proLékaře.cz | 5.11.2026

POSTERY

LP01

OTAZNÍKY OPTICKÉ AGREGOMETRIE (LTA) I – VYŠETŘENÍ PŘI RŮZNÝCH KONCENTRACÍCH INDUKTORŮ, SPS

Bílková J., Kettnerová K., Čechovská E., Kubrichtová D., Kvasnička T., Kvasnička J.
Trombotické centrum ÚLBLD, 1. LF UK a VFN, Praha

Úvod: Výběr vhodné koncentrace induktoru bývá diskutovaným tématem vyšetření optické agregometrie. Jedním ze závěrů konsenzu pracovní skupiny výboru pro fyziologii destiček SSC/ISTH r. 2013 je doporučení použití určitých koncentrací induktorů. Některé laboratoře ale již dlouhodobě ve své praxi vyšetřují agregaci destiček s takovými, pro které mají stanovené normální rozmezí hodnot nebo byly doporučené výrobcem.

Cíl: Zhodnotit agregaci destiček u skupiny zdravých dárců při použití tří koncentrací induktorů (ADP, epinefrin, kolagen, AA, TRAP), základní – báze, ředění 1 : 1 a 1 : 10. Posoudit shodu s koncentracemi doporučovanými výborem. Vytvořit kontrolní skupinu pro vyšetření SPS při použití snížených koncentrací ADP a epinefrinu podle diagnostiky Mammena a Bicka, zhodnotit možná úskalí.

Metody: LTA. Induktory v koncentracích – ADP: 20, 10 a 2 µM (konsenzus), epinefrin: 100, 50 a 10 µM (kons. 5 µM), kolagen: 10, 5 a 1 µg/ml (kons. 2 µg/ml), AA: 500, 250 a 50 µg/ml (kons. 1000 µg/ml), TRAP: 100, 50 a 10 µM (kons.).

Vyhodnocení: Byla hodnocena max. agregace, popř. také AUC (epinefrin), dále případná desagregace a celkový vzhled křivek. V případě ADP se už při koncentraci 10 µM objevují dvě agregační vlny či desagregace křivky, při 5 µM u většiny dárců. U epinefrinu a kolagenu se max. agregace výrazně neliší (do 5 %). U AA se po prvním ředění objevuje prodloužená lag-fáze, u druhého pokles až nulová agregace. Max. agregace TRAP se při prvním ředění nemění, při druhém dochází ke změně tvaru křivky až snížené agregaci. Podle diagnostiky Mammena a Bicka se většina dárců jeví mající suspektní SPS typ II (nedochází ke snížení maximální agregace při vyšetření se sníženými koncentracemi epinefrinu). Dochází ale ke snížení AUC.

Závěr: Pro optickou agregometrii je vhodné vybírat koncentraci induktorů takovým způsobem, aby se max. agregace pohybovala v doporučovaném rozmezí 60–90 %, bez prodloužené lag-fáze a atypického tvaru křivek, s ohledem na doporučení výrobce. Při vyšetřování SPS by bylo vhodnější nastavit normální rozmezí pro epinefrin podle AUC místo hodnocení max. agregace.

Studie byla podpořena RVO-VFN 64165/2018.

LP02

MORFOLOGICKÉ HODNOCENÍ TROMBOCYTŮ JAKO PARAMETER KVALITY – ZAVEDENÍ VHODNÉ MIKROSKOPICKÉ TECHNIKY

Bohoněk M.[1], Šlouf M.[2], Hromádková J.[2], Nevoralová M.[2], Holada K.[3], Landová L.[1]
[1]*Oddělení hematologie a krevní transfuze ÚVN a VFN, Praha*
[2]*Ústav makromolekulární chemie AV ČR*
[3]*Ústav imunologie a mikrobiologie 1. LF UK, Praha*

Cíle: Posuzování kvality trombocytů v průběhu skladování mikroskopickým hodnocením jejich tvaru je v řadě prací hodnoceno pomocí tzv. Kunickiho skóre (Kunicki 1975), resp. modifikovaného Kunickiho skóre (Devine 1999; Labrie 2013). Hodnocení se provádí na > 200 trombocytů a morfologické skóre je definované jako součet procent jednotlivých morfologických typů násobených řadou libovolných faktorů: 4krát disky + 2krát kuličky + 1krát dendrity + 0krát balóny (resp. > 100 trombocytů u modifikovaného skóre s mírně odlišnými morfologickými formami). Protože tento typ hodnocení trombocytů dosud nikdo v ČR neprováděl a přes literární texty jsou s ním i ve světě minimální zkušenosti, provedli jsme analýzu vhodných mikroskopických metod, které by toto hodnocení umožňovaly. Hlavním cílem této práce bylo vytvořit vhodný protokol citlivé mikroskopické techniky, včetně přípravy vzorku, vhodné pro spolehlivé vyhodnocení morfologických změn vyrobených trombocytů.

Metody: Hned zpočátku jsme vyloučili konvenční světelnou imerzní mikroskopii i mikroskopii ve fázovém kontrastu pro jejich absolutně malou rozlišovací schopnost, ačkoli právě tyto dvě jsou v původních pracích popisovány jako použité mikroskopické metody. Na mikroskopickém pracovišti ÚMMCH AV ČR v Praze bylo proto testováno několik pokročilých mikroskopických technik: širokoplošná světelná mikroskopie (LM) v různých režimech, laserová skenovací konfokální mikroskopie (LSM), standardní skenovací elektronová mikroskopie (SEM) a SEM na nízkoenergetickém

proLékaře.cz | 5.11.2026

snímacím elektronovém mikroskopu s vysokým rozlišením (FEGSEM). Pro přípravu a fixaci vzorku, která byla prováděna na OHKT ÚVN Praha, jsme zavedli a upravili fixaci ve formaldehydu podle Whita (White 1967) a postupů dle Swatzkeho a Solomonse (Swatzke, Solomons 1980).

Výsledky: Ze srovnání jednotlivých obrazových materiálů je patrné, že nejvhodnější metodou je FEGSEM.

Závěr: Mikroskopie FEGSEM je z dostupných možností jedinou technikou, která může spolehlivě rozlišit mezi morfologickými typy trombocytů a je tak použitelná nejen pro jejich hodnocení metodou Kunického skóre, ale i ilustraci morfologických změn trombocytů v průběhu skladování.

LP03

PRŮKAZ LUPUS ANTIKOAGULANS NA LÉČBĚ PŘÍMÝMI INHIBITORY FXA A FIIA

Chytrá D., Buliková A., Zavřelová J., Šťastná D.
Oddělení klinické hematologie FN, Brno-Bohunice

Úvod: Průkaz lupus antikoagulans (LA) je nezbytnou součástí diagnostiky antifosfolipidového syndromu, přičemž tento nález je nutné potvrdit opakovaným stanovením v časovém odstupu 12 a více týdnů. Zde se hemokoagulační laboratoř setkává s problémem, že nemocní mají v čase odběru již zavedenou terapii, v dnešní době velmi často přímá orální antikoagulancia (DOAC).

Cíl: Cílem naší práce bylo ověřit možnosti diagnostiky LA za podmínek nastavených v naší laboratoři, kdy všechny stupně průkazu – tedy testy screeningové, korekční i konfirmační mají dle doporučení ISTH nastaven vlastní „cut-off" pozitivního a negativního nálezu. Současně jsme zkoumali, zda je stanovení limitováno hladinou přítomného antitrombotika.

