve}$$

Je-li zkumavka exspirovaná, dochází ke změně poměru EDTA/krev a v krvi pacienta se mohou vyskytnout **sraženiny**. Ve výsledku KO dochází k poklesu hodnot (nejčastěji hemoglobinu a počtu trombocytů).

2.6.2 Nesprávně odebrané množství krve pacienta

Správně odebrané množství krve je po rysku vyznačenou na zkumavce (standardně jsou to 2–3 ml, toleruje se odchylka $\pm 10\%$).

Při odebraném množství krve **pod rysku** dochází ke změně poměru EDTA/krev ve zkumavce. Je zde **více** protisrážlivého činidla, což ovlivní výsledek KO (snížení hematokritu, zvýšení střední koncentrace hemoglobinu, fragmentace trombocytů, artefakty morfologie buněk).

Při odebraném množství krve **nad rysku** také dochází ke změně poměru EDTA/krev ve zkumavce. Je zde **méně** protisrážlivého činidla v krvi pacienta se mohou vyskytnout **sraženiny**, které ovlivní výsledek KO (nejčastěji snížení hodnot hemoglobinu a počtu trombocytů).

2.6.3 Sražená krev

Ke vzniku sraženiny může dojít:

- již při odběru krve pacienta (nesprávná technika odběru – traumatický odběr), přičemž je aktivována koagulační kaskáda,
- při odebraném množství krve nad rysku vyznačenou na zkumavce,
- kvůli zkumavce s prošlou exspirační lhůtou.

Sražená krev vždy ovlivní výsledek KO (nejčastěji snížení hodnot hemoglobinu a počtu trombocytů). Takový výsledek není validní a vždy je nutné provést nový odběr krve pacienta.

2.6.4 Krev naředěná infuzí (nebo ovlivněná transfuzí)

Krev je odebrána z místa, do kterého je zavedena infuze (často jde o centrální žilní kanylu, port s připojenou prodlužovací hadičkou). Dochází k naředění vzorku krve, což ovlivní výsledek KO (snížení hodnot). Takový výsledek není validní a vždy je nutné provést nový odběr krve.

Hodnoty KO mohou obdobným způsobem ovlivnit aplikované transfuzní přípravky.

2.6.5 Stabilita vzorku krve

Podstatnou roli hraje i čas, který uplyne od odběru vzorku do jeho zpracování. Stabilita vzorku krve pro vyšetření KO je 5 hodin od odběru. Po překročení doby stability dochází ke změnám metabolismu krevních buněk, které se začnou rozpadat. Tyto změny se pak mohou negativně promítnout do výsledku vyšetření.

Vzorky, které jsou obtížněji hodnotitelné, vyžadují od pracovníků laboratoře dobrou znalost práce s analyzátory krvinek. Správné vyhodnocení informací, které analyzátory poskytují, vede k vydání validních výsledků.

3 Jak správně mikroskopovat

Jarmila Juráňová

V hematologické diagnostice používáme k rutinnímu hodnocení mikroskopických preparátů světelný mikroskop se suchým objektivem (10násobné až 100násobné zvětšení) a většinou také s imerzním objektivem (50násobné až 100násobné zvětšení s použitím imerzního oleje). Mikroskopickým preparátem je správně připravený a speciálně (panopticky) obarvený nátěr. Jedná se buď o nátěr periferní krve, nebo o nátěr aspirátu kostní dřeně, příp. otisk uzliny.

Nátěr periferní krve provádí zdravotní laborant z kapky nesrážlivé krve (periferní krev je odebraná do protisrážlivého činidla K_3EDTA), případně ze srážlivé (kapilární) krve, pomocí roztíracího sklíčka na podložním skle. Nátěr by neměl být příliš silný, ale rovnoměrně rozetřený, na jeho konci „doztracena“, nesmí sahat až k okrajům podložního sklíčka, ani k jeho koncům.

Nátěr aspirátu kostní dřeně provádí lékař ihned po aspiraci kostní dřeně pacienta (speciální punkční či bioptickou jehlou). Biologický materiál (nejlépe z první porce aspirátu) je aplikován na podložní sklíčko a rozetřen pomocí roztíracího sklíčka stejným způsobem jako v případě zhotovení nátěru periferní krve.

Nátěr se vždy nechá řádně zaschnout. Podrobnější hodnocení je možné až po speciálním (panoptickém) obarvení krevního nátěru (viz kapitola 4).

