



# LABORATORNÍ PRÍRUCKA

## Klinická genetika – laborator molekularní genetiky



### Obsah

#### A - Úvod

#### B – Identifikace laborator e

- B-1 Základní identifikace a důležité údaje
- B-2 Zamerení laborator e
- B-3 Úroveň a stav akreditace pracoviště
- B-4 Organizace laborator e, vnitřní členění, vybavení a obsazení
- B-5 Seznam nabízených služeb a indikace k vyšetření

#### C- Manuál pro odbery primárních vzorku

- C-1 Základní informace
- C-2 Požadavkové listy (žádanky)
- C-3 Požadavky na urgentní vyšetření
- C-4 Ústní požadavky na vyšetření
- C-5 Používaný odberový systém
- C-6 Příprava pacienta před vyšetřením
- C-7 Identifikace pacienta na žádance a označení vzorku
- C-8 Odber vzorku
- C-9 Množství vzorku
- C-10 Nezbytné operace se vzorkem, stabilita
- C-11 Základní informace k bezpečnosti při práci se vzorky
- C-12 Informace k dopravě
- C-13 Informace o zajištění srovnání vzorku

#### D – Preanalytické procesy v laborator i

- D-1 Postup při příjmu vzorku a vedení dokumentace
- D-2 Kritéria pro odmítnutí vadných (kolizních) primární vzorku

- D-3 Postupy při nesprávné identifikaci vzorku nebo žádanky
- D-4 Vyšetření smluvními laboratořemi

E – Vydávání výsledku a komunikace s laboratorí

- E-1 Hlášení výsledku v kritických intervalech.
- E-2 Informace o formách vydávání výsledku
- E-3 Typy nálezů
- E-4 Vydávání výsledku přímo pacientům
- E-5 Opakovaná a dodatečná vyšetření.
- E-6 Změny výsledku a nálezů
- E-7 Intervaly od dodání vzorku k vydání výsledku
- E-8 Konzultacní činnost laboratoře
- E-9 Konzultacní vyšetření
- E-10 Způsob řešení stížností
- E-11 Vydávání potřeb laboratorí

F Přílohy

## A - Úvod

CGB laborator a.s. je vnitřně členěna na:

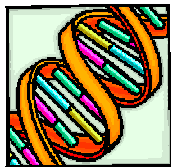
- 1) Laborator klinické patologie - zahrnující histologickou, cytologickou a imunohistochemickou laborator;
- 2) Laborator klinické genetiky – zahrnující cytogenetickou laborator a laborator molekulární genetiky.

Soubor nabízených metod laboratorního vyšetření je vytvořen a inovován dle požadavku zákazníku (lékaru a zdravotnických zařízení) s přihlédnutím k odbornému vývoji v oblastech klinické patologie a klinické genetiky.

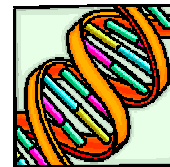
Úhradu provádějí zdravotní pojišťovny podle příslušnosti pacienta. Společnost má s jednotlivými zdravotními pojišťovnami uzavřeny „Smlouvy o poskytování a úhrade zdravotní péče“, z nichž vyplývají i vyšetření, která lze na pracovišti provádět.

Pro samoplátce je vytvořen ceník.

Zákazníkům jsou poskytovány konzultace a návody v odborné oblasti související s prováděnými laboratorními vyšetřeními.



## B – Identifikace laboratore



### B -1 Základní identifikace a důležité údaje

Název organizace:	CGB laborator a.s.
Sídlo firmy:	Korenského 10/1210, 703 00 Ostrava 3
Vedoucí laboratore:	RNDr.Magdalena Uvírová
Laborator:	Klinická genetiká – laborator molekulární genetiky
Odpovědná osoba:	RNDr. Magdalena Uvírová
Umístění laboratore:	Korenského 10/1210, Ostrava 3
Telefon	595 700 161-179, 990-999
Fax	595 700 176
e-mail	genetika@pathology.cz
Provozní doba:	7:00 – 15:30
Příjem vzorku:	Korenského 10/1210, 703 00 Ostrava – Vítkovice

## B-2 Zamerení laboratore

Laborator molekulární genetiky CGB laboratore a.s. provádí specializovaná vyšetření vzorku nukleových kyselin získaných převážně izolací z periferní krve, kultivovaných buněk plodové vody, různých typu tkání a dále parařínových blocku a steru sliznic atd.

## B-3 Úroveň a stav akreditace pracoviřte

Laborator je držitelem Osvedcení o akreditaci dle normy CSN EN ISO 15189

## B-4 Organizace laboratore, vnitřní clenění, vybavení a obsazení

CGB laborator a.s. má v souladu se svými kapacitními, přístrojovými a odbornými možnostmi stanoven soubor metod laboratorního vyšetření, který může realizovat a který je podložen smlouvami se zdravotními pojiřtovnami.

