



Všeobecná fakultní nemocnice v Praze

U Nemocnice 499/2, 128 08 Praha 2

<http://www.vfn.cz> <http://intranet.vfn.cz>

Ústav biologie a lékařské genetiky

Pracoviště: Albertov 4, 128 08 Praha 2

Směrnice
SM-UBLG-02

Strana 1 z 21

Verze číslo: 6

Laboratorní příručka

Zpracovatel:

MUDr. Romana Mihalová
Ing. Jitka Štekrová
Mgr. Marie Valeriánová, Ph.D.

Garant:

Mgr. Ivan Hrdlička, Ph.D.
(manažer kvality)

Účinnost dokumentu od:

1. 5. 2019

První vydání dne:

1. 1. 2011

Výtisk č:

Schválil:

Prim. MUDr. Jaroslav Kotlas

Dne: 26. 4. 2019



Obsah:

1. Účel a oblast platnosti dokumentu.....	3
2. Zkratky a pojmy.....	3
3. Kontakty a nabízené služby.....	4
4. Odpovědnosti a pravomoci.....	8
5. Postupy (popis činností).....	9
5.1 Požadavky na primární vzorky.....	9
5.1.1 Cytogenetická laboratoř.....	9
5.1.2 Laboratoř molekulární diagnostiky.....	11
5.1.3 Žádanky.....	12
5.1.4 Označování primárních vzorků.....	13
5.2 Preanalytické procesy v laboratoři.....	13
5.2.1 Příjem vzorků.....	13
5.2.2 Kritéria pro přijetí (odmítnutí) primárních vzorků.....	14
5.2.3 Manipulace a skladování vzorků před analýzou.....	15
5.3 Prováděná vyšetření a doby odezvy.....	16
5.4 Výsledky vyšetření.....	18
5.4.1 Formy výsledkových zpráv, způsob vydávání výsledků.....	18
5.4.2 Opravy vydaných výsledkových zpráv.....	19
5.5 Řízení kvality.....	19
5.5.1 Vnitřní kontrola kvality.....	19
5.5.2 Externí kontrola kvality (EHK).....	19
6. Související dokumenty.....	20
7. Záznam o změnách v dokumentu.....	20
8. Záznam o revizi dokumentu.....	20
9. Rozdělovník.....	20



1. Účel a oblast platnosti dokumentu

Laboratorní příručka obsahuje kompletní informace o prováděných laboratorních činnostech a o nabídce služeb zdravotnických laboratoří Ústavu biologie a lékařské genetiky VFN a 1. LF UK (cytogenetická laboratoř, laboratoř molekulární diagnostiky), jejichž činnost je řízena Příručkou kvality (*ZD-UBLG-02*), a dále o nabídce služeb dislokovaného pracoviště (skupina pro diagnostiku hereditárního karcinomu prsu). Poskytuje základní informace o požadavcích na biologický materiál posílaný k vyšetření, o zacházení s materiálem před vyšetřením, o vyšetřovacích postupech a o uvádění výsledků. V dokumentu jsou definovány postupy pro řízení kvality.

Laboratorní příručka je závazná pro všechny pracovníky zdravotnických laboratoří ÚBLG.

Historický kontext a postavení zdravotnických laboratoří v systému zdravotní péče Všeobecné fakultní nemocnice v Praze:

Oddělení lékařské genetiky VFN včetně **zdravotnických laboratoří** se stalo součástí Ústavu biologie a lékařské genetiky dne 1. 1. 1998 na základě společného rozhodnutí tehdejších statutárních zástupců 1. LF UK (děkan doc. MUDr. Petr Hach, CSc.) a VFN (ředitel MUDr. Martina Holcát).

Ústav biologie a lékařské genetiky VFN a 1. LF UK (ÚBLG) se skládá ze zdravotnické a školské části. Zdravotnická část zajišťuje cytogenetická a molekulárně genetická vyšetření, konzultační a konziliární služby v oboru klinická genetika pro pracoviště VFN, lékařské fakulty a ostatní zdravotnická zařízení. Školská část zajišťuje v rámci pregraduálního vzdělávání výuku předmětů Biologie a genetika, Klinická genetika a podílí se na všech formách postgraduálního vzdělávání v oboru. Kromě pedagogické činnosti se ÚBLG zabývá i vědecko-výzkumnou činností.

2. Zkratky a pojmy

1. LF UK	1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy
DNA	Deoxyribonucleic acid
EHK	Externí hodnocení kvality
EMQN	European Molecular Genetics Quality Network
GenQA	Genomics Quality Assessment
FISH	Fluorescenční in situ hybridizace
MKK	Mezilaboratorní kontrola kvality
NIS	Nemocniční informační systém (NIS Astraia, Medea – druhy nemocničních informačních systémů)
PP	Pracovní postup
RNA	Ribonucleic acid
SD	Správce řízené dokumentace
SOP	Standardní operační postup
SÚKL	Státní ústav pro kontrolu léčiv
ÚBLG	Ústav biologie a lékařské genetiky VFN a 1. LF UK
VFN	Všeobecná fakultní nemocnice v Praze



ČSN EN ISO 15189 Česká Státní Norma Evropská Norma (ve smyslu evropská norma převzata do národního systému norem ČR) International Organization for Standardization (Mezinárodní organizace pro normalizaci) 15189

3. Kontakty a nabízené služby

Ústav biologie a lékařské genetiky VFN a 1. LF UK (dále jen ÚBLG)

128 00 Praha 2 Albertov 4

Zkratka názvu pracoviště, nákladové středisko pracoviště, IČP pro styk s pojišťovnou:
ÚBLG, NS 880, IČP 02004

Vedení ÚBLG

Přednosta ústavu: prof. MUDr. Ondřej Šeda, Ph.D.

