

## KONFERENCE ZDRAVOTNÍCH LABORANTŮ 2

### 2935. SWINGUJEME V LEPŠÍM ČASE?

Dvořáková K., Hojková P., Smičková J., Holusková I., Galuszková D. (TO FN, Olomouc)

Úvod: Uvedení analyzátoru Swing TwinSampler do provozu laboratoře testů slučitelnosti Transfuzního oddělení (TO) proběhlo v červenci 2014. Zavedení nového analyzátoru nám umožnilo rychlejší vyšetření statimových požadavků, zejména z ambulance Hemato-onkologické kliniky. Cíl: Naším cílem bylo zjistit, jaký je čas od doručení krevního vzorku do laboratoře přes provedení testu slučitelnosti a ozáření transfuzního přípravku (TP) až po výdeje TP na klinické oddělení. Materiál: Krevní vzorek odebraný do zkumavky s K3EDTA. Metodika: Do července 2014 byly prováděny testy slučitelnosti pouze na analyzátoru Techno TwinStation a manuální metodikou. V červenci byl uveden do provozu další analyzátor, Swing TwinSampler, čímž došlo k rozšíření možnosti vyšetřování testů slučitelnosti. Rozsah i princip vyšetření je totožný na obou analyzátorech i u manuálního vyšetření. Denně probíhá vnitřní denní kontrola kvality používaných reagensů za pomoci kontrolního kitu DiaMed Q.C. System. 4x ročně se účastníme externího hodnocení kvality (EHK). Výsledky: Bylo provedeno sledování vzorků zaslaných z ambulance Hemato-onkologické kliniky s požadavkem na provedení testu slučitelnosti. Sledovaným obdobím byly tři po sobě jdoucí kalendářní měsíce v rozmezí tří let. První sledovaná skupina byla vyšetřována v období, kdy jsme testy slučitelnosti prováděli na analyzátoru Techno TwinStation a manuální metodikou. Další sledované období bylo krátce po zavedení analyzátoru Swing TwinSampler do provozu. Třetí sledování proběhlo opět s odstupem jednoho kalendářního roku. Hodnotili jsme 800 vzorků, které byly vyšetřeny ve sledovaném časovém úseku. Závěr: Co nám tedy přineslo zavedení analyzátoru Swing TwinSampler do provozu? Podle našich výsledků splňujeme doporučení Společnosti pro transfuzní lékařství ČLS JEP č. STL2015\_12 ze dne 01. 09. 2015 verze 1, kde se za obvyklou považuje doba vydání do 90-ti minut od doručení vzorku. Dosáhli jsme zlepšení času v průměru o 15% u neozářených transfuzních přípravků a o 22% u ozářených transfuzních přípravků. Další možnosti ke zlepšování vidíme v transportu vzorků a transfuzních přípravků, což by mohla vyřešit potrubní pošta, která je ve výstavbě.

### 2980. NÁLEZ EOZINOFILIE V KREVNÍM OBRAZE A V KOSTNÍ DŘENI Z NEZNÁMÉ PŘÍČINY – PREZENTACE KAZUISTIK DVOU NEMOCNÝCH

Dynterová A., Fátorová I., Smolej L. (IV. interní hematologická klinika, Fakultní nemocnice, Hradec Králové)

Eozinofily jsou leukocyty řazené mezi granulocyty, které obsahují četná specifická granula barvící se kyselým barvivem eozinem oranžově, a jádro, které je nejčastěji bilobární, brýlovitého tvaru. Eozinofilní granula obsahují specifické enzymy (fosfatázy, eozinofilní peroxidázu, myeloperoxidázu, bazické proteiny aj.), které mají antimikrobiální a cytotoxické účinky namířené především proti parazitům. Poločas eozinofilů v krevním oběhu před migrací do tkání, kde je jich minimálně stokrát více než v krvi, se pohybuje od 6 do 12 hodin. Nejvíce eozinofilů lze nalézt v orgánech s epitelálním povrchem, který se dostává do styku se zevními alergeny (respirační, gastrointestinální trakt). Zde mohou eozinofily přežívat řádově týdny. Počet eozinofilů v krvi kolísá v závislosti na věku pacienta, denní době, námaze a na vlivech okolního prostředí se sezónními alergeny. Počet eozinofilů je nejnižší ráno a nejvyšší v noci. U zdravého dospělého člověka tvoří eozinofily 0 - 5 % z celkového počtu leukocytů. Eozinofilie je vzestup počtu eozinofilních granulocytů nad fyziologickou hodnotu, může mít reaktivní nebo klonální charakter. Výrazně častější je výskyt reaktivní eozinofilie (podle kanadské studie je incidence reaktivní eozinofilie < 0,2 %), kdy se jedná o reakci na specifickou T-buněčnou imunitní odpověď, obvykle na zevní alergeny nebo na parazitární infekci, výjimečně na jiné infekce (mykotické nebo bakteriální). Sekundární eozinofilie může provázet velké množství chorob (maligní choroby, kožní onemocnění, endokrinní poruchy, autoimunitní onemocnění aj.), z nichž některé jsou dobře, jiné hůře léčebně ovlivnitelné. Stav spojený s proliferací klonálních eozinofilních prekurzorů (např. chronická eozinofilní leukemie, akutní myeloidní leukemie s eozinofilní diferenciací) jsou velmi vzácné. Každý nález zvýšeného počtu eozinofilů vyžaduje pečlivé vyšetření a pokud je rozpoznán patologický podklad tohoto zvýšení, tak i včasnou odpovídající léčbu. Ve dvou kazuistikách budeme prezentovat nálezy nemocných, u nichž byla zjištěna výrazná eozinofilie při vyšetření krevního obrazu. Na základě těchto nálezů byl proveden aspirát kostní dřeně a další diagnostika těchto stavů, která z části nebo zcela objasnila jejich příčinu.

