



Standardní operační postup
genetické laboratoře – SOPG 01
Laboratorní příručka



	<i>Jméno</i>	<i>Pozice</i>		<i>Podpis</i>	
<i>Zpracoval</i>	Bc. Jana Dederová	Manager kvality genetické laboratoře			
<i>Připomínkoval</i>	doc. MUDr. Tomáš Freiburger, Ph.D. RNDr. Barbora Ravčuková Mgr. Eva Němcová, Ph.D. Mgr. Ladislava Šnajdrová	Vedoucí lékaře genetické laboratoře VŠ odborný pracovník VŠ odborný pracovník Manager kvality			
<i>Schválil</i>	doc. MUDr. Petr Němec, CSc., MBA	Ředitel			
<i>Účinnost</i>	01. 03. 2017	<i>Verze</i>	07	<i>Počet listů</i>	23
<i>Revize</i>	1× ročně	<i>Nahrazuje předpis</i>	Laboratorní příručka Genetická laboratoř verze 06	<i>Počet příloh</i>	4



Obsah:

- 1. Úvod**
- 2. Informace o laboratoři**
- 3. Kontakty a provozní doba laboratoře**
- 4. Seznam vyšetření prováděných genetickou laboratoří**
 - 4.1. Molekulární detekce patogenů
 - 4.2. Molekulární genetika poruch imunity
 - 4.3. Genetická determinace aterosklerózy a trombofilie
- 5. Zásady odběru biologického materiálu pro genetickou laboratoř**
 - 5.1. Příprava pacienta před odběrem
 - 5.2. Odběr biologického materiálu pro molekulární detekci patogenů
 - 5.3. Biologický materiál – množství, uskladnění, transport
 - 5.3.1. Molekulární detekce patogenů
 - 5.3.2. Molekulární genetika poruch imunity
 - 5.3.3. Genetická determinace aterosklerózy a trombofilie
- 6. Žádanka a správná identifikace biologického materiálu a pacienta**
 - 6.1. Neshody znemožňující příjem biologického materiálu nebo ohrožující správnou identifikaci biologického materiálu
 - 6.2. Postup v případě zjištění neshod
 - 6.3. Nakládání s osobními a citlivými údaji pacientů
- 7. Časová dostupnost vyšetření, vydávání výsledků a komunikace s laboratoří**
 - 7.1. Časová dostupnost vyšetření
 - 7.1.1. Molekulární detekce patogenů
 - 7.1.2. Molekulární genetika poruch imunity
 - 7.1.3. Genetická determinace aterosklerózy a trombofilie
 - 7.2. Statimová vyšetření
 - 7.3. Dodatečná a opakovaná vyšetření
 - 7.4. Vydávání výsledků
 - 7.5. Stížnosti
 - 7.6. Konzultační činnost laboratoře
 - 7.7. Smluvní laboratoře
- 8. Příloha**



1. Úvod

Tato laboratorní příručka shrnuje základní informace o činnosti genetické laboratoře a je určena zejména lékařům a zdravotním sestřám.

Je sepsána v souladu s nejnovějšími požadavky na dokumenty tohoto typu v souladu s normou ISO 15 189.

Doufáme, že v ní naleznete vše, co potřebujete pro naši vzájemnou spolupráci. Uvedené údaje jsou aktuální k datu účinnosti příručky a budou průběžně aktualizovány.

Použité zkratky:

CKTCH	Centrum kardiovaskulární a transplantační chirurgie Brno
ČR	Česká republika
FNusA	Fakultní nemocnice u svaté Anny v Brně
IČP	Identifikační číslo pracoviště
MedPed	Make early diagnosis to Prevent early deaths
NIS-AMB	Nemocniční informační systém pro podporu práce v ambulancích



2. Informace o laboratoři

Název organizace	Centrum kardiovaskulární a transplantační chirurgie Brno
Název laboratoře	Genetická laboratoř
Osvědčení o akreditaci	č.239/2016 pro zdravotnickou laboratoř č. 8257
Identifikační údaje	IČO 00209775 IČZ 72 932 050
Adresa laboratoře	Výstavní 17/19, Brno 603 00 (ve sníženém přízemí)
Vedoucí genetické laboratoře	doc. MUDr. Tomáš Freiburger, Ph.D.

Genetická laboratoř se zabývá výzkumem a klinickou aplikací moderních molekulárně genetických metod v oblastech:

- molekulární detekce patogenů
- molekulární genetiky poruch imunity
- genetické determinace aterosklerózy a trombofilie

Diagnostika patogenů molekulárně biologickými metodami je využívána zejména u imunokompromitovaných pacientů po transplantaci orgánů, u pacientů s infekční endokarditidou a u pacientů s infekčními komplikacemi po velkých chirurgických výkonech. Své uplatnění nachází také u pacientů s meningitidou či kloubními infekcemi, ale i v dalších situacích. Je vhodným doplněním klasických mikrobiologických postupů zejména v kultivačně negativních případech či u vzorků odebraných pod antibiotickou clonou.

Jako jediné pracoviště v ČR provádí genetická laboratoř, CKTCH Brno molekulární diagnostiku řady primárních imunodeficiencí, včetně prenatální diagnostiky. U pacientů s vrozenou poruchou obranyschopnosti jsou detekovány chyby v genech, které zodpovídají za správnou funkci imunitního systému. Při znalosti konkrétní genové chyby je v postižené rodině možné určit přenašeče onemocnění nebo odhalit onemocnění u ještě nenarozených dětí.

Laboratoř je součástí Národního centra a koordinátorem mezinárodního projektu "MedPed" (Make early diagnosis to Prevent early deaths), jehož cílem je včas diagnostikovat a léčit pacienty s familiární hypercholesterolémií, a tím zabránit předčasné klinické manifestaci aterosklerózy u těchto pacientů. V laboratoři se provádí molekulárně genetické vyšetření familiárního defektu apolipoproteinu B-100 a genotypu apolipoproteinu E.



Významné místo v náplni genetické laboratoře zaujímá vědecko-výzkumná činnost. Genetická laboratoř se účastní řady výzkumných projektů, včetně mezinárodních. Výsledky jsou průběžně prezentovány formou přednášek a publikací v odborném tisku. Ve spolupráci s Přírodovědeckou a Lékařskou fakultou Masarykovy univerzity v Brně se podílíme na pregraduálním i postgraduálním vzdělávání studentů.

