



31. 3.–2. 4. 2019

PROGRAM SBORNÍK ABSTRAKT

ŽELEZNOHORKY 2019

**XXXI. celostátní pracovní konference
laborantů a sester**

**HOTEL JEZERKA
ÚSTUPKY 278, 538 01 SEČ**

Pořadatel

- IV. interní hematologická klinika LF UK a FN Hradec Králové
- Transfuzní oddělení FN Hradec Králové

Pod záštitou

- České hematologické společnosti ČLS JEP
- Společnosti pro transfuzní lékařství ČLS JEP
- prof. MUDr. Vladimíra Paličky, CSc., dr. h. c., ředitele FN Hradec Králové

Organizační výbor

- Zdeňka Pavlíková, IV. interní hematologická klinika, laboratorní část
- Hana Krejčí, Transfuzní oddělení

Neděle, 31. března 2019

Předsedající: I. Fátorová, Z. Pavlíková (Hradec Králové)

M. Matýšková, D. Mikulenkova (Brno, Praha) 45 min.

M. Matýšková, D. Mikulenkova (Brno, Praha) 45 min.

M. Matýšková, D. Mikulenkova (Brno, Praha)

15.00–15.20 Přestávka

SPECIALIZAČNÍ VZDĚLÁVÁNÍ ZDRAVOTNÍCH LABORANTŮ PRO HEMATOLOGII A TRANSFUZNÍ SLUŽBU

I. Trnavská (Brno)

INFORMACE Z VÝBORŮ SEKCE LABORANTŮ ČHS A SEKCE LABORANTŮ A SESTER STL ČLS JEP

Z. Pavlíková, M. Adamcová (Hradec Králové, Brno) 20 min

Z. Pavlíková, M. Adamcová (Hradec Králové, Brno)

DISKUZE

16.00–16.15 Přestávka

16.15–17.15 **NOVÉ TRENDY VE VÝŽIVĚ A V OBLASTI ZDRAVÉHO ŽIVOTNÍHO STYLU**

P. Havlíček (Centrum Petra Havlíčka s.r.o.)

17.15–18.15 PARTNERSKÉ VZTAHY

L. Janáčková (Sexuologický ústav 1.LF a VFN)

19.30 **UVÍTACÍ VEČER**

Pondělí, 1. dubna 2019

08.30–09.45 Předsedající: A. Dynterová (Hradec Králové).

J. Kadlecová (Olomouc)

PŘÍSTUP K DOSPĚLÉMU PACIENTOVI S NEOČEKÁVANOU PANCYTOPENIÍ/CYTOPENIÍ (DEFINICE, MECHANISMUS, KLINICKÁ ZÁVAŽNOST)

P. Žák (Hradec Králové) 20 min

**PANCYTOPENIE – DIAGNOSTIKA V HEMATOLOGICKÉ
LABORATOŘI, KAZUISTIKY**

D. Mikulenková a kolektiv (Praha) 20 min

**PANCYTOPENIE V OBVODOVÉ KRVÍ – MORFOLOGICKY
ZAJÍMAVÉ KAZUISTIKY I**

I. Fátorová, A. Dynterová, P. Vodárek (Hradec Králové) 12 min

**PANCYTOPENIE V OBVODOVÉ KRVÍ – MORFOLOGICKY
ZAJÍMAVÉ KAZUISTIKY II**

A. Dynterová, I. Fátorová (Hradec Králové) 12 min

DISKUZE

09.45–10.00 Přestávka (f. Sysmex – morfologický kvíz I)

10.00–11.00 Předsedající: R. Kleinová, H. Krejčí (Hradec Králové)

PROJEKT RABBIT – NEŽ SE VZLÉTLO

S. Klabačková, V. Řeháček, R. Kleinová (Hradec Králové) 15 min

RABBIT V AKCI

*M. Dragúňová, E. Bojanovská, L. Šimerdová, V. Řeháček
(Hradec Králové)* 15 min

**PRAKTICKÉ ZKUŠENOSTI S PODÁVÁNÍM TRANSFUZNÍCH
PŘÍPRAVKŮ V PODMÍNKÁCH LETECKÉ ZÁCHRANNÉ
SLUŽBY**

A. Truhlář (Hradec Králové) 20 min

DISKUZE

11.00–11.15 Přestávka (f. Sysmex – morfologický kvíz II)

11.15–13.00 Předsedající: H. Krejčí, V. Bohdanecká (Hradec Králové)

**„STARÉ“ VERSUS „NOVÉ“ METODY PŘI ŘEŠENÍ DISKREPANCÍ
V IMUNOHEMATOLOGII**

J. Králová (Praha) 15 min

**IMPLEMENTACE GENOTYPOVÁNÍ ERYTROCYTÁRNÍCH
ANTIGENŮ – PRVNÍ ZKUŠENOSTI NA TO KN LIBEREC**

S. Škodová, P. Papoušek, R. Procházková (Liberec) 15 min

PROTILÁTKY V ENZYMATICKÉM TESTU

*L. Tesařová, A. Dominová, I. Lonsmínová,
P. Biedermann (České Budějovice)* 10 min

**VLIV DARATUMUMABU NA VÝSLEDKY
PŘEDTRANSFUZNÍCH TESTŮ**

V. Vyskočilová Spurná, A. Pejchalová (Brno) 10 min

KOMPLIKOVANÍ PACIENTI

M. Králová (Praha) 15 min

**AUTOMATIZACE IMUNOHEMATOLOGICKÉ LABORATOŘE
NEMOCNICE STRAKONICE A.S.**

Z. Tokár, M. Stehlíková, O. Lysenko (Strakonice) 10 min

IMUNOHEMATOLOGICKÉ PERLIČKY

M. Králová (Praha) 10 min

DISKUZE

12.00–14.00 Oběd

14.00–15.10 Předsedající: G. Tučková, V. Dytrychová (Hradec Králové)
**PORUCHY PRIMÁRNÍ HEMOSTÁZY – LABORATORNÍ
STANOVENÍ, PROTIDESTIČKOVÁ LÉČBA, KAZUISTIKY**
*J. Bílková, K. Kettnerová, E. Čechovská, I. Malíková,
T. Kvasnička, J. Kvasnička (Praha)* 15 min

**ANTIFOSFOLIPIDOVÉ PROTILÁTKY
– INDIKACE STANOVENÍ**

M. Matýšková, A. Buliková, J. Zavřelová (Brno) 10 min

**LUPUS ANTIKOAGULANS V PRAXI A PROČ JE TĚŽKÉ TENTO
SOUBOR METOD AKREDITOVAT**

*I. Malíková, A. Mrákotová, E. Teplá, E. Čechovská,
T. Kvasnička, J. Kvasnička (Praha)* 15 min

**DIAGNOSTIKA LUPUS ANTIKOAGULANS
– DOPORUČENÍ LS ČHS ČLS JEP**

J. Zavřelová a kolektiv (Brno) 10 min

**DETEKCE ANTIKARDIOLIPINOVÝCH PROTILÁTEK
V DIAGNOSTICE APS**

*P. Kupková, P. Chalupníková, D. Nepelchová,
A. Pavlíková, L. Slavík, J. Úlehlová (Olomouc)*

10 min

DISKUZE

15.10–15.25 Přestávka (f. Sysmex – transfuziologický kvíz)

15.25–17.10 Předsedající: H. Krejčí, M. Dragůňová (Hradec Králové)
**ZAJIŠTĚNÍ INTRAUTERINNÍCH TRANSFUZÍ V ROCE 2018
NA TTO FN BRNO**

O. Nováčková, A. Pejchalová (Brno)

10 min

**EXTRAKORPORÁLNÍ FOTOCHEMOTERAPIE – ZPRACOVÁNÍ
ODBĚRU MONONUKLEÁRNÍCH BUNĚK PRO NÁSLEDNÉ
OZÁŘENÍ UVA**

*E. Horáčková, R. Kleinová, K. Trávníčková, V. Řeháček,
M. Lánská (Hradec Králové)*

15 min

**VYŠETŘENÍ INFEKČNÍCH MARKERŮ NA ANALYZÁTORU
COBAS® C8000–MODULY E801 – PRVNÍ ZKUŠENOSTI**

L. Landová, M. Bohoněk (Praha)

15 min

**ELEKTRONICKÁ ARCHIVACE PRIMÁRNÍ DOKUMENTACE
V LABORATOŘI DÁRCŮ KRVE OHKT ÚVN PRAHA**

L. Landová, M. Bohoněk (Praha)

15 min

**ELEKTRONICKÝ VÝDEJ TRANSFUZNÍCH PŘÍPRAVKŮ
ANEBO ŠETŘME NAŠE LESY**

M. Matějček a kolektiv (Praha)

15 min

PLNÁ KREV SE VRACÍ: KDY, JAKÁ A PRO KOHO

M. Bohoněk (Praha)

15 min

**PŘEDSTAVENÍ NOVÉHO VÝBORU SPOLEČNOSTI
PRO TRANSFUZNÍ LÉKAŘSTVÍ ČLS JEP**

M. Bohoněk (Praha)

5 min

DISKUZE

15.30–17.00 **SCHŮZE LABORATORNÍ SEKCE ČHS ČLS JEP** (uzavřené jednání)

19.30 **SPOLEČENSKÝ VEČER S HUDBOU**

Úterý, 2. dubna 2019

08.45–10.10 Předsedající: J. Kadlecová (Olomouc), I. Trnavská (Brno)
BLASTY V NÁTĚRU PERIFERNÍ KRVĚ
R. Horáková, D. Mikulenkova (Praha) 15 min

EOSINOFILIE – ZAJÍMAVÉ KAZUISTIKY Z NAŠÍ LABORATOŘE
*V. Zadražilová, H. Zdráhalová, J. Juránová,
J. Kadlecová (Olomouc)* 15 min

TŘI OŘÍŠKY PŘI ANALÝZE KREVNÍHO OBRAZU (KAZUISTIKY)
*E. Pešková, I. Fátorová, K. Hrnčířová,
A. Dynterová (Hradec Králové)* 15 min

ZMĚNY V KREVNÍM OBRAZU ANEB „VZHŮRU K VÝŠKÁM“
*E. Teplá, H. Cafourková, I. Malíková,
R. Brzežková (Praha)* 15 min

VYUŽITÍ IMUNOFENOTYPIZACE V DIAGNOSTICE B-NHL
P. Bradáčová (Ústí nad Labem) 15 min

DISKUZE

10.10–10.25 Přestávka

10.25–11.35 Předsedající: S. Kieslichová (Hradec Králové), V. Zadražilová (Olomouc)
PRE-ANALYTICKÁ FÁZE KOAGULAČNÍHO VYŠETŘENÍ – VLIV NEDODRŽENÍ VYBRANÝCH KROKŮ PROCESU NA KONEČNÝ VÝSLEDEK
I. Hrachovinová, T. Fenclová, F. Mareček (Praha) 20 min

IMPLEMENTACE AUTOMATICKÉHO MĚŘENÍ PREANALYTICKÉ INTERFERENCE NA KOAGULOMETRECH ROCHE COBAS T 511 A ACL TOP 750
*A. Pavlíková, P. Chalupníková, D. Nepřechová,
P. Kupková, J. Úlehlová, L. Slavík (Olomouc)* 15 min

NENÍ ZKUMAVKA JAKO ZKUMAVKA

I. Janusová (Jablonec nad Nisou)

15 min

**PROBLEMATIKA POCT Z POHLEDU HEMATOLOGICKÉ
LABORATOŘE VE FN OSTRAVA**

M. Pulcer, Ž. Bajzová (Ostrava)

15 min

DISKUZE

11.35–11.50 Přestávka

11.50–13.20 Předsedající: V. Bohdanecká, A. Vavrušková (Hradec Králové)

**VYŠETŘENÍ KADAVEROZNÍHO DÁRCE ORGÁNŮ
V HLA LABORATOŘI TTO FN BRNO**

L. Marešová, L. Janků (Brno)

10 min

**VYŠETŘENÍ POTENCIÁLNÍHO DÁRCE ORGÁNŮ
VE FN BRNO – LABORATOŘ INFEKČNÍCH MARKERŮ
TTO FN BRNO**

Z. Jandová (Brno)

10 min

**VYŠETŘENÍ KADAVEROZNÍHO DÁRCE ORGÁNŮ NA TTO
FN BRNO – ZPRACOVÁNÍ A ZAMRAŽENÍ LYMFOCYTŮ**

H. Sedláková (Brno)

10 min

**UBÝVÁ ČI PŘIBÝVÁ PACIENTŮ ČEKAJÍCÍCH
NA TRANSPLANTACI LEDVINY?**

M. Lahodová (Brno)

10 min

**OZAŘOVÁNÍ TRANSFUZNÍCH PŘÍPRAVKŮ NA TRANSFUZNÍM
ODDĚLENÍ FN HK – OHLÉDNUTÍ PO 10 LETECH**

L. Šimerdová, T. Beková, M. Dragúňová,

V. Řeháček (Hradec Králové)

10 min

VÝROBA KRYOKONZERVOVANÝCH TROMBOCYTŮ

P. Kotrčová, S. Klabačková, J. Třebešková,

V. Řeháček (Hradec Králové)

10 min

**100% DELEUKOTIZACE ERYTROCYTŮ – OD ZÁMĚRU
K REALIZACI**

M. Janoušková (Karlovy Vary)

10 min

**„CHYTRÝ VERSUS CHYTŘEJŠÍ“
ZKUŠENOSTI S POUŽITÍM AUTOMATICKÝCH LISŮ
NA ZPRACOVÁNÍ KRVE MACOPRESS**

M. Janoušková (Karlovy Vary)

10 min

DISKUZE

13.20 UKONČENÍ ODBORNÉ ČÁSTI KONFERENCE

12.00–14.00 Oběd

POSTERY

TRANSFUZNÍ LÉKAŘSTVÍ

• PRVODÁRCI A JEJICH NÁVRAT K DAROVÁNÍ V TTO FN BRNO

M. Adamcová, R. Pacalová (Brno)

• MOTIVACE NOVÝCH DÁRCŮ K DÁRCOVSTVÍ – STATISTIKA

N. Kalužová, O. Lakotová (Ostrava)

• HEMOLYTICKÉ ONEMOCNĚNÍ PLODU NOVOROZENCE (HDFN)

K. Dvořáková, P. Kalmanová, I. Holusková, D. Galuszková (Olomouc)

**• ZÁPADONILSKÁ HOREČKA – DOČASNÉ ROZŠÍŘENÍ VYŠETŘOVÁNÍ ZNÁMEK
INFEKCE U DÁRCŮ KRVE NA TTO FN BRNO**

M. Havlíčková (Brno)

HEMATOLOGIE

• ZKUŠENOSTI Z KOAGULOMETREM ACL TOP 750 CTS VE FN PLZEŇ

*P. Štruncová, O. Matoušková, J. Palátová, I. Korelusová, P. Šigutová,
Z. Hajšmanová (Plzeň)*

• ZKUŠENOSTI SE SCREENINGOVÝM TESTEM ADAMTS-13 TECHNOSCREEN

P. Walterová, I. Kocincová, D. Zimová (Ústí nad Labem)

**• SROVNÁNÍ VÝSLEDKŮ AKTIVITY ADAMTS 13 VYŠETŘENÝCH NOVÝM
SCREENINGOVÝM TESTEM A TECHNIKOU ELISA**

V. Dytrychová, G. Tučková, P. Sadílek, I. Fátorová (Hradec Králové)

• CYTOMORFOLOGIE V DIAGNOSTICE SOLIDNÍCH TUMORŮ

P. Pumprlová, L. Antošová, J. Kissová, A. Bulíková, M. Penka (Brno)

• POTENCIÁL VYŠETŘOVÁNÍ MIKRO RNA

V. Romanská, K. Kettnerová, A. Syřůčková, T. Kvasnička, J. Kvasnička (Praha)

**• VLIV POLYMORFISMU CYP2C19 NA ÚČINNOST PROTIDESTIČKOVÉ LÉČBY
CLOPIDOGRELEM**

A. Syřůčková, V. Sedláková, J. Bílková, T. Kvasnička, J. Kvasnička (Praha)

ŽELEZNOHORKY **2019**

**XXXI. celostátní pracovní konference
laborantů a sester**

SBORNÍK ABSTRAKT

PŘÍSTUP K DOSPĚLÉMU PACIENTOVÍ S NEOČEKÁVANOU PANCYTOPENIÍ/CYTOPENIÍ (DEFINICE, MECHANISMUS, KLINICKÁ ZÁVAŽNOST)

P. Žák

IV. Interní hematologická klinika, FNHK

Neočekávaná pancytopenie/cytopenie (P/C) je laboratorně významný nález, který musí být neprodleně oznámen ošetřujícímu lékaři. Práh pro abnormální cytopenicke laboratorní hodnoty jsou obecně definovány jako pokles Hb < 120 g/L (u negravidních žen), < 135 g/L u mužů, ANC < $1,8 \times 10^9/L$ a trombocyty < $150 \times 10^9/L$. Klinická závažnost laboratorního nálezu se odvíjí od hloubky cytopenie, etiologické příčiny, ale také přidružených onemocnění/léčbě a délce trvání závažné granulocytopenie. K pancytopenii vede a) infiltrace nebo fibrotizace kostní dřeně; b) aplazie/hypoplazie hematopoézy; c) neefektivní erytropoéza; d) zvýšená destrukce/sekvestrace krevních elementů. (Pozn: je nezbytné vyloučit laboratorní chybu: záměnu vzorku, nevhodný transport, nevhodné médium u vyšetření trombocytů...)

