

	Druh dokumentu: LP
Celkový počet stran: 36	

LABORATORNÍ PŘÍRUČKA

Zpracoval: Jana Rejtharová <i>manažer kvality</i>	Uvolnil pro SK: Jana Rejtharová <i>manažer kvality</i>	Vydání: 12.
Schválil: Mgr. Sabina Planetová <i>Vedoucí laboratoře</i>	Datum zpracování/aktualizace: 5. 1. 2018	Výtisk č.:

OBSAH

1. Úvod.....	3
2. Základní informace o laboratoři	3
3. Zaměření laboratoře a spektrum nabízených služeb.....	6
3.1. Seznam nabízených laboratorních vyšetření.....	7
3.2. Smluvní laboratoř	9
4. Prohlášení o souhlasu	9
5. Manuál pro odběr primárních vzorků	10
5.1. Základní informace pro uživatele laboratorních služeb genetické laboratoře	10
5.2. Identifikační označení primárního vzorku	24
5.3. Průvodka na laboratorní vyšetření	24
5.3.1. Požadavky na urgentní vyšetření.....	25
5.3.2. Ústní požadavky na vyšetření.....	25
5.3.3. Důvody pro odmítnutí vzorků pro zpracování	25
5.3.4. Způsob řešení neshod na příjmu materiálu	26
5.4. Informace pro odběr biologického materiálu včetně minimálního množství.....	26
5.4.1. Odběrové nádoby	26
5.4.2. Odběr plodové vody – amniocentéza	27
5.4.3. Odběr choriových klků	28
5.4.4. Odběr periferní krve pro genetické vyšetření	28
5.4.5. Odběr potracené tkáně	29
5.4.6. Biopsie trofoektodermu embryí	29
5.4.7. Odběr spermatu (ejakulátu).....	29
5.4.8. Odběr slizničního stěru z dutiny ústní (bukální stěr)	30
5.4.9. Protokolární odběr k DNA paternitní expertíze s posudkem soudního znalce	30
5.4.10. Odběr ovulačního sekretu (hlenu).....	31
5.5. Informace a návody předávané pacientům před odběrem primárního vzorku (informované souhlasy).....	31
5.6. Příjem vzorku do laboratoře.....	32
5.7. Transport a manipulace s biologickým materiálem (se vzorky)	32
6. Fáze po vyšetření	33
6.1. Bezpečné odstraňování materiálů použitých při odběru	33
6.2. Manipulace a skladování materiálu	33
6.2.1. Skladování před a v průběhu vlastního vyšetření	33
6.2.2. Skladování po vyšetření	33
6.3. Dodatečná vyšetření a časový interval pro jejich požadování	34
6.4. Opakování vyšetření stejného primárního vzorku	34
7. Vydávání výsledků a komunikace s laboratoří	34
7.1. Informace o formách vydávání výsledků	35
7.2. Změny výsledků a nálezů	35
7.3. Intervaly od dodání materiálu k vydání výsledků.....	35
7.4. Konzultační činnost laboratoře.....	36
7.5. Způsob řešení stížností.....	36
7.6. Obecné zásady laboratoře na ochranu osobních informací.....	36
8. Přílohy	37

Genetika Plzeň	Vydání: 12.
Laboratorní příručka	Datum zpracování/aktualizace: 28. 2. 2018

1. Úvod

Cílem dokumentu je informovat lékaře a žadatele o laboratorní vyšetření o nabídce našich služeb, poskytnout zdravotnickým pracovníkům potřebné informace před vlastním vyšetřením, z jeho průběhu a po vyšetření (informace o vydávání výsledků).

Tato příručka je jedním z prostředků pro komunikaci mezi lékaři a genetickou laboratoří a v neposlední řadě je prezentací naší práce. Obsahuje požadavky pro provedení správného odběru vzorků, jejich manipulaci a skladování tak, aby nebyl negativně ovlivněn výsledek laboratorních vyšetření. Žadatelé o vyšetření mají k příručce dostupné pokyny pro pacienty, formuláře pro informovaný souhlas a průvodky pro všechna laboratorní vyšetření.

Soubor nabízených laboratorních vyšetření a metod je vytvořen a inovován dle požadavků klientů s přihlédnutím k odbornému vývoji v oblastech klinické genetiky a reprodukční imunologie.

Laboratorní příručka je součástí řízené dokumentace laboratoře, je pravidelně aktualizována a žadatelům o vyšetření je dostupná na webových stránkách laboratoře – www.genetika-plzen.cz. Žadatelé o vyšetření jsou informováni o změnách a aktualizacích. V tištěné podobě je k dispozici u manažera kvality Genetického pracoviště.

2. Základní informace o laboratoři

Genetické pracoviště „Genetika Plzeň, s.r.o.“ má v souladu se svým přístrojovým vybavením a odbornými možnostmi stanoven soubor metod laboratorního vyšetření, který může realizovat. Personální obsazení zaměstnanců laboratoří i ambulancí splňuje svým vzděláním podmínky odborné způsobilosti.

Laboratoř je akreditována Českým institutem pro akreditaci, o.p.s. pod číslem 8034 dle normy ČSN EN ISO 15 189:2013. Dále má povolení činnosti diagnostické laboratoře od Státního ústavu pro kontrolu léčiv.

Genetika Plzeň	Vydání: 12.
Laboratorní příručka	Datum zpracování/aktualizace: 28. 2. 2018

Kontaktní údaje	
Adresa Genetického pracoviště „Genetika Plzeň, s.r.o.“	Parková 1254/11a, 326 00 Plzeň-Černice
Provozní doba ambulancí a laboratoří	Po - Pá: 7,00 – 16,00 Odběry: po celou pracovní dobu
Telefon:	377 241 529, 377 452 322
Statutární zástupce: Doc. MUDr. František Lošan, CSc., Jednatel MUDr. Petr Lošan, Jednatel	

Ředitel/Vedoucí Genetického pracoviště: MUDr. Petr Lošan	
Vedoucí genetické laboratoře, vedoucí cytogenetického úseku: Mgr. Sabina Planetová	
Mobil:	604 106 586
E-mail:	planetova@genetika-plzen.cz
Vedoucí úseku reprodukční imunologie: Prof. MUDr. Zdeňka Ulčová-Gallová, DrSc.	
Mobil:	720 973 820
E-mail:	ulcova-gallova@genetika-plzen.cz

Genetika Plzeň	Vydání: 12.
Laboratorní příručka	Datum zpracování/aktualizace: 28. 2. 2018

Vedoucí úseku molekulární genetiky: Mgr. Michaela Nečasánková, Ph.D.	
Mobil 1:	731 433 571
Mobil 2:	731 433 596
E-mail:	<u>necasankova@genetika-plzen.cz</u>
Soudní znalec: Ing. Ivana Vobrubová	
Mobil:	601 083 734
E-mail:	<u>vobrubova@genetika-plzen.cz</u>
Manažer kvality: Jana Rejtharová	
Mobil:	606 065 825
E-mail:	<u>rejtharova@genetika-plzen.cz</u>
Vrchní laborantka: Eva Kohoutová	
Telefon:	377 455 299
Mobil:	731 433 564
E-mail:	<u>kohoutova@genetika-plzen.cz</u>
Konzultující lékaři	Doc. MUDr. František Lošan, CSc. MUDr. Petr Lošan Prof. MUDr. Zdeňka Ulčová–Gallová, DrSc. MUDr. Dagmar Štenglová MUDr. Olga Slunečková MUDr. Kateřina Čabradová

Genetika Plzeň	Vydání: 12.
Laboratorní příručka	Datum zpracování/aktualizace: 28. 2. 2018

3. Zaměření laboratoře a spektrum nabízených služeb

Genetická laboratoř je rozdělena na 3 úseky

- cytogenetický
- molekulárně-genetický
- reprodukční imunologie

Zde provádí specializovaná cytogenetická, molekulárně genetická a imunologická vyšetření a to z **primárních materiálů**:

- plodové vody
- periferní krve
- fetální krve
- slizničního stěru z dutiny ústní
- potrácené tkáně
- choriových klků
- blastomer
- spermatu (kvalitativní a kvantitativní vyšetření u neplodných párů)
- ovulačního hlenu
- buněk trofoektodermu

Přehled prováděných vyšetření:

- genetické vyšetření dětí a dospělých s vrozenou vadou
- vyšetření rodin s výskytem nádorového onemocnění v několika generacích
- vyšetření manželských párů s poruchou plodnosti a s opak. spontánními potraty
- vyšetření mužské plodnosti – spermioqram
- předmanželské vyšetření pokrevně příbuzných partnerů
- screening vrozených vývojových vad plodu v I. a II. trimestru těhotenství
- 3 D (4 D) – ultrazvukové vyšetření plodu
- prenatalní genetické vyšetření – odběr plodové vody event. choriových klků s vyšetřením karyotypu plodu
- u indikovaných případů rychlé vyšetření plodové vody nebo choriových klků metodou QF – PCR (do 24 hod.). Vyšetření provádíme i jako nadstandardní (nehrazené pojišťovnou)
- chromozomální vyšetření klasickými cytogenetickými metodami včetně FISH metod (mikrodeleční syndromy)
- Vyšetření počtu kopií CNV metodou komparativní genomové hybridizace na čipu
- chromozomální vyšetření potrácených plodů
- STR analýza k ověření příbuzenských vztahů
- molekulárně genetické vyšetření dědičnosti sklonu k trombózám (vyšetření trombofilních stavů), cystické fibrózy, mikrodelece Y chromozomu a nesyndromové hluchoty (GJB2)
- vyšetření celiakie

Genetika Plzeň	Vydání: 12.
Laboratorní příručka	Datum zpracování/aktualizace: 28. 2. 2018

- mutační analýza genů souvisejících s hereditárním karcinomem prsu a ovárií
- preimplantační genetické testování aneuploidií (PGT-A) metodou masivně paralelního sekvenování
- vyšetření intragenových přestaveb metodou MLPA
- stanovení protilátek proti spermiím v séru, ejakulátu, ovulačním sekretu, folikulární i peritoneální tekutině
- vyšetření průniku spermií ovulačním hlenem
- vyšetření intrakrozomálních enzymů v lidských spermiích
- vyšetření ovulačního hlenu
- vyšetření antizonálních protilátek
stanovení protilátek proti profilu fosfolipidů: annexinu V, fosfatidil (ph)-serinu, ph-inositolu, ph-etanolamínu, ph- D glycerolu, proti kyselině fosfatidové, kardiolipinu a $\beta 2$ - glykoproteinu I
- konzultační činnost

V naší laboratoři je možné provést pouze **izolaci DNA** a zprostředkovat vyšetření prováděná ve specializovaných centrech molekulární genetiky (např. Marfanův syndrom, FAP apod.).

