



Zdravotně  
sociální fakulta  
Faculty of Health  
and Social Sciences

Jihočeská univerzita  
v Českých Budějovicích  
University of South Bohemia  
in České Budějovice

## Porovnání hodnot krevních obrazů u zvířat – pes, kočka

# Bakalářská práce

Studijní program:

**SPECIALIZACE VE ZDRAVOTNICTVÍ**

**Autor:** Petra Majorová

**Vedoucí práce:** Mgr. Pavla Moudrá

České Budějovice 2020

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci s názvem Porovnání hodnot krevních obrazů u zvířat – pes, kočka jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

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

V Českých Budějovicích dne 28.5.2020

.....

*Petra Majorová*

### **Poděkování**

Děkuji paní Mgr. Pavle Moudré za vedení mé bakalářské práce, za její pomoc, ochotu a trpělivost. Dále paní MVDr. Ludmile Petráňové Stropnické za cenné rady a poznatky. Další poděkování patří laborantkám hematologického úseku v laboratoři synlab s.r.o. za ochotu a pomoc při metodické části. A nakonec bych tímto chtěla poděkovat těm nejbližším, mé rodině a příteli za trpělivost a oporu.

# Porovnání hodnot krevních obrazů u zvířat - pes, kočka

## Abstrakt

Krevní obraz je jedním z nejdůležitějších a nejčastějších hematologických vyšetření. Je důležitý pro správné určení diagnózy a kontrolu účinnosti léčby. K vyšetření krevního obrazu je využívána nesrážlivá krev s antikoagulantem  $K_3EDTA$  nebo  $K_2EDTA$  (draselná sůl kyseliny ethylendiamintetraoctové). Důležité je také dodržení správného poměru antikoagulantu a odebrané krve.

Vyšetření krevního obrazu se netýká jen pacientů z řad lidí, ale i mnoha druhů zvířat, nejčastěji psů a koček. Ke správnému zhodnocení získaných výsledků je nutné znát referenční meze příslušného druhu, případně rozdělené dle pohlaví, věku či rasy. Cílem této práce je zhodnocení rozdílnosti v základních hodnotách krevního obrazu (množství erytrocytů, množství hemoglobinu, hodnoty hematokritu, množství leukocytů, množství trombocytů) mezi vzorky získanými od psů a vzorky získanými od koček. Celkem 500 vzorků (250 psích, 250 kočičích) bylo změřeno na analyzátoru Sysmex XN 1000 v laboratoři synlab czech,s.r.o., České Budějovice dle postupů správné laboratorní praxe. Zvířecí pacienti jsou vybíráni bez ohledu na diagnózu, rasu, pohlaví.

Naměřené výsledky jsou zhodnoceny statistickou metodou chí kvadrát a je zjištěn průměr stanovených parametrů. Ve všech pěti případech chí kvadrát prokázal výrazné rozdíly porovnávaných skupin závislé na věkových kategoriích. Výsledky psů i koček se v častých případech vymykají hodnotám referenčních mezí daným konkrétnímu druhu zvířete. Lze předpokládat, že důvodem velkého počtu hodnot mimo hranice referenčních intervalů, je skutečnost, že byly použity převážně vzorky nemocných zvířat.

## Klíčová slova

krevní obraz; pes; kočka; Sysmex XN 1000; referenční meze

# **Comparison of values of blood images of animals-dog, cat**

## **Abstract**

Blood count is one of the most important and most frequent haematological examinations. It is important for proper diagnosis and control of treatment effectiveness. Non-coagulated blood with the anticoagulant  $K_3EDTA$  or  $K_2EDTA$  (ethylenediaminetetraacetic acid potassium salt) is used to examine the blood count. It is also important to maintain the correct ratio of anticoagulant and blood collected.

Examination of blood counts is not related only to human patients, but also to many species of animals, most often dogs and cats. In order to evaluate the results correctly, it is necessary to know the reference limits of the respective species, possibly divided by sex, age or breed. The aim of this study is to evaluate differences in baseline blood counts (amount of erythrocyte, amount of hemoglobin, value of hematocrit, amount of leukocyte, amount of platelet) between samples obtained from dogs and from cats. A total of 500 samples (250 canine, 250 cat) was measured on a Sysmex XN 1000 analyzer in synlab czech, s.r.o., Ceske Budejovice according to proper laboratory practice procedures. Animal patients are selected regardless of diagnosis, breed and sex.

The final results were assessed by the Chi-square test. The average value of the parameters was also established. In all five cases, the Chi-square test showed significant differences in the groups based on their age categories. The results for dogs and cats often diverge from the reference interval for the particular species. It is suggested that the high number of values outside the reference range is due to the use of samples of clinically ill animals.

## **Keywords**

blood count; dog; cat; Sysmex XN 1000; reference limits

## Obsah

1	Krev .....	10
1.1	Vlastnosti.....	10
1.2	Funkce .....	11
2	Krevní buňky .....	11
2.1	Erytrocyty.....	11
2.1.1	Hemoglobin .....	12
2.1.1.1	Koncentrace hemoglobinu .....	12
2.1.2	Hematokrit .....	13
2.1.3	Základní parametry červených krvinek .....	13
2.1.3.1	Střední objem erytrocytu.....	13
2.1.3.2	Střední obsah hemoglobinu.....	13
2.1.3.3	Střední barevná koncentrace .....	14
2.1.3.4	Šíře distribuce červených krvinek.....	14
2.2	Leukocyty.....	14
2.2.1	Granulocyty .....	15
2.2.1.1	Neutrofilý .....	15
2.2.1.2	Eozinofily.....	16
2.2.1.3	Bazofily.....	16
2.2.2	Agranulocyty .....	16
2.2.2.1	Monocyty .....	16
2.2.2.2	Lymfocyty .....	17
2.3	Trombocyty .....	17
3	Krevní plazma.....	18
4	Pes periferní krev .....	18
4.1	Erytrocyty.....	18
4.2	Leukocyty.....	19
4.3	Trombocyty.....	19
5	Kočka periferní krev .....	19
5.1	Erytrocyty.....	19
5.2	Leukocyty.....	19
5.3	Trombocyty.....	20
6	Stanovení množství.....	20

7	Parametry krevního obrazu a jejich kvantitativní odchylky .....	22
7.1	Počet erytrocytů .....	22
7.1.1	Oligocytemie.....	22
7.1.2	Polycytemie .....	22
7.2	Hemoglobin.....	23
7.3	Hematokrit.....	23
7.4	Základní hodnoty erytrocytu .....	24
7.4.1	Střední objem erytrocytu .....	24
7.4.2	Hemoglobin erytrocytu a střední koncentrace hemoglobinu v erytrocytech .....	24
7.4.3	Šíře distribuce erytrocytů.....	24
7.5	Počet leukocytů .....	25
7.5.1	Leukopenie.....	25
7.5.2	Leukocytóza.....	25
7.6	Počet trombocytů .....	26
7.6.1	Trombocytopenie .....	26
7.6.2	Trombocytóza .....	26
8	Vyšetření krevního obrazu.....	27
8.1	Laboratorní vyšetření .....	27
8.1.1	Kritéria hodnot laboratorního vyšetření.....	28
8.1.2	Fáze laboratorního vyšetření.....	28
8.2	Referenční hodnoty .....	35
8.3	Hematologické vyšetření.....	36
8.3.1	Hematologické postupy .....	36
8.3.2	Druhy vyšetřovaných vzorků.....	37
9	Cíle práce a hypotézy.....	38
10	Metodika .....	39
11	Výsledky .....	41
11.1	Leukocyty .....	42
11.2	Hemoglobin .....	44
11.3	Hematokrit.....	47
11.4	Erytrocyty .....	49
11.5	Trombocyty .....	52
12	Diskuze .....	56

13	Závěr .....	59
14	Zdroje.....	60
15	Seznam obrázků.....	64
16	Seznam tabulek .....	65
17	Seznam zkratk .....	66
18	Přílohy.....	68



## ÚVOD

Hematologie patří mezi základní medicínské vědní obory. Název hematologie byl odvozen z řeckých slov haima-krev a logos-rozmluva, slovo. Krev jako jediný orgán přichází do styku skoro se všemi tkáněmi těla. Původně to byl malý podbor, který stavěl na morfologických popisech abnormalit krevních buněk a klinickém pozorování. Postupně se tento obor začal prohlubovat např. ve znalostech změn krve, vzniku různých onemocnění a ve znalostech krvetvorných orgánů. Z hematologie se stal obor interdisciplinární.

Hematologie se zabývá tvorbou krve, jejím složením a také chorobnými změnami. Krev plní v organismu mnoho důležitých funkcí, proto její vyšetření patří mezi základní kroky v humánní i veterinární diagnostice. Mezi základní laboratorní vyšetření krve, které se provádí velmi často, patří stanovení krevního obrazu.

V rámci vyšetření krevního obrazu se stanovují především následující parametry: počet leukocytů, počet erytrocytů, množství hematokritu, množství hemoglobinu, erytrocytární indexy (MCV, MCH, MCHC), počet trombocytů.

Většina veterinárních ordinací je zařízena natolik, aby mohla provádět vyšetření krevního obrazu ihned. Ty ordinace, které nejsou dostatečně vybavené, odeberou vzorky a posílají je do laboratoře. V laboratoři se provede vyšetření, které je požadováno vyšetřujícím lékařem. Výsledky vyšetření se zasílají zpět k lékaři elektronickou formou a formou výtisku.

Vyšetření krevního obrazu napomáhá při diagnostice onemocnění u psů a koček.

# TEORETICKÁ ČÁST

## 1 Krev

Krev je jedna z nedůležitějších složek v těle. Je to tekutina, která koluje v krevních cévách (tepnách, kapilárách, žilách). Bez krve by nebylo možné fungování tělních orgánů a soustav. Krev nazývaná také sanguis (latinsky), haima (řecky) bývá označována také jako tekutá tkáň. Hlavními dvěma složkami krve jsou plazma a krevní buňky (Reece et al., 1998).

### 1.1 Vlastnosti

Dle Reece (2011) přibližně 7 - 10 % objemu celkové tělesné hmotnosti tvoří krev. U většiny druhů savců objem krve tvoří 7,1 - 7,6 % z tělesné hmotnosti (Jelínek et al., 2003). Má sedimentační schopnost, tj. při stání krve dochází k usazování buněk (Reece et al., 1998). V játrech, slezině a kůži může být uloženo až 50 % z celkového krevního objemu, která slouží jako rezerva. Zbylých 50 % koluje v krevním řečišti. Při ztrátě objemu krve o více jako 50 % dochází k selhání krevního oběhu (Jelínek, 2003).

pH venózní krve se u většiny zvířat pohybuje okolo 7,4 a v takovém případě je hodnota pH arteriální krve přibližně 7,36. Koncentrace  $\text{CO}_2$  ovlivňuje hodnotu pH (Reece, 2011). Pomocí pH krve a jiných parametrů jako je např. standardní bikarbonát v plazmě hodnotíme acidobazickou rovnováhu v žilní krvi. V krvi se nacházejí tzv. pufrý, které vyrovnávají hodnotu pH (Jelínek et al., 2003). Více o pH se pojednává v kapitole 1.2 v nadpisu Krev jako nárazníkový systém.

Barvu krve ovlivňují červené krvinky, jejichž součástí je hemoglobin neboli krevní barvivo. Nejčastěji má barvu červenou, můžou jí ovlivnit i jednotlivé plyny, které se nacházejí v krvi, především kyslík. V závislosti nasycení hemoglobinu kyslíkem je barva krve buďto intenzivně červená, při vyšší saturaci kyslíkem, nebo fialovomodrá při nižší saturaci (Reece, 2011).

Z dalších parametrů krve lze zmínit krevní proteiny, které ovlivňují vazkost krve, nebo osmotický tlak krve, který je 680 kPa v koncentraci s 0,95 % NaCl. (Reece, 2011; Sova et al., 1990).

## **1.2 Funkce**

Pro správnou funkci krve je důležitá suspenzní stabilita, která je zapříčiněna záporným nábojem na povrchu buněk a tím jejich vzájemným odpuzováním.

Transportní funkce je jedna z mnoha funkcí krve. Umožňuje přesun mnoha látek jako např. protilátek, hormonů, vitaminů a živin, ale i odpadních produktů a tepla (Reece, 1998). Nejdůležitější transportované látky jsou kyslík a oxid uhličitý, které se významně podílí na dýchání. Krev napomáhá udržování stálosti vnitřního prostředí neboli homeostázy, osmotického i krevního tlaku (Jelínek et al., 2003). Krev může své funkce plnit jen v případě uzavřeného řečiště (Reece, 1998).

### ***Krev jako nárazníkový systém***

Krev jakožto nárazníkový systém využívá pufrů ke své funkci. Pufrů jsou konjugovaný pár kyseliny nebo zásady, který je schopný udržovat v jistém rozmezí stabilní pH i po přidání silné kyseliny, či zásady do systému. Mezi pufrů patří např. hemoglobin, bílkoviny krevní plazmy, hydrogenuhličitan sodný aj.

V organismu hospodářských zvířat vznikají při fyziologických metabolických procesech převážně látky kyselé povahy. Proto je extracelulární i intracelulární prostředí vybaveno komplexem nárazníkových systémů schopných zabraňovat výkyvům pH. Krev má při řízení acidobazické rovnováhy ve vnitřním prostředí organismu zvláštní postavení. Je schopna nejen metabolity z prostoru intersticiálního přijímat, ale také je odvádět do vylučovacích orgánů (plíce, ledviny), tím se jejich vliv na rovnováhu bází a kyselin eliminuje (Sláma et al., 2015).

## **2 Krevní buňky**

Krevní buňky tvoří 45 % celkového složení krve. Mezi krevní buňky patří červené krvinky, bílé krvinky a krevní destičky (Reece, 1998). Zvýšené a snížené hodnoty u jednotlivých krevních buněk se budou blíže rozebírat v kapitole 7.

### **2.1 Erytrocyty**

Tvorbu erytrocytů neboli červených krvinek řídí erythropoetin (EPO). EPO se tvoří v ledvinách. Krvinka stará 1 - 2 dny se nazývá retikulocyt, na rozdíl od zralé červené krvinky obsahuje zbytek jádra. Před narozením se erytrocyty tvoří v kostní dřeni, játrech a ve slezině. Po narození už se tvoří jen v kostní dřeni (Doubek, 2003). Deformovatelnost je základním rysem, který umožňuje projít i ty nejmenší kapiláry lidského těla (Huisjes

et al., 2018). Erythrocyty savců nemají jádro a zpravidla jsou bikonkávního tvaru s piškotovitým průřezem, což je významné pro výměnu kyslíku. U savců se mohou vyskytnout ojediněle i více kulovité. Bikonkavita erythrocytů způsobuje zbarvení bledé centrální oblasti, jelikož se pozorovatel v této oblasti buňky dívá na přítomnost malého množství hemoglobinu. Tato centrální bledost je nejvíce patrná u psů. Druh s menšími erythrocyty je např. kočka, má méně konkávnosti, a tudíž má malou nebo žádnou centrální bledost. Erythrocyty jsou velice pružné, jejich velikost se odvíjí podle druhu zvířete. Erythrocyt u psa má velikost kolem 7  $\mu\text{m}$ . Jakékoliv změny velikostí a tvarů mohou být způsobené poruchami organismu, ale může je zapříčinit i nedokonalý odběr krve. V jednom mikrolitru krve zvířete se nachází 5 až 7 milionů erythrocytů (Doubek, 2003). Počet erythrocytů zjišťujeme nejen na hematologickém analyzátoru, ale i počítáním v Bürkerově komůrce. Množství erythrocytů se měří přímo počítáním jednotlivých erythrocytů v krvi ředěné izotonicky. Primární funkcí erythrocytu je transport kyslíku do tkání pomocí hemoglobinu, který je v nich obsažen. Propustná membrána, která obklopuje erythrocyty, se skládá z lipidů, bílkovin a sacharidů (Jack a Watson, 2014). Referenční hodnoty erythrocytu jsou uvedeny v tabulce II. v kapitole 7.

### **2.1.1 Hemoglobin**

Hemoglobin je tzv. chromoprotein neboli bílkovina s atomy železa skládající se z hemu a globinu (Lexová, 2000). Tyto atomy na sebe mohou vázat molekuly plynů ( $\text{O}_2$ ,  $\text{CO}_2$ , aj.), dle kterých se určuje forma hemoglobinu (Reece, 2011). Hemoglobin má fyziologické formy, a to karbaminohemoglobin (váže  $\text{CO}_2$ ), fetální hemoglobin (má vyšší afinitu k  $\text{O}_2$ ) a oxyhemoglobin (váže  $\text{O}_2$ ), dále sulfhemoglobin (váže  $\text{H}_2\text{S}$ ), karboxyhemoglobin (váže  $\text{CO}$ ) a methemoglobin (trojmocné železo ztrácející schopnost vázat na sebe  $\text{O}_2$ ), což jsou patologické formy (Sova et al., 1990; Doubek et al., 2010). Referenční hodnoty hemoglobinu jsou uvedeny v tabulce II. v kapitole 7.

#### **2.1.1.1 Koncentrace hemoglobinu**

Měření množství hemoglobinu na jednotku objemu se provádí ve spojení s celkovým počtem erythrocytů (Thrall, 2012). Proto může hodnota hemoglobinu sloužit, jako doplňující kontrola kvality (správnosti) při výpočtu MCHC, což je střední barevná množství, která udává průměrnou koncentraci hemoglobinu v ery (Jack a Watson, 2014).

Je to index hmotnosti červených krvinek na jednotku objemu krve u pacienta (Kosmachevskaya a Topunov, 2018).

### **2.1.2 Hematokrit**

Hematokrit je podíl ery na celkovém objemu krve. Pomocí hematokritu je možné zjistit množství krvinek v krvi (Jelínek et al., 2003; Doubek et al., 2010). Lze jej zjistit výpočtem za pomoci počtu erytrocytů a středního objemu erytrocytu (MCV). (Lexová, 2000). Hematokritovou hodnotu udáváme buďto v l/l, v %, nebo v bezrozměrném čísle (např. 10 % = 0,10 l/l = 0,10). Avšak je podmíněna velikostí a množstvím erytrocytů (Kraft a Dürr, 2001; Hofírek et al., 2009). Zvýšený hematokrit může být z důvodu erytrocytemie (zvýšený hematokrit z důvodu poklesu plazmy), makrocytózy (fyziologicky u novorozenců a patologicky u anémie z nedostatku kyseliny listové či vitamínu B<sub>12</sub>), nebo v některých případech i dehydratací (relativní zvýšení). Naopak snížený hematokrit může být u erytrocytopenie (pokles ery) nebo operace (ztráta velkého množství krve a podání infuze) (Doubek et al., 2010). Sníženou hodnotu hematokritu může způsobit i březost (Hofírek et al. 2009). Referenční hodnoty hematokritu jsou uvedeny v tabulce II. v kapitole 7.