Z klinického pohledu jsou pro nemocného život ohrožující zejména tyto situace:

- Granulocytopenie < $1 \times 10^9/L$ asociovaná s febriliemi a známkami infekce
- Symptomatická anémie se známkami srdečního selhávání
- Trombocytopenie < $10 \times 10^9/L$ nebo < $50 \times 10^9/L$ asociovaná s krvácením
- DIC syndrom
- Abnormální náleze v nátěru z periferní krve (blasty, schistocyty,...)
- Závažná aplastická anémie
- Závažné metabolické poruchy (hyperkalcémie, hyperviskozita, urémie, hyperkalémie)

Základním přístupem je určit příčinu P/C. Důkladný odběr anamnézy zaměřený na další onemocnění pacienta, užívané medikace, stravovací návyky, sociální a pracovní údaje může objasnit řadu situací. Při fyzikálním vyšetření pečlivě pátráme po známkách nádorového onemocnění (změnách velikosti uzlin, jater a sleziny) a krvácivých projevech.

Úvodní laboratorní vyšetření by mělo zahrnovat kompletní vyšetření KO, vyšetření nátěru obvodové krve, počtu retikulocytů, základní biochemické vyšetření, krevní skupinu a PT/aPTT. Na základě těchto vyšetření lze stanovit neodkladnost hospitalizace nebo konzultace na hematologickém oddělení. Po konzultaci se specialistou jsou provedeny cílené diagnostické odběry (aspirace nebo biopsie kostní dřeně, cílená vyšetření na vyloučení infekční nebo autoimunitní etiologie P/C).

PANCYTOPENIE – DIAGNOSTIKA V HEMATOLOGICKÉ LABORATOŘI, KAZUISTIKY

Mikulenková D. a kolektiv

Morfologicko-cytochemická laboratoř, ÚHKT, Praha

O pancytopenii mluvíme při snížení základních hodnot krevního obrazu (KO) pod referenční mez pro daný věk a pohlaví ($\text{WBC} < 4 \times 10^9/\text{L}$, HGB u mužů $< 135 \text{ g/L}$ a u žen $< 120 \text{ g/L}$, $\text{PLT} < 100 \times 10^9/\text{L}$). Důvodem může být redukce zdravé hematopoézy v kostní dřeni při infiltraci hemato-onkologickým onemocněním (akutní a chronické leukemie, myelodysplastický syndrom), ale i nehematologickou diagnózou (solidní tumor). Nebo hematopoeza včetně potřebného hematopoetického mikroprostředí chybí (útlum, aplastické anémie, polékové změny).

Diagnostika je obsáhlá a na hematologické laboratoři spočívá kromě změření hodnot základního KO ve změření počtu retikulocytů a některých nadstavbových parametrů, např. IPF (faktor nezralých destiček), který nás může informovat o správné funkci megakaryopoézy. Následuje pečlivé morfologické hodnocení nátěru periferní krve, které nám může pomoci v diagnostické rozvaze. Dále by měla následovat aspirace kostní dřene pro cytologický rozbor (ev. i odběr trepanobiopsického válečku k histologickému vyšetření). Panoptické barvení aspirátu je společně s využitím některých cytochemických metod diagnostické. Někdy ale cytologické vyšetření diagnózu nestanoví a je nutné kostní dřeň vyšetřit ještě i na jiných laboratořích (průtoková cytometrie, výše zmíněná patologie, genetika). Ve sdělení budou představeny typické, ale i zcela raritní nálezy u pacientů s pancytopenií.

PANCYTOPENIE V OBVODOVÉ KRVÍ – MORFOLOGICKY ZAJÍMAVÉ KAZUISTIKY I

Fátorová I., Dynterová A., Vodárek P.

IV. interní hematologická klinika – laboratoř, FN Hradec Králové

Cytopenie je stav charakterizovaný poklesem jedné či více buněčných řad v krevním obraze pod dolní hranici normy pro daný věk a pohlaví. Příčina vzniku cytopenie může být různá. Může se jednat o primárně hematologické malignity, jako jsou např. dřevné útlumy, myelodysplastický syndrom, leukemie z vlasatých buněk, některé formy akutních leukemií aj. Další příčinou cytopenie může být metastatické postižení kostní dřeně solidním tumorem, virové, bakteriální či parazitární onemocnění, či nedostatek látek potřebných pro krvetvorbu. V každém případě se vždy jedná o závažný stav, který vyžaduje včasnou diagnostiku. Mezi nejzávažnější formy cytopenie patří tzv. pancytopenie, kdy v periferní krvi dochází k poklesu všech buněčných řad.

V případě prvozáhytu pancytopenie je vždy nezbytné současné vyšetřit i nátěr periferní krve za účelem včasného odhalení hematologické malignity. Pro stanovení definitivní diagnózy se pak v dalším sledu provádí cytologické, imunofenotypizační, genetické či trepanobiopsické vyšetření kostní dřeně.

V našem sdělení budeme prezentovat dva komplikovanější případy pacientů s pancytopenií odlišné etiologie.

Tato práce byla podpořena programem PROGRES Q40/0 8 a MZ ČR – RVO (FNHK, 00179906).

PANCYTOPENIE V OBVODOVÉ KRVÍ – MORFOLOGICKY ZAJÍMAVÉ KAZUISTIKY II

Dynterová A., Fátorová I.

IV. interní hematologická klinika – laboratoř, FN Hradec Králové

Pancytopenie je stav, kdy dochází k poklesu počtu všech typů krevních buněk v obvodové krvi pod dolní hranici normálních hodnot, závažné stavy může provázet pokles koncentrace hemoglobinu pod 60 g/l, pokles počtu neutrofilů pod $1,5 \times 10^9/l$ a počtu trombocytů pod $50 \times 10^9/l$. Pancytopenie vzniká jako důsledek porušené tvorby krvinek v kostní dřeni, je to tedy souhrnný název pro anémii, leukopenii (především neutropenii) a trombocytopenii.

Klinické projevy závisí na tom, jak rychle k pancytopenii dochází. Dominují hemoragické diatézy, snížená odolnost vůči infekcím a anemický syndrom (únava, dušnost, bolesti hlavy, tachykardie, bledost sliznic a kůže). Jako další krok u pacienta s nově zjištěnou pancytopenií v obvodové krvi následuje vyšetření kostní dřene (steránní punkce či trepanobiopsie).

Dle mechanismu vzniku dělíme pancytopenie na stavy se sníženou buněčností kostní dřene (aplastická anémie, dřeňový útlum) a na stavy s normální či zvýšenou dřeňovou celularitou (myelodysplastický syndrom), kdy krvinky jsou defektní a podléhají časnému zániku již v kostní dřeni. V diferenciální diagnostice je dále zapotřebí průtokové cytometrie, cytogenetiky a molekulárně genetických metod, díky nimž se postupně stanoví konečná diagnóza daného onemocnění.

Při zjištění pancytopenie v obvodové krvi se vždy jedná o závažný problém. Nutno je zejména pomýšlet na možnost diagnózy akutní promyelocytární leukémie, která je ve svém prvopočátku pro nemocného až život ohrožující diagnóza pro přidruženou koagulopatii. Další závažné diagnózy, které se mohou projevit pancytopenií v obvodové krvi, patří ostatní typy akutních leukémií, myelodysplastický syndrom, vlasatobuněčná leukémie, ale např. i těžká forma megaloblastové anémie.

Na třech krátkých kazuistikách budeme prezentovat morfoloicky zajímavé pacienty s pancytopenií v obvodové krvi.

Tato práce byla podpořena programem PROGRES Q40/0 8 a MZ ČR – RVO (FNHK, 00179906).

PROJEKT RABBIT – NEŽ SE VZLÉTLO

Klabačková S.¹, Řeháček V.^{1,2}, Kleinová R.¹

¹*Transfuzní oddělení, Fakultní nemocnice Hradec Králové*

²*Lékařská fakulta UK Hradec Králové*

Úvod: Projekt RABBIT neboli **R**apid **A**dministration of **B**lood **B**y HEMS **I**n **T**rauma je pilotní projekt v České republice ve spolupráci s Leteckou záchranou službou Královéhradeckého kraje (LZS). Principem je přítomnost transfuzních přípravků ve vrtulníku a možnost jejich podání v přednemocniční neodkladné péči u závažně poraněných pacientů se život ohrožujícím krvácením. Ve vrtulníku LZS je umístěn box RABBIT, ve kterém je po dobu 24 hodin skladována jedna jednotka (TU) rozmražené tekuté plazmy a jedna TU erytrocytů. Před zahájením tohoto projektu se bylo nutno ujistit, že skladování a následné podání transfuzních přípravků ve vrtulníku je stejně bezpečné, jako kdyby se transfuzní přípravky vydaly přímo ze skladu transfuzního oddělení.

Metodika: V rámci projektu byla provedena teplotní validace boxu RABBIT v různých zevních teplotách – za extrémního tepla (60 °C), extrémního mrazu (-35 °C) i při „běžné“ teplotě. Byly porovnány všechny 3 boxy, které se používají v projektu. Zátěžovým testem bylo prověřeno, zda vibrace ve vrtulníku nezpůsobují hemolýzu erytrocytových transfuzních přípravků. Realizace projektu vyvolala nutnost vypracování a) postupu pro balení transfuzních přípravků do boxů RABBIT (doba ohřívání plazmy v rozmrazovači a její opětovné chlazení), b) nových SOP (vrácení již vydaných transfuzních přípravků na sklad atd.), c) nové dokumentace pro jednoduchou orientaci a dohledatelnost o použití transfuzních přípravků.

Výsledky: Box RABBIT je schopen udržet požadované teplotní rozmezí (2–6 °C) po limitovanou dobu i za extrémních podmínek. Při uložení boxu při 60 °C se jedná o 19,5 hodiny, při -35 °C pouze 6 hodin. Při uložení boxu při 29 °C se požadované teplotní rozmezí udrží 38,5 hodiny. Opakovaným vkládáním vzorku erytrocytového transfuzního přípravku bylo prokázáno, že lety ve vrtulníku hemolýzu těchto přípravků nezpůsobují.

Závěr: Projekt RABBIT probíhá úspěšně od června 2018, transfuzní přípravky z vrtulníku byly opakovaně podány pacientovi s masivním krvácením v přednemocniční péči. Díky bezpečnému uložení v boxu RABBIT lze tyto přípravky v případě nepodání ve vrtulníku opět efektivně využít pro jiné pacienty FN HK.

RABBIT V AKCI

Dragůňová M.¹, Bojanovská E.¹, Šimerdová L.¹, Řeháček V.^{1,2}

¹Transfuzní oddělení, Fakultní nemocnice Hradec Králové

²Lékařská fakulta UK Hradec Králové

Úvod: Projekt RABBIT neboli Rapid Administration of Blood By HEMS In Trauma je pilotní projekt v České republice ve spolupráci s Leteckou záchranou službou Královéhradeckého kraje (LZS), znamená možnost rychlého podání transfuzních přípravků (TP) v přednemocniční péči při traumatech. Součástí projektu, jenž byl spuštěn od 1.6.2018, je i Transfuzní oddělení FN HK. V rámci projektu RABBIT lze podat pouze TP vydané Transfuzním oddělením FN HK se standardní dokumentací.

Metodika: Pro transport TP ve vrtulníku se používá přepravní box RABBIT, který zaručuje udržení standardní teploty stanovené pro skladování TP. Každý box obsahuje 1 jednotku (TU) erytrocytů KS 0 RhD negativní a 1 TU plazmy KS AB. Součástí boxu je i teplotní čidlo LogTag. Příprava termoboxu RABBIT probíhá dle validovaného postupu (SOP) transfuzního oddělení. Každý den se pro LZS chystá nový box. Prázdný box se skladuje při –18 °C, před vložením TP se musí vyjmout z mrazicího boxu a temperovat 20 minut při pokojové teplotě. Do boxu se vkládá 1 TU erytrocytů a 1TU plazmy, která byla rozmrazena a následně zchlazena na 4 °C. Mezi oba přípravky se umisťuje teplotní čidlo LogTag. Po uzavření boxu je box opatřen plombou. Nedílnou součástí boxu je zkumavka pro odběr vzorku a dokumentace, která zahrnuje dodací list (počet, typ a evidenční čísla TP), identifikační štítky TP a formulář Transfuzní protokol. Pokud jsou přípravky z boxu podány pacientovi při přednemocniční péči, dostává transfuzní oddělení avízo s žádostí o přípravu nového boxu a následně jsou předány informace o pacientovi, jemuž byly přípravky podány. Výměna nepoužitých boxů probíhá denně cca v 9 hodin systémem box za box. Vybalení vráceného nepoužitého boxu se provádí po kontrole neporušenosti plomby. Zkontrolují se TP, po kontrole teplotního záznamu a po posouzení kvalifikovanou osobou se TP vrátí zpět na sklad TO k použití. Každý výdej a příjem boxu je evidován a je vedena dokumentace. V rámci projektu RABBIT zajišťuje ověření KS u TP transfuzní oddělení.

Výsledky, závěr: První box RABBIT byl LZS předán LZS 1. června 2018, do konce roku 2018 bylo vydáno celkem 229 boxů. V uvedeném období byl 20x box otevřen a pacientům v přednemocniční péči bylo podáno celkem 39 TP (1x erytrocyty nebyly podány).

„STARÉ“ VERSUS „NOVÉ“ METODY PŘI ŘEŠENÍ DISKREPANCÍ V IMUNOHEMATOLOGII

Králová J., Písačka M., Králová M.

ÚHKT

„Staré“, rutinní sérologické techniky někdy dokáží upozornit na možnou diskrepanci při typování antigenů krevních skupin. „Nové“ genetické a stále rozšířenější metody často diskrepanci vyřeší, ale jsou i případy, kdy výsledek z běžné PCR-SSP vnese do celé situace větší chaos nebo ji zkrátka jen nevysvětlí. „Nejnovější“ techniky – jak sérologické (DaraEx, rekombinantní antigeny, průtoková cytometrie,...) tak genetické metody (sekvenování) většinu záhad vysvětlí.

Základem úspěchu je schopnost kombinovat všechny zmíněné techniky a respektovat fakt, že metody se vzájemně doplňují.

Příklady – kazuistiky:

- Diskrepance při určování RhD + raritní a nové RhD antigeny
- Diskrepance v ABO systému
- Použití diagnostika DaraEx (ošetření diagnostických erytrocytů pro vyšetření pacientů s Daratumumabem)
- První zkušenosti s NGS (sekvenování nové generace) při použití v imunohematologii

IMPLEMENTACE GENOTYPOVÁNÍ ERYTHROCYTÁRNÍCH ANTIGENŮ – PRVNÍ ZKUŠENOSTI NA TO KN LIBEREC

Škodová S., Papoušek P., Procházková R.

Transfuzní oddělení, Krajská nemocnice Liberec a.s.

Cíl: Určení erythrocytárních antigenů metodou polymerázové řetězové reakce (PCR) tam, kde nelze využít serologických metod, tj. u pacientů polytransfundovaných s pozitivními výsledky PAT. Na základě tohoto vyšetření zajistit podání kompatibilního transfuzního přípravku. Dále rozlišit slabý a variantní antigen D u těhotných žen pro zvážení podání profylaxe anti-D.

Metodika: Vyšetřovanými antigeny jsou slabý a variantní antigen D, antigeny systému Kell, Kidd, Duffy a MNS. K vyšetření byla použita diagnostika firmy BAG opatřena CE značkou: KKD-TYPE, MNS-TYPE, Weak D- TYPE, Partial D- TYPE. Vyšetřovali jsme vzorky krve odebrané do K-EDTA. Pro typování antigenů byla použita metoda PCR-SSP, která využívá sekvenčně specifické primery. Leukocytární DNA je ze vzorku izolována pomocí automatického izolátoru. V termocykleru dochází k namnožení konkrétního úseku DNA ohraničeného primery. K rozdělení jednotlivých úseků DNA podle jejich délky se využívá elektroforéza na chipu. Výsledky jsou odečítány proti standardům a s pomocí vyhodnocovacích diagramů, které jsou součástí balení diagnostika. Vyšetření je prováděno ve spolupráci s Oddělením klinické mikrobiologie a imunologie, KNL a.s. (OKMI), které disponuje vhodným vybavením. Vyšetření vzorku a výdej primárního výsledku probíhá na OKMI. Zhodnocení konečného výsledku a klinické doporučení stanovuje lékař TO. K tomuto účelu je využíván společný laboratorní informační systém.

Výsledky: Verifikace jednotlivých metod probíhala od listopadu 2017 do června 2018. Pro každou metodu, to je metodu D weak, D partial, KKD a MNS, bylo k verifikaci použito 6 vzorků. Jednalo se převážně o vzorky polytransfundovaných pacientů či pacientů s pozitivními výsledky PAT, vzorky dárců krve nebo pacientů s v minulosti vyšetřeným D weak/variantou v ÚHKT NRL pro imunohematologii. Dále byly použity vzorky poskytnuté přímo z ÚHKT.

