

CENTRUM LÉKAŘSKÉ
GENETIKY s.r.o.

Novohradská 68/1806, 370 08 České Budějovice

Vydání: 5.

Datum schválení: 9.11.2009

Celkový počet stran: 18

LABORATORNÍ PŘÍRUČKA

Zpracoval: Ing. Barbora Kváčová, Ph.D. <i>JOP</i> Ing. Markéta Lysá <i>Vedoucí úseku CG</i>	Kontroloval: Ing. Tomáš Nix <i>Manažer kvality</i>	Výtisk č.: 1
Schválil: MUDr. Karel Čutka <i>Vedoucí laboratoře</i>		

Obsah:

1	Úvod.....	3
1.1	Oblast platnosti.....	3
2	Základní informace o laboratoři.....	4
3	Spektrum nabízených služeb a seznam laboratorních vyšetření.....	4
3.1	Seznam nabízených vyšetření.....	4
3.2	Úsek molekulární genetiky.....	5
3.2.1	Izolace a uchovávání vzorků DNA.....	5
3.2.2	Vyšetření trombofilních stavů.....	5
3.2.3	Vyšetření mikrolelecií AZF oblasti na chromozómu Y.....	5
3.2.4	Vyšetření mutací v genu pro cystickou fibrózu.....	5
3.3	Úsek cytogenetiky.....	6
3.3.1	Chromozomální vyšetření.....	6
4	Prohlášení o souhlasu.....	6
5	Manuál pro odběr primárních vzorků.....	7
5.1	Základní informace pro odběr primárního vzorku včetně zvláštního načasování.....	7
5.2	Vlastní odběr včetně minimálního množství.....	8
5.2.1	Odběrové nádoby.....	8
5.2.2	Odběr plodové vody – amniocentéza.....	9
5.2.3	Odběr periferní krve.....	9
5.2.4	Odběr potrácené tkáně.....	9
6	Transport a manipulace s biologickým materiálem.....	10
6.1	Skladování odebraných vzorků.....	10
6.2	Informace k dopravě vzorků.....	10
7	Příjem vzorků do laboratoře.....	11
7.1	Identifikační označení primárního vzorku.....	11
7.2	Žádanka na laboratorní vyšetření.....	11
7.2.1	Ústní nebo dodatečná vyšetření.....	12
7.2.2	Požadavek na statimová vyšetření.....	12
7.2.3	Kriteria pro přijetí nebo odmítnutí vadných (kolizních) primárních vzorků ...	13
7.2.4	Řešení neshod na příjmu.....	13
8	Fáze po vyšetření.....	13
8.1	Bezpečné odstraňování materiálů použitých při odběru.....	13
8.2	Dodatečná vyšetření a časový interval pro jejich požadování.....	14
8.2.1	Opakování vyšetření nebo další vyšetření stejného primárního vzorku.....	14
8.3	Manipulace a skladování materiálu.....	14
8.3.1	Skladování před a v průběhu vlastního vyšetření.....	14
8.3.2	Skladování po vyšetření.....	14
8.3.3	Likvidace biologického materiálu po vyšetření laboratoří.....	15
9	Vydávání výsledků a komunikace s laboratoří.....	15
9.1	Termíny dodání výsledků.....	15

9.1.1	Úsek molekulární genetiky	15
9.1.2	Úsek cytogenetický	15
9.2	Informace o formách vydávání výsledků	15
9.3	Stanovení varovných nebo kritických rozmezí	16
9.4	Změny výsledků a nálezů	16
9.5	Konzultační činnost laboratoře.....	16
9.6	Způsob řešení stížností	16
10	Přílohy	17

1 Úvod

Laboratorní příručka je dokumentem, který má za úkol informovat žadatele o vyšetření o nabídce našich služeb a poskytnout jim základní informace v preanalytické a postanalytické fáze.

Snažili jsme se, aby se stala obecným průvodcem našich činností a hlavně, aby poskytla dostatek potřebných informací laboratorním i ostatním zdravotnickým zaměstnancům z preanalytické, analytické a postanalytické fáze, které jsou nutné pro docílení správného výsledku analýzy a jeho vyhodnocení v diagnostickém i léčebném procesu.

Tato příručka má napomoci ke zlepšení komunikace s uživateli laboratorních služeb a taktéž ke zviditelnění naší práce.

Tištěná a/nebo elektronická verze Laboratorní příručky je poskytnuta uživatelům laboratorního vyšetření jedenkrát v aktuální verzi s platností v době schválení. Následně je pravidelně aktualizována.

1.1 Oblast platnosti

Laboratorní příručka – „příručka pro odběr primárních vzorků“ byla vypracována se záměrem unifikovat postupy preanalytické fáze (fáze před vlastním provedením laboratorního vyšetření) a ke zvýšení standardizace a jednotnosti postupů.

Odběr vzorků je nedílnou součástí úspěšně provedeného laboratorního vyšetření.

Laboratorní příručka je informativním dokumentem pro lékaře (žadající vyšetření), pacienty a zdravotnický personál a předává jim základní požadavky pro odběr vzorků.