### **2.1.3 Základní parametry červených krvinek**

Parametry erytrocytů jsou významné v rozpoznávání různých poruch a anémií. Novorozenci mají vyšší hodnoty MCH a MCV než dospělí jedinci, avšak rozdíl není tak markantní jako u starých zvířat. Ty mají nejnižší hodnoty ze všech (Doubek et al., 2010).

#### **2.1.3.1 Střední objem erytrocytu**

Neboli Mean Corpuscular Volume (MCV) je hodnota udávající průměrnou velikost erytrocytů (Hofírek et al., 2009). Tyto hodnoty jsou zvýšené u novorozenců a naopak snižené u dospívajících jedinců (Lexová, 2000). Referenční hodnoty MCV jsou uvedeny v tabulce II. v kapitole 7.

#### **2.1.3.2 Střední obsah hemoglobinu**

Neboli Mean Corpuscular Hemoglobin (MCH) je hodnota udávající průměrnou hmotnost hemoglobinu v erytrocytu. Vypočítat ho lze pomocí počtu erytrocytu a hodnoty hemoglobinu. Dle těchto hodnot lze rozdělit anémie na hypochromní

(anémie z nedostatku železa) a normochromní (anémie po akutním krvácení) (Lexová, 2000). Dále se normochromní anémie dělí na mikrocytovou (nedostatek železa a po chronickém krvácení) a makrocytovou (nedostatek vitamínu B<sub>12</sub> a kyseliny listové). Mikrocytová normochromní anémie má hodnoty MCH v rozmezí 27 - 34 pg. Makrocytová normochromní anémie má hodnotu MCH větší než 34 pg. Mikrocytová hypochromní anémie má hodnotu MCH menší než 26 pg (Střední obsah..., 2013). Referenční hodnoty MCH jsou uvedeny v tabulce II. v kapitole 7.

### **2.1.3.3 Střední barevná koncentrace**

Také nazývaná Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (MCHC) je hodnota udávající průměrnou koncentraci hemoglobinu v erytrocytech (Hofírek et al., 2009).

MCHC se počítá z koncentrace hemoglobinu a hematokritu. Poskytuje index pro množství hemoglobinu (hgb) vzhledem k objemu erytrocytů (Jack a Watson, 2014). Referenční hodnoty MCHC jsou uvedeny v tabulce II. v kapitole 7.

### **2.1.3.4 Šíře distribuce červených krvinek**

Neboli Red cell Distribution Width (RDW). Jedná se o šíří nejpočetnějších populací červených krvinek v histogramu RBC (red blood cell) neboli červené krvinky dle středního objemu erytrocytu (MCV) (Pecka, 2006). Jednotka je procento koeficientu variace značíme %CV. Běžné hodnoty RDW jsou méně než 15,2 %CV. Pokud je RDW pod touto hodnotou, znamená to, že jsou červené krvinky stejně veliké. V případě, že hodnotu přesahuje, značí to různé velikosti červených krvinek a v tu chvíli se jedná o anizocytózu (Lexová, 2000). Referenční hodnoty RDW jsou uvedeny v tabulce II. v kapitole 7.

## **2.2 Leukocyty**

Leukocyty neboli bílé krvinky zajišťují obranyschopnost organismu. Mohou se uplatnit při patologických reakcích a procesech (Svoboda, 2008). Před narozením se tvoří v kostní dřeni, játrech a ve slezině. Po narození se tvoří pouze v kostní dřeni, stejně jako červené krvinky. Na základě morfologie buněk se bílé krvinky dělí na dvě skupiny granulocyty a agranulocyty. Mezi granulocyty patří neutrofil, bazofil a eozinofil. K agranulocytům řadíme lymfocyty a monocyty (Reece, 1998; Kajerová, 2006). Hodnotu bílých krvinek měříme nejen jako hodnotu jednotlivých buněk,

ale i jako hodnotu celku ve zkoumaném vzorku, který je pro diagnózu velice důležitý (Pecka 2006). Referenční hodnoty leukocytů jsou uvedeny v tabulce II. v kapitole 7.

### **2.2.1 Granulocyty**

Granulocyty žijí 2 - 3 dny. Jsou to středně velké buňky s několikrát segmentovaným (neutrofilny) nebo laločnatým (bazofily) jádrem, proto se nazývají polymorfonukleáry. Cytoplazma obsahuje četná granula, podle jejichž barvitelnosti se rozdělují na eozinofilní, neutrofilní a bazofilní granulocyty (Toman, 2009). Tvar jádra se postupným stárnutím buňky mění. V mladších stádiích má protáhlý a různě zakřivený tvar, proto se označují jako tyčky. Zralejší a starší jádra se označují jako segmenty, jelikož jsou segmentovaná a laločnatá. Podíl segmentů a tyček se zjišťuje u neutrofilních granulocytů (Reece, 1998). Granulocyty, které jsou zralé, vstupují do krevního oběhu (Toman, 2009).

#### **2.2.1.1 Neutrofilny**

Ve stádiu promyelocytu se vyvíjejí primární azurofilní granula (podobné lyzozomům). Azurofilní granula obsahují myeloperoxidázu, defenziny, proteázy, hydrolázy, lysozym a kationické proteiny. Ve stádiu metamyelocytu a myelocytu se objevují sekundární specifická granula. Sekundární granula obsahují lysozym, kolagenázu a laktoferin. V konečných stádiích diferenciacie se mohou objevit terciární granula (Toman, 2009). Neutrofilny jsou hlavní součástí hnisu. Hlavní funkcí je fagocytóza bakterií. Po fagocytóze lyzozomální granule fúzuji (slučují se) s fagozomy, a tím dochází k usmrcení organismů a následnému rozkladu materiálu díky enzymatickému trávení. Neutrofilny mají segmentované jádro a drobná různě se barvící granula v cytoplazmě. Proto jejich výsledná barva není zřejmá, stejně jako není zřejmá zřetelnost jejich granul. V krevním nátěru se barví šedo-růžově. Neutrofilů je velký počet a jsou přítomny nejčastěji (Thrall, 2012). Obsahují aktivátor plazminogenu a gelatinázu. Jádro nezralých buněk, které je původně kulaté, se koncem diferenciacie protáhne do stádia tyčky. U zralých buněk získá tvar laločnatý. Zralé neutrofilny v krvi tvoří přes 90 % granulocytů, jsou produkovány rychlostí kolem milionu buněk za sekundu. Při zánětlivých procesech se jejich produkce může ještě zvýšit. V krevním oběhu přežívají zhruba 6 hodin a vstupují do tkání. Ve tkáních přežívají asi dva dny (Toman, 2009).

### **2.2.1.2 Eozinofily**

Eozinofily tvoří kolem 1 % krevních leukocytů u zdravých jedinců, dále malou populaci v lamina propria střevní sliznice a v pojívech. V kostní dřeni vývoj probíhá 2 - 6 dní, v krevním oběhu mohou být přítomny 6 - 12 hodin, ve tkáních 4 - 10 dní. Eozinofily obsahují velká granula (0,5 $\mu$ m) s centrálním krystaloidem. Granula mohou obsahovat peroxidázu, histaminázu a lysozomální enzymy a obarvují se kyselými barvivy (eosiny) (Toman, 2009). Eozinofily psů mají značně rozmanitou velikost granulí a jejich počet na buňku. Ve vzácných případech může být přítomno několik velkých granulí velikosti erytrocytů. Kočičí eozinofily mají hustou cytoplazmu s jednotlivými granuly ve tvaru tyčinky nebo sudu. Eozinofily zajišťují fagocytózu bakterií a dokážou bojovat proti parazitům pomocí proteinů, které se vážou na parazitní membrány a poškozují ji, a enzymů, které ničí vajíčka a larvy. Významně se podílejí na průběhu alergických reakcí. Eozinofily jsou velké a barví se červeně, růžově nebo oranžově. Přes velký počet studií a pozorování nejsou funkce eozinofilů dosud dobře známé (Thrall, 2012).

### **2.2.1.3 Bazofily**

Bazofily mají velká granula, která obsahují proteoglykany, histamin, heparin a proteázy (Toman, 2009). Granula přijímají zásaditá barviva (hematoxylin). U psů se jedná o malé množství tmavě fialových granulí a u koček o velké, slabě šedé granule, které jsou uspořádané podobně jako dlažební kostky. Bazofily zajišťují spouštění zánětlivých reakcí v těle. Bazofily jsou malé a barví se tmavě modře až černě (Thrall, 2012).

## **2.2.2 Agranulocyty**

Společným znakem agranulocytů je nepřítomnost sekrečních granul v cytoplazmě. Dle množství cytoplazmy a tvaru se rozlišují 2 typy agranulocytů, monocyty a lymfocyty (Reece, 1998; Kajerová 2006).

### **2.2.2.1 Monocyty**

Monocyty jsou velké neproliferující buňky s jádrem ve tvaru ledviny (Toman, 2009). Jádro může být různého tvaru, včetně oválného, fazolovitého, améboidního nebo do tvaru podkovy jako u neutrofilů. Zbarvení jádra je do modra. Monocyty jsou velké buňky a mají výrazný nadbytek cytoplazmy, jsou to největší bílé krvinky. V cytoplazmě lze vidět fagocytované částice či vakuoly. Monocyty provádějí



opakovanou fagocytózu. V krvi jsou to monocyty a ve tkáni makrofágy, které likvidují buňky zahynulé po apoptóze. Monocyty se také podílejí na zánětlivých reakcích. V krvi se monocyty považují za prostředníky z hlediska kontinua zrání. Tyto buňky jsou pak odpovědné za běžnou destrukci erytrocytů, spojenou s recyklací metabolického železa a patologickou destrukci erytrocytů. (Thrall, 2012).

#### **2.2.2.2 Lymfocyty**

Lymfocyty žijí několik měsíců, let a někdy i celý život zvířete (Reece, 1998; Kajerová, 2006). Lymfocyty jsou kulaté mononukleární buňky, které mají většinou malé množství cytoplazmy. Jejich funkce byla dlouho nejasná, blíže byla podkryta ve druhé polovině 20. století. Jejich funkce je specifické rozpoznání antigenu s následnou regulační nebo efektorovou funkcí (Toman, 2009). Lymfocyty jsou menší, mají malé množství cytoplazmy, která je světle modře zbarvená, a velké jádro kulovitého tvaru. Podle velikosti a množství cytoplazmy můžeme lymfocyty rozdělit na velké a malé. Lymfocyty se dělí na 2 skupiny: lymfocyty T a lymfocyty B. Subpopulace zahrnují B lymfocyty, které jsou zodpovědné za humorální imunitu, a T lymfocyty, které jsou zodpovědné za buňkami zprostředkovanou imunitu a cytokinové odpovědi. (Thrall, 2012). Mezi lymfocyty se řadí NK buňky (natural killers = přirození zabíječi). NK buňky dokážou likvidovat v těle napadené buňky. Mají jiný mechanismus než ostatní lymfocyty, a proto se řadí do tzv. třetí hlavní subpopulace (Reece, 1998).

### **2.3 Trombocyty**

Trombocyty neboli krevní deštičky u savců jsou bezjaderné úlomky buněk, megakaryocytů.

Jsou to malé (2 $\mu$ m) bezjaderné disky, které mají tři druhy cytoplazmatických granul: alfa, denzní tělíska a lysozomální granula. Po celý svůj život zůstávají v cévním prostoru (tj. asi deset dní). Pokud dojde k poškození cévní výstelky, trombocyty se pod vlivem trombinu nebo tromboxanu A<sub>2</sub> a ADP (adenosindifosfát) shlukují. Dojde k aktivaci krevní koagulace (Toman, 2009). Krevní destičky mohou být počítány současně s erytrocyty. Většina druhů domácích zvířat má srovnatelnou velikost krevních destiček, výjimkou jsou kočky, protože objem jejich destiček je přibližně dvojnásobný. Proto je třeba brát počet krevních destiček u koček pouze jako odhad. Jejich velké krevní destičky mohou být počítané jako erytrocyty. Tudíž se při výsledcích z vyšetření krve může zdát množství

krvních destiček nízké (Jack a Watson, 2014). Referenční hodnoty trombocytů jsou uvedeny v tabulce II. v kapitole 7.

### **3 Krevní plazma**

Krevní plazma je tvořena z 92 % vodou, ve které jsou bílkoviny, které zajišťují funkce regulační a transportní. Krevní plazmu lze označit jako tekutou část krve (Reece, 1998). Krevní plazma je průhledná, žlutavá, mírně alkalická intravaskulární kapalina (Doubek, 2003). Mimo vodu dále obsahuje organické a anorganické látky, které lze v organismu v chemické podobě najít a které jsou v relativně stálých koncentracích, jelikož plazma tvoří ideální prostředí pro výměnu mezi buňkami a krví. Pro funkce plazmy je stálost nezbytná a je výsledkem dynamických rovnováh mezi extracelulárním a intracelulárním kompartmentem. (Pecka, 2006) Anorganické látky jsou důležité pro udržování osmotického tlaku, objemu a pH plazmy, pro srážení krve atd. Úlohou organických látek je zejména udržování objemu a pH plazmy, dále pak zajišťují transport látek. Podílejí se na srážení krve, imunitních reakcích, mají nutriční funkce a některé, např. ceruloplazmin, mohou působit jako zhášec kyslíkových radikálů. Lipidy mají významnou roli v energetickém metabolismu, mají funkci stavební aj. Součástí plazmy jsou i plyny O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> a další. V krevní plazmě máme přítomny i hormony, vitamíny a enzymy. Některé látky přítomné v plazmě ovlivňují barvu krevní plazmy: hyperlipemie (zvýšené množství tuků v krvi) - lehce zakalená plazma, hyperbilirubinemie (zvýšená hladina bilirubinu v krvi) - žlutá plazma, hemolýza (rozpad ery) - červená plazma (Doubek, 2003; Reece 1998).

### **4 Pes periferní krev**

Množství krve podle živé hmotnosti u psa je 75 - 90 ml/kg (Doubek, 2003).

#### **4.1 Erytrocyty**

Mají bikonkávní tvar, který je zřetelnější než u ostatních zvířat (Doubek, 2003). Sférocyt má kulovitý tvar a vyskytuje se nejčastěji u štěňat (Anyona et al., 2006). U pudlů se uvádí, že mají vyšší výskyt makrocytů. Pokud použijeme barvení dle Giemsa-Romanowského nebo podle Wrighta, můžeme příležitostně pozorovat polychromatofilní (modravé) krvinky. Jejich výskyt u dospělých psů je do 1 %

fyziologický. Jedná se o retikulocyty. U štěňat mohou tvořit 10 % červených krvinek (Doubek, 2003).

#### **4.2 Leukocyty**

Mladé neutrofilny (tyčky) jsou zachycovány v malém počtu. Odlišnost morfologie eozinofilů je zajímavá u greyhoundů. Dospělí greyhoundi mají výrazně vakuolizovanou cytoplazmu a granula jsou málo zřetelná. U štěňat greyhoundů už jsou granula lépe viditelná, ale méně výrazná od ostatních plemen (Doubek, 2003).

#### **4.3 Trombocyty**

Pokud je krevní destička aktivovaná, tak je její tvar nepravidelný a má četná cytoplazmatická pseudopodia. V průměru se může jejich velikost rovnat 1/4 až 1/2 velikosti erytrocytu (Doubek, 2003).

### **5 Kočka periferní krev**

Množství krve podle živé hmotnosti u kočky je 60-70 ml/kg (Doubek, 2003).

#### **5.1 Erytrocyty**

Erytrocyty na rozdíl od těch psích mají špatně rozpoznatelné centrální projasnění a vyznačují se střední anizocytózou. U zdravých koček můžeme občas pozorovat rouleaux (roló) formace erytrocytů, tzn., že erytrocyty zaujímají formaci penízkovatění (Doubek, 2003).

#### **5.2 Leukocyty**

V malém procentu mohou obsahovat Döhleho tělíska (Doubek, 2003). Döhleho tělíska jsou v podstatě podobná jako May-Hegglin tělíska (Cawley a Hayhoe, 1972).

Samice mají na neutrofilních jádrech až 10 % patrných „paliček“ sexchromatinu. Na stres samice reagují citlivě a vzestupem počtu neutrofilů (Doubek, 2003).

### **5.3 Trombocyty**

Výjimkou jiné morfologie, kterou se mohou lišit od ostatních savců, je, že mají podlouhlé nebo makrocytární formy. Tyto formy mohou být viděny jen příležitostně.

Po odběru krve se destičky nesmírně rychle shlukují (Doubek, 2003).

## **6 Stanovení množství**

Krevní obraz dělíme na krevní destičky, bílý krevní obraz a červený krevní obraz (Pecka, 2006; Navrátil et al. 2008). Způsoby zjišťování množství těchto parametrů jsou uvedeny v tabulce I.

Tab. I: Stanovení množství parametrů

Parametr	Jednotka	Metoda/ Přístroj	Poznámka
Hematokrit	l /l; %; bezrozměrné číslo	Analyzátor	Z objemů jednotlivých ery.
Hemoglobin	g/l	Automat – Spektrofotometrie	Měření množství záření procházející vzorkem
Erytrocyty	$10^{12}/l$	Počítání	Zvýraznění ery a rozpad ostatních elementů pomocí Hayemova ředícího roztoku.
		Automat – el. impedance	Přerušování světelných paprsků dopadajících na fotobuňku a odklon a rozptyl laserového paprsku.
Šíře distribuce ery	%CV	Automat	Rozlišení velikosti populace ery v histogramu podle MCV.
Leukocyty	$10^9/l$	Počítání	Rozpad tromb a ery pomocí Türkova roztoku. Jádro se obarví metylenovou (genciánovou) violetí.
		Automat	Princip rozdílné hustoty krevních buněk => po odstranění mikrohematokritové kapiláry se buňky navrství na sebe dle hustoty.
Trombocyty	$10^9/l$	Brecherova – Cronkitova (počítání)	Rozpad ery pomocí roztoku šřavelanu amonného => hemolýza a možnost počítat jednotlivé buňky pod mikroskopem
		Piettů (počítání)	Rozpad ery pomocí ředícího prokainového roztoku => hemolýza a možnost počítat jednotlivé buňky pod mikroskopem
		Automat	Procházejí kanálem o menším průměru, tím je možné je spočítat

Zdroj: Doubek, 2003

## **7 Parametry krevního obrazu a jejich kvantitativní odchylky**

### **7.1 Počet erytrocytů**

Samotný počet erytrocytů, tj. bez hodnot hemoglobinu, popřípadě hematokritu, má omezenou diagnostickou výpovědní hodnotu (Doubek, 2003).