Metodika: K průkazu LA používáme testy screeningové dRVVT (DVVTEST-BioMEDICA) daPTT (PTT-LASTAGO), korekční a konfirmační (DVVCONFIRM-BioMEDICA, SILICA CLOTTING TIME-HemosIL, ACTIN FS-SIEMENS). K vyšetření hladiny rivaroxabanu, apixabanu a dabigatranu byly použity sety: LIQUID Anti Xa (STAGO), HEMOCLOT Thrombin Inhibitors (HYPHEN BioMed).

Výsledky: Soubor zahrnoval 78 pacientů na DOAC (rivaroxaban: n = 35, apixaban: n = 40, dabigatran: n = 13). U 12 těchto pacientů byl LA prokázán (1krát na dabigatranu, 3krát na apixabanu a 8krát na rivaroxabanu), ostatní nálezy byly negativní. U osmi nemocných byl LA stanoven i bez zavedené terapie, ve třech případech byl nález souhlasně pozitivní, v pěti případech souhlasně negativní. Stanovení LA bylo provedeno v rozsahu hladin léků – dabigatran 21–295 µg/l, apixaban 20–235 µg/l, rivaroxaban 23–320 µg/l. Dle hladiny léků byly v individuálním případě ovlivněny nejčastěji testy screeningové, relativně často i testy korekční – lék sám působí jako inhibitor, ale v žádném případě nebyly ovlivněny testy konfirmační, tedy nebyla prokázána fosfolipidová závislost inhibitoru. Správnost nálezu pozitivity LA byla navíc potvrzena vyšetřením nemocného na hematologické ambulanci a doplněním ostatních antifosfolipidových protilátek.

Závěr: O stanovení LA na DOAC se v odborné literatuře vedou rozsáhlé diskuze. Dle našich zkušeností je nejdůležitější správné nastavení celé metodiky s použitím vlastních „cut-off".

LP04

OTAZNÍKY OPTICKÉ AGREGOMETRIE (LTA) II – VLIV PŘÍPRAVY PRP A POČET PLT NA LTA

Kettnerová K., Bílková J., Syrůčková A., Kubrichtová D., Kvasnička T., Kvasnička J.
Trombotické centrum ÚLBLD, 1. LF UK a VFN, Praha

Úvod: Postup přípravy PRP je klíčovým bodem optické agregometrie, který je stále plný úskalí, ačkoliv bylo závěrem konsenzu pracovní skupiny výboru pro fyziologii destiček SSC/ISTH v roce 2013 určeno několik doporučení vedoucích ke snaze o standardizaci LTA. Vliv počtu destiček v PRP na optickou agregometrii je nesporný. Může být ovlivněn jak centrifugací při přípravě PRP, tak následným ředěním PRP na standardizovanou hodnotu různými roztoky. Na kontrolním souboru dárců jsme se rozhodli ověřit všechny tyto možnosti odchylek v přípravě a nakládáním s PRP od doporučeného postupu, abychom lépe porozuměli míře vlivu na analýzu LTA.

Cíl: U kontrolního souboru dárců jsme se rozhodli se zaměřit na podrobnější testování několika bodů přípravy PRP. Jednak na ovlivnění počtu PLT různou silou centrifugace a následného ovlivnění LTA, neboť dle závěrů konsenzu pracovní skupiny výboru pro fyziologii destiček SSC/ISTH v roce 2013 je doporučována centrifugace při 200–250 x g. Pro testování jsme zvolili rozmezí 100–300 x g. Úprava počtu PLT v PRP je často diskutovaným tématem u vyšetřování optické agregometrie, ač dle závěrů konsenzu pracovní skupiny výboru pro fyziologii destiček SSC/ISTH v roce 2013 není

proLékaře.cz | 5.11.2026

doporučována. Některé laboratoře přesto stále používají ředění PRP, neboť jej mají dlouhodobě zavedené ve své praxi. Současně je dle konsenzu očekáván nepřesný výsledek LTA u vzorků s nižším počtem PLT v PRP než 150 × 10^9/l. Rozhodli jsme se proto otestovat tyto 2 doporučení současně a podrobit kontrolní soubor opakovanému měření LTA při různých hodnotách počtu PLT v PRP (80–200 × 10^9/l) ředěné různými druhy roztoků.

Metody: Optická transmisní agregometrie (LTA).

Vyhodnocení a závěr: Podle průběžného hodnocení získaných dat nedochází k výrazným změnám ve výsledcích optické agregometrie u vzorků s nižším počtem PLT v PRP než 150 × 10^9/l, avšak pouze tehdy, kdy k úpravě počtu PLT byla použita PPP. Významnější roli hraje centrifugace při přípravě PRP a druh roztoku, kterým je počet PLT v PRP upravován, pokud k úpravě dochází.

Studie byla podpořena RVO-VFN 64165/2018.

LP05

PRVNÍ ZKUŠENOSTI S HEMATOLOGICKÝM ANALYZÁTOREM ABBOTT ALINITY hq

Klinerová J., Bourková L., Vytisková S., Penka M.
Oddělení klinické hematologie FN, Brno

Úvod: Po uvedení nového hematologického analyzátoru řady Alinity hq na trh firmou Abbott jsme měli možnost na našem pracovišti tento přístroj vyzkoušet. Porovnávali jsme výsledky z analyzátorů Abbott CD Sapphire a Sysmex XE-5000, na kterých vyšetřujeme fyziologické i patologické vzorky, s hodnotami z analyzátoru Abbott Alinity hq. Stanovení parametrů krevního obrazu i s diferenciálním počtem leukocytů patří mezi základní laboratorní vyšetření. Proto je nezbytné, aby výsledky byly v co nejvyšší kvalitě pravdivé, precizní a porovnatelné, a to i v rámci různých přístrojů s rozdílnými principy detekce.

Cíle: Naše studie si kladla za cíl porovnat parametry krevního obrazu na třech typech hematologických analyzátorů, a to jak pro normální, tak i pro patologické vzorky. Dalším cílem bylo uvést analyzátor Abbott Alinity hq do rutinního provozu.

Metoda: Byla provedena porovnatelnost pro klinicky nejvýznamnější parametry krevního obrazu na analyzátorech Abbott CD Sapphire, Sysmex XE-5000 a Abbott Alinity hq. Dále byla provedena validační i verifikační studie pro analyzátor Abbott Alinity hq.

Výsledky: Korelační měření bylo provedeno v následujícím rozmezí hodnot pro jednotlivé parametry krevního obrazu: WBC 0,102–575 × 10^9/l, RBC 2,00–5,65 × 10^{12}/l, HGB 63,8–170 g/l, PLT 5–543 × 10^9/l. Výsledné korelační koeficienty pro WBC, RBC, HGB se pohybovaly v rozmezí 0,9937–0,9988 a pro hodnoty trombocytů měřených různými metodami v rozmezí 0,9578–0,9880. Bylo zjištěno, že hodnota trombocytů měřená na novém analyzátoru Abbott Alinity hq nejlépe korelovala s hodnotami naměřenými imunologickou metodou na analyzátoru Abbott CD Sapphire (pomocí fluorescenčně značené monoklonální protilátky anti-CD61), a to i v extrémních hodnotách.

Závěr: Výsledkem našeho měření porovnatelnosti na třech typech hematologických analyzátorů byla velmi uspokojivá korelace pro všechny hodnocené parametry krevního obrazu. Po provedení všech nezbytných verifikačních procesů požadovaných doporučením ČHS ČLS JEP byl analyzátor Abbott Alinity hq jako první v České republice úspěšně uveden do provozu právě na našem pracovišti.

