Laboratorní příručka LLG

Název	*Laboratorní příručka LLG*			*Číslo verze.změny*	*16.00*
Typ dokumentu	*příručka*			*Datum schválení / platí od:*	*01.10.2026*
Autor:	*jméno, podpis a datum zpracování* *Mgr.Silvie Dudová. 01.10.2026*			*Kód dokumentu:*	*A-LLG-002*
Přezkoumal:	*jméno, podpis* *RNDr. Michal Slaný, PhD.*	*Schválil:*	*jméno, podpis* *RNDr. Michal Slaný, PhD.*	***STRANA 1 (CELKEM 22)***	

Obsah

1. Úvod 4
1.1. Úvodní slovo 4
1.2. Seznam použitých zkratek 4

2. Informace o laboratoři 5
2.1. Identifikace laboratoře a důležité údaje (kontakty) 5
2.2. Základní informace o laboratoři a stav akreditace pracoviště 5
2.3. Zaměření laboratoře, úroveň 5
2.4. Organizace laboratoře 6
2.5. Spektrum nabízených služeb laboratoře 7
2.5.1. Seznam laboratorních vyšetření 7
2.5.2. Seznam primárních materiálů (vzorků) 7
2.5.3. Indikace k vyšetření 7

3. Manuál pro odběry primárních vzorků 8
3.1. Základní informace 8
3.2. Žádanka na laboratorní vyšetření 8
3.3. Používaný odběrový systém 9
3.4. Příprava pacienta před vyšetřením, odběr vzorku 10
3.4.1. Příprava pacienta 10
3.4.2. Informované souhlasy 10
3.4.3. Odběrová místnost 10
3.4.4. Odběr periferní krve 10
3.4.5. Odběry kapilární krve 11
3.4.6. Odběry periferní a kapilární krve mimo zařízení 11
3.4.7. Odběry trofektodermu embryí v SANATORIU Helios: 13
3.4.8. Odběry buněk trofektodermu mimo zařízení: 13
3.5. Identifikace pacienta na žádance a označení vzorku 13
3.6. Množství vzorku 14
3.7. Nezbytné operace se vzorkem, stabilita 14
3.8. Základní informace k bezpečnosti při práci se vzorky 14
3.9. Informace k dopravě vzorků a k zajištění svozu vzorků 14

4. Preanalytické procesy v laboratoři 15
4.1. Příjem žádanek a biologických vzorků 15
4.2. Kritéria pro přijetí nebo odmítnutí nestandardních primárních vzorků 16
4.3. Vyšetřování smluvními laboratořemi 17
4.4. Seznam vlivů ovlivňujících laboratorní vyšetření 17
4.5. Obecné zásady laboratoře na ochranu osobních informací 17

5. Vydávání výsledků a komunikace s laboratoří 17
5.1. Hlášení výsledků v kritických intervalech 17
5.2. vydávání výsledků, typy nálezů a laboratorních zpráv 17
5.3. Změny výsledků a nálezů 18
5.4. Intervaly od dodání vzorku k vydání výsledku 18
5.5. Způsob řešení stížností 19
5.6. Konzultační činnost laboratoře 19
5.7. Skladování vyšetřených vzorků 19

6. Seznam laboratorních vyšetření včetně popisu 20
6.1. Stanovení karyotypu 20
6.2. Stanovení hodnoty získaných chromozomálních aberací (ZCHA) 21

6.3. FISH vyšetření 21
6.4. PGT-M – Vyšetření monogenních chorob 21
6.5. PGT-A, PGT-SR –metoda sekvenování nové generace 21
6.6. Stanovení mutací v genu pro cystickou fibrózu (CF) 22
7. Pokyny pro spolupracující LÉKAŘE 22
8. Pokyny pro pacienty 22
9. Další informace 22
10. Přílohy 22

1. ÚVOD

1.1. ÚVODNÍ SLOVO

SANATORIUM Helios je nestátní gynekologické lůžkové zařízení, které se nachází v centru Brna. Bylo založeno v roce 1994. Přínosem pro pacienty je individuální přístup, bližší kontakt s pacientem a zkrácení doby hospitalizace na minimum. Součástí SANATORIA Helios je operační sál a lůžková část. S výjimkou porodů nabízí SANATORIUM Helios komplexní gynekologickou péči. Vedle běžných gynekologických ambulancí a provádění gynekologických operací poskytuje specializovanou péči v oblastech:

- diagnostika a léčba poruch plodnosti
- genetická poradna
- Laboratoř lékařské genetiky (včetně preimplantačního genetického testování)
- prenatální diagnostika
- ultrazvuková diagnostika 3D
- poradna rizikového těhotenství
- onemocnění děložního čípku – onkologické prevence – konsiliární kolposkopie
- miniinvazivní chirurgie – laparoskopie a hysteroskopie

Péči zajišťují zkušení lékaři erudovaní v nejmodernějších postupech. Zaměstnanci lůžkového zařízení, ambulancí a laboratoří splňují svým vzděláním podmínky odborné způsobilosti.

1.2. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

SH	SANATORIUM Helios
LLG	Laboratoř lékařské genetiky
IVF	in vitro fertilizace
AR	asistovaná reprodukce
CAR	centrum asistované reprodukce
FISH	fluorescenční in situ hybridizace
PCR	polymerázová řetězová reakce
NGS	sekvenování nové generace
WGA	celogenomová amplifikace
ZCHA	získané chromozomální aberace
BM	biologický materiál
VL	vedoucí laboratoře
PGT-A	preimplantační genetické testování aneuploidií
PGT-M	preimplantační genetické testování monogenních onemocnění
PGT-SR	preimplantační genetické testování strukturních přestaveb
CF	cystická fibróza

2. INFORMACE O LABORATOŘI

2.1. IDENTIFIKACE LABORATOŘE A DŮLEŽITÉ ÚDAJE (KONTAKTY)

PRACOVIŠTĚ:	LABORATOŘ LÉKAŘSKÉ GENETIKY	
Adresa:	Štefánikova 75/8, Ponava, 602 00 Brno	http://www.sanatoriumhelios.cz
Zřizovatel:	SANATORIUM Helios spol. s r.o.	
IČ:	489 11 577	
DIČ:	CZ 489 11 577	
Jednatel společnosti	MUDr. Pavel Texl	Tel.: 549 523 211 texl@sanatoriumhelios.cz
Klinický genetik	MUDr. Ditta Leznarová, MUDr. Zdeněk Kalina, CSc. prof. MUDr. Jiří Šantavý, CSc.	Tel.: 549 523 211 leznarova@sanatoriumhelios.cz kalina@sanatoriumhelios.cz jiri.santavy@iol.cz
Vedoucí LLG	RNDr. Michal Slaný, PhD.	Tel: 549 523251 slany@sanatoriumhelios.cz
Manažer kvality LLG	Mgr. Silvie Dudová	Tel.: 549 523 251 dudova@sanatoriumhelios.cz

Tabulka 1: Identifikace laboratoře a kontakty

2.2. ZÁKLADNÍ INFORMACE O LABORATOŘI A STAV AKREDITACE PRACOVIŠTĚ

LLG zahájila svůj provoz v lednu 2008. Více o zaměření laboratoře viz kapitoly 2.3 a 2.5.

V roce 2004 SANATORIUM Helios získalo certifikaci ISO 9001:2000. ISO poskytuje systematickou specifikaci pro zlepšování provozního výkonu, slouží jako model pro zajištění jakosti a kontroly a řízení těchto procesů.

25.5.2010 byla Laboratoř lékařské genetiky začleněna do certifikace ISO 9001:2000, jehož držitelem je SANATORIUM Helios již od roku 2004.