Výsledky verifikace:

metoda	KKD	MNS	D weak	D partial
počet vyšetření	6	6	6 (4x Dw typ 1; 1x Dw typ 3; 1x Dw neprokázáno)	6 (2x D VI typ 2; 1x D VI typ 1; 1x D VII; 2x Dv neprokázáno)
shoda s ÚHKT	ano	ano	ano	ano

V říjnu 2018 byla metoda přihlášena do cyklu externího hodnocení kvality společnosti INSTAND, Německo – úspěch v metodách KKD, MNS. Pro vyšetření antigenu D bude EHK zopakováno v dalším cyklu. Dále bylo třeba upravit žádanku o imuno hematologické vyšetření a vypracovat informovaný souhlas pacienta s molekulárně genetickým vyšetřením.

Závěr: Zavedení metody bude přínosem pro vyšetření erytrocytárních antigenů u polytransfundovaných pacientů a pacientů s pozitivním výsledkem PAT, a tedy i výběr vhodného transfuzního přípravku. Dále usnadní rozhodnutí o podání anti-D profylaxe těhotným pacientkám. Zároveň dojde k významnému urychlení výdeje výsledku vyšetření: výsledek z KNL je dostupný obvykle v rozmezí 2–5 dnů, výsledek z ÚHKT NRL pro imuno hematologii obvykle v rozmezí 5–14 dnů.

PROTILÁTKY V ENZYMATICKÉM TESTU

Tesařová L., Dominová A., Lonsmínová I., Biedermann P.

Transfuzní odd. Nemocnice České Budějovice

Na základě Doporučení Společnosti pro transfuzní lékařství ČLS JEP používáme v Laboratořích transfuzního oddělení Nemocnice České Budějovice, a. s. k vyšetření screeningu antierytrocytárních protilátek standardně pouze metodu LISS-NAT a enzymatický test (ET) jako doplňkový test ve vybraných případech při upřesnění identifikace protilátek nebo u chronických pacientů s dlouhodobou transfuzní substitucí.

Jako spádové pracoviště JČ kraje vyšetřujeme identifikace protilátek ze vzorků zaslaných z bývalých okresních nemocnic a z gynekologických ambulancí, které vzorky zasílají do soukromých laboratoří. Tato pracoviště většinou stále standardně vyšetřují screening protilátek metodou LISS-NAT + ET.

V roce 2018 jsme zaznamenali 212 vzorků zaslaných do našich laboratoří z externích pracovišť, které měly pozitivní výsledek screeningu v ET, ale negativní v NAT. Námi provedená identifikace protilátek v ET určila, zda se ve vzorku vyskytují specifické protilátky, nespecifické protilátky, či zda je vzorek na přítomnost protilátek negativní. Výsledky potvrdily vysoký podíl negativních vyšetření v NAT/ET a nespecifických reakcí enzymatických bez většího klinického významu.

Celkový počet vyšetření (pozitivní v ET, negativní v NAT)	212
Negativní ET+NAT	49
Nespecifické protilátky v ET	79
– nespecifické reakce v ET	41
– citlivost v ET	21
– autoprotilátky v ET	17
Anti-D po imunoprevenci v ET	28
Specifické protilátky v ET	56
– anti-E	21
– anti-C	6
– anti-D	2
– anti-c	1
– anti-Cw	6
– anti-K	1
– anti-Le(a)	12
– anti-Le(b)	3
– směs protilátek	4

VLIV DARATUMUMABU NA VÝSLEDKY PŘEDTRANSFUZNÍCH TESTŮ

Vyskočilová Spurná V., Pejchalová A.

Transfuzní a tkáňové oddělení FN Brno

Úvod: Daratumumab je nový lék používaný k léčbě pacientů s mnohočetným myelomem. Jedná se o monoklonální protilátku třídy IgG1, která se váže na antigen CD 38 exprimovaný na myelomových buňkách. Antigen se nachází na různých tělních buňkách a také na krevních buňkách včetně erytrocytů. Použití léku způsobuje falešnou pozitivitu v antiglobulinových testech, které se povinně provádí před podáním transfuze erytrocytů: molekuly protilátky anti-CD 38 přítomné ve vyšetřované plazmě reagují se všemi erytrocyty, které exprimují antigen CD 38. Tato reakce není specifická pro pravé antierytrocytární protilátky, jedná se o falešnou pozitivitu testů NAT (nepřímý antiglobulinový test) event i PAT (přímý antiglobulinový test). K odlišení skutečných protilátek od nespecifických reakcí je proto nutné provést předtransfuzní vyšetření jiným způsobem.

Metodika: Falešnou pozitivitu v antiglobulinových testech lze odstranit pomocí některých látek, např. působením dithiothreitolu (DTT) nebo trypsinu, které přeruší vazbu daratumumabu na membránový antigen (CD 38) erytrocytů. Laboratoře k tomu obvykle používají DTT, jeho nevýhodou však je destrukce některých erytrocytárních antigenů (Kell, Lutheran, Domrock, Carwright, Indian, Knops): následně nelze detekovat protilátky proti nim. Součástí správného provedení testu používajícího DTT je proto zařazení kontrolních erytrocytů/vzorků, které potvrdí, že test proběhl správně a výsledky jsou validní.

Výsledky: V našem příspěvku představujeme pacienty léčené daratumumabem, pro které jsme prováděli imunohematologická vyšetření od roku 2016 doposud. Stanovovali jsme antierytrocytární protilátky vs. nespecifické reakce včetně provedení fenotypizace erytrocytárních antigenů. V souboru 29 sledovaných pacientů nebyly u devíti z nich zjištěné nepravidelné protilátky a imunohematologické vyšetření nebylo nikterak komplikované. Zbývajících 20 pacientů mělo pozitivní screeningový nálezn a při jeho došetření byly pomocí testu s DTT prokázány nespecifické reakce v NAT. U jednoho pacienta byla navíc diagnostikována již dříve stanovená aloprotilátka anti-Jk(a).

Pro zajištění transfuze byl při vstupním vyšetření provedena fenotypizace Rh a K antigenů u 19 pacientů, z toho u 15 bylo typování rozšířeno i na ostatní krevní skupiny transfuziologicky významné (Jk, Fy, MNSs).

Závěr: Z našich vyšetření je zřejmé, že lék neinterferuje ve výsledcích antiglobulinových testů u všech pacient, avšak počet vyšetření s nespecifickými reakcemi, které komplikují průběh předtransfuzního vyšetření, převažuje. Transfuze jsme pro tyto pacienty připravovali v souladu s doporučením výrobce léku, který informuje o možných imunohematologických komplikacích a předem jsme stanovovali antigeny skupiny Rh a antigen K i ostatní antigeny. Při pozitivním screeningovém nálezu jsme se snažili pomocí DTT odlišit nespecifické reakce lékového typu od antierytrocytární protilátky. Jedná se o složitou proceduru, která vyžaduje čerstvě připravený roztok s chemickým činidlem, který nelze skladovat; také postup vlastního testování je časově náročný a nelze ho kompletně realizovat při statimovém požadavku na transfuzi. Kromě toho vyžaduje dobrou komunikaci a informovanost všech pracovišť, která se podílí na léčbě pacienta.

KOMPLIKOVANÍ PACIENTI

*Králová M.
ÚHKT Praha*

V situacích, kdy jsou pozitivní reakce ve sloupcové aglutinaci i pevné fázi a nelze je odstranit absorpčními testy, je možné použít zkumavkový NAT.

Tyto reakce nejsou zpravidla způsobeny antierytrocytovými protilátkami, ale silnými anti-HLA protilátkami, reakcí na antibiotika, LISS, septickým stavem pacienta, drogami či jinými látkami v krvi pacienta. Referenční laboratoř (RL) doporučuje v těchto případech dvě varianty řešení. Buďto vydat pozitivní nález a pozitivní test kompatibility (s přihlédnutím k Rh-Kell fenotypu pacienta) nebo použít NAT ve zkumavce pro screening protilátek a testy kompatibility. Záleží na zkušenostech a vnitřním nastavení postupů konkrétního pracoviště. Nabízí se tedy diskuse jak k těmto případům přistupovat. Přednáška obsahuje i stručný návod na zkumavkový NAT (ne každá laboratoř má tento postup v SOP).

AUTOMATIZACE IMUNOHEMATOLOGICKÉ LABORATOŘE NEMOCNICE STRAKONICE, A.S.

Tokár Z., Stehlíková M., Lysenko O.

Centrální laboratoře, Nemocnice Strakonice, a.s.

Imunohematologická laboratoř jako součást Centrálních laboratoří Nemocnice Strakonice, a.s. v roce 2017 provedla 7660 laboratorních výkonů. Naše laboratoř pracuje nepřetržitě a ve směnném provozu. Práci zdravotního laboranta zde zastává jeden člověk, který zodpovídá i za chod celého krevního skladu a v době pohotovosti navíc i morfolgickou a koagulační laboratoř. Časová náročnost manuálních imunohematologických vyšetření a vysoké zatížení pracovníků nás vedla k myšlence automatizovat imunohematologické metody. Naší volbou se stal analyzátor ORTHO VISION. Jedná se o plný automat, který je jako jeden z mála, určen pro laboratoř naší velikosti.

Cílem naší prezentace bude stručně seznámit přítomné s tímto analyzátořem, s výhody automatizace a podělit se s problémy, s kterými jsme se potýkali při přechodu na nový systém. V neposlední řadě odprezentujeme naše výsledky z porovnání systému DiaMed a ORTHO při identifikaci a stanovení titru protilátek.

IMUNOHEMATOLOGICKÉ PERLIČKY

Králová M.
ÚHKT Praha

S čím vším se můžeme v laboratoři setkat – přebrepty, hlášky, vtipné výroky.

PORUCHY PRIMÁRNÍ HEMOSTÁZY LABORATORNÍ STANOVENÍ, PROTIDESTIČKOVÁ LÉČBA, KAZUISTIKY

*Bílková J., Kettnerová K., Čechovská E., Malíková I.,
Kvasnička T., Kvasnička J.*

*ÚLBLD Centrální hematologické laboratoře
a Trombotické centrum VFN, Praha 2*

Úvod: Hemostatická rovnováha pomáhá udržovat tok krve v těle a vede pomocí různých mechanismů krevního srážení k zástavě krvácení. Je to rovnováha mezi prokoagulačními a antikoagulačními vlivy. Zahrnuje primární a sekundární hemostázu a následnou fibrinolýzu. Cílem primární hemostázy je tvorba destičkové zátky, sekundární hemostáza zajišťuje stabilizaci trombu tvorbou fibrinového vlákna.

Mezi děje primární hemostázy patří především vasokonstrikce, adheze, aktivace a agregace destiček. Jejími základními složkami jsou cévní stěna a krevní destičky. Při jejím narušení může docházet ke krvácivým projevům nebo naopak k trombotickým stavům.

Cíl: Obsahem této přednášky je podat stručný přehled možných narušení primární hemostázy, včetně ovlivnění protidestičkovou léčbou, a metod určených k jejímu sledování (globální testy primární hemostázy, optická a impedanční aggregometrie, PFA 200 a VerifyNow). Dále na příkladu několika kazuistik demonstrovat možné situace rezistence na protidestičkovou léčbu a její řešení.

Závěr: Pro vyšetření primární hemostázy je důležité zvolit vhodnou metodu, popř. kombinaci metod. Nezanedbatelným parametrem je počet destiček. V případě kazuistik se u všech pacientů zvolený postup jevil jako správný, po změně léčby bylo dosaženo požadované účinnosti. Laboratorní kontrola protidestičkové léčby hraje důležitou úlohu v laboratorních stanoveních a napomáhá lékařům odhalit neúměrnou odpověď na léčbu.

ANTIFOSFOLIPIDOVÉ PROTILÁTKY – INDIKACE STANOVENÍ

Matýšková M., Buliková A., Zavřelová J.

Oddělení klinické hematologie, FN Brno

Antifosfolipidové protilátky jsou autoprotilátky či zkříženě reagující aloprotilátky namířené proti makromolekulám vázaným na negativně nabitě většinou fosfolipidové povrchy.

Jedná se o velmi heterogenní skupinu protilátek, které mohou doprovázet celou řadu nejrozumnějších chorob.

Indikací k vyšetření jsou jednak klinické jednak laboratorní nálezy.

Klinické indikace patří: (1) trombóza vzniklá u nemocného s již dříve zjištěným onemocněním a/nebo při léčbě, o nichž je známo, že vede k indukci APA; (2) u žen opakované ztráty plodu (≥ 3 do 10. týdne gravidity; $\geq 1 \geq 10$. týden); (3) rezistence na kumariny.

Laboratorní nálezy: (1) náhodné zjištění prodloužení koagulačního testu závislého na fosfolipidech (většinou APTT); (2) náhodný nález trombocytopenie – obvykle lehkého až středního stupně.

Ke stavům, u kterých se APA častěji nalézají, patří především autoimunitní onemocnění včetně systémových chorob pojiva (systémový lupus erytematodes, revmatoidní artritida a řada dalších); infekční onemocnění (virové, bakteriální i protozoální); nádory jak solidní, tak i hematologické (včetně monoklonální gamapatie; srpkovitá anémie, perniciozní anémie. Apa také mohou indukovat některé léky: např. prokainamid, fenothiaziny, chlorthiazid, chinidin, orální kontraceptiva.

LUPUS ANTIKOAGULANS V PRAXI A PROČ JE TĚŽKÉ TENTO SOUBOR METOD AKREDITOVAT

*Malíková I., Mráková A., Teplá E., Čechovská E.,
Kvasnička T., Kvasnička J.*

*ULBLD Centrální hematologické laboratoře
a Trombotické centrum VFN, Praha 2*

Antifosfolipidový syndrom (APS) patří mezi onemocnění charakterizovaná tvorbou orgánově nespecifických autoprotilátek. Tyto protilátky způsobují různými mechanismy hyperkoagulační stav. Jde o jeden z nejčastějších získaných trombofilních stavů.

Vyšetření lupus antikoagulans (LA) patří k rozšířeným vyšetřením při podezření na trombofilní stav. Napomáhá odhalit příčinu prodlouženého APTT, kterou může způsobit specifický inhibitor (protilátky proti specifickému koagulačnímu faktoru), nebo nespecifický inhibitor jako je lupus antikoagulans. K potvrzení přítomnosti lupus antikoagulans se používá celá řada samostatných vyšetření. Přítomnost lupus antikoagulans musí být potvrzena dvěma testy. Mezi nejcitlivější testy patří diluční test s jedním Russelovy zmiže (dRVVT) a APTT citlivé na LA, které má v reagentiích nízký obsah fosfolipidů.

Vzhledem k tomu, že se jedná o velký výčet metod, které jsou i registrovány v číselníku metod pod různými kódy, je akreditace celého komplexu vyšetření poměrně složitá.

Cílem studie byl výčet všech prováděných metod a porovnání výsledky testů určených k potvrzení lupus antikoagulans a antifosfolipidových protilátek.

Metodika: Pro vyšetření LA jsme použili kit Lupus Anticoagulant Test (Technoclone), dRVVT Screen, dRVVT confirm (Instrumentation Laboratory, Itálie), analyzátor Ceveron (Technoclone, Rakousko), pro protrombinový čas vyjádřený v sec a INR, Thromborel S, aPTT, Pathromtin SL, (Siemens), aPTT LA, PTT-LA (Stago), analyzátor BCS XP (Siemens, SRN). Pro vyšetření antifosfolipidových protilátek jsme použili kit Anti-Phospholipid Screen IgG/IgM, Orgentec.

Výsledky studie: Pro hodnocení validací jednotlivých metod byly použity kontrolní materiály s negativním LA, pozitivním LA, bezdestičková plasma. Variační koeficient (CV%) se pohyboval u opakovatelnosti v rozmezí 2,38–4,92, u mezilehlé preciznosti v rozmezí 3,47–5,12.

Závěr: Pro kompletní validaci všech dílčích stanovení Lupus antikoagulans a antifosfolipidových protilátek je zapotřebí provést 36 validací. Při minimálním počtu pro opakovatelnost 6 a mezilehlou preciznost 6 se jedná o 216 stanovení.

I když je vyšetření lupus antikoagulans a antifosfolipidových protilátek v současné době základním a důležitým vyšetřením u detekce trombofilních stavů a systémových chorob pojiv, je validace velmi časově náročná a finančně nákladná. Vzhledem k tomu, že se nejedná o vysoce frekventní vyšetření je snaha o akreditaci v jednotlivých laboratořích diskutabilní.

Studie byla podpořena RVO-VFN64165/2018.

DIAGNOSTIKA LUPUS ANTIKOAGULANS – DOPORUČENÍ LS ČHS

Zavřelová J. a kol.

Laboratorní sekce ČHS ČLS JEP

Lupus antikoagulans (LA) je heterogenní skupina protilátek namířených proti plazmatickým proteinům vázající fosfolipidy (PL), které ovlivňují koagulační testy závislé na fosfolipidech in vitro.

Diagnostika LA je komplikovaná, protože neexistuje test 100% citlivý jen na LA, a dle stávajících mezinárodních doporučení SSC ISTH 2009, BCSSH 2012 a CLSI 2014 zahrnuje screening (průkaz prodloužení fosfolipid závislých testů), průkaz inhibitoru a konfirmaci (průkaz fosfolipidové závislosti inhibitoru v přítomnosti nadbytku fosfolipidů). Nedílnou součástí diagnostiky LA je vyloučení jiných koagulopatií a ovlivnění antitrombotickou léčbou.

Důležitým předpokladem správné diagnostiky LA je standartizace vyšetření LA a proto byla pracovní skupina laboratorní sekce ČHS pověřena přípravou doporučení k diagnostice LA. Standardizace vyšetření LA dle mezinárodních doporučení zahrnuje dodržení preanalytických podmínek, správnou volbu testů, pořadí testů, vyšetřování směsné normální plazmy, nastavení vlastních cut-off, správné vyhodnocení testů a vyloučení ovlivnění diagnostiky LA jinými koagulopatiemi včetně ovlivnění antitrombotickou léčbou.