3.1. Seznam nabízených laboratorních vyšetření

816 - Laboratoř lékařské genetiky

- **SOP 01** Cytogenetické vyšetření karyotypu z lidských buněk
- **SOP 08** Detekce mutace 35delG v genu pro Connexin 26 pomocí alelově specifické PCR
- **SOP 09** Detekce mikrolecí na chromozómu Y pomocí multiplex PCR analýzy
- **SOP 10** Určování otcovství analýzou STR markerů metodou multiplexní PCR s využitím komerčního kitu Identifiler
- **SOP 11** Vyšetření aneuploidií, mikrolecí a strukturálních změn chromozomů metodou fluorescenční in situ hybridizace (FISH)
- **SOP 12** Vyšetření aneuploidií chromozomů 13, 18, 21, X a Y pomocí STR analýzy metodou QF PCR (Amnio QF PCR)
- **SOP 14** Detekce predispozičních HLA alelických skupin DQ2 a DQ8 k celiakii za pomoci alelově specifické PCR

Genetika Plzeň	Vydání: 12.
Laboratorní příručka	Datum zpracování/aktualizace: 28. 2. 2018

- SOP 16 Stanovení mutací zodpovědných za vrozené trombofilní stavy¹⁾ pomocí Real Time
- SOP 17 Vyšetření expanze CGG repetice ve FMR1 genu metodou PCR s následnou fragmentační analýzou
- SOP 18 Mutační analýza/screening genů²⁾ metodou Sangerova sekvenování
- SOP 19 Vyšetření mutací CFTR genu metodou multiplex PCR s následnou fragmentační analýzou
- SOP 20 Vyšetření počtu kopií CNV metodou komparativní genomové hybridizace na čipu (ARRAY CGH)
- SOP 22 Preimplantační genetické testování aneuploidii (PGT-A) metodou masivně paralelního sekvenování (platforma Miseq, Illumina)
- SOP 23 Mutační analýza genů²⁾ metodou masivně paralelního sekvenování (platforma Miseq, Illumina)
- SOP 24 Vyšetření intragenových přestaveb genů²⁾ metodou MLPA

813 - Laboratoř reprodukční imunologie

- SOP 31 Stanovení protilátek proti kardiolipinu ve třídách IgG a IgM metodou ELISA
- SOP 32 Stanovení protilátek proti annexinu V ve třídách IgG a IgM metodou ELISA
- SOP 33 Stanovení protilátek proti beta2-Glykoproteinu I ve třídách IgA a IgG metodou ELISA
- SOP 34 Stanovení antispermatických protilátek ve třídě IgA a IgG v ejakulátu a ovulačním hlenu hemaglutinační metodou – přímý a nepřímý MAR test
- SOP 37 Určování akrosomů spermií Lektinem z Pisum Sativum označeným FITC imunofluorescenční metodou
- SOP 38 Průkaz anti-spermatozoidálních protilátek v séru aglutinační metodou

Genetika Plzeň	Vydání: 12.
Laboratorní příručka	Datum zpracování/aktualizace: 28. 2. 2018

- **SOP 39 Stanovení antizonálních protilátek hemaglutinačním testem**
- **SOP 03 Vyšetření spermiogramu mikroskopickou technikou**

- 1) geny: faktor V, faktor II, MTHFR, PAI1
- 2) geny: ATM, APC, BARD1, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CDH1, CHEK2, EPCAM, MLH1, MSH2, MSH6, MUTYH, NBN, PALB2, PMS2, PTEN, RAD50, RAD51C, RAD51D, STK11, TP53

3.2. Smluvní laboratoř

Laboratoř lékařské genetiky spolupracuje s akreditovanými laboratořemi: Centrem lékařské genetiky s.r.o. (České Budějovice) a Biopstickou laboratoří s.r.o. (Plzeň), ve smyslu výpomoci v kritických situacích a ke konzultacím. Biomedicínské centrum lékařské fakulty Karlovy Univerzity v Plzni umožňuje skenování vzorků analyzovaných metodou array CGH (SOP20).

Dopravu zajišťuje odesílající laboratoř. Ve výsledkovém listu je jasně uvedeno, která laboratorní vyšetření byla provedena smluvní laboratoří nebo konzultantem.

4. Prohlášení o souhlasu

Některé odběry pro laboratorní vyšetření prováděná v rámci Genetického pracoviště patří mezi invazivní a lékař odebírající materiál je povinen informovat pacienty a pořídit písemný souhlas o tomto informování na základě platné legislativy. Pacient je vždy seznámen s účelem, povahou a důsledkem prováděného vyšetření. Svým podpisem stvrzuje, že souhlasí s odběrem, genetickým a imunologickým vyšetřením a případným uchováváním odebraného genetického materiálu (je vždy uvedeno v informovaném souhlasu DNA). V případě nesouhlasu pacienta s uchováváním DNA je po odebrání identifikace likvidována, jako biologický materiál.

Samostatnou přílohou této příručky jsou formuláře pro informovaný souhlas:

- **Souhlas s provedením amniocentézy/odběru choriových klků**
- **Souhlas vyšetřované/ho (zákonného zástupce) s genetickým laboratorním vyšetřením**
- **Nesouhlas vyšetřované osoby (zákonného zástupce) s genetickým laboratorním vyšetřením – negativní revers**
- **Informovaný souhlas a informace o ultrazvukovém vyšetření 3D (4D)**

Genetika Plzeň	Vydání: 12.
Laboratorní příručka	Datum zpracování/aktualizace: 28. 2. 2018

Těhotná pacientka je vždy informována a seznámena o moderním ultrazvukovém vyšetření D3 (D4), kdy je poučena o tom, že touto metodou nelze rozpoznat všechny vrozené vývojové vady plodu a svým podpisem ztvrzuje, že s touto skutečností byla seznámena.

5. Manuál pro odběr primárních vzorků

V této kapitole jsou všechny specifické pokyny týkající se správného odběru a zacházení s primárními vzorky. Tyto pokyny jsou důležité nejenom pro pracovníky laboratoře, ale i pro **pracovníky odpovědné za odběry primárních vzorků. Pracovník odebírající primární vzorky vždy ručí za jejich odběr, označení a transport. Svým podpisem na průvodce pro dané vyšetření stvrzuje, že primární vzorek byl odebrán dle pokynů této Laboratorní příručky!!!**

Ovlivnění výsledků vyšetření:

1. Nedodržení zásad a pravidel pro odběr, uložení a transport do genetické laboratoře, které jsou uvedené v následujících kapitolách, ovlivňuje výsledky vyšetření.
2. Nedodržení doby dodání materiálu do laboratoře.
3. Nedostatečné nebo nečitelné popisy biologického materiálu odeslaného k laboratornímu vyšetření.
4. Neúplné vyplnění průvodky biologického materiálu.
5. Dodání kontaminovaného biologického materiálu.
6. Dodání nedostatečného množství biologického materiálu.

U jednotlivých vyšetření jsou popsány negativní faktory ovlivňující výsledek vyšetření.

5.1. Základní informace pro uživatele laboratorních služeb genetické laboratoře

5.1.1. Cytogenetické metody

Cytogenetické vyšetření je provedeno po indikaci genetikem a řádném genetickém poradenství.

Chromozomální vyšetření

Slouží k určení karyotypu klasickými cytogenetickými metodami.

Vyšetření se provádí:

Z plodové vody/choriových klků

Důvodem odběru plodové vody je požadavek na chromozomální vyšetření buněk plodu (tzn. amniocytů) nebo vyšetření jednotlivých genů k vyloučení vývojových vad u plodu. Zároveň lze vyšetřit hladinu alfafetoproteinu v plodové vodě. Jedná se o invazivní vyšetření, kdy riziko komplikací se pohybuje okolo 0.5- 1% . Proto musí být jasná indikace k provedení odběru plodové vody (amniocentéze). Plodová voda obsahuje kožní a slizniční buňky

Genetika Plzeň	Vydání: 12.
Laboratorní příručka	Datum zpracování/aktualizace: 28. 2. 2018

z povrchu plodu. Tyto buňky se v laboratorních podmínkách, v kultivačním mediu dále dělí a dalším zpracováním je možné z nich vyšetřit chromozomy plodu a jeho genetickou výbavu.

Změny v počtu nebo ve struktuře chromozomů doprovázejí závažné vrozené vývojové vady, které ve většině případů nelze po porodu léčit.

Amniocentéza se provádí nejčastěji mezi 16. - 18. týdnem gravidity, lze ho však provést již od 14. týdne gravidity. Odběr choriových klků se provádí mezi 9. - 13. týdnem gravidity. V případě odběru provedeného ve vyšších týdnech gravidity, je potřeba brát v úvahu, že ukončení těhotenství z důvodu poškození plodu je až na výjimky povoleno pouze do konce 24. týdne těhotenství. **Vlastní kultivace a zhodnocení preparátu se pohybuje mezi 9 – 16 dny**, proto je důležitý termín provedení odběru. Je nutné počítat s dostatečnou lhůtou na kultivaci, zpracování a odečtení vzorku.

Indikace k vyšetření:

- předchozí narození plodu s chromozomální abnormalitou nebo s vrozenými vývojovými vadami
- narození mrtvého plodu nebo úmrtí novorozence
- nosičství chromozomální přestavby
- opakované spontánní potraty
- výskyt mozaiky nebo aneuploidie pohlavních chromozomů u jednoho z rodičů
- pozitivní screening mateřského séra
- věk matky nad 35 let
- patologický nález na ultrazvuku
- pozitivní screening I. trimestru
- další méně časté indikace

Z periferní krve

Důvodem odběru je určení karyotypu vyšetřovaného pacienta. Při cytogenetickém vyšetření karyotypu z krve kultivujeme T-lymfocyty. Dělení T-lymfocytů stimuluje rostlinným lektinem Phytohemaglutininem (PHA). Pod mikroskopem sledujeme počet a strukturu jednotlivých chromozomů. Odběr neprovádíme po transfúzi a provedené infuzi (u novorozence) a po alogenní transplantaci kostní dřeně z důvodů vlivu na výsledky vyšetření. Karyotyp by odpovídal karyotypu dárce, ne pacienta.

