



Laboratorní příručka

Centrální laboratoř Genomika

Centra molekulární medicíny

CEITEC MU

podklady ke spolupráci mezi komplementem a klinickými pracovišti

Verze 3.2

Platnost od: 4.12.2023

A. Úvod

1. Předmluva

Vážené kolegyně, vážení kolegové, vážení zákazníci předkládáme Vám nabídku našich služeb, které poskytujeme v oblasti laboratorní medicíny.

Tato příručka, připravená v souladu s normou ČSN EN ISO 15189, je jedním z prostředků pro komunikaci mezi lékaři a laboratoří a v neposlední řadě je prezentací naší práce. Obsahuje požadavky pro provedení správného odběru vzorků, manipulaci s nimi a skladování tak, aby nebyl negativně ovlivněn výsledek laboratorních vyšetření. Dále zde najdete seznam vyšetření, které naše laboratoř provádí a v neposlední řadě i požadavky kladené na vzorek, které je nutno splnit.

Laboratorní příručka je součástí řízené dokumentace laboratoře, je pravidelně aktualizována a žadatelům o vyšetření je dostupná na našich webových stránkách.

Doufáme, že Vám naše příručka přinese nejen potřebné informace, ale také inspiraci.

MVDr. Boris Tichý, Ph.D.

B. Informace o laboratoři

1. Identifikace laboratoře, základní údaje

Název organizace: Masarykova univerzita

Název laboratoře: Centrální laboratoř Genomika Centra molekulární medicíny CEITEC MU

Zařazení pracoviště v rámci MU: CEITEC MU

Identifikační údaje:

IČO: 00216224, DIČ: CZ00216224

IČP: 72984171

Bankovní spojení: 85636621/0100

Adresa: Masarykova univerzita Brno, CEITEC MU, Centrální laboratoř Genomika, Kamenice 753/5, Brno, 625 00

Provozní doba laboratoře: Po – Pá : 7:00 – 16:00 (mimo svátky)

Příjem vzorků: Po – Pá : 9:00 – 14:00 (mimo svátky)

Kontakty:

Vedoucí laboratoře:

MVDr. Boris Tichý, PhD.

☎: 549 49 8317

✉: boris.tichy@ceitec.muni.cz

2. Zaměření laboratoře

Pracoviště se zabývá molekulárně biologickou diagnostikou onkologických vyšetření a stejně tak aplikovaným výzkumem v oblasti humánní medicíny.

3. Úroveň a stav akreditace pracoviště

Centrální laboratoř Genomika Centra molekulární medicíny CEITEC MU (CLG) je akreditována dle ČSN EN ISO 15 189:2013.

Úroveň práce a kvalita vyšetřovacích metod je sledována externí kontrolou kvality a systémem operačního řízení vnitřní kontroly kvality. V současné době jsme zapojeni do systému externí kontroly kvality prostřednictvím EMQN (The European Molecular Genetics Quality Network, <http://www.emqn.org/emqn/Home>) v němž námi dosahovaná kvalita stanovení má velmi dobrou úroveň.

4. Organizace laboratoře, její vnitřní členění, vybavení a obsazení

CLG je situována v budově CEITEC MU, přičemž její laboratoře jsou umístěny v 1. a 2. nadzemním podlaží. CLG nedisponuje vlastní odběrovou místností. Místnost pro příjem vzorků je umístěna v 2. nadzemním podlaží.

5. Spektrum nabízených služeb

Laboratoř CLG poskytuje tyto služby:

- Základní, specializovanou a superspecializovanou molekulárně biologickou diagnostiku.
- Konzultační činnost v oblasti prováděných diagnostik.
- Seminární, přednáškovou, výukovou a publikační činnost.

Vyšetření cizích státních příslušníků

Vyšetření se provádí na základě požadavku ordinujícího lékaře. Pro vyplnění žádanky a odběr materiálu platí standardní pravidla. Je třeba uvést, zda se jedná o EU pojištěnce nebo cizince ze zemí mimo EU. Pokud se jedná o EU pojištěnce, je spolu s žádankou třeba dodat i vyplněný formulář S2 (nahrazuje předchozí formulář E 112). CLG fakturuje provedená vyšetření prostřednictvím Účetního oddělení MU. Ceny za stanovení vycházejí z bodové hodnoty daného výkonu a aktuální ceny bodu.

Vyšetření samoplátců

Vyšetření se provádí na základě požadavku ordinujícího lékaře, žádanka musí být jasně označena „Samoplátce“. CLG fakturuje provedená vyšetření ošetřujícímu lékaři nebo přímo pacientovi prostřednictvím Účetního oddělení MU. Ceny za stanovení jsou uvedeny v Ceníku.

Podrobnosti k jednotlivým vyšetřením jsou uvedeny v kapitole F.

Nabídka vyšetřovacích metod se upravuje dle požadavků klinických oborů a poznatků vyplývajících z úrovně vědeckého poznání.

6. Ochrana osobních údajů

Ochrana osobních údajů pacientů v laboratoři je plně v souladu s nařízením vlády č.110/2019 Sb. (Zákon o zpracování osobních údajů).

C. Manuál pro odběry primárních vzorků

1. Základní informace

CLG jako laboratorní pracoviště nedisponuje odběrovým místem pro žádný typ analyzovaného materiálu. Konkrétní postupy odběru jsou tedy v plné kompetenci požadujících zařízení. Tato pracoviště jsou pouze povinna přihlédnout k specifikám, která odběr zejména některých speciálních materiálů vyžadují.

Laboratorní příručka CLG je k dispozici na našich webových stránkách (www.ceitec.cz/clg). Spektrum nabízených vyšetření je uvedeno v kapitole F laboratorní příručky.

2. Požadavkové listy (žádanky), informované souhlasy pacienta

Aktuální verze žádanek a informovaných souhlasů pacienta jsou k dispozici na internetových stránkách laboratoře (www.ceitec.cz/clg).

Zadavatel je povinen na žadance přesně specifikovat druh jím požadovaného vyšetření. V případě nutnosti může vyplnit časovou naléhavost vyšetření. Tato pak musí být vyplněna vždy, jedná-li se o vyšetření urgentní.

Dále jsou povinnými údaji na žadance:

- Identifikační údaje pacienta: jméno a příjmení pacienta, číslo pojištěnce, event. rodné (v případě cizích státních příslušníků identifikační) číslo a kód pacientovy diagnózy dle MKN10 (Mezinárodní statistická klasifikace nemocí a přidružených zdravotních problémů). U cizích státních příslušníků, nebo pacientů, u nichž nelze z čísla pojištěnce spolehlivě určit datum narození, uvádí se tento údaj na žadanku do kolonky Klinická data.
- Identifikace zdravotní pojišťovny.
- Název subjektu, oddělení, kontaktní adresa, telefonický kontakt a IČP požadujícího pracoviště. Dále jméno lékaře (popř. jiné osoby oprávněné požadovat vyšetření), razítko pracoviště a podpis lékaře (popř. jiné osoby oprávněné požadovat vyšetření).
- Informace týkající se odebraného biologického materiálu: datum a čas odběru (tam, kde je to žádoucí), typ odebraného biologického materiálu a anatomickou specifikací místa odběru, je-li to vhodné.
- Účel vyšetření
- Pokud je to opodstatněné tak i doplňkové informace: tj. další upřesňující údaje (např. aktuální léčba, klinický stav), optimálně uváděné v kolonce pro klinická data.

Odběrové nádoby s biologickým materiálem musí být rovněž označeny:

- Identifikačními údaji pacienta: jméno a příjmení pacienta, číslo pojištěnce, případně rok narození pacienta.
- Informací o materiálu: typ materiálu a datum odběru.

Odebraný biologický materiál je po transportu přejímán pracovníky laboratoře CLG, kde proběhne vizuální kontrola kvality vzorku a dále prověření shody mezi vzorkem a přiloženou žadankou.

