proLékaře.cz | 25.11.2026



doi: 10.48095/cctahd20233S16

# Archivace biologického materiálu nabraného u pacientů s akutní atakou trombotické mikroangiopatie

## Archiving of biological material collected in patients with acute attack of thrombotic microangiopathy

**Chobolová N.[1,2], Hrachovinová I.[3,4], Kořístek Z.[2,5], Lánská M.[3,6], Demel I.[2,5], Brusová L. [2,5], Recová L.[2,7], Kovářová P.[2,8], Martinek J.[2,9], Broskevičová L.[2,5], Navratová M.[2,5], Svatošová J.[2,3,5], Gumulec J.[2,3,5], Stejskal D.[10]**

*[1] Oddělení klinické biochemie, Ústav laboratorní medicíny, FN Ostrava*
*[2] Centrum pro trombotickém mikroangiopatie Ostrava*
*[3] Česká skupina pro trombotické mikroangiopatie, z.s.*
*[4] Laboratoř pro poruchy hemostázy, Ústav hematologie a krevní transfuze Praha*
*[5] Klinika hematoonkologie LF OU a FN Ostrava*
*[6] IV. interní hematologická klinika FN Hradec Králové*
*[7] Oddělení klinické hematologie, Ústav laboratorní medicíny, FN Ostrava*
*[8] Krevní centrum, FN Ostrava*
*[9] Oddělení imunologie a alergologie, Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě*
*[10] Ústav laboratorní medicíny, FN Ostrava*

**SOUHRN:** Koordinovaný postup provádění odběrů krve, preanalytického zpracování a uchovávání biologického materiálu v kteroukoli denní nebo noční dobu je důležité především u pacientů s prudce probíhajícím onemocněním, kdy zahájení léčby (např. výměnnou plazmaferézou) před provedením odběrů krve může ovlivnit výsledky laboratorních vyšetření a komplikovat další diferenciální diagnostiku. Do této skupiny řadíme jednoznačně i trombotické mikroangiopatie. V článku prezentujeme postup otestovaný v klinické praxi v podmínkách Fakultní nemocnice Ostrava. Ve druhém kroku byl postup představen a diskutován s experty z ostatních hematologických center. Výsledkem této diskuze bylo vytvoření univerzální žádanky o zpracování a archivaci vzorků krve, která může přispět ke standardizaci postupu v dalších zdravotnických zařízeních.

**KLÍČOVÁ SLOVA:** archivace biologického materiálu – trombotické mikroangiopatie – univerzální laboratorní žádanka

**SUMMARY:** Coordinated blood collection, pre-analytical processing, and storage of biological material at any time of the day or night is particularly important in patients with rapidly progressive disease, where initiation of treatment (e. g., plasmapheresis) before blood collection may affect laboratory results and complicate further differential diagnosis. Thrombotic microangiopathies belong to this group of diseases. In this article, we present a procedure tested in clinical practice at the University Hospital Ostrava. Next, the procedure was presented and discussed with experts from other haematology centres. The result of this discussion was the creation of a universal request form for the processing and archiving of blood samples, which may contribute to the standardization of the procedure in other medical institutions.

**KEY WORDS:** archiving of biological material – thrombotic microangiopathy – universal laboratory request form

## ÚVOD

Trombotické mikroangiopatie (TMA) patří do skupiny vzácných onemocnění s vysokým rizikem závažného orgánového poškození a smrti nejsou-li včas rozpoznány a adekvátně léčeny. Pro TMA je charakteristická porucha mikrocirkulace vedoucí k mikroangiopatické hemolytické anemii, trombocytopenii ze zvýšené spotřeby a ischemickému poškození cílových tkání a orgánů. Do skupiny TMA jsou zařazeny trombotická trombocytopenická purpura (TTP), hemolyticko-uremický syndrom (HUS) a řada sekundárních TMA. Mortalita neléčené trombotické trombocytopenické purpury (TTP) je 90 % a ke zhruba polovině úmrtí dochází během prvních

