



LABORATORNÍ PŘÍRUČKA

Klinická genetika – laboratoř molekulární genetiky



Obsah

A - Úvod

B – Identifikace laboratoře

- B-1 Základní identifikace a důležité údaje
- B-2 Zaměření laboratoře
- B-3 Úroveň a stav akreditace pracoviště
- B-4 Organizace laboratoře, vnitřní členění, vybavení a obsazení
 - B-5 Seznam nabízených služeb a indikace k vyšetření

C- Manuál pro odběry primárních vzorků

- C-1 Základní informace
- C-2 Požadavkové listy (žádanky)
- C-3 Požadavky na urgentní vyšetření
- C-4 Ústní požadavky na vyšetření
- C-5 Používaný odběrový systém
- C-6 Příprava pacienta před vyšetřením
- C-7 Identifikace pacienta na žádance a označení vzorku
- C-8 Odběr vzorku
- C-9 Množství vzorku
- C-10 Nezbytné operace se vzorkem, stabilita
- C-11 Základní informace k bezpečnosti při práci se vzorky
- C-12 Informace k dopravě
- C-13 Informace o zajišťovaném svozu vzorků

D – Preanalytické procesy v laboratoři

- D-1 Postup při příjmu vzorků a vedení dokumentace
- D-2 Kriteria pro odmítnutí vadných (kolizních) primární vzorků

- D-3 Postupy při nesprávné identifikaci vzorku nebo žádanky
- D-4 Vyšetření smluvními laboratořemi

E – Vydávání výsledků a komunikace s laboratořmi

- E-1 Hlášení výsledků v kritických intervalech.
- E-2 Informace o formách vydávání výsledků
 - E-3 Typy nálezů
- E-4 Vydávání výsledků přímo pacientům
- E-5 Opakovaná a dodatečná vyšetření.
- E-6 Změny výsledků a nálezů
- E-7 Intervaly od dodání vzorku k vydání výsledku
- E-8 Konzultační činnost laboratoře
- E-9 Konzultační vyšetření
- E-10 Způsob řešení stížností
- E-11 Vydávání potřeb laboratořmi

F Přílohy

A - Úvod

CGB laboratoř a.s. je vnitřně členěna na:

- 1) **Laboratoř klinické patologie** - zahrnující histologickou, cytologickou a imunohistochemickou laboratoř;
- 2) **Laboratoř klinické genetiky** – zahrnující cytogenetickou laboratoř a laboratoř molekulární genetiky.

Soubor nabízených metod laboratorního vyšetření je vytvořen a inovován dle požadavků zákazníků (lékařů a zdravotnických zařízení) s přihlédnutím k odbornému vývoji v oblastech klinické patologie a klinické genetiky.

Úhradu provádějí zdravotní pojišťovny podle příslušnosti pacienta. Společnost má s jednotlivými zdravotními pojišťovnami uzavřeny „Smlouvy o poskytování a úhradě zdravotní péče“, z nichž vyplývají i vyšetření, která lze na pracovišti provádět.

Pro samoplátce je vytvořen ceník.

Zákazníkům jsou poskytovány konzultace a návody v odborné oblasti související s prováděnými laboratorními vyšetřeními.



B – Identifikace laboratoře



B -1 Základní identifikace a důležité údaje

Název organizace:	CGB laboratoř a.s.
Sídlo firmy:	Kořenského 10/1210, 703 00 Ostrava 3
Vedoucí laboratoře:	RNDr.Magdalena Uvírová
Laboratoř:	Klinická genetiká – Laboratoř molekulární genetiky
Odpovědná osoba:	RNDr. Magdalena Uvírová
Umístění laboratoře:	areál Fakulty zdravotnických studií, Ostravská univerzita Syllabova 19, 703 00 Ostrava
Telefon	597 091 767
Fax	595 700 176
e-mail	genetika@pathology.cz
Provozní doba:	7:00 – 15:30
Příjem vzorků:	Kořenského 10/1210, 703 00 Ostrava – Vítkovice, Syllabova 19, 703 00 Ostrava

B-2 Zaměření laboratoře

Laboratoř molekulární genetiky CGB laboratoře a.s. provádí specializovaná vyšetření vzorků nukleových kyselin získaných převážně izolací z periferní krve, kultivovaných buněk plodové vody, různých typů tkání a dále parafinových bloků a stěrů sliznic atd.

B-3 Úroveň a stav akreditace pracoviště

Laboratoř je držitelem Osvědčení o akreditaci dle normy ČSN EN ISO 15189

B-4 Organizace laboratoře, vnitřní členění, vybavení a obsazení

CGB laboratoř a.s. má v souladu se svými kapacitními, přístrojovými a odbornými možnostmi stanoven soubor metod laboratorního vyšetření, který může realizovat a který je podložen smlouvami se zdravotními pojišťovnami.

CGB laboratoř a.s. je vnitřně členěna na **laboratoř klinické patologie**, provádějící bioptická a cytologická vyšetření a na **laboratoř klinické genetiky**, jejíž součástí je **laboratoř molekulární genetiky**.

