

# LABORATORNÍ PŘÍRUČKA (LP)

Společnost: **PRENET – prenatální diagnostika a genetika  
Laboratoře lékařské genetiky s.r.o.**

Pracoviště: **Laboratoř lékařské genetiky**  
Masarykovo náměstí 2667  
530 02 Pardubice  
[www.prenet.cz](http://www.prenet.cz)

Vypracoval: Mgr. Iveta Světlíková

Kontroloval: RNDr. Miroslav Fišer

Schválil: RNDr. Miroslav Fišer

.....

Uložení originálu LP: firemní intranet

Interval plánovaných revizí: 1 rok

Datum: 16. 4. 2025

Vydání: 11.

Výtisk č.: 1/1

Číslo změny	Charakter změny, strana č. xx
1.	Doplnění prohlášení laboratoře, kap. 3, str. 6. Uvedení identifikace konce laboratorní zprávy, kap. 8.1, str. 19. Platnost předchozího vydání: 7. 4. 2025.
2.	
3.	
4.	
5.	

## Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod.....</b>	<b>5</b>
<b>2</b>	<b>Základní informace o laboratoři.....</b>	<b>6</b>
<b>3</b>	<b>Seznam laboratorních vyšetření a metod.....</b>	<b>7</b>
<b>4</b>	<b>Prohlášení o souhlasu.....</b>	<b>9</b>
<b>5</b>	<b>Preanalytická fáze .....</b>	<b>9</b>
<b>5.1</b>	<b>Osobní příprava pacienta před odběrem primárního vzorku .....</b>	<b>9</b>
<b>5.2</b>	<b>Indikace k vyšetření a výběr vhodných postupů.....</b>	<b>9</b>
5.2.1	<i>Indikace pro vyšetření karyotypu z periferní krve .....</i>	<i>9</i>
5.2.2	<i>Indikace pro vyšetření získaných chromozomových aberací.....</i>	<i>9</i>
5.2.3	<i>Indikace pro vyšetření karyotypu z plodové vody a choriové tkáně .....</i>	<i>9</i>
5.2.4	<i>Indikace pro vyšetření karyotypu z fetální krve .....</i>	<i>10</i>
5.2.5	<i>Indikace pro vyšetření karyotypu z tkáně potraceného plodu .....</i>	<i>10</i>
5.2.6	<i>Indikace pro vyšetření metodou FISH.....</i>	<i>10</i>
5.2.7	<i>Indikace pro vyšetření trombofilních mutací.....</i>	<i>10</i>
5.2.8	<i>Indikace pro vyšetření mutace v CFTR genu.....</i>	<i>10</i>
5.2.9	<i>Indikace pro vyšetření mikroleceí chromozomu Y.....</i>	<i>11</i>
5.2.10	<i>Indikace pro vyšetření celiakie.....</i>	<i>11</i>
5.2.11	<i>Indikace pro molekulárně genetická vyšetření mutací vybraných genů metodou masivního paralelního sekvenování .....</i>	<i>11</i>
5.2.12	<i>Indikační kritéria pro vyšetření FMR1 genu.....</i>	<i>11</i>
5.2.13	<i>Indikační kritéria pro vyšetření počtu kopií genu SMN1 a SMN2 .....</i>	<i>11</i>
5.2.14	<i>Indikační kritéria pro molekulárně cytogenetické vyšetření pomocí techniky aCGH. 12</i>	<i>12</i>
5.2.15	<i>Indikační kritéria pro molekulárně genetické vyšetření QF-PCR.....</i>	<i>12</i>
5.2.16	<i>Indikační kritéria pro vyšetření dědičné nesyndromové hluchoty (DFNB).....</i>	<i>12</i>
5.2.17	<i>Indikační kritéria pro vyšetření Laktóзовé intolerance.....</i>	<i>13</i>
<b>5.3</b>	<b>Manuál odběru primárních vzorků.....</b>	<b>13</b>
5.3.1	<i>Průvodka na genetické vyšetření .....</i>	<i>13</i>
5.3.2	<i>Minimální množství vzorku .....</i>	<i>13</i>
5.3.3	<i>Načasování odběru .....</i>	<i>13</i>
5.3.4	<i>Odběr periferní krve .....</i>	<i>13</i>
5.3.5	<i>Odběr plodové vody.....</i>	<i>14</i>
5.3.6	<i>Odběr tkáně potraceného plodu .....</i>	<i>14</i>
5.3.7	<i>Odběr fetální krve .....</i>	<i>14</i>

5.3.8	Odběr choriových klků.....	14
5.3.9	Odběr bukálního stěru .....	15
5.3.10	Označení primárního vzorku .....	15
5.3.11	Bezpečné odstranění materiálů použitých při odběru vzorků .....	15
5.3.12	Skladování primárních vzorků do doby transportu .....	15
5.3.13	Požadavky na transport vzorků .....	15
5.3.14	Identifikace vzorku .....	15
5.3.15	Odmítnutí vzorku .....	16
5.3.16	Řešení neshod na příjmu .....	16
5.3.17	Urgentní vyšetření (STATIM).....	16
5.3.18	Bezpečné odstranění použitých vzorků v preanalytické fázi.....	17
5.3.19	Ústní požadavky na vyšetření .....	17
<b>5.4</b>	<b>Nejčastější chyby preanalytické fáze.....</b>	<b>17</b>
5.4.1	Chyby při odběru vzorku .....	17
5.4.2	Chyby při skladování a transportu vzorku.....	17
<b>6</b>	<b>Postanalytická fáze .....</b>	<b>17</b>
6.1	Skladování primárního vzorku.....	17
6.2	Skladování materiálu po vyšetření .....	17
6.3	Dodatečná vyšetření.....	18
6.4	Opakovaná vyšetření z již odebraného vzorku .....	18
6.5	Bezpečná likvidace vzorku po vyšetření .....	18
<b>7</b>	<b>Vydávání výsledků .....</b>	<b>18</b>
7.1	Formy vydávání a uvolňování výsledků.....	18
7.2	Interval od příjmu primárního vzorku k vydání výsledku .....	19
7.3	Stížnosti.....	19
7.4	Konzultace .....	20
<b>8</b>	<b>Související dokumentace a záznamy .....</b>	<b>20</b>

## 1 Úvod

Laboratorní příručka je dokument, kterým chceme informovat lékaře a žadatele o vyšetření o našich službách a poskytnout zdravotnickým pracovníkům a pacientům (klientům) potřebné informace před vlastním vyšetřením, z jeho průběhu a po vyšetření. Naším cílem je pomoci zlepšit komunikaci s uživateli laboratorních služeb a také zviditelnit naši práci.

Tato Laboratorní příručka je volně dostupná pro všechny zaměstnance laboratoře na firemním intranetu a pro žadatele o vyšetření a klienty laboratoře na [www.prenet.cz](http://www.prenet.cz) a je pravidelně aktualizována.

Laboratoř lékařské genetiky je akreditována Českým institutem pro akreditaci pod číslem M 8080 dle normy ČSN EN ISO 15189 ed. 3:2023.

Laboratoř lékařské genetiky má uděleno Povolení SÚKL k provádění laboratorních vyšetření vzorků biologických materiálů odebraných dárce pro posouzení zdravotní způsobilosti a výběr dárce v následujícím rozsahu:

1. Cytogenetické stanovení karyotypu z periferní krve
2. Vyšetření přenašečství mutací pro cystickou fibrózu (gen CFTR)
3. Vyšetření přenašečství mutací pro spinální muskulární atrofii (gen SMN1)
4. Vyšetření přenašečství mutací pro hereditární sluchovou poruchu (gen GJB2)

Laboratoř lékařské genetiky uplatňují pokyny Nařízení Evropského parlamentu a Rady EU o ochraně fyzických osob v souvislosti se zpracováním osobních údajů a o volném pohybu těchto údajů.

### Použité zkratky:

aCGH	Array komparativní genomová hybridizace
AFP	Alfa-fetoprotein
CVS	Vyšetření choriové tkáně
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
EDTA	Didraselná sůl ethylendiamintetraoctové kyseliny
EMG	Elektromyografie
FISH	Fluorescenční <i>in situ</i> hybridizace
HLA	Human leukocyte antigen
HRT	Hormonální substituční léčba
IVF	<i>In vitro</i> fertilizace
LP	Laboratorní příručka
PCR	Polymerázová řetězová reakce
SLG	Společnost lékařské genetiky a genomiky ČLS JEP, z. s.
SOP	Standardní operační postup
TEN	Tromboembolická nemoc
ZCA	Získané chromozomové aberace

## 2 Základní informace o laboratoři

Kontaktní údaje:      **PRENET – prenatální diagnostika a genetika**  
                                 **Název obchodní společnosti: Laboratoře lékařské genetiky s.r.o.**  
                                 **IČ: 03909689**

Laboratoř:                Masarykovo náměstí 2667  
                                 530 02 Pardubice  
                                 Telefon: 773 899 650

e-mail:                    [info@prenet.cz](mailto:info@prenet.cz)

web:                        [www.prenet.cz](http://www.prenet.cz)

Provozní doba laboratoře:

Pondělí:	7.00 – 17.00 hodin
Úterý:	7.00 – 17.00 hodin
Středa:	7.00 – 17.00 hodin
Čtvrtek:	7.00 – 17.00 hodin
Pátek:	7.00 – 17.00 hodin

Příjem primárních vzorků je v průběhu celé provozní doby laboratoře, jinak dle domluvy.

Pracoviště Laboratoře lékařské genetiky je samostatné zdravotnické zařízení, které spolu s Ambulancí lékařské genetiky tvoří privátní zdravotnickou organizaci s názvem PRENET – prenatální diagnostika a genetika, Laboratoře lékařské genetiky s. r. o.

Základem práce laboratoře je prenatální genetická diagnostika, vyšetřování poruch lidské reprodukce, vyšetření hereditárních nádorových syndromů a diagnostika populačně častých vrozených onemocnění a vybraných vzácných onemocnění.

## 3 Prohlášení laboratoře

- Laboratoř prohlašuje, že bude zajištěna pokračující dostupnost a integrita uchovávaných vzorků a záznamů pacientů v případě uzavření, akvizice nebo fúze laboratoře.
- Laboratoř v případě potřeby zpřístupní informace o událostech, které vedly nebo mohly vést k poškození pacienta, a záznamů o opatřeních přijatých ke zmírnění těchto poškození.
- Laboratoř zpřístupní informace pacientovi a jakémukoli jinému poskytovateli zdravotních služeb na žádost pacienta nebo na žádost poskytovatele zdravotních služeb, který jedná jeho jménem.
- Laboratoř prosazuje práva pacientů na péči bez diskriminace.
- Na odhalené zbylé riziko (např. důsledek špatného odběru nebo nedostatečného množství či nevhodného transportu vzorku), které nemůže laboratoř vždy ovlivnit, bude uživatel upozorněn a bude o tom veden záznam ve výsledkové zprávě.
- Laboratoř prohlašuje, že jednání s pacienty a zacházení se vzorky nebo ostatky bude s náležitou péčí a úctou.

## 4 Seznam laboratorních vyšetření a metod

Laboratoře lékařské genetiky nabízejí specializovaná cytogenetická a molekulárně genetická vyšetření z těchto biologických materiálů:

- plodová voda
- periferní krev
- fetální krev
- tkáň potraceného plodu
- choriová tkáň
- izolovaná DNA
- bukalní stěr

### Seznam akreditovaných vyšetřovacích metod:

- Vyšetření konstitučního karyotypu (SOP 1)
- Vyšetření konstitučních chromozomových aberací metodou FISH (SOP 2)
- Vyšetření syndromu fragilního X(SOP 14)
- Vyšetření nejčastějších mutací v *CFTR* genu metodou alelově specifické PCR s následnou detekcí pomocí fragmentační analýzy (SOP 16)
- Molekulárně genetické vyšetření exonových delecí a duplikací vybraných genů metodou Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) (SOP 18)
- Molekulárně genetické vyšetření mutací vybraných genů metodou Masivně paralelního sekvenování (MPS) – platforma MiSeq Systém Illumina (SOP 20)
- Vyšetření mikrodelecí chromozomu Y metodou fragmentační analýzy (SOP 21)
- Molekulárně cytogenetické vyšetření metodou array CGH (SOP 22)
- Molekulárně genetické vyšetření vybraných úseků germinálního genomu metodou Sangerova sekvenování (SOP 23)
- Molekulárně genetické vyšetření nejčastějších aneuploidií a pohlavních chromozomů metodou fragmentační analýzy – QF-PCR (SOP 24)
- Vyšetření vybraných genů metodou RT-PCR (SOP 25)

Všechny tyto vyšetřovací metody jsou akreditovány ČIA pod číslem M 8080 dle normy ČSN EN ISO 15189 ed. 3:2023.

Laboratoř může modifikovat výše uvedené vyšetřovací metody dle stupňů volnosti uvedené v Příloze Osvědčení o akreditaci při zachování principu metody s upozorněním na uplatnění flexibility v Laboratorní zprávě.

Seznam činností v rámci flexibilního rozsahu je trvale dostupný na webových stránkách <https://www.prenet.cz/ke-stazeni>.

### Seznam neakreditovaných vyšetřovacích metod:

- C-pruhování (SOP 7)
- Vyšetření získaných chromozomových aberací (SOP 9)
- Izolace DNA pro externí vyšetření (SOP 10)
- Vyšetření trombofilních mutací metodou PCR s následnou detekcí pomocí elektroforézy (SOP 11)
- Vyšetření alel HLA třídy II sérotypů DQ2 a DQ8 asociovaných s celiakií (SOP 12)
- Molekulárně genetické vyšetření HLA B\*27 (M. Bechtěrev) metodou reverzní hybridizace (SOP 19)
- Molekulárně genetické vyšetření Laktózové intolerance (SOP 27)

**Seznam laboratorních vyšetření:**

- **Hematogenetika**

Trombofilie – faktor V (*F5*, Leidenská mutace, c.1691G>A)

Trombofilie – faktor II (*F2*, Protrombin, c.20210G>A)

- **Imunogenetika**

Celiakie – HLA alely DQA, DQB1 (haplotypy DQ2cis, DQ2trans, DQ8)

Laktozová intolerance

- **Cytogenetika**

Karyotyp – (chromozomové vyšetření, G-pruhy)

Získané chromozomové aberace (ZCA, analýza zlomových míst chromozomů)

Vyšetření gonozomové mozaiky (Chromozomy X/Y)

Vyšetření CLL

Komplexní FISH – aneuploidie

QF-PCR diagnostika – aneuploidie

Biočipová technologie (arrayCGH)

- **Hereditární nádorové syndromy**

Panel CZEKANCA

Hereditární karcinom prsu a ovarií (HBOC; *BRCA1*, *BRCA2*, *PALB2* – celé geny, *CHEK2* – c.1100delC, delece exonů 9–10)

HBOC/ Familiární karcinom prostaty (*CHEK2*)

Li-Fraumeni syndrom (*TP53*)

Lynchův syndrom (HNPCC; *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *EPCAM*, *PMS2*)

Familiární adenomatózní polypóza (FAP; *APC*, *MUTYH*)

Peutz-Jeghersův syndrom (*STK11*)

Cowdenův syndrom (*PTEN*)

Hereditární difuzní karcinom žaludku (*CDH1*)

Familiární melanom (*CDKN2A*, *CDK4*)

Von Hippel-Lindau syndrom (*VHL*)

Hereditární leiomyomatóza a renální karcinom (*FH*)

Familiární medulární karcinom štítné žlázy/ MEN II/ Hirschprungova choroba (*RET*)

Ataxia teleangiectasia/ HBOC (*ATM*)

Neurofibromatóza (*NF1*, *NF2*, popř. *SPRED1*)

Prediktivní vyšetření familiární kauzální sekvenční varianty

- **Další hereditární choroby**

Cystická fibróza (populačně nejčastější varianty v *CFTR* genu + IVS9(T)n)

Syndrom fragilního X (FRAXA; *FMRI*)

Spinální muskulární atrofie (SMA; *SMN1*, *SMN2*)

Mikrodelece Y-chromozomu (*AZFa*, *AZFb*, *AZFc*, včetně *SRY*)

Mikrodeleční syndromy

Smith-Lemli-Opitzův syndrom (SLOS; *DHCR7*)

Dědičná nesyndromová hluchota (DFNB; *GJB2*)

Marfanův syndrom (*FBNI*)

Malý vzrůst (*SHOX*)

Wilsonova choroba (*ATP7B*)



## 5 Prohlášení o souhlasu

Lékař odebírající primární vzorek je povinen informovat pacienta o účelu, povaze a důsledcích vyšetření. Pacient svým podpisem stvrzuje, že souhlasí s odběrem a případným uchováváním odebraného materiálu.

Souhlas vyšetřované/ho (zákonného zástupce) s genetickým laboratorním vyšetřením je volně ke stažení na našich internetových stránkách [www.prenet.cz](http://www.prenet.cz).

## 6 Preanalytická fáze

### 6.1 Osobní příprava pacienta před odběrem primárního vzorku

Cytogenetické i molekulárně genetické vyšetření nevyžadují speciální přípravu pacienta. Je však vhodné vyloučit před odběrem primárního vzorku alkohol, tabákové výrobky a léky (např. antibiotika), které by mohly ovlivnit výsledek vyšetření. Je doporučeno vyvarovat se pobytu v chemicky nebezpečném prostředí, omezit tučná jídla a fyzickou aktivitu. Před odběrem plodové vody a choriových klků doporučujeme lehkou stravu.

### 6.2 Indikace k vyšetření a výběr vhodných postupů

#### 6.2.1 Indikace pro vyšetření karyotypu z periferní krve

- Genetická zátěž v rodinné anamnéze
- Sterilita, infertilita
- Vyšetření před IVF
- Vyšetření dárců gamet (spermii, oocytů)
- Nadměrné vystavení škodlivým fyzikálním či chemickým vlivům, např. profesní expozice
- Abnormální fenotypové příznaky
- Mentální retardace u pacienta nebo v rodinné anamnéze
- Problémy růstu a vývoje u pacienta
- Onkologické indikace
- Další méně časté indikace

#### 6.2.2 Indikace pro vyšetření získaných chromozomových aberací

- Nadměrné vystavení škodlivým fyzikálním či chemickým vlivům: profesní expozice (rizikové pracovní prostředí)
- Terapie potencionálními mutageny (ionizační záření, cytostatika, imunosupresiva)

#### 6.2.3 Indikace pro vyšetření karyotypu z plodové vody a choriové tkáně

- Patologický nález při ultrazvukovém vyšetření plodu
- Pozitivní biochemický screening
- Podezření na genetické postižení plodu
- Genetická zátěž v rodinné anamnéze
- Věk těhotné nad 35 let
- Opakované spontánní potraty
- Psychologická indikace
- Kombinace více rizikových faktorů
- Léky (potencionální mutageny, teratogeny) v graviditě

- Další méně časté indikace

#### 6.2.4 Indikace pro vyšetření karyotypu z fetální krve

- Nutnost rychlého stanovení karyotypu plodu
- Upřesnění závěru vyšetření plodové vody v nezbytném případě

#### 6.2.5 Indikace pro vyšetření karyotypu z tkáně potraceného plodu

- Opakované spontánní aborty
- Podezření na genetické postižení plodu

#### 6.2.6 Indikace pro vyšetření metodou FISH

- Podezření na Prader-Willi a Angelmanův aj. mikroleční syndromy
- CLL
- Dárce gamet a embryí
- Sterilita, infertilita
- Podezření na aberace pohlavních chromozomů (př. gonozomové mozaiky, inaktivace chromozomu X)
- Vyšetření plodové vody při vysokém riziku dle prenatálního biochemického screeningu
- Nutnost rychlého vyšetření
- Upřesnění cytogenetického nálezu

#### 6.2.7 Indikace pro vyšetření trombofilních mutací

- Výskyt tromboembolické choroby před dosažením věku 50 let
- Trombóza na neobvyklém místě
- Žilní trombóza v průběhu těhotenství nebo při užívání hormonální terapie
- Indikace klinickým hematologem
- Opakovaný výskyt trombózy, předčasné aterosklerózy a kardiovaskulárních komplikací v rodině
- Těhotenské komplikace hlavně ve II. a III. trimestru, opakované ztráty těhotenství bez objasněné příčiny
- Preventivně před zahájením perorální hormonální kontracepce a/nebo hormonální substituční léčby (HRT) u žen s:
  - pozitivní osobní anamnézou prodělané TEN
  - pozitivní rodinnou anamnézou výskytu TEN u příbuzných prvního stupně (matky, otce, vlastních sourozenců a dětí)
- Mutace ve vyšetřovaných genech v rodinné anamnéze

#### 6.2.8 Indikace pro vyšetření mutace v CFTR genu

- Pacient s příznaky cystické fibrózy
- Příbuzní pacienta s cystickou fibrózou a detekovanými mutacemi v CFTR genu
- Přímí příbuzní nosiče mutace v CFTR genu ve fertlím věku
- Partner nosiče mutace před plánovaným těhotenstvím, případně v průběhu těhotenství
- Dospělí muži s poruchou plodnosti (patologický spermioqram-azoospermie, nebo oligozoospermie)
- Dárce gamet a embryí
- Prenatální diagnostika v případě obou partnerů heterozygotů pro mutaci v CFTR genu
- Patologický UZ nález u plodu (abnormality středních klíčků)

### 6.2.9 Indikace pro vyšetření mikroleceí chromozomu Y

- Porucha plodnosti u mužů: azoospermie, těžká oligospermie, muži podstupující ICSI
- Indikace pro vyšetření mikroleceí chromozomu Y zůstávají otevřené a klinické mohou rozhodnout, u kterých pacientů se přikloní k této diagnostice

### 6.2.10 Indikace pro vyšetření celiakie

- Gastrointestinální symptomy (chronický nebo intermitentní průjem, bolesti břicha)
- Pozitivní rodinná anamnéza (příbuzní prvního řádu – rodiče, sourozenci)
- Deficience IgA
- Neprospívající děti s růstovou retardací, opožděnou pubertou
- Jiná autoimunitní onemocnění (diabetes mellitus I. typu, hepatitida, thyreoiditida)
- Infertilita, opakované potraty
- Exantém – dermatitis herpetiformis
- Osteoporóza nepřiměřená věku
- Anémie, především sideropenická
- Neuropsychiatrické abnormality (polyneuropatie, ataxie, epilepsie, úzkosti/deprese)
- Downův, Turnerův, Williamsův syndrom

### 6.2.11 Indikace pro molekulárně genetická vyšetření mutací vybraných genů metodou masivního paralelního sekvenování

Indikační parametry jsou uvedeny v aktuální Guidelines Version (National Comprehensive Cancer Network) a dle doporučení SLG (Klinická onkologie, Supplementum 2019, Hereditární nádorová onemocnění V).

Indikace k vyšetření k hereditárním syndromům predisponujícím k nádorovým onemocněním:

- Pacienti s diagnózou nádorového onemocnění v neobvykle mladém věku
- Osoby s různými typy nádorového onemocnění
- Výskyt duplicitních nádorů v párových orgánech
- Opakovaný výskyt stejného typu nádorového onemocnění v rodině (např. karcinom prsu a/nebo ovarií, kolorektální karcinom)
- Při kombinaci určitých typů nádorového onemocnění u blízkých příbuzných (karcinom prsu a ovarií, karcinom střeva a dělohy), zvláště pak v případech, kdy manifestaci onemocnění došlo v mladším věku

### 6.2.12 Indikační kritéria pro vyšetření *FMRI* genu

- Pacienti s mentální retardací, opožděným vývojem, autismem (s charakteristikou onemocnění FRAXA)
- Příbuzní pacienta s FRAXA a detekovanou mutací ve *FMRI* genu
- Příbuzní pacienta s blíže neurčenou mentální retardací
- Muži a ženy starší 50 let s progresivní cerebrální ataxií a intencním tremorem, u kterých byly jiné běžné příčiny ataxie vyloučeny
- Ženy s nejasnou příčinou primární ovariální insuficience
- Příbuzní ženy – nositelky premutace nebo intermediální alely *FMRI* genu
- Prenatální vyšetření u přenašeček syndromu FRAXA

### 6.2.13 Indikační kritéria pro vyšetření počtu kopií genu *SMN1* a *SMN2*

- Pacient s příznaky progresivní svalové slabosti
- Příbuzní pacienta se spinální svalovou atrofií a detekovanými změnami v počtu kopií *SMN1* genu
- Přímí příbuzní nosiče SMA ve fertilním věku

- Partner přenašeče SMA před plánovaným těhotenstvím, případně v průběhu těhotenství
- Páry zařazené do IVF programu
- Dárci gamet a embryí
- Prenatální diagnostika v případě obou partnerů heterozygotů pro abnormální počet kopií *SMN1* genu
- Postnatální nálezy u dětí (hypotonie, progresivní svalová slabost, nález na EMG, neprospívání, pneumonie, skolióza)

#### 6.2.14 Indikační kritéria pro molekulárně cytogenetické vyšetření pomocí techniky aCGH

Postnatální vyšetření:

Pacient s fenotypovými projevy:

- Klinicky signifikantní abnormální růst (opožděný či nadměrný, mikrocefalie či makrocefalie)
- Abnormální klinický fenotyp nebo dysmorfie
- Mnohočetné kongenitální anomálie
- Mentální retardace nebo opožděný vývoj
- suspektní deleční/mikrodeleční/duplikační syndrom
- X-vázané recesivní onemocnění u žen
- Poruchy autistického spektra

Prenatální vyšetření:

- Dvě a více patologické ultrazvukové abnormality (včetně IUGR)
- Pokud jsou rodiče nosiči chromosomové aberace
- Z předchozí gravidity dítě s chromosomovou vadou
- Přesné určení chromosomové aberace detekované prenatálně
- Prekoncepčně definované riziko genetické vady u plodu
- Pozitivní osobní a/nebo rodinná anamnéza dědičného onemocnění
- Výsledek prenatálního screeningového vyšetření (multimarkerové systémy, NIPT kontingenční test, ultrazvukový nález)
- Teratogenní riziko (např. intrauterinní infekce Cytomegalovirem, Toxoplasmou)
- Ad libitum (např. věk matky, anxiosita)

#### 6.2.15 Indikační kritéria pro molekulárně genetické vyšetření QF-PCR

- Biochemický screening I. a II. trimestru v riziku vyšším než 1:100
- Patologický nález při ultrazvukovém vyšetření plodu
- Celkové genetické riziko vyšší než 10%
- Vliv více rizikových faktorů
- Spontánní aborty

#### 6.2.16 Indikační kritéria pro vyšetření dědičné nesyndromové hluchoty (DFNB)

- Vrozená prelinguální ztráta sluchu
- Vrozená prelinguální ztráta sluchu v rodinné anamnéze
- Vyšetření vrozené ztráty sluchu před kochleární implantací
- Příbuzní pacienta s prokázanou mutací v *GJB2* genu
- Partner nosiče mutace před plánovaným těhotenstvím, případně v průběhu těhotenství
- Dárci gamet a embryí
- Vyšetření mutace u partnerů v příbuzenském svazku

### 6.2.17 Indikační kritéria pro vyšetření Laktózové intolerance

- Gastrointestinální symptomy
- Pozitivní rodinná anamnéza

## 6.3 Manuál odběru primárních vzorků

V této kapitole jsou všechny specifické pokyny týkající se správného odběru a zacházení s primárními vzorky. Tyto pokyny jsou důležité nejen pro pracovníky laboratoře, ale i pro pracovníky odpovědné za odběry primárních vzorků. Pracovník odebírající primární vzorky vždy ručí za jejich správný odběr. Lékař indikující vyšetření svým podpisem na průvodce stvrzuje, že primární vzorek byl odebrán podle pokynů této Laboratorní příručky!

### 6.3.1 Průvodka na genetické vyšetření

Průvodka musí povinně obsahovat následující údaje:

- jednoznačnou identifikaci klienta: jméno, příjmení, číslo pojištěnce (rodné číslo), kód pojišťovny, pohlaví (pokud není zřejmé z rodného čísla)
- identifikaci žadatele o vyšetření: IČ lékaře, adresa a kontakt, odbornost
- jméno, podpis a telefonní číslo lékaře žádajícího o vyšetření
- druh primárního vzorku, datum a čas odběru
- klinickou diagnózu či indikaci
- požadovaný druh vyšetření
- podpis žadatele o vyšetření

Průvodka dále může obsahovat nepovinné údaje, např.:

- bydliště klienta
- telefon vyšetřovaného
- razítko žadatele o vyšetření
- poznámky, např. užívání léků (nutno uvést, pokud by léky mohly mít vliv na výsledek vyšetření), délka těhotenství, obtížnost odběru, množství odebraného materiálu

Průvodky na laboratorní genetické vyšetření jsou k dispozici volně ke stažení a tisku na internetových stránkách [www.prenet.cz](http://www.prenet.cz), na vyžádání bude formulář dodán indikujícímu lékaři také v tištěné formě.

### 6.3.2 Minimální množství vzorku

Standardně se periferní krev pro cytogenetické i molekulárně genetické vyšetření odebírá v množství minimálně 1-2 ml a pro vyšetření plodové vody minimálně 15-20 ml. Minimální množství choriových klků je cca 10-15 mg.

### 6.3.3 Načasování odběru

Vyjma indikovaného vyšetření získaných chromozomových aberací, kdy musí být vzorek do laboratoře doručen v pondělí, úterý či ve středu, nejsou na dobu odběru kladeny speciální požadavky.

### 6.3.4 Odběr periferní krve

Krev je odebírána z periferní žíly v loketní jamce za použití uzavřeného vakuového systému Vacuteiner s barevně rozlišenými zkumavkami s různými protisrážlivými přísadami. Pro

odběr na cytogenetické vyšetření je používána zkumavka se zeleným uzávěrem (heparin), pro molekulárně genetické vyšetření s uzávěrem fialovým (EDTA). Laboratoř akceptuje i vzorky odebrané jiným odběrovým systémem, odebírající však ručí za správnost odběru, musí být dodržen správný poměr protisrážlivého činidla a odebrané krve.

Paže pacienta je volně položená, dezinfikována (dezinfekce bez obsahu jodu – možnost negativního ovlivnění kultivace) a po stabilizaci polohy žíly je proveden vpich jehlou s nástavcem, do něhož je vložena zkumavka. Po odběru je nutné zkumavku s krví důkladně promíchat, aby se zabránilo tvorbě sraženin. Rána po vpichu je přelepena náplastí a klient si místo vpichu tiskne cca 2-5 min. Odebraná krev musí být řádně označena a do doby transportu uchovávána v lednici v nádobě k tomu určené. Je nutné zabránit zmrznutí nebo přehřátí krve.

#### 6.3.5 Odběr plodové vody

Provádí vždy zkušený lékař-gynekolog ve zdravotnickém zařízení. Při vlastním odběru těhotná žena leží na lůžku, stěnu břišní dezinfikujeme a poté je lékařem pod kontrolou ultrazvuku provedena jehlou punkce přes stěnu břišní. Je odsáto cca 15-20 ml plodové vody. Rána po vpichu je dezinfikována a přelepena náplastí a vyšetřované je doporučen klidový režim. Odebraná plodová voda musí být řádně označena a je do transportu uchovávána v lednici v nádobě k tomu určené. Je nutné zamezit zmrznutí či přehřátí vzorku. Je vhodné zajistit transport do laboratoře v co nejkratší době.

#### 6.3.6 Odběr tkáně potraceného plodu

Provádí vždy lékař-gynekolog ve zdravotnickém zařízení. Materiál musí být odebrán za sterilních podmínek a vložen do řádně označené zkumavky či nádoby s médiem nebo fyziologickým roztokem. K vyšetření je třeba zaslat vzorek o velikosti cca 1x1 cm. Vzorek je potřeba do laboratoře odeslat nejlépe ihned po odběru.

#### 6.3.7 Odběr fetální krve

Provádí vždy zkušený lékař-gynekolog ve zdravotnickém zařízení. Odběr se provádí pod kontrolou ultrazvuku. Postup je obdobný jako při odběru plodové vody. Odebírá se cca 1-2 ml fetální krve z pupečníku přes stěnu břišní. Odebraný vzorek musí být řádně označen a je třeba ho v co nejkratší době dopravit do laboratoře. Do transportu je fetální krev uchovávána v lednici v nádobě k tomu určené. Je nutno zamezit zmrznutí či přehřátí vzorku.

#### 6.3.8 Odběr choriových klků

Provádí vždy zkušený lékař-gynekolog ve zdravotnickém zařízení. Odběr se provádí pod kontrolou ultrazvuku. Postup je obdobný jako při odběru plodové vody. Odebírá se cca 10-15 mg klků. Odběr se provádí do sterilních nádobek s kultivačním médiem, které po domluvě dodáme, popř. do sterilních nádobek s fyziologickým roztokem. Rána po vpichu je dezinfikována a přelepena náplastí a vyšetřované je doporučen klidový režim. Odebraný vzorek choriové tkáně musí být řádně označen a je do transportu uchováván v lednici v nádobě k tomu určené. Je nutné zamezit zmrznutí či přehřátí vzorku a zajistit transport do laboratoře v co nejkratší době

### 6.3.9 Odběr bukalního stěru

Důvodem odběru stěru ze sliznice dutiny ústní je získání buněčného materiálu klienta neinvazivním způsobem. DNA izolovaná ze stěru slouží k samotnému molekulárně genetickému vyšetření klienta nebo pro porovnání DNA profilů matky a plodu při vyšetření plodové vody, choriové tkáně nebo potracené tkáně. V případě vyšetření plodové vody, choriové tkáně nebo potracené tkáně se takto potvrzuje skutečnost, že vyšetřovaný vzorek obsahuje pouze buňky plodu a nedošlo k jeho kontaminaci mateřskou tkání. Stěr se provádí komerčně dodávanou stěrovou soupravou. Při odběru je třeba striktně dodržet pokyny výrobce pro provedení odběru, jeho skladování a transport.

### 6.3.10 Označení primárního vzorku

Primární vzorek musí být odebrán do předem označené nádoby tak, aby byl jednoznačně identifikován, tj. jméno a příjmení, číslo pojištěnce (klienta). Ke každému vzorku musí být připojena průvodka.

### 6.3.11 Bezpečné odstranění materiálů použitých při odběru vzorků

Veškerý materiál použitý při odběru primárních vzorků je považován za potenciálně infekční a ukládá se do nepropustného řádně označeného obalu a je likvidován v souladu s platnou legislativou. Za likvidaci odpovídá pracovník odebírající materiál. Ostré materiály (injekční jehly) jsou ukládány do plastových uzavíratelných nádob k tomu určených a jsou likvidovány obdobným způsobem.

### 6.3.12 Skladování primárních vzorků do doby transportu

Neprodleně po odběru primárního vzorku zajistí odebírající pracovník jeho transport do laboratoře ke zpracování. Do té doby musí být jednotlivé primární vzorky skladovány v lednici v nádobě k tomu určené tak, aby se zabránilo zmrznutí nebo přehřátí vzorku.

### 6.3.13 Požadavky na transport vzorků

Při transportu musí být dbáno na šetrnost, rychlost, adekvátní teplotu a světelné podmínky. Vzorky musí být dopravovány ve vhodné nádobě, aby se zabránilo zmrznutí nebo přehřátí vzorků, vhodné jsou např. termotašky. Transport je nutné zajistit v co nejkratší době. Primární vzorek je doprovázen řádně vyplněnou průvodkou pro dané vyšetření. Během přepravy je nutné zabránit jakékoliv manipulaci, která by mohla být příčinou mechanického poškození či ztráty vzorku. Průvodky pro jednotlivá vyšetření musí být umístěny v samostatném obalu, aby nemohlo dojít k jejich znehodnocení. Při transportu nesmí dojít k vyzrazení osobních dat klienta nepovoláním osobám.

### 6.3.14 Identifikace vzorku

Při příjmu vzorku do laboratoře pracovník příjmu ihned zkontroluje, zda je odběrová zkumavka (nádobka) neporušená, čitelně a vhodně označena (jméno, příjmení a číslo pojištěnce), vzorek je v dostatečném množství a zda připojená průvodka obsahuje veškeré potřebné údaje k provedení požadovaného vyšetření. Po provedené kontrole je vzorek a průvodka označena shodným přiřazeným laboratorním číslem a je zadána do laboratorního informačního systému OpenLIMS. Pracovník příjmu uvede na průvodku datum a čas přijetí

vzorku laboratoří, označí STATIM pro urgentní vzorky a vše potvrdí svojí podpisovou zkratkou. Vždy je zajištěna dohledatelnost veškerých informací souvisejících s příjmem vzorků. Laboratorní číslo vzorku se přiřazuje nezaměnitelně (viz interní směrnice laboratoře).

#### 6.3.15 Odmítnutí vzorku

Důvody odmítnutí vzorku jsou následující:

- nejasná identifikace materiálu
- mechanicky poškozená či znečištěná odběrová nádobka či průvodka
- materiál bez průvodky
- chybně vyplněná průvodka (chybí povinné údaje, které nelze doplnit po konzultaci s indikujícím lékařem)
- nedostatečné množství materiálu
- špatná kvalita dodaného materiálu, např. sražená krev, kontaminace

V zásadě platí, že ve všech uvedených případech nemusí laboratoř vždy vzorek odmítnout, může jej zpracovat, ale výsledek uvolní až tehdy, kdy indikující lékař převezme odpovědnost za kvalitu dodávky vzorku. O nesplnění požadovaných vlastností vzorku jsou informováni žadatelé telefonicky nebo osobně.

Postupy při nesprávné nebo neúplné identifikaci vzorku nebo průvodky jsou následující:

- Neúplnost údajů na průvodce: údaje jsou doplněny ústně či telefonicky a je o tom uveden záznam.
- V případě, že se jedná o nenahraditelný vzorek (např. tkáň produktu koncepce), který není jednoznačně identifikovaný, laboratoř začne tento materiál vždy zpracovávat, ale výsledky nebudou uvolněny, dokud indikující lékař nepřevezme odpovědnost za doplnění správných údajů. Pracovník laboratoře informace doplní a potvrdí svým podpisem a doplněné informace uvede do OpenLIMS a na průvodku k vyšetření s uvedením jména lékaře, který poskytl doplňující informace.

#### 6.3.16 Řešení neshod na příjmu

Jedná-li se o nesoulad dodaného primárního vzorku s dokumentací, ihned se konzultuje se žadatelem o vyšetření. Vzorek, který nelze zpracovávat, např. kvůli znehodnocení či neoprávněném požadavku je zapsán do formuláře Evidence odmítnutých vzorků. Žadatel o vyšetření je informován o odmítnutí, je obeznámen s důvody odmítnutí a je požádán o nový odběr vzorku.

V případě, že vzorek neodpovídá požadavkům (na kvalitu či kvantitu) a laboratoř přesto vzorek do laboratoře přijme, je toto zjištění zapsáno k danému pacientu v OpenLIMS v oddíle Poznámka k příjmu a na průvodce k vyšetření.

#### 6.3.17 Urgentní vyšetření (STATIM)

Požadavky na vyšetření STATIM se do laboratoře dodávají na stejných průvodkách jako ostatní běžná vyšetření a jsou navíc označena slovem STATIM. Průvodka musí obsahovat stejné povinné údaje jako u běžného vyšetření. Vzorek je takto označen při příjmu materiálu do laboratoře dle požadavků indikujícího lékaře či důvodu indikace a urgentnost vyšetření je zapsána k danému pacientu v OpenLIMS. Zpracování urgentního vzorku je zahájeno okamžitě, jak to dovolují podmínky laboratoře.



### 6.3.18 Bezpečné odstranění použitých vzorků v preanalytické fázi

Většina primárních vzorků je zpracována bezezbytku. V případě přebytku části primárního vzorku je tento uložen do sběrné nádoby a likvidován jako potenciálně infekční dle platné legislativy.

### 6.3.19 Ústní požadavky na vyšetření

Laboratoř reaguje i na ústní požadavky na vyšetření, ale je to neobvyklá forma objednávání. Lze ji připustit jen ve výjimečných a urgentních situacích, kdy se jedná o dodatečnou indikaci (doindikování) některých vyšetření a v případě, že je v laboratoři skladován primární vzorek vhodný ke zpracování. Požadavek je přijímán od lékaře nebo sestry, nikoli od pacientů (pokud nejsou samoplátci). Ústní požadavek musí být vždy doplněn průvodkou na vyšetření.

## 6.4 Nejčastější chyby preanalytické fáze

### 6.4.1 Chyby při odběru vzorku

- Použití vlhké odběrové soupravy.
- Znečištění jehly nebo pokožky stopami ještě tekutého dezinfekčního roztoku.
- Prudké vystřikování krve ze stříkačky do zkumavky.
- Nevhodné zkumavky.
- Nesprávné protisrážlivé činidlo nebo jeho nesprávný poměr k plné krvi.
- Obsah odběrové nádoby s antikoagulantem nebyl správně promíchán.
- Zkumavky s materiálem nebyly dostatečně označeny.

### 6.4.2 Chyby při skladování a transportu vzorku

- Vzorek byl vystaven teplu, mrazu nebo přímému slunečnímu světlu.
- Prudké třepání krve ve zkumavce způsobené nešetrným transportem.
- Prodloužení doby mezi odběrem a dodáním do laboratoře.
- Znehodnocení průvodky během transportu.

## 7 Postanalytická fáze

### 7.1 Skladování primárního vzorku

Vzorek plodové vody, fetální krve či choriové tkáně a vzorek označený jako STATIM je zpracován ihned po převzetí laboratoří. Primární vzorky na ostatní vyšetření se do zpracování uchovávají v nádobách k tomu určených za podmínek uvedených v interní dokumentaci tak, aby nedošlo k jejich znehodnocení. Se vzorky se manipuluje s ohledem na bezpečnost práce a ochranu zdraví pracovníka jako s potenciálně infekčními.

### 7.2 Skladování materiálu po vyšetření

- Vzorky krve jsou skladovány v lednici při teplotě 2-8 °C po dobu vydání výsledku vyšetření v nádobách k tomu určených. Potom jsou uloženy do sběrných nádob a likvidovány dle platné legislativy. Suspenze buněk ve fixaci se uchovává v lednici po dobu 1 měsíce.
- Plodová voda a choriová tkáň je zpracována bezezbytku.
- Tkáň abortu není skladována, k vyšetření je použita pouze potřebná část vzorku.

- Přebytek buněčné suspenze z molekulárně genetického vyšetření je uchováván ve zkumavkách v lednici po dobu 1 měsíce pro potřebu dodatečného vyšetření.
- Izolovaná DNA je uchována se souhlasem pacienta po dobu 5 let v mrazáku při -15 až -20 °C.
- Izolovaná DNA dárců je se souhlasem pacienta skladována po dobu stanovenou dle dohody s IVF centrem/5 let při -15 až -20 °C.
- Dokumentace dárců je skladována po dobu 10 let.

V případě, že pacient nedá souhlas s uchováním jeho izolované DNA musí si být pacient vědom, že nelze později provést další možná vyšetření. Likvidace těchto vzorků probíhá dle platné legislativy.

### 7.3 Dodatečná vyšetření

Dodatečná vyšetření nelze provést vždy. V případě požadavku na dodatečné vyšetření musí oprávněný žadatel informovat laboratoř a uvést důvody k dodatečnému vyšetření. Dle aplikované metody vyšetření může laboratoř využít část primárního vzorku (výsledek však může být ovlivněn dobou skladování), uchovanou buněčnou suspenzi či izolovanou DNA, pokud jsou k dispozici. Doindikovaná vyšetření zaznamená pracovník laboratoře do OpenLIMS. Vždy je požadována samostatná průvodka na dodatečné vyšetření.

### 7.4 Opakovaná vyšetření z již odebraného vzorku

Je-li potřeba opakovat vyšetření z důvodu pochybení laboratoře, provede toto vyšetření laboratoř na vlastní náklady. V případě, že již primární vzorek není k dispozici, komunikuje se žadatelem o vyšetření vždy lékař genetického pracoviště, o potřebě zopakovat vyšetření informuje žadatele okamžitě.

### 7.5 Bezpečná likvidace vzorku po vyšetření

Většina primárních vzorků je zpracována bezzbytku. V případě přebytku části primárního vzorku je tento uložen do sběrné nádoby a likvidován jako potenciálně infekční dle platné legislativy.

## 8 Vydávání výsledků

### 8.1 Formy vydávání a uvolňování výsledků

Laboratoř informuje žadatele o výsledcích vyšetření tiskem Laboratorní zprávy a její distribucí. Všechny výsledky jsou kontrolovány a zároveň podepsány dvěma nezávislými kvalifikovanými pracovníky laboratoře. Laboratorní zprávu je uvolněna až po kontrole oprávněným pracovníkem laboratoře. Uvolňování a tisk laboratorních zpráv je prováděn průběžně.

Laboratorní zpráva obsahuje minimálně:

- jasná identifikace laboratoře (včetně kontaktu);
- název zprávy;
- jasná identifikace indikujícího lékaře (včetně IČ);
- příjmení a jméno pacienta (vyšetřované/ho);

- číslo pojištěnce (vyšetřované/ho);
- diagnóza k vyšetření;
- typ primárního vzorku;
- datum a čas odběru vzorku;
- datum a čas příjmu vzorku do laboratoře;
- označení vzorku (číslo vzorku přidělené při příjmu do laboratoře);
- specifikace vyšetření (stručný popis provedeného vyšetření);
- specifikace použité laboratorní metody;
- výsledek vyšetření
- slovní vyjádření výsledku vyšetření;
- identifikace osoby, která zprávu vypracovala (titul, jméno a příjmení) a datum vypracování;
- identifikace osoby, která zprávu schválila (titul, jméno, příjmení a podpis), datum a čas uvolnění zprávy.

Jasnou identifikací konce laboratorní zprávy je podpis osoby, která provedla přezkoumání výsledku a schválila její uvolnění.

Pro předání výsledku klientovi/samoplátcí je stanoven tento způsob: Vyšetřovanému je možné vydat na základě jeho žádosti pouze jeho výsledky. Vždy je ověřena jeho totožnost.

## 8.2 Interval od příjmu primárního vzorku k vydání výsledku

Vzorky jsou dle požadovaného vyšetření průběžně vyšetřovány v pořadí, ve kterém jsou přijímány do laboratoře. Vyšetření urgentních vzorků je zahájeno okamžitě, jak to dovolují podmínky laboratoře a výsledky jsou vydány přednostně.

- Chromozomální vyšetření plodové vody, choriové a potracené tkáně: 15–20 dní.
- Chromozomální vyšetření periferní krve: 4–20 dní.
- Vyšetření metodou FISH: 15 dní.
- QF-PCR diagnostika: 2–3 dny případě AMC, CVS a do 28 dnů v případě produktů tkáně koncepce.
- Molekulárně genetické vyšetření (obecně): 2–15 dní (dle daného vyšetření).
- Molekulárně genetické vyšetření mutací vybraných genů metodou MLPA: 5 dní – 3 měsíce.
- Molekulárně genetické vyšetření mutací vybraných genů metodou MPS: 2-3 měsíce.
- Molekulárně cytogenetické vyšetření pomocí techniky aCGH: 15–20 dní.

Interval od příjmu primárního vzorku k vydání výsledků je uveden v pracovních dnech. Vzorky označené jako STATIM jsou analyzovány v nejbližším možném termínu.

## 8.3 Stížnosti

Stížnosti žadatelů o vyšetření, klientů a jiných stran jsou podnětem pro zlepšení práce laboratoře. Laboratoř reaguje jak na písemnou formu stížnosti (dopis, e-mail), tak i ústní (osobní či telefonický kontakt). Laboratoř potvrdí přijetí stížnosti a ty jsou vždy řešeny vedoucím laboratoře či jeho zástupcem. Stížnost je evidována u manažera kvality a je dbáno její nestranné řešení. Jsou analyzovány příčiny a hledána řešení vyhovující zájmům klienta. Pokud stížnost není řešena ihned, je termín na vyřízení stížnosti maximálně 30 kalendářních dnů. V tomto termínu oznámí vedoucí laboratoře výsledek řešení. V případě, že

nelze v tomto termínu stížnost dořešit, informuje vedoucí laboratoře stěžovatele o dosavadním postupu (např. znalecký posudek). V případě, že stížnosti nebylo vyhověno, sdělí vedoucí laboratoře důvody, proč nebyla stížnost uznána za oprávněnou.

#### **8.4 Konzultace**

Informace v souvislosti s výsledky vyšetření a konzultace podávají lékaři našeho pracoviště po dohodě v rámci provozní doby.

### **9 Související dokumentace a záznamy**

#### **Dokumentace:**

Příručka kvality

#### **Záznamy:**

Informovaný souhlas vyšetřovaného

Průvodka na laboratorní genetické vyšetření

Záznam o stížnosti