Indikace k vyšetření:

- abnormální fenotypické příznaky u pacienta
- problémy růstu a vývoje u pacienta
- mentální retardace pacienta nebo v rodině pacienta
- narození mrtvého plodu a úmrtí novorozence
- opakované spontánní potraty
- problémy s fertilitou
- pozitivní rodinná anamnéza chromozomálních přestaveb

Genetika Plzeň	Vydání: 12.
Laboratorní příručka	Datum zpracování/aktualizace: 28. 2. 2018

Z potrácené tkáně

Důvodem odběru je určení karyotypu potráceného plodu. K vyšetření je nutné dodat **sterilně** odebranou tkáň o velikosti **0,5 x 0,5 cm** (minimálně), která se vloží do sterilní zkumavky s **médiem (nebo fyziologickým roztokem)** a v co nejkratší době dopravit na vyšetření.

Indikace k vyšetření:

- stanovení karyotypu potráceného plodu
- vyloučení vrozené chromozomové aberace u plodu
- odběr se neprovádí po transfuzi, infuzi (u novorozence) – karyotyp, by odpovídal karyotypu dárce, ne pacienta

Ovlivnění výsledků vyšetření:

- kvalita provedení odběru a uchování biologického materiálu
- medikace pacienta s dlouhodobou léčbou
- životní styl (kouření, stres)

5.1.2. Molekulárně-cytogenetické metody

FISH vyšetření

Fluorescenční hybridizace *in situ* (FISH) je založena na navázání fluorescenčně značených DNA sond ke komplementárním úsekům cílové DNA chromozomů nebo interfázních buněčných jader fixovaných na mikroskopickém preparátu. Ty jsou následně vizualizovány a detekovány pomocí epifluorescenčního mikroskopu.

FISH vyšetření se používá k upřesnění a doplnění chromozomálního vyšetření, popř. verifikaci nálezu zjištěného běžným cytogenetickým rozbořem. V některých případech může FISH analýza nahradit běžný cytogenetický rozbor (selhání kultivace, časový stres).

Metoda FISH se dále používá při preimplantační genetické diagnostice. Vyšetření jedné nebo dvou buněk (blastomer) odebraných z vyvíjejícího se embrya je tak možné odhalit sledované genetické abnormality (aneuploidie, nebalancované translokace) budoucího plodu. Po tomto vyšetření lze k transferu do dělohy vybrat pouze embrya s normálním nálezem.

Používané FISH sondy:

Centromerické sondy

- lokalizace: hybridizují s repetitivními satelitními sekvencemi především v centromerických oblastech
- účel: slouží k diagnostice numerických chromozomálních aberací, detekci chromozomů neznámého původu

Lokus-specifické sondy

- lokalizace: hybridizují s jedinečnými sekvencemi DNA
- účel: slouží k diagnostice numerických chromozomálních aberací, k vyšetření

Genetika Plzeň	Vydání: 12.
Laboratorní příručka	Datum zpracování/aktualizace: 28. 2. 2018

mikrodeleci u mikrodelečních syndromů (např. **Prader-Willi/Angelman sy., DiGeorge sy.**), zjištění amplifikace onkogenů a některých specifických translokací

Celochromozomové sondy

- lokalizace: hybridizují s mnohačetnými chromozomovými sekvencemi, označují celý chromozom
- účel: slouží k vyšetření chromozomálních přestaveb a analýze komplexních translokací, k detekci původu marker chromozomů

Podrobnosti metody FISH jsou uvedeny v SOP 11.

Indikace k vyšetření:

Vyšetření preimplantační genetické diagnostice předchází podrobná genetická konzultace obou partnerů, jejímž vyústěním je podepsaný informovaný souhlas, který dokumentuje, že pár dostatečně porozuměl problematice a mohl se svobodně rozhodnout, zda proceduru podstoupí.

PGD (preimplantační diagnostika translokací)

- páry, kdy jeden z partnerů je nositelem chromozomální přestavby, jejíž nebalancované formy vedou k časným potratům, či vývoji postiženého plodu

PGS (preimplantační genetický screening nejčastějších aneuploidií)

- páry s normálním karyotypem a opakovanými časnými SAB. Nutno vzít v úvahu, že páry se SAB mají vysokou pravděpodobnost přirozeného početí.
- páry s opakovaným selháním IVF (více než 3 embryotransfery bez pozitivního nálezu gestačního vakuu 5 týdnů po embryotransferu)
- vyšší věk ženy nad 36 let

Sexing (volba pohlaví)

- X – vázaná onemocnění (Duchennova/Beckerova muskulární dystrofie, hemofilie), pokud není dostupné cílené PCR vyšetření

Negativní faktory ovlivňující výsledky vyšetření:

Preimplantační genetická diagnostika se nedoporučuje, pokud:

- má žena nízký počet folikulů
- je špatná kvalita embryí
- je BMI nad 30
- je žena ve věku nad 45 let
- je bazální FSH větší než 15 IU/l

Genetika Plzeň	Vydání: 12.
Laboratorní příručka	Datum zpracování/aktualizace: 28. 2. 2018

Vyšetření metodou array CGH

Array CGH (komparativní genomová hybridizace na čipu) je molekulárně cytogenetické vyšetření celého genomu. Primárně slouží k odhalení nebalancovaných aberací (ztrát a získů sekvencí), jejichž umístění v genomu není předem známé. Hlavním principem je kompetice fluorescenčně značené referenční DNA se značenou DNA pacienta o komplementární sekvence rozprostřené na čipu. Intenzitu každého spotu poté zachytí speciální scanner, pomocí něhož můžeme analyzovat poměr obou fluorochromů. Metodou nelze prokázat balancované chromozomální odchylky, nízkofrekvenční mozaicismus a bodové mutace.

Indikace k vyšetření:

Metoda array CGH se používá v diagnostice postnatální, prenatalní i preimplantační. Vyšetření je indikované u pacientů s podezřením na vrozenou vývojovou vadu s genetickou aberací, u kterých klasickými cytogenetickými a molekulárně genetickými metodami nebyly prokázány žádné změny genetické výbavy.

Postnatální diagnostika (normální karyotyp, normální molekulárně genetická vyšetření, např. vyloučení syndromu fragilního X) a bez vysvětlené příčiny:

- psychomotorická retardace / stigmatizace
- problémy růstu a vývoje
- mnohočetné vrozené vady
- zdánlivě balancovaná aberace, upřesnění nalezené aberace (marker chromozom, de novo aberace apod.)
- vyšetření obou rodičů současně s vyšetřením plodu, pokud jeho stáří překročilo 20. týden gravidity a nepřesáhlo ukončený 24. týden těhotenství
- vyšetření obou rodičů v případě čipového nálezu u plodu nebo dítěte k objasnění, zda se jedná o aberaci de novo nebo zděděnou nebo pro posouzení patogenity nálezu
- nelze vyšetřit karyotyp (nemožnost kultivace, nedostatek materiálu apod.)

Prenatální diagnostika (normální karyotyp a zároveň):

- abnormální ultrazvukový nález
- významně vyšší NT nad 3 mm
- nosičství chromozomální přestavby a to i zděděné od rodiče (vyloučení de novo mikroleceí nebo mikroduplikací v místech zlomů)
- nelze vyšetřit karyotyp (nemožnost kultivace, nedostatek materiálu, nedostatečné lhůta pro provedení do ukončeného 24. týdnu těhotenství apod.)

Metodu a – CGH lze použít i u prenatalních vyšetření, ale s vědomím, že výsledky mohou být neinformativní nebo nejasné.

Preimplantační diagnostika:

Genetika Plzeň	Vydání: 12.
Laboratorní příručka	Datum zpracování/aktualizace: 28. 2. 2018

- vyšší věk ženy - nad 35 let v době očekávaného porodu
- opakované neúspěchy předchozích cyklů asistované reprodukce - min. 2×
- opakované potracení po vyloučení ostatních možných příčin - min. 2×
- početní gonosomové aberace (např. 47,XXX, 47,XYY) a malé gonosomové mozaiky detekované z periferní krve - nad 10%
- andrologický faktor (např. těžká oligo-asteno-teratospermie) nebo použití spermií získaných metodou MESA/TESE v asistované reprodukci
- porod nebo potrat dítěte (plodu) s chromosomovou aneuploidii
- chemoterapie nebo radioterapie u jednoho či obou partnerů v anamnéze

Ovlivnění výsledků vyšetření:

- kvalita provedení odběru biologického materiálu

5.1.3. Molekulárně-genetické metody

Molekulárně genetické vyšetření je provedeno po indikaci genetikem a řádném genetickém poradenství, nebo hematologem.

Izolace DNA je výchozí krok ke všem metodám molekulární genetiky.

Laboratoř provádí :

- izolaci DNA ze vzorku periferní krve, plodové vody a choriových klků
- izolaci DNA z kultivovaných buněk buněčných kultur
- izolaci DNA ze slizničních stěrů
- izolaci DNA z tkáně potracených plodů
- izolaci DNA z buněk trofoektodermy embryí

QF PCR vyšetření

- Rychlá diagnostika (do 24 hod od dodání vzorku do laboratoře) aneuploidii autozomálních chromozomů 13, 18, 21 a pohlavních chromozomů X, Y analýzou STR lokusů na automatickém genetickém analyzátoru (sekvenátoru).
- Detekce dědičných onemocnění zahrnující syndromy Down, Edward, Patau, Klinefelter, Turner, Jacob (supermale), triple X (superfemale) a polyploidie.

Indikace k vyšetření:

- riziko biochemického screeningu I. a II. trimestru vyšší než 1:100.
- celkové genetické riziko nad 10%.
- abnormální ultrazvukový nález.
- kombinace více rizikových faktorů.

Negativní faktory ovlivňující výsledky vyšetření:

Genetika Plzeň	Vydání: 12.
Laboratorní příručka	Datum zpracování/aktualizace: 28. 2. 2018

- špatná kvalita primárního vzorku

Wyšetřeni mutací v CFTR genu pro cystickou fibrózu

- Laboratoř provádí vyšetřeni 33 mutací CFTR genu a stanovení polymorfismu v intronu 8 (Tn varianty) pomocí kitu Devyser Core.
- Vyšetřované mutace zachytí 91,7% všech mutací CFTR genu v české populaci.
- Test je schopen zachytit jak asymptomatické přenašeče (heterozygoty), tak postižené jedince (homozygoty).