## 2920. CYTOGENETIKA AKUTNÍCH LYMFOLASTICKÝCH LEUKEMIÍ - KAZUISTIKA

Hanzlíková J., Prekopová I., Kropáčková J., Holzerová M., Balcárková J., Urbánková H., Vatulíková M., Krůzová L., Mlynářčiková M., Szotkowski T., Jarošová M. (Hemato-onkologická klinika, FN, Olomouc)

Akutní lymfoblastická leukemie (ALL) je heterogenní lymfoproliferativní onemocnění s výskytem více jak 30% lymfoblastů v kostní dřeni nebo periferní krvi. Nejdůležitějším diagnostickým nástrojem je imunofenotypizace, která dovoluje blastické buňky zařadit do buněčných linií a tím odlišit T-buněčné (T-ALL) (~25%) a B-buněčné (B-ALL) (~75%) akutní lymfoblastické leukemie. Současně platná WHO klasifikace ALL je založena na genetických změnách a dovoluje rozdělovat nemocné do prognostických podskupin. K prognosticky nepříznivým chromosomovým změnám u ALL patří nálezy translokací t(9;22)(q34;q11) a t(4;11)(q21;q23). Frekvence výskytu Ph+ ALL u dospělých nemocných je asi 25%, u nemocných starších 55 let až 50%. Pro určení přítomnosti Ph chromosomu se používá klasické cytogenetické vyšetření, které je doplněno metodou FISH. Klasické cytogenetické vyšetření dovoluje určit i přítomnost dalších chromosomových změn. K častým změnám patří chybění chromosomu 7 (-7), přítomnost dalšího Ph chromosomu a méně často se vyskytují hyperdiploidie s počtem nad 50 chromosomů. Výskyt přídatných změn může souviset s klonálním vývojem klonu s pouze Ph chromosomem. V práci prezentujeme případ nemocné se zajímavým nálezem Ph+/hyperdiploidní ALL, cytogenetické a molekulárně cytogenetické nálezy potvrzující význam cytogenetiky akutních leukemií. Nález translokace t(4;11)(q21;q23) určuje prognosticky nepříznivou podskupinu jak u dětských, tak dospělých pacientů s ALL. Frekvence této změny u dospělých ALL nemocných je 10%, s mírně zvýšenou incidencí na 30% u pro-B ALL subtyp ALL. Kromě samotné translokace jako jediné změny karyotypu mohou mít nemocní přídatné chromosomové změny, které jsou pozorovány až u 1/3 nemocných. Nejčastější přídatnou změnou je nadpočetný chromosom X, změny chromosomu 7p, včetně nálezu isochromosomu i(7)(q10), trisomie chromosomu 8 a delece krátkých ramen chromosomu 9 (9p-). Budeme prezentovat zajímavé cytogenetické nálezy komplexního karyotypu u nemocné s ALL diagnostikované a léčené na HOK FN Olomouc.

