Genetika Plzeň, s.r.o.
Parková 1254/11a, Černice, 326 00 Plzeň
IČO: 26357623

Laboratorní příručka - PGT

Platnost dokumentu:	**1. srpna 2025**
Datum vypracování:	28. července 2025
Datum schválení:	31. července 2025
Vypracoval:	RNDr. Martina Hrubá, Ph.D.
Schválil, podpis:	Mgr. Sabina Planetová
Garant dokumentu:	RNDr. Martina Hrubá, Ph.D.
Verze:	**004**
Identifikace dokumentu:	**VD.GP 05**
Typ dokumentu:	**Interní**
Výtisk č.:	
Ostatní informace:	Oprava čísla normy ČSN EN ISO 15189 ed. 3:2023 v kap. 3.1, 6.1; Drobné opravy v kap. 4.7.2 – tab. 3, v příloze č. 1.

Před použitím dokumentu si podle čísla verze ověřte, že se jedná o aktuální verzi.

Obsah:

1. Úvod ... 4
1.1 Účel ... 4
1.2 Oblast platnosti ... 4
1.3 Osoby oprávněné ... 4
2. Definice, pojmy, zkratky ... 5
2.1 Definice a pojmy ... 5
2.2 Zkratky ... 5
3. Informace o laboratoři ... 7
3.1 Základní identifikace laboratoře a kontaktní informace ... 7
3.2 Informace o sekci Laboratoř reprodukční genetiky ... 7
3.3 Spektrum nabízených služeb ... 9
3.3.1 Preimplantační genetické testování aneuploidií (PGT-A) ... 9
3.3.2 Preimplantační genetické testování familiárních chromosomových aberací (PGT-SR) .. 11
3.3.3 Preimplantační genetické testování monogenních onemocnění (PGT-M) ... 12
4. Manuál pro odběry primárních vzorků pro PGT ... 13
4.1 Základní informace ... 13
4.2 Vyšetření PGT-A – Požadavky na set-up ... 13
4.3 Vyšetření PGT-M a PGT-SR – Požadavky na set-up ... 13
4.3.1 PGT pro familiární chromosomovou aberaci (PGT-SR) ... 13
4.3.2 PGT pro familiární monogenní onemocnění (PGT-M) ... 13
4.4 Požadavek na vyšetření a průvodní dokumentace ... 14
4.4.1 Žádanka o vyšetření ... 14
4.4.2 Informovaný souhlas s genetickým vyšetřením ... 15
4.4.3 Protokol o biopsii pro PGT ... 16
4.4.4 Protokol o provedení izolace genomické DNA ... 17
4.5 Požadavky na urgentní vyšetření ... 17
4.6 Požadavky na dodatečná vyšetření ... 17
4.7 Požadavky na vlastní odběr vzorku a odběrové soupravy ... 17
4.7.1 Označení vzorku ... 18
4.7.2 Embryonální vzorky primárního odběru ... 18
4.7.2.1 Speciální požadavky pro odběr vzorků pro vyšetření metodami NGS / Karyomapping 20
4.7.2.2 Speciální požadavky pro odběr vzorků pro vyšetření metodou FISH ... 21
4.7.3 Vzorky po embryonální WGA DNA ... 21
4.7.4 Vzorky pro vyšetření SET-UP pro monogenní onemocnění ... 21
4.7.5 Vzorky pro vyšetření SET-UP pro chromosomovou aberaci ... 22
4.8 Transport a uchovávání vzorků ... 22
4.8.1 Embryonální vzorky ... 22
4.8.2 Vzorky pro vyšetření SET-UP pro monogenní onemocnění ... 24
4.8.3 Vzorky pro vyšetření SET-UP pro chromosomovou aberaci ... 24
4.9 Základní informace o bezpečném zacházení se vzorky ... 24
5. Preanalytické procesy v laboratoři ... 25
5.1 Příjem vzorků v RG ... 25
5.2 Řešení neshodných situací při příjmu vzorů a kritéria pro odmítnutí vzorku ... 25
6. Vydávání výsledků a komunikace s laboratoří ... 27
6.1 Obecné zásady ... 27
6.2 Intervaly od dodání vzorku k vydání výsledku ... 27

6.3 Změny výsledků a nálezů ... 27
6.4 Telefonické sdělování výsledků ... 27
6.5 Konzultační činnost laboratoře ... 27
6.6 Zajištění potřeb k odběru biologického materiálu ... 28
6.7 Způsob řešení stížností ... 28
6.8 Ochrana osobních dat ... 28
7. Související dokumentace ... 29
7.1 Interní dokumentace ... 29
7.2 Externí dokumentace ... 29
7.3 Přílohy ... 29
Příloha č. 1: Návod na odběr bukálního stěru odběrovou sadou dodávanou Genetickou laboratoří ... 30

1. Úvod

1.1 Účel

Cílem tohoto dokumentu je podrobně informovat žadatele o **preimplantační genetické laboratorní vyšetření** o spektru služeb, které v oblasti embryonálních genetických vyšetření poskytuje Laboratoř reprodukční genetiky (RG), sekce Genetické laboratoře společnosti Genetika Plzeň, s.r.o.

Tato příručka navazuje na Laboratorní příručku Genetické laboratoře (GL) Genetika Plzeň, s.r.o. a obsahuje kompletní přehled nabízených preimplantačních vyšetření, včetně zdravotních indikací k jejich provedení, pokyny pro vyžádání vyšetření a ke správnému odběru a transportu vzorků a informace o způsobu vydávání výsledků vyšetření.

Tato příručka je vydávána ve dvou jazykových verzích (CZ, EN).

1.2 Oblast platnosti

Příručka slouží jako zdroj informací všem žadatelům o preimplantační vyšetření v RG a je k dispozici žadatelům na webových stránkách www.genetika-plzen.cz, příp. na jejich vyžádání. Informace o aktualizacích příručky i souvisejících dokumentů (formuláře žádanky, protokolu o biopsii a informovaných souhlasů) jsou všem žadatelům zasílány automaticky.

Příručka je součástí řízené dokumentace Genetické laboratoře Genetika Plzeň, s.r.o. a jako taková je závazná pro všechny její pracovníky.

1.3 Osoby oprávněné

Za zpracování a aktualizaci této příručky odpovídá vedoucí sekce Laboratoře reprodukční genetiky v součinnosti s vedoucím laboratoře a manažerem kvality.

Vyžádat preimplantační vyšetření je oprávněn pouze lékař – klinický genetik nebo specialista v oboru gynekologie a reprodukční medicíny. Pokud o vyšetření žádá reprodukční specialista a vyšetření má být provedeno s úhradou české zdravotní pojišťovny, musí být nejprve provedena genetická konzultace s doporučením (indikací) preimplantačního testování.

Osoby provádějící odběr vzorků jsou zdravotničtí pracovníci oprávnění k provádění těchto činností dle vnitřních předpisů organizace žadatele (dané laboratoře nebo zdravotnického zařízení).

2. Definice, pojmy, zkratky

2.1 Definice a pojmy

2PN	úspěšně fertilizovaný oocyt s patrnými dvěma prvojádry (z angl. ProNuclei)
Blastomera	buňka, která vzniká časným mitotickým dělením oplozeného vajíčka (zygoty)
Doba odezvy (TAT)	interval mezi přijetím vzorku do laboratoře a vydáním výsledné zprávy (u kumulačních cyklů interval začíná přijetím poslední sady vzorků, v případě dodatečného vyšetření přijetím požadavku na vyš. uloženého vzorku; z angl. turnaround time)
DynaMed	interní informační databázový systém IVF center NextClinics (dříve součástí Zentren Prof. Zech a některých dalších)
Genetická laboratoř (GL)	Genetická laboratoř Genetika Plzeň, s.r.o.
Chromosom	barvitelná struktura v buněčném jádře, obsahující spiralizovanou jadernou DNA a histony
Informovaný souhlas (IS)	souhlas vyšetřované osoby/ klienta s genetickým vyšetřením; povinná součást zdravotnické dokumentace klienta při požadavku o genetické vyšetření
IVF laboratoř	IVF (embryologická) laboratoř
IVF centrum	centrum asistované reprodukce
Klient	pár (pacientka a její partner) podstupující léčbu v IVF centru, popř. pouze pacientka
Odběrový systém	médium vhodné pro odběr a následný transport vzorku primárního odběru
Polární tělísko	haploidní buňka vznikající meiotickým dělením vajíčka (oocytu); 1. polární tělísko je odebíráno ze zralého vajíčka a 2. polární tělísko je odebíráno z oplozeného vajíčka (vyšetřením polárních tělísek je testována pouze mateřská chromosomová výbava budoucího embrya)
Pracovník	osoba vykonávající činnost pro organizaci nebo jednotlivé společnosti, se smluvním vztahem uzavřeným buď podle Zákoníku práce (zaměstnanec) nebo podle jiných právních úprav.
Protokol o biopsii (BP)	průvodní dokument primárních embryonálních vzorků určených k vyšetření v RG
SET-UP	vyšetření partnerů, popř. i dalších členů rodiny, před zahájením vyšetření PGD pro familiární chromosomové aberace či monogenní onemocnění (PGT-M, PGT-SR)
Trofoektoderm	buňky ve vývojovém stádiu blastocysty (časné embryo staré 5-6 dní), které dávají později vzniknout extra-embryonálním tkáním (placentě a pupečníku).
Žádanka	povinný průvodní dokument každého vzorku, který je určen pro vyšetření v GL
Žadatel	žadatelem o vyšetření je indikující lékař

2.2 Zkratky

aCGH	komparativní genomová hybridizace na mikročipu (z angl Array Comparative Genomic Hybridization)
AD	autosomálně dominantní
AR	autosomálně recesivní
BP	protokol o biopsii (typ průvodní dokumentace/formuláře)
CZ	český
ČIA	Český institut pro akreditaci, o.p.s.
DE	německý
ECA	European Cytogeneticists Association
EDTA	kyselina ethylendiamintetraoctová (z angl. EthyleneDiamineTetraAcetic acid)
EN	anglický

ESHRE	European Society of Human Reproduction and Embryology
F	formulář
FISH	fluorescenční *in situ* hybridizace
GL	Genetická laboratoř
ICSI	intracytoplazmatická injekce spermie (z angl. IntraCytoplasmic Sperm Injection)
ID	identifikační číslo vzorku (nebo sady vzorků)
IMSI	intracytoplazmatická injekce morfologicky selektované spermie (z angl. Intracystoplasmic Morphologically selected Sperm Injection)
IS	informovaný souhlas
IT	italský
IVF	*in vitro* fertilizace
LLRG	Laboratoř lékařské a reprodukční genetiky (Repromeda)
LP	laboratorní příručka
MDA	speciální typ WGA vhodný pro Karyomapping (z angl. Multiple Displacement Amplification)
MESA	mikrochirurgická epidermální aspirace spermií
MZ	Ministerstvo zdravotnictví
NGS	sekvenování nové generace (z angl. Next Generation Sequencing)
NZZ	nestátní zdravotnické zařízení
OPU	ovariální punkce (odběr vajíček)
PBS	fosfátový pufr (Phosphate Buffered Saline)
PGD	preimplantační genetická diagnostika
PGS	preimplantační genetický screening
PGT-A	preimplantační genetické testování aneuploidií (nový ekvivalent pro PGS)
PGT-M	preimplantační genetické testování monogenních onemocnění (částečný ekvivalent PGD)
PGT-SR	preimplantační genetické testování strukturních (chromosomových) přestaveb (částečný ekvivalent PGD)
PVP	polyvinylpyrrolidon
RČ	rodné číslo (pacienta)
RG	Laboratoř reprodukční genetiky (sekce Genetické laboratoře Genetika Plzeň s.r.o.)
RT	pokojová teplota (z angl. Room Temperature)
SLGG	Společnost lékařské genetiky a genomiky ČLS JEP
SNP	jednonukleotidový polymorfismus (z angl. Single Nucleotide Polymorphism)
SOPV	standardní operační postup vyšetřovací
SŠ	středoškolský pracovník
STR	krátké tandemové repetice (z angl. Short Tandem Repeat)
TAT	doba odezvy; (z angl. turnaround time)
TESA	testikulární aspirace spermatické tkáně
TESE	testikulární extrakce spermatické tkáně
VL	vedoucí laboratoře
VŠ	vysokoškolský pracovník
WGA	celogenomová amplifikace (z angl. Whole Genome Amplification)
WGA DNA	embryonální DNA po celogenomové amplifikaci
ZP	zdravotní pojišťovna