CGB laborator a.s. je vnitřně clenena na laborator klinické patologie, provádějící bioptická a cytologická vyšetření a na laborator klinické genetiky, jejíž součástí je laborator molekulární genetiky.

Prostorové a technické vybavení laboratorů splňuje veřkerá kritéria pro nasmlouvané činnosti se ZP a je odsouhlaseno Krajským úřadem Moravskoslezského kraje, odborem zdravotnictví.

Personální obsazení je taktěž schváleno Krajským úřadem Moravskoslezského kraje, odborem zdravotnictví a zameřtanci laboratore splňují svým vzděláním podmínky odborné způsobilosti.

Zákazníkum je po dohode umožněna prohlídka laboratorního zařízení a jsou poskytovány informace o organizaci provozu.

## B-5 Seznam nabízených služeb a indikace k vyšetření

1. Izolace vzorku nukleových kyselin (DNA, RNA)  
Izolace nukleové kyseliny je výchozí krok všech následných metod molekulární genetiky. Kvalitu a kvantitu vyizolované nukleové kyseliny lze stanovit spektrofotometricky a elektroforézou v agarózovém gelu. Laborator provádí:
  - a) Izolace DNA ze vzorku periferní krve, různých typu tkání, kultivovaných buněk bunecných nebo tkánových kultur (primární materiál plodová voda, tkáne spontánních abortu), parařínových blocku a sliznicních steru
  - b) Izolace RNA ze vzorku periferní krve, různých typu tkání
2. Vyšetření fr ekvencne nejcastejřích mutací v genu pro cystickou fibrózu  
Vyšetření 20 mutací (F508del, CFTRdele2.3/21kb, G551D, N1303K, G542X, 1898+1G>A, W1282X, 1717-1 G>A, R553X, 711+1G>T, 3272-26A>G, I148T, 3199delG, 3120+1G>A, S1251N, 3905insT, R560T, I507del, Q552X) - pomocí kitu INNO-LiPA CFTR 19 (kit INNO-LiPA CFTR 19 - INNOGENETICS) a mutace

### R347P - pomocí metody RFLP (polymorfismus délky restrikních fragmentu)

Na základě požadavku indikujícího lékaře provádíme molekulárne genetické vyšetření 36 mutací v genu pro cystickou fibrózu (CFTR). Analýza 36 mutací v genu CFTR a stanovení polymorfismu v intronu 8 (Tn varianty) se provádí pomocí PCR a komerčního kitu INNO-LiPA CFTR 19 + INNO-LiPA CFTR 17 + Tn Update. (Dle doporučení EMQN).

Spektrum vyšetřovaných mutací: F508del, CFTRdele2.3/21kb, G551D, N1303K, G542X, 1898+1G>A, W1282X, 1717-1 G>A, R553X, 711+1G>T, 3272-26A>G, I148T, 3199delG, 3120+1G>A, S1251N, 3905insT, R560T, I507del, Q552X, R347P, 2143delT, 3849+10kbC>T, R1162X, G85E, R117H, 621+1G>T, R334W, 2183AA>G, 2789+5G>A, 3659delC, 394delTT, 1078delT, A455E, E60X, 2184delA, 711+5G>A

Uvedený postup zachytí cca 90 % mutací detekovaných v české populaci referenční laboratorí

#### Indikace k vyšetření

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

### 3. Vyšetření frekvence nejčastějších mikrodelecií AZF oblasti na Y chromozómu

Pomocí komerčního kitu MULTIPLEX OLIGO-AZOOSPERMIA KIT 1-2 (firma EXPERTEAM) jsou vyšetřovány tyto STS markery: sY84, sY86 (oblast AZFa na Yq11.21), sY127, sY134 (AZFb na Yq11.22), sY254, sY255 (AZFc na Yq11.23). Dále je do analýzy zahrnut gen SRY a ZFX/ZFY.

Uvedený postup zachytí cca 90% delecií v AZF oblastech Yq11.21; Yq11.22 a Yq11.23

#### Indikace k vyšetření

Porucha plodnosti u mužů: azoospermie nebo těžká oligospermie.

### 4. Vyšetření na přítomnost „trombofilních“ variant:

Pomocí komerčního kitu CVD Strip Assay (ViennaLab) lze vyšetřit níže uvedené sekvencní varianty genu, které mohou být dle dosavadních poznatku asociovány s rozvojem kardiovaskulárních chorob.

