

ZÁPADOČESKÁ UNIVERZITA V PLZNI  
FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ

# **BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

**2023**

**Karolína Hlochová**

FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ

Studijní program: Laboratorní diagnostika ve zdravotnictví B0914P360004

**Karolína Hlochová**

Studijní obor: Laboratorní diagnostika ve zdravotnictví B0914P360004

**ANALÝZA BUNĚK V TĚLNÍCH TEKUTINÁCH  
POMOCÍ AUTOMATICKÉHO HEMATOLOGICKÉHO  
ANALYZÁTORU SYSMEX XN-1000**

**Bakalářská práce**

Vedoucí práce: MUDr. Pavel Brož, Ph.D.

Plzeň 2023

Na této stránce je vloženo zadání bakalářské práce.

### **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a všechny použité prameny jsem uvedla v seznamu použitých zdrojů.

V Plzni dne 30. 3. 2023

.....

vlastnoruční podpis

## **Poděkování**

Děkuji MUDr. Pavlu Brožovi, Ph.D. za odborné vedení mé bakalářské práce, poskytování rad a materiálních podkladů.

## **Anotace**

Jméno a příjmení: Karolína Hlochová

Katedra: Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví

Název práce: Analýza buněk v tělních tekutinách pomocí automatického hematologického analyzátoru Sysmex XN-1000

Vedoucí práce: MUDr. Pavel Brož, Ph.D.

Počet stran – číslované: 27

Počet stran – nečíslované: 14

Počet příloh: 0

Počet titulů použité literatury:

Klíčová slova: likvor, tělní tekutiny, Sysmex XN-1000, cytologické vyšetření, korelační test, morfologie

### **Souhrn:**

Tato bakalářská práce se zabývá porovnáním měřeného počtu polymorfonukleárů, mononukleárů, erytrocytů a celkového počtu leukocytů v mozkomíšním moku původní cytologickou metodou s užitím komůrky dle Fuchs-Rosenthala a měřením na automatickém analyzátoru Sysmex XN-1000. Práce je rozdělena na teoretickou a praktickou část. V teoretické části jsou prvně rozebrány tělní tekutiny obecně. Dále je popsána fyziologie likvoru a vyšetření, která jsou s mozkomíšním mokem spjata a indikace těchto vyšetření. Poslední kapitolou tvoří deskripce cytologických nálezů. V praktické části je popsán pracovní postup při cytologickém vyšetření mozkomíšního moku a automatický analyzátor Sysmex XN-1000, na kterém proběhlo měření. Výsledky jsou znázorněny v tabulce s výslednými grafy.

## **Anotation**

Name and surname: Karolína Hlochová

Department: Department of paramedical science, medical diagnostics studies and public health

Title of thesis: Body fluid cell analysis using the Sysmex XN-1000 automatic hematology analyzer

Consultant: MUDr. Pavel Brož, Ph.D.

Number of pages – numbered: 27

Number of pages – unnumbered: 14

Number of appendices: 0

Number of literature items used:

Keywords: liquor, body fluids, Sysmex XN-1000, cytological examination, correlation test, morphology

Summary:

This bachelor thesis compares the measured count of polymorphonuclear cells, mononuclear cells, erythrocytes and the total amount of leukocytes in the cerebrospinal fluid with the original cytologic method using Fuchs-Rosenthal counting chamber and automatic analyser Sysmex XN-1000. The thesis is differentiated into theoretical and practical parts. In the theoretical part are firstly analysed body fluids in general. Next, physiology and examination, which are allied with the cerebrospinal fluid, are described as well as an indication of these examinations. The last chapter consists of the elucidation of cytologic findings. The practical part describes the work procedure of the cytological measurement of the cerebrospinal fluid and the automatic analyser Sysmex XN-1000 used for the analysis. Results are depicted in a chart with the resulting graphs.

# OBSAH

SEZNAM GRUFŮ .....	10
SEZNAM OBRÁZKŮ .....	<b>ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.</b>
SEZNAM TABULEK .....	12
SEZNAM ZKRATEK .....	13
ÚVOD.....	14
TEORETICKÁ ČÁST .....	15
1 TĚLNÍ TEKUTINY .....	15
1.1 Pleurální tekutina .....	15
1.2 Peritoneální tekutina .....	15
1.3 Synoviální tekutina .....	15
1.4 Kontinuální ambulantní peritoneální dialyzát.....	16
1.5 Mozkomíšní mok .....	16
2 MOZKOMÍŠNÍ MOK .....	16
2.1. Fyziologie .....	16
3 VYŠETŘENÍ LIKVORU.....	18
3.1 Indikace vyšetření .....	18
3.1.1 Odběr.....	18
3.2 Cytologické vyšetření .....	19
3.3 Celulární spektrum mozkomíšního moku.....	20
3.3.1 Mononukleáry .....	20
3.3.2 Polymorfonukleáry .....	21
3.3.3 Buňky výstelky likvorových cest.....	22
3.3.4 Nádorové buňky.....	22
3.4 Cytologické nálezy v mozkomíšním moku .....	22
3.4.1 Oligocytóza .....	22
3.4.2 Pleocytóza .....	24
PRAKTICKÁ ČÁST .....	26
4 CÍL PRÁCE .....	26
4.1 Hlavní cíl.....	26
4.2 Dílčí cíle.....	26
5 METODIKA PRÁCE.....	26
6 PŘÍSTROJOVÉ VYBAVENÍ A POMŮCKY .....	27
6.1 Cytologické vyšetření .....	27
6.1.1 Binokulární mikroskop Olympus BX41 .....	27
6.1.2 Fuchs-Rosenthalova komůrka.....	27
6.1.3 Cytocentrifuga.....	27



6.1.4	Cytocentrifugační komůrka .....	28
6.1.5	Mikropipety a špičky .....	28
6.1.6	Chemické látky .....	29
6.2	Analyzátor Sysmex XN 1000 .....	29
7	PRACOVNÍ POSTUP .....	31
7.1	Kvantitativní cytologie .....	31
7.2	Kvalitativní cytologie.....	31
8	ANALÝZA A INTERPRETACE VÝSLEDKŮ.....	33
8.1	Cytologické nálezy .....	33
8.1.1	Leukocyty .....	33
8.1.2	Polymorfonukleáry .....	34
8.1.3	Monukleáry .....	36
8.1.4	Erytrocyty .....	37
8.2	Soubor patientských vzorků.....	38
	DISKUZE .....	39
	ZÁVĚR.....	40
9	OBSAH .....	<b>ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.</b>

## SEZNAM GRUFŮ

<b>Graf 1-</b> Passing Bablok (leukocyty) .....	34
<b>Graf 2-</b> Bland-Altman (leukocyty) .....	34
<b>Graf 3-</b> Passing Bablok (polymorfonukleáry) .....	35
<b>Graf 4-</b> Bland-Altman (polymorfonukleáry) .....	35
<b>Graf 5-</b> Passing Bablok (mononukleáry) .....	36
<b>Graf 6-</b> Bland-Altman (mononukleáry) .....	36
<b>Graf 7-</b> Bland-Altman (erytrocyty).....	37

## SEZNAM OBRÁZKŮ

<b>Obrázek 1-</b> Fuchs-Rosenthalova komůrka .....	27
<b>Obrázek 2-</b> Cytocentrifuga .....	28
<b>Obrázek 3-</b> Cytocentrifugační komůrka .....	28
<b>Obrázek 4-</b> Sysmex XN-1000 .....	30

## SEZNAM TABULEK

<b>Tabulka 1-</b> Souhrnná statistika (leukocyty) .....	33
<b>Tabulka 2-</b> Statistika (polymorfonukleáry) .....	34
<b>Tabulka 3-</b> Statistika (mononukleáry).....	36
<b>Tabulka 4-</b> Statistika (erytrocyty) .....	37
<b>Tabulka 5-</b> Statistika měření .....	37

## **SEZNAM ZKRATEK**

FR..... Fuchs-Rosenthalova komůrka

## ÚVOD

Cytologické vyšetření patří mezi základní vyšetřovací metody mozkomíšního moku. Zlatým standardem pro kvantitativní cytologické vyšetření je počítání elementů v komůrce dle Fuchs-Rosenthala. Tato metoda má uplatnění při diagnostice akutních infekcí, chronických onemocnění nebo nádorových onemocnění.