proLékaře.cz | 25.11.2026



**Tab. 1. Laboratorní diagnostika u TMA.**

| | | |
|---|---|---|
| **Základní diagnostika s výsledky dostupnými do 3–6 h v každé nemocnici** | | |
| **Podrobná anamnéza a fyzikální vyšetření** | | |
| **Základní laboratorní vyšetření** | krevní obraz | včetně diferenciálního rozpočtu leukocytů a počtu retikulocytů |
| | koagulační testy | PT, APTT, TT, fibrinogen, antitrombin a D-dimery |
| | biochemické testy | Na, K, Cl, Ca, urea, kreatinin, celkový bilirubin, ALT, AST, ALP, moč chemicky a mikroskopicky |
| **Doplňující laboratorní testy** | krevní obraz | počet schistocytů a prohlédnutí nátěru |
| | biochemické testy | LDH |
| | imunohematologie | přímý antiglobulinový test |
| **Doplňující laboratorní diagnostika** | | |
| **Testy k vyloučení antifosfolipidových protilátek:** testy na lupus antikoagulans, antikardiolipinové protilátky, anti-B2GPI protilátky | | |
| **Základní vyšetření komplementu:** C3 a C4 složky komplementu, CH50 a AH50, C5b-9… | | |
| **Serologické testy na systémová onemocnění pojiva:** ANA, ENA a RF, resp. anti-dsDNA, ANCA, anti-Scl70, anti-centromera... | | |
| **Další významné biochemické testy:** celková bílkovina, albumin, amylázy, feritin, TSH… | | |
| **Těhotenský test u žen v produktivním věku** | | |
| **Testy používané pro průkaz jednotlivých typů TMA** | | |
| **STEC infekce** | kultivační vyšetření stolice (výtěr z rekta nestačí) u pacientů s průjmy. STEC kultivace (MacConkey na *E. coli* O157:H7 resp. O26, O111, O103, O145, event. O104:H4)<br>PCR detekce genů kódujících shigatoxin ve stolici nebo v séru prevalentních sérotypů<br>imunoanalytické stanovení protilátek proti lipopolysacharidu E. coli v séru | |
| **Pneumokoková infekce** | průkaz pneumokokového antigenu v moči<br>PCR průkaz pneumokoka v krvi nebo mozkomíšním moku | |
| **Významné virové infekce** | H1N1, HAV, HCV, HBV, HIV, Coxsackie B virus, EBV, CMV, parvovirus B19… | |
| **ADAMTS13** | ADAMTS13 aktivita a (auto)protilátky, event. kvantitativní stanovení antigenu a potvrzení přítomnosti inhibitoru, titr inhibitoru | |
| **Poruchy regulace komplementu** | C5b-9, C5a, CFH funkční stanovení, modifikovaný Hamův test<br>anti-CFH protilátky, event. anti-CFI protilátky<br>exprese MCP na leukocytech (polynukleáry nebo mononukleáry) průtokovou cytometrií<br>CFH, CFI, CFB celkové množství<br>mutační analýza genů *CFH, CFI, MCP, C3, CFB, THBD, CFHR1-5, DGKE, CNVs* v CFH-CFHR oblasti | |
| **Metabolizmus kobalaminu, resp. methylmalonilacidurie** | B12, homocystein a methylmalonová kyselina v plazmě, resp. homocystein a methylmalonová kyselina v moči (jednorázový vzorek nebo 24h sběr) | |
| | mutační analýza genu *MMACHC* | |

24 hodin manifestace onemocnění [1]. Včasná terapie TTP terapeutickou výměnnou plazmaferézou (TPEX) redukuje mortalitu na 10–20 %. V případě komplementem mediovaného hemolyticko-uremického syndromu (CM-HUS) vede terapie výměnnou plazmaferézou ke kompletní hematologické a renální odpovědi v širokém intervalu 30–70 % případů [2]. U jiných typů TMA může včasná TPEX zabránit rozvoji závažného orgánového poškození, poskytnout prostor pro diagnostiku a léčbu vyvolávajícího onemocnění nebo snížit riziko opakovaných atak TMA [2–6].

Průkaz TMA je tedy třeba udělat v co nejkratším intervalu, ideálně během prvních 4–8 h od prvního kontaktu s pacientem [7]. Diagnózu TMA lze udělat v každé nemocnici v kteroukoli denní dobu během několika hodin s využitím anamnézy, fyzikálního vyšetření a běžné laboratorní diagnostiky (blíže viz tab. 1) [7–11]. Pro navazující diferenciální diagnostiku jednotlivých typů TMA bývá potřeba provést řadu testů (viz tabulka č.1), jejichž výsledky může provedení TPEX zkreslit [7–11]. Proto je nezbytné provést odběry krve pro tato vyšetření před zahájením léčby. V tomto článku představujeme široce diskutovaný protokol definující pravidla pro odběry vzorků krve, jejich preanalytické zpracování a zamrazení alikvotů plazmy a séra, event. materiálu pro izolaci DNA.