§ Gen pro koagulační faktor V – sekvencní varianta FV Leiden (G1691A)

§ sekvencní varianta FV R2 (H1299R)

§ Gen pro prothrombin (koagulační faktor II) – varianta G20210A

§ Gen pro 5,10 – metylenetetrahydrofolát reduktázu (MTHFR):

- sekvencní varianta C677T

- sekvencní varianta A1298C

- § Gen pro  $\beta$  – fibrinogen (FGB) – sekvencní varianta -455 G>A
- § Gen pro faktor XIII – varianta V34L
- § Gen pro inhibitor aktivátoru plazminogenu (PAI-1) – sekvencní varianta 4G/5G inzerce/delece v pozici -675 promotoru genu PAI-1
- § Gen pro destičkový glykoprotein IIIa (GPIIIa) – varianta L33P
- § Gen pro angiotensin konvertující enzym (ACE) – varianta Ins/Del (intron 16)
- § Gen pro apolipoprotein B (Apo B) – varianta R3500Q
- § Gen pro apolipoprotein E (Apo E) – varianty E2/E3/E4

#### Indikace k vyšetření

- opakovaná žilní trombóza u jedince pod 50let, opakovaná trombóza, trombóza na neobvyklém místě
- žilní trombóza u jedince s významnou rodinnou anamnézou
- žilní trombóza v těhotenství nebo v souvislosti s užíváním antikoncepce nebo hormonální terapie
- vyšetření jedince z rodiny s významnou rodinnou anamnézou před plánovaným chirurgickým zákrokem
- těhotná žena s významnou rodinnou anamnézou
- trombóza v těhotenství, žena s opakovanými potraty v II nebo III trimestru těhotenství bez objasněné příčiny
- žena s těžkou preeclampsí, abrupcí placenty nebo vývojovým postižením plodu bez objasněné příčiny
- indikace klinickým hematologem

5. Prukaz vybraných (rizikových) HLA alel II. třídy (DQA1\*0501, DQB1\*0201/202, DRB1\*04) asociovaných s rozvojem celiakální sprue (CS)  
Detekce vybraných rizikových alel se provádí metodou PCR se sekvencně specifickými primery pro jednotlivé alely. Vyšetřované HLA alely II. třídy jsou silně asociovány s rozvojem celiakální sprue (CS).

#### Indikace vyšetření:

- u příbuzných pacienta s celiakální sprue
- negativní nebo nejednoznačné výsledky testu protilátek (tkánové transglutaminázy, endomysální nebo gliadinu) nebo enterobiopsie u jedincu vykazujících symptomy celiakální sprue
- gastrointestinální symptomy zahrnující malabsorbci, průjmy, opakující se bolesti břicha, hubnutí, hepatitidu, atd.
- děti s rustovou retardací, opožděnou pubertou
- anémie z deficitu železa
- dermatitis herpetiformis
- osteoporóza, osteopenie
- autoimunitní onemocnění zahrnující diabetes 1. typu, thyreoiditidu nebo Sjogrenův syndrom
- infertilitu a/nebo opakované ztráty plodu
- rekurentní aftózní stomatitidu a/nebo hypoplazii stálých zubů
- migrenózní bolesti hlavy, periferní neuropatie, cerebrální ataxie, epilepsie, úzkost a/nebo deprese

6. Pukaz fuzního genu BCR-ABL

Kvalitativní stanovení fúzního transkriptu BCR-ABL a jeho možných molekulárních variant se provádí izolací RNA z periferní krve (případně kostní dřeň) a metody reverzní transkriptázové polymerázové reťezové reakce (RT-PCR).

Indikace vyšetření:

Potvrzení diagnózy, určení prognózy, nastavení léčby u chronické myeloidní leukémie a akutní lymfoblastické leukémie. Po transplantaci kostní dřeň - identifikace pacientu, u kterých pretrvávají nebo se znovu objevily leukemické bunky.

7. Pukaz mutace V617F v JAK2 genu

Detekce mutace V617F v JAK2 genu se provádí metodou ARMS-PCR, popr. metodou real-time PCR (Ipsogen).

Indikace vyšetření:

- podezření na myeloproliferativní onemocnění (polycytémie vera, esenciální trombocytémie a idiopatická myelofibróza)
- potvrzení klonální poruchy hematopoetických kmenových bunek
- odlišení primární PV od sekundární erytrocytózy, ET od reaktivní trombocytózy

8. Pukaz mutací v genu pro Smith-Lemli-Opitz syndrom (DHCR7)

Vyšetření 10 mutací v DHCR7 genu (L109P, W151X, L157P, V326L, R352Q, C380Y, R404C, G410S, R446Q, IVS8-1G>C) pro Smith-Lemli-Opitz syndrom se provádí pomocí PCR a následné restriční analýzy.

Vyšetření frekvence nejčastějších mutací v genu pro Smith-Lemli-Opitz syndrom představuje cca 87 % detekovaných mutací v DHCR7 genu v české populaci.

