

Laboratorní příručka

podle ČSN EN ISO 15189

(Laboratoř lékařské a reprodukční genetiky)

Všechna práva, zejména právo na rozmnožování a rozšiřování jakož i překlad, jsou vyhrazena			
Číslo dokumentu	PG 00002	Výtisk číslo	
Zhotovil:	Prof. MUDr. Pavel Trávník, DrSc.	Verze	13
Schválil:	MUDr. Vlasta Linková	Platí od	13.8.2024
REPROMEDA, s.r.o. Studentská 812/6 625 00 Brno Česká republika		Tel: 511 158 222 E-mail: info@repromeda.cz Internet: www.repromeda.cz	
© 2024, REPROMEDA s.r.o			

A Úvod

A-1 Předmluva

Tato laboratorní příručka je určena všem, kdo potřebují přehled nebo podrobné informace o službách poskytovaných Laboratoří lékařské a reprodukční genetiky (dále jen laboratoř). Byla zpracována v souladu s normou **ČSN EN ISO 15189 Zdravotnické laboratoře – zvláštní požadavky na jakost a způsobilost** a datovým standardem MZ ČR (**ISO 15189 a Laboratorní příručka - Datový standard MZČR**). Je součástí dokumentace managementu kvality REPROMEDY.

Laboratorní příručka je dostupná na webových stránkách laboratoře www.repromedalab.cz a na požádání bude poskytnuta všem, kdo projeví zájem.

A-2 Obsah

A	Úvod	2
A-1	Předmluva	2
A-2	Obsah	3
B	Informace o laboratoři	6
B-1	Identifikace společnosti a důležité údaje	6
B-2	Základní informace o laboratoři	6
B-3	Zaměření laboratoře.....	7
B-4	Úroveň a stav akreditace pracoviště	7
B-5	Organizace laboratoře, vybavení a obsazení	7
B-6	Spektrum nabízených služeb.....	7
C	Manuál pro odběry primárních vzorků	8
C-1	Základní informace	8
C-2	Žádanky o vyšetření.....	8
C-3	Požadavky na urgentní vyšetření	8
C-4	Ústní požadavky na vyšetření.....	9
C-5	Používaný odběrový systém	9
C-6	Příprava pacienta před vyšetřením	10
C-7	Identifikace pacienta na žádance a označení vzorku.....	10
C-8	Odběr vzorku.....	11
C-9	Množství vzorku	14
C-10	Nezbytné operace se vzorkem, stabilita	14
C-11	Základní informace k bezpečnosti při práci se vzorky	14
C-12	Informace k dopravě vzorků	15
D	Preanalytické procesy v laboratoři	15

D-1	Příjem žádank a vzorků	15
D-2	Kritéria pro odmítnutí vadných primárních vzorků	15
D-3	Postupy při nesprávné identifikaci vzorku nebo žádanky.....	16
D-4	Vyšetřování smluvními laboratořemi.....	17
E	Vydávání výsledků a komunikace s laboratořmi.....	18
E-1	Hlášení výsledků v kritických intervalech	18
E-2	Informace o formách vydávání výsledků.....	18
E-3	Typy nálezů a laboratorních zpráv a jejich popis	19
E-4	Vydávání výsledků přímo pacientům	19
E-5	Opakovaná a dodatečná vyšetření.....	19
E-6	Změny výsledků a nálezů.....	20
E-7	Intervaly od dodání vzorku k vydání výsledku	20
E-8	Konzultační činnost laboratoře.....	21
E-9	Způsob řešení stížností.....	21
E-10	Vydávání potřeb laboratoří	21
F	Laboratorní vyšetření poskytovaná laboratořmi	22
F-1	Seznam vyšetření	22
F-2	Vyšetření karyotypu – <i>akreditovaná metoda</i>	23
F-3	PGD chromozomových aberací metodou MPS – <i>akreditovaná metoda</i>	23
F-4	PGD monogenních chorob metodou karyomapping – <i>akreditovaná metoda</i>	24
F-5	Izolace DNA pro molekulárně genetické vyšetření.....	25
F-6	Vyšetření počtu kopií exonu 7 a 8 SMN1 genu pro spinální muskulární atrofii – <i>akreditovaná metoda</i>	25
F-7	Vyšetření počtu trirepeatů v genu FMR1 pro syndrom fragilního X.....	26
F-8	Vyšetření mutací PANelovou Diagnostickou Analýzou (PANDA) – <i>akreditovaná metoda</i> . 27	
F-9	Panelová analýza přenašečství recesivních chorob PANDA Carrier – <i>akreditovaná metoda</i> 28	

G Přílohy	30
H Odkazy.....	31
I Vysvětlivky a zkratky.....	32

B Informace o laboratoři

B-1 Identifikace společnosti a důležité údaje

REPROMEDA, s.r.o. je nestátní zdravotnické zařízení – centrum reprodukční medicíny a genetiky.

Sídlo firmy REPROMEDA: Studentská 812/6, 625 00 Brno, Česká republika

Statutární zástupce:

MUDr. Kateřina Veselá, Ph.D.

IČO: 25557246

E-mail: info@repromeda.cz

Webová stránka: www.repromeda.cz

REPROMEDA s.r.o. poskytuje služby v oblasti reprodukční medicíny a genetiky od r. 1999. Od r. 2010 má jako organizační složku Laboratoř lékařské a reprodukční genetiky.

Služby v diagnostice a léčbě poruch plodnosti všech typů poskytuje pojištěncům zdravotních pojišťoven i samoplátcům, z České republiky i zahraničí.

B-2 Základní informace o laboratoři

Adresa laboratoře: Studentská 812/6, 625 00 Brno

Telefonní čísla: +420 511 158 468

Webová stránka: www.repromedalab.cz

Provozní doba laboratoře

Laboratoř: Pondělí až pátek: 7.00 – 15.30

Příjem materiálu: Pondělí až pátek: 7.00 – 15.00

Kontaktní osoby:

MUDr. Kateřina Veselá, Ph.D. – ředitelka společnosti – kvesela@repromeda.cz

MVDr. Vlasta Linková – vedoucí laboratoře – vlinkova@repromeda.cz

Mgr. Miroslav Horňák, Ph.D. – zástupce vedoucí laboratoře – mhornak@repromeda.cz

Mgr. Eva Kořistková – manažer kvality, metrolog – ekoristkova@repromeda.cz

B-3 Zaměření laboratoře

Laboratoř je zaměřena jednak na základní cytogenetická a molekulárně-genetická vyšetření, jednak na specializovaná vyšetření bioptického materiálu z preimplantační genetické diagnostiky.

B-4 Úroveň a stav akreditace pracoviště

REPROMEDA s.r.o. je držitelem certifikátu ČSN EN ISO 9001:2009 (CSQ-CERT 167/QMS/2010) a povolení SÚKL k činnosti tkáňového zařízení (sukls65372/2009). Laboratoř lékařské a reprodukční genetiky je od r. 2011 akreditována podle normy ČSN EN ISO 15189 (ČIA), akreditované metody jsou vyznačeny v kapitole F.

B-5 Organizace laboratoře, vybavení a obsazení

Laboratoř je organizační součástí společnosti REPROMEDA. Vzorky krve, buklální stěry, bioptovaný materiál z preimplantační genetické diagnostiky, případně další vzorky pro vyšetření jsou odebírány pracovníky REPROMEDY, po dohodě je možné přijmout i vzorky odebrané na jiném pracovišti na základě smlouvy, zahrnující zaškolení externích pracovníků pracovníky REPROMEDY a dodržení stanovených podmínek odběru.

Laboratoř má moderní vybavení k provádění cytogenetických vyšetření (vyšetření karyotypu, metoda FISH), tak i molekulárně genetických vyšetření (PCR, DNA čipy, kapilární elektroforéza, sekvenování, masivně paralelní sekvenování).

Pracovníci laboratoře mají náležitou zdravotnickou i vědeckou kvalifikaci v oblasti klinické genetiky, cytogenetiky i molekulární genetiky. Pravidelně publikují v odborném tisku.

