proLékaře.cz | 6.11.2026

PŘEDNÁŠKY
IMUNOHEMATOLOGIE I

01 EXTERNÍ KONTROLA V IMUNOHEMATOLOGII 2015-2016: CYKLY SEKK IH1-4/2015, IH1-3/2016, PAT1-2/2015 A PAT1/2016

Písačka M.[1], Králová M.[1], Budina M.[2]
[1]ÚHKT Praha, [2]SEKK Pardubice

Úvod. Externí kontrola představuje důležitou součást zajištění kvality laboratorní práce. Pravidelnou účast v externí kontrole požadují akreditační orgány i zdravotní pojišťovny (Nepodkročitelná minima STL), úspěšnost v jednotlivých parametrech je sledována interními i externími audity a je možným impulsem pro zavádění nových citlivějších metod. V imunohematologii jsou v ČR a SR nejvíce využívány cykly EHK (Externího hodnocení kvality) zajišťované společností SEKK s.r.o., garantované Společností pro transfuzní lékařství a supervizované Referenční laboratoří pro imunohematologii v ÚHKT Praha. Vzorky jsou vyráběny v ÚHKT a v FTO Hradec Králové. V roce 2015 proběhly cykly IH1-4/2015 a PAT1--2/2015, v roce 2016 do září IH1-3/2016 a PAT1/2016.

Cíl. Prezentace výsledků cyklů EHK v imunohematologii v letech 2015 a 2016; upozornění na novinky a častěji se vyskytující chyby.

Výsledky. Všechny informace včetně komentářů a statistik jsou přístupné na adrese www.sekk.cz.

Závěr. V cyklech IH je dlouhodobě vysoká úspěšnost, zejména v nejčastěji rutinně vyšetřovaných zkouškách (AB0 RhD, screening protilátek, identifikace, test kompatibility). Problémy bývají při zařazení slabých a variantních RhD antigenů a při slabých protilátkách (ev. při protilátkách reagujících jen v některých testech). Za účast je udělováno Osvědčení o účasti a pro úspěšně provedené obě zkoušky daného cyklu také Certifikát. Nově běží cykly PAT. Tyto cykly slouží k posuzování kvality vyšetření vzorků s pozitivitou přímého antiglobulinového testu. Vzhledem ke kratší historii těchto cyklů je prozatím účastníkům vydáváno pouze Osvědčení o účasti, Certifikáty budou vydávány po dlouhodobějším vyhodnocení.

02 CYKLUS SEKK PAT – ZKUŠENOSTI NA PRACOVIŠTI TO FNOL

Šianská J., Holusková I., Galuszková D.
Transfuzní oddělení, Fakultní nemocnice Olomouc

Úvod. Cyklus externího hodnocení kvality Přímý antiglobulinový test (PAT) je firmou SEKK pořádán od druhé poloviny r. 2014. Naše pracoviště, jakožto regionální referenční laboratoř, se cyklu začala pravidelně účastnit. Práce s PAT pozitivními vzorky však s sebou nese jistá úskalí a díky tomuto cyklu jsme odhalili určité nedostatky v našem systému, na jejichž nápravě jsme začali intenzivně pracovat.

Materiál a metodika. Cyklus PAT v sobě zahrnuje vyšetření PAT, typ senzibilizace, kvantifikaci a podtřídu v případě senzibilizace IgG, určení KS v AB0 systému a RhD a typování erytrocytárních antigenů.

Pro vyšetření přímého antiglobulinového testu a následně jeho kvantifikace (určení titru) a typu senzibilizace erytrocytů používáme systém sloupcové aglutinace f. Bio-Rad. Vyšetření krevní skupiny v systému AB0 a RhD antigenu u PAT pozitivních vzorků provádíme manuální metodikou (zkumavkový test) s diagnostiky f. Sanquin, pro případné typování erytrocytárních antigenů na senzibilizovaných krvinkách používáme přednostně systém f. Grifols, popř. f. Bio-Rad a Immucor. V případě silné pozitivity PAT je před samotným typováním antigenů provedena eluce navázaných protilátek Gamma EGA Kitem f. Immucor. Pro průkaz navázaných protilátek je eluce provedena pomocí kitu ELU Kit II (rovněž f. Immucor).