Indikace vyšetření:

- u pacienta s příznaky SLO syndromu
- u příbuzných pacienta se SLO syndromem a detekovanými mutacemi v DHCR7 genu
- u partnera nosice mutace před plánovaným těhotenstvím, případně v průběhu těhotenství
- prenatální diagnostika v případě pozitivního biochemického skríníngu pro syndrom Smith-Lemli-Opitz z maternálního séra – extrémně nízké hodnoty nekonjugovaného estriolu (uE3)
- prenatální diagnostika v případě nízkých hodnot cholesterolu v plodové vodě, vysokých hodnot 7-dehydrocholesterolu a 8-dehydrocholesterolu v plodové vodě
- prenatální diagnostika v případě obou partnerů heterozygotů pro mutaci v DHCR7 genu

9. Pukaz DNA lidských papilomavíru (HPV)

Diagnostika přítomnosti virové DNA humánních papilomavíru (HPV DNA) se provádí pomocí systému Hybrid Capture 2 (Digene). Genotypizace jednotlivých

typu humánních papilomaviru (HPV) se provádí za použití kitu INNO-LiPA HPV Genotyping Extra (Innogenetics).

Indikace vyšetření:

- pacientky se zmenami cervikálního epitelu – stupen ASCUS nebo AGUS
- pacientky s abnormálním výsledkem Pap náteru či s cervikálním onemocněním
- požadavek na genotypizaci HPV infekce
- sledování pacientky 6-12 měsíců po konizaci deložního krčku
- sledování pacientky 6-12 měsíců po chirurgické intervenci u cervikálního karcinomu

10. Stanovení zmen počtu chromozomu nebo jejich částí ve smyslu ztrát nebo amplifikací metodou komparativní genomové hybridizace (CGH)

Komparativní genomová hybridizace (CGH) umožňující detekci zmen počtu chromozomu nebo chromozomových oblastí bez nutnosti kultivace. Poskytuje celkový náhled na chromozomové zmeny (amplifikace, delece) v rámci celého genomu (napr. tumorové tkáňe).

Indikace vyšetření:

- stanovení početních chromozomových zmen zejména v tumorové tkáni, popřípadě stanovení početních chromozomových aberací plodové vode, v periferní krvi



## C- Manuál pro odbery primárních vzorku



### C-1 Základní informace

Laborator molekulární genetiky CGB laboratore a.s. provádí specializovaná vyšetření vzorku nukleových kyselin získaných izolací převážně z periferní krve, kultivovaných bunek (plodové vody), steru a různých typu tkání.

Molekulárne genetické vyšetření je provedeno po indikaci klinickým genetikem a rádném genetickém poradenství nebo hematologem. V prípade problematického prubehu tehotenství nebo v prípade in vitro fertilizace ve specializovaném centru indikuje genetické vyšetření mající vztah k fertilitě ošetřující gynekolog.

Vyšetřovaný musí být predem rádně informován o povaze a dusledku genetického vyšetření a musí podepsat informovaný souhlas s vyšetřením a uchováním vzorku DNA v CGB laboratorii.

Informovaný souhlas pacienta - viz. příloha 1.

Seznam nabízených služeb a indikace k vyšetření viz. B-5

## C-2 Požadavkové listy (žádanky)

Do laboratore jsou přijímány vzorky pouze s doprovodnou žádankou na molekulárne genetické vyšetření. Vzorová žádanka na vyšetření – viz. příloha 2.

Žádanka musí povinne obsahovat následující údaje:

- jméno, datum narození, rodné číslo a zdravotní pojištění pacienta
- pohlaví pacienta v případě, že není dle jména jednoznačně rozpoznatelné
- jméno, odbornost a podpis lékaře indikujícího vyšetření
- razítko s adresou pracoviště a kontaktní telefon
- druh a případně tkánový původ zaslání vzorku, počet odeslaných zkumavek
- typ požadovaného vyšetření
- diagnózu a klinickou indikaci k vyšetření
- datum a případně i čas odberu vzorku

Vzhledem k privátnosti genetického vyšetření je požadován také podepsaný informovaný souhlas pacienta s vyšetřením viz. Příloha 1.

Kriteria pro odmítnutí primárních vzorku – viz. D-2

## C-3 Požadavky na urgentní vyšetření

Urgentní vyšetření musí být označeno jako STATIM na požadavkovém listě (žádance).

Urgentní vzorek je označen jako STATIM při příjmu a vložení údaje do elektronické dokumentace a je přednostně zpracováván.

Zpracování urgentního vzorku je zahájeno okamžitě v den příjmu vzorku do laboratore.

Viz E-7.

## C - 4 Ústní požadavky na vyšetření

Nejsou akceptovány.

Do laboratore jsou přijímány pouze řádně označené vzorky s doprovodnou žádankou na molekulárne genetické vyšetření.