proLékaře.cz | 25.11.2026



## Žádanka – Archivace biologického materiálu - trombotické mikroangiopatie (TMA)

| | | |
|---|---|---|
| Jméno a příjmení pacienta | | Razítko a podpis |
| Rodné číslo pacienta | | |
| Datum a čas odběru | | |
| pojiťovna | | |
| Ordinující lékař / sestra | | |

**POKYNY PRO KLINICKÁ ODDĚLENÍ**

Oblast použití: archivace biologického materiálu pacienta s atakou **nově diagnostikované** nebo **relabující TMA**

| | |
|---|---|
| **Odběr materiálu byl proveden před zahájením léčby plazmaferézou nebo podáním plazmy…** | **ANO** ☐ **NE** ☐ |

*Pokud ne, uveďte jaká léčba byla před odběrem provedena (např. výměnná plazmaferéza 2x nebo podání plazmy 10 mL/kg…):*

1. zapište druh **odesílaného materiálu** a počet zkumavek

| **Materiál nabíraný k archivaci:** | **Zde napište skutečný počet odebraných zkumavek** |
|---|---|
| **Plazma citrát sodný: odebrat alespoň 5-10 mL** | |
| **Fakultativně plazma EDTA: odebrat 2-3 mL pro pozdější izolaci DNA** | |
| **Sérum gel: odebrat alespoň 10 mL** | |

2. vystavte **informovaný souhlas pacienta s archivací materiálu** a originál uložte do dokumentace pacienta, kopii odešlete do laboratoře společně se vzorky.

**3. Veškerý materiál doručte do místní laboratoře k preanalytickému zpracování nebo do laboratoře kooperujícího hematologického centra. Transport i zpracování vzorku by mělo být realizováno nejdéle do 2 hodin od odběru krve.**

*Poznámka: tato žádanka má dvě strany, vytiskněte prosím obě strany.*

*1/2* *verze 01*

**Obr. 1. Žádanka – Archivace biologického materiálu – trombotické mikroangiopatie (TMA) – pokyny pro klinická oddělení.**

proLékaře.cz | 25.11.2026



**POKYNY PRO LABORATOŘ**

**Doručený materiál** zpracujte podle jeho druhu dle níže uvedených postupů. Jednotlivé alikvoty a zkumavky nezapomeňte označit kódem (viz níže).

**Sérum – gel** (max. 8 alikvotů)

zkumavka sérum-gel → centrifugujte 2500 x g/ 10 min → rozpipetujte sérum do kryozkumavek po maximálně 0,4 mL

**Fakultativně plná krev ve skumavce s EDTA**

zamrazte celou zkumavku se vzorkem plné krve v EDTA pro pozdější izolaci DNA (zkumavku označte)

**Plazma citrát** (max. 8 alikvotů)

zkumavka plazma Na-citrát → **centrifugujte:** 2000 g/15 min - odpipetujte supernatant (plazmu) bez buffy coatu - následně centrifugujte 2500 g/15 min → rozpipetujte plazmu do kryozkumavek po maximálně 0,4 mL

**Označování alikvotů:**
Kryozkumavky označte ve tvaru **XX1234/YY + datum doručení + pořadí odběru**
**JP** = Počáteční písmena jména a příjmení pacienta
**1234** = první čtyři číslice rodného čísla pacienta
**YY** = druh materiálu
(SG – sérum gel, PE – plazma EDTA, PC – plazma citrát, BE – stočené buňky EDTA)

Příklad: pacient **P**etr **N**ovák, RČ **1122**33/4455, materiál **S**érum-**G**el, doručen **12. 11. 2022**: **PN1122/SG** + **12.11.2022**

**Skladování alikvotů:**
Veškerý materiál skladujte nejlépe při **-60 °C a nižší** - přechodně (do 1 týdne) lze vzorky uchovávat při teplotě **-20 °C až -40 °C**

**Zaslání zpracovaného materiálu z místní laboratoře do specializované laboratoře kooperujícího hematologického centra:**
Veškerý zamražený materiál zašlete na **suchém ledu na adresu specializované laboratoře.**

Pozn.: specializovaná laboratoř hematologického centra materiál dále zpravidla neodesílá

**POKYNY PRO SPECIALIZOVANOU LABORATOŘ V RÁMCI HEMATOLOGICKÉHO CENTRA**

**Z externího pracoviště** bude doručen materiál, který zpracujte dle instrukcí.

**Zpracování vzorků:**
Materiál buďto zpracujte dle výše uvedených instrukcí (budou-li doručeny vzorky plné krve) nebo zamrazte doručený separovaný materiál na **-60 °C a nižší** dle obecných zvyklostí

**Žádanku i informovaný souhlas archivujte**

| Specializovaná laboratoř hematologického centra | Hematologické centrum |
|---|---|
| | |