3. Informace o laboratoři

3.1 Základní identifikace laboratoře a kontaktní informace

Název organizace	**Genetika Plzeň, s.r.o.**
Ředitel	MUDr. Petr Lošan
Typ organizace	Nestátní zdravotnické zařízení, společnost s ručením omezeným
Založení organizace	Registrace v Obchodním rejstříku u Krajského soudu v Plzni dne 26.5.2003 ve složce C 15141
IČ	26357623
DIČ	CZ699004286
Adresa	Parková 1254/11a, 326 00 Plzeň-Černice
Telefon	+420 377 241 529, 377 452 322
Email	recepce@genetika-plzen.cz
URL	www.genetika-plzen.cz

Název laboratoře	**Genetická laboratoř (GL)**
Vedoucí laboratoře	Mgr. Sabina Planetová
Telefon	+420 604 106 586
Email	sabina.planetova@next-clinics.com

Vnitřní organizace a kompetence jednotlivých pracovníků GL jsou jasně vymezeny a popsány v rámci požadavků zavedeného systému řízení kvality. Všichni zaměstnanci GL (VŠ, SŠ) jsou odborně způsobilí pro práci ve zdravotnické laboratoři a personální obsazení laboratoře splňuje nepodkročitelná minima pro genetickou laboratoř stanovená Společností lékařské genetiky a genomiky ČLS JEP i kritéria Vyhlášky 99/2012 Sb. o požadavcích na minimální personální zabezpečení zdravotních služeb.

Laboratoř je akreditována ČIA dle normy ČSN EN ISO 15189 ed. 3:2023. **Pro ostatní údaje o Genetické laboratoři Genetika Plzeň, s.r.o., viz *VD.GP 04 Laboratorní příručka*.**

3.2 Informace o sekci Laboratoř reprodukční genetiky

Sekce	**Laboratoř reprodukční genetiky (RG)**	
Oblast aktivity	Úsek reprodukční genetiky provádí specializovaná genetická vyšetření embryonálních vzorků a další související vyšetření	
Vedoucí úseku	RNDr. Martina Hrubá, Ph.D.	
Adresa laboratoře	Parková 1254/11a, 326 00 Plzeň-Černice - 2. patro (3.NP)	
Provozní doba	Po-Pá (7:00-15:00)	*Provozní dobu, či příjem vzorků, lze přizpůsobit po dohodě aktuální potřebě klienta či žadatele.*
Příjem vzorků		
Telefon	+420 605 179 548	
E-mail	martina.hruba@next-clinics.com	
URL	www.genetika-plzen.cz	

Laboratoř reprodukční genetiky (RG) GL Genetika Plzeň je nástupcem Genetické laboratoře IVF Zentren Prof. Zech – Pilsen a jako taková je přizpůsobena požadavkům center pro asistovanou reprodukci, pro něž poskytuje laboratorní genetická vyšetření embryonálních tkání a zprostředkovává další specializovaná vyšetření v oblasti reprodukční genetiky. Dlouhodobě je spolupracováno s IVF centry NextClinics jak v ČR, tak i v zahraničí.

Úsek reprodukční genetiky je zaměřen na provádění preimplantačních genetických vyšetření, tzn. na specializovaná genetická vyšetření embryonálních buněk odebraných v raném zárodečném vývoji po *in vitro* fertilizaci (tzn. blastomer, trofoektodermu, příp. polárních tělísek). Nedílnou součástí provedení laboratorního vyšetření je také odpovídající interpretace k výsledkům vyšetření, související poradenské služby a dodávání odběrových (transportních) systémů pro odběry primárních vzorků pro určité typy vyšetření.

V současnosti je nabízeno provedení molekulárně-cytogenetických vyšetření embryonálních tkání metodami NGS a FISH (PGT-A, PGT-SR, podrobně viz kap. 3.3.1 a kap. 3.3.2). Diagnostika monogenních onemocnění molekulárně-genetickými metodami (PGT-M, podrobněji viz kap. 3.3.3, metoda Karyomapping) je zajišťována prostřednictvím vyšetření ve smluvní laboratoři LLRG Repromeda.

Výjimečně je vyžádáno provedení vyšetření nebo jeho části, v jiné (externí) laboratoři. Týká se to zejména provedení diagnostických / konfirmačních vyšetření před PGT-M. Pro tato vyšetření jsou laboratoří nabízeny konzultační služby, týkající se charakteru vyšetřovacích metod a výběru vhodného vyšetření, včetně poskytnutí informace o požadavcích na odběr a transport vzorků.

Vyšetření jsou prováděna na základě indikace lékaře pro samoplátce i pro pojištěnce českých zdravotních pojišťoven.

Laboratoř pro provádění nabízených genetických vyšetření disponuje veškerým potřebným přístrojovým vybavením (mikroskopy, biohazard boxy, termocyklery, vybavení pro elektroforetické metody atd.) v souladu s požadavky Vyhlášky č. 92/2012 Sb. o věcném a technickém vybavení zdravotnických zařízení.

Pro prováděná vyšetření jsou přednostně používány certifikované diagnostické soupravy.

3.3 Spektrum nabízených služeb

3.3.1 Preimplantační genetické testování aneuploidií (PGT-A)

<table>
<tr><th>Varianty vyšetření</th><th colspan="2">Metoda</th><th>Počet vyšetřených vzorků</th><th>Doba odezvy</th></tr>
<tr><td rowspan="4">• PGT-A
24 chromosomů</td><td rowspan="4">NGS</td><td>• standard</td><td>všechny vzorky</td><td rowspan="4">do 21 dní</td></tr>
<tr><td>• méně vzorků</td><td>dle požadavku *</td></tr>
<tr><td>• dodatečné vyšetření</td><td>dle požadavku *</td></tr>
<tr><td>• pojištěnci CZ ZP</td><td>do 8*</td></tr>
<tr><td>• PGT-A
5 chromosomů
(13, 18, 21, X, Y)</td><td>FISH</td><td>• standard</td><td>všechny vzorky</td><td>do 21 dní</td></tr>
<tr><td colspan="5">Informace o vyšetření</td></tr>
<tr><td colspan="5">Preimplatační genetický screening (PGT-A) je komplexní vyšetření, kterým lze vyloučit sporadické (tj. de novo vzniklé, nezděděné) odchylky v počtu chromosomů (tzv. aneuploidie), popř. jejich částí (segmentální aneuploidie), a snížit riziko potratu či narození dítěte s genetickou abnormalitou. Vznik embryí s abnormální chromosomovou výbavou je jedním z hlavních důvodů poruch plodnosti a snížené šance na otěhotnění a porod zdravého dítěte. Zahrnutí PGT-A do IVF cyklu proto šanci na otěhotnění a porod zdravého dítěte zásadně zvyšuje.

Embrya s normální, tj. euploidní, chromosomovou sestavou jsou plně doporučena k transferu do dělohy matky.

Mosaikové nálezy, odpovídající přítomnosti aneuploidie/í pouze v části vyšetřovaných buněk (relevantní u vyšetření trofoektodermu), jsou interpretovány a reportovány dle těchto pravidel:
• mosaikové nálezy početních změn chromosomů 13, 18, 21 a X, Y <u>nejsou doporučovány</u> k transferu vzhledem k známému riziku viabilních početních změn těchto chromosomů vedoucích k postižení fenotypu dítěte,
• mosaikové nálezy početních změn chromosomů 14 a 15 <u>nejsou doporučovány</u> k transferu vzhledem ke zvýšenému riziku viabilních uniparentálních disomií těchto chromosomů vedoucích k postižení fenotypu dítěte,
• komplexní mosaikové nálezy, zahrnující > 4 mosaikové změny <u>nejsou doporučovány</u> k transferu zejména pro riziko snížené schopnosti implantace embrya, zvýšení těhotenských ztrát a vyššímu riziku postižení fenotypu dítěte,
• u ostatních mosaikových nálezů může být transfer embrya zvážen a po provedení genetické konzultace a seznámení s možnými riziky proveden,
• ve výsledné zprávě je rozlišeno mezi mosaikami segmentálními a celochromosomovými a také mezi nízkým (do ~50 %) a vysokým (nad ~50 %) zastoupením aneuploidní linie ve vyšetřovaném vzorku.
Pravidla pro interpretaci mosaikových nálezů vycházejí z odborných doporučení PGDIS a CoGen (viz kap. 7.2 Externí související dokumentace).

Akreditované vyšetření, aktuálně prováděné na platformě EmbryoMap™ (Vitrolife).
Vyšetření není poskytováno v režimu STATIM.</td></tr>
<tr><td colspan="5">Hlavní indikace k vyšetření (vyšetření však může být součástí jakéhokoli IVF cyklu)</td></tr>
<tr><td colspan="5">• vyšší maternální věk (> 35 let),
• opakované potrácení (2x a více)**,
• porod nebo potrat plodu s chromosomovou abnormalitou**,
• opakované selhání předchozích (celých) cyklů IVF (2x a více)**,
• opakované selhání implantace po předchozích embryotransferech (2x a více),
• výrazně zhoršené parametry spermiogramu u partnera**,
• použití spermií po TESE (odebrání spermií přímo z varlete) či MESA (odebrání spermií přímo z nadvarlete) pro IVF**,
• stav po léčbě onkologického onemocnění pomocí chemoterapie či ozařování u jednoho nebo obou partnerů**.</td></tr>
</table>