#### **7.1.1 Oligocytemie**

Neboli erythrocytopenie, nebo snížený počet erythrocytů nastává, pokud počet ery je nižší než  $5,5 \cdot 10^{12}/l$  u psů a  $5,0 \cdot 10^{12}/l$  u koček (Svoboda, 2008).

Oligocytemie vzniká při anémii, urémii, sedaci, či hydrémii, která vzniká při aplikaci infuzních roztoků (Doubek, 2003)

Snížený počet erythrocytů je při graviditě obzvlášť od 6 měsíce běžný. Jedná se o tzv. gravidní hydrémii, či diluční anémii (Svoboda, 2008). Další příčinou snížení ery může být trauma neboli protržení, prasknutí vnitřních orgánů, nebo porušení velkých cév (Profilová vyšetření, 2013). Při relativní (diluční) anémii je množství erythrocytární masy na 1 kg živé hmotnosti na rozdíl od absolutní anémie nezměněno (Doubek, 2003). Po ztrátě krve je počet v prvních hodinách erythrocytů bez změny, jelikož se plazma a erythrocyty ztrácejí stejnoměrně a ještě se nezačaly opětovně tvořit. Avšak po několika hodinách nastává diluce krve, která je zapříčiněna rychlejší obnovou plazmy, než je rychlost obnovy erythrocytů (Doubek, 2003; Svoboda, 2008).

Nejdříve až po 24h začíná obnova erythrocytů (regenerační anémie) (Doubek, 2003).

#### **7.1.2 Polycytemie**

Neboli erythrocytemie, či erythrocytóza je zvýšený počet erythrocytů (Uhríková, ©1993; Harvey, 2012). Polycytemie nastává, pokud počet ery stoupne nad hodnotu  $8,5 \cdot 10^{12}/l$  u psů a nad hodnotu  $10,0 \cdot 10^{12}/l$  u koček (Svoboda, 2008).

Mezi příčiny se řadí porucha v kostní dřeni, např. polycythaemia vera, familiární erythrocytóza, erythrocytémie. Dále zvýšená tvorba EPO v takovém případě jde o tzv. sekundární polycytemii (Doubek, 2003; Weiss a Wardrop, 2010). Dále redistribuce, hypoxické stavy, kdy při ileózních stavech nastává insuficience srdce, která je spojená s distenzí střeva anebo respirační insuficience, renální neoplazie a tumory, paraneoplastické syndromy, vysoká nadmořská výška neboli hypoxická hypoxie, fyzická námaha, stres, hyperfunkce kůry nadledvin v případě psů, kompenzovaný šok, aplikace glukokortikoidů, hypertyreóza koček a Cushingův syndrom.

Při selhání srdce se zjišťují relativní polycytemie (Doubek, 2003; Harvey, 2012). Dále i při dehydrataci (Uhríková, ©1993; Harvey, 2012). Dehydrataci způsobují průjmy, zvracení, aplikace diuretik, horečka, popáleniny, snížený příjem vody, pocení (Weiss a Wardrop, 2010). Mezi relativní polycytemie řadíme někdy i polycytemie na podkladě redistribuce (fyzická námaha, při stresu). (Doubek, 2003).

## **7.2 Hemoglobin**

Hemoglobin má podíl na hmotnosti erytrocytu a ten činí 34 %. Uplatnit se může při udržování AB rovnováhy (Svoboda, 2008).

Deprese vzniká u psa, který má hodnotu menší než 120 g/l a u kočky, která má hodnotu hemoglobinu menší než 80 g/l např. při oligocytemii. Anémie post operationem („zředění“ krve přestupem tekutin do intravaskulárního prostoru) (Doubek, 2003; Svoboda, 2008). Dále ledvinová insuficience, což znamená nedostatečná funkčnost, nebo selhávání, dále aplázie, čili nevyvinutí dřeně a krevní ztráty (Krč, 2007).

Elevace vzniká, pokud hodnota hemoglobinu je u psa vyšší než 180 g/l a u kočky vyšší než 150 g/l. V takovém případě se mohou objevit hematologické malignity, či polycytemie (Doubek, 2003; Svoboda, 2008).

## **7.3 Hematokrit**

Deprese vzniká, pokud hodnota hematokritu klesne pod 0,37 l/l u psů a pod 0,2 l/l u koček např. při oligocytemii. Elevace je zapříčiněna polycytemií, či hypotyreózou koček. Tato situace je v případě, kdy hodnota hematokritu je vyšší než 0,55 l/l u psů a vyšší než 0,38 l/l u koček (Svoboda, 2008). Makrocytózy neboli regenerativní anémie, které vznikají např. při krevních hemolýzách nebo ztrátách, mohou zapříčinit vyšší hodnotu hematokritu. Snížený hematokrit je způsoben deficitem vitamínu B<sub>12</sub> a folátu, naopak zvýšený hematokrit nastává při myelodysplastickém syndromu a při infekci kočičím virem leukemie (Doubek, 2003). Počty erytrocytů a hematokrit nejsou vzájemně zastupitelné parametry, jelikož např. i při snížené hodnotě hematokritu může být počet erytrocytů v referenční hodnotě (normocytemie) (Svoboda, 2008).

## **7.4 Základní hodnoty erytrocytu**

### **7.4.1 Střední objem erytrocytu**

Deprese vzniká při mikrocytární anémii, z deficitu železa, či u portosystémových zkratů. Nastává u psů, jejichž MCV je nižší než 65 fl, a u koček, jejichž MCV je nižší než 35 fl.

Elevace vzniká při megalolastové, či makrocytární anémii. Jedná se o psy, kteří mají MCV vyšší než 75 fl a o kočky, které mají MCV vyšší nežli 50 fl (Svoboda, 2008). Dále elevaci může zapříčiňovat onemocnění jater, či aplázie (nevyvinutí) dřene (Krč, 2007).

### **7.4.2 Hemoglobin erytrocytu a střední koncentrace hemoglobinu v erythrocytech**

Deprese vníká při anémii hypochromní, či z deficitu železa. U psa je v takovém případě hodnota MCH nižší než 22 pg a u kočky 12 (Doubek, 2003; Svoboda, 2008). Dále může deprese vzniknout při retikuloocytóze. Tento jev nastává ve chvíli, kdy jsou erythrocyty uvolňovány do oběhu, avšak nejsou ještě plně hemoglobinizovány (Profilová vyšetření, 2013).

Elevaci způsobují hematologické malignity, hyperchromní regenerativní anémie, či otrava olovem. O elevaci se jedná, pokud je hodnota MCH vyšší než 25 pg u psa a u kočky je hodnota MCH vyšší než 17 pg (Doubek, 2003; Svoboda, 2008).

### **7.4.3 Šíře distribuce erythrocytů**

Elevace je při anizocytóze. Jedná se o výskyt nestejně velkých erythrocytů při regenerativních anémiích, či hematologických malignitách (Doubek, 2003). V některých situacích lze sledovat tzv. dimorfní (dvojtvarou) populaci erythrocytů. Tato situace může nastat např. při podání tzv. transfúzních přípravků erythrocytů (Interpretace krevního obrazu, 2013).

Histogram erythrocytů podle MCV udává informace o normocytóze, přítomnosti erythroblastů při hematologických malignitách či mikrocytóze a makrocytóze (Doubek, 2003).



## **7.5 Počet leukocytů**

Počet leukocytů je závislý na konzumpci (spotřebování), krvetvorbě, redistribuci neboli uvolnění marginujících leukocytů, ale také fázi onemocnění a fázi infekce. Reakce leukocytů na různé patologické činitele rozlišuje jednotlivé druhy savců. Pes a kočka reagují na bakteriální infekci silným zvýšením počtu leukocytů. Příčinou změny počtu u jednotlivých bílých krvinek mohou obecně být např. konzumpce (spotřeba) buněk, poruchy tvorby a uvolňování do krevního oběhu, fáze onemocnění neboli infekční záněty, náhradní krvetvorba, zkrácené přežívání leukocytů, redistribuce. Při jakékoliv patologii by rozpočet leukocytů neměl být stanovován pouze přístrojem, ale i manuálně. Blastické elementy, které se v krvi mohou nalézat, řadí přístroj podle jejich optické struktury a velikosti mezi monocyty či lymfocyty. Přístroj bohužel neposoudí detailně morfologii krvinek (Doubek, 2003).

### **7.5.1 Leukopenie**

Leukopenie je snížený počet leukocytů. O leukopenii se jedná, pokud je počet leu nižší než  $6,0 \cdot 10^9/l$  u psů a  $7,0 \cdot 10^9/l$  u koček.

Způsobují ji virové infekce např. psinka, parvovirové onemocnění psů, imunodeficience nebo panleukopenie koček (Doubek, 2003; Svoboda, 2008). Další příčinou mohou být dřeňové útlumy neboli poškození kmenových krvetvorných buněk (Harvey, 2012). Mimo tyto buňky se mohou v krvi vyskytovat i myelotoxické chemikálie (benzen, toluen, olovo), metastázy do kostní dřeně, záření, ale i některé léky (cytostatika, chloramfenikol zejména u koček, nesteroidní antiflogistika,  $H_2$  blokátory). V neposlední řadě mohou leukopenii způsobovat protozoární infekce způsobené prvoky např. toxoplazmóza a leishmanióza, nebo i konzumpce, která se může objevit při akutní peritonitidě, nebo pleuritidě, či endometritidě (Doubek, 2003). Dále ji může způsobit myeloproliferativní, lymfoproliferativní onemocnění (zvýšená destrukce leukocytů a infiltrace tkáně). Leukopenii může způsobit selhání ledvin, intoxikace estrogeny, dekompenzovaný šok, neoplazie, anafylaxe, systémový lupus erythematosus (SLE) (Pecka, 2006; Svoboda, 2008).

### **7.5.2 Leukocytóza**

Zvýšení počtu leukocytů (Profilová vyšetření, 2013). O leukocytózu se jedná, pokud počet leu přesahuje hodnotu  $17,0 \cdot 10^9/l$  jak u psů, tak u koček (Svoboda, 2008). Její příčiny mohou být například záněty, bakteriální infekce, či malignity (Penka, 1994).

Dále pak infekční peritonitida koček, myeloproliferativní a lymfoproliferativní onemocnění, hypertyreóza koček, pyometra, pankreatitidy, kompenzovaný (traumatický) šok, akutní hemolytické anémie, stres, otrava těžkými kovy jako je olovo a rtuť (Svoboda, 2008). Další příčiny mohou být těžká traumata, hematomy, či onemocnění CNS, mezi které patří např. neoplazie, křečové stavy nebo krvácení. Dále ji mohou způsobovat terapie adrenalinem nebo kortikoidy, Cushingův syndrom, uremie, diabetické kóma, hypersenzitivity, krevní transfuze a v neposlední řadě tyroidální hormony. Fyziologicky se leukocytóza vyskytuje při excitaci a porodu (Doubek, 2003).

## **7.6 Počet trombocytů**

Za změnou počtu trombocytů může být jejich vysoká ztráta (zvýšené odbourávání ve tkáních, redistribuce ve slezině a spotřeba při koagulacích) nebo nedostatečná tvorba v kostní dřeni (Svoboda, 2008).

### **7.6.1 Trombocytopenie**

Neboli snížený počet trombocytů (Doubek, 2003). O trombocytopenii se jedná, pokud počet tromb klesne pod  $200 \cdot 10^9/l$  u psů a pod  $300 \cdot 10^9/l$  u koček (Svoboda, 2008). Trombocytopenii způsobují intoxikace (dřeňové útlumy, chemikálie, léky), infekční hepatitida psů, ehrlichioza, torze sleziny, hematologická onemocnění, lymfomy, virová leukemie koček (Harvey, 2012). Dalšími příčinami mohou být konzumpce jako např. DIC (Krč, 2007). Dále hemolyticko-uremický syndrom, anafylaxe, těžký deficit železa, Addisonova nemoc (u psů) a v neposlední řadě autoimunitní nemoci (autoimunitní trombocytopenie) (Doubek, 2003).

### **7.6.2 Trombocytóza**

Neboli zvýšený počet trombocytů. U psa se jedná o počet vyšší než  $500 \cdot 10^9/l$  a u kočky  $600 \cdot 10^9/l$ . Trombocytózu způsobují ji infekce, záněty, anémie posthemoragické a sideropenické (Svoboda, 2008). Tyto anémie způsobuje deficit železa a akutní ztráty krve (Harvey, 2012). Dále ji mohou zapříčínovat malignity, podávání kortikoidů, Cushingův syndrom, těžká traumata a šok, splenektomie, myeloproliferativní nemoci (esenciální trombocytémie, polycythemia vera) aj. Trombocytóza znamená přechodné zvýšení počtu trombocytů např. při infekcích, nebo zánětech (Svoboda, 2008). Trombocytémie je trvalé zvýšení počtu trombocytů např. při malignitách (Doubek, 2003).

Tab. II: Referenční intervaly u psů a koček

Parametr	Pes	Kočka
Erytrocyty ( $\cdot 10^{12}/l$ )	5,50-8,50	5,0-10,0 0
Hematokrit (l/l)	0,37-0,55	0,24-0,45
Hemoglobin (g/l)	120-180	80-150
MCV (fl)	65-75	35-50
MCH (pg)	22-25	12-17
MCHC (g/l)	300-340	290-340
Leukocyty ( $\cdot 10^9/l$ )	6-17	7-17
Retikulyocyty ( $\cdot 10^{12}/l$ )	0,0050-0,0150	0,0025-0,0160
Trombocyty ( $\cdot 10^9/l$ )	200-500	300-600

Zdroj: Svoboda, 2008; Švalec, 2017

## 8 Vyšetření krevního obrazu

Vyšetření krevního obrazu se skládá z preanalytické, analytické a postanalytické fáze. Krevní obraz se zjišťuje pomocí parametrů (ery, hgb, hct, tromb, MCH, MCHC, MCV a leu), které jsou probírány v předchozích kapitolách. Hematologické profily jsou rutinně používány pro hodnocení zdravotního stavu zvířat (Ochoa et al., 2019).

### 8.1 Laboratorní vyšetření

Laboratorní vyšetření je nedílnou součástí terapeutických a diagnostických postupů. Je zapotřebí sledovat výsledky a následné spojitosti dalších vyšetření, aby bylo možné správně zhodnotit nálezy zjištěné při laboratorním vyšetření (Doubek, 2003). Laboratorní vyšetření souvisí s klinickým a paraklinickým vyšetřením (Svoboda, 2008). Potřeba kontrolovat a zlepšovat kvalitu v klinických laboratořích rostla ruku v ruce s růstem technologického vývoje. Tím docházelo i k snižování analytických chyb (Plebani, 2017). Je nedílnou součástí dnešního rozvoje veterinární medicíny. Uvádí se, že 70 % lékařských rozhodnutí je založené na laboratorní diagnostice. Pro laboratorní vyšetření se používá biologický materiál a to např. krevní sérum, tkáňové biotáty, krev nebo krevní plazma, punktáty (efuze), moč, stolice, aj.

(Valenciano et al., 2014). Laboratorní vyšetření můžeme dělit podle potřeby a podle rychlosti provedení. Podle potřeby dále dělíme na speciální (nákladné, specializované laboratoře) a základní (rychle dostupné, cenově méně náročné). Podle rychlosti provedení dělíme na statimová (přednostní), rutinní a z vitální indikace (okamžité). Laboratorní vyšetření se může provádět i na místě (POCT, point of care testing). Využívají se k tomu různé diagnostické proužky (vyšetření heparinované krve nebo moči) (Svoboda, 2008).

### **8.1.1 Kritéria hodnot laboratorního vyšetření**

Laboratoř musí respektovat kritéria pro výsledky a hodnoty. Mezi tato kritéria patří splnění účelu vyšetření, např. stanovení diagnózy, kontroly léčby apod; spolehlivosti, tj. stálost a kvalita výsledků (citlivost, specifická) (Doubek, 2003). Další požadavky jsou reprodukovatelnost neboli dosahování stejných výsledků ve stejných situacích (klinických apod.); přesnost metody, tzn. dosahování maximálního přiblížení opakovatelných měření stejného vzorku; srovnatelnost, kdy by měly výsledky odpovídat výsledkům jiných laboratoří; dostupnost, což znamená odpovídající časová, kapacitní a ekonomická přijatelnost a poslední, avšak neméně důležitý je požadavek včasnosti a srozumitelnosti poskytovaných výsledků (Doubek et al, 2010).

### **8.1.2 Fáze laboratorního vyšetření**

Laboratorní vyšetření je soubor kontrolovaných činností, které jsou navazující na sebe. (Specifické rysy..., 2005). Proces lze rozdělit na tyto fáze:

#### **A. Fáze preanalytická.**

Zahrnuje přípravu pacienta a odběrového materiálu, vyplnění žádanky s vyznačením požadavků a dalších údajů, vlastní odběr vzorku, jeho transport, zpracování a uchování (Doubek et al., 2010; Breinek, 2014).

Příprava pacienta a odběrového materiálu spočívá v klidném zacházení se zvířetem a respektováním antiseptiky a aseptiky (Doubek, 2003; Pecka, 2010). Je třeba vhodně zvolit a použít protisrážlivý prostředek. Jinak hrozí změna složení krve (heparin poškozuje trombocyty a leukocyty, tudíž je naprosto nevhodný při morfologickém vyšetření) (Doubek, 2003). Dále je zapotřebí vybrat odběrový materiál (např. citrátovou krev je potřeba odebírat do plastových zkumavek, aby bylo zajištěno co nejpřesnější koagulační

vyšetření apod.) (Doubek et al., 2010). A závěrem se musí správně označit všechny vzorky, ať už odebraných neboli primárních, či zpracovaných neboli sekundárních. Při jakémkoliv nedodržení značení hrozí záměna (Pecka, 2010).

### ***Žádanka***

V žádance být uvedeny osobní údaje pacienta, identifikace žadatele o vyšetření, druh krve odebraného vzorku a čas odběru (Specifické rysy..., 2005; Doubek et al., 2010). Dále požadované vyšetření, druh služby, (normálně, urgentně) (tzv. STATIM). Závěrem podpis žadatele a datum (Doubek, 2003).