Vyšetření LA je součástí komplexního vyšetření antifosfolipidových protilátek u pacientů s podezřením na antifosfolipidový syndrom (APS), nebo s nevysvětlitelným prodloužením APTT (přiměřeně citlivým na LA) při rutinním vyšetření. Vyžaduje erudici a zkušenost pracovníků, které vyšetření provádí, vyhodnocují i interpretují.

DETEKCE ANTIKARDIOLIPINOVÝCH PROTILÁTEK V DIAGNOSTICE APS

*Kupková P., Chalupníková P., Neplechová D., Pavlíková A.,
Slavík L., Úlehlová J.*

Hemato-onkologická klinika Olomouc

Úvod: Antikardiolipinové protilátky (aCL) a protilátky proti β -2-glykoproteinu I (ab2GPI) představují dvě ze tří laboratorních kritérií pro detekci antifosfolipidového syndromu (APS). Doplnění diagnostiky o typizaci Domain I anti- β -2-glycoproteinu I je novým cílem pro lepší identifikaci protilátek spojených s rizikem manifestace trombotické komplikace při antifosfolipidovém syndromu.

Cíl: Cílem naší práce bylo stanovit význam positivity protilátek proti Domain I ab2GPI jako nového markeru pro stanovení trombotického rizika u antifosfolipidového syndromu.

Materiál a metody: Stanovení positivity protilátek proti doméně I ab2GPI jsme provedli na skupině 74 pacientů s diagnózou antifosfolipidového syndromu. Všichni pacienti měli prokázány protilátky alespoň v 1 třídě proti aCL a ab2GPI tříd IgG a IgM.

Stanovení protilátek proti aCL a ab2GPI IgG a IgM bylo prováděno u všech chemiluminescenčních metod v singletu a to jak pro stanovení zdravých kontrol, standardních vzorků tak kontrolních materiálů. Kalibrace metod je z důvodu chybění WHO standardních materiálů prováděna na referenční séra N.E. Harris, Louisville. Cut-off metody je 20 U/ml.

Výsledky: Přítomnost protilátek proti doméně I ab2GPI byla zjištěna u 21 vzorků námi vyšetřené skupiny. Trombotické komplikace byly zjištěny u 21 z celkového počtu 74 pacientů. Incidence trombotických komplikací v celé skupině byla 28,4 % oproti 57 % trombotických komplikací ve skupině pacientů s pozitivními protilátkami proti doméně I ab2GPI.

Z hlediska klinické manifestace APS byl hodnocen výskyt TEN ve formě HŽT nebo PE na základě duplexní sonografie resp. CT plicní angiografie.

Závěr: Identifikace positivity protilátek proti doméně I ab2GPI poskytuje lepší klinický outcome manifestace trombotické příhody než stanovení celkových protilátek proti ACL a beta-2-GPI.

ZAJIŠTĚNÍ INTRAUTERINNÍCH TRANSFUZÍ V ROCE 2018 NA TTO FN BRNO

Nováčková O., Pejchalová A.

Transfuzní a tkáňové oddělení FN Brno

Úvod: Intrauterinní transfuze (IUT) představuje rizikový výkon, který je prováděn na specializovaných gynekologických pracovištích v případech výskytu těžké anemie u plodu. Nejčastější příčinou fetální anemie je inkompatibilita v krevních skupinách mezi matkou a plodem, kdy si matka vytváří protilátku proti erytrocytárnímu antigenu plodu. Mateřská protilátka se dostává do fetálního krevního oběhu, senzibilizuje erytrocyty a vede k jejich hemolýze. Nejčastější m důvodem podání IUT je inkompatibilita v Rh antigenech D nebo c.

Metoda: Těhotné ženy, v jejichž plazmě byly při imunohematologickém vyšetření zjištěny protilátky proti erytrocytům, které mohly být příčinou hemolytického onemocnění fetu nebo novorozence (HON), jsme pravidelně sledovali: v jejich plazmě jsme stanovovali specifitu antierytrocytárních protilátek a jejich množství pomocí titračního vyšetření. Hodnoty kritického titru ≥ 128 v LISS-NAT metodou sloupcové aglutinace nebo titru 64 u případů s již anamnestickou komplikací v těhotenství jsme oznamovali gynekologům; ženy s těmito protilátkami byly sledované na specializovaném pracovišti, kde byla dopplerometrií posuzována fetální anemie.

Výsledky: V roce 2018 jsme zajišťovali IUT pro pět těhotných žen. Jednalo se o tři těhotné s protilátkou anti-D, jednu s anti-K a jednu ženu s kombinací protilátek anti-D a anti-C. Protilátky anti-D jsme detekovali v konečných titrech 1000, 1000 a 8000, anti-K v titru 64 a anti-D+C v titru 256 pro anti-D a 8 pro anti-C.

U první těhotné s anti-D 1000 se IUT podávala ve 33. týdnu gravidity (t.g.) jako jediná fetální transfuze v množství 94 ml. Druhá těhotná s anti-D 1000 dostala IUT ve 31. t.g., kdy se transfundovaly erytrocyty v množství 157 ml a další transfuze pro ni nebyly vyžadované. Třetí anti-D imunizace vyžadovala čtyři IUT ve 25., 28., 31. a 33. t.g., v množství cca 100 ml. Paní s anti-K 64 byly podány dvě přibližně 100ml IUT ve 28. a 33. t.g. a pro těhotnou s anti- D+C se připravovaly dvě IUT ve 30. a 33. t.g. v objemu 100 a 173 ml erytrocytů.

Všechny erytrocytové přípravky s označením EDU byly skupiny 0 RhD negativní typu cceeCw- K-, deleukotizované, ozářené, s předepsaným hematokritem v rozmezí 0,70–0,85 a jejich podání proběhlo bez komplikací, vždy s dostačujícím substitučním efektem pro plod.

Závěr: Zajištění IUT představuje náročný proces, vyžadující dobrou spolupráci a koordinaci všech činností mezi laboratoří, gynekologickým pracovištěm a úsekem výroby transfuzních přípravků. Vzhledem k tomu, že fetální krevní skupina před IUT není známá, k transfuzi se používají erytrocyty univerzální skupiny 0 RhD negativní, volené s ohledem na mateřskou protilátku, bezpečné pro přenos cytomegalovirové infekce a pro vznik nemoci štěpu proti hostiteli. Navazující hemokoncentrace je opatření, které umožňuje podat jen malé množství těchto erytrocytů.

Gynekologicko-porodnická klinika FN Brno je specializovaným centrem pro sledování imunizovaných těhotných, a proto se s požadavky na IUT setkáváme několikrát za rok.

EXTRAKORPORÁLNÍ FOTOCHEMOTERAPIE – ZPRACOVÁNÍ ODBĚRU MONONUKLEÁRNÍCH BUNĚK PRO NÁSLEDNÉ OZÁŘENÍ UVA

Horáčková E.¹, Kleinová R.¹, Trávníčková K.¹, Řeháček V.¹, Lánská M.²

¹Transfuzní oddělení Fakultní nemocnice Hradec Králové

²IV. interní hematologická klinika Fakultní nemocnice Hradec Králové

Úvod: Fotoferéza je imunomodulační léčebná metoda, jejíž klinický efekt je jasně definovaný, ale mechanismus účinku není zcela jasný. Používá se nejčastěji v terapii nadměrné reakce štěpu proti hostiteli (GvHD – Graft versus Host Disease) u pacientů po alogenní transplantaci krevetvorných buněk nebo v terapii kožních T lymfomů. Na separátorovém centru IV. interní hematologické kliniky Fakultní nemocnice Hradec Králové se fotoferéza provádí od roku 2007. Do konce roku 2016 byl vak s mononukleárními buňkami zpracováván na Tkáňové ústředně FNHK, od ledna 2017 zpracovává buňky Transfuzní oddělení.

Metodika: Na separátoru krevních buněk se pacientovi odebere aferézou část bílých krvinek, tzv. mononukleárních buněk (lymfocyty a monocyty). Vak s odebranými buňkami je dodán na transfuzní oddělení v přepravním termoboxu spolu s protokolem výrobku, vakem k přepuštění buněk (Nutri Bag), vakem k ozáření, fotosenzibilizující látkou, štítky pacienta a zkumavkami na kontrolní odběry. Vak je zpracován v laminárním boxu laboratorního úseku. Obsah vaku s odebranými buňkami se přepustí do Nutri Bagu, přidá se fyziologický roztok a fotosenzibilizující látka 8-metoxypsoralen (MOP). Obsah Nutri Bagu s MOP se přepustí do sběrného vaku určeného k následnému ozáření. Součástí zpracování je odběr kontrolních vzorků podle požadavku hematologického oddělení. Vždy se odebírá zkumavka na krevní obraz a vzorek na vyšetření sterility, u nového pacienta se 4x po sobě odebere zkumavka na hladinu MOP a dle požadavku zkumavka na test blastické transformace. Po zpracování je vak s vyplněným protokolem o zpracování předán zpět IV. interní hematologické klinice a následně se buňky ozáří ultrafialovým zářením A (vlnová délka 329–400 nm). Takto upravené buňky se vracejí jako autotransfuze zpět do krevního oběhu nemocného.

Výsledek: Od 1. 1. 2017 do 31. 1. 2019 bylo na Transfuzním oddělení FNHK zpracováno 561 vaků s mononukleárními buňkami. Výsledky kontrolních odběrů (koncentrace MOP, krevní obraz, blastická transformace) plně vyhověly požadavkům stanoveným 4 interní hematologickou klinikou. Vyšetření sterility neprokázalo ani

v jednom případě kontaminaci při zpracování. U žádného pacienta se při zpětném podání přípravku formou autotransfuze nevyskytly komplikace. V současné době je touto metodou léčeno 11 pacientů, jeden pacient s diagnózou akutní GvHD, dva pacienti se Sezaryho syndromem a 8 pacientů s chronickou GvHD.

Závěr: Změna zpracování mononukleárních buněk (z čistých prostor Tkáňové ústředny FNHK do laminárního boxu Transfuzního oddělení) splnilo požadavky na kvalitu přípravku a přineslo zvýšení operativnosti a úsporu finančních prostředků.

VYŠETŘENÍ INFEKČNÍ MARKERŮ NA ANALYZÁTORU COBAS® C8000 – MODULY E801 – PRVNÍ ZKUŠENOSTI

Landová L., Bohoněk M.

Oddělení hematologie a krevní transfuze

Ústřední vojenská nemocnice – Vojenská fakultní nemocnice Praha

Základem laboratorního screeningu dárců krve na krví přenosné infekce jsou sérologická vyšetření, pomocí kterých je zjišťována přítomnost protilátky proti definované infekci (HIV, HCV, syfilis) nebo přítomnost specifického antigenu pro danou infekci (HIV, HBV). Všechny screeningové laboratorní testy jsou zatíženy rizikem diagnostického okna, tj. neodhalením infekce v prvních několika dnech až měsících po nákaze. Vzhledem k zvyšujícímu se počtu vzorků byly v prosinci 2018 nainstalovány v laboratoři dárců krve OHKT ÚVN dvě nové linky cobas® c8000 v kombinaci CEE (před dva biochemické moduly předřazen biochemický modul c502) a EE (dva samostatné moduly e801).

Moduly e801 mají velkou vstupní kapacitu (300 vzorků v resting pozicích) a průchodnost až 300 serologických testů za hodinu. S touto kapacitou a nastavením je možné současně měřit TP, IGG i hemolytické indexy včetně infekčních markerů v extrémně krátkém čase, který umožní rychlé propuštění výsledků dárců krve nejen z ÚVN a jejich odběrových center, ale i dárců z externích zařízení transfuzní služby.

ELEKTRONICKÁ ARCHIVACE PRIMÁRNÍ DOKUMENTACE V LABORATOŘI DÁRCŮ KRVE OHKT ÚVN PRAHA

Landová L., Bohoněk M.

Oddělení hematologie a krevní transfuze

Ústřední vojenská nemocnice – Vojenská fakultní nemocnice Praha

Vzhledem k enormnímu množství papírové primární dokumentace v laboratoři dárců krve, byl na požadavek OHKT vytvořen softwarový systém AiPSafe pro ukládání dokumentů v elektronické podobě, který plně respektuje požadavky VYR-32, doplněk 11 (EudraLex –Good manufacturing practice (GMP) Guidelines.

Veškeré soubory jsou ukládány ve formátu *PDF (Portable Document Format – Přenosný formát dokumentů). Primární dokumentace v tomto typu souboru může obsahovat text i obrázky, přičemž tento formát zajišťuje, že se libovolný dokument na všech zařízeních zobrazí stejně (ve volně dostupných prohlížečích, a nebo přímo platformě Adobe Reader).

Tento typ soubor umožňuje laborantům podepsat výsledky elektronicky, (týká se i výsledků kalibrací, interních kontrol, grafů, imunohematologických reakcí atd), stejně tak jako druhé kontrole, která soubor uloží na centrální server pomocí aplikace AiPSafe. V této aplikaci jsou výsledky kdykoliv dohledatelné pod jednotlivými sekcemi, dny i analyzátoři s možností zpětného tisku.

ELEKTRONICKÝ VÝDEJ TRANSFUZNÍCH PŘÍPRAVKŮ ANEB ŠETŘME NAŠE LESY

*Matějček M. a kolektiv Oddělení krevní banky FN Motol
Oddělení krevní banky, Fakultní nemocnice v Motole, Praha*

Výdej transfuzních přípravků je jedním z procesů, které jsou doprovázeny administrativní zátěží a vznikajícím množstvím papírových záznamů. V rámci programu snižování administrativní zátěže zdravotnických i nezdravotnických pracovníků ve FN Motol, zavedlo naše pracoviště elektronický systém výdeje transfuzních přípravků bez papírových záznamů. Principem je převedení dodacích listů do elektronické formy, jejich podepisování s použitím tabletu a následná archivace. Proces byl nastaven tak, aby splňoval požadavky platné legislativy.

PLNÁ KREV SE VRACÍ: KDY, JAKÁ A PRO KOHO

Bohoněk M.

OHKT ÚVN Praha

Plná krev, jako „staronový“ transfuzní přípravek se v posledních letech začíná ve světě stále více uplatňovat nejen ve vojenské, ale i v civilní medicíně. Transfuze plné krve je součástí moderní hemostatické resuscitace na urgentních příjmech, záchranné službě a v polních podmínkách nebo na jinak vzdálených a nedostupných místech. Moderní přípravek je deleukotizovaný pomocí filtru šetřícího trombocyty a s nízkou hodnotou anti-A/B pravidelných protilátek, tzv. „low titre“. Exspirace je až 14 dní při teplotě 2–6°C, s možností následného zpracování na ERD. Ve válečné medicíně, vzdálených místech a polních podmínkách se plná krev odebírá a aplikuje na místě postupy tzv. „Walking Blood Bank“.

BLASTY V NÁTĚRU PERIFERNÍ KRVE

Horáková R., Mikulenková D.

Morfologicko-cytochemická laboratoř, ÚHKT, Praha

Naše laboratoř převážně vyšetřuje vzorky od pacientů s hematologickým či hemato-onkologickým onemocněním, či s podezřením na toto onemocnění, které vyplývá z patologických hodnot krevního obrazu. V naší laboratoři se tedy setkáváme s nálezem blastů v nátěru periferní krve často. Z přítomnosti blastů v nátěru periferní krve je třeba pečlivě posoudit, zda se jedná o hematologické onemocnění, či o leukemoidní reakci při septickém stavu. Blasty jsou značně heterogenní buňky a v některých případech akutních leukemií je jejich zařazení obtížné a závisí na zkušenosti hodnotícího laboratorního pracovníka, zda se jedná o blastický element či nikoliv. V přednášce bych Vám ráda ukázala v několika kazuistikách pestré morfologii těchto buněk.

EOSINOFILIE – ZAJÍMAVÉ KAZUISTIKY Z NAŠÍ LABORATOŘE

Zadražilová V., Zdráhalová H., Juráňová J. Kadlecová J.

Hemato-onkologická klinika Olomouc

Eozinofilie je stav, kdy nacházíme v krevním obraze zvýšený počet eozinofilů oproti fyziologickému normálu.

Eozinofily jsou bílé krvinky, které se řadí mezi granulocyty (společně s neutrofily a bazofily). Z celkového počtu bílých krvinek tvoří eozinofily 1–3 %. Mají dvoulaločnaté jádro a lososově zbarvená granula ve své cytoplazmě. Normální počet eosinofilních granulocytů v 1 litru krve je od 0 do $0,5 \times 10^9$. Zjišťování počtu eosinofilů je běžnou součástí hematologického vyšetření krve. Jedná se tedy o jeden z významných hematologických parametrů.

Vyšší počet eozinofilů, může provázet velké množství chorob. Nejznámějšími příčinami vzestupu hodnoty eozinofilů jsou: alergie (eozinofily fagocytují komplex alergen-protilátka), parazitární choroby (eozinofily ze svých granul vylučují látky, které poškozují parazity), autoimunitní zánětlivé nemoci pojiva, vaskulitidy a také maligní choroby. Každý takový nález vyžaduje pečlivé vyšetření, aby byla rozpoznána příčina vzniku eozinofilie a zahájena léčba. Pokud ji nenalezneme, uzavírá se diagnóza jako idiopatická eozinofilie.