Postup laboratoře při nesprávné identifikaci biologického materiálu

Při nedostatečné identifikaci pacienta z hlediska nezaměnitelnosti biologického materiálu **se analýza neprovádí**. Odesílající subjekt obdrží informaci o odmítnutí nesprávně identifikovaného biologického materiálu. O odmítnutí analýzy se provede záznam do příslušné příjmové knihy.

Pokud je takovýto vzorek dodán a jedná se o **nenahraditelný vzorek**, laboratoř tento vzorek vyšetří, ale výsledek bude uvolněn pouze tehdy, když požadující lékař (pracoviště)

převezme plnou odpovědnost za identifikaci dodaného vzorku. Pracovník uvede na žádance tuto okolnost, která je pak přenesena do výsledkové zprávy.

Všechny případné změny související s identifikací vzorku a údajů o pacientovi jsou náležitě dokumentovány se jmenovitým vypsáním kdo, kdy a proč změnu provedl. Dokumentace o dodatečných změnách je řazena k žádankám o vyšetření nebo jsou tyto údaje zaznamenány přímo na žádanku.

Postup laboratoře při nesprávně nebo neúplně vyplněné žádance (s výjimkou údajů z předchozí kap.)

Pokud je k dispozici údaj o odesílajícím lékaři a základní identifikace pacienta, laboratoř doplní chybějící údaje po telefonické domluvě. Záznam o doplnění údajů bude proveden přímo na žádanku a bude obsahovat minimálně údaje o datu a času doplnění, kontaktující a kontaktované osobě. Pokud laboratoř zasílá neúplnou žádanku k doplnění zpět na odesílající pracoviště, odpovědný pracovník původní nekompletní žádanku okopíruje a kopie se ponechá do doby, než bude zpět doručena žádanka kompletní. Laboratoř se snaží, aby vzorek pacienta s neúplně nebo nesprávně vyplněnou žádankou mohl být zpracován.

Pokud je k dispozici základní identifikace pacienta, ale nejsou k dispozici identifikační údaje požadujícího lékaře/pracoviště, laboratoř tento vzorek zpracuje do stádia, kdy je možné bezpečné a stabilní skladování vzorku pro případnou analýzu a vyčká, zda nebude některým z požadujících pracovišť vznesen dotaz na výsledky vyšetření. Pokud bude takovýto dotaz vznesen, je požadující pracoviště (lékař) povinen zaslat novou žádanku se všemi potřebnými údaji. V okamžiku, kdy bude tato žádanka v laboratoři k dispozici, laboratoř analýzu dokončí.

Pokud by výše zmíněný dotaz nebyl vznesen ve lhůtě 3 kalendářních měsíců od data doručení vzorku do laboratoře, bude vzorek zlikvidován a původní žádanka trvale archivována.

Pokud by charakter vzorku neumožňoval jeho stabilní skladování po tuto lhůtu, nebo pokud se bude jednat o vzorek nenahraditelný, laboratoř vyšetření provede a žádanku spolu s výsledkem vyšetření archivuje do doby, než bude vznesen dotaz na výsledek.

Není-li k dispozici údaj o odesílajícím lékaři a základní identifikace pacienta, materiál se neanalyzuje, žádanka se trvale archivuje.

CLG akceptuje informované souhlasy jiných pracovišť. Jejich kopii je však nutno vždy dodat spolu s žádankou pro dané vyšetření. Oficiální informované souhlasy našeho pracoviště jsou k dispozici na našich webových stránkách www.ceitec.cz/clg.

3. Požadavky na urgentní vyšetření

V případě, že lékař či žadatel o vyšetření požaduje urgentní vyšetření biologického materiálu, využije stejné žádanky jako pro ostatní běžná vyšetření a zřetelně je označí červeným textem **STATIM** nebo se na žádance zaškrtně příslušné políčko, je-li k dispozici (pro účely laboratoří CLG je toto označení ekvivalentní s označením URGENTNÍ VZOREK) (viz také kap. C-2 laboratorní příručky). Materiál s takto označenou žádankou bude **přednostně** zpracován.

Pověřený pracovník příjmu biologického materiálu přednostně provede kontrolu a identifikaci vzorku a žádanky tak, aby mohl být vzorek přednostně zpracován, zapíše datum a čas převzetí a provede kroky nezbytné k tomu, aby následná analýza mohla proběhnout v nejkratším možném čase.

4. Ústní požadavky na vyšetření

Telefonické požadavky na opakovaná či dodatečná vyšetření lze dodatečně provést ze vzorků již do laboratoře dodaných při dodržení následujících pravidel:

- Dodatečná vyšetření lze telefonicky přiojednat. Tam, kde je to žádoucí je však třeba zaslat informovaný souhlas pacienta s tímto dodatečným vyšetřením.
- Dodatečná vyšetření lze u některých diagnostik provádět s určitým omezením, které je dáno druhem nukleové kyseliny, která byla z dodaného materiálu vyizolována pro

potřeby předchozí diagnostiky (viz kapitola F - Abecední seznam laboratorních vyšetření).

5. Používaný odběrový systém

Laboratoř CLG nedisponuje odběrovou místností. Materiál pro vyšetření (tj. izolaci nukleových kyselin a jejich následnou analýzu) je odebírán v příslušných ambulancích, specializovaných odběrových centrech nebo na lůžkových odděleních požadujících pracovišť. Odběrový systém je plně v kompetenci požadujícího pracoviště. Požadující pracoviště také přebírá plnou odpovědnost za nevhodně zvolený odběrový systém pro daný typ vyšetření. Nároky kladené na materiál, jeho odběr a přepravu jsou uvedeny vždy u konkrétního vyšetření v kapitole F této příručky.

Laboratoř může vyšetřit i již na jiných kooperujících pracovištích (např. FN Motol, ÚHKT, FN Olomouc, atd.) připravené buněčné lyzáty nebo izoláty nukleových kyselin. V takovýchto případech však CLG neručí za preanalytickou fázi vyšetření.

6. Příprava pacienta před vyšetřením

Většina vzorků zpracovávaných laboratoří neklade na přípravu pacienta žádné nároky. Některé speciální vzorky jsou odebírány na lůžkových odděleních požadujících pracovišť, kde se o přípravu pacienta před odběrem odborně postará obsluhující personál a ošetřující lékař. Pokud materiál vyžaduje speciální přípravu pacienta před odběrem, je toto dostatečně zdůrazněno v části F laboratorní příručky u konkrétních stanovení.

Poučení pacienta o přípravě k odběru biologického materiálu provádí ošetřující lékař nebo zdravotní sestra.

7. Odběr vzorku, typ a množství vzorku

V této kapitole je uveden abecední seznam biologických vzorků, které laboratoř CLG zpracovává. Následný text je věnován krátkému popisu materiálu, odběru a jeho množství.

Pro část biologických materiálů je na odběrových nádobkách zřetelně vyznačeno optimální odebírané množství. Podstatné nedodržení odebíraného objemu, způsobené například vadnou technikou odběru, či technickou závadou materiálu může být důvodem k neprovedení vyšetření.

Amniocentéza

Jedná se o transabdominální průnik punkční jehly do amniální dutiny za současné ultrazvukové kontroly. Minimální odebrané množství potřebné pro vyšetření je 10 ml, optimum je 15-20 ml. Kultivace materiálu se pohybuje mezi 10 – 20 dny podle množství a typu amniocytů, které jsou následně použity k izolaci DNA. **Laboratoř CLG neprovádí kultivaci amniocytů!** V případech, kdy je tato kultivace nutná, je požadující pracoviště povinno zajistit si tuto kultivaci na jiném pracovišti!

Transabdominální amniocentéza je prováděna po 15. týdnu gravidity, nejčastěji v období mezi 16.-18. týdnem. Za fyziologického stavu jde o slabě nažloutlou řídkou tekutinu. Patologické stavy plodové vody jsou signalizovány změnou barvy (červená – poranění placenty, tmavě hnědá – starší krvácení nebo odumření plodu, zelená – intrauterinní dechová tíseň).