LP je volně přístupná na www.clg.cz a zákazníci laboratoře jsou informováni o aktualizacích a provedených změnách v této příručce.

CENTRUM LÉKAŘSKÉ GENETIKY s.r.o.

Novohradská 68/1806, 370 08 České Budějovice

Laboratorní příručka

Vydání: 5.

Změna: 0

Datum: 9.11.2009

2 Základní informace o laboratoři

Kontaktní údaje		
Centrum lékařské genetiky s.r.o.		
Adresa:	Novohradská 68/1806 370 08 České Budějovice	
Statutární zástupce	MUDr. Karel Čutka MUDr. David Čutka	
Kontakt:	387 204 618	e-mail: info@clg.cz
Provozní doba ambulancí: (provádění odběrů)	Po – Pá 8,00 – 15,00 So : dle dohody	
Konzultující lékaři		
MUDr. David Čutka	387 204 618	e-mail: info@clg.cz
MUDr. Karel Čutka	dtto	dtto
MUDr. Milada Šustrová	dtto	dtto
Laboratoře		
Adresa:		
Vedoucí laboratoře	MUDr. Karel Čutka	
Kontakt:	387 204 618	e-mail: info@clg.cz
Vedoucí úseku CG	Ing. Markéta Lysá	
Kontakt:	387 006 423	e-mail: lysa@clg.cz
Vedoucí úseku MG	Ing. Tomáš Nix	
Kontakt:	tel. 387 006 424	e-mail: tomasnix@seznam.cz
Manažer kvality	Ing. Tomáš Nix	
Kontakt:	tel. 387 006 424	e-mail: tomasnix@seznam.cz

3 Spektrum nabízených služeb a seznam laboratorních vyšetření

3.1 Seznam nabízených vyšetření

Akreditovaná vyšetření

SP-CG-01 Cytogenetické stanovení karyotypu z lidských buněk

SP-CG-02 Vyšetření biologického materiálu metodou FISH

SP-MG-01 Molekulárně genetické vyšetření mutací v genech pro FV-Leiden (G1691A), FII-Protrombin (G22010A) a pro MTHFR (C677T, A1298C) PCR technikami.

SP-MG-02 Molekulárně genetické vyšetření mikrodelecí v azoospermické oblasti chromozómu Y (AZFa, AZFb, AZFc) PCR technikami.

SP-MG-03 Molekulárně genetické vyšetření mutací v genu pro cystickou fibrózu PCR

technikami za použití kitů INNO-LiPA *CFTR19* a INNO-LiPA *CFTR17+Tn* Update.

SP-MG-04 Molekulárně genetické vyšetření aneuploidií chromozómů 13, 18, 21, X, Y metodou QF PCR (Amnio PCR).

Neakreditovaná vyšetření

SP-CG-03 Vyšetření biologického materiálu metodou FISH – PGD.

SP-CG-05 Stanovení orientačního spermogramu.

SP-MG-05 Vyšetření predispozice k celiakii/lepkové intoleranci PCR technikami.

3.2 Úsek molekulární genetiky

3.2.1 Izolace a uchování vzorků DNA

Prvním krokem molekulárně genetických metod je izolace DNA z různých biologických materiálů. Izolace DNA je prováděna za pomoci komerčně vyráběných izolačních kitů a je zaměřena na:

- a) izolace DNA z periferní krve;
- b) izolace DNA z nekultivovaných buněk plodové vody;
- c) izolace DNA z kultivovaných buněk plodové vody.
- d) izolace DNA z choriových klků (CVS)
- e) izolace DNA z buněk bukalní sliznice (BC)

3.2.2 Vyšetření trombofilních stavů

Vyšetření trombofilních stavů je zaměřeno na odhalení mutace FV Leiden (G1691A) v genu pro koagulační faktor V, mutace G20210A v genu pro koagulační faktor II a mutací C677T a A1298C v genu pro methylenetetrahydrofolát reduktázu (MTHFR). Pro testaci je používána amplifikace s následným restrikčním štěpením.

3.2.3 Vyšetření mikrodelecí AZF oblasti na chromozómu Y

Diagnostické testování mikrodelecí v AZF oblasti je prováděno PCR amplifikací pomocí STS primerů. Analyzovány jsou vždy dva STS lokusy v každé AZF oblasti. Pro multiplex PCR jsou používány následující STS primery: AZFa oblast (sY84, sY86), AZFb oblast (sY127, sY134) a AZFc oblast (sY254, sY255). Do analýzy byl dále zahrnut gen SRY a gen ZFX/ZFY.

3.2.4 Vyšetření mutací v genu pro cystickou fibrózu

K vyšetření mutací v genu *CFTR* jsou používány kity Amplification *CFTR* kit, INNO-LiPA *CFTR19* a INNO-LiPA *CFTR17+Tn* Update vyráběné firmou INNOGENETICS.