Indikace k vyšetřeni:

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

Negativní faktory ovlivňující výsledky vyšetřeni:

- špatná kvalita primárního vzorku

Wyšetřeni nečastějších mikrolecí AZF oblasti na Y chromozomu

- analýza AZF oblasti (azoospermický faktor) na dlouhém rameni Y chromozomu
- jsou vyšetřované oblasti AZFa, AZFv, AZFc a z každé oblasti jsou vyšetřované 2 STS lokusy

Uvedený postup zachytí cca 90% delecí v AZF oblastech

Indikace k vyšetřeni:

- Porucha plodnosti u mužů – azospermie nebo těžká oligospermie.

Negativní faktory ovlivňující výsledky vyšetřeni:

- špatná kvalita primárního vzorku

Wyšetřeni na přítomnost trombofilních variant

- **gen pro koagulační faktor V – varianta FV Leiden – G1691A (AGR506Thr)**
- **gen protrombin (koagulační faktor II) – varianta G20210A**
- **gen pro methylenetetrahydrofolát reduktázu – MTHFR – varianta C677T**
varianta A1298C
- **gen pro inhibitor plazminogenového inhibitoru PAI-1 – mutace 4G/5G**

Genetika Plzeň	Vydání: 12.
Laboratorní příručka	Datum zpracování/aktualizace: 28. 2. 2018

Indikace k vyšetření:

- žilní trombóza (embolie) u jedince pod 50 let
- trombóza na neobvyklém místě
- tromboembolická choroba u pacienta se zatíženou rodinnou anamnézou
- žilní trombóza v průběhu těhotenství nebo v souvislosti s užíváním hormonální terapie nebo antikoncepce
- pacient před plánovaným chirurgickým výkonem s rodinnou anamnézou
- pacientka s opakovanými potraty ve II nebo III trimestru těhotenství bez objasněné příčiny
- indikace klinickým hematologem

Negativní faktory ovlivňující výsledky vyšetření:

- špatná kvalita primárního vzorku

Vyšetření mutace 35delG v genu pro connexin 26

- Detekce prevalentní mutace v genu pro connexin 26. Vyšetřovaná mutace je nejčastější příčinou ztráty sluchu
- vyšetřením je možné zachytit jak postižené jedince (homozygoty), tak slyšící přenašeče (heterozygoty)

Indikace k vyšetření:

- vrozená prelinguální ztráta sluchu
- vrozená prelinguální ztráta sluchu v rodině
- vyšetření vrozené ztráty sluchu před kochleární implantací
- testování přítomnosti mutace u partnerů v přbuzenském svazku, popř. u novorozenců narozených z incestních vztahů
- vyšetřování slyšících příbuzných v rodinách, kde již byla mutace zjištěna

Negativní faktory ovlivňující výsledky vyšetření:

- špatná kvalita primárního vzorku

DNA určování otcovství pomocí STR markerů

- multiplex PCR 16-ti STR markerů s následnou fragmentační analýzou, za použití kitu AmpFLSTR[®] Identifier[®] Kit
- s posudkem soudního znalce se musí vyšetřit domnělý otec, matka a dítě (popř. více domnělých otců, či více dětí)
- **pokud je požadován posudek soudního znalce** musí být vzorky odebrány **dle protokolárního odběru (viz kap. 5.4.5)**
- **pokud posudek není požadován**, lze provést analýzu jen otce a dítěte bez vyšetření matky, v tomto případě **se neprovádí protokolární odběr** (tyto analýzy provádíme pouze ve vyjimečných případech s ohledem na zájmy nezletilého dítěte)

Genetika Plzeň	Vydání: 12.
Laboratorní příručka	Datum zpracování/aktualizace: 28. 2. 2018

Vyšetření provádíme na základě objednávky žadatelů o vyšetření (soukromé osoby, soudy, státní zastupitelstva, popř. jiné orgány činné v trestním řízení).

DNA vyšetření predispozičních alel k celiakii

- vyšetření se provádí za účelem detekce HLA alel predispozičních k celiakii

Vyšetřované alely se vyskytují u více než u 99% pacientů s celiakií a u 20% zdravých kontrol. Přítomnost predispozičních alel zvyšuje 50x riziko onemocnění celiakií oproti populaci.

Indikace k vyšetření:

- neprospívání u dětí
- zažívací potíže
- výskyt celiakie v rodině
- anemie neznámého původu

Negativní faktory ovlivňující výsledky vyšetření:

- špatná kvalita primárního vzorku

Vyšetření syndromu fragilního X chromozómu - FRAXA

PCR vyšetření ke stanovení počtu opakování CGG repetice v genu FMR1. Syndrom fragilního X chromozómu je nejčastější příčinou mentální retardace u chlapců, může být příčinou mentální retardace i u dívek. Nosičky premutace mohou trpět předčasným ovariálním selháním. U nosičů (mužů) premutace se může vyskytovat presenilní tremor.

Indikace k vyšetření:

- PMR, autismus v OA nebo v RA
- předčasné ovariální selhání
- presenilní tremor u mužů

Negativní faktory ovlivňující výsledky vyšetření:

- špatná kvalita primárního vzorku

Mutační analýza genů metodou Sangerova sekvenování

Flexibilní rozsah akreditace-laboratoř může modifikovat vyšetřované geny při zachování principu metody s upozorněním na uplatnění flexibility ve výsledkovém listu

- detekce známé mutace v rodině nebo ověření nálezu ze sekvenování nové generace

Negativní faktory ovlivňující výsledky vyšetření:

- špatná kvalita primárního vzorku

Genetika Plzeň	Vydání: 12.
Laboratorní příručka	Datum zpracování/aktualizace: 28. 2. 2018

Mutační analýza genů metodou masivně paralelního sekvenování

Flexibilní rozsah akreditace-laboratoř může modifikovat vyšetřované geny při zachování principu metody s upozorněním na uplatnění flexibility ve výsledkovém listu

- geny souvisejících s hereditárním karcinomem prsu a ovárií (HBOC)

Hereditární syndrom nádoru prsu a/nebo ovárií je autozomálně dominantní syndrom s neúplnou penetrancí. Analyzovány jsou geny s převažující predispozicí k nádorům prsu, ovárií a dělohy. Kromě genů BRCA1 nebo BRCA2, jsou to například ATM, APC, BARD1, BRIP1, CDH1, CHEK2, EPCAM, MLH1, MSH2, MSH6, MUTYH, NBN, PALB2, PMS2, PTEN, RAD50, RAD51C, RAD51D, STK11, TP53. Mutační analýza/screening těchto genů umožňuje potvrzení genetického pozadí vzniku nádorového onemocnění u postižených jedinců a následné prediktivní testování jejich biologických příbuzných. Asymptomatictí nosiči mutace jsou zařazeni do dispenzarizačního programu, který slouží k včasnému zachytu možného nádorového onemocnění.

Indikace k vyšetření:

- Familiární výskyt
 - 3x diagnostikovaný karcinom prsu v jakémkoliv věku
 - 2x diagnostikovaný karcinom prsu, alespoň jeden případ pod 50 let, nebo oba do 60 let
 - Probandka s karcinomem prsu do 50 let s přímým příbuzným s nádorem spojeným s HBOC (především slinivka a prostata)
 - Karcinom ovárií v rodinné anamnéze
- Sporadický výskyt
 - Všechny epitelové karcinomy ovárií/vejcovodů a primární peritoneální karcinom bez ohledu na věk
 - Dva samostatné primární karcinomy prsu, první do 50 let, nebo oba do 60 let (bilaterální nebo ipsilaterální/synchronní nebo metachronní)
 - Unilaterální karcinom prsu do 45 let (do 50 let, pokud není známá rodinná anamnéza)
 - Probandka s karcinomem prsu a pankreatu v jakémkoliv věku
 - Mužský pacient s karcinomem prsu
 - Medulární a atypicky medulární karcinom prsu
 - Karcinom prsu triple negativní (negativita estrogenových, progesteronových receptorů a HER2) do 60 let věku
- Výskyt patogenní varianty genu u příbuzných

Negativní faktory ovlivňující výsledky vyšetření:

- špatná kvalita primárního vzorku

Preimplantační genetické testování aneuploidií (PGT-A) metodou masivně paralelního sekvenování

Genetika Plzeň	Vydání: 12.
Laboratorní příručka	Datum zpracování/aktualizace: 28. 2. 2018

Abnormální počet chromozómů (aneuploidie) embryí je nejčastější příčinou selhání procesu *in vitro* fertilizace (IVF) a ztráty těhotenství. Metoda NGS (sekvenování nové generace) umožňuje testování biopsií trofoektodermu embryí po procesu IVF a selekci embryí s normálním počtem chromozómů (euploidních) pro implantaci. Bioptované buňky jednotlivých embryí jsou podrobené celogenomové sekvenační analýze kitem VeriSeq (Illumina) a vyhodnocené na přítomnost aneuploidií u všech 24 chromozómů, tzv. preimplantační genetické testování aneuploidií (PGT-A). Embrya s normálním chromozomálním profilem jsou následně doporučena pro transfer do dělohy v rámci asistované reprodukce.

Indikace k vyšetření:

Každý pár podstupující PGT-A musí mít genetickou konzultaci a vyšetření standardního karyotypu. Indikační kritéria:

Vyšší věk ženy – nad 35 let v době očekávaného porodu, spolu s některým z dalších kritérií:

- Minimálně 2 neúspěšné cykly asistované reprodukce
- Minimálně 2 potraty po vyloučení ostatních příčin
- Početní gonosomové aberace (47, XXX či 47, XXY) a malé gonosomové mozaiky detekované z periferní krve – nad 10%
- Strukturní chromosomové aberace (balancovaná či robertsonská translokace)
- Andrologický faktor (např. těžká oligo-asteno-teratospermie) nebo použití spermií získaných metodou MESA/TESE v asistované reprodukci
- Porod nebo potrat dítěte (plodu) s chromosomovou aneuploidií
- Chemoterapie nebo radioterapie u jednoho či obou partnerů v anamnéze

Negativní faktory ovlivňující výsledky vyšetření:

- Špatná kvalita embryí
- Špatná kvalita bioptovaných buněk trofoblastu

[Vyšetření delecí či duplikací metodou MLPA s následnou fragmentační analýzou](#)

Flexibilní rozsah akreditace-laboratoř může modifikovat vyšetřované geny při zachování principu metody s upozorněním na uplatnění flexibility ve výsledkovém listu.