Tel.: + 420 22496 8180

E-mail: ondrej.seda@lf1.cuni.cz

Sekretariát LF: Bc. Ivana Karbusová

Tel.: + 420 22496 8141

E-mail: ivana.karbusova@lf1.cuni.cz

Sekretariát VFN: Eva Horníková

Tel.: + 420 22496 8141

E-mail: eva.hornikova@vfn.cz

Zdravotnický zástupce přednosta, primář a vedoucí laboratoří: MUDr. Jaroslav Kotlas

Tel.: + 420 22496 8144, + 420 22496 7172,

E-mail: jaroslav.kotlas@vfn.cz

Manažer kvality: Mgr. Ivan Hrdlička, PhD.

Tel.: + 420 22496 8189

E-mail: ivan.hrdlicka@vfn.cz

Vrchní laborantka: Bc. Lenka Malinová

Tel.: + 420 22496 8165

E-mail: lenka.malinova@vfn.cz



Úseky:

Cytogenetická laboratoř

Umístění pracoviště: 128 00 Praha 2, Albertov 4 – Purkyňův ústav – zvýšené přízemí vlevo
nákladové středisko pracoviště, IČP pro styk s pojišťovnou:

NS 880 50, IČP 02004 545

Vedoucí laboratoře: MUDr. Romana Mihalová

Tel.: + 420 22496 8165

E-mail: romana.mihalova@lf1.cuni.cz

Zástupce vedoucí laboratoře: Mgr. Mimoza Janashia, CSc.

Tel.: + 420 22496 8160

E-mail: mimoza.janashia@vfn.cz

Úseková laborantka: Bc. Lenka Malinová

Tel.: + 420 22496 8165

E-mail: lenka.malinova@vfn.cz

Důležité kontakty a telefony:

Informace o příjmu vzorků v laboratoři: + 420 22496 8165

Informace o průběhu vyšetření:

Mgr. Mimoza Janashia, CSc, + 420 22496 8160, mimoza.janashia@vfn.cz

MUDr. Romana Mihalová, + 420 22496 8165, romana.mihalova@lf1.cuni.cz

Spektrum nabízených služeb

Přehled poskytovaných vyšetření Cytogenetické laboratoře je detailně uveden v odstavci 5.3 tohoto dokumentu. Nabídku vyšetření je možno nalézt také na internetových stránkách ÚBLG VFN na adrese: <http://www.vfn.cz/pracoviste/kliniky-a-oddeleni/ustav-biologie-a-lekarske-genetiky/informace-pro-lekare-a-dalsi-pracovniky-ve-zdravotnictvi/>

V laboratoři se provádějí následující **rutinní cytogenetická vyšetření:**

- krátkodobá i dlouhodobá kultivace buněk
- karyotypu z periferní krve
- karyotypu z fetální krve
- karyotypu z plodové vody
- karyotypu z choriových klků
- karyotypu z tkáně potratu
- chromosomových aberací (ZCHA)



- FISH na mozaicismus gonosomů
- FISH na mikrolečňní syndromy
- FISH dle individuálních požadavků

Konzultační činnost vztahující se k průběhu vyšetření a základní interpretaci výsledků poskytují odborní pracovníci Cytogenetické laboratoře:

- **Prenatální diagnostika**
Mgr. Mimoza Janashia, CSc, + 420 22496 8160
MUDr. Romana Mihalová, + 420 22496 8165
- **Postnatální diagnostika**
MUDr. Romana Mihalová, + 420 22496 8165
Mgr. Mimoza Janashia, CSc, + 420 22496 8160
- **Fluorescenční in situ hybridizace**
MUDr. Romana Mihalová, + 420 22496 8165

Laboratoř molekulární diagnostiky

Umístění pracoviště: 128 00 Praha 2, Albertov 4 – Purkyňův ústav – zvýšené přízemí vlevo

nákladové středisko pracoviště, IČP pro styk s pojišťovnou:

NS 880 51, IČP 02004 545

Vedoucí laboratoře: Ing. Jitka Štekrová

Tel.: + 420 22496 8162

E-mail: jitka.stekrova@lf1.cuni.cz

Zástupce vedoucí laboratoře: Mgr. Ivan Hrdlička, Ph.D.

Tel.: + 420 22496 8189

E-mail: ivan.hrdlicka@vfn.cz

Úseková laborantka: Martina Řezníčková

Tel.: + 420 22496 8152

E-mail: martina.reznickova@vfn.cz

Důležité kontakty a telefony:

Informace o příjmu vzorků v laboratoři: + 420 22496 8152

Informace o průběhu vyšetření:

Ing. Jitka Štekrová , + 420 22496 8162, + 420 22496 8152, jitka.stekrova@lf1.cuni.cz

Mgr. Ivan Hrdlička, Ph.D., + 420 22496 8198, ivan.hrdlicka@vfn.cz

Spektrum nabízených služeb

Přehled poskytovaných vyšetření Laboratoře molekulární diagnostiky je detailně uveden v odstavci 5.3 tohoto dokumentu. Nabídku vyšetření je možno nalézt také na [internetových](#)



stránkách ÚBLG VFN na adrese: <http://www.vfn.cz/pracoviste/kliniky-a-oddeleni/ustav-biologie-a-lekarske-genetiky/informace-pro-lekare-a-dalsi-pracovniky-ve-zdravotnictvi/>

V laboratoři se provádějí následující **rutinní molekulárně genetická vyšetření**:

- hereditárního karcinomu prsu a ovaria
- adenomatózní polypózy tlustého střeva
- hereditárního nepolypozního karcinomu tlustého střeva - Lynchův syndrom
- feochromcytomu / paragangliomu
- Carneyho trias
- Gitelmanova syndromu
- Bartterova syndromu
- AD polycystózy ledvin
- Hungtingtonovy choroby
- spinální svalové atrofie
- myotonické dystrofie typu I
- cystické fibrózy
- delecí AZF na chromozomu Y
- aneuploidií chromozomu metodou QF PCR
- neinvazivní vyšetření Rh faktoru plodu z mateřské krve
- neinvazivní vyšetření pohlaví plodu z mateřské krve
- zygotity dvojčat
- průkazu pohlaví
- identifikace osob – průkaz maternity/paternity
- primárního hyperaldosteronismu
- dyschondrosteózy / malý vzrůst
- mikrolečnicích syndromů spojených s mentální retardací
- syndrom fragilního X (FRAXA) - vyloučení expanze CGG u mužů.
- familiární dysalbuminemická hyperthyroxinemie (FDAH)
- trichorhinofalangeální syndrom (TRPS1).