LP06

ZAVEDENÍ DETEKCE SPECIFICKÝCH PROTILÁTEK PROTI HEPARINOVÝM KOMPLEXŮM POMOCÍ HITAlert KITU

Králová R., Říhová L., Šebelová B., Bezděková R., Suská R., Buliková A., Penka M.
Oddělení klinické hematologie FN, Brno

Úvod: Heparinem indukovaná trombocytopenie (HIT) je závažná, potenciálně fatální nežádoucí reakce při terapii heparinovými preparáty, která vzniká v důsledku tvorby protilátek proti komplexu heparinu (H) a destičkového faktoru 4 (PF4). Frekvence výskytu je udávána široce podle typu použitého H a indikace podání u 0,5–5 % léčených pacientů. Laboratorní diagnostika je zahajována imunologickým průkazem protilátek proti komplexu HPF4. Následně je funkčními testy nutné prokázat jejich schopnost aktivace trombocytů (PLT). Zlatým standardem je zde 14C-serotonin uvolňovací test (SRA), jde však o zdlouhavé a náročné vyšetření. Stále více se začíná k průkazu – pro diagnózu nezbytných – funkčních protilátek proti komplexu H-PF4 využívat průtokové cytometrie. Naše pracoviště tento přístup zavedlo a otestovalo s využitím CE IVD reagencie – HIT*Alert* Kitu.

Metodika: Bylo provedeno sedm testů (s PLT různých zdravých dárců), přičemž 6krát bylo využito HIT

proLékaře.cz | 5.11.2026

negativní sérum (HIT–) a 1krát susp. HIT pozitivní sérum (HIT+), vždy paralelně spolu s kontrolním rozmrazeným sérem pacienta HIT+. Přítomnost patogenních protilátek v séru, aktivujících dárcovské PLT, byla vizualizována prostřednictvím trombocytární exprese AnnexinuV na přístroji FC500 Cytomics (Beckman Coulter).

Výsledky: Metodika stanovení je časově náročnější (2–3 h), nicméně v běžných laboratorních podmínkách funguje. V kitu je nařízeno využít dárcovské PLT krevní skupiny 0+, avšak test fungoval i při využití stejné krevní skupiny, jakou měla pozitivní kontrola (zde A+). PLT dárce, který 24 h před odběrem požil ibuprofen, byly schopny nespecifické aktivace, ale ve vlastním testu selhaly, paracetamol dle očekávání nebyl překážkou, a tedy je potřeba mít k dispozici kvalitní PLT. Exprese AnnexinuV na PLT odpovídala míře aktivace PLT, zatímco paralelně testované navýšení exprese CD62P (mimo kit) nebylo shledáno dostatečně specifickým. Jedinou nevýhodou je neznalost koncentrace a typu některých reagencií kitu, nicméně i po doplnění např. vlastních MoAb (původní spotřebovány) test fungoval.

Závěr: Zavedením HIT*Alert* Kitu jsme získali kvalitní metodu potvrzující přítomnost HIT.

Podpořeno MZ ČR – RVO (FNBr 65269705).

LP07

EVIDENCE POTRANSFUZNÍCH REAKCÍ NA TRANSFUZNÍM ODDĚLENÍ KN LIBEREC V LIS OPENLIMS STAPRO

Kuťková D., Procházková R.
Transfuzní oddělení, Centrum laboratorní medicíny, Krajská nemocnice Liberec a.s.

Cíle: Zjednodušení systému dokumentace potransfuzních reakcí (PR) s maximálním využitím možností LIS OpenLims Stapro (LIS).

Metody: Provedli jsme revizi stávajícího systému vyšetření a dokumentace PR – shledán jako nevyhovující (manuální vyšetření, opakované přepisy údajů, doporučení pro lékaře pouze v písemné formě bez evidence v LIS). Vyšetření PR jsme prováděli na analyzátoru Erytra a vypracovali vlastní postup dokumentace v LIS OpenLims.

Výsledky: V LIS jsme nastavili dvě skupiny metod pro vzorky příjemce před a po transfuzi, zahrnující i pomocné metody pro evidenci množství a vzhledu materiálu. Po vytvoření žádanek v LIS byla laboratorní vyšetření PR prováděna na analyzátoru Erytra, s přenosem výsledků online do LIS. LIS eviduje dva výsledkové listy – k vyšetřením provedeným před a po transfuzi. Závěr a doporučení lékaře jsou součástí výsledkového listu ke vzorku po transfuzi, text je předdefinován. Uvolnění výsledkového listu podléhá lékařské kontrole. Protokol o vyšetření posttransfuzní reakce, který obsahuje všechny potřebné údaje ke konkrétní PR, je tištěn z kumulativního nálezu, zahrnuje výsledkové listy před a po transfuzi, závěr a doporučení pro lékaře. Protokol je odesílán žadateli o vyšetření v tištěné formě, v LIS je elektronicky archivován.

Závěr: Systém dokumentace PR na TO KN Liberec byl zredukován na Protokol o nežádoucí reakci po transfuzi (vyplňuje klinické oddělení) a žádanky v OpenLims umožňující automatické zpracování vzorků, převod laboratorních výsledků on-line a elektronickou archivaci včetně závěru a doporučení lékaře.

LP08

AUTOMATIZACE V LABORATOŘÍCH – PRVNÍ ZKUŠENOSTI S AUTOMATICKÝM KOAGULOMETREM COBAS T511

Malíková I., Kružíková J., Tomanová N., Husáková M.
ULBLD Centrální hematologické laboratoře VFN, Praha

Nároky na akreditaci laboratoří a současnou automatizaci práce vedou laboratoře ke zpřísnění podmínek pro zařazení nového koagulometru do rutinního provozu. Prvním cílem naší studie bylo seznámit se s novým typem analyzátoru, který využívá jiný systém přípravy reagencií, než byl dosud v laboratoři používán. Druhým cílem bylo porovnat základní koagulační testy na novém koagulometru a všech analyzátorech v laboratoři a posoudit vhodnost analyzátoru k zařazení do běžného provozu. Do měření byly zahrnuty vzorky plazmy mužů a žen bez antikoagulační léčby, s antikoagulační léčbou a kontrolní vzorky se známou hladinou analytu. U jednotlivých skupin byla vyšetřena kompletní koagulace, byly posuzovány interference měření, byla měřena preciznost v sérii, mezilehlá preciznost a ev. ovlivnění analýz vkládáním vzorků s různou hladinou analytu.

Metoda: Protrombinový čas vyjádřený v sec a INR, Thromborel S, APTT, Pathromtin SL, trombinový čas, Thromboclotin (5 NIH), Antitrombin, Berichrom AT, Siemens, SRN, Fibrinogen, Fibrinogen Technoclone, Rakousko, D-dimer, MediRox, Švédsko, aktivita anti-Xa, Biophen Heparin, Francie, analyzátory: BCS XP,

proLékaře.cz | 5.11.2026

Sysmex CA 7000, Siemens, SRN. Nový analyzátor: kazetové reagencie cobas t511, Roche, Švýcarsko.

Výsledky: Bylo provedeno 2070 měření s využitím všech detekčních kanálů. Preciznost v sérii – CV (%) se pohyboval v rozmezí 0,28–1,08 pro normální hladiny, 0,19–5,96 pro patologické hladiny. Mezilehlá preciznost – CV (%) se pohyboval v rozmezí 0,87–4,21 pro normální hladiny, 0,66–2,89 pro patologické hladiny. Regresní analýza mezipřístrojového porovnání – R^2 korelační koeficient se pohyboval v rozmezí 0,997–0,883. Naměřená data jsou v souladu s údaji uváděnými výrobcem i s požadavky na IKK a EHK.

Závěr: Nízké hodnoty variačních koeficientů a vysoká hodnota korelačních koeficientů získaných regresní analýzou ukazují na vhodnost zařazení nového analyzátoru do laboratorní praxe. Koagulometr cobas t 511 splňuje požadavky na kvalitní a přesné měření, které bylo porovnatelné s referenčním analyzátorem a které lze z klinického hlediska plně akceptovat.