Metoda „Multiplex Ligation dependent Probe Amplification“ (MLPA) slouží k detekci početních změn jako jsou delece a duplikace. Je to vysoce citlivá metoda, která je schopna zachytit změny jak v heterozygotní, tak v homozygotní podobě. Tuto metodu v současné době používáme k detekci delecí a duplikací genů SMN1 a genů spojených s hereditárním karcinomem prsu a ovarií.

o [Gen SMN1](#)

Spinální muskulární atrofie (SMA) je po Duchenově svalové dystrofii druhé nejčastější neuromuskulární onemocnění (prevalence 1/8000). Zároveň je druhou nejčastější příčinou

Genetika Plzeň	Vydání: 12.
Laboratorní příručka	Datum zpracování/aktualizace: 28. 2. 2018

úmrtí kojenců na autozomálně recesivní chorobu. V 95% případů SMA je genetickou příčinou delece genu SMN1. Jedinci, kteří nesou mutovanou variantu genu SMN1 nemají žádné projevy a jsou tudíž přenašeči. Pro projev onemocnění je nezbytná přítomnost obou mutovaných variant genu SMN1.

Indikace k vyšetření:

- Symptomatictí jedinci se suspektní diagnózou SMA
- Asymptomatictí jedinci s potvrzeným či podezřelým výskytem SMA v rodinné anamnéze
- Rodinní příbuzní prvního stupně či partneři přenašečů SMA
- Prenatální vyšetření plodu, pokud jsou oba rodiče přenašeči SMA
- Dárci gamet

Negativní faktory ovlivňující výsledky vyšetření:

- Špatná kvalita DNA

5.1.4 Metody reprodukční imunologie

Jsou zaměřeny na vyšetření buněčné odezvy v podobě protilátkových aktivit namířených proti pohlavním buňkám, spermii a povrchu oocytů, dále proti časným zárodkům.

Negativní faktory ovlivňující výsledky imunologických vyšetření:

Sérum: vyhnout se používání hemolytických, lipemických a ikterických sér. Krev odebírat a sérum uchovávat podle platných směrnic a metod.

Ovulační hlen: zpracování a uchovávání ovulačního hlenu podle daného pracovního postupu.

Ejakulát: dodržování předepsaných podmínek odběru a následné zpracování ejakulátu podle daného postupu.

Vyšetření protilátek proti fosfolipidům

Výskyt protilátek proti fosfolipidům a komplexům fosfolipid-protein (aPL) je spojován s klinickým obrazem antifosfolipidového syndromu (APS). APS zahrnuje i velmi početnou skupinu nemocí autoimunitního původu.

Přítomnost vysokých hladin protilátek proti fosfolipidům u těhotných žen je důvodem zvýšené péče o pacientku, neboť je nebezpečí samovolného potratu, nitroděložního úmrtí plodu nebo chorobného srážení krve (trombóza) se všemi nežadoucími účinky.

Vyšetřujeme:

- **protilátky proti kardioplinu ve třídě IgG, IgM**
- **protilátky proti annexinu V ve třídě IgG, IgM**
- **protilátky proti beta2-glykoproteinu I ve třídě IgA, IgG**
- **protilátky proti fosfatidyl (ph) – serinu ve třídě IgG, IgM**
- **protilátky proti ph-inositolu ve třídě IgG, IgM**
- **protilátky proti ph-etanolamínu ve třídě IgG, IgM**

Genetika Plzeň	Vydání: 12.
Laboratorní příručka	Datum zpracování/aktualizace: 28. 2. 2018

- **protilátky proti kyselině fosfatidové ve třídě IgG, IgM**
- **protilátky proti ph- D glycerinu ve třídě IgG, IgM**

Indikace k vyšetření:

- primární sterilita u ženy
- opakované doposud nevysvětlené potrácení
- opakované doposud nevysvětlené neúspěchy při oplodnění ve zkumavce (IVF)
- pacientky se základním autoimunitním onemocněním
- pacientky s anamnézou preeklampsie-eklampsie

Vyšetření antizonálních protilátek

Protilátky zaměřené proti antigenům zona pellucida v séru mohou způsobovat u žen primární i sekundární sterilitu i tím, že nedojde ke splnutí spermie s vajíčkem. Jsou obrazem autoimunitní reaktivity k povrchu oocyty, k zoně pellucidě.

Indikace k vyšetření:

- primární sterilita u ženy
- opakované doposud nevysvětlené potrácení
- opakované doposud nevysvětlené neúspěchy při oplodnění ve zkumavce (IVF)
- pacientky se základním autoimunitním onemocněním
- pacientky s anamnézou preeklampsie- eklampsie

Vyšetření antispermatozoidálních protilátek

Protilátky proti spermiím brání přirozené kapacitační a akrozomální reakci spermií, stávají se překážkou pro splnutí spermie s oocytem. Vlastní průnik spermií genitálním traktem ženy bývá narušen přítomnými protilátkami proti spermiím jednak v ovulačním sekretu hrdla děložního, jednak přítomnými ve vlastním ejakulátu. Také vzájemné vztahy mezi obalem vajíčka, zonou pellucidou a následné spojení s mužskou pohlavní buňkou může být těmito protilátkami ztíženo.

Protilátky proti spermiím vyšetřujeme v séru, ejakulátu a ovulačním hlenu.

Indikace k vyšetření:

- primární sterilita u ženy
- opakované doposud nevysvětlené potrácení
- opakované doposud nevysvětlené neúspěchy při oplodnění ve zkumavce (IVF)
- pacientky se základním autoimunitním onemocněním
- pacientky s anamnézou preeklampsie- eklampsie
- u mužů z páru pro sníženou plodnost
- ejakuláty před kryokonzervací spermií z důvodu závažného onemocnění, dlouhodobé např. služební pracovní cesty apod.
- u mužů- dárců spermií

Genetika Plzeň	Vydání: 12.
Laboratorní příručka	Datum zpracování/aktualizace: 28. 2. 2018

Wyšetřeni intraakrozomálních enzymů

Intraakrozomální enzymy jsou velmi důležité v přímě reakci povrchu spermie s povrchem oocyty, zonou pellucidou. Jejich množství (%) dotváří i celkovou kvalitu ejakulátu.

Indikace k vyšetření:

- muži z páru pro sníženou plodnost
- ejakuláty před kryokonzervací spermií z důvodu závažného onemocnění, dlouhodobé např. služební pracovní cesty apod.
- u mužů- dárců spermií

Průnik spermií ovulačním hlenem penetrační metodou (Kremerův test)

Kremerův test patří mezi tradiční, osvědčené testy penetrační (test pronikání) a současně vyhledávací (screeningové). Úkolem je posoudit vzdálenost, kterou urazí spermie v ovulačním hleny za jednotku času. Navíc sledujeme počet spermií s progresivním pohybem, posuzujeme charakter spermie a popřípadě změny na hlavičkách spermií. Kremerův test patří mezi nejpoužívanější testy v reprodukční imunologii, protože je přesnější a citlivější než např. klasický test po nechráněném pohlavním styku (postkoitální test).

Indikace k vyšetření:

- u všech žen s ovulací a jinak sníženou plodností:
- primární sterilita u ženy
- opakované doposud nevysvětlené potrácení
- opakované doposud nevysvětlené neúspěchy při oplodnění ve zkumavce (IVF)
- pacientky se základním autoimunitním onemocněním

Wyšetřeni spermigramu

- **Wyšetřeni spermií (spermigram)** – mikroskopické vyšetření ejakulátu (spermatu) na jehož základě se orientačně posuzuje plodnost muže.
- **Wyšetřované parametry jsou:** objem, viskozita, přítomnost cizorodých součástí, koncentrace, pohyblivost a morfologie.
- **Kapacitace spermií (separace, Swim-up)** – ejakulát se upraví na optimální množství spermií a oddělí se živé spermie od mrtvých. **Upravený vzorek lze použít k inseminaci AIH.**

Indikace k vyšetření:

- porucha plodnosti
- genetická indikace

Ovlivnění výsledků vyšetření reprodukční imunologie:

- před odběrem periferní krve omezit na 24 hodin příjem tuků

Genetika Plzeň	Vydání: 12.
Laboratorní příručka	Datum zpracování/aktualizace: 28. 2. 2018

- nedodržení předepsané pohlavní abstinence

5.2. Identifikační označení primárního vzorku

Každý biologický materiál musí být označen štítkem s uvedením **minimálně**:

1. jméno a příjmení pacienta
2. rodné číslo pacienta (pokud je to možné) případně jiný kód (např. datum, rok narození apod.)

U samoplátců (např. cizinci) je uveden jiný kód, vždy musí být zajištěna jednoznačná identifikace vzorku a dokumentů.

Poznámka:

Kód - je uváděn u neznámých osob, cizinců apod. u nichž nejsou k dispozici informace o r.č. nebo pouze v částečném rozsahu.

Za jednoznačné označení průvodky a materiálu odpovídá žadatel o vyšetření. Vždy **musí zajistit nezaměnitelnost materiálu a dokumentace.**

5.3. Průvodka na laboratorní vyšetření

Do laboratoře je přijímán materiál doprovázený průvodkou genetické laboratoře, dle požadovaného vyšetření (cytogenetickou, molekulárně-genetickou, imunologickou) nebo adekvátní, která musí obsahovat:

Povinné údaje:

- jednoznačná identifikaci pacienta
 - jméno a příjmení
 - rodné číslo (číslo pojištěnce)
 - datum narození
 - pohlaví
- identifikaci žadatele o vyšetření – IČP lékaře, adresa a kontakt na žadatele (může být uvedeno na razítku žadatele)
- diagnóza
- druh primárního vzorku – vyšetřovaný materiál
- požadovaná vyšetření
- datum a čas odběru primárního vzorku, identifikace pracovníka provádějící odběr
- datum a čas přijetí vzorku laboratoří (je uváděn v Laboratorním informačním systému/ Laboratorní knize)

Nepovinné údaje :

Genetika Plzeň	Vydání: 12.
Laboratorní příručka	Datum zpracování/aktualizace: 28. 2. 2018

- bydliště pacienta
- telefon pacienta

5.3.1. Požadavky na urgentní vyšetření

Požadavky na vyšetření **STATIM (akutní vyšetření)** se do laboratoře dodávají na stejných průvodkách jako pro ostatní běžná vyšetření a jsou navíc označeny červeným slovem „STATIM“. Průvodka musí obsahovat stejné povinné údaje jako u běžného cytogenetického, molekulárně-genetického nebo imunologického vyšetření. Vzorek bude přednostně zpracován a odečten.