Prostorové a technické vybavení laboratoří splňuje veškerá kritéria pro nasmlouvané činnosti se ZP a je odsouhlaseno Krajským úřadem Moravskoslezského kraje, odborem zdravotnictví.

Personální obsazení je taktéž schváleno Krajským úřadem Moravskoslezského kraje, odborem zdravotnictví a zaměstnanci laboratoře splňují svým vzděláním podmínky odborné způsobilosti.

Zákazníkům je po dohodě umožněna prohlídka laboratorního zařízení a jsou poskytovány informace o organizaci provozu.

B-5 Seznam nabízených služeb a indikace k vyšetření

1. Izolace vzorků nukleových kyselin (DNA, RNA)

Izolace nukleové kyseliny je výchozí krok všech následných metod molekulární genetiky. Kvalitu a kvantitu vyizolované nukleové kyseliny lze stanovit spektrofotometricky a elektroforézou v agarózovém gelu. Laboratoř provádí:

a) Izolace DNA ze vzorků periferní krve, kostní dřeně, různých typů tkání, kultivovaných buněk buněčných nebo tkáňových kultur (primární materiál plodová voda, tkáň spontánních abortů), parafinových bloků a slizničních stěrů.

b) Izolace RNA ze vzorků periferní krve, kostní dřeně, různých typů tkání

2. Vyšetření frekvenčně nejčastějších mutací v genu pro cystickou fibrózu

Vyšetření 20 mutací (F508del, CFTRdele2.3/21kb, G551D, N1303K, G542X, 1898+1G>A, W1282X, 1717-1 G>A, R553X, 711+1G>T, 3272-26A>G, I148T, 3199delG, 3120+1G>A, S1251N, 3905insT, R560T, I507del, Q552X) - pomocí kitu INNO-LiPA CFTR 19 (kit INNO-LiPA CFTR 19 - INNOGENETICS) a mutace R347P - pomocí metody PCR+RFLP (polymerázové řetězové reakce + polymorfismus

délky restričních fragmentů)

Na základě požadavku indikujícího lékaře provádíme molekulárně genetické vyšetření 36 mutací v genu pro cystickou fibrózu (CFTR). Analýza 36 mutací v genu CFTR a stanovení polymorfismu v intronu 8 (Tn varianty) se provádí pomocí PCR a komerčního kitu INNO-LiPA CFTR 19 + INNO-LiPA CFTR 17 + Tn Update.

Spektrum 36 vyšetřovaných mutací: F508del, CFTRdele2.3/21kb, G551D, N1303K, G542X, 1898+1G>A, W1282X, 1717-1 G>A, R553X, 711+1G>T, 3272-26A>G, I148T, 3199delG, 3120+1G>A, S1251N, 3905insT, R560T, I507del, Q552X, R347P, 2143delT, 3849+10kbC>T, R1162X, G85E, R117H, 621+1G>T, R334W, 2183AA>G, 2789+5G>A, 3659delC, 394delTT, 1078delT, A455E, E60X, 2184delA, 711+5G>A

Uvedený postup zachytí cca 90 % mutací detekovaných v české populaci referenční laboratoří

Indikace k vyšetření

- u pacienta s příznaky cystické fibrózy
- u příbuzných pacienta s cystickou fibrózou a detekovanými mutacemi v CFTR genu
- u partnera nosiče mutace před plánovaným těhotenstvím, případně v průběhu těhotenství.
- u dospělých mužů s poruchou plodnosti
- prenatální diagnostika v případě obou partnerů heterozygotů pro mutaci v CFTR genu.

3. Vyšetření frekvenčně nejčastějších mikrolelecií AZF oblastí na Y chromozómu

Pomocí komerčního kitu MULTIPLEX OLIGO-AZOOSPERMIA KIT 1-2 (firma EXPERTEAM) jsou vyšetřovány tyto STS markery: sY84, sY86 (oblast AZFa na Yq11.21), sY127, sY134 (AZFb na Yq11.22), sY254, sY255 (AZFc na Yq11.23). Dále je do analýzy zahrnut gen SRY a ZFX/ZFY.

Uvedený postup zachytí cca 90% delecí v AZF oblastech Yq11.21; Yq11.22 a Yq11.23

Indikace k vyšetření

Porucha plodnosti u mužů: azoospermie nebo těžká oligospermie.

4. Vyšetření na přítomnost „trombofilních“ variant:

Pomocí komerčního kitu CVD Strip Assay, případně CVD Strip Assay T (ViennaLab) lze vyšetřit níže uvedené sekvenční varianty genů, které mohou být dle dosavadních poznatků asociovány s rozvojem kardiovaskulárních chorob.