Cílem mé práce je porovnat hodnoty měřeného počtu elementů v mozkomíšním moku pomocí původní cytologické metody s užitím komůrky dle Fuchs-Rosenthala a měřením na automatickém analyzátoru Sysmex XN-1000. V teoretické části jsem prvně rozebrala tělní tekutiny obecně. Dále jsem popsala fyziologii likvoru a vyšetření, která jsou s mozkomíšním mokem spjata a indikace těchto vyšetření. Nakonec jsem se zaměřila na cytologický nález. V praktické části jsem popsala pracovní postup při cytologickém vyšetření mozkomíšního moku a automatický analyzátor Sysmex XN-1000, na kterém proběhlo měření.

Výsledky jsem zhodnotila do tabulek dle elementů a vytvořila grafy.

# TEORETICKÁ ČÁST

## 1 TĚLNÍ TEKUTINY

Tělní tekutiny jsou málo buněčné tekutiny, které mají v těle zastávají mnoho rozličných, specifických funkcí. Vyplňují určité dutiny a tvoří mechanickou ochranu pro orgány. Mezi tyto tekutiny řadíme pleurální tekutinu, peritoneální tekutinu, synoviální tekutinu a mozkomíšní mok, jež bude ústředním rozebíraným pojmem. Zároveň můžeme jmenovat také peritoneální dialyzát, i když jej nepovažujeme za fyziologickou tekutinu. (1), (11)

### 1.1 Pleurální tekutina

Pleurální tekutina vzniká fyziologicky v pleurální dutině, která obklopuje plíce. Za normálního stavu je objem pleurální tekutiny asi 10ml. Zvýšená tvorba této tekutiny je brána jako patologický jev a tento stav označujeme jako pleurální výpotek. K abnormální tvorbě dochází z různých důvodů, avšak mezi nejčastější patří například městnavé srdeční selhání, plicní embolie, tuberkulóza, nádorová pleuritida, jaterní cirhóza, pankreatitida nebo zápal plic. (1), (11)

### 1.2 Peritoneální tekutina

Peritoneální tekutina vyplňuje peritoneální dutinu a její funkcí je usnadnit pohyby střev. Fyziologický objem této tekutiny se obvykle pohybuje okolo 150ml. Při nadměrné tvorbě, zde myslíme rozdíl vůči fyziologické kondici o více než 10ml, už mluvíme o patologii. Takovýto fenomén nazýváme ascites. Geneze tohoto jevu může být zapříčiněna mnoha rozličnými stavy. Za jmenování stojí ku příkladu metastázy na peritoneu, tuberkulóza, selhání jater či srdce. Analýzu peritoneální tekutiny u pacienta provádíme pro zjištění příčiny vzniku ascitu. (1), (11)

### 1.3 Synoviální tekutina

Mluvíme-li o synoviální tekutině, myslíme tím tu tekutinu, jež se fyziologicky nachází uvnitř kloubní dutiny a její funkcí je zmírnit tření na sebe nasedajících kloubních chrupavek při pohybu. Po vzhledové stránce se jedná o čirou tekutinu, která svou konzistencí bývá přirovnávána k syrovému bílku. Stejně, jako tomu bylo u předchozích případů, i zde může dojít k patologickému zvýšení jejího objemu. Takovýto abnormality bývají nejčastěji pozorovány při infekčních stavech nebo artritidě. (1), (11)

## 1.4 Kontinuální ambulantní peritoneální dialyzát

Poslední kategorií, kterou bych na tomto místě ráda zmínila je kontinuální ambulantní peritoneální dialyzát (CAPD). Ten není považován za pravou tělní tekutinu, a to z toho důvodu, že vzniká pouze při léčbě specifických onemocnění. Metoda CAPD je alternativní metodou využívanou na místo klasické hemodialýzy při onemocnění ledvin. Peritoneum pacienta je použito jako membrána, přes kterou se osmoticky odstraní škodlivé látky z krve. Nevýhodou této metody je častý výskyt infekce pobřišnice, kterou lze diagnostikovat zvýšeným množstvím neutrofilů. (1), (11)

## 1.5 Mozkomíšní mok

Mozkomíšní mok patří mezi fyziologické tekutiny, vyplňuje subarachnoidální prostor a obklopuje míchu. Jedná se o jeden z nejvíce významných tělních tekutin. Jeho bližší specifikaci se tedy budu věnovat širěji v následující kapitole (11), (14)

# 2 MOZKOMÍŠNÍ MOK

## 2.1. Fyziologie

Mozkomíšní mok neboli likvor, je čirou tekutinou s jen nízkým obsahem buněk. Vzniká především aktivní sekrecí plexus chorioideus, dále extrachoroidální sekrecí a v neposlední řadě jako ultrafiltrát plazmy. Díky tomu má po kvalitativní stránce velmi podobné složení jako plazma, avšak kvantitativně se významně liší. U dospělého člověka se denně vytvoří zhruba 500-600 ml likvoru, který se však neustále obnovuje a stálý objem se pohybuje pouze okolo 150ml. U kojenců pozorujeme stálý objem okolo přibližně 50ml. Mezi tvorbou a resorbci musí být rovnováha. (14)

Fyziologicky je likvor čirý a bezbarvý, u novorozenců se může jevit jako slabě nažloutlý (tzv. xantochromní) z důvodu přítomnosti bilirubinu. Zakalený likvor poukazuje na možnou patologii. Intenzita zákalu se může lišit dle množství obsažených elementů. Červeně zbarvený až krvavý (tj. hemoragický) likvor bývá způsoben přítomností erytrocytů. Původem je buď krvácení do likvorových cest, nebo arteficiální příměs krve při odběru. Tyto příčiny lze rozlišit pomocí centrifugace. Pokud je supernatant nad sedimentem erytrocytů čirý a bezbarvý, jedná se o arteficiální příměs, nebo čerstvé krvácení. Pokud je likvor po centrifugaci nažloutlý, svědčí to o dřívějším krvácení do



likvorových cest. Toto rozlišení je však pouze orientační. Někdy se může stát, že se vzorek s vysokou příměsí krve srazí. V tom případě je vzorek znehodnocen a není vhodné jej vyšetřovat. Dokonce může při těžších zánětech docházet k tvorbě fibrinové sítě, z důvodu vysokého množství fibrinogenu. Tento fenomén může způsobit falešné snížení počtu buněk. (13), (12)

## 2.2 Funkce

Likvor představuje jednu z nejdůležitějších tekutin v těle, a to především kvůli mnoha jeho rozličným funkcím. Vyplňuje subarachnoidální prostor, který je ohraničen z vnitřní strany cévnatou pia mater. Vnější ohraničení tvoří bezcévná arachnoidea, která přiléhá k dura mater. Obklopuje mozek i míchu, čímž tlumí otřesy při každodenním pohybu. Při úrazu pak dále pomáhá jejich odlehčením. Zároveň se jedná o ochranu před rozdílným tlakem nitrolebním či nitropáteřním. Zajišťuje také regulační funkci a ochranu při podstatných změnách teplot nebo atmosférického tlaku. Podílí se na metabolismu neuronů a imunologických procesech. Dále zajišťuje odstranění produktů vznikajících katabolismem. Další neméně důležitou funkcí je udržení hematoencefalické rovnováhy, o čemž bude pojednáno dále. (14)

## 2.3 Hematoencefalická bariéra

Hematoencefalická bariéra zajišťuje výměnu látek mezi krví, likvorem a mozkem. Zprostředkovává transport látek, který je závislý na jejich velikosti, náboji, koncentračním spádu a rozpustnosti v tucích. Důležitá je přítomnost přenašečů pro jednotlivé molekuly. Tento mechanismus se skládá ze tří bariér. (14), (13)