Pomocí zmíněných kitů je vyšetřováno celkem 36 mutací v genu *CFTR*: F508del, G542X, N1303K, W1282X, G551D, 1717-1G→A, R553X, CFTRdele2,3(21kb), I507del, 711+1G→T, 3272-26A→G, 3905insT, R560T, 1898+1G→A, S1251N, I148T, 3199del6, 3120+1G→A a Q552X. 621+1G→T, 3849+10kbC→T, 2183AA→G, 394delTT, 2789+5G→A, R1162X, 3659delC, R117H, R334W, R347P, G85E, 1078delT, A455E, 2143delT, E60X, 2184delA a 711+5G→A. Dále je odhalen intragenový polymorfismus Tn variant (5T, 7T, 9T) v intronu 8, kdy je identifikována homo- či heterozygotní přítomnost nebo absence 5T alely související s CBAVD (congenital bilateral absence of the vas deferens).

3.2.5. *Vyšetření aneuploidií metodou QF PCR (Amnio PCR)*

Vyšetření Amnio PCR je rychlou diagnostickou metodou odhalující obecně známé chromozomální abnormality (aneuploidie chromozómů 13, 18, 21, X a Y) využívající PCR techniku.

3.3 Úsek cytogenetiky

3.3.1 *Chromozomální vyšetření*

Slouží k určení karyotypu klasickými cytogenetickými metodami a fluorescenční in situ hybridizací. Vyšetření je možno provádět z:

- Z plodové vody/CVS
- Z periferní krve.
- Z tkáně potracených plodů.

Účelem vyšetření je stanovení početních, strukturních, případně získaných chromozomálních aberací.

Metoda FISH je dále uplatněna pro detekci karcinomu močového měchýře prováděného moče.

4 Prohlášení o souhlasu

Některé odběry pro laboratorní vyšetření prováděná v rámci CLG patří mezi invazivní a lékař odebírající materiál je povinen informovat pacienty a pořídit písemný souhlas o tomto informování. Pacient je vždy seznámen s účelem, povahou a důsledkem prováděného vyšetření.

Svým podpisem stvrzuje, že souhlasí s odběrem a případným uchováváním odebraného genetického materiálu (je vždy uvedeno v informovaném souhlasu DNA).

Samostatnou přílohou této příručky jsou formuláře pro informovaný souhlas: (přesné odkazy na naše INFO souhlasy)

- **Informovaný souhlas k odběru vzorku DNA**
- **Informovaný souhlas k odběru plodové vody**

Součástí informovaného souhlasu jsou pokyny pro pacienty, které obsahují informace související s přípravou pacienta před odběrem vzorků.

5 Manuál pro odběr primárních vzorků

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

5.1 Základní informace pro odběr primárního vzorku včetně zvláštního načasování

Klinické informace

Důvodem odběru plodové vody je požadavek na chromozomální vyšetření buněk plodu z amniocytů, stanovení hladiny alfafetoproteinu, popř. vyšetření jednotlivých genů. Odběr se provádí nejčastěji mezi 16.-18. týdnem gravidity, lze ho však provést již od 14. týdne gravidity. Odběr se provádí i v pozdějších týdnech gravidity, zde je potřeba brát v úvahu, že přerušení těhotenství z důvodu poškození plodu je až na výjimky povoleno pouze do konce 24. týdne těhotenství.

Termíny dodání výsledků se vztahují na běžný provoz laboratoře. Termíny kultivace preparátů se pohybuje mezi 10 – 20 dny podle množství a typu amniocytů. Jedná se o invazivní vyšetření, proto musí být uveden jasný důvod k provedení amniocentézy. Buňky se začínají kultivovat v den odběru, kultivace a vyhodnocení výsledku trvá asi 3 týdny. Při odběru je tedy potřeba počítat s dostatečnou lhůtou na kultivaci a zpracování vzorku. V případě využití metody FISH jsou výsledky k dispozici do 5 pracovních dnů (statimová do 2 - 3 pracovních dnů). Výsledky vyšetření Amnio PCR jsou výsledky k dispozici do 5 pracovních dnů.

Chromozomální vyšetření z krve se provádí z dělicích se buněk T-lymfocytů stimulovaných phytohaemagglutininem. Nelze odebírat pacientovi a zejména novorozenci krev po infúzi a už vůbec po transfúzi (výsledkem zkoušky by byl karyotyp dárce a ne pacienta). Výsledek vyšetření je k dispozici do 3 týdnů, v případě statimového požadavku za 10 pracovních dnů.

Periferní krev/stěry z bukalních sliznic jsou dále odebírány z důvodu molekulárně genetického vyšetření jednotlivých genů. Vzorek nelze odebírat pacientovi a zejména novorozenci po infúzi a už vůbec ne po transfúzi. Výsledek vyšetření je k dispozici do 1-3 týdnů (individuálně podle vyšetření), v případě statimového požadavku za 4-5 pracovních dnů.

dnů.