*Práce je podporovaná grantem IGA UP 2016-001.*

## 2994. MOŽNÁ ÚSKALÍ PŘI ANALÝZE KREVNÍCH DESTIČEK

Sečkařová M., Dohnal J., Juráňová J., Štěpánková A., Lapčíková A., Kadlecová J., Slavík L. (Hemato-onkologická klinika, FN, Olomouc)

Získání validního výsledku při stanovení počtu krevních elementů na hematologických analyzátoch může mít i v dnešní moderní době jistá úskalí či omezení, na která je nutné pamatovat. Dnes běžně používané hematologické analyzátoch provádějící analýzu krevního obrazu s 5-ti populačním diferenciatním rozpočtem leukocytů, využívají k analýze impedančního a optického principu. Pro vyšetření krevního obrazu se používá nesrážlivá periferní krev (odběr do EDTA). Při analýze krevních destiček získáváme parametry: - přímo měřené: PLT - počet krevních destiček MPV - střední objem krevních destiček P-LCR - poměr velkých trombocytů (PLT větší než 12fl) IPF - frakce nezralých destiček (retikulované trombocyty) - vypočítané: PDW - šíře distribuce krevních destiček PCT - destičkový hematokrit Výsledkem impedanční analýzy krevních destiček je histogram (závislost počtu trombocytů na jejich velikosti). V naší hematologické laboratoři věnujeme pozornost jak počtům trombocytů (včetně jejich výrazných změn), tak abnormalitám v histogramu trombocytů. Abnormální histogramová křivka upozorní na tyto interference. 1. kontaminace roztoku 2. přítomnost velkých trombocytů, shluků trombocytů 3. přítomnost patologických erytrocytů, artefaktů erytrocytů Při optické analýze jsou trombocyty označeny fluorochromem a přímo měřeny. Optickou analýzu krevních destiček proto upřednostňujeme u trombocytopenických pacientů. Z hlediska diferenciatní diagnostiky trombocytopenie musíme nejdříve odlišit možnost preanalytického ovlivnění stanovení, ať už v podobě nevalidního odběru nebo pseudotrombocytopenie. Vyloučení nevalidního odběru (sraženina ve zkumavce, která může vzniknout v preanalytické fázi) provádíme scezením krve. Vyloučení pseudotrombocytopenie: provedeme optickou analýzu a mikroskopickou kontrolu počtu trombocytů v nátěru periferní krve. Dále věnujeme pozornost velikosti krevních destiček a zachycení případného satelitismu trombocytů v nátěrech periferní krve. Jsou-li v nátěru periferní krve zjištěny shluky trombocytů, požádáme o nový odběr krve pacienta, avšak do jiného protisrážlivého prostředku než je EDTA, abychom vyloučili tzv. EDTA fenomén. V naší laboratoři používáme ThromboExact obsahující ionty magnézia. Lze také použít odběr do oxalátu (popř. do citrátu), u nich však dochází ke zkreslení naměřených hodnot bílé a červené řady. Pro vyloučení chladových

protilátek využíváme odběr do EDTA transportovaný do laboratoře v termosce s teplou vodou (37°C). Z hlediska diferenciální diagnostiky trombocytopenie můžeme využít také některý z parametrů vyzrávání trombocytů, jako např. IPF (retikulovaných trombocytů), který je významný pro neinvazivní diagnostiku izolovaných trombocytopenií (konzumce trombocytů versus jejich nedostatečná tvorba). U hematom-onkologických pacientů IPF může pomoci k sledování obnovy trombopoézy po chemoterapii nebo transplantaci kostní dřeně. Zjištění trombocytopenie je důležité pro další diagnostiku idiopatické trombocytopenické purpury (ITP) případně dalších chorobných stavů spojených se snížením krevních destiček, včetně ovlivnění řadou léků. Domníváme se, že i v této technicky vyspělé době je pro validitu výsledků stále důležitý a nepostradatelný lidský faktor.

### 2962. DIAGNOSTIKA HEMOGLOBINOPATIÍ - KAZUISTIKY

**Orviská M., Divoká M., Lapčíková A., Fraňková H., Pospíšilová D., Divoký V., Indrák K. Papajík T. (Hemato-onkologická klinika, FN a LF UP, Olomouc; Krajská nemocnice, Liberec; Dětská klinika, FN a LF UP, Olomouc; Ústav biologie LF UP, Olomouc)**

Již čtvrt století se zabývají laboratoře HOK, které v roce 2014 získaly akreditaci jako centrum pro vyšetřování raritních chorob, diagnostikou talasemií a hemoglobinopatií. Při podezření na hemoglobinopatii rutinně provádíme bioanalytické testy stanovení hladin HbA2, HbF, elektroforézy hemoglobinu v polyakrylamidovém gelu. Při podezření na nestabilní hemoglobinovou variantu vyšetřujeme testy stability hemoglobinu - izopropanolový test a test na Heinzova tělíška. Při zjištění patologických výsledků svědčících pro hemoglobinopatii pokračujeme v pátrání po její příčině pomocí molekulárně genetické analýzy na úrovni DNA, pomocí které odhalujeme kauzální mutaci a potvrdíme diagnózu hemoglobinopatie. Mezi základní molekulárně-genetická vyšetření, která užíváme, patří alelově-specifická polymerázová řetězová reakce, sekvenční analýza a MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification). V našem sdělení přinášíme popis tří zajímavých kazuistik: 1. Pacienta s nosičstvím alely pro nestabilní hemoglobinovou variantu St. Louise s pozitivními Heinzovými tělísky, 2. Rodiny s abnormální hemoglobinovou variantou Hoshida a 3. Pacienta indického původu s beta-talasemickou delecí. V naší prezentaci ukážeme sled nálezů jednotlivých vyšetření, které nás přivedly k diagnóze hemoglobinopatie počínaje hodnotami červeného krevního obrazu s cha-

rakteristickou morfológií erytrocytů až po diagnostický výsledek molekulárně genetické analýzy.

### 2979. NAŠE ZKUŠENOSTI SE SETEM STIC EXPERT® HIT STAGO

**Tučková G., Sadílek P., Dulíček P., Smolej L. (IV. interní hematologická klinika, FN, Hradec Králové)**

Úvod: Heparinem indukovaná trombocytopenie (HIT) je jednou z nejzávažnějších komplikací léčby heparinem. Vyskytuje se zejména při podávání nefrakcionovaného heparinu (UFH), v menší míře však i při léčbě nízkomolekulárním heparinem (LMWH). Určení diagnózy HIT spočívá v hodnocení klinických příznaků a laboratorní diagnostice. Klinické hodnocení využívá některý ze skórovacích systémů, např. 4T. Laboratorní diagnostika je založena na imunologických a funkčních testech. Zpravidla se vyšetřuje nejprve screeningový test, jehož výhodou je zejména jednoduchost a rychlost provedení. Měl by mít 100% negativní prediktivní hodnotu. Vzhledem k imunologickému podkladu však může poskytovat falešně pozitivní výsledky. Poté se provádí některý z řady dalších imunologických či funkčních testů, které mají zpravidla vyšší specifitu, provedení však bývá časově náročnější. V případě dosažení pozitivního výsledku testem imunologickým se vždy doporučuje provést konfirmaci testem funkčním, nejlépe Serotonin release assay (SRA), jež je považován za zlatý standard v laboratorní diagnostice HIT. Cíle práce: Vyhodnotit výsledky získané setem Stic EXPERT HIT firmy Diagnostica Stago, naměřené během 3,5letého používání tohoto setu v naší laboratoři a dále srovnat všechny pozitivní výsledky s výsledky konfirmačního testu SRA, prováděného na Ústavu hematologie a krevní transfuze v Praze. Metodika: Vyšetřované vzorky pocházejí převážně od nemocných hospitalizovaných ve Fakultní nemocnici Hradec Králové (FNHK) s podezřením na HIT. Vzorky byly vyšetřovány v laboratoři IV. interní hematologické kliniky FNHK od srpna 2012 do března 2016 setem Stic EXPERT HIT. Jedná se o imunologickou screeningovou metodu založenou na principu „nanoparticle-based lateral-flow immunoassay“, která detekuje protilátky proti komplexu heparin-destičkový faktor 4 (PF4). Výrobce setu uvádí senzitivitu 100 % a specifitu 93 %. Výsledky: Během 3,5 letého používání setu Stic EXPERT HIT bylo v naší laboratoři provedeno 148 vyšetření, z nichž bylo 20 pozitivních. Dle doporučení by měly být všechny pozitivní výsledky potvrzeny konfirmačním funkčním testem, nejlépe SRA. Z 20 pozitivních výsledků ve screeningovém testu jich bylo na konfirmaci zasláno pouze 10. U čtyř z nich byla pozitivita potvrzena, šest

bylo v SRA negativních. V jednom případě byl výsledek screeningového testu falešně negativní. Závěr: Při použití setu Stic EXPERT HIT jsme potvrdili poměrně vysokou falešnou pozitivitu imunologických testů, což potvrzuje potřebu všech pozitivních výsledků, naměřených imunologickými testy, confirmovat testem funkčním, nejlépe SRA. Dosažená specifická setu je dle

našeho souboru nižší, než udává výrobce. Zaznamenali jsme také případ falešné negativity, což je v rozporu se 100% senzitivitou setu udávanou výrobcem. Pokud tedy výsledek screeningového testu neodpovídá klinickým příznakům, je potřeba nemocného vždy vyšetřit jiným imunologickým nebo funkčním testem.