3. Kontakty a provozní doba laboratoře

Kontakty:

	Jméno	e-mail	telefon
Vedoucí lékař laboratoře	doc. MUDr. Tomáš Freiburger, Ph.D.	tomas.freiberger@cktch.cz	543 182 548
VŠ odborný pracovník - molekulární detekce patogenů	Mgr. Eva Němcová, Ph.D.	evanem@cktch.cz	543 182 518
VŠ odborný pracovník - molekulární genetika poruch imunity	RNDr. Barbora Ravčuková	barrav@cktch.cz	543 182546
Zdravotní laborant - genetická determinace aterosklerózy	Martina Slezáčková, DiS.	marsle@cktch.cz	543 182 546
Laboratoř			543 182 546

Provozní doba laboratoře:

- Pracovní dny od 7:00 do 16:00 hod
- Příjem biologického materiálu: pracovní dny od 7:00 do 15.30 hod
(mimo dobu příjmu po telefonické domluvě)



4. Seznam vyšetření prováděných genetickou laboratoří

Seznam akreditovaných metod naleznete na www.cktch.cz/genlab

4.1. Molekulární detekce patogenů

HBV	- virus hepatitidy B (<i>Hepadnavirus</i>)
HCV	- virus hepatitidy C (<i>Hepacivirus</i>)
HSV 1/2	- lidský herpesvirus 1 a 2 (<i>Human herpes 1 simplexvirus, Human herpes 2 simplexvirus</i>)
EBV	- virus Epsteinův-Barrové (<i>Human herpes 4 lymphocryptovirus</i>)
CMV	- <i>Cytomegalovirus</i> (<i>Human herpes 5 cytomegalovirus</i>)
HHV6	- lidský herpesvirus 6 (<i>Human herpes 6 roseolovirus</i>)
BKV	- virus BK (<i>Polyomavirus BK</i>)
PVB19	- lidský parvovirus B19 (<i>Erythrovirus</i>)
ADV	- adenoviry
EV	- enteroviry
UNB	- univerzální systém pro detekci bakterií
UNF	- univerzální systém pro detekci hub
STAPH	- systém pro detekci stafylokoků

4.2. Molekulární genetika poruch imunity

X-SCID	- X-vázaná těžká kombinovaná imunodeficience (gen <i>IL2RG</i>)
OMENN	- AR-vázaná těžká kombinovaná imunodeficience, Omennův syndrom (geny <i>RAG1, RAG2</i>)
X-HIGM	- X-vázaný hyper IgM syndrom (gen <i>CD40LG</i>)
XLA	- X-vázaná agamaglobulinemie (gen <i>BTK</i>)
IGHM	-AR-vázaná agamaglobulinémie (gen <i>IGHM</i>)
CVID, IgAD	- běžná variabilní imunodeficience a selektivní deficit IgA (gen <i>TNFRSF13B</i>)
CGD	-chronická granulomatózní nemoc (gen <i>CYBB</i>)
WAS	- Wiskott-Aldrichův syndrom, X-vázaná trombocytopenie (gen <i>WASP</i>)
XLP	- X-vázaný lymfoproliferativní syndrom (geny <i>SH2D1A, BIRC4</i>)
HIES	- hyper IgE syndrom (gen <i>STAT3</i>)
HAE	- hereditární angioedém, deficit C1 inhibitoru (gen <i>SERPING1</i>)
C2	- deficit C2 složky komplementu (gen <i>C2</i>)
MBL	- deficit lektinu vázajícího manózu (gen <i>MBL2</i>)
GATA 2	- MonoMAC syndrom/deficience DCML (dendritických buněk, monocytů a některých lymfocytů); Embergerův syndrom, familiární MDS/AML (myelodysplastický syndrom/ akutní myeloidní leukémie)
TREC/KREC	- kruhové molekuly DNA vznikající jako vedlejší produkt při vývoji T lymfocytů/B lymfocytů

Přehled akreditovaných vyšetření je uveden na www.cktch.cz/genlab (příloha osvědčení o akreditaci).



4.3. Genetická determinace aterosklerózy a trombofilie

- Lipidy** - familiární defekt apolipoproteinu B-100 (mutace p.Arg3527Gln)
- genotypizace apolipoproteinu E
- Warfarin** - genetická vnímavost k účinku warfarinu (geny *CYP2C9* a *VKORC1*)
- Trombofilie** - genetická dispozice k trombofilii
- mutace G1691A (Leidenská mutace) genu pro faktor V
- mutace G20210A genu pro faktor II protrombin

Přehled akreditovaných vyšetření je uveden na www.cktch.cz/genlab (příloha osvědčení o akreditaci).

5. Zásady odběru biologického materiálu pro genetickou laboratoř

5.1. Příprava pacienta před odběrem

Pro veškerá genetická vyšetření prováděná genetickou laboratoří není nutná žádná speciální příprava pacienta před odběrem krve nebo jiného biologického materiálu.

5.2. Odběr biologického materiálu pro molekulární detekci patogenů

Vzorky z nesterilních míst (kůže, stěry, atd.) může kontaminovat přirozená mikroflóra. I při odběru periferní krve je potřeba dbát na co nejsterilnější podmínky odběru, aby se minimalizovalo riziko kontaminace.

Opatření: ošetření odběrového místa desinfekcí, použití nových rukavic, použití DNA-free zkumavek na odběr EDTA- krve.

5.3. Biologický materiál – množství, uskladnění, transport

- Žádanky ani vnější strana zkumavky nesmí být kontaminovány biologickým materiálem, nedodržení je důvodem k odmítnutí vzorku.
- Vzorky jsou přepravovány v uzavřených zkumavkách tak, aby během přepravy vzorku do laboratoře nemohlo dojít k rozliti, potřísnění biologickým materiálem nebo jinému znehodnocení vzorku.
- Genetická laboratoř nezajišťuje svoz biologického materiálu.
- Vzorky přijímané genetickou laboratoří mohou být doručeny:
 - zdravotnickým pracovníkem
 - svozovou službou odesílajícího zařízení
 - školenou osobou pracující v CKTCH



- poštou (v případě, že budou dodrženy podmínky pro transport)

5.3.1. Molekulární detekce patogenů

V případě požadavku vyšetření např. UNB, UNF, CMV, EBV, BKV, HBV, HCV, ADV, HSV1/2, HHV6, EV u jednoho pacienta: 2 × 5 ml krve v EDTA s jednou žádankou (dopravit do laboratoře při běžné teplotě do 6 hod. od odběru z důvodu HCV a EV - pokud není požadováno HCV nebo EV, lze dodat pouze 1 × 5 ml krve a uchovávat ji při 2 – 8 °C (max. 72 hod.), ale nejlépe dopravit do laboratoře do druhého dne).