5.2 Vlastní odběr včetně minimálního množství

5.2.1 Odběrové nádoby

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

Plodová voda a chorium jsou odebírány do kultivačních nádobek nebo sterilních zkumavek. Pro odběr fetální krve doporučujeme užívat uzavřený vakuový systém s barevně rozlišenými zkumavkami s vhodnými konzervanty.

Doporučené odběrové systémy, minimálně konzervační látky, jsou:

- **plodová voda**
 - zkumavky Vacuette - žluté víčko. Odběr do zkumavek bez konzervační látky;

- **periferní krev**
 - chromozomální vyšetření:
 - zkumavky Vacuette – zelené víčko (náplň lithium Heparin)
 - molekulárně – genetické vyšetření :
 - zkumavky Vacuette – fialové víčko (náplň K3EDTA);

- **tkáň potracených plodů**
 - zkumavka s médiem Amniomax – fa Gibco nebo s fyziologickým roztokem;

- **choriové klky**
 - zkumavky Vacuette 9 ml – zelené víčko (náplň Sodium Heparin)

- **buňky bukalní sliznice**
 - nylonové sterilní tampony

- **moč**
 - 50 ml zkumavky se špičatým dnem s konzervačním roztokem (Carbowax)

Při odběru je nutné vždy odběrové nádoby vhodně označit (dle uvedených pravidel). Zamezit možnosti záměny a kontaminace biologického materiálu! Je-li dodán materiál v transportní nádobce, která je zevně potřísněna, nemůže být takový vzorek dále zpracováván. Celá odběrová nádobka i s biologickým materiálem je likvidována v souladu s předpisy o likvidaci infekčního materiálu.

Odběr provedený nestandardním postupem je nutno specifikovat na žádance o vyšetření.

5.2.2 Odběr plodové vody – amniocentéza

Vlastní odběr se provádí na specializovaném pracovišti v odběrovém sále odborně proškoleným personálem pod kontrolou ultrazvukem, aby nedošlo k poranění plodu.

K chromozomálnímu vyšetření karyotypu z buněk plodové vody je potřeba získat 15-20 ml plodové vody, která je již při odběru rozdělena do dvou sterilních zkumavek a řádně označena. Pokud je požadováno vyšetření metodami FISH či Amnio PCR je odebráno o 2-5 ml více.

Při vlastním odběru je pod kontrolou ultrazvuku proveden vpich do dutiny břišní za pomoci jehly o průměru 0,9 mm s mandrenem. Nejprve je odsáto cca 1 ml plodové vody, která není použita pro kultivaci. Tímto úkonem je zamezena možná kontaminace materiálem pocházejícím od matky, který by mohl zkreslit výsledek. Teprve poté je odebráno potřebné množství pro vyšetření. Minimální odebrané množství potřebné pro vyšetření je 10 ml, optimum 15-20 ml.

V případě, že plodová voda je odebrána na jiném pracovišti než v CLG, je při transportu do laboratoře vhodné užívat transportní nádobu – např. „termotašku“ nebo „termosku“. Transport do laboratoře je nutno zajistit v co nejkratší době, nejpozději do 24 hodin. Materiál je doprovázen řádně vyplněnou žádankou o vyšetření.

5.2.3 Odběr periferní krve

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

Krev je odebírána z periferní žíly v loketní jamce za použití uzavřeného vakuového systému Vacuteiner s barevně rozlišenými zkumavkami s různými protisrážlivými přísadami. Pro odběr na cytogenetické vyšetření je používána zkumavka se zeleným uzávěrem (heparin), pro molekulárně genetické s uzávěrem fialovým (K3EDTA).

Paže pacienta je volně položena, dezinfikována (dezinfekční látka bez obsahu jódu – negativně ovlivňuje kultivaci) a po stabilizaci polohy žíly je proveden vpich s nástavcem, do něhož je vložena zkumavka. Bezprostředně po odběru je nutné zkumavku s krví důkladně promíchat, aby bylo zabráněno tvorbě sraženin. Rána po vpichu je přelepena náplastí a pacient si tiskne místo vpichu (cca 2-5 minut).

Optimální odebrané množství je 4 – 5 ml krve, minimálně však 2 ml (např. u malých dětí). Odebraná krev je uchovávána v lednici, při teplotě 4 – 9 °C. Je nutné zabránit zmrznutí nebo přehřátí krve, aby se zachovaly živé buňky.

Při transportu do laboratoře je vhodné užívat transportní nádobu – např. „termotašku“ nebo „termosku“. Transport do laboratoře je nutno zajistit v co nejkratší době, nejpozději do 48 hodin. Materiál je doprovázen řádně vyplněnou žádankou o vyšetření.

5.2.4 Odběr potracené tkáně

Odběr je prováděn za účelem chromozomálního vyšetření buněk potraceného plodu. Materiál musí být odebrán za sterilních podmínek, vložen do sterilní, řádně označené

zkumavky či nádobky s médiem nebo fyziologickým roztokem. K vyšetření je potřeba zaslat vzorek o velikosti několika mm. Vzorek je do laboratoře odeslán nejlépe ihned po odběru, nejdéle však do 24 hodin s řádně vyplněnou žádankou o vyšetření.