12.4.2012 obdržela LLG certifikaci NASKL I., s ukončenou platností ke dni 12.4.2014.

Dne 16.5.2013 získala Laboratoř lékařské genetiky Osvědčení o akreditaci dle normy ČSN EN ISO 15189:2007. V roce 2015 byla laboratoř akreditována dle novelizované normy ČSN EN ISO 15189:2013 a roku 2025 dle ČSN EN ISO 15189 ed.3:2023.

Akreditované jsou všechny metody využívané pro Preimplantační genetické testování monogenních onemocnění, aneuploidií a strukturních přestaveb a dále pak metody pro cytogenetické a molekulárně cytogenetické vyšetření periferní krve.

2.3. ZAMĚŘENÍ LABORATOŘE, ÚROVEŇ

LLG nabízí genetická vyšetření metodami cytogenetickými, molekulárně cytogenetickými i molekulárně biologickými v rámci postnatálního vyšetření a preimplantačního genetického testování monogenních onemocnění, aneuploidií a strukturních přestaveb.

- Zabývá se základní cytogenetickou analýzou:

a) vrozených chromozomových aberací – stanovením karyotypu za použití klasických metod zpracování vzorků periferní krve – kultivací buněk in vitro s jejich následnou chromozomovou analýzou a

b) cytogenetickou analýzou získaných chromozomových aberací.

- V rámci PGT nabízí pro asistovanou reprodukci (AR) vyšetření embryí před jejich zavedením do dělohy. Materiálem jsou buňky trofektodermu.
- Nově nabízí i vyšetření 50 mutací u genu CFTR

PGT-A a PGT-SR využívá především metody sekvenování nové generace (NGS) k odhalení aneuploidií chromozomů, případně strukturních chromozomálních aberací u embryí. Vyšetřování monogenních chorob probíhá pomocí fragmentační analýzy, příp. polymerázové řetězové reakce (PCR) a karyomappingu.

Pracoviště laboratoří jsou technicky a personálně vybavena v souladu s legislativou platnou pro provádění všech nabízených laboratorních vyšetření.

Ve smluvních laboratořích lze pak zajistit rozšířená vyšetření pomocí metod FISH, mFISH, mBAND, SKY a aCGH v postnatálních vzorcích.

Vedení LLG se zabývá procesem identifikace a managementu rizik při chodu laboratoře. Možná rizika jsou identifikována, vyhodnocena, kontrolována a průběžně a pravidelně monitorována. Riziko, které i přesto nelze odstranit, je nazýváno zbytkové riziko. Zbytkové riziko zahrnuje situace a procesy, kdy nejsou zmiňované návody pro odběr vzorků, výběr vhodného vyšetření, vyplnění žádanky a transport vzorků do laboratoře dodržovány.

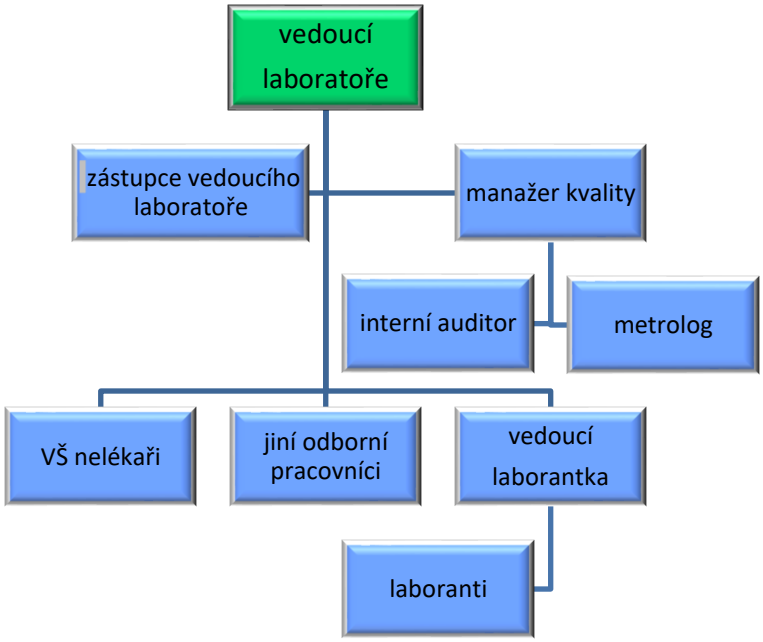
2.4. ORGANIZACE LABORATOŘE

Laboratoř lékařské genetiky je součástí společnosti SANATORIUM Helios spol. s r.o. Činnost laboratoře řídí vedoucí laboratoře, který je v rámci mateřské organizace podřízen řediteli SH. Oba úseky Laboratoře lékařské genetiky, Laboratoř PGT a Laboratoř cytogenetiky, jsou umístěny v budově na adrese Štefánikova 8. Provozní doba laboratoře viz Tab. 2.

	Provozní doba laboratoře	**Příjem vzorků**
Pondělí - pátek	7:00 – 15:30	7:00 - 15:00

Tabulka 2: Provozní doba laboratoře

Schéma laboratoře



2.5. SPEKTRUM NABÍZENÝCH SLUŽEB LABORATOŘE

2.5.1. Seznam laboratorních vyšetření

- Stanovení karyotypu z periferní krve u dětí i dospělých (zejména u párů s poruchami reprodukce a dárců gamet) klasickou cytogenetickou analýzou
- Stanovení hodnoty získaných chromozomových aberací z periferní krve
- FISH vyšetření (numerické aberace)
- PGT-M (pomocí fragmentační analýzy a/nebo Sangerova sekvenování nebo karyomappingu) - vyšetření monogenních chorob
- PGT-A, PGT-SR (NGS – sekvenování nové generace)
- Vyšetření 50 mutací genu CFTR (u onemocnění cystické fibrózy)

2.5.2. Seznam primárních materiálů (vzorků)

- periferní krev
- kapilární krev
- buňky trofektodermu

2.5.3. Indikace k vyšetření

Stanovení karyotypu z periferní krve:

- páry s poruchami reprodukce (sterilita, infertilita)
- páry s výskytem potvrzené nebo suspektní chromozomální aberace u nich samotných nebo u rodinného příslušníka
- abnormální fenotyp pacienta

- dárci gamet (oocytů, spermií)

Stanovení hodnoty ZCHA z periferní krve:

- pacienti vystavení škodlivinám v životním prostředí (profesní riziko) plánující těhotenství
- pacienti po léčbě cytostatiky nebo po transplantaci plánující těhotenství
- pacienti, u kterých byla při stanovení karyotypu z periferní krve nalezena zvýšená hodnota zlomů na chromozomech a plánují těhotenství nebo darování gamet

PGT-M vyšetření metodou fragmentační analýzy, Sangerova sekvenování a/nebo karyomappingu

- potvrzený výskyt monogenní choroby u jednoho z páru
- potvrzený výskyt monogenní choroby u přímého rodinného příslušníka

PGT-A, PGT-SR metodou NGS

- opakovaně neúspěšné IVF
- spontánní aborty v historii pacienta
- věk pacientky, pacienta
- nález strukturní chromozomální aberace při předchozím cytogenetickém vyšetření páru
- nález početní chromozomální aberace
- přenašečství strukturní chromozomální aberace (balancované reciproké či Robertsonovské translokace, závažné inverze)
- zvýšený podíl získaných chromozomálních aberací závažný andrologický faktor (spermie získané chirurgickým zákrokem, fragmentace DNA spermií, oligoasthenoteratospermie apod.)
- porod nebo potrat dítěte (plodu) s chromozomální aberací
- chemoterapie nebo radioterapie jednoho či obou partnerů

Stanovení mutací pro cystickou fibrózu (CF)

- dospělí muži s urologickými metodami prokázanou obstruktivní azoospermií
- partner pacienta s cystickou fibrózou a detekovanými mutacemi v CFTR genu před plánovaným těhotenstvím, případně v průběhu těhotenství
- dárci gamet (oocytů, spermií)

3. MANUÁL PRO ODBĚRY PRIMÁRNÍCH VZORKŮ

3.1. ZÁKLADNÍ INFORMACE

V laboratoři lze vyšetřit tyto primární vzorky:

- periferní krev
- kapilární krev
- buňky trofektodermu

Základním požadavkem je bezpečná a jednoznačná identifikace pacienta na nádobě s biologickým materiálem a specifikace požadovaného vyšetření na žádance.

