

Laboratorní příručka

OKH, FN Brno

Obsah

- 0 **Obsah**
- 1 **Úvod**
- 2 **Údaje o laboratoři**
 - 2.1 Identifikace laboratoře
 - 2.2 Informace o laboratoři
 - 2.3 Programy řízení kvality
 - 2.4 Organizace oddělení
 - 2.5 Nabízené služby
- 3 **Příprava pacienta před odběrem**
 - 3.1 Žilní krev
 - 3.2 Faktory ovlivňující laboratorní výsledky
 - 3.2.1 Fyzická zátěž
 - 3.2.2 Dieta
 - 3.2.3 Dehydratace
 - 3.2.4 Vliv léků
 - 3.2.5 Fyziologické stavy
- 4 **Primární vzorky**
 - 4.1 Základní informace
 - 4.1.1. Seznam vyšetření
 - 4.2 Požadavky na vyšetření
 - 4.2.1 Identifikace primárního vzorku
 - 4.2.2 Požadavkový list (žádanka)
 - 4.2.3 Telefonický požadavek
 - 4.2.4 Urgentní požadavek

4.3 Manipulace se vzorky

4.3.1 Bezpečnost při práci s biologickým materiálem

4.3.2 Doprava vzorků

5 **Přijímání vzorků**

5.1 Přijímání vzorků

5.2 Nepřijetí vzorků a žádanek

5.2.1 Vzorek není určen k vyšetření na OKH

5.2.2 Nesprávně dodaný biologický materiál

5.2.3 Správně dodaný biologický materiál bez žádanky nebo s nesprávnou (i potřísněnou) žádankou

5.2.4 Dodaná pouze žádanka bez biologického materiálu

5.2.5 K biologickému materiálu chybí žádanka, ale biologický materiál má označení VITÁLNÍ INDIKACE nebo STATIM

5.2.6 Zásadní rozpor v identifikaci žádanky a biologického materiálu

5.2.7 Rozlití biologického materiálu při transportu potrubní poštou v PMDV

6 **Vydávání výsledků**

6.1 Způsoby vydávání výsledků

6.2 Telefonické hlášení výsledků

6.3 Opakovaná a dodatečná vyšetření

6.4 Změny výsledků a nálezů

6.4.1 Neshoda zjištěná na OKH

6.4.2 Neshoda zjištěná odesilatelem

6.5 Konzultační činnost laboratoře

6.6 Řešení stížností

7 **Seznam vyšetřovaných parametrů**

8 **Klinické interpretace laboratorních výsledků**

9 **Zkratky**

1. Úvod

Oddělení klinické hematologie je součástí Fakultní nemocnice Brno, která byla ustanovena Ministerstvem zdravotnictví 1. ledna 1998 a sestává se ze dvou pracovišť – z pracoviště medicíny dospělého věku v Bohunicích a z pracoviště reprodukční medicíny na Obilním trhu. V roce 2010 došlo ke spojení obou pracovišť v rámci reorganizace Oddělení klinické hematologie a Oddělení klinické biochemie ve Fakultní nemocnici Brno.

Záměrem našeho oddělení je poskytování co nejkvalitnějších služeb, tzn. v požadovaných termínech, v co nejlepší kvalitě a v souladu s nejnovějšími vědeckými poznatky a trendy v oboru hematologie.

Laboratorní příručka má podat široké zdravotnické veřejnosti ucelený přehled činností, které jsou na našem oddělení prováděny nebo zajišťovány. Orientace v nabízených službách má potom přispět ke zvýšení spolupráce zdravotnického zařízení a laboratoře na všech souvisejících úrovních (indikace vyšetření, příprava pacienta, odběr BM, správná dokumentací, transport BM, příjem a příprava BM na laboratoři, vlastní analýza, hodnocení a vydávání výsledků), které ovlivňují kvalitu výsledku vyšetření.

2. Údaje o laboratoři

2.1 Identifikace laboratoře

Název organizace	Fakultní nemocnice Brno	
Název laboratoře	Oddělení klinické hematologie	
Pracoviště	Pracoviště medicíny dospělého věku (PMDV)	Pracoviště reprodukční medicíny (PRM)
Adresa	Jihlavská 20, 625 00 Brno	Obilní trh 11 , 62500 Brno
Primář oddělení	Prof. MUDr. Miroslav Penka, Csc.	
IČO	65269705	
DIČ	CZ – 65269705	
IČP	laboratoř morfologie, koagulace, LEHABI, úsek PRM: 72100061 laboratoř molekulární biologie a genetiky: 72100062	
Telefon sekretariát OKH	532233063	
Telefon na laboratoře	532233060 – pohotovost, statim rutinní morfologie	532238343- pohotovost
	532232635 – rutinní morfologie	532238343 – rutinní morfologie
	532232637 - koagulace	532238343- koagulace
	532232634 – speciální morfologie	
	562233736 – molekulární biologie a genetiky	
	532232633 – LEHABI 532232646	
Fax	53233613	

Internetová adresa	www.fnbrno.cz	
Příjem biologického materiálu	pavilon CH, 4. nadzemní podlaží	pavilon C, 1. nadzemní podlaží
Speciální odběry	ambulance, DTC 5. nadzemní podlaží	
Provozní doba PMDV	denně 24 hodin	
Provozní doba PRM		

2.2 Informace o laboratoři

Oddělení klinické hematologie (OKH) je součástí FN Brno. Sestává ze dvou pracovišť – z Pracoviště medicíny dospělého věku (PMDV) v Bohunicích a z Pracoviště reprodukční medicíny (PRM) na Obilním trhu. OKH je organizačně ve FN zařazeno do celku společných vyšetřovacích a léčebných složek – SVLS.

OKH poskytuje diagnostické, preventivní, terapeutické, depistážní a dispenzární zabezpečení nemocným s chorobami krve a krevtovorných orgánů, ve své klinické části je zaměřeno na neoncologickou oblast těchto stavů. Vedle léčebně preventivní činnosti se zabývá pedagogickými, publikačními a vědecko-výzkumnými aktivitami. Provádí také expertní činnost v celostátním systému externí kontroly kvality.

Činnost OKH se zaměřuje na

- provádění laboratorních diagnostických metod v hematologii včetně interpretace jejich výsledků pro klinickou praxi
- poskytování klinické léčebně-preventivní péče zabezpečované ambulancí OKH
- pregraduální a postgraduální výuková činnost pro různé kategorie pracovníků v oboru hematologie
- experimentální vědecko-výzkumná činnost

2.3 Programy řízení kvality

OKH FN Brno má zaveden program pro řízení kvality v souladu se strategickými záměry FN Brno, s koncepcí oboru hematologie a s legislativními požadavky.

OKH FN Brno má certifikován Systém managementu jakosti dle normy ISO 9001:2000 od 30. dubna 2003 firmou „Det Norske Veritas“. S certifikací pracoviště souvisí i pravidelné provádění kontrolních a recertifikačních auditů. V roce 2010 proběhla recertifikace podle normy ISO9001:2008 a OKH obdrželo certifikát platný od 28.10. 2010. V roce únoru 2011 naše pracoviště bylo

podrobeno akreditačnímu auditu podle normy NIAHO (National Integrated Accreditation for Healthcare Organizations) firmou DNV Healthcare Inc v rámci celonemocničního auditu, na základě něž obdržela FN Brno tuto akreditaci.

OKH FN Brno je zařazeno od 1. 2. 2005 do „Registru klinických laboratoří“ v rámci Programu zvyšování kvality ve zdravotnictví garantovaném MZ ČR – číslo osvědčení: RKL/0457/818.

OKH FN Brno je schváleno ČHS jako Národní kontrolní laboratoř, která zajišťuje odborné a metodické vedení EHK pro společnost SEKK.

OKH FN Brno má již dlouhodobě zaveden vlastní široký program řízení interních kontrol kvality pro jednotlivá vyšetření a pravidelně se účastní systému externího hodnocení kvality jak na národní (firma SEKK), tak mezinárodní úrovni. Certifikáty, které jsou vydávány na základě správnosti provedených analýz, jsou potom dokladem k oprávnění provádění příslušných vyšetření.

2.4 Organizace oddělení

OKH FN Brno tvoří 8 úseků – vedení, úsek morfologie, koagulace, speciální koagulace, úsek speciální morfologie, úsek hematologie PRM, úsek molekulární biologie a genetiky, úsek LEHABI. Ambulance OKH patří organizačně po DTC. Řídící úsek OKH je situováno na Pracovišti medicíny dospělého věku.

Organizace úseků:

- Vedení oddělení: primář, zástupce primáře, vedoucí laborant, THP
- Úsek morfologie: vedoucí VŠ, lékaři, úsekový laborant, NLZP
- Úsek rutinní a speciální koagulace: vedoucí VŠ, lékaři, úsekové laboranti, NLZP
- Úsek speciální morfologie: vedoucí lékař, lékaři, VŠ, úsekový laborant, NLZP
- Úsek hematologie PRM: vedoucí lékař, lékaři, VŠ – nelékař - dozor, úsekový laborant společný OKH, OKB, NLZP
- Úsek molekulární biologie a genetiky: vedoucí VŠ, NLZP
- Úsek LEHABI: vedoucí lékař, lékaři, VŠ, NLZP
- Úsek ambulance: vedoucí lékař, lékaři, NLZP organizačně pod DTC

2.5 Nabízené služby

Vzhledem ke směnnému provozu, organizaci a náplni práce na OKH jsou prováděna vyšetření:

rutinní, speciální, statimová a na ordinaci hematologa, viz. kapitola 4.1.1. Podrobné informace o jednotlivých vyšetřeních jsou uvedeny v následujícím textu (primární vzorky, preanalytický proces, vydávání výsledků, kompletní seznam vyšetřovaných parametrů).

OKH PMDV také zajišťuje ambulantní a konziliární činnost.

3. Příprava pacienta před odběrem

3.1 Odběr žilní krve

Stručný popis: odběr žilní (venózní) krve se většinou provádí ráno nalačno s ohledem na lékové interference a s ohledem na to, že obsah řady analytů během dne v krvi kolísá. Žilní krev se většinou odebírá z horních končetin – kubitální jamky, případně ze žil na dorzální straně rukou.

Ráno před odběrem pacient může konzumovat jen vodu nebo neslazený čaj.

U dětí do 6 let lze tolerovat piškoty nebo suchý rohlík alespoň 2 hod před odběrem.

U kojených dětí poslední kojení alespoň 2 hod. před odběrem.

V případě molekulárně genetického vyšetření je nutný informovaný souhlas pacienta. Formulář je v tištěné podobě k dispozici na ambulanci OKH.

3.1.1 Faktory ovlivňující laboratorní výsledky v preanalytické fázi

3.1.1.1 Fyzická zátěž

Cca 24-48hod před odběrem žilní krve není vhodné provádět nárazovou vysokou fyzickou aktivitu ve smyslu silové či vytrvalostní zátěže. Vhodné je zachovat zavedenou každodenní fyzickou aktivitu.

3.1.1.2 Dieta

Potrava může způsobit změnu koncentrací jednotlivých laboratorních analytů. Aby se zabránilo chybám v interpretaci, doporučuje se lačnění v délce 10-12hod., lačnění delší než 12 hod. je nevhodné, kratší je nedostatečné (netýká se tekutin!! Viz dále). U kojenců a dětí do 6 let viz výše.

3.1.1.3 Dehydratace

Dehydratace může zhoršit, případně i znemožnit vlastní odběr, navíc výsledky laboratorních odběrů mohou být výrazně zkresleny. Je nutné, aby pacient před odběrem dodržoval dostatečný pitný režim. Není však vhodné podávat slazené tekutiny. U kojenců viz výše.

3.1.1.4 Vliv léků

Vliv léků má mimořádný podíl na výsledky laboratorních odběrů.

Nutno přesně specifikovat typ odběru a dle toho eventuelně vyloučit na určitou dobu lék, který konkrétní laboratorní nález může výrazně ovlivnit.

- kyselina acetylsalicylová - vysadit cca 7-10 dnů před odběrem (při odběrech PFA 100, agregace trombocytů)
- ostatní antiagregancia (ticlopidin, clopidogrel, dipyridamol...) a nesteroidní antirevmatika – vhodné vysadit minimálně 24-48 hodin před odběrem (při odběrech PFA 100, agregace trombocytů). Pokud to ve výjimečných případech není možné, je nutné uvést tuto skutečnost na žádance.
- kumariny – s výjimkou sledování léčby se doporučuje provést odběry 6–8 týdnů po vysazení léčby (odběry ProCGlobal, Protein S, Protein C, lupus antikoagulans, všechny K dependentní faktory – FII, FVII, FIX, FX). Pokud je potřeba odběr výše uvedeného i při kumarinech, je tento možný pouze po konzultaci hematologa.
- hormonální antikoncepce, hormonální léčba - doporučuje se provést odběry 6-8 týdnů po vysazení léčby (zejména odběry ProCGlobal, Protein S, Protein C, lupus antikoagulans, FVIII, vWF)
- LMWH (nízkomolekulární hepariny), UFH (nefrakcionované hepariny) – doporučuje se poslední aplikace minimálně 12 hodin před odběry (zejména při odběru lupus antikoagulans) . Při odběrech za účelem monitorace léčby LMWH (antiXa aktivita) se odběr provádí 3-4 hodiny od poslední aplikace (netýká se kontinuálního podávání LMWH). Aplikace heparinů zkresluje např. i stanovení hladiny antitrombinu. Na žádanku je nutné vždy léčbu uvádět.

3.1.1.5 Fyziologické stavy

- Gravidita, šestinedělí
Během gravidity a šestinedělí dochází ke změnám hemokoagulačních poměrů, proto můžou být některé laboratorní odběry ovlivněny (zejména test ProCGlobal, Protein S, vWF, FVIII, euglobulinová lýza)
- Menstruační cyklus
Testy na von Willebrandovu chorobu se doporučují provádět 4.-10.den cyklu, kdy je jeho aktivita nejnižší. Vzhledem k aktivaci fibrinolýzy je vhodné provádět vyšetření na euglobulinovou lýzu až po ukončení menstruace.

3.2 Odběr kostní dřeně

Stručný popis: lékařský zákrok, při kterém se z kostní dřeně odebírá vzorek na morfologické, histologické, cytogenetické a molekulárně genetické vyšetření. Odběrem kostní dřeně rozumíme sternální punkci nebo trepanobiopsii kostní dřeně. Odběr kostní dřeně se může provádět v kteroukoliv denní dobu, pacient nemusí být nalačno. V případě sternální punkce se odběr provádí z oblasti manubria sterni v lokální anestézii, v případě trepanobiopsie kostní dřeně se odběr kostní dřeně provádí z lopaty kosti kyčelní obvykle rovněž v lokální anestézii.

K zamezení krvácení se požaduje u výkonů vyšetření základní koagulace (PT, fibrinogen, aPTT) a KO – počet trombocytů.

K vyšetření kostní dřeně je nutný informovaný souhlas pacienta. Tento je nutný i v případě, že se vzorek kostní dřeně odesílá k molekulárně genetickému vyšetření. Formulář je v tištěné podobě k dispozici na ambulanci OKH.

3.2.1 Faktory ovlivňující laboratorní výsledky v preanalytické fázi

3.2.1.1 Dieta

Není nutné speciální dietní opatření, pacient nemusí být zcela nalačno. Nutné však dodržovat pitný režim.

3.2.1.2 Vliv léků

- kyselina acetylsalicylová – dle ordinace lékaře vysadit cca 7-10 dnů před odběrem kostní dřeně z důvodu možných krvácivých komplikací
- ostatní antiagregancia (ticlopidin, clopidogrel, dipyridamol...) a nesteroidní antirevmatika – dle ordinace lékaře vysadit minimálně 24-48 hodin před odběrem kostní dřeně
- kumariny – během vyšetření kostní dřeně, zejména v případě trepanobiopsie nutné převést pacienta na LMWH z důvodu vysokého rizika krvácení
- LMWH (nízkomolekulární hepariny), UFH (nefrakcionované hepariny) – doporučuje se poslední aplikace minimálně 8-12 hodin před odběrem kostní dřeně

4. Primární vzorky

4.1 Základní informace

Pro intravenózní odběry krve je potřebné dodržovat určité pořadí odběrů, na kterém se shodly laboratorní sekce oboru klinické hematologie a klinické biochemie. Při více odběrech je nutné první zkumavku (4 – 5 ml) krve odebrat na jakákoliv vyšetření (např. biochemie, serologie), a potom následuje přesné pořadí odběrů: krevní obraz, agregace, koagulace, sedimentace a další vyšetření v libovolném pořadí.

Odebrané vzorky do zkumavek s přísadami je nutné bezprostředně po odběru promíchat cca pětinasobným šetrným převrácením. Primární vzorky musí být správně odebrány a identifikovány s řádně vyplněnou žádankou. Ztížené odběry vzorků je vhodné uvádět na žádance, poněvadž tímto může být vyšetření také ovlivněno.

V následující kapitole jsou uvedeny základní informace pro odběry a jednotlivá vyšetření s poznámkami, které uvádí případná odlišení event. specifikace pro pracoviště PMDV nebo [PRM](#).

4.1.1 Seznam vyšetření

Morfologie a hemolýzy							
platí jen pro pracoviště : [X] - PMDV, [●] – PRM							
* písemně následující pracovní den							
+ dle počtu požadavků na vyšetření							
# nelze posílat potrubní poštou							
[t]: není-li uvedeno jinak, rozumí se stabilita při laboratorní teplotě							
typ vyšetření	typ služby: (R)utinní, (S)tativové, (Spec)iální, (Ord)inace hematologa	primární materiál/vyšetř ovaný materiál (pokud je jiný než primární)	množství	obsah odběrové nádoby	stabilita vzorku od odběru do vyšetření [t]	doba obratu	
						statim	Rutina
Krevní obraz a diferenciální rozpočet leukocytů	R, S	nesrážlivá krev	3 ml [X] 0,2-3 ml [●]	EDTA	5 hodin	2 hodiny	tentýž den
Krevní obraz a diferenciální rozpočet leukocytů pro pseudotrombocytopenie	R, S	nesrážlivá krev	3 ml	EDTA s Mg ²⁺	5 hodin	2 hodiny	tentýž den
Krevní obraz s imunologickým vyšetření absolutního počtu trombocytů [X]	R	nesrážlivá krev	3 ml	EDTA	5 hodin		tentýž den
Diferenciální rozpočet leukocytů mikroskopicky	R	nesrážlivá krev	3 ml [X] 0,2-3 ml [●]	EDTA	5 hodin		následující pracovní den
Trombocyty z citrátu	R, S	nesrážlivá krev	3 ml	citrát 1:10	5 hodin	2 hodiny	tentýž den
Trombocyty mikroskopicky	R	nesrážlivá krev	3 ml [X] 0,2-3 ml [●]	EDTA	5 hodin		následující pracovní den
Schistocyty	R	nesrážlivá krev	3 ml [X] 0,2-3 ml [●]	EDTA	5 hodin		následující pracovní den
Retikulocyty [X]	R, S	nesrážlivá krev	3 ml	EDTA	5 hodin	2 hodiny	tentýž den

Osmotická rezistence [X]	R	nesrážlivá krev	3 ml	heparin			písemně do týdne
Autohemolýza [X]	Spec.: Pondělí až středa	defibrinovaná krev	15 ml	skleněná baňka, skleněné kuličky, vydává laboratoř	ihned odeslat		písemně do týdne
Heinzova tělíčka [X]	R	nesrážlivá krev	3 ml	EDTA	ihned odeslat		písemně do týdne
Hemosiderin v moči [X]	R	Moč	10 ml		ihned odeslat		písemně do týdne
Pink test [X]	R	nesrážlivá krev	3 ml	EDTA	ihned odeslat		písemně do týdne
Hemoglobin A2 [X]	R	nesrážlivá krev	3 ml	EDTA	24 hod. při [t], týden při 2-8°C		písemně do týdne
Morfologie speciální							
Sternální punkce [X]	Spec.	kostní dřeň	nátěry na sklo, dle množství odebraného materiálu		24 hodin		3 pracovní dny
Trepanobiopsie [X]	Spec.	kostní dřeň	nátěry na sklo, dle množství odebraného materiálu		24 hodin		3 běžné pracovní dny
Železo [X]	Spec.	kostní dřeň	1 nátěr na sklo		24 hodin		Týden
Alkalická fosfatáza [X]	Spec.	nesrážlivá krev	3 ml	EDTA	24 hodin		Týden