Vyšetřovaný embryonální materiál	
• **Trofoektoderm** (5./6. den vývoje)	• **Blastomera/y** (alternativní možnost pro vyšetření FISH) (3. den vývoje)
Vyšetřovací metody	
PGT-A metodou sekvenování nové generace (NGS) umožňuje vyšetření rozsáhlejších (≥ ~10 Mbp) změn (zisků nebo ztrát) genetického materiálu v celém genomu, tj. u všech 24 chromosomů. Oproti dříve užívanému vyšetření metodou aCGH je možné posoudit a reportovat mosaikové formy aberací. **Princip metody NGS**: Z odebraných buněk je extrahována DNA, která je dále amplifikována a upravena do formy tzv. knihovny (vzorku vhodného pro „čtení“ sekvence DNA). Každý vzorek/knihovna má své unikátní značení, které dovoluje v jednom experimentu analyzovat DNA více jedinců (embryí) najednou. Vzorky/knihovny jsou smíchány ve stejném poměru a výsledná knihovna je následně připravena pro závěrečné sekvenování. Vlastní čtení sekvence (sekvenování) probíhá postupnou syntézou nových komplementárních řetězců DNA ke čteným fragmentům. Přečtené sekvence jsou speciálním softwarem porovnány s normálním lidským genomem a je určena jejich genomická pozice. Po přiřazení sekvencí k jednotlivým vzorkům je provedeno kvantitativní hodnocení všech chromosomů. **Limitace metody NGS**: Používaná metoda NGS s nízkým pokrytím (low-pass whole genome sequencing) je limitována velikostí chromosomových přestaveb. Nelze odhalit malé ztráty či zisky chromosomů a současně nelze vyloučit jakékoliv další onemocnění či vývojové vady plodu, které nejsou způsobeny změnou počtu vyšetřovaných chromosomů či jejich větších částí.	
PGT-A metodou fluorescenční *in situ* hybridizace (FISH) je prováděn obvykle pouze pro 5 chromosomů a je používán výjimečně, dle indikace ošetřujícího lékaře. **Princip metody FISH**: Buněčná jádra odebraného materiálu jsou fixována na podložní mikroskopické sklo. Předem zvolené chromosomové úseky jsou označeny specifickou fluorescenčně značenou sondou komplementární k danému úseku DNA. Vyhodnocení je prováděno pomocí fluorescenční mikroskopie. **Limitace metody FISH**: FISH nelze vyloučit jakékoliv další onemocnění či vývojové vady plodu, které nejsou způsobeny změnou počtu vyšetřovaných chromosomových oblastí.	
Vysvětlivky: ***** *Počet vzorků, které budou otestovány v rámci jednoho vyšetření. Nadpočetné vzorky budou přijaty, zpracovány a uloženy v RG po dobu 1 roku pro případná dodatečná vyšetření*. *** indikace s možností úhrady vyšetření ZP*	

3.3.2 Preimplantační genetické testování familiárních chromosomových aberací (PGT-SR)

<table>
<tr><th>Varianty vyšetření</th><th colspan="2">Metoda</th><th>Počet vyšetř. vzorků</th><th>Doba odezvy</th></tr>
<tr><td rowspan="4">• PGT-SR
+ PGT-A 24 chromosomů</td><td rowspan="4">NGS</td><td>• standard</td><td>všechny vzorky</td><td rowspan="4">do 21 dní</td></tr>
<tr><td>• méně vzorků</td><td>dle požadavku *</td></tr>
<tr><td>• dodatečné vyšetření</td><td>dle požadavků *</td></tr>
<tr><td>• pojištěnci CZ ZP</td><td>do 8*</td></tr>
<tr><td>• PGT-SR samostatně nebo
+ PGT-A 2 chrom. (13, 21)
+ PGT-A 3 chrom. (18, X, Y)</td><td>FISH</td><td>• standard</td><td>všechny vzorky</td><td>do 21 dní</td></tr>
<tr><td colspan="5">Informace o vyšetření</td></tr>
<tr><td colspan="5">Preimplatační genetické testování familiárních chromosomových aberací/přestaveb (PGT-SR) je cílená diagnostika nebalancovaných forem konkrétních familiárních chromosomových abnormalit, které mohou vést k narození postiženého dítěte nebo k opakujícím se těhotenským ztrátám.

K transferu jsou doporučena embrya bez nebalancované formy familiární přestavby (tj. normální / balancovaná). Při vyšetření metodou NGS jsou vždy vyloučeny i sporadické aneuploidie všech chromosomů (PGT-A, viz kap. 3.3.1), při vyšetření metodou FISH je možno doplnit vyšetření viabilních aneuploidií (viz výše; limitováno technickou proveditelností).

Před vyšetřením PGT-SR metodou NGS většinou není třeba opakované chromosomové vyšetření rodičů (tzv. SET-UP). U PGT-SR vyšetření prováděného metodou FISH je naopak přípravné vyšetření rodičů (SET-UP), z důvodu ověření přesnosti navržené kombinace fluorescenčních sond, nutné. Pro SET-UP vyšetření je potřeba provést nový odběr vzorku periferní krve obou partnerů (viz kap. 4.7.5 a 4.8.3).

Každý případ je řešen individuálně, a proto je nutné jej předem konzultovat s RG (rozhodnutí o provedení SET-UP je učiněno v závislosti na rozsahu přestavby, na podrobnostech uvedených v dokumentaci z předchozích diagnostických laboratorních vyšetření rodičů atd., viz také 4.3.1).

Akreditované vyšetření, aktuálně prováděné na platformě EmbryoMap™ (Vitrolife).
Vyšetření není poskytováno v režimu STATIM.</td></tr>
<tr><td colspan="5">Indikace k vyšetření</td></tr>
<tr><td colspan="5">• Nosičství tzv. balancované chromosomové přestavby (obvykle translokace) u jednoho nebo obou partnerů.
• Přítomnost početních změn pohlavních chrom. (gonosomů), včetně mosaikové formy, u jednoho nebo obou partnerů.</td></tr>
<tr><td colspan="5">Vyšetřovaný embryonální materiál</td></tr>
<tr><td colspan="5">• Trofoektoderm (5./6. den vývoje) • Blastomera/y (alternativní možnost pro vyšetření FISH) (3. den vývoje)</td></tr>
<tr><td colspan="5">Vyšetřovací metody</td></tr>
<tr><td colspan="5">PGT-SR + PGT-A metodou NGS umožňuje vyšetření nebalancovaných forem familiární chromosomové přestavby většího rozsahu (s translokovanými segmenty ≥ ~10Mbp) a zároveň screeningové vyšetření kvantitativních změn ostatních chromosomů.

PGT-SR metodou FISH je používáno pouze pro PGT-SR nebalancovaných forem familiárních strukturních přestaveb malého rozsahu, kde nelze použít metodu NGS.

Princip metod NGS a FISH / Limitace metody NGS a FISH: viz kap. 3.3.1.</td></tr>
<tr><td colspan="5">Vysvětlivky:

* Počet vzorků, které budou otestovány v rámci jednoho vyšetření. Nadpočetné vzorky budou přijaty, zpracovány a uloženy v RG po dobu 1 roku pro případná dodatečná vyšetření.</td></tr>
</table>

3.3.3 Preimplantační genetické testování monogenních onemocnění (PGT-M)

<table>
<tr><th>Varianty vyšetření</th><th colspan="2">Metoda</th><th>Počet vyšetřených vzorků</th><th>Doba odezvy (TAT)</th></tr>
<tr><td rowspan="3">• PGT-M
+ orientační PGT-A 24 chromosomů
Jakýkoli kauzativní gen</td><td rowspan="3">Karyo mapping</td><td rowspan="2">standard</td><td>do 5 *</td><td rowspan="3">do 30 dní</td></tr>
<tr><td>do 2
(nelze pro pojištěnce CZ ZP)</td></tr>
<tr><td>více vzorků než 5</td><td>dle požadavku *</td></tr>
<tr><td colspan="5">Informace o vyšetření</td></tr>
<tr><td colspan="5">Preimplantační genetické testování monogenních onemocnění (PGT-M) je cílená diagnostika konkrétních závažných familiárních monogenních onemocnění (autosomálně recesivních, autosomálně dominantních nebo X-vázaných), kde je vysoké riziko narození postiženého dítěte.

K transferu jsou doporučena embrya s genotypem, který nevede k rozvoji sledovaného onemocnění (v závislosti na typu dědičnosti mohou být k transferu doporučena i embrya nesoucí jednu rodičovskou mutaci). K transferu zároveň nejsou doporučena embrya s prokázanou sporadickou aneuploidií.

Před preimplantačním vyšetřením pro monogenní onemocnění (PGT-M) je nutné provést přípravné molekulárně-genetické vyšetření u několika členů rodiny (tzv. SET-UP; obvykle je nutný nový odběr vzorku, viz kap. 4.7.4 a 4.8.2), navazující na dříve provedené diagnostické DNA testování.

Každý případ je řešen individuálně, a proto je nutné jej předem konzultovat s RG (viz také 4.3.2)!

Akreditované vyšetření ve smluvní lab. Vyšetření není aktuálně poskytováno v režimu STATIM.

Pozn.: Vlastní vyšetření je provedeno ve smluvní laboratoři LLRG Repromeda.</td></tr>
<tr><td colspan="5">Indikace k vyšetření</td></tr>
<tr><td colspan="5">• Nosičství predispozice (mutace) pro závažné genetické onemocnění způsobené poruchou jednoho genu u jednoho nebo obou partnerů, které je spojeno s vysokým rizikem narození dítěte postiženého daným onemocněním.</td></tr>
<tr><td colspan="5">Vyšetřovaný embryonální materiál</td></tr>
<tr><td colspan="5">• Trofoektoderm (TE) (5./6. den vývoje) • Blastomera/y (méně vhodný materiál; jen pokud nelze získat trofoektoderm) (3. den vývoje)</td></tr>
<tr><td colspan="5">Vyšetřovací metody</td></tr>
<tr><td colspan="5">PGT-M metodou Karyomapping (Illumina) umožňuje robustní vyšetření monogenních onemocnění na principu nepřímé diagnostiky a zároveň orientační screeningové vyšetření kvantitativních změn všech chromosomů.

Princip metody Karyomapping: Metoda je založena na porovnání DNA embryonálních vzorků a DNA páru a referenčního člena rodiny, odebraných v rámci SET-UP. Z odebraných vzorků je extrahována DNA, u vzorků embryonálních je navíc provedena speciální celogenomová amplifikace (whole genome amplification, WGA typu MDA). Samotné vyšetření je provedeno na speciálním druhu mikročipu (SNParray), který dokáže zároveň detekovat velký počet vybraných jednonukleotidových polymorfismů (tzv. SNP – single nucleotide polymorphism) celého genomu. Konkrétní kombinace SNP v oblasti genu způsobujícího dané monogenní onemocnění odlišuje jednotlivé jedince (rodinné příslušníky, embrya) a obě jejich alely tohoto genu (haplotypy). Porovnáním zjištěných haplotypů s informacemi z rodokmene vyšetřované rodiny jsou pak určeny haplotypy spojené s přítomností dané mutace (tj. nesoucí riziko pro onemocnění). V některých případech, které však nastávají velmi vzácně, je nutno použít Karyomapping v kombinaci s přímou detekcí mutace. Metoda je univerzální a umožňuje vyšetřit jakékoli známé monogenní onemocnění. Další výhodou je podstatné snížení náročnosti a zkrácení přípravné fáze vyšetření (SET-UP).

Limitace metody Karyomapping: PGT-M nemůže vyloučit jakékoliv další onemocnění či vývojové vady plodu, které nejsou způsobeny mutací v daném genu. Karyomappingem nelze detekovat mutace vzniklé de novo v embryonální DNA.