Vzorky se odebírají vždy do předem označené nádoby, viz ZÁSADY SPRÁVNÉHO ODBĚRU PRIMÁRNÍHO VZORKU, odstavec 3.4.

3.2. ŽÁDANKA NA LABORATORNÍ VYŠETŘENÍ

Poukaz na vyšetření / ošetření musí být řádně vyplněn a musí obsahovat následující informace:

- jméno, příjmení, rodné číslo (u cizinců číslo pojistky), datum narození, pojišťovna pacienta. Pokud ze jména pacienta jednoznačně nevyplývá pohlaví pacienta, musí být pohlaví uvedeno
- jméno, odbornost, IČZ a podpis indikujícího lékaře
- razítko s kontaktem na indikujícího lékaře
- druh, případně tkáňový původ zaslaného vzorku
- datum a čas odběru vzorku, podpis osoby, která odběr provedla
- diagnózu a klinickou indikaci k vyšetření
- druh požadovaného vyšetření
- požadavek urgentního vyšetření musí být na žádance označen „STATIM“

Vzorky opatřené takto kompletně vyplněnými žádankami mohou být bez prodlení zařazeny ke zpracování v laboratoři. Žádanka v elektronické podobě ke stažení na webových stránkách Sanatoria Helios.

Vzorky jsou přijímány pouze s vyplněnou žádankou. Viz body 4.1, 4.2 a 4.3, dále také viz směrnice S-LLG-004 Příjem standardního biologického materiálu a S-LLG-005 Příjem nestandardního biologického materiálu.

Všechny žádanky jsou po provedení vyšetření uloženy v Laboratoři cytogenetiky 40 let a Laboratoři PGT 10 let.

Ústní požadavky na vyšetření nelze akceptovat.

Všechny požadavky na dodatečná / opakovaná vyšetření musí být doložena novou žádankou se všemi údaji dle bodu 3.2. viz Tab. 3.

Přípustný je dodatečný ústní požadavek lékaře na přednostní zhodnocení již přijatého vzorku, který nebyl na žádance označen jako „STATIM“.

Periferní krev pro vyšetření karyotypu je možno skladovat nejdéle sedm dní od odběru, po této době krev hemolyzuje a není z ní již možno stanovit karyotyp. **Dodatečné vyšetření z primárního vzorku lze tedy požadovat do pěti dnů od odběru.** Ze vzorků periferní krve pro karyomapping je izolována DNA v den odběru, případně lze vzorky uchovávat při v ledničce po dobu 48 hodin. V případě PGT-A nebo PGT-SR vyšetření jsou vzorky zpracovány v den odběru, případně zamraženy a uchovány pro pozdější analýzu při -20°C. Zamražené vzorky jsou zpracovány nejpozději do 1 měsíce. Dodatečná vyšetření lze konzultovat po domluvě s VL.

Karyotyp z periferní krve	2 měsíce
ZCHA	5 dnů od odběru primárního vzorku
FISH	2 měsíce
PGT-M	-
PGT-A nebo PGT-SR	12 měsíců
CF	12 měsíců

Tabulka 3: Intervaly, ve kterých lze žádat dodatečné vyšetření.

3.3. POUŽÍVANÝ ODBĚROVÝ SYSTÉM

K odběru krve je třeba použít uzavřený odběrový systém – viz níže. V SANATORIU Helios je t. č. používán odběrový systém firmy SARSTEDT, stříkačka Monovette 109 viz Tab. 4.

Název odběru	Odběrový systém	Katalogové číslo	Velikost stříkačky
karyotyp	Li - Heparin	04.1936	4,9 ml
PGT-M	EDTA	04.1931	4,9 ml
CF	FTA®Micro Card	WB 120210	pouze jehla
PGT-M pomocí karyomappingu	EDTA	04.1931	4,9 ml

Tabulka 4: Používané odběrové systémy

3.4. PŘÍPRAVA PACIENTA PŘED VYŠETŘENÍM, ODBĚR VZORKU

3.4.1. Příprava pacienta

- dieta – není požadováno, žádné omezení
- léky, vitamíny – není žádné omezení, vyjma užívání antibiotik, látek potlačujících imunitní reakce a jiných léčiv ovlivňující lymfocyty všeobecně u vzorků pro metodu Stanovení karyotypu z periferní krve
- v případě akutního onemocnění – konzultace s lékařem

3.4.2. Informované souhlasy

Pro každý typ vyšetření existuje konkrétní typ souhlasu, který je k dispozici na požádání u klinického genetika. Pro pracovníky SANATORIA Helios jsou informované souhlasy přístupny na portále SANATORIA Helios v oddíle Dokumenty QMS.

Pro PGT vyšetření je vždy požadován písemný souhlas příp. nesouhlas s vyšetřením embryí od obou partnerů, který je odevzdán a podepsán při příjmu pacientky k odběru oocytů. Obsahuje identifikační údaje obou partnerů, důvod testování, informace o úskalích vyšetření atd.

- Souhlas s genetickým vyšetřením
- Nesouhlas s genetickým vyšetřením
- Souhlas s transferem embrya s chromozomální aberací
- Souhlas s transferem embrya s chromozomální mozaikou
- Informovaný souhlas pro PCR Work up (vazebná analýza v rodině)
- Souhlas s molekulárně genetickým vyšetřením ~~genu CFTR~~

3.4.3. Odběrová místnost

Odběry periferní krve a kapilární odběry provádí kvalifikovaný zdravotnický personál SANATORIA Helios v místnosti pro tyto účely určené. Pracovník odebírající primární vzorek svým podpisem na žádance potvrzuje, že primární vzorek byl odebrán v souladu s požadavky uvedenými v Laboratorní příručce.

Odběrová místnost pro odběry krve se nachází v 2.NP SANATORIA Helios a je vybavena polohovacími odběrovými křesly s nastavitelnou polohou područek, opěradla zad, hlavy a nohou. Nezbytným vybavením je kontejner na odkládání použitých jehel a stříkaček z dostatečně pevného materiálu opatřený víčkem a příslušně označený.

3.4.4. Odběr periferní krve

Pro odběry periferní krve se používají soupravy firmy SARSTEDT o objemu 2,5-5 ml (viz bod 3.3) s náplní lithium/heparin (cytogenetická vyšetření) nebo EDTA (PGT-M), ihned po odběru jemně promíchat!

Vzorky krve určené k vyšetření v laboratoři SANATORIA Helios, musí být bezprostředně po odběru uloženy do chladničky. Pracovník Laboratoře lékařské genetiky si je na výzvu pracovníka provádějícího odběr vyzvedne.

3.4.5. Odběry kapilární krve

Pro odběry kapilární krve se používají jednorázové sterilní odběrové pomůcky. Lehce se napíchne lůžko prstu a vzniklá kapka krve se nechá vsáknout do příslušného okénka FTA kartičky (viz bod 3.3). Ta se nechá na vzduchu zaschnout. Pracovník Laboratoře lékařské genetiky si je na výzvu pracovníka provádějícího odběr vyzvedne.