Myeloperoxidáza [X]	Spec.	kostní dřeň, nesrážlivá krev	1 nátěr na sklo; 3 ml	EDTA	24 hodin		Týden
PAS [X]	Spec.	kostní dřeň, nesrážlivá krev	1 nátěr na sklo; 3 ml	EDTA	24 hodin		Týden
Alfa-naftylacetát esteráza a inhibice NaF [X]	Spec.	kostní dřeň, nesrážlivá krev	2 nátěry na sklo; 3 ml	EDTA	24 hodin		Týden
Naftol AS-D chloracetát esteráza [X]	Spec.	kostní dřeň, nesrážlivá krev	1 nátěr na sklo; 3 ml	EDTA	24 hodin		Týden
Kyselá fosfatáza a inhibice kyselinou vinnou [X]	Spec.	kostní dřeň, nesrážlivá krev	2 nátěry na sklo; 3 ml	EDTA	24 hodin		Týden
Kultivace krvevorných buněk CFU-GM [X]	Spec.	kostní dřeň, nesrážlivá krev	10 ml	heparin	ihned odeslat		15 pracovních dnů
Kultivace krvevorných buněk BFU-E [X]	Spec.	kostní dřeň, nesrážlivá krev	10 ml	heparin	ihned odeslat		15 pracovních dnů
Kultivace krvevorných buněk EEC [X]	Spec.	kostní dřeň, nesrážlivá krev	10 ml	heparin	ihned odeslat		15 pracovních dnů
Koagulace							
Protrombinový čas	R,S	nesrážlivá krev / plazma	1,4 nebo 3 nebo 5ml	citrát	2 hodiny	2 hodiny	tentýž den
Fibrinogen	R,S	nesrážlivá krev / plazma	1,4 nebo 3 nebo 5ml	citrát	2 hodiny	2 hodiny	tentýž den
Aktivovaný parciální tromboplastinový čas	R,S	nesrážlivá krev / plazma	1,4 nebo 3 nebo 5ml	citrát	2 hodiny	2 hodiny	tentýž den
Trombinový čas	R,S	nesrážlivá krev / plazma	1,4 nebo 3 nebo 5ml	citrát	2 hodiny	2 hodiny	tentýž den
D-dimery	R,S	nesrážlivá krev / plazma	1,4 nebo 3 nebo 5ml	citrát	2 hodiny	2 hodiny	tentýž den
Antitrombin	R,S	nesrážlivá krev / plazma	1,4 nebo 3 nebo 5ml	citrát	2 hodiny	2 hodiny	tentýž den
Reptilázový čas	R,S	nesrážlivá krev / plazma	1,4 nebo 3 nebo 5ml	citrát	2 hodiny	2 hodiny	tentýž den

Heparin anti Xa - LMWH	R,S	nesrážlivá krev / plazma	1,4 nebo 3 nebo 5ml	citrát nebo spec. CTAD	ihned odeslat	2 hodiny *	tentýž den *
Euglobulinová lýza	Ord	nesrážlivá krev / plazma	1,4 nebo 3 nebo 5ml	citrát	30 minut	4 hodiny	tentýž den
Etanolová gelifikace	R,S	nesrážlivá krev / plazma	3 nebo 5 ml	citrát	30 minut	2 hodiny	tentýž den
Retrakce koagula	Ord	nesrážlivá krev / plazma	5 ml	citrát	ihned odeslat		tentýž den
APTT citlivé k LA	Ord,S	nesrážlivá krev / plazma	3 nebo 5 ml	citrát	2 hodiny	2 hodiny	tentýž den
APTT necitlivé k LA	Ord,S	nesrážlivá krev / plazma	3 nebo 5 ml	citrát	2 hodiny	2 hodiny	tentýž den
Kroužící antikoagulans PT	Ord,S	nesrážlivá krev / plazma	5 ml	citrát	2 hodiny	4 hodiny *	tentýž den *
Kroužící antikoagulans APTT	Ord,S	nesrážlivá krev / plazma	5 ml	citrát	2 hodiny	4 hodiny *	tentýž den *
Korekční test PT	Ord,S	nesrážlivá krev / plazma	3 nebo 5 ml	citrát	2 hodiny	2 hodiny *	tentýž den *
Korekční test APTT	Ord,S	nesrážlivá krev / plazma	3 nebo 5 ml	citrát	2 hodiny	2 hodiny *	tentýž den *
Koagulace speciální							
Agregace ADP	Ord	nesrážlivá krev #	8,2 ml spec. zkumavka	citrát	ihned odeslat		tentýž den*
Agregace kolagen	Ord	nesrážlivá krev #	8,2 ml spec. zkumavka	citrát	ihned odeslat		tentýž den*
Agregace ristocetin	Ord	nesrážlivá krev #	8,2 ml spec. zkumavka	citrát	ihned odeslat		tentýž den*
Agregace epinefrin	Ord	nesrážlivá krev #	8,2 ml spec. zkumavka	citrát	ihned odeslat		tentýž den*
Agregace kys. arachidonová	Ord	nesrážlivá krev #	8,2 ml spec. zkumavka	citrát	ihned odeslat		tentýž den*
Agregace TRAP 6	Ord	nesrážlivá krev #	8,2 ml spec. zkumavka	citrát	ihned odeslat		tentýž den*
Agregace samovolná	Ord	nesrážlivá krev #	8,2 ml spec. zkumavka	citrát	ihned odeslat		tentýž den*
Agregační vyšetření HIT [X]	Ord	nesrážlivá krev #	8,2 ml spec. zkumavka	citrát	ihned odeslat		tentýž den*
Protilátky x Heparin/PF4 (PIFA)	Ord	srážlivá krev / sérum	5 ml		1 hodinu		tentýž den*
Protilátky x Heparin/PF4 (IgG, IgM, IgA) ELISA	Ord	nesrážlivá krev / plazma	3 nebo 5 ml	citrát	1 hodinu		tentýž den*

PFA	Ord	nesrážlivá krev #	3,8 ml spec. zkumavka	citrát	1 hodinu		tentýž den*
Vyšetření LA	Ord	nesrážlivá krev / plazma	2x 5 ml	citrát	ihned odeslat		3 týdny
Faktor II	Ord,S	nesrážlivá krev / plazma	3 nebo 5 ml	citrát	1 hodinu	tentýž den*	6 týdnů
Faktor V	Ord,S	nesrážlivá krev / plazma	3 nebo 5 ml	citrát	1 hodinu	tentýž den*	6 týdnů
Faktor VII	Ord,S	nesrážlivá krev / plazma	3 nebo 5 ml	citrát	1 hodinu	tentýž den*	6 týdnů
Faktor X	Ord,S	nesrážlivá krev / plazma	3 nebo 5 ml	citrát	1 hodinu	tentýž den*	6 týdnů
Faktor VIII	Ord,S	nesrážlivá krev / plazma	3 nebo 5 ml	citrát	1 hodinu	tentýž den*	2 týdny
Faktor IX	Ord,S	nesrážlivá krev / plazma	3 nebo 5 ml	citrát	1 hodinu	tentýž den*	1 měsíc
Faktor XI	Ord,S	nesrážlivá krev / plazma	3 nebo 5 ml	citrát	1 hodinu	tentýž den*	1 měsíc
Faktor XII	Ord,S	nesrážlivá krev / plazma	3 nebo 5 ml	citrát	1 hodinu	tentýž den*	1 měsíc
Inhibitor faktorů	Ord,S	nesrážlivá krev / plazma	3 nebo 5 ml	citrát	1 hodinu	tentýž den*	2 měsíce
Faktor XIII	Ord	nesrážlivá krev / plazma	5 ml	citrát	1 hodinu		2 měsíce
ProC Global	Ord	nesrážlivá krev / plazma	3 nebo 5 ml	citrát	1 hodinu		14 dnů
APC-rezistence	Ord	nesrážlivá krev / plazma	3 nebo 5 ml	citrát	1 hodinu		2 měsíce
Protein C	Ord	nesrážlivá krev / plazma	3 nebo 5 ml	citrát	1 hodinu	tentýž den*	6 týdnů
Protein S	Ord	nesrážlivá krev / plazma	3 nebo 5 ml	citrát	1 hodinu		6 týdnů
Plazminogen	Ord	nesrážlivá krev / plazma	3 nebo 5 ml	citrát	1 hodinu		6 měsíců
Alfa-2-antiplazmin	Ord	nesrážlivá krev / plazma	3 nebo 5 ml	citrát	1 hodinu		6 měsíců
PAI-1	Ord,S	nesrážlivá krev / plazma	3 nebo 5 ml	citrát	ihned odeslat	tentýž den*	2 měsíce +
VWF:RCo	Ord,S	nesrážlivá krev / plazma	3 nebo 5 ml	citrát	1 hodinu	tentýž den*	1 měsíc

LIAVWF:Ag	Ord	nesrážlivá krev / plazma	3 nebo 5 ml	citrát	2 hodiny		6 týdnů
ELISA VWF:CBA	Ord	nesrážlivá krev / plazma	3 nebo 5 ml	Citrát	2 hodiny		6 týdnů +
LIA protein S- volný	Ord	nesrážlivá krev / plazma	3 nebo 5 ml	citrát	2 hodiny		6 měsíců +
ELISA protein S - celkový	Ord	nesrážlivá krev / plazma	3 nebo 5 ml	citrát	2 hodiny		6 měsíců +
EID fibrinogenu	Ord	nesrážlivá krev / plazma	3 nebo 5 ml	citrát	2 hodiny		6 měsíců
LIA antitrombinu	Ord	nesrážlivá krev / plazma	3 nebo 5 ml	citrát	2 hodiny		6 měsíců
Solubilní transferinový receptor	Ord	srážlivá krev / sérum	5 ml		2 hodiny		3 měsíce +
Trombin generační test	Ord	nesrážlivá krev / plazma	3 nebo 5 ml	citrát	2 hodiny	dle dohody	6 týdnů
Molekulární genetik a [X]							
Izolace DNA	Spec	nesrážlivá krev	>1 ml	EDTA	48 hodin (lab. teplota) / měsíc (2-8°C)	dle dohody	6 týdnů
Stanovení polymorfismu FVL G1691A	Spec	DNA	6 µl		20 let (< -20°C)	dle dohody	6 týdnů
Stanovení polymorfismu Prothr. G20210A	Spec	DNA	6 µl		20 let (< -20°C)	dle dohody	6 týdnů
Stanovení polymorfismu MTHFR C677T	Spec	DNA	6 µl		20 let (< -20°C)	dle dohody	6 týdnů
Stanovení polymorfismů HFE: C282Y, H63D, S65C	Spec	DNA	6 µl		20 let (< -20°C)	dle dohody	6 týdnů
Stanovení polymorfismu PAI-1 (4G/5G)	Spec	DNA	6 µl		20 let (< -20°C)	dle dohody	6 týdnů
Stanovení polymorfismu FXIII Val34Leu	Spec	DNA	6 µl		20 let (< -20°C)	dle dohody	6 týdnů
Stanovení polymorfismu FV Cambridge	Spec	DNA	6 µl		20 let (< -20°C)	dle dohody	6 týdnů
LEHABI [X]							
T lymfocyty	R	kostní dřeň, krev - nesrážlivá	2,7 ml	EDTA	24 hodin		4 dny
B lymfocyty	R	kostní dřeň, krev - nesrážlivá	2,7 ml	EDTA	24 hodin		4 dny
NK buňky	R	kostní dřeň, krev - nesrážlivá	2,7 ml	EDTA	24 hodin		4 dny

Monocyty	R	kostní dřeň, krev - nesrážlivá	2,7 ml	EDTA	24 hodin		4 dny
Myeloidní buňky	Spec	kostní dřeň, krev - nesrážlivá	2,7 ml	EDTA	24 hodin		4 dny
Leukocyty	R	kostní dřeň, krev - nesrážlivá	2,7 ml	EDTA	24 hodin		4 dny
Dendritické buňky	Spec	kostní dřeň, krev - nesrážlivá	2,7 ml	EDTA	2 hodiny		4 dny
Trombocyty	R	kostní dřeň, krev - nesrážlivá	2,7 ml	citrát	2 hodiny		4 dny
Kmenové buňky	Spec	kostní dřeň, krev - nesrážlivá	2,7 ml	EDTA	2 hodiny		4 dny
Apoptotické buňky	Spec	kostní dřeň, krev - nesrážlivá	2,7 ml	EDTA	2 hodiny		4 dny
Expresce TCR receptorů	R	kostní dřeň, krev - nesrážlivá	2,7 ml	EDTA	24 hodin		4 dny
Expresce kostimulačních molekul	Spec	kostní dřeň, krev - nesrážlivá	2,7 ml	EDTA	24 hodin		4 dny
Expresce povrchových a intracelulárních lehkých řetězců	Spec	kostní dřeň, krev - nesrážlivá	2,7 ml	EDTA	24 hodin		3 dny
Aktivace T lymfocytů	R	kostní dřeň, krev - nesrážlivá	2,7 ml	EDTA	2 hodiny		4 dny
Absolutní počet buněk	R	krev - nesrážlivá	2,7 ml	EDTA	2 hodiny		4 dny
Základní imunofenotypizace	R	kostní dřeň, krev - nesrážlivá	2,7 ml	EDTA	24 hodin		3 dny
Imunofenotypizace u mnohočetného myelomu	Spec	kostní dřeň, krev - nesrážlivá	2,7 ml	EDTA	24 hodin		3 dny
Imunomonitoring	Spec	krev - nesrážlivá	2,7 ml	EDTA	2 hodiny		3 dny
DNA analýza	Spec	kostní dřeň, krev - nesrážlivá	2,7 ml	EDTA	24 hodin		Měsíc
Rozmražení lymfocytů	Spec	zamražené lymfocyty					
Izolace T,B dynabeads	Spec	kostní dřeň, krev - nesrážlivá	40-60 ml	IMDM medium	ihned odeslat		2 měsíce
Izolace MNC pro kultivace	Spec	kostní dřeň, krev - nesrážlivá	5 ml	heparin	ihned odeslat		2 měsíce
Izolace MNC pro typizace	Spec	kostní dřeň, krev - nesrážlivá	5 ml	heparin	ihned odeslat		2 měsíce

výroba protinádorových pediatrických vakcín	Spec	krev - nesrážlivá		heparin	ihned odeslat		
Experimentální expanze tumor infiltrujících lymfocytů	Spec						
Stanovení mikropartikulí	Spec	krev - nesrážlivá	2,7 ml	citrát	ihned odeslat		4 dny
Nespecifická stimulace lymfocytů	Spec	krev - nesrážlivá	1 ml	heparin sodný	ihned odeslat		Týden
výroba protinádorových vakcín pro pacienty s mnohočetným myelomem	Spec	krev - nesrážlivá		heparin	ihned odeslat		

4.2 Požadavky na vyšetření

4.2.1 Identifikace primárního vzorku

Identifikační údaje uvedené na vzorku se musí shodovat s údaji na žádance.

Vzorek musí být jednoznačně identifikován nejméně následujícími údaji:

- jméno a příjmení
- číslo pojištěnce (rodné číslo)
- datum, případně časový údaj o odběru (je-li např. odesíláno více vzorků odebraných s časovým odstupem)
- odesílající oddělení

4.2.2 Požadavkový list (žádanka)

Na žádance musí být uvedeny následující údaje:

- číslo pojištěnce (rodné číslo)
- příjmení a jméno pacienta
- požadavek na vyšetření
- požadavek na typ zpracování: běžné, statimové, vitální indikace – viz. dále
- kód zdravotní pojišťovny, kde je pacient pojištěn v době odběru
- odesílající pracoviště a jeho číselný kód
- kontakt na odesílající pracoviště (telefon, adresa)
- IČP odesílajícího lékaře
- razítko a podpis lékaře
- základní, případně související diagnózy dle MKN-10
- případné podstatné klinické informace související s požadovaným vyšetřením

- datum a čas odběru vzorku

Údaje na žádance jsou nezbytným podkladem pro zadávání dat o pacientovi do LIS.

Biologický materiál s pozitivitou HIV nebo HBSAg je vhodné viditelně na žádance označit.

4.2.3 Telefonický požadavek

V případě potřeby doplnění některého vyšetření z již dodaného vzorku je možné uplatnit ústní (telefonický) požadavek na dodatečné vyšetření. Možnost doplnění vyšetření je ale závislá na dostatečném množství vzorku pro provedení dodatečné analýzy a dále na časovém odstupu od odběru materiálu (viz. kapitola 4.1.1). Pokud lze vyšetření dodatečně provést, je o telefonickém požadavku na doplnění vyšetření proveden záznam na prvotním požadavkovém listu s poznámkou „doordinováno“.

4.2.4 Urgentní požadavek

Požadavek na statimové vyšetření je nutné na žádanku výrazně napsat nebo použít pro tyto účely předtištěný formulář.

Požadavek na vyšetření z vitální indikace je nutné na žádance výrazně označit a současně tuto skutečnost oznámit telefonicky na laboratoř.

4.3 Manipulace se vzorky

Veškeré manipulace se vzorky před předáním na OKH musí být bezpečné a zajišťovat stabilitu biologického materiálu do vyšetření na laboratoři.

4.3.1 Bezpečnost při práci s biologickým materiálem

Základní informace o bezpečnosti práce s biologickým materiálem jsou uvedeny ve Vyhlášce Ministerstva zdravotnictví č. 440/2000Sb. Vyhláška obsahuje obecné zásady o předcházení vzniku a šíření infekčních onemocnění ve zdravotnických zařízeních.

Vždy je nutné mít na paměti:

- každý vzorek může být potenciálně infekční
- odběrová nádobka, ani žádanka nesmí být kontaminovány biologickým materiálem

4.3.2 Doprava vzorků

Stabilita biologického materiálu pro jednotlivá vyšetření je uvedena v kapitole 4.1.1. Těmito zásadami je nutné se řídit při transportu vzorků na OKH a podle toho zajistit potřebnou tepelnou stabilitu (např. transport v polystyrénových boxech).

Vzorky nesmí být vystaveny vyšším teplotám (např. přímému slunečnímu svitu, uložení na topení), příliš nízkým teplotám (především plná krev) nebo mechanickému poškození (prudké třepání vzorků).

Vzorky musí být dopravovány uzavřené, aby se nemohly vylít nebo, aby nemohlo dojít k jejich jinému znehodnocení.

Doprava vzorků na OKH:

- zdravotničtí pracovní (zaměstnanci FN Brno, pracovníci svozu z okolních zdravotnických zařízení)
- potrubní pošta

Pokud jsou vzorky dodávány na OKH zdravotnickými pracovníky, musí být vzorky předány osobně do rukou pracovníkům na příjmu biologického materiálu.

5. Příjímání vzorků

5.1 Příjem vzorků a žádanek

Na oddělení je přijat pouze vzorek určený ke zpracování na OKH, musí být správně odebraný, viditelně nepoškozený, nepotřísněný a správně identifikovaný v souladu se správně vyplněnou a nepotřísněnou dodanou žádankou.

5.2 Nepřijetí vzorků a žádanek

Pokud nastane nesrovnalost se vzorkem nebo dokumentací a situaci nelze bezprostředně napravit, je o nevyšetřeném vzorku proveden záznam do sešitu neshod.

Za určující se vždy považují údaje uvedené na odběrové zkumavce.

Nesprávně dodaný BM je určený k likvidaci a nesprávné žádanky se archivují.

5.2.1 Vzorek není určen k vyšetření na OKH

BM není přijat a je vrácen i se žádankou zpět odesílateli.

5.2.2 Nesprávně dodaný BM

- Se správnou žádankou
Zaměstnanec OKH telefonicky informuje odesílatele a vyžádá nový odběr. Nový vzorek má být dodán co nejdříve po upozornění.
- S nesprávnou žádankou
Zaměstnanec OKH telefonicky informuje odesílatele a vyžádá nový odběr i s novou žádankou.

- Bez žádanky a bez udání odesilatele
BM je určen k likvidaci.
- Bez žádanky s údajem o odesilateli na BM
Zaměstnanec OKH telefonicky informuje odesilatele a vyžádá nový odběr i s novou žádankou.
- BM je potřísněný
Zaměstnanec OKH telefonicky informuje odesilatele a vyžádá nový odběr.

5.2.3 Správně dodaný BM bez žádanky nebo s nesprávnou (i potřísněnou) žádankou

- Odesílatel není známý
BM je určen k likvidaci.
- Odesílatel je známý
Zaměstnanec OKH telefonicky informuje odesilatele a vyžádá si k BM novou žádanku.
Pokud je žádanka dodána včas, je BM přijat standardním způsobem.
Pokud žádanka nedoručí nebo nedoručí včas (viz. stabilita BM, kapitola 3.1), je BM určen k likvidaci.

5.2.4 Dodaná pouze žádanka bez BM

Zaměstnanec OKH telefonicky informuje odesilatele a vyžádá si BM.

BM dodán: potom je přijat standardním způsobem

BM nedodán: žádanka je archivována

5.2.5 K BM chybí žádanka, ale BM má označení VITÁLNÍ INDIKACE nebo STATIM BM je neprodleně přijat a předán k analýze, zaměstnanec OKH žádanku následně telefonicky vyžádá.

5.2.6 Zásadní rozpor v identifikaci žádanky a BM (nesouhlas jména, příjmení, RČ nebo rok narození pacienta) nebo BM nelze identifikovat

BM není přijat, zaměstnanec OKH telefonicky informuje odesilatele a vrátí vzorek BM i se žádankou zpět.

5.2.7 Rozlité BM při transportu potrubní poštou

Zaměstnanec OKH zásilku s BM nerozbaluje a ihned informuje telefonicky odesílající oddělení o vzniklé situaci a technika potrubní pošty, který se postará o desinfekci a vyčištění potrubní pošty. Zaměstnanec OKH si od odesilatele vyžádá nový odběr BM i s patřičnou dokumentací. Odesílající oddělení je také povinno si znehodnocený BM osobně vyzvednout na OKH.