Výsledky. V prvním konaném cyklu (PAT 2/14) jsme uspěli ve všech požadovaných zkouškách. V cyklu PAT 1/2015 naše oddělení chybovalo v určení antigenu Le(a), určili jsme jej jako falešně pozitivní. I přes provedené nápravné opatření (testování nových sér anti-Le(a) jsme chybovali i v druhém cyklu loňského roku (PAT 2/15), kdy jsme určili jako falešně negativní antigen Jk(a) a jako falešně pozitivní antigen Le(b). Celková úspěšnost cyklu nám tímto klesla na 93 %.

Na základě těchto výsledků jsme se obrátili na Ústav hematologie a krevní transfuze, a následně upravili stávající postup pro typování erytrocytárních antigenů u PAT pozitivních vzorků. Pracovní postup jsme např. rozšířili o vyšetření negativní kontroly pro vyloučení falešně pozitivních výsledků, a rovněž jsme u typování Le a Jk antigenů snížili teplotu inkubace na 4 °C.

Cyklus PAT 1/16 již proběhl bez problémů, uspěli jsme ve všech požadovaných zkouškách, a naše celková úspěšnost je nyní 97 %.

Závěr. Díky nově zavedenému cyklu SEKK PAT mělo naše pracoviště možnost prověřit si zavedené postupy pro vyšetřování PAT pozitivních vzorků, a provést nápravná opatření u těch vyšetření, u kterých se nám nepodařilo v cyklu uspět. Vzhledem k bezchybnému absolvování cyklu PAT 1/16 byla tato nápravná opatření úspěšná.

proLékaře.cz | 6.11.2026

03 BIOARRAY™ HEA BEADCHIP™ DNA TYPING KIT – STANOVENÍ KREVNĚ SKUPINOVÝCH ZNAKŮ U DÁRCŮ KRVE POMOCÍ METODY PCR

L. Landová, M. Bohoněk, Křivánková G., Kollárová L.
Oddělení hematologie a krevní transfuze, Ústřední vojenská nemocnice – Vojenská fakultní nemocnice, Praha

Úvod. V souvislosti s budováním národní banky vzácných erytrocytů bylo v ÚVN Praha nutné rozšířit vyšetřování erytrocytárních antigenů o řadu dalších krevně skupinových systémů. Alternativou k tradičním manuálním a sérologickým metodám, které jsou zatíženy velkou pracností a vysokými náklady na vzácná antiséra, jsou moderní molekulárně-biologické metody založené na rychlém PCR vyšetření. Tyto metody vyžadují sice určitou vstupní investici, vlastní vyšetření a vyhodnocení je ale následně jednoduché a po zavedení do rutinního provozu i méně nákladné, než vyšetření sérologické.

Cíl. Prospektivní komparační studií prokázat srovnatelnost jednotlivých sérologických a manuálních metod s genotypováním krevně skupinových znaků pomocí kitu BioArray™ HEA BeadChip™ s *dílčím cílem* zavedení sérologických in-house metod na imunohematologickém analyzátoru Galileo (ImmucorGamma, Inc. Norcross, GA) pro erytrocytární znaky MNSs, P1, Lu^{ab}, Le^{ab} včetně zavedení všech těchto metod do rutinního provozu.