Karyomapping, jako metoda primárně určená k vyloučení monogenního onemocnění, nezaručuje detekci náhodných aneuploidií na úrovni srovnatelné s aCGH nebo NGS. Screening aneuploidií Karyomappingem je pouze doplňkové vyšetření, kterým lze zvýšit úspěšnost léčby výběrem nejperspektivnějšího embrya, a je nabízeno bez příplatku.</td></tr>
<tr><td colspan="5">Vysvětlivky:

* Počet vzorků po úspěšné celogenomové amplifikaci, které budou otestovány v rámci jednoho vyšetření. V případě, že bude do RG přijat vyšší než daný počet vzorků, budou nadpočetné vzorky rovněž odeslány do smluvní laboratoře, zamplifikovány a uloženy pro případná dodatečná vyšetření. Konečný počet embryí u vyšetření hrazených ZP je závislý na kombinaci ZP u páru.</td></tr>
</table>

4. Manuál pro odběry primárních vzorků pro PGT

4.1 Základní informace

Tato kapitola obsahuje specifické pokyny týkající se vlastního vyžádání PGT, včetně náležitostí průvodní dokumentace, správného odběru primárních vzorků a následného transportu vzorků do laboratoře.

Aktuálně není žádné vyšetření PGT nabízeno v režimu STATIM.

4.2 Vyšetření PGT-A – Požadavky na set-up

Pro vyšetření PGT-A (kap. 3.3.1) není třeba předchozí vyšetření rodičů ani jiných členů rodiny (SET-UP). Z důvodu optimálního rozvržení činností laboratoře, které je klíčové pro včasné dodání výsledků, je vhodné, aby žadatel informoval laboratoř o plánovaném vyšetření předem (nejlépe při zahájení stimulace pacientky).

4.3 Vyšetření PGT-M a PGT-SR – Požadavky na set-up

4.3.1 PGT pro familiární chromosomovou aberaci (PGT-SR)

Jakékoli preimplantační vyšetření u páru s familiární chromosomovou abnormalitou (PGT-SR, viz kap. 3.3.2) je možné provést pouze **po předchozí domluvě s pracovníky laboratoře**. Před zahájením IVF cyklu s plánovanou preimplantační diagnostikou je nutné laboratoř kontaktovat a dodat následující podklady:

- původní laboratorní zprávy s výsledky cytogenetického vyšetření obou partnerů,
- zprávu o provedeném genetickém poradenství u páru.

Po zhodnocení uvedených podkladů bude laboratoří rozhodnuto, jakou metodou bude preimplantační diagnostika provedena (NGS, FISH), zda-li je nutné provedení přípravného vyšetření (tzv. SET-UP) a v jakém rozsahu (vyšetření karyotypu a/nebo FISH). Pokud je SET-UP nutný, bude žadatel zároveň informován o požadovaných odběrech primárních vzorků konkrétních členů rodiny, popř. o doplnění lékařské dokumentace (výsledné laboratorní zprávy z genetických/cytogenetických vyšetření, popř. genetických konzultací, dalších členů rodiny).

Po uzavření SET-UP je možné zahájit IVF cyklus.

4.3.2 PGT pro familiární monogenní onemocnění (PGT-M)

Jakékoli vyšetření PGD u páru s monogenním onemocněním (PGT-M) je možné provést pouze **po předchozí domluvě s laboratoří**. Před zahájením IVF cyklu s plánovanou preimplantační diagnostikou je nutné laboratoř kontaktovat a dodat následující podklady (dokumentaci):

1) původní laboratorní zprávy:

- **AR onemocnění** – výsledky molekulárně genetického vyšetření obou partnerů, příp. postižených potomků,
- **AD onemocnění** – výsledky molekulárně genetického vyšetření postiženého partnera/partnerky a jednoho dalšího postiženého člena rodiny,
- **X-vázaná onemocnění** – výsledky molekulárně genetického vyšetření postiženého partnera nebo výsledky molekulárně genetického vyšetření partnerky-přenašečky a jednoho dalšího postiženého člena rodiny,

2) zprávu o provedeném genetickém poradenství u páru.

Po zhodnocení uvedených podkladů bude laboratoří rozhodnuto, zda je možné PGT-M pro daný typ onemocnění a konkrétní rodinu provést. Pokud ano, bude žadatel zároveň informován o požadovaných odběrech primárních vzorků postižených i zdravých členů rodiny pro přípravu vyšetření SET-UP.

Vzorky pro SET-UP před PGD pro monogenní onemocnění (PGT-M) jsou přijímány v RG, která zajistí jejich vyšetření ve smluvní laboratoři LLRG Repromeda.

Po úspěšném ukončení vyšetření SET-UP je možné zahájit IVF cyklus.

4.4 Požadavek na vyšetření a průvodní dokumentace

Veškeré vzorky určené k přijetí v RG (tj. určené k vyšetření v RG nebo ve smluvních laboratořích či jiných diagnostických laboratořích) **musí být doprovázeny**:

- Žádankou (viz kap. 4.4.1),
- Informovaným souhlasem (viz kap. 4.4.2),
- Dalšími potřebnými údaji, uvedenými např. na protokolu o biopsii ~~nebo na protokolu o úspěšné cologenomové amplifikaci~~, pokud se jedná o embryonální vzorky (podrobněji viz kap. 4.4.3~~a 4.4.4~~) nebo na protokolu o izolaci DNA v případě zaslání genomické DNA (viz 4.4.4).

Formuláře pro veškerou vyžadovanou průvodní dokumentaci jsou dostupné na Dokumenty ke stažení | Genetika Plzeň (genetika-plzen.cz).

Veškerá průvodní dokumentace musí být čitelně vyplněna a musí na ní být jasně vyznačeno požadované vyšetření a další povinné údaje, viz kap. 4.4.1 - 4.4.4. Průvodní dokumentace provází vzorek ve formě vytištěného a řádně vyplněného originálu. V případě informovaného souhlasu je akceptována i jeho scanová kopie dostupná elektronicky (např. Medicalc, Safety4Transfer aplikace).

Ústní požadavky o vyšetření nejsou přijímány.

4.4.1 Žádanka o vyšetření

Pro vyžádání vyšetření je možné využít aktuální verze *Žádanky o preimplantační genetické vyšetření (F.GP 906)*, která je žadatelům k dispozici na webových stránkách (viz výše), případně na vyžádání. V případě použití jiného typu žádanky je nutné uvést veškeré požadované údaje.

Sadu embryonálních vzorků jedné pacientky doprovází jedna žádanka. V případech nestejnoměrné rychlosti vývoje vyšetřovaných embryí je možné, po předchozí domluvě s laboratoří, část vzorků doručit do laboratoře později pouze s (dalším) bioptačním protokolem, a to do 30 hod. od doručení první sady vzorků s žádankou.

Za správné a čitelné vyplnění žádanky, s výjimkou dat o odběru primárních vzorků, zodpovídá žadatel (lékař žádající vyšetření), který svým podpisem potvrzuje správnost údajů na žádance.

Na žádanku je nutné uvést následující povinné údaje:

1) **Identifikace pacienta/pacientky**
   - jméno, příjmení, datum narození, RČ (je-li přiděleno), kód ZP (u pojištěnců českých ZP), pohlaví,
   - adresa trvalého bydliště,
   - identifikace (mužského) partnera u preimplantačních vyšetření (jméno, příjmení, datum narození, RČ (je-li přiděleno), kód ZP (u pojištěnců českých ZP)).
2) **Důvod vyšetření (diagnóza)**
3) **Identifikace lékaře/ zdravotnického zařízení**
   - jméno, příjmení a podpis lékaře,
   - identifikace zdravotnického zařízení – název, adresa.
4) **Typ a režim požadovaného vyšetření**
   - jasná specifikace požadovaného vyšetření, včetně případného režimu STATIM (pokud je nabízen),

- v případě dodatečných vyšetření je nutné uvést počet a přesné označení embryí, která mají být dovyšetřena.

5) Specifikace vzorku

- typ biologického materiálu,
- další informace o povaze odebíraného embryonálního vzorku, tj. specifikace, zda jde o biopsii, rebiopsii, kumulaci (tj. vzorky pocházejí od pacientky, která má před embryotransferem naplánováno více stimulačních cyklů).

6) Záznamy o odběru vzorku

Pokud je žádanka určena pro vyžádání vyšetření primárního vzorku jiného původu než embryonálního (např. periferní krve, bukálního stěru atd.):

- datum a čas odběru primárního vzorku,
- jméno a podpis osoby provádějící odběr.

Záznamy o odběru primárního vzorku embryonálního původu jsou obvykle uvedeny na protokolu o biopsii jako další součásti průvodní dokumentace (návod pro vyplnění viz kap. 4.4.3).

Pokud je vyžadováno vyšetření sekundárního vzorku (genomické DNA, cytogenetické suspenze apod.), musí být údaje o odběru původního primárního vzorku uvedeny na přiložené zprávě ze zpracování primárního vzorku (izolace genomické DNA apod., viz kap. 4.4.4). Osoba autorizující tuto zprávu zároveň odpovídá za správně provedenou alikvotaci vzorku.

4.4.2 Informovaný souhlas s genetickým vyšetřením

Před každým genetickým vyšetřením musí být pár náležitě poučen o charakteru vyšetření a musí podepsat patřičný informovaný souhlas (viz Tabulka č. 1), který je založen do zdravotnické dokumentace pacienta. Informovaný souhlas (IS) je povinnou součástí průvodní dokumentace přiložené ke vzorku, může však být doložen i pouze elektronicky (Safety4Transfer aplikace). Veškeré platné formuláře informovaných souhlasů jsou žadatelům k dispozici na webových stránkách Genetika Plzeň (https://www.genetika-plzen.cz/dokumenty-ke-stazeni/), případně na vyžádání.

Za správné a čitelné vyplnění IS zodpovídá lékař indikující vyšetření, který svým podpisem potvrzuje správnost uvedených údajů a je svědkem vyjádření souhlasu pacientem/párem.

Do informovaného souhlasu je nutné uvést následující povinné údaje:

1) Identifikace pacienta (v případě preimplantační analýzy obou reprodukčních partnerů)

- jméno, příjmení, datum narození, RČ (je-li přiděleno), kód ZP (u pojištěnců českých ZP),
- adresa trvalého bydliště.

2) Důvod vyšetření (diagnóza)

3) Vyjádření souhlasu s vyšetřením a s dalšími uvedenými podmínkami

- datum a podpis pacienta (v případě embryonálního vyšetření obou partnerů),
- datum a podpis lékaře.

Dále je doporučeno specifikovat:

- požadované vyšetření, případně metodiku vyšetření,
- typ primárního vzorku.

Tabulka 1: Přehled užívaných formulářů informovaných souhlasů

Typ vyšetření	Vyšetřující laboratoř	Formulář informovaného souhlasu
PGT-A (viz 3.3.1)	**Genetika Plzeň s.r.o.**	***F.GP 907 Poučení a informovaný souhlas s PGT*** *(CZ, EN, DE, IT)**
SET-UP před PGT-SR (viz 3.3.2 a 4.3.1)	**Genetika Plzeň s.r.o.**	***F.GP 901 Souhlas vyšetřované/ho (zákonného zástupce) s genetickým laboratorním vyšetřením*** *(CZ, EN, DE)*
PGT-SR (viz 3.3.2)	**Genetika Plzeň s.r.o.**	***F.GP 907 Poučení a informovaný souhlas s PGT*** *(CZ, EN, DE, IT)**
SET-UP před PGT-M (viz 3.3.3 a 4.3.2)	**LLRG Repromeda**	***F.GP 901 Souhlas vyšetřované/ho (zákonného zástupce) s genetickým laboratorním vyšetřením*** *(CZ, EN, DE)* *NEBO* **REPROMEDA -** ***SET-UP Poučení a informovaný souhlas s genetickým vyšetřením*** *(CZ, EN, DE)*
PGT-M (viz 3.3.3)	**LLRG Repromeda**	**REPROMEDA -** ***PGT-M Poučení a informovaný souhlas*** *(CZ, EN, DE)* *A* ***F.GP 908 Informovaný souhlas se skladováním vzorků (a s nakládáním s výsledky) po PGT*** *(CZ, EN, DE, IT)*
Jiné vyšetření	**Dle instrukcí laboratoře (poskytnuto na vyžádání)**	

* souhlas F.GP 907 může být nahrazen interním souhlasem žadatele v kombinaci s ***Informovaným souhlasem se skladováním vzorků (a s nakládáním s výsledky) po PGT***

4.4.3 Protokol o biopsii pro PGT

Embryonální vzorky primárního odběru musí být vždy provázeny dalšími podrobnými údaji, které je možno uvést např. na protokolu o biopsii. RG poskytuje žadatelům formulář *F.GP 909 Protokol o biopsii pro PGT* na svých webových stránkách, příp. na vyžádání.