Přijímaný materiál	Vyšetření	Minimální množství a typ odběru ^{a)}	Uskladnění a transport
Krev	UNB, UNF, STAPH, CMV, EBV, BKV, PVB19, HBV, ADV, HSV 1/2, HHV6	2 ml do EDTA	2 – 8 °C, ^{c)}
	HCV, EV	5 ml do EDTA	2 – 8 °C, dopravit do laboratoře při běžné teplotě do 6 hod od odběru
Punktát	UNB, UNF, STAPH	0,5 ml	2 – 8 °C, ^{c)}
Likvor	UNB, UNF, STAPH, CMV, EBV, ADV, HSV 1/2, HHV6	1-2 ml	2 – 8 °C, ^{c)}
	EV		2 – 8 °C, dopravit do laboratoře při běžné teplotě do 6 hod od odběru
BAL - bronchoalveolární laváž	UNB, UNF, STAPH	1-2 ml	2 – 8 °C, ^{c)}
Stěr	UNB, UNF, STAPH, ADV, HSV 1/2	b)	2 – 8 °C, ^{c)}
Moč	UNB, UNF, STAPH, CMV, BKV, ADV	1-2 ml	2 – 8 °C, ^{c)}
Materiál z rány	UNB, UNF, STAPH		2 – 8 °C, ^{c)}
Chlopeň	UNB, UNF, STAPH		2 – 8 °C, ^{c)}
Kostní dřev	UNB, UNF, STAPH, CMV, EBV, PVB19, HHV6	1 ml	2 – 8 °C, ^{c)}
Biopsie	UNB, UNF, STAPH, CMV, EBV, PVB19, ADV, HSV 1/2, HHV6		2 – 8 °C, ^{c)}
	EV	v RNA lateru	
Plazma	HBV	0,3 ml	2 – 8 °C, dopravit do laboratoře při běžné teplotě do 6 hod od odběru nebo zamraženou
	HCV, EV	1,1 ml	



Jiný materiál po předchozí domluvě			
------------------------------------	--	--	--

- a) odběr do sterilní zkumavky
b) stěr nativně do sterilní zkumavky nebo do sterilního fyziologického roztoku
c) uchovat při 2 – 8 °C max. 72 hod, ale nejlépe dopravit do laboratoře do druhého dne – transport při běžné teplotě do 6 hod.

5.3.2. Molekulární genetik a poruch imunity

Přijímaný materiál	Vyšetření	Množství a typ odběru	Uskladnění a transport
Krev	* a MBL	5 – 10 ml do EDTA	2 - 8°C, dopravit do laboratoře do druhého dne (při běžné teplotě do 6 hod) nebo zamraženou
DNA	*	100 µl (50 ng/µl) **	2 - 8°C, při dlouhodobějším skladování zamrazit, transport při běžné teplotě
	MBL	60 µl (100 ng/µl)**	
CVS-odběr choriových klků	*	dle možností	2 - 8°C, dopravit do laboratoře do druhého dne (při běžné teplotě do 6 hod)
Plodová voda	*	dle možností	2 - 8°C, dopravit do laboratoře do druhého dne (při běžné teplotě do 6 hod)
Tkáň uchovávaná v parafrinových bločcích	*	dle možností	při běžné teplotě
Jiný materiál po předchozí domluvě	*		

* X-SCID, OMENN, X-HIGM, XLA, IGHM, CVID/IgAD, CGD, WAS, XLP, HIES, HAE, C2

** minimální množství, menší množství nebo koncentrace po domluvě

5.3.3. Genetická determinace aterosklerózy a trombofilie

Přijímaný materiál	Vyšetření	Množství a typ odběru	Uskladnění a transport
Krev	Trombofilie a warfarin	1 - 2,5 ml do EDTA	2 - 8°C, dopravit do laboratoře do druhého dne (při běžné teplotě do 6 hod) nebo zamraženou
	Lipidy	5 – 10 ml do EDTA	
DNA	Warfarin a trombofilie	10 µl (100 ng/µl) **	2 - 8°C, při dlouhodobějším skladování zamrazit, transport při pokojové teplotě
	Lipidy	60 µl (100 ng/µl) **	



** minimální množství, jiné (menší) množství nebo koncentrace po domluvě

6. **Žádanka a správná identifikace biologického materiálu a pacienta**

Ke každému biologickému materiálu musí být správně vyplněná žádanka, která obsahuje:

- Jednoznačnou identifikaci pacienta: jméno, příjmení, číslo pojištěnce, pohlaví (za jméno prosím uvést M = muž, Ž = žena, ? = pohlaví neznámé – např. při odběru plodové vody), datum narození
- Identifikace žadatele o vyšetření: čitelné razítko, IČP, odbornost, adresa, oddělení/ústav/klinika
- Identifikační údaje o odesílajícím lékaři: jméno, podpis
- Kód zdravotní pojišťovny vyšetřovaného
- Klinickou diagnózu
- Druh materiálu
- Datum a čas odběru
- Datum a čas příjmu do laboratoře (vyplňuje pracovník laboratoře při příjmu vzorku)
- Požadovaný druh vyšetření
- Uvedení, zda se jedná o vyšetření probanda nebo rodinného příslušníka (v případě molekulární genetiky poruch imunity a genetické dispozice k trombofilii)
- Vyplněný informovaný souhlas u těchto vyšetření:
 - Molekulární genetiky poruch imunity
 - Genetická determinace aterosklerózy a trombofilie

Vzorové žádanky jsou v příloze a ke stažení na internetových stránkách www.cktch.cz/genlab. Na vyžádání je možno tyto žádanky zaslat e-mailem nebo poštou.