Předmětem našeho sdělení jsou kazuistiky s různou příčinou vzniku eozinofilie. Jde o hematologické malignity, eozinofilie u kožních onemocnění i náhodný nález eozinofilie při preventivním vyšetření krevního obrazu.

TŘI OŘÍŠKY PŘI ANALÝZE KREVNIHO OBRAZU (KAZUISTIKY)

Pešková E., Fátorová I., Hrnčířová K., Dynterová A.

IV. interní hematologická klinika – laboratoř, FN Hradec Králové

Naprosto zásadní pro získání validních laboratorních výsledků je tzv. preanalytická fáze. Především odběr vzorku a jeho následný transport do laboratoře bývá zdrojem problémů. Situace je navíc ztížena tím, že pracovníci laboratoře často netuší, že odběr nebo transport vzorku neproběhl bez komplikací.

Problémy při analýze krevního obrazu mohou být způsobeny celou řadou interferencí, jako jsou chladové protilátky či kryoproteiny (falešně nižší hematokrit nebo falešně vyšší počet trombocytů), chylozita vzorku (falešně vyšší hodnota hemoglobinu), přítomnost shluků trombocytů (falešně nižší počet trombocytů), přítomnost nezralých erytroblastů (falešně nižší počet erytroblastů a zároveň falešně vyšší počet leukocytů), extrémně vysoký počet patologických lymfocytů či makrotrombocytů (falešná dimorfní populace erytrocytů) atd.

Častým zdrojem komplikací při analýze a hodnocení krevního obrazu jsou vzorky hemato-onkologických nemocných.

V naší prezentaci jsme se zaměřili na tři různé příklady problematických vzorků s uvedením konkrétních postupů při jejich analýze.

Tato práce byla podpořena programem PROGRES Q40/0 8 a MZ ČR – RVO (FNHK, 00179906).

ZMĚNY V KREVNÍM OBRAZU ANEB „VZHŮRU K VÝŠKÁM“

Teplá E., Cafourková H., Malíková I., Brzežková R.

ULBLD Centrální hematologické laboratoře

a Trombotické centrum VFN, Praha 2

Vysokohorská turistika je v současné době aktivitou, kterou vyhledává stále větší počet jedinců. Neomezené možnosti cestování a poměrně dobrá fyzická vybavenost i v pokročilejším věku mohou být hlavní faktory, které ovlivňují stoupající zájem o pobyt v horách. Ale je nutno mít stále na mysli, že pobyt v horách s sebou přináší stále stejná rizika, která neodstraní ani sebelepší vybavení nebo zkušený horský průvodce. K horám je nutné chovat respekt a na pobyt v nich se dobře připravit a uvědomit si změny, které s sebou nadmořská výška přináší a jež mohou pobyt v horách znepříjemnit nebo dokonce ohrozit naše zdraví či život.

V pěti uvedených kazuistikách (3 Muži JT 30 let, ZT 60 let, VN 62 let a dvě ženy MK 28 let a ET 60 let) jsme sledovali změny v krevním obrazu v časovém období listopad 2018 až leden 2018 při měsíčním pobytu ve vysokých nadmořských výškách (nad 3000 m).

Zaměřili jsme se především na změny hodnot v červném krevním obraze: počet erytrocytů a množství hemoglobinu. V jednotlivých případech jsme hodnoty vztahovali i k pohlaví a věku a celkovému stavu jedince (VK stav po hluboké žilní trombóze, trvale na medikaci Warfarinem).

Závěr: U všech pěti sledovaných osob došlo ke zvýšení počtu erytrocytů a hemoglobinu a následně po návratu opět k poklesu. Změny ovšem nebyly výrazné a u jednotlivých jedinců se lišily. U nikoho ze sledovaných jedinců nenastalo zhoršení zdravotního stavu a z dovolenkového pobytu všichni profitovali.

VYUŽITÍ IMUNOFENOTYPIZACE V DIAGNOSTICE B-NHL

Bradáčová P.

*Oddělení klinické hematologie, Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem,
Krajská zdravotní, a.s.*

Úvod: Non-Hodgkinské lymfomy (NHL) jsou nádorová onemocnění vycházející z B a T lymfocytů. Onemocnění primárně postihuje lymfatické uzliny, ale v řadě případů dochází i k infiltraci kostní dřeně a periferní krve. Jednotlivé typy lymfomů vznikají na různých vývojových stádiích lymfocytů. NHL je typické pro nemocné okolo 60 let věku, postihuje více muže. Pacienti mají tzv. B symptomy – váhový úbytek, noční pocení, teploty, lymfadenopatie a hepatosplenomegalie. Jednotlivé lymfomy mají odlišnou prognózu i léčbu, je tedy nutné správné stanovení diagnózy. K tomu může velmi napomoci vyšetření pomocí průtokové cytometrie.

Metodika: Na povrchu buněčných membrán, ale i intracelulárně se nachází tzv. CD znaky, které jsou typické pro jednotlivé druhy buněk/lymfomů. Při imunofenotypizaci se využívá monoklonálních protilátek značených fluorochromem, které se příslušné CD znaky naváží a po osvětlení laserovým paprskem dojde k emisi světla o určité vlnové délce. Vyšetření provádíme na 10barevném průtokovém cytometru Navios Beckman Coulter.

Výsledky: V období od 1.1.2018–31.12.2018 jsme provedli vyšetření u 332 pacientů s podezřením na NHL. Negativní screening mělo 189 pacientů. B-CLL jsme zachytili u 71 pacientů, mantle cel lymfom u 10, folikulární lymfom u 11, hairy cell leukemie u 2, variantní hairy cell leukemie u 3, lymfocytoplazmocytem u 3, B-NHL bez specifického fenotypu byl diagnostikován u 43 pacientů.

Závěr: Průtoková cytometrie je rychle se rozvíjející metoda, která je důležitou součástí diagnostiky nejen lymfoproliferativních onemocnění. Velmi důležitá je příprava vzorku, která vyžaduje precizní práci laboranta. Správné vyhodnocení dat a interpretace výsledků závisí na zkušenostech hodnotícího pracovníka.

PRE-ANALYTICKÁ FÁZE KOAGULAČNÍHO VYŠETŘENÍ – VLIV NEDODRŽENÍ VYBRANÝCH KROKŮ PROCESU NA KONEČNÝ VÝSLEDEK

Hrachovinová I., Fenclová T., Mareček F.

UHKT, Praha

Nedodržení pre-analytické fáze koagulace je zdrojem vzniku až 70 % chybných výsledků. Na procesu se podílí množství pracovníků různých profesí, navíc vzorky krve, z nichž se vyšetření provádí, jsou značně citlivé na zacházení, protože obsahují velmi labilní hemostatický systém, zahrnující krevní destičky, koagulační faktory a fibrinolytické faktory.

V procesu je mnoho kroků, jejichž nedodržení má prokázaný vliv na výsledek vyšetření. Jsou to: záměna pacienta, stav pacienta při odběru, velikost odběrové jehly, kontaminace vzorku aktivátory z cévní stěny při odběru, kvalita odběrové zkumavky, typ antikoagulačního roztoku a jeho koncentrace, příprava sekundárního vzorku (plazmy) a jeho kvalita, koncentrace antikoagulačního roztoku v sekundárním vzorku, vliv časového faktoru a teploty uchovávání primárního i sekundárního vzorku, atd.

Mezi jednotlivými kroky procesu je rozdíl v nedodržení pravidel vzhledem k závažnosti dopadu. Jiný dopad na vyšetření má záměna antikoagulačního roztoku než uchování plazmy při nevhodné teplotě. Ve svém důsledku ale může být druhý příklad pro pacienta horší, protože při nevhodném antikoagulanciu výsledek zpravidla není vydán kvůli výrazné patologii, případně se vyžádá nový odběr. V případě nedodržení teploty dostane pacient výsledek, který ho může poškodit.

Dodržování pravidel správné laboratorní praxe v pre-analytické fázi je často diskutováno jako příliš přísné. Je poukazováno na případy, že když se pravidla zmírní, jsou výsledky vyšetření ještě správné. Proces pre-analytické fáze je nutné posuzovat komplexně. Možná, že když se nedodrží pravidla v jednom kroku, jsou výsledky ještě správné, ale nikdo nemůže zaručit, že nedojde k porušení několika kroků, zvláště když část procesu probíhá mimo laboratoře a je v gesci mnoha osob.

IMPLEMENTACE AUTOMATICKÉHO MĚŘENÍ PREANALYTICKÉ INTERFERENCE NA KOAGULOMETRECH ROCHE COBAS T 511 A ACL TOP 750

*Pavlíková A., Chalupníková P., Neplechová D., Kupková P.,
Úlehlová J., Slavík L.*

Hemato-onkologická klinika FN Olomouc

Preanalytické otázky jsou hlavním zdrojem chyb při vyšetření základních koagulačních testů. Automatizace detekce preanalytických problémů včetně hemolýzy, ikteru a lipemie (HIL), nesprávného objemu plnění odběrových zkumavek a výskyt sraženin je implementována u poslední generace analyzátorů a pomáhá tento problém řešit.

Cílem této studie bylo zhodnotit přidanou hodnotu nového preanalytického modulu integrovaného do automatických koagulometrů v porovnání s dosud používanou vizuální kontrolou vzorků.

Detekce preanalytických parametrů provedená vizuální nebo manuální kontrolou vzorků byla srovnávána s novým preanalytickým modulem integrovaným do automatických koagulometrů Roche cobas t 511 a ACL TOP 750. V rámci posuzování preanalytické fáze byly vyhodnocovány interference hemoglobinu (Hb), bilirubinu a triglyceridů (TG) na vzorcích plazmy obsahující interferující látku ve vysokých koncentracích a byl hodnocen vliv HIL na výsledky základních koagulačních testů PT, aPTT a DDIM.

Srovnání vizuální kontroly a kontroly vzorků pomocí automatického hodnocení preanalytiky bylo provedeno na 1 435 vzorcích z běžného provozu laboratoře. Vizuální nebo manuální kontrola zjistila statisticky více vzorků s preanalytickými problémy než preanalytický modul integrovaný v automatických koagulometrech Roche cobas t 511 a ACL TOP 750 CTS (2,65 % vs. 0,84 %, $p > 0,001$). Většina vzorků s preanalytickou interferencí byla odmítnuta kvůli hemolýze vzorku (2,37 % po vizuální kontrole, resp. 0,56 % u automatického hodnocení neanalytických pravidel, $p < 0,001$). Oba typy hodnocených automatických analyzátorů s integrovanými preanalytickými moduly, tedy jak Roche cobas t 511, tak ACL TOP 750 CTS, shodně označily 12 vzorků (0,84 %) překračujících limity interferujících látek, oproti tomu vizuální kontrola detekovala 38 pozitivních vzorků (2,65 %). Ikterické vzorky byly detekovány ve shodném počtu preanalytickými moduly analyzátorů jako při manuálním stanovení (0,07–0,14 % vs. 0,14 %, p NS), stejně tak lipemické vzorky (0,14 %

vs. 0,14 %, p NS). Zásadní rozdíl byl v hodnocení hemolýzy, kde bylo při manuálním hodnocení nalezeno 34 pozitivních vzorků oproti 8, resp. 9 vzorkům z automatických preanalytických systémů (2,37 % vs. 0,56–0,63 %, $p < 0,001$).

Stanovení základních koagulačních testů bylo porovnáváno na skupině 67 pacientů s manuálně vyhodnocenou interferencí v preanalytické fázi vyšetření, kdy pomocí využití automatického hodnocení preanalytické fáze bylo dosaženo redukce odmítnutí vzorků v rozsahu 57–85 % dle typu stanovení.

Při hodnocení jednotlivých testů byla vždy hodnocena korelace hodnot pomocí směrnice a odchylky. Vizuální kontrola zjistila statisticky více vzorků s preanalytickými problémy než nové preanalytické moduly integrované na Roche cobas t 511, resp. ACL TOP 750 (3,5 % vs. 6,6 %, $p < 0,001$).

Automatická a standardizovaná kontrola rutinních koagulačních vzorků pomocí Roche cobas t 511, resp. ACL TOP 750, zvýšila přesnost a konzistenci při detekci preanalytických otázek ve srovnání s vizuální kontrolou. Hlavní výhodou je automatická detekce preanalytických chyb a odstranění subjektivního hodnocení těchto parametrů, což vedlo ke značné redukci preanalytických chyb.

NENÍ ZKUMAVKA JAKO ZKUMAVKA

Janusová I., Šefrová K., Lubasová A., Balatková L.

OKBH Nemocnice Jablonec nad Nisou, p.o.

Laboratorní vyšetření kromě analýzy zahrnuje i přípravu pacienta, odběr materiálu, dopravu do laboratoře tj. preanalytickou fázi, která je zásadní z hlediska ovlivnění konečného výsledku analýzy. Zatímco vlastní analytická fáze probíhá pod kontrolou laboratoře, fázi preanalytickou má v rukou převážně ordinující lékař a odbírající sestra. Chyby v preanalytické fázi mohou způsobit, že je naměřena hodnota parametru, která u pacienta ve skutečnosti není, což vede k chybným diagnostickým závěrům se všemi důsledky. Naše sdělení vychází ze zkušeností z našeho oddělení klinické biochemie a hematologie. Přestože již řadu let používáme uzavřené odběrové systémy, nezdědka se setkáváme s nevhodnými manipulacemi se zkumavkami během odběru, např. přelévání materiálu z jedné do druhé. Výhodou konsolidované laboratoře je možnost ověřit některé podezřelé nálezy a tím odhalit tyto manipulace a zabránit tak vydání chybného výsledku. Cílem prezentace je ukázat, jak jsou zkresleny některé základní laboratorní analýzy při nedodržení správného odběrového materiálu.

Ve spolupráci s odběrovým centrem jsme nasimulovali různé případy nevhodných manipulací, např. přelití zkumavky na KO do zkumavky pro stanovení koagulačních parametrů. Sledovali jsme očekávatelné změny v předem nadefinovaných koagulačních parametrech a zároveň provedli proměření analytu, který potvrzuje přítomnost nevhodného antikoagulans.

PROBLEMATIKA POCT Z POHLEDU HEMATOLOGICKÉ LABORATOŘE VE FNO

Pulcer M., Bajzová Ž.

*Fakultní nemocnice Ostrava, Ústav laboratorní diagnostiky,
Oddělení klinické hematologie*

Úvod: Přístroje POCT (Point-of care testing) jsou určeny k provádění laboratorních vyšetření v přímé blízkosti pacienta. Významným přínosem je doba odezvy, která je kratší, než je doba odezvy laboratoře. Proto nachází uplatnění zejména v urgentní medicíně, ordinacích praktických lékařů a s výhodou jsou také používány u vybraných pacientů pro monitorování léčby v domácím prostředí. Jelikož měření vykonává převážně zdravotnický personál či dokonce samotní pacienti, kteří nejsou erudovaní v laboratorních vyšetřovacích metodách jako zdravotní laboranti či odborní pracovníci v laboratorních metodách, musí být technologie využívané v POCT jednoduché a zároveň schopné zajistit správná a přesná měření.

Cíle: Seznámit s politikou POCT ve FNO, vytyčit úlohu hematologické laboratoře v oblasti POCT a zároveň poukázat na povinnosti uživatelů POCT ve FNO. Prezentovat analyzátory měřící hematologické parametry ve FNO.

Metody: Představení fungujícího modelu supervize nad hematologickými POCT ve FNO.

Výsledky: Práce poskytuje komplexní náhled na problematiku POCT. Ukazuje proces zavedení, provozování a supervize nad hematologickými POCT ve FNO. Jelikož v současné době není k dispozici konkrétní doporučení České hematologické společnosti ČLS JEP pro provozování hematologických POCT, nabízí toto sdělení možné řešení jednotlivých úloh, které se s provozováním POCT pojí.

Závěr: POCT přístroje jsou v určité oblasti laboratorní diagnostiky velmi přínosné. Specifická jejich provozu však s sebou přináší řadu nových úskalí. K zajištění efektivního provozování a zlepšení kvality POCT je zapotřebí především multidisciplinární tým vytvořený pro řešení problémů POCT a existence supervize.

VYŠETŘENÍ KADAVEROZNÍHO DÁRCE ORGÁNŮ V HLA LABORATOŘI TRANSFUZNÍHO A TKÁŇOVÉHO ODDĚLENÍ FN BRNO

Marešová L., Janků L.

Transfuzní a tkáňové oddělení FN Brno

Transplantace orgánu je jediné řešení konečného stadia jeho funkce. Orgány mohou pacienti dostat od žijícího dárce nebo od dárce zemřelého. V České republice platí předpokládaný souhlas s posmrtným darováním orgánů. Výjimkou jsou osoby, které za života vyjádřily písemný nesouhlas s dárcovstvím.

HLA laboratoř zajišťuje 24 hodinovou transplantační pohotovost. Úzce spolupracuje s transplantacním centrem CKTCH Brno (Centrum kardiovaskulární a transplantací chirurgie), KST Praha (Koordinační středisko transplantací) a IKEM Praha (Institut klinické a experimentální medicíny).

V Transfuzním a tkáňovém oddělení Fakultní nemocnice Brno se na vyšetření kadaverózního dárce podílí několik laboratoří. Laboratoř infekčních markerů zajišťuje vyšetření infekčních chorob přenosných krví, HLA laboratoř provádí typizaci HLA antigenů I. a II. třídy a křížovou zkoušku (cross-match) mezi dárce a příjemcem. Úsek hemopoetických buněk zamrazuje lymfocyty dárce orgánů v tekutém dusíku pro pozdější vyšetření cross-match při podezření na rejekci orgánu.