3.1 Postup při hodnocení manuálního diferenciálního rozpočtu

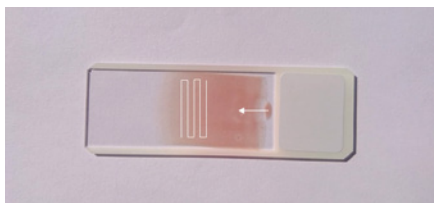
Hodnocení začíná **přehledným zhodnocením** nátěru periferní krve **suchým objektivem** při **malém zvětšení** (ideálně 200×, nejvýše do 400×*), kdy hodnotíme:

- buněčnost, kvalitu a obarvení nátěru,
- rozložení buněk – tzn. jak přítomnost buněk v koncích a okrajích nátěru (zde mohou být vytlačeny velké a patologické buňky), tak v hustých místech (zde se mohou nacházet mikrosraženiny trombocytů, které v místě s nízkou buněčností nemusíme najít).

Toto malé zvětšení nám pomůže vytipovat **optimální místo** k provedení rozpočtu leukocytů i hodnocení morfologie všech buněčných elementů.

Poté následuje hodnocení buněčných krevních elementů včetně stanovení jejich početního zastoupení. To lze provést při větším zvětšení 500–1 000×*. Pro zhotovení diferenciálního počtu leukocytů a pro **detailní hodnocení morfologie** jednotlivých buněk je obvykle doporučováno **velké zvětšení 1 000×*** (suchým nebo imerzním

* Příslušná zvětšení vznikla vynásobením zvětšení objektivu zvětšením okuláru (tj. 10×).



Obrázek 3.1 Hodnocení nátěru periferní krve (šipka ukazuje směr rozetření, dále je naznačen meandrovitý pohyb objektivu po podložním skle)

objektivem). K hodnocení si vybíráme „optimální místo“, kde jsou buňky rovnoměrně rozprostřeny (erytrocyty se nepřekrývají). Nejčastěji se jedná o místo asi 1 cm od konce nátěru (obr. 3.1). Nátěr v mikroskopu hodnotíme **meandrovitým rovnoměrným pohybem** objektivu po podložním skle – nejlépe na šířku skla od jednoho okraje k druhému (obr. 3.1).

Rozpočet leukocytů se provádí s pomocí hematologického sumátoru obvykle na 100 nalezených buněk.

Hodnocení obarvených nátěrů periferní krve (tzn. provedení diferenciálního počtu leukocytů) lze také stanovit automaticky (jak už bylo zmíněno v kapitole 1.4.) pomocí analyzátoru pro digitální morfologii buněk. Přístroj provede diferenciální počet leukocytů a morfologické hodnocení změn leukocytů, erytrocytů a trombocytů včetně jejich patologií. Kontrola a potvrzení výsledku však nadále zůstává na laboratorním pracovníkovi. Využití digitální morfologie v hematologické laboratoři se stává rutinní metodou zhodnocení nátěru periferní krve.

3.2 Hodnocení nátěru periferní krve

3.2.1 Hodnocení kvantitativní – na 100 leukocytů

- a) diferenciální počet leukocytů,
- b) počet erytroblastů (normoblastů).

3.2.2 Hodnocení relativního počtu – na 1 000 erytrocytů

- a) počet schistocytů,
- b) počet trombocytů,
- c) počet akantocytů.

3.2.3 Hodnocení morfologických změn (včetně jejich semikvantitativního, případně i kvantitativního hodnocení)

- a) erytrocytů,
- b) leukocytů,
- c) trombocytů.

Při morfologickém hodnocení leukocytů, erytrocytů a trombocytů hodnotíme nález slovně, sílu positivity hodnotíme na **1–3 křížky**.

Fyziologické hodnoty (relativní počet) pro **manuální diferenciální počet leukocytů** u dospělých jsou uvedeny v tabulce 3.1.

Tabulka 3.1 Fyziologické hodnoty manuálního diferenciálního počtu leukocytů v periferní krvi dospělých (pro muže a ženy nad 15 let)

Název	Referenční meze	Jednotka
Neutrofilní segmenty	47–70	%
Neutrofilní tyče	0–4	%
Neutrofilní metamyelocyty	0–0	%
Neutrofilní myelocyty	0–0	%
Promyelocyty	0–0	%
Myeloblasty	0–0	%
Lymfocyty	20–45	%
Monocyty	2–10	%
Eozinofily	0–5	%
Bazofily	0–1	%
Erytroblasty	0–0	%

3.2.4 Patologické hodnoty

Kvantitativní – snížené nebo zvýšené počty (absolutní nebo relativní) jednotlivých populací leukocytů, **posun doleva**, přítomnost metamyelocytů, myelocytů a promyelocytů (leukemoidní reakce, myeloproliferativní onemocnění...), přítomnost blastů (akutní leukemie, myelodysplastický syndrom, myeloproliferativní onemocnění...), přítomnost erytroblastů (hemolytické anemie, myelofibróza, infiltrativní proces v kostní dřeni, např. nádorové metastázy...), tzv. leukoerytroblastický obraz (myelofibróza, infiltrativní proces v kostní dřeni, např. nádorové metastázy...).