## C - 5 Používaný odberový systém

### 1) Periferní krev

Standardne se periferní krev odebírá z periferní žíly a to v množství minimálně 5 ml do sterilní zkumavky s EDTA jako protisrážlivým agens. Doporučujeme použít komerční odberové soupravy. V případě izolace RNA z výchozího materiálu (krev, kostní dren) lze použít mimo uvedené i speciální odberové soustavy obsahující roztok

pro skladování a stabilizaci (ochranu) RNA. Odberovou soupravu poskytuje žadatelům (lékarům indikujícím genetická vyšetření) na požádání CGB laborator a.s.

## 2) Kostní dren

Standardne se odebírá z hrudní kosti nebo plochých kostí do sterilní zkumavky s EDTA a to v množství 2-4 ml.

## 3) Ruzné typy tkání

Vzorek tkáne je odebrán za sterilních podmínek do sterilní odberové nádoby se sterilním fyziologickým roztokem, případne speciálním fixacním cinidlem (napr.: FineFix).

## 4) Cervikální ster

Cervikální ster se odebírá pomocí speciální odberové soupravy DNAPAP™ Cervical Sampler (DIGENE) – podrobné informace o provádění cervikálního steru pro účely detekce HPV DNA metodami molekulární biologie viz. příloha 5. Odberovou soupravu poskytuje žadatelům (lékarům indikujícím toto vyšetření) na požádání CGB laborator a.s.

Spolu se vzorky musí být dorucena žádanka, jasne specifikující požadovaný druh vyšetření a informovaný souhlas jedince s molekulárne genetickým vyšetřením – viz. C-2.

## 5) Kultivované bunky bunecných nebo tkánových kultur

Primární materiál: plodová voda nebo tkán ze spontánního abortu je zpracováván v cytogenetické laboratorii – podrobné informace viz. Laboratorní příručka cytogenetické laboratore

## C- 6 Příprava pacienta pred vyšetřením

Molekulárne genetické vyšetření (vyšetření DNA, RNA) nevyžaduje speciální přípravu pacienta pred odberem vzorku.

## C-7 Identifikace pacienta na žádance a označení vzorku

Doprovodná žádanka ke vzorku musí být řádně vyplněna všemi požadovanými údaji – viz. C-2.

Je-li odebraných zkumavek se vzorkem více než 1, musí být na žádance uveden počet zaslaných zkuvek.

Všechny zkumavky se vzorky musí být dodány náležitě označeny alespon 2 identifikačními symboly (jméno + rok narození nebo rodné číslo) a ve vyšetření umožňujícím stavu.

Ke vzorku plodové vody nebo tkáňe spontánního abortu: podrobné informace viz. Laboratorní příručka cytogenetické laboratore

## C- 8 Odber vzorku

Odber vzorku probíhá v ordinaci indikujícího lékaře nebo ve speciálních odberových místnostech zadavatelského pracoviště.

CGB laborator a.s. nemá vlastní odberové místnosti pro odber vzorku periferní krve, tkání nebo plodové vody.

Viz. C-5; C-6; C-7

Ke vzorku plodové vody nebo tkáňe spontánního abortu: podrobné informace viz. Laboratorní příručka cytogenetické laboratore

## C-9 Množství vzorku

Standardne se periferní krev, kostní dren odebírá v množství minimálne 2 až 5 ml do sterilní zkumavky s EDTA jako protisrážlivým agens. U malých dětí alespon 0,5-2 ml do sterilní zkumavky s EDTA.

Laboratorí jsou přijímány vzorky tkání různých velikostí (ideálne však o velikosti 1x1x1cm) ve sterilním fyziologickém roztoku, případne speciálním fixacním cinidle (napr.: FineFix).

Ke vzorku plodové vody nebo tkáňe spontánního abortu: podrobné informace viz. Laboratorní příručka cytogenetické laboratore

## C-10 Nezbytné operace se vzorkem, stabilita

Po odberu vzorku periferní krve, kostní drene zkumavku s EDTA promíchat.

Do transportu uchovávat vzorky při pokojové teplotě. Nemrazit!!!! Neprehrívat!!!

Je nutné zabránit zmrznutí nebo prehrátí krve, aby nedošlo k lyzi lymfocytární složky krve. Prijatelné rozmezí teplot je +4 až +25 °C.

Vzorky odeslat do laboratore v den odberu.

Odebraný vzorek krve musí být v laboratorí zpracován nejpozdeji do 72 hodin po odberu.

V prípade izolace RNA z primárního vzorku se vzorek periferní krve uchovává při +2 až +8°C. V prípade, že je vzorek periferní krve odebrán do sterilní zkumavky s EDTA, mely by být vzorky do laboratore dopraveny co nejdříve po odberu - tedy ideálně do 3 hodin po odberu vzorku – vzorek je do transportu skladován při +2 až +8°C; v prípade odberu do speciální odberové soustavy obsahující roztok pro skladování a stabilizaci (ochranu) RNA je vzorek do transportu skladován v rozmezí teplot +4°C až +25°C (lépe však uchovávat při +2 až +8°C) a do laboratore dopraven nejpozději do 1 dne po odberu a lze je převážet v rozmezí teplot +4°C až +25°C.