Žádáno je o uvedení těchto údajů (tučně uvedené údaje jsou povinné):

1) Identifikace pacienta:

- **jméno, příjmení, datum narození** (popř. RČ).

2) Záznamy o odběru primárního vzorku:

- **jméno, příjmení a podpis pracovníka, který provedl biopsii**,
- jméno, příjmení a podpis pracovníka, dozorujícího biopsii,
- den vývoje embrya, kdy je prováděna biopsie,
- případné použití dárcovských gamet,
- **interní identifikační číslo (ID) RG (pokud bylo předem přiděleno RG),**
- **datum a čas vlastní biopsie**,
- **datum a čas přenesení vzorku do odběrového média** (tj. přenos do mikrozkumavky s vhodným transportním pufrem pro požadované molekulárně-biologické vyšetření nebo fixace na podložní sklo),
- další ošetření vzorku před transportem (centrifugace, uskladnění apod.),
- pořadové číslo (#) embrya,

- kvalita embrya před odběrem,
- **potvrzení, že fertilizace byla provedena metodou ICSI** (IMSI),
- **informace o úspěšnosti fertilizace** (2PN ano/ne/schází info),
- popř. další poznámky k biopsii (**počet odebraných buněk**, možnost rebiopsie aj.).

Za uvedení požadovaných údajů a jejich správnost je zodpovědný pracovník embryologické laboratoře provádějící biopsii biologického materiálu.

4.4.4 Protokol o provedení izolace genomické DNA

Pokud jsou do laboratoře dodány vzorky genomické DNA (v případě SET-UP pro monogenní onemocnění), musí být provázeny protokolem prokazujícím úspěšnou izolaci DNA.

Protokol musí obsahovat minimálně tyto informace:

- datum odběru primárního vzorku,
- specifikaci primárního vzorku (typ biologického materiálu),
- datum provedení izolace,
- specifikaci (typ) použitého izolačního kitu,
- výslednou koncentraci izolované genomické DNA,
- datum a čas uvolnění protokolu,
- jméno a podpis zodpovědné osoby uvolňující protokol.

4.5 Požadavky na urgentní vyšetření

RG v současnosti neposkytuje (ani nezprostředkovává ve smluvních laboratořích) žádná vyšetření PGT v režimu STATIM (viz také seznam vyšetření v kap. 3.3).

4.6 Požadavky na dodatečná vyšetření

Laboratoř přijímá požadavky na dodatečná vyšetření pouze pro embryonální vzorky vyšetřované metodou NGS nebo Karyomapping, které splňují tato kritéria:

- **Uložené vzorky embryonální DNA** (po vhodné úspěšné celogenomové amplifikaci nebo zpracování pro NGS), **a to maximálně 1 rok od data příjmu vzorku do RG**.

Dodatečná vyšetření se provádějí pouze na základě nové žádanky, kde je přesně identifikován počet a identifikační čísla (#) embryonálních vzorků. Nový informovaný souhlas k vyšetření není požadován.

4.7 Požadavky na vlastní odběr vzorku a odběrové soupravy

Dodržení správného způsobu odběru primárních vzorků a následné manipulace s nimi jsou zcela zásadní pro validní výsledek vyšetření.

Před samotným odběrem embryonálních vzorků je důrazně doporučeno kontaktovat RG a vyžádat si unikátní identifikační číslo (ID) pro danou pacientku, resp. sadu embryonálních vzorků z daného IVF cyklu. Alternativně je možno domluvit s odebírající laboratoří přidělení vlastní číselné řady.

Při vlastním odběru je nutné vždy **ověřit shodu jména odebíraného pacienta/označení bioptovaného embrya a označení odběrové nádoby**, do které je vzorek/bioptát odebírán. Pro důslednou prevenci záměny vzorků při odběru je doporučena kontrola druhým pracovníkem.

4.7.1 Označení vzorku

Všechny vzorky určené k vyšetření v RG musí být jasně identifikovatelné, tj. musí být označeny minimálně těmito údaji:

- jméno a příjmení pacienta/pacientky,
- rok narození pacienta/pacientky nebo jeho rodné číslo,
- pořadové číslo embrya/embryí (v případě, že jde o embryonální vzorek/ky).

Embryonální vzorky odebírané do 0,2 ml mikrozkumavky je možno alternativně označit (<u>doporučený způsob</u> vzhledem k velikosti mikrozkumavky):

- na každou zkumavku uvést ID vyšetřovacího případu (předem na vyžádání přiděleno RG),
- na každou zkumavku uvést pořadové číslo embrya,
- víčko stojánku označit plnou identifikací pacientky (tj. jméno, příjmení, rok narození/RČ) a přiděleným ID.

Vzorky je nutné vždy označit čitelně a nesmazatelně: **běžné odběrové zkumavky** (např. krev, bukální stěry atd.) na štítku na stěně zkumavky, **mikrozkumavky** popsat na víčku a vodorovně na stěnu zkumavky (viz obrázek výše) permanentním popisovačem na lihové bázi (nejlépe černým) nebo je opatřit samolepícím štítkem odolávajícím nízkým teplotám a víčko stojánku lihovým fixem, **podložní skla** označit diamantovým hrotem a obyčejnou tužkou.

Laboratoř přijímá pouze řádně označené vzorky doprovázené příslušnou průvodní dokumentací dle kap. 4.4.

4.7.2 Embryonální vzorky primárního odběru

Embryonální vzorky primárního odběru jsou získávány biopsií embryí vykultivovaných v rámci léčby neplodnosti metodami asistované reprodukce, a proto vlastní odběr vzorku nevyžaduje žádnou zvláštní přípravu klienta.

Pro fertilizaci oocytů však <u>musí být použita metoda ICSI</u> (příp. IMSI), konvenční IVF technika není vhodná!

Biopsii provádí za dodržení sterilních podmínek specializovaný embryolog v embryologické laboratoři IVF centra pomocí mikroskopu vybaveného laserem a mikromanipulátory.

Při odběru vzorků určených pro izolaci a následnou celogenomovou amplifikaci DNA (vyšetření metodami NGS, Karyomapping) je nutné vždy **dbát na důslednou prevenci kontaminace** odebíraných vzorků cizorodou DNA. Cizorodá DNA by mohla **zapříčinit nesprávný výsledek analýzy a vést k závažným nežádoucím následkům**. Průběh vyšetření může **také negativně ovlivnit použití nevhodných médií či pufrů**.

Kontaminaci embryonálního vzorku lze minimalizovat dodržováním následujících pravidel:

- používat vhodné (nejlépe jednorázové) osobní ochranné pomůcky (laboratorní plášť, rukavice, čepice, ústenka),
- používat čisté sterilní rukavice bez pudru v průběhu celého postupu biopsie a při podezření na znečištění je okamžitě vyměnit,
- provádět celý postup biopsie, zejména přípravu kultivačních misek a odběrových mikrozkumavek, v čistém a dekontaminovaném laminárním boxu,
- používat vhodný sterilní jednorázový spotřební materiál a média (DNase-free),
- dbát důsledně na to, aby „čistý“ konec pipety/špičky nepřišel do styku s ničím jiným než s bioptovaným vzorkem (nesmí přijít do styku s kůží či jiným potenciálním biologickým kontaminantem, s vnější stranou mikrozkumavek, pracovní plochou laminárního boxu, apod.),
- v průběhu provádění celého postupu biopsie manipulovat pouze s jednotlivými odběrovými zkumavkami

- v čistém a dekontaminovaném laminárním boxu a pro práci se zkumavkami používat výhradně původně dodaný namrazený uzavíratelný (kryo)stojánek,
- centrifugovat mikrozkumavky s odběrovým médiem vždy před otevřením/transportem/ uskladněním,
- minimalizovat dobu, po kterou jsou mikrozkumavky s odběrovým médiem otevřené.

Pracovníci provádějící odběr primárních vzorků jsou povinni dodržovat pokyny uvedené v této příručce.

Specifikace odebíraných materiálů jsou uvedeny v Tabulce č. 2.

Tabulka 2: Seznam přijímaných embryonálních vzorků primárního odběru

Typ vzorku (tkáň):	den biopsie (den kultivace embryí)	Vývojové stádium	Počet odebraných buněk
blastomera	3.	blastomera	1-2
trofoektoderm	5./6.	hatchující blastocysta	cca 5-10

* nelze použít pro vyšetření Karyomappingem

Odběrové soustavy jsou pro všechny typy (tkáně) vzorků primárního odběru shodné a liší se dle typu vyšetřovací metody, viz Tabulka 3.

Tabulka 3: Odběrové soustavy pro embryonální vzorky primárního odběru

<table>
<tr><th rowspan="2">Požadované vyšetření:</th><th rowspan="2">metoda</th><th colspan="2">odběrová soustava</th><th colspan="3">promytí bioptátu</th><th rowspan="2">odběr kontrolních vzorků</th></tr>
<tr><th>typ</th><th>posky-tuje</th><th>požadováno</th><th>pufr</th><th>posky-tuje</th></tr>
<tr><td>PGT-A (24 chromosomů)</td><td rowspan="2">NGS</td><td rowspan="2">0,2 ml mikrozkumavky s 2,0 µl 1xPBS</td><td rowspan="3">RG (na vyžádání)</td><td rowspan="3">ANO</td><td rowspan="2">1x PBS /0,5% PVP</td><td rowspan="3">RG (na vyžádání)</td><td rowspan="3">ANO</td></tr>
<tr><td>PGT-SR+PGT-A (24 chromosomů)</td></tr>
<tr><td>PGT-M</td><td>Karyo mapping</td><td>0,2 ml mikrozkumavky s 0,8 µl pufru 1xPBS/ 0,3%PVP</td><td>1x PBS /0,3%PVP</td></tr>
<tr><td>PGT-A (5 chromosomů)</td><td rowspan="2">FISH</td><td rowspan="2">mikroskopické podložní sklo s matovaným okrajem</td><td rowspan="2">-</td><td rowspan="2">NE</td><td rowspan="2">-</td><td rowspan="2">-</td><td rowspan="2">NE</td></tr>
<tr><td>PGT-SR</td></tr>
</table>

4.7.2.1 Speciální požadavky pro odběr vzorků pro vyšetření metodami NGS / Karyomapping

1) Promytí bioptátu

Před přenosem bioptátu do odběrové zkumavky je doporučeno jeho promytí min. ve 3 kapkách promývacího pufru (1x PBS/0,5% PVP, event. 1x PBS /0,3% PVP, viz Tabulka č. 3). Pokud promytí není provedeno (např. z důvodu vysoce viskózního bioptátu), je nutné toto uvést do poznámky v bioptačním protokolu.