Laboratoř reprodukční imunologie STATIMOVÉ vyšetření neprovádí.

Samostatnou přílohou jsou průvodky k laboratorním vyšetřením poskytovaným na Genetickém pracovišti a na našich stránkách www.genetika-plzen.cz

5.3.2. Ústní požadavky na vyšetření

V době, kdy je biologický materiál či primární vzorek uchovávan v laboratoři pro požadované vyšetření, je možné přijmout ústní požadavek k dodatečnému dovyšetření. Požadavek je přijímán od lékaře nebo sestry, nikoli od pacientů (s výjimkou samoplátců). Externí žadatel je požádán o dodání nové průvodky na doordinované vyšetření.

5.3.3. Důvody pro odmítnutí vzorků pro zpracování

Odmítnout lze:

- průvodku s biologickým materiálem, na které chybí nebo jsou nečitelné základní údaje (viz Průvodka na lab.vyšetření)
- průvodku nebo odběrovou nádobu znečištěnou biologickým materiálem
- nedostatečné množství biologického materiálu nutného pro zpracování (např. z důvodu rozlití či rozbití během transportu)
- nádobu s biologickým materiálem, kde není způsob identifikace materiálu z hlediska nezaměnitelnosti dostatečný, za dostatečnou identifikaci materiálu se považuje splnění uvedených pokynů o nezbytné identifikaci biologického materiálu (kapitola 5.2)
- nádobu s biologickým materiálem, kde zjevně došlo k porušení doporučení „fáze před vyšetřením“ (výsledky vyšetření by byly negativně ovlivněny kvalitou materiálu - například nedodržení času pro zpracování spermioqramu, nevhodná odběrová nádoba)
- biologický materiál bez průvodky (bez uvedení požadavků oprávněné osoby)
- průvodku dospělého pacienta od zdravotnického subjektu s odborností pediatrie (pokud nemá zároveň odbornost lékařská genetika), průvodku muže od subjektu s odborností gynekologie, pokud není souvislost s diagnózou partnerky, průvodku ambulantního pacienta od subjektu s odborností lůžkového oddělení

Genetika Plzeň	Vydání: 12.
Laboratorní příručka	Datum zpracování/aktualizace: 28. 2. 2018

5.3.4. Způsob řešení neshod na příjmu materiálu

- Neúplnost údajů na průvodce - ihned se komunikuje se žadatelem o vyšetření a zajistí se veškeré informace pro možnost zpracování materiálu a uvolnění výsledků.
- Pokud je dodán materiál bez průvodky, nebo není jednoznačně identifikovaný a jedná se o nenahraditelný vzorek (například potracená tkáň) laboratoř začne tento materiál vždy zpracovávat, ale výsledky nebudou uvolněny dokud žádající lékař nebo osoba odebírající materiál nepřevzme odpovědnost za doplnění správných identifikačních údajů. Laborantka Genetického pracoviště doplní informace do laboratorního informačního systému (příslušné Laboratorní knihy) s uvedením jména pracovníka, který poskytl doplňující informace.
- V případě chybějící dokumentace je externí žadatel požádán o zaslání příslušné průvodky.
- V případě, že vzorek nelze zpracovat (znehodnocen, porušení fáze před vyšetřením, neoprávněný požadavek, nedostatečné množství) je zapsán do LIS s uvedením – data, identifikace pacienta, pracovníka laboratoře a důvod odmítnutí, komu bylo odmítnutí hlášeno. Pracovník laboratoře informuje telefonicky žadatele a požádá o nový odběr.

5.4. Informace pro odběr biologického materiálu včetně minimálního množství

V této kapitole jsou uvedeny požadavky a pokyny pro odběr zpracovávaných biologických materiálů - doporučené odběrové nádoby, minimální odebírané množství a požadavků na transport a případné zvláštní načasování odběru.

5.4.1. Odběrové nádoby

Materiál musí být dodáván do laboratoře ve sterilních odběrových nádobkách nebo zkumavkách, pokud možno na jedno použití.

Doporučujeme užívat níže uvedené odběrové systémy, **minimálně konzervační látky:**

- **Plodová voda**
 - zkumavky Vacuette: žluté víčko. Odběr do zkumavek bez konzervační látky
- **Choriové klky**
 - zkumavky Vacuette: zelené víčko. Odběr do zkumavek s lithium Heparin
- **Potracená tkáň**
 - zkumavka s médiem Bio AMF (medium na požádání laboratoř dodá), nebo fyziologickým roztokem

Genetika Plzeň	Vydání: 12.
Laboratorní příručka	Datum zpracování/aktualizace: 28. 2. 2018

- **Biopsie trofoektodermu embryí**
 - Mikrozkušavka o objemu 0,2 ml s 2,5 µl PBS
- **Spermie**
 - Sterilní kontejner s červeným víčkem
- **Bukální stěry**
 - Sterilní zkumavka s kartáčkem nebo sterilní nylonové výtěrky k PCR vyšetření
- **Periferní krev**
 - na chromozomální vyšetření:
zkumavky Vacuette (zelené víčko) s náplní lithium Heparin
 - na molekulárně – genetické vyšetření:
zkumavky Vacuette (fialové víčko) s náplní K3EDTA
 - na imunologické vyšetření:
zkumavky Vacuette (červené víčko) se separačním gelem
- **Ovulační hlen**
 - sterilní skleněné kapiláry

Při odběru je nutné vždy odběrové nádobky vhodně označit (dle výše uvedených pravidel).

Pozor na záměnu biologického materiálu!

Nestandardní odběr je nutno specifikovat na průvodce.

5.4.2. Odběr plodové vody – amniocentéza

Po ultrazvukovém vyšetření a náběru krve se těhotné pacientce provede odběr plodové vody pod kontrolou ultrazvuku a za sterilních podmínek. Vlastní odběr plodové vody provádí lékař gynekolog punkcí přes stěnu břišní při kontrole ultrazvukem, aby nedošlo k poranění plodu

Těhotná leží na lůžku, břišní stěnu dezinfikujeme a poté ultrazvukovou sondou hledáme vhodné místo pro vpich jehlou (**průměr 0,53 mm**-menší než na odběr krve!), na kterou se nasadí sterilní vakuová zkumavka. Poloha hrotu při vpichu je neustále kontrolována ultrazvukem.

- **Specifika odběru:**

Minimální odebrané množství potřebné pro vyšetření je **10 ml**

Při standardním odběru je odsáto do tří zkumavek celkem 20 ml plodové vody, tj. pouze 5 % celkového množství plodové vody. Odsáté množství se do několika málo hodin opět doplní.

Genetika Plzeň	Vydání: 12.
Laboratorní příručka	Datum zpracování/aktualizace: 28. 2. 2018

Bolestivost výkonu je srovnatelná s běžnou injekcí nebo odběrem krve. Po výkonu, pokud se těhotná cítí dobře, může s doprovodem odejít domů.

Pro odběr plodové vody na Genetickém pracovišti je nutné objednání na naší ambulanci. Pokud se odběr neprovádí na našem pracovišti je nutné zajistit transport do laboratoře co nejdříve, **nejpozději však do 24 hodin po odběru.**

5.4.3. Odběr choriových klků

Po ultrazvukovém vyšetření se těhotné pacientce provede odběr choriových klků pod kontrolou ultrazvuku a za sterilních podmínek. Vlastní odběr provádí lékař gynekolog punkcí přes stěnu břišní při kontrole ultrazvukem, aby nedošlo k poranění plodu.

Těhotná leží na lůžku, břišní stěnu dezinfikujeme a poté ultrazvukovou sondou hledáme vhodné místo pro vpich jehlou, na kterou se nasadí sterilní vakuová zkumavka. Poloha hrotu při vpichu je neustále kontrolována ultrazvukem.

- **Specifika odběru:**

Minimální odebrané množství potřebné pro vyšetření je jeden choriový klk.

Při standardním odběru je provedena kultivace tkáně i vyšetření QF PCR. Pokud je získáno odběrem jen minimální množství, provádí se pouze vyšetření QF PCR a array - CGH.

Po výkonu, pokud se těhotná cítí dobře, může s doprovodem odejít domů.

Pro odběr choriových klků na Genetickém pracovišti je nutné objednání na naší ambulanci.

5.4.4. Odběr periferní krve pro genetické vyšetření

Odběr materiálu na cytogenetické i molekulárně genetické vyšetření nevyžaduje žádnou speciální přípravu pacienta.

Pro odběr na imunologické vyšetření se doporučuje snížit příjem tuků na minimum.

Krev se odebírá z periferní žíly v loketní jamce. Paže se volně položí, dezinfikuje se místo vpichu (např. Cutasept, Braunoderm) – **nesmí se používat dezinfekce s obsahem jodu**, které by mohly být příčinou neúspěšné kultivace. Po stabilizování polohy provedeme vpich jehlou s nasazeným nástavcem a po té se na nástavec nasadí příslušná zkumavka. Místo vpichu se zakryje čtverečkem z buničiny, opatrně se přitlačí a vytáhne jehla a přelepíme náplast. Vyzveme pacienta, aby si tisknul místo vpichu (cca 2-5 minut) a po cca 20 minutách si náplast odstranil.

- **Specifika odběru:**

Optimální množství je 4 – 5 ml krve, minimálně však **2 ml** (např. u malých dětí). Ihned po odběru je nutné zkumavku promíchat.

Pro cytogenetické vyšetření je zelené víčko (**heparin**), pro molekulárně genetické je fialové (**K₃EDTA**). Pro imunologické vyšetření je červené víčko (**separační gel**)

Odebraná krev se uchovává v lednici, při teplotě 4 - 8° C. Je nutné zabránit zmrznutí nebo přehřátí krve, aby se zachovaly živé buňky.

Při transportu je vhodné užívat transportní nádobu – „termostatická taška“ nebo „termoska“. Transport do laboratoře je nutno zajistit co nejdříve, **nejpozději do 48 hodin.**

Genetika Plzeň	Vydání: 12.
Laboratorní příručka	Datum zpracování/aktualizace: 28. 2. 2018

5.4.5. Odběr potracené tkáně

Provádí vždy lékař-gynekolog ve zdravotnickém zařízení. Odebraný materiál za sterilních podmínek vloží do sterilní, označené zkumavky, či nádoby s médiem nebo fyziologickým roztokem a s řádně vyplněnou průvodkou dopraví do laboratoře.