Kvalitativní – např. toxická granulace, nebo naopak hypogranularita, zvýšená či snížená segmentace jader neutrofilů, výrazné morfologické změny erytrocytů (anemie...), nález parazitů (např. u malárie a leishmaniózy), změny morfologie monocytů a lymfocytů, nález atypických lymfoidních elementů (reaktivní změny např. při virových infekcích, lymfoproliferativní choroby...) atd.

3.3 Postup při hodnocení myelogramu (aspirátu kostní dřene)

Vlastní hodnocení začíná **přehledným zhodnocením** nátěru kostní dřene **suchým objektivem** při **malém zvětšení** (ideálně 200×*), kdy hodnotíme:

- buněčnost (celularitu), kvalitu a obarvení nátěru,
- rozložení buněk (tzn. přítomnost buněk v koncích a okrajích nátěru, ale i v hustých oblastech nátěru, zejména u ložiskových procesů),
- zastoupení megakaryocytů,
- přítomnost a buněčnost stromatu.

Toto malé zvětšení nám pomůže najít **optimální místo** k diferencování i hodnocení morfologie všech buněčných elementů.

Poté následuje hodnocení jaderných buněk včetně stanovení jejich početního zastoupení. To lze provést při větším zvětšení 600–1 000×*. **Detailní hodnocení** morfologie jednotlivých buněk a diferenciální počet elementů kostní dřeně se obvykle doporučuje provést při velkém **zvětšení 1 000×*** (**suchým nebo imerzním objektivem**). K hodnocení si vybíráme „optimální místo“, kde jsou buňky rovnoměrně rozprostřeny, pokud možno ne až v koncové části nátěru, kde jsou buňky arteficiálně zvětšeny. Volba vhodné části nátěru souvisí s buněčností aspirátu kostní dřeně. Nalezené jaderné buňky se počítají pomocí hematologického sumátoru obvykle na 500 buněk.

V poslední době je evidentní snaha využít při hodnocení aspirátu kostní dřeně umělou inteligenci. První systémy, které jsou již komerčně dostupné, dokáží velmi rychle naskenovat nátěry a určit některé typy buněk. Problémem stále zůstává hodnocení atypických a patologických buněk. Laborant a posléze lékař musí v druhé fázi hodnocení tento nález verifikovat, opravit. Lze předpokládat, že tyto přístroje se v blízké budoucnosti rozšíří do rutinní praxe.

3.4 Hodnocení nátěru aspirátu kostní dřeně

3.4.1 Hodnocení kvalitativní

- orientační hodnocení buněčnosti nátěru, kvality nátěru a barvení,
- orientační hodnocení zastoupení megakaryocytů,
- prohlédnutí okrajových částí nátěru,
- vyhledání makroskopicky viditelných fragmentů kostní dřeně a posouzení jejich buněčného složení.

3.4.2 Hodnocení kvantitativní

- diferenciální počet jaderných buněk.

3.4.3 Hodnocení a popis morfologických změn

- erytropoezy,
- granulopoezy a lymfopoezy,
- trombocytopenie,
- hodnocení dalších nalezených elementů.

3.4.4 Patologické hodnoty

Kvantitativní nebo kvalitativní změny v kostní dřeni mohou být typické pro určité hematologické onemocnění či pro celou skupinu onemocnění.

* Příslušná zvětšení vznikla vynásobením zvětšení objektivu zvětšením okuláru (tj. 10×).

3.4.5 Základní charakteristiky nálezů u vybraných onemocnění

Dřeňové útlumy: snížená buněčnost, relativní lymfocytóza, relativně zvýšené zastoupení buněk stromatu (makrofágy, retikulární buňky)...

Akutní leukemie: populace blastických elementů nad 20 % (dle WHO).