LP09

INTERLABORATORNÍ A INTRALABORATORNÍ REPRODUKOVATELNOST VYŠETŘENÍ ZASTOUPENÍ GPI DEFICIENTNÍCH BUNĚK

Pešek A., Vojtová P., Balúchová K., Marinov I.
Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

Cíle: V rámci studie porovnání harmonizovaného a standardizovaného postupu pro stanovení zastoupení GPI deficientních buněk ve vzorku byl stanoven cíl porovnat intralaboratorní a interlaboratorní reprodukovatelnost stanovení zastoupení GPI deficientních buněk.

Metoda: Vzorky čerstvé periferní krve se středním, malým a minoritním zastoupením GPI deficientních buněk byly zaslány spolupracujícím laboratořím. Vzorky byly ve všech laboratořích zpracovány v souladu s nejnovějšími ICCS/ESCCA Consensus Guidelines (2018). K porovnání získaných dat byl použit variační koeficient (CV).

Výsledky: Intralaboratorní CV vyšetření vzorku se středním zastoupením GPI deficientních buněk byl pro RBC typu II + III průměrně 1,98 % (rozmezí 0,22–3,70 %), pro RBC typu II 12,07 % (rozmezí 3,54–33,99 %), pro RBC typu III 2,30 % (rozmezí 0,63–5,00 %), pro NEUT 1,56 % (rozmezí 0,31–3,48 %) a pro MONO 3,21 % (rozmezí 0,58–5,78 %). Interlaboratorní CV vyšetření vzorku se středním zastoupením GPI deficientních buněk byl pro RBC typu II + III 19,57 %, pro RBC typu II 26,93 %, pro RBC typu III 20,43 %, pro NEUT 4,37 % a pro MONO 4,81 %. Pro malé a minoritní zastoupení GPI deficientních buněk ve vzorku byly získány podobné hodnoty u všech typů GPI deficientních RBC, se snižujícím se zastoupením GPI deficientních buněk ve vzorku stoupá intralaboratorní i interlaboratorní CV vyšetření u WBC NEUT i WBC MONO.

Závěr: Výsledky studie prokázaly stálost výsledků při měření GPI deficientních klonů v rámci jednotlivých laboratoří (průměrné CV < 10 %). Interlaboratorní CV pro vzorky se středním a malým zastoupením GPI deficientních buněk je v přijatelných mezích (< 20 % pro RBC a < 10 % pro WBC), výsledky u vzorku s minoritním zastoupením GPI deficientních buněk poukázaly na zvýšení variačních koeficientů. Žádná ze spolupracujících laboratoří neměla problém s detekcí GPI deficientních buněk.

LP10

STANOVENÍ FYZIOLOGICKÝCH MEZÍ PARAMETRU IPF NA ANALYZÁTORECH SYSMEX XN-10 A XE-5000

Pešková E., Fátorová I., Hrnčířová K.
IV. interní hematologická klinika – laboratoř FN, Hradec Králové

Úvod: Pomocí parametru IPF (nezralá destičková frakce) stanovujeme množství mladých trombocytů. Dostáváme tak informaci o aktivitě trombopoézy v kostní dřeni. Ke stanovení parametru IPF jsme řadu let používali analyzátor XE-5000. Jako fyziologické meze jsme uváděli hodnoty doporučené firmou Sysmex. Po instalaci dvou linek XN-3000 jsme začali využívat trombocytární kanál PLT-F. Zjistili jsme, že hodnoty IPF vydané analyzátorem XN-10 jsou téměř dvojnásobné ve srovnání s hodnotami IPF z analyzátoru XE-5000. Protože neexistovaly žádné doporučené hodnoty fyziologických mezí pro parametr IPF měřený na analyzátorech XN, rozhodli jsme se stanovit fyziologické meze na souboru zdravých dárců z Transfuzního oddělení FN Hradec Králové.

Soubor: Vyšetřovaný soubor tvořilo 57 dárců: 28 mužů ve věku od 24 let do 67 let a 29 žen ve věku od 22 do 59 let.

Principy měření: Analyzátory XN-10 pro stanovení PLT (včetně IPF) fluorescenční metodou kombinují hydrodynamickou fokusaci s průtokovou fluorescenční cytometrií. Při analýze v PLT-F modulu se fluorescenční značka specificky naváže na struktury obsahující nukleové kyseliny, trombocyty jsou poté hodnoceny na základě objemu a intenzity fluorescence. Jako IPF jsou

proLékaře.cz | 5.11.2026

označeny velké trombocyty s vysokou fluorescencí. Na analyzátoru XE-5000 probíhá stanovení IPF v tzv. RET detekčním kanálu, opět je zde kombinována hydrodynamická fokusace s průtokovou fluorescenční cytometrií. Po perforaci buněčné membrány dochází k obarvení buněčných struktur obsahujících nukleovou kyselinu. Buněčné populace jsou odseparovány na základě objemu a intenzity fluorescence.

Výsledky: Na analyzátoru XN-10 byly stanoveny fyziologické meze pro relativní počet IPF v rozmezí 0,5–11 %, pro absolutní počet IPF 2,1–24 × 10^9/l. Na analyzátoru XE-5000 bylo pro relativní počet IPF stanoveno rozmezí normální hodnot 0,1–6,5 %, pro absolutní počet IPF 1,1–13,6 × 10^9/l. Naměřené hodnoty IPF se mezi pohlavími významně nelišily.

Závěr: Výsledky měření hodnot IPF na obou typech analyzátorů fy Sysmex jasně ukázaly, že je nutné pro každý typ analyzátoru stanovit specifické fyziologické meze.

LP11

ZKUŠENOSTI S TESTOVÁNÍM NOVÉ REAGENCIE STA NeoPTimal PRO STANOVENÍ PROTROMBINOVÉHO TESTU

Prudková M., Zavřelová J., Chytrá D., Šťastná D., Penka M.

Oddělení klinické hematologie FN, Brno

Úvod: Protrombinový test (PT) je základní koagulační test monitorující zevní koagulační systém (faktory VII, X, V, II a fibrinogen). Je vyšetřován při podezření na defekt zmíněných faktorů a jako základní koagulační test je součástí předoperačního vyšetření. Důležitou roli sehrává i v monitorování antikoagulační terapie kumariny. K provedení testu se používá Ca^{2+}- tromboplastin obsahující tkáňový faktor, který by měl disponovat dostatečnou citlivostí k záchytu defektů faktorů a ke kumarinům. Na OKH FN Brno jsme se rozhodli otestovat novou reagencii STA NeoPTimal (Diagnostica Stago) obsahující tromboplastin z králičích mozků s ISI blížící se 1,0, která je určena pro vyšetření PT a aktivity faktorů zevní cesty.

Cíl: Ověřit, zda STA NeoPTimal splní naše požadavky pro rutinní používání.

Metoda: STA NeoPTimal jsme nejdříve podrobili vnitřní kontrole kvality, provedli jsme mezilehlou preciznost a preciznost měření v sérii pomocí kontrol STA Coag Control N + P (Diagnostica Stago). Následně jsme reagencii testovali na souborech pacientů s/bez kumarinů a při vyšetřování aktivity faktorů zevní cesty. Získané výsledky jsme srovnávali s výsledky naměřenými se současně používanou reagencií STA Neoplastine Cl Plus (Diagnostica Stago).