Materiál a metody. Do studie zahrnuto 38 dárců krve z ÚVN-VFN a jejich odběrových center a 20 vzácných dárců z ÚHKT Praha s různými alelickými kombinacemi krevně skupinových znaků. Všichni dárci byli typováni souběžně sérologicky a genotypizací. Sérologické testy byly použity manuální zkumavkové nebo sloupcovou aglutinací (Kell, MNSs, Jk^{ab}, Fy^{ab}, Le^{ab}, Lu^{ab}, P1) a automatizované na analyzátoru Galileo, ImmucorGamma (D, Cc, Ee, Cw, Kp^{ab}) Molekulárně biologickým testem PCR pomocí kitu BioArray™ hea BeadChip™, ImmucorGamma, byly stanoveny tyto alelické varianty na lidských erytrocytech krevněskupinových systémů: Rh (C, c, E, e, V, VS), Kell (K, k, Kp^{ab}, Js^{ab}), Duffy (Fy^{ab}, GATA, Fy^{x}), Kidd (Jk^{ab}), MNS (M, N, S, s, U, U^{var}), Lutheran (Lu^{ab}), Dombrock (Do^{ab}, Hy, Jo^{a}), Landsteiner-Wiener (LW^{ab}), Diego (Di^{ab}), Colton (Co^{ab}), Scianna (Sc1, Sc2) pomocí lidské genomové DNA. Tato genomová DNA byla izolována z plné krve dárce pomocí izolačního kitu QIAGEN spin-column kit na přístroji QIAcube (QIAGENE, Germany).

Výsledky. Byla prokázána vysoká shoda mezi stanovení pomocí HEA BeadChip™ a sérologickým stanovením na analyzátoru Galileo. Vzhledem k tomu, že manuální metody jsou zatížené velkou mírou subjektivity, a souvisí i se zkušeností laboranta - shoda s ostatními dvěma metodami dosahovala 98 %. Do rutinního provozu zavedeno serologické vyšetřování znaků MNSs, P1, Jk^{ab}, Fy^{ab}, Kp^{ab}, Le^{ab}na analzyátoru Galileo.

Závěr. Lze ale konstatovat, že genotypování alelických variant krevně-skupinových systémů u dárců krve, je vhodnou a srovnatelnou variantou pro velmi rychlé zjištění jednotlivých kombinací alel, jejichž znalost je nutná hlavně při podávání transfuzí erytrocytů u pacientů s pozitivním screeningem antierytrocytárních protilátek. V rutinním použití v současné době na rozšířené spektrum krevněskupinových systémů testujeme genotypizací a sérologickým vyšetřením paralelně všechny pravidelné dárce KS 0 RhD +/-, z nichž se následně generují dárci se vzácnými alelickými kombinacemi.

04 ZKUŠENOSTI S GENOTYPOVÁNÍM MICROARRAY METODAMI

Králová J., Písačka M.
NRL pro imunohematologii, Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

Základem genotypu erytrocytových antigenů jsou převážně jednonukleotidové polymorfismy. Vzhledem k velkému počtu antigenů přítomných na povrchu erytrocytů je tedy potřeba analyzovat přítomnost většího počtu polymorfismů. Microarray metody poskytují možnost analýzy široké palety polymorfismů během jedné reakce. Finanční i časová náročnost těchto technik je úměrná objemu informací, které z nich lze získat. Tyto metody jsou vhodné pro testování genotypu erytrocytových antigenů u dárců krve i pacientů. V případě vyšetření pacientů bývá někdy obtížné až nemožné určit přítomnost antigenů sérologickými technikami z důvodu senzibilizace erytrocytů protilátkami či v důsledku vysokého počtu podaných transfuzních přípravků.

Použité metody: BLOODchip® Reference a ID CORE XT™ firmy Progenika Biopharma a systém FluoGene firmy Inno-Train.

V případě testování dárců krve je zjišťována 100% shoda mezi výsledky sérologie a genotypování. Genotypování umožňuje u dárcovských vzorků záchyt variantních a zeslabených antigenů, které sérologicky není možné detekovat. Zároveň poskytuje možnost vyšetření antigenů, pro které nejsou dostupné sérologické metody (např. Dombrock). U pacientských vzorků je zjišťována větší variabilita při porovnání výsledků sérologie a genetiky. Případy rozdílných nálezů jsou většinou způsobeny přítomností vzácnější mutace

proLékaře.cz | 6.11.2026

a faktem, že jedna z metod tuto mutaci nedetekuje. Dalším častým jevem je sérologický záchyt antigenu transfundovaných erytrocytů, které v oběhu pacienta v danou chvíli převažují. Microarray poté detekuje pacientův vlastní genotyp, který se neshoduje s fenotypem určeným sérologicky.

05 STANOVENÍ FETOMATERNÁLNÍ HEMORAGIE METODOU PRŮTOKOVÉ CYTOMETRIE V PRAXI

Procházková R.[1, 4], Zajíc T.[2], Bydžovská I.[3], Zemanová D.[3], Kuťková D.[1], Arnoldová A.[1], Kamenická H.[1]

[1]Transfuzní oddělení, Krajská nemocnice Liberec, a. s., Liberec

[2]Oddělení klinické mikrobiologie a imunologie, Krajská nemocnice Liberec, a. s., Liberec

[3]Gynekologicko-porodnické oddělení, Krajská nemocnice Liberec, a. s., Liberec

[4]Technická univerzita v Liberci, Fakulta zdravotnických studií, Liberec

Úvod. Fetomaternální hemoragie (FMH) je stav, při kterém dochází k průniku erytrocytů plodu do krevního oběhu matky v průběhu těhotenství nebo při porodu. FMH může být příčinou erytrocytární aloimunizace matky, při excesivní FMH může být plod nebo novorozenec ohrožen anémií. Vyšetření FMH je od r. 2014 doporučeno provádět celostátním doporučeným postupem (dle dostupnosti) při úmrtí plodu in utero, další indikací je mimoděložní gravidita s větším hemoperitoneem, abrupce placenty či vcestné placenty s větší krevní ztrátou, kde možná FMH je očekávána ne jako příčina, ale jako následek.

Materiál a metody. V rámci prospektivní studie (12/2013 až 07/2014) jsme sledovali ženy s rizikem FMH, tj. po porodu, potratu, AMC a při úmrtí plodu. U všech žen jsme provedli vyšetření FMH z krve matky odebrané do zkumavky s KEDTA 2 hodiny po zákroku a vyšetřili metodou průtokové cytometrie na přístroji Beckman Coulter Cytomics FC 500 setem Fetal Cell Count™ kit. Na základě výsledků studie jsme zavedli vyšetření k 1.11.2015 do rutinní praxe. Vyšetření jsou prováděna uvedeným kitem, jako kontrolní materiál byla verifikována pupečníková krev. Výsledky jsou uváděny v %, hodnoty > 0,25% jsou považovány za pozitivní.

Výsledky. *a) Studie:* Soubor tvořilo 94 žen, z toho 66 po porodu, 25 po potratu, 2 po AMC a 1 úmrtí plodu. V 9 případech jsme zjistili FMH vyšší než 0,25 % (5x po porodu, 3x po potratu, 1x úmrtí plodu). Ve všech případech jsme vyloučili imunohematologickou příčinu.

1. případ: Spontánní porod ve 40. týdnu gravidity s průkazem 4,8 % FMH. Krevní ztráta při porodu byla 300 ml. Aloimunizaci matky jsme neprokázali, u novorozence nebylo podezření na hemolytické onemocnění. Opakovaným vyšetřením matky jsme zjistili pokles FMH na 1,8 % po 1 týdnu a na 0,3 % po 3 týdnech od porodu. Excesivní FMH zjištěná po porodu neměla vliv na zdraví novorozence, v den propuštění z nemocnice měl novorozenec lehký subikterus, bilirubin 4. den po porodu byl 178 µmol/l.