První bariéra je hematoencefalická, kdy probíhá výměna látek mezi krví a tkání CNS. Skládá se z vrstvy endotelu mozkových kapilár, kde jsou buňky spojeny pomocí pravých tight junctions (těsných spojů), bazální membrány a vrstvy astrocytů, které vytváří velmi blízký kontakt mezi svými výběžky. Díky ní nedochází k prostupu makromolekul do mozkové tkáně. (14), (13)

Druhá bariéra zajišťuje výměnu látek mezi krví a mozkomíšním mokem. Dle funkce ji nazýváme hematolikvorová. Je složena z epitelu choroidálních plexů a kapilár pia mater. Oproti předchozí bariéře je zde přítomný rozdíl u endotelových buněk kapilár, kde jsou

buňky spojeny pomocí gap junction (vodivý neboli komunikační spoj). Díky tomu je buněčné spojení permeabilnější. (14), (13)

Poslední ale neméně důležitou částí je encefalolikvorová bariéra, díky které probíhá výměna látek mezi likvorem a tkání CNS. Tvořena je gliovými vlákny a ependymovými buňkami komor. (14)

## **3 VYŠETŘENÍ LIKVORU**

### **3.1 Indikace vyšetření**

Indikací k laboratornímu vyšetření mozkomíšního moku nejčastěji bývá diagnostika akutních infekcí, i chronických onemocnění CNS. Mezi akutní infekce řadíme zejména meningitidu a encefalitidu. Chronická zánětlivá onemocnění nervové soustavy mohou být infekční i neinfekční, zde mluvíme o například roztroušené skleróze. Zároveň má vyšetření veliký přínos při diagnostice nádorového onemocnění (zejména primární a sekundární nádory CNS, hematologické malignity). Dále se vyšetření indikuje u akutní i chronické polyneuropatie (například akutní zánětlivá demyelinizační neuropatie), cévní mozkové příhody (hemoragické či ischemické), i u degenerativních onemocnění (např. Alzheimerova nemoc). (14), (10)

#### **3.1.1 Odběr**

Mozkomíšní mok můžeme získat třemi různými způsoby, nejčastěji se však odebírá takzvanou lumbální punkcí. Při tomto procesu se pacient posadí či položí, a v ideálním případě by měl mít nahrbená záda. Díky této poloze jsou obratle dále od sebe a vzniká tedy větší prostor pro místo odběru. Vpich se nejčastěji provádí mezi třetím a čtvrtým bederním obratlem dlouhou punkční jehlou až do vaku, který je tvořen obaly CNS. Z tohoto místa odebereme likvor, a to bez rizika ohrožení míchy. Pro odběr používáme čistou zkumavku bez různých činidel, nejčastěji polypropylenovou z důvodu zamezení adsorpce některých analytů na povrch zkumavky. Pro mikrobiologické vyšetření se používá sterilní zkumavka. Dospělým pacientům se standartně odebírá 10-15 ml likvoru, u dětí je to kolem 2 ml. U dospělých provádíme punkci do hloubky 4-8 cm, u dětí asi do 2 cm. Při proceduře hodnotíme tlak, pod kterým mozkomíšní mok odtéká, a jeho barvu. (14), (12), (13)

Dalším způsobem získání vzorku likvoru je velmi málo využívaný odběr z mozkových komor při neurochirurgickém zákroku, nebo pomocí subokcipitální punkce. (14)

Odebraný vzorek musí být do hodiny doručen do laboratoře, aby mohlo co nejrychleji proběhnout celkové vyšetření. Často se využívá statimové vyšetření, které by mělo být zpracováno do hodiny od odběru materiálu, protože se nejčastěji jedná o život ohrožující stavy. (14)

V rámci základního statimového vyšetření posuzujeme vzhled likvoru před a po centrifugaci, stanovujeme celkový počet erytrocytů, leukocytů s diferenciací na mononukleáry a polynukleáry, a zhotovení trvalého cytologického preparátu se základním barvením. Zároveň s cytologií se provádí základní mikrobiologické vyšetření. Dalším doprovodným krokem je standardní biochemické vyšetření, kam patří stanovení koncentrace glukózy, laktátu i celkové bílkoviny. Mozkomíšní mok po všech statimových vyšetřeních uchováváme odděleně dle jednotlivých analýz, zároveň uchováváme i zbytky nevyšetřeného likvoru v lednici po dobu 3-7 dnů. (14) (10)

### **3.2 Cytologické vyšetření**

Pomocí cytologického vyšetření stanovujeme počet buněk (elementů) v mozkomíšním moku a následně hodnotíme jejich morfolonii. Toto vyšetření by se mělo provádět vždy, protože i přes fyziologický počet elementů může být buněčná skladba patologická. Také je doporučeno vždy zhotovit cytologický preparát. Vyšetření dělíme na cytologii kvalitativní a kvantitativní a měla by být vždy zpracována do jedné hodiny od příjmu materiálu. (14)

#### **Kvantitativní vyšetření**

Při kvantitativním vyšetření se stanovuje mikroskopicky počet elementů v likvoru za užití Fuchs-Rosenthalovy komůrky. Buňky se prohlíží při zvětšení 400x a počítají se zásadně v celé komůrce. Jedna mřížka odpovídá objemu 3 $\mu$ l, tudíž zápis výsledku bude počet buněk lomeno 3. Pro zápis výsledku v 1 $\mu$ l vydělíme celkový počet buněk třemi. Oba zápisy jsou správné.

Fyziologická hodnota u dospělých pacientů by se měla pohybovat do 5 elementů na 1 $\mu$ l. U novorozenců je tato hranice vyšší, a to až 19/ $\mu$ l jaderných buněk. Do tří měsíců by se však měla hodnota srovnat na hranici dospělého člověka. Erytrocyty by se standardně neměly v likvoru vůbec vyskytovat, jejich nález je však kupodivu velmi častý. K této situaci dochází zejména při odběru, kdy se neúmyslně poškodí žilní pleteně kolem páteře. (14), (10), (13)

### **Kvalitativní vyšetření**

Pomocí kvalitativního vyšetření zjišťujeme, jaké je zastoupení jednotlivých buněčných elementů. Dále se hodnotí jejich morfologie. Dokážeme rozlišit mononukleáry a polymorfonukleáry, i buňky výstelky likvorových cest. K tomuto vyšetření slouží trvalý cytologický preparát, jenž zhotovujeme ze zkoumaného vzorku a obarvíme jej.

Kromě základního barvení využíváme i určité speciální techniky. Například Gramovo barvení se využívá k průkazu a charakterizaci bakterií. Dále se vyšetřuje výskyt trojmocného železa v hemosiderinu, nebo PAS reakce pro průkaz polysacharidů (ta má význam při podezření výskytu nádorových buněk). (14), (13)

## **3.3 Celulární spektrum mozkomíšního moku**

Krevní elementy vznikají a postupně se vyvíjí z jedné společně buňky, kterou nazýváme pluripotentní kmenová buňka. Ta vzniká v kostní dřeni a následně se dělí na myeloidní a lymfocytární řadu. Nyní se zaměřím na buňky, které můžeme najít v mozkomíšním moku. (8)

### **3.3.1 Mononukleáry**

#### **3.3.1.1 Lymfocyty**

Lymfocyty se vyvíjejí lymfocytární řadou. Malý lymfocyt má velikost okolo 8-10  $\mu$ m. Jádro je kulaté s hrubým hustým chromatinem a téměř vyplňuje buňku. Cytoplazma je slabě bazofilní, homogenní a čistá bez inkluzí. (5),

Aktivované lymfocyty mají velikost 11-18  $\mu$ m s velkým jádrem nepravidelného tvaru, cytoplazma je hojná a bazofilní. (5)