5.2.5 Odběr choriových klků

Vlastní odběr se provádí na specializovaném pracovišti v odběrovém sále odborně proškoleným personálem pod kontrolou ultrazvukem. Odebrané choriové klky jsou pro DNA vyšetření vloženy do mikrozkušavky a do zpracování skladovány v chladícím zařízení při teplotě 4 – 9 °C.

Při vlastním odběru je pod kontrolou ultrazvuku proveden vpich do dutiny břišní za pomoci jehly o průměru 0,9 mm s mandrenem. Následně jsou choriové klky odebrány do vacuety.

V případě, že CVS jsou odebrány na jiném pracovišti než v CLG, je při transportu do laboratoře vhodné užívat transportní nádobu – např. „termotašku“ nebo „termosku“. Transport do laboratoře je nutno zajistit v co nejkratší době, nejpozději do 24 hodin. Materiál je doprovázen řádně vyplněnou žádankou o vyšetření.

5.2.6 Odběr buněk bukalní sliznice

Odběr je prováděn sterilními nylonovými tampony důkladným vytřením sliznice dutiny ústní. Výtěrky jsou vloženy do řádně označených zkumavek. Materiál je do zpracování uchováván v chladícím zařízení při teplotě 4 – 9 °C.

5.2.7 Odběr moče

Cca 33 ml moče je odebráno u požadujícího lékaře .
Odebraná moč je ihned po odběru smíchána v poměru 2:1 s roztokem CARBOWAX (odběrové médium, které je lékaři doručeno z laboratoře), lehce promíchat. Odebranou moč je nutné dopravit do laboratoře (do 1 měsíce), do transportu je uchovávána při teplotě 4-8°C. Teplota při transportu nesmí přesáhnout 37°C. Spolu se vzorkem je nutné doručit žádanku.

6 Transport a manipulace s biologickým materiálem

6.1 Skladování odebraných vzorků

Odebraný materiál, pokud není bezprostředně zpracován, je uložen do lednice při teplotě 4 – 9 °C do nádoby k tomu určené. Tím je materiál do doby zpracování chráněn před znehodnocením, rozlíváním, kontaminací, přímému vlivu slunečního záření apod. Veškerá manipulace s biologickým materiálem musí probíhat dle ustanovení § 6 Vyhlášky MZD č. 440/2000 Sb.

6.2 Informace k dopravě vzorků

V případě zasílání vzorků k vyšetření do laboratoří CLG musí být při dopravě dbáno na šetrnost, rychlost a adekvátní teplotu transportu. Lékař požadující vyšetření odpovídá za

zajištění transportu a zajištění bezpečnosti přepravce (vhodný způsob balení a označení odebraného vzorku).

Při transportu do laboratoře je vhodné užívat transportní nádobu (určenou pouze pro přepravu vzorků) – např. „termotašku“ nebo „termosku“. Transport do laboratoře je nutno zajistit v co nejkratší době, nejpozději do 24 - 48 hodin dle druhu materiálu (kapitoly 5.2.2-5.2.4). Materiál je doprovázen řádně vyplněnou žádankou o vyšetření. Během přepravy materiálu je nutné zabránit jakékoliv manipulaci, která by mohla být příčinou mechanického poškození. Dále je důležité odebraný materiál chránit před extrémními teplotami (před zmrznutím či přehřátím) a světlem, aby si buňky uchovaly schopnost kultivace a růstu. V případě, že nelze materiál přepravit ihned po odebrání uchováváme jej v lednici při 4 – 9 °C.

Žadanky o vyšetření musí být uloženy odděleně v samostatném obalu, aby nedošlo při manipulaci s materiálem k jejich případnému potřísnění.

Upozornění:

Pokud došlo během transportu k mechanickému poškození odběrové nádoby s materiálem, je zákazník o této situaci telefonicky seznámen a požádán o zajištění nového odběru.

7 Příjem vzorků do laboratoře

Veškerý biologický materiál musí být jednoznačně označen a doprovázen žádankou (požadavkovým listem, průvodkou) na vyšetření.

7.1 Identifikační označení primárního vzorku

Každý materiál musí být označen štítkem s uvedením minimálně:

1. příjmení pacienta
2. rok narození nebo rodné číslo

V případě shodného příjmení je doplněn štítek o další upřesňující údaje (jméno, pořadové číslo atd.)

Neoznačený materiál může být odmítnut laboratoří k dalšímu zpracování.

7.2 Žádanka na laboratorní vyšetření

Do laboratoře je přijímán materiál doprovázený žádankou (vždy podle druhu požadovaného vyšetření).

Žádanka musí vždy obsahovat:

Povinné údaje:

- jednoznačnou identifikaci pacienta
 - jméno, rodné číslo nebo datum narození (novorozenci, cizinci). V případě, že není totožnost pacienta známá, jiný způsob identifikace.
- identifikaci žadatele o vyšetření – IČZ lékaře, adresa a kontakt na žadatele (razítkem)*
- diagnóza

Laboratorní příručka

Vydání: 5.

Změna: 0

Datum: 9.11.2009

- druh primárního vzorku – vyšetřovaný materiál – je patrný z názvu žádanky (AC – plodová voda, CVS – choriové klky, PER – periferní krev, DNA, FISH PCR – uvedeno v žádance)
- požadovaná vyšetření
- informace o pacientovi
 - pohlaví, věk (pokud jsou důležité pro výsledky vyšetření) – a nelze je identifikovat z r.č., jména – uváděno u cizinců (Ž-žena, M-muž)
- datum a čas odběru primárního vzorku
- identifikaci pracovníka odebírajícího materiál**
- datum a čas přijetí vzorku laboratoří (uveden na žádance/konkrétní Lab. knize/deníku)

Nepovinné údaje:

- Bydliště pacienta
- Telefon

Poznámky:

**V případě, že vyšetření FISH požaduje jako doplňkové pracovník laboratoře (na základě výsledku cytogenetických) není vyplňováno razítko a podpis lékaře*

***jestliže se jedná o odběr plodové vody/choriových klků – je odebírající pracovník totožný s žadatelem o vyšetření*

Pokud je zpracováván materiál odebraný mimo CLG s.r.o., musí být doprovázen žádankou s výše uvedenými náležitostmi.

7.2.1 Ústní nebo dodatečná vyšetření

Je to neobvyklá forma objednávání provedení vyšetření daného vzorku. Lze ji připustit jen ve výjimečných a urgentních situacích, kdy se jedná o doordínování některých vyšetření od pacientů a v případě, že je v laboratoři materiál a je vhodný ke zpracování.

V případě, že je v laboratoři materiál a je vhodný ke zpracování může žadatel o vyšetření požadovat další dovyšetření.

Požadavek je přijímán od lékaře nebo sestry, nikoli od pacientů (pokud nejsou samoplátci). V takovém případě je požadavek doplněn do Laboratorní knihy s uvedením data, žadatele a pracovníka přejímajícího požadavek. Nebo je požadavek zaznamenán do sešitu Doplňující vyšetření – s výše uvedenými náležitostmi – kdy identifikace vzorku je dle příslušného laboratorního deníku.

U cytogenetických vyšetření je možné případná dovyšetření požadovat do 48 hodin od příjmu vzorku laboratoří. Na úseku MG lze požadovat vyšetření do doby uchování biologického materiálu (1 rok).

Laboratoř může využít buněčnou suspenzi uchovanou ve zkumavkách eppendorf – užívá se v rámci cytogenetického vyšetření, nebo vyšetření FISH (1 rok).

7.2.2 Požadavek na statimová vyšetření

V případě, že lékař či žadatel o vyšetření požaduje urgentní/statimové vyšetření

biologického materiálu, využije stejné žádanky jako pro ostatní běžná vyšetření a zřetelně je označí červeným slovem **STATIM**. Takto označená žádanka bude **přednostně** zpracována a odečtena.

7.2.3 *Kriteria pro přijetí nebo odmítnutí vadných (kolizních) primárních vzorků*

Odmítnout lze:

- žádanku s biologickým materiálem, na které chybí nebo jsou nečitelné základní údaje a nelze je pracovníky laboratoře zjistit (povinné dle kapitoly 7.2) ,
- žádanku nebo odběrovou nádobu znečištěnou biologickým materiálem,
- nádobu s biologickým materiálem, kde není způsob identifikace materiálu z hlediska nezaměnitelnosti dostatečný (příjmení, rok narození pacienta)*
- nádobu s biologickým materiálem, kde zjevně došlo k porušení fáze před vyšetřením (nedodržení doby dodání materiálu na zpracování, špatné uložení vzorku)
- biologický materiál bez žádanky (bez uvedení požadavků oprávněné osoby)

Poznámka

**v případě, že se jedná o těžce dostupný materiál (PV/CVS) je vždy zahájeno jeho zpracování, ale výsledky nejsou uvolněny, dokud pracovník odebírající vzorek nebo vedoucí úseku nepřevzme odpovědnost za jeho identifikaci.*

7.2.4 *Řešení neshod na příjmu*

Jedná-li se o nesoulad dodaného materiálu s dokumentací ihned se zjišťují informace se žadatelem o vyšetření.

Biologický materiál, který nelze zpracovat (znehodnocen, nedostatek materiálu, porušení fáze před vyšetřením, neoprávněný požadavek) je zapsán do knihy „Neshod“.

Žadatel o vyšetření je informován o odmítnutí, obeznámen s důvody a požádán o nový odběr materiálu (záznamy jsou uvedeny v sešitě –Neshod).

V případě, že vzorek neodpovídá požadavkům laboratoře (na kvalitu) je uvedeno v Laboratorní knize – v poznámce a pracovník, který vyhodnocuje výsledky uvede případný vliv na konečný výsledek v poznámce/komentáři.