6. Vydávání výsledků

6.1 Způsoby vydávání výsledků

- vytištěné záznamy jsou rozesílány potrubní poštou na zadávající pracoviště
- elektronické záznamy jsou převáděny do NIS Amis
- pokud potrubní pošta nefunguje nebo zadávající pracoviště není napojeno na potrubní poštu, určená ZL rozděljuje záznamy s výsledky do přihrádek dle jednotlivých oddělení (v PDM společně s OKB), odkud je vyzvedává pověřený zdravotnický pracovník
- pokud je zadavatel mimo FN Brno a záznamy výsledků si sám nevyzvedává jsou rozesílány poštou
- ve výjimečných/urgentních případech ZL, VŠ nelékař nebo lékař výsledky sděluje telefonicky

V každém případě jsou ale vždy výsledky vyšetření vydávány písemně ve formě, kterou umožňuje LIS – Infolab.

Výsledky vyšetření se nevydávají do rukou přímo pacientům, ani se jim nesmí sdělovat.

6.2 Telefonické hlášení výsledků

Telefonicky se výsledky sdělují pouze ošetřujícímu lékaři nebo lékaři příslušného oddělení nebo NLZP příslušného oddělení a to v případě, že nevzniká pochybnost o totožnosti osoby, která výsledky přebírá.

Výsledky, které určují svým charakterem diagnózu zhoubných onemocnění a závažných přenosných onemocnění, nelze telefonicky sdělovat.

Pověření pracovníci laboratoře sami hlásí výsledky v následujících situacích:

- výsledky z vitální indikace
- výsledky vyžadující neodkladné oznámení
- výsledky statimových vyšetření během pohotovostní služby na základě vyžádání oddělení
- zásadní komentář k výsledkům laboratorních vyšetření (v neodkladných případech)

Pověření pracovníci laboratoře odpovídají na telefonickou žádost o výsledek vyšetření:

- mimo výše uvedený výčet případů jsou telefonické dotazy zcela výjimečné a musí být žadatelem řádně odůvodněné

- žadatel o telefonický výsledek vyšetření musí uvést pracoviště odkud volá a své jméno
- pokud je pracovník laboratoře odpovídající na dotaz v pochybnostech o identifikaci volaného a jedná se o závažný laboratorní údaj, vyžádá si telefonní číslo oddělení, odkud je vznášen požadavek, spojí se s uvedeným žadatelem opětovně a oznámí požadované údaje. V případě jakýchkoliv nejasností může požadovat k telefonu jinou kompetentní osobu.
- oznamování předběžných výsledků ještě kompletně neuzavřených vyšetření je v odůvodněných případech na rozhodnutí vedoucích úseků OKH a jím pověřených pracovnících

Po telefonickém sdělení výsledku provede oprávněná osoba laboratoře záznam do LIS. Zaznamená čas, kdo výsledek ohlásil a komu byl výsledek ohlášen (výjimkou je sdělování výsledků kostní dřeně – v kompetenci lékaře OKH).

6.3 Opakovaná a dodatečná vyšetření

Vzhledem k tomu, že oddělení má dlouhodobě široce rozvedený program řízení interních i externích kontrol kvality pro jednotlivá vyšetření, počet opakování vyšetření se výrazně snížil. Pokud se ale vyšetření opakuje, existují k tomu jasné a jednoznačné důvody. Je-li možné vyšetření opakovat v rámci stability BM ze stávajícího odběru, vyšetření se zopakuje a do výsledkového listu je tato skutečnost zapsána. Pokud je BM k opakování vyšetření nevhodný, vyžádá si laboratoř nový odběr i se žádankou a do výsledkového listu nesprávného BM je o tom také proveden zápis.

BM je na oddělení skladován dle typů vyšetření, která jsou z daného odebraného BM prováděna. Z uskladněného BM lze na vyžádání dle stability a typu vzorku vyšetření zopakovat.

Doordinovaná vyšetření – viz. kapitola 3.2.3.

6.4 Změny výsledků a nálezů

O veškerých neshodách, ať ze strany laboratoře nebo ze strany odesilatele jsou vedeny záznamy.

6.4.1 Neshoda zjištěná na OKH

- chyba ze strany laboratoře

Pokud ve výjimečných situacích laboratoř zašle odesilateli nesprávný výsledek ať po síti nebo v tištěné formě, telefonuje pověřený zdravotnický pracovník bezprostředně po zjištění neshody odesilateli. Vyžádá si zpět tištěnou formu výsledků, která je

založena, evidována na OKH a o situaci je uvědomen vedoucí daného laboratorního úseku, případně dle závažnosti i primář OKH. Nový – správný výsledek je zaslán odesílateli co nejdříve po zjištění daného stavu s okomentováním a vysvětlením příslušné situace.

- chyba ze strany odesílatele

Pokud vznikne na laboratoři během vyšetřování podezření na chybu ze strany odesílatele (porovnání s předešlými výsledky v LIS), telefonuje zdravotnický pracovník odesílateli o vysvětlení a po domluvě si vyžádá nový odběr nebo výsledky vydá s příslušným komentářem. Pokud se jedná o podezření nebo o potvrzení záměny vzorku na oddělení, potom jsou výsledky vydány nebo ne (dle situace) s patřičným komentářem, o situaci je informován vedoucí laboratorního úseku a proveden záznam i s kopií podezřelých výsledků.

6.4.2 Neshoda zjištěná odesílatelem

Odesílající oddělení informuje laboratoř, situaci dostane na vědomí vedoucí příslušného laboratorního úseku, primář oddělení a je proveden zápis i s přiložením chybného výsledku, který je vyžádán zpět z oddělení (viz. kapitola 5.4.1). Správné vyšetření je provedeno buď z již dodaného odběru nebo je laboratoři vyžádán nový odběr (viz. stabilita BM), do jehož komentáře ke zapsána potřebná poznámka ke vzniklé situaci.

6.5 Konzultační činnost laboratoře

O konzultaci lze požádat na všech laboratorních úsecích. Příslušnou informaci podá vždy kompetentní zdravotnický pracovník pro danou problematiku (laborant, VŠ nebo lékař.)

6.6 Řešení stížností

Stížnosti na OKH řeší primář oddělení a vedoucí laborantka. Stížnosti jsou evidovány v deníku reklamací, viz. kapitola 5.4.2.

7. Seznam vyšetřovaných parametrů

Morfologie a hemolýzy						
parametr		analytická metoda	referenční meze		jednotky	interference
název	zkratka		věk, pohlaví	interval		
Krevní obraz a diferenciální rozpočet leukocytů						
Leukocyty	WBC	analyzátor: opticky impedančně	0 - 1 den	8,00 - 38,00	10 exp9 /L	sraženiny PLT, shlukování PLT,

			2 dny - 1 rok	5,00 - 15,00	10 exp9 /L			
			1 - 5 let	4,00 - 13,00	10 exp9 /L			
			5 - 12 let	4,00 - 12,00	10 exp9 /L			
			12 a více let	4,00 - 10,00	10 exp9 /L			
Erytrocyty	RBC	analyzátor: impedančně	0 - 1 den	4,10 - 6,00	10 exp12 /L			
			2 dny - 1 měsíc	3,80 - 5,30	10 exp12 /L			
			1 - 3 měsíce	3,50 - 4,50	10 exp12 /L			
			3 měsíce - 1 rok	3,50 - 5,30	10 exp12 /L			
			1 - 5 let	3,80 - 5,30	10 exp12 /L			
			5 - 12 let	4,20 - 5,50	10 exp12 /L			
			muži: 12 - 15 let	4,30 - 5,50	10 exp12 /L			
			ženy: 12 - 15 let	4,20 - 4,70	10 exp12 /L			
			muži: 15 a více let	4,00 - 5,90	10 exp12 /L			
			ženy: 15 a více let	3,80 - 5,40	10 exp12 /L			
			Hemoglobin	HGB	analyzátor: fotometricky	0 - 1 den	140 - 220	g / L
						2 dny - 1 měsíc	110 - 170	g / L
						1 měsíc - 1 rok	100 - 130	g / L
1 - 5 let	110 - 150	g / L						
5 - 12 let	120 - 150	g / L						
muži: 12 - 15 let	130 - 165	g / L						
ženy: 12 - 15 let	120 - 160	g / L						
muži: 15 a více let	130 - 176	g / L						
ženy: 15 a více let	120 - 160	g / L						
Hematokrit	HCT	analyzátor: automatický výpočet				0 - 1 den	0,43 - 0,63	L / L
			2 dny - 1 měsíc	0,31 - 0,49	L / L			
			1 - 3 měsíce	0,29 - 0,41	L / L			
			3 měsíce - 1 rok	0,33 - 0,39	L / L			
			1 - 5 let	0,33 - 0,41	L / L			
			5 - 12 let	0,35 - 0,45	L / L			
			muži: 12 - 15 let	0,36 - 0,47	L / L			
			ženy: 12 - 15 let	0,37 - 0,43	L / L			
			muži: 15 a více let	0,39 - 0,51	L / L			
			ženy: 15 a více let	0,35 - 0,46	L / L			
Střední objem erytrocytů	MCV	analyzátor: impedančně	0 - 1 den	90 - 121	fL			
			2 dny - 1 měsíc	80 - 110	fL			
			1 - 3 měsíce	75 - 95	fL			
			3 měsíce - 1 rok	70 - 86	fL			
			1 - 5 let	71 - 88	fL			

hyperlipidémie,
hyperbilirubinémie, hemolytický
vzorek, starý vzorek,
autoaglutinace, kryoproteiny,
monoklonální proteiny, jaderné
erytrocyty, gigantické trombocyty,
úlomky erytrocytů, rigidní
erytrocyty, odběr do heparinu

			5 - 12 let	75 - 90	fL			
			muži: 12 - 15 let	79 - 91	fL			
			ženy: 12 - 15 let	82 - 92	fL			
			15 a více let	84,00 - 96,00	fL			
Střední množství hemoglobinu v erytrocytu	MCH	analyzátor: automatický výpočet	0 - 1 den	31,00 - 37,00	Pg			
			2 dny - 1 měsíc	28,00 - 34,00	Pg			
			1 - 3 měsíce	25,00 - 31,00	Pg			
			3 měsíce - 1 rok	24,00 - 29,00	Pg			
			1 - 12 let	25,00 - 31,00	Pg			
			muži: 12 - 15 let	26,00 - 32,00	Pg			
			ženy: 12 - 15 let	27,00 - 33,00	Pg			
			15 a více let	28,00 - 34,00	Pg			
			Střední koncentrace hemoglobinu v erytrocytu	MCHC	analyzátor: automatický výpočet	0 - 1 den	300,00 - 360,00	g / L
						2 dny - 1 měsíc	290,00 - 370,00	g / L
1 měsíc - 5 let	300,00 - 360,00	g / L						
5 - 12 let	320,00 - 360,00	g / L						
12 a více let	320,00 - 370,00	g / L						
Distribuční šířka erytrocytů	RDW	analyzátor: automatický výpočet	dospělí, děti	10,00 - 15,20	%			
Trombocyty	PLT	analyzátor: opticky, impedančně, mikroskopicky	0 - 18 let	130 - 440	10 exp9 /L			
			18 a více let	150 - 350	10 exp9 /L			
	PLT-CD61 pozitivní	analyzátor: imunologicky	0 - 18 let	130 - 440	10 exp9 /L			
			18 a více let	150 - 350	10 exp9 /L			
Střední objem trombocytů	MPV	analyzátor: opticky, impedančně	dospělí, děti	7,80 - 11,00	fL			
Hematokrit trombocytů	PCT	analyzátor: automatický výpočet	dospělí, děti	1,21 - 3,50	ml / L			
Distribuční šířka trombocytů	PDW	analyzátor ABBOTT: automatický výpočet	dospělí, děti	15,5 - 17,1	%			
		analyzátor Sysmex: automatický výpočet	dospělí, děti	9,0 - 17,0	fl			
Neutrofilů	NEU	analyzátor: opticky, impedančně; mikroskopicky	dospělí, děti	2,00 - 7,00	10 exp9 /L			
			0 - 1 den	52,00 - 69,00	%			
			2 - 7 dní	32,00 - 46,00	%			
			8 dní - 1 měsíc	22,00 - 34,00	%			
			1 měsíc - 4 roky	22,00 - 34,00	%			
			4 - 6 let	32,00 - 40,00	%			
			6 - 12 let	40,00 - 56,00	%			
			12 - 16 let	45,00 - 58,00	%			

			16 - 18 let	48,00 - 70,00	%
			18 a více let	50,00 - 70,00	%
Tyče	Tyče (Band)	mikroskopicky	0 - 1 den	5,00 - 10,00	%
			2 - 7 dní	3,00 - 7,00	%
			8 dní - 6 měsíců	0 - 4,00	%
			6 měsíců - 16 let	0 - 3,00	%
			16 - 18 let	1,00 - 2,00	%
			18 a více let	0,00 - 4,00	%
			Metamyelocyty	META	mikroskopicky
Myelocyty	MYELO	mikroskopicky	dospělí, děti	0,0 - 0,0	%
Promyelocyty	PROMY	mikroskopicky	dospělí, děti	0,0 - 0,0	%
Blasty	BLAST	mikroskopicky	dospělí, děti	0,0 - 0,0	%
Plazmatické buňky		mikroskopicky	dospělí, děti	0,0 - 0,0	%
LGL		mikroskopicky	dospělí, děti	0,12 - 0,33	10 exp9 /L
Nediferencované buňky		mikroskopicky	dospělí, děti	0,0 - 0,0	%
Nediferencované blasty		mikroskopicky	dospělí, děti	0,0 - 0,0	%
Lymfocyty	LYM	analyzátor: opticky, impedančně; mikroskopicky	dospělí, děti	0,80 - 4,00	10 exp9 /L
			0 - 1 den	24,00 - 32,00	%
			2 - 7 dní	35,00 - 47,00	%
			8 dní - 1 měsíc	50,00 - 72,00	%
			1 měsíc - 4 roky	42,00 - 57,00	%
			4 - 6 let	37,00 - 48,00	%
			6 - 12 let	30,00 - 44,00	%
			12 - 16 let	27,00 - 41,00	%
			16 - 18 let	23,00 - 45,00	%
			18 a více let	20,00 - 40,00	%
Monocyty	MONO	analyzátor: opticky, impedančně; mikroskopicky	dospělí, děti	0,08 - 1,20	10 exp9 /L
			0 - 42 dní	1,00 - 13,00	%
			43 dní - 10 let	1,00 - 9,00	%
			10 - 18 let	3,00 - 8,00	%
			18 a více let	2,00 - 12,00	%
Eozinofily	EOS	analyzátor: opticky, impedančně; mikroskopicky	dospělí, děti	0,0 - 0,50	10 exp9 /L
			dospělí, děti	0,0 - 5,00	%
Bazofily	BASO	analyzátor: opticky, impedančně; mikroskopicky	dospělí, děti	0,0 - 0,10	10 exp9 /L
			dospělí, děti	0,0 - 1,00	%

Normoblasty	NRBC	analyzátor: fluorescenčně	dospělí, děti	0,0 - 0,0	10 exp9 /L
		analyzátor: fluorescenčně, mikroskopicky	dospělí, děti	0,0 - 0,0	na 100 WBC
Retikulyocyty	RETI	analyzátor: opticky, fluorescenčně	dospělí, děti	25,0 - 75,0	10 exp9 /L
			0 - 1 den	3,00 - 7,00	%
			2 - 3 dny	1,00 - 3,00	%
			4 - 7 dní	0,00 - 1,00	%
			8 - 30 dní	0,20 - 2,00	%
			31 - 45 dní	0,30 - 3,50	%
			46 - 60 dní	0,40 - 4,80	%
			61 - 75 dní	0,30 - 4,20	%
			76 - 90 dní	0,30 - 3,60	%
			91 dní - 10 let	0,20 - 2,80	%
			10 - 18 let	0,50 - 1,50	%
18 a více let	0,50 - 2,50	%			
Podíl nezralých retikulyocytů	IRF	analyzátor ABBOTT: automatický výpočet	dospělí	0,0 - 0,3	
		analyzátor Sysmex: fluorescenčně + výpočet	muži	2,10 - 13,8	%
			ženy	2,40 - 17,5	%
Schistocyty	SCHI	mikroskopicky	dospělí, děti	0 - 4	na 1000 RBC
Vyšetření hemolytických anemií					
Osmotická rezistence		titrační metoda	dospělí, děti: minimální	0,40 - 0,44	% NaCl
			maximální	0,30 - 0,32	% NaCl
Autohemolýza		fotometricky	dospělí, děti: fyziologický roztok	0,2 - 3,5	%
			po glukóze	0,0 - 0,8	%
			po ATP	0,0 - 0,8	%
Heinzova tělíska		mikroskopicky	dospělí, děti: bez inkubace	nepřítomna	
			po inkubaci	0 - 30	%
Hemosiderin v moči		mikroskopicky	dospělí, děti	nepřítomen	
Pink test		fotometricky	dospělí, děti	1,0 - 23,7	%
Hemoglobin A2		fotometricky	dospělí, děti	1,5 - 3,5	%
Morfologie speciální					
Myelogram: sternální punkce, trepanobiopsie					

Myeloblast	Mybl	mikroskopicky	0 - 1 měsíc	0,0 - 5,0	%
			1 měsíc - 18 let	0,2 - 5,0	%
			18 let a více	0,1 - 3,5	%
Promyelocyt	Promy	mikroskopicky	0 - 1 měsíc	2,0 - 25,0	%
			1 měsíc - 1 rok	5,0 - 15,0	%
			1 - 3 let	0,5 - 7,5	%
			3 - 18 let	0,5 - 10,5	%
			18 let a více	0,1 - 5,0	%
Myelocyt	My	mikroskopicky	0 - 1 měsíc	2,0 - 25,0	%
			1 měsíc - 1 rok	5,0 - 15,0	%
			1 - 3 let	5,0 - 20,0	%
			3 - 18 let	5,0 - 25,0	%
			18 let a více	5,0 - 23,0	%
Metamyelocyt	Mmy	mikroskopicky	0 - 1 měsíc	5,0 - 25,0	%
			1 měsíc - 1 rok	5,0 - 15,0	%
			1 - 3 let	5,0 - 20,0	%
			3 - 18 let	5,0 - 25,0	%
			18 let a více	10,0 - 30,0	%
Tyče	Tyče	mikroskopicky	0 - 1 měsíc	5,0 - 30,0	%
			1 měsíc - 1 rok	5,0 - 15,0	%
			1 - 3 let	5,0 - 20,0	%
			3 - 18 let	5,0 - 25,0	%
			18 let a více	10,0 - 30,0	%
Segmenty	Segmenty	mikroskopicky	0 - 1 měsíc	10,0 - 35,0	%
			1 měsíc - 1 rok	1,0 - 15,0	%
			1 - 12 let	10,0 - 17,5	%
			12 - 18 let	0,5 - 20,0	%
			18 let a více	7,0 - 25,0	%
Eozinofilní myelocyt	Eos my	mikroskopicky			%
Eozinofilní metamyelocyt	Eos mmy	mikroskopicky			%
Eozinofilní tyč	Eos tyč	mikroskopicky	dospělí, děti		%
Eozinofilní segment	Eos seg	mikroskopicky	0 - 1 měsíc	0,0 - 7,5	%
			1 měsíc - 1 rok	1,0 - 7,5	%
			1 - 3 let	1,5 - 7,5	%
			3 - 6 let	1,0 - 7,5	%
			6 - 12 let	1,0 - 7,0	%
			12 - 18 let	1,0 - 7,5	%

			18 let a více	0,2 - 3,0	%
Bazofilní myelocyt	Baso my	mikroskopicky			%
Bazofilní metamyelocyt	Baso mmy	mikroskopicky			%
Bazofilní segment	Baso seg	mikroskopicky	0 - 1 rok	0,0 - 1,0	%
			1 - 6 let	0,0 - 0,5	%
			6 - 12 let	0,0 - 0,05	%
			12 - 18 let	0,0 - 1,0	%
			18 let a více	0,0 - 0,5	%
Proerythroblast	Proerybl	mikroskopicky	0 - 1 měsíc	0,0 - 3,0	%
			1 měsíc - 18 let	0,5 - 3,0	%
			18 let a více	0,5 - 5,0	%
Makroblast	Makrobl	mikroskopicky			%
Normoblast bazofilní	Normobl baso	mikroskopicky	0 - 1 měsíc	0,0 - 10,0	%
			1 měsíc - 1 rok	0,5 - 5,0	%
			1 - 3 let	1,0 - 6,0	%
			3 - 12 let	1,0 - 8,0	%
			12 - 18 let	0,5 - 8,0	%
			18 let a více	1,0 - 3,0	%
Normoblast polychromní	Normoblast poly	mikroskopicky	0 - 1 měsíc	0,0 - 30,0	%
			1 měsíc - 1 rok	5,0 - 20,0	%
			1 - 12 let	3,0 - 10,0	%
			12 - 18 let	2,5 - 15,0	%
			18 let a více	2,0 - 20,0	%
Normoblast oxyfilní	Normoblast oxy	mikroskopicky	0 - 1 měsíc	2,0 - 30,0	%
			1 měsíc - 1 rok	5,0 - 12,5	%
			1 - 12 let	5,0 - 20,0	%
			12 - 18 let	5,0 - 25,0	%
			18 let a více	2,0 - 10,0	%
Megaloblast bazofilní	Megalobl baso	mikroskopicky	dospělí, děti	0,0 - 0,0	%
Megaloblast polychromní	Magalobl poly	mikroskopicky	dospělí, děti	0,0 - 0,0	%
Megaloblast oxyfilní	Megalobl oxy	mikroskopicky	dospělí, děti	0,0 - 0,0	%
Lymfocyty		mikroskopicky	0 - 1 měsíc	10,0 - 50,0	%
			1 měsíc - 1 rok	15,0 - 50,0	%
			1 - 3 let	15,0 - 47,0	%