Po stanovení mozkové smrti se v HLA laboratoři provádí HLA typizace antigenů I. a II. třídy. Serologická typizace antigenů I. třídy a cross-match se provádí metodou lymfocytotoxického testu (LCT), současně se HLA typizace antigenů I. a II. třídy provádí i metodou PCR-SSP. Výsledky HLA typizace spolu s krevní skupinou jsou zásadní pro výběr potencionálních příjemců ledviny, který provádí transplantací koordinátor v KST Praha. HLA laboratoře v ČR, které jsou zapojené do transplantacího programu, uchovávají séra pacientů z celé republiky, kteří jsou zařazeni na čekací listinu na transplantaci ledviny. Tato séra se pravidelně obměňují ve čtvrtletních intervalech. Se séry vybraných příjemců a buňkami daného dárce orgánů vyšetří HLA laboratoř cross-match. Konečnou alokaci ledvin provádí koordinátor KST. Pozitivní výsledek cross-match je kontraindikací k transplantaci. Těsně před transplantací provede HLA laboratoř aktuální cross-match z nově odebraného vzorku séra příjemce a buňkami dárce orgánu k vyloučení přítomnosti donor specifických anti-HLA protilátek.

I když v roce 2018 došlo v CKTCH Brno ke zvýšení počtu kadaverózních dárců, a tím i provedených transplantací orgánů v Brně oproti minulým rokům, stále na transplantaci čeká mnoho pacientů.

VYŠETŘENÍ POTENCIÁLNÍHO DÁRCE ORGÁNŮ VE FN BRNO – LABORATOŘ INFEKČNÍCH MARKERŮ TRANSFUZNÍ A TKÁŇOVÉ ODDĚLENÍ FN BRNO

Jandová Z.

LIM TTO FN Brno

Transplantační medicína je významným medicínským oborem, ve kterém se spojují poznatky z různých zdravotnických oborů. Cílem činnosti je maximální měrou přispět ke zlepšení kvality života pacientů nebo k jeho záchraně. O vhodnosti použití odebraného orgánu rozhoduje specialista transplantačního centra, výběr příjemců orgánů je založen na principu medicínské naléhavosti a rovnosti.

Před zahájením odběru orgánů je třeba znát výsledky serologických vyšetření markerů krví přenosných infekcí, jak ukládá zákon č. 285/2002 Sb., o darování, odběrech a transplantacích tkání a orgánů ve znění pozdějších předpisů a vyhláška č. 114/2013 Sb., o zdravotní způsobilosti dárce tkání a orgánů pro účely transplantací.

Na základě výše uvedených legislativních norem jsou prováděna následující serologická vyšetření:

- HBsAg,
- anti HBc total,
- protilátky proti virové hepatitidě C
- protilátky proti HIV 1/HIV 2 a HIV 1 p24 antigen
- protilátky proti *Treponema pallidum* – vyšetření na syfilis

Vyloučení těchto onemocnění je nutné k zamezení ohrožení zdraví nebo života příjemce po transplantaci a k posouzení kvality tkání a orgánů určených k transplantaci.

Vyšetření jsou v Laboratoři infekčních markerů (LIM) TTO FN Brno prováděna sérologickými metodami za použití IVD diagnostik na analyzátoch ARCHITECT i2000SR Abbott Laboratories a cobas e 411 Roche.

Důležité pro transplantační centrum je zajistit potřebná vyšetření v co nejkratším čase. Laboratoř infekčních markerů TTO FN Brno provádí tato vyšetření pro Centrum kardiovaskulární a transplantační chirurgie Brno (CKTCH) 24 hodin denně. Laboratorní výsledky jsou dostupné do 3 hodin od nahlášení požadavku na vyšetření potenciálního dárce orgánů koordinátorkou CKTCH Brno na TTO FN Brno.

Počet vyšetření má vzestupný trend. V roce 2018 jsme v naší laboratoři vyšetřili 53 vzorků potenciálních dárců orgánů.

VYŠETŘENÍ KADAVEROZNÍHO DÁRCE ORGÁNŮ NA TRANSFUZNÍM A TKÁŇOVÉM ODDĚLENÍ FN BRNO ZPRACOVÁNÍ A ZAMRAŽENÍ LYMFOCYTŮ

Sedláková H.

FN Brno Bohunice, TTO

Dne 4. listopadu 2011 se stalo součástí Transfuzního oddělení a krevní banky Fakultní nemocnice Brno, Tkáňové oddělení, které je jedním z pokračujících pracovišť Tkáňové banky. Jedná se o moderní zařízení s širokým rozsahem nabídky v oblasti tkání, buněk, kryogenního skladování a s řadou výzkumných projektů.

Zacházení s lidskými tkáněmi a buňkami legislativně upravuje:

- Zákon č.100/2017 Sb. (Transplantační zákon)
- Zákon č.296/2008 Sb. (Zákon o lidských tkáních a buňkách)
- Vyhláška č.422/2008 Sb. (Vyhláška o lidských tkáních a buňkách)
- Vyhláška č.167/2017 Sb. (Přidělování EU identifikačního kódu LTB)

Na úseku hemopoetických buněk se provádí činnosti:

- Zpracování, kryokonzervace, skladování a distribuce transplantátů hemopoetických buněk (PBSC, BM) a lymfocytů dárců hemopoetických buněk (DLI)
- Skladování a distribuci zárodečných buněk (sperma) onkologických pacientů pro partnerské použití
- Zpracování, řízené zmrazení, skladování a rozmrazení lymfocytů kadaverózních dárců orgánů a lymfocytů dárců se známou HLA typizací, pro vyšetření pacientů čekajících na transplantaci ledviny

Impulz k zahájení procesu zmrazování lymfocytů kadaverózních dárců orgánů vzešel na základě požadavků lékařů Centra kardiovaskulární a transplantační chirurgie (CKTCH) v Brně FN U Sv. Anny. Má za cíl uchování buněk pro další použití při diagnostice akutní nebo pozdní rejekce transplantovaných orgánů.

Zmrazování lymfocytů provádíme od roku 2012 na přístroji IceCube 14M, kde se podle naprogramované teplotní křivky v prostředí par kapalného dusíku za 90 minut materiál zmrazí na teplotu -175°C . Zpracování a zmrazení lymfocytů vychází z metodiky zpracování a kryokonzervace transplantátů hemopoetických buněk (PBSC, BM) s využitím DMSO (dimethylsulfoxid), jako kryoprotektivního roztoku. DMSO zvyšuje permeabilitu buněčné stěny, proniká rychle do buňky, vytlačuje intracelulární vodu a minimalizuje smrštění buňky. Při pokojové teplotě buňky je DMSO pro buňky toxické. Abychom snížili toxické působení a minimalizovali

úmrtí buněk ještě před zmrazením, musíme pracovat při nízkých teplotách a zkrátit dobu expozice buněk v kryoprotektivním roztoku.

Následné skladování zmrazených vzorků je realizováno v Dewarově nádobě v parách kapalného dusíku při teplotě nižší než $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Rozmrazování vzorku musí být také provedeno rychle při nízkých teplotách. Po rozmrazení a promytí od DMSO se buňky resuspendují ve stabilizačním roztoku pro lymfocyty a ihned odesílají do HLA laboratoře k provedení aktuálního crossmatche (ACM).

Na HLA laboratoř se s požadavkem o vyšetření ACM obrací CKTCH, pokud se u pacienta s transplantovaným orgánem objeví podezření na rejekci orgánu.

V období 2012–2018 byly zmrazeny lymfocyty od 368 dárců orgánů. Pro vyšetření ACM bylo rozmrazeno 21 vzorků s výsledky: 5 pozitivní, 15 negativní a 1 vzorek nebylo možné použít pro vyšetření ACM (nekvalitní suspenze lymfocytů)

UBÝVÁ ČI PŘIBÝVÁ PACIENTŮ ČEKAJÍCÍCH NA TRANSPLANTACI LEDVINY? POROVNÁNÍ POČTU PACIENTŮ K TX LEDVINY VYŠETŘENÝCH V HLA LABORATOŘI FN BRNO V OBDOBÍ LET 2016–2018

Lahodová M., Janků L.

FN Brno, TTO

Úvod: Hlavní histokompatibilní systém člověka se nazývá HLA systém, který zajišťuje rozpoznání toho, co je pro organismus tzv. vlastní nebo cizí. Vzhledem k tomu, že se jedná o nejpolymorfnější systém, má velký význam v transplantační medicíně jak hematopoetických kmenových buněk, tak i solidních orgánů.

Statistické zhodnocení provedených vyšetření v HLA laboratoři FN Brno bylo provedeno za období 2016–2018. Jsou zde vyjádřeny počty nově zařazených příjemců ledviny na tzv. waiting list (WL, čekací listina) ze spádových dialyzačních center v Jihomoravském kraji, počty provedených aktuálních cross-match bezprostředně před transplantací ledviny jak od zemřelého, tak i od živého dárce.

Metodika: Základem k zařazení pacienta na WL k transplantaci ledviny je vyšetření HLA antigenů, panelu reaktivních protilátek (% PRA) a krevní skupiny. Typizace HLA antigenů se provádí metodou serologickou, kde identifikujeme konkrétní HLA antigeny přítomné na povrchu buněk a molekulárně-genetickými metodami, kde určujeme HLA alely na úrovni nukleových kyselin.

Serologická typizace HLA antigenů se provádí lymfocytotoxickým testem (LCT), jehož principem je reakce antigenu na povrchu lymfocyty a anti-HLA protilátkou. Molekulárně-genetická typizace HLA antigenů se provádí metodou PCR: PCR-SSP s následnou elektroforézou na agarózovém gelu nebo PCR-SSOP s reverzní hybridizací PCR produktu s oligonukleotidovými sondami vázanými na fluorescenčně kódované mikročástice (technologie Luminex). % PRA je screening anti-HLA protilátek u pacientů zařazených na WL k transplantaci ledviny. Provádí se LCT testem s panelem 50 HLA otypovaných dárců v pravidelných čtvrtletních intervalech. Pacienti s vysokými hodnotami PRA (80–100 %) mají menší šanci na transplantaci z důvodu pozitivního cross-match.

Soubor: Údaje byly získány za období 2016–2018 zhodnocením souboru cca 200 pacientů z 18 dialyzačních center a nefrologických ambulancí v každém čtvrtletí. V grafech je vidět pokles či nárůst vyšetřovaných osob, což odráží počty provedených transplantací a počty nově zařazených osob.

Závěr: V období 2016–2018 bylo nejméně pacientů na vyšetření % PRA v roce 2016, nejvíce v roce 2018. Z vyšetření počtu % PRA pacientů v jednotlivých čtvrtletích je patrné, že jejich počty kolísají, ale tyto výkyvy nejsou významné, nemají výraznou ani vzestupnou ani sestupnou tendenci. To odráží nedostatek dárců orgánů. Počty provedených transplantací ledviny za rok přibližně odpovídají počtu nově zařazených čekatelů na transplantaci. Nejvyšší počet Tx ledvin od kadaverózních dárců byl v roce 2018. Vzhledem k nedostatečnému počtu dárců orgánů se jeví jako další možnost získání ledviny od živých dárců. Tyto štěpy mají obecně delší dobu přežití.

VÝROBA KRYOKONZERVOVANÝCH TROMBOCYTŮ VE FN HK

Kotrčová P.¹, Klabačková S.¹, Řeháček V.^{1,2}

¹Transfuzní oddělení, Fakultní nemocnice Hradec Králové

²Lékařská fakulta UK Hradec Králové

Úvod: Metodika Krizové krevní politiky (KKP) ČR stanovila krizovým transfuzním centrům (KTC) povinnost zajistit denní dodávku stanoveného počtu transfuzních přípravků erytrocytů, plazmy a trombocytů. KTC nemají dostatečnou zásobu nativních trombocytových přípravků na zajištění tohoto požadavku, proto bylo rozhodnuto o výrobě a skladování kryokonzervovaných trombocytů a tento požadavek byl zapracován do KKP. Na Transfuzním oddělení Fakultní nemocnice Hradec Králové byla po roční přípravě zahájena v lednu 2019 výroba přípravku „Trombocyty směsné z buffy-coatu, deleukotizované, kryokonzervované, zmražené (TBSDKZ).

Metodika, výrobní postup: TBSDKZ se vyrábějí z původního výrobku Trombocyty směsné deleukotizované z buffy-coatu, resuspendované v SSP+ (TBSDR). Při výběru buffy-coatů (BC) pro výrobu TBSDKZ se používají BC od dárců se sníženým rizikem TRALI a vyšším počtem trombocytů v krevním obrazu. Do transfuzního přípravku TBSDR se přepustí 30% dimethylsulfoxid (DMSO) v takovém množství, aby výsledná koncentrace v přípravku byla 5–6 %. Po následné centrifugaci a odstranění supernatantu se získá výsledná suspenze trombocytů (objem cca 20 ml), která se jemně rozmíchá. TBSDKZ se zmrazí a uchovává v bublinkové obálce v mrazícím boxu při teplotě -80 °C s expirací 2 roky. Po rozmrazení v rozmrazovači transfuzních přípravků se TBSDKZ resuspenduje v SSP+ roztoku (výroba transfuzního přípravku Trombocyty směsné z buffy-coatu, deleukotizované, kryokonzervované – TBSDK). Poté je výrobek připraven k výdeji s expirací 6 hodin.

Výsledky: V lednu 2019 bylo vyrobeno celkem 9 ks TBSDKZ, průměrný obsah trombocytů v TBSDR před zpracováním na TBSDKZ byl $3,43 \times 10^{11}$ /T.D., pro rozmrazení poklesl počet trombocytů o 20 %, v přípravku po rozmrazení a následné resuspenzi SSP+ byl patrný vířivý fenomén (swirling).

Závěr: TBSDKZ představují alternativu nativních trombocytových přípravků pro případ léčby pacientů s masivním krvácením.

OZAŘOVÁNÍ TRANSFUZNÍCH PŘÍPRAVKŮ NA TRANSFUZNÍM ODDĚLENÍ FNHK – OHLÉDNUTÍ PO 10 LETECH

Šimerdová L.¹, Beková T.¹, Dragúňová M.¹, Řeháček V.^{1,2}

¹Transfuzní oddělení, Fakultní nemocnice Hradec Králové

²Lékařská fakulta UK Hradec Králové

Úvod: Ozařování transfuzních přípravků (TP) se provádí jako prevence TA-GvHD (transfuzí vyvolaná reakce štetu proti hostiteli), která je možnou závažnou komplikací transfuze u jedinců s nevyvinutým nebo s poškozeným imunitním systémem. Naším cílem bylo porovnání statistiky z roku 2005 se současnými daty z let 2015–2018.

Princip metody: Pro ozařování TP se na Transfuzním oddělení Fakultní nemocnice Hradec Králové používá ozařovač Gammacell 3000 Elan firmy Nordion International. TP se ozařují takovou dávkou gama záření, které vede k deaktivaci lymfocytů. Minimální dávka postačující k tomuto efektu je stanovena na 25 Gy. Centrální dávka ozařovače, která zaručuje dosažení hodnoty 25 Gy ve všech částech ozařovací nádoby, je 30 Gy. Pro průkaz ozáření TP se používají radiosenzitivní štítky. Součástí ozařovacího procesu je podrobná dokumentace ozařovaných TP, ze které byla čerpána statistická data.

Výsledky: Od 1. 1. do 31. 12. 2005 bylo ozářeno celkem 2563 přípravků, z toho 1314 erytrocytů, 556 trombocytů a 693 plazem. V roce 2015 bylo ozářeno celkem 2346 přípravků, z toho 1446 erytrocytů, 706 trombocytů a 194 plazem. V roce 2016 bylo ozářeno celkem 2244 přípravků, z toho 1375 erytrocytů, 829 trombocytů a 40 plazem. V roce 2017 bylo ozářeno celkem 1920 přípravků, z toho 1236 erytrocytů, 678 trombocytů a 6 plazem. V roce 2018 bylo ozářeno celkem 2165 přípravků, z toho 1358 erytrocytů, 797 trombocytů a 10 plazem.

Závěr: Při porovnávání množství ozářených TP z celkového počtu vyrobených TP v minulých letech se současnými daty bylo zjištěno, že celkové požadavky na ozáření TP klesají. Došlo k výraznému snížení ozařovaných plazem (v roce 2018 se již plazmy ozařovaly sporadicky), naopak se navýšil počet ozářených trombocytových přípravků.

100% DELEUKOTIZACE ERYTHROCYTŮ – OD ZÁMĚRU K REALIZACI

Janoušková M.

Transfuzní oddělení nemocnice v Karlových Varech KKN a.s.

Úvod: Cílem zavedení 100% deleukotizace erythrocytárních transfuzních přípravků bylo zvýšení úrovně péče o pacienty v našem zařízení, zvýšení bezpečnosti hemoterapie a snížení počtu potransfuzních reakcí. Do roku 2015 jsme na ZTS prováděli in – line deleukotizaci erythrocytárních přípravků u cca 15 % odběrů ročně. Omezení bylo dané indikačními kritérii podání deleukotizovaných TP. V roce 2015 byla OOP 5-2015 (SÚKL) byla tato indikační kritéria pro deleukotizované erythrocyty odstraněna a otevřela se možnost převedení výroby všech erythrocytárních transfuzních přípravků na deleukotizované.