Každá zkumavka musí být zřetelně označená, a to celým jménem pacienta, datem a dobou odběru. Některé laboratoře vyžadují údaje o klinickém stavu pacienta, diagnózu, terapii a další vlivy (Svoboda, 2008; Doubek et al., 2010; Pecka, 2010).

### ***Odběr vzorku***

Vzorky krve se odebírají z kapilár a vén (Pecka, 2010).

Pro odběr vzorků se používá zkumavka s víčkem fialové barvy obsahuje antikoagulační činidlo ethylendiamintetraoctové kyseliny (EDTA). K vyšetření krevního obrazu je využívána nesrážlivá krev s antikoagulantem  $K_3EDTA$  nebo  $K_2EDTA$  (draselná sůl kyseliny ethylendiamintetraoctové) (Jack a Watson, 2012).

#### Místo odběru

##### Pes

U psa se krev odebírá z vena cephalica antebrachii (žíly horní končetiny) a fyziologická poloha v leže nebo sedě (Doubek, 2003), vena saphena (žíly dolní končetiny) zvíře leží v boční poloze (Svoboda, 2008) a vena jugularis (krční žíly) poloha vsedě (Schrey, 2010). Dále se krev může odebírat z artéria femoralis (stehenní tepny) u štěnat malý objem krve (Svoboda, 2008), dorzální ocasní žíly, kardiální punkce (punkce srdce) nebo polštářku na končetině (Schrey, 2010). Obtížnější místa pro odběr potřebují určitou zručnost a šikovnost, proto se používají jen zřídka (Doubek, 2003). Polštářek na končetině se používá pro krevní nátěr (Valenciano et al., 2014).

## Kočka

U kočky se krev odebírá z vena cephalica antebrachii (žíly horní končetiny) fyziologická poloha vleže nebo sedě (Svoboda, 2008), vena saphena (žíly dolní končetiny) zvíře leží v boční poloze (Doubek, 2003) a vena jugularis (krční žíly) poloha v sedě (Schrey, 2010). Za určitých okolností a zručnosti se dále může odebírat z artéria femoralis (stehenní tepny) u koťat malý objem krve, dorzální ocasní žíly, kardiální punkce (punkce srdce) (Doubek, 2003).

## Doba odběru

Nalačno (obvykle 12h hladovka, po odpočinku, periodě, nepřijímání léků a krmiva), pacienti trpící nechutenstvím plní požadavek nalačno, nejlépe ráno, u drobných savců by hladovka neměla trvat déle jak 6 hodin vzhledem k jejich vysoké úrovni metabolismu (Svoboda, 2008).

## Způsob odběru

Minimální komprese, pokud je to možné stálá poloha zvířete a fixace, omezení uvolňování aktivačních faktorů pomocí komprese kratší než 30 sekund, zvláště šetrný odběr musí být na hemokoagulační vyšetření (Doubek, 2003). Metoda dvou stříkaček (první na libovolná vyšetření a druhá pro hemokoagulační vyšetření z důvodu vyloučení interference uvolněného TF), kapilární krev odebrat pomocí malého vpichu v prokrveném místě. Krev nechat vytékat, nevytlačovat (Svoboda, 2008).

## ***Transport vzorku***

Transport musí být šetrný, bez vystavení vzorku nízké a vysoké teplotě, ořesům, nadměrným osvětlením; v co nejkratším čase mezi odběrem a příjmem, či vyšetřením vzorku (Doubek, 2003). Bezpečný, zajištění sterility a uchování vzorku (pomocí uzavřené odběrové nádoby). Je třeba upřednostnění transportu krevní plazmy nebo séra před krví plnou (krevní buněčné elementy představují vysoce fragilní kompartment) (Doubek, 2003; Svoboda, 2008). Retikulocyty se musí vyšetřit do 1 hodiny, koagulační faktory do 2 hodin (Svoboda, 2008; Doubek et al., 2010). Je zapotřebí zabezpečit speciální požadavky jako např. vzorky na vyšetření AB transportovat na tajícím ledu (Svoboda, 2008).

### ***Uchovávání vzorku***

Organizace práce jednotlivých laboratoří udává požadavky na uchovávání vzorků. Pro uchovávání vzorků je třeba zajistit podmínky, aby nebyla dotčena kvalita i kvantita vyšetřovaného vzorku (Svoboda, 2008). Způsob uchovávání ve stavu nativním, či s antikoagulačním (protisrážlivým) prostředkem, čas odběru a teplota uchovávání se odvíjí od druhu požadovaného vyšetření (Pecka, 2010). Uchování vzorku je možné i bez předchozího zpracování či po něm. Vzorky by měly být uchovávány v uzavřených zkumavkách. Pokud vzorky uchováváme při nízkých teplotách, měly by být rozděleny na menší vzorky (pro jednotlivé analýzy), protože opakované zmrazování a rozmrazování složky krve poškozuje. Sérum a plazma by měla být uchovávána v uzavřených nádobkách (ochrana před odpařením) (Doubek, 2003).

Tab. III: Způsoby uchovávání

Druhy vzorků	Zpracování – teplota	Zpracování – do doby	Uchovávání – teplota	Uchovávání – do doby
Nativní krev	18 - 25°C	2 hodiny	4°C	1 den
EDTA – Retikulocyty, krevní nátěry	18 - 25°C	1 hodina	20°C	1 den
EDTA – další vyšetření	18 - 25°C	2 hodiny	20°C	1 den
Citrátová krev	18 - 25°C	2 hodiny	20°C	2 dny
Citrátová plazma	18 - 25°C	2 hodiny	-20°C	2 dny
			-70°C	2 a více dní
Sérum	18 - 25°C	2 hodiny	-20°C	30 dnů
	4°C	10 dní	-40°C	30 a více dní

Zdroj: Doubek, 2003; Pokyny... © 2017

### ***Příprava vzorku***

Temperování u vzorků, které jsou uchovávány při nízkých teplotách (na pracovní teplotu je potřeba stoupnout postupně a pozvolna, jinak hrozí hemolýza). Šetrné promíchání (jinak hrozí poškození buněk a aktivace koagulace).

Další postup se odvíjí dle užití metody (Doubek, 2003). Vzorek se vloží do analyzátoru podle požadavků, zvolí se typ vyšetření a počká se na výsledek. U každého analyzátoru je specializovaný laborant (Laboratorní příručka, 2018).

### ***Zpracování vzorku***

Zpracování vzorku krve musí být provedeno co nejdříve po jeho odběru. Centrifugace je nejčastěji využívána pro zpracování krve k analytickým účelům (Doubek, 2003). Pacuje s gravitační silou, která díky rotacím oddělí složky krve od sebe. Velikosti gravitační síly se odvíjí od počtu otáček a velikosti rotoru. (Pecka, 2010).

### ***Míchání krve***

Předpokládá se, že pro další vyšetření krevního obrazu, byl vzorek krve čerstvý a správně odebraný do zkumavky kyseliny ethylendiamintetraoctové (EDTA). Jestliže se provádí hematologické vyšetření, je důležité, aby byla krev dobře promíchána. Buněčné složky se mohou rychle usazovat, zatímco je zkumavka umístěna na pultu nebo ve stojanu. Míchání lze provést ručním převrácením zkumavky sem a tam, či pomocí přístroje, který je určený k promíchávání vzorků (Jack a Watson, 2012).

## **B. Fáze analytická.**

Je určení přítomnosti a případně množství zkoumané vlastnosti či parametru. Způsoby stanovení jsou závislé zejména na vybavení jednotlivých laboratoří. Vybavení se odvíjí od zaměření laboratoře, množství prováděných vyšetření a finančních prostředků.

Prostory potřebné k příjmu vzorků, pomocné laboratorní místnosti, pracovní laboratoře, administrativní a denní místnost, místnost pro odpad, sklad materiálu aj.

Zařízení nábytku, klimatizace, zavedení elektřiny, vody, osvětlení a instalace plynu.

Přístroje základní jako jsou např. mikroskopy s imerzním objektivem, fotometr (hemoglobinometr), centrifugy, chladničky a mrazničky, počítače krvinek, termostaty, sterilizátory, váhy, pipety, laboratorní míchačky, dávkovače atd (Doubek, 2003).

Přístroje speciální, mezi které se řadí koagulometry, agregometry, multiparametrové analyzátory, průtokové a chlazené odstředivky, denzitometry, fluorescenční mikroskop, chromatograf, denzitometry, průtokový cytometr, fluorescenční mikroskop, imunoanalyzátory, zařízení pro PCR neboli polymerázovou řetězovou reakci.

Materiálové vybavení, které může být na jedno použití (plastový), materiál spotřební (reagencie), či na více použití (mikropipety) (Valenciano et al., 2014).

U období preanalytické a analytické fáze probíhá automatizace laboratorního vyšetření pomocí automatických analyzátorů (Doubek, 2003). Automaty usnadňují a urychlují práci. Snižují výskyt chyb, ale mohou vzniknout případy, kdy je hodnota získaná měřením jiná, než udává referenční interval a v takových situacích je třeba provést jinou



(manuální) metodu, například diferenciální rozpočet bílých krvinek. Pro jednotlivá stanovení jsou vypracovány standardní operační postupy (SOP) (Svoboda, 2008).

Analytickou fází se rozumí vlastní zpracování požadavků na vyšetření biologického materiálu v laboratoři. Statistika uvádějí, že tvoří jednu čtvrtinu času z celkové doby od odběru vzorku do doby dodání výsledku ošetřujícímu lékaři (Laboratorní příručka, 2018).

Díky chybovosti je analytická fáze, dle statistik, nejméně významná. Ošetřena je systémem vnějších a vnitřních laboratorních kontrol a souborem pokynů pro údržbu laboratorních analyzátorů (Farkačová, 2007).

### ***Příčiny odchylek***

Mezi příčiny odchylek patří například stres, který ovlivňuje redistribuci krve ze zásobáren, tím se zvyšuje počet erytrocytů, hodnota hematokritu, případně množství hemoglobinu, dále počty leukocytů a neutrofilů. Fyzická námaha, která zvyšuje hodnoty hematokritu a koncentraci hemoglobinu (Doubek, 2003). Kontakt s antiseptikem, kdy chemická hemolýza způsobí aktivování koagulace, hlavně při první kapce u odběru kapilární krve. Rychlá aspirace, rychlé vyprázdnění stříkačky pomocí jehly, vysoké otáčky při centrifugaci apod. způsobují poškození buněk (např. aktivace faktorů koagulace nebo mechanická hemolýza), aktivace koagulačních faktorů (Doubek, 2003; Doubek et al., 2010). Další příčina může být nestejná poloha těla. V důsledku gravitace jsou při odběru krve z končetinových žil u velkých a středních zvířat vestoje, oproti zvířatům vleže, zvýšené počty buněčných elementů, zvýšené hodnoty hematokritu a množství hemoglobinu (Chyby a omyly..., 2014). Při odběru v jakékoliv poloze zvířete z místa vpichu pomalu vytéká krev, čímž se sníží počet trombocytů (adheze k okrajům vpichu), což má za následek vznik odchylek. Krev odebraná na heparin ovlivňuje shlukování erytrocytů, poškození trombocytů a leukocytů. Hemoglobin, který se uvolňuje při hemolýze, může ovlivňovat výsledky různých analýz kvůli možné reakci s činidly. Například fotometrické analýzy znehodnotí červená barva hemoglobinu. Vytlačování kapilární krve způsobí zředění vzorku intersticiální tekutinou (Doubek, 2003). Použití mokré jehly má za následek osmotickou hemolýzu (rozpad erytrocytů). Dále zmrznutí krve nebo naopak působení vysoké teploty neboli termická hemolýza způsobují časté odchylky (Doubek, 2003; Doubek et al., 2010).

### **C. Fáze postanalytická.**

Obsahuje výpočty manuálních a některých přístroji prováděných metod, odeslání výsledků a jejich následné použití ze strany klinického pracoviště. S prováděným vyšetřením musí být řádně vedena dokumentace, která musí být efektivní a při jakékoliv změně vyšetření se musí měnit i ona. Nejdůležitější část fáze postanalytické je správné hodnocení a interpretace výsledků. To není možné bez správného použití referenčních hodnot (Doubek, 2003). Laboratoř může stanovit profily (skupiny vyšetření) anebo algoritmy (postupnost vyšetření). Tato opatření jsou důležitá pro šetrná, efektivní a ekonomická vyšetření. Správné stanovení a dodržení opatření vede k úspoře času, nákladů potřebných k provedení vyšetření a v neposlední řadě šetří pacienta, kterého mohou vyšetření značně vysilovat (Valenciano et al., 2014). Výsledky vyšetření, zejména krve, jsou ovlivňovány různými fyziologickými faktory jako např. fáze reprodukce, věk, pohlaví, plemeno, rytmicita sekrece u hormonů, použitou metodou nebo odběrem materiálu (Svoboda, 2008). Postanalytická fáze zahrnuje správnou klinickou interpretaci laboratorních výsledků a vzájemnou komunikaci mezi laboratoří a žadatelem (Racek, 2006). Po provedení vyšetření jsou výsledky z analyzátorů převedeny do informačního laboratorního systému. Správnost výsledků je ověřena na úrovni laborantské kontroly. Po erifikaci pracovníkem, který je odpovědný (úroveň vysokoškolské kontroly), jsou výsledky uvolněny žadateli ve formě elektronické a tištěné (Farkačová, 2007). Tištěná podoba výsledků je žadatelům dopravována svozovými auty. Pokud se jedná o statimové výsledky, jsou sdělovány elektronickou formou nebo telefonicky. Vyšetření pacientů samoplátců se vytisknou a vydávají se přímo do rukou žadatele v obálce, která je zalepená (Racek, 2006). Pacientům se výsledky mohou vydat pouze, pokud na žádance od lékaře je písemný souhlas s vydáním výsledku, nebo to jsou samoplátci. Při vydání výsledků do rukou pacienta samoplátce je pracovník laboratoře oprávněn požadovat doklad totožnosti (Laboratorní příručka, 2018).

### ***Vydání kritických výsledků***

Jedná-li se o výsledky výrazně patologické, sdělují se žadateli neprodleně. Bez ohledu, zda byly vyšetřeny v režimu rutinním nebo statimovém (Laboratorní příručka, 2018). Za hlášení těchto výsledků je zodpovědný laborant, který u analyzátoru pracuje, a jím byl i výsledek stanoven (Farkačová, 2007). Výsledek před sdělením žadateli se pro kontrolu ještě zopakuje a po jeho potvrzení se sděluje (Specifické rysy..., 2005). Laborant provede elektronický záznam do žádanky. K metodě, kterou prováděl, se komentářem sdělí, že byla provedena „opakovaně“ (Breinek, 2014). Dále se napíše, kdy a jakou formou byla kritická hodnota hlášena. Záznamy jsou uvedeny a vytisknuty na výsledkovém listu a zároveň skladovány společně s žádankou v podobě elektronické (Laboratorní příručka, 2018).

### **8.2 Referenční hodnoty**

Při vyhodnocení výsledků je nutné mít k dispozici referenční hodnoty pro určitý parametr u zdravých jedinců. Referenční hodnoty jsou ohraničeny referenčními mezemi (dolní a horní), mezi nimi leží referenční interval (rozmezí) (Valenciano et al., 2014). Pojem referenční hodnota jednoznačně nahradil pojem normální hodnota, protože nelze přesně vymežit hranici mezi nemocným a zdravým jedincem. Výsledky jsou ovlivňovány rozdílnými podmínkami, fyziologickými odchylkami a postupy uplatněnými jak v preanalytické, tak v analytické fázi vyšetření (Doubek, 2003). Referenční hodnoty jsou hodnoty laboratorního vyšetření, mezi kterými leží většina naměřených hodnot daného souboru jedinců. Za většinu považujeme 95 % výsledků. Pokud je dostatečně velké množství dat pro výpočet referenčních hodnot pro zdravé jedince určitého druhu, lze provést jejich zařazení podle kategorií zvířat (věk, pohlaví atd.) (Harvey, 2012). Zdravé jedince můžeme charakterizovat absencí anamnézy závažného onemocnění a jsou bez probíhajícího onemocnění, tudíž bez odchylek laboratorního a klinického vyšetření, za uplatnění standardních podmínek a postupů v celém průběhu laboratorního vyšetření. Vedle referenčních hodnot se uvádí i tzv. kritické hodnoty. Kritická hodnota je hranice, za kterou je život pacienta ohrožen (Svoboda, 2008).

Mladá zvířata mají tendenci mít relativně nízký hematokrit. Dále také aktivně nahrazují plodové (fetální) červené krvinky dospělými erytrocyty. Mají větší erytrocytární anizocytózu, polychromazii a vyšší pohybovou aktivitu jaderných

červených krvinek v porovnání s dospělými jedinci. U mladých zvířat je běžný relativně vysoký počet lymfocytů, avšak mohou mít lymfopenii štěňata a koťata mladší 6 měsíců, pokud jejich počet lymfocytů klesne pod 2000 buněk / $\mu$ l (Valenciano et al., 2014).

### **8.3 Hematologické vyšetření**

Toto vyšetření zahrnuje zkoumání vzorků periferní (obvodové) krve, kostní dřeně, sleziny, jater a případně mízních uzlin. Vyšetření můžeme rozdělit na kvantitativní (numerické testy), funkční a kvalitativní (morfologické). Použité metody na automatizované, přístrojové a manuální (Doubek, 2003) Mezi kvantitativní (numerické testy) řadíme určení základních hodnot erytrocytu (MCV, MCH, MCHC), počet erytrocytů, leukocytů, retikulocytů, množství hemoglobinu a stanovení hematokritu. (Uhríková, ©1993; Svoboda, 2008).

K hematologickému vyšetření patří také koagulační vyšetření, které slouží mimo jiné ke zjištění stavu hemostázy. Testy koagulačního vyšetření pracují např. na funkci krevních destiček, či na sledování antitrombotické léčby. (Svoboda, 2008; Pecka, 2006).