Biopsie choria

Pod ultrazvukovou kontrolou se zavádí odběrová jehla transabdominálně nebo transcervikálně do choriové plotny a pod tlakem se nasává shluk klků (chorionic villus sampling – CVS). Odebrané choriové klky jsou vloženy do mikroskopu a do izolace DNA skladovány v chladícím zařízení při teplotě 4 – 9 °C.

CVS je možné provádět od ukončeného 10. týdne gravidity. DNA analýza z CVS se vyznačuje rizikem falešné positivity výsledku, jelikož při odběru choriových klků dochází často ke kontaminaci mateřskou krví. Případnou kontaminaci je do určité míry možné potlačit kultivací choriových klků. **Laboratoř CLG kultivaci neprovádí!** V případech, kdy je tato kultivace nutná, je požadující pracoviště povinno zajistit si tuto kultivaci na jiném pracovišti!

Bukální stěr

Stěr se provádí z bukální sliznice pacienta tak, aby nedošlo ke kontaminaci krví pacienta. Stěrka se posléze vloží do sterilní zkumavky a transportuje se při pokojové teplotě ještě týž den do laboratoře. V laboratoři se ihned provádí izolace DNA z buněk bukální sliznice pacienta.

DNA

Ke genetickému vyšetření je vhodné dodat DNA rozpuštěnou např. v TE pufru (roztok chránící DNA před degradací). DNA vyizolovaná z různých materiálů je skladována krátkodobě (dny) při 4°C a dlouhodobě (týdny – měsíce) při -20°C. V případě zaslání vyizolované DNA CLG neručí za preanalytickou fázi.

Likvor (mozkomíšni mok)

Likvor je nejčastěji získáván tzv. lumbální punkcí, tj. napíchnutím páteřního kanálu v bederní oblasti pacienta. Optimální je odběr 1-3 ml tekutiny do sterilní zkumavky bez aditiv.

PCR produkty

Přeprava PCR produktů probíhá při pokojové teplotě, skladování krátkodobě při 4°C, dlouhodobě při -20°C.

Periferní krev

Odběr periferní krve je prováděn z periferní žíly, nejlépe uzavřeným odběrovým systémem do sterilní náběrové zkumavky (sterilita nutná z hlediska absence RNáz při izolaci RNA). Doporučován je odběr do 10 ml zkumavek obsahujících protisrážlivé činidlo (standardně EDTA, event. citrát, pro **molekulárně genetická vyšetření je heparin nežádoucí**).

8. Nezbytné operace se vzorkem, stabilita

Potřebné informace jsou uvedeny v předchozí kapitole u jednotlivých typů materiálu. Pokud některé z prováděných vyšetření vyžaduje speciální operace s primárním materiálem nebo pokud by se jednalo o případy, kdy by mohla být ohrožena stabilita vzorku, je toto dostatečně zdůrazněno v kapitole F laboratorní příručky u konkrétních vyšetření.

9. Základní informace k bezpečnosti při práci se vzorky

Každý vzorek biologického materiálu je považován za potenciálně infekční, proto je nutné zamezit možnému kontaktu pacientů i veřejnosti s biologickým materiálem po odběru. Svoz vzorků je zajišťován v uzavřených transportních nádobách tak, aby během transportu nedošlo k jeho rozlití nebo jinému znehodnocení, nedošlo ke kontaminaci osob nebo dopravních prostředků použitých k přepravě. Vzorky by měly být umístěny ve stojánku nebo zabezpečeny v přepravním kontejneru. V případě rozlití je třeba se řídit platnými zásadami dezinfekce a dekontaminace. Potřísnění vnější strany zkumavky nebo žádanky biologickým materiálem může být důvodem odmítnutí příjmu vzorku do laboratoře.

10. Informace k dopravě vzorků

Transport biologických vzorků do laboratoře by měl být uskutečněn co možná nejdříve po odběru, tj. s minimální časovou prodlevou. Transport materiálu do laboratoře zajišťuje zadavatel a tento za něj také zodpovídá.

V případě, kdy doba od náběru materiálu do předání laboratoři CLG nepřesáhne 3 hodiny, není ve většině případů nutno materiál transportovat za zvláštních podmínek (specificky v kapitole F laboratorní příručky). Pouze je nutno dbát na to, aby vzorek biologického materiálu nebyl vystaven zahřátí (sluncem, držením v ruce, apod.) nebo mrazu v zimních měsících. Je-li doba od náběru po předání delší než 3 hodiny, je optimální vzorek transportovat při 4 °C (v nádobách k tomu určených).

Laboratoř CLG přijímá i vzorky biologického materiálu došlé poštou. Vzhledem k tomu, že během takového typu přepravy není ani laboratoř ani požadující pracoviště schopno zaručit bezchybnou preanalytickou fázi, zříká se laboratoř předem zodpovědnosti za kvalitu došlého materiálu. U hodnocení výsledků vyšetření získaných z takového materiálu je třeba brát v úvahu nestandardní transport do laboratoře. Veškerou zodpovědnost za tyto komplikace přebírá požadující pracoviště. U vzorků došlých poštou bude tato skutečnost zaznamenána na žádance spolu s datem a podpisem osoby, která vzorky přebrala.

11. Informace o zajišťovaném svozu vzorků

CLG svoz vzorků nezajišťuje.

D. Preanalytické procesy v laboratoři

1. Příjem žádank a vzorků

Biologický materiál je do laboratoře CLG přijímán pouze v pracovních dnech v časovém rozmezí mezi 9 a 14 hod. Kdykoliv po této době v pracovní dny a dále ve dnech pracovního klidu je pro příjem a zpracování materiálu nutná předchozí telefonická domluva. Ze strany zadavatele musí být komunikujícím vždy lékař.

CLG nedisponuje odběrovým pracovištěm, veškerý biologický materiál je do CLG transportován buď přímo pracovníky laboratoře (z areálu PMDV FN Brno) nebo prostřednictvím svazu sanitními vozy. Místnost příjmu materiálu je umístěna v 2. nadzemním podlaží budovy.

Aktuální verze žádanky je k dispozici na internetových stránkách CLG (<http://clg.ceitec.cz/>).

Pracovník na příjmu provede :

- Přířazení krve nebo jiného biologického materiálu k žádance dle povinných identifikačních znaků - jméno a příjmení pacienta, číslo pojištění (případně rok narození), materiál a datum odběru.
- Kontrolu žádanky
 - Identifikace pacienta
 - ✓ příjmení, jméno pacienta (pojištění)
 - ✓ číslo pojištění
 - ✓ zdravotní pojišťovna pacienta
 - ✓ základní diagnóza
 - Identifikace odesílajícího subjektu
 - ✓ jméno lékaře, IČP
 - ✓ odbornost
 - ✓ razítko a podpis lékaře
 - ✓ telefon nebo jiný kontakt pro případné dotazy či sdělení urgentního výsledku
 - Identifikace materiálu
 - ✓ typ materiálu
 - ✓ datum odběru vzorku
 - ✓ urgentnost dodání (urgentní, STATIM, atd.)
 - ✓ požadovaná vyšetření
- Kontrolu správnosti dodané krve nebo ostatního biologického materiálu
 - ✓ neporušenost obalu
 - ✓ správnost odběru - množství, protisrážlivé činidlo, druh zkumavky

2. Kritéria pro přijetí nebo odmítnutí vadných (kolizních) primárních vzorků

Kritéria pro přijetí primárních vzorků

Nezbytnou identifikaci biologického materiálu tvoří příjmení pacienta a číslo pojištění (rodné číslo), jinak je nutné materiál odmítnout (viz dále). Pokud je nádoba s biologickým materiálem označena pouze jménem pacienta a chybí další povinné identifikační údaje, může ji laboratoř přijmout za předpokladu, že je jednoznačně připojena k žádance s kompletní identifikací pacienta (přilepením, v uzavřeném obalu a podobně).