Prezentace se zabývá problematikou zajištění ekonomiky procesu změny, spolupráci s klinickými pracovišti a optimalizací procesu výroby ERD.

Závěr: Zavedení 100% deleukotizace erythrocytů vedlo na ZTS ke zvýšení efektivity práce a komfortu pracovníků, ke snížení počtu kontrol v systému kontroly kvality, zjednodušení práce na úseku křížových pokusů (jeden typ TP).

Zavedení 100% deleukotizace erythrocytů vedlo na klinických odděleních k odstranění deleukotizace EBR u lůžka a ke zjednodušení vykazování TP.

„CHYTRÝ VERSUS CHYTŘEJŠÍ “ ZKUŠENOSTI S POUŽITÍM AUTOMATICKÝCH LISŮ NA ZPRACOVÁNÍ KRVE MACOPRESS

Janoušková M., Žejdlová V.

Transfuzní oddělení nemocnice v Karlových Varech KKN a.s.

Úvod: Automatický separátor krevních složek musí šetrně a rychle oddělit jednotlivé složky centrifugované krve. Klíčové je co nejpřesnější rozeznání rozhraní mezi jednotlivými složkami, plynulý a přesný pohyb lisu a rychlé a přesné řízení ventilů. Velmi důležitým parametrem je i rychlost separace.

Prezentace zahrnuje zkušenosti pracoviště s používáním obou typů automatických lisů a porovnání přístrojů Macopress Smart a Macopress Smarter.

Závěr: Instalace nových typů automatických lisů na separaci krve vedla ke zrychlení procesu separace, snížení objemu buffy – coatu při zachování kvality transfuzních přípravků.

Používání přístrojů vedlo ke zvýšení efektivity práce a komfortu pracovníků na úseku výroby.

KRYOKONZERVOVANÉ TROMBOCYTY

Výziblová D., Poloková N.,

Transfuzní a tkáňové oddělení FN Brno

Úvod: Transfuzní a tkáňové oddělení (TTO) FN Brno patří mezi největší výrobce trombocytových transfuzních přípravků (TP) v České republice. V roce 2018 TTO FN Brno vyrobilo více než 7 000 terapeutických dávek (TD) trombocytových transfuzních přípravků a to jak z odběrů aferetických (TADR), tak výrobou směsných trombocytových TP z buffy coatů (TBSDR).

Cíl: Trombocyty aferetické i směsné skladované při teplotě 20–24 °C mají použitelnost 5 dní. Prodloužení doby použitelnosti a zvýšení dostupnosti kryokonzervovaných trombocytů je bezesporu jejich výhodou.

Metoda: Proces mražení vede k nevratnému poškození buněk. Aby k tomuto nedošlo, je nutné použít v procesu výroby tzv. kryoprotektivní látky. Na TTO FN Brno jsou používány ke kryokonzervaci TBSDR krevní skupiny 0 (ve srovnání s aferetickými levnější, dostupnější a kvalitou srovnatelné) a kryoprotektivní látka DMSO. Kryokonzervované trombocyty se připravují zmrazením při teplotě –80 °C. Doba skladování je minimálně 2 roky. K rekonstituci je používán náhradní roztok SSP+.

Výsledky: V roce 2018 probíhala na TTO FN Brno validace výrobního procesu kryokonzervace. V rámci procesní validace bylo provedeno vzorkování vstupů, meziproduktů i finálních produktů po rozmražení. Ve všech vzorcích byly definovány a hodnoceny parametry kvality. Hodnocenými parametry byly: objem, přítomnost víření (swirling), počet trombocytů, obsah reziduálních leukocytů, hodnota pH, koncentrace celkové bílkoviny, přítomnost pravidelných antierytrocytových protilátek anti-A a anti-B, funkční aktivita trombocytů (ROTEM) a aktivace trombocytů (průtoková cytometrie).

Závěr: Z výsledků laboratorního porovnání nativních a kryokonzervovaných trombocytových TP v rámci procesní validace vyplývá, že kryokonzervované trombocyty mají vyšší prokoagulační aktivitu na rozdíl od nativních produktů. U kryokonzervovaných produktů došlo k rychlejší zástavě krvácení, pevnost koagula je nižší, nicméně dostatečná. Při použití náhradního roztoku při výrobě i rekonstituci lze použít tyto TP jako promyté.

ŽELEZNOHORKY 2019

XXXI. celostátní pracovní konference
laborantů a sester

POSTERY

PRVODÁRCI A JEJICH NÁVRAT K DAROVÁNÍ V TTO FN BRNO

Adamcová M., Pacasová R.

Transfuzní a tkáňové oddělení, Fakultní nemocnice Brno

Úvod: Jednotlivá ZTS si vytváří a udržují vlastní registry dárců krve, které nejsou vzájemně propojeny a tvoří základ pro výrobu přípravků k zajištění účelné hemoterapie. Při své každodenní práci využívají především registr aktivních/pravidelných dárců krve. Ten naplněn dárce krve, kteří splňují kritéria pro darování a pravidelně darují krev nebo její složky. Součástí činností vázaných na práci s registrem je rovněž jeho pravidelná obměna s cílem nahradit přirozený úbytek dárců krve (např. z důvodu vyššího věku nebo změny zdravotního stavu) dárce nově přichozími. Počet nových dárců krve a naplněnost jednotlivých registrů jsou údaje, se kterými pracovníci ZTS běžně pracují. Kromě motivace nových dárců krve k prvnímu darování je rovněž důležité dárce krve motivovat i k darování opakovanému.

Cílem sdělení je poskytnout informace o návratnosti dárců krve, kteří poprvé darovali krev v roce 2015 na TTO FNB, k dalším odběrům a to v období do 2 let od prvního darování.

Metoda: Obsahová analýza dat ve vzorku všech prvodárců, kteří přišli poprvé darovat krev na TTO FNB v roce 2015. Data jsou zpracována ve vztahu k vybraným demografickým a odborným charakteristikám.

Výsledky: Ze všech nově přichozích dárců krve v roce 2015 se v celkovém období 2 let vrátilo k opakovanému odběru necelých 64 % dárců, ve větší míře muži než ženy. Zastoupení jednotlivých krevních skupin všech přichozích i dárců s návratem odpovídá v systému AB0 zastoupení krevních skupin v populaci. V systému RhD byl zaznamenán vyšší počet RhD negativních dárců u všech přichozích dárců krve i u dárců s návratem. Nejvíce dárců krve se vrátilo k opakovanému darování v období do 6 měsíců od prvního darování. Vyšší procento návratu bylo zaznamenáno u dárců, kteří se k prvnímu darování rozhodli v pozdějším věku, ve sledovaném souboru se jednalo o dárce po 40. roce věku.

Závěr: Návratnost dárců krve, tj. odezva na motivování k opakovanému darování, představuje důležitý údaj, se kterým může ZTS pracovat při tvorbě dalších náborových aktivit a může pomoci i k zefektivnění práce s registrem.

HEMOLYTICKÉ ONEMOCNĚNÍ PLODU A NOVOROZENCE (HDFN)

Dvořáková K., Kalmanová P., Holusková I., Galuszková D.

Transfuzní oddělení FN Olomouc

Úvod: Při hemolytickém onemocnění plodu/novorozence (HDFN) dochází vlivem vazby mateřských protilátek na erytrocyty plodu/novorozence k předčasnému zániku těchto erytrocytů. HDFN vzniká na základě inkompatibility antigenů na erytrocytech matky a plodu. Při fetomaternálním krvácení dochází k průniku erytrocytů plodu do krevního oběhu matky a tím ke stimulaci imunitního systému matky. Vytvoří se specifické aloprotilátky, třídy IgG, které jsou schopny proniknout přes placentu do krevního oběhu plodu, kde se naváží na odpovídající antigeny erytrocytů a způsobí tak jejich zkrácené přežívání. Mezi klinicky nejvýznamnější specifické aloprotilátky z hlediska HDFN patří aloprotilátky anti-D, -c, -K, -E, -C, -e.

Materiál: Nesrážlivý krevní vzorek novorozence a matky novorozence odebraný do K3EDTA.

Metodika: HDFN je rutinně přeshetřováno v Laboratoři prenatální imunohematologie nebo v pohotovostní službě v Laboratoři testů slučitelnosti. Přeshetření při podezření na HDFN provádíme jako spádové pracoviště i pro okolní nemocnice. U novorozence se vyšetří krevní skupina v AB0 a RhD, PAT a screening antierytrocytárních protilátek, u matky novorozence se vyšetří krevní skupina v AB0 a RhD a screening antierytrocytárních protilátek. Dle výsledků vyšetření se provádí identifikace antierytrocytárních protilátek, jejich kvantifikace (titr), eluce, fenotyp v Rh, Kell i jiných systémech, titr PAT a rozlišení podtřídy IgG1 a IgG3.

Výsledky: Výsledky vyšetření HDFN byly hodnoceny za období let 2017–2018. Celkem bylo zasláno na naše oddělení v tomto období 78 krevních vzorků novorozenců s podezřením na HDFN. V roce 2017 to bylo 34x, z toho 14x se jednalo o HDFN v AB0 systému, 5x v Rh systému, 1x v AB0 i Rh systému, 3x v Kell systému a 11x výsledky imunohematologických vyšetření HDFN nepotvrdily. V roce 2018 bylo přeshetřeno 44 novorozenců s podezřením na HDFN. 15x se jednalo o HDFN v AB0 systému, 8x v Rh systému a 1x v Kell systému. 20x výsledky imunohematologických vyšetření HDFN nepotvrdily. V roce 2018 bylo nutné u 5 novorozenců provést intrauterinní (IUT) nebo výměnnou transfuzi erytrocytů

Závěr: V ČR je zavedeno sledování všech gravidních žen. Vyšetřuje se krevní skupina v AB0, RhD a screening nepravidelných tepelných antierytrocytárních protilátek.

Z našeho sledování novorozenců s podezřením na HDFN v letech 2017–2018 jsme vyhodnotili dle výsledků imunohematologických vyšetření, že z celkového počtu 78 krevních vzorků novorozenců se jednalo 29x o HDFN v AB0 systému, což činí 37 % (29/78) z vyšetřených novorozenců pro podezření na HDFN, 13x v Rh systému, což činí 17 % (13/78), 1x v AB0 i Rh systému, což činí 1,3 % (1/78), 4x v Kell systému, což činí 5 % (4/78). U 5 novorozenců bylo potřeba provést IUT nebo výměnnou transfuzi. Podle aktuálních informací z novorozeneckého oddělení FNOL je snaha o centralizaci těchto zákroků, vzhledem k nízké četnosti IUT. Na našem oddělení potom chybí informace o provedené IUT nebo výměnné transfuzi a u těchto novorozenců je následně problematické uzavřít krevní skupinu v AB0, RhD a Rh fenotyp.

MOTIVACE NOVÝCH DÁRCŮ K DÁRCOVSTVÍ – STATISTIKA

Kalužová N., Lakotová O.

Krevní centrum FN Ostrava

Od roku 2008 probíhají prezentace ve firmách, SŠ, VŠ. Exkurze na Krevním centru pro širokou veřejnost a žáky 8. a 9. tříd ZŠ. Statisticky chceme vyjádřit potřebu těchto aktivit i do budoucna. Předmětem této práce je porovnání počtu provedených náborových aktivit za posledních 6 let (2012–2018).

Od roku 2012 nám nový dárci po odběru vyplňují dotazník, kde získáváme informace, jestli se setkal z nějakou náborovou aktivitou. Získáváme tak validní informace, že nábor dárců krve a krevních složek, ve kterém chceme i nadále pokračovat, je tou správnou cestou.

ZÁPADONILSKÁ HOREČKA – DOČASNÉ ROZŠÍŘENÍ VYŠETŘOVÁNÍ ZNÁMEK INFEKCE U DÁRCŮ KRVÉ NA TTO FN BRNO

*Havlíčková M.
LIM TTO FN Brno*

Zajištění maximální bezpečnosti příjemce krevní transfuze je jednou z hlavních priorit zařízení transfuzní služby. Zásadním významem z hlediska bezpečnosti je průkazný a včasný záchyt infekcí krví přenosných chorob během screeningových vyšetření dárců krve. Proto jsou vyšetření známek infekce a kvalita používaných in vitro diagnostik oblastmi řešenými v legislativních předpisech jednotlivých zemí světa. Platná legislativa ČR připouští rozšíření vyšetření známek infekce podle epidemiologické situace.

Situace v ČR v sezóně 2018: ke dni 5. 10.2018 byly hlášeny do Evropského centra pro prevenci a kontrolu nemocí (ECDC) dva případy onemocnění západonilskou horečkou. V jednom případě šlo o autochtonní (místní) přenos v rámci ČR v Jihomoravském kraji (Břeclav), druhý importovaný případ nákazy u občana ČR po návratu z Řecka. K nákaze došlo po poštípání komáry, kteří přenášejí virus západonilské horečky (West Nile Virus, WNV). Do konce listopadu 2018 bylo v Jihomoravském kraji celkem 5 potvrzených případů, včetně jednoho úmrtí, hlášených do ECDC.

V souvislosti s prvním potvrzeným autochtonním (místním) výskytem infekce horečky západního Nilu v oblasti Jihomoravského kraje (Břeclav) bylo, v souladu s §4, bodem 3c) a přílohou č. 3, části B, bodem 2.1. vyhlášky 143/2008 Sb. v platném znění a přílohou č. 15 vyhlášky 473/2008 Sb. v platném znění, rozhodnuto o dočasném rozšíření vyšetřování známek infekce WNV u dárců krve na Transfuzním a tkáňovém oddělení FN Brno.

Rozšířené vyšetřování známek infekce WNV metodou WNV RNA PCR bylo prováděno:

- u dárců plné krve a dárců aferetických odběrů trombocytů TTO FN Brno od 11. 10. 2018 (včetně odběrů od 8. 10. 2018 zpětně) do 20. 11. 2018
- u dárců plné krve HTO Nemocnice Břeclav od 16. 10. 2018 (včetně odběrů od 4.–12. 10. 2018 zpětně) do 30. 11. 2018

Pro detekci WNV RNA byl použit Cobas TaqScreen West Nile Virus Test Roche Diagnostics. Analýza byla prováděna na systému Cobas s 201 firmy Roche.

Celkem bylo vyšetřeno 3 886 vzorků dárců krve TTO FN Brno s výsledkem WNV RNA negativním a 494 vzorků dárců krve HTO Nemocnice Břeclav s výsledkem WNV RNA negativním.

Provoz na laboratoři Infekčních markerů (LIM) vyžadoval zvýšené nároky v oblasti organizace práce. Bylo nutné vzájemně propojit procesy předcházející a navazující na testování dárců krve, zejména s ohledem na časové požadavky jednotlivých úseků procesu výroby transfuzních přípravků.

ZKUŠENOSTI S KOAGULOMETREM ACL TOP 750 CTS VE FN PLZEŇ

*Štruncová P., Matoušková O., Palátová J., Korelusová I.,
Šigutová P., Hajšmanová Z.*

Ústav klinické biochemie a hematologie FN a LF UK Plzeň

Úvod: Analyzátor ACL TOP 750 CTS je optický koagulometr s koagulačními, chromogenními a imunologickými metodami určený pro velké laboratoře. Jeho výhodou je analýza jak otevřených, tak uzavřených zkumavek a možnost automatické detekce interferujících látek v nastavbovém modulu HIL. Preamalytická kontrola HIL měří potenciální interference vyvolané hemolýzou (H), iktericitou (I) a lipémií (L) plazmy nezávisle na sobě u každého vzorku a metody.

Cíl: Cílem bylo porovnat výsledky z analyzátoru ACL TOP 750 CTS firmy Werfen s výsledky ze stávajícího kuličkového analyzátoru STA-R Evolution firmy Stago, vyhodnotit přínos preanalytického modulu HIL a práci s uzavřeným systémem CTS.

Metodika a výsledky: Při porovnání optické a mechanické detekce koagula jsme ve většině případů dosáhli srovnatelných výsledků. Problematické však byly vzorky s výrazně prodlouženými testy APTT a TT, kdy koagulometr ACL TOP 750 CTS nevydal výsledek.

V průběhu října 2018 nevydal ACL TOP 750 CTS 80 výsledků z celkového počtu 6464 měření. Mechanickou detekcí bylo prokázáno u 58 vzorků APTT > 200 s nebo TT > 120 s. Mezi zbývajících 22 výsledky byly hodnoty APTT/TT lehce patologické nebo dokonce fyziologické. Interference způsobená HIL byla naměřena pouze v 6 případech ze zmíněných 80 výsledků.

Hodnotící kritéria HIL jsou předem naprogramována pro každou interferující látku a test na základě validovaných hladin uvedených v příbalových letácích reagentů firmy IL. Hladiny HIL mohou u stejného vzorku překročit prahové hodnoty jednoho testu a zároveň mohou být přijatelné u jiného testu. Ukázalo se, že námi dosud používané vizuální hodnocení zabarvení plazmy nekoreluje s naměřenými údaji HIL v analyzátoru. Obsluha vyhodnotila více problematických vzorků než automatický preanalytický modul integrovaný v analyzátoru ACL TOP 750 CTS.