Konzultační činnost vztahující se k průběhu vyšetření a základní interpretaci výsledků poskytují odborní pracovníci Laboratoře molekulární diagnostiky:

- **Polycystická choroba ledvin dospělých, familiární adenomatózní polypóza, polypóza asociovaná s MUTYH, Lynchův syndrom, Gitelmanův syndrom, Bartterův syndrom, Feochromocytom/ Paragangliom, Dyschondrosteóza, Idiopatický malý vzrůst, Mikrolečnicí syndromy spojené s mentální retardací, Familiární dysalbuminemická hyperthyroxinemie (FDAH), Trichorhinofalangeální syndrom (TRPS1).**
Ing. Jitka Šteková, + 420 22496 8162, + 420 22496 8152
- **Hungtingtonova choroba, myotonická dystrofie 1. typu, cystická fibróza, spinální muskulární atrofie, mikrolece chromozomu Y, syndrom fragilního X (FRAXA) - vyloučení expanze CGG u mužů.**
Mgr. Ivan Hrdlička, PhD., + 420 22496 8189, + 420 22496 8152



- **Průkaz pohlaví, zygotita dvojčat, Identifikace osob – průkaz paternity / maternity, Neinvazivní stanovení Rh faktoru plodu z mateřské krve (RhD), Neinvazivní stanovení pohlaví plodu z mateřské krve, Aneuploidie chromozomů metodou QF PCR.**
Ing. Aleš Hořínek, + 420 22496 8155, + 420 22496 8152
- **Hereditární karcinom prsu a ovaria (HBOC)**
MUDr. Petra Kleiblová, Ph.D., + 420 22496 5745

V případě požadavků na vyšetření prováděná v rámci **výzkumných projektů** nebo nově zavedené diagnostiky poskytnou bližší informace vedoucí jednotlivých laboratoří.

Oddělení lékařské genetiky

Umístění pracoviště: 128 00 Praha 2, Ke Karlovu 2, Dětský areál Karlov (DAK), budova E1b, druhé patro

nákladové středisko pracoviště, IČP pro styk s pojišťovnou:
NS 880 10, IČP 02004 187

Primář: MUDr. Jaroslav Kotlas

Tel.: + 420 22496 8144, + 420 22496 7172,

E-mail: jaroslav.kotlas@vfn.cz

Zástupce primáře: doc. MUDr. Alice Baxová, CSc.

Tel.: + 420 22496 7173

E-mail: alica.baxova@vfn.cz

Sestry (objednávání pacientů):

Tel.: + 420 22496 7171, + 420 22496 7175

Spektrum nabízených služeb a konzultační činnost

Oddělení lékařské genetiky (OLG) poskytuje genetické poradenství v celém rozsahu oboru lékařská genetiky.

V rámci probíhajících výzkumných programů a na základě úzké spolupráce s dalšími obory ve VFN se OLG při konzultační činnosti specializuje na pacienty a rodiny:

- s nádorovými onemocněními (kolorekta, prsu a chromafinní tkáně),
- se syndromologickou problematikou dětí i dospělých,
- s kostními dysplaziemi,
- s nefrologickými onemocněními (polycystická choroba ledvin dospělých, Gitelmanův syndrom, Bartterův syndrom),
- s Huntigtonovou chorobou,
- s poruchami reprodukce.

4. Odpovědnosti a pravomoci

Vedoucí zdravotnických laboratoří odpovídá zejména za:



- řízení molekulárně-genetické a cytogenetické laboratoře.
- plnění všech akreditačních kritérií a plnění politiky kvality podle normy ČSN EN ISO 15189

Vedoucí jednotlivých laboratoří odpovídají zejména za:

- chod příslušné laboratoře
- správné provádění diagnostických vyšetření
- výsledky laboratorních vyšetření

Mají pravomoc:

- uvolňovat a podepisovat výsledky příslušné laboratoře;
- poskytovat odborné interpretace k výsledkům v rámci příslušné laboratoře.

Odborní pracovníci v laboratorních metodách s atestací a registrací (odborní garanti) odpovídají za:

- správné provádění diagnostických vyšetření;
- výsledky jimi uvolněných laboratorních vyšetření

Mají pravomoc:

- uvolňovat a podepisovat výsledky
- poskytovat odborné interpretace k výsledkům

5. Postupy (popis činností)

5.1 POŽADAVKY NA PRIMÁRNÍ VZORKY

5.1.1 Cytogenetická laboratoř

Periferní krev

- odběr není nutné provádět nalačno
- odběr do heparinizované podtlakové zkumavky nebo heparinizované stříkačky, krev ihned několika pohyby promíchat
- vzorek nutno dodat do cytogenetické laboratoře nejlépe v den odběru, v nezbytných případech nejpozději do 48 hodin
- odebraný vzorek krve lze uchovat při pokojové teplotě maximálně 3 hodiny, poté nutno uchovávat v lednici (2–8 °C), v žádném případě nesmí zmraznout!
- zkumavky nebo stříkačky s odebranými vzorky s dobře zajištěným víčkem vložte do igelitového sáčku společně s řádně vyplněnou žádankou pro každého pacienta zvláště, pro zajištění optimálních podmínek při transportu použijte termoobal
- optimální množství 2–5 ml venózní krve, malé děti minimálně 1 ml (méně než 1 ml venózní krve - riziko neúspěšné kultivace)
- užití některých látek (např. antibiotika nebo imunosupresiva) před odběrem může nepříznivě ovlivnit úspěšnost kultivace.