2/2 verze 01

**Obr. 2. Žádanka – Archivace biologického materiálu – trombotické mikroangiopatie (TMA) – pokyny pro laboratoř.**

proLékaře.cz | 25.11.2026


## PROTOKOL PRO PROVÁDĚNÍ ODBĚRŮ KRVE, PREANALYTICKÉ ZPRACOVÁNÍ VZORKŮ V LABORATOŘI A ARCHIVACE ALIKVOTŮ PLAZMY, SÉRA, RESP. MATERIÁLU PRO IZOLACI DNA

Na základě všech výše zmíněných informací, byl ve Fakultní nemocnici Ostrava (resp. ve spolupráci kliniky hematoonkologie vč. biobanky a Ústavu laboratorní medicíny) navržen koordinovaný postup pro odběr a preanalytické zpracování vzorků krve v laboratořích v kteroukoli denní dobu, tzn. během pracovní doby při plném personálním obsazení klinických pracovišť a laboratoří, tak i během pohotovostních služeb personálem, který se problematikou TMA běžně nezabývá. Pro tento účel byla vytvořena žádanka o archivaci biologického materiálu. Žádanka byla uvedena do praxe na Klinice hematoonkologie FNO a po konzultacích mohla být využita i jinými obory v rámci nemocnice.

Celý proces, týkající se zpracování materiálu, se v praxi v rámci FNO velmi osvědčil, proto byla následně problematika zpracování a uchování biologického materiálu před zahájením léčby konzultována i s kliniky a laboratorními pracovníky jiných hematologických center. Výsledkem těchto diskuzí bylo navržení koordinovaného postupu, který byl prezentován formou přednášky na konferenci Pařízkovy dny konané v roce 2022. Základním cílem bylo vytvoření obecné žádanky, která má být podkladem pro práci na jakémkoliv pracovišti. Tato univerzální žádanka je dostupná na www.c4tmo.cz a zahrnuje veškeré nezbytné činnosti spojené s odběrem, preanalytickým zpracováním i uchováním biologického materiálu, vč. doporučení týkající se transportu (viz obr. 1 a 2).

Na obrázku 1 je zobrazena titulní strana žádanky, kde je v úvodu prostor pro identifikaci pacienta. Další část je zaměřena na pokyny pro klinická oddělení, vč. upřesnění načasování odběru (před zahájením TPEX, resp. před podáním plazmy). V opačném případě je součástí žádanky také prostor pro poznámku o provedené léčbě (např. výměnná plazmaferéza 2× nebo podání plazmy 10 ml/kg, aj.).

Nedílnou součástí první strany žádanky je doporučení týkající se druhu a množství materiálu potřebného k odběru s ohledem na spektrum laboratorních vyšetření. Odběrový systém s citrátem sodným slouží k vytvoření alikvotů citrátové plazmy pro následné stanovení např. aktivity antigenu ADAMTS13 a titru protilátek (inhibitoru), lupus antikoagulans a podobně. Zkumavka s EDTA je použita pro případnou izolaci DNA a následná molekulárně-genetická vyšetření. Odběr tohoto materiálu samozřejmě nezávisí na fázi léčby a lze ho odebrat kdykoli během terapie. Zkumavka srážlivé krve je určena k archivaci séra pro vyšetření antifosfolipidových protilátek kromě lupus antikoagulans, složek a regulačních proteinů komplementu, koncentrace celkové bílkoviny, albuminu, feritinu, TSH, k vyloučení systémových onemocnění pojiva a dalších vyšetření vyplývajících z tab. 1.

Nezbytnou součástí je informovaný souhlas pacienta s archivací biologického materiálu a izolací DNA. Žádanka i informovaný souhlas musí být vždy archivovány.

Posledním a velmi důležitým bodem první strany této žádanky je pokyn týkající se doručení materiálu do příslušné laboratoře a jeho zpracování, které by nemělo přesáhnou dvě hodiny od odběru. Stanovený limit vychází z doporučení laboratorní sekce České hematologické společnosti.

Na obr. 2 (druhá strana žádanky) jsou popsány pokyny pro prenalytické zpracování materiálu v laboratoři, vč. podmínek centrifugace jednotlivých druhů odebraného materiálu, alikvotace, zamrazení a transportu. Pokud dochází ke zpracování materiálu v lokální laboratoři mimo hematologická centra, doporučujeme následný transport na suchém ledu pro dostatečné dodržení podmínek preanalytické fáze.