Výsledky: Mezilehlá preciznost pro Control N s CV 2,20 % a pro Control P s CV 2,61 % splnila požadavek CV < 5 %. Preciznost měření v sérii (10 měření) splnila rovněž naše kritéria, CV (N) < 1,5 % a CV (P) < 2 %. Z korelační analýzy výsledků STA NeoPTimalu a STA Neoplastinu vyplynulo, že výsledky INR a R dosahují hodnot spolehlivosti R^2 = 0,96 u pacientů s kumariny a R^2 = 0,97 u pacientů bez kumarinů. Při porovnání výsledků PT a aktivity faktorů bylo zjištěno, že při použití STA NeoPTimalu dochází k většímu prodloužení koagulačního času v případě patologie.

Závěr: Testováním jsme ověřili, že tuto reagencii můžeme zařadit do rutinního provozu a že dosahuje dokonce lepší citlivosti v záchytu defektů faktorů než STA Neoplastine Cl Plus.

LP12

KLOUZAVÝ PRŮMĚR JAKO ÚČINNÝ NÁSTROJ VNITŘNÍ KONTROLY KVALITY HEMATOLOGICKÝCH ANALYZÁTORŮ

Pulcer M.[1], Kolářová S.[1], Černý M.[2]

[1]*Oddělení klinické hematologie, Ústav laboratorní diagnostiky FN, Ostrava*

[2]*Hematologicko-transfuzní oddělení, Nemocnice Nové Město na Moravě*

Cíle: Vnitřní kontrola kvality (VKK) je jeden ze základních nástrojů klinických laboratoří k zajištění spolehlivosti prováděných vyšetření. Součástí VKK na hematologických analyzátorech je měření referenčního materiálu s deklarovanou hodnotou, dále opakovatelnost měření v sérii, mezipřístrojová kontrola a X-B/X-M analýza (tzv. klouzavý průměr). Cílem sdělení je ukázat možnosti, využití a nastavení X-B/X-M analýzy jako důležitého nástroje VKK hematologických analyzátorů.

Metody: Hematologické analyzátory automaticky vypočítávají klouzavý průměr ze souboru obvykle 20 po sobě měřených pacientských vzorků. X-B analýza je metoda VKK, která používá vážený klouzavý průměr parametrů MCV, MCH, MCHC a porovnává je se známými cílovými hodnotami. X-M analýza je taktéž metoda VKK, která ale používá exponenciální klouzavý průměr parametrů CBC, DIFF, NRBC, RET a porovnává je se známými cílovými hodnotami. Výsledky se zaznamenávají číselně nebo do Levey-Jennings grafů.

proLékaře.cz | 5.11.2026

Vyhodnocení probíhá podle Westgardových pravidel a do analýzy musí být zahrnuty všechny změřené vzorky. Na našich pracovištích jsme sledovali a porovnávali možnosti X-B/X-M analýzy na analyzátorech DxH 800 fy Beckman Coulter, XN-9000 fy Sysmex a Cell-Dyn Sapphire fy Abbott.

Výsledky: Všechny uvedené hematologické analyzátory umožňují využívat systém X-B/X-M analýzy v rámci VKK. Cílové hodnoty a rozmezí pro jednotlivé parametry si však musí nastavit každá laboratoř individuálně dle spektra svých vyšetřovaných vzorků.

Závěr: X-B/X-M analýza umožňuje kontinuální automatickou kontrolu s rychlou odezvou odhalení analytické chyby. Patří neprávem mezi opomíjené nástroje systému VKK.

LP13

NORMÁLNÍ ROZMEZÍ NADSTAVBOVÝCH A VÝZKUMNÝCH PARAMETRŮ MĚŘENÝCH NA KREVNÍM ANALYZÁTORU SYSMEX

Řádek M.[1], Vášová V.[1], Karban J.[1], Kuncířová J.[1], Kvasnička J.[2], Špaček M.[1]

[1]Centrální hematologické laboratoře ÚLBLD, 1. LF UK a VFN, Praha
[2]Trombotické centrum ÚLBLD, 1. LF UK a VFN, Praha

Cíle: Nadstavbové parametry krevního obrazu, jak klinické, tak i výzkumné, mohou přispět ke zpřesnění diagnostiky hematologických onemocnění. Parametr kvantifikující nezralé granulocyty (IG) může pomoci v odhalení časných infekcí novorozenců či bakteriálních sepsí u dospělých. Výzkumný parametr charakterizující granularitu neutrofilů (NEUT-SSC) může při nízkých hodnotách indikovat dysplazii neutrofilů při myelodysplastickém syndromu (MDS). Výzkumný parametr hodnotící výskyt lymfocytů s vysokou intenzitou fluorescence (HFLC) podává informaci o přítomnosti například plazmatických buněk. Frakce nezralých trombocytů (IPF) je ukazatelem trombopoézy a vysoké hodnoty bývají zejména u imunitní trombocytopenie (ITP), naopak nízké hodnoty svědčí pro útlum kostní dřeně. Obsah hemoglobinu v retikulocytech (Ret-He) informuje o aktuální biologické dostupnosti železa, napomáhá diagnostice a monitorování anemie z nedostatku železa. Pro plné uplatnění těchto parametrů v diagnostice hematologických onemocnění je nezbytná znalost jejich normálních hodnot, jejichž stanovení a komplexní statistické zpracování bylo cílem této práce.

Metody: Nesrážlivá (K3EDTA) periferní krev zdravých dárců byla změřena na krevním analyzátoru Sysmex XN 3000 v plném profilu metod, včetně nadstavbových a výzkumných parametrů, např. IG (nezralé granulocyty), Ret-He (hemoglobin v retikulocytech), IPF (frakce nezralých trombocytů), HFLC (vysoce fluorescenční lymfocyty), NEUT-SSC (granularita neutrofilů), NEUT-SFL (fluorescence neutrofilů). Statistická analýza byla provedena pomocí programu Statistica 12 (StatSoft CR s.r.o).

Výsledky: Stanovení referenčních hodnot nadstavbových a výzkumných parametrů bylo provedeno na souboru 201 zdravých dárců plné krve, 101 žen a 100 mužů (medián věku 39 let, rozmezí věku 27–66 let). Prezentováno bude komplexní statistické zpracování nových metod.

Závěr: Na souboru zdravých dárců krve jsme stanovili referenční rozmezí nadstavbových a výzkumných parametrů analyzátoru Sysmex, což umožní efektivnější využití těchto parametrů v diagnostice hematologických onemocnění.

Studie byla podpořena výzkumným záměrem RVO VFN64165.

LP14

K HETEROCHROMATINU V MYELOBLASTECH NEMOCNÝCH S CML A AML – MIKROSKOPICKÁ DENZITOMETRICKÁ STUDIE

Smetana K., Mikulenková D., Klamová H.

Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

Úvod: Heterochromatin je expresí lokalizace „mlčících genů“. Jeho morfologie je důležitým markrem pro identifikaci buněk včetně jejich diferenciace a maturace. Vysoká kondenzace heterochromatinu zabraňuje přístupu nezbytných faktorů k DNA pro genový přenos. Rozvolnění chromatinových vláken na periferii heterochromatinu je předpokladem pro genovou aktivaci. Myeloblasty chronické fáze chronické myeloidní leukemie (CML) mají zachovaný diferenciační potenciál, zatímco u myeloblastů akutní myeloblastické leukemie s vyzráváním (AML) jejich diferenciace je alterována.

Metoda: Vzhledem k rozdílu těchto biologických vlastností byla sledována kondenzace heterochromatinu (KoHCh) v myeloblastech u osmi nemocných s CML (> 300 denzitometrických měření) a šesti nemocných s AML (> 200 měření). Roztěry kostní dřeně byly barveny panoptickou metodou a „kyselou methylenovou modří“ po hydrolýze buněk pro detekci DNA. Obě metody umožnily mikroskopické měření KoHCh na digitalizo-

proLékaře.cz | 5.11.2026

vaných obrazech počítačovou technikou po konverzi barevného obrazu na šedý.