Plazmocyty považujeme, se svou velikostí až 21 $\mu$ m, za největší lymfoidní buňky. Obsahují excentricky uložené kulaté nebo oválné jádro s jadérky, plazma je bazofilní s perinukleárním projasněním. Vyuvíjejí se z B-lymfocytů po imunologické stimulaci a jsou producenty imunoglobulinů. (5)

### **3.3.1.2 Monocyty**

Monocyty jsou buňky, které se vyvíjejí myeloidní řadou. Jejich velikost je 15--30  $\mu$ m. Obsahují jádro nepravidelného ledvinovitého tvaru s řídkým jaderným chromatinem. Cytoplazma je tmavě modrá až šedá s množstvím vakuol a jemnou azurofilní granulací. Vzhledem k proměnlivosti tvaru i velikosti těchto buněk, mohou mít určitou podobnost s nádorovými buňkami. (5), (8)

Aktivované monocyty mají oproti neaktivovaným monocytům větší velikost, vakuolizovanou cytoplazmu a mají tendence se shlukovat. Makrofágy jsou aktivované monocyty, které fagocytovaly nějaký materiál a dle toho je i rozlišujeme, například erytrofágy, hemosiderofágy, lipofágy a další. (5)

### **3.3.2 Polymorfonukleáry**

Polymorfonukleáry se vyvíjejí myeloidní řadou. Díky bohaté granulaci jim říkáme také granulocyty a rozlišujeme tři typy.

Neutrofilní granulocyt je velký přibližně 15 $\mu$ m, jádro má rozdělené na 2-5 segmentů, které jsou spojené můstky a obsahují hutný chromatin. Cytoplazma je oxyfilní s obsáhlou drobnou granulací. (5), (8)

Druhým typem je eosinofilní granulocyt. Velikostně se pohybuje kolem 10-16  $\mu$ m. Jádro je většinou rozdělené na 2 segmenty, může připomínat tvar brýlí nebo činky, a obsahuje hutný chromatin. Cytoplazma je opět oxyfilní, s rozsáhlou tmavou, cihlově červenou granulací. (5), (8)

Bazofilní granulocyt je třetí a poslední granulocyt, který je velký přibližně 10-12  $\mu$ m. Jádro je nepravidelného až laločnatého tvaru s malým množstvím chromatinu. Často bývá ukryto pod purpurovou až černomodrou hustou bazofilní granulací ve formě zrněk. (5), (8)

### **3.3.3 Buňky výstelky likvorových cest**

Vzácně se v likvoru vyskytují epitelové buňky, které vystylají likvorové cesty. Patří sem buňky ependymu, plexus choroideus, piální a arachnoidální. Rozlišují se při kvalitativní cytologii. (10)

### **3.3.4 Nádorové buňky**

Nejčastěji se jedná o atypické buňky, které vzbuzují podezření na nádorový původ. Hlavními znaky takovýchto buněk bývá atypický tvar, přítomnost polymorfních jader, četných jadérek, četnějších mitóz, tvorba shluků, bazofilie cytoplazmy, výskyt pseudopodií a další. (5)

## **3.4 Cytologické nálezy v mozkomíšním moku**

Fyziologicky se v likvoru u dospělého člověka nachází pouze mononukleáry, přesněji buňky lymfocytární a monocytární řady, z nich jsou to hlavně lymfocyty. Většina buněk by měla nacházet v klidovém stavu. Vzácně můžeme najít buňky výstelky likvorových cest. Nález plazmocytů či makrofágů, které fagocytují specifický substrát, je vždy považováno za patologii. U novorozenců se může nacházet v mozkomíšním moku až polovina aktivovaných elementů, zároveň je u nich větší pravděpodobnost zachycení neutrofilních granulocytů, ale neměla by to být převažující složka buněčných elementů. (10)

### **3.4.1 Oligocytóza**

Patologická oligocytóza je termín, který označuje normální počet buněk, ale zároveň abnormální buněčné složení. Dělí se dle převažujících buněk, ale může být i smíšená. (14)

#### **a) Granulocytární**

Z granulocytární řady se v likvoru nejčastěji vyskytují neutrofilní granulocyty, které bývají přítomny při počáteční hnisavé i nehnisavé neuroinfekce, či při začínající ischemii centrální nervové soustavy. Eozinofilní granulocyty se mohou v mozkomíšním moku vyskytovat po invazivních neurochirurgických výkonech, při mykotické či parazitární infekci, nebo mohou odrážet alergickou reakci. Bazofilní granulocyty se v likvoru vyskytují velmi vzácně. (14), (10)

#### b) Lymfocytární

Lymfocytární oligocytóza se vyznačuje zvýšeným množstvím lymfocytů v aktivované a klidové formě. Plasmocyty bývají typické u chronických neuroinfekcí a roztroušené sklerózy. Nález lymfocytárních buněk bývá u diskrétních zánětlivých změn. (14), (10)

#### c) Monocytární

Jedná se o převažující výskyt monocytů v mozkomíšním moku, mohou být i v aktivované formě. Někdy bývá přítomen i specifický substrát fagocytózy. Lipofágy neboli makrofágy s kapénkami tuku v cytoplazmě, se vyskytují například u pacientů s destrukcí mozkového parenchymu. Erytrofágy mohou být přítomny po krvácení do likvorových cest. Také se mohou vyskytovat siderofágy, které obsahují látku hemosiderin, jako degradační produkt hemoglobinu. (14), (13)

#### d) Tumorózní

Nález nádorových buněk v mozkomíšním moku nemusí znamenat nádor na mozku. Ve většině případů pochází tyto buňky z extrakraniálních nádorů než z intrakraniálních. Nejčastější primární ložiska nádorových buněk v mozkomíšním moku bývají nálezy na plicích, žaludku, slinivky, prsní karcinom či vzácnější melanom. Z intrakraniálních nádorů se velmi často do mozkomíšního moku dostávají buňky primitivních neuroektodermových nádorů. (13)

#### e) Smíšená mononukleární oligocytóza

Výskyt aktivovaných lymfocytů a monocytů. Pokud jsou přítomny plasmocyty, odráží tento jev zánětlivý proces v likvorovém celku. Pokud plasmocyty přítomny nejsou, může se jednat o zánětlivé i nezápětlivé onemocnění nervového systému. (14)

#### f) Smíšená oligocytóza – výskyt mononukleárů a segmentů

Při smíšené oligocytóze je největší zastoupení granulocytárních buněk, především neutrofilů. Jedná se o ne přímou reakci akutní fáze, avšak přítomnost značí patologický stav. Může se jednat o začínající hnisavou i nehnisavou neuroinfekci nebo infekční komplikace po invazivních neurochirurgických výkonech. (14)

### 3.4.2 Pleocytóza

Tento termín se užívá pro označení zvýšeného počtu jaderných elementů. I v tomto případě může jít o smíšenou pleocytózu. (14)

#### a) Granulocytární

Při nálezu  $\geq 5$  buněk na  $1\mu\text{l}$  už považujeme za pleocytózu, může však dosahovat hodnoty až desetitisíce buněk. V tomto případě se vždy jedná o neutrofilní granulocyty. Tento nález je charakteristický pro hnisavé neuroinfekce, například u bakteriálních meningitid. Pokud se jedná o pleocytózu menšího stupně, může se jednat o počínající zánět nehnisavý. Může se vyskytnout i zvýšený počet eozinofilů, což znamená alergickou reakci či neuroinfekci. V tomto případě se jedná o infekci mykotickou, parazitární, nebo i bakteriální. (14), (13)

#### b) Lymfocytární

V tomto případě se zde vyskytují hlavně lymfocyty, i jejich aktivované formy nebo plazmocyty. Počet buněk je zvýšený, avšak jen výjimečně přesahuje počet 1000 buněk na  $1\mu\text{l}$ . Vyskytují se u virových zánětů, nebo mohou znamenat předchozí podráždění nervové soustavy, například po chemoterapii, po ozařování či po úrazu. Specificky se aktivované lymfocyty a plazmocyty vyskytují v akutním stádiu neuroboreliózy, přestože je jejím původcem bakterie. (14), (13)