2) Odběr kontrolních vzorků

Požadován je odběr těchto kontrolních vzorků:

- kontrolní vzorek z poslední promývací kapky ke každému embryonálnímu vzorku,
- čistý vzorek kultivačního média, ve kterém byla prováděna biopsie (vždy 1 kontrolní vzorek na každou odebíranou sadu embryí v daný odběrový den).

Pokud není použito odběrové médium dodané RG, musí ke každé sadě vzorků být dále připojena alespoň jedna zkumavka s čistým odběrovým médiem.

3) Vyžádání odběrových soustav a promývacího pufru

Na vyžádání je dodán embryologické laboratoři provádějící odběr vzorku promývací pufr a mikrozkumavky s obsahem příslušného odběrového média (viz Tab. 5). Dodané odběrové zkumavky a pufry jsou zřetelně označeny datem exspirace, které je laboratoř provádějící odběr povinna respektovat.

Příklad odebíraných vzorků a kontrol pro jednu pacientku jsou uvedeny v připojeném schématu:

Vzorky pacientky s laboratorním ID 23/58 určené k vyšetření v RG nebo v LLRG Reprometa									
⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	…atd.	⊗
23 **58/1**	23 **58/2**	23 **58/3**	23 **58/4**	23 **58/5**	23 **58/6**	23 **58/7**	23 **58/8**		***N***
○	○	○	○	○	○	○	○	…atd.	⊗
C58-1	***C58-2***	***C58-3***	***C58-4***	***C58-5***	***C58-6***	***C58-7***	***C58-8***		***NV-58 D5***

Vysvětlivky:	
⊙ 23 **58/1**	**Odebraný vzorek embrya:** Mikrozkumavka s obsahem odběrového pufru a odebraným embryonálním vzorkem. Zkumavka je popsána laboratorním ID (pokud je k dispozici) a číslem embrya, popř. příjmením pacientky, rokem jejího narození a číslem embrya.
○ ***C58-1***	**Kontrola čistoty promývacího pufru (C) u každého odebraného vzorku:** Mikrozkumavka s obsahem odběrového pufru, do kterého byl odebrán vzorek promývacího pufru z okolního prostředí poslední promývací kapky konkrétního vzorku. Zkumavka je popsána písmenem „C“ v kombinaci s laboratorním ID (pokud je k dispozici) a číslem embrya, popř. se jménem pacientky, rokem jejího narození a číslem embrya.
⊗ ***NV-58 D5***	**Kontrola čistoty kultivačního média (*NV*):** Mikrozkumavka s obsahem odběrového pufru, do kterého byl odebrán vzorek čistého kultivačního média, ve kterém byla prováděna biopsie (neobsahuje odebíraný embryonální vzorek). Zkumavka je popsána „NV“ a laboratorním ID (pokud je k dispozici), příp. jménem pacientky a rokem jejího narození. Uveden je i odběrový den (resp. den vývoje embrya).
⊗ ***N-58 D5***	**Kontrola odběrového pufru (*N*) – JEN pokud NENÍ použito odběrový pufr dodaný RG:** Mikrozkumavka s obsahem **čistého odběrového pufru**, do kterého není přidáván ani odebíraný embryonální vzorek, ani vzorek pufru z poslední promývací kapky ani kultivační médium. Slouží ke kontrole integrity odběrového systému – ke kontrolnímu ověření jeho čistoty (= k vyloučení kontaminace cizorodou DNA). Zkumavka je popsána „N“ a ID (pokud je k dispozici), příp. jménem pacientky a rokem jejího narození. Uveden je i odběrový den (resp. den vývoje embrya).

4) Příprava odběrové sady před odběrem

Laboratoř provádějící odběr si odběrovou sadu pro odběr dané sady embryí připraví v den odběru dle těchto pravidel:

- Pro každou pacientku (sadu embryí) je vždy připravena jedna odběrová sada.
- Počet zkumavek s odběrovým médiem v sadě odpovídá součtu avizovaných embryí vhodných k biopsii, odpovídajícího počtu negativních kontrol promývacího pufru a kultivačního média a 2-3 rezervní zkumavky.
- Sada zkumavek je připravena ve vymrazených uzavíratelných kryostojáncích při max. teplotě 0 °C (tzv. „na ledu“).
- Mikrozkumavky jsou před odběrem popsány dle výše uvedených pravidel. Boční popis zkumavky je nutné provést horizontálně, při vertikálním popisu dochází k jeho poškození otěrem o stojánek (viz obrázek v kap. 4.7.1)!
- Při přípravě odběrové sady je nutné respektovat relevantní protikontaminační opatření (viz 4.7.2), zejména je nutné mikrozkumavky s odběrovým médiem před jejich použitím (tj. před otevřením a vložením odebraného embryonálního vzorku či kontroly) důsledně zcentrifugovat.

5) Správná manipulace s odběrovou soustavou v průběhu odběru

S odběrovou soupravou musí být zacházeno v souladu s protikontaminačními opatřeními (viz výše) a se zvláštním důrazem na tato pravidla:

- v průběhu odběru je nutné minimalizovat dobu, během které jsou zkumavky mimo kryostojánky a chlazené prostředí přepravní termobrašny,
- bezprostředně po odběru je nutné mikrozkumavky s odebranými vzorky centrifugovat po dobu nejméně 3 min.

4.7.2.2 Speciální požadavky pro odběr vzorků pro vyšetření metodou FISH

Pokud je prováděn odložený transport vzorku (déle než do 60 min. od odběru, viz kap. 4.8 a tabulka 5) je nutné podložní sklo s nafixovaným vzorkem ošetřit ponořením do roztoku methanolu na cca 15 minut při pokojové teplotě („dofixování“).

4.7.3 Vzorky po embryonální WGA DNA

Pro všechna nabízená PGT jsou laboratoří přijímány pouze embryonální vzorky primárního odběru dle kap. 4.7.2.

4.7.4 Vzorky pro vyšetření SET-UP pro monogenní onemocnění

Pro přípravná vyšetření určených členů rodiny před PGD pro monogenní onemocnění (SET-UP před PGT-M) je nutné provést pro každou vyšetřovanou osobu odběr periferní krve:

- **5 ml nesrážlivé periferní krve do zkumavek s obsahem EDTA (K_2EDTA či K_3EDTA)**

  Vzorky periferní krve odebírá vždy lékař nebo pověřený zdravotnický personál (sestra) v prostorech tomu určených (ambulance, odběrová místnost). Před odběrem periferní krve pro genetické vyšetření není třeba žádná zvláštní příprava pacienta (nemusí být prováděn nalačno či v určitou denní dobu apod.). V případě, že hrozí kontaminace jinou DNA (např. po transplantacích orgánů či transfúzích), je třeba tuto skutečnost oznámit pracovníkům laboratoře a domluvit se na dalším postupu. Integrita odběrové soustavy nesmí být po odběru vzorku narušena (vzorek nesmí být alikvotován apod.). Vzorek je po odběru jemně promíchán opakovaným otočením zkumavky a poté je do transportu uložen v lednici při teplotě 2-8°C.

Pokud není možné získat vzorek periferní krve, je možné ho výjimečně nahradit vzorkem bukální sliznice. Pro vyšetření Karyomappingem však není tento odběr doporučen, neboť kvalita získané DNA nemusí být pro úspěšné provedení SET-UP postačující:

- **5x stěr z bukální sliznice**

  Odběr bukálních stěrů může provádět samotný pacient či zdravotnický personál poučený dle instrukcí uvedených v Návodu pro odběr bukálního stěru, viz Příloha č. 1. Odběrové sady možno vyžádat z RG (dodávány jsou speciální odběrové zkumavky s aktivním vysušovacím systémem, které lépe zajistí integritu vzorku).

Dle požadavků vyšetřující laboratoře a posouzení daného individuálního případu je možné požadovat dále i jiný typ vzorků (sperma, tkáň/DNA potraceného plodu aj.).

Pro další info viz *VD.GP 04 Laboratorní příručka GL Genetika Plzeň*.

4.7.5 Vzorky pro vyšetření SET-UP pro chromosomovou aberaci

Pro přípravné cytogenetické vyšetření (SET-UP) před PGD pro chromosomovou familiární aberaci (PGT-SR) je vyžadován od určených členů rodiny odběr těchto vzorků:

- **5 ml nesrážlivé periferní krve do zkumavek s obsahem heparinu (Na-heparin nebo Li-heparin)**.

  Vzorky periferní krve odebírá vždy lékař nebo pověřený zdravotnický personál (sestra) v prostorech tomu určených (ambulance, odběrová místnost). Před odběrem periferní krve pro genetické vyšetření není třeba žádná zvláštní příprava pacienta (nemusí být prováděn nalačno či v určitou denní dobu apod.). Vzorek je po odběru jemně promíchán opakovaným otočením zkumavky, ponechán cca 30 min. při pokojové teplotě a poté je do transportu uložen v lednici při teplotě 2-8°C.

Pro další info viz *VD.GP 04 Laboratorní příručka* GL Genetika Plzeň.

4.8 Transport a uchovávání vzorků

S transportovanými vzorky musí být zacházeno jako s potenciálně infekčním materiálem. Veškeré vzorky musí být transportovány v uzavřených obalech (uzavřená krabička na podložní skla, uzavřené mikrozkumavky umístěné v stojánku/kryostojánku s víčkem, příp. v uzavíratelném plastovém sáčku, zkumavky uzavřeného odběrového systému na periferní krev apod.).

Pokud jsou vzorky dopravovány poštou nebo kurýrem musí být dále každý vzorek (příp. sada embryonálních vzorků) v daném uzavíratelném obalu zabalen jednotlivě do dalšího plastového sáčku, optimální je balení dvojité.

Průvodní dokumentace ke vzorkům musí být uložena odděleně od vzorků tak, aby nedošlo k jejímu znehodnocení nebo potřísnění biologickým materiálem (nejlépe uložením do samostatného plastového sáčku).

4.8.1 Embryonální vzorky

Embryonální vzorky mohou být do RG doručeny:

- **okamžitou donáškou** (způsob transportu embryonálních vzorků primárního odběru z embryologické laboratoře v dosahu RG GL), pro podmínky transportu viz Tabulka č. 4,
- **odloženým transportem**, pro podmínky transportu a uchování viz Tabulka č. 5. Pro transport v rámci ČR zajišťuje laboratoř transport vzorků svozovou službou Nextclinics (po předchozím vyžádání ze strany IVF laboratoře odebírající vzorek).

Tabulka 4: Okamžitý transport embryonálních vzorků primárního odběru

Odběrová soustava	Okamžitý transport do RG		
	čas	**teplota**	**uložení vzorků během transportu**
0,2ml odběrová mikrozkumavka (PGT-A/ PGT-SR metodou NGS, Karyomapping)	do **60 min.**	do **8 °C**	namrazený kryostojánek* + brašna s chladícími vložkami
podložní sklo (PGT-A/ PGT-SR metodou FISH)		**RT**	uzavíratelná krabička na preparáty + brašna

Vysvětlivky: * Zvýšení teploty nad cca 4°C orientačně indikuje kryostojánek postupnou změnou barvy (ze zelené na žlutou nebo z fialové na růžovou). K této změně barvy začíná docházet při RT postupně od okrajů stojánku po cca 20 min., kompletně stojánek změní barvu po cca 180 min. **Pro zajištění požadované teploty při odběru a transportu (tj. do 8°C) je proto třeba zkumavky/vzorky vždy umístit v oblasti stojánku, kde ke změně barvy dosud nedošlo**. Stojánek s kompletní změnou barvy není možné použít ani pro transport ani dočasné uchování vzorků v průběhu odběru.