3.4.6. Odběry periferní a kapilární krve mimo zařízení

Transport vzorků, odebraných mimo SANATORIUM Helios, zajišťuje po domluvě svoz SANATORIA Helios vlastními vozy a proškolenými pracovníky za dodržení zásad manipulace s BM.

Objednání je možné na tel. čísle 549 523 226 každý pracovní den v době od 7-15.30 hod.

K odběru periferní krve je nutné použít jednorázovou sterilní odběrovou soupravu o objemu 2,5-5 ml s náplní lithium/heparin (příp. EDTA), ihned po odběru nutno promíchat, nedezinfikovat místo vpichu jódem. Odběry periferní krve a FTA se musí řídit ZÁSADAMI SPRÁVNÉHO ODBĚRU PRIMÁRNÍHO VZORKU – PERIFERNÍ KREV (bod 3. 4).

Ihned po odběru musí být vzorky uloženy do chladničky (v případě předpokladu delší doby do transportu lze vzorky pro PGT-M pomocí karyomappingu uchovávat při -20°C), kde jsou uschovány až do jejich vyzvednutí dopravcem SANATORIA Helios. Ke svozu periferní krve se používá transportní nádoba. Za dodržování správné teploty při transportu BM je zodpovědný pracovník, který provádí svoz.

Externí žadatel musí provést odběr tak, aby byly splněny podmínky kapitol 3.1 až 3.9.

Transportní box je pravidelně dezinfikován dle aktuálního Desinfekčního řádu SANATORIA Helios – zodpovídá laboratoř.

Žádanky žadatelů jsou skladovány a transportovány odděleně od BM tak, aby byl zamezen přístup neoprávněných osob k jejich obsahu a nedošlo k jejich kontaminaci BM.

ZÁSADY SPRÁVNÉHO ODBĚRU PRIMÁRNÍHO VZORKU – PERIFERNÍ KREV

1. Seznámení pacienta s postupem odběru.
2. Pacient se usadí do odběrového křesla, před odběrem by měl být 15 min v klidu.
3. Výběr vhodné injekční stříkačky a velikosti jehly podle požadavků na vyšetření a podle stáří pacienta. Vizuální kontrola stavu jehly, injekční stříkačky a odběrových nádobek.
4. Provede se kontrolní pozitivní identifikace a označení odběrových nádob štítkem s identifikačními údaji pacienta (viz 3.5., dále otázka na jeho jméno a datum narození – musí být stejné jako na žádance).
5. Zajištění vhodné polohy paže k odběru. Odběr krve se provádí v poloze vsedě nebo vleže, paže se volně svěsí dolů nebo položí na opěradlo odběrového křesla.
6. Posouzení kvality žilního systému v loketní jamce: málo zřetelné žíly je možno zvýraznit velmi šetrnou masáží paže od zápěstí k lokti. Nešetrná masáž i palpace ruky může způsobit změny některých komponent.
7. Pacient může být vyzván k sevření pěsti. Opakované „pumpování“ paží je nevhodné. Jsou-li žíly dobře viditelné nebo hmatné, je lépe škrtidlo nepoužít.
8. Desinfekce místa vpichu dezinfekčním prostředkem na bázi lihu – nedesinfikovat místo vpichu jódem!!! Dezinfekci aplikujeme pomocí čtverečku z buničité vaty nebo postřikem z rozprašovače přímo na paži. Dezinfekční činidlo se musí nechat zaschnout. Po zaschnutí je další palpace místa vpichu nepřípustná.
9. Pracovník provádějící odběr nasadí jehlu na odběrovou stříkačku, palcem ve vzdálenosti 2 až 5 cm pod místem odběru stabilizuje polohu žíly. Provede venepunkci. Tahem za píst dojde k nabrání krve.
10. Při odběru více zkumavek se naplněná zkumavka vyjme a nasadí se na zavedenou jehlu další. První se plní zkumavka srážlivou krví. Zkumavky s protisrážlivými činidly je nutné odebrat krev po značku na zkumavce, aby nedošlo ke zkreslení nebo ke sražení vzorku. Ihned po odběru se musí jemně promíchat s nabranou krví, ne třepat.
11. Jakmile začne krev vtékat do odběrové zkumavky, uvolní se škrtidlo. Po odběru je místo vpichu překryto čtverečkem buničité vaty. Na čtvereček se jemně zatlačí a jehla je pomalým tahem odstraněna ze žíly.
12. Ošetření místa vpichu je provedeno náplastí, kterou je doporučeno ponechat na místě vpichu nejméně 15 minut, a paži po odběru nezatěžovat a fyzicky nenamáhat.
13. Pacientovi je doporučeno tisknout na místo vpichu tamponek nejméně 2 minuty.
14. Po odběru krve je pacientovi doporučen 15 min. klid v čekárně.
15. Vždy je nutno zaznamenat na žádanku mimo jiné čas odběru (hodina, minuta), parafou a razítkem (jmenovkou) odebírajícího. Bez těchto údajů nebude vyšetření provedeno. Požadavky na vyplnění žádanky jsou shrnuty v bodě 3.2.
16. Použitý odběrový materiál je uložen do kontejneru na použité injekční stříkačky a jehly.

ZÁSADY SPRÁVNÉHO ODBĚRU PRIMÁRNÍHO VZORKU – KAPILÁRNÍ KREV

1. Pacient se usadí do odběrového křesla, před odběrem by měl být 15 min v klidu.
2. Výběr vhodné velikosti injekční jehly. Vizuální kontrola stavu jehly.
3. Provede se kontrolní pozitivní identifikace a označeni FTA kartičky identifikačními údaji pacienta, viz 3.5.
4. Zajištění vhodné polohy paže k odběru. Odběr krve se provádí v poloze vsedě nebo vleže, paže se volně svěsí dolů nebo položí na opěradlo odběrového křesla.
5. Desinfekce místa vpichu polštářku prstu) dezinfekčním prostředkem na bázi lihu – nedesinfikovat místo vpichu jódem!!! Dezinfekci aplikujeme pomocí čtverečku z buničité vaty nebo postřikem z rozprašovače přímo na paži. Dezinfekční činidlo se musí nechat zaschnout. Po zaschnutí je další palpace místa vpichu nepřípustná.
6. Pracovník lehce bodne do lůžka prstu a ponechá krev vytvořit kapičku.
7. Prst přiložíme k FTA kartičce a kapičku krve necháme vsáknout do místa na FTA kartičce označeného kolečkem. Krevní skvrnku necháme zaschnout volně na vzduchu. **NEURYCHLUJEME SCHNUTÍ FOUKÁNÍM!**
8. Ošetření místa vpichu je provedeno náplastí, kterou je doporučeno ponechat na místě vpichu nejméně 15 minut.
9. Vždy je nutno zaznamenat na žádanku mj. parafu a razítko (jmenovku) odebírajícího. Bez těchto údajů nebude vyšetření provedeno. Požadavky na vyplnění žádanky jsou shrnuty v bodě 3.2.
10. Použitý odběrový materiál je uložen do kontejneru na použité injekční stříkačky a jehly.