B-6 Spektrum nabízených služeb

Laboratoř vyšetřuje vzorky krve ke stanovení karyotypu z lymfocytů. U DNA izolované z periferní krve, případně z dalších zdrojů, vyšetřuje mutace v genech mimo jiné pro cystickou fibrózu, spinální muskulární atrofii, syndrom fragilního X, trombofilní mutace, AZF oblasti a mnoha dalších. Dále laboratoř vyšetřuje pomocí panelové diagnostiky geny, které personalizují léčbu neplodnosti (odpověď na hormonální stimulaci atd.) Pomocí Sangerova sekvenování je laboratoř schopna ověřit jakoukoliv popsanou variantu lidského genomu. Laboratoř se specializuje na celé spektrum preimplantačních vyšetření u bioptátů embryí od screeningu aneuploidií přes strukturní aberace a translokace až po veškeré monogenní choroby včetně komplexních a kombinovaných diagnóz a indikací.

Podrobnosti jsou uvedeny v kapitole F.

C Manuál pro odběry primárních vzorků

C-1 Základní informace

Odběr biologického materiálu musí probíhat na základě doporučení, uvedených v Laboratorní příručce nebo pracovních postupech vydávaných laboratoří. Dodržení těchto pokynů je jednou z podmínek pro správné stanovení a interpretaci výsledků laboratoří. Při nedodržení uvedených pokynů může být vyšetření zcela neúspěšné, může dojít ke zkreslení stanovovaných hodnot a k chybné interpretaci výsledků. To může v důsledku vést k poškození pacienta nebo ke zbytečnému opakování odběru vzorků. Důrazně tak žádáme všechny interní i externí pracovníky, aby pokyny co nejpečlivěji dodržovali.

Vzhledem k charakteru genetického vyšetření je u všech vyšetření prováděných laboratoří povinný **informovaný souhlas pacienta s genetickým vyšetřením**:

Poučení a souhlas vyšetřované/ho (zákonného zástupce) s genetickým laboratorním vyšetřením

Poučení a informovaný souhlas páru s výkonem preimplantačního genetického testování aneuploidií (PGT-A)

Poučení a informovaný souhlas páru s výkonem preimplantačního genetického testování monogenních chorob (PGT-M)

(viz kapitola H)

C-2 Žádanky o vyšetření

Aby bylo zajištěno získání všech potřebných údajů pro další postup vyšetření, jsou používány jednotné žádanky

Žádanka o cytogenetické a molekulárně genetické vyšetření

Žádanka o preimplantační genetické testování (PGT)

Preimplantation genetic testing requisition form

(viz kapitola H)

C-3 Požadavky na urgentní vyšetření

Prováděná vyšetření nejsou takového charakteru, aby vyžadovala, s výjimkou preimplantační genetické diagnostiky, urgentní vyšetření. Tato vyšetření mají absolutní přednost a musí být provedena co nejdříve od přijetí vzorku, aby mohl být proveden

transfer čerstvých embryí. Při vyšetření karyotypu jsou upřednostňováni klienti, u kterých má být proveden cyklus IVF.

Doba odezvy při urgentním požadavku je uvedena v kapitole F této příručky.

Standardní postup ostatních vyšetření je takový, že všechna jsou prováděna v pořadí přijetí vzorků bezodkladně po nashromáždění dostatečného počtu vzorků nutných k efektivnímu provedení vyšetření.

C-4 Ústní požadavky na vyšetření

Vzhledem k charakteru genetického vyšetření nejsou standardně přijímány ústní požadavky na vyšetření. Klinický genetik, gynekolog nebo klinický embryolog může telefonicky požádat o dovyšetření již vyšetřovaného vzorku, pokud to okolnosti vyžadují. Pracovník laboratoře, přijímající telefonickou žádost, ověří, zda jde požadované vyšetření provést, poté požádá o dodatečné zaslání žádanky a žádost zaznamená do příjmové knihy a zajistí provedení.

C-5 Používaný odběrový systém

Laboratoř standardně přijímá vzorky odebrané v REPROMEDĚ nebo pracovníkem REPROMEDY do materiálu přineseného z REPROMEDY na cizím pracovišti. Pokud je prováděn odběr na cizím pracovišti jeho pracovníkem, dodává odběrový materiál REPROMEDA, pokud pracoviště nedisponuje vhodným spotřebním materiálem pro odběr vzorku. Všechny používané materiály zajišťují nejvyšší možnou stabilitu vzorku a kvalitu při zpracování v laboratoři. Typy odběrového materiálu jsou vždy uvedeny u jednotlivých vyšetření v této laboratorní příručce.

C-5.1. Odběry krve

Veškerý odběrový materiál je jednorázového charakteru, používaný typ Vacutainer™. Krev ke genetickému vyšetření nelze odebrat do 200 dní po transfúzi krve a po transplantaci kostní dřeně. V těchto případech je nutno postupovat podle schématu uvedeného v kapitole F u jednotlivých vyšetření.

Vyšetření	Podmínky odběru	Zkumavka	Množství	Skladování
Karyotyp	viz kapitola F	zelená	1 zkumavka	4-8°C, max. 72 h
Jiná cytogenetická vyšetření (FISH)	viz kapitola F	zelená	1 zkumavka	4-8°C, max. 72 h
Izolace DNA	viz kapitola F	velká fialová	1 zkumavka	4-8°C, max. 14 dní

C-5.2. Odběry buněk z bukální sliznice

Veškerý odběrový materiál je jednorázového charakteru, zbavený stop DNA, enzymů a inhibitorů PCR s certifikátem CE.

Vyšetření	Podmínky odběru	Souprava	Množství	Skladování
Izolace DNA	viz kapitola F	Isohelix SK1, Dri- Capsules	1 soupravy	teplota místnosti, neomezeno

C-5.3. Preimplantační genetická diagnostika

Veškerý odběrový materiál je jednorázového charakteru, zbavený stop DNA, enzymů a inhibitorů PCR s certifikátem CE.

Vyšetření	Biologický materiál	Zpracování	Nosič
Chromozomové aberace	blastomery, pólocyty, trofoblast	lýza v pufru	mikrozkumavka
Karyomapping	blastomery, pólocyty, trofoblast	lýza v pufru	mikrozkumavka

C-6 Příprava pacienta před vyšetřením

Pacient musí být řádně poučen o povaze vyšetření a podepsat informovaný souhlas (viz H). Specifické podmínky jsou popsány u jednotlivých typů vyšetření v kapitole F.

C-7 Identifikace pacienta na žádance a označení vzorku

- Jméno a příjmení pacienta
- Číslo pojištěnce
- Datum narození
- Pohlaví
- Číslo zdravotní pojišťovny
- Není-li pacient pojištěn, informace o způsobu úhrady (samoplátce, faktura)
- Kód diagnózy podle MKN
- Datum odběru
- Požadované vyšetření

10. Zasílaný materiál
 11. Identifikace indikujícího pracoviště, jméno lékaře, podpis lékaře, identifikační číslo pracoviště
 12. Případný požadavek na urgentní vyšetření
- viz kapitola *H*.

C-8 Odběr vzorku

C-8.1. Odběr krve

Odběr provádí ambulantní sestra, které je zodpovědná za správnost provedení, identifikaci pacienta, správnost žádanky a včasné dodání vzorku do laboratoře.