Výsledky a závěry: Denzitometrická měření ukázala stabilitu KoHCh v leukemických myeloblastech, lišila se však v různých oblastech buněčného jádra. V myeloblastech CML s diferenciačním potenciálem je KoHCh vyšší v centrálních oblastech jádra než na jeho periferií. Během další diferenciace KoHCh na periferii jádra se zvyšuje a ve zralých granulocytech dosahuje podobné hodnoty jako v jeho centrálních oblastech. Naproti tomu u většiny myeloblastů AML s alterací další diferenciace KoHCh v centrální a periferní části jádra je prakticky shodná. Je podobná jako u diferencovaných a zralých granulocytů. Takové myeloblasty jsou ve stavu předčasné maturace bez předchozí diferenciace. Zajímavou okolností je, že některé myeloblasty AML mají podobný stav KoHCh jako myeloblasty CML s diferenciačním potenciálem. Je proto otázkou, zda takové myeloblasty nepředstavují progenitory s diferenciační kapacitou, ze kterých se „rekrutují" zralé granulocyty v periferní krvi nemocných s touto AML. Zvyšující se KoHCh na periferii jádra diferencujících se myeloblastů u CML by také mohla svědčit o možnosti lokalizace a postupné inaktivace genů účastnících se diferenciace v této oblasti.

LP15

LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA NOAC – TEORIE A PRAXE VE FN PLZEŇ

Šigutová P., Korelusová I., Bultasová L., Palátová J., Hajšmanová Z.
Ústav klinické biochemie a hematologie LF UK a FN, Plzeň

Cíl: Práce předkládá vlastní šestileté zkušenosti s monitorací léčby nových orálních antitrombotik (NOAC) a hodnotí situace, za kterých je třeba léčbu kontrolovat (invazivní neodkladné výkony, krvácení, možnost předávkování, podání antidota, případně léčba při porušených ledvinných funkcích).

Metody: V hematologické laboratoři ÚKBH FN Plzeň se od března 2012 stanovuje účinnost léčby přímým inhibitorem trombinu dabigatranem pomocí dilutovaného trombinového testu (dTT). Stanovením aktivity anti-Xa vyjádřené koncentrací příslušného léku je určována účinnost léčby přímými inhibitory FXa – v případě rivaroxabanu od dubna 2013 a apixabanu od května 2015. Připravuje se vyšetřování účinnosti edoxabanu, i když na toto stanovení vzhledem k menšímu rozšíření podávání léku v populaci zatím nebyl klinický požadavek.

Výsledky: V práci se autorky zamýšlejí nad indikacemi jednotlivých laboratorních testů k posouzení léčby NOAC, posuzují dobu odezvy (TAT) od požadavku k vydání výsledku a zabývají se klinickou interpretací laboratorních hodnot. Hodnotí i účast hematologa konziliáře na indikaci a interpretaci laboratorního vyšetření včetně upozornění na výskyt nežádoucích účinků při užívání NOAC.

Závěr: Nezbytnou součástí práce laboratorního týmu je neustálý kontakt s klinickými pracovníky (lékaři a sestrami) v preanalytické i postanalytické fázi laboratorní diagnostiky léčby NOAC.

LP16

NAŠE SKÚSENOSTI S VYUŽITÍM PREANALYTICKEJ KONTROLY VZORKY POMOCOU KOAGULOMETRA

Škorňová I.[1], Agricolová Ľ.[1], Bernátová J.[2], Staško J.[1], Kubisz P.[1]
[1]*Národné centrum hemostázy a trombózy, Klinika hematológie a transfuziológie JLF UK a UNM, Martin, SR*
[2]*Beckman Coulter, SR*

Úvod: ACL TOP 550 je plne automatizovaný koagulačný analyzátor s možnosťou preanalytickej kontroly pacientskej vzorky. Preanalytická kontrola integrity pacientskej vzorky na koagulometri je automatizovanou štandardizovanou kontrolou a nemení analytický proces testovania vzoriek. Koagulačný analyzátor hodnotí správne plnenie skúmaviek, prítomnosť interferujúcich látok v plazme (hemoglobinémia, ikterita, lipémia – HIL) a prítomnosť zrazeniny.

Ciel: 1. Porovnanie štandardizovanej preanalytickej kontroly pomocou koagulometra s vizuálnou kontrolou na počet prijatých a odmietnutých vzoriek. 2. Určenie časovej úspory pri použití preanalytickej kontroly vzorky pomocou koagulometra.

Metóda: Centrifugované vzorky krvi odobraté do 3,2 % citrónanu sodného sme vizuálne kontrolovali a následne sme vzorky analyzovali na koagulometri ACL TOP 550. Automatizovaná kontrola integrity vzorky na ACL TOP 550 zahŕňala: kontrolu plnenia skúmaviek pri prvej aspirácii vzorky, detekciu prítomnosti zrazeniny na základe abnormálneho tlaku počas aspirácie, tzv. kontrolu HIL. Limity pre HIL sú špecifické pre daný test/analyt a validované výrobcom prístroja a používaných diagnostík (Instrumentation Laboratory). Abnormality integrity vzorky boli zaznamenané pre nasledujúce parametre: prítomnosť zrazenín, nedostatočný objem

proLékaře.cz | 5.11.2026

vzorky, hemolytická vzorka, ikterická vzorka a chylózna vzorka. Vzorky potom boli klasifikované ako „zamietnutá“ vzhľadom na preanalytické problémy, alebo ako „prijatá“. Vo všetkých vzorkách vhodných na ďalšie testovanie boli vykonané nasledujúce testy – PT, APTT, TT, Fibrinogén a DD. *Porovnanie:* Prístroj ACL TOP 550 identifikoval a príznakom označil vzorky, ktoré neprešli preanalytickou kontrolou. Takto získané dáta boli porovnané s dátami, ktoré sme získali vizuálnou kontrolou vzorky. Následne sa vyhodnotili počty nesprávne odmietnutých a nesprávne prijatých vzoriek.

Záver: Preanalytická kontrola vzorky pomocou koagulometra je automatizovanou štandardizovanou kontrolou, pričom výrazne šetrí čas, má pozitívny vplyv na kvalitu laboratórnej diagnostiky, minimalizuje vykazovanie chybných výsledkov, zabezpečuje splnenie kritérií správnej laboratórnej praxe a aj znižuje náklady oddelenia.

Práca bola podporená projektami APVV 16-0020, Vega1/0168/16, Vega1/0187/17 a Centra excelentnosti pre perinatologický výskum (CEPV II, ITMS26220120036) a Centra excelentnosti pre výskum v personalizovanej terapii (CEVYPET).

LP17

STANDARDIZACE VYŠETŘENÍ AGREGACE TROMBOCYTŮ

Štěpařová A., Chytrá D., Zavřelová J., Smejkal P., Penka M.
Oddělení klinické hematologie FN, Brno

Úvod: Hlavní překážkou metody vyšetření indukované agregace (LTA) je obtížná standardizace. Jedním z doporučení standardizačního výboru ISTH je ředění plazmy bohaté na destičky (PRP) až v případě, že počet trombocytů (PLT) přesáhne 600 × 10^9/l. Vzhledem k odlišné citlivosti různých typů agregometrů je dále doporučováno, aby každá laboratoř měla individuálně stanovena normální rozmezí.

Cíle: 1. Stanovení referenčních rozmezí pro vyšetření LTA po 9 induktorech různých koncentrací: kolagen, adenosin difosfát (ADP), epinefrin, ristocetin, kyselina arachidonová a trombin. 2. Vyhodnocení vlivu úpravy počtu PLT v PRP pomocí PPP na vyšetření LTA po 9 induktorech.