Kritéria pro odmítnutí primárních vzorků

- Žádanku s biologickým materiálem, na které chybí nebo jsou nečitelné základní údaje pacienta (číslo pojištěnce, příjmení) - pokud se nejedná o nenahraditelný vzorek (viz část D3)
- Nádobu s biologickým materiálem, kde není způsob identifikace materiálu z hlediska nezaměnitelnosti dostatečný - pokud se nejedná o nenahraditelný vzorek (viz část D3)
- Neoznačenou nádobu s biologickým materiálem – laboratoř takovýto vzorek přijme pouze v případě, že se jedná o nenahraditelný vzorek. Za takovýto vzorek musí převzít písemně odpovědnost požadující lékař. Pokud tak neučiní, nebude uvolněn výsledek (viz část D3)
- Biologický materiál bez žádanky – pokud se nejedná o nenahraditelný vzorek (viz část D3)
- Žádanku nebo odběrovou nádobu znečištěnou biologickým materiálem - pokud se nejedná o nenahraditelný vzorek (viz část D3)
- Nádobu s biologickým materiálem, kde zjevně došlo k porušení doporučení o preanalytické fázi - pokud se nejedná o nenahraditelný vzorek (viz část D3)
- Vzorek materiálu došlý poštou, u něž je porušena obálka (obal) takovým způsobem, že mohlo dojít k nekontrolovatelné manipulaci se vzorkem - pokud se nejedná o nenahraditelný vzorek (viz část D3)

3. Postupy při nesprávné identifikaci vzorku nebo žádanky

Postup laboratoře při nesprávné identifikaci biologického materiálu

Při nedostatečné identifikaci pacienta z hlediska nezaměnitelnosti biologického materiálu **se analýza neprovádí**. Odesílající subjekt obdrží informaci o odmítnutí nesprávně identifikovaného biologického materiálu. O odmítnutí analýzy se provede záznam do příslušné příjmové knihy.

Pokud je takovýto vzorek dodán a jedná se o **nenahraditelný vzorek**, laboratoř tento vzorek vyšetří, ale výsledek bude uvolněn pouze tehdy, když požadující lékař (pracoviště) převezme plnou odpovědnost za identifikaci dodaného vzorku. Pracovník příjmu uvede na žádance tuto okolnost, která je pak přenesena do výsledkové zprávy.

Všechny případné změny související s identifikací vzorku a údajů o pacientovi jsou náležitě dokumentovány se jmenovitým vypsáním kdo, kdy a proč změnu provedl. Dokumentace o dodatečných změnách je řazena k žádankám o vyšetření nebo jsou tyto údaje zaznamenány přímo na žádanku.

Postup laboratoře při nesprávné nebo neúplné identifikaci na žádance (s výjimkou údajů z předchozího textu)

Pokud je k dispozici údaj o odesílajícím lékaři a základní identifikace nemocného, laboratoř doplní chybějící údaje po telefonické domluvě. Záznam o doplnění údajů bude proveden přímo na žádanku a bude obsahovat minimálně údaje o datu a času doplnění, kontaktující a kontaktované osobě. Pokud laboratoř zasílá neúplnou žádanku k doplnění zpět na odesílající pracoviště, odpovědný pracovník původní nekompletní žádanku okopíruje a kopie se ponechá do doby, než bude zpět doručena žádanka kompletní. Laboratoř se snaží, aby vzorek pacienta s neúplně nebo nesprávně vyplněnou žádankou mohl být zpracován.

Pokud je k dispozici základní identifikace nemocného, ale nejsou k dispozici identifikační údaje požadujícího lékaře/pracoviště, laboratoř tento vzorek zpracuje do stádia, kdy je možné bezpečné a stabilní skladování vzorku pro případnou analýzu a vyčká, zda nebude některým z požadujících pracovišť vznesen dotaz na výsledky vyšetření. Pokud bude takovýto dotaz vznesen, je požadující pracoviště (lékař) povinen zaslat novou žádanku se všemi potřebnými údaji. V okamžiku kdy bude tato žádanka v laboratoři k dispozici, laboratoř analýzu dokončí.

Pokud by výše zmíněný dotaz nebyl vznesen ve lhůtě 3 kalendářních měsíců od data doručení vzorku do laboratoře, bude vzorek zlikvidován a původní žádanka trvale archivována.

Pokud by charakter vzorku neumožňoval jeho stabilní skladování po tuto lhůtu, nebo pokud se bude jednat o vzorek nenahraditelný, laboratoř vyšetření provede a žádanku spolu s výsledkem vyšetření archivuje do doby, než bude vznesen dotaz na výsledek.

Není-li k dispozici údaj o odesílajícím lékaři a základní identifikace nemocného, materiál se neanalyzuje, žádanka se trvale archivuje.

4. Vyšetřování smluvními laboratořemi

Laboratoř CLG nevyužívá služeb smluvních laboratoří.

E. Vydávání výsledků a komunikace s laboratoří

1. Hlášení výsledků v kritických intervalech

V případě pozitivního nálezu u urgentního vyšetření se výsledky nahlásí telefonicky ošetřujícímu lékaři. Do komentáře k příslušné žádance se zaznamená komu, a kdy byl výsledek ohlášen. Výsledky hlásí příslušný VŠ pracovník. Následně je výsledek odeslán také v písemné podobě standardní cestou.

Výrazně patologické výsledky se neprodleně telefonují požadujícímu pracovišti (oddělení, klinice) bez ohledu na to, zda se jedná o urgentní nebo rutinní vyšetření.

2. Informace o formách vydávání výsledků

Výsledky vyšetření se vydávají vždy v tištěné podobě. V některých případech je možné i telefonické sdělení výsledku či zaslání výsledkové zprávy v elektronické podobě – v takovýchto případech však vždy následuje vydání výsledku v tištěné podobě.

Tištěné výsledky

Tištěné výsledkové listy obsahují:

- jasnou a nezměnitelnou identifikaci vyšetření
- jednoznačnou identifikaci pacienta (jméno, příjmení, číslo pojištěnce)
- diagnózu pacienta
- identifikaci laboratoře, která výsledek vydala
- identifikaci žadatele (jméno, adresa, IČP)
- datum a čas odběru primárního vzorku (je-li k dispozici)
- datum přijetí vzorku laboratoří
- datum a čas vydání nálezu
- druh biologického materiálu
- výsledek vyšetření
- v případě potřeby textovou interpretaci výsledků
- případné komentáře (např. ke kvalitě vzorku)
- identifikace osoby, která autorizovala uvolnění nálezu

Tištěné výsledkové listy jsou rozeslány k žadatelům prostřednictvím České pošty na určené adresy.

Telefonické výsledky

Telefonicky se hlásí výsledky urgentních vyšetření a výrazně patologické výsledky. Telefonicky se výsledky zásadně nesdělují pacientům, ani jasně neidentifikovaným zdravotnickým pracovníkům. Současně následuje vydání a odeslání výsledku také v písemné podobě.

Elektronické hlášení

Výsledkové listy jsou v některých případech na vyžádání ošetřujícího lékaře zaslány nejprve prostřednictvím e-mailu následně i v tištěné podobě.

Pokud jsou výsledkové listy zasílány do NIS jiných zdravotnických zařízení, zajišťují jejich kódování tyto NISy. V případě zasílání výsledkových listů na emaily umístěné na komerčních serverech, jsou příslušné soubory kryty předem domluveným heslem.

3. Typy nálezů a laboratorních zpráv a jejich popis

- **Konečná výsledková zpráva** - jedná se o výsledkovou zprávu zaslouanou žadateli se všemi požadovanými vyšetřeními.
- **Výsledková zpráva s komentářem** – jedná se o výsledkovou zprávu s uvedením odborného stanoviska k výsledku vyšetření v komentáři výsledkové zprávy (např. klinická interpretace lékařem).