U vzorku tkání je nutné jejich uložení v dostatečném množství sterilního fyziologického roztoku, případně speciálního fixačního činidla (napr.: FineFix), zajištění úplného překrytí odebraného primárního vzorku. Vzorky odeslat do laboratore v den odberu. Prijatelné rozmezí teplot je +4 až +25 °C.

Cervikální ster odebraný pomocí soupravy DNAPAP™ Cervical Sampler (DIGENE) je vhodné do transportu skladovat při + 4 až + 25 °C. Vzorek je vhodné dopravit do laboratore v den odberu, případně do 72 hodin po odberu.

Ke vzorku plodové vody nebo tkáne spontánního abortu: podrobné informace viz. Laboratorní příručka cytogenetické laboratore

## C-11 Základní informace k bezpečnosti při práci se vzorky

Se vzorky je nakládáno jako s potenciálně infekčním materiálem. Krev není v laboratorii kontrolována na přítomnost viru hepatitidy nebo HIV. Veškerá manipulace se vzorkem je prováděna pouze v jednorázových ochranných laboratorních rukavicích a v laboratorním oblečení.

Při všech manipulacích se vzorkem je třeba používat ochranné rukavice, neotevírat zkumavku mimo sterilní box a nevdechovat aerosol. Zkumavky nebo žádanky potřísnené krví, stejně jako mechanicky poškozené odberové soupravy nebudou laboratorii akceptovány.

## C-12 Informace k dopravě

Vzorky krve musí být do laboratore dopraveny nejpozději do 72 hodin po odberu a lze je převážet v rozmezí teplot +4 až +25°C.

Je nutné zabránit zmrznutí nebo prehrátí krve, aby nedošlo k lýze lymfocytární složky krve. Vhodná transportní nádoba je termoska – lze použít v případě neprijatelných klimatických podmínek.

V prípade potreby izolace RNA z primárního vzorku, který není odebrán do speciální odberové soustavy obsahující roztok pro skladování a stabilizaci (ochranu) RNA, se

krev popr. kostní dren uchovává při +2 až +8°C, nebo je chlazená ledem, popr. chladícími vložkami. Takovéto vzorky je nutné dopravit do laboratore, co nejdříve po odberu - tedy ideálně do 3 hodin po odberu vzorku. Vhodná transportní nádoba je termoska obsahující chladící vložku.

Cervikální ster odebraný pomocí soupravy DNAPAP™ Cervical Sampler (DIGENE) je vhodné dopravit do laboratore v den odberu, případně do 72 hodin po odberu a lze je převážet v rozmezí teplot +4 až +25°C.

Vzorky musí být přepravovány tak, aby nedošlo k jejich mechanickému poškození, nejlépe ve speciálních boxech sloužících pouze pro transport vzorku.

Ke vzorku plodové vody nebo tkáňe spontánního abortu: podrobné informace viz. Laboratorní příručka cytogenetické laboratore

## C-13 Informace o zajištění ovaném svozu vzorku

Svoz vzorku je zajištěn pravidelnou svozovou službou firmou P+R Lab plus a.s. nebo vozidlem CGB laboratore ihned po obdržení telefonické informace v době Po-Pá 7:00-15:30. V jiný den a hodinu podle telefonické domluvy.

## D – Preanalytické procesy v laboratorii

### D-1 Postup při příjmu vzorku a vedení dokumentace

Při příjmu do laborator je každému vzorku přiřazeno laboratorní číslo, je vyplněna elektronická dokumentace vedená v komerčním softwaru INTELLIPAT Studio a je proveden zápis vzorku do pracovní knihy molekulární genetiky viz dále jen pracovní kniha.

Laboratorní číslo vzorku sestává z poradového vyšetřovacího čísla laboratore klinické genetiky programu INTELLIPAT v příslušném roce (pr. 456/04)

Laboratorní číslo vzorku je zároveň zapsáno na doprovodnou žádanku vzorku a na informovaný souhlas pacienta s vyšetřením. Po vyplnění elektronické dokumentace jsou žádanka a informovaný souhlas zarazeny do Knihy příjmu podle laboratorního čísla.

Údaje o pacientovi jsou uchovávány tak, aby nebyly dostupné jiným osobám než pracovníkům, kteří vyšetření provádějí.