3.4.7. Odběry trofektodermu embryí v SANATORIU Helios:

Jedná se o odběr materiálu z embryí vykultivovaných v rámci IVF léčby. Biopsie je možno provádět 5., případně 6. den kultivace. Odběry provádí vysoce specializovaný embryolog v embryologické laboratoři (2.NP SANATORIA Helios, Štefánikova 12).
Pomocí mikroskopu s mikromanipulátorem a laseru je odebráno asi 5 buněk trofektodermu z embrya ve stádiu hatchující blastocysty.
Odebrané buňky jsou pro vyšetření PGT-A, PGT-SR metodou NGS a pro PGT-M metodou karyomapping přeneseny do 1xPBS a uchovány při -20 °C do předání do Laboratoře PGT, u metody PGT-M jsou promyty v 1xPBS a přeneseny do 2µl alkalického pufru a uchovány při -20 °C do předání do Laboratoře PGT.

3.4.8. Odběry buněk trofektodermu mimo zařízení:

Odběr materiálu pro PGT vyšetření odebraný mimo SANATORIUM je možný ~~jen ve výjimečných případech~~ po zaškolení personálu provádějícího odběr a manipulaci s biologickým materiálem. Materiál je po odběru zamražen, do doby přepravy uchován v mrazicím boxu (při asi -20 °C) a přepravován v transportní přepravce pro biologické vzorky při zachování teploty v rozmezí -20 až 0°C. Materiál musí být dopraven do LLG do 30 dnů od odběru materiálu.

3.5. IDENTIFIKACE PACIENTA NA ŽÁDANCE A OZNAČENÍ VZORKU

Žádanka musí obsahovat údaje popsané v bodě 3.2 této příručky.

Označení vzorku na nádobě s biologickým materiálem – štítek obsahující minimální povinné údaje: jméno, příjmení a rodné číslo pacienta nebo datum narození nebo rok narození. Odběr vzorku se provádí výhradně do předem označených nádob!

3.6. MNOŽSTVÍ VZORKU

Periferní krev

Odebírá se žilní krev pacienta z paže, 1-4 ml do jednorázové sterilní odběrové nádobky o objemu 2,5-5 ml s náplní Lithia/heparinu nebo EDTA, ihned po odběru promíchat otáčením nádobky o 180°C. Pro každé vyšetření je třeba minimální množství krve 1 ml.

Trofektoderm

Odběry buněk trofektodermu – cca 5 buněk trofektoderm z embrya ve stadiu hatchující blastocysty, minimální požadované množství jsou asi 3 buňky.

Kapilární krev

Minimální požadované množství primárního vzorku je velikost krevní skvrny o průměru 5 mm. Více o odběrech viz 3.4.

3.7. NEZBYTNÉ OPERACE SE VZORKEM, STABILITA

Periferní krev může být skladována nejdéle sedm dnů od odběru v lednici, za teploty 2-10 °C (krev nesmí zmrznout!), po této době krev hemolyzuje a není z ní již možno stanovit karyotyp.

V případě vyšetření PGT-M pomocí karyomappingu lze periferní krev zamrazit a do doby transportu vzorku uchovat v mrazicím boxu (při -20 °C).

V případě PGT vyšetření trofektodermu musí být vzorky doručeny do laboratoře do 60 min, nebo je možno vzorek po odběru zamrazit a do doby přepravy uchovat v mrazicím boxu (při asi -20 °C). Materiál musí být dopraven do LLG do 30 dnů od odběru materiálu.

3.8. ZÁKLADNÍ INFORMACE K BEZPEČNOSTI PŘI PRÁCI SE VZORKY

S každým vzorkem BM je zacházeno jako s potenciálně infekčním. Více informací viz kapitola 9 (Likvidace biologického materiálu).

3.9. INFORMACE K DOPRAVĚ VZORKŮ A K ZAJIŠTĚNÍ SVOZU VZORKŮ

Krevní vzorky

a) odebrané v SANATORIU Helios – pracovník, který provedl odběr, si v laboratoři vyžádá vyzvednutí vzorku (telefonicky či osobně), zajistí uložení vzorku do chladničky.

Pracovník laboratoře po převzetí vzorků v odběrové místnosti zkontroluje jméno, příjmení, rodné číslo na žádance a vzorku a jejich shodu.

K transportu periferní krve se používá plastová transportní přepravka pro biologické vzorky. Žádanky k vyšetření jsou přepravovány současně v samostatném obalu. Nádoba je pravidelně dezinfikována.

b) odebrané mimo SANATORIUM Helios – spolupracující klinické pracoviště si v laboratoři vyžádá svoz vzorku (telefonicky na č. 549 523 226 nebo e-mailem ~~slamova@sanatoriumhelios.cz~~, ~~vrchní sestra Jarmila Slámová~~ vedoucí provozu Bc. Tereza Švancerová, svancerov@sanatoriumhelios.cz), do doby vyzvednutí vzorku dopravcem SANATORIA Helios vzorek uloží do chladničky při 2 – 10 °C, v případě periferní krve pro vyšetření PGT-Mpomocí karyomappingu lze vzorky uchovávány v mrazicím boxu při -20 °C do doby transportu.

Ke svozu periferní krve se používá transportní nádoba při zachování teploty v rozmezí -20 až 0°C. Nádoba je pravidelně dezinfikována. Žádanky žadatelů jsou skladovány odděleně od BM, tak aby byl zamezen přístup neoprávněných osob k jejich obsahu a jejich kontaminace BM.

Pracovníci odpovědní za transport primárních vzorků podpisem potvrzují Odevzdávací protokol, zároveň a jsou seznámeni s podmínkami transportu.

Kontakt pro domluvu svozu vzorků při odběru mimo zařízení:
tel. č.: +420 549 523 226
e-mail: ~~slamova@sanatoriumhelios.cz~~ svancerov@sanatoriumhelios.cz

Laboratoř nezodpovídá za dodržení podmínek transportu při dopravě vzorků externím dopravcem. Pracovník provádějící svoz od externích žadatelů musí vždy vyčkat na fyzické převzetí BM od pracovníka LLG.

Pracovník laboratoře před dopravcem zkontroluje správnost údajů na žádankách a stav BM. Je nezbytné zajistit svoz biologického materiálu, resp. předání na příjmový úsek laboratoře od externích lékařů tak, aby byly dodrženy všechny podmínky uvedené v LP.

Vzorky trofektodermu pro PGT vyšetření
Vzorky pro vyšetření PGT-A, PGT-SR a PGT-M pomocí karyomappingu jsou přeneseny do 1xPBS a uchovány při -20 °C do doby předání. Vzorky pro PGT-M pomocí fragmentační analýzy a/nebo Sangerova sekvenování jsou přeneseny do zkumavky s 2 µl alkalického pufru a uchovány při -20 °C do doby předání do Laboratoře PGT. Předávající potvrdí předání na žádance.

Přepravu materiálu odebraného mimo SANATORIUM Helios zajišťuje SANATORIUM Helios. K transportu je použita transportní přepravka pro biologické vzorky, která je pravidelně dezinfikována.

4. PREANALYTICKÉ PROCESY V LABORATOŘI

4.1. PŘÍJEM ŽÁDANEK A BIOLOGICKÝCH VZORKŮ

Viz body 3.1 až 3.9.
1) Pracovník SANATORIA Helios (dopravce) předá biologický materiál se žádankami pracovníkovi laboratoře, který provádí příjem biologického materiálu a vyčká jeho převzetí.
2) Pracovník pověřený příjmem biologického materiálu provádí při převzetí kontrolu úplnosti vyplnění údajů na žádance a vzorku.
3) Pokud žádanka i vzorek splňují všechny formální požadavky dle bodů 3. 2 (žádanka) a 3.6 (vzorek), zaeviduje přijatý vzorek do „Knih příjmů“ a označí vzorky i žádanku pořadovými čísly.
4) V „Knize příjmu“ se zaznamenávají tyto údaje: datum, popř. čas přijetí v laboratoři, datum a čas odběru vzorku, pořadové číslo vzorku, jméno a příjmení pacienta, rodné číslo, pojišťovna a další informace dle typu vzorku.