2. případ: Akutní císařský řez ve 40. týdnu gravidity s průkazem 6,9 % FMH. Krevní ztráta při císařském řezu byla 300 ml. Novorozenec byl významně anemický, vznik anémie z imunohematologické příčiny byl laboratorně vyloučen. Jako důvod vzniku anémie byla diagnostikována excesivní FMH z neznámé příčiny s úmrtím novorozence. Pacientka posléze v další graviditě donosila zdravé dítě.

3. případ: Úmrtí plodu ve 32. týdnu gravidity, krevní ztráta u ženy byla 150 ml. Prokázali jsme 1,1% FMH. U matky nedošlo k vytvoření antierytrocytárních protilátek.

b) *Rutinní praxe:* Dosud bylo vyšetřeno 10 pacientek (5x úmrtí plodu, 3x tubární těhotenství, 2x placenta previa) indikovaných z gyn.-por. odd. KNL. Hodnoty FMH se pohybovaly mezi 0,00–0,14 %, patologická hodnota nebyla prokázána. Byly však zjištěny jiné příčiny patologických stavů, vyšetření FMH přispělo k diagnostickému objasnění.

Výsledky byly dostupné od 1 do 5 dnů (dáno časovou náročností na zpracování, dobu odezvy prodlužuje víkend). Porodníci vyšetření jednoznačně považují za přínosné a oceňují jeho časovou i finanční dostupnost.

Závěr. V souboru 94 žen s rizikem FMH jsme zjistili významné hodnoty FMH u 9 žen. Po zavedení do praxe bylo provedeno zatím 10 vyšetření ve stanovených indikacích. Kvantitativní stanovení FMH metodou průtokové cytometrie v praxi významně přispívá k diferenciální diagnóze akutních stavů v porodnictví.

Projekt byl finančně podpořen z Fondu podpory vědeckých projektů Vědecké rady KNL, a.s.

06 IMUNOHEMATOLOGICKÉ METODY V KRIMINALISTICE

Balíková V.

Policie České republiky, KŘP Ústeckého kraje, Odbor kriminalistické techniky a expertiz Ústí nad Labem

Zkušební laboratoř Odboru kriminalistické techniky a expertiz (dále jen OKTE) v Ústí nad Labem se specializuje na výkon kriminalisticko-technické a znalecké činnosti v oboru kriminalistika, odvětví biologie, genetiky, daktyloskopie, balistiky, chemie, mechanoskopie

proLékaře.cz | 6.11.2026

a osmi dalších odvětví. Jsme jedno z devíti znaleckých pracovišť Police České republiky (8 pracovišť OKTE a Kriminalistický ústav Praha). Jsme dožadováni orgány činnými v trestním řízení, působnost máme na území Ústeckého a Libereckého kraje. Jsme zapsáni v seznamu ústavů kvalifikovaných pro znaleckou činnost vedeným Ministerstvem spravedlnosti ČR.

Znalecké zkoumání slouží pro účely objasňování trestné činnosti. Pomáháme při řešení méně závažné trestné činnosti (např. vloupání, krádeže), ovšem nejzajímavější je pomoc při řešení těch zvlášť závažných trestných činů (vraždy, znásilnění, loupeže, únosy atd.). Kriminalistická biologie u stop z míst trestných činů určuje, zda se jedná o materiál biologický, určuje jeho druh (např. krev, sliny, sperma), původ (lidský, zvířecí nebo rostlinný) a následně stanovuje i skupinovou příslušnost v systému AB0.

Určení skupinových vlastností v systému AB0 u krevních stop se provádí absorpčně-eluční metodou modifikovanou dle Laupyho. U stop sekretů lze využít vylučovatelství skupinových vlastností. Vyšetření se provádí absorpčně inhibiční metodou. K vyšetření se mimo jiné využívají typové erytrocyty a polyklonální diagnostická séra.

Budou prezentovány zajímavé případy, které se podařilo objasnit díky stanovení krevní skupiny.