Plodová voda

- odběr cca 20 ml do 2 odběrových zkumavek (sterilní, min. 10 ml každá)



- zkumavky s odebranými vzorky s dobře zajištěným víčkem vložte do igelitového sáčku společně s řádně vyplněnou žádankou pro každou pacientku zvlášť, pro zajištění optimálních podmínek při transportu použijte termoobal
- vzorek je nutné doručit do cytogenetické laboratoře co nejdříve po odběru, maximálně do konce téhož pracovního dne
- odebraný vzorek lze uchovat při pokojové teplotě maximálně 2 hodiny, v lednici (2–8 °C) maximálně 6 hodin.

Fetální krev

- odběr 1–2 ml krve do heparinizované stříkačky (příp. zkumavky), krev ihned několika pohyby promíchat
- stříkačky s odebranými vzorky vložte do igelitového sáčku společně s řádně vyplněnou žádankou pro každou pacientku zvlášť, pro zajištění optimálních podmínek při transportu použijte termoobal
- vzorek je nutné doručit do cytogenetické laboratoře v den odběru
- odebraný vzorek lze uchovat při pokojové teplotě maximálně 3 hodiny, po delší dobu nutno uchovávat v lednici (2–8 °C).

Choriové klky

- odběr cca 20 mg tkáně choriových klků, pokud možno z různých oblastí choria
- odběr do sterilní heparinizované zkumavky s fyziologickým roztokem
- zkumavku se vzorkem ihned po odběru protřepat (prevence tvorby nežádoucích koagul)
- zkumavky s odebranými vzorky s dobře zajištěným víčkem vložte do igelitového sáčku společně s řádně vyplněnou žádankou pro každou pacientku zvlášť, pro zajištění optimálních podmínek při transportu použijte termoobal
- vzorek je nutné doručit do cytogenetické laboratoře co nejdříve po odběru, maximálně do konce téhož pracovního dne
- odebraný vzorek lze uchovat při pokojové teplotě maximálně 2 hodiny, v lednici (2–8 °C) maximálně 6 hodin.

Tkáň potraceného plodu

- odběr malé části tkáně (cca 0,5–1 cm³) co nejsterilnějším způsobem do sterilní nádoby nebo zkumavky s fyziologickým roztokem
- zkumavky nebo nádoby s odebranými vzorky s dobře zajištěným víčkem vložte do igelitového sáčku společně s řádně vyplněnou žádankou pro každou pacientku zvlášť, pro zajištění optimálních podmínek při transportu použijte termoobal
- vzorek je nutné doručit do cytogenetické laboratoře co nejdříve po odběru, v nezbytných případech maximálně do 48 hodin
- odebraný vzorek lze uchovat při pokojové teplotě maximálně 2 hodiny, později nutno uchovávat v lednici (2–8 °C), vzorek však nesmí zmrznout!

Dodatečná vyšetření

Dodatečná vyšetření lze domluvit telefonicky, ale následně musí být dodána příslušná řádně vyplněná žádanka.



- Periferní a fetální krev
Dodatečná vyšetření je možné požadovat do 72 hod. po odběru, tj. po dobu kultivace vzorku. V případě dostatečného množství materiálu je možné dodatečné vyšetření provést z opakované kultivace, avšak výsledek může být negativně ovlivněn dlouhodobým skladováním materiálu. Při zpracování lze také uschovat buněčnou suspenzi pro dodatečná vyšetření metodou FISH. Tento požadavek však musí být uveden na žádance.
- Plodová voda, choriové klky, tkáně potracených plodů
Dodatečná vyšetření lze požadovat po dobu kultivace vzorku (cca do 2 týdnů), po zpracování materiálu již dodatečná vyšetření nejsou možná.

5.1.2 Laboratoř molekulární diagnostiky

Krev

- periferní či fetální krev odebraná do zkumavky s protisrážlivým činidlem EDTA, minimální množství krve na izolaci DNA je 1 ml pro „jednoduché“ vyšetření, 5 ml pro rozsáhlou mutační analýzu a 10 ml pro neinvazivní vyšetření pohlaví plodu či RhD faktoru z mateřské krve
- odebraný vzorek krve pro izolaci DNA lze před dodáním do laboratoře uchovávat po krátkou dobu (maximálně 48 hodin) v lednici (2–8 °C), nebo dlouhodobě v zamraženém stavu (-20 °C) – v takovém případě by vzorek neměl při transportu do laboratoře rozmrznout;
- periferní krev odebraná do zkumavek se speciálním protisrážlivým činidlem určených pro izolaci RNA (po domluvě dodá laboratoř)
- odebraný vzorek krve pro izolaci RNA lze před dodáním do laboratoře uchovávat po krátkou dobu (maximálně 48 hodin) při laboratorní teplotě
- stříkačky s odebranými vzorky je nutné vložit do igelitového sáčku společně s řádně vyplněnou žádankou pro každého pacienta zvlášť
- krevní skvrny (speciální odběrové sety) vzorky je nutné vložit do igelitového sáčku společně s řádně vyplněnou žádankou pro každého pacienta zvlášť
- pro zajištění optimálních podmínek při transportu je nezbytné použít termoobal