### D-2 Kriteria pro odmítnutí vadných (kolizních) primární vzorku

Vzorky, které se svým obsahem nebo dokumentací odchylojí od požadavku laboratore, mohou být laboratorii odmítnuty. Důvodem k odmítnutí vzorku je:

- 1) Nejasná identifikace jednotlivých vzorku:
  - nepřítomnost identifikacního štítku na zkumavkách
  - necitelné označení zkumavek s odebraným materiálem
- 2) Materiál ve stavu znemožňujícím standardní izolaci nukleové kyseliny:
  - rozkládající se biologický materiál
  - viditelně kontaminovaný biologický materiál
  - vysrážená krev nebo použití nevhodného protisrážlivého agens
- 3) Mechanicky poškozené zkumavky potrísnené krví
- 4) Nepřiložená žádanka nebo žádanka s neúplnými údaji znemožňující uplatnění úhrady za výkony souvisejícími s požadovaným vyšetřením.

Náprava je vyžadována od zdroje vzorku a o příslušném jednání je veden záznam - formulár D-F-13 evidovaný v D-E-19. V případě bodu 1-3 je požadován nový odber vzorku, v případě bodu 4 je požadována žádanka s patřnými údaji.

### D-3 Postupy při nesprávné identifikaci vzorku nebo žádanky

Všechny případné změny související s identifikací vzorku a údaji o pacientovi jsou náležitě zdokumentovány s jmenovitým vypsáním, kdo, kdy a proč změnu provedl. Dokumentace o dodatečných změnách je razena k žádankám o vyšetření.

Pokud nelze jednotlivé vzorky nebo žádanky vzájemně odlišit a mohlo by dojít k zámene nebo promíchání vzorku, nelze takový materiál zpracovat. Laborator požádá indikujícího lékaře o nový odber.

### D- 4 Vyšetření smluvními laboratorami

CGB laborator nezadáva vyšetření žádné smluvní laboratorii.

V případě, kdy je alikvotní vzorek DNA odeslán spolu se žádankou k dalším analýzám na jiné pracoviště, je do pracovní knihy zaznamenáno množství odeslané DNA, datum odeslání a místo určení. Ke každé odeslané DNA je vytisknut doprovodný list s informacemi o způsobu izolace, koncentraci a čistotě DNA. Závěrečnou zprávu vydává pracoviště provádějící požadovanou DNA analýzu. CGB laborator a.s. v tomto případě ručí za identitu izolovaného vzorku DNA.

Dle požadavku zadavatele může být v případě specializovaného genetického vyšetření vzorek DNA odeslán na jiné pracoviště, kde je toto vyšetření prováděno. Nelze však hovořit o vztahu smluvních laboratorii. Tyto laboratorie nejsou vzájemně ve smluvním vztahu a každá ručí za svůj díl práce.

## E – Vydávání výsledku a komunikace s laboratorii

## E-1 Hlášení výsledku v kritických intervalech

Na metody vyšetření nukleových kyselin prováděných v laboratoriu se kritické intervaly nevztahují.

## E-2 Informace o formách vydávání výsledku

Výsledky jsou vloženy do programu INTELLIPAT, kde jsou zadány obdržené informace o pacientovi, informace o použitých metodách a výsledku a spolu s interpretací jsou vytištěny a po podpisu zodpovědnou osobou odeslány na zadavatelské pracoviště – klinickému lékaři.

Závěrečná zpráva obsahuje minimálně tyto údaje - viz. příloha 3:

- identifikaci laboratoru (jméno a adresa),
- identifikaci pacienta (jméno, rodné číslo)
- identifikaci lékaře požadujícího vyšetření (jméno, adresa pracoviště)
- klinická indikace k vyšetření
- druh primárního vzorku a datum přijetí vzorku do laboratoru
- metodu izolace nukleové kyseliny a výčet všech metod použitých k analýze
- vlastní výsledek včetně stručné informace jakou metodou byl získán
- interpretaci výsledku
- datum závěrečné zprávy
- identifikace pracovníka zodpovědných za správnost výsledku

Všechny výsledky jsou kontrolovány a zároveň podepsány dvěma nezávislými kvalifikovanými VŠ pracovníky laboratoru, včetně pracovníka, který zprávu vypracoval.

Závěrečné zprávy o výsledku jsou z laboratoru zaslány písemně pouze zadavateli vyšetření - lékaři oprávněnému indikovat molekulárně genetické vyšetření.

Kopie výsledku konzultacních vyšetření, včetně adresy referenčního pracoviště, jsou předány v písemné formě indikujícímu lékaři a originál se archivuje v laboratoriu. Výsledky se zaznamenávají též do elektronického média.

CGB laborator umožňuje svým zákazníkům (klinickým lékařům) vyhledávání nálezů prostřednictvím internetu. Přístup k internetovému vyhledávání nálezů indikujícími klinickými lékaři je chráněn přístupovým kódem (přihlašovací jméno + heslo), který je specifikován v uzavřeném smluvním vztahu mezi CGB laboratoriu a.s. a zadavatelským klinickým pracovištěm.