## ZÁVĚR

Odběry a zpracování vzorků krve pacientů s akutní atakou TMA mají být v klinické praxi prováděny standardizovaným a koordinovaným postupem, který minimalizuje riziko zkreslení výsledku laboratorního vyšetření předchozí aplikací plazmy nebo výměnnou plazmaferézou. Takový přístup může zlepšit péči o pacienty s akutní atakou TMA na různých pracovištích během běžné pracovní doby i pohotovostní služby.

### Literatura


1. Scully M, Yarranton H, Liesner R, et al. Regional UK TTP registry: correlation with laboratory ADAMTS 13 analysis and clinical features. Br J Haematol. 2008;142(5):819–826. doi: 10.1111/j.1365-2141.2008.07276.x.
2. Clark WF, Huang SS, Walsh MW, Farah M, Hildebrand AM, Sontrop JM. Plasmapheresis for the treatment of kidney diseases. Kidney Int. 2016;90(5):974–984. doi: 10.1016/j.kint.2016.06.009.
3. Noris M, Caprioli J, Bresin E, et al. Relative role of genetic complement abnormalities in sporadic and familial aHUS and their impact on clinical phenotype. Clin J Am Soc Nephrol: CJASN. 2010;5(10):1844–1859. doi: 10.2215/CJN.02210310.
4. Sellier-Leclerc AL, Fremeaux-Bacchi V, Dragon-Durey MA, et al. Differential impact of complement mutations on clinical characteristics in atypical hemolytic uremic syndrome. J Am Soc Nephrol: JASN. 2007;18(8):2392–2400. doi: 10.1681/asn.2006080811.
5. Loirat C, Garnier A, Sellier-Leclerc AL, Kwon T. Plasmatherapy in atypical hemolytic uremic syndrome. Sem Thromb Hemost. 2010;36(6):673–681. doi: 10.1055/s-0030-1262890.
6. Elliott MA, Letendre L, Gastineau DA, Winters JL, Pruthi RK, Heit JA. Cancer-associated microangiopathic hemolytic anemia with thrombocytopenia: an important diagnostic consideration. Eur J Haematol. 2010;85(1):43–50. doi: 10.1111/j.1600-0609.2010.01448.x.
7. Scully M, Hunt BJ, Benjamin S, et al. Guidelines on the diagnosis and management of thrombotic thrombocytopenic purpura and other thrombotic microangiopathies. Br J Haematol. 2012;158(3):323–335. doi: 10.1111/j.1365-2141.2012.09167.x.
8. Zini G, d'Onofrio G, Briggs C, et al. ICSH recommendations for identification, diagnostic value, and quantitation of schistocytes. Int J Labor Hematol. 2012;34(2):107–116. doi: 10.1111/j.1751-553X.2011.01380.x.
9. Laurence J, Haller H, Mannucci PM, Nangaku M, Praga M, Rodriguez de Cordoba S. Atypical hemolytic uremic syndrome (aHUS): essen-

proLékaře.cz | 25.11.2026



tial aspects of an accurate diagnosis. Clin Adv Hematol Oncol. 2016;14(Suppl 11):2–15.
**10.** Williams LA, Marques MB, Education Committee of the Academy of Clinical Laboratory Physicians and Scientists. Pathology consultation on the diagnosis and treatment of thrombotic microangiopathies (TMAs). Am J Clin Pathol. 2016;145(2):158–165. doi: 10.1093/ajcp/aqv086.
**11.** Shen YM. Clinical evaluation of thrombotic microangiopathy: identification of patients with suspected atypical hemolytic uremic syndrome. Thromb J. 2016;14(Suppl 1):19. doi: 10.1186/s12959-016-0114-0.

## PODÍL AUTORŮ NA PŘÍPRAVĚ RUKOPISU

CH.N., G.J. – příprava rukopisu
H.I., K.Z., L.M., D.I., B.L., R.L., K.P., M.J., B.L., N.M., S.J., S.D. – revize rukopisu

## ČESTNÉ PROHLÁŠENÍ AUTORŮ

Autoři práce prohlašují, že v souvislosti s tématem, vznikem a publikací tohoto článku nejsou ve střetu zájmů a vznik ani publikace článku nebyly podpořeny žádnou farmaceutickou firmou.

*Do redakce doručeno dne: 17. 8. 2023.*
*Přijato po recenzi dne: 21. 11. 2023*

*PhDr. Nela Chobolová, MBA*
*Oddělení klinické biochemie*
*Ústav laboratorní medicíny*
*FN Ostrava*
*17. listopadu 1790*
*708 52 Ostrava*
*e-mail: nela.chobolova@fno.cz*