Závěr: Ve FN Plzeň byl koagulometr ACL TOP 750 CTS instalován v březnu 2018. Po provedení všech verifikačních procesů, vycházejících z doporučení ČHS, byl analyzátor uveden do rutinního provozu v červnu. Na rozdíl od mechanického způsobu detekce, která vydá výsledek u 100 % měření, optickým principem bylo ana-

lyzováno 98,8 % vzorků s číselným výsledkem. Při nevydání číselného výsledku bohužel obsluha nepozná, zda se jedná o vysoce patologický výsledek pacienta či o selhání měřicího systému.

Ovlivnění plazmy HIL se k výsledku dané metody automaticky přenáší do LIS s příslušným komentářem, čímž odpadlo subjektivní hodnocení preanalytické fáze laborantkou a paradoxně se snížil počet skutečně ovlivněných vzorků. Z hlediska rizika přenosu infekce je výhodou testovaného analyzátoru možnost vkládání uzavřených zkumavek, bohužel se tím však prodlužuje doba analýzy.

ZKUŠENOSTI SE SCREENINGOVÝM TESTEM ADAMSTS-13 TECHNOSCREEN

Walterová P., Kocincová I., Zimová D.

Oddělení klinické hematologie, MN v Ústí nad Labem

Využití: diagnostika mikroangiopatické hemolytické anémie jako je **TTP** – trombotická trombocytopenická purpura nebo **HUS** – hemolyticko – uremický syndrom.

Mikroangiopatická hemolytická anémie patří do skupiny hemolytických anémií extrakorpuskulárních, kdy je erytrocyt poškozen mechanicky nebo toxiny a dochází k jeho lýze. U této formy je charakteristická přítomnost deformovaných erytrocytů – schistocytů. Bývá to zpravidla:

- při přítomnosti trombů v mikrocirkulaci – DIC, TTP, HUS
- při implantacích umělých chlopní.
- při nádorové angiopatii

Trombotická trombocytopenická purpura – TTP – jedná se o vzácnější onemocnění ve srovnání s ITP, ale má závažnou prognózu.

Příznaky:

- Horečka
- Hemolytická anémie (mikroangiopatická, schistocyty v krevním nátěru),
- Trombocytopenie s krvácivými projevy,
- Neurologická symptomatologie,
- Postižení ledvin

Hemolyticko – uremický syndrom – HUS – je orgánově omezená forma TTP. Kromě klinických projevů se pro stanovení diagnózy využívá i řada hematologických a biochemických vyšetření. V naší laboratoři provádíme: vyšetření krevního obrazu s parametrem IPF, diferenciál leukocytů, počet schistocytů a aktivita Adamst-13.

IPF jsou nezralé destičkové frakce. Tyto nezralé destičky se nazývají retikulované destičky (retikulotrombocyty). Obsahují zbytky RNA a jsou větší než jejich zralé formy. Nezralé destičky jsou ukazatelem trombopoézy a mají výpovědní hodnotu o funkci kostní dřeně. Tento parametr je stanoven na analyzátoru XN 3000, f. Sysmex.

Parametr IPF je vyjadřován v procentech (%) – udává zastoupení retikulovaných destiček v celkovém počtu destiček. Referenční meze: IPF % ženy/muži: 1,1–6,1 %.

Nejčastěji se používá v diferenciální diagnostice trombocytopenií (snížený počet krevních destiček pod referenční rozmezí). U TTP a HUS bývá hodnota IPF zvýšená.

Schistocyty jsou cirkulující fragmenty červených krvinek, které vznikají mechanickým poškozením v krevním oběhu. Jsou vždy menší, než nepoškozené erytrocyty a chybí jim centrální projasnění.

Kvantitativní mikroskopické hodnocení schistocytů: Krevní nátěr je proveden a obarven na barvicím automatu SP10 nebo po zaschnutí obarvený panoptickým barvením. Výsledek je uváděn jako počet schistocytů na 1000 erytrocytů – např. 25/1000ery.

ADAMTS-13 je enzym, který fyziologicky štěpí nadbytečné multimery vWF. V případě snížení aktivity ADAMTS-13 např. vlivem protilátek může dojít ke vzniku TTP.

Postup: Vyšetřovaná plazma je inkubována s fragmenty vWF. Přítomný ADAMTS-13 štěpí tyto fragmenty. Po přidání protilátky dojde k barevné reakci. Čím je vyšší aktivita ADAMTS-13, tím je reakce barevnější.

Vyjádření výsledků v %.

Počet odečtených jednotek IU/ml odpovídá hodnotě v % (vynásobit x100).

- odečet 0,8 IU/ml = 80 % aktivity ADAMTS13
- odečet 0,4 IU/ml = 40 % aktivity ADAMTS13
- odečet 0,1 IU/ml = 10 % aktivity ADAMTS13
- odečet 0,0 IU/ml = 0 % aktivity ADAMTS13

V případě snížených hodnot je vyšetřovaná plazma zamražena – dvě eppendorfký á 0,5 ml, a poslána ke confirmaci na UHKT.

Kazuistika

První případ: Muž 35 let poslán do hematologické poradny ÚL z plicního oddělení Most, kde byla zjištěna těžká trombocytopenie a anémie. Hemoglobin 89 g/l, trombocyty $13 \times 10^9/l$ a schistocyty 36. Zde mu byly podány 2 erytrocytové koncentráty a vysoké dávky kortikoidů po dobu 4 dnů. Po vyšetření v hematologické poradně v ÚL (hemoglobin 113 g/l, trombocyty $105 \times 10^9/l$, IPF 6,1 %, schistocyty 15) byla určena **suspektní mikroangiopatická anémie**. Na základě této diagnózy, bylo v naší laboratoři provedeno vyšetření ADAMTS – 13. Hodnota ADAMTS -13 byla u pacienta 0 %. Vzorek poslán ke confirmaci do ÚHKT Praha, zde byla určena aktivita ADAMTS – 13 a to 5 %. Na základě laboratorních výsledků byla hematologem potvrzena diagnóza – **získaná forma TTP**.

Druhý případ: Žena 56 let přeložena z Nemocnice Most na JIP ÚL s podezřením na **mikroangiopatickou anémii** (hemoglobin 120 g/l, trombocyty $16 \times 10^9/l$ a schistocyty 126). V naší laboratoři bylo provedeno vyšetření krevního obrazu a ADAMTS – 13. Hemoglobin 107 g/l, trombocyty $9 \times 10^9/l$, IPF 3 %, schistocyty 35

a ADAMTS – 13 **0** %. Vzorek poslán ke confirmaci do ÚHKT Praha, zde byla určena hladina ADAMTS -13 **0** %. Určena diagnóza – **TTP**.

Třetí případ: Žena 32 let přeložena do ÚL z porodnice v Litoměřicích pro podezření na **HELP syndrom**. Po porodu zjištěna trombocytopenie a hemolytická anemie. V naší laboratoři provedeno vyšetření krevního obrazu a ADAMTS – 13. Hemoglobin 88 g/l, trombocyty $10 \times 10^9/l$, IPF 13,7 %, schistocyty 31 a ADAMTS – 13 **40** %. Vzorek byl též poslán ke confirmaci do ÚHKT Praha, kde byla hodnota ADAMTS – 13 **38** %. Výsledek pro **TTP nesvědčí**.

Závěr: Screeningový test ADAMTS-13 Technoscreen, který dodává f. Medista jsme zavedli v naší laboratoři v listopadu 2018. Do ledna 2019 jsme provedli tři vyšetření aktivity ADAMTS – 13 pro podezření na TTP.

Zavedením tohoto screeningového testu jsme přispěli k urychlení určení diagnózy závažné hemolytické anemie v naší nemocnici a tím k včasnému zahájení správného léčebného postupu, který je pro tuto nemoc velmi důležitý.

SROVNÁNÍ VÝSLEDKŮ AKTIVITY ADAMTS13 VYŠETŘENÝCH NOVÝM SCREENINGOVÝM TESTEM A TECHNIKOU ELISA

Dytrychová V., Tučková G., Sadílek P., Fátorová I.

FN Hradec Králové, IV. interní hematologická klinika – laboratoř

ADAMTS13 je enzym, který štěpí multimery von Willebrandova faktoru. Funkční defekty tohoto enzymu, případně přítomnost inhibitoru proti ADAMTS13, vedou k nedostatečnému štěpení vysokomolekulárních multimerů vWF, což vede ke zvýšené aktivitě krevních destiček, především v mikrocirkulaci. Jedná se o hlavní příčinu rozvoje mikroangiopatií – trombotické trombocytopenické purpury (TTP) či hemolyticko-uremického syndromu (HUS).

Laboratorně lze stanovit funkční aktivitu, antigen a protilátku proti ADAMTS13. Nejčastěji se využívají kvantitativní techniky ELISA, se spektrofotometrickou či fluorescenční detekcí. Novinkou na trhu je screeningový semikvantitativní test Technoscreen ADAMTS-13 Activity firmy Technoclone.

V tomto screeningovém testu je inkubována plazma pacienta s fragmenty von Willebrandova faktoru, které jsou štěpeny enzymem ADAMTS13, přítomným ve vyšetřovaném vzorku. Detekce štěpných produktů vWF se provádí pomocí specifické monoklonální protilátky, na základě barevné reakce. Intenzita zbarvení je přímo úměrná množství rozštěpeného substrátu a tedy aktivitě ADAMTS13 ve vyšetřovaném vzorku. Intenzita zbarvení okénka Test na testovací destičce se hodnotí vizuálně a srovnáním s intenzitou zbarvení zón na srovnávací barevné kartě se určí hodnota aktivity ADAMTS13 ve vyšetřovaném vzorku.

Cílem naší studie bylo porovnat výsledky funkční aktivity ADAMTS13 vyšetřené pomocí setu Technoscreen ADAMTS-13 Activity (Technoclone) s výsledky naměřenými běžně používanou technikou ELISA s fluorescenční detekcí (Technozym ADAMTS13, Technoclone). Srovnání bylo provedeno na 10 patientských vzorcích, které byly vybrány tak, aby pokrývaly celý rozsah měření setu, tzn. 0,0–0,8 IU/ml.

Technoscreen ADAMTS-13 Activity je koncipován jako test screeningový. Jeho cílem je zvýšit dostupnost vyšetření aktivity ADAMTS13 i na menších pracovištích. V případě podezření na mikroangiopatii je potřeba reagovat velice rychle. Podle výsledku aktivity ADAMTS13 lze rozhodnout o nutnosti indikace výměnné plazmaferézy. Ovšem ne každá nevysvětlitelná trombocytopenie musí být způsobena mikroangiopatií.

Z našich prvních zkušeností se screeningovým testem vyplývá, že získané výsledky jsou pouze hrubě orientační. Výrobce setu také doporučuje všechny zjištěné

deficity ADAMTS13 konfirmovat kvantitativním testem. Ve FN HK budeme i nadále vyšetřovat aktivitu a antigen ADAMTS13 technikou ELISA, která je přesnější a spolehlivější.

Podpořeno programem PROGRES Q40/08 a MZ ČR – RVO (FNHK, 00179906).

CYTOMORFOLOGIE V DIAGNOSTICE SOLIDNÍCH TUMORŮ

Pumprlová P.¹, Antošová L.¹, Kisořová J.^{1,2}, Bulíková A.^{1,2}, Penka M.^{1,2}

¹Oddělení klinické hematologie FN Brno

²Lékařská fakulta Masarykovy Univerzity Brno

Úvod: Cytologické vyšetření kostní dřeně je jednou z diagnostických metod v hematologii, méně je užíváno v diagnostice solidních tumorů. Na infiltraci kostní dřeně solidním tumorem je nutno pomýšlet při bolestech kostí, patologických frakturách, lytických lézích na RTG, při hyperkalcemii, zvýšené hladině alkalické fosfatázy a při nevysvětlitelných hematologických abnormalitách (cytopenie nebo např. leukoerytoblastický obraz). Záchytnost infiltrace stoupá s počtem provedených náterů aspirátu. Při vyšetření aspirátu je nutné prohlížet okraje nátěru. Nehematopoetické nádorové buňky tvoří v aspirátu shluky a/nebo jsou jednotlivě rozptýlené, často bývají fragilní a nalézáme jejich rozpadající se formy. Relativně často můžeme nalézt osteoblasty a osteoklasty jako známku zvýšeného kostního obratu.

Cíle: poukázat na přínos cytomorfologie kostní dřeně v diagnostice solidních tumorů.

Metody: Autoři prezentují kazuistiky případů postižení kostní dřeně solidními tumory zachycenými náhodně při vyšetření kostní dřeně v rámci diferenciální diagnózy periferní cytopenie.

Výsledky: Souhrn kazuistik: **1.** S.V. 1947 – vyšetřován pro nejasnou pancytopenii a ložisek ve skeletu – karcinom močového měchýře; **2.** P.J. 1939 – chronická myeloidní leukémie v léčbě od roku 2010, pacientka léčena pro karcinom prsu (kompletní remise 2001) – infiltrace kostní dřeně v roce 2012; **3.** V.V. 1949 – pacient s difuzním velkobuněčným lymfomem varlete, současně s infiltrací kostní dřeně při karcinomu močového měchýře; **4.** F.M. 1947 – pancytopenie, podezření na akutní leukemii – infiltrace kostní dřeně při adenokarcinomu prostaty.

Závěr: Cytologické hodnocení kostní dřeně může upozornit na infiltraci nádorovým onemocněním. Nedokáže stanovit diagnózu, ale může být prvním záchytem maligního procesu a může přispět ke zjištění jejího rozsahu.

Literatura:

1. Glassy EF. Color atlas od Hematology. College of American Pathologists, 1998.
2. Kačírková P, Campr V. Hematoonkologický atlas krve a kostní dřeně, Grada 2007.

Podpořeno MZ ČR – RVO (FNBr, 65269705).

POTENCIÁL VYŠETŘOVÁNÍ MIKRO RNA

Romanská V., Kettnerová K., Syrůčková A., Kvasnička T., Kvasnička J.
ÚLBD Trombotické centrum VFN, Praha 2, ČR

Cílem této přednášky je seznámit s potenciálem vyšetřování mikro RNA (miRNA).

MiRNA je krátká, cca 22 nukleotidů dlouhá nekódující jednořetězcová RNA, která má důležité regulační funkce. Má významný posttranskripční vliv na geny kódující proteiny, především na messengerovou RNA (mRNA). Tato mRNA je klíčovou molekulou transkripce a následné translace, tzv. „překlad“ genetické informace z DNA přes mRNA na cílové proteiny. Svou komplementaritou může miRNA způsobovat inhibici translace, a dokonce i samotnou degradaci mRNA. Tato malá molekula miRNA je stabilní v tělních tekutinách a mohla by mít významný potenciál jako diagnostický marker, jelikož se zdá být odolná vůči rychlé degradaci ribonukleázami.

Právě změna produkce miRNA je spojena s mnoha lidskými onemocněními, od akutního infarktu myokardu, srdečního selhání, přes selhání jater, až po různorodé malignity. Proto se současný výzkum zaměřuje na cirkulující miRNA v lidském séru a plasmě. Přesto, že je miRNA regulační molekulou, sama podléhá složitému systému regulace. Mechanismus a poruchy těchto regulací jsou předmětem zkoumání u pato-genetických jevů.

VLIV POLYMORFISMU CYP2C19 NA ÚČINNOST PROTIDESTIČKOVÉ LÉČBY CLOPIDOGRELEM

*Syrůčková A., Sedláková V., Bílková J., Kvasnička T., Kvasnička J.
Trombotické centrum VFN, Praha 2*

Clopidogrel je antitrombotický lék ze skupiny thienopyridinů. Na destičkách ireverzibilně inhibuje receptor pro ADP zvaný P2Y₁₂, a tím brání ADP indukované agregaci destiček. Clopidogrel je proléčivo, proto je nejprve nutná jeho přeměna na aktivní metabolit. K té dochází v játrech zejména pomocí enzymu CYP2C19 (cytochrom P450 2C19).

Ačkoliv je clopidogrel při inhibici agregace destiček poměrně účinný, objevuje se značná variabilita v rozsahu jeho léčebného efektu. Individuální odpověď na clopidogrel může být ovlivněna mnoha faktory, jako např. věkem, komorbiditami nebo lékovou interakcí. Další příčinou může být polymorfismus genu CYP2C19. Pro cytochromy P450 podrodiny 2C je charakteristický významný genetický polymorfismus, který ovlivňuje katalytickou účinnost těchto enzymů. V genu CYP2C19 bylo celkem popsáno již více než 25 alel, ale v populaci jsou nejrozšířenější zejména alely CYP2C19*1, CYP2C19*2 a CYP2C19*3. Nositelé alel *2 a *3 jsou označováni jako „pomalí metabolizátoři“, protože mají sníženou nebo dokonce žádnou aktivitu vzniklého enzymu. Z tohoto důvodu je u nich stejná dávka clopidogrelu méně účinná než u pacientů s wild-type genotypem CYP2C19*1 („rychlí metabolizátoři“).

Do studie byli zařazeni pacienti užívající protidestičkovou léčbu clopidogrelem. Pomocí optické a impedanční agregometrie u nich byla zjištěna účinnost léčby a zároveň byl pomocí real-time PCR vyšetřen polymorfismus CYP2C19. Cílem bylo porovnat, zda výsledky agregometrie korelují se zjištěným genotypem.

Studie byla podpořena RVO-VFN64165.

ŽELEZNOHORKY 2019
XXXI. celostátní pracovní konference laborantů a sester

PROGRAM
SBORNÍK ABSTRAKT

ISBN: 978-80-907047-1-8