8 Fáze po vyšetření

8.1 Bezpečné odstraňování materiálů použitých při odběru

Veškerý materiál použitý při odběru primárních vzorků (vatové tampóny nebo buničité čtverce, rukavice) je považován za potencionálně infekční, ukládá se do nepropustného řádně označeného obalu a je likvidován v souladu s platnou legislativou. Za likvidaci odpovídá pracovník odebírající materiál. Ostré materiály (injekční jehly) jsou ukládány do plastových uzavíratelných nádob k tomu určených a jsou likvidovány obdobným způsobem. Skladování laboratorních vzorků a používaného materiálu probíhá v souladu s ustanoveními § vyhlášky 6 MZD č. 440/2000 Sb. ve znění pozdějších předpisů.

8.2 Dodatečná vyšetření a časový interval pro jejich požadování

Časové rozpětí, ve kterém je možno požadovat dodatečné vyšetření:

a) u cytogenetických vyšetření do 48 hodin. Laboratoř může využít buněčnou suspenzi uchovanou ve zkumavkách eppendorf – užívá se v rámci cytogenetického vyšetření nebo vyšetření FISH.

b) u molekulárně genetických vyšetření do doby uchování biologického materiálu (1 rok).

Dodatečná vyšetření nelze provést vždy. V případě požadavku na dodatečné vyšetření informuje oprávněný žadatel laboratoř s vyjasněním požadavků na dodatečné vyšetření.

Žadatel dodá kompletní žádanku s požadavky na dodatečná vyšetření. V případě požadovaných vyšetření u materiálu, který musí být okamžitě po doručení zpracován a nelze jej skladovat (plodová voda, choriová tkáň apod.), lze některá dodatečná vyšetření provést do doby než byl vzorek zpracován. Některá dodatečná vyšetření lze provést z již nakultivovaných buněk, požadavky na dodatečná vyšetření lze v těchto případech dodat po celou dobu kultivace.

Jedná-li se o vzorky periferní krve je možné provést dodatečná vyšetření z opakované kultivace, výsledek však může být ovlivněn dobou skladováním materiálu (VŠ pracovník rozhodne o možnosti provedení dodatečného vyšetření).

8.2.1 Opakování vyšetření nebo další vyšetření stejného primárního vzorku.

V případě, že je potřeba opakovat vyšetření z důvodu podezření na nesprávnost výsledku, je toto opakování provedeno na náklady laboratoře. Pokud primární vzorek již není k dispozici je zahájena komunikace se žadatelem vyšetření, komunikaci zajišťuje lékař-genetik.

8.3 Manipulace a skladování materiálu

Materiál je neprodleně po odběru uložen do lednice při teplotě 4 – 9 °C . Oprávněný pracovník jej převezme a dopraví do laboratoře ke zpracování tak, aby nedošlo k jeho znehodnocení fyzikálními vlivy, případně k ohrožení fyzických osob.

V průběhu jeho zpracování je materiál uchováván dle podmínek uvedených v jednotlivých standardních postupech pro vyšetření. S materiálem je zacházeno v souladu s bezpečností práce a ochrany zdraví pracovníka.

8.3.1 Skladování před a v průběhu vlastního vyšetření

Materiál zpracováváný v laboratoři molekulární genetiky je skladován před vyšetřením v lednici při 4 – 9 °C. Odebrané plodové vody (CVS či potracená tkáň) určené k vyšetření karyotypu jsou bezprostředně po odběru nasazeny. Plodová voda určená k vyšetření FISH je skladována před vyšetřením v lednici při 4 – 9 °C. Periferní krev určená k cytogenetickému vyšetření (karyotyp, FISH) je uložena taktéž v lednici při 4 – 9 °C. Konkrétní specifika jsou uvedena ve standardních postupech pro dané vyšetření.

8.3.2 Skladování po vyšetření

Materiál (DNA) zpracováváný v laboratoři molekulární genetiky je po vyšetření skladován

v chladícím zařízení při teplotě $\pm - 28^{\circ}\text{C}$. Plná krev pro izolaci DNA je skladována do vydání výsledků vyšetření. Plodová voda/CVS/BC je zpracována beze zbytku.

Periferní krev zpracovávaná v cytogenetické laboratoři je po vyšetření skladována v lednici při teplotě $4 - 9^{\circ}\text{C}$ nejvýše 5 dní. Po vytvoření preparátu je krev přemístěna do sběrných nádob určených k likvidaci. Plodová voda/CVS je zpracována beze zbytku. Při vytvoření preparátů v cytogenetické laboratoři je nevyužitá buněčná suspenze uchována v eppendorfkách po dobu 1 roku a skladována v mrazicím zařízení při $\pm - 18^{\circ}\text{C}$.

8.3.3 Likvidace biologického materiálu po vyšetření laboratoří

Plná krev zpracovávaná v molekulárně genetické laboratoři je likvidována do sběrných nádob a likvidována jako potencionálně infekční materiál, plodová voda/CVS/BC je zpracována beze zbytku.

Plná krev a materiál buněčné suspenze je v cytogenetické laboratoři likvidován ve sběrných nádobách jako potencionálně infekční.