Tabulka 3.2 Fyziologické hodnoty (relativní počet) pro myelogram (aspirát kostní dřeně) u dospělých (pro muže a ženy nad 15 let)

Název	Referenční meze	Jednotka
Granulocytární řada		
granulocytární řada (součet)	52–70	%
neutrofilní řada (součet)	50–70	%
myeloblasty	0–3	%
promyelocyty	1–5	%
neutrofilní myelocyty	5–25	%
neutrofilní metamyelocyty	5–25	%
neutrofilní tyče	10–30	%
neutrofilní segmenty	7–25	%
eozinofilní řada (součet)	0–6	%
eozinofilní myelocyty	0–2	%
eozinofilní metamyelocyty	0–2	%
eozinofilní tyče	0–2,4	%
eozinofilní segmenty	0,2–3	%
bazofilní řada (součet)	0–2	%
bazofilní myelocyty	0–0,5	%
bazofilní segmenty	0–1	%
Červená řada		
červená řada (součet)	15–27	%
proerythroblasty	0–2	%
erythroblasty bazofilní	1–3	%
erythroblasty polychromní	2–20	%
erythroblasty ortochromní	2–15	%
Poměr granulocytární a červené řady		
G/E poměr	2–4/1	ratio
Megakaryocytární řada		
megakaryocyty	0–1	%
Mononukleáry		
lymfocyty	4–20	%
monocyty	0–2	%
plazmocyty	0–4	%
retikulární buňky	0–2	%

Myelodysplastický syndrom (MDS): může být zvýšené zastoupení blastů až do 20 %, většinou zvýšená buněčnost, morfologické změny v krevních řadách (dysplazie)...

Mnohočetný myelom: většinou zvýšené zastoupení plazmatických buněk, abnormální plazmatické buňky, rouleaux erytrocytů v nátěru periferní krve...

Megaloblastové anemie: megaloblastická přestavba erythropoezy, další změny ve všech krevních řadách, nález obřích tyčí a metamyelocytů, hypersegmentace neutrofilů, popř. abnormality megakaryocytů.

Hemolytické anemie: kompenzační hyperplazie erythropoezy (zvýšeně zastoupená, se zvýšenou mitotickou aktivitou), mohou být přítomny i určité známky dyserythropoezy, nález velkých „hnízd“ erytroblastů...

Chronická myeloidní leukemie (CML): zvýšená buněčnost, výrazná převaha granulocytární řady, posun k nezralým formám, eozinofilie, bazofilie...

Chronická lymfatická leukemie (CLL): výrazné zvýšené zastoupení většinou atypických lymfocytů, jaderné stíny (tzv. Gumprechtovy stíny – více patrné v nátěru periferní krve)...

Vlasatobuněčná leukemie (HCL – hairy cell leukemia): snížená buněčnost, nález atypických „vlasatých“ lymfoidních elementů.

Maligní lymfomy: možný nález atypických lymfoidních elementů při postižení kostní dřeně lymfomem.

Metastázy do kostní dřeně: nález nehematopoetických buněk volně, ale zejména v kohezivních shlucích (mikrometastázy), nátěry aspirátu kostní dřeně mohou být spíše hypocelulární, v nátěru periferní krve může být leukoerytroblastický obraz (vyplavování méně zralých elementů granulopoezy a erytroblastů), případně dakryocyty.

Fibróza kostní dřeně: leukoerytroblastický obraz v nátěru krve, dakryocyty, poikilocytóza...

POCT 2v1

Automatický hematologický
analýzátor DP-H10

Stanovení KO 3DIFF + CRP v 1 testu

První integrované stanovení
krevního obrazu + CRP
v jedné diagnostické soupravě
bez externích promývacích roztoků.



Stanovení KO 3DIFF + CRP nebo KO 3 DIFF + SAA
v jedné diagnostické soupravě **bez použití
promývacích roztoků.** Díky této reagenční
sadě k analyzátoru DP-H10 odpadá náročná
manipulace s roztoky a likvidace vzniklého odpadu.

Každá kazeta obsahuje všechny potřebné
reagencie. Po provedení testu je třeba
zlikvidovat pouze kazetu, bez dalšího
biologického odpadu.



Odeberte **20 µl**
kapilární krve

Vzorek umístíte
do kazety

Vložíte kazetu
do přístroje,
výsledek do
5 minut

Parametry

21 KO parametrů + 1 CRP

<p>WBC Lym# Lym% Mid# Mid% Gran# Gran%</p> <p>7</p>	<p>RBC MCV HCT RDW-SD RDW-CV HGB MCH MCHC</p> <p>8</p>	<p>PLT MPV PCT PDW P-LCR P-LCC</p> <p>6</p>	<p>CRP</p> <p>1</p>
--	---	--	----------------------------

Princip: impedanční metoda pro stanovení leukocytů, erytrocytů a trombocytů,
kolorimetrie bez použití kyanidu pro stanovení hemoglobinu, imunonefelometrie pro
stanovení CRP