- Gen pro koagulační faktor V – sekvenční varianta FV Leiden (G1691A)
 - sekvenční varianta FV R2 (H1299R)
- Gen pro prothrombin (koagulační faktor II) – varianta G20210A
- Gen pro 5,10 – metylentetrahydrofolát reduktázu (MTHFR):
 - sekvenční varianta C677T
 - sekvenční varianta A1298C

- Gen pro β – fibrinogen (FGB) – sekvenční varianta -455 G>A
- Gen pro faktor XIII – varianta V34L
- Gen pro inhibitor aktivátoru plazminogenu (PAI-1) – sekvenční varianta 4G/5G inserce/delece v pozici -675 promotoru genu PAI-1
- Gen pro destičkový glykoprotein IIIa (GPIIIa) – varianta L33P
- Gen pro angiotensin konvertující enzym (ACE) – varianta Ins/Del (intron 16)
- Gen pro apolipoprotein B (Apo B) – varianta R3500Q
- Gen pro apolipoprotein E (Apo E) – varianty E2/E3/E4
- Gen pro endoteliální receptor pro protien C – sekvenční varianta A4600G
- sekvenční varianta G4678C

Indikace k vyšetření

- opakovaná žilní trombóza u jedince pod 50let, opakovaná trombóza, trombóza na neobvyklém místě
- žilní trombóza u jedince s významnou rodinnou anamnézou
- žilní trombóza v těhotenství nebo v souvislosti s užíváním antikoncepce nebo hormonální terapie
- vyšetření jedince z rodiny s významnou rodinnou anamnézou před plánovaným chirurgickým zákrokem
- těhotná žena s významnou rodinnou anamnézou
- trombóza v těhotenství, žena s opakovanými potraty v II nebo III trimestru těhotenství bez objasněné příčiny
- žena s těžkou preeclampsii, abrupcí placenty nebo vývojovým postižením plodu bez objasněné příčiny
- indikace klinickým hematologem

5. Průkaz vybraných (rizikových) HLA alel II. třídy (HLA-DQA1*05, HLA-DQB1*02, HLA-DRB1*04) asociovaných s rozvojem celiakální sprue (CS)

Detekce vybraných rizikových alel se provádí metodou PCR se sekvenčně specifickými primery pro jednotlivé alely. Vyšetřované HLA alely II. třídy jsou silně asociovány s rozvojem celiakální sprue (CS).

Indikace vyšetření:

- u příbuzných pacienta s celiakální sprue
- negativní nebo nejednoznačné výsledky testů protilátek (tkáňové transglutaminázy, endomysální nebo gliadinu) nebo enterobiopsie u jedinců vykazujících symptomy celiakální sprue
- gastrointestinální symptomy zahrnující malabsorpci, průjem, opakující se bolesti břicha, hubnutí, hepatitidu, atd.
- děti s růstovou retardací, opožděnou pubertou
- anemie z deficitu železa
- dermatitis herpetiformis
- osteoporóza, osteopenie
- autoimunitní onemocnění zahrnující diabetes 1. typu, thyreoiditidu nebo Sjögrenův syndrom

- infertilita a/nebo opakované ztráty plodu
- rekurentní aftózní stomatitida a/nebo hypoplazie stálých zubů
- migrenózní bolesti hlavy, periferní neuropatie, cerebrální ataxie, epilepsie, úzkost a/nebo deprese

6. Průkaz fúzního genu BCR-ABL

Kvalitativní stanovení fúzního transkriptu BCR-ABL a jeho možných molekulárních variant se provádí izolací RNA z periferní krve (případně kostní dřeně) a metody reverzní transkriptázové polymerázové řetězové reakce (RT-PCR).

Indikace vyšetření:

Potvrzení diagnózy, určení prognózy, nastavení léčby u chronické myeloidní leukémie a akutní lymfoblastické leukémie. Po transplantaci kostní dřeně - identifikace pacientů, u kterých přetrvávají nebo se znovu objevily leukemické buňky.

7. Průkaz mutace V617F v JAK2 genu

Detekce mutace V617F v JAK2 genu se provádí metodou ARMS-PCR, popř. metodou real-time PCR.

Indikace vyšetření:

- podezření na myeloproliferativní onemocnění (polycytémie vera, esenciální trombocytémie a idiopatická myelofibróza)
- potvrzení klonální poruchy hematopoetických kmenových buněk
- odlišení primární PV od sekundární erytrocytózy, ET od reaktivní trombocytózy

8. Průkaz mutací v genu pro Smith-Lemli-Opitz syndrom (DHCR 7)

Vyšetření 10 mutací v DHCR7 genu (L109P, W151X, L157P, V326L, R352Q, C380Y, R404C, G410S, R446Q, IVS8-1G>C) pro Smith-Lemli-Opitz syndrom se provádí pomocí PCR a následné restriční analýzy.

Vyšetření frekvenčně nejčastějších mutací v genu pro Smith-Lemli-Opitz syndrom představuje cca 87 % detekovaných mutací v DHCR7 genu v české populaci.