#### c) Monocytární

Jedná se o mírně zvýšený počet monocytů, které mohou být i v aktivované formě. Etiologie je nespecifická, podobné jak u monocytární oligocytózy. (14)

#### d) Tumorózní

Stejně jako u tumorózní oligocytózy. (13)

#### e) Smíšená mononukleární pleocytóza

Jedná se o zvýšený výskyt buněk lymfocytární a monocytární řady, někdy i jejich aktivovaných forem. Příčina výskytu podobná jako u pleocytózy lymfocytární či monocytární. (14)



f) Smíšená pleocytóza – výskyt mononukleárů a granulocytů

V tomto případě nacházíme v mozkomíšním moku jak monocyty, lymfocyty tak granulocyty. Mononukleáry se mohou nacházet v aktivované formě. Rozptyl počtu buněk bývá různý, od hraničního po stovky buněk. Příčinou většinou bývá zánětlivé onemocnění centrální nervové soustavy, avšak může značit i počínající hnisavou neuroinfekci nebo proliferativní fázi u hnisavých neuroinfekcí. (14)

# PRAKTICKÁ ČÁST

## 4 CÍL PRÁCE

### 4.1 Hlavní cíl

V průběhu mé bakalářské práce se snažím zjistit využitelnost analyzátoru Sysmex XN-1000 při vyhodnocení kvantitativní cytologie mozkomíšního moku vůči klasické metodě s využitím komůrky dle Fuchs-Rosenthala, která je považována za zlatý standard.

### 4.2 Dílčí cíle

1. Nasbírat dostatek dat pro analýzu.
2. Posoudit shodu měření obou metod.

## 5 METODIKA PRÁCE

Analyzovala jsem 62 vzorků pacientů na hematologickém analyzátoru Sysmex-XN 1000 a základní cytologickou metodou počítání elementů v komůrce dle Fuchs-Rosenthala. Pro srovnání těchto dvou metod byl použit korelační graf s regresní analýzou dle Passinga-Babloka a rozdílový Blandův-Altmanův graf. Získané hodnoty jsem rozdělila dle měřených elementů do čtyř kategorií, a to celkový počet leukocytů, polymorfonukleáry, mononukleáry a erytrocyty. Ke statistickému zpracování získaných hodnot byl užit program MedCalc. (7)

## 6 PŘÍSTROJOVÉ VYBAVENÍ A POMŮCKY

### 6.1 Cytologické vyšetření

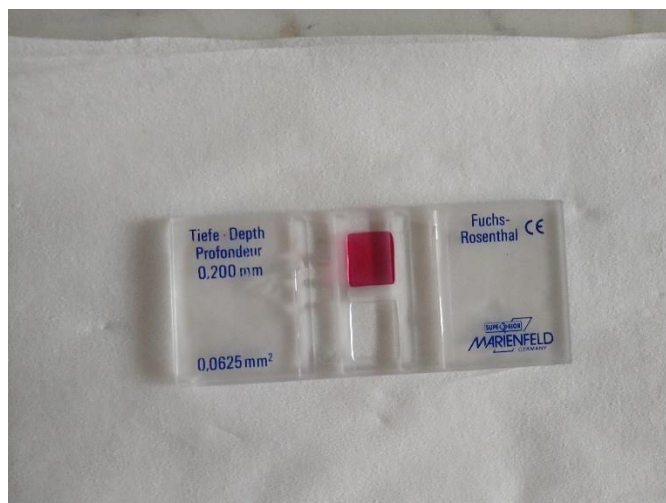
#### 6.1.1 Binokulární mikroskop Olympus BX41

Základním přístrojem pro cytologické vyšetření je optický mikroskop. Skládá se z optické, mechanické a osvětlovací části. Optická část zahrnuje objektiv a okulár, které společně tvoří soustavu spojených čoček. Objektiv nám umožňuje zvětšení obrazu, který se jeví jako skutečný a převrácený. Pomocí okuláru je objekt zvětšený, převrácený a neskutečný.

#### 6.1.2 Fuchs-Rosenthalova komůrka

Fuchs-Rosenthalovu komůrku používáme ke kvantitativní cytologické analýze. Její celkový objem je 3,2  $\mu\text{l}$ , obsahuje 256 malých čtverců a 16 velkých čtverců.

Obrázek 1- Fuchs-Rosenthalova komůrka



#### 6.1.3 Cytocentrifuga

Speciální centrifuga pro kvalitativní cytologii. Obsahuje čtyři pozice na cytocentrifugační komůrky. Centrifugujeme 4 min/850 otáček za minutu.

**Obrázek 2- Cytocentrifuga**



#### **6.1.4 Cytocentrifugační komůrka**

Cytocentrifugační komůrku se skládá z podložního sklíčka, filtračního papíru s kulatým výřezem uprostřed a komůrky.

**Obrázek 3- Cytocentrifugační komůrka**



#### **6.1.5 Mikropipety a špičky**

Pístové mikropipety značky Eppendorf, které jsou kalibrované a velmi přesné. Jednorázové špičky.

### 6.1.6 Chemické látky

1. Roztok kyselého fuchsinu pro barvení při kvantitativní analýze.
2. Barvivo May-Grünwald
3. Barvivo Giemsa-Romanowski
4. Metanol – fixační roztok
5. Pufr

## 6.2 Analyzátor Sysmex XN 1000

Sysmex XN 1000 je automatizovaný hematologický analyzátor, který je určený k diagnostickému použití in vitro v klinických laboratořích. Slouží k analýze krevního obrazu pro diagnostické použití in vitro pro analýzu patientských vzorků. Umožňuje kvantitativní stanovení, identifikaci, poměrovou analýzu a přiřazení příznaků hmotným složkám krve a tělních tekutin pomocí elektrické impedance, rozptylu laserového světla a navázání barviva. K analýze různých krevních buněk jsou potřeba specifické kanály. (4),(9)

1. Analýza erytrocytů a trombocytů

Analýza počtu erytrocytů a trombocytů probíhá pomocí metody hydrodynamické fokusace buněk v kombinaci s detekcí napěťových pulsů v poli stejnosměrného proudu. Stanovení absolutního počtu RBC a PLT probíhá na základě detekce napěťových pulsů způsobených při průchodu buňky elektrickým proudem. Výsledky vyhodnocuje pomocí scattergramu. (9)

2. Analýza počtu leukocytů – měřící kanál WNR

Analýza počtu leukocytů probíhá kombinací průtokové fluorescenční cytometrie a hydrodynamické fokusace. Pomocí reagentie Lysercell WNR dojde k rozpuštění membrány erytrocytů a erytroblastů, zároveň dojde k perforaci membrány leukocytů. Nyní pomocí mikropórů v membráně leukocytů vnikne fluorescenční značka Fluorocell WNR, která se specificky navazuje na buněčné struktury obsahující DNA nebo RNA. Jakmile dopadne laserový paprsek na buňku, dochází k rozptylu paprsku a při jeho průniku do intracelulárního prostoru vzniká fluorescenční záření. Intenzita tohoto záření je

úměrná obsahu nukleových kyselin, které vyjadřují metabolickou aktivitu aktivitu buňky. (9)

### 3. Analýza diferenciálního rozpočtu leukocytů – měřící kanál WDF

Probíhá na stejném principu jako u bodu 2, s tím rozdílem, že místo Fluorocell WNR je použit Fluorocell WDF. Při dopadu laserového paprsku na buňku dochází k rozptylu paprsku na základě morfologické struktury buňky a vzniká fluorescenční záření. Tato metoda umožňuje diferenciaci leukocytů a odhalení abnormalit leukocytů. (9)

### 4. Stanovení retikulocytů – volitelný měřící kanál

Stanovení retikulocytů probíhá kombinací hydrodynamické fokusace a průtokové fluorescenční cytometrie. Pomocí reagentie Cellpack DFL pronikne fluorescenční značka do vnitřního prostoru buňky a specificky se naváže na jaderné a cytoplazmatické struktury obsahující nukleové kyseliny DNA a RNA. Červená řada je hodnocena na základě objemu buňky a intenzity fluorescence, kdy retikulocyty vykazují vyšší fluorescenci než zralé erytrocyty, a to díky zbytkům jaderných struktur. (9)

### 5. Analýza tělních tekutin – volitelný mód BF

K analýze tělních tekutin dochází pomocí technologie stanovení diferenciálního rozpočtu leukocytů. Jedná se o odlišný mód než pro analýzu plné krve, proto je potřeba udělat kontrolu pozadí po přechodu měření z plné krve na tělní tekutiny. Podle morfologické struktury rozlišuje mononukleáry a polymorfonukleáry. (9)



## **7 PRACOVNÍ POSTUP**

### **7.1 Kvantitativní cytologie**

Nejprve jsem likvor velmi dobře promíchala opatrným převrácením zkumavky. Do nové zkumavky jsem napipetovala 100  $\mu$ l likvoru, 10  $\mu$ l roztoku kyselého fuchsinu a znovu dobře promíchala stejným způsobem. Nechala jsem likvor barvit 10 minut. Mezitím jsem si natáhla krycí skličko na Fuchs-Rosenthalovu komůrku. Do první poloviny komůrky jsem napipetovala přibližně 10  $\mu$ l nativního likvoru, do druhé poloviny jsem napipetovala stejné množství obarveného likvoru. Buňky jsem prohlížela pod mikroskopem při 400násobném zvětšení. V nativním likvoru jsem počítala erythrocyty, v obarveném likvoru jsem počítala jaderné buňky. Díky kyselému fuchsinu, který způsobí lýzu erythrocytů, lze leukocyty dobře prohlížet a rozlišit na mononukleáry a polynukleáry, Tento počet jaderných buněk je však pouze orientační. Pokud mozkomíšní mok obsahuje vyšší počet erythrocytů nebo leukocytů a bylo by obtížné je ve všech polích správně spočítat, je možné vyhodnocení modifikovat. Buňky se spočítají třeba jen v pěti různě rozložených polích, vypočítá se průměr na jedno pole a vynásobí se celkovým počtem ve Fuchs-Rosenthalově komůrce, tj. číslem 256.

### **7.2 Kvalitativní cytologie**

Vzhledem k nízké buněčnosti likvoru, jsem musela nejprve zhodnotit, kolik  $\mu$ l vzorku budu potřebovat. Protože jsem ve Fuchs-Rosenthalově komůrce napočítala méně jak 500 erythrocytů, potřebovala jsem 400 $\mu$ l likvoru. Pokud bych napočítala 501-5000 erythrocytů, použila bych pouze 200 $\mu$ l likvoru. V dalším kroku jsem si složila cytocentrifugační komůrku, a to tak, že jsem na čisté, v alkoholu dezinfikované skličko přiložila speciální filtrační papír s kruhovým výstřížkem uprostřed. Společně jsem jej vložila do cytocentrifugační komůrky, kam jsem následně napipetovala požadované množství likvoru. Komůrku jsem vložila do speciální cytocentrifugy, která je nastavena na 4 min/850 otáček za minutu. Po centrifugaci jsem vyjmula komůrku a odstranila z ní skličko, nechala oschnout a následně barvila. V prvním kroku barvení jsem ponořila preparát do kyvety s fixačním roztokem pětkrát na 1 sekundu. V druhém kroku jsem preparát ponořila do kyvety s barvivem May-Grünwald třikrát na 1 sekundu. Ve třetím kroku jsem ponořila preparát do kyvety s barvivem Giemsa-Romanowski šestkrát na 1

sekundu. Následně jsem preparát opláchla pufrem, poté pufr sklepala, spodní stranu sklíčka jsem opatrně otřela a nechala preparát schnout. Jako poslední krok jsem zalepila vzniklý preparát speciálním lepidlem entelanem. Pro kontrolu můžeme porovnat počet nalezených buněk s počtem buněk ve Fuchs-Rosenthalově komůrce.



## 8 ANALÝZA A INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

### 8.1 Cytologické nálezy

Analýza získaných vzorků proběhla dvěma způsoby, a to pomocí automatizovaného hematologického analyzátoru Sysmex XN-1000 a základní ruční cytologickou metodou, přesněji počítáním ve Fuchs-Rosenthalově komůrce. V obou provedených měřeních jsem zjišťovala celkový počet leukocytů, mononukleárů, polymorfonukleárů a erytrocytů.

Při hodnocení korelace mezi testovanými metodami byly zjištěny korelační koeficienty  $r=0,95$ ,  $P<0,0001$  v případě celkového počtu leukocytů,  $r=0,74$ ,  $P<0,0001$  v případě hodnocení korelace počtu polymorfonukleárů,  $r=0,94$ ,  $P<0,0001$  v případě hodnocení korelace počtu mononukleárů a  $r=0,68$ ,  $P<0,0001$  v případě erytrocytů. Vzhledem k nenormálnímu rozložení byl užit Spearmanův test korelace, kdy pro  $\alpha$  jako určující hladina významnosti byla stanovena hodnota 0,05.

#### 8.1.1 Leukocyty

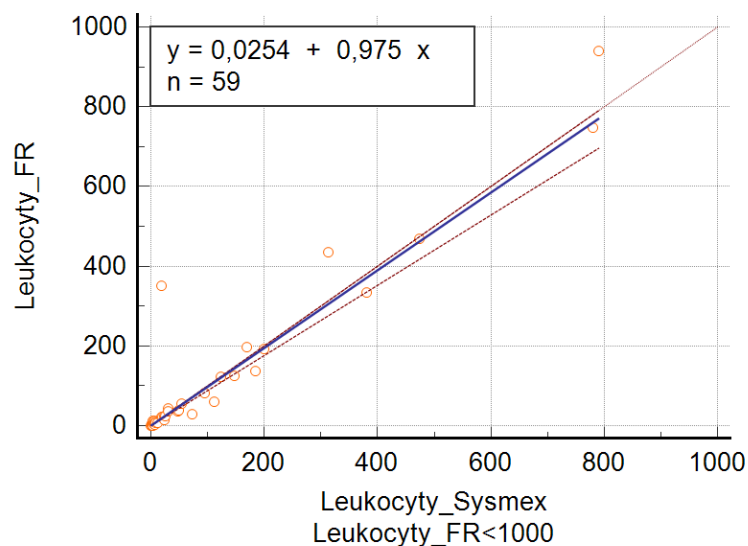
Data získaná z měřeného počtu leukocytů jsou uvedena v Tabulce 1.

Tabulka 1- Souhrnná statistika (leukocyty)

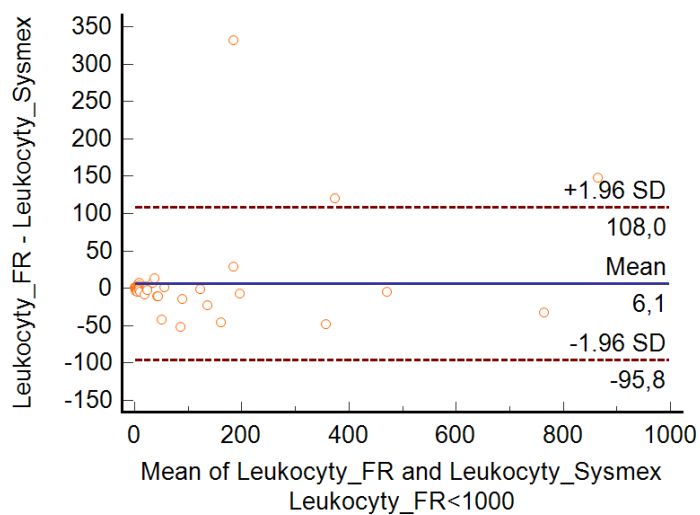
	Medián	Min. hodnota	Max. hodnota	2,5 percentil	97,5 percentil
Leukocyty Sysmex	7	0	3011	0,05	1034,2
Leukocyty FR	8,5	1	6827	1	1521,35

Změřená data počtu leukocytů jsou vložena do grafu dle Passinga-Babloka pro znázornění korelace měření obou metod a do rozdílového Bland-Altmanova grafu.

**Graf 1- Passing Bablok (leukocyty)**



**Graf 2- Bland-Altman (leukocyty)**



### 8.1.2 Polymorfonukleáry

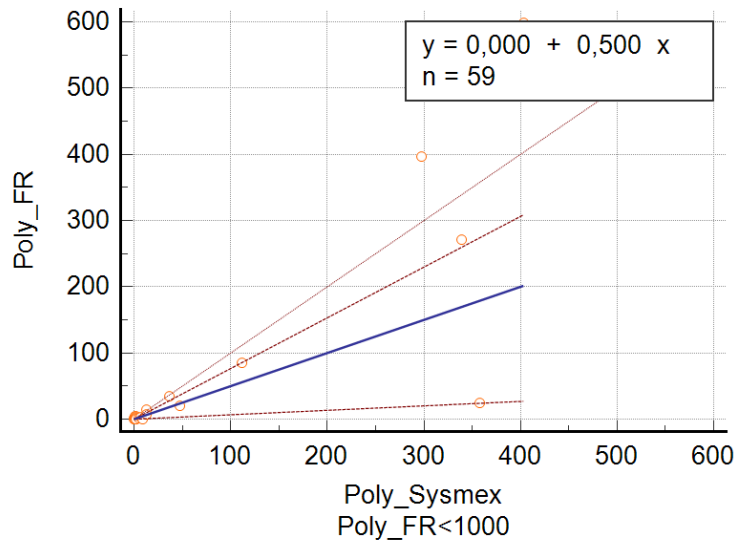
Data získaná z měřeného počtu polymorfonukleárů jsou uvedena v Tabulce 2.

**Tabulka 2- Statistika (polymorfonukleáry)**

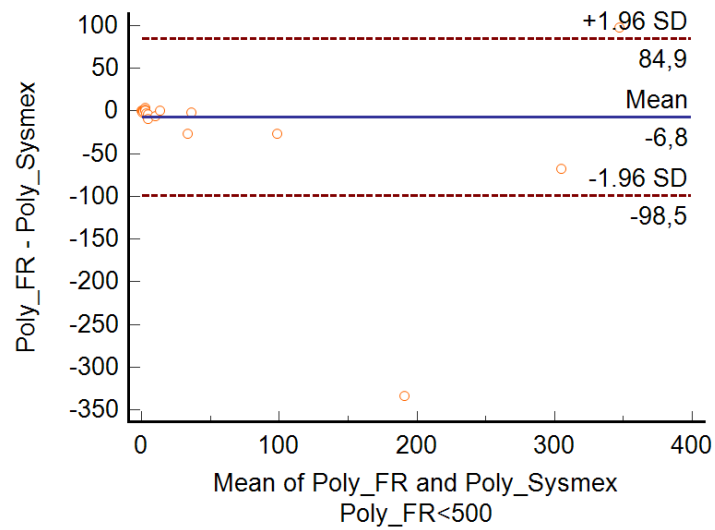
	<b>Medián</b>	<b>Min. hodnota</b>	<b>Max. hodnota</b>	<b>2,5 percentil</b>	<b>97,5 percentil</b>
Polymorfonukleáry Sysmex	1	0	2341	0	977,75
Polymorfonukleáry FR	0	0	6400	0	1386,5

Změřená data počtu polymorfonukleárů jsou vložena do grafu dle Passinga-Babloka pro znázornění korelace měření obou metod a do rozdílového Bland-Altmanova grafu.

**Graf 3- Passing Bablok (polymorfonukleáry)**



**Graf 4- Bland-Altman (polymorfonukleáry)**



### 8.1.3 Monokleáry

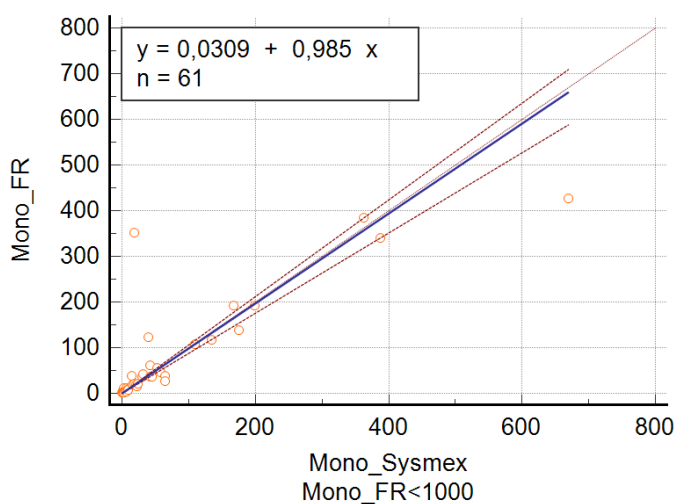
Data získaná z měřeného počtu mononukleárů jsou uvedena v Tabulce 3.

Tabulka 3- Statistika (mononukleáry)

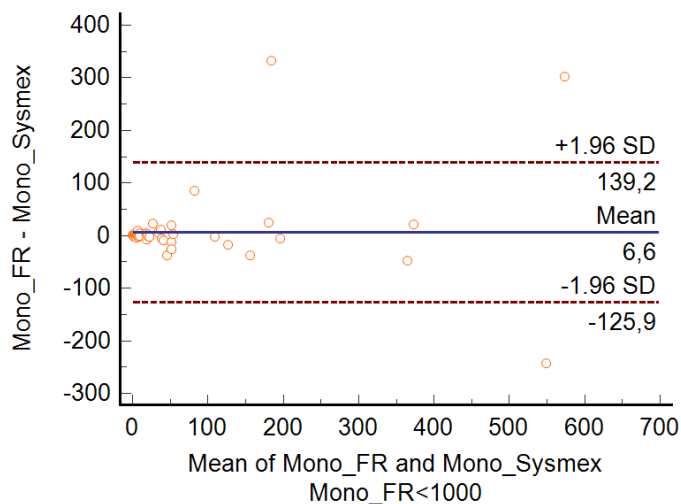
	Medián	Min. hodnota	Max. hodnota	2,5 percentil	97,5 percentil
Mononukleáry Sysmex	7	0	670	0	420,3
Mononukleáry FR	7	1	724	1	424,85

Změřená data počtu mononukleárů jsou vložena do grafu dle Passinga-Babloka pro znázornění korelace měření obou metod a do rozdílového Bland-Altmanova grafu.

Graf 5- Passing Bablok (mononukleáry)



Graf 6- Bland-Altman (mononukleáry)



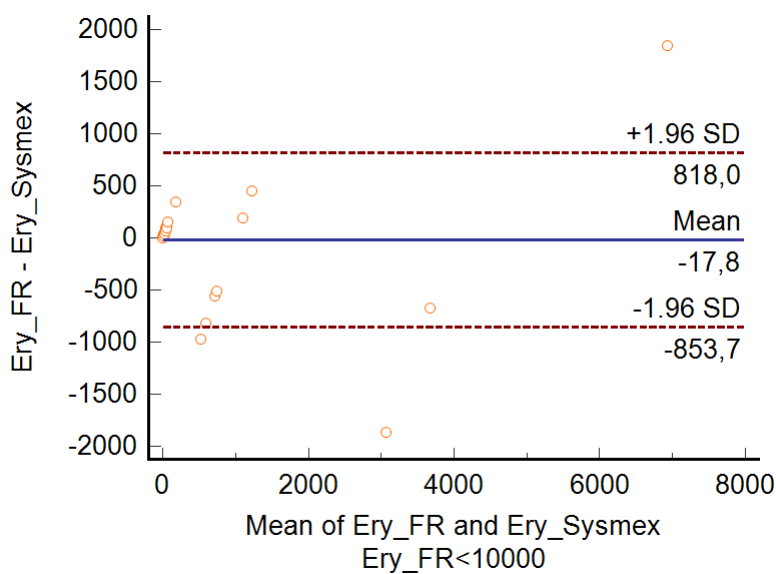
### 8.1.4 Erytrocyty

Data změřených erytrocytů jsou uvedena v Tabulce 4.

Tabulka 4- Statistika (erytrocyty)

	Medián	Min. hodnota	Max. hodnota	2,5 percentil	97,5 percentil
Erytrocyty Sysmex	0	0	303000	0	24400
Erytrocyty FR	33,5	0	211627	0	11093

Graf 7- Bland-Altman (erytrocyty)



Tabulka 5- Statistika měření

	Sysmex	Fuchs-Rosenthal	Počet vzorků hodnocených rozdílně
Oligocytóza	29	28	5
Pleyocytóza	33	34	

V případě posouzení pleyocytózy se výsledky metod rozcházejí u pěti vzorků. Z toho ve dvou případech byl počet nadhodnocen při použití Sysmex XN-1000 oproti Fuchs-Rosenthalově komůrce.

## **8.2 Soubor patientských vzorků**

Data byla pořízena na Ústavu klinické biochemie a hematologie ve Fakultní nemocnici Plzeň. Všechny vzorky, které jsme analyzovali, jsou od dospělých pacientů z různých oddělení. U všech vzorků byl odebrán likvor na základě indikace od lékaře. Pacienti podepsali informovaný souhlas s užitím zbytku jejich vzorku pro naše měření na analyzátoru Sysmex XN-1000. Pro naši analýzu jsme získali a vyšetřili 62 vzorků.

## DISKUZE

Během mé práce jsem porovnávala dvě metody hodnocení kvantitativní cytologie mozkomíšního moku. Jednalo se o porovnání zlatého standardu stanovení počtu elementů v komůrce dle Fuchs-Rosenthala s následnou diferenciací na polymorfonukleáry a mononukleáry, a použití automatizovaného hematologického analyzátoru Sysmex-XN 1000 v body fluid modu.

Porovnání metod bylo provedeno na počtech mononukleárů, polymorfonukleárů, erytrocytů a celkovém počtu leukocytů. Jelikož se jedná o vzácný materiál, bylo obtížnější nasbírat dostačující množství vzorků. Zároveň bylo důležité dodržet preanalytickou fázi pro správnost měření.

Na podkladě testů korelace, grafů dle Bland-Altmana a Passing-Babloka byla zjištěna velmi dobrá shoda mezi všemi vyšetřovanými parametry. Nejhorší korelace bylo dosaženo u erytrocytů, avšak z klinického pohledu při hodnocení nálezu se jednalo o nevýznamné rozdíly. Z pohledu klinického hodnocení jsem se zabývala porovnáním, v kolika případech dochází k neshodě metod při rozdělení vzorků na oligocytózu a pleocytózu. K rozdílnému hodnocení došlo v 5 případech, kdy ve 2 případech byl počet nadhodnocen v případě použití analyzátoru Sysmex XN-1000. V případech s hraničními nálezy je třeba vždy postupovat individuálně a hodnotit současně kvantitativní cytologické vyšetření a biochemické vyšetření.

Z pohledu využití analyzátoru Sysmex XN-1000 pro běžné rutinní využití je s výhodou menší množství vzorku nutné pro analýzu v porovnání s kvantitativním cytobiochemickým vyšetřením při užití komůrky dle Fuchs-Rosenthala (88  $\mu$ l v případě analyzátoru vs 100  $\mu$ l v případě komůrky), což může hrát roli zejména např. u neonatologických vzorků. Současně je výhodou rychlost analýzy, což může být rozhodující zejména v případech, kdy je důležitá rychlá diagnostika (např. diagnostika purulentních zánětů). Na druhou stranu je třeba zmínit, že existují případy publikované v literatuře, kdy při přítomnosti mesoteliálních, nádorových buněk, případně makrofágů, dochází k diskrepantnímu hodnocení (, byť analytické vlastnosti mohou být dostačující, zejména právě u námi testovaného analyzátoru Sysmex XN-1000. (2), (3), (6)

## ZÁVĚR

Cílem mé práce bylo porovnat původní metodu počítání elementů v mozkomíšním moku s užitím komůrky dle Fuchs-Rosenthala, která je považována za zlatý standard, a měření na automatickém analyzátoru Sysmex XN-1000.

Vzhledem k výsledným datům lze využít Sysmex XN-1000 ke kvantitativnímu cytologickému zpracování, avšak s ohledem na možnost diskrepantního hodnocení v některých případech dle dostupné literatury (přítomnost makrofágů, nádorových buněk) by pro spolehlivé hodnocení bylo vhodné současné zhodnocení trvalého cytologického preparátu, což není v běžné praxi vždy proveditelné.



## 9 SEZNAM LITERATURY

1. Body fluid cell counts - how to perform and interpret the results. [online]. Copyright © Sysmex Europe GmbH. [cit. 25.05.2021]. Článek ve formátu PDF. Dostupné z: <https://www.sysmex-europe.com/n/academy/library/documents/detail/seed-body-fluid-cell-counts-how-to-perform-and-interpret-the-results.html>
2. Buoro, S et al. Two-site evaluation of the diagnostic performance of the Sysmex XN Body Fluid (BF) module for cell count and differential in Cerebrospinal Fluid. In: *International journal of laboratory hematology*, vol. 40, no. 1, 2018.
3. Fleming, Chérina et al. Clinical relevance and contemporary methods for counting blood cells in body fluids suspected of inflammatory disease. In: *Clinical chemistry and laboratory medicine*, vol. 53, no. 11, 2015.
4. Fluorescence flow cytometry. [online]. Copyright © Sysmex Europe GmbH. [cit. 25.05.2021]. Dostupné z: <https://www.sysmex-europe.com/academy/knowledge-centre/technologies/fluorescence-flow-cytometry.html>
5. Glosová, Libuše. *Cytologický atlas mozkomíšního moku*. Praha: Galén, c1998, 95 s. ISBN 80-858-2470-1.
6. Hrishi, Ajay Prasad, Manikandan, Sethuraman. Cerebrospinal Fluid (CSF) Analysis and Interpretation in Neurocritical Care for Acute Neurological Conditions. In: *Indian journal of critical care medicine: peer-reviewed, official publication of Indian Society of Critical Care Medicine*, vol. 23 (Suppl 2), 2019.
7. MedCalc Software, verze 20.216, MedCalc Software bvba, Ostend, Belgie
8. Pecka, Miroslav. *Laboratorní hematologie v přehledu*. Český Těšín: Finidr, 2002, 160 s. ISBN 80-866-8201-3.
9. Pokyny pro použití analyzátoru Sysmex XN-100 firmy Sysmex
10. Racek, Jaroslav a Daniel RAJDL. *Klinická biochemie*. Třetí, přepracované a rozšířené vydání. Praha: Galén, [2021], 454 s. ISBN 978-80-7492-545-0.
11. Tělní tekutiny. *Sysmex CZ s.r.o. a Sysmex Slovakia s.r.o.* [online]. Copyright © Sysmex Europe SE. All rights reserved. [cit. 31.01.2023]. Dostupné z: <https://www.sysmex.cz/academy/klinicke-informace/telni-tekutiny.html>
12. Torzewski, Michael a Karl J. Lackner. Cerebrospinal fluid cytology: a highly diagnostic method for the detection of diseases of the central nervous system. *LaboratoriumsMedizin*. 2016, 40(s1). ISSN 1439-0477. Dostupné z: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/labmed-2016-0044/html>
13. Zeman, David. *Praktický průvodce laboratorním vyšetřením likvoru*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2018, 135 s. ISBN 978-80-244-5262-3.
14. Zima, Tomáš. *Laboratorní diagnostika*. 3., dopl. a přeprac. vyd. Praha: Galén, c2013. ISBN 978-80-7492-062-2.