Biologický materiál musí být označen jménem, příjmením a rokem narození pacienta nebo příjmením pacienta a číslem pojištěnce. Pokud je nádobka s biologickým materiálem označena pouze příjmením pacienta, genetická laboratoř ji může přijmout jen za předpokladu, že je jinak zajištěna jednoznačná identifikace biologického materiálu (např. nádobka s materiálem je jednoznačně připojena k žádance s kompletní identifikací přilepením, v uzavřeném obalu apod.).

Není-li na žádance uvedeno datum narození a pohlaví pacienta, není to důvodem k odmítnutí vzorku, pokud je řádně vyplněné číslo pojištěnce.

6.1. **Neshody znemožňující příjem biologického materiálu nebo ohrožující správnou identifikaci biologického materiálu**

- nesprávný typ biologického materiálu vzhledem k požadovanému vyšetření
- nesplněné podmínky transportu nebo uchování biologického materiálu
- zaslání vzorků, které genetická laboratoř nevyšetřuje



- chybějící žádanka
- nedostatečné množství materiálu

6.2. Postup v případě zjištění neshod

- **Nesprávný typ biologického materiálu nebo špatně odebraný vzorek vzhledem k požadovanému vyšetření** – pracovník genetické laboratoře může přijmout biologický materiál, žádanku a upozorní na omyl příslušné pracoviště, odkud materiál pochází.
- **Nesplněné podmínky transportu nebo uchování biologického materiálu; zaslání vzorků, které genetická laboratoř nevyšetřuje** – viz bod výše.
- **Nedostatečné množství materiálu** – pracovník genetické laboratoře může přijmout biologický materiál a požádá zadávajícího lékaře o opakovaný odběr.
- **Chybějící žádanka** - pracovník genetické laboratoře může přijmout biologický materiál a požádá zadávajícího lékaře o doplnění žádanky či doplnění chybějících údajů na ní.

6.3. Nakládání s osobními a citlivými údaji pacientů

Genetická laboratoř nakládá s osobními a citlivými údaji pacientů tak, aby nemohlo dojít k jejich neoprávněnému přístupu, změně nebo zneužití.

Obecné zásady pro ochranu osobních údajů:

Osobní a citlivá data pacientů jsou vedena v listinné formě a interních databázích.

Listinná forma záznamu je zabezpečena uzamčením vstupu do genetické laboratoře a řízením vstupu cizích osob. Pro zabezpečení dat v interních databázích mají pracovníci přidělena přístupová práva s ohledem na jejich kompetence do interní databáze i na konkrétní PC. Všichni pracovníci jsou zavázáni v Prohlášení o zachování mlčenlivosti o osobních údajích pacienta k zachování důvěrnosti informací o pacientech a jsou prokazatelně seznámeni s vnitřními předpisy genetické laboratoře, ve kterých jsou stanoveny pravidla pro nakládání s osobními údaji.



7. Časová dostupnost vyšetření, vydávání výsledků a komunikace s laboratoří

7.1. Časová dostupnost vyšetření

7.1.1. Molekulární detekce patogenů

Vyšetření	Přijímaný materiál	Standardní lhůta vyšetření*	Statimová lhůta **
UNB	krev, punktát, likvor, BAL, stěr, moč, materiál z rány, chlopně, kostní dřev, biopsie	1-3 dny	dle telefonické domluvy
UNF	krev, punktát, likvor, BAL, stěr, moč, materiál z rány, chlopně, kostní dřev, biopsie	1-3 dny	dle telefonické domluvy
STAPH (specificky)	krev, punktát, likvor, BAL, stěr, moč, materiál z rány, chlopně, kostní dřev, biopsie	1-3 dny	dle telefonické domluvy
CMV (kvantitativně)	krev, kostní dřev, likvor, moč, biopsie***	3-4 dny	1-2 dny
EBV (kvantitativně)	krev, kostní dřev, likvor, biopsie***	3-4 dny	1-2 dny
BKV (kvantitativně)	krev, moč	2 týdny	1-2 dny
PVB19 (kvantitativně)	krev, kostní dřev, biopsie	2 týdny	1 týden
HBV (kvantitativně)	krev, plazma	2 týdny	1 týden příp. dle telefonické domluvy
HCV (kvantitativně)	krev, plazma	2 týdny	1 týden příp. dle telefonické domluvy
ADV (kvantitativně)	krev, likvor, moč, biopsie, stěr (vyšetření kvalitativně) (spojivka, rektum,...)	2-3 týdny	dle telefonické domluvy
HSV 1/2 (kvantitativně)	krev, likvor, biopsie, stěr (vyšetření kvalitativně) (spojivka, genitálie,...)	2-3 týdny	dle telefonické domluvy
HHV6 (kvantitativně)	krev, kostní dřev, likvor, biopsie	2-3 týdny	dle telefonické domluvy
EV (kvalitativně)	krev, plazma, likvor, biopsie	2-3 týdny	dle telefonické domluvy

*V rámci lhůt vyšetření jsou započítány pracovní dny od doručení materiálu do laboratoře. Není-li materiál doručen před 8 hod. ráno, ale až v průběhu dne, je zpracován následující pracovní den/dny.

** Prosíme zaškrtnout „statim“ pouze v akutních případech, příp. kontaktovat pracovníky naší laboratoře telefonicky: 543 182 518 nebo 543 182 546.

*** Standardní lhůta vyšetření pro biopsie v rámci spektra vyšetření „myokarditidy“ (EMB a HTX) je 2-3 týdny a statim 1 týden příp. dle telefonické domluvy.