1. Pacient předloží v recepci kartičku pojišťovny (u výkonu hrazeného ze zdravotního pojištění) a občanský průkaz nebo pas.
2. Recepční předá dokumentaci pacienta ambulantní sestře.
3. Sestra vyplní na základě údajů ve zdravotní dokumentaci žádanku.
4. Zkontroluje všechny pomůcky potřebné pro odběr. Všechny zkumavky a musí být předem čitelně a nesmazatelně označeny jménem, příjmením a rodným číslem.
5. Identifikujeme znovu pacienta jménem a rodným číslem.
6. Usadíme pacienta do křesla s pevnou zádivou opěrkou, trpí-li pacient nevolností při odběrech, uložíme jej na vyšetřovací lůžko.
7. Vysvětlíme pacientovi způsob odběru.
8. U sedících nemocných sestra doporučí vhodnou polohu paže, tj. podložení paže opěrkou bez pokrčení v lokti.
9. Při vlastním odběru pacienta vyzveme k sevření pěsti. Zkontrolujeme kvalitu žilního systému. Pacient by neměl během odběru pít ani žvýkat.
10. Bezprostředně před odběrem se musí zkontrolovat kvalita jehly, stříkačky a zkumavek.
11. Škrtidlo by mělo být přiloženo 7,5 – 10 cm nad místem vpichu. Turniket smí být aplikován max. 1 minutu. Opakované použití je možné nejdříve po 2 minutách.
12. Posoudíme kvalitu žilního systému v loketní jamce. Vždy je nutné zabránit poranění žíly nebo paže způsobenou neočekávaným pohybem a to hlavně u dětí.
13. Desinfikujeme místo vpichu desinfekčním prostředkem. Po desinfekci ponecháme lehce zaschnout, abychom předešli hemolýze vzorku a pocitu pálení v místě odběru. Po desinfekci už nesmíme palpat žílu a dotýkat se místa vpichu.
14. Provedeme vpich.

15. Nejvhodnější doba pro uvolnění turniketu je, když se ve zkumavce nebo stříkačce objeví krev. Při včasném uvolnění turniketu se normalizuje krevní oběh a zabrání se tak krvácení po odběru.
16. Jehlu vyjmeme samostatně. Místo vpichu i s jehlou zakryjeme gázovým čtverečkem, jemně zatlačíme a pomalým tlakem odstraníme jehlu ze žíly. Přitom dbáme, aby nedošlo k poranění pacientovy paže. Pacient chvíli posedí v klidu a přidrží místo vpichu.
17. Po odběru zakryjeme místo vpichu náplastí s polštářkem.
18. Bezprostředně po odběru je nutné jehly umístit do kontejneru určenému pro materiál s biologickým rizikem.
19. Pokud se nepodaří odebrat dostatečné množství krve, provedeme venepunkci v nové žíle. Opakované sondování jehlou je nepřípustné.
20. Jednotlivé zkumavky s přidanými látkami je nutno šetrně promíchat pětinasobným převrácením.
21. Provedeme záznam o odběru do dokumentace pacienta a informujeme pacienta o termínu dodání výsledků.

Bezpečnostní aspekty odběru krve

- Každý vzorek krve je nutné považovat za infekční, proto je nutné zabránit kontaminaci pokožky odebírající osoby a veškerých pomůcek používaných při odběru.
- Manipulace s jehlami se musí provádět s maximální opatrností.
- Je nutné zajistit dostupnost lékaře u případných komplikací při odběru.
- U malých dětí je nutné zabránit případnému poranění.
- Předcházení hematomu – při odběru musíme včas odstranit turniket. Pokud je možné, používáme velkých povrchových žil a po odběru doporučíme pacientovi, aby použil přiměřeně malého tlaku na místo vpichu.
- Žádanky ani vnější strana zkumavky nesmí být kontaminovány biologickým materiálem.
- Vzorky musí být přepravovány tak, aby během přepravy vzorku do laboratoře nemohlo dojít k rozliti, potřísnění biologickým materiálem nebo jinému znehodnocení vzorku, tj. vzorky jsou přepravovány v uzavřených zkumavkách, které jsou vloženy do plastových obalů nebo do stojánků. Vzorky od pacientů s přenosným virovým onemocněním musí být viditelně označeny.
- Pracovní oblečení, bezpečná obuv
- Rukavice – nemusí být sterilní, ale musí se měnit po každém pacientovi
- Kniha úrazů: po poranění jehlou napsat – jméno pacienta, datum, o jaké poranění se jedná a jméno ordinujícího lékaře

C-8.2. Odběr bukálního stěru

Odběr provádí pacient přesně podle instrukcí na formuláři F00057 Návod na odběr vzorků DNA stěrem bukální sliznice pomocí soupravy SK1 a kapslemi Dri-Capsules.

V jiných případech odběr provádí ambulantní sestra, které je zodpovědná za správnost provedení, identifikaci pacienta, správnost žádanky a včasné dodání vzorku do laboratoře.

1. Pacient předloží v recepci kartičku pojišťovny (u výkonu hrazeného ze zdravotního pojištění) a občanský průkaz nebo pas.
2. Recepční předá dokumentaci pacienta ambulantní sestře.
3. Sestra vyplní na základě údajů ve zdravotní dokumentaci žádanku.
4. Zkontrolujeme všechny pomůcky potřebné pro odběr. Všechny zkumavky musí být předem čitelně a nesmazatelně označeny jménem, příjmením a rodným číslem.
5. Identifikujeme znovu pacienta jménem a rodným číslem.
6. Usadíme pacienta a vysvětlíme mu způsob odběru
7. Požádáme, aby otevřel ústa
8. Zkontrolujeme vzhled sliznice a otíráním zdravého a čistého místa sliznice získáme materiál.
9. Štětíčku vložíme ihned do odběrové zkumavky.
10. Provedeme záznam o odběru do dokumentace pacienta a informujeme pacienta o termínu dodání výsledků.

Bezpečnostní aspekty odběru bukálního stěru

- Každý vzorek je nutné považovat za infekční, proto je nutné zabránit kontaminaci pokožky odebírající osoby a veškerých pomůcek používaných při odběru.
- Žádanky ani vnější strana zkumavky nesmí být kontaminovány biologickým materiálem.
- Vzorky musí být přepravovány tak, aby během přepravy vzorku do laboratoře nemohlo dojít k rozlití, pořísnění biologickým materiálem nebo jinému znehodnocení vzorku, tj. vzorky jsou přepravovány v uzavřených zkumavkách, které jsou vloženy do plastových obalů nebo do stojánků. Vzorky od pacientů s přenosným virovým onemocněním musí být viditelně označeny.
- Pracovní oblečení, bezpečná obuv
- Rukavice – nemusí být sterilní, ale musí se měnit po každém pacientovi

Kniha úrazů: po poranění napsat – jméno pacienta, datum, o jaké poranění se jedná a jméno ordinujícího lékaře

C-8.3. Odběr biopsie embrya

Odběr pólocytů, blastomer a trofoblastu provádí klinický embryolog a jsou podrobně popsány v pracovních postupech:

SOP Biopsie blastomer

SOP Biopsie pólových tělísek

SOP Biopsie trofoblastu

Manuál pro transportní PGD centrum

C-9 Množství vzorku

Množství vzorku je voleno tak, aby pokud možno dovolovalo opakované vyšetření a na druhé straně nezatěžovalo příliš pacienta nebo bioptované embryo. Konkrétní údaje jsou uvedeny v kapitole F.

C-10 Nezbytné operace se vzorkem, stabilita

Řádně odebraný vzorek je vždy uchováván při teplotě 4-8°C, maximálně po dobu 72 h v případě cytogenetického vyšetření (karyotyp, FISH), nebo v případě izolace DNA po dobu maximálně 14 dní, v originální odběrové soupravě, chráněn před mechanickým poškozením. Buňky fixované na podložním skle se uchovávají při laboratorní teplotě, chráněné před vlhkostí a prachem. Izolovaná DNA i amplifikovaná DNA se uchovává při teplotě 4-8°C po dobu maximálně 72 hodin a archivuje po dobu minimálně 5 let v mrazících boxech při teplotě -80°C. Lyzát z biopsie embrya je možné skladovat při teplotě 4-8°C po dobu maximálně 72 hodin, při teplotě -18 až -25 °C po dobu maximálně 30 dní. (*SOP Transport vzorků pro genetické vyšetření a distribuce výsledků*)

C-11 Základní informace k bezpečnosti při práci se vzorky

Obecné zásady strategie bezpečnosti práce s biologickým materiálem jsou obsaženy ve Vyhlášce Ministerstva zdravotnictví č. 195/2005 Sb., kterou se upravují podmínky předcházení vzniku a šíření infekčních onemocnění a hygienické požadavky na provoz zdravotnických zařízení a ústavů sociální péče.