- **Specifika odběru:**

Odebraný vzorek je nutné co nejdříve po odběru dopravit do laboratoře (nejdéle do 24 hodin po odběru)

5.4.6. Biopsie trofoektodermu embryí

Odběr a transport vzorků je zajištěn IVF centry (žadatelé vyšetření). Vstupním materiálem je biopsie trofoektodermu blastocyst kultivovaných po dobu 5 dní. Během biopsie je zhruba 5 – 10 buněk odebráno za sterilních a chladných podmínek do 2,5µl 1xPBS v 0,2 ml-mikrozkumavkách. Vzorky jsou transportovány ve stojánkách s víčkem, aby se zabezpečila jejich stabilní pozice.

- **Specifika odběru:**

Vzorky jsou ihned po doručení zamražené.

5.4.7. Odběr spermatu (ejakulátu)

Získ ejakulátu je standardně prováděn masturbací (za pomoci erotických časopisů, videa nebo partnerky) ve speciální odběrové místnosti na genetické ambulanci.

Ejakulát má být odebírán po pohlavní abstinenci o délce 3-4 dnů a pečlivém dodržení hygieny. Odběr je proveden do sterilního kontejneru, který je označen štítkem se jménem, příjmením a rodným číslem pacienta.

- **Odběr ejakulátu v genetické ambulanci**

Odběr ejakulátu je prováděn ve speciální odběrové místnosti na spermioqramy do označeného kontejneru (nádobku vydává sestra genetické ambulance). Před odběrem pacient podepisuje Poučení pro pacienty před odběrem ejakulátu v genetické ambulanci (F62/15).

Po získání ejakulátu zazvoní na sestru a vyčká jejího příchodu a osobně předá označený a uzavřený kontejner. Sestra překontroluje předání (kontrola identifikačních údajů na průvodce s údaji na kontejneru).

- **Odběr mimo Genetické pracoviště**

Odběr ejakulátu mimo Genetické pracoviště je možný po neúspěšných pokusech na genetické ambulanci. V tomto případě pacient podepisuje Poučení pro pacienty před odběrem ejakulátu mimo Genetické pracoviště (F 63_15) a ztvrzuje svým podpisem, že se seznámil s tímto poučením a na genetické pracoviště předal **pouze svůj** biologický materiál (ejakulát). Pacient obdrží k odběru označený sterilní kontejner.

Genetika Plzeň	Vydání: 12.
Laboratorní příručka	Datum zpracování/aktualizace: 28. 2. 2018

Ejakulát musí být dopraven na recepci ambulance **pouze osobně** do jedné hodiny po odběru při teplotě lidského těla, aby nedošlo k přehřívání nebo k zamrznutí.

Při předání biologického materiálu sestře genetické ambulance pacient potvrdí původ svého ejakulátu podpisem na F 63_15.

- **Specifika odběru:**

V případě odběru mimo genetickou ambulanci (domácí prostředí) je nutno biologický materiál **doručit do jedné hodiny** na Genetické pracoviště. Je nutno dodržet požadovanou teplotu transportu vzorku (cca teplota těla).

Požadovaná doba pohlavní abstinence musí být dodržena. V případě nedodržení podmínek odběru je nutno upozornit pracovníka genetické ambulance a odběr za standardních podmínek zopakovat.

Odběr není vhodné provádět při akutním onemocnění vyšetřovaného muže (např. antibiotická léčba).

Odebraný biologický materiál je nutno předat **osobně** sestře na recepci genetické ambulance (ejakulát **nelze přijmout** od jiné osoby).

5.4.8. Odběr slizničního stěru z dutiny ústní (bukální stěr)

Odběr provádí sestra, kdy pacientovi vytře sliznice dutiny ústní sterilním kartáčkem či výtěrkou (např. Dispolab) a výtěr vloží do označené zkumavky.

V rámci Genetického pracoviště je pacient předem objednan na naší ambulanci.

- **Specifika odběru:**

Materiál je možno uchovávat v lednici při teplotě 4 - 8 ° C, po té je nutno skladovat v mrazáku při teplotě - 18° až -22° C.

5.4.9. Protokolární odběr k DNA paternitní expertíze s posudkem soudního znalce

Protokolární odběr probíhá za přítomnosti soudního znalce a jednoho svědka a je nutné objednaní odběru v naší ambulanci nebo u soudního znalce.

- během protokolárního odběru se ověřuje totožnost pomocí platných dokladů (OP, pas, rodný list, nebo jiný platný doklad totožnosti)
- součástí odběru je otisk pravého palce
- žadatel o vyšetření si může zvolit druh primárního vzorku (bukální stěr nebo periferní krev)
- během odběru se sepisuje protokol o odběru, jehož součástí je – jméno, rodné číslo, adresa, otisky palců a dále **prohlášení domnělého otce a matky** :
 - prohlášení o správném označení odebraného vzorku
 - prohlášení o správnosti uvedené totožnosti
 - prohlášení o tom, zda byla či nebyla provedena alogenní transplantace kostní dřeně a zda byla či nebyla v době 6 týdnů před odběrem podána transfuze krve
 - souhlas pro zpracování a použití primárního vzorku k provedení paternitní expertízy

Genetika Plzeň	Vydání: 12.
Laboratorní příručka	Datum zpracování/aktualizace: 28. 2. 2018

- souhlas či nesouhlas s uchováváním nespoteřovaných vzorků DNA v DNA bance Genetika Plzeň, s.r.o.

Tato prohlášení a souhlasy vždy podepisují matka, domnělý otec, v případě zletilosti dítěte také dítě a v případě nezletilosti matky nebo otce jejich zákonný zástupce.

Do protokolu se dále zaznamenává, kdo provedl odběr a kdo byl přítomen jako svědek, včetně všech podpisů zúčastněných.

- **Specifika odběru:**

Odebraný vzorek je nutné uložit v lednici (4 - 8° C) a dopravit do laboratoře nejpozději do týdne.

5.4.10. Odběr ovulačního sekretu (hlenu)

Před odběrem je nutný pohlavní styk pouze za použití kondomu od skončení poslední menstruace. Ovulační sekret odebíráme obvyklým lékařským postupem do sterilních kapilár pomocí vakuované stříkačky v gynekologické poloze v ambulanci reprodukční imunologie. Jeho množství závisí na aktuální hormonální hladině.

- **Specifika odběru:**

Odebraný ovulační sekret je nutno skladovat při teplotě nižší než -18 °C (v boxu na ledu) nebo ihned transportovat do laboratoře.

5.5. Informace a návody předávané pacientům před odběrem primárního vzorku (informované souhlasy)

Většina odběrů pro genetická vyšetření se provádí ambulantně.

Po odběrech pro prenatální vyšetření se nedoporučuje fyzická námaha a těhotná žena má nárok na 7- denní pracovní neschopnost.

Odběry biologického materiálu před plánovaným genetickým vyšetřením nevyžadují speciální přípravu pacienta, základní informace jsou uvedeny u konkrétních odběrů.

Žádný z odběrů není potřeba provádět nalačno, jídlo ani pití neovlivňují výsledky vyšetření.

Před odběrem plodové vody podepisují pacientky popř. zákonný zástupce **souhlas s provedením amniocentézy/choriových klků.**

Při odběru biologického materiálu k DNA vyšetření podepisuje pacient souhlas případně nesouhlas s molekulárně genetickým vyšetřením.

- **Souhlas vyšetřované/ho (zákonného zástupce) s genetickým laboratorním vyšetřením**
- **Nesouhlas vyšetřované osoby (zákonného zástupce) s genetickým laboratorním vyšetřením – negativní revers**

Požadované formuláře jsou součástí příloh Laboratorní příručky (jsou volně přístupné ke stažení)

Genetika Plzeň	Vydání: 12.
Laboratorní příručka	Datum zpracování/aktualizace: 28. 2. 2018

5.6. Příjem vzorku do laboratoře

Při příjmu vzorku do laboratoře laborantka ihned zkontroluje, zda je odběrová zkumavka (nádobka, pod.) čitelně a vhodně označena a zda připojená průvodka obsahuje veškeré potřebné údaje k provedení požadovaného vyšetření.

Po provedené kontrole je vzorek a průvodka označena přiřazeným laboratorním číslem a je zapsána dle požadovaného vyšetření do laboratorního informačního systému (příslušné Laboratorní knihy) s uvedením:

- data a času příjmu, požadavky, identifikace pracovníka, který vzorek přijal
- jméno, příjmení a rok narození pacienta
- laboratorní číslo na požadovaná vyšetření

Vždy je zajištěna dohledatelnost veškerých informací souvisejících s příjmem vzorku. Laboratorní číslo se přiřazuje nezaměnitelně jednotlivému biologickému materiálu dle interních pravidel laboratoře.

Označení požadavku:

- na průvodce, kde jsou vypsány požadavky, křížkem do patřičného okénka
- na průvodce, kde nejsou požadavky definovány, je nutno je vypsát ručně nebo přes PC
- pokud je třeba uvést i některé další údaje, tak je doplnit, jako (např. váha pacienta, délka gravidity, poslední menstruace apod.)

Vždy musí být požadavek na vyšetření jednoznačný a údaje psané rukou čitelné.

Příjem biologického materiálu probíhá po celou pracovní dobu laboratoře.

V případě zjištěné neshody mezi průvodkou a materiálem, pracovník přijímající materiál postupuje dle kapitoly 5.3 Laboratorní příručky.

5.7. Transport a manipulace s biologickým materiálem (se vzorky)

Informace k dopravě :

- za zajištění transportu a zajištění bezpečnosti přepravce (vhodný způsob balení a označení) vždy odpovídá lékař požadující vyšetření
- doprava materiálu má být **šetrná, rychlá a musí být dodržovány specifické podmínky – uvedené v rámci kapitoly (5.4), zejména dodržen čas a podmínky transportu**
- s materiálem se nesmí během přepravy prudce manipulovat, aby nedošlo k mechanickému poškození – vhodná přeprava v transportních boxech (určených pouze pro přepravu vzorků)
- průvodky musí být umístěny v samostatném obalu, např. v igelitovém sáčku tak, aby nemohlo při náhodném vylití biologického materiálu dojít k jejich potřísnění.
- při transportu je důležité chránit biologický materiál před extrémní teplotou a světlem
- je nutné zabránit zmrznutí nebo přehřátí, aby se uchovala schopnost kultivace buněk a růstu *in vitro*

Genetika Plzeň	Vydání: 12.
Laboratorní příručka	Datum zpracování/aktualizace: 28. 2. 2018

- v případě, že nelze přepravit materiál ihned po odebrání uchováme jej v lednici při 4 - 8° C

Upozornění:

Pokud je materiál během transportu vylitý nebo rozbitý, laboratoř Vám to telefonicky oznámí a požádá Vás o nový odběr.