7.1.2. Molekulární genetika poruch imunity

Vyšetření	Přijímaný materiál	Standardní lhůta vyšetření	Statimová lhůta
* u probanda	Krev, DNA, CVS-odběr choriových klků, plodová voda, tkáň uchovávaná v parařinových bločcích, jiný materiál po předchozí domluvě	1-3 měsíce	dle telefonické domluvy
* u rodinného příslušníka v rodinách s již detekovanou mutací	Krev, DNA, CVS-odběr choriových klků, plodová voda, tkáň uchovávaná v parařinových bločcích, jiný materiál po předchozí domluvě	1 -3 týdny	dle telefonické domluvy
MBL	Krev	1 – 3 měsíce	

* X-SCID, OMENN, X-HIGM, XLA, IGHM, CVID/IgAD, CGD, WAS, XLP, HIES, HAE, C2

7.1.3. Genetická determinace aterosklerózy a trombofilie

Vyšetření	Přijímaný materiál	Standardní lhůta vyšetření	Statimová lhůta
Lipidy	Krev, DNA	2 - 6 týdnů (3-5 měsíců)**	neprovádí se
Warfarin	Krev, DNA	2 dny *	2 dny *
Trombofilie	Krev, DNA	2 týdny	neprovádí se

*Doba zpracování je uvedena od doručení materiálu do laboratoře před 8 hod. ráno, v takovém případě můžeme začít s izolací ještě ten den a výsledek je další den. Je-li materiál doručen v průběhu dne, je izolován následující pracovní den/dny ráno. Pokud dojde materiál během pátku, bude zpracováván až následující pracovní den/dny.

**Vydání výsledku je možné po zadání potřebných údajů o pacientovi do dtb MEDPED a vyhodnocení výsledků odpovědným lékařem MEDPED.

7.2. Statimová vyšetření

Požadavky na vyšetření STATIM se do laboratoře dodávají se stejnými žádankami jako ostatní běžná vyšetření a jsou navíc označena slovem STATIM. Žádanka musí obsahovat stejné povinné údaje jako u běžného vyšetření.



7.3. Dodatečná a opakovaná vyšetření

Ze vzorků dodaných do genetické laboratoře lze během zpracování a skladování dodatečně provádět další vyšetření, event. opakování některých vyšetření.

Takto požadovaná vyšetření musí být zpětně doplněna do žádanky, nebo musí být dodána žádanka nová včetně informovaného souhlasu, kde je to požadováno. V případě, že byl již výsledek vydán, musí být vždy dodána žádanka nová.

- Molekulární detekce patogenů**

Vyšetření	Dodatečně
UNB, UNF, STAPH	lze provést do 1 týdne po obdržení biologického materiálu, pokud bylo u daného pacienta požadováno jedno z vyšetření: UNB, UNF nebo STAPH
	pokud u pacienta nebylo požadováno ani jedno z vyšetření: UNB, UNF nebo STAPH lze provést do 2-3 dnů po obdržení biologického materiálu, jestliže je materiálu dostatek
CMV, EBV, BKV, PVB19, ADV, HSV 1/2, HHV6	lze provést do 1 týdne po obdržení biologického materiálu
HBV	lze provést do 2-3 dnů po obdržení biologického materiálu, jestliže je materiálu dostatek
HCV, EV	nelze provést

- Molekulární genetika poruch imunity**

Dodatečně lze provést všechna vyšetření, pokud je v genetické laboratoři dostatek DNA pacienta.

- Genetická determinace aterosklerózy a trombofilie**

Dodatečná vyšetření se neprovádí.



7.4. Vydávání výsledků

Platí pravidlo „originální výsledek patří žadateli“. V jiných případech výsledek nesmí být vydán nebo sdělen pacientovi nebo třetí osobě, a to ani na základě jeho ústní (osobní nebo telefonické) nebo písemné žádosti. Pokud žadatel na žádanku napsal, že výsledek má být vydán jinému lékaři, učiní se tak.

U telefonického hlášení výsledku, je nutné ověření osoby, které se výsledek hlásí. Ověření osoby se provádí kontrolou volaného čísla na displeji telefonu. Neznámé volané číslo se ověření pomocí internetu a provede se zpětné volání. Telefonicky hlášené výsledky jsou zaznamenány na zadní straně příslušné žádanky, se jménem osoby, které byl výsledek hlášen. Výsledek po telefonu může sdělit lékař, VŠ odborný pracovník genetické laboratoře.

- **molekulární detekce patogenů**

Výsledek vyšetření je zaslán v písemné podobě lékaři, který ho požadoval. Jedná-li se o pacienta z CKTCH nebo z FNusA, je výsledek standardního i statimového vyšetření navíc vložen bezprostředně po vyhodnocení do systému NIS-AMB.

Pozitivní výsledky nebo statimová vyšetření z jiných lékařských zařízení než CKTCH a FNusA jsou telefonicky hlášena lékaři/sestře:

- UNB, UNF, STAPH (jen pozitivita, ne hraničně pozitivní výsledky)
- jen nové positivity HBV a HCV
- nově zjištěné positivity CMV překračující kritické hodnoty ($2,0 \cdot 10^3$ kopií/ml krve)
- nově zjištěné positivity EBV překračující kritické hodnoty ($1,0 \cdot 10^4$ kopií/ml krve)
- nově zjištěné positivity BKV překračující kritické hodnoty ($1,0 \cdot 10^4$ kopií/ml krve)
- případně ostatní výsledky dle telefonické domluvy

Pozitivní výsledky infekční endokarditidy, jedná-li se o pacienta z CKTCH nebo z FNusA, jsou vždy telefonicky hlášeny službu konajícímu lékaři/sestře a na Antibiotické středisko FNusA. Pozitivní výsledky infekční endokarditidy z jiných pracovišť jsou vždy telefonicky hlášeny službu konajícímu lékaři/sestře.

Všechny telefonicky hlášené výsledky jsou zaznamenány do interní databáze ASED se jménem osoby, které byl výsledek hlášen.

V případě hrozícího nedodržení doby odezvy např. z důvodu nutného ředění silně pozitivního vzorku, jsou předběžné výsledky vydány do NIS-AMB a/nebo hlášeny telefonicky.