Tkáň

- tkáň čerstvá na izolaci DNA – nejlépe ve fyziologickém roztoku dodat v den odběru do laboratoře, nebo uchovávat v zamraženém stavu (-20 °C)
- plodová voda v objemu 3 ml nebo kultivované amniocyty (buňky z plod. vody)
- choriové klky ve fyziologickém roztoku nebo kultivované choriové klky v kultivačním médiu
- stěry z bukalní sliznice (speciální odběrové sety), není vhodné odebírat vzorek bezprostředně po jídle
- tkáň v parafinových bločcích – bez speciálních požadavků
- pro izolaci RNA čerstvá tkáň ve sterilní dobře uzavřené zkumavce se speciálním médiem (dodá laboratoř), odebraný vzorek tkáně lze před dodáním do laboratoře uchovávat po krátkou dobu (maximálně 48 hodin) při laboratorní teplotě, nebo delší dobu hluboce zmrazenou (-20 °C) ve sterilní dobře uzavřené zkumavce



- vzorky je nutné vložit do igelitového sáčku společně s řádně vyplněnou žádankou pro každého pacienta zvlášť, pro zajištění optimálních podmínek při transportu je nezbytné použít termoobal

DNA a RNA

- již izolovaná DNA – množství v závislosti na počtu vyšetření
- již izolovaná RNA – hluboce zmražená (-70 °C) a po dohodě s laboratoří
- k transportu je nutné vzorky zajistit před mechanickým poškozením

Dodatečná vyšetření

Dodatečná vyšetření lze domluvit telefonicky, ale následně musí být dodána příslušná řádně vyplněná žádanka.

5.1.3 Žádanky

Každý vzorek musí být řádně označen a musí být dodán s řádně vyplněnou žádankou, informovaným souhlasem pacienta a u vybraných vyšetření (uvedeno na žádance) také s vyplněným dotazníkem.

Urgentní (STATIM) provedení vyšetření lze žádat na standardních žádankách výrazným označením (nejlépe červeně) „STATIM“.

Formuláře žádanek k cytogenetickému nebo molekulárně genetickému vyšetření, informovaného souhlasu pacienta a dotazníky k některým vyšetřením jsou ke stažení na internetových stránkách ÚBLG VFN na internetové adrese:

<http://www.vfn.cz/pracoviste/kliniky-a-oddeleni/ustav-biologie-a-lekarske-genetiky/informace-pro-lekare-a-dalsi-pracovniky-ve-zdravotnictvi/>

Pro genetická vyšetření jsou k dispozici následující typy žádanek a formulářů:

Žádanka o cytogenetické vyšetření

Žádanka o molekulárně genetické vyšetření

Informovaný souhlas pacienta

Dotazníky k molekulárně genetickým vyšetřením – viz kapitola 5.3

Lze použít také jiný typ žádanky, pokud bude obsahovat všechny níže uvedené údaje.

Identifikace pacienta:

- jméno a příjmení pacienta
- číslo pojištěnce/rodné číslo, příp. datum narození (nevyplývá-li z r. č.)
- pohlaví pacienta



- *bydliště pacienta*
- *kód zdravotní pojišťovny, event. informaci o způsobu úhrady (faktura)*

Identifikace žadatele:

- *jméno lékaře, razítko, podpis*
- *IČP a odbornost odesílajícího lékaře*
- *adresa u žadatele mimo VFN*
- *nákladové středisko oddělení u vyšetření pro VFN*
- *telefonní kontakt na žadatele*

Specifikace vyšetření:

- *název požadovaného druhu vyšetření a číselný kód diagnózy*
- *klinické aspekty choroby pacienta (molekulární diagnostika)*
- *požadavek na rychlost provedení – výrazné označení statimového vyšetření,*
- *datum odběru, popř. čas odběru (cytogenetika)*
- *druh primárního vzorku, u tkáně i místo původu*

Doporučení k žádankám o vyšetření:

Při suspekci na dědičnou formu choroby je doporučena konzultace klinického genetika. Genetické konzultace jsou poskytovány (po objednání) na ambulanci ÚBLG VFN a 1. LF UK, Ke Karlovu 2, 128 08 PRAHA 2, tel.: 224 967 171.

Odběry materiálu se provádějí na ambulanci ÚBLG, příp. na specializovaných pracovištích VFN. V případě odběru v místě bydliště je vzorek spolu se žádankou a standardizovanými formuláři zasílán na adresu laboratoře.

Presymptomatické laboratorní vyšetření by měl indikovat klinický genetik.

V případě, že žádanka došla do laboratoře nemá všechny náležitosti, postupuje se dle bodu 5.2.2 *Kritéria pro přijetí nebo odmítnutí vzorků.*

5.1.4 Označování primárních vzorků

Každý primární vzorek musí být čitelně označen nezbytnými údaji shodnými s údaji na žádance. Nezbytné údaje pro identifikaci vzorku:

- *příjmení a jméno pacienta*
- *číslo pojištěnce (rodné číslo)*

Za označení primárního vzorku a žádanky (indikaci) odpovídá žadatel – indikující lékař. Kontrolu údajů na žádance a vzorku provádí pověřený pracovník přejímající vzorek v laboratoři.

5.2 PREANALYTICKÉ PROCESY V LABORATOŘI

5.2.1 Příjem vzorků

Vzorky do laboratoře mohou být dopraveny sanitářem z vlastního či jiného pracoviště, případně jinou náležitě poučenou osobou. Pověřený pracovník přejímající vzorek materiálu zkontroluje správnost a shodu údajů na žádance a materiálu. Údaje ze žádanky zapíše do



knihy pacientů/klientů pod jednoznačné číslo a do nemocničního informačního systému Medea a FONS Openlims. Při další manipulaci se vzorkem je vždy zpracováván vzorek označen přiděleným číslem, případně jménem.

Příjem a zpracování vzorků s požadavkem rychlé prenatální diagnostiky je podrobně popsán v příslušném pracovním postupu (*PP-UBLG-01-001*).