9 Vydávání výsledků a komunikace s laboratoří

9.1 Termíny dodání výsledků

Vzorky jsou průběžně zpracovávány dle požadovaného vyšetření v pořadí, ve kterém jsou přijímány do laboratoře. Vzorky označené STATIM jsou zpracovávány přednostně. Doba požadovaného vyšetření od přijetí vzorku do vydání výsledkového listu by při běžném provozu neměla přesáhnout časový interval 4 týdnů.

9.1.1 Úsek molekulární genetiky

SP-MG-01 Molekulárně genetické vyšetření mutací v genech pro FV-Leiden (G1691A), FII-Protrombin (G22010A) a pro MTHFR (C677T, A1298C) PCR technikami.: 1-2 týdny

SP-MG-02 Molekulárně genetické vyšetření mikrolecí v azoospermické oblasti chromozómu Y (AZFa, AZFb, AZFc) PCR technikami: 1-2 týdny

SP-MG-03 Molekulárně genetické vyšetření mutací v genu pro cystickou fibrózu PCR technikami za použití kitů INNO-LiPA *CFTR19* a INNO-LiPA *CFTR17+Tn Update*.: 2-3 týdny

SP-MG-04 Molekulárně genetické vyšetření aneuploidií chromozómů 13, 18, 21, X, Y metodou QF PCR (Amnio PCR).: 5 pracovních dnů

9.1.2 Úsek cytogenetický

SP-CG-01 Stanovení karyotypu z lidských buněk: 3-4 týdny

SP-CG-02 Vyšetření biologického materiálu metodou FISH: 5 pracovních dnů

9.2 Informace o formách vydávání výsledků

Laboratoř molekulární genetiky v CLG s.r.o. využívá jako způsob vydávání výsledků tisk

výsledkových listů ke konkrétním vyšetřením ve formátu Microsoft Word.

Výsledky cytogenetických vyšetření jsou zaznamenávány do formuláře „Žádanka + výsledkový list“. Výsledky musí být uvedeny čitelně a bez přepisů. Před vydáním jsou výsledky kontrolovány a podepsány oprávněným pracovníkem a lékařem-genetikem.

Tištěné výsledky jsou vloženy do laboratorního informačního systému Amicus, doplněny závěrečným doporučením lékaře-genetika, závěrečná zpráva je vytištěna a 1 vyhotovení s doporučením lékaře genetika zůstává včetně výsledkového listu laboratoře v dokumentaci pacientky, 1 vyhotovení zprávy doplněné o klinickou interpretaci lékaře genetika je zasíláno na vědomí pacientce a 1 vyhotovení zprávy je zasláno ošetřujícímu lékaři.

9.3 Stanovení varovných nebo kritických rozmezí

K jednotlivým výsledkům vyšetření jsou stanoveny referenční meze (v případě, že lze) a hlášení překročení daných mezí zváží pracovník vyhodnocující výsledek dle závažnosti nálezu.

Výsledkem vyšetření je slovní hodnocení – pozitivní/negativní hodnocení vzorku nebo vyjádření doporučeným názvoslovím mezinárodní nomenklatury ISCN.

V případě patologických nálezů (pozitivních nálezů) je informován žadatel o vyšetření, který dále komunikuje s pacientem.

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

9.5 Konzultační činnost laboratoře

Informace v souvislosti s výsledky vyšetření podávají lékaři CLG. Kontaktní údaje jsou uvedeny v kapitole č. 2.

9.6 Způsob řešení stížností

Případné stížnosti lékaře, pacienta či ostatních účastníků je podnětem pro zlepšení práce v laboratořích CLG a naše pracoviště každou uplatněnou stížnost prošetřuje. Stížnost lze podávat na:

- výsledky požadovaných laboratorních vyšetření;
- způsob jednání pracovníků CLG;
- nedodržení ujednání vyplývajících z uzavřené dohody o provedení vyšetření a nedodržení dohodnuté lhůty.

Stížnost je možné podat písemnou formou (poštou, faxem, e-mailem) či formou ústní (telefonicky, osobní jednání). Pokud stížnost není neprodleně řešena, termín jejího vyřízení je 30 pracovních dnů. Odpovědný pracovník zákazníkovi sdělí výsledek šetření telefonicky.

10 Přílohy

Samostatné přílohy:

Příloha č.1 - Žádanky

- 1.1 – *Žádanka na molekulárně genetické vyšetření*
- 1.2.– *Žádanka na vyšetření FISH – PCR*
- 1.3 – *Žádanka na vyšetření karyotypu z PER*
- 1.4 – *Žádanka na vyšetření karyotypu z plodové vody*
- 1.5 – *Žádanka na vyšetření karyotypu z choriových klků*

Příloha č.2 - Výsledkové listy

Příloha č.3 – Informované souhlasy

- 3.1 – *Informovaný souhlas s vyšetřením DNA*
- 3.2 – *Informovaný souhlas s vyšetřením plodové vody*
- 3.3 - *Informovaný souhlas s vyšetřením choriových klků*