Hodnocení výsledků kvantitativní detekce virové nálože:

Vyšetření	Materiál	negativní	Hraničně pozitivní	Pozitivní
CMV (kvantitativně)	krev	0 k/ml	< 100 k/ml	≥ 100 k/ml
	kostní dřev	0 k/ml	< 250 k/ml	≥ 250 k/ml
	likvor, moč	0 k/ml	< 25 k/ml	≥ 25 k/ml
EBV (kvantitativně)	krev	0 k/ml	< 500 k/ml	≥ 500 k/ml
	kostní dřev	0 k/ml	< 1250 k/ml	≥ 1250 k/ml
	likvor	0 k/ml	< 125 k/ml	≥ 125 k/ml
BKV (kvantitativně)	krev	0 k/ml	< 100 k/ml	≥ 100 k/ml
	moč	0 k/ml	< 25 k/ml	≥ 25 k/ml
HBV (kvantitativně)	krev, plazma	0 IU/ml	< 250 IU/ml	≥ 250 IU/ml
HCV (kvantitativně)	krev, plazma	0 IU/ml	< 50 IU/ml	≥ 50 IU/ml

- **molekulární genetika poruch imunity**

Výsledky a vyhodnocení jsou v písemné podobě odeslány lékaři, který je požadoval. V některých případech (např. u prenatálních vyšetření), po předchozí domluvě, jsou výsledky hlášeny telefonicky indikujícímu lékaři ihned po jejich získání. Telefonicky hlášené výsledky jsou zaznamenány na zadní straně příslušné žádanky, se jménem osoby, které byl výsledek hlášen.

Hodnocení výsledků: v případě shody sekvence analyzované se standardní je výsledek vydán jako „mutace nenalezena“.

V případě interpretace nalezené sekvenční změny není nutné brát v úvahu kvantitativní zastoupení jednotlivých alel.

1/Nalezneme-li shodu v databázi již detekovaných mutací, mutaci pojmenujeme a byla-li již dříve popsána v souvislosti s onemocněním, můžeme ji považovat za kauzální.

2/Je-li nalezena dosud nepopsaná sekvenční odlišnost od standardní sekvence, pojmenujeme ji (ve shodě s již nalezenými změnami – www.hgvs.org) na úrovni DNA, RNA i proteinu. Využijeme predikčních programů pro zjištění jejího očekávaného vlivu.

3/ Porovnáme s databází SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*). Nalezneme-li shodu, detekovanou změnu pojmenujeme. Není-li shoda, může se jednat o nově detekovanou sekvenční změnu - polymorfismus, která nemusí mít význam ve vztahu k onemocnění.



- **Genetická determinace aterosklerózy a trombofilie**

Výsledky jsou v písemné podobě odeslány lékaři, který je požadoval. Jedná-li se o pacienta z CKTCH nebo z FNusA, je výsledek standardního i statimového vyšetření navíc vložen do systému NIS-AMB.

Hodnocení výsledků:

ApoB- ve výše popsaném systému detekce mutace p.Arg3527Gln jsme schopni odlišit:

- homozygota s mutací

Pokud detekujeme v systému ACRS pouze produkt 203 bp, nález uzavíráme jako „pacient s mutací p.Arg3527Gln v homozygotním stavu“

- homozygota bez mutace

Pokud detekujeme v systému ARMS pouze produkt 334 bp, nález uzavíráme jako „mutace p.Arg3527Gln nezachycena“

- heterozygota wt/mt

Pokud detekujeme v systému ACRS produkty délky 183 + 203bp, uzavíráme jako „pacient je nositelem mutace p.Arg3527Gln v heterozygotním stavu“

ApoE - ve výše popsaném systému detekce zastoupení jednotlivých alel ϵ_2 , ϵ_3 , ϵ_4 jsme schopni detekovat jak homozygoty, tak heterozygoty pro tyto 3 typy alel na základě porovnání s kontrolami o příslušných genotypech. Ve zprávě je označen vždy nalezený genotyp vyšetřovaného ($\epsilon_2/\epsilon_2, \dots$), pouze u genotypu ϵ_2/ϵ_2 je doplněno upozornění na možnost předčasného výskytu aterosklerózy.

Trombofilie - detekujeme: homozygota bez mutace, heterozygota (s mutací na jedné alele genu), heterozygota (s mutací na jedné alele genu).

7.5. Stížnosti

Stížnost žadatelů o vyšetření, pacientů a jiných stran je podnětem pro zlepšení práce laboratoře. Způsob podání stížnosti:

- Ústně (telefonicky) – drobné připomínky
Jde-li o drobnou připomínku k práci laboratoře a lze ji vyřešit okamžitě, učiní se tak. Tento typ stížnosti se nezaznamenává.
- Písemně (dopis, e-mail) – závažnější připomínky
Stížnost přijímá kterýkoli pracovník genetické laboratoře a následně ji předá vedoucímu genetické laboratoře, který jí řeší nebo předá k řešení jím pověřené osobě. Záznam o stížnosti a způsob jejího řešení je evidován u manažera kvality genetické laboratoře. Na tuto stížnost je vždy vypracována písemná odpověď.

O stížnosti je podána informace vedení CKTCH.

Pokud stížnost není řešena ihned, je termín na vyřízení stížnosti 30 kalendářních dnů. V tomto termínu oznámí odpovědný pracovník stěžovateli výsledek šetření. V případě, že nelze v tomto termínu stížnost dořešit, informuje stěžovatele o dosavadním postupu.



7.6. Konzultační činnost laboratoře

Konzultace jsou umožněny telefonickým kontaktem s odbornými pracovníky laboratoře zodpovědnými za danou problematiku nebo přímo s vedoucím genetické laboratoře během provozních hodin laboratoře.

7.7. Smluvní laboratoře

Smluvní laboratoř je taková laboratoř, kam jsou zasílány vzorky k vyšetření, která se v naší laboratoři nevyšetřují. Pravidelně spolupracujeme s Centrem molekulární biologie a genové terapie FN Brno, Laboratoří lékařské genetiky - úsek molekulární biologie (vzdělávací a výzkumný institut AGEL o.p.s., pobočka Nový Jičín, Laboratoře AGEL a.s.) a s Cytogenetickou laboratoří Brno, s.r.o. (CPD).

8. Příloha

Příloha č. 1: Záznam o revizích v SOPG 01

Příloha č. 2: Rozdělovník

Příloha č. 3: Záznam o seznámení se SOPG 01

Příloha č. 4: Žádanky

- molekulární detekce patogenů
- molekulární genetiky poruch imunity (A4)
- genetické determinace aterosklerózy a trombofilie



Příloha č. 1:

Záznam o revizích v SOPG 01			
Datum	Revizi provedl	Podpis	Výsledek revize (beze změny)

Příloha č. 2:

Rozdělovník				
Výtisk číslo	Pracoviště	Jméno	Datum	Podpis
1.	Manager kvality genetické laboratoře	Bc. Jana Dederová		
2.	Manager kvality	Mgr. Ladislava Šnajdrová		
3.				
4.				