- Na základě této vyhlášky byly stanoveny tyto zásady pro bezpečnost práce s biologickým materiálem:
- Každý vzorek biologického materiálu je nutné považovat za potenciálně infekční.
- Žádanky ani vnější strana zkumavky nesmí být kontaminovány biologickým materiálem – kontaminace je důvodem k odmítnutí vzorku.

- Vzorky od pacientů s přenosným virovým onemocněním či multirezistentní nosokomiální nákazou musí být viditelně označeny.
- Vzorky jsou přepravovány v uzavřených zkumavkách, které jsou vloženy do stojánku nebo přepravního kontejneru tak, aby během přepravy vzorku do laboratoře nemohlo dojít k rozlití, pořísnění biologickým materiálem nebo jinému znehodnocení vzorku.
- Laboratoř lékařské a reprodukční genetiky dodržuje tyto pokyny v plném rozsahu a vyžaduje jejich dodržování od externích spolupracovníků.

C-12 Informace k dopravě vzorků

Biologický materiál je transportován pověřeným pracovníkem REPROMEDY v uzavřeném polystyrenovém boxu, dokumentace je přenášena v obálce. Veškeré vzorky a dokumenty jsou předávány osobně pracovníkovi laboratoře.

Doprava biologického materiálu od smluvních zařízení je prováděna kurýrem REPROMEDY, Českou poštou, Českými drahami případně jinými společnostmi oprávněnými k poskytování kurýrních služeb. Organizace transportu je řízená ve spolupráci s laboratoří tak, aby byly dodržovány všechny podmínky preanalytické fáze. Biologický materiál je během transportu uložen v chladicích boxech dodaných laboratoří, materiál fixovaný na podložních sklech je uložen v ochranných pouzdrech, dokumentace je uložena v plastových složkách. (*SOP Transport vzorků pro genetické vyšetření a distribuce výsledků*)

D Preanalytické procesy v laboratoři

D-1 Příjem žádank a vzorků

Příjem žádanek a vzorků probíhá od 8:00 do 15:00 hodin. Po předchozí domluvě je možný příjem vzorků také mimo tyto hodiny. Za příjem je odpovědný vždy jeden konkrétní pracovník, který komunikuje s kurýrem, předávajícím materiál. Při přebírání biologického materiálu jsou pracovníci příjmu povinni zkontrolovat shodu údajů uvedených na žádance (průvodce) s označením biologického materiálu.

Náležitosti žádanky a vzorků jsou řešeny v oddíle C této příručky.

D-2 Kritéria pro odmítnutí vadných primárních vzorků

Laboratoř při zpracování vyvíjí maximální úsilí, aby zpracovala veškerý materiál přijatý ke zpracování.

Při příjmu může někdy bohužel dojít k rozporům s definovanými pravidly pro příjem materiálu a může být nutné materiál odmítnout.

Odmítnout lze:

- Žádanku s biologickým materiálem, na které chybí nebo jsou nečitelné základní údaje a není možné je doplnit na základě dotazu ošetřujícího lékaře
- Požadavek na doplnění vyšetření, pokud není dodatečně dodána žádanka obsahující požadovaná (doplněná) vyšetření,
- Žádanku nebo odběrovou nádobu znečištěnou biologickým materiálem
- Nádobu s biologickým materiálem, kde není způsob identifikace materiálu z hlediska nezaměnitelnosti dostatečný, za dostatečnou identifikaci materiálu se považuje splnění uvedených pokynů o nezbytné identifikaci biologického materiálu
- Nádobu s biologickým materiálem, kde zjevně došlo k porušení doporučení o preanalytické fázi
- Neoznačenou nádobu s biologickým materiálem
- Biologický materiál bez žádanky
- Jestliže nastane shora uvedený případ, je o této situaci informován zasílající lékař zpravidla telefonem. Tato událost je zaznamenána do *Knihy závad*.

D-3 Postupy při nesprávné identifikaci vzorku nebo žádanky

Veškeré následující postupy jsou zaznamenány do *deníku Neshody na příjmu*.

D-3.1. Neúplná identifikace na žádance

Materiál je analyzován, identifikace je doplněna telefonicky nebo na základě výzvy, připojené k výsledku.

D-3.2. Nesoulad dodaných vzorků a požadavků na žádance

Chybí-li materiál ke zpracování, je do komentáře uveden zápis, který typ materiálu nebyl dodán a je telefonicky informován lékař nebo embryolog.

Přebývá-li materiál, je klient kontaktován k doplnění požadavků a zaslání doplňující žádanky.

Pokud nejde o materiál z preimplantační genetické diagnostiky, nelze-li klienta kontaktovat v den přijetí materiálu, je materiál uskladněn s ostatním materiálem dle pravidel pro uskladnění a klient je kontaktován následující den. Není-li možné klienta

kontaktovat po dobu delší než 5 dnů, je výsledek archivován ve zvláštních složkách s komentářem o nemožnosti kontaktovat klienta.

Pokud jde o materiál z preimplantační genetické diagnostiky, je kontaktován embryolog a je vyžádáno doplnění údajů.

D-3.3. Nedodaná žádanka

Lze-li identifikovat klienta, je kontaktován k doplnění požadavků a zaslání doplňující žádanky. Nelze-li klienta kontaktovat, je požadavek uložen s dostupnou identifikací, zablokován k vydání výsledků.

Pokud nejde o materiál z preimplantační genetické diagnostiky, nelze-li klienta kontaktovat v den přijetí materiálu, je materiál uskladněn s ostatním materiálem dle pravidel pro uskladnění a klient je kontaktován následující den. Nemá-li možnost klienta kontaktovat po dobu delší než 5 dnů, je výsledek archivován ve zvláštních složkách s komentářem o nemožnosti kontaktovat klienta. Nelze-li identifikovat klienta, není materiál dále zpracováván ani uchováván.

Pokud jde o materiál z preimplantační genetické diagnostiky, je kontaktován embryolog a je vyžádána žádanka.

D-3.4. Neúplná identifikace na biologickém materiálu

Odesílající lékař nebo embryolog obdrží informaci o odmítnutí nesprávně identifikovaného biologického materiálu telefonicky. Tato informace a případný způsob nápravy je archivován na žádance v denním archivu.

V případě nenahraditelného vzorku, například u preimplantační genetické diagnostiky, bude vzorek zpracován, ale výsledky nesmí být vydány, dokud za identifikaci a přijetí vzorku nebo za poskytnutí správné informace, nebo obojího, nepřevzme zodpovědnost požadující lékař nebo osoba odpovědná za odběr vzorku. V takovém případě musí tato odpovědná osoba vydat prohlášení o správné identifikaci materiálu. Na dokumentu nesmí chybět razítko lékaře a podpis odpovědné osoby. Jestliže z jakéhokoliv důvodu nelze tyto požadavky splnit, výsledek vyšetření nebude vydán.

D-3.5. Nedodaný biologický materiál

Je proveden zápis na žádanku, do komentáře je uvedeno sdělení o nedodaném biologickém materiálu. Žádanka se archivuje v denním archivu.

D-4 Vyšetřování smluvními laboratořemi

Laboratoř vyšetření ve smluvních laboratořích neprovádí a ani neplánuje.

E Vydávání výsledků a komunikace s laboratoří

E-1 Hlášení výsledků v kritických intervalech

Výrazně patologické výsledky hlásí laboratoř ihned po jejich vyhotovení bez ohledu na to, zda bylo vyšetření provedeno jako rutinní nebo urgentní požadavek. Výsledek je vždy sdělován pouze lékaři a klinickému embryologovi (v případě PGD). Hlášení výrazně patologického výsledku je vždy uvedeno ve výsledném protokolu.