#### **8.3.1 Hematologické postupy**

Krev odebraná pro kompletní krevní obraz (CBC) je analyzována do dvou hodin. Po analyzování by měl se připravit krevní nátěr a pro delší uchování by se měla zkumavka dát chladič. Jestliže se krev uchovává ve zkumavce v pokojové nebo ve vyšší teplotě, mohou být hodnoty zkresleny, avšak u některých analytických systémů s diferenciální schopností se laboratořím doporučuje uchovávat vzorky při pokojové teplotě (Harvey, 2012). Krev by nikdy neměla být zmrazena, protože poté dochází k lýze (rozpadu) buněk. Pro hematologické měření by měla být EDTA zkumavka naplněna do určitého objemu (Valenciano et al., 2014). Nedoplnění zkumavky (nadměrná EDTA) může naředit vzorek a tím zkreslit RBC, naopak přeplnění zkumavky (nedostatečná EDTA) může vést k tvorbě sraženin (Thrall, 2012). Kontaminace tkání během venipunktury vede k agregaci krevních destiček, a to snižuje jejich koncentraci, tudíž je třeba se jí vyvarovat (Valenciano et al., 2014).

Je důležité zvážit variace (odchyly) ve výsledcích testů, které by mohly souviset např. s věkem, plemenem, nebo pohlavím. Je nutno brát v úvahu tyto charakteristiky při vyhodnocování možných rozdílů u hodnot, které se nacházejí mimo referenční interval (zejména u mírně abnormálních hodnot) (Jack a Watson, 2014).

### 8.3.2 *Druhy vyšetřovaných vzorků*

Pro hematologické vyšetření se používá buď plná krev (nezpracovaná) nebo pouze její části (Doubek, 2003; Harvey, 2012). Krev se odebírá do zkumavek, ve kterých je antikoagulační neboli protisrážlivý prostředek, zřídka se použije krev nativní. Protisrážlivý prostředek pracuje na principu vyvázání vápníku (Doubek, 2003).

Tab. IV: Druhy vyšetřovaných vzorků

Druh vzorku	Druh vyšetření
Nativní krev	imuno hematologické vyšetření
EDTA	hematologická vyšetření a speciální imuno hematologické vyšetření
Citrátová krev	Sedimentace erytrocytů, koagulační testy, funkční hematologická vyšetření
Citrátová plazma – chudá na tromb	Základní hemokoagulační vyšetření
Citrátová plazma – bohatá na tromb	Speciální hemokoagulační vyšetření
Oxalátová plazma	Speciální hemokoagulační vyšetření
Sérum	Imuno hematologická vyšetření
Defibrinovaná krev	Imunologické vyšetření

Zdroj: Doubek, 2003; Doubek et al., 2010

Jak udává tabulka IV. u všech vyšetřovaných druhů vzorků, krom defibrinové krve, lze využít různé druhy hematologické vyšetření. Pro defibrinovanou krev se využívá imunologické vyšetření.

#### ***Zkumavky pro odběr vzorků***

Pro odběr krve se používá řada komerčně dostupných zkumavek. Tyto zkumavky obsahují vhodný antikoagulant pro různé diagnostické postupy (Harvey, 2012). Tyto zkumavky mohou být uzavřeného typu tzv. vakuové (např. výrobce Becton- Dickinson), nebo otevřeného typu. Jsou běžně označovány podle barvy zátky, která se používá k identifikaci typu antikoagulačního systému, který zkumavka obsahuje (Jack a Watson, 2014).

## **9 Cíle práce a hypotézy**

Cílem této práce je stanovit u pěti set veterinárních vzorků hodnoty krevního obrazu. Porovnány jsou veterinární vzorky u psů a koček. Od každého rodu zvířete bylo získáno 250 vzorků a tedy i 250 výsledků krevního obrazu. U získaných hodnot byla posouzena shoda mezi jednotlivými parametry krevního obrazu (pes x kočka).

Hypotézy:

- 1) psi mají stejné množství leukocytů jako kočky.
- 2) psi mají stejné množství hemoglobinu jako kočky.
- 3) psi mají stejné hodnoty hematokritu jako kočky.
- 4) psi mají stejné množství erytrocytů jako kočky.
- 5) psi mají stejné množství trombocytů jako kočky.

## 10 Metodika

Pro zhodnocení podobnosti mezi vybranými parametry krevního obrazu u psů a u koček bylo získáno 250 vzorků od každého ze zmíněných druhů. Vzorky byly vybírány náhodně, bez ohledu na diagnózu, tak jak přicházely z veterinárních ordinací do laboratoře synlab czech, s.r.o., České Budějovice, v období od roku 2018 do roku 2019. Odběr vzorků, jejich transport do laboratoře a zpracování před samotnou analýzou, analýza i postanalytická fáze probíhaly podle příslušných směrnic společnosti synlab czech, s.r.o.

Vzorky k vyšetření krevního obrazu jsou odebírány do zkumavek BD Vacutainer obsahujících antikoagulant  $K_3EDTA$ . Důležité je dodržení správného poměru antikoagulantu a odebrané krve. Po odběru jsou vzorky bez zbytečného prodlení doručeny za stálého zajištění pokojové teploty do laboratoře, kde prochází kontrolou na příjmu materiálu a poté jsou do pěti hodin od odběru zpracovány.

Vyšetření krevních obrazů probíhalo na automatickém analyzátoru Sysmex XN 1000, dodavatel Sysmex Corporation, rok výroby 2017, zavedení analyzátoru do provozu laboratoře synlab czech, s.r.o., České Budějovice 12/2017. Analyzátor je schopen stanovit celou řadu parametrů krevního obrazu, pro účely výzkumu byly vybrány pouze následující:

- Množství erytrocytů.
- Množství hemoglobinu.
- Hodnoty hematokritu.
- Množství leukocytů.
- Množství trombocytů.

Erytrocyty jsou měřeny hydrodynamickou fokusací. Hodnota je udávána  $\cdot 10^{12}/l$ . Hematokrit je měřen impedančně po měření erytrocytů. Jeho hodnota je udávána v  $l/l$ . Hemoglobin je měřen spektrofotometricky po lýze erytrocytů. Jeho hodnota je udávána v  $g/l$ .

Leukocyty jsou měřeny fluorescenční průtokovou cytometrií. Hodnota se udává  $\cdot 10^9/l$ .

Trombocyty jsou měřeny fluorescenční průtokovou cytometrií nebo hydrodynamickou fokusací. Hodnota je udávána  $\cdot 10^9/l$ .

Hodnoty zkoumaných parametrů se dále třídí podle druhu a věku zvířete, byl vypočítán průměr, medián, modus. Pro každý parametr a každý druh zvířete byl spočítán průměr pro věkovou skupinu:

- Méně než jeden rok.
- Od jednoho roku do šesti let.
- Od šesti let do deseti let.
- Od deseti let do patnácti let.
- Od patnácti let do dvaceti let.
- Skupina, u níž nebyl laboratoři věk zvířete sdělen.

Takto získané průměry u psů byly porovnány s příslušnými průměry u koček.

K porovnání jednotlivých parametrů psů a koček podle věku byl použit statistický test chí kvadrát.



## 11 Výsledky

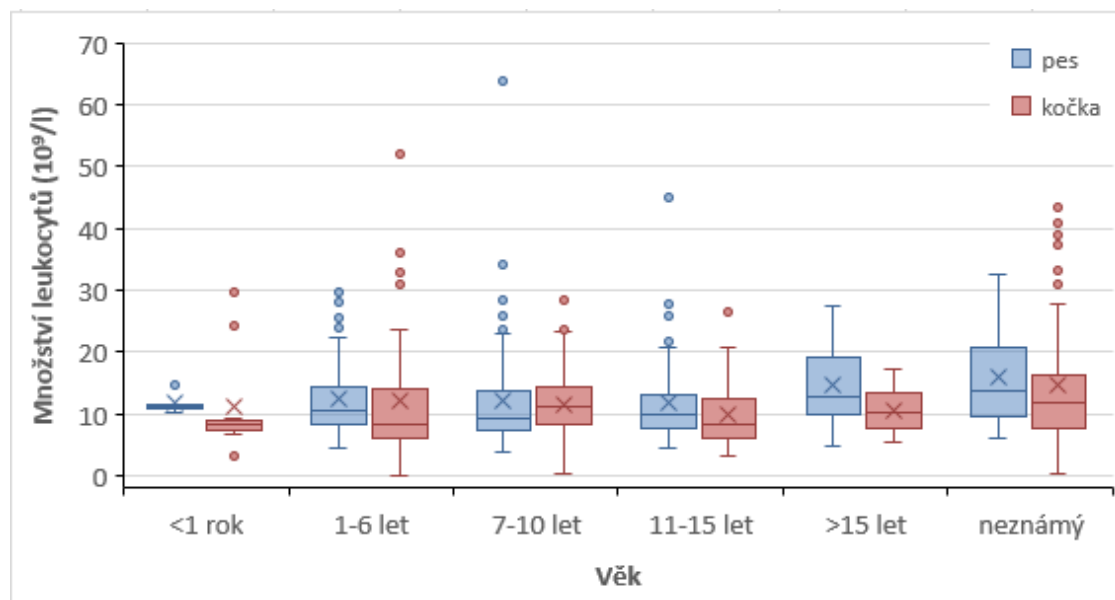
Cílem praktické části bylo porovnání hodnot krevních obrazů u zvířat. Konkrétně se jednalo o kategorie psů a koček. Přelom roku 2018/2019 jsem v laboratoři synlab České Budějovice s.r.o. sbírala vzorky. Pracovala jsem s 250 vzorky psů a s 250 vzorky koček. Všechny vzorky byly vyšetřeny na přístroji Sysmex XN 1000. Zvířata byla dále rozdělena podle věkových skupin. Ve vzorcích, které jsme získala, jsem pozorovala 5 hlavních parametrů. Jedná se o tyto parametry: bílé krvinky, hemoglobin, hematokrit, červené krvinky a trombocyty. Parametry jsem porovnávala s referenčními hodnotami, které jsou uvedené v tabulce I.

U vzorků krve zvířat jsme porovnávali koncentrace na základě rozdělení podle věkových skupin. Zvířata jsem rozdělila do 6 věkových skupin. Jsou to tyto skupiny: <1; 1 – 6; 7 – 10; 11 – 15; >15 a neznámý věk.

Každý námi zjišťovaný parametr má zpracovaný obrázek s grafem a tabulku, kde jsou vypočteny hodnoty minimum, maximum, průměr, směrodatná odchylka, 1. kvartil, medián a 3. kvartil. Dále každému parametru náleží obrázek s grafem, ve kterém je uvedeno procentuální rozdělení vzorků, dle hodnot nejen v mezích referenčních intervalů (RI), ale i s nižšími nebo naopak vyššími hodnotami. Rozdělení vzorků podle RI zobrazují i tabulky u jednotlivých parametrů, kde jsou uvedeny konkrétní počty vzorků. Výpočty byly provedeny zvlášť pro psy a zvlášť pro kočky.

## 11.1 Leukocyty

Na obrázku 1 jsou vyneseny množství leukocytů u srovnávaných druhů v závislosti na věku zvířete. Je vidět, že naměřené hodnoty se mezi druhy ani mezi jednotlivými věkovými skupinami příliš neliší.



**Obr. 1: Množství leukocytů u psů a koček podle věkových kategorií.**

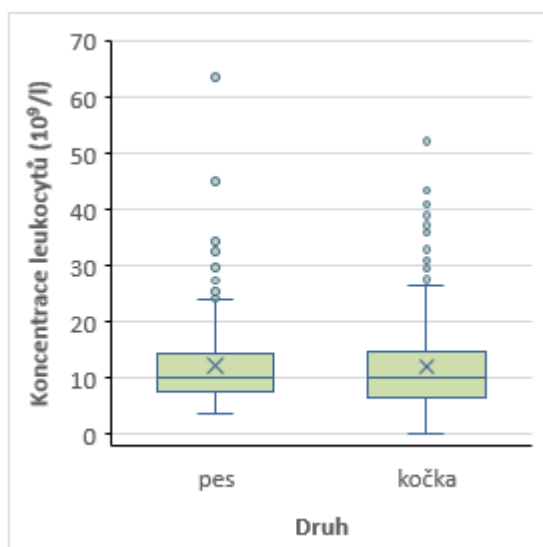
Krabicový graf na obrázku 1 obsahuje hodnoty minimum, 1. kvartil, medián, 3. kvartil a maximum. Křížek označuje pozici průměru.

V tabulce V jsou hodnoty popisné statistiky pro srovnávané druhy zvířat.

Tab. V.: Koncentrace leukocytů u psů a koček.

Leukocyty ( $10^9/l$ )	Druh	
	pes	kočka
Průměr	12,30	12,00
směrodatná odchylka	7,40	8,10
minimum	3,80	0,20
1. kvartil	7,80	6,70
Medián	10,00	10,20
3. kvartil	14,28	14,60
maximum	63,70	52,10

Data v obou skupinách jsou zešíkmená zprava, tj. vyskytují se odlehlé hodnoty s vysokou koncentrací leukocytů, jak dokládá krabicový graf na obrázku 2.



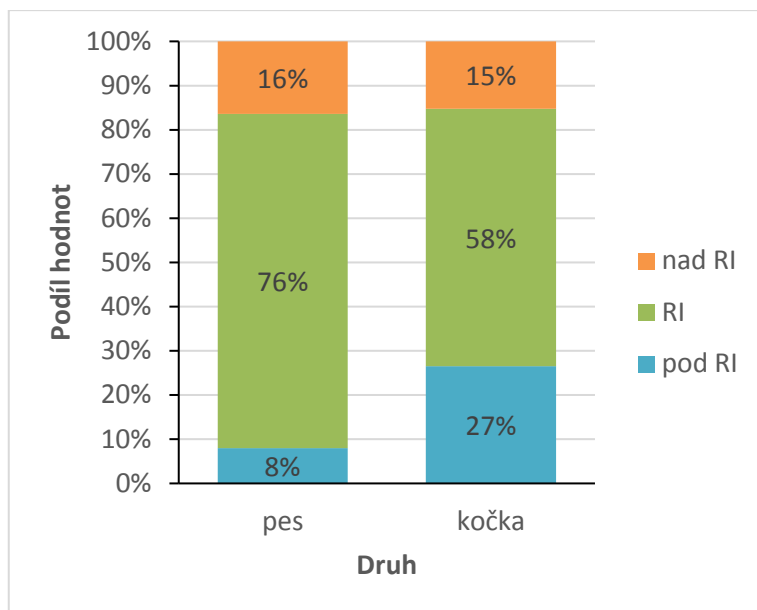
**Obr. 2: Koncentrace leukocytů u srovnávaných druhů.**

Při srovnání koncentrací leukocytů u psů a koček nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl (test Mann-Whitney,  $p = 23,9 \%$ ).

Vzhledem k tomu, že pro studované skupiny existují rozdílné referenční intervaly (RI) koncentrace leukocytů [ $6,0 - 17,0 \cdot 10^9/l$  pro psy,  $7,0 - 17,0 \cdot 10^9/l$  pro kočky; (Svoboda, 2008; Švalec, 2017, Řeháková, 2007)], bylo rovněž prozkoumáno zastoupení těchto intervalů. Výsledky uvádí tabulka VI a graf na obrázku 3.

Tab. VI.: Zastoupení referenčních intervalů (RI) leukocytů u studovaných druhů.

Leukocyty	Druh		Celkem	Druh	
	pes	kočka		Pes	kočka
pod RI	20	66	86	8 %	27 %
RI	189	146	334	76 %	58 %
nad RI	41	38	79	16 %	15 %
Celkem	250	250	499	100 %	100 %

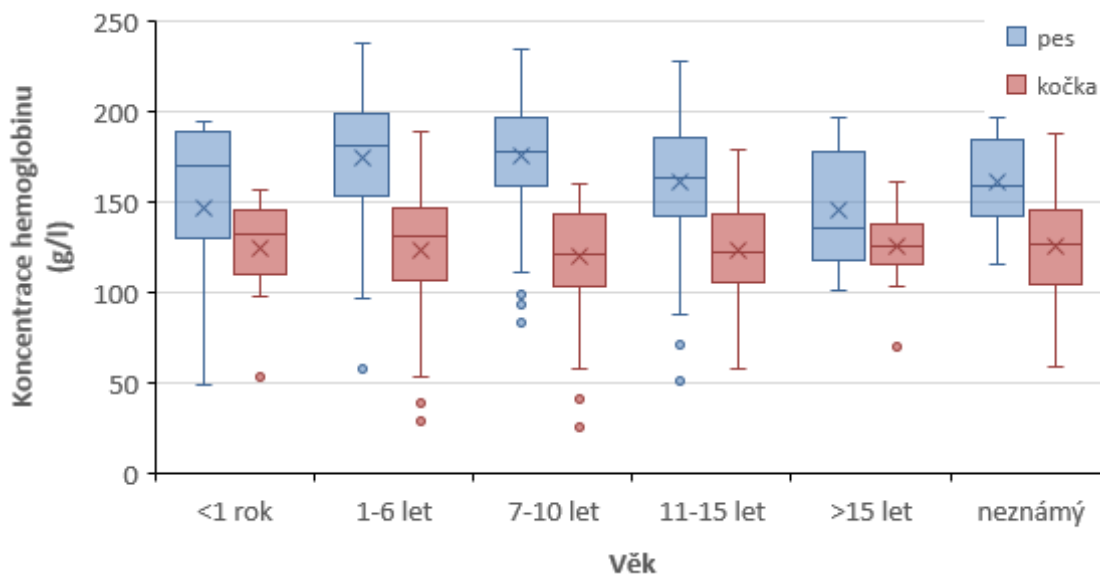


**Obr. 3: Zastoupení referenčních intervalů pro leukocyty u srovnávaných druhů.**

Srovnání zastoupení RI pomocí testu chí kvadrát prokázalo statisticky významné rozdíly mezi srovnávanými skupinami ( $p < 0,1 \%$ ). Liší se především zastoupení skupiny pod normou – u koček se v této kategorii vyskytuje více než čtvrtina hodnot, na úkor prostřední kategorie.

### **11.2 Hemoglobin**

Na obrázku 4 jsou zobrazeny koncentrace hemoglobinu u srovnávaných druhů v závislosti na věku zvířete. Naměřené hodnoty jsou u psů vyšší nežli u koček napříč všemi věkovými skupinami.



**Obr. 4: Koncentrace hemoglobinu u psů a koček podle věkových skupin.**

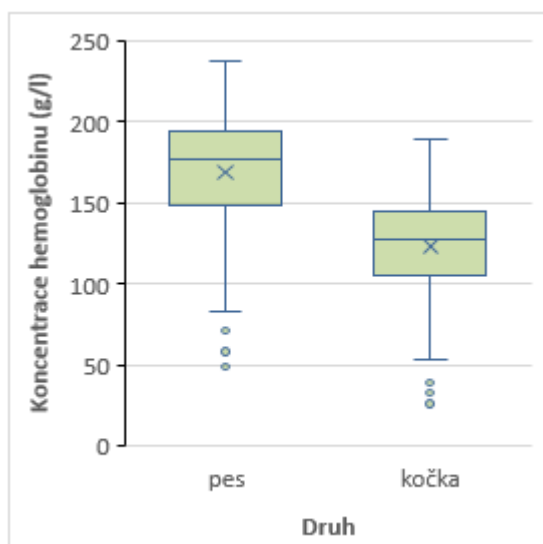
Graf na obrázku 4 vyobrazuje hodnoty minimum, 1. kvartil, medián, 3. kvartil a maximum. Křížek značí průměr.