			3 - 6 let	6,0 - 47,0	%
			6 - 12 let	6,0 - 30,0	%
			12 - 18 let	5,0 - 30,0	%
			18 let a více	5,0 - 20,0	%
Monocyty		mikroskopicky	0 - 1 měsíc	3,0 - 15,0	%
			1 měsíc - 1 rok	0,5 - 5,0	%
			1 - 3 let	1,0 - 5,0	%
			3 - 6 let	0,3 - 5,0	%
			6 - 18 let	0,3 - 4,0	%
			18 let a více	0,0 - 2,0	%
Plazmocyty		mikroskopicky	0 - 1 měsíc	0,0 - 1,5	%
			1 měsíc - 1 rok	0,0 - 2,0	%
			1 - 12 let	0,0 - 2,5	%
			12 - 18 let	0,0 - 3,0	%
			18 let a více	0,0 - 3,5	%
Makrofágy		mikroskopicky	0 - 18 let	0,6 - 6,0	%
			18 let a více	0,0 - 2,0	%
Megakaryocyty		mikroskopicky		přítomny	
Nediferencované buňky		mikroskopicky	dospělí, děti	0,0 - 0,0	%
Nediferencované blasty		mikroskopicky	dospělí, děti	0,0 - 0,0	%
Cytochemická vyšetření					
Železo v kostní dřeni	Železo	mikroskopicky		speciální hodnocení	
				20 - 60	index
Alkalická fosfatáza v neutrofilech	ALP	mikroskopicky	muži	30 - 185	body
			ženy	30 - 163	body
Myeloperoxidáza	POX	mikroskopicky		speciální hodnocení	
PAS reakce	PAS	mikroskopicky		speciální hodnocení	
α -naftylacetát esteráza a inhibice NaF		mikroskopicky		speciální hodnocení	

Naftol AS-D chloracetát estaráza	CHAE	mikroskopicky		speciální hodnocení		
Kyselá fosfatáza a inhibice kyselinou vinnou	KF	mikroskopicky		speciální hodnocení		
EEC		mikroskopicky		speciální hodnocení		
BFU-E		mikroskopicky		speciální hodnocení		
CFU-GM		mikroskopicky		speciální hodnocení		
Koagulace						
Protrombinový čas dle Quicka						
čas		koagulační mechanická		11 - 17	S	
Poměr R		koagulometr: automatický výpočet	0 – 28 dní	0,8 - 1,6		
			starší 28 dní	0,8 – 1,2		
INR		koagulometr: automatický výpočet	0 – 28 dní	0,8 – 1,6		
			starší 28 dní	0,8 – 1,2		
Aktivovaný parciální tromboplastinový čas						
čas		koagulační mechanická		28 – 42	S	
Poměr R		koagulometr: automatický výpočet	0 – 28 dní	0,8 - 1,6		
			29 dní – 1 rok	0,8 – 1,3		
			starší 1 roku	0,8 – 1,2		
Ostatní rutinní koagulační vyšetření						
Fibrinogen		koagulační mechanická- automat. odečet z kalibrač. křivky	0 – 1 rok	1,5 - 3,5	g/l	
			1 - 6 let	1,7 - 4,0		
			6 – 11 let	1,6 - 4,0		
			11 - 16 let	1,6 - 4,5		
			16 - 18 let	1,8 - 4,2		
			18 a více let	1,8 - 3,5		
Trombinový čas		koagulační mechanická		10,0 - 21,0	S	
D-dimery		imunoturbidimetrická - automat. odečet z kalibrač. křivky		menší než 0,5 (PMDV)	ug/ml	revmatoidní faktor, chylozita vzorku
				menší než 0,2 (PDM)		
Antitrombin		fotometrická - automat. odečet z kalibrač. křivky	0 – 28 dní	40 – 90	%	zbarvení plazmy(ikterické, hemolýza)
			29 dní - 6 let	80 – 130		
			6 – 11 let	80 – 130		
			11 - 16 let	75 – 130		
			16 - 18 let	80 – 120		

			18 a více let	80 – 120		
Reptilázový čas		koagulační mechanická		10 – 18	S	
Heparin antiXa-LMWH		fotometrická - automat. odečet z křivky		komentář lékaře	IU/ml	zbarvení plazmy (ikterické, hemolýza)
Euglobulinová lýza		manuální	0 – 18 let	120 – 550	Min	
			18 a více let	180 – 360		
Etanolová gelifikace		manuální		Negativní		
Retrakce koagula		manuální		88 – 100	%	
APTT citlivé k LA-poměr		koagulometr: automatický výpočet		0,8 - 1,2		
APTT necitlivé k LA-poměr R		koagulometr: automatický výpočet		0,8 - 1,2		
Kroužící antikoagulans PT		koagulační mechanická		Negativní		
Kroužící antikoagulans APTT		koagulační mechanická		Negativní		
Korekce PT - směs 1+1		koagulační mechanická		Komentář	S	
Korekce APTT – směs 1+1		koagulační mechanická		Komentář	S	
Koagulace speciální						
Vyšetření agregace trombocytů						
Agregace kolagen						
Maximum		turbidimetrická- automat.odečet z křivky		komentář lékaře	%	
Doba latence		turbidimetrická- manuální odečet z křivky		komentář lékaře	S	
Slope		turbidimetrická- automat.odečet z křivky		komentář lékaře	%/min	
Agregace ADP						
ADP 5 - maximum		turbidimetrická- automat.odečet z křivky		komentář lékaře	%	
ADP 5 - slope		turbidimetrická- automat.odečet z křivky		komentář lékaře	%/min	

ADP 5 – desagregace		turbidimetrická- manuální odečet z křivky		komentář lékaře	%	
ADP 10 - maximum		turbidimetrická- automat.odečet z křivky		komentář lékaře	%	
ADP 10 - slope		turbidimetrická- automat.odečet z křivky		komentář lékaře	%/min	
ADP 10 – desagregace		turbidimetrická- manuální odečet z křivky		komentář lékaře	%	
Agregace ristocetin						
Maximum		turbidimetrická- automat.odečet z křivky		komentář lékaře	%	
Slope		turbidimetrická- automat.odečet z křivky		komentář lékaře	%/min	
Korekce – maximum		turbidimetrická- automat.odečet z křivky		komentář lékaře	%	
Korekce - slope		turbidimetrická- automat.odečet z křivky		komentář lékaře	%/min	
1/2 koncentrace – maximum		turbidimetrická- automat.odečet z křivky		komentář lékaře	%	
1/2 koncentrace – slope		turbidimetrická- automat.odečet z křivky		komentář lékaře	%/min	
Agregace epinefrin						
Maximum		turbidimetrická- automat.odečet z křivky		komentář lékaře	%	
Slope		turbidimetrická- automat.odečet z křivky		komentář lékaře	%/min	
Agregace trombin						
Maximum		turbidimetrická- automat.odečet z křivky		komentář lékaře	%	
Slope		turbidimetrická- automat.odečet z křivky		komentář lékaře	%/min	
Kyselina arachidonová						
Maximum		turbidimetrická- automat.odečet z křivky		komentář lékaře	%	
Slope		turbidimetrická- automat.odečet z křivky		komentář lékaře	%/min	
Samovolná agregace						
Maximum		turbidimetrická- automat.odečet z křivky		menší než 5	%	
Vyšetření při HIT						

Agregace HIT		turbidimetrická- automat. odečet z křivky		komentář lékaře	%	
Protilátky x Heparin/PF4		částicová imunofilační - manuální kvalitativní odečet		Negativní		
Protilátky x Heparin/PF4 (IgG, IgM, IgA)		ELISA – vyhodnocení dle intenzity absorbance		Negativní		
Vyšetření PFA 100						
Kolagen/epinefrin		speciální metoda PFA		84 – 160	S	
Kolagen/ADP		speciální metoda PFA		68 – 121	S	
Vyšetření lupus antikoagulans (LA)						
APTT citlivé k LA (dAPTT)						
Poměr R		koagulační mechanická: automatický výpočet		0,8 - 1,2		
Korekce(1+1) poměr R		koagulační mechanická: automatický výpočet		menší než 1,3		
Korekce(1+1) LCA index		koagulační mechanická: automatický výpočet		menší než 18,0		
DRVVT						
Poměr R		koagulační mechanická: automatický výpočet		0,8 -1,2		
Korekce(1+1) poměr R		koagulační mechanická: automatický výpočet		menší než 1,3		
Korekce(1+1) LCA index		koagulační mechanická: automatický výpočet		menší než 18,0		
Konfirmace normalizovaný poměr LAR		koagulační mechanická: automatický výpočet		0,8 – 1,2	S	
Destičkový neutralizační test (PNP)						
PNP1		koagulační mechanická: automatický výpočet		menší než 10	S	
PNP2		koagulační mechanická: automatický výpočet		menší než 8	S	
APTT necitlivé k LA						
Poměr R		koagulační mechanická: automatický výpočet		menší než 1,2		
Poměr RLA		koagulační mechanická: automatický výpočet		komentář lékaře		
Neutralizace fosfolipidy v hexagonální fázi (HNP)						

HNP		koagulační mechanická - manuální výpočet	menší než 8	S		
Ostatní speciální koagulační vyšetření						
Faktor II	F II	koagulační mechanická - automatický odečet z kalibrační křivky	0 – 28 dní	60 – 90	%	
			29 dní - 6 let	70 – 120		
			6 – 16 let	60 – 110		
			16 - 18 let	70 – 130		
			18 a více let	70 – 130		
Faktor V	F V	koagulační mechanická - automatický odečet z kalibrační křivky	0 – 28 dní	80 – 110	%	
			29 dní - 1 rok	60 – 120		
			1 - 6 let	79 – 130		
			6 – 16 let	60 – 120		
			16 - 18 let	60 – 140		
18 a více let	60 – 140					
Faktor VII	F VII	koagulační mechanická - automatický odečet z kalibrační křivky	0 – 28 dní	70 – 100	%	
			29 dní - 1 rok	64 – 115		
			1 – 11 let	52 – 120		
			11 - 16 let	58 – 120		
			16 - 18 let	60 – 130		
18 a více let	60 – 130					
Faktor X	F X	koagulační mechanická - automatický odečet z kalibrační křivky	0 – 28 dní	60 – 90	%	
			29 dní - 1 rok	50 – 110		
			1 – 11 let	45 – 120		
			11 - 16 let	50 – 120		
			16 - 18 let	70 – 130		
18 a více let	70 – 130					
Faktor VIII	F VIII	koagulační mechanická - automatický odečet z kalibrační křivky	0 - 1 rok	75 – 150	%	
			1 a více let	50 – 150		
Faktor IX	F IX	koagulační mechanická - automatický odečet z kalibrační křivky	0 – 28 dní	65 – 110	%	
			29 dní - 1 rok	50 – 125		
			1 - 6 let	50 – 110		
			6 – 18 let	60 – 150		
			18 a více let	60 – 150		
Faktor XI	F XI	koagulační mechanická - automatický odečet z kalibrační křivky	0 - 6 let	55 – 135	%	
			6 – 11 let	50 – 120		
			11 - 18 let	65 – 135		
			18 a více let	65 – 135		
Faktor XII	F XII	koagulační mechanická - automatický odečet z	0 - 6 let	65 – 130	%	

		kalibrační křivky	6 – 18 let	60 – 140		
			18 a více let	60 – 140		
Inhibitor faktorů		koagulační mechanická - automatický odečet z kalibrační křivky - manuální výpočet a odečet z křivky		menší než 0,6	B.U.	
Faktor XIII	F XIII	manuální		60 – 140	%	
ProC Global - normalizovaný poměr		koagulační mechanická: automatický výpočet		větší než 0,8		
APC-rezistence – poměr	APC-R	koagulační mechanická		větší než 3,0	S	
Protein C	PC	koagulační mechanická - automatický odečet z kalibrační křivky	0 - 6 let	40 – 95	%	
			6 – 11 let	45 – 95		
			11 - 16 let	55 – 120		
			16 - 18 let	70 – 130		
			18 a více let	70 – 130		
Protein S	PS	koagulační mechanická - automatický odečet z kalibrační křivky	0 – 28 dní	22 – 60	%	
			29 dní - 6 let	55 – 120		
			6 – 11 let	45 – 115		
			11 - 16 let	52 – 110		
			16 - 18 let	65 – 140		
			Ženy: 18 a více let	50 – 140		
			Muži: 18 a více let	65 – 140		
Plazminogen		fotometrická - automatický odečet z kalibrační křivky	0 - 6 let	80 – 120	%	zbarvení plazmy (ikterické, hemolýza)
			6 - 11 let	75 – 110		
			11 - 16 let	68 – 110		
			16 - 18 let	80 – 120		
			18 a více let	80 – 120		
alfa-2-antiplazmin		fotometrická - automatický odečet z kalibrační křivky	0 - 6 let	93 – 117	%	zbarvení plazmy (ikterické, hemolýza)
			6 - 11 let	89 – 110		
			11 - 16 let	78 - 118		
			16 - 18 let	80 – 120		
			18 a více let	80 – 120		
PAI-1		fotometrická – automatický odečet z kalibrační křivky	18 a více let	menší než 10	IU/ml	zbarvení plazmy (ikterické, hemolýza)
vWF:RCo		turbidimetrická - manuální odečet z kalibrační	0 - 6 let	60 – 120	%	chylozita vzorku

		křivky	6 - 11 let	50 – 145		
			11 - 18 let	60 – 150		
			18 a více let	60 – 150		
LIA vWF:Ag		imunoturbidimetrická- automatický odečet z kalibrační křivky		60 – 150	%	chylozita vzorku
LIA protein S volný	LIA PSv	imunoturbidimetrická- automatický odečet z kalibrační křivky		70 – 130	%	chylozita vzorku
ELISA protein S celkový	ELISA PSc	ELISA –automatický odečet z kalibrační křivky		65 – 140	%	
EID fibrinogenu	EID Fbg	EID - manuální odečet z kalibrační křivky		1,8 - 3,5	g/l	
LIA antitrombinu	LIA AT	imunoturbidimetrická- automatický odečet z kalibrační křivky		80 – 120	%	chylozita vzorku
Solubilní transferinový receptor	sTfR	imunoturbidimetrická- automatický odečet z kalibrační křivky	6 měs. - 4 roky	1,5 - 3,3	mg/l	chylozita vzorku
			4 - 10 let	1,3 - 3,0		
			10 - 16 let	1,1 - 2,7		
			16 a více let	0,9 - 2,3		
Trombin generační test – TGA						
Lag fáze		Fluorescenční	ženy muži	2,10 - 2,88 2,04 - 3,22	Min	
Celkové množství vytvořeného trombinu	ETP	Fluorescenční	ženy muži	1562 – 2044 1486 – 2004	nM*min	
Maximální množství trombinu		Fluorescenční	ženy muži	265,6 – 371,4 244,9 – 341,9	nM	
Čas do vytvoření max. trombinu		Fluorescenční	ženy muži	4,67 - 6,37 4,94 - 6,70	min	
Čas do návratu křivky k 0 nM trombinu		Fluorescenční	ženy muži	19,4 – 23,1 19,5 – 24,6	min	
Molekulární biolog. a genetika						
Izolace DNA	DNA	set, kolony s filterm	nerozhoduje	-	-	Sraženiny
FaktorV Leiden	FVL	RT-PCR	nerozhoduje	-	-	kontaminace cizorodé DNA
Prothrombin G20210A	PROT	RT-PCR	nerozhoduje	-	-	kontaminace cizorodé DNA
MTHFR C677T	MTHF	RT-PCR	nerozhoduje	-	-	kontaminace cizorodé DNA

PAI-1(4G/5G)	PAI	RT-PCR	nerozhoduje	-	-	kontaminace cizorodé DNA
hereditární hemochromatóza C282Y, H63D, S65C	282 63 65	RFLP-PCR	nerozhoduje	-	-	kontaminace cizorodé DNA
Faktor XIII Val34Leu	F13	RFLP-PCR	nerozhoduje	-	-	kontaminace cizorodé DNA
Faktor V Cambridge	Camb	RFLP-PCR	nerozhoduje	-	-	kontaminace cizorodé DNA
LEHABI						
rozmražení lymfocytů					absolutní počet buněk	
izolace T,B dynabeads	MACS	imunomagnetická separace			absolutní počet buněk	procento plazmatických buněk v nátěru KD < 10%
izolace MNC pro kultivace		gradientová centrifugace			absolutní počet buněk	
izolace MNC pro typizace		gradientová centrifugace			absolutní počet buněk	
výroba protinádorových pediatrických vakcín	DN-DB		děti			
experimentální expanze tumor-infiltrujících lymfocytů	TIL					
CD2 na lymfocytech	CD2	imunofenotypizace	dospělí	55 – 80	%	sražený vzorek
CD3 na lymfocytech	CD3	imunofenotypizace	dospělí	55 – 80	%	sražený vzorek
	CD3d		děti	51 – 75	%	sražený vzorek
CD4 na lymfocytech	CD4	imunofenotypizace	dospělí	35 – 54	%	sražený vzorek
	CD4d		děti	31 – 45	%	sražený vzorek
absolutní CD4	4abs	imunofenotypizace	dospělí	550-1350	bb/ul	sražený vzorek
CD5 na lymfocytech	CD5	imunofenotypizace	dospělí	55 – 80	%	sražený vzorek
	CD5d		děti	51 – 75	%	sražený vzorek
CD7 na lymfocytech	CD7	imunofenotypizace	dospělí	55 – 80	%	sražený vzorek

CD8 na lymfocytech	CD8	imunofenotypizace	dospělí, děti	19 – 30	%	sražený vzorek
CD10 na lymfocytech	CD10	imunofenotypizace	dospělí, děti	0 – 1	%	sražený vzorek
CD11c na lymfocytech	11c	imunofenotypizace	dospělí, děti	6 – 25	%	sražený vzorek
CD13 na lymfocytech	CD13	imunofenotypizace	dospělí, děti	0 – 3	%	sražený vzorek
CD14 na lymfocytech	14ly	imunofenotypizace	dospělí, děti	0 – 1	%	sražený vzorek
CD14 na leukocytech	14le	imunofenotypizace	dospělí, děti	5 – 15	%	sražený vzorek
CD16 na lymfocytech	CD16	imunofenotypizace	dospělí, děti	5 – 20	%	sražený vzorek
CD19 na lymfocytech	CD19	imunofenotypizace	dospělí	5 – 19	%	sražený vzorek
	19d		děti	11 – 25	%	sražený vzorek
CD20 na lymfocytech	CD20	imunofenotypizace	dospělí	5 – 19	%	sražený vzorek
	20d		děti	11 – 25	%	sražený vzorek
CD22 na lymfocytech	CD22	imunofenotypizace	dospělí, děti	5 – 19	%	sražený vzorek
CD23 na lymfocytech	CD23	imunofenotypizace	dospělí, děti	0 – 3	%	sražený vzorek
CD25 na lymfocytech	CD25	imunofenotypizace	dospělí, děti	0 – 10	%	sražený vzorek
CD28 na lymfocytech	CD28	imunofenotypizace	dospělí, děti	40 – 60	%	sražený vzorek
CD31 na mikropartikulích	CD31	imunofenotypizace	dospělí, děti	0 – 5	%	sražený vzorek
CD33 na lymfocytech	CD33	imunofenotypizace	dospělí, děti	0 – 3	%	sražený vzorek
CD34 na lymfocytech	CD34	imunofenotypizace	dospělí, děti	0 – 1	%	sražený vzorek
CD34 na leukocytech	SC34	imunofenotypizace	dospělí, děti	0 – 1	%	sražený vzorek
CD36 na trombocytech	CD36	imunofenotypizace	dospělí, děti	80 – 100	%	sražený vzorek
CD38 na lymfocytech	38ly	imunofenotypizace	dospělí, děti	11 – 25	%	sražený vzorek
CD38 na leukocytech	38le	imunofenotypizace	dospělí, děti	5 – 18	%	sražený vzorek