CYTOGENETICKÁ LABORATOŘ

Periferní krev

- Standardní odběrové dny: PONDĚLÍ, ÚTERÝ, PÁTEK
- Krev musí být do laboratoře dodána nejpozději do 12:00 hod. Mimo dané hodiny je příjem vzorku možný po předchozí telefonické domluvě – tel. 224 968 165, od 7 do 15 hod.
- V případě nestandardního odběru (odběr mimo určené dny, nevhodný protisrážlivý přípravek, nevhodné podmínky transportu apod.) se zvyšuje riziko neúspěšné kultivace.

Plodová voda, fetální krev, choriové klky, tkáň potraceného plodu

- Vzorky jsou přijímány každý pracovní den, od 7 do 14 hod., od 12 hodin však pouze po předchozí telefonické domluvě!

LABORATOŘ MOLEKULÁRNÍ DIAGNOSTIKY

Veškerý biologický materiál

- PONDĚLÍ – ČTVRTEK 7-15 hod.
- PÁTEK 7-14 hod.
- Mimo dané hodiny je příjem vzorku možný po předchozí telefonické domluvě.

Vzorky pro rychlou prenatální DNA diagnostiku

je třeba předat do laboratoře molekulární diagnostiky do 14 hod., aby byly výsledky k dispozici následující pracovní den do 12 hod.

Pokud bude vyšetřovaný materiál předán později, bude zpracován v co nejkratší době, avšak laboratoř již nemůže zaručit dodržení výše uvedené lhůty dodání výsledku.

Uvedené termíny vyšetření mohou být překročeny u problematických vzorků, při amplifikaci dodatečných lokusů v případech pozitivních nálezů, či u nejednoznačných výsledků.

5.2.2 Kritéria pro přijetí (odmítnutí) primárních vzorků

K vyšetření je vzorek přijat, pokud:

- splňuje požadavky na primární vzorek (viz kapitoly 5.1.1 a 5.1.2)
- je řádně označen (viz kapitola 5.1.4), shodně identifikován se žádankou a viditelně nepoškozen či nekontaminován
- žádanka obsahuje všechny povinné údaje (viz kapitoly 5.1.3).



Pokud lze dohledat či jednoznačně opravit chybný či nedostatečný záznam v žádance, je možno po dohodě s indikujícím lékařem materiál přijmout. V takovém případě se však provede zápis do Knihy neshod.

Vzorek je odmítnut, pokud nesplňuje výše uvedené požadavky, nebo pokud je požadováno vyšetření, které zdravotnické laboratoře ÚBLG neprovádějí.

O odmítnutí přijetí vzorku je informován indikující lékař, způsob nápravy je s ním telefonicky projednán a provede se zápis do Knihy neshod.

5.2.3 Manipulace a skladování vzorků před analýzou

CYTOGENETICKÁ LABORATOŘ

- Krev (periferní nebo fetální) – ihned po dodání zpracována nebo skladována do doby zpracování po nezbytně dlouhou dobu (2–3 dny) v lednici. Vzorek nesmí zmrznout. Pro kultivaci je použito cca 0,5 ml, zbytek vzorku (ve většině případů) je uchován v lednici pro případné opakované nebo dodatečné zpracování obvykle několik dní.
- Vzorky plodové vody, choriových klků a potracených plodů – pokud možno ihned po dodání jsou zpracovány a je zahájena jejich kultivace.
- V případě indikace rychlé prenatální diagnostiky je část materiálu odebrána a předána laboratoři molekulární diagnostiky – postup dle **PP-UBLG-01-001**.

LABORATOŘ MOLEKULÁRNÍ DIAGNOSTIKY

- Čerstvá krev na izolaci DNA je po dodání tentýž den zpracována nebo skladována v chladničce po dobu 72 hod. Při nadbytku materiálu (většina případů) je zbytek vzorku zamražen (-20 °C) pro případné další zpracování.
- Tkáň na izolaci DNA je po dodání tentýž den zpracována nebo skladována zamražená (-20 příp. -70 °C).
- Amniocyty jsou ihned zpracovány nebo zamraženy (-20 °C).
- Plodová voda je po dodání do laboratoře centrifugována, aby se izolovaly amniocyty a ty jsou ihned zpracovány nebo zamraženy (-20 °C).
- Choriové klky jsou ihned zpracovány nebo zamraženy (-20 °C).
- Krev na izolaci RNA je ponechána nejprve několik hodin (4 až 72) při laboratorní teplotě a následně zpracována, nebo skladována zamražená (-20 příp. -70 °C).
- Krevní skvrny jsou uchovávány při laboratorní teplotě.
- Stěry z bukalní sliznice jsou uchovávány v mrazáku (-20 °C).
- Tkáň v parafinových bločcích je uchovávána v chladničce.
- Izolovaná DNA ze všech výše uvedených materiálů je uchovávána v chladničce (4°C) nebo (přednostně) v mrazáku (-20 °C).
- Izolovaná RNA je uchovávána hluboce zmražená (-70 °C).