Metody: 1. vyšetření LTA (ženy: n = 23, muži: n = 26) po zmíněných induktorech. Vzorky citrátové plazmy pocházely od „zdravých” dobrovolných dárců krve z TTO FN Brno. 2. vyšetření LTA (ženy: n = 18, muži: n = 12) po zmíněných induktorech v PRP s upraveným a neupraveným počtem PLT. Vzorky plazmy pocházely od pacientů s diagnózou myeloproliferativního onemocnění z OKH FN Brno. K testování LTA v PRP byl použit Agregometr APACT 4004, který pracuje na principu optické analýzy.

Výsledky: 1. Pro stanovení referenčních rozmezí byl vzhledem k nerovnoměrnému rozložení souboru zvolen výsledek 97,5. percentilu bez rozdělení na pohlaví. V testovaném souboru byly zjištěny výsledky: kolagen 2: maximální amplituda (ma; %) = 74–87; kolagen5: ma = 74–89; ADP5: ma = 57–86; ADP10: ma = 66–91; ristocetin1,5: ma = 77–97; ristocetin 0,5: ma = 0–5; epinefrin: ma = 60–85; ARA: ma = 73–90; trombin: ma = 76–92. 2. Výsledky měření byly statisticky vyhodnoceny pomocí Wilcoxonova neparametrického párového testu. Nebyl prokázán žádný statisticky významný rozdíl mezi výsledky LTA v plazmě s upraveným a neupraveným počtem PLT pro všechny testované induktory kromě ristocetinu.

Závěr: 1. Výsledná rozmezí jsou vyšší než dosud používané hodnoty na našem oddělení a hodnoty uváděné v některých literaturách. V klinické praxi to může znamenat zvýšení falešně patologických výsledků vyšetření. 2. Z vyhodnocených dat vyplývá, že úprava počtu PLT v PRP nemá vliv na výsledky vyšetření LTA a neposkytuje žádnou výhodu.

Podpořeno grantem MZ ČR – RVO (FNBr 65269705).

LP18

DETEKCE PŘESTAVEB GENŮ PRO IMUNOGLOBULINY (IG) A T-BUNĚČNÉ RECEPTORY (TR) U AKUTNÍ LYMFOBLASTICKÉ LEUKEMIE (ALL) POMOCÍ SEKVENOVÁNÍ NOVÉ GENERACE USNADŇUJE SLEDOVÁNÍ MINIMÁLNÍ REZIDUÁLNÍ NEMOCI (MRN)

Švenkrtová A.[1], Svatoň M.[1], Kotrová M.[1,2], Rezková Řezníčková L.[1], Streitová E.[1], Valová T.[1], Bedřichová V.[1], Grecová V.[1], Honsová D.[1], Starý J.[1], Trka J.[1], Froňková E.[1]
[1]*CLIP, Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a FN Motol, Praha*
[2]*Department of Hematology, University Hospital Schleswig-Holstein, Kiel, Německo*

Cíle: Sekvenování nové generace (NGS) umožnilo velký posun v možnostech detekce přestaveb genů pro Ig/TR, jak v oblasti klonality a detekce MRN, tak pro studium

proLékaře.cz | 5.11.2026

fyziologického antigenního repertoáru. V rámci mezinárodní skupiny EuroClonality-NGS vyvíjíme sady primerů a metodický postup pro rychlou a přesnou detekci těchto přestaveb (Brüggemann, rukopis v přípravě).

Metody: Sekvenační knihovny byly vytvořeny s použitím dvoukolové PCR zahrnující osm multiplexních systémů (kompletní a nekompletní IGH, TRD a TRB, kompletní TRG a IGK). Sekvenace byla provedena s minimálním pokrytím 10 000 reads na knihovnu na přístrojích Ion Torrent (ThermoFisher) a Miseq (Illumina). Výsledky byly vyhodnoceny pomocí nástrojů Vidjil (Duez, Plos One 2016) a ARResT/Interrogate (Bystry, Bioinformatics 2017).

Výsledky: V pilotní fázi jsme porovnali přestavby Ig/TR nalezené pomocí Sangerovské sekvenace s výsledky NGS u deseti pacientů s ALL na dvou různých přístrojích. Celkem jsme nalezli 68 klonálních cílů, z toho 35 oběma metodami, 30 pouze pomocí NGS a tři pouze pomocí Sangerovské sekvenace. Výsledky získané na přístrojích Ion Torrent a MiSeq byly téměř totožné. Na základě pilotních dat jsme od června 2017 začali používat NGS ve screeningu přestaveb Ig/TR u dětských a dospělých pacientů s ALL. U 142 vyšetřených pacientů jsme nalezli v průměru 5,5 klonálních přestaveb na pacienta. Na základě jejich sekvencí jsme zavedli cíle pro sledování MRN pomocí qPCR. Pouze u dvou (1,4 %) pacientů nebylo možné zavést cíl pro sledování MRN, u osmi (6 %) pacientů jsme našli pouze jeden cíl a u 132 pacientů (93 %) jsme zavedli dva cíle s minimální citlivostí 10-4.

Závěr: NGS v detekci klonality zvýšilo procento pacientů, u kterých je možné sledovat MRN pomocí qPCR. Narostlo především zastoupení pacientů se dvěma nezávislými Ig/TR cíli, které slouží jako prevence falešné negativity vyšetření. Měření MRN pomocí NGS v současnosti testujeme ve 22 centrech skupiny EuroMRD v rámci kontroly kvality organizované naší laboratoří.

Podpořeno granty AZV 16-32568A, PRIMUS/17/MED/11.

LP19

MOŽNOSTI LABORATÓRNEJ DIAGNOSTIKY HEPARÍNOM INDUKOVANEJ TROMBOCYTOPÉNIE

Vážanová A., Škorňová I., Staško J.
Národné centrum hemostázy a trombózy, Klinika hematológie a transfuziológie JLF UK a UNM, Martin, SR

Cieľ: Cieľom tohto príspevku je uviesť prehľad súčasných laboratórnych metód používaných pri potvrdení diagnózy HIT a poukázať na dôležitosť jednotlivých krokov počas diagnostiky.

Úvod: Heparínom indukovaná trombocytopénia (HIT) je imunologická komplikácia, ktorá môže nastať u pacientov liečených nefrakcionovaným, ale aj nízkomolekulárnym heparínom. Tento stav vzniká po tom, ako sa vytvoria IgG protilátky voči cirkulujúcemu komplexu PF4-heparín. Celý imuno-komplex IgG-PF4-heparín sa následne viaže na Fc receptor na povrchu trombocytov, uvoľní sa PF4 z α-granúl, čím sa spúšťa aktivácia trombocytov a tvorba protrombotických trombocytárnych mikropartikúl. Trombocyty pokryté týmito imunokomplexami sú následne z obehu odstránené retikuloendoteliálnym systémom, čo vedie k spomínanej trombocytopénii. V súčasnosti existuje dobré povedomie o tomto syndróme, čo však ostáva výzvou, je správny postup pri diagnostike, riziko „nad-diagnostikovaných" pacientov a vhodný postup pri liečbe. Laboratórna diagnostika stavia na zodpovedne určenom 4T-skóre a následne využíva rýchle, tzv. imunologické stanovenie HIT detekciou prítomnosti IgG protilátok. Špecificita týchto testov je relatívne nízka, a to 30–70 %, preto je finálnu diagnózu potrebné vysloviť v kontexte celkového klinického stavu pacienta až na základe pozitívneho, tzv. funkčného testu, ktorého špecificita je 90–100%.