Indikace vyšetření:

- u pacienta s příznaky SLO syndromu
- u příbuzných pacienta se SLO syndromem a detekovanými mutacemi v DHCR7 genu
- u partnera nosiče mutace před plánovaným těhotenstvím, případně v průběhu těhotenství
- prenatální diagnostika v případě pozitivního biochemického skrínungu pro syndrom Smith- Lemli-Opitz z maternálního séra – extrémně nízké hodnoty nekonjugovaného estriolu (uE3)
- prenatální diagnostika v případě nízkých hodnot cholesterolu v plodové vodě, vysokých hodnot 7-dehydrocholesterolu a 8-dehydrocholesterolu v plodové vodě
- prenatální diagnostika v případě obou partnerů heterozygotů pro mutaci v DHCR7 genu

9. Průkaz DNA lidských papilomavirů (HPV)

Diagnostika přítomnosti virové DNA humánních papilomavirů (HPV DNA) se provádí pomocí systému Hybrid Capture 2 (Digene). Genotypizace jednotlivých typů humánních papilomavirů (HPV) se provádí za použití kitu INNO-LiPA HPV Genotyping *Extra* (Innogenetics).

Indikace vyšetření:

- pacientky se změnami cervikálního epitelu – stupeň ASCUS nebo AGUS
- pacientky s abnormálním výsledkem Pap nátěru či s cervikálním onemocněním
- požadavek na genotypizaci HPV infekce
- sledování pacientky 6-12 měsíců po konizaci děložního krčku
- sledování pacientky 6-12 měsíců po chirurgické intervenci u cervikálního karcinomu

10. Detekce mutací v K-ras genu

Určení mutačního statutu K-ras genu u pacientů s pokročilým stádiem kolorektálního karcinomu by mohlo, dle současných poznatků, poskytnout důležitou informaci při rozhodování o volbě léčebné strategie. Neboť pouze pacienti, v jejichž nádoru nebyla prokázána přítomnost mutací v K-ras genu (tedy mající nemutovaný gen K-ras, K-ras wild-type) jsou vhodné pro cílenou léčbu kolorektálního karcinomu monoklonálními protilátkami proti EGFR receptoru a lze u nich očekávat pozitivní terapeutickou odpověď.

Indikace vyšetření:

- pacienti s metastazujícím kolorektálním karcinomem (mCRC), u nichž se zvažuje terapie pomocí monoklonálních protilátek proti EGFR receptoru.

C- Manuál pro odběry primárních vzorků

C-1 Základní informace

Laboratoř molekulární genetiky CGB laboratoře a.s. provádí specializovaná vyšetření vzorků nukleových kyselin získaných izolací převážně z periferní krve, kultivovaných buněk (plodové vody), stěrů a různých typů tkání.

Molekulárně genetické vyšetření je provedeno po indikaci klinickým genetikem a řádném genetickém poradenství nebo hematologem. V případě problematického průběhu těhotenství nebo v případě *in vitro* fertilizace ve specializovaném centru indikuje genetické vyšetření mající vztah k fertilitě ošetřující gynekolog.

Vyšetřovaný musí být předem řádně informován o povaze a důsledku genetického vyšetření a musí podepsat informovaný souhlas s molekulárně genetickým vyšetřením.

Informovaný souhlas pacienta s molekulárně genetickým vyšetřením resp. Souhlasu vyšetřované/ho (zákonného zástupce) s molekulárně genetickým vyšetřením - viz. příloha 1.

Seznam nabízených služeb a indikace k vyšetření viz. B-5

C-2 Požadavkové listy (žádanky)

Do laboratoře jsou přijímány vzorky pouze s doprovodnou žádankou na molekulárně genetické vyšetření. Vzorová žádanka na vyšetření – viz. příloha 2.

Žádanka musí povinně obsahovat následující údaje:

- jméno, datum narození, rodné číslo a zdravotní pojišťovnu pacienta
- pohlaví pacienta v případě, že není dle jména jednoznačně rozpoznatelné
- jméno, odbornost a podpis lékaře indikujícího vyšetření
- razítko s adresou pracoviště a kontaktní telefon
- druh a případně tkáňový původ zaslaného vzorku, počet odeslaných zkumavek
- typ požadovaného vyšetření
- diagnózu a klinickou indikaci k vyšetření
- datum a případně i čas odběru vzorku

Vzhledem k privátnosti genetického vyšetření je požadován také podepsaný Informovaný souhlas pacienta s molekulárně genetickým vyšetřením - viz. Příloha 1.

Kritéria pro odmítnutí primárních vzorků – viz. D-2

C-3 Požadavky na urgentní vyšetření

Urgentní vyšetření musí být označeno jako STATIM na požadavkovém listě (žádance).

Urgentní vzorek je označen jako STATIM při příjmu a vložení údajů do elektronické dokumentace a je přednostně zpracováván.

Zpracování urgentního vzorku je zahájeno okamžitě v den příjmu vzorku do laboratoře.

Viz E-7.

C - 4 Ústní požadavky na vyšetření

Nejsou akceptovány.

Do laboratoře jsou přijímány pouze řádně označené vzorky s doprovodnou žádankou na molekulárně genetické vyšetření.