4. Vydávání výsledků přímo pacientům

Pacientům se výsledkové zprávy předávají na základě vyplněné žádosti (formulář F/CLG/57028 Žádost o nahlédnutí do zdravotnické dokumentace/o pořízení výpisů, opisů nebo kopií zdravotnické dokumentace). Vždy je však informován požadující lékař.

5. Opakovaná a dodatečná vyšetření

Podmínky pro provedení dodatečných vyšetření jsou diskutovány v kapitole C – 4.

V případě opakovaných vyšetření je nutno dodat novou žádanku. Opakovaná vyšetření lze provést pouze v případě, že původní vzorek nebyl spotřebován během předchozí analýzy.

6. Změny výsledků a nálezů

Opravu výsledkových listů lze provádět pro:

- identifikační část
- výsledkovou část

Oprava identifikační části

Opravou identifikační části se rozumí oprava čísla pojištěnce, změna pojišťovny a změna nebo významná oprava příjmení a jména pacientů před odesláním výsledkového listu. Oprava se také týká všech změn příjmení (vdané ženy apod.). Oprava identifikace (čísla pojištěnce nebo příjmení a jména) se provádí buď při zadávání požadavků, nebo v rámci oprav databáze. Je dohledatelná původní a opravená verze výsledku včetně identifikace pracovníka, který změnu provedl.

Oprava výsledkových listů

V případě již uvolněného chybného výsledku je vždy informován žadatel. Je okamžitě domluven systém nápravy např. opakovaná analýza, oprava chybného výsledku. Následně je vydána nová výsledková zpráva, která je doplněna textem, který nese informaci o tom, která výsledková zpráva se nahrazuje a z jakého důvodu. V případě, že laboratoř zjistí chybně vydaný nález, komunikuje s žadatelem vedoucí laboratoře.

Chybné výsledky je nutno považovat za zjištění závažné neshody.

7. Intervaly od dodání vzorku k vydání výsledku (TAT)

Laboratoř po konzultaci s žadateli má stanoveny doby odezvy laboratoře (turnaround time) pro každé vyšetření (viz část F). Tato doba je definována od příjmu vzorku do laboratoře po vydání výsledku. Tato doba vyhovuje klinickým potřebám.

Pokud dojde k překročení této doby tak, že by mohla být ohrožena kvalita péče o pacienta, upozorní laboratoř na tuto skutečnost a sleduje dále tento případ do úplného vyřízení.

Dostupnost výsledků při indikaci „STATIM“ je závislá na druhu konkrétního vyšetření - podrobněji viz část F.

8. Konzultační činnost laboratoře

Lékaři mohou volat do laboratoře a požadovat informace a konzultace týkající se prováděných vyšetření. Kvalifikovaní pracovníci laboratoře provádí pouze biologickou interpretaci výsledků (Viz doporučení Společnosti Lékařské genetiky ČLS JEP). Odborné informace jsou poskytovány vedoucím laboratoře, případně pracovníky, kteří jednotlivá vyšetření provádějí. Klinickou interpretaci výsledků provádí lékař.

Laboratoř mimo jiné zajišťuje konzultační činnost i formou seminářů a přednášek. CLG disponuje vlastní přednáškovou místností s potřebným technickým vybavením.

9. Způsob řešení stížností

Kromě drobných připomínek k práci laboratoře, které přijímá, okamžitě řeší a následně informuje svého nadřízeného kompetentní pracovník laboratoře, je vyřizování stížností věcí vedoucího laboratoře.

Stížnosti lze podávat na:

- průběh provádění laboratorního vyšetření,
- rozsah prováděného laboratorního vyšetření,
- termín provedení laboratorního vyšetření,
- výsledky laboratorního vyšetření,
- způsob jednání pracovníků laboratoře.

Přijmutí stížnosti

Drobnou připomínku k práci laboratoře řeší okamžitě pracovník, který stížnost přijal, je-li to v jeho kompetenci. Jinak předává stížnost vedoucímu laboratoře.

Při zjevně neoprávněné stížnosti pracovník předává stížnost k řešení vedoucímu laboratoře.

Vyřízení ústní stížnosti

Jde-li o drobnou připomínku k práci laboratoře a lze ji vyřešit okamžitě, učiní se tak. Tento typ stížnosti se nezaznamenává.

Závažnější stížnost, kterou lze vyřešit ihned, vyřeší pracovník, který stížnost přijal a ohlásí stížnost a její řešení vedoucímu laboratoře, který stížnost a její řešení zaznamená do knihy stížností.

Není-li možné vyřešit stížnost okamžitě, sdělí se návrh řešení a způsob odpovědi.

Vyřízení písemné stížnosti

Písemnou stížnost řeší vždy vedoucí laboratoře, stížnost se zaznamenává do knihy stížností. Je-li možné stížnost vyřídit ihned, učiní se tak písemně.

Není-li možné stížnost vyřešit ihned, navrhne se postup řešení. Stěžující si osobě je ihned písemně odesláno oznámení o registraci stížnosti se stručným vyjádřením o dalším postupu vyřizování stížnosti.

Termíny pro vyřízení stížností

Pokud stížnost není řešena ihned, je termín na vyřízení stížnosti 30 pracovních dnů. V tomto termínu oznámí odpovědný pracovník lékař (nebo pacientovi) výsledek šetření. V případě, že nelze v tomto termínu stížnost dořešit, informuje stěžovatele o dosavadním postupu (např. znalecký posudek).

F. Množina laboratorních vyšetření poskytovaných laboratoří včetně popisu položek

1) Analýza strukturních aberací metodou arrayCGH

Název	Vyšetření DNA pomocí aCGH		
Komponenta	Celogenomová DNA		
Druh veličiny	Zisky a ztráty genetického materiálu	Jednotka	bp
Metoda	Izolace DNA, značení fluorochromem, hybridizace na array s navázanými probami, scanování čipu		
Vyšetřovaný materiál	1) Periferní krev, 2) DNA, 3) tumorová tkáň, 4) plodová voda		
Odběr do	1) Zkumavka s EDTA, 2) TA, TE nebo AE pufr 3) zamrazeno na -80°C 4) Sterilní zkumavka/sterilní stříkačka		
Odebírané množství	1) 2,5 ml, nejlépe v duplikátu 2) množství odpovídající minimálně 500 ng DNA o minimální koncentraci 35 ng/ul 3) 1 mm ³ tkáně 4) min. 10 ml		
Pokyny k odběru	1) zkumavky s heparinem jsou nežádoucí 3) nelze použít FFPE tkáň, protože její DNA bývá příliš fragmentovaná 4) minimalizovat kontaminaci mateřskou krví		
Manipulace s materiálem, transport	1) + 2) transport při běžné teplotě nebo chlazené, nezahřívát, 3) transport ve zmrazeném stavu 4) transport v chladu, do 24 hod		
Stabilita vzorku	1) týden při 4°C, 2) cca 1 měsíc při 4°C 3) 12 měsíců při -80°C 4) 24 hod při 2-6°C		
Typy nálezů a jejich popis	Genotyp: - bez aberací - s aberacemi (ztráty a zisky genetické informace; amplifikace, delece)		
Referenční rozmezí	Není		
Pokyny pro pacienta	Nejsou		
Pokyny pro oddělení	viz část věnována odběru, transportu, manipulaci a stabilitě vzorku		
Omezení a interference	Šetrné zacházení s vyizolovanou DNA. Třepání na vortexu nebo nešetrné propipetování může způsobit fragmentaci genomové DNA.		
Dostupnost	Po – Pá (7:00 – 15:00), po předchozí telefonické domluvě lze i o víkendech a svátcích (pouze statimová vyšetření)		
Doba odezvy	3 – 40 pracovních dní		
Podmínky pro dodatečná vyšetření	Dostatek materiálu po předchozí analýze a dodání nové žádanky a informovaného souhlasu.		
Poznámky	V případě nedostatečného množství DNA ve vzorku bude dotčené pracoviště požádáno o další vzorek		
SOP	SA/CLG/50001		

2) Karcinom prsu a ovaria; geny BRCA1 a BRCA2 – sekvenace metodou masivně paralelního sekvenování a analýza intragenových přestaveb metodou MLPA

Název	Karcinom prsu a ovaria; geny BRCA1 a BRCA2 – sekvenace metodou masivně paralelního sekvenování a analýza intragenových přestaveb metodou MLPA		
Komponenta	Kódující sekvence (exony) genů BRCA1/2		
Druh veličiny	SNP, inserce, delece, CNV	Jednotka	bp
Metoda	Multiplex PCR, univerzální PCR (s MID pro Illumina NextSeq), gelová elektroforéza, příprava sekvenační knihovny, NGS (NextSeq)		
Vyšetřovaný materiál	1) Periferní krev, 2) DNA		
Odběr do	1) Zkumavka s EDTA, 2) TA, TE nebo AE pufr		
Odebírané množství	1) 2,5 ml, nejlépe v duplikátu 2) množství odpovídající minimálně 500 ng DNA o minimální koncentraci 35 ng/ul		
Pokyny k odběru	1) zkumavky s heparinem jsou nežádoucí		
Manipulace s materiálem, transport	1) + 2) transport při běžné teplotě nebo chlazené, nezahřívát		
Stabilita vzorku	1) týden při 4°C, 2) cca 1 měsíc při 4°C		
Typy nálezů a jejich popis	<ul style="list-style-type: none"> - benigní varianty - každý jedinec má v genech BRCA1 a 2 množství benigních variant, které ale nemají žádný klinický význam - patogenní varianty - často jde o malé delece či duplikace, které způsobují posun čtecího rámce a tím vznik předčasného stop kodonu. Dále to mohou být SNP, které už byly v literatuře a databázích popsány jako patogenní - varianty nejasného klinického významu - u vzácných SNP (méně než 1% v obecné populaci) můžeme nalézt varianty, které zatím nebyly v literatuře popsány, a tudíž není jasné, zda jsou patogenní nebo neutrální 		
Referenční rozmezí	Platná referenční genomová sekvence		
Pokyny pro pacienta	Nejsou		
Pokyny pro oddělení	viz část věnována odběru, transportu, manipulaci a stabilitě vzorku		
Omezení a interference	Šetné zacházení s vyizolovanou DNA. Třepání na vortexu nebo nešetrné propipetování může způsobit fragmentaci genomové DNA.		
Dostupnost	Po – Pá (7:00 – 15:00), po předchozí telefonické domluvě lze i o víkendech a svátcích (pouze statimová vyšetření)		
Doba odezvy	3 – 90 pracovních dní		
Podmínky pro dodatečná vyšetření	Dostatek materiálu po předchozí analýze a dodání nové žádanky a informovaného souhlasu.		
Poznámky	Pokud není metodou NGS odhalena přítomnost patogenní varianty v genech BRCA1/2, je vyšetření doplněno o metodu MLPA, kterou lze		



	odhalit případnou přítomnost větších delecí a amplifikací, které nejsou pomocí NGS detekovatelné.
SOP	SA/CLG/50004, SA/CLG/50006

3) Defekty dalších genů u familiárních karcinomů prsu nebo ovarií v případě negativy BRCA1 a BRCA2

Název	Defekty dalších genů u familiárních karcinomů prsu nebo ovarií v případě negativy BRCA1 a BRCA2 – sekvenace metodou masivně paralelního sekvenování
Komponenta	Kódující sekvence (exony) vybraných genů
Druh veličiny	SNP, inserce, delece, CNV Jednotka bp
Metoda	Příprava sekvenační knihovny a obohacení knihovny o cílové sekvence, masivně paralelní sekvenování
Vyšetřovaný materiál	1) Periferní krev, 2) DNA
Odběr do	1) Zkumavka s EDTA, 2) TA, TE nebo AE pufr
Odebírané množství	1) 2,5 ml, nejlépe v duplikátu 2) množství odpovídající minimálně 500 ng DNA o minimální koncentraci 35 ng/ul
Pokyny k odběru	1) zkumavky s heparinem jsou nežádoucí
Manipulace s materiálem, transport	1) + 2) transport při běžné teplotě nebo chlazené, nezahřívát
Stabilita vzorku	1) týden při 4°C, 2) cca 1 měsíc při 4°C
Typy nálezů a jejich popis	<ul style="list-style-type: none"> - benigní varianty - každý jedinec má v genech BRCA1 a 2 množství benigních variant, které ale nemají žádný klinický význam - patogenní varianty - často jde o malé delece či duplikace, které způsobují posun čtecího rámce a tím vznik předčasného stop kodonu. Dále to mohou být SNP, které už byly v literatuře a databázích popsány jako patogenní - varianty nejasného klinického významu - u vzácných SNP (méně než 1% v obecné populaci) můžeme nalézt varianty, které zatím nebyly v literatuře popsány, a tudíž není jasné, zda jsou patogenní nebo neutrální
Referenční rozmezí	Platná referenční genomová sekvence
Pokyny pro pacienta	Nejsou
Pokyny pro oddělení	viz část věnována odběru, transportu, manipulaci a stabilitě vzorku
Omezení a interference	Šetrné zacházení s vyizolovanou DNA. Třepání na vortexu nebo nešetrné propipetování může způsobit fragmentaci genomové DNA.
Dostupnost	Po – Pá (7:00 – 15:00), po předchozí telefonické domluvě lze i o víkendech a svátcích (pouze statimová vyšetření)
Doba odezvy	3 – 90 pracovních dní
Podmínky pro dodatečná vyšetření	Dostatek materiálu po předchozí analýze a dodání nové žádanky a informovaného souhlasu.



Poznámky	Toto vyšetření je prováděno u pacientů, kteří jsou tzv. BRCA negativní (nebyla u nich v genech BRCA1/2 nalezena žádná patogenní varianta). Analyzované geny musí specifikovat odesílající lékař.
SOP	SA/CLG/50005

4) Defekty genů u familiálních nádorových nemocí kromě karcinomu prsu a ovaria

Název	Defekty genů u familiálních nádorových nemocí kromě karcinomu prsu a ovaria - sekvenace metodou masivně paralelního sekvenování	
Komponenta	Kódující sekvence (exony) vybraných genů	
Druh veličiny	SNP, inserce, delece, CNV	Jednotka bp
Metoda	Příprava sekvenační knihovny a obohacení knihovny o cílové sekvence, masivně paralelní sekvenování	
Vyšetřovaný materiál	1) Periferní krev, 2) DNA	
Odběr do	1) Zkumavka s EDTA, 2) TA, TE nebo AE pufr	
Odebírané množství	1) 2,5 ml, nejlépe v duplikátu 2) množství odpovídající minimálně 500 ng DNA o minimální koncentraci 35 ng/ul	
Pokyny k odběru	1) zkumavky s heparinem jsou nežádoucí	
Manipulace s materiálem, transport	1) + 2) transport při běžné teplotě nebo chlazené, nezahřívát	
Stabilita vzorku	1) týden při 4°C, 2) cca 1 měsíc při 4°C	
Typy nálezů a jejich popis	<ul style="list-style-type: none"> - benigní varianty - každý jedinec má v genech množství benigních variant, které ale nemají žádný klinický význam - patogenní varianty - často jde o malé delece či duplikace, které způsobují posun čtecího rámce a tím vznik předčasného stop kodonu. Dále to mohou být SNP, které už byly v literatuře a databázích popsány jako patogenní - varianty nejasného klinického významu - u vzácných SNP (méně než 1% v obecné populaci) můžeme nalézt varianty, které zatím nebyly v literatuře popsány, a tudíž není jasné, zda jsou patogenní nebo neutrální 	
Referenční rozmezí	Platná referenční genomová sekvence	
Pokyny pro pacienta	Nejsou	
Pokyny pro oddělení	viz část věnována odběru, transportu, manipulaci a stabilitě vzorku	
Omezení a interference	Šetné zacházení s vyizolovanou DNA. Třepání na vortexu nebo nešetné propipetování může způsobit fragmentaci genomové DNA.	
Dostupnost	Po – Pá (7:00 – 15:00), po předchozí telefonické domluvě lze i o víkendech a svátcích (pouze statimová vyšetření)	
Doba odezvy	3 – 90 pracovních dní	
Podmínky pro dodatečná vyšetření	Dostatek materiálu po předchozí analýze a dodání nové žádanky a informovaného souhlasu.	
Poznámky	Analyzované geny musí specifikovat odesílající lékař.	
SOP	SA/CLG/50005	