Všechny odchylky od požadavků na vzorky a žádanky, viz bod. 3.2 (žádanka) a 3.6 (vzorek), jsou považovány za nestandardní vzorky / žádanky a za jejich posouzení z hlediska možnosti dalšího zpracování je odpovědný pracovník laboratoře provádějící příjem materiálu – viz kapitola 4.2. a dle směrnice „Příjem nestandardního biologického materiálu“ (S-LLG-005).

4.2. KRITÉRIA PRO PŘIJETÍ NEBO ODMÍTNUTÍ NESTANDARDNÍCH PRIMÁRNÍCH VZORKŮ

Za nestandardní vzorky jsou považovány všechny vzorky, které se svými vlastnostmi či náležitostmi odchylují od požadavků uvedených v těchto bodech:
3.2 žádanka, 3.5 označení vzorku, 3.3 odběrové nádoby (odběrový systém) a 3.6 množství vzorku

Důvody pro odmítnutí přijetí vzorku do laboratoře

- vzorky v neoznačených zkumavkách, s nečitelným popisem na zkumavce
- vzorky bez žádanky
- vzorky, u nichž se ani na výzvu ze strany laboratoře nepodařilo zajistit stoprocentní identifikaci pacienta, tedy shodu údajů na nádobě s materiálem a žádankou
- vzorky se sraženou krví, viditelně kontaminované
- vzorky periferní krve odebrané do zkumavky s jiným protisrážlivým roztokem, než heparin nebo EDTA
- zkumavka se vzorkem potřísněná biologickým materiálem nebo mechanicky poškozená
- krevní vzorky skladované nebo transportované mimo požadované rozmezí teplot, vzorky skladované déle než 5 dnů od odběru
- pokud žadatelem není smluvně zajištěný klinický genetik

Odmítnuté vzorky jsou evidovány v „Knize nestandardních příjmů“.

Postupy při nesprávné identifikaci vzorku nebo žádanky

Neshodu zjištěnou při příjmu žádanky se vzorkem, tedy výskyt nestandardního vzorku či žádanky (chybějící nebo evidentně špatné údaje, rozdíly vedlejších údajů na žádance a vzorku, nejasný požadavek na vyšetření – netýká se zásadních údajů typu rodné číslo nebo příjmení) řeší pracovník provádějící příjem materiálu okamžitě při příjmu dle zásad při příjmu vzorků – směrnic S-LLG-004 a S-LLG-005.

Postup při doplňování neúplně nebo chybně vyplněné žádanky

Údaje na neúplně nebo chybně vyplněné žádance, která ale umožňuje jednoznačnou identifikaci vzorku a pacienta, lze po telefonickém ověření chybějícího údaje doplnit dodatečně. Doplnění údajů provádí pracovník přijímající biologický materiál ihned po nalezení nedostatku telefonicky u vyšetření požadujícího lékaře. Zjištěné údaje doplní do žádanky, není-li to možné, vyžádá si žádanku novou. Údaje opravené nebo upravené na originální žádance pracovníkem/pracovníky laboratoře musí být jasně označeny datem a podpisem pracovníka, který změnu provedl.

Postup při zjištění nestandardního vzorku (nádoby s materiálem)

V případě, že jsou nestandardní primární vzorky přijaty a zpracovány, musí být ve výsledkovém listu popsána povaha problému či odchylky od normy (popis stavu přijatého vzorku a případný vliv tohoto stavu na výsledek vyšetření).

Drobné nedostatky v označení vzorku (překlepy, nesprávně uvedené jméno, ale souhlasící rodné číslo) jsou řešeny s indikujícím lékařem, o projednání je veden záznam na žádance s uvedením odpovědného pracovníka laboratoře a také v knize nestandardních příjmů.

4.3. VYŠETŘOVÁNÍ SMLUVNÍMI LABORATOŘEMI

Laboratoř lékařské genetiky SANATORIA Helios využívá služeb smluvních laboratoří.

Smluvní akreditovaná laboratoř (nejčastěji ÚLGG FN Brno, SPADIA LAB Nový Jičín, Cytogenetická laboratoř Brno, Genea Sydney, Superior ART Bangkok) je vybírána v závislosti na typu požadovaného doplňujícího vyšetření. Vzorky odeslané do spolupracujících laboratoří jsou evidovány v **„Knize odeslaných vzorků“** a jsou vždy doprovázeny žádankou nebo objednávkou s informacemi o typu vzorku a požadovaném vyšetření. Dále je třeba přiložit kopii příslušného informovaného souhlasu.

4.4. SEZNAM VLIVŮ OVLIVŇUJÍCÍCH LABORATORNÍ VYŠETŘENÍ

V případě metody Stanovení karyotypu z periferní krve je jasnou kontraindikací k úspěšné kultivaci lymfocytů užívání antibiotik, látek potlačujících imunitní reakce a jiných léčiv ovlivňující lymfocyty všeobecně.

4.5. OBECNÉ ZÁSADY LABORATOŘE NA OCHRANU OSOBNÍCH INFORMACÍ

Ochrana osobních údajů je v laboratoři jednou ze základních povinností jednak v rámci komunikace, jednak při nakládání s písemnými záznamy. Pro zachování stabilní úrovně vydalo vedení společnosti interní směrnice S-SH-006 Řízení informačního systému a S-SH-010 Bezpečnost informací. Všichni zaměstnanci společnosti SANATORIUM Helios podepsali smlouvu o utajení. Obsah těchto směrnic a smlouvy vychází z platných zákonů a vyhlášek, včetně nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 2016/679, známé rovněž pod zkratkou GDPR (z angl. General Data Protection Regulation).

5. VYDÁVÁNÍ VÝSLEDKŮ A KOMUNIKACE S LABORATOŘÍ

5.1. HLÁŠENÍ VÝSLEDKŮ V KRITICKÝCH INTERVALECH

LLG neprovádí vyšetření, pro která lze stanovit kritické intervaly výsledků.

5.2. VYDÁVÁNÍ VÝSLEDKŮ, TYPY NÁLEZŮ A LABORATORNÍCH ZPRÁV

Všechna vyšetření provedená Laboratoří lékařské genetiky SANATORIA Helios jsou uzavřena výsledkovým listem. Tento se liší dle provedených vyšetření.

Výsledkový list LLG obsahuje:

- Identifikaci laboratoře (jméno a adresa)
- Identifikační údaje pacienta, v případě PGT-M i partnera (jméno, rodné číslo, pojišťovna)
- Identifikační údaje žadatele (IČZ, pracoviště)
- Označení vyšetření
- Datum a čas odběru primárního vzorku
- Datum a čas přijetí žádanky a vzorku do laboratoře
- Datum uvolnění zprávy
- Typ primárního vzorku

- Výsledky vyšetření
- Interpretace výsledků
- Poznámky k metodě (informace o kvalitě vzorku)
- Podpis pracovníka, který výsledek hodnotil a podpis pracovníka, který výsledek schválil

Závěrečné zprávy, popř. předběžné zprávy, jsou vždy vydávány v tištěné podobě, podepsané oprávněným VŠ pracovníkem, který provádí finální kontrolu správnosti výsledků a je tímto za správnost výstupu odpovědný. Každý tištěný výsledek, kromě podpisu, obsahuje razítko laboratoře nebo kontrolujícího vedoucího pracovníka – VŠ s atestací v oboru. Datum vydání zprávy je uvedeno na každé straně zprávy, přičemž identifikací konce zprávy se rozumí podpisy hodnotících pracovníků a zprávu uvolňujícího pracovníka.