CGB laborator se zapojila do bezplatného projektu Všeobecné zdravotní pojišťovny - systému IZIP, který umožňuje zasílat výsledky vyšetření do elektronických zdravotních knížek těch pacientů, kteří si je u společnosti IZIP zřídili. Veškerá data obsažená v elektronických Zdravotních knížkách jsou chráněna v souladu se zákonem č. 101/2000 Sb. a pod dohledem Úřadu pro ochranu osobních údajů a není možné do nich bez svolení pacienta nahlížet.

V případě telefonického dotazu pacienta na výsledek, je tento odkázán na svého ošetřujícího lékaře. Vyšetřované osoby nejsou telefonicky informovány o výsledku.

## E-3 Typy nálezu

Nález odpovídá pozitivnímu nebo negativnímu záchytu sledované změny v DNA sekvenci analyzovaného vzorku, nebo prukazu samotné DNA/RNA ve vzorku, případně odpovídá tomu, zda dochází/nedochází k expresi určitého genu. V interpretaci je udána pravděpodobnost falešně negativního nálezu. Zápis patologických nálezu se řídí mezinárodní a obecně uznávanou nomenklaturou.

## E-4 Vydávání výsledku přímo pacientum

Výsledky nejsou předávány přímo pacientum.

Závěrečné zprávy o výsledku jsou z laboratoru zaslány písemně pouze zadavateli vyšetření - lékaři oprávněnému indikovat genetické vyšetření.

Zprávu předá vyšetřované osobě tento lékař osobně s náležitým vysvětlením. V žádném případě nejsou pacienti informováni telefonicky bez možnosti overení identity.

Výsledek genetické analýzy je privátní záležitostí a nelze o něm informovat třetí osobu bez písemného souhlasu vyšetřované osoby.

## E-5 Opakovaná a dodatečná vyšetření

Nebyl-li vzorek DNA od pacienta při analýze spotřebován, lze na podkladě žádanky provést dodatečné vyšetření nebo opakované vyšetření.

## E-6 Změny výsledku a nálezu

Ke změně výsledku by nemelo docházet. Pokud by k němu došlo je zaznamenáno datum a jméno osoby, která změnu dodatečně provedla.

Pokud by došlo ke změně závěru po vydání závěrečné zprávy, bude indikující lékař na změnu okamžitě upozorněn telefonicky.

Veškeré výsledky jsou před vydáním kontrolovány dvěma pracovníky.

Při diskrepanci mezi případnými duplicitními vzorky je nutný nový odběr materiálu k vyšetření.

## E-7 Intervaly od dodání vzorku k vydání výsledku

Vzorky jsou zpracovávány průběžně a podle požadovaného vyšetření v pořadí, ve kterém jsou přijímány do laboratoru.

Doba požadovaného vyšetření od příjmu vzorku do vydání závěrečné zprávy pro nabízené diagnózy při běžném provozu by neměla přesáhnout časový interval 3 týdnů.

V urgentních případech, kdy je požadované vyšetření zadavatelem označeno jako statim, je vzorek přednostně zarazen ke zpracování a je analyzován v nejbližším možném termínu. Doba požadovaného vyšetření od příjmu statimového vzorku do vydání závěrečné zprávy pro nabízené diagnózy by neměla přesáhnout časový interval 5 dnů.

## E-8 Konzultacní činnost laboratore

CGB laborator a.s. pořádá školící přednáškové akce pro zadavatele služeb.

## E-9 Konzultacní vyšetření

Kopie konzultacních vyšetření, včetně adresy referenčního pracoviště, jsou předány v písemné formě indikujícímu lékaři a originál je archivována v laboratoriu.

## E-10 Způsob řešení stížností

Na činnosti prováděné v organizaci CGB laborator a.s. mohou zákazníci i jiné strany podávat reklamace (stížnosti).

Stížnosti lze podávat na :

- Průběh provádění laboratorního vyšetření
- Rozsah prováděného laboratorního vyšetření
- Termín provedení laboratorního vyšetření
- Výsledky laboratorního vyšetření
- Způsob jednání pracovníku CGB laborator a.s.

Veškeré stížnosti se podávají ústně nebo písemnou formou vždy k rukám VLB (v době jeho nepřítomnosti k rukám jeho zástupce).

Reklamací rád (B-R-2) – viz příloha c.4.

## E-11 Vydávání potřeb laboratoriu

Zadavatelé vyšetření na požádání obdrží odberové soupravy, instrukce o odberovém materiálu, jeho skladování a transportu, formuláře požadavkového listu (žádanky) k vyšetření.

## F – Přílohy

Seznam příloh: 1) Informovaný souhlas pacienta s vyšetřením

- 2) Vzorová žádanka na molekulárne genetické vyšetření
- 3) Vzorová závěrečná zpráva
- 4) Reklamační rád
- 5) Provádění cervikálního steru pro účely detekce HPV DNA metodami molekulární biologie