Typ vyšetření	Kritická hodnota
Karyotyp	Přítomnost strukturní nebo závažné numerické aberace chromozomů
Vyšetření mutací PANelovou Diagnostickou Analýzou (PANDA)	Přítomnost mutace v genech CFTR, GJB, delece exonů 7 a 8 SMN1 genu, expanze trirepeticity mimo normální a šedou zónu FMR1 genu
Spinální muskulární atrofie	Delece exonů 7 a 8 v genu SMN1
Syndrom fragilního X	Expanze trirepeticity mimo normální a šedou zónu v genu FMR1
PGD monogenních chorob metodou karyomapping	Přítomnost rizikového haplotypu/genotypu; přítomnost strukturní nebo numerické aberace chromozomů
PGD chromozomových aberací metodou MPS	Přítomnost strukturní nebo numerické aberace chromozomů
Panelová analýza přenašečství recesivních chorob PANDA Carrier	Přítomnost mutace v genech CFTR, GJB, delece exonů 7 a 8 SMN1 genu, expanze trirepeticity mimo normální a šedou zónu FMR1 genu

E-2 Informace o formách vydávání výsledků

Laboratoř vydává výsledky laboratorních vyšetření po vyhotovení všech výsledků laboratorních vyšetření a jejich kontrole. Výsledky jsou standardně poskytovány v tištěné nebo elektronické formě opatřené elektronickým podpisem, podle potřeby lze výsledky vydávat v několika výtiscích. Zařazení tištěných protokolů do zdravotní dokumentace v REPROMEDĚ je zajištěno pověřeným pracovníkem. REPROMEDA zajistí předání tištěných výsledkových zpráv klientům nebo spolupracujícím zdravotnickým zařízením osobně nebo doporučenou poštou. Výsledky se vydávají v českém nebo v anglickém jazyce.

Laboratorní nález – protokol všech provedených (požadovaných) vyšetření obsahuje:

- identifikaci laboratoře, datum odběru vzorku a datum příjmu v laboratoři, číslo laboratorního protokolu
- identifikaci pacienta (jméno, příjmení, číslo pojištěnce, datum narození)
- identifikaci požadujícího lékaře, pracoviště (jméno, adresa)
- datum vydání výsledku
- vyšetřovaný materiál-systém (krev, biopsie embrya, bukální stěr apod.)
- výsledek vyšetření
- poznámky, týkající se kvality biologického materiálu, která mohla ovlivnit výsledek
- komentáře
- identifikaci pracovníků laboratoře, pověřených vyhotovením a kontrolou laboratorního výsledku

E-3 Typy nálezů a laboratorních zpráv a jejich popis

Výsledky vyšetření jsou vydávány formou protokolu:

Výsledek cytogenetického vyšetření

Výsledný protokol molekulárně genetického laboratorního vyšetření...

Výsledný protokol vyšetření...

viz kapitola *H*.

E-4 Vydávání výsledků přímo pacientům

Vzhledem k povaze genetického vyšetření není možné výsledky přímo pacientům vydávat. Výsledky jim předává s příslušným vysvětlením lékař.

E-5 Opakovaná a dodatečná vyšetření

Dodatečná vyšetření nebo opakovaná vyšetření ze vzorků dodaných do laboratoře se provádějí za splnění podmínek uvedených v kapitole *C-04 Ústní požadavky na vyšetření*. Opakovaná nebo dodatečná vyšetření jsou vždy provedena po ústní telefonické dohodě v závislosti na stabilitě materiálu a na jeho dostatečném množství v laboratoři. Kritériem pro opakování vyšetření je především stabilita materiálu. Vždy je třeba konzultace žadatele s pracovníky laboratoře.

V případě, že je potřeba opakovat vyšetření z důvodu podezření na nesprávnost výsledku, je toto opakování provedeno na náklady laboratoře. Pokud primární vzorek již není k dispozici, je zahájena komunikace se žadatelem vyšetření ohledně možnosti opakovaného odběru.

E-6 Změny výsledků a nálezů

E-6.1. Oprava identifikace pacienta

Opravou identifikace pacienta se rozumí oprava rodného čísla a změna nebo významná oprava příjmení a jména pacientů před odesláním protokolu o výsledku vyšetření.

Oprava identifikace (rodného čísla nebo příjmení a jména) se provádí buď při zadávání požadavků, nebo v rámci oprav databáze na základě sdělení klienta.

E-6.2. Postup laboratoře při vydání nesprávného nebo chybného výsledku

Byl-li klientovi vydán výsledek, který byl na základě jeho upozornění nebo na základě vnitřního podnětu v laboratoři znovu analyzován a byl-li odhalen rozpor mezi již vydaným výsledkem a novým stanovením, je vždy proveden záznam o neshodě.

Postup pro odstranění neshody je následující:

- K záznamu o neshodě je připojen originál výtisku s původním výsledkem, záznam o neshodě musí obsahovat zdroj odhalení neshody, původní výsledek, nový výsledek a osobu zodpovídající za opravu výsledku.
- Chybná hodnota je v archivu nahrazena textem: Hodnota je chybná. Správná hodnota je stanovena opakovaně, datum stanovení, výsledek
- Výsledek je vydán znovu se správnou hodnotou a do komentáře výsledku je uvedeno, že se jedná o opravu výsledku „číslo/datum/čas“ a jméno osoby, zodpovědné za změnu. Laboratoř lékařské a reprodukční genetiky požaduje potvrzení o převzetí správného výsledku lékařem (kopii výsledku lékař potvrdí razítkem a svým podpisem)
- Veškeré kroky týkající se opravy výsledku koná pouze jedna osoba, záznam o neshodě pořizuje vedoucí laboratoře a hlásí manažeru jakosti, kontrolu opatření vždy jiná osoba než ta, která provedla opravu.
- Při distribuci opraveného výsledku obdrží klient vždy související výtisky výsledků. Je-li nutné zjistit původní hodnotu před opravou, poskytne takovou informaci manažer jakosti na základě odpovídajícího záznamu o neshodě.
- Dojde-li ke změně výsledku, je o ní vždy lékař, resp. klient informován. Souběžně s informací, která probíhá ústně, je vždy klientovi doručen opravený výsledek.

E-7 Intervaly od dodání vzorku k vydání výsledku

Laboratoř eviduje čas přijetí každého vzorku a na výsledkovém protokolu je uvedeno datum uvolnění výsledku.

Časové intervaly od dodání vzorku do laboratoře k vydání výsledku jsou uvedeny v kapitole F-1.

E-8 Konzultační činnost laboratoře

Laboratoř poskytuje lékařům konzultační činnost ke všem poskytovaným službám. Každý výsledek vyšetření je před vytištěním a odesláním klientům zkontrolován. Je-li to vhodné, pak u konkrétních nálezů provede vedoucí laboratoře nebo jeho zástupce interpretaci a zadá ji do příslušného textového pole, které se tiskne současně s výsledkem, popřípadě je výsledek konzultován s ošetřujícím lékařem.

E-9 Způsob řešení stížností

Klienti (lékaři požadující vyšetření, pacienti) mohou podávat stížnosti na tyto činnosti laboratoře, zejména na:

- průběh provádění laboratorního vyšetření
- výsledky laboratorních vyšetření
- způsob jednání pracovníků
- nedodržení ujednání vyplývajících z uzavřené dohody o provedení vyšetření, zejména pak
- nedodržení dohodnuté lhůty

Stížnosti lze podat písemně, ústně, telefonicky, faxem nebo e-mailem. Každá stížnost je evidována ve formuláři **F00086 Stížnosti, připomínky a podněty uživatelů** v Knize stížností.

V případě písemně podané stížnosti a dále v případě závažné stížnosti je vždy nejpozději do 30 dnů vypracována a stěžovateli odeslána písemná odpověď na stížnost.

E-10 Vydávání potřeb laboratoří

Odběrový materiál obstarává REPROMEDA, laboratoř vydává embryologické laboratoři pouze vysterilizované mikrozkrumavky a sterilní pufr pro odběr materiálu k preimplantačním vyšetřením.