Příloha č. 3:

Záznam o seznámení se SOPG 01					
Příjmení	Datum	Podpis	Příjmení	Datum	Podpis



Příloha č. 4

ŽÁDANKA – Molekulární detekce patogenů										Genetická laboratoř, Centrum kardiovaskulární a transplantační chirurgie Brno, Výstavní 17/19, 603 00 Brno; tel.: 543 182 518; e-mail: tomas.freiberger@ckch.cz																																							
Pojišťovna						IČP žadatele						Datum odběru					Čas odběru																																
Odbornost						Číslo vzorku						Datum příjmu					Čas příjmu																																
Jméno a příjmení											Pohlaví	M	Ž	?	Základní diagnóza																																		
Číslo pojištěnce						Datum narození						Ostatní diagnózy																																					
Materiál: ☐ krev ☐ likvor ☐ punktát..... ☐ periferní žíla ☐ plodová voda ☐ chlopek..... ☐ arterie ☐ BAL ☐ jiná tkáň..... ☐ centrální katetr ☐ moč ☐ DNA..... ☐ kostní dřeň ☐ materiál z rány ☐ ostatní.....										Razítko a podpis žadatele																																							
Vyšetření: ☐ bakterie (univerzálně) ☐ HBV (kvant.) ☐ CMV (kvant.) ☐ HHV 6 (kvant.) ☐ houby (univerzálně) ☐ HCV (kvant.) ☐ EBV (kvant.) ☐ HSV 1/2 (kvant.) statim ☐ BKV (kvant.) ☐ Parvovirus B19 ☐ ADV (kvant.) ☐ <i>Staphylococcus</i> spp. (spec.) (kvant.) ☐ EV (kval.) (<i>S. aureus</i> , <i>S. koag.</i> <u>neg.</u> , <u>methicilin</u> rezistence) ☐ myokarditidy (sada: CMV, EBV, ADV, PVB19, HHV6, HSV1/2, EV) ☐ jiné..... (po domluvě)																																																	
Doplňující informace: ☐ po transplantaci ☐ jater ☐ ledvin ☐ srdce ☐ HSC; ☐ po chemoterapii ☐ po velkém chirurgickém výkonu; ☐ jiné.....										Záznamy o provedeném vyšetření: IČP ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ Odbornost ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐ ☐																																							
Klin. hodnocení: ☐ seps, sept. šok ☐ lokalizovaná bakt. infekce ☐ febrilní neutropenie ☐ inf. endokarditida ☐ horečka nejasného původu ☐ virová infekce										Datum Kód Počet <table border="1"><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr><tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr></table>																																							
Hemokultura ☐ negativní ☐ pozitivní..... výsl. není k disp. T..... °C; FW.....; Leu..... x10 ³ /ul; CRP..... mg/l; PCT..... ng/ml.										Razítko laboratoře a podpis																																							
Další komentář: ☐ Podezření na probíhající infekci.																																																	

**ŽADANKA – Molekulární genetika poruch imunity
DNA/RNA ANALÝZA**Genetická laboratoř, Centrum kardiovaskulární a
transplantační chirurgie Brno, Výstavní 17/19,
603 00 Brno; tel.: 543182546, 18; e-mail: tomas.freiburger@ckch.cz

Pojišťovna		ICP žadatele		Datum odběru		Čas odběru	
Odbornost		Číslo vzorku		Datum příjmu		Čas příjmu	

Jméno a příjmení		Pohlaví	M	Ž	?	Základní diagnóza	
Číslo pojištění		Datum narození				Ostatní diagnózy	

Materiál: ☐ periferní krev ☐ kostní dřev ☐ suchá krevní kapka ☐ plodová voda	☐ lymfocyty ☐ tkáň ☐ DNA ☐ ostatní	Razítko a podpis žadatele Razítko laboratoře a podpis																					
Výšetření: ☐ „statim“ (po domluvě)	☐ X-vázaná agamaglobulinémie (BTK) ☐ X-hyper IgM syndrom (CD40L) ☐ Hyper IgE syndrom (STAT3) ☐ X-vázaný lymfoprolif. syndrom (SH2D1A, BIRC4) ☐ Wiskott-Aldrich syndrom (WAS) ☐ CVID, IgAD (TACI) ☐ APDS (PIK3CD, PIK3R1) ☐ Chronická granulomatózní choroba (CYBB) ☐ genotypizace MBL (MBL2) ☐ Autoimunitní lymfoproliferativní syndrom typu V (gen CTLA4) ☐ jiné																						
Komentář: Uveďte prosím, zda se jedná o výšetření probanda nebo rodinného příslušníka.		Záznamy o provedeném výšetření: ICP Odbornost <table border="1"> <thead> <tr> <th>Datum</th> <th>Kód</th> <th>Počet</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> </tbody> </table>	Datum	Kód	Počet																		
Datum	Kód	Počet																					

INFORMOVANÝ SOUHLAS**A. Prohlášení lékaře**

Prohlašuji, že jsem vyšetřované/mu (zákonnému zástupci) jasně a srozumitelně vysvětlil/a účel, povahu, předpokládaný prospěch, následky a možná rizika výše uvedeného genetického laboratorního vyšetření. Rovněž jsem vyšetřovanou osobu seznámil/a s možnými výsledky a s důsledky toho, že by vyšetření nebylo možno za výše uvedeným účelem provést (nezdařilo by se) nebo by nemělo potřebnou vypovídací schopnost pro naplnění sledovaného účelu. Seznámil/a jsem vyšetřovanou osobu i s možnými riziky a důsledky v případě odmítnutí tohoto vyšetření. Výsledky laboratorního vyšetření budou důvěrné a nebudou bez souhlasu vyšetřované osoby sdělovány třetí straně, pokud platné právní předpisy neurčují jinak.