Kryostojánek se vzorky je proto možné ponechat mimo přepravní brašnu jen po nezbytně nutnou dobu v průběhu vlastního odběru vzorků!

Tabulka 5: Odložený transport embryonálních vzorků dle odběrového systému

Odběrová soustava	Odložený transport do RG			
	čas	**teplota**	**postup uložení vzorků před transportem**	**uložení vzorků během transportu**
EMBRYONÁLNÍ VZORKY PRIMÁRNÍHO ODBĚRU				
0,2ml odběrová mikrozkumavka (PGT-A/PGT-SR metodou NGS, Karyomapping)	do **30 dní**	**Uskladnění < -15 °C** **Transport < 0 °C**	**1)** Sadu mikrozkumavek pro jednotlivou pacientku umístit do stojánku/kryostojánku s víčkem nebo do uzavíratelného plastového sáčku. **2)** Sadu uložit do mrazáku.	**1)** Sadu mikrozkumavek pro jednotl. pac. (ve stojánku/ kryostojánku s víčkem nebo v uzavíratelném plastovém sáčku) uložit do většího uzavíratelného plastového sáčku. **2) Transport:** **a) délka transportu max. 48 hod.**: umístit do polystyrenové krabice s dostatkem mrazících vložek (vždy použít kryostojánek!!!); mrazící vložky a krystojánek musí před transportem být uloženy přes noc při méně než -15°C **NEBO** **b) délka transportu 48- 96 hod.**: umístit do polystyrenové krabice s min. 6 kg suchého ledu (není nutný kryostojánek).
podložní sklo (PGT-A/PGT-SR metodou FISH)	do **7 dní**		**1)** Provést dofixaci dle 4.7.2.2. **2)** Skla uložit do uzavíratelné krabičky na preparáty. **3)** Uložit do mrazáku.	**1)** Uzavíratelnou krabičku se skly uložit do většího uzavíratelného plastového sáčku. **2)** Umístit do polystyrenové krabice s mrazícími vložkami; mrazící vložky musí před transportem být uloženy přes noc při méně než -15°C.

4.8.2 Vzorky pro vyšetření SET-UP pro monogenní onemocnění

Pro správný transport a uchování vzorků pro SET-UP pro monogenní onemocnění platí následující pravidla:

- **vzorky periferní krve pro vyšetření SET-UP**

  Vzorky periferní krve pro molekulárně-genetické vyšetření (odběrové systémy K2EDTA, K3EDTA) je možné uchovávat po odběru v lednici při teplotě 2-8°C. Do laboratoře je nutné vzorky doručit nejpozději do 14 dnů od odběru (optimálně do 7 dnů). Transport probíhá buď při pokojové teplotě (trvá-li do cca 12 hodin) nebo při teplotě 2-8°C (delší transport). Vzorky by neměly být zmrazené!

- **vzorky stěrů z bukální sliznice**

  Řádně vysušené vzorky stěru z bukální sliznice mohou být uchovávány maximálně 1 týden při pokojové teplotě nebo 1 měsíc v lednici při teplotě 2-8°C nebo 1 rok při teplotě nižší než -15°C od odběru. Transport probíhá při pokojové teplotě.

Pro další info viz *VD.GP 04 Laboratorní příručka* GL Genetika Plzeň.

4.8.3 Vzorky pro vyšetření SET-UP pro chromosomovou aberaci

Vzorky periferní krve pro přípravné cytogenetické vyšetření (SET-UP) metodou vyšetření karyotypu a FISH (odběrové systémy Na-heparin, Li-heparin) je možné uchovávat po odběru v lednici při teplotě 2-8 °C. Do laboratoře je nutné vzorky doručit do 96 hod. od odběru. Transport probíhá buď při pokojové teplotě (trvá-li do cca 12 hodin) nebo při teplotě 2-8 °C (delší transport).

Pro další info viz *VD.GP 04 Laboratorní příručka GL Genetika Plzeň*.

4.9 Základní informace o bezpečném zacházení se vzorky

Na základě platné legislativy (resp. *Vyhlášky MZ č. 306/2012 Sb. o podmínkách předcházení vzniku a šíření infekčních onemocnění a o hygienických požadavcích na provoz zdravotnických zařízení a ústavů sociální péče*) byly stanoveny tyto zásady pro bezpečnost práce s biologickým materiálem, které jsou povinni dodržovat všichni pracovníci IVF centra i spolupracující subjekty:

- každý vzorek je nutné považovat za potenciálně infekční,
- při odběru vzorku se vyvarovat přímého kontaktu s potenciálně infekčním materiálem a používat osobní ochranné pomůcky,
- k odběrům vzorkům používat jednorázové sterilní pomůcky, pokud je to možné,
- jednorázové materiály použité pro odběr vzorků bezpečně zlikvidovat ve shodě se zásadami pro nakládání s nebezpečným (infekčním) odpadem,
- při transportu vzorků zajistit biologický materiál (viz také pravidla v kap. 4.8) tak, aby během transportu nemohlo dojít:
  - ke znehodnocení vzorku působením vnějších fyzikálních vlivů,
  - ke kontaminaci průvodní dokumentace nebo vnější strany zkumavek či jiných obalů biologickým materiálem a tím k ohrožení osoby, která se vzorkem manipuluje; toto je důvodem k odmítnutí vzorku (viz kap. 5.2 a Tab. 7),
- pokud vzorek není transportován ihned je nutné ho skladovat v určeném prostoru.

5. Preanalytické procesy v laboratoři

5.1 Příjem vzorků v RG

Ke zpracování jsou přijaty vzorky splňující všechny náležitosti uvedené v kapitole 4. Záznam o příjmu vzorku je prováděn na žádanku s uvedením data a času příjmu a podpisem pracovníka přijímajícího vzorek. Pro příjem vzorků jsou zaškoleni všichni pracovníci RG.

Během příjmu vzorku do laboratoře jsou zejména kontrolovány:

- počet vzorků a příslušných kontrol (resp. shodu s údaji uvedenými v bioptačním protokolu a/nebo na žádance),
- neporušenost odběrového systému (podložní sklo, mikrozkumavka s transportním médiem) (viz kap. 4.9),
- přítomnost a čitelnost označení vzorků (viz kap. 4.7.1),
- přítomnost správně a čitelně vyplněné povinné průvodní dokumentace (viz kap. 4.4),
- shoda identifikace vzorku s průvodní dokumentací,
- kvalita a množství vzorku (viz kap. 4.7.2 - 4.7.5),
- dodržení podmínek správného transportu vzorků (viz kap. 4.8).

5.2 Řešení neshodných situací při příjmu vzorů a kritéria pro odmítnutí vzorku

Vzorky, které nesplňují všechny požadavky pro řádné přijetí do laboratoře, jsou děleny do tří skupin dle závažnosti situace a možností jejího řešení - viz Tabulka č. 6).

Tabulka 6: Způsob řešení neshodných situací během příjmu vzorku

Neshodná situace	Řešení situace
• zcela chybějící vzorek/vzorky • neidentifikovatelný vzorek (neoznačený nebo nečitelně/ chybně označený vzorek) • vzorky došlé do laboratoře nelze spárovat s přiloženou průvodní dokumentací • použitá odběrová soustava vylučuje zpracování vzorku požadovaným způsobem • odběrová soustava je poškozená • odběrová soustava či průvodní dokumentace je potřísněna biologickým materiálem/vzorkem	**Vzorek je VŽDY ODMÍTNUT.** Pracovník RG neprodleně informuje žadatele o vzniklé situaci a žádá o opakovaný odběr. Průvodní dokumentace je archivována, vzorek je zlikvidován. Pozn.: Potřísněná dokumentace je fotodokumentována a originál zlikvidován.
• odebrání nevhodného biologického materiálu • použití nevyhovující odběrové soustavy • nedostatečné množství vzorku pro provedení požadovaného vyšetření • nedodržení časového intervalu pro dodání vzorku • nedodržení vhodné teploty/ způsobu transportu vzorku do laboratoře • nedodržení podmínek dřívejšího uchování vzorku (doba či způsob předešlého uchování)	**Vzorek je PŘIJAT a dle možností dále zpracován**. Pokud je to vhodné/nutné, je při příjmu neshodného vzorku informován žadatel. Neshodná situace při příjmu vzorku a její možný vliv na výsledek jsou uvedeny, pokud je to vhodné/nutné, ve výsledné zprávě (pokud vyšetření nebylo po dohodě se žadatelem úplně zrušeno).
• chybějící žádanka • nekompletní údaje na žádance • chybějící informovaný souhlas (IS)	**Vzorek je PŘIJAT a je zahájeno jeho zpracování, ale výsledná zpráva je uvolněna až po doplnění chybějících dokumentů/údajů.**

Neshodná situace	Řešení situace
• nekompletní údaje na IS • chybějící protokol o biopsii (BP) pro PGT nebo záznam o odběru na žádance • nekompletní údaje na BP či v záznamu o odběru • další chybějící dokumentace, pokud je vyžadována	Pracovník RG neprodleně informuje žadatele o vzniklé situaci a žádá o doplnění chybějících údajů.

6. Vydávání výsledků a komunikace s laboratoří

6.1 Obecné zásady

Výsledky (výsledné zprávy, výsledkové listy) lze sdělovat a předávat pouze žádajícímu lékaři (žadateli), případně dalším zdravotnickým pracovníkům, kteří se podílejí na ošetřování příslušného pacienta.

Orgánům činným v trestním řízení (policie, soudy) se výsledky nebo nálezy poskytují pouze na základě písemné žádosti, kterou statutární zástupce předá jako nařízení vedoucímu laboratoře. V tomto případě se výsledky nebo nálezy poskytují v písemné formě prostřednictvím statutárního zástupce.

Výsledky každého laboratorního vyšetření jsou uváděny přesně, jasně a jednoznačně. Výsledkové listy obsahují všechny údaje vyžadované normou ČSN EN ISO 15189 ed. 3:2023 Zdravotnické laboratoře – Požadavky na kvalitu a kompetenci a zároveň respektují příslušná mezinárodní doporučení ECA. Ve výsledné zprávě je vždy zahrnuta buď přímá interpretace výsledků, nebo alespoň informace pro jejich správnou interpretaci potřebné. Při intepretaci výsledků je vycházeno z recentních literárních zdrojů.

Výsledkové zprávy jsou vytvářeny v textovém editoru v české nebo anglické jazykové verzi, bez možnosti ručně psaných úprav a vydávány až po kontrole (přezkoumání) pověřenými zodpovědnými osobami.

Výsledkové listy jsou uvolňovány elektronicky umístěním do interního informačního systému Medicalc. Pro externí žadatele, s výjimkou IVF centra Natalart, jsou poté výsledky odeslány zabezpečeným přenosem Safety4Transfer. Žádající je vždy na vydání výsledku neprodleně upozorněn emailem. Do IVF centra Natalart jsou výsledné zprávy doručovány v tištěné verzi.

6.2 Intervaly od dodání vzorku k vydání výsledku

Standardní doby dodání výsledné zprávy (doby odezvy, TAT) jsou uvedeny u jednotlivých nabízených vyšetření v kap. 3.3. Dobou dodání výsledné zprávy je míněna doba od přijetí vzorku do laboratoře nebo od přijetí požadavku na vyšetření (u dovyšetření nebo u kumulačních cyklů) do uvolnění výsledku vyšetření. Laboratoř se zavazuje dodržet TAT pro 90 % výsledků. Zbývajících 10 % je vyhrazeno pro situace, kdy je nutné náročnější zpracování vzorku a/nebo opakování analýzy.

Vzorky jsou zpracovávány v pořadí, ve kterém je laboratoř přijme, s výjimkou přednostního zpracování vzorků s požadavkem na vyšetření STATIM.

U vyšetření PGT nejsou stanoveny kritické intervaly.

6.3 Změny výsledků a nálezů

V případě, že je potřeba, aby laboratoř dodatečně změnila údaje v již vydané výsledkové zprávě, je vždy neprodleně informován žádající lékař a je vydána nová opravená výsledná zpráva zřetelně označená jako přepracovaná.

Přepracovaná zpráva obsahuje vždy odkaz na původní zprávu (datum původní zprávy a identitu pacienta) a údaje o datu a čase jejího vydání. Přepracovaná zpráva je autorizována vedoucím laboratoře nebo jeho zástupcem.

S žadatelem komunikuje v tomto případě vedoucí laboratoře nebo jeho zástupce.

6.4 Telefonické sdělování výsledků

Laboratoř (RG) telefonicky výsledky vyšetření nesděluje.

6.5 Konzultační činnost laboratoře

Interpretace výsledků jsou součástí textové části výsledkového listu. Další konzultace v souvislosti s výsledky vyšetření podává jen lékař nebo VŠ odborný pracovník se specializovanou způsobilostí.

Laboratoř průběžně informuje všechny žadatele o všech podstatných změnách, které se týkají nabízených laboratorních služeb.

6.6 Zajištění potřeb k odběru biologického materiálu

Laboratoř zajišťuje přípravu odběrového systému pro vyšetření metodou NGS a Karyomappingem (viz také kap. 4.7.2.).

RG na vyžádání poskytuje odběrové sady pro odběr vzorků bukální sliznice, a to včetně návodu pro odběr bukálního stěru, viz Příloha č. 1.

6.7 Způsob řešení stížností

Případným stížnostem žadatelů nebo pacientů je věnována náležitá pozornost, jsou vždy důkladně prošetřovány a v případě oprávněných stížností jsou zároveň i podnětem pro zlepšení služeb laboratoře.

Stížnost je možné podat písemnou formou (poštou, faxem, e-mailem) či formou ústní (telefonicky, osobní jednání). Drobné výtky jsou řešeny neprodleně pracovníkem, který stížnost přijímá a dodatečně informuje vedení laboratoře. Ostatní stížnosti jsou řešeny vedením laboratoře nejpozději do 30 pracovních dnů.

6.8 Ochrana osobních dat

Genetická laboratoř má stanoven etický kodex, který je závazný pro všechny pracovníky. Každý pracovník Genetické laboratoře je povinen chránit informace o pacientech bez ohledu na to, jakým způsobem jsou tyto informace získávány, shromažďovány a uchovávány. Tyto informace považuje za důvěrné a je si vědom povinnosti zachovávání mlčenlivosti o skutečnostech, o nichž se dozvěděl v souvislosti s výkonem svého povolání.

Osobní údaje jsou zpracovávány v souladu s GDPR a zákonem č. 110/2019. Konkrétní zásady zpracování jsou uloženy na webových stránkách.

7. Související dokumentace

7.1 Interní dokumentace

VD.GP 04 Laboratorní příručka GL Genetika Plzeň

F.GP 901 Souhlas vyšetřované/ho (zákonného zástupce) s genetickým laboratorním vyšetřením (CZ, EN, DE)

F.GP 906 Žádanka o PGT (CZ, EN)

F.GP 907 Poučení a informovaný souhlas s PGT (CZ, EN, DE, IT)

F.GP 908 Informovaný souhlas se skladováním vzorků (a s nakládáním s výsledky) po PGT (CZ, EN, DE, IT)

F.GP 909 Protokol o biopsii pro PGT (CZ, EN)

7.2 Externí dokumentace

Zákony, vyhlášky, normy, guidelines

- *Norma ČSN EN ISO 15189 v platném znění*
- *Zákon č. 373/2011 Sb. o specifických zdravotních službách v platném znění*
- *Vyhláška č. 99/2012 Sb. o požadavcích na minimální personální zabezpečení zdravotních služeb v platném znění*
- *Vyhláška č. 306/2012 Sb. o podmínkách předcházení vzniku a šíření infekčních onemocnění a o hygienických požadavcích na provoz zdravotnických zařízení a ústavů sociální péče v platném znění*
- *Vyhláška č. 92/2012 Sb. o věcném a technickém vybavení zdravotnických zařízení*
- *Nepodkročitelné meze odbornosti 816 – Laboratoř lékařské genetiky (revidováno a schváleno výborem SLGG 21. 10. 2018)*
- *General Guidelines and Quality Assurance for Cytogenetics. ECA Newsletter 2012;29:7-25.*
- *Specific Constitutional Cytogenetic Guidelines. ECA Newsletter 2012;30:11-19.*
- *European guidelines for constitutional cytogenomic analysis. Eur J Hum Genet. 2019 Jan;27(1):1-16*
- *ESHRE PGD consortium best practice guidelines for fluorescence in situ hybridization-based PGD. Human Reproduction, Vol.26, No.1 pp. 25–32, 2011*
- *ESHRE PGD consortium best practice guidelines for amplification-based PGD. Human Reproduction, Vol.26, No.1 pp. 33–40, 2011*
- *ESHRE PGD consortium best practice guidelines for organization of a PGD centre for PGD/preimplantation genetic screening. Human Reproduction, Vol.26, No.1 pp. 14–24, 2011*
- *ESHRE PGD Consortium/Embryology Special Interest Group best practice guidelines for polar body and embryo biopsy for preimplantation genetic diagnosis/screening (PGD/PGS). Human Reproduction, Vol.26, No.1 pp. 41–46, 2011*
- *PGDIS Newsletter, July 19, 2016 - PGDIS position statement on chromosome mosaicism and preimplantation aneuploidy testing at the blastocyst stage, http://www.pgdis.org/docs/newsletter_071816.html*
- *PGDIS Newsletter, May 27, 2019: PGDIS position statement on on the Transfer of Mosaic Embryos in PGT-A*
- *Report of PGDIS Expert Cosultation on Mosaic Embryo Transfer, August 19, 2021: PGDIS position statement on the Transfer of Mosaic Embryos 2021*
- *COGEN Position Statement on Chromosomal Mosaicism Detected in Preimplantation Blastocyst Biopsies, http://www.ivf-worldwide.com/cogen/oep/publications/cogen-position-statement-on-chromosomal-mosaicism-detected-in-preimplantation-blastocyst-biopsies.html*

LLRG Repromeda

- *Laboratorní příručka LLRG Repromeda*
- *REPROMEDA - Poučení a informovaný souhlas páru s výkonem preimplantačního genetického testování monogenních chorob (PGT-M) (CZ, EN, DE)*
- *REPROMEDA - Poučení a souhlas vyšetřované/ho (zákonného zástupce) s genetickým laboratorním vyšetřením (SET-UP) (CZ, EN, DE)*

7.3 Přílohy

Příloha č. 1: Návod pro odběr bukálního stěru

Příloha č. 1: Návod na odběr bukálního stěru odběrovou sadou dodávanou Genetickou laboratoří

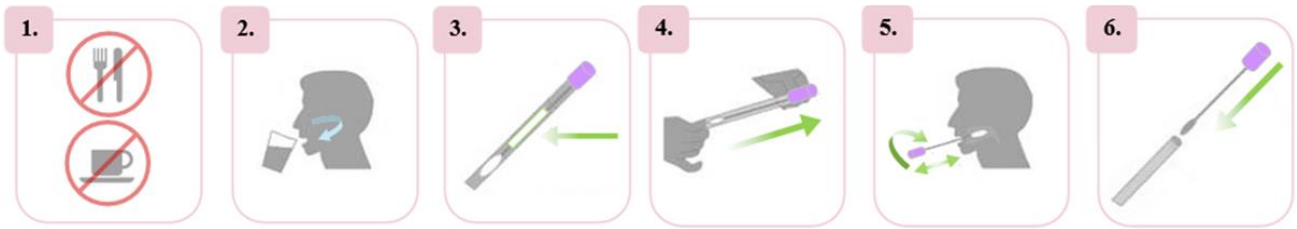
Pro úspěšné provedení genetického vyšetření je nezbytné provedení důkladného odběru buněk ústní sliznice, a to pomocí sterilního odběrového tampónu (bukální stěr). Dodržení níže uvedeného postupu je klíčové pro získání dostatečného množství DNA, proto si jej, prosím, pozorně přečtěte ještě před zahájením odběru:

1. **Nejméně 60 min. před odběrem nekuřte, nejezte ani nepijte nic kromě neslazené nesycené vody, nežvýkejte žvýkačku ani neprovádějte ústní hygienu. Ústní dutina nesmí být před odběrem bukálního stěru kontaminována žádným biologickým materiálem další osoby, proto se vyhněte činnostem jako je kojení, líbání apod., a to nejméně 60 min. před odběrem vzorku.**

   Před manipulací s odběrovou sadou si pečlivě umyjte (popř. vydesinfikujte) a osušte ruce.
2. Pokud je to možné, vypláchněte si těsně před odběrem ústa neslazenou nesycenou vodou.
3. Vyjměte zkumavku s odběrovým tampónem z originálního sáčku a popište ji **čitelně jménem**, **příjmením**, **datem narození** odebírané osoby a **datem odběru** (použijte permanentní popisovač).
4. Vyjměte odběrový tampón ze zkumavky (tampón držte vždy jen za koncovou, nesterilní, část – fialové nebo bílé víčko). **Během procesu odebírání vzorku dbejte na to, aby sterilní část odběrové sady (celá tyčinka zakončená tampónem) nepřišla za žádných okolností do styku s žádným jiným materiálem než s ústní dutinou osoby, u které má být provedeno požadované vyšetření!**
5. Stěrový tampón vložte do úst (do prostoru mezi dásní a vnitřní stranou tváře) a pohybujte jí dozadu a dopředu (jako při čištění zubů) a zároveň jím otáčejte. Je vhodné vyvíjet přiměřený tlak na povrch sliznice, aby došlo k odloučení dostatečného množství bukálních buněk. **Jedním odběrovým tampónem otírejte sliznici obou tváří přibližně po dobu 1 minuty**. Pokud se v ústech během odběru vytvoří nadměrné množství slin, doporučujeme odběr přerušit a pokračovat až po jejich polknutí.
6. Po odběru vložte tampon zpět do původní zkumavky a pečlivě ji uzavřete. **Žádná další manipulace s odběrovými tampony není nutná**! Vzorky jednotlivých osob vložte do jednotlivých samouzavíratelných sáčků.

Stejný postup opakujte se všemi stěrovými tampony

(vždy použijte všechny tampóny v jedné odběrové sadě na 1 osobu).



Vzorky stěru z bukální sliznice lze uchovávat **maximálně 3 dny v lednici při teplotě 2-8 °C.**

Vzorky lze transportovat při pokojové teplotě.