F Laboratorní vyšetření poskytovaná laboratoří

F-1 Seznam vyšetření

V laboratoři jsou prováděna následující vyšetření, která jsou podrobně popsána v této kapitole:

- Vyšetření karyotypu
- PGD chromozomových aberací metodou masivně paralelního sekvenování (MPS)
- PGD monogenních chorob metodou karyomapping
- Izolace DNA pro molekulárně genetické vyšetření
- Vyšetření počtu kopií exonu 7 a 8 SMN1 genu pro spinální muskulární atrofii
- Vyšetření počtu trirepeatů v genu FMR1 pro syndrom fragilního X
- Vyšetření mutací PANelovou Diagnostickou Analýzou (PANDA)
- Vyšetření přenašečství recesivních chorob mutací panelovou analýzou (PANDA Carrier)

F-2 Vyšetření karyotypu – *akreditovaná metoda*

Účel vyšetření	Slouží k identifikaci numerických a strukturních chromozomových aberací zejména u pacientů s poruchami plodnosti a opakovaným potrácením a dárců reprodukčních buněk.
Materiál	Periferní žilní krev, 5 ml
Pokyny k odběru	Karyotyp z periferní krve nelze vyšetřit po transplantaci kostní dřeně a do 200 dní po transfúzi krve – výsledkem by byl karyotyp dárce. Postup je nutno v těchto případech konzultovat s vedoucí laboratoře. Místo vpichu desinfikujeme pouze alkoholem (benzinalkoholem).
Odběrová nádoba	1 zkumavka Vacutainer™ zelená (zkumavka s heparinem)
Metoda	Krátkodobá kultivace (72 hodin) buněk periferní krve, zastavení mitózy, zpracování kultury, příprava mikroskopických preparátů, barvení preparátů G-pruhovací technikou, mikroskopické hodnocení pomocí počítačové analýzy obrazu Lucia Karyo, stanovení karyotypu.
Dostupnost	Provádí se denně
Odezva rutinní	Standardně 8 týdnů, v případě dalšího vyšetření metodou FISH se doba odezvy prodlužuje.
Odezva urgentní	--
SOP	SOP Cytogenetické stanovení karyotypu z periferní krve SOP Kultivace buněk periferní krve a příprava preparátu pro vyšetření karyotypu

F-3 PGD chromozomových aberací metodou MPS – *akreditovaná metoda*

Účel vyšetření	Slouží ke zjištění ztrát a přebytků chromozomů a jejich částí za účelem diagnostiky chromozomových numerických a strukturních aberací u embrya.
Materiál	Blastomery, pólová tělíska, buňky trofoblastu Buňky lyzované v lyzačním pufru, DNA po celogenomové amplifikaci metodou DOPlify™

Pokyny k odběru	viz SOP F00418 Celogenomová amplifikace metodou DOPlify
Odběrová nádoba	Mikrozkumavka 0,2 ml
Metoda	Provedení vyšetření DNA pomocí MPS s vyhodnocením získaných sekvenčních dat pomocí příslušného software (viz SOP 00416 Preimplantační genetické vyšetření chromozomových aberací metodou masivně paralelního sekvenování)
Dostupnost	Provádí se po shromáždění dostatečného počtu vzorků k využití kitu
Odezva rutinní	8 týdnů
Odezva urgentní	30 hodin
SOP	SOP 00416 Preimplantační genetické vyšetření chromozomových aberací metodou masivně paralelního sekvenování

F-4 PGD monogenních chorob metodou karyomapping – *akreditovaná metoda*

Účel vyšetření	Slouží ke zjištění genotypu embrya pomocí nepřímé genetické diagnostiky vazebnou analýzou a k detekci chromozomových aberací
Materiál	Blastomery, pólóvá tělíska, buňky trofoblastu, periferní krev, bukální stěr, sliny, izolovaná DNA Buňky lyzované v lyzačním pufru, DNA po celogenomové amplifikaci metodou Multiple displacement amplification
Pokyny k odběru	Viz SOP Biopsie blastomer, SOP Biopsie pólóvých tělísek, SOP Biopsie trofoblastu, SOP Zpracování blastomer a pólóvých tělísek pro PCR, SOP Celogenomová amplifikace metodou Multiple displacement amplification, F00058 Návod na odběr vzorků DNA stěrem bukální sliznice
Odběrová nádoba	Mikrozkumavka 0,2 ml 1 zkumavka Vacutainer™ velká fialová (zkumavka s EDTA) 1 zkumavka na bukální stěr ORACollect DNA
Metoda	Provedení vyšetření DNA pomocí SNP detekce na DNA čipech s vyhodnocením pomocí příslušného software
Dostupnost	Provádí se po shromáždění dostatečného počtu vzorků k využití kitu
Odezva rutinní	8 týdnů

Odezva urgentní	30 hodin
SOP	SOP Preimplantační genetická diagnostika pomocí metody karyomapping

F-5 Izolace DNA pro molekulárně genetické vyšetření

Účel vyšetření	Slouží k izolaci DNA pro další vyšetření
Materiál	Periferní žilní krev, 5 ml
Pokyny k odběru	Genetické vyšetření z periferní krve nelze provést po transplantaci kostní dřeně a do 200 dní po transfúzi krve – výsledkem by byly hodnoty dárce. Postup je nutno v těchto případech konzultovat s vedoucí laboratoře.
Odběrová nádoba	1 zkumavka Vacutainer™ velká fialová (zkumavka s EDTA)
Metoda	Izolace DNA vazbou na silikátovou kolonku
Dostupnost	Provádí se po shromáždění dostatečného počtu vzorků k využití kitu
Odezva rutinní	14 dní
Odezva urgentní	24 hodin
SOP	SOP Izolace DNA ze vzorku periferní krve I

F-6 Vyšetření počtu kopií exonu 7 a 8 SMN1 genu pro spinální muskulární atrofii - *akreditovaná metoda*

Účel vyšetření	Slouží ke stanovení počtu kopií exonu 7 a 8 genu SMN1. Delece těchto exonů je v homozygotním stavu je nejčastější příčinou spinální muskulární atrofie. Test slouží k zjištění přenašečství této mutace u pacientů podstupujících léčbu neplodnosti a dárců reprodukčních buněk. V případě zachycení homozygotní delece exonů je možné stanovit počet kopií exonu 7 a 8 tako u genu SMN2 pro upřesnění prognózy onemocnění.
Materiál	Periferní žilní krev, 5 ml, izolovaná DNA, bukalní stěr, sliny

Pokyny k odběru	Vyšetření SMN1 genu z periferní krve nelze provést po transplantaci kostní dřeně a do 200 dní po transfúzi krve – výsledkem by byly hodnoty dárce. Postup je nutno v těchto případech konzultovat s vedoucí laboratoře.
Odběrová nádoba	Mikrozkumavka 0,2 ml 1 zkumavka Vacutainer™ velká fialová (zkumavka s EDTA) 1 zkumavka na bukalní stěr ORAcollect DNA
Metoda	Izolace DNA, provedení metody MLPA – hybridizace specifických sond a jejich ligace, amplifikace cílových sekvencí genů SMN1 a SMN2 metodou multiplex PCR, fragmentační analýza kapilární elektroforézou na genetickém analyzátoru ABI 3130, analýza počtu kopií jednotlivých úseků pomocí softwaru GeneMarker. Používá se kit firmy MRC-Holland SALSA® MLPA® (probemix P060).
Dostupnost	Provádí se po shromáždění dostatečného počtu vzorků k využití kitu
Odezva rutinní	8 týdnů
Odezva urgentní	4 dny
SOP	Vyšetření spinální muskulární atrofie metodou MLPA

F-7 Vyšetření počtu trirepetic v genu FMR1 pro syndrom fragilního X

Účel vyšetření	Slouží ke stanovení počtu trirepetic v genu FMR1. Zvýšení počtu trirepetic může být příčinou časného ovariálního selhání a jejich další expanze může vést k narození chlapce trpícího syndromem fragilního X. Provádí se u žen se sníženou ovariální rezervou a u dárců reprodukčních buněk.
Materiál	Periferní žilní krev, 5 ml, izolovaná DNA, bukalní stěr, sliny
Pokyny k odběru	Stanovení počtu trirepetic v genu FMR1 z periferní krve nelze provést po transplantaci kostní dřeně a do 200 dní po transfúzi krve – výsledkem by byly hodnoty dárce. Postup je nutno v těchto případech konzultovat s vedoucí laboratoře.
Odběrová nádoba	Mikrozkumavka 0,2 ml 1 zkumavka Vacutainer™ velká fialová (zkumavka s EDTA) 1 zkumavka na bukalní stěr ORAcollect DNA