6. Fáze po vyšetření

6.1. Bezpečné odstraňování materiálů použitých při odběru

Materiál použitý při odběru primárních vzorků je považován za potencionálně infekční (vatové tampony nebo buničité čtverce, rukavice) ukládá se do nepropustného obalu a je likvidován dle dokumentované platné legislativy. V rámci pracoviště je postup specifikován v interní dokumentaci.

Použité jehly se odhazují do plastových uzavíratelných kontejnerů k tomu určených a jsou rovněž likvidovány výše zmíněným způsobem.

Skladování laboratorních vzorků a používaného materiálu probíhá v souladu dle ustanovení § vyhlášky 6 MZD č. 440/2000 Sb. ve znění pozdějších předpisů.

6.2. Manipulace a skladování materiálu

Neprodleně po odběru zajistí odebírající pracovník jeho transport do laboratoře ke zpracování tak, aby nedošlo k jeho znehodnocení fyzikálními vlivy a k ohrožení fyzických osob.

V průběhu zpracování je materiál uchováván dle podmínek uvedených v jednotlivých SOP pro vyšetření a tak, aby nedošlo k jeho znehodnocení.

S materiálem se manipuluje s ohledem na bezpečnost práce a ochrany zdraví pracovníka.

6.2.1. Skladování před a v průběhu vlastního vyšetření

V průběhu vyšetření až do doby vydání výsledků se část biologického materiálu skladuje v lednici nebo mrazáku. Bukální stěry před vlastním vyšetřením jsou uloženy 7 dní v lednici a v případě dalšího uchovávání jsou uloženy v mrazáku.

Konkrétní specifika jsou uváděna dle potřeby v SOP pro dané vyšetření.

6.2.2. Skladování po vyšetření

Materiál může být použit pro opakovanou kultivaci nebo dodatečná vyšetření.

Primární vzorky

Genetika Plzeň	Vydání: 12.
Laboratorní příručka	Datum zpracování/aktualizace: 28. 2. 2018

- **Periferní krev** – po dobu zpracování, až do doby vydání výsledku (cca 7 dnů)
- **Plodová voda** – po dobu zpracování, až do doby vydání výsledku (cca 21 dní)
- **Ovulační hlen** – po dobu zpracování, až do doby vydání výsledků (cca 21 dní)

Po vydání výsledků jsou primární vzorky likvidovány jako nebezpečný odpad a pro další možná dovyšetření je uchováván zpracovaný vzorek po níže definovanou dobu.

Sekundární vzorky

- **izolovaná DNA** je dále uchovávána v mrazáku, při $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ (-18° až -22°C) se souhlasem pacienta
- **suspenze (suspenze kultivovaných lymfocytů)** – se uchovává v mrazáku, po dobu minimálně 1 měsíce
- **fluorescenční značený PCR amplifikát** je uchováván na tmavém místě v lednici do vydání výsledků
- **Sérum z periferní krve** se uchovávána v mrazáku, při $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ (-18° až -22°C)

Trvalé preparáty - jsou rozděleny:

- **na patologické** - s dobou uchování **10 let**
- **na normální** - s dobou uchování **10 let**

6.3. Dodatečná vyšetření a časový interval pro jejich požadování

Dodatečná vyšetření jsou limitována vlastností, množstvím a uchováním zpracovávaného biologického materiálu.

Dodatečná vyšetření nelze provést u spermií a choriových klků.

U plodové vody je požadavek na dovyšetření možné žádat do doby vydání výsledků. V případě vzorku periferní krve je možné dodatečně požadovaná vyšetření provést z opakované kultivace.

Kvalita případného dalšího opakovaného vyšetření nebo dovyšetření může být ovlivněna dobou a metodou skladování, která je uvedena výše. Dodatečná vyšetření je možné požadovat telefonicky, ale externí žadatel vždy dodá průvodku k požadovanému dovyšetření. V případě, že pro konečné vydání výsledků je nutné dovyšetření nebo případný nový odběr biologického materiálu komunikuje s žadatelem o vyšetření vedoucí laboratoře nebo vedoucí úseku.

6.4. Opakování vyšetření stejného primárního vzorku

Je-li potřeba opakovat vyšetření z důvodu podezření na nesprávně vydané výsledky, takové vyšetření provede laboratoř na vlastní náklady. V případě, že již primární vzorek není k dispozici komunikuje s žadatelem vždy lékař Genetického pracoviště, o potřebě zopakovat vyšetření okamžitě informuje žadatele, tj. indikujícího lékaře.

7. Vydávání výsledků a komunikace s laboratoří

Genetika Plzeň	Vydání: 12.
Laboratorní příručka	Datum zpracování/aktualizace: 28. 2. 2018

7.1. Informace o formách vydávání výsledků

Genetické pracoviště používá v současné době jeden způsob vydávání výsledků a tím je **tisk výsledkových listů** přes laboratorní informační systém nebo Medicalc.

Před vydáním jsou všechny výsledky kontrolovány dvěma pracovníky a podepsány oprávněným pracovníkem (vedoucím úseku) a vedoucím laboratoře nebo lékařem.

Interpretaci výsledků provádí vždy lékař (genetik nebo imunolog).

Tištěné výsledky jsou rozděleny a poté rozeslány poštou.

Je-li výsledek pozitivní je pacient pozván na ambulanci Genetického pracoviště, kde mu lékař vždy osobně výsledky sdělí, vysvětlí a doporučí případná další dovyšetření, či další řešení.

Při interpretaci výsledků, je důležité brát v úvahu doporučení odborných společností a platnou legislativu (například dobu pro ukončení těhotenství).

Komunikace telefonem je užívána jen v případě nebezpečí z prodlení, řešení nějakého vzniklého problému, k zajištění potřebných chybějících informací apod.

Pracovník, který hlásí výsledky telefonem je povinen se přesvědčit, že výsledky sděluje oprávněnému lékaři (dle pravidel pracoviště).

7.2. Změny výsledků a nálezů

Ke změně výsledků by nemělo docházet. Pokud by k němu došlo je zaznamenán datum a jméno osoby, která změnu dodatečně provedla. V případě, že laboratoř zjistí chybně vydaný nález, komunikuje s žadatelem vždy vedoucí Genetického pracoviště nebo vedoucí laboratoře nebo úseku.

Žadateli o vyšetření (ošetřujícímu lékaři) je dodán nový výsledkový list se správnými výsledky.

7.3. Intervaly od dodání materiálu k vydání výsledků

Vzorky jsou průběžně zpracovávány 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.

- **chromozomální vyšetření plodové vody/choriových klků:** 2-3 týdny
- **chromozomální vyšetření periferní krve:** 2-3 týdny
- **vyšetření potracené tkáně:** 3-4 týdny
- **molekulárně-genetické vyšetření (obecně):** 3-4 týdny (individuálně dle vyšetření)
- **spermiogram:** do 2 hodin
- **vypracování znaleckého posudku:** do 3 týdnů - **vyšetření není hrazeno žádnou pojišťovnou**, proto si žadatel plně hradí veškeré náklady i vyšetření sám. Částka je dána, dle aktuálního ceníku Genetického pracoviště
- **imunologická vyšetření:** 2-3 týdny

Genetika Plzeň	Vydání: 12.
Laboratorní příručka	Datum zpracování/aktualizace: 28. 2. 2018

7.4. Konzultační činnost laboratoře

Lékařům a žadatelům o genetická a imunologická vyšetření jsou poskytovány konzultace a návody v odborné oblasti související s laboratorními vyšetřeními. Kontakty jsou uvedeny v kapitole 2 Laboratorní příručky.

7.5. Způsob řešení stížností

Stížnost lékaře, pacienta a ostatních účastníků je podnětem pro zlepšení práce na Genetickém pracovišti a zabýváme se prošetřením každé uplatněné stížnosti.

Stížnost lze podávat na :

- výsledky laboratorních vyšetření
- způsob jednání pracovníků
- nedodržení ujednání vyplívajících z uzavřené dohody o provedení vyšetření a nedodržení dohodnuté lhůty

Stížnost lze podat komukoliv z pracovníků Genetického pracoviště.

Způsob podání stížnosti:

- písemně (poštou, faxem, e-mailem)
- ústně (při osobním jednání)

Termíny pro vyřízení stížností:

- Pokud stížnost není řešena ihned, je termín na vyřízení stížnosti 30 dnů. Odpovědný pracovník zákazníkovi telefonicky sdělí výsledek šetření.

7.6. Obecné zásady laboratoře na ochranu osobních informací

Laboratoř nakládá s osobními a citlivými údaji pacientů tak, aby nemohlo dojít k jejich neoprávněnému přístupu, změně nebo zneužití. Obecné zásady pro ochranu osobních údajů:

1. Organizační opatření:

- Osobní a citlivá data pacientů jsou vedena v listinné formě v příručních spisovných a v elektronické formě v programu ENVIS LIMS/MEDICALC.
- Listinná forma záznamu je zabezpečena uzamčením vstupu do genetické laboratoře a řízením vstupu cizích osob. Pro zabezpečení dat v ENVIS LIMS/MEDICALC mají pracovníci přidělena přístupová práva s ohledem na jejich kompetence.
- Pracovníci mají ve své pracovní náplni podepsanou mlčenlivost a jsou seznámeni prokazatelně s vnitřními předpisy, ve kterých jsou stanovena pravidla pro nakládání s osobními údaji.

2. Technická opatření:

Genetika Plzeň	Vydání: 12.
Laboratorní příručka	Datum zpracování/aktualizace: 28. 2. 2018

- Technická opatření jsou stanovena na úrovni mechanického zabránění přístupu neoprávněných osob do míst, kde je uložena zdravotnická dokumentace. Jedná se o řízený vstup do genetické laboratoře.
- Zdravotnická dokumentace uložená v programu ENVIS LIMS/MEDICALC je v době nepřítomnosti zdravotnického pracovníka chráněna heslem pro vstup do PC a systému ENVIS LIMS/MEDICALC. Každý pracovník má přidělený rozsah oprávnění pro přístup do ENVIS LIMS/MEDICALC.

8. Přílohy

Nejsou