5) Stanovení známé varianty genů BRCA1 a BRCA2 metodou Sangerova sekvenování

Název	Stanovení známé varianty genů BRCA1 a BRCA2 metodou Sangerova sekvenování	
Komponenta	Kódující sekvence (exony) vybraných genů	
Druh veličiny	SNP, inzerce, delece, CNV	Jednotka bp
Metoda	PCR amplifikace, přečištění, PCR značící, sekvenování na automatickém kapilárním sekvenátoru	
Vyšetřovaný materiál	1) Periferní krev, 2) DNA	
Odběr do	1) Zkumavka s EDTA, 2) TA, TE nebo AE pufr	
Odebírané množství	1) 2,5 ml 2) množství odpovídající minimálně 200 ng DNA o minimální koncentraci 35 ng/ul	
Pokyny k odběru	1) zkumavky s heparinem jsou nežádoucí	
Manipulace s materiálem, transport	1) + 2) transport při běžné teplotě nebo chlazené, nezahřívát	
Stabilita vzorku	1) týden při 4°C, 2) cca 1 měsíc při 4°C	
Typy nálezů a jejich popis	<ul style="list-style-type: none"> - benigní varianty - každý jedinec má v genech množství benigních variant, které ale nemají žádný klinický význam - patogenní varianty - často jde o malé delece či duplikace, které způsobují posun čtecího rámce a tím vznik předčasného stop kodonu. Dále to mohou být SNP, které už byly v literatuře a databázích popsány jako patogenní - varianty nejasného klinického významu - u vzácných SNP (méně než 1% v obecné populaci) můžeme nalézt varianty, které zatím nebyly v literatuře popsány, a tudíž není jasné, zda jsou patogenní nebo neutrální 	
Referenční rozmezí	Platná referenční genomová sekvence	
Pokyny pro pacienta	Nejsou	
Pokyny pro oddělení	viz část věnována odběru, transportu, manipulaci a stabilitě vzorku	
Omezení a interference	Šetrné zacházení s vyizolovanou DNA. Třepání na vortexu nebo nešetrné propipetování může způsobit fragmentaci genomové DNA.	
Dostupnost	Po – Pá (7:00 – 15:00), po předchozí telefonické domluvě lze i o víkendech a svátcích (pouze statimová vyšetření)	
Doba odezvy	3 – 40 pracovních dní	
Podmínky pro dodatečná vyšetření	Dostatek materiálu po předchozí analýze a dodání nové žádanky a informovaného souhlasu.	
Poznámky	Toto vyšetření je prováděno u rodinných příslušníků pacientů, kteří jsou tzv. BRCA pozitivní (byla u nich v genech BRCA1/2 nalezena patogenní varianta). Analyzovanou oblast musí specifikovat odesílající lékař.	
SOP	N/CLG/50008	

6) Vyšetření souboru genů metodou masivně paralelního sekvenování

Název	Vyšetření souboru genů metodou masivně paralelního sekvenování		
Komponenta	Kódující sekvence (exony) vybraných genů		
Druh veličiny	SNP, inserce, delece, CNV	Jednotka	bp
Metoda	Příprava sekvenační knihovny a obohacení knihovny o cílové sekvence, masivně paralelní sekvenování		
Vyšetřovaný materiál	1) Periferní krev, 2) DNA		
Odběr do	1) Zkumavka s EDTA, 2) TA, TE nebo AE pufr		
Odebírané množství	1) 2,5 ml, nejlépe v duplikátu 2) množství odpovídající minimálně 500 ng DNA o minimální koncentraci 35 ng/ul		
Pokyny k odběru	1) zkumavky s heparinem jsou nežádoucí		
Manipulace s materiálem, transport	1) + 2) transport při běžné teplotě nebo chlazené, nezahřívát		
Stabilita vzorku	1) týden při 4°C, 2) cca 1 měsíc při 4°C		
Typy nálezů a jejich popis	<ul style="list-style-type: none"> - benigní varianty - každý jedinec má v genech množství benigních variant, které ale nemají žádný klinický význam - patogenní varianty - často jde o malé delece či duplikace, které způsobují posun čtecího rámce a tím vznik předčasného stop kodonu. Dále to mohou být SNP, které už byly v literatuře a databázích popsány jako patogenní - varianty nejasného klinického významu - u vzácných SNP (méně než 1% v obecné populaci) můžeme nalézt varianty, které zatím nebyly v literatuře popsány, a tudíž není jasné, zda jsou patogenní nebo neutrální 		
Referenční rozmezí	Platná referenční genomová sekvence		
Pokyny pro pacienta	Nejsou		
Pokyny pro oddělení	viz část věnována odběru, transportu, manipulaci a stabilitě vzorku		
Omezení a interference	Šetrné zacházení s vyizolovanou DNA. Třepání na vortexu nebo nešetrné propipetování může způsobit fragmentaci genomové DNA.		
Dostupnost	Po – Pá (7:00 – 15:00), po předchozí telefonické domluvě lze i o víkendech a svátcích (pouze statimová vyšetření)		
Doba odezvy	3 – 90 pracovních dní		
Podmínky pro dodatečná vyšetření	Dostatek materiálu po předchozí analýze a dodání nové žádanky a informovaného souhlasu.		
Poznámky	Analyzované geny musí specifikovat odesílající lékař.		
SOP	SA/CLG/50005		

7) Vyšetření defektu konkrétního genu u rodinného příslušníka nemocného

Název	Vyšetření defektu konkrétního genu u rodinného příslušníka nemocného metodou Sangerova sekvenování		
Komponenta	Kódující sekvence (exony) vybraných genů		
Druh veličiny	SNP, inserce, delece, CNV	Jednotka	bp
Metoda	PCR amplifikace, přečištění, PCR značící, sekvenování na automatickém kapilárním sekvenátoru		
Vyšetřovaný materiál	1) Periferní krev, 2) DNA		
Odběr do	1) Zkumavka s EDTA, 2) TA, TE nebo AE pufr		
Odebírané množství	1) 2,5 ml 2) množství odpovídající minimálně 200 ng DNA o minimální koncentraci 35 ng/ul		
Pokyny k odběru	1) zkumavky s heparinem jsou nežádoucí		
Manipulace s materiálem, transport	1) + 2) transport při běžné teplotě nebo chlazené, nezahřívát		
Stabilita vzorku	1) týden při 4°C, 2) cca 1 měsíc při 4°C		
Typy nálezů a jejich popis	<ul style="list-style-type: none"> - benigní varianty - každý jedinec má v genech množství benigních variant, které ale nemají žádný klinický význam - patogenní varianty - často jde o malé delece či duplikace, které způsobují posun čtecího rámce a tím vznik předčasného stop kodonu. Dále to mohou být SNP, které už byly v literatuře a databázích popsány jako patogenní - varianty nejasného klinického významu - u vzácných SNP (méně než 1% v obecné populaci) můžeme nalézt varianty, které zatím nebyly v literatuře popsány, a tudíž není jasné, zda jsou patogenní nebo neutrální 		
Referenční rozmezí	Platná referenční genomová sekvence		
Pokyny pro pacienta	Nejsou		
Pokyny pro oddělení	viz část věnována odběru, transportu, manipulaci a stabilitě vzorku		
Omezení a interference	Šetrné zacházení s vyizolovanou DNA. Třepání na vortexu nebo nešetrné propipetování může způsobit fragmentaci genomové DNA.		
Dostupnost	Po – Pá (7:00 – 15:00), po předchozí telefonické domluvě lze i o víkendech a svátcích (pouze statimová vyšetření)		
Doba odezvy	3 – 40 pracovních dní		
Podmínky pro dodatečná vyšetření	Dostatek materiálu po předchozí analýze a dodání nové žádanky a informovaného souhlasu.		
Poznámky	Toto vyšetření je prováděno u rodinných příslušníků pacientů, u nichž je známá patogenní varianta v konkrétním genu. Analyzovanou oblast musí specifikovat odesílající lékař.		
SOP	N/CLG/50008		

G. Pokyny a instrukce

Pokud některá z diagnostik vyžaduje udělení speciálních instrukcí buď oddělením, nebo pacientům, je tato skutečnost zmíněna v kapitole F v části věnované konkrétní diagnostice. Obecné instrukce jsou potom uvedeny v kapitolách C, D a E.