Výsledky: Medzi imunologické testy patria: ELISA test, imunoesej s gélovými časticami (PaGIA), laterálna prietoková esej (STiC), automatická esej s latexovými časticami (HemosIL HIT Ab), automatická esej založená na chemiluminiscencii (HemosIL AcuStar HIT-IgG). Medzi funkčné testy patria: serotonín-uvoľňujúca esej (SRA), test heparínom indukovanej agregácie trombocytov (HIPA), optická agregometria, agregometria z plnej krvi, prietoková cytometria.

Záver: V našom laboratóriu využívame na diagnostiku HIT imunologický test PaGIA a pri jeho pozitívnom výsledku vzorku, ďalej testujeme funkčným testom na prietokovom cytometri pomocou HITAlert kitu.

Práca bola podporená projektom APVV 16-0020 a Vega 1/0168/16.

proLékaře.cz | 5.11.2026

LP20

PROCESEQ 16S – GRAFICKÁ APLIKACE PRO ANALÝZU 16S RIBOZOMÁLNÍ RNA POMOCÍ DADA2

Vrbacký F.[1], Bolehovská R.[2], Hrochová K.[2], Žák P.[1]
[1]*IV. interní hematologická klinika LF UK a FN, Hradec Králové*
[2]*Ústav klinické biochemie a diagnostiky LF UK a FN, Hradec Králové*

Mikrobiom, soubor veškerých mikroorganismů obývajících určité prostředí, je nedílnou součástí každého lidského organismu a jeho složení má velmi významný vliv na děje, které se v lidském těle odehrávají. Analýza složení mikrobiomu byla s ohledem na jeho komplexitu velmi komplikovaná. Až rozmach masivně paralelního sekvenování znamenal významný pokrok v možnostech studia jeho složení. Pro získání správných výsledků je však nezbytná kvalitní bioinformatická analýza sekvenačních dat, pro kterou lze využít komerční i zdarma dostupné nástroje, jejichž paleta se v posledních letech významně rozrostla. Základní problém, se kterým se tyto aplikace potýkají, je odstranění chyb vzniklých při amplifikaci a následné sekvenaci. Metody založené na tvorbě tzv. operačních taxonomických jednotek sjednocujících sekvence s vysokou homologií neumožňují dostatečné odlišení organismů s vysokou mírou sekvenční podobnosti (např. rozlišení na úroveň druhu). V naší laboratoři jsme proto zvolili metodu, která opravuje chyby odhalené v jednotlivých sekvencích na základě jejich statistické předpovědi a umožňuje tak odlišení i mnohem drobnějších změn. Jedná se o zdarma dostupný otevřený software DADA2, který funguje jako knihovna pro prostředí R. Ne zcela spolehlivé automatické přiřazování taxonomie z jednoho zdroje jsme nahradili časově náročnější, ale přesnější metodou, umožňující syntézu výsledků z více zdrojů. Implementace DADA2 pochopitelně vyžaduje dostatečnou znalost práce v prostředí R. Pro běžné použití jsme v naší laboratoři tento problém odstranili vytvořením aplikace s grafickým rozhraním Proceseq 16S, která umožňuje velmi jednoduché provedení kontroly kvality a následné analýzy sekvenačních dat včetně nastavení důležitých parametrů, které zvládne i personál se základní znalostí práce s osobním počítačem. Všechny kroky jsou zároveň uloženy ve formě textových souborů a v případě problémů je tak možné analýzu zopakovat, popř. optimalizovat. Program lze ovládat i z příkazového řádku, popř. lze jeho jednotlivé části zapojit do jiných projektů pomocí jednoduchého rozhraní pro programování aplikací (API).

Podpořeno programem Progres-Q40/08 a MZ ČR – RVO (FNHK 00179906).

LP21

BIOINFORMATICKÁ ANALÝZA SEKVENACÍ *IGHV* POMOCÍ NÁSTROJŮ PRESTO A VIDJIL

Vrbacký F.[1], Hrochová K.[2], Petrová L.[2], Žák P.[1]
[1]*IV. interní hematologická klinika LF UK a FN, Hradec Králové*
[2]*Ústav klinické biochemie a diagnostiky LF UK a FN, Hradec Králové*

Nedílnou součástí diagnostiky a následného sledování nemocných s nádorovým onemocněním je analýza nádorové tkáně pomocí molekulárně biologických metod. Velký rozmach v této oblasti byl zaznamenán s příchodem masivně paralelního sekvenování, které umožňuje citlivou a cenově dostupnou analýzu těchto vzorků. Jedním z přístupů, který lze využít pro sledování onemocnění pocházejících z B-lymfocytů je sledování specifické přestavby genů kódujících těžký, resp. lehký řetězec imunoglobulinu. Nedílnou součástí sekvenační analýzy, která je v naší laboratoři prováděna pomocí primerů publikovaných ve studii BIOMED-2 prodloužených o adaptory umožňující připojení identifikátorů, je bioinformatická analýza získaných dat. V současné době existuje řada metod a nástrojů ovládaných z grafického rozhraní i příkazového řádku. V naší laboratoři jsme zvolili kombinaci dvou nástrojů, z nichž první, pRESTO toolkit, používáme pro filtrování vstupních dat, abychom odstranili data s nedostatečnou kvalitou a pro spojení výsledků z párového sekvenování. Následnou anotaci provádíme pomocí on-line nástroje Vidjil, který zároveň ukládá již analyzovaná data a umožňuje sledování vývoje jednotlivých klonů v čase. Celý postup probíhá na běžně dostupném PC velmi rychle a takto získané výsledky je možné použít pro monitorování maligních B-lymfocytů pomocí přestaveb imunoglobulinového genu. Metodu používáme i pro stanovení mutačního stavu těžkého řetězce imunoglobulinu. Tímto postupem získané výsledky prezentujeme na vybraných kazuistikách: 1. Sledování minimální nemoci u nemocného s diagnostikovanou akutní lymfoblastikou leukemií, který má dvě klonální přestavby imunoglobulinových receptorů. Jeden klon nese i translokaci t(9;22)(q34;q11)BCR/ABL1 e1a2. 2. Určení mutačního stavu přestavby imunoglobulinového receptoru u pacienta s lymfomem z plášťových buněk na polyklonálním pozadí. 3. Sledování minimální nemoci u nemocného s akutní lymfoblastikou leukemií, zachycení nastupujícího relapsu.

Podpořeno programem Progres-Q40/08 a MZ ČR – RVO (FNHK 00179906). LP 22

proLékaře.cz | 5.11.2026

LP22

CYTOMORFOLOGIE V DIAGNOSTICE SOLIDNÍCH TUMORŮ

Antošová L.[1], Tůzová E.[1], Kissová J. [1,2], Buliková A.[1,2] Penka M.[1,2]

[1]*Oddělení klinické hematologie FN, Brno*

[2]*Lékařská fakulta MU, 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 nutné pomýšlet při bolestech kostí, patologických frakturách, lytických lézích na RTG, při hyperkalcemii, zvýšené hladině alkalické fosfatázy a při nevysvětlitelných hematologických abnormalitách (cytopenie nebo např. leukoerytroblastický obraz). Záchytnost infiltrace stoupá s počtem provedených nátěrů 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.** pacient ročník 1947 – vyšetřován pro nejasnou pancytopenii a ložiska ve skeletu – karcinom močového měchýře; **2.** pacientka ročník 1939 – chronická myeloidní leukemie v léčbě od roku 2010, pacientka léčena pro karcinom prsu (kompletní remise 2001) – infiltrace kostní dřeně v roce 2012; **3.** pacient ročník 1949 – pacient s difuzním velkobuněčným lymfomem varlete, současně s infiltrací kostní dřeně při karcinomu močového měchýře; **4.** pacient ročník 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. Praha: Grada Publishing 2007.

Práce byla podpořena MZ ČR – RVO (FNBr 65269705).