5.3 PROVÁDĚNÁ VYŠETŘENÍ A DOBY ODEZVY

Seznam vyšetření, prováděných na ÚBLG, s uvedením vyšetřovaných genů/mutací, diagnostických metod, odkazy na SOP/PP a s dobami odezvy je k dispozici na internetových stránkách VFN – ÚBLG, viz <http://laboratore.vfn.cz/vysetreni/pracoviste.php?ustav=4>

CYTOGENETICKÁ LABORATOŘ

Karyotyp z plodové vody ^{2) A*)}	<i>odezva do 3 týdnů</i>
Karyotyp z choriových klků ^{2) A*)}	<i>odezva do 4 týdnů</i>
Karyotyp z tkáně potracených plodů ^{A*)}	<i>odezva do 4 týdnů</i>
Karyotyp z periferní krve ^{1) 2) A*)}	<i>odezva do 6 týdnů</i> <i>STATIM = odezva do 10 dnů</i>
Karyotyp z fetální krve ^{2) A*)}	<i>odezva do 10 dnů</i>
Stanovení získaných chromosomových aberací – ZCHA	<i>odezva do 4 týdnů</i>
FISH – detekce mikrolečních syndromů	<i>odezva do 14 dnů (navazuje na kultivaci a přípravu cytogenetického preparátu)</i>
FISH – vyšetření počtu gonosomů	<i>odezva do 14 dnů (navazuje na kultivaci a přípravu cytogenetického preparátu)</i>

¹⁾ akreditace SÚKL

²⁾ EHK – GenQA

^{A*)} akreditováno dle ISO 15 189

LABORATOŘ MOLEKULÁRNÍ DIAGNOSTIKY

Izolace nukleových kyselin	DNA – <i>odezva do 3 pracovních dnů;</i> RNA – <i>odezva do 2 týdnů</i>
Hereditární karcinom prsu ²⁾	<i>mutační analýza, MLPA – odezva do 12 měsíců</i>
Adenomatózní polypóza tlustého střeva (FAP) ¹⁾	<i>mutační analýza</i> <i>vyšetření probanda – odezva do 12 měsíců</i> <i>cílené vyšetření v rodině s identifikovanou mutací – odezva do 2 měsíců</i>
Hereditární nepolypózní karcinom tlustého střeva (Lynchův syndrom) ¹⁾	<i>mutační analýza</i> <i>vyšetření probanda – odezva do 12 měsíců</i> <i>cílené vyšetření v rodině s identifikovanou mutací – odezva do 2 měsíce</i>



Feochromcytom / Paragangliom	mutační analýza <i>vyšetření probanda – odezva do 12 měsíců</i> <i>cílené vyšetření v rodině s identifikovanou mutací – odezva do 2 měsíců</i>
Carneyho trias	mutační analýza <i>vyšetření probanda – odezva do 12 měsíců</i> <i>cílené vyšetření v rodině s identifikovanou mutací – odezva do 2 měsíců</i>
Gitelmanův syndrom (GS) ¹⁾	mutační analýza <i>vyšetření probanda – odezva do 12 měsíců</i> <i>cílené vyšetření v rodině s identifikovanou mutací – odezva do 2 měsíců</i>
Bartterův syndrom (BS) ¹⁾	mutační analýza <i>vyšetření probanda – odezva do 12 měsíců</i> <i>cílené vyšetření v rodině s identifikovanou mutací – odezva do 2 měsíců</i>
Polycystóza ledvin (ADPKD) ¹⁾	vazebná analýza – <i>odezva do 6 měsíců</i> mutační analýza – <i>odezva do 12 měsíců</i>
Hungtingtonova choroba (HD) ^{1,2,A*)}	fragmentační analýza – <i>odezva do 1 měsíce</i>
Spinální muskulární atrofie (SMA)	PCR a RFLP – <i>odezva do 2 měsíců</i>
Myotonická dystrofie 1. typu (MD1)	fragmentační analýza – <i>odezva do 2 měsíců</i>
Cystická fibróza (CF) resp. CFTRpatie ^{3,4,A*)}	reverzní hybridizace – <i>odezva do 2 měsíců</i>
Delece v AZF na Y chromozomu ^{4,A*)}	fragmentační analýza – <i>odezva do 2 měsíců</i>
Syndrom fragilního X (FRAXA) - vyloučení expanze CGG u mužů.	PCR a ELFO – <i>odezva do 2 měsíců</i>
Rychlá prenatální diagnostika - amnioPCR (aneuploidie chromozomů) ^{4,A*)}	metoda QF PCR – <i>odezva do 2. pracovního dne</i>
Neinvazivní stanovení Rh faktoru plodu z mateřské krve (RhD)	real-time PCR – <i>odezva do 3 týdnů</i>
Neinvazivní stanovení pohlaví plodu z mateřské krve	real-time PCR – <i>odezva do 3 týdnů</i>



Zygozita dvojčat	fragmentační analýza – odezva do 1 měsíce
Průkaz pohlaví ⁴⁾	fragmentační analýza – odezva do 3 týdnů
Identifikace osob – průkaz paternity / maternity ⁵⁾	fragmentační analýza – odezva do 1 měsíce
Primární hyperaldosteronismus ¹⁾	PCR a ELFO – odezva do 3 měsíců
Dyschondrosteóza / idiopatický malý vzrůst ^{1,4)}	metoda MLPA – odezva do 3 měsíců mutační analýza – odezva do 12 měsíců
Mikrodeleční syndromy spojené s mentální retardací	metoda MLPA – odezva do 3 měsíců
Trichorhinofalangeální syndrom (gen TRPS1; delece 8q24)	MLPA a mutační analýza – odezva do 6 měsíců
Familiární dysalbuminemická hyperthyroxinemie (FDAH)	mutační analýza – odezva do 3 měsíců
STATIMOVÁ VYŠETŘENÍ – odezva do 1 týdne, případně dohodou	

¹⁾ dotazník k vyšetření, viz kapitola 5.1.3

²⁾ EMQN

³⁾ akreditace SÚKL

⁴⁾ národní MKK

⁵⁾ mezinárodní MKK

A*) akreditováno dle ISO 15 189

5.4 VÝSLEDKY VYŠETŘENÍ

5.4.1 Formy výsledkových zpráv, způsob vydávání výsledků

Všechny výsledkové zprávy v elektronické podobě jsou k nahlédnutí lékařům ambulance ÚBLG v NIS Medea a FONS Openlims. Do databáze NIS Medea a FONS Openlims mají dále přístup pracovníci ÚBLG, kteří k tomu jsou pověřeni vedoucím zdravotnických laboratoří ÚBLG. Lékařům Gynekologicko-porodnické kliniky VFN a 1. LF UK jsou k dispozici stručné výsledky rychlé prenatální diagnostiky v NIS Astraia.