Výsledky spolu se zápisem průběhu analýzy jsou uchovávány v písemné podobě ve spisovně laboratoře a zároveň v elektronické podobě.

Údaje o pacientovi jsou přístupné pouze pracovníkům laboratoře, kteří vyšetření provádějí. Elektronická databáze je pravidelně zálohována a přístup k ní mají pouze oprávnění pracovníci laboratoře pod heslem. Za ochranu dat a jejich zálohování odpovídá správce sítě, viz směrnice S-SH-006 Řízení informačního systému.

Zprávy jsou laboratoří předávány pouze žadateli, tedy lékaři oprávněnému požadovat genetické vyšetření.

Výsledky jsou žadatelům vydány v tištěné formě, také jsou zapisovány do interní databáze pacientů SANATORIA Helios SmartMEDIX. Lékařům pracujícím mimo SANATORIUM Helios jsou výsledky zasílány poštou doporučeným dopisem nebo doručovány svozovou službou SANATORIA Helios (osobní předání).

Sdělování výsledků telefonicky se neprovádí. Výsledky nejsou předávány přímo pacientovi.

Tištěná verze je rovněž předána lékařem pacientce jako součást souhrnné zprávy o léčebném IVF cyklu.

Na vyžádání lékaře laboratoř nabízí poradenství v oblasti vysvětlení výsledků a závěrů vyšetření.

V případě uplatnění flexibilního rozsahu akreditace (FRA) je uvědomen žadatel vyšetření. Seznam vyšetřovaných genů a jednotlivých mutací lze nalézt na webových stránkách SH (https://www.sanatoriumhelios.cz/laborator-lekarske-genetiky/).

5.3. ZMĚNY VÝSLEDKŮ A NÁLEZŮ

Pokud dojde k nalezení chyby v již vydaném výsledku, vedoucí laboratoře oznámí tuto skutečnost ihned indikujícímu lékaři a provede vydání nového opraveného výsledku. Dále se provede oprava výsledku ve všech databázích a spisovnách, ve kterých výsledky LLG uchovává. Původní formulace výsledku je součástí archivovaného opraveného nálezu.

5.4. INTERVALY OD DODÁNÍ VZORKU K VYDÁNÍ VÝSLEDKU

Přijaté vzorky jsou vyhodnocovány v pořadí, ve kterém byly doručeny do laboratoře.

Vzorky označené **STATIM** se zpracovávají a hodnotí přednostně, výsledek vyšetření je lékaři sdělen neprodleně po dokončení vyšetření, ve lhůtě do **10 pracovních dní,** (v případě **FISH do 5 pracovních dní**). Pokud nález vyžaduje další laboratorní vyšetření pacienta jinou metodou, je v tomto termínu možno vydat dílčí výsledek, lékař je informován a rozhodne o dalším průběhu vyšetření viz Tab. 5.

Při nálezu patologického karyotypu je v některých případech nutné doplnit klasickou cytogenetickou analýzu laboratorním vyšetřením pomocí jiné metody, buď v SANATORIU Helios, nebo v jiné smluvní laboratoři.

Karyotyp z periferní krve	8 týdnů	STATIM do 10 pracovních dnů
ZCHA	8 týdnů	STATIM do 10 pracovních dnů
FISH	Do 10 pracovních dnů	STATIM do 5 pracovních dnů
PGT-M pomocí fragmentační analýzy a/nebo Sangerova sekvenování	Do 10 pracovních dnů	-
PGT-A, PGT-SR	Do 30 pracovních dnů	-
CF	Do 20 pracovních dnů	STATIM do 5 pracovních dnů
PGT-M pomocí karyomappingu	Do 30 pracovních dnů	

Tabulka 5: Intervaly od příjmu vzorků k vydání výsledků

5.5. ZPŮSOB ŘEŠENÍ STÍŽNOSTÍ

Případné připomínky či stížnosti ~~či připomínky~~ na činnost laboratoře je možno podat písemně na **adresu SANATORIA Helios**, elektronicky na adrese **LLG@sanatoriumhelios.cz**, telefonicky na tel.: **549 523 259**, nebo **osobně**.

Formulář pro podání stížnosti LLG je k dispozici na internetovém odkazu http://www.sanatoriumhelios.cz/laborator-lekarske-genetiky.

Všechny stížnosti řeší vedoucí laboratoře a informuje ředitele SANATORIA Helios, viz směrnice S-SH-003 Řízení neshod. Stížnosti lze podávat z jakéhokoliv důvodu, zejména na:

- Průběh a rozsah provedeného laboratorního vyšetření
- Termín vydání výsledku
- Výsledky laboratorního vyšetření
- Způsob jednání pracovníků SANATORIA Helios
- Jiné důvody

Stížnost je vyřízena co nejdříve, nejpozději do 30 dnů. Výsledek sdělí vedoucí laboratoře písemně osobě, která stížnost uplatnila.

Oprávněné stížnosti budou podnětem pro zkvalitnění další práce v naší laboratoři.

5.6. KONZULTAČNÍ ČINNOST LABORATOŘE

LLG v současné době neposkytuje laboratorní konzultace.

5.7. SKLADOVÁNÍ VYŠETŘENÝCH VZORKŮ

Z důvodu možného kultivačního neúspěchu a potřeby opakování kultivace se vzorek periferní krve úseku cytogenetiky uchovává následujících 7 dnů po odběru.

Periferní krev se uchovává v chladničce při teplotě 2-10°C. Po uplynutí této doby jsou vzorky likvidovány, viz kapitola 9 - Likvidace biologického odpadu a Provozní protiepidemický řád (PPŘ).

Mikroskopická skla pro FISH vyšetření jsou uchovávána v mrazáku při teplotě -20 °C po dobu 1 roku.

Primární vzorky pro PGT vyšetření nadále skladovány nejsou, protože jsou kompletně použity pro analýzu.

Pro případ potřeby provést opakování vyšetření nebo dodatečných vyšetření je uchováván vzorek zpracovaný – suspenze lymfocytů po dobu 2 měsíců a izolovaná, amplifikovaná DNA pro PGT po dobu 1 roku a DNA rodinných příslušníků po dobu 5 let od vydání závěrečné zprávy. Ve výjimečných případech (DNA zemřelých, DNA potracených plodů) po dobu neomezenou. Amplifikovaná DNA pacientů, kteří nesouhlasili s uchováváním genetického materiálu, je likvidována ihned po ukončení vyšetření. Vyizolovaná DNA pro vyšetření CF je uchovávána 1 rok, Guthrieho kartičky do doby získání výsledku.

6. SEZNAM LABORATORNÍCH VYŠETŘENÍ VČETNĚ POPISU

Přehled prováděných vyšetření a příslušné standardní operační postupy (SOP) viz Tab.6.

Stanovení karyotypu z periferní krve	Akreditovaná metoda	SOP-LLG-001
Stanovení hodnoty ZCHA (získaných chromozomálních aberací) z periferní krve		SOP-LLG-002
Doplňující barvící techniky (C-pruhy, NOR-barvení)		SOP-LLG-003
Průkaz chromozomálních aberací metodou FISH	Akreditovaná metoda	SOP-LLG-010
Preimplantační genetické testování metodou fragmentační analýzy a/nebo Sangerova sekvenování	Akreditovaná a neakreditovaná metoda	SOP-LLG-012 SOP-LLG-013
Preimplantační genetické testování metodou NGS (PGT-A, PGT-SR)	Akreditovaná metoda	SOP-LLG-014
Stanovení mutací v genu pro cystickou fibrózu (CF)	Akreditovaná metoda	SOP-LLG-016
Preimplantační genetické testování metodou karyomapping	Nekreditovaná metoda	SOP-LLG-011

Tabulka 6: Seznam laboratorních vyšetření

V případě preimplantačního genetického testování metodou PCR (PGT-M) bude odkaz na akreditaci na výsledkovým listě/závěrečné zprávě uveden po zavedení a schválení stanoveným procesem pro flexibilní rozsah. Aktuální Seznam činností v rámci flexibilního rozsahu akreditace je dostupný na webových stránkách Laboratoře lékařské genetiky.

6.1. STANOVENÍ KARYOTYPU

Princip metody

Při klasické cytogenetické analýze hodnotíme pomocí mikroskopu počet a strukturu chromozomů získaných z T-lymfocytů pacienta. Periferní krev pacienta nejdříve 72-92 hodin kultivujeme v kultivačním médiu, následně připravíme suspenzi vhodnou ke kapání na mikroskopická skla. Preparáty barvíme pomocí G-barvení (SOP-LLG-001), případně doplňujícími barvícími technikami (SOP-LLG-003), v indikovaných případech provedeme FISH (SOP-LLG-010). Cytogenetická analýza probíhá v souladu s mezinárodními doporučeními E.C.A. a hodnocení dle nomenklatury ISCN, hodnotí se 10 mitóz.

Pokud je při nálezu patologického karyotypu třeba upřesnit nalezenou chromozomální aberaci, jsme schopni zajistit vyšetření CGH, SKY, aCGH, MLPA, MFISH nebo mBAND ve smluvních laboratořích.

6.2. STANOVENÍ HODNOTY ZÍSKANÝCH CHROMOZOMÁLNÍCH ABERACÍ (ZCHA)

Princip metody

Při stanovení hodnoty získaných chromozomálních aberací sledujeme pomocí mikroskopu počet aberantních buněk v periferní krvi pacienta. Postup přípravy mikroskopických preparátů je obdobný, jako u stanovení karyotypu z periferní krve, pouze doba kultivace periferní krve je v tomto případě 48 hodin a k hodnocení se používají nepruhované preparáty (SOP-LLG-002). Hodnotíme 100 mitóz.

6.3. FISH VYŠETŘENÍ

Princip metody

Fluorescenční in situ hybridizace je molekulárně cytogenetická metoda založená na hybridizaci fluorescenčně značené DNA sondy na cílové místo analyzované DNA na principu komplementarity. Používá se především k doplnění a upřesnění nálezu cytogenetického vyšetření. Laboratoř používá komerční centromerické DNA sondy (SOP-LLG-010).

6.4. PGT-M – VYŠETŘENÍ MONOGENNÍCH CHOROB

Princip metody

PGT-M je určeno k vyšetření embryí partnerů podstupujících IVF, v jejichž rodině bylo diagnostikováno konkrétní monogenní onemocnění (děděné autozomálně dominantně, recesivně nebo vázané na pohlaví).

Principem metody PGT-M pomocí fragmentační analýzy a/nebo Sangerova sekvenování je kombinace přímé analýzy vlastního místa genové alterace a segregační nepřímé DNA diagnostiky na základě vyšetření polymorfních mikrosatelitních markerů předem charakterizovaných v rodině nosiče genové alterace. Laboratorně se využívá PCR technika s komerčně dostupnými primery, fragmentační analýza a sekvence (SOP-LLG-012, SOP-LLG-013).

Karyomapping je molekulárně-genetické čipové vyšetření variant v sekvenci DNA. Je založena na porovnání DNA embryonálních vzorků a DNA páru a referenčního člena rodiny. Po celogenomové amplifikaci je provedeno vyšetření na speciálním druhu mikročipu (SNParray), který je schopný detekovat velký počet vybraných jednonukleotidových polymorfismů celého genomu (SOP-LLG-011). Porovnáním zjištěných haplotypů s informacemi z rodokmene vyšetřované rodiny jsou pak určeny haplotypy spojené s přítomností dané mutace.

6.5. PGT-A, PGT-SR –METODA SEKVENOVÁNÍ NOVÉ GENERACE

Princip metody

Metoda Next Generation Sequencing (NGS) – SOP-LLG-014- umožňuje analyzovat celý genom embrya v jedné analýze a odhalit tak numerické, příp. nebalancované strukturální aberace chromozomů. Po celogenomové amplifikaci DNA vzorku je připravena sekvenační knihovna – fragmenty DNA s připojenými adaptéry na obou koncích. V následné PCR jsou přidány indexové sekvence a vzorky jsou smíchány (poolovány). Data ze sekvenátoru jsou vyhodnocena pomocí speciálního softwaru a je stanoven výsledek ve smyslu zisků či ztrát genetického materiálu embrya.

6.6. STANOVENÍ MUTACÍ V GENU PRO CYSTICKOU FIBRÓZU (CF)

Princip metody

Genotypizační test pro CF je souprava pro testování na cystickou fibrózu zaměřená specificky na nejběžnější mutace u populací evropského původu. Testem lze zjistit celkem 50 mutací a rovněž se analyzuje intron 9 polyT trakt s přesným měřením přilehlé TG repetice. Metoda využívá fluorescenční ARMS (Amplification Refractory Mutation System) – alelově specifickou amplifikační techniku, kterou se detekují bodové mutace, inzerce nebo delece v DNA. Amplifikované sekvence se separují kapilární elektroforézou (SOP-LLG-016).

7. POKYNY PRO SPOLUPRACUJÍCÍ LÉKAŘE

Informace o odběrech – viz oddíl 3

Informace o vydávání výsledků v oddíle 5

Kontakty viz oddíl 2.1

LLG má své vlastní žádanky, které na požádání dodáme, lze však použít i běžný Poukaz na vyšetření/ošetření typ K, pokud bude doplněn požadovanými informacemi definovanými v bodu 3.2.

Laboratoř nabízí aplikaci flexibilního rozsahu akreditace pro metodu PGT-M. Aktuální Seznam činností v rámci flexibilního rozsahu akreditace je dostupný na webových stránkách Laboratoře lékařské genetiky.

8. POKYNY PRO PACIENTY

Informované souhlasy před genetickým vyšetřením – viz oddíl 3.4.

9. DALŠÍ INFORMACE

Likvidace biologického materiálu – Nebezpečný odpad

Veškerý odpad se ihned třídí v místě vzniku a separuje do vhodných přepravních obalů. Nebezpečný odpad se ukládá do barevných přepravních obalů, drobný odpad, včetně jednorázových jehel, se ukládá do pevnostěnných, uzavíratelných a spalitelných obalů bez další manipulace.

Tyto obaly jsou označeny na viditelném místě štítky s katalogovým číslem, názvem shromažďovaného odpadu, označením původce, jménem zodpovědné osoby za obsluhu a údržbu shromažďovaného odpadu a datem vzniku. Odpad je denně odnášen z pracoviště pracovníky úklidu do vyčleněné místnosti, která slouží pro shromáždění nebezpečného odpadu.

Tato místnost je uzamčená a zabezpečená před volným přístupem veřejnosti. V této místnosti je chladicí box, který splňuje požadavek dodržení teploty v rozmezí mezi +3 až +8 °C, (teplota se denně sleduje a eviduje). Horní otevírání chladicího boxu zajišťuje bezpečnější ukládání infekčního odpadu. Chladicí boxy jsou opatřené zámkem.

Odvoz je zajištěn od 1. 4. 2010 smluvní firmou TEPAS s.r.o. Družstevní 221, Adamov, v intervalu 1x týdně. Firma má pro odvoz a nakládání s nebezpečnými odpady všechna legislativou vyžadovaná povolení.

10.PŘÍLOHY

Nejsou.