Metoda	Izolace DNA, dvě po sobě jdoucí analýzy počtu CGG repetit v genu FMR1, metodou alelově specifické PCR a následné detekci počtu trirepetit pomocí kapilárové elektroforézy na genetickém analyzátoru ABI 3130. Vizualizace amplifikovaných DNA úseků a vyhodnocení jejich délky v softwaru GeneMarker. Používá se kit AmpliDeX™FMR1 PCR (Asuragen).
Dostupnost	Provádí se po shromáždění dostatečného počtu vzorků k využití kitu
Odezva rutinní	8 týdnů
Odezva urgentní	4 dny
SOP	Stanovení počtu trirepetit v genu FMR1 metodou TP-PCR a fragmentační analýzou

F-8 Vyšetření mutací PANelovou Diagnostickeou Analýzou (PANDA infertility) - *akreditovaná metoda*

Účel vyšetření	Slouží k vyšetření nejčastějších mutací způsobujících genetická onemocnění ve stredoevropské populaci (Cystická fibróza, Spinální muskulární atrofie, nesyndromová hluchota, Syndrom fragilní X), dále jsou vyšetřovány trombofilní mutace, geny/varianty s klinickým vztahem k neplodnosti, hormonální stimulaci, vývoje embryí a těhotenským ztrátám. Provádí se zejména u pacientů s poruchami plodnosti a opakovaným potrácením a dárců reprodukčních buněk.
Materiál	Periferní žilní krev, 5 ml, izolovaná DNA, bukalní stěr, sliny
Pokyny k odběru	Vyšetření mutací PANelovou Diagnostickeou Analýzou z periferní krve nelze provést po transplantaci kostní dřeně a do 200 dní po transfúzi krve – výsledkem by byly hodnoty dárce. Postup je nutno v těchto případech konzultovat s vedoucí laboratoře.
Odběrová nádoba	Mikrozkumavka 0,2 ml 1 zkumavka Vacutainer™ velká fialová (zkumavka s EDTA) 1 zkumavka na bukalní stěr ORAcollect DNA
Metoda	Izolace DNA, Analýza je založena na technologii MIP a Nové Generaci Sekvenování na platformě Surfseq 5000Dx (GeneMind), při parametrech sekvenování 2x150bp. 97 % cílových oblastí je pokryto alespoň 30x a 90 % alespoň 100x. Součástí vyšetření PANDA je i stanovení počtu trirepetit (CGG) _n v genu

	<i>FMR1</i> , které je prováděno jako samostatný test dle SOP Stanovení počtu trirepetic v genu <i>FMR1</i> metodou TP-PCR a fragmentační analýzou
Dostupnost	Provádí se po shromáždění dostatečného počtu vzorků k využití kitu
Odezva rutinní	8 týdnů
Odezva urgentní	1 týden
SOP	Panelová diagnostická analýza variant lidského genomu metodou masivně paralelního sekvenování

F-9 Panelová analýza přenašečství recesivních chorob PANDA Carrier – *akreditovaná metoda*

Účel vyšetření	Slouží k vyšetření nejčastějších autozomálně recesivních a X-vázaných mutací ve více než 110 genech způsobujících genetická onemocnění ve středoevropské populaci. Jde o rozšířený test přenašečství patogenních variant, jehož součástí je také vyšetření všech mutací/variant zahrnutých v základním testu Vyšetření mutací panelovou Diagnostickou analýzou (F8), jmenovitě jde o vyšetření trombofilních mutací, dále geny/varianty s klinickým vztahem k neplodnosti, hormonální stimulaci, vývoje embryí a těhotenským ztrátám. Provádí se zejména u pacientů s poruchami plodnosti a opakovaným potrácením a dárců reprodukčních buněk, případně reprodukčním partnerům před plánovanou koncepcí.
Materiál	Periferní žilní krev, 5 ml, izolovaná DNA, bukální stěr, sliny
Pokyny k odběru	Vyšetření Panelové analýzy přenašečství recesivních chorob z periferní krve nelze provést po transplantaci kostní dřeně a do 200 dní po transfúzi krve – výsledkem by byly hodnoty dárce. Postup je nutno v těchto případech konzultovat s vedoucí laboratoře.
Odběrová nádoba	Mikrozukmavka 0,2 ml 1 zkumavka Vacutainer™ velká fialová (zkumavka s EDTA) 1 zkumavka na bukální stěr ORAcollect DNA
Metoda	Izolace DNA, Vyšetření probíhá pomocí masivně paralelního sekvenování (MPS). Analýza je založena na technologii MIP a Nové Generaci Sekvenování na platformě Surfseq 5000Dx (GeneMind), při parametrech sekvenování 2x150bp. 97 % cílových oblastí je pokryto alespoň 30x a 90 % alespoň 100x.

	Součástí vyšetření PANDA carrier je i stanovení počtu trirepetic (CGG)n v genu FMR1, které je prováděno jako samostatný test dle SOP Stanovení počtu trirepetic v genu FMR1 metodou TP-PCR a fragmentační analýzou
	Provádí se po shromáždění dostatečného počtu vzorků k využití kitu
Odezva rutinní	8 týdnů
Odezva urgentní	1 týden
SOP	Panelová analýza přenašečství recesivních chorob PANDA Carrier (SOP 00422)

Základní pokyny jsou uvedeny v kapitolách C Manuál pro odběry primárních vzorků, E Vydávání výsledků a komunikace s laboratoří a F Laboratorní vyšetření poskytovaná laboratoří. Další instrukce, zejména ty, které se týkají speciálních vyšetření a interpretace konkrétních výsledků budou poskytnuty pracovníky laboratoře vždy podle konkrétní potřeby.

G Přílohy

Přílohy nejsou součástí Laboratorní příručky, jsou přístupné formou samostatných řízených dokumentů.

Poučení a souhlas vyšetřované/ho (zákonného zástupce) s genetickým laboratorním vyšetřením

Poučení a informovaný souhlas páru s výkonem preimplantačního genetického testování aneuploidií (PGT-A)

Poučení a informovaný souhlas páru s výkonem preimplantačního genetického testování monogenních chorob (PGT-M)

Žádanka o cytogenetické a molekulárně genetické vyšetření

Žádanka o preimplantační genetické testování (PGT)

Preimplantation genetic testing requisition form

Výsledek cytogenetického vyšetření

Výsledný protokol preimplantačního genetického testování chromozomových aberací u embryí /s klinickou interpretací/

Výsledný protokol vyšetření biopsie embrya pomocí karyomappingu

Výsledný protokol vyšetření počtu kopií exonu 7 a 8 genu SMN1 pro spinální muskulární atrofii (SMA)

Výsledný protokol Panelové Diagnostické Analýzy (PANDA)

Základní molekulárně - genetické vyšetření dárkyně oocytů

Výsledný protokol vyšetření CFTR genu metodou MPS

Výsledný protokol molekulárně-genetického vyšetření trombofilních mutací metodou MPS

Výsledný protokol Panelové analýzy přenašečství recesivních chorob

H Odkazy

1. ČSN EN ISO 15189:2013
2. Zákon o zajištění kvality a bezpečnosti lidských tkání a buněk určených k použití u člověka a o změně souvisejících zákonů (zákon o lidských tkáních a buňkách) 296/2008 Sb.
3. Vyhláška o stanovení bližších požadavků pro zajištění kvality a bezpečnosti lidských tkání a buněk určených k použití u člověka 422/2008 Sb.
4. Good Clinical Treatment in Assisted Reproduction - An ESHRE position paper, June 2008
5. Brdička, R, Vraná, M, Otáhalová, E, Štambergová, A, Čamajová, J: Analytická validace metod molekulární genetiky určených pro analýzu lidského genomu ČSN EN ISO 15189:2007
6. Zákon o zajištění kvality a bezpečnosti lidských tkání a buněk určených k použití u člověka a o změně souvisejících zákonů (zákon o lidských tkáních a buňkách) 296/2008 Sb.
7. Vyhláška o stanovení bližších požadavků pro zajištění kvality a bezpečnosti lidských tkání a buněk určených k použití u člověka 422/2008 Sb.
8. Good Clinical Treatment in Assisted Reproduction - An ESHRE position paper, June 2008
9. Brdička, R, Vraná, M, Otáhalová, E, Štambergová, A, Čamajová, J: Analytická validace metod molekulární genetiky určených pro analýzu lidského genomu
10. ISO 15189 a Laboratorní příručka - Datový standard MZČR:
http://ciselniky.dasta.mzcr.cz/CD_DS3/hypertext/MZANH.htm
11. Vyhláška Ministerstva zdravotnictví č. 195/2005 Sb.