V tabulce VII jsou uvedeny hodnoty popisné statistiky srovnávaných druhů zvířat.

Tab. VII.: Koncentrace hemoglobinu

Hemoglobin (g/l)	Druh	
	pes	kočka
Průměr	169	123
směrodatná odchylka	35	32
minimum	49	26
1. kvartil	148	105
medián	177	128
3. kvartil	194	145
maximum	238	189

Data u obou skupin jsou zešikmená zleva, tj. vyskytují se odlehle hodnoty s nízkou koncentrací hemoglobinu, což dokazuje i graf na obrázku 5.



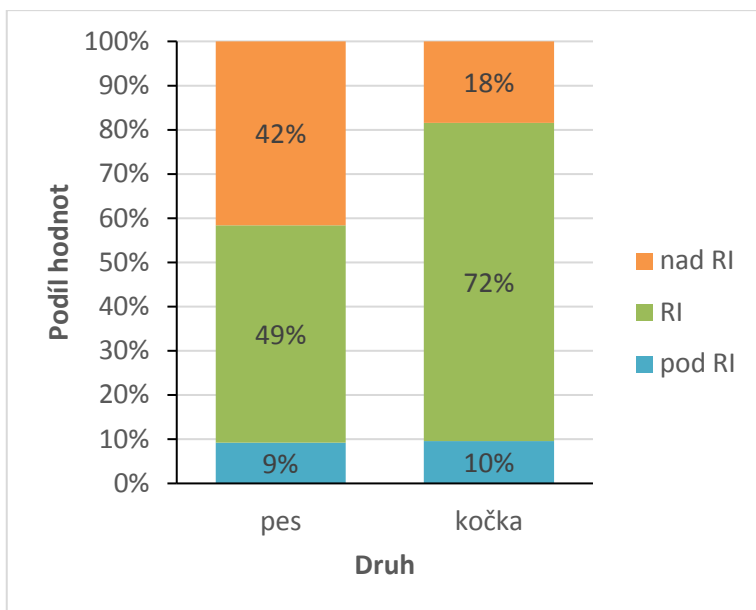
**Obr. 5: Koncentrace hemoglobinu u srovnávaných druhů.**

Po srovnání množství hemoglobinu u psů a koček je jasné, že psi mají statisticky vyšší hodnoty množství hemoglobinu než kočky (test Mann-Whitney,  $p < 0,1$  %).

Jelikož pro studované skupiny existují rozdílné referenční intervaly (RI) množství hemoglobinu [120 - 180 g/l pro psy, 80 - 150 g/l pro kočky (Svoboda, 2008; Švalec, 2017, Řeháková, 2007)], bylo dále prozkoumáno zastoupení těchto intervalů. Výsledky jsou uvedeny v tabulce VIII a obrázku 6.

Tab. VIII.: Zastoupení referenčních intervalů (RI) hemoglobinu u studovaných druhů

Hemoglobin	Druh		Celkem	Druh	
	pes	Kočka		Pes	kočka
pod RI	23	24	47	9 %	10 %
RI	123	180	303	49 %	72 %
nad RI	104	46	150	42 %	18 %
Celkem	250	250	500	100 %	100 %

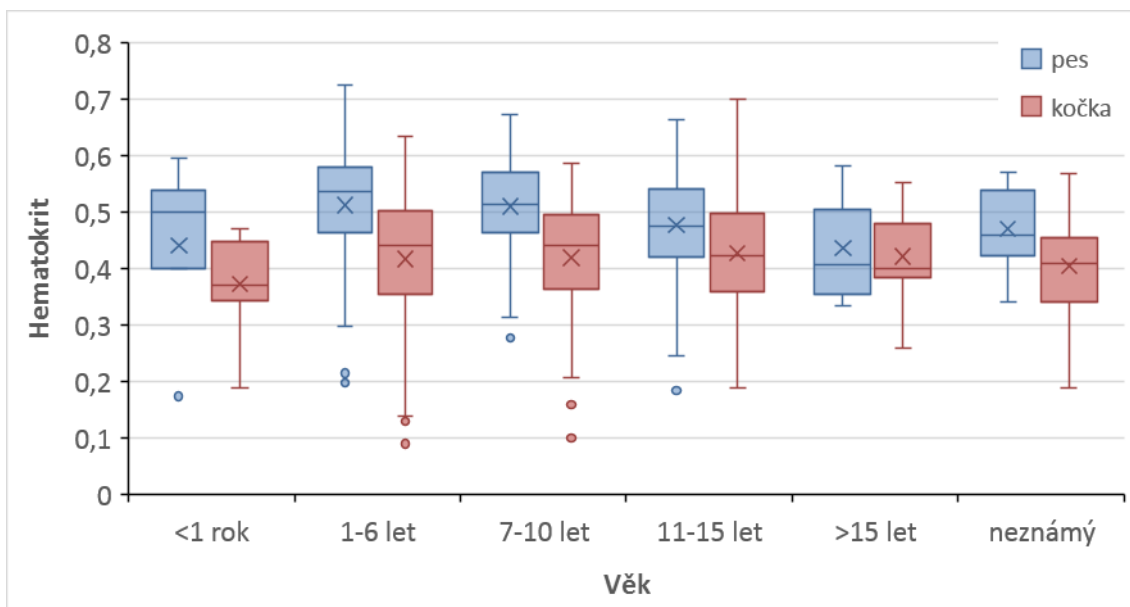


**Obr. 6: Zastoupení referenčních intervalů hemoglobinu u studovaných druhů**

Srovnáním zastoupení RI pomocí testu chí kvadrát prokázalo statisticky významné rozdíly srovnávaných skupin ( $p < 0,1 \%$ ). Liší se především zastoupení skupiny nad normou – u psů se vyskytuje nadpoloviční podíl hodnot mimo referenční interval.

### 11.3 Hematokrit

Obrázek 7 ukazuje hodnoty hematokritu u srovnávaných věkových skupin, které jsou u psů vyšší ve všech věkových kategoriích.



**Obr. 7: Hodnoty hematokritu u psů a koček podle věkových skupin.**

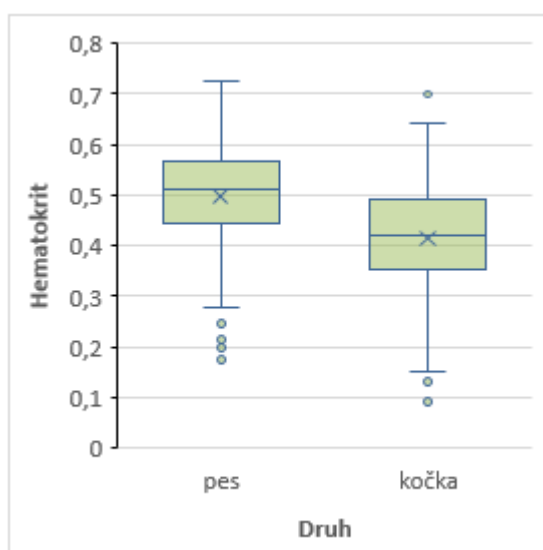
Graf na obrázku 7 vyobrazuje hodnoty minimum, 1. kvartil, medián, 3. kvartil a maximum. Průměr je znázorněn křížkem.

V tabulce IX jsou uvedeny hodnoty popisné statistiky srovnávaných druhů zvířat.

Tab. IX.: Hodnoty hematokritu

Hematokrit (l/l)	Druh	
	Pes	kočka
Průměr	0,50	0,42
směrodatná odchylka	0,10	0,11
Minimum	0,17	0,09
1. kvartil	0,45	0,35
Medián	0,51	0,42
3. kvartil	0,57	0,49
Maximum	0,72	0,70

Data u obou skupin jsou zešikmená zleva, tj. vyskytují se pacienti s nízkou hodnotou hematokritu, což dokazuje i graf na obrázku 8.



**Obr. 8: Hodnoty hematokritu u srovnávaných druhů.**

Po srovnání hodnot hematokritu u psů a koček lze vidět, že u psů jsou statisticky vyšší hodnoty hematokritu než u koček (test Mann-Whitney,  $p < 0,1$  %).

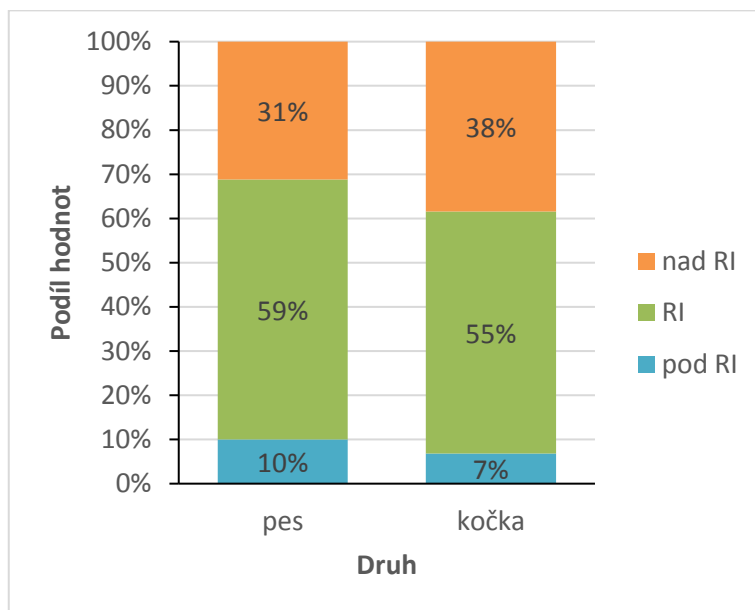
Pro studované skupiny existují rozdílné referenční intervaly (RI) hodnoty hematokritu [0,37 – 0,55 l/l pro psy, 0,24 – 0,45 l/l pro kočky (Svoboda, 2008; Švalec, 2017, Řeháková, 2007)], bylo zapotřebí zjistit zastoupení těchto intervalů.

Výsledky jsou uvedeny v tabulce X a obrázku 9.



Tab. X.: Zastoupení referenčních intervalů (RI) hematokritu u studovaných druhů

Hematokrit	Druh		Celkem	Druh	
	Pes	Kočka		Pes	kočka
pod RI	25	17	42	10 %	7 %
RI	147	137	284	59 %	55 %
nad RI	78	96	174	31 %	38 %
Celkem	250	250	500	100 %	100 %

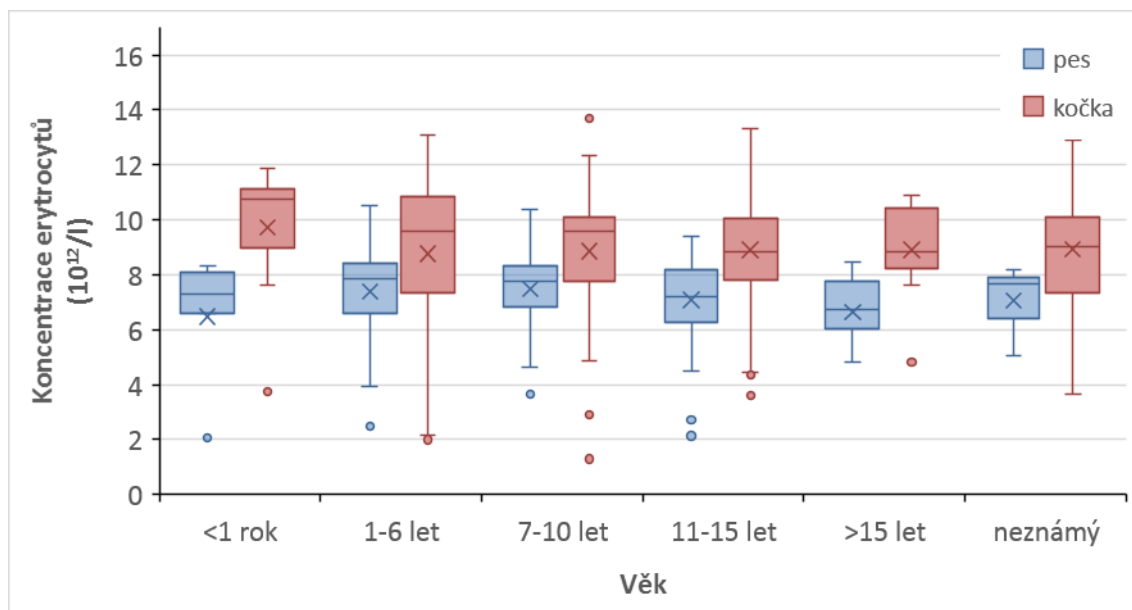


**Obr. 9: Zastoupení referenčních intervalů hematokritu u studovaných druhů**

Srovnání zastoupení RI pomocí testu chí kvadrát ukázalo, že se srovnávané skupiny statisticky odlišují ( $p < 0,1 \%$ ). Liší se převážně zastoupení skupiny nad normou – u koček se vyskytuje téměř poloviční podíl hodnot mimo hodnoty referenčního intervalu.

#### 11.4 Erytrocyty

Obrázek 10 ukazuje koncentrace erytrocytů srovnávaných druhů a věkových kategorií zvířete. Naměřené hodnoty jsou u koček vyšší u všech věkových skupin.



**Obr. 10: Koncentrace erytrocytů u psů a koček podle věkových skupin.**

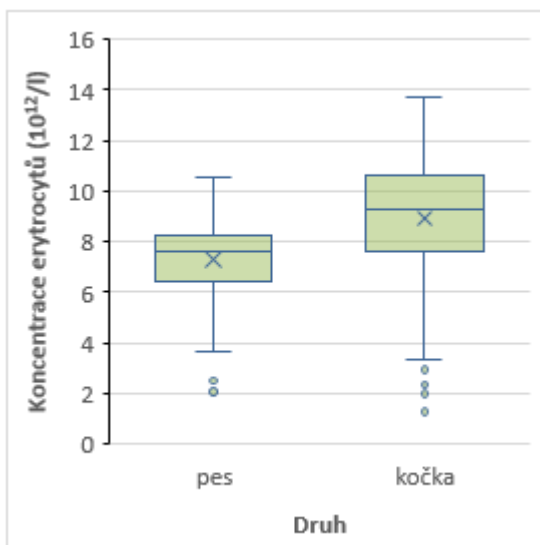
Graf na obrázku 10 vyobrazuje hodnoty minimum, 1. kvartil, medián, 3. kvartil a maximum. Křížek značí průměr.

Tabulka XI uvádí hodnoty popisné statistiky srovnávaných druhů zvířat.

Tab. XI.: Koncentrace erytrocytů

Erytrocyty ( $10^{12}/l$ )	Druh	
	Pes	kočka
Průměr	7,29	8,90
směrodatná odchylka	1,47	2,40
Minimum	2,07	1,29
1. kvartil	6,39	7,64
Medián	7,63	9,29
3. kvartil	8,28	10,59
Maximum	10,52	13,68

Data u obou skupin mají zešikmení zleva, tzn., že se vyskytují odlehle hodnoty s nízkou koncentrací erytrocytů. Důkazem je i graf na obrázku 11.



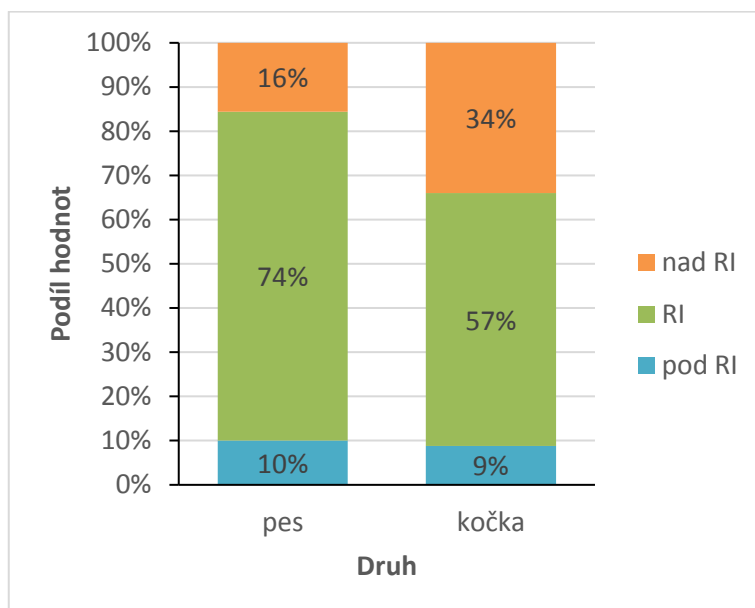
**Obr. 11: Koncentrace erytrocytů u srovnávaných druhů.**

Po srovnání koncentrace erytrocytů u psů a koček je zřejmé, že kočky mají statisticky vyšší hodnoty koncentrace erytrocytů než psi (test Mann-Whitney,  $p < 0,1 \%$ ).

Jelikož studované skupiny mají rozdílné referenční intervaly (RI) koncentrace erytrocytů [ $5,5 - 8,5 \cdot 10^{12}/l$  pro psy,  $5 - 10 \cdot 10^{12}/l$  pro kočky], je důležité porovnat zastoupení těchto intervalů (Svoboda, 2008; Švalec, 2017, Řeháková, 2007). Výsledky porovnávání jsou uvedeny v tabulce XII a obrázku 12.

Tab. XII.: Zastoupení referenčních intervalů (RI) erytrocytů u studovaných druhů

Erytrocyty	Druh		Celkem	Druh	
	Pes	kočka		Pes	kočka
pod RI	25	22	47	10 %	9 %
RI	186	143	329	74 %	57 %
nad RI	39	85	124	16 %	34 %
Celkem	250	250	500	100 %	100 %

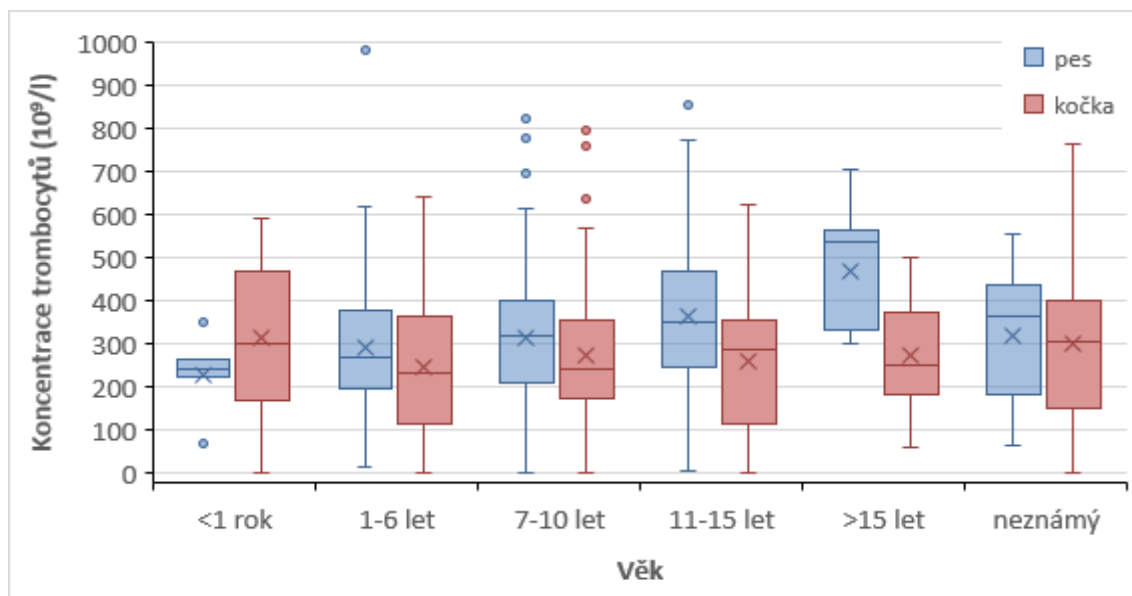


**Obr. 12: Zastoupení referenčních intervalů erytrocytů u studovaných druhů**

Srovnáním hodnot a RI pomocí testu chí kvadrát se ukázaly statisticky významné rozdíly srovnávaných skupin ( $p < 0,1 \%$ ). Liší se především množstvím případů s vyšší koncentrací, než udávají referenční intervaly – u koček se vyskytuje necelá polovina hodnot mimo hodnoty RI.

### 11.5 Trombocyty

Obrázek 13 ukazuje koncentrace trombocytů srovnávaných druhů zvířat rozdělených dle věkových kategorií. Naměřené hodnoty jsou u psů vyšší u všech věkových skupin, vyjma mláďat do 1 roku života.



**Obr. 13: Koncentrace trombocytů u psů a koček podle věkových skupin.**

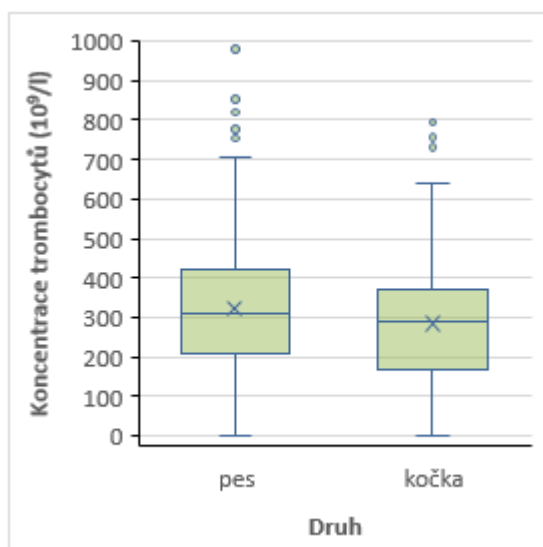
Graf na obrázku 13 zobrazuje hodnoty minimum, 1. kvartil, medián, 3. kvartil a maximum. Křížek značící průměr.

Tabulka XIII uvádí zjištěné hodnoty popisné statistiky u srovnávaných druhů zvířat.

Tab. XIII.: Koncentrace trombocytů

Trombocyty ( $10^9/l$ )	Druh	
	Pes	kočka
průměr	323,00	284,70
směrodatná odchylka	173,00	166,30
minimum	0,00	1,00
1. kvartil	207,50	167,00
medián	312,00	289,00
3. kvartil	423,30	373,00
maximum	979,00	794,00

Data u obou skupin mají zešikmení zprava, tzn. že se vyskytují odlehle hodnoty s vysokou koncentrací trombocytů, což ukazuje i graf na obrázku 14.



**Obr. 14: Koncentrace trombocytů u srovnávaných druhů.**

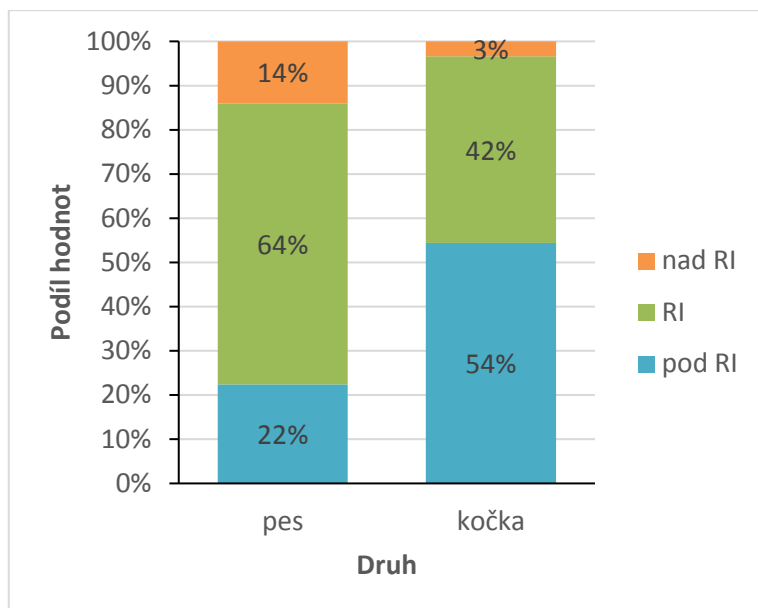
Po srovnání koncentrace trombocytů u psů a koček je zřejmé, že psi mají statisticky vyšší hodnoty koncentrace trombocytů než kočky (test Mann-Whitney,  $p = 1,5 \%$ ).

Studované skupiny mají rozdílné referenční intervaly (RI) koncentrace erytrocytů [200 – 500 · 10<sup>9</sup>/l pro psy, 300 – 600 · 10<sup>9</sup>/l pro kočky (Svoboda, 2008; Švalec, 2017, Řeháková, 2007)], a proto je nutné porovnat zastoupení těchto intervalů. Výsledky porovnávání RI jsou uvedeny v tabulce XIV a obrázku 15.

Tab. XIV.: Zastoupení referenčních intervalů (RI) trombocytů u studovaných druhů

Trombocyty	Druh		Celkem	Druh	
	pes	kočka		pes	kočka
pod RI	56	129	185	22 %	54 %
RI	159	100	259	64 %	42 %
nad RI	35	8	43	14 %	3 %
Celkem	250	237	487	100 %	100 %

V tabulce XIV. bylo použito pouze 237 vzorků koček, jelikož se u zbylých vzorků trombocyty shlukovaly a přístroj je nebyl schopný rozpoznat a vyhodnotit jejich množství.



**Obr. 15: Zastoupení referenčních intervalů trombocytů u studovaných druhů**

Porovnáním hodnot referenčních intervalů pomocí testu chí kvadrát se prokázaly statisticky významné rozdíly srovnávaných skupin ( $p = 1,5 \%$ ). Především skupina s nízkou koncentrací – u koček se vyskytuje nadpoloviční skupina hodnot mimo RI.

## 12 Diskuze

Referenční intervaly leukocytů, dle Svobody (2008), Švalce (2017) a Referenční hodnoty (© 2020) jsou u psů  $6,0 - 17,0 \cdot 10^9/l$  a  $7,0 - 17,0 \cdot 10^9/l$  u koček. Tyto hodnoty jsou shodné s tabulkou I. a do těchto intervalů spadá 76 % psů a 58 % koček uvedené v této práci. Pod hranicí RI se nachází 8 % vzorků psích a 27 % vzorků koček. Dále však u koček uvádí Kopřiva (2012) hodnoty RI u koček  $5,0 - 19,5 \cdot 10^9/l$  a Řeháková (2007)  $6,8 - 16,5 \cdot 10^9/l$ . Do těchto intervalů by spadaly i některé hodnoty, které jsou dle ostatních zdrojů mimo RI a v případě RI Řehákové (2007) by se i některé výsledky, spadající dle ostatních zdrojů do rozmezí referenčních intervalů, naopak řadily do kategorie nad horní mez RI. Rozdílné referenční intervaly leukocytů koček uvádí i Zabolotzky (2016). Dle její práce jsou rozmezí RI od  $5,5 \cdot 10^9/l$  do  $19,5 \cdot 10^9/l$ . Tyto hodnoty by měli za následek změnu rozdělení, jelikož by se do těchto referenčních intervalů vešlo mnohem více vzorků. Lze říci, že množství leukocytů psů a koček je rozdílné, jelikož počet vzorků psů vyskytujících se v RI je značně vyšší než počet vzorků koček vyskytujících se v RI.

U hemoglobinu jsou RI dle Švalce (2017), Svobody (2008), Referenční hodnoty (© 2020) a Zabolotzky (2016)  $120 - 180 \text{ g/l}$  u psů a koček je to  $80 - 150 \text{ g/l}$ . V rozmezí těchto hodnot se umístilo 49 % psů a 72 % koček z celkového počtu vzorků uvedených v této práci. Hodnoty hemoglobinu nižší, než udávají RI, mělo 9 % psů a 10 % koček. Naopak zastoupení s vyššími hodnotami bylo 42 % psích a 18 % kočičích pacientů. I v tomto případě existují zdroje, které uvádí odlišné RI hemoglobinu u koček, než jaké byly použity v této práci. Jedná se o Kopřivu (2012), který udává hodnoty RI  $100 - 150 \text{ g/l}$ , a druhým zdrojem s méně odlišnými hodnotami je Řeháková (2007). Tento zdroj uvádí pouze nepatrný rozdíl a to  $79 - 149 \text{ g/l}$ . Pokud by byly zohledněny hodnoty dle Řehákové (2007), dotklo by se to pouze tří jedinců, kteří by byli nad RI a jednoho, který by naopak z hodnot nižších přestoupil do hodnot odpovídajících RI. U Kopřivy (2012) by se již znatelně větší část pacientů dostala do hodnot nižších než jím udaných referenčních intervalů. Dle výsledků je jasné, že množství hemoglobinu není shodné. Psí vzorky mají většinu výsledků v mezích RI a oproti tomu kočky mají v mezích RI necelou polovinu v této práci zpracovaných vzorků.



Referenční intervaly hematokritu, které uvádějí Svoboda (2008), Švalec (2017), Referenční hodnoty (© 2020) a Zabolotzky (2016) jsou u psů 0,37 – 0,55 l/l a 0,24 – 0,45 l/l. Do těchto RI spadá 59 % 250 vzorků psů a 55 % z 250 vzorků koček, které jsem pro tuto práci zpracovávala. Hodnoty vyšší, než udává RI, je u psů 31 % a u koček je to 38 %. Hodnoty nižší, než je spodní mez RI, mělo 10 % vzorků psů a 7 % vzorků koček. Ovšem Kopřiva (2012) a Řeháková (2007) se s hodnotami referenčních intervalů koček liší od ostatní odborné literatury. U Kopřivy (2012) jsou RI koček 0,30 – 0,45 l/l a u Řehákové (2007) 0,20 – 0,38 l/l. Jak ukazují hodnoty psané výše, Kopřiva (2012) má spodní mez RI značně vyšší než ostatní uváděné zdroje a to znamená, že by procentuální podíly vzorků byly značně pozmeněny. Spodní mez referenčních intervalů hematokritu koček, o kterých píše ve své práci Řeháková (2007), jsou naopak oproti ostatním zdrojům značně nižších hodnot. To by mělo za následek zvýšení procenta vzorků koček spadajících do RI. Výsledky uvedeny v této práci dokazují, že hodnota hematokritu psů a koček je srovnatelná. Psi mají v mezích RI o pouhých 4 % vzorků více než kočky.

V případě erytrocytů, jak uvádí ve svých pracích Svoboda (2008), Švalec (2017), Referenční hodnoty (© 2020) a Zabolotzky (2016), jsou referenční intervaly  $5,5 - 8,5 \cdot 10^{12}/l$  u psů a  $5,0 - 10,0 \cdot 10^{12}/l$  u koček. V těchto rozmezích bylo 74 % psů a 57 % koček z celkového počtu vzorků zpracovaných v mé práci. Nad referenčními intervaly bylo 16 % psů a 34 % koček, avšak pod RI erytrocytů je uvedeno pouze 10 % vzorků psů a 9 % vzorků koček. Referenční intervaly erytrocytů koček uvádí Kopřiva (2012) v rozmezí  $6,5 - 10,0 \cdot 10^{12}/l$ , což by výsledky uvedeny v této práci změnilo. Vzorky, které měly výsledky blíže ke spodní hranici RI, by se v takovém případě řadily do skupiny pod RI. To v případě referenčního rozmezí dle Řehákové (2007) by k žádným větším změnám nedošlo, neboť v její práci uváděné RI jsou v hodnotách od  $4,9 - 9,8 \cdot 10^{12}/l$ . Přesunutí do jiné skupiny by se týkalo pouze pěti vzorků koček ve prospěch skupiny nad RI a dvou vzorků koček ve prospěch skupiny v mezích RI. Jak procentuální zastoupení v referenčních intervalech ukazuje, množství erytrocytů psů a koček, nasbíraných v této práci, je rozdílné.

Trombocyty mají podle Svoboda (2008), Švalec (2017), Referenční hodnoty (© 2020) a Kopřivy referenční intervaly pro psy  $200 - 500 \cdot 10^9/l$  a pro kočky je to  $300 - 600 \cdot 10^9/l$ . V tomto rozmezí bylo 64 % z 250 psích vzorků a 42 % z 250 kočičích vzorků. Hodnoty nižší, než jsou RI, mělo 22 % psů a 54 % koček, což je v případě koček většina. Hodnoty vyšší, než jsou RI, mělo 14 % psů a pouze 3 % koček. U trombocytů koček uvádí Řeháková (2007) rozdílné referenční intervaly oproti ostatním zdrojům. Jedná se o hodnoty od  $178 \cdot 10^9/l$  do  $357 \cdot 10^9/l$ . V případě těchto hodnot by byly výsledky zastoupení RI značně pozměněny, zejména pak procenta vzorků pod a nad hranicí RI. Dalším, kdo uvádí jiné rozmezí referenčních intervalů u koček, je Zabolotzky (2016). Tento zdroj uvádí hodnotu horní meze RI  $800 \cdot 10^9/l$  a tato hodnota by taktéž pozměnila výsledné rozdělení. Některé vzorky řazené do skupiny nad RI by se tím přesunuly do skupiny v mezích referenčních intervalů. Jak výsledky ukazují, počet vzorků, který má množství trombocytů v rozmezí RI, je u psů značně vyšší než u koček.

Výsledky vzorků, které se vymykaly rozmezí referenčních intervalů, mohly být ovlivněny špatným zdravotním stavem jedince, kterému byly vzorky odebrány. Ve vzorcích jsme měli jak zdravé, tak nemocné jedince, což mohlo výsledné procentuální rozdělení v grafech a tabulkách.

## 13 Závěr

Tato bakalářská práce se zabývá problematikou stanovení hodnot krevního obrazu u psů a koček. V práci bylo vyhodnoceno celkem 500 vzorků krve, které byly získány rovnoměrně od psů (n =250) a od koček (n =250).

Hodnoty krevního obrazu byly naměřeny často vyšší jak u psů, tak u koček, než je jejich referenční rozmezí. Od tohoto referenčního rozmezí, které je udáváno v odborné literatuře, ze které bylo v této práci čerpáno, se odchyluje 61 vzorků psů a 104 vzorků koček v případě počtu leukocytů, 103 vzorků psů a 113 vzorků koček v případě hodnot hematokritu, 126 vzorků psů a 70 vzorků koček v případě množství hemoglobinu, 64 vzorků psů a 107 vzorků koček v případě počtu erytrocytů, 91 vzorků psů a 136 vzorků koček v případě počtu trombocytů. Největší odchylka pak byla v obou případech u trombocytů.

Jak tedy ukazuje tato práce, nelze v praxi nahlížet na parametry krevního obrazu u psů a koček a jejich vývoj vzhledem k věku totožně, neboť dochází mezi jednotlivými věkovými skupinami u obou druhů zvířat k výraznějším odchylkám než v případě, že jsou porovnávány pouze průměrné hodnoty bez ohledu na věk. Práce ukazuje na poměrně značném počtu vzorků odchylku od referenčních hodnot, ovšem s nutným dodatkem, že vzorky vyhodnocované v této práci pocházely jak od zdravých, tak nemocných zvířat, což se pravděpodobně projevilo na výsledcích.

Test chí kvadrát u leukocytů, hemoglobinu, hematokritu a erytrocytů vyšel menší než 1 %. V případě trombocytů byl výsledek testu chí kvadrát 1,5 %. Výsledky testu chí kvadrát poukazují na skutečnost, že výsledky krevních obrazů psů i koček jsou ve všech pěti parametrech v závislosti na věkových skupinách rozdílné.

K podrobnější analýze by bylo potřeba zapracovat také diagnózy zvířecích pacientů, toto by se mohlo stát předmětem další odborné práce.

## 14 Zdroje

1. ANYONA, S. B., S. L. SCHRIER, C. W. GICHUKI, N. WAITUMBI. Pitting of malaria parasites and spherocyte formation. *Malaria Journal*. 2006, 5(1), 5:64. DOI: 10.1186/1475-2875-5-64. ISSN 14752875. Dostupné také z: <http://malariajournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/1475-2875-5-64>
2. BREINEK, P. Preanalytická a postanalytická fáze klinicko-biochemické diagnostiky. *Pre a postanalytika* [online], 2014 [cit. 2019-07-26]. Dostupné z: [https://is.muni.cz/el/1411/podzim2016/KBOMII/um/Wiewiorka\\_Pre\\_a\\_Postanalytika.pdf](https://is.muni.cz/el/1411/podzim2016/KBOMII/um/Wiewiorka_Pre_a_Postanalytika.pdf)
3. CAWLEY, J. C. a F. G. J. HAYHOE. The Inclusions of the May-Hegglin Anomaly and Dohle Bodies of Infection: an Ultrastructural Comparison. *BJH British Journal of Hematology*. 1972, 22(4), 491-496.
4. DOUBEK, J. *Veterinární hematologie*. Brno: Noviko, 2003. ISBN 80-865-4202-5.
5. DOUBEK, J. *Interpretace základních biochemických a hematologických nálezů u zvířat*. 2., doplněné vydání. Brno: Noviko, 2010. ISBN 978-80-86542-22-5.
6. FARKAČOVÁ, J. Akreditace laboratoří podle normy 17025 a souběh s normou 15189. *Konference ČAS* [online]. Karlovy Vary, 2007 [cit. 2019-07-26]. Dostupné z: [https://www.cnaa.cz/docs/akce/11-akreditace\\_dle\\_normy\\_17025\\_a\\_soubehu\\_s\\_normou\\_15189.ppt](https://www.cnaa.cz/docs/akce/11-akreditace_dle_normy_17025_a_soubehu_s_normou_15189.ppt).
7. HARVEY, J. W. *Veterinary hematology: a diagnostic guide and color atlas*. 4th ed. St. Louis, Mo.: Elsevier Saunders, 2012. ISBN 978-143-7701-739.
8. HOFÍREK, B. *Nemoci skotu*. 1149 s. Brno: Noviko, 2009. ISBN 978-80-86542-19-5.
9. HUISJES, R., A. BOGDANOVA, W. W. VAN SOLINGE, R. M. SCHIFFELERS, L. KAESTNER a R. VAN WIJK. Squeezing for Life – Properties of Red Blood Cell Deformability. *Frontiers in Physiology*. 2018, 9(1), 9:656. DOI: 10.3389/fphys.2018.00656. ISSN 1664-042 X. Dostupné také z: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fphys.2018.00656/full>
10. JACK, C. M. a P. M. WATSON. *Veterinary technician's daily reference guide: canine and feline*. Third edition. Ames, Iowa: John Wiley, 2014. ISBN 978-111-8363-508.
11. JELÍNEK, P. a K. KOUDELA. *Fyziologie hospodářských zvířat*. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2003. ISBN 80-715-7644-1.
12. KAJEROVÁ, V., J. RYBÁŘ a P. SKŘIVAN. Atlas hematologie zvířat. *Atlas hematologie zvířat* [online]. Střední odborná škola veterinární: Hradec Králové, 2006 [cit. 2019-07-26]. Dostupné z: [http://projekty.sosvet.cz/2006\\_hematologie/index.htm](http://projekty.sosvet.cz/2006_hematologie/index.htm)

13. KOSMACHEVSKAYA, O. V. a A. F. TOPUNOV. Alternate and Additional Functions of Erythrocyte Hemoglobin. *Biochemistry (Moscow)*. 2018, 83(12-13), 1575-1593. DOI: 10.1134/S0006297918120155. ISSN 0006-2979. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1134/S0006297918120155>
14. KRAFT, W. a U. M. DÜRR. *Klinická laboratorna diagnostika vo veterinárnej medicíne*. 365 s. Bratislava: Hajko & Hajková, 2001. ISBN 80-88700-51-5.
15. KRČ, I. Hematologie-hodnocení krevního obrazu. *Interní medicína* [online]. II. interní klinika LF UP a FN Olomouc: Interní med, 2007 [cit. 2019-07-26]. Dostupné z: <https://www.internimedica.cz/pdfs/int/2007/11/11.pdf>
16. LEXOVÁ, S. *Hematologie pro zdravotní laboranty*. 1. Brno: Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví, 2000. ISBN 80-701-3304-X.
17. OCHOA, D., T. REDONDO a G. MORENO-RUEDA. Mizutama: A Quick, Easy, and Accurate Method for Counting Erythrocytes. *Physiological and Biochemical Zoology*. 2019, 92(2), 206-210. DOI: 10.1086/702666. ISSN 1522-2152. Dostupné také z: <https://www.journals.uchicago.edu/doi/10.1086/702666>
18. PECKA, M. *Laboratorní hematologie v přehledu*. 3. Český Těšín: FINIDR, 2006. ISBN 80-866-8200-5.
19. PECKA, M. a M. BLÁHA. *Praktická hematologie: laboratorní metody*. Český Těšín: Infiniti art, 2010. ISBN 978-80-903871-9-5.
20. PENKA, M., E. KRAHULCOVÁ a M. MATÝŠKOVÁ. *Hematologie*. Brno: Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví, 1994. ISBN 80-7013-162-4.
21. PLEBANI, M. Quality in laboratory medicine: 50years on. *Clinical Biochemistry*. 2017, 50(3), 101-104. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2016.10.007. ISSN 00099120. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S000991201630368X>
22. RACEK, J. *Klinická biochemie*. 2. přepracované vydání. Praha: Galén, 2006. ISBN 80-726-2324-9.
23. REECE, W. O. *Fyziologie domácích zvířat*. Praha: Grada, 1998. ISBN 80-716-9547-5.
24. REECE, W. O. *Fyziologie a funkční anatomie domácích zvířat*. Praha: Grada, 2011. ISBN 978-80-247-3282-4.
25. ŘEHÁKOVÁ, K. Vyšetřovaný biologický materiál. *Klinická laboratoř pro malá zvířata* [online]. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2007 [cit. 2019-07-26]. Dostupné z: <http://www.cklvf.u.cz/pokyny.html>
26. SCHREY, C. F. *Vyšetřování psa a kočky v obrazech*. Praha: Grada, 2010. ISBN 978-802-4731-476.
27. SLÁMA, P., A. PAVLÍK a V. TANČIN. Morfologie a fyziologie hospodářských zvířat. *Mendelu* [online]. Mendelova univerzita v Brně:

- Mendelova univerzita v Brně, 2015 [cit. 2019-07-28]. Dostupné z: [https://web2.mendelu.cz/af\\_291\\_projekty/files/23/23-morfologie\\_a\\_fyziologie\\_hospodarskych\\_zvirat\\_word\\_2010.pdf](https://web2.mendelu.cz/af_291_projekty/files/23/23-morfologie_a_fyziologie_hospodarskych_zvirat_word_2010.pdf)
28. SOVA, Z. *Fyziologie hospodářských zvířat: celostátní vysokoškolská učebnice pro vysoké školy zemědělské a veterinární. 2.*, přepracované vydání. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1990. Živočišná výroba (Státní zemědělské nakladatelství). ISBN 80-209-0092-6.
  29. SVOBODA, M. *Nemoci psa a kočky. 2.* vydání. Brno: Noviko, 2008. ISBN 978-80-86542-18-8.
  30. ŠVALEC, J. Referenční rozmezí veterinárních hematologických vyšetření. *synlab* [online]. Praha, 2017 [cit. 2019-07-26]. Dostupné z: [https://www.synlab.cz/media/editor/files/VD.PJ%202002%20Laboratorn%C3%AD%20p%C5%99%C3%ADru%C4%8Dka\\_P%C5%99%C3%ADloha%20%C4%8D.%206%20Referen%C4%8Dn%C3%AD%20meze%20veterin%C3%A1rn%C3%ADch...%20\(1\).pdf](https://www.synlab.cz/media/editor/files/VD.PJ%202002%20Laboratorn%C3%AD%20p%C5%99%C3%ADru%C4%8Dka_P%C5%99%C3%ADloha%20%C4%8D.%206%20Referen%C4%8Dn%C3%AD%20meze%20veterin%C3%A1rn%C3%ADch...%20(1).pdf)
  31. THRALL, M. A. *Veterinary hematology and clinical chemistry. 2nd ed.* Chichester: Wiley-Blackwell, 2012. ISBN 978-081-3810-270.
  32. TOMAN, M. *Veterinární imunologie. 2.*, doplněné a aktualizované vydání. Praha: Grada, 2009. ISBN 978-80-247-2464-5.
  33. UHRÍKOVÁ, I. Význam hematologického a biochemického vyšetření krve. *Česká asociace veterinárních lékařů malých zvířat* [online]. Praha, ©1993 [cit. 2019-07-26]. Dostupné z: <https://www.cavlmz.cz/sekce/onkologicka-sekce/obecna-veterinari-onkologie/obecne-zasady-diagnostiky-onkologickych-onemocneni/vyznam-hematologickeho-a-biochemickeho-vysetreni-krve/>
  34. VALENCIANO, A. C., R. L. COWELL, T. E. RIZZI a R. D. TYLER. *Atlas of canine and feline peripheral blood smears. 3.dopl. vydání.* St. Louis, MO: Elsevier, 2014. ISBN 978-0323044684.
  35. WEISS, D. J. a K. J. WARDROP, ed. *Schalm's veterinary hematology. 6th ed.* Ames: Wiley-Blackwell, 2010. ISBN 978-0813817989.
  36. ZABOLOTZKY, S. M. a D. B. WALKER. Peripheral blood smears. 2016 [cit. 2020-05-22]. Dostupné z: <https://veteriankey.com/peripheral-blood-smears/>
  37. Interpretace krevního obrazu. *Fakultní nemocnice Královské Vinohrady* [online]. Fakultní nemocnice Královské Vinohrady, 2013 [cit. 2019-07-26]. Dostupné z: [https://www.fnkv.cz/lab/lp\\_uld/HVEZDAUACK.htm](https://www.fnkv.cz/lab/lp_uld/HVEZDAUACK.htm)
  38. Laboratorní příručka. *Česká laboratorní* [online]. Praha, 2018 [cit. 2019-07-26]. Dostupné z: <https://www.ceskalaboratorni.cz/laboratorni-prirucka/>
  39. Pokyny k odběru vzorků. *Interimun* [online]. Pardubice, © 2017 [cit. 2020-05-23]. Dostupné z: [http://www.interimun.cz/31/Pokyny\\_k\\_odberu\\_vzorku/](http://www.interimun.cz/31/Pokyny_k_odberu_vzorku/)
  40. Profilová vyšetření [online]. IDEXX VET. MED. LAB: Cymedica CZ, 2013 [cit. 2019-07-26]. Dostupné z:

[http://cms2.netnews.cz/files/attachments/67030/25752-CZ\\_Profilova\\_vysetreni\\_tisk.pdf](http://cms2.netnews.cz/files/attachments/67030/25752-CZ_Profilova_vysetreni_tisk.pdf)

41. Referenční hodnoty hematologického vyšetření. *Oddělení laboratorní medicíny* [online]. © 2020 [cit. 2020-05-22]. Dostupné z: <https://laborator.nemsne.cz/odbornici/veterinari/referencni-hodnoty-hematologickeho-vysetreni.pdf>
42. Specifické rysy klinicko-biochemické analytiky [online]. 2005 [cit. 2019-07-26]. Dostupné z: [orion.chemi.muni.cz/michaw/vyuka/Klinika/podklady\\_pdf/podklady%20II.pdf](http://orion.chemi.muni.cz/michaw/vyuka/Klinika/podklady_pdf/podklady%20II.pdf)
43. Střední obsah hemoglobinu v erytrocytu. *Nemocnice Sušice* [online]. Sušice, 2013 [cit. 2019-08-2]. Dostupné z: <https://www.nemocnice-susice.cz/nemocnice/user/lab/prehled-metod/HVEZDABBGH.htm>

## 15 Seznam obrázků

Obr. 1: Koncentrace leukocytů u psů a koček podle věkových kategorií.....	42
Obr. 2: Koncentrace leukocytů u srovnávaných druhů.....	43
Obr. 3: Zastoupení referenčních intervalů pro leukocyty u srovnávaných druhů.....	44
Obr. 4: Koncentrace hemoglobinu u psů a koček podle věkových skupin.....	45
Obr. 5: Koncentrace hemoglobinu u srovnávaných druhů.....	46
Obr. 6: Zastoupení referenčních intervalů hemoglobinu u studovaných druhů.....	47
Obr. 7: Hodnoty hematokritu u psů a koček podle věkových skupin.....	47
Obr. 8: Hodnoty hematokritu u srovnávaných druhů.....	48
Obr. 9: Zastoupení referenčních intervalů hematokritu u studovaných druhů.....	49
Obr. 10: Koncentrace erytrocytů u psů a koček podle věkových skupin.....	50
Obr. 11: Koncentrace erytrocytů u srovnávaných druhů.....	51
Obr. 12: Zastoupení referenčních intervalů erytrocytů u studovaných druhů.....	52
Obr. 13: Koncentrace trombocytů u psů a koček podle věkových skupin.....	53
Obr. 14: Koncentrace trombocytů u srovnávaných druhů.....	54
Obr. 15: Zastoupení referenčních intervalů trombocytů u studovaných druhů.....	55
Obr. 16: Analyzátor Sysmex XN 1000.....	68
Obr. 17: Rack s kontrolami pro měření a kontrolu v analyzátoru Sysmex XN 1000.....	69
Obr. 18: Rack s krví zvířecích pacientů.....	69
Obr. 19: Analyzátor Sysmex XN 1000 s vloženým rackem s krvemi pacientů.....	70



## 16 Seznam tabulek

Tab. I: Stanovení množství parametrů.....	21
Tab. II: Referenční intervaly u psů a koček.....	27
Tab. III: Způsoby uchovávání.....	31
Tab. IV: Druhy vyšetřovaných vzorků.....	37
Tab. V.: Koncentrace leukocytů u psů a koček.....	42
Tab. VI.: Zastoupení referenčních intervalů (RI) leukocytů u studovaných druhů.....	43
Tab. VII.: Koncentrace hemoglobinu.....	45
Tab. VIII.: Zastoupení referenčních intervalů (RI) hemoglobinu u studovaných druhů.....	46
Tab. IX.: Hodnoty hematokritu.....	48
Tab. X.: Zastoupení referenčních intervalů (RI) hematokritu u studovaných druhů.....	49
Tab. XI.: Koncentrace erytrocytů.....	50
Tab. XII.: Zastoupení referenčních intervalů (RI) hemoglobinu u studovaných druhů.....	52
Tab. XIII.: Koncentrace erytrocytů.....	53
Tab. XIV.: Zastoupení referenčních intervalů (RI) hemoglobinu u studovaných druhů.....	54

## **17 Seznam zkratek**

AB acidobazická rovnováha

ADP adenosindifosfát

CBC kompletní krevní obraz

CNS centrální nervový systém

DIC diseminovaná intravaskulární koagulace

EPO erythropoetin

Ery erythrocyty, červené krvinky

Hgb hemoglobin

K<sub>2</sub>EDTA di-draselná sůl kyseliny ethylendiamintetraoctové

K<sub>3</sub>EDTA tri-draselná sůl kyseliny ethylendiamintetraoctové

kPa KiloPascal

MCH hemoglobin erytrocytu

MCHC střední koncentrace hemoglobinu

MCV střední objem erytrocytu

NaCl chlorid sodný

NK buňky natural killers, přirození zabíječi

PCR polymerázová řetězová reakce

POCT point of care testing, testování a měření v místě péče o pacienta

RBC red blood cells, červené krvinky

RDW šíře distribuce červených krvinek

RI referenční interval

SOP standartní operační postupy

TF tkáňový faktor

Tromb trombocyty, krevní destičky

## 18 Přílohy



**Obr. 16: Analyzátor Sysmex XN 1000**

Zdroj: Autor



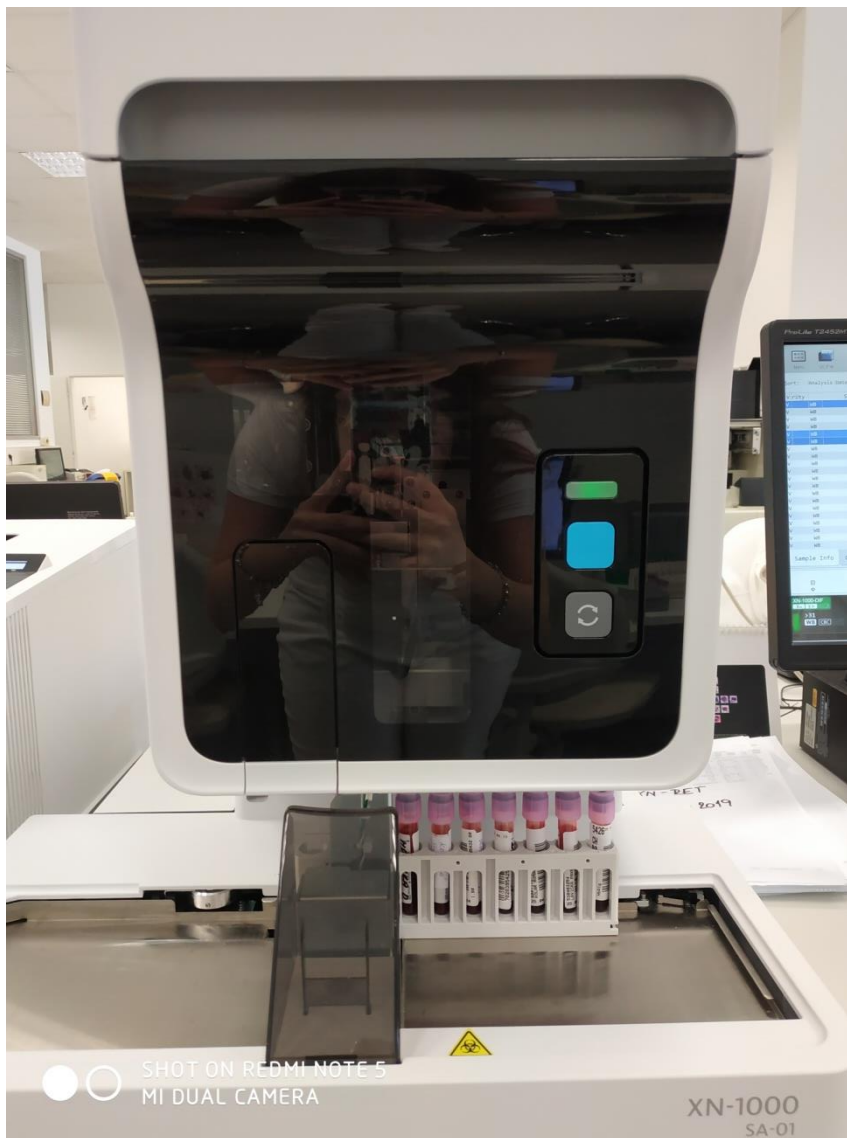
**Obr. 17: Rack se zkumavkami pro kalibraci a kontrolu správných funkcí analyzátoru Sysmex XN 1000**

Zdroj: Autor



**Obr. 18: Rack s krví zvířecích pacientů**

Zdroj: Autor



**Obr. 19: Analyzátor Sysmex XN 1000 s vloženým rackem s krvemi pacientů**

Zdroj: Autor