C - 5 Používaný odběrový systém

1) Periferní krev

Standardně se periferní krev odebírá z periferní žíly a to v množství minimálně 5 ml do sterilní zkumavky s EDTA jako protisrážlivým agens. Doporučujeme použít komerční odběrové soupravy. V případě izolace RNA z výchozího materiálu (krev, kostní dřeň) lze použít mimo uvedené i speciální odběrové soustavy obsahující roztok pro skladování a stabilizaci (ochranu) RNA. Odběrovou soupravu poskytuje žadatelům (lékařům indikujícím genetická vyšetření) na požádání CGB laboratoř a.s.

2) Kostní dřeň

Standardně se odebírá z hrudní kosti nebo plochých kostí do sterilní zkumavky s EDTA a to v množství 1-4 ml.

3) Různé typy tkání

Vzorek tkáně je odebrán za sterilních podmínek do sterilní odběrové nádobky se sterilním fyziologickým roztokem, případně speciálním fixačním činidlem (např.: FineFix).

4) Cervikální stěr

Cervikální stěr se odebírá pomocí speciální odběrové soupravy DNAPAP™ Cervical Sampler (DIGENE) – podrobné informace o provádění cervikálního stěru pro účely detekce HPV DNA metodami molekulární biologie viz. příloha 5. Odběrovou soupravu poskytuje žadatelům (lékařům indikujícím toto vyšetření) na požádání CGB laboratoř a.s.

5) Kultivované buňky buněčných nebo tkáňových kultur

Primární materiál: plodová voda nebo tkáň ze spontánního abortu je zpracováván v cytogenetické laboratoři – podrobné informace viz. Laboratorní příručka cytogenetické laboratoře

Spolu se vzorky musí být doručena žádanka, jasně specifikující požadovaný druh vyšetření a informovaný souhlas jedince s molekulárně genetickým vyšetřením – viz. C-2.

C- 6 Příprava pacienta před vyšetřením

Molekulárně genetické vyšetření (vyšetření DNA, RNA) nevyžaduje speciální přípravu pacienta před odběrem vzorku.

C-7 Identifikace pacienta na žádance a označení vzorku

Doprovodná žádanka ke vzorku musí být řádně vyplněna všemi požadovanými údaji – viz. C-2.

Je-li odebraných zkumavek se vzorkem více než 1, musí být na žádance uveden počet zaslaných zkumavek.

Všechny zkumavky se vzorky musí být dodány náležitě označeny alespoň 2 identifikačními symboly (jméno + rok narození nebo rodné číslo) a ve vyšetření umožňujícím stavu.

Ke vzorku plodové vody nebo tkáně spontánního abortu: podrobné informace viz. Laboratorní příručka cytogenetické laboratoře

C- 8 Odběr vzorku

Odběr vzorků probíhá v ordinaci indikujícího lékaře nebo ve speciálních odběrových místnostech zadavatelského pracoviště.

CGB laboratoř a.s. nemá vlastní odběrové místnosti pro odběr vzorků periferní krve, tkání nebo plodové vody.

Viz. C-5; C-6; C-7

Ke vzorku plodové vody nebo tkáně spontánního abortu: podrobné informace viz. Laboratorní příručka cytogenetické laboratoře

C-9 Množství vzorku

Standardně se periferní krev, kostní dřeň odebírá v množství minimálně 2 až 5 ml do sterilní zkumavky s EDTA jako protisrážlivým agens. U malých dětí alespoň 0,5-2 ml do sterilní zkumavky s EDTA.

Laboratoři jsou přijímány vzorky tkání různých velikostí (ideálně však o velikosti 1x1x1cm) ve sterilním fyziologickém roztoku, případně speciálním fixačním činidlem (např.: FineFix).

K množství vzorku plodové vody nebo tkáně spontánního abortu: podrobné informace viz. Laboratorní příručka cytogenetické laboratoře

C-10 Nezbytné operace se vzorkem, stabilita

Po odběru vzorku periferní krve, kostní dřeně zkumavku s EDTA promíchat.

Do transportu uchovávat vzorky v rozmezí teplot je +4 až +25 °C. Nemrazit!!!! Nepřehřívat!!!

Je nutné zabránit zmrznutí nebo přehřátí krve, aby nedošlo k lyzi lymfocytární složky krve. Přijatelné rozmezí teplot je +4 až +25 °C.

Vzorky odeslat do laboratoře v den odběru.

Odebraný vzorek krve je v laboratoři zpracován nejpozději do 72 hodin po odběru.

V případě izolace RNA z primárního vzorku se vzorek periferní krve uchovává při +2 až +8°C. V případě, že je vzorek periferní krve odebrán do sterilní zkumavky s EDTA, měly by být vzorky do laboratoře dopraveny co nejdříve po odběru - tedy ideálně do 3 hodin po odběru vzorku – vzorek je do transportu skladován při +2 až +8°C; v případě odběru do speciální odběrové soustavy obsahující roztok pro skladování a stabilizaci (ochranu) RNA je vzorek do transportu skladován v rozmezí teplot +4°C až +25°C (lépe však uchovávat při +2 až +8°C) a do laboratoře dopraven nejpozději do 1 dne po odběru a lze je převážet v rozmezí teplot +4°C až +25°C.