Výsledky všech genetických vyšetření se v tištěné podobě odesílají na adresu indikujícího lékaře. Výsledky potvrzuje a uvolňuje odborný pracovník s atestací.



V případě statimového vyšetření může být výsledek oznámen indikujícímu lékaři také telefonicky.

Elektronická evidence veškerých odeslaných výsledků (doporučených zásilek) mimo VFN probíhá podle nařízení *RD-VFN-16 Spisový a skartační řád – Spisový řád* prostřednictvím osoby k tomu určené.

5.4.2 Opravy vydaných výsledkových zpráv

Pokud dojde ve výsledku k chybě ze strany zdravotnických laboratoří, je proveden zápis do Knihy neshod v souladu s Příručkou kvality (*ZD-UBLG-02*). Dále je učiněn zápis do NIS o pochybení ve výsledku a je informován indikující lékař.

V případě nutnosti opakovat vyšetření z důvodu chyby, provede laboratoř opakované vyšetření na své náklady, bez účtování pojišťovně.

5.5 ŘÍZENÍ KVALITY

Zdravotnické laboratoře jsou akreditovány podle normy ČSN EN ISO 15189. Systém řízení kvality zdravotnických laboratoří je, v souladu s kapitolami 4.2.2 – 4.2.4 Příručky kvality (*ZD-UBLG-02*), uplatňován jednak jako vnitřní a externí kontrola kvality, dále pak systémem interních auditů a kontrolních akcí VFN. Příručka kvality je pro pracovníky ÚBLG k dispozici v tištěné formě jako součást řízené dokumentace zdravotnických laboratoří a dále v elektronické podobě na DMS serveru intranetu VFN.

5.5.1 Vnitřní kontrola kvality

Vnitřní kontrola kvality je prováděna zejména:

- dodržováním požadavků na správnou laboratorní praxi tak, jak je dána touto příručkou.
- dodržováním metrologického řádu ÚBLG (*RD-UBLG-05*) a používáním validovaných přístrojů, podléhajících pravidelným kontrolám a kalibracím dle Metrologického řádu ÚBLG
- pro akreditované metody jsou používány certifikované diagnostické kity (IVD CE) nebo certifikované reagensie
- kontrolou expirace a správným skladováním (dle doporučení výrobce) veškerých reagensií a pomůcek
- verifikací, validací a dodržováním SOP a PP
- zavedením pozitivních a negativních kontrol, včetně kontrol kontaminace
- ověřováním výsledků vyšetření dvojím odečtem, případně dalším typem vyšetření (např. FISH, arrays/mikročipy)

5.5.2 Externí kontrola kvality (EHK)

Externí kontrola kvality (EHK) je prováděna:

- u vybraných vyšetření (cystická fibróza, mikrolece Y-chromozomu, aneuploidie chromozomů metodou QF PCR) zavedenou mezilaboratorní kontrolou, koordinovanou akreditovanou Národní referenční laboratoří pro DNA diagnostiku při ÚHK
- u vyšetření *SHOX* genu na základě písemné dohody s OLG FN Brno



- u Huntingtonovy choroby, hereditárního karcinomu prsu a adenomatózní polypózy tlustého střeva mezinárodní organizací EMQN
- u vyšetření identifikačních (např. průkaz materiálního či paternálního genomu) mezinárodní organizací ISFG
- u cytogenetických vyšetření mezinárodní kontrolou GenQA (Genomics Quality Assessment)

Externí kontroly kvality pro akreditovaná vyšetření probíhají povinně jednou ročně. U ostatních vyšetření dle možností a aktuální situace.

6. Související dokumenty

Přehled laboratorních vyšetření VFN <http://laboratore.vfn.cz/vysetreni/index.php>

Žádanky, dotazníky, informované souhlasy

<http://www.vfn.cz/pracoviste/kliniky-a-oddeleni/ustav-biologie-a-lekarske-genetiky/informace-pro-lekare-a-dalsi-pracovniky-ve-zdravotnictvi/>

ZD-UBLG-02 Příručka kvality
RD-UBLG-05 Metrologický řád
RD-VFN-16 Spisový a skartační řád – Spisový řád

7. Záznam o změnách v dokumentu

Datum změny	Kapitola / strana č.	Popis změny	Změnu provedl

8. Záznam o revizi dokumentu

Datum revize	Jméno/podpis
8.10.2012	vytvořena verze 2 Mgr. Ivan Hrdlička, Ph.D.
19.6.2013	vytvořena verze 3 MUDr. Mihalová
19.12.2016	vytvořena verze 4 Mgr. Ivan Hrdlička, Ph.D.
1.3.2018	vytvořena verze 5 Mgr. Ivan Hrdlička, Ph.D.
26.4.2019	vytvořena verze 6 Mgr. Ivan Hrdlička, Ph.D.

9. Rozdělovník



Směrnice UBLG Laboratorní příručka

SM-UBLG-02

Strana 21 z 21

Verze číslo: 6

Elektronický dokument:

Tento dokument je k dispozici pracovníkům ÚBLG v elektronické podobě na DMS3 serveru na Intranetu VFN po dobu platnosti dokumentu.

Tištěný dokument:

Název	Umístění	Doba uchování
Výtisk č. 1	správce dokumentace	5 let po skončení platnosti
Výtisk č. 2	řízená dokumentace cytogenetické laboratoře	po dobu platnosti
Výtisk č. 3	řízená dokumentace laboratoře molekulární diagnostiky	po dobu platnosti