I Vysvětlivky a zkratky

aberrace chromozomová numerická	odchylka od normálního počtu chromozomů
aberrace chromozomová strukturní	odchylka od normální stavby chromozomů, např. translokace, delece, inverze
aCHG	komparativní (srovnávací) genová hybridizace pomocí arrayí (DNA čipů) – totéž, co arrayCHG
akreditace	schválení, vyjádření důvěry od pověřené a kompetentní organizace
amplifikace	zmnožení např. vytvořením většího počtu kopií původní molekuly
aneuploidie	odchylka od normálního počtu chromozomů, např. trisomie (zvýšení počtu chromozomu ze dvou na tři)
biopsie	získání živé buňky nebo části tkáně k vyšetření
biopát	buňka nebo částička tkáně, určená k vyšetření
blastomera	buňka časného embrya (dvoubuněčné až osmibuněčné stadium)
bukální	z tvářové sliznice v dutině ústní
CFTR gen	gen, jehož mutace způsobuje cystickou fibrózu (mukoviscidózu)
cystická fibróza	také mukoviscidóza – vrozené recesivní dědičné onemocnění postihující dýchací cesty, trávicí ústrojí, pohlavní ústrojí, způsobené mutací CFTR genu
cytogenetický	používající zobrazovací genetické metody, například FISH (viz dále), na úrovni buněk
ČIA	Český institut pro akreditaci – akreditační a certifikační autorita v České republice
ČSN	Česká státní norma
DNA	deoxyribonukleová kyselina
embryo	zárodek do 8. týdne vývoje včetně, poté nazýváme plod
embryolog klinický	zdravotnický pracovník, zabývající se diagnostikou reprodukčních buněk a časných embryí a oplozením mimo mateřský organizmus a kultivací časných embryí mimo mateřský organizmus
EN	evropská norma

mikrozkumavka	plastová zkumavka kónického tvaru o objemu max. 3 ml, používaná zejména v molekulární genetice
ESHRE	Evropská společnost lidské reprodukce a embryologie
FISH	fluorescenční in situ hybridizace – vazba komplementárních úseků DNA
fixace	zpracování vzorku, které zabraňuje jeho znehodnocení a připravuje jej na další vyšetření
genom	soubor genů určitého druhu nebo jedince
G-pruhování	barvení chromozomů s pomocí Giemsovy metody, kterou se na chromozomech znázorní charakteristické proužky
hybridizace	vzájemná vazba komplementárních molekul, zpravidla značené sondy na zvolený typ DNA, což umožní její znázornění nebo určení množství
chromozomy	Buněčné struktury viditelné zpravidla jen v průběhu buněčného dělení, existují však i v interfázovém jádře. Každý chromozom obsahuje charakteristickou sekvenci DNA a od ní odvozený soubor genů.
in situ	na místě, např. znázornění <i>in situ</i> umožňuje lokalizaci určité látky v rámci buňky, buněčného jádra, chromozomu apod.
interpretace	popis podstaty, vysvětlení
ISO	Mezinárodní organizace pro normalizaci (International Organization for Standardization)
IVF	in vitro fertilizace – oplození mimo mateřský organismus
karyotyp	popis množství a struktury chromozomů určitého jedince
kit	kompletní sada materiálu, umožňující provedení určité analýzy
kontaminace	znečistění cizorodým materiálem, např. bakteriemi, viry, DNA z prostředí
kultivace	zde pěstování v umělých podmínkách
kultura	zde soubor buněk pěstovaných v umělých podmínkách

LUCIA KARYO	kombinace hardware a software určeného k analýze karyotypu
MPS	masivně paralelní sekvenování, též známé jako next-generation sequencing
marker	znak, značka
marker chromozom	strukturně abnormální chromozom, který nelze identifikovat
mikročip	Zde předmět velikosti například podložního skla, který umožňuje provést analýzu nepatrného množství biologického materiálu, často řadu analýz současně. Analýza probíhá na poli složeném z mnoha bodů (mikroarray). Umožňuje například provést semikvantitativní stanovení vzájemného poměru zastoupení jednotlivých chromozomů a jejich částí.
mitóza	buněčné dělení, během něhož je možné pozorovat chromozomy a jejich stavbu
MKN	Mezinárodní klasifikace nemocí
MLPA	multiple ligation probe-dependent amplification
molekulárně-genetický	používající kvalitativní, kvantitativní nebo semikvantitativní analýzu genů a jejich produktů
monogenní	způsobené jedním genem
multirezistentní	odolné k působení mnoha faktorů, typicky například antibiotik
mutace genová	změna jedné nebo několika bází v genu, která zpravidla vede ke změně jeho funkce
nátěr	zde tenká vrstvička buněk, fixovaná na podložním skle
nosokomiální	způsobené ve zdravotnickém zařízení (např. nosokomiální infekce)
patologické	chorobné
PCR	polymerázová řetězcová reakce používaná k namnožení malého množství DNA zpravidla pro další analýzu
PGD	preimplantační genetická diagnostika – metoda umožňující stanovit genetickou diagnózu u časných embryí ještě před jejich přenosem do dělohy

PGT	preimplantační genetické testování, viz PGD
pólocyt	také pólové tělíčko - buňka, která vzniká při zracích děleních vajíčka a nemá další vývojový potenciál – slouží k „odložení“ nadbytečné sady chromozomů nebo chromatid
preanalytické	úkony probíhající před vlastním laboratorním vyšetřením
preimplantační	probíhající před implantací (embrya do děložní sliznice)
referenční	srovnávací
reprodukční	mající vztah k rozmnožování
reverzní	zpětný, např. reverzní transkriptáza katalyzuje proces přepisu genetické informace z ribonukleové kyseliny (RNA) „zpět“ do deoxyribonukleové kyseliny (DNA).
sonda	zde molekula s navázanou fluorescenční značkou schopná se vázat na určitou strukturu, například úsek DNA
SOP	Standard Operation Protokol – popis standardního pracovního postupu
stěr	metoda nebo její výsledek, kdy biologický vzorek se získává setřením (například setřením sliznice vatovou štětičkou, na které ulpí epitelové buňky)
sterilní	1. zbavený choroboplodných zárodků 2. neplodný
SÚKL	Státní ústav pro kontrolu léčiv – autorita povolující mimo jiné pracovat s lidskými buňkami a tkáněmi určenými k léčebnému použití
škrtidlo	zde pomůcka k omezení nebo zastavení krevního oběhu v končetině
TP-PCR	triple-primed PCR
transfer	přenos (např. embryotransfer – přenos embrya do dělohy)
translokace	přemístění, například chromozomová translokace znamená přemístění části jednoho chromozomu na jiný – patří mezi strukturní chromozomové aberace
trofoblast	část časného embrya, z něž se vyvíjejí plodové obaly, ne samotné embryo

turniket	zde škrtidlo (viz výše)
Vacutainer™	uzavřený systém pro odběr krve zvyšující bezpečnost odběru pro pacienta i personál
venepunkce	odběr krve ze žíly
vizualizace	zviditelnění
wild-type	nemutovaný
žíla	céva vedoucí krev směrem k srdci
žilní krev	krev z periferní žíly, vhodná pro většinu vyšetření

Záznam o přezkoumání dokumentu

Datum	Přezkoumal	Výsledek	Podpis
9.8.2023	MVDr. Vlasta Linková	Nová verze 10	
11.10.2023	MVDr. Vlasta Linková	Nová verze 11	
18.1.2024	MVDr. Vlasta Linková	Nová verze 12	
13.8.2024	MVDr. Vlasta Linková	Nová verze 13	