CD41 na trombocytech	CD41	imunofenotypizace	dospělí, děti	80 – 100	%	sražený vzorek
CD41 na mikropartikulích	41MP	imunofenotypizace	dospělí, děti	0 – 5	%	sražený vzorek
CD42a na trombocytech	42a	imunofenotypizace	dospělí, děti	80 – 100	%	sražený vzorek
CD42b na trombocytech	42b	imunofenotypizace	dospělí, děti	80 – 100	%	sražený vzorek
CD45 na lymfocytech	45ly	imunofenotypizace	dospělí, děti	90 – 100	%	sražený vzorek
CD45 na leukocytech	45le	imunofenotypizace	dospělí, děti	90 – 100	%	sražený vzorek
CD45 dim na lymfocytech	45lo	imunofenotypizace	dospělí, děti	0 – 2	%	sražený vzorek
CD45RA na lymfocytech	45RA	imunofenotypizace	dospělí, děti	55 – 65	%	sražený vzorek
CD45RO na lymfocytech	45RO	imunofenotypizace	dospělí, děti	35 – 45	%	sražený vzorek
CD56 na lymfocytech	56ly	imunofenotypizace	dospělí, děti	6 – 25	%	sražený vzorek
CD61 na trombocytech	CD61	imunofenotypizace	dospělí, děti	80 – 100	%	sražený vzorek
CD62 na trombocytech	CD62	imunofenotypizace	dospělí, děti	1 – 5	%	sražený vzorek
CD63 na trombocytech	CD63	imunofenotypizace	dospělí, děti	1 – 7	%	sražený vzorek
CD69 na lymfocytech	CD69	imunofenotypizace	dospělí, děti	0 – 2	%	sražený vzorek
CD71 na lymfocytech	CD71	imunofenotypizace	dospělí, děti	0 – 5	%	sražený vzorek
CD80 na lymfocytech	80ly	imunofenotypizace	dospělí, děti	0 – 2	%	sražený vzorek
CD80 na leukocytech	80le	imunofenotypizace	dospělí, děti	0 – 2	%	sražený vzorek
CD83 na lymfocytech	83ly	imunofenotypizace	dospělí, děti	0 – 1	%	sražený vzorek
CD83 na leukocytech	83le	imunofenotypizace	dospělí, děti	0 – 1	%	sražený vzorek
CD86 na lymfocytech	86ly	imunofenotypizace	dospělí, děti	1 – 5	%	sražený vzorek

CD86 na leukocytech	86le	imunofenotypizace	dospělí, děti	1 – 5	%	sražený vzorek
CD95 na lymfocytech	95ly	imunofenotypizace	dospělí, děti	0 – 1	%	sražený vzorek
CD95 na leukocytech	95le	imunofenotypizace	dospělí, děti	0 – 1	%	sražený vzorek
CD123 na leukocytech	123	imunofenotypizace	dospělí, děti	2 - 5	%	sražený vzorek
CD138 na leukocytech	138	imunofenotypizace	dospělí, děti	0 – 1	%	sražený vzorek
CD144 na mikropartikulích	144	imunofenotypizace	dospělí, děti	0 – 5	%	sražený vzorek
CD144 na endoteliálních bb.	144e	imunofenotypizace	dospělí, děti	0 – 5	%	sražený vzorek
CD152 na lymfocytech	152	imunofenotypizace	dospělí, děti	0 – 5	%	sražený vzorek
HLA-DR na lymfocytech	DR	imunofenotypizace	dospělí, děti	10 – 20	%	sražený vzorek
povrchový κ na B buňkách	sk19	imunofenotypizace	dospělí, děti	60 – 70	%	sražený vzorek
povrchový λ na B buňkách	sl19	imunofenotypizace	dospělí, děti	30 – 40	%	sražený vzorek
intracelulární κ na plazmatických bb.	ck38	imunofenotypizace	dospělí, děti	0 – 1	%	sražený vzorek
intracelulární λ na plazmatických bb.	cl38	imunofenotypizace	dospělí, děti	0 – 1	%	sražený vzorek
TCRαβ na T lymfocytech	Tab	imunofenotypizace	dospělí, děti	90 – 100	%	sražený vzorek
TCRγδ na T lymfocytech	Tgd	imunofenotypizace	dospělí, děti	1 – 10	%	sražený vzorek
TCRVα24 na lymfocytech	Va24	imunofenotypizace	dospělí, děti	0 – 1	%	sražený vzorek
TCRVβ11 na lymfocytech	Vb11	imunofenotypizace	dospělí, děti	0 – 1	%	sražený vzorek
FMC-7 na lymfocytech	FMC7	imunofenotypizace	dospělí, děti	5 – 10	%	sražený vzorek
IRI (CD4+/CD8+)	4/8	imunofenotypizace	dospělí	1,0 - 2,8		sražený vzorek
	4/8d		děti	1,0 – 2,0		sražený vzorek

CCR5 na lymfocytech	CCR5	imunofenotypizace	dospělí, děti	0 – 5	%	sražený vzorek
Platelets MP	PMP	imunofenotypizace	dospělí, děti	0 – 1	%	sražený vzorek, odběr do EDTA, heparinu
Endotelial MP	EMP	imunofenotypizace	dospělí, děti	0 – 1	%	sražený vzorek, odběr do EDTA, heparinu
PMP abs	PMPa	imunofenotypizace	dospělí, děti	0 – 10	bb/ul	sražený vzorek, odběr do EDTA, heparinu
EMP abs	EMPa	imunofenotypizace	dospělí, děti	0 – 10	bb/ul	sražený vzorek, odběr do EDTA, heparinu
Interferon γ na lymfocytech	IFNg	imunofenotypizace	dospělí, děti	0 – 1	%	sražený vzorek
Interferon γ na aktiv. lymfocytech	IFNg	imunofenotypizace	dospělí, děti	20-60	%	sražený vzorek, odběr do heparinu lithného, EDTA
IL-4 na aktiv lymfocytech	IL-4	imunofenotypizace	dospělí, děti	0 – 1	%	sražený vzorek, odběr do heparinu lithného, EDTA
CD127 na T lymfocytech	T127	imunofenotypizace	dospělí, děti	40 – 80	%	sražený vzorek
výroba protinádorových vakcín pro pacienty s mnohočetným myelomem	Id-DB		dospělí			

8. Klinické interpretace laboratorních výsledků

Rutiní morfologie

Krevní obraz

Hematologické analyzátory vydávají rychle a přesně informace o počtech erytrocytů, leukocytů a trombocytů spolu s odvozenými parametry. Analyzátor také upozorňuje na případné patologie v krevním obrazu, které jsou dle potřeby a určitých pravidel kontrolovány mikroskopem. Krevní obraz s pětipopulačním diferenciálním rozpočtem leukocytů z analyzátoru patří k základnímu vyšetření širokého spektra onemocnění.

Zkratka

Charakteristika

WBC

Informuje o počtu leukocytů

RBC

Informuje o počtu erytrocytů

HGB

Informuje o množství hemoglobinu

HCT

Hematokrit: vyjadřuje poměr objemu erytrocytů k objemu celé krve

MCV

Informuje o středním objemu erytrocytů, parametr umožňující rozdělení anémií na mikrocytární, normocytární a makrocytární

MCH

Informuje o středním množství hemoglobinu v erytrocytu, parametr umožňující rozdělení anémií na hypochromní a normochromní

MCHC

Informuje o průměrné koncentraci hemoglobinu v erytrocytu, parametr umožňující rozdělení anémií na hypochromní a normochromní

RDW

Informuje o šíři distribuce erytrocytů podle MCV, informuje o anizocytose erytrocytů

PLT

Informuje o počtu trombocytů

MPV

Informuje o středním objemu trombocytů

PCT

Destičkový hematokrit: vyjadřuje poměr objemu trombocytů k objemu celé krve

PDW

Reprezentuje širší distribuce trombocytů podle jejich objemu, informuje o anizocytose trombocytů
Krevní obraz s počtem trombocytů s povrchovým antigenem CD61
Vyšetření je vhodné provádět u trombocytopenických vzorků, kde může falešně vyšší nebo nižší hodnota výsledku významně ovlivnit faktický počet trombocytů. Falešně vyšší výsledky jsou způsobovány přítomností erytrocytárních fragmentů, fragmentů leukocytární cytoplazmy, makromolekulami proteinů, bakteriemi a další, které jsou chybně do počtu PLT zahrnovány. Falešně nižší počty jsou způsobeny přítomností velkých a gigantických trombocytů, které jsou naopak z počtu PLT eliminovány. Stanovení počtu trombocytů pomocí povrchového antigenu CD61 tyto početní nedostatky řeší.
Mikroskopický diferenciální rozpočet leukocytů
<p>Vyšetření morfologie buněk v periferní krvi patří k základnímu vyšetření širokého spektra onemocnění. Neutrofilie může být u bakteriálních infekcí, myeloidních leukémií, u zánětlivých či systémových onemocnění, účinkem kortikoterapie, při maligních nádorech, traumatu, akutním infarktu myokardu.</p> <p>Lymfocytóza bývá u virových onemocnění, infekční monokleózy, chronických infekcí, tuberkulózy, infekční hepatitidy, lymfatických leukémií. Lymfopenie vzniká vlivem ionizačního záření, působením toxických látek, po podání antilymfocytárního séra.</p> <p>Monocytóza bývá u bakteriální endokarditidy, ulcerózní kolitidy, u tuberkulózy, brucelózy, v průběhu akutních infekčních chorob v „obraně fázi“, u lymfoproliferativních onemocnění, hemolytických anémií, chronických neutropenií, při myelodysplastickém syndromu, po operačním odstranění sleziny, monocytární leukémie,</p> <p>Eosinofilie bývá u alergických reakcí, parazitárních onemocnění, systémových onemocnění, eozinofilní leukémie, u hypereozinofilního syndromu.</p> <p>Bazofilie se vyskytuje zřídka a může být spolu s eozinofilií. Bývá např. u myxedému, alergických stavů, ulcerózní kolitidy, u maligních lymfomů, chronické myeloidní leukémie a dalších myeloproliferativních onemocnění.</p>
Trombocyty z citrátu nebo z EDTA s Mg²⁺
Kontrola trombocytopenických vzorků z důvodů potvrzení trombocytopenie a k vyloučení falešné trombocytopenie.
Trombocyty mikroskopicky
Kontrola trombocytopenických vzorků z důvodů potvrzení trombocytopenie a vyloučení falešné trombocytopenie

Schistocyty

Schistocyty se mohou nacházet v nátěrech periferní krve u mikroangiopatických hemolytických anémií, TTP, urémií, popálenin, u hemolytických anémií z fyzikálních příčin (umělé chlopně srdeční), u diseminované intravaskulární koagulopatie (DIC).

Retikulocyty

Počet retikulocytů slouží k posouzení efektivní erythropoézy v kostní dřeni. Snížený počet retikulocytů nacházíme u aplastické anémie a při snížené produkci červených krvinek v kostní dřeni. Zvýšené retikulocyty bývají u hemolytických anémií, při nedostatku železa, u talasémií, u sideroblastické anémie a při akutních a chronických krevních ztrátách.

Osmotická rezistence

Test osmotické rezistence udává míru schopnosti červených krvinek natáhnout do buňky tekutinu, aniž by došlo k jejímu rozpadu. Snížení osmotické rezistence je charakteristické pro dědičnou sférocytózu, zvláště po inkubaci. Snížení je dále u autoimunních hemolytických anémií. Zvýšená rezistence se nalézá při thalasémiích v homozygotní i heterozygotní formě, dále při deficiencích železa a některých jaterních chorobách.

Autohemolýza

Spolehlivá interpretace testu je možná jen na základě komplexního hodnocení více testů a porovnání výsledků s celkovým klinickým obrazem. Stupeň hemolýzy ve fyziologickém roztoku je vždy větší než po přidání glukózy a ATP. U normálního vzorku se hemolýza vždy po přidání glukózy a ATP snižuje. V případě hereditární sférocytozy je autohemolýza výrazně zvýšená, po přidání glukózy se snižuje, u paroxysmální noční hemoglobinurie je autohemolýza také zvýšená, ale po přidání glukózy se hemolýza neupravuje. Při deficitu enzymů je hemolýza ve fyziologickém roztoku zvýšená a po glukóze se nesnižuje, může se snížit po přidání ATP. Ostatní výsledky nejsou příliš specifické.

Heinzova tělíska

Heinzova tělíska znázorňují vysrážený hemoglobin v případě, že glykolytické enzymy červených krvinek nejsou schopny zabránit oxidaci hemoglobinové molekuly. Tyto precipitáty jsou představovány jedním nebo více oválnými tělísky v červených krvinkách. Objevují se těsně u buněčné membrány, ke které přiléhají. Heinzova tělíska nalézáme za přítomnosti nestabilních hemoglobinů, při nedostatku některých enzymů (např. glukosa-6-fosfátdehydrogenasa) v redukcujícím systému erytrocytů a po užívání oxidačních látek (např. sulfonamidy, antimalarika, streptomycin atd.). U nestabilních hemoglobinů odstraňuje Heinzova tělíska z červených krvinek slezina, proto nejsou v buňkách viditelná, tělíska nejsou odstraňována, pokud je provedena splenektomie. Barvení nátěrů neinkubovaných erytrocytů sleduje nestabilní hemoglobiny. Barvení nátěrů inkubovaných erytrocytů sleduje enzymatické poruchy.

Hemosiderin v moči

Zvýšené množství hemosiderinu se ukládá do orgánů při onemocněních spojených s velkým rozpadem erytrocytů (hemolytické anémie), po častých transfúzích, při poruchách ukládání zásobního železa atd.

Přítomnost hemosiderinu v moči je detekovatelná 2 až 5 dnů po hemolytické krizi.

Pink test

V testu se stanovuje konečné procento hemolýzy v prostředí glycerolu při pH 6,6. Pro snadné a rychlé provedení (ve srovnání s testem na osmotickou rezistenci a testem autohemolýzy) se test používá jako doplňující a vyhledávací vyšetření na dědičnou sférocytózu.

Hemoglobin A₂

Přesné stanovení množství HbA₂ v klinické praxi je důležité pro diferenciální diagnostiku různých anemií a thalasemií. Zvýšené množství HbA₂ upozorňuje na diagnózu β-talasemie, ale hodnota může být normální jestliže je současně sníženo množství železa. Výsledky HbA₂ je nutné dávat do souvislosti také s ostatními laboratorními výsledky: železo v séru, vazebná kapacita železa, morfologie červených krvinek, hemoglobin, hematokrit a střední objem erytrocytů (MCV). Celkové množství HbA₂ v mg/dL ve spojení s MCV se používá jako kritéria pro diferenciální diagnostiku β-talasemie minor, anemií z nedostatku železa a další hypochromní mikrocytární anemie.

Jestliže se hodnoty HbA₂ pohybují mezi 3,5 – 8 % uvažujeme o β-talasemii. Hodnoty pod 1,5% bývají u nedostatku železa. Hodnoty nad 8 % indikují přítomnost hemoglobinových variant jako jsou HbC a HbE.

Speciální morfologie

Vyšetření kostní dřeně a otisku trepanobiopsie

Diagnostika hematologických a nehematologických onemocnění postihujících kostní dřeň včetně nádorových onemocnění.

Železo

V cytoplazmě normoblastů se mohou nacházet granula zásobního železa ve formě Fe³⁺, které není zabudováno do hemoglobinu. Všechno železo, které je přítomné v cytoplazmě normoblastů, je normálně využíváno pro tvorbu hemoglobinu. Jestliže je jakkoli syntéza hemoglobinu narušena

zůstává Fe^{3+} v normoblastech ve větších granulích nebo v jejich větším počtu.
U sideroblastické anemie je množství zásobního železa zvýšené a je také zvýšený počet prstenčitých sideroblastů. V počtu vyšším než 15% prstenčitých sideroblastů v KD spolu s dalšími kritérii se může jednat o diagnózu refrakterní anémie nebo refrakterní cytopenie s prstenčitými sideroblasty. U sideropenické anemie je množství zásobního železa sníženo nebo není přítomné. Siderotická granulace bývá zvýšená u MDS, leukémií, hemolytických anémií, megaloblastové anémie, alkoholismu, po splenektomii, po častých transfúzích.
Významné snížení počtu sideroblastů se současným snížením zásobního železa v makrofázích podporuje diagnózu sideropenie a/nebo sideropenické anémie, zatímco snížení počtu sideroblastů se zvýšením zásobního železa v makrofázích svědčí pro anémii chronických onemocnění.

Alkalická fosfatáza

Alkalická fosfatáza je přítomna v různém stupni v neutrofilních segmentech a tyčkách. V těchto buňkách je obsažena v sekundárních specifických granulích. Někdy se nachází velmi slabá pozitivita i v B lymfocytech. Množství alkalické fosfatázy se mění při různých onemocněních a pomáhá odlišit leukemoidní reakci (zvýšená alkalická fosfatáza) od chronické myeloidní leukémie (snížená alkalická fosfatáza). Zvýšená hodnota leukocytární alkalické fosfatázy bývá v těhotenství, při infekcích s neutrofilii, u polycytémie, aplastické anémie, myelodysplastických syndromů, mnohočetného myelomu, myelofibróze a u pacientů užívajících kortikosteroidy. Snížená hodnota alkalické fosfatázy bývá u chronické myeloidní leukémie, paroxysmální noční hemoglobinurie, sférocytární anémie a sideroblastické anémie.

Myeloperoxidáza

Myeloperoxidáza je lyzozomální kataláza a je přítomna v primárních azurofilních granulích neutrofilů, eozinofilů a monocytů. Enzym nevykazuje aktivitu v erytrocytech a v lymfocytech. S postupným vyzríváním myeloidních buněk přibývá v cytoplazmě peroxidázové aktivity s nejvyšší pozitivitou v neutrofilních segmentech. Eozinofily vykazují také peroxidázovou aktivitu, bazofily jsou negativní. V monocytech je aktivita jemně granulární.
Peroxidázové barvení pomáhá rozlišit myeloblastickou nebo monoblastickou leukémii od lymfoblastické leukemie. Blastické buňky, které nemají granulaci mohou vykazovat přítomnost peroxidázy, která není ještě zabudována do granulí. Auerovy tyčky jsou při peroxidázovém barvení pozitivní.

Barvení PAS reakce v krevních buňkách

PAS reakce pomáhá při diagnostice některých lymfoproliferativních onemocnění a určitých subtypů AML. Tato reakce vykazuje pozitivitu téměř ve všech krevních buňkách kromě fyziologických erytroblastů. V patologických případech dochází ke změnám: u erytroleukémie a thalasemie jsou erytroblasty pozitivní, někdy jsou erytroblasty pozitivní u MDS, hemolytických anémií, aplastické

anémie, perniciosní anémie, polycytémie a u CLL a Hodgkinova lymfomu je zvýšený počet granulí v lymfocytech.

Hodnotí se nejen přítomnost positivity, ale i její charakter.

α -Naftylacetát esteráza a inhibice NaF

Cytochemického průkazu lze využít k přesnější klasifikaci akutních leukémií (k rozlišení M4 a M5 typů AML). Zvýšené hodnoty ukazují na monocytární charakter nezralé buňky. V tomto případě lze enzym inhibovat fluoridem sodným. Není-li inhibice, pak jde o myeloidní charakter buněk, eventuelně lymfocyty. V megaloblastech je nespecifická esteráza pozitivní, v normoblastech negativní.

Chloracetát esteráza

K bližší diagnostice leukóz. Slouží většinou jako doplňující vyšetření při zvýšené aktivitě nitrobuněčné peroxidázy. Chloracetát esteráza se nachází v granulocytech. U typu AML M4 pomáhá k odlišení granulocytární řady od myelomonocytární.

Kyselá fosfatáza a inhibice kyselinou vinnou

Cytochemického průkazu lze využít k bližší klasifikaci některých lymfoproliferativních onemocnění. Výraznější aktivita bývá u T akutních a chronických lymfatických leukémií. Toto rozlišení má význam u dětských ALL, neboť T ALL má horší prognózu. Enzymová aktivita u těchto onemocnění je citlivá na tartarát. Katalytická aktivita kyselé fosfatázy je zvýšena u chronické myeloidní leukémie a snížena u akutní myeloidní leukémie a chronické lymfatické leukémie. U vlasaté leukémie (HCL) je enzym na tartarát rezistentní. Vlasaté buňky vykazují výraznou difúzní i granulární aktivitu kyselé fosfatázy, která se u většiny buněk nesnižuje po přidání vinnanu sodného. Kyselá fosfatáza rezistentní na inhibici tartarátem se vyskytuje i u jiných stavů, jako v atypických lymfocytech u infekční mononukleózy a v řídkých případech u chronické lymfadenózy a některých non-Hodgkinových lymfomů.

U normálních lymfocytů není rozdíl mezi T a B-lymfocyty, ale u infekční mononukleózy se aktivita zvyšuje. T-lymfoblasty mají silnou fokální pozitivitu (u nonT nonB lymfocytů výskyt jen výjimečně). U akutní monocytární leukémie bývá ACP pozitivní. Zvýšení APC v neutrofilech je u infekcí, CML, polycytemia vera, myelofibrózy.

Kultivace krvetvorných buněk CFU-GM, BFU-E a EEC z periferní krve/kostní dřeně

Vyšetření se používá pro sledování funkčních vlastností hematopoetických kmenových buněk. Kultivace progenitorových buněk se využívají k diagnostice klonálních hematologických onemocnění včetně monitorování léčby a sledování remisí.

Koagulace

Protrombinový čas

Protrombinový čas dle Quicka je základní screeningový koagulační test používaný k detekci vrozených či získaných nedostatků faktorů vnějšího koagulačního systému (FF II,V,VII,X). Příčiny prodloužení PT: vrozený defekt výše uvedených koagulačních faktorů, fyziologicky u novorozence, získaný defekt (přítomnost inhibitorů, nedostatek vitamínu K a léčba antagonisty vitamínu K- choroby jater, DIC).

Test PT se dále používá k monitorování orální antikoagulační terapie při níž dochází ke snížení hladiny vitamin K dependentních faktorů (II,VII,IX,X). Výsledky se vyjadřují v INR. **Terapeutický rozsah:** INR = 2,0 – 3,0 (pozn.: terapeutický rozsah INR může být posunut oběma směry dle klinického stavu pacienta).

Fibrinogen

Fibrinogen je koagulační faktor s nejvyšší koncentrací v plasmě. Je štěpen trombinem na fibrin nebo plazminem za vzniku fibrinogen degradačních produktů. Kromě toho může být také štěpen tzv. trombinu podobnými enzymy (např. reptiláza). Jako protein akutní fáze se zvyšuje při zánětlivých onemocněních, nádorech, diabetu, obezitě, stavech po operaci, v těhotenství. Sníženou koncentraci fibrinogenu pozorujeme při vrozené hypo- a afibrinogenémii, dysfibrinogenémii, těžkých poruchách jaterního parenchymu, DIC, trombolytické léčbě. Zvýšení hladiny fibrinogenu představuje významný rizikový faktor vzniku trombózy, častěji arteriální.

Aktivovaný parciální tromboplastinový test

Aktivovaný parciální tromboplastinový test je základní screeningový koagulační test používaný k detekci vrozených či získaných nedostatků faktorů vnitřního koagulačního systému (F VIII, IX, XI, XII, PK a HMWK, ale i II,V a X). Test není citlivý na kvantitativní nebo kvalitativní abnormality trombocytů a deficit F VII a F XIII. Příčiny prodloužení APTT: vrozený defekt výše uvedených koagulačních faktorů, fyziologicky u novorozence, získaný defekt koagulačních faktorů (přítomnost inhibitoru specifického i nespecifického, onemocnění jater, DIC). Arteficiálně dochází často k prodloužení aPTT vlivem špatného odběru (z kanyly), při léčbě heparinem, méně pak i při léčbě kumariny nebo deficitu vitamínu K.

Test APTT se používá k monitorování terapie nefrakcionovaným heparinem. **Terapeutický rozsah:** R = 2,0 – 5,0.

Trombinový čas

Trombinový čas je rychlý a jednoduchý test zachycující poslední fázi koagulační kaskády – přeměnu fibrinogenu na fibrin. Působením trombinu na molekulu fibrinogenu se odštěpují z jeho řetězců α 2 fibrinopeptidy A a z řetězců β 2 fibrinopeptidy B za vzniku fibrin monomerů, které spontánně polymerují „end to end“ a „side to side“ za vzniku rozpustného fibrinu, stabilizovaného následně faktorem XIII v přítomnosti Ca^{2+} . Trombinový čas není ovlivněn nedostatkem F XIII a všech koagulačních faktorů, které jsou v koagulační kaskádě před trombinem.

Příčiny prodloužení TC:

- abnormality fibrinogenu
 - kvalitativní: dysfibrinogenémie,
 - kvantitativní: vrozené hypo- nebo afibrinogenémie
získané hypofibrinogenémie (DIC, fibrinolýza, choroby jater)
- přítomnost inhibitorů s antitrombinovým účinkem
 - heparin
 - FDP (také antipolymerizační účinek)
 - jiné vzácně se vyskytující inhibitory (např. imunoglobuliny u myelomu a revmatoidní artritidy)
- fyziologicky u novorozence

D-dimery

Hladina D-dimerů (degradačních produktů fibrinu) se zvyšuje u stavů s aktivací koagulace, protože je produkován trombin, vzniká fibrin a probíhá fibrinolýza. Pozitivita D-dimerů je tedy důkazem aktivace koagulace (generace trombinu) a důkazem následné aktivace fibrinolýzy (generace plazminu). Ke zvýšení hladiny dochází při DIC, trombózách a emboliích. Snížení hladiny D-dimerů v průběhu antikoagulační terapie heparinem při TEN umožňuje monitorovat vývoj a prognózu trombózy. Snížení odráží kvalitu endogenní trombolýzy. Ke zvýšení D-dimerů dochází po operacích, úrazech, u nádorových onemocnění, při zánětech a onemocnění jater. Pozitivita může být ale přítomna také fyziologicky v těhotenství, při menstruaci a po nadměrné fyzické námaze. Pro klinickou interpretaci má tedy největší význam negativní výsledek (negativní prediktivní hodnota). V případě pozitivních nálezů je přínosné monitorování změn hladiny D-dimerů.

Poznámka: Zakalení plazmy může ovlivňovat stanovení D-Di ve smyslu snížení. Přítomnost revmatoidního faktoru (>50 IU/ml) může ovlivňovat stanovení ve smyslu zvýšení.

Antitrombin – inhibiční aktivita

AT je nejdůležitější přirozený inhibitor nejen trombinu, ale i F Xa a ostatních serinových

proteáz. Vytváří s nimi stechiometrické ireverzibilní komplexy. Tvorba těchto komplexů je mnohonásobně urychlována v přítomnosti heparinu nebo heparinu podobných látek. Snížení AT představuje zvýšené riziko TEN. Vyšetření funkční aktivity AT je rutinní screeningový test používaný k detekci vrozených či získaných nedostatků AT.

Nedostatek AT může být: vrozený nebo získaný

1) vrozený

2) získaný

- zvýšená konzumpce (DIC, TEN)
- zvýšené ztráty (nefrotický sy.)
- jaterní onemocnění
- jiné (léčba heparinem, orální kontraceptiva)

Test je používán jako předoperační screeningový test a doporučuje se rovněž před zahájením některých terapií spojených s možností poklesu AT (kontraceptiva, heparin).

Antitrombin – antigen

Jedná se o speciální vyšetření, které indikuje a interpretuje hematolog.

Reptilázový čas

Reptiláza - jed hada *Bothrops atrox* vykazuje aktivitu podobnou trombinu – odštěpuje z α řetězců molekuly fibrinogenu FPA za vzniku fibrinu. Na rozdíl od trombinu však její působení není ovlivněno přítomností heparinu a je méně ovlivněno přítomností fibrinogen/fibrin degradačních produktů.

Reptilázový čas je test zachycující poslední fázi koagulační kaskády – přeměnu fibrinogenu na fibrin.

Reptilázový čas není ovlivněn nedostatkem F XIII a ostatních koagulačních faktorů.

Příčiny prodloužení reptilázového času:

- abnormality fibrinogenu:
 - kvalitativní: dysfibrinogenémie
 - kvantitativní: vrozené hypo- nebo afibrinogenémie
získané hypofibrinogenémie (DIC, fibrinolýza, choroby jater)
- FDP (antipolymerizační účinek)
- jiné vzácně se vyskytující inhibitory (např. imunoglobuliny u myelomu a revmatoidní artritidy)

Poznámka: Klinický význam prodloužení RČ je stejný jako TČ s výjimkou vlivu heparinu. Proto vyšetření reptilázového času se provádí pouze v případě prodloužení TČ. RČ možno použít k ověření správnosti odběru (vliv heparinu).

Heparin anti Xa – LMWH

Test je používán k monitorování terapie LMWH, měří se inhibiční účinek komplexu heparin-AT III na

FXa:

- profylaktická hladina (0,2 - 0,4 IU/ml)
- terapeutická hladina (0,5 – 1 IU/ml)

Test, vzhledem k použitému kalibrátoru, není určen k monitoraci léčby nefrakcionovaným heparinem.

Poznámka: Odběr je v případě subkutánního podání doporučeno provádět 3-4 hodiny po aplikaci, kdy je dosaženo nejvyšší aktivity anti-Xa, v případě intravenózní kontinuální infúze kdykoliv v jejím průběhu.

Euglobulinová fibrinolýza

Euglobulinová lýza je globální test fibrinolytického systému, který poskytuje orientační informaci o lytické aktivitě euglobulinové frakce. Zkrácení časů svědčí pro urychlenou fibrinolýzu. Příčiny mohou být primární hyperfibrinolýza, DIC (sekundární hyperfibrinolýza), trombolytická léčba, cirhóza, zvýšená duševní a tělesná zátěž, fyziologicky u novorozence. Prodloužení časů se doporučuje sledovat při podezření na hyperkoagulaci.

Poznámka: Výsledek vyšetření může být ovlivněn koncentrací fibrinogenu. Falešné zkrácení časů může být v důsledku problematického odběru (aktivace). Výsledek vyšetření může ovlivnit také časový interval mezi odběrem krve a přípravou euglobulinové frakce.

Etanolová gelifikace

Etanolgelifikační test je kvalitativní orientační metoda používaná k průkazu rozpustného fibrinu. Přítomnost rozpustného fibrinu (komplex fibrinových monomerů/oligomerů s FDP a fibrinogenem) je důkazem aktivace koagulační kaskády, důkazem tvorby trombinu současně s aktivací plazminu. Pozitivní výsledky EGT nalézáme při DIC, TEN, sepsi, metastázujících karcinomech, SLE.

Poznámka: Falešně negativní výsledek může být u afibrinogenémie a při provedení testu za teploty vyšší než 20 °C nebo za delší dobu po odběru. Falešně pozitivní výsledek může být v důsledku problematického odběru (aktivace koagulace při odběru) nebo při teplotách nižších než 20 °C.

Retrakce koagula

Retrakce tj. smrštění vytvořené krevní zátky je posledním krokem primární hemostázy. Jedná se o funkci destiček. Pseudopodia destiček přilnou k fibrinovým vláknům a retrakce kontraktilních bílkovin (zatažení pseudopodií) vyvolá retrakci sraženiny. In vitro dochází k vytlačení séra ze smršťujícího se koagula, in vivo slouží k podpoře uzavření rány. Sníženou retrakční schopnost (<88 %) nalézáme u kvantitativních (trombocytopenie < 100x10⁹/l) a kvalitativních (trombastenie) poruch krevních destiček. Vyšetření retrakce je klasické funkční vyšetření používané v diagnostice krvácivých stavů z poruch destičkových funkcí.

Doba krvácení (Duke)

Doba krvácení (DK) je globální test primární hemostázy. Prodloužení DK je u :

- sníženého počtu trombocytů – trombocytopenie
- funkčních poruch trombocytů – trombocytopatie
- von Willebrandovy choroby
- poruch cévní stěny
- afibrinogenémie (u ostatních plazmatických koagulačních poruch je DK v normě)

Dobu krvácení mohou ovlivňovat některé léky: např. salicyláty DK prodlužují, kortikoidy naopak zkracují.

Poznámka: Metoda DK dle Duke je zatížena velkou chybou a je nestandardizovatelná. V indikovaných případech by měla být prováděna citlivější metoda dle Ivyho event. její modifikace.

APTT citlivé k LA

Po přidání parciálního tromboplastinu – kefalinu (náhrada destičkového faktoru 3 = PF3) a Ca^{2+} k testované citrátové plazmě závisí rychlost tvorby fibrinového vlákna na faktorech vnitřního koagulačního systému (PK, HMWK, FF XII, XI, IX, VIII ale i X, V, II a I). K urychlení aktivace je přidáván aktivátor (křemičitany). Snížení obsahu fosfolipidů v reagentii zvyšuje citlivost testu k detekce přítomnosti inhibitoru lupus antikoagulans.

Vzhledem k vysoké citlivosti reagentie PTT LA k lupus antikoagulans je tento test používán jako doplňující test při interpretaci prodlouženého APTT(screening). Test je speciálně vyvinut jako screeningový test při diagnostice LA.

APTT necitlivé k LA

Principem je měření aktivovaného parciálního času za předchozí inkubace reakční směsi s aktinem. Actin FS® je vysoce citlivý k heparinu a defektu faktorů, málo citlivý k Lupus anticoagulans.

Příčiny prodloužení APTT:

- vrozený defekt výše uvedených koagulačních faktorů
- fyziologicky u novorozence
- získaný defekt koagulačních faktorů:
 - přítomnost inhibitoru (specifického i nespecifického)
 - onemocnění jater
 - DIC
- arteficiálně dochází často k prodloužení aPTT vlivem špatného odběru (z kanyly)
- při léčbě heparinem, méně pak i při léčbě kumariny nebo deficitu vitamínu K

Dojde-li při vyšetření aPTT s aktinem FS® k normalizaci koagulačního času, lze usuzovat na podezření na přítomnost nespecifického inhibitoru typu LA. Toto podezření musí být následně potvrzeno speciálními vyšetřeními.

Kroužící antikoagulans v PT

Vyšetření kroužící antikoagulans se používá k průkazu časově závislých protilátek, k nimž patří specifické inhibitory. Kroužící antikoagulans na principu PT je pozitivní v důsledku výskytu specifického allogenního inhibitoru u vrozených deficitů koagulačních faktorů ovlivňujících stanovení PT, vzniklého v důsledku substituce faktoru jeho allogenním koncentrátem, dále v důsledku výskytu specifického autologního inhibitoru u získaných poruch hemostázy a nespecifického inhibitoru u osob bez krvácivých projevů s patologickým PT při koagulačním screeningu, kdy většinou chybí časová závislost inhibitoru. V tomto případě je však vhodnější místo kroužícího antikoagulans provést přímo LA speciální testy. Metoda kroužící antikoagulans je pouze orientační vyšetření a v případě positivity musí být doplněna kvantitativním vyšetřením specifického inhibitoru (Bethesda metoda) nebo v případě podezření na přítomnost LA speciálními testy na průkaz LA.

Kroužící antikoagulans v APTT

Vyšetření kroužící antikoagulans se používá k průkazu časově závislých protilátek, k nimž patří specifické inhibitory. Kroužící antikoagulans na principu APTT je přítomno v důsledku výskytu:

- specifického allogenního inhibitoru u vrozených deficitů koagulačních faktorů ovlivňujících stanovení APTT (nejčastěji u hemofilie A/B), vzniklého v důsledku substituce chybějícího faktoru jeho allogenním koncentrátem
- získaného autologního specifického inhibitoru (nejčastěji F VIII, ale i ostatních koagulačních faktorů ovlivňujících vyšetření APTT)
- nespecifického inhibitoru u osob bez krvácivých projevů s patologickým APTT při koagulačním screeningu, kdy většinou chybí časová závislost inhibitoru. V tomto případě je však vhodnější místo kroužícího antikoagulans provést přímo LA speciální testy.

Metoda kroužící antikoagulans je pouze orientační vyšetření a v případě positivity musí být doplněna kvantitativním vyšetřením specifického inhibitoru (Bethesda metoda) nebo v případě podezření na přítomnost LA speciálními testy na průkaz LA.

Korekční test PT

Korekční test na principu PT se používá k rychlému orientačnímu stanovení příčiny prodloužení PT. Provádí se vyšetření PT ve směsi vyšetřované a normální plazmy v poměru 1:1 a sleduje se korekce prodloužených časů s normální plazmou po 1-2 hodinové inkubaci při 37 °C. Test umožňuje odlišit zda je prodloužení způsobené defektem koagulačních faktorů, nebo přítomností inhibitoru. Pokud se prodloužení PT koriguje – jedná se o defekt faktorů (vrozený nebo získaný), pokud se prodloužení nekoriguje vůbec nebo jen částečně je přítomen inhibitor (specifický nebo nespecifický).

Korekční test APTT

Korekční test na principu APTT se používá k rychlému orientačnímu stanovení příčiny prodloužení APTT. Provádí se vyšetření APTT ve směsi vyšetřované a normální plazmy v poměru 1:1 a sleduje se korekce prodloužených časů s normální plazmou po 1-2 hodinové inkubaci při 37 °C. Test umožňuje odlišit zda je prodloužení způsobené defektem koagulačních faktorů, nebo přítomností inhibitoru. Pokud se prodloužení APTT koriguje – jedná se o defekt faktorů (vrozený nebo získaný), pokud se prodloužení nekoriguje vůbec nebo jen částečně je přítomen inhibitor (specifický nebo nespecifický).

Agregace stimulovaná induktory

Vyšetření agregace krevních destiček je základním funkčním vyšetřením trombocytů. Podle agregační odpovědi na daný podnět (induktor) můžeme nepřímo sledovat některé změny ve vlastnostech krevních destiček. Agregace bývá snížena u získaných trombocytopenií (urémie, abusus analgetik, antikoagulační léčba, myeloproliferativní stavy, akutní leukémie) nebo vrozených trombocytopenií (von Willebrand, Heřmanského syndrom, May-Heglin,...).

Podle agregační odpovědi na ristocetin můžeme nepřímo sledovat některé změny ve vlastnostech krevních destiček. Agregace bývá snížena u vrozených trombocytopenií (Bernard Soulier, von Willebrand). U von Willebrandovy choroby lze agregační křivku kompenzovat pomocí normální plazmy.

Vyšetření agregace po ADP monitoruje současně také schopnost uvolňovací reakce trombocytů. Agregace stimulovaná ADP závisí na množství přidaného ADP. Při malých koncentracích dochází k agregaci, ale nedochází ke spuštění cyklu kyseliny arachidonové, destičky postupně deagregují – primární křivka. Při vyšší koncentraci ADP dojde ke spuštění cyklu kyseliny arachidonové (syntéza tromboxanu A₂) a následnému uvolnění tromboxanu A₂ ze sekrečních granulí – sekundární křivka.

Poznámka: Agregiční odpověď je závislá na počtu trombocytů. Používaný agregometr umožňuje nastavení vyšší citlivosti pro trombocytopenické pacienty. Při hodnocení výsledků je nutné přihlížet k počtu trombocytů. V případě výrazných trombocytopenií $< 50 \times 10^9/l$ vyšetření nelze vůbec provést.

Agregace samovolná

Test samovolná agregace je testem, kterým můžeme prokazovat zvýšenou aktivaci krevních destiček in vitro bez přidání stimulačních látek. Ke zvýšené aktivaci trombocytů dochází při: čerstvé tepenné tromboze, trombocytémii, trombofilních stavech, DIC, přítomnosti některých monoklonálních imunoglobulinů.

Poznámka:

Při interpretaci nálezu nutno myslet na možnou aktivaci trombocytů in vitro v důsledku nesprávně provedeného odběru nebo nesprávné manipulace se vzorkem.

Agregační vyšetření HIT

Vyšetřuje se na heparinu závislý trombocytů agregující faktor v pacientově plazmě, kterým je specifický imunoglobulin. V přítomnosti heparinem indukovaných protilátek dochází k indukci agregace PRP normálu v přítomnosti PPP pacienta a heparinu/LMWH. Specifita vyšetření je vysoká, blíží se 100%, ovšem sensitivita vyšetření je jen kolem 50%. Normální plazma tento faktor neobsahuje, tedy ani neindukuje agregaci PRP normálu za přítomnosti heparinu/LMWH.

Mírný pokles trombocytů může být pozorován u některých pacientů bezprostředně po podání infuze heparinu. Snížení počtu trombocytů není vyvoláno imunitním mechanismem a má malý klinický význam. Tento test se používá k diagnostice těžší formy trombocytopenie s významným poklesem trombocytů ($< 100 \times 10^9/l$ nebo pod 50% výchozí hodnoty bez jiné příčiny). Tato forma trombocytopenie je vyvolána imunitním mechanismem a je spojena s rizikem arteriální i žilní trombozy. Nezbytné je přerušování podávání heparinu a zavedení alternativní terapie. Nedoporučuje se náhrada jiným typem heparinu (LMWH) pro poměrně vysoké riziko zkřížené reaktivity uvedených protilátek mezi jednotlivými druhy LMWH.

PFA

PFA 100[®] umožňuje diagnostikovat poruchy funkce trombocytů, a to vrozené, získané nebo vyvolané inhibitory agregace trombocytů. Nejčastější příčinou poruchy funkce trombocytů detekované pomocí PFA 100[®] jsou von Willebrandova choroba, urémie a užívání léků jako je kyselina salicylová i další, méně časté pak jsou hereditární trombocytopenie a sekundární trombocytopenie z jiných příčin. Výsledek testu PFA 100[®], vydávaný jako čas uzavření membrány CT, je indikátorem agregační a adhezivní funkce trombocytů analyzovaného vzorku plné krve. Vznik trombocytární zátky v PFA 100[®]

systemu je ovlivňován sníženým počtem trombocytů a/nebo jejich sníženou aktivitou, sníženým von Willebrandovým faktorem v plazmě a sníženým hematokritem.

Výsledek ovlivňuje:

Hematokrit < 30 %
Počet trombocytů < $100 \times 10^9/l$
Hemolýza vzorku

Senzitivnější pro detekci hypofunkce trombocytů je většinou měřicí modul Col/Epi, zejména pro diagnostiku antiagregační účinnosti ASA, kdy CT při užití modulu Col/ADP zůstává v normě.

Doba krvácení (Ivy)

Doba krvácení (DK) je globální test primární hemostázy. Prodloužení DK u :

- sníženého počtu trombocytů – trombocytopenie
- funkčních poruch trombocytů – trombocytopatie
- von Willebrandovy choroby
- poruch cévní stěny
- afibrinogenémie (u ostatních plazmatických koagulačních poruch DK v normě)

Dobu krvácení mohou ovlivňovat některé léky: např. salicyláty DK prodloužují, kortikoidy naopak zkracují.

Poznámka: DK dle Ivyho je nejcitlivější metodou stanovení DK a bývá prováděna pouze v indikovaných případech (dle ordinace hematologa).

dRVVT (dilute Russel viper venom time)

dRVVT je používán jako screeningový test při diagnostice Lupus antikoagulans (LA). RVV (Russel viper venom) aktivuje F X v přítomnosti Ca^{2+} a fosfolipidy (PL) a tím monitoruje vnější část koagulační kaskády. Při použití nízkých koncentrací PL je test citlivý k přítomnosti protilátek namířených proti PL. Test však není 100% specifický pro LA a k prodloužení koagulačních časů dochází také:

- při defektech faktorů X, V a II
- při léčbě kumariny
- v přítomnosti specifických inhibitorů

Poznámka: Při léčbě kumariny se provádí dRVVT ve směsi pacientovy a normální plazmy v poměru 1:1.

Směsný test

Směsný test umožňuje odlišení defektu faktorů a přítomnosti inhibitoru. Provádí se vyšetření ve směsi vyšetřované a normální plazmy v poměru 1:1 bez inkubace a sleduje se korekce prodloužených časů normální plazmou u screeningových testů na přítomnost lupus antikoagulans (dAPTT, dRVVT). Při defektu faktorů dochází ke korekci normální plazmou, za přítomnosti inhibitoru ke korekci normální plazmou nedochází. Přítomnost inhibitoru je charakterizována poměrem $R_{1:1}$ **větším než 1,3** a **LCA indexem větším než 18**.

Konfirmační test (RVVT)

Konfirmační test v diagnostice lupus antikoagulans, prokazující závislost inhibitoru na fosfolipidech. V přítomnosti LA dochází k neutralizaci nadbytkem fosfolipidů přítomných v RVV reagentii, která se projeví zkrácením koagulačních časů v porovnání se screeningovým dRVVT. Antifosfolipidová povaha inhibitoru je charakterizována normalizovaným poměrem LAR větším než 1,2.

Destičkový neutralizační test (PNP)

PNP je konfirmační test k identifikaci lupus antikoagulans, prokazující závislost inhibitoru na fosfolipidech. V přítomnosti LA dochází k neutralizaci suspenzí promytých zmrazených a rozmrazených destiček /nadbytkem fosfolipidů, která se projeví zkrácením koagulačních časů (Fyz – PNP > 8s). Při nepřítomnosti LA nedochází ke zkrácení časů po přidavku suspenze destiček (Fyz – PNP < 8s).

Poznámka:

- Přítomnost heparinu může způsobovat falešnou pozitivitu testu.
- Hodnotí se rozdíl časů APTT – PNP (PN1) i Fyz – PNP (PN2), ale větší význam má rozdíl PN2, protože odráží změnu (diluci) systému po přidání suspenze destiček.

Neutralizační test s fosfolipidy v hexagonální fázi

HNP je konfirmační test v diagnostice lupus antikoagulans, prokazující závislost inhibitoru na fosfolipidech. V přítomnosti LA dochází k neutralizaci nadbytkem fosfolipidů – fostatidyelatanolaminu v hexagonální fázi II (HPE), která se projeví zkrácením koagulačních časů (CT1 – CT2 > 8s). Při nepřítomnosti LA nedochází ke zkrácení časů po přidavku HPE (CT1 – CT2 < 8s). CT2 může být delší než CT1 a rozdíl časů CT1 – CT2 pak vychází jako negativní hodnota.

Poznámka:

- Přítomnost inhibitoru heparinu v APTT reagentii zajišťuje necitlivost testovacího systému k heparinu do koncentrace 1 IU/ml.
- Přídavek normální plazmy k testovacímu systému koriguje prodloužení koagulačních časů, způsobených deficitem faktorů.
- V přítomnosti specifického inhibitoru nedochází ke zkrácení časů po přidavku HPE.

Faktor II

Faktor II je plazmatický koagulační faktor vitamin K dependentní. Aktivní forma FII – trombin hraje klíčovou roli v koagulaci. Působí jak prokoagulačně tak antikoagulačně. Vedle štěpení fibrinogenu na fibrin aktivuje kofaktory FV a FVIII, při větším množství trombinu naopak tyto faktory degraduje. Aktivuje také FXIII, FIX, krevní destičky a protein C po vazbě na TM. Snížení funkční aktivity FII způsobuje krvácivé projevy.

Vrozené defekty :

- jsou velmi vzácné
- zvýšená hladina FII je u mutace v genu protrombinu 20210 G→A, která je spojena se

zvýšením rizika trombózy

Získané defekty:

- léčba kumariny
- jaterní onemocnění
- nedostatek vitamínu K
- zvýšená spotřeba (DIC)
- přítomnost inhibitoru - velmi vzácně, nejčastěji při lupus antikoagulans

Faktor V

Faktor V je přítomný v plazmě a trombocytech. Je kofaktorem krevního srážení, FVa mnohonásobně urychluje aktivaci protrombinu. Snížení funkční aktivity FV způsobuje krvácivé projevy. Jejich tíže však nemusí přesně korelovat s funkční aktivitou FV v plazmě, protože krvácení je závislé i na obsahu FV v trombocytech a hladina FV v plazmě a v trombocytech nemusí být shodná.

Vrozené defekty:

- jsou vzácné

Získané defekty:

- jaterní onemocnění
- zvýšená spotřeba (DIC)
- inhibitor FV

Faktor VII

Faktor VII je plazmatický faktor vitamin K dependentní. Aktivovaný FVII je schopen štěpit FX. Snížení funkční aktivity FVII způsobuje krvácivé projevy.

Vrozené defekty:

- jsou vzácné.

Získané defekty:

- léčba kumariny
- jaterní onemocnění
- nedostatek vit. K
- zvýšená spotřeba (DIC)
- inhibitor F VII – velmi vzácně

Faktor X

Faktor X je přítomný v plazmě a je vitamin K dependentní. FXa je součástí komplexu zvaného protrombináza (FXa, PL, Ca²⁺, FVa), který aktivuje protrombin na trombin. FXa je současně i aktivátorem FVII na FVIIa. FXa aktivuje v přítomnosti PL a Ca²⁺ také FV. Snížení funkční aktivity FX

způsobuje krvácivé projevy.

Vrozené defekty :

- jsou vzácné, pokles pod 1 % se projevuje jako těžká hemofilie

Získané defekty:

- léčba kumariny
- jaterní onemocnění
- nedostatek vitamínu K
- zvýšená spotřeba (DIC)
- amyloidoza, kdy se předpokládá adsorpce F X na amyloid
- inhibitor FX – velmi vzácně

Faktor VIII

Faktor VIII je přítomý v plazmě navázaný na von Willebrandův faktor. V koagulační kaskádě působí faktor VIIIa v komplexu s faktorem IXa, PL a Ca^{2+} zvaném tenáza. Působí zde jako kofaktor aktivace FX.

Vrozené defekty:

a) hemofilie A:

- < 1 % - těžká hemofilie
- 1 - 5 % - střední hemofilie
- 5 - 40 % - lehká hemofilie
- 40 - 50 % - subhemofilie

b) von Willebrandova choroba

- sekundární snížení FVIII při deficitu vWF jako jeho nosiče v plazmě či při poruše vazby vWF na FVIII

Získané defekty:

- specifický inhibitor F VIII - alogenní u těžké hemofilie A po léčbě koncentráty FVIII
- autologní – vzniklý spontánně u pacientů bez hemofilie A
- jaterní onemocnění
- zvýšená spotřeba (DIC)

Zvýšení FVIII (>150 %):

- rizikový faktor trombózy

Poznámka: V přítomnosti silného inhibitoru typu LA může být vyšetření ovlivněno (ve smyslu snížení).

Faktor IX

Faktor IX je přítomný v plazmě a je vitamin K dependentní. Sám působí aktivně v komplexu zvaném tenáza, který aktivuje FX na FXa. Kofaktorem této reakce jsou FVIIIa, Ca^{2+} a PL.

Vrozené defekty (hemofilie B):

< 1 %	- těžká hemofilie
1 - 5 %	- střední hemofilie
5 - 40 %	- lehká hemofilie
40 – 60 %	- subhemofilie

Získané defekty:

- specifický inhibitor FIX - alogenní u těžké hemofilie B po léčbě koncentráty F IX
- autogenní - vzniklý spontánně u pacientů bez hemofilie B
- léčba kumariny
- jaterní onemocnění
- nedostatek vitamínu K
- zvýšená spotřeba (DIC)
- ztráty (nefrotický syndrom)

Poznámka: V přítomnosti silného inhibitoru typu LA může být vyšetření ovlivněno (ve smyslu snížení).

Faktor XI

Faktor XI je přítomný v plazmě a v trombocytech. Trombocytární FXI není identický s plazmatickým. Sám aktivuje FIX na FIXa v přítomnosti Ca^{2+} a PL, aktivuje i FXII na FXIIa. Snížení funkční aktivity FXI způsobuje krvácivé projevy.

Vrozené defekty:

- (nesprávně označované jako hemofilie C) jsou vzácné, kromě židovské populace Aškenázi (až 10% heterozygotů). Krvácivé projevy nemusí být závislé jen na plazmatické hladině FXI, ale i na genetickém typu defektu a obsahu FXI v trombocytech.

Získané defekty:

- snížená syntéza (jaterní onemocnění)
- inhibitor FXI - velmi vzácně specifický inhibitor

Poznámka: V přítomnosti silného inhibitoru typu LA může být vyšetření ovlivněno (ve smyslu snížení).

Faktor XII

Faktor XII je přítomen v plazmě i séru. XIIa aktivuje kromě FXI i PK a HMWK. Role FXII v aktivaci koagulace je dle nové teorie koagulace méně významná, důležitější roli plní při aktivaci fibrinolýzy. Defekty FXII nejsou spojovány s krvácivými projevy, ale naopak jsou podezřelé ze zvýšené predispozice k trombózám z důvodu nedostatečné aktivace plazminogenu. O tom, zda je zvýšený výskyt trombóz při současném defektu FXII, se vedou spory a defekt FXII se v současné době neřadí mezi jednoznačně prokázané rizikové faktory pro trombózu.

Vrozené defekty (Hagemanova choroba):

- těžké homozygotní defekty vzácné, lehké defekty však některými autory udávané až u 10% populace

Získané defekty:

- snížená syntéza (jaterní onemocnění)
- ztráty (nefrotický syndrom)
- inhibitor FXII - velmi vzácně specifický inhibitor

Poznámka: V přítomnosti silného inhibitoru typu LA může být vyšetření ovlivněno (ve smyslu snížení).

Faktor XIII

Faktor XIII je přítomen v plazmě a trombocytech. Působením na rozpustný fibrin mění nekovalentní vazby na pevné kovalentní. Klinické projevy (krvácení) jsou především u homozygotů (FXIII < 1 %), heterozygoti s lehčím snížením FXIII (> 5%) jsou většinou bez potíží. Typickým projevem nedostatku FXIII je pozdní krvácení u chirurgických zákroků a špatné hojení ran s tvorbou abnormálních jizev a u fertilních žen opakované aborty.

Vrozené defekty:

- jsou vzácné

Získané defekty:

- některé akutní i chronické DIC
- některé akutní leukémie
- některé metastázující zhoubné nádory, zejména s postižením jater

Poznámka: Nedostatek FXIII se neprojevuje v žádném ze základních koagulačních testů.

Inhibitory faktoru VIII / faktoru IX

Inhibitory FVIII / FIX jsou patologické protilátky specificky namířené proti FVIII / FIX. Metodou diagnostikujeme neutralizující inhibitor FVIII / FIX (ovlivňující funkční aktivitu FVIII / FIX). Inhibitor FVIII / FIX může být:

- alogenní u hemofilie A / B (většinou u její těžké formy) po léčbě koncentráty FVIII / FIX.
- autologní u pacientů bez hemofilie A / B, pro které je charakteristické rozsáhlé krvácení do podkoží a svalstva, krvácení ze sliznic a na rozdíl od těžké hemofilie A je méně časté krvácení do kloubů.

Výskyt alogenního inhibitoru FIX je téměř o jeden řád a výskyt autologního inhibitoru FIX je o více než jeden řád méně častý, než je tomu u inhibitoru FVIII.

ProC Global

ProC Global je funkční globální screeningový test určený ke stanovení abnormalit v systému proteinu C a je používán k diagnostice vrozených i získaných poruch v tomto systému.

Test ProC Global dle výsledků klinických studií má:

- 100% senzitivitu pro F V Leiden (hetero a homozygoty)
- 85% senzitivitu pro defekty proteinu C (aktivita <70%)
- 56% senzitivitu pro defekty proteinu S (aktivita <60%)

Test ProC Global je vhodný jako screeningový test k vyloučení trombofilie, nikoliv jako diagnostický test u trombofilních pacientů. Předpokládá se, že samo snížení poměru NR je rizikový faktor trombózy.

Faktory ovlivňující ProC Global - snížení:

- deficit faktorů prodlužujících aPTT
- léčba heparinem (>1 IU/ml)
- léčba kumariny
- přítomnost LA
- zvýšená hladina F VIII
- těhotenství, kontraceptiva, hormonální substituce
- operace, poranění, popáleniny, infekce
- vyšší počet trombocytů v plazmě

Poznámka:

- Deficit koagulačních faktorů nebo vysoké hladiny heparinu způsobují prodloužení koagulačních časů a mohou tak maskovat defekty v systému proteinu C.
- Prodloužení PCAT/ může být vyvoláno rovněž přítomností lupus antikoagulans (LA).
- Čas PCAT/0 musí být menší nebo roven 60 s jinak nelze výsledky spolehlivě interpretovat.
- Při časech PCAT/0 delších než 40s mohou být výsledky ovlivněny.

Vliv jiných faktorů se minimalizuje ředěním vyšetřované plazmy (PP) F V deficitní plazmou v poměru 1 : 5. Snížení NR je pak v tomto dilučním uspořádání vyvoláno většinou přítomností F V Leiden.

APC-rezistence

Rezistence na aktivovaný protein C je snížená antikoagulační odpověď na aktivovaný protein C. Tento fenotypický nálezn v plazmě je u většiny jedinců zapříčiněn bodovou mutací F V (Arg506Gln) tzv. Leidenskou mutací. Záměnou aminokyseliny v místě štěpení F Va proteinem C zůstává F Va delší dobu v cirkulaci, což má za následek zvýšenou tvorbu trombinu. Zřejmě je ovlivněna i funkce FV jako kofaktoru APC. Tato dominantně dědičná anomálie zvyšuje riziko TEN u heterozygotů 5-10x, u homozygotů 50-100x a vyskytuje se u bílé rasy ve 3-15% ve zdravé populaci a u 20-60% osob postižených trombofilií. Potvrzení poruchy je však možné pouze molekulárně genetickým vyšetřením F V, metody koagulační jsou nespecifické.

Kromě geneticky podmíněné APC-R se setkáváme také se získanou APC-R:

- v těhotenství
- při zvýšené hladině F VIII
- při nízké hladině proteinu S

- při podávání orálních kontraceptiv
- v přítomnosti LA.

Test STA Staclot APC-R díky speciálnímu uspořádání není ovlivněn:

- léčbou heparinem (UFH i LMWH) < 1 IU/ml (inhibitor heparinu)
- léčbou kumariny (F V deficitní plazma) v terapeutickém rozmezí
- defekty proteinu S,C (F V deficitní plazma)
- přítomností LA (přídavek PL)
- zvýšenou hladinou F VIII

Díky tomuto uspořádání test je test citlivý pouze k FV Leiden a event. jiným vrozeným, případně získaným defektům F V.

Protein C – inhibiční aktivita

Protein C je vitamin K dependentní protein, syntetizovaný v játrech a přítomný v plazmě v neaktivní formě jako proenzym. Jeho aktivace in vivo vyžaduje přítomnost trombinu, kalcia a fosfolipidů a je potencována endoteliálním faktorem - trombomodulinem. Aktivovaný protein C inaktivuje F Va a VIIIa v přítomnosti kofaktoru proteinu S a FV. Nedostatek proteinu C způsobuje snížení antikoagulačního potenciálu krve a tím zvýšené riziko vzniku TEN.

Nedostatek PC může být:

a) vrozený

b) získaný

- jaterní onemocnění
- nedostatek vit. K
- orální antikoagulační léčba
- zvýšená spotřeba (DIC, TEN)
- zánětlivá onemocnění

Protein S – inhibiční aktivita

Protein S je vitamin K dependentní protein. Vyskytuje se ve dvou formách - volný (kofaktor PCa –cca 40 %) a vázaný na C4b-BP (nemá kofaktorovou aktivitu - cca 60%). Působí jednak jako kofaktor aktivovaného proteinu C, který inaktivuje F Va a VIIIa (pouze volný protein S), jednak jako samostatný inhibitor protrombinázy (cestou přímé inhibice FXa a vazbou na FV a Fva). Nedostatek proteinu S způsobuje snížení antikoagulačního potenciálu krve a tím zvýšené riziko vzniku tromboembolizmu.

Nedostatek PS může být:

a) vrozený

b) získaný

- jaterní onemocnění
- nedostatek vit. K

- orální antikoagulační léčba
- zvýšená spotřeba (DIC, TEN)
- gravidita, HAK
- zánětlivá onemocnění

Protein S je vyšší u mužů než u žen a zvyšuje se s věkem.

Plazminogen

Plazminogen přítomný v plazmě se váže na povrchy nejruznějších buněk (endotel, membránu destiček, nádorové buňky), kde jsou také vazebná místa pro jeho aktivátory. Plazminogen je aktivován tkáňovými a plazmatickými aktivátory štěpením vazby arginin-valin za vzniku dvouřetězcové molekuly plazminu. Plazmin je klíčovým enzymem fibrinolytického systému a štěpí fibrin a sekundárně také fibrinogen. Nedostatek plazminogenu je rizikovým faktorem trombózy (dle některých autorů pouze zvyšují riziko trombózy při současném výskytu jiných defektů).

Vrozené defekty:

- Typ I (kvantitativní) – současné snížení funkční aktivity i antigenu
- Typ II (kvalitativní) – funkční aktivita výrazně nižší než hladina antigenu

Získané defekty:

- novorozenci (zejména předčasně narození)
- jaterní onemocnění
- zvýšená spotřeba (DIC, trombolytická léčba)

Ke zvýšení hladiny plazminogenu dochází ve třetím trimestru těhotenství. U novorozenců je hladina plazminogenu snížena asi na 50% hladiny dospělých.

α_2 -antiplazmin

α_2 -antiplazmin je v plazmě přítomen v nadbytku a okamžitě reaguje s veškerým volným plazminem za vzniku ireverzibilních stechiometrických komplexů. Plazmin navázaný na fibrin je chráněn před vlivem antiplazminu. Nedostatek α_2 -antiplazminu znamená posun hemostatické rovnováhy a sklon ke krvácivým problémům. Z neobvyklých krvácivých projevů je popisováno krvácení do kostní dřevě diafýz dlouhých kostí.

Vrozené defekty:

- výskyt velice vzácně

Získané defekty:

- jaterní onemocnění
- zvýšená spotřeba (DIC, fibrinolytická léčba)

PAI-1

PAI-1 hraje důležitou roli v regulaci fibrinolýzy. Vytváří ireversibilní stechiometrické komplexy s tPA a urokinázou. Existuje souvislost mezi rizikovými faktory aterosklerózy (obezita, hyperinsulinémie, hypertriglyceridémie) a zvýšenou hladinou PAI-1, zda je samostatným rizikovým faktorem pro trombózu není dosud zcela jasné. Ke vzestupu PAI-1 dochází při venookluzivní chorobě jater jako komplikaci transplantace krvevorných buněk. Poměru hladiny PAI-1 před transplantací a při podezření na tuto chorobu lze využít pro diagnostiku venookluzivní choroby.

Vrozené defekty:

- snížení: - výskyt velice vzácně, spojené s krvácivými projevy
- zvýšení: - u polymorfismu 4G/5G je s výskytem alely 4G asociována vyšší hladina PAI-1 u pacientů s TEN, ne však v neselektované populaci

Získané defekty ve smyslu elevace:

- trombózy, infarkt myokardu
- jaterní onemocnění
- malignity
- operace, septický šok

Aktivita PAI-1 se zvyšuje v průběhu těhotenství a rychle se snižuje po porodu. U novorozenců je hladina PAI-1 téměř dvojnásobná než u dospělých. Přítomnost PAI-2 v plazmě těhotných žen může vést ke zkreslení stanovení hladiny PAI-1.

Poznámka: Test je necitlivý k defektům plazminogenu a fibrinogenu a k heparinu do 1 IU/ml.

VWF:RCo, LIA VWF:Ag, ELISA VWF:CBA

Von Willebrandův faktor plní důležité funkce v primární hemostáze (zprostředkuje adhezi trombocytů na subendotel, za určitých okolností i jejich agregaci), a současně i v procesu koagulace (nosič FVIII, ochrana před jeho degradací, lokalizace FVIII v místě sraženiny).

Stanovení **vWF:RCo** slouží k posouzení na trombocytech vázaných funkcí vWF v primární hemostáze. Stanovení **vWF:Ag** slouží určení množství antigenu vWF přítomného v testovaném vzorku. **VWF:CBA** slouží k posouzení adhezivity VWF ke kolagenu.

Příčiny snížení vWF:RCo / vWF:Ag a VWF:CBA / VWF:Ag:

- oba dva tyto poměry jsou sníženy pod 0,7 u typu 2A a 2B von Willebrandovy choroby a pouze poměr vWF:RCo / VWF:Ag je snížen pod 0,7 u typu 2M, v normě (nad 0,7) jsou u ostatních typů choroby (1, 2N, 3). Snížení poměru funkční aktivity ku antigenu bývá u typu 2A a 2B výraznější pro VWF:CBA než pro VWF:RCo.
- tzv. získaná forma von Willebrandovy choroby (např. u myelomu, lymfomů, SLE,

hypothyroidismu, trombocytémie, při léčbě valproovou kyselinou).

Zvýšení VWF:Ag:

- infekce
- těhotenství a hormonální antikoncepce
- operace a úrazy
- fyzická námaha
- nádory
- kardiovaskulární onemocnění

Poznámka: Ke zvyšování vWF dochází i s věkem. Populace s krevní skupinou 0 má výrazně nižší vWF než populace s ostatními krevními skupinami.

Protein S (volný, celkový)

Jedná se o speciální vyšetření, které indikuje a interpretuje hematolog.

Poznámka: Přítomnost vyšších hladin revmatoidního faktoru (>70 IU/ml) ovlivňuje stanovení ve smyslu zvýšení hladin volného proteinu S. Test není ovlivněn přítomností hemoglobinu (do 5 g/l), bilirubinu (do 75 mg/ml), fibrinogenu (do 9 g/l), nefrakcionovaného heparinu (do 1,5 IU/ml) a nízkomolekulárního heparinu (do 2 anti Xa IU/ml).

EID fibrinogen

Indikací k vyšetření antigenu Fbg je defekt koagulační aktivity Fbg či podezření na dysfibrinogenémii na základě prodloužení trombinového a reptilázového času. U hypofibrinogenémie i dysfibrinogenémie mohou být funkční aktivita i antigen Fbg proporcionální nebo funkční aktivita je více snižena než antigen, který může být i v normě (nedochází k omezení syntézy Fbg, je ale porušená jeho funkční aktivita).

Antitrombin – antigen

Jedná se o speciální vyšetření, které indikuje a interpretuje hematolog.

Solubilní transferinový receptor

Transferinový receptor (TfR) zprostředkovává vstup transferinu s navázaným železem z extracelulárního prostředí do buňky. Rozpustný transferinový receptor (sTfR) se uvolňuje z povrchu buňky proteolýzou. Zvýšení erythropoetinové aktivity, a zvláště deficeence železa, způsobuje, že regulace syntézy sTfR je omezena (zvýší se stabilita mRNA pro TfR) a tím dochází ke zvýšení sérových hladin (až 20x). sTfR může být zvýšen také u hemolytické anémie, polycytémie a talasémie bez deficeence železa. Snižené hodnoty sTfR nacházíme u aplastické anémie a chronického renálního

selhání. Měření hadin sTfR poskytuje informaci o situaci se skladováním železa dokonce ještě před rozvojem anémie. Pomáhá diferenciatně diagnostikovat sideropenickou anémii od jiných anémií, zvláště od anémií způsobených chronickými nemocemi. Během léčby erythropoetinem dává hodnotné informace pro prevenci funkční deficiencie železa způsobené rychlou nebo zmenšenou mobilizací zásob železa.

Trombin generační test

Test založený na tvorbě trombinu, který nám v průběhu měření poskytuje aktuální komplexní obraz hemostázy a maximálně se snaží přiblížit *in vivo* podmínkám. Stávající testy aPTT a PT nejsou schopny díky své metodice změřit celkovou schopnost organismu generovat trombin a tedy nejsou spolehlivými ukazateli koagulačního nastavení organismu. Tyto testy dávají informaci pouze o první fázi hemostatického procesu, kdy se generuje cca 5% celkového trombinu. Test založený na měření celkového množství generovaného trombinu dávají spolehlivější představu o hemokoagulační rovnováze organismu. Trombinogram charakterizuje množství vznikajícího trombinu v plazmě pacienta v čase a je tudíž obecným fyziologicky funkčním testem tromboticko-hemostatického systému. TGA měří tendenci jak trombofilní tak krvácivou a může být použit k získání úplného obrazu hemostatického systému, k měření jakéhokoliv vrozeného nebo získaného trombofilního onemocnění (jako je např. deficit AT), k monitorování léčby trombofilních onemocnění: antikoagulační léčba (kumariny), hepariny (UFH, Fraxiparin), perorální antikoncepce, nebo jakákoliv kombinace léků, k monitorování léčby hemofiliků (léčba pdFVIII, rFVIII, pdFIX, rFIX a rFVIIa), atd.

Molekulární genetik

Stanovení polymorfismu FVL G1691A, FV Cambridge

Leidenská mutace (FVL) je záměna nukleotidu G na pozici 1691 za nukleotid A v genu koagulačního faktoru V. Způsobuje záměnu aminokyseliny Arginin 506 za Glutamin v polypeptidovém řetězci koagulačního faktoru V. V místě 506 je za normálních podmínek aktivovaný FVa štěpen aktivovaným proteinem C a tím je inaktivován. Mutovaný FVa je proti tomuto enzymatickému štěpení odolnější, zůstává delší dobu v plasmě a podílí se tak na vzniku trombózy. Leidenská mutace koagulačního faktoru V je nejčastěji se vyskytující vrozený hemostatický rizikový faktor pro vznik trombózy. Incidence této poruchy je v Evropě u kavkazské rasy 3 -15%. Riziko trombózy je u heterozygotních nositelů FVL 5-6x vyšší než u osob bez mutace, u homozygotů je toto riziko vyšší 50-100x. Princip polymorfismu FV Cambridge je podobný s FVL.

Stanovení polymorfismu prothrombinu G20210A

Prothrombinová mutace (FII G20210A) je záměna nukleotidu G číslo 20210 za nukleotid A v genu

protrombinu. Protože se nalézá v 3' nekódující oblasti genu, nezpůsobuje záměnu aminokyseliny, ale ne zcela jasným způsobem mírně zvyšuje hladinu protrombinu v plazmě. Heterozygotní mutace zvyšuje riziko trombózy asi 3x, u homozygotní formy není výše rizika stanovena.

Stanovení polymorfismu MTHFR C677T

Mutace MTHFR C677T je podmíněna záměnou nukleotidu C na pozici 677 za nukleotid T v genu methylenetetrahydrofolát reduktázy. Důsledkem této mutace je vznik termolabilní varianty MTHFR s následným defektem remetylce a výslednou vyšší hladinou homocysteinu. Výskyt této alely v populaci je až 40%. K patologickému zvýšení hladiny homocysteinu však dochází jen u části jedinců, kteří jsou nositeli této mutace (u ¼ - 1/3 homozygotů). Hladina homocysteinu je ovlivněna i mnoha dalšími vlivy, především nedostatkem kyseliny listové, vitamínu B12 a B6.

Zvýšená hladina homocysteinu zvyšuje riziko vzniku aterosklerózy a trombózy žilní i tepenné přibližně 2-3x.

Stanovení polymorfismu HFE (C282Y, H63D, S65C)

Mutace genu označovaného HFE jsou popisovány v kauzální souvislosti s hereditární hemochromatózou (HH). Produkt tohoto genu (HFE protein) reguluje příjem železa do organismu. Prostřednictvím PCR metody je k dispozici vyšetření mutace G845A, která má za následek záměnu cysteinu tyrosinem v pozici 282 (C282Y) a mutace C187G, která má za následek záměnu histidinu aspartátem v pozici 63 (H63D). Tyto dvě bodové mutace jsou nejčastější příčinou hereditární hemochromatózy. Homozygotní stav C282Y je nacházen asi u 80% pacientů s HH oproti necelému 0,5% v populaci a heterozygotní stav C282Y/H63D je nacházen u asi 5% pacientů s HH oproti 1,3% v populaci. Ke klinické manifestaci HH dochází u 4-25% homozygotů C282Y a asi 2% složených heterozygotů C282Y/H63D. Frekvence homozygotního stavu H63D ani heterozygotů obou mutací s wild genotypem nejsou u pacientů s HH oproti populaci významně rozdílné.

Stanovení polymorfismu PAI-1 (4G/5G)

Alela 4G zvyšuje přepis genu pro PAI-1, avšak elevace plazmatické hladiny PAI-1 v závislosti na přítomnosti alely 4G je popisována u pacientů s TEN, ale ne u zdravé populace. Hladina PAI-1 je přímo závislá i na hladině triglyceridů, BM indexu a insulinémii. Bez selekce není alela 4G pro riziko TEN statisticky významná. V některých případech se však jeví jako významný rizikový faktor TEN. Popsána je souvislost s trombózami vnitřních orgánů, portálního řečiště, ztrátami plodu a retardací růstu v graviditě, zvýšení rizika TEN při nálezu jiného trombofilního stavu (F V Leiden, defekt proteinu S) a současně homozygotního stavu 4G/4G.

LEHABI

T lymfocyty

Stanovení relativního počtu T lymfocytů prostřednictvím povrchových markerů CD3 a CD5 slouží ke zjištění abnormalit v rozpočtu lymfocytů. Spolu s analýzou dalších markerů slouží k diferenciální

diagnostice lymfoproliferací T-typu. Stanovením subtypů T lymfocytů - CD4 (pomocné T lymfocyty - Ts) a CD8 (cytotoxické T lymfocyty - Tc) - a jejich poměru CD4/CD8 - lze získat imunoregulační index (IRI) vypovídající o stavu imunitního systému organismu. Nápadně snížený je u AIDS, u některých chronických virových infekcí aj. Zvýšen bývá u imunopatologických procesů. Analýza CD45RA, CD45RO vnáší informaci o naivních a pomahačských T lymfocytech. Expresí CD28 na T lymfocytech umožňuje lépe charakterizovat CD8+ buňky (Ts/Tc).

B lymfocyty

Stanovení relativního počtu B lymfocytů prostřednictvím povrchových markerů CD19, CD20, CD22 slouží ke zjištění abnormalit v rozpočtu lymfocytů. Spolu s analýzou dalších B markerů (např. CD23, FMC7) slouží k diferenciální diagnostice lymfoproliferací B-typu.

NK buňky

Stanovení NK buněk doplňuje – spolu s T a B lymfocyty – analýzu lymfocytů. Zjištění rel. počtu CD3⁺CD16⁺CD56⁺ buněk slouží také k diferenciální diagnostice hematologických malignit.

Monocyty

Stanovení CD14⁺ monocytů slouží k odhalení jejich počtu v případě nejasného diferenciálního rozpočtu leukocytů – prolínání či společné populace lymfocytů a monocytů. Sledována je také aberantní exprese CD14 na lymfocytech, která se vyskytuje u některých hematologických malignit. Snížení exprese HLA-DR na monocytech provází septický stav.

Myeloidní buňky

Stanovení exprese CD13 a CD33 slouží k diagnostice myeloproliferativních onemocnění či ke stanovení jejich možné aberantní exprese u lymfoproliferací.

Leukocyty

Stanovení exprese základního leukocytárního markeru CD45 je využito k odhalení patologické populace CD45dim (u hematologických malignit typu B-CLL aj.), pro stanovení zastoupení a fenotypu myelomových buněk a také pro odlišení populace leukocytů s příměsí erytrocytů.

Dendritické buňky

Stanovení subtypů DB se uplatňuje v imunomonitorování pacientů podstupujících vakcinaci. V periferní krvi je sledován myeloidní podtyp HLA-DR+CD11c+lin⁻ a plazmacytoidní podtyp HLA-DR+CD123+lin⁻. Pro kultivované DB, které jsou následně zpracovávány pro přípravu vakcín, je využívána pozitivita na kombinaci znaků CD83 a HLA-DR a případně koexpresí CD80 či CD86.

Trombocyty

Stanovením relativní exprese CD36, CD41, CD42a, CD42b, CD61 lze diagnostikovat určitá onemocnění (např. Bernard-Soulierův syndrom, Glanzmannova trombastenie aj.). K odhalení aktivace slouží znaky CD62P a CD63, které nejsou na klidových trombocytech exprimovány. Expresí trombocytárních markerů vykazují také trombocytární mikropartikule uvolňované trombocyty v nefyziologických podmínkách.

Kmenové buňky
Stanovení CD34+ kmenových buněk je významné v diferenciální diagnostice hematologických malignit pro zastoupení blastů. Dalším uplatněním je analýza výtěžnosti kmenových buněk v transplantátu či v pupečnickové krvi.
Apoptotické buňky
Stanovení CD95+ (také Annexin pozitivních) apoptotických buněk vypovídá o množství buněk, které přešly do stádia programované buněčné smrti v reakci na podnět za fyziologických podmínek.
Expres TCR receptorů
Stanovení transmembránových T receptorů slouží k vyšetření klonality $\alpha\beta$ vs. $\gamma\delta$ u lymfoproliferativních onemocnění. Vyšetření exprese jednotlivých T receptorů je vztažena k jejich významnosti pro určité choroby (např. TVC V α 24 a TCR V β 11 u diabetes mellitus).
Expres kostimulačních molekul
Stanovení exprese markeru CD28 na T lymfocytech a jeho koreceptorů CD80 a CD86 na antigen-prezentujících buňkách vede ke zjištění o funkčnosti obou typů buněk a možnosti přenosu kostimulačního signálu.
Expres povrchových a intracelulárních lehkých řetězců
Vyšetření lehkých řetězců a jejich poměru, exprimovaných buď na povrchu či v cytoplazmě B lymfocytů a plazmocytů, slouží ke zjištění klonality u B lymfoproliferací či u mnohočetného myelomu. V případě kappa je exprese na 2/3 CD19+ zralých B buněk, u lambda na 1/3 CD19+ zralých B buněk. Oba řetězce jsou také exprimovány na nezralých B lymfocytech kostní dřeně a v rámci plazmocytů u mnohočetného myelomu.
Aktivace T lymfocytů
Při vyšetření aktivovaných T lymfocytů je sledována koexpres znaků CD3 a CD25, CD69, HLA-DR či IFN γ . Analýza spadá do oblasti monitorování imunitní odpovědi na určitý podnět např. léčbu či případně na stimulaci kultivovaných buněk. Expres CD38 na CD8 T lymfocytech je také známkou aktivace a sleduje se zejm. u virových infekcí (EBV, CMV). U aktivovaných B lymfocytů sledujeme koexpresi CD19 či CD20 spolu s CD23. V B lymfocytární řadě lze nalézt subpopulaci B1 lymfocytů (CD19+CD5+), která je spojována s produkcí přirozených (auto)protilátek.
Absolutní počet buněk
Stanovení absolutního počtu buněk určitého fenotypu je vyžadováno při nedostatečné výpovědní hodnotě relativního počtu. V případě hodnocení pacientů s AIDS vypovídá o pokročilosti choroby (abs. počet CD4+ bb), sleduje se také u pacientů léčených monoklonální protilátkou proti B lymfocytům (abs. počet CD19+ či CD20+ bb).
Základní imunofenotypizace
Vyšetření lymfo/leukocytárních subpopulací slouží ke stanovení zastoupení jednotlivých lymfocytárních podtypů či k určení typu hematologické malignity, kdy se - na základě přemíry či

nepřítomnosti exprese vybraných markerů – dá upřesnit diferenciální dg. patologického stavu.
Imunofenotypizace u mnohočetného myelomu
Vyšetřením stanovíme zastoupení základních lymfo/leukocytárních subpopulací, včetně analýzy rel. množství cirkulujících normálních CD19+ či abnormálních CD56+ plazmocytů v periferní krvi či určení klonality myelomových buněk v kostní dřeni.
Imunomonitoring
Studiem vybraných povrchových (příp. intracelulárních) markerů u sledovaných pacientů mohou být odhaleny pozitivní či negativní změny v jejich expresi, které souvisí s podanou léčbou a vypovídají tak o funkci a reakci imunitního systému na určitý podnět.
DNA analýza
Stanovení množství buněk v jednotlivých fázích buněčného cyklu může odhalit proliferativní vlastnosti (% buněk v S-fázi cyklu) určitého typu buněk definovaného povrchovým markerem. Současně lze analýzou získat také informaci o obsahu DNA (DNA plořidita), tedy mají-li definované buňky snížený (hypodiploidní) nebo zvýšený (hyperdiploidní) obsah DNA.
Rozmrařování lymfocytů
Zamražená buněčná suspenze lymfocytů v kryotubě v prostředí 10% DMSO je šetrně rozmrařena pro následné využití tak, aby si co nejvíce buněk zachovalo vitalitu.
Izolace T,B dynabeads
Izolované buňky (T a B lymfocyty, myelomové buňky aj.) kostní dřeni jsou využity pro experimentální účely v oblasti sledování a prevence mnohočetného myelomu a k diagnosticko-léčebným účelům. Jedná se o využití v oblasti molekulární cytogenetiky, molekulární genetiky, epigenetiky a proteomiky.
Izolace MNC pro kultivace
Pomocí gradientové centrifugace na Histopaque ve sterilních podmínkách mohou být vyizolovány mononukleární buňky periferní krve/kostní dřeni, které lze využít pro různé aplikace (analýza a kultivace lymfocytů, kultivace dendritických buněk pro účely přípravy protinádorových vakcín, izolace buněčných subpopulací definovaných povrchovým markerem apod.).
Izolace MNC pro typizace
Na Histopaque izolované mononukleární buňky z periferní krve/kostní dřeni jsou využity pro stanovení fenotypu těchto buněk, buňky nejsou zpracovávány sterilně a tedy jsou nevhodné pro kultivace.
Výroba protinádorových pediatrických vakcín
Vakcíny jsou vyrobeny na bázi dendritických buněk, které jsou naložené autologními ozářenými nádorovými buňkami. Vakcína je aplikována terminálně nemocným dětským pacientům. Léčba je zaměřena na indukci a udržení imunitní odpovědi proti nádorovým buňkám.
Experimentální expanze tumor infiltrujících lymfocytů
Tumor infiltrující lymfocyty získané z resekované nádorové tkáně jsou v těle pacienta nositeli

cytotoxického potenciálu specifického vůči melanomovým nádorovým buňkám. Expanzí je navýšen jejich počet tak, aby mohly být realizovány další experimentální přístupy.

Stanovení mikropartikulí

Mikropartikule (MP) jsou membránové vezikuly uvolněné z různých typů buněk (trombocyty, erythrocyty, leukocyty, endoteliální buňky aj.) a mohou být identifikovány na základě exprese typických povrchových markerů vztažených k typu buňky (CD41 a CD61 pro trombocyty - PMP, CD31 a CD144 pro endoteliální buňky - EMP aj.). Mají prokoagulační, protrombotické a prozánětlivé vlastnosti. Zvýšený počet PMP je nalézán v souvislosti s aktivací destiček či u trombotických stavů, aterosklerózy, venózní trombózy, SLE, ITP aj.; zvýšený počet EMP nacházíme u vaskulárních nemocí, TTP, LA, hyperkoagulability aj.

Nespecifická stimulace lymfocytů

Pomocí metodiky je sledován funkční stav lymfocytů a jejich schopnost nespecifické aktivace po přidání stimulans (PMA - phorbol 12-myristate 13-acetate, IC - ionomycin calcium). Aktivované buňky exprimují CD69 a IFN γ , neměl by být exprimován IL-4.

Výroba protinádorových vakcín pro pacienty s mnohočetným myelomem

Vakcíny jsou vyrobeny na bázi dendritických buněk, které jsou naloženy Id proteinem. Vakcína je aplikovaná pacientům s mnohočetným myelomem za účelem udržení remise onemocnění.

9. Zkratky

BM	Biologický materiál
LEHABI	Laboratoř Experimentální Hematologie a Buněčné Imunoterapie
LIS	Laboratorní Informační Systém
MKN-10	Mezinárodní klasifikace nemocí, 10. revize
MZ-ČR	Ministerstvo zdravotnictví České republiky
OKH FN	Oddělení klinické hematologie, Fakultní nemocnice
PM	Pracoviště reprodukční medicíny
PMDV	Pracoviště medicíny dospělého věku
PZP	Pomocný zdravotnický personál
RČ	Rodné číslo
SEKK	Systém Externí Kontroly Kvality
SVLS	Společné vyšetřovací lékařské složky

SZP	Střední zdravotnický personál
THP	Technicko hospodářský pracovník
VŠ	Vysokoškolák
ZL	Zdravotní laborant

revize: 30. června 2011