Laboratorní příručka je řízeným dokumentem, sledujte proto bedlivě její aktualizace na našich internetových stránkách <http://clg.ceitec.cz/>.

H. Zkratky

AE	Kys. Octová – EDTA
bp	base pare
cDNA	kódující DNA
CLG	Centrální laboratoř Genomika Centra molekulární medicíny CEITEC
	MU
CVS	Chorionic villus sampling (Odběr choriových klků)
ČR	Česká Republika
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid
EMQN	European Molecular Genetics Quality Network
EU	Evropská unie
FAM	Carboxyfluorescein
FFPE	Formaldehyde Fixed-Paraffin Embedded (Tissue)
FN	Fakultní nemocnice
FR	Fyziologický roztok
HEX	Hexachlorofluorescein phosphoramidite
IČZ	Identifikační číslo zařízení
ISCN	International System for Chromosome Nomenclature
KD	Kostní dřeň
MKN10	Mezinárodní statistická klasifikace nemocí a přidružených zdravotních problémů
MLPA	Multiplex ligation-dependent probe amplification
NGS	Next generation sequencing
NIS	Nemocniční informační systém
PCR	Polymerázová řetězová reakce
PMDV	Pracoviště medicíny dospělého věku
PK	Periferní krev
RFLP	Restriction fragment length polymorphism
RNA	Ribonukleová kyselina
rRNA	Ribozomální RNA
SNP	jednonukleotidová záměna v sekvenci nukleové kyseliny
TA	Tris – Octová kyselina
TAT	Turn around time – doba odezvy
TE	Tris – EDTA

I. Přehled změn

Změny textu oproti předchozí verzi na příslušných stranách dokumentu jsou uvedeny červeně a kurzívou.

Výsledek revize (popis změny – beze změny)	Změny zapracoval		Poznámka
	Jméno	Datum	
Dokument s viditelnými změnami je k dispozici zde	L. Tichý	27.7.2018	
Revize beze změn	L. Tichý	20.7.2021	
Verze 3.1	L. Tichý	7.10.2022	
Verze 3.2	L. Tichý	4.12.2023	

J. Přílohy

Příloha 1: Rozdělovník kopií dokumentu systému řízení kvality

Příloha 2: Průvodní list dokumentu

1. Příloha 1: Rozdělovník kopií dokumentu systému řízení kvality

Název dokumentu:	Laboratorní příručka
------------------	-----------------------------

Kopie shora uvedeného dokumentu systému řízení kvality byla poskytnuta následujícím zaměstnancům:

Čís. kopie	Kopie dokumentu přidělena		Kopie vrácena	
	Datum	Jméno pracovníka	Datum	Převzal
1	27.7.2018	web		
2	7.10.2022	web		
3	4.12.2023	web		
4				
5				

2. Příloha 2: Průvodní list dokumentu

Zpracoval:

Mgr. Lukáš Tichý, Ph.D.

Manažer kvality

Datum:

Podpis:

Účinnost od: 4.12.2023

Přezkoumal:

Mgr. Ivona Blaháková

Interní auditor

Datum:

Podpis:

Vydání: 3.2

Revize: 0

Schválil:

MVDr. Boris Tichý, Ph.D.

Vedoucí CLG

Datum:

Podpis:

Řízená kopie číslo:

K. Obsah

A.	Úvod.....	2
1.	<i>Předmluva</i>	2
B.	Informace o laboratoři.....	3
1.	<i>Identifikace laboratoře, základní údaje</i>	3
2.	<i>Zaměření laboratoře</i>	3
3.	<i>Úroveň a stav akreditace pracoviště</i>	3
4.	<i>Organizace laboratoře, její vnitřní členění, vybavení a obsazení</i>	3
5.	<i>Spektrum nabízených služeb</i>	3
6.	<i>Ochrana osobních údajů</i>	4
C.	Manuál pro odběry primárních vzorků.....	5
1.	<i>Základní informace</i>	5
2.	<i>Požadavkové listy (žádanky), informované souhlasy pacienta</i>	5
3.	<i>Požadavky na urgentní vyšetření</i>	6
4.	<i>Ústní požadavky na vyšetření</i>	6
5.	<i>Používaný odběrový systém</i>	7
6.	<i>Příprava pacienta před vyšetřením</i>	7
7.	<i>Odběr vzorku, typ a množství vzorku</i>	7
8.	<i>Nezbytné operace se vzorkem, stabilita</i>	8
9.	<i>Základní informace k bezpečnosti při práci se vzorky</i>	8
10.	<i>Informace k dopravě vzorků</i>	9
11.	<i>Informace o zajišťovaném svozu vzorků</i>	9
D.	Preanalytické procesy v laboratoři.....	10
1.	<i>Příjem žádanek a vzorků</i>	10
2.	<i>Kritéria pro přijetí nebo odmítnutí vadných (kolizních) primárních vzorků</i>	10
3.	<i>Postupy při nesprávné identifikaci vzorku nebo žádanky</i>	11
4.	<i>Vyšetřování smluvními laboratořemi</i>	12
E.	Vydávání výsledků a komunikace s laboratoří.....	13
1.	<i>Hlášení výsledků v kritických intervalech</i>	13
2.	<i>Informace o formách vydávání výsledků</i>	13
3.	<i>Typy nálezů a laboratorních zpráv a jejich popis</i>	14
4.	<i>Vydávání výsledků přímo pacientům</i>	14
5.	<i>Opakovaná a dodatečná vyšetření</i>	14
6.	<i>Změny výsledků a nálezů</i>	14
7.	<i>Intervaly od dodání vzorku k vydání výsledku (TAT)</i>	14

8.	Konzultační činnost laboratoře	15
9.	Způsob řešení stížností	15
F.	Množina laboratorních vyšetření poskytovaných laboratoří včetně popisu položek	16
1)	Analýza strukturních aberací metodou arrayCGH	16
2)	Karcinom prsu a ovaria; geny BRCA1 a BRCA2 – sekvenace metodou masivně paralelního sekvenování a analýza intragenových přestaveb metodou MLPA	17
3)	Defekty dalších genů u familiárních karcinomů prsu nebo ovarií v případě negativy BRCA1 a BRCA2	19
4)	Defekty genů u familiárních nádorových nemocí kromě karcinomu prsu a ovaria	21
5)	Stanovení známé varianty genů BRCA1 a BRCA2 metodou Sangerova sekvenování	22
6)	Vyšetření souboru genů metodou masivně paralelního sekvenování	23
7)	Vyšetření defektu konkrétního genu u rodinného příslušníka nemocného	24
G.	Pokyny a instrukce	25
H.	Zkratky	26
I.	Přehled změn	27
J.	Přílohy	28
1.	Příloha 1: Rozdělovník kopií dokumentu systému řízení kvality	29
2.	Příloha 2: Průvodní list dokumentu	30
K.	Obsah	31