U vzorků tkání je nutné jejich uložení v dostatečném množství sterilního fyziologického roztoku, případně speciálního fixačního činidla (např.: FineFix), zajišťujícího úplné překrytí odebraného primárního vzorku. Vzorky odeslat do laboratoře v den odběru. Přijatelné rozmezí teplot je +4 až +25 °C.

Cervikální stěr odebraný pomocí soupravy DNAPAP™ Cervical Sampler (DIGENE) je vhodné do transportu skladovat při + 4 až + 25 °C. Vzorek je vhodné dopravit do laboratoře v den odběru, případně do 72 hodin po odběru.

Ke vzorku plodové vody nebo tkáně spontánního abortu: podrobné informace viz. Laboratorní příručka cytogenetické laboratoře

C-11 Základní informace k bezpečnosti při práci se vzorky

Se vzorky je nakládáno jako s potenciálně infekčním materiálem. Krev není v laboratoři kontrolována na přítomnost viru hepatitidy nebo HIV. Veškerá manipulace se vzorkem je prováděna pouze v jednorázových ochranných laboratorních rukavicích a v laboratorním oblečení.

Při všech manipulacích se vzorkem je třeba používat ochranné rukavice, neotevírat zkumavku mimo sterilní box a nevdechovat aerosol. Zkumavky nebo žádanky

potřísněné krví, stejně jako mechanicky poškozené odběrové soupravy nebudou laboratoři akceptovány.

C-12 Informace k dopravě

Vzorky krve musí být do laboratoře dopraveny nejpozději do 72 hodin po odběru a lze je převážet v rozmezí teplot +4 až +25°C.

Je nutné zabránit zmrznutí nebo přehřátí krve, aby nedošlo k lýze lymfocytární složky krve. Vhodná transportní nádoba je termoska – lze použít v případě nepříjemných klimatických podmínek.

V případě potřeby izolace RNA z primárního vzorku, který není odebrán do speciální odběrové soustavy obsahující roztok pro skladování a stabilizaci (ochranu) RNA, se krev popř. kostní dřeň uchovává při +2 až +8°C, nebo je chlazená ledem, popř. chladícími vložkami. Takovéto vzorky je nutné dopravit do laboratoře, co nejdříve po odběru - tedy ideálně do 3 hodin po odběru vzorku. Vhodná transportní nádoba je termoska obsahující chladící vložku.

Cervikální stěr odebraný pomocí soupravy DNAPAP™ Cervical Sampler (DIGENE) je vhodné dopravit do laboratoře v den odběru, případně do 72 hodin po odběru a lze je převážet v rozmezí teplot +4 až +25°C.

Vzorky musí být přepravovány tak, aby nedošlo k jejich mechanickému poškození, nejlépe ve speciálních boxech sloužících pouze pro transport vzorků.

Ke vzorku plodové vody nebo tkáně spontánního abortu: podrobné informace viz. Laboratorní příručka cytogenetické laboratoře

C-13 Informace o zajišťovaném svozu vzorků

Svoz vzorků je zajištěn svozovými službami v pravidelných intervalech nebo vozidlem CGB společnosti ihned po telefonické informaci o odběru materiálu na tel. číslech 597091767, 595700160-179, 725880733 v pracovní době Po-Pá 7:00-15:30, v ostatní dny po domluvě.

D – Preanalytické procesy v laboratoři

D-1 Postup při příjmu vzorků a vedení dokumentace

Při příjmu do laboratoře je každému vzorku přiřazeno laboratorní číslo, je vyplněna elektronická dokumentace vedená v komerčním softwaru INTELLIPAT Studio a je proveden zápis vzorku do příslušného laboratorního deníku molekulární genetiky.

Laboratorní číslo vzorku sestává z pořadového vyšetřovacího čísla laboratoře klinické

genetiky programu INTELLIPAT v příslušném roce (př. 456/04).

Laboratorní číslo vzorku je zároveň zapsáno na doprovodnou žádanku vzorku a na informovaný souhlas pacienta s vyšetřením. Po vyplnění elektronické dokumentace jsou žádanka a informovaný souhlas zařazeny do Knihy příjmu podle laboratorního čísla.

Údaje o pacientovi jsou uchovávány tak, aby nebyly dostupné jiným osobám než pracovníkům, kteří vyšetření provádějí.

D-2 Kritéria pro odmítnutí vadných (kolizních) primárních vzorků

Vzorky, které se buď svým obsahem nebo dokumentací odchyľují od požadavků laboratoře, mohou být laboratoři odmítnuty. Důvodem k odmítnutí vzorků je:

- 1) Nejasná identifikace jednotlivých vzorků:
 - nepřítomnost identifikačního štítku na zkumavkách
 - nečitelné označení zkumavek s odebraným materiálem
- 2) Materiál ve stavu znemožňujícím standardní izolaci nukleové kyseliny:
 - rozkládající se biologický materiál
 - viditelně kontaminovaný biologický materiál
 - vysrážená krev nebo použití nevhodného protisrážlivého agens
- 3) Mechanicky poškozené zkumavky potřísněné krví
- 4) Nepřiložená žádanka nebo žádanka s neúplnými údaji znemožňující uplatnění úhrady za výkony souvisejícími s požadovaným vyšetřením.

Náprava je vyžadována od zdroje vzorku a o příslušném jednání je veden záznam - formulář D-F-13 evidovaný v D-E-19. V případě bodu 1-3 je požadován nový odběr vzorku, v případě bodu 4 je požadována žádanka s patřičnými údaji.

D-3 Postupy při nesprávné identifikaci vzorku nebo žádanky

Všechny případné změny související s identifikací vzorku a údajů o pacientovi jsou náležitě zdokumentovány s jmenovitým vypsáním, kdo, kdy a proč změnu provedl. Dokumentace o dodatečných změnách je řazena k žádankám o vyšetření.

Pokud nelze jednotlivé vzorky nebo žádanky vzájemně odlišit a mohlo by dojít k záměně nebo promíchání vzorku, nelze takový materiál zpracovat. Laboratoř požádá indikujícího lékaře o nový odběr.

D- 4 Vyšetření smluvními laboratořemi

CGB laboratoř nezadáva vyšetření žádné smluvní laboratoři.

V případě, kdy je alikvotní vzorek DNA odeslán spolu se žádankou k dalším analýzám na jiné pracoviště, je do laboratorního deníku zaznamenáno množství odeslané DNA, datum odeslání a místo určení. Ke každé odesílané DNA je vytisknut doprovodný list s informacemi o způsobu izolace, případně koncentraci a čistotě DNA. Závěrečnou zprávu vydává pracoviště provádějící požadovanou DNA analýzu. CGB laboratoř a.s. v tomto případě ručí za identitu izolovaného vzorku DNA.

Dle požadavku zadavatele může být v případě specializovaného genetického vyšetření vzorek DNA odeslán na jiné pracoviště, kde je toto vyšetření prováděno. Nelze však hovořit o vztahu smluvních laboratoří. Tyto laboratoře nejsou vzájemně ve smluvním vztahu a každá ručí za svůj díl práce.

E – Vydávání výsledků a komunikace s laboratoří

E-1 Hlášení výsledků v kritických intervalech

Na metody vyšetření nukleových kyselin prováděných v laboratoři se kritické intervaly nevztahují.

E-2 Informace o formách vydávání výsledků

Výsledky jsou vloženy do programu INTELLIPAT, kde jsou zadány obdržené informace o pacientovi, informace o použitých metodách a výsledku a spolu s interpretací jsou vytištěny a po podpisu zodpovědnou osobou odeslány na zadavatelské pracoviště – klinickému lékaři.

Závěrečná zpráva obsahuje minimálně tyto údaje - viz. příloha 3:

- identifikaci laboratoře (jméno a adresa),
- identifikaci pacienta (jméno, rodné číslo)
- identifikaci lékaře požadujícího vyšetření (jméno, IČZ a odbornost pracoviště)
- klinická indikace k vyšetření
- druh primárního vzorku a datum přijetí vzorku do laboratoře
- metodu izolace nukleové kyseliny a výčet všech metod použitých k analýze
- vlastní výsledek včetně stručné informace jakou metodou byl získán
- interpretaci výsledku
- datum závěrečné zprávy
- identifikace pracovníků zodpovědných za správnost výsledku

Všechny výsledky jsou kontrolovány a zároveň podepsány dvěma nezávislými kvalifikovanými VŠ pracovníky laboratoře, včetně pracovníka, který zprávu vypracoval.

Závěrečné zprávy o výsledku jsou z laboratoře zaslány písemně pouze zadavateli vyšetření - lékaři oprávněnému indikovat molekulárně genetické vyšetření.

Kopie výsledků konzultačních vyšetření, včetně adresy referenčního pracoviště, jsou předány v písemné mě indikujícímu lékaři a originál se archivuje v laboratoři. Výsledky se zaznamenávají též do elektronického média.

CGB laboratoř umožňuje svým zákazníkům (klinickým lékařům) vyhledávání nálezů prostřednictvím internetu. Přístup k internetovému vyhledávání nálezů indikujícími klinickými lékaři je chráněn přístupovým kódem (přihlašovací jméno + heslo), který je specifikován v uzavřeném smluvním vztahu mezi CGB laboratoří a.s. a zadavatelským klinickým pracovištěm.

CGB laboratoř se zapojila do bezplatného projektu Všeobecné zdravotní pojišťovny - systému IZIP, který umožňuje zasílat výsledky vyšetření do elektronických zdravotních knížek těch pacientů, kteří si je u společnosti IZIP zřídili. Veškerá data obsažená v elektronických Zdravotních knížkách jsou chráněna v souladu se zákonem č. 101/200 Sb. a pod dohledem Úřadu pro ochranu osobních údajů a není možné do nich bez svolení pacienta nahlížet.

V případě telefonického dotazu pacienta na výsledek, je tento odkázán na svého ošetřujícího lékaře. Vyšetřované osoby nejsou telefonicky informovány o výsledku.

E-3 Typy nálezů

Nález odpovídá pozitivnímu nebo negativnímu záchytu sledované změny v DNA sekvenci analyzovaného vzorku, nebo průkazu samotné DNA/RNA ve vzorku, případně odpovídá tomu, zda dochází/nedochází k expresi určitého genu. V interpretaci je udána pravděpodobnost falešně negativního nálezu. Zápis patologických nálezů se řídí mezinárodní a obecně uznávanou nomenklaturou.

E-4 Vydávání výsledků přímo pacientům

Výsledky nejsou předávány přímo pacientům.

Závěrečné zprávy o výsledku jsou z laboratoře zaslány písemně pouze zadavateli vyšetření - lékaři oprávněnému indikovat genetické vyšetření.

Zprávu předá vyšetřované osobě tento lékař osobně s náležitým vysvětlením. V žádném případě nejsou pacienti informováni telefonicky bez možnosti ověření identity.

Výsledek genetické analýzy je privátní záležitostí a nelze o něm informovat třetí osobu bez písemného souhlasu vyšetřované osoby.

E-5 Opakovaná a dodatečná vyšetření

Nebyl-li vzorek DNA od pacienta při analýze spotřebován a souhlasil-li s uložením vzorku DNA v CGB laboratoři (vyjádřeno na Informovaném souhlasu pacienta s molekulárně genetickým vyšetřením resp. na Souhlasu vyšetřované/ho (zákonného zástupce) s molekulárně genetickým vyšetřením), lze na podkladě žádanky provést dodatečné vyšetření nebo opakované vyšetření.

E-6 Změny výsledků a nálezů

Ke změně výsledků by nemělo docházet. Pokud by k němu došlo je zaznamenáno datum a jméno osoby, která změnu dodatečně provedla.

Pokud by došlo ke změně závěru po vydání závěrečné zprávy, bude indikující lékař na změnu okamžitě upozorněn telefonicky.

Veškeré výsledky jsou před vydáním kontrolovány dvěma pracovníky.

Při diskrepanci mezi případnými duplicitními vzorky je nutný nový odběr materiálu k vyšetření.

E-7 Intervaly od dodání vzorku k vydání výsledku

Vzorky jsou zpracovávány průběžně a podle požadovaného vyšetření v pořadí, ve kterém jsou přijímány do laboratoře.

Doba požadovaného vyšetření od příjmu vzorku do vydání závěrečné zprávy pro nabízené diagnózy při běžném provozu by neměla přesáhnout časový interval 3 týdnů.

V urgentních případech, kdy je požadované vyšetření zadavatelem označeno jako *statim*, je vzorek přednostně zařazen ke zpracování a je analyzován v nejbližším možném termínu. Doba požadovaného vyšetření od příjmu *statimového* vzorku do vydání závěrečné zprávy pro nabízené diagnózy by neměla přesáhnout časový interval 5 dnů.

E-8 Konzultační činnost laboratoře

CGB laboratoř a.s. pořádá školící přednáškové akce pro zadavatele služeb.

E-9 Konzultační vyšetření

Kopie konzultačních vyšetření, včetně adresy referenčního pracoviště, jsou předány v písemné formě indikujícímu lékaři a originál je archivována v laboratoři.

E-10 Způsob řešení stížností

Na činnosti prováděné v organizaci CGB laboratoř a.s. mohou zákazníci i jiné strany podávat reklamace (stížnosti).

Stížnosti lze podávat na :

- Průběh provádění laboratorního vyšetření
- Rozsah prováděného laboratorního vyšetření
- Termín provedení laboratorního vyšetření
- Výsledky laboratorního vyšetření
- Způsob jednání pracovníků CGB laboratoř a.s.

Veškeré stížnosti se podávají ústní nebo písemnou formou vždy k rukám VLB (v době jeho nepřítomnosti k rukám jeho zástupce).

Reklamační řád (B-R-2) – viz příloha č.4.

E-11 Vydávání potřeb laboratoří

Zadavatelé vyšetření na požádání obdrží odběrové soupravy, instrukce o odběrovém materiálu, jeho skladování a transportu, formuláře požadavkového listu (žádanky) k vyšetření, Informovaný souhlas pacienta s molekulárně genetickým vyšetřením resp. Souhlas vyšetřované/ho (zákonného zástupce) s molekulárně genetickým vyšetřením.

F – Přílohy

Seznam příloh:

- 1) Informovaný souhlas pacienta s molekulárně genetickým vyšetřením resp. Souhlas vyšetřované/ho (zákonného zástupce) s molekulárně genetickým vyšetřením.
- 2) Vzorová žádanka na molekulárně genetické vyšetření
- 3) Vzorová závěrečná zpráva
- 4) Reklamační řád
- 5) Provádění cervikálního stěru pro účely detekce HPV DNA metodami molekulární biologie