B. Prohlášení vyšetřované osoby

Potvrzuji, že mi bylo poskytnuto genetické poradenství k výše uvedenému genetickému laboratornímu vyšetření. Vše mi bylo vysvětleno jasně a srozumitelně. Měl/a jsem možnost vše si řádně, v klidu a v dostatečně poskytnutém čase zvážit, měl/a jsem možnost se lékařem zeptat na vše, co jsem považoval/a za pro mne podstatné a probrat s ním vše, čemu jsem nerozuměl/a. Na tyto mé dotazy jsem dostal/a jasnou a srozumitelnou odpověď.

- ☐ Přiji/ ☐ Nepřiji si být informován/a o výsledku genetického laboratorního vyšetření.
- Přiji si, aby o výsledku vyšetření byly informovány následující osoby:
- ☐ Souhlasím/ ☐ Nesouhlasím s případným zapsáním mé osoby do registru geneticky vyšetřovaných osob.
- ☐ Souhlasím/ ☐ Nesouhlasím s uchováním DNA pro účely dalšího vyšetřování v závislosti na pokroku ve výzkumu a v zájmu ostatních členů rodiny. Jsem si vědom/a, že v případě nesouhlasu, již nebude možné výsledek některých vyšetření dodatečně ověřit nebo doplnit a bude nutný nový odběr materiálu.
- ☐ Souhlasím/ ☐ Nesouhlasím s využitím výsledků genetického laboratorního vyšetření a relevantních informací o mém zdravotním stavu, včetně fotodokumentace, k vědeckým a výukovým účelům za podmínky, že tyto údaje budou prezentovány a publikovány pouze v anonymní formě.
V případě neoznačení daných možností Souhlasím/ Nesouhlasím, bude postupováno jako v případě souhlasu.

Na základě tohoto poučení prohlašuji, že souhlasím s odběrem příslušného vzorku a s provedením výše popsaného genetického laboratorního vyšetření. Jsem si vědom(a), že svůj souhlas mohu kdykoliv odvolat.

V Dne

Podpis vyšetřované osoby (popř. zákonného zástupce):

Jméno zákonného zástupce (hůlkovým písmem), rodné číslo:

**ŽÁDANKA – Genetická determinace aterosklerózy a trombofilie DNA ANALÝZA**Genetická laboratoř, Centrum kardiovaskulární a transplantační chirurgie Brno, Výstavní 17/19, 603 00 Brno; tel.: 543 182 546; e-mail: tomas.freiburger@oktsch.cz

Pojišťovna	ICP žadatele	Datum odběru	Cas odběru
Odbornost	Císlo vzorku	Datum příjmu	Cas příjmu

Jméno a příjmení	Pohlaví M Z ?	Základní diagnóza
Císlo pojištění	Datum narození	Ostatní diagnózy

Materiál:

☐ krev

☐ suchá krevní kapka

☐ DNA

☐ ostatní

Vyšetření:

☐ familiární defekt apolipoproteinu B-100

☐ genotypizace apolipoproteinu E

☐ genetická dispozice k trombofilii ☐ *gen faktor V, G1691A (Leiden)*

☐ *gen prothrombin, G20210A*

☐ jiné

Komentář:

Razítko a podpis žadatele

Zánamy o provedení vyšetření:

ICP							
Odbornost							

Datum	Kód	Počet

Razítko laboratoře a podpis

INFORMOVANÝ SOUHLAS**A. Prohlášení lékaře**

Prohlašuji, že jsem vyšetřované/mu (zákonnému zástupci) jasně a srozumitelně vysvětlil/a účel, povahu, předpokládaný prospěch, následky a možné riziko výše uvedeného genetického laboratorního vyšetření. Rovněž jsem vyšetřovanou osobu seznámil/a s možnými výsledky a s důsledky toho, že by vyšetření nebylo možno za výše uvedeným účelem provést (nezdařilo by se) nebo by nemělo potřebnou vypovídací schopnost pro naplnění sledovaného účelu. Seznámil/a jsem vyšetřovanou osobu i s možnými riziky a důsledky v případě odmítnutí tohoto vyšetření. Výsledky laboratorního vyšetření budou důvěrné a nebudou bez souhlasu vyšetřované osoby sdělovány třetí straně, pokud platné právní předpisy neurčují jinak.

B. Prohlášení vyšetřované osoby

Potvrduji, že mi bylo poskytnuto genetické poradenství k výše uvedenému genetickému laboratornímu vyšetření. Vše mi bylo vysvětleno jasně a srozumitelně. Měl/a jsem možnost vše si řádně, v klidu a v dostatečně poskytnutém čase zvážít, měl/a jsem možnost se lékaře zeptat na vše, co jsem považoval/a za pro mne podstatné a probrat s ním vše, čemu jsem nerozuměl/a. Na tyto mé dotazy jsem dostal/a jasnou a srozumitelnou odpověď.

- ☐ Přijím/ ☐ Nepřijím být informován/a o výsledku genetického laboratorního vyšetření.
- ☐ Přijím si, aby o výsledku vyšetření byly informovány následující osoby:
- ☐ Souhlasím/ ☐ Nesouhlasím s případným zapsáním mé osoby do registru geneticky vyšetřovaných osob/registru pacientů projektu Medped.
- ☐ Souhlasím/ ☐ Nesouhlasím s uchováním DNA pro účely dalšího vyšetřování v závislosti na pokroku ve výzkumu a v zájmu ostatních členů rodiny. Jsem si vědom/a, že v případě nesouhlasu, již nebude možné výsledek některých vyšetření dostatečně ověřit nebo doplnit a bude nutný nový odběr materiálu.
- ☐ Souhlasím/ ☐ Nesouhlasím s využitím výsledků genetického laboratorního vyšetření a relevantních informací o mém zdravotním stavu, včetně fotodokumentace, k vědeckým a výukovým účelům za podmínky, že tyto údaje budou prezentovány a publikovány pouze v anonymní formě. V případě neoznčení daných možností Souhlasím/ Nesouhlasím, bude postupováno jako v případě souhlasu.

Na základě tohoto poučení prohlašuji, že souhlasím s odběrem příslušného vzorku a s provedením výše popsaného genetického laboratorního vyšetření. Jsem si vědom(a), že svůj souhlas mohu kdykoliv odvolat.

V Dne

Podpis vyšetřované osoby (popř. zákonného zástupce):

Jméno zákonného zástupce(nůlkovým písmem), rodné číslo: