



**Dokumentace integrovaného systému managementu  
LP-SP-GL-03**

**LABORATORNÍ PŘÍRUČKA  
GENETICKÉ LABORATOŘE**

	<b>Zpracoval</b>	<b>Schválil</b>
<b>Pracovní funkce</b>	Manažer kvality GL	Vedoucí Genetické laboratoře
<b>Jméno</b>	Mgr. Petr Lonský	RNDr. M. Kosářová, PhD.
<b>Datum</b>	27.11.2017	1.12.2017
<b>Podpis</b>		
<b>Za řízení dokumentu odpovídá: Manažer GL</b>		<b>Platné od: 1.1.2018</b>
<b>Za revize a aktualizaci dokumentu odpovídá: Vedoucí GL</b>		

PRONATAL s.r.o.

Řízený dokument: LP-SP-GL-03

Vydání: 7

**OBSAH**

<b>Dokumentace integrovaného systému managementu.....</b>	<b>1</b>
<b>LP-SP-GL-03.....</b>	<b>1</b>
1.1 Účel a rozsah platnosti.....	5
1.2 Odpovědnost.....	5
1.3 Definice, zkratky, pojmy.....	5
1.4 Související dokumentace.....	6
<b>2 Identifikace laboratoře a důležité údaje.....</b>	<b>7</b>
2.1 Základní informace o laboratoři.....	8
2.2 Úroveň a stav akreditace pracoviště.....	8
2.3 Organizace laboratoře, její vnitřní členění, vybavení a personální obsazení.....	8
2.4 Provozní doba.....	9
2.5 Zaměření laboratoře a spektrum nabízených služeb.....	9
2.6 Přehled nabízených vyšetření.....	9
2.7 Informace o poskytovaných genetických vyšetřeních.....	10
2.7.1 Cytogenetická vyšetření.....	10
2.7.2 Molekulárně genetická vyšetření.....	11
2.7.3 Preimplantační genetická diagnostika.....	14
<b>3 Manuál pro odběry primárních vzorků.....</b>	<b>16</b>
3.1 Identifikace primárního vzorku.....	16
3.2 Žádanka pro laboratorní vyšetření.....	17
3.3 Informovaný souhlas.....	17
3.4 Požadavky na urgentní vyšetření (STATIM).....	17
3.5 Používaný odběrový systém.....	18
3.6 Příprava pacienta před vyšetřením.....	19
3.7 Postup pro odběr vzorku.....	19
3.7.1 Odběr periferní krve.....	19
3.7.2 Odběr krevního séra.....	20
3.7.3 Odběr plodové vody a choriových klků.....	20
3.7.4 Stěr z bukální sliznice.....	21
3.7.5 Odběr potrácené tkáně.....	22
3.7.6 Odběr blastomer a buněk trofektodermu pro preimplantační genetické vyšetření.....	22
3.7.7 Stěr z cervixu, uretry.....	23
3.7.8 Odběr moče.....	23
3.7.9 Odběr ejakulátu.....	23
3.8 Operace se vzorkem, stabilita, transport.....	23
3.9 Základní informace k bezpečnosti při práci se vzorky.....	24
3.10 Informace k dopravě vzorků.....	24

PRONATAL s.r.o.

Řízený dokument: LP-SP-GL-03

Vydání: 7

<b>4</b>	<b>Preanalytické procesy v laboratoři .....</b>	<b>24</b>
4.1	Příjem vzorků v Genetické laboratoři .....	24
4.1.1	Identifikace pacienta na štítku zkumavky .....	24
4.1.2	Kritéria pro přijetí nebo odmítnutí vadných (nestandardních) primárních vzorků... ..	25
4.2	Manipulace se vzorky a skladování materiálu před vyšetřením .....	26
4.3	Spolupracující laboratoře a nejčastěji prováděná vyšetření.....	26
<b>5</b>	<b>Fáze po vyšetření .....</b>	<b>27</b>
5.1	Skladování primárních vzorků, cytogenetických preparátů, archivace vzorků s patologickým nálezem .....	27
5.2	Likvidace biologického materiálu po vyšetření.....	28
5.3	Dodatečné vyšetření.....	28
<b>6</b>	<b>Vydávání výsledků a komunikace s laboratoří.....</b>	<b>28</b>
6.1	Uvolňování a vydávání výsledků.....	28
6.2	Telefonické sdělování výsledků .....	29
6.3	Výsledkový list .....	29
6.4	Poskytování výsledků vyšetření provedených smluvní laboratoří .....	29
6.5	Úhrada vyšetření samoplátci a cizinci .....	30
6.6	Změny výsledků a nálezů .....	30
6.7	Doby trvání jednotlivých vyšetření od příjmu vzorku do laboratoře.....	30
6.8	Konzultační činnost laboratoře .....	31
6.9	Způsob řešení stížností .....	32
<b>7</b>	<b>Přílohy.....</b>	<b>32</b>
<b>8</b>	<b>List změn a revizí.....</b>	<b>33</b>
<b>9</b>	<b>Rozdělovník, záznam o seznámení .....</b>	<b>35</b>

PRONATAL s.r.o.

Řízený dokument: LP-SP-GL-03

Vydání: 7

## **Předmluva**

Vážené kolegyně, vážení kolegové, všichni naši klienti,

tato Laboratorní příručka přináší informace o naší laboratoři a jejích službách.

Je určena lékařům, zdravotním sestřám a také pacientům.

Doufáme, že v ní naleznete vše potřebné pro naši dobrou spolupráci.

Kolektiv pracovníků Genetické laboratoře PRONATAL s.r.o.

PRONATAL s.r.o.

Řízený dokument: LP-SP-GL-03

Vydání: 7

Úvod

### 1.1 Účel a rozsah platnosti

Cílem této příručky je informovat lékaře, pacienty a žadatele o laboratorní vyšetření o tom, jaká vyšetření Genetická laboratoř společnosti PRONATAL s.r.o. poskytuje, o podmínkách správného odběru vzorků, transportu vzorků do laboratoře, o způsobu vydávání výsledků genetického vyšetření a způsobu komunikace mezi pacientem, lékařem a laboratoří.

Laboratorní příručka je součástí řízené dokumentace PRONATAL medical group; její aktuální verze je dostupná na webových stránkách [www.pronatal.cz](http://www.pronatal.cz). Tištěná verze je k dispozici v laboratoři.

### 1.2 Odpovědnost

Za zpracování a aktualizaci této příručky odpovídá vedoucí Genetické laboratoře PRONATAL s.r.o.

### 1.3 Definice, zkratky, pojmy

Pmg	zkrácený název pro PRONATAL medical group jako síť center a společností jako organizačních složek, vázaných smluvními a majetkovými vztahy, obecně organizace
SP	Sanatorium PRONATAL - zkrácený název pro PRONATAL s.r.o., která je nositelem vlastnických práv k ochranné známce a know-how certifikovaného ISM s autonomní akreditovanou laboratořemi, obecně řídicí společnost
ISM	integrovaný systém managementu
PISM	příručka integrovaného systému managementu
zaměstnanec	osoba s uzavřenou pracovní smlouvu podle Zákoníku práce
pracovník	osoba vykonávající činnost pro organizaci nebo jednotlivé společnosti, se smluvním vztahem uzavřeným buď podle Zákoníku práce (zaměstnanec), nebo podle jiných právních úprav. Tato definice platí i pro personál subdodavatelů
LP	Laboratorní příručka
GL	Genetická laboratoř
EHK	Externí hodnocení kvality
SLG	Společnost lékařské genetiky a genomiky
NRL	Národní referenční laboratoř
SZU	Státní zdravotní ústav
RČ	Rodné číslo
LIMS	Laboratorní informační systém
SOP	Standardní operační postup
PP	Pracovní postup

PRONATAL s.r.o.

Řízený dokument: LP-SP-GL-03

Vydání: 7

## 1.4 Související dokumentace

[1-PP-Pmg02: Odběr vzorků](#)

[1-PP-Pmg03: Transport biologického materiálu](#)

[3-SOP-SP-06: Příjem primárních vzorků do GL](#)

[3-SOP-SP-16: Archivace biologického materiálu](#)

[10.01 Žádanka k vyšetření přenosných patogenů ze stěrů a moče metodou real-time PCR](#)

[10.02 Žádanka o vyšetření v Genetické laboratoři](#)

[10.02 Žádanka o vyšetření v Genetické laboratoři \(BRCA\)](#)

[10.415 Informace pro pacienty o preimplantační genetické diagnostice \(PGD\)](#)

[2.12. Seznam smluvních laboratoří](#)

[Vnitřní směrnice 04/2015: Pokyny pro centra PRONATAL Pmg pro organizaci monogenních chorob](#)

[Vnitřní směrnice 07/2016 Vyplňování žádanek na vyšetření trombofilních mutací a cystické fibrózy v genetické laboratoři PRONATAL, s.r.o.](#)

Kniha neshod

Kniha mimořádných událostí

PRONATAL s.r.o.  
 Řízený dokument: LP-SP-GL-03  
 Vydání: 7

## 2 Identifikace laboratoře a důležité údaje

Název organizace	<b>PRONATAL, s.r.o.</b>
Identifikační údaje	IČ: 04614283 DIČ: CZ04614283
Statutární zástupce organizace	Jiří Adámek
Adresa sídla	Antala Staška 1670/80, 140 00, Praha 4 – Krč
Adresa	Na Dlouhé mezi 4/12, 147 00 Praha 4 – Hodkovičky
Kontaktní údaje	+420 261 711 606, <a href="http://www.pronatal.cz">www.pronatal.cz</a> ,
Název pracoviště	<b>Genetická laboratoř</b>
Adresa	Pekárkova 14, 143 00, Praha 4 – Modřany
E-mail:	<a href="mailto:genetika@pronatal.cz">genetika@pronatal.cz</a>
Telefon laboratoř	+420 241 403 150
Okruh působnosti laboratoře	Centra PRONATAL medical group a pro spolupracující ambulantní lékaře a centra
Předmět činnosti	Provádění vyšetření biologického materiálu v oblasti genetiky a cytogenetiky
Vedoucí laboratoře	RNDr. Marcela Kosařová, Ph.D., <a href="mailto:kosarova@pronatal.cz">kosarova@pronatal.cz</a>
Zástupce vedoucí laboratoře	Mgr. Petr Lonský, <a href="mailto:lonsky@pronatal.cz">lonsky@pronatal.cz</a>
Úsek cytogenetiky	Mgr. Petr Lonský, <a href="mailto:lonsky@pronatal.cz">lonsky@pronatal.cz</a>
Úsek molekulární genetiky	RNDr. Marcela Kosařová, Ph.D., <a href="mailto:genetika@pronatal.cz">genetika@pronatal.cz</a>
Odborný garant	MUDr. Vladimír Gregor
Manažer kvality	Mgr. Petr Lonský
E-mail	<a href="mailto:lonsky@pronatal.cz">lonsky@pronatal.cz</a>
Webové stránky	<a href="http://www.pronatal.cz">www.pronatal.cz</a>

PRONATAL s.r.o.  
Řízený dokument: LP-SP-GL-03  
Vydání: 7

## 2.1 Základní informace o laboratoři

Genetická laboratoř je součástí společnosti PRONATAL s.r.o. Zajišťuje laboratorní služby pro všechna pracoviště skupiny PRONATAL medical group a pro spolupracující ambulantní lékaře. Vyšetření jsou prováděna pro pojištěnce českých i cizích zdravotních pojišťoven a pro samoplátce. Činnost laboratoře je zaměřena na požadavky center pro asistovanou reprodukci a klientky ambulance prenatální diagnostiky.

Laboratoř pracuje nestranně a nezávisle na mateřské organizaci, co se týká výsledků vyšetření, kvality jejich služeb a správnosti vyšetření.

## 2.2 Úroveň a stav akreditace pracoviště

### Akreditace dle ISO 15189:

Laboratoř je akreditována Českým institutem pro akreditaci, o.p.s. podle ČSN EN ISO 15189:2013 pod číslem 8184.

### Povolení SÚKL

Genetická laboratoř je rozhodnutím SÚKL schválenou diagnostickou laboratoří podle zákona 296/2008 Sb. a vyhlášky 422/2008 Sb. pro oblast lidských tkání a buněk.

Genetická laboratoř se pravidelně účastní systému externího hodnocení kvality (EHK) a všechny metody, pro které je tento systém zaveden, má certifikovány (zajištěna návaznost na referenční materiál) nebo ověřeny v rámci porovnatelnosti.

GL používá diagnostické soupravy a analytickou techniku certifikovaných výrobců (se značkou CE).

## 2.3 Organizace laboratoře, její vnitřní členění, vybavení a personální obsazení

### I. Členění laboratoře

Genetická laboratoř je členěna na úseky:

- úsek molekulární genetiky
- úsek cytogenetiky

### II. Prostory pracoviště

Laboratoř se nachází v I. a II. podlaží budovy na adrese Pekárkova 14, Praha 4 - Modřany.

Ve stejné budově je umístěna i ordinace klinického genetika a pracoviště prenatální diagnostiky.

Klinický genetik provádí genetické poradenství a indikuje potřebná genetická vyšetření, aby bylo možno nalézt eventuální genetickou příčinu neplodnosti páru a doporučit optimální léčebný postup. Rovněž indikuje invazivní prenatální vyšetření.

Pracoviště prenatální diagnostiky je vybaveno pro prvotrimestrální screening těhotných včetně invazivních výkonů.



## 2.4 Provozní doba

Provozní doba (minimální)	
pondělí - pátek	od 8:00 do 16:00 hodin
příjem materiálu	od 8:00 do 15:00 hodin, podle dohody možno přizpůsobit dle potřeb klientů (organizace svozu, OPU).

## 2.5 Zaměření laboratoře a spektrum nabízených služeb

Laboratoř provádí specializovaná **cytogenetická, molekulárně cytogenetická a molekulárně genetická vyšetření** z těchto **primárních materiálů**:

- periferní krev
- plodová voda
- choriové klky
- tkáň abortu
- pupečnicková krev
- stěr z bukalní sliznice
- moč
- cervikální stěr
- uretrální stěr
- ejakulát
- izolovaná DNA
- blastomery z preimplantačních embryí
- buňky trofektodermu z blastocyst

## 2.6 Přehled nabízených vyšetření

- Vyšetření karyotypu z periferní krve
- Vyšetření karyotypu z buněk plodové vody
- Vyšetření karyotypu z biopsie choria
- Vyšetření karyotypu z pupečnickové krve
- Urychlené vyšetření chromozomů 13, 18, 21, X a Y metodou QF-PCR z buněk plodové vody a z tkání choria
- Vyšetření karyotypu z tkání abortu
- Molekulárně genetické vyšetření mutací v *CFTR* genu
- Molekulárně genetické vyšetření mikrodeleci na chromozomu Y
- Molekulárně genetické vyšetření trombofilních mutací v genech pro FV a FII
- Vyšetření delece exonu 7 a 8 v genu *SMN1* metodou MPLA
- Přímý průkaz RNA viru HCV metodou real-time PCR
- Přímý průkaz DNA viru HBV metodou real-time PCR
- Přímý průkaz DNA některých patogenů se vztahem k neplodnosti (*Mycoplasma hominis*,

PRONATAL s.r.o.

Řízený dokument: LP-SP-GL-03

Vydání: 7

Ureaplasma species, Chlamydia trachomatis) z cervikálních/uretrálních stěrů a moče metodou real-time PCR

- Vyšetření vybraných onkogenů (BRCA1, BRCA2) metodou NGS a MLPA
- Preimplantační genetická diagnostika metodou FISH (PGS – screening aneuploidií, strukturní chromozomální aberace)
- Preimplantační genetická diagnostika aneuploidií 24 chromozomů metodou arrayCGH
- Preimplantační genetická diagnostika aneuploidií 24 chromozomů metodou NGS
- Preimplantační genetická diagnostika monogenních chorob

V naší laboratoři můžeme rovněž provést pouze **izolaci DNA** z primárního vzorku a zprostředkovat vyšetření na jiném specializovaném spolupracujícím pracovišti, pokud indikované vyšetření není součástí našeho portfolia prováděných vyšetření.

## 2.7 Informace o poskytovaných genetických vyšetřeních

### 2.7.1 Cytogenetická vyšetření

#### 2.7.1.1 Vyšetření karyotypu z periferní krve

Při cytogenetickém vyšetření se z periferní krve kultivují T-lymfocyty, které jsou stimulovány rostlinným lektinem phytohemaglutininem (PHA). Po přidání mitotického jedu kolcemidu se zastaví buněčný cyklus buněk ve stadiu metafáze a ze získané buněčné suspenze lze připravit cytogenetické preparáty, na kterých můžeme sledovat počet a strukturu jednotlivých chromozomů v buňkách. Používáme metodu GTW-pruhování a mikroskopické pozorování obarvených chromozomů, v indikovaných případech rovněž metodu FISH (fluorescenční *in situ* hybridizace).

#### Indikace k vyšetření:

- páry s poruchou plodnosti
- opakované spontánní potraty
- pozitivní rodinná anamnéza chromozomálních přestaveb
- narození mrtvého plodu nebo úmrtí novorozence
- potencionální dárci gamet a embryí

#### 2.7.1.2 Vyšetření karyotypu z buněk plodové vody a z biopsie choria

K vyšetření chromozomální výbavy plodu je nutný invazivní zákrok – biopsie choria nebo odběr plodové vody (amniocentéza), proto je k němu vždy nutná indikace klinického genetika. Riziko komplikací obou invazivních výkonů se uvádí mezi 0,5 - 1%. Odběr choriových klků i plodové vody provádí vždy lékař-gynekolog pod ultrazvukovou kontrolou.

Odběr choriových klků lze provádět v období od 11. do 14. týdne těhotenství. Hlavní výhodou vyšetření karyotypu z tkání choria je především nižší gestační stáří v době odběru a časnější výsledky. Pokud je v případě patologického nálezu indikováno přerušení těhotenství, jedná se o daleko méně stresující zákrok ve srovnání s přerušením gravidity po amniocentéze v pozdějších stadiích těhotenství.

Odběr plodové vody se provádí nejčastěji mezi 16. až 18. týdnem gravidity. Celková doba vyšetření od odběru do vydání výsledku je 9 až 16 dnů.

V indikovaných případech se provádí současně s cytogenetickým vyšetřením karyotypu plodu i urychlené vyšetření chromozomů 13, 18, 21, X a Y molekulárně genetickou metodou QF PCR; v těchto případech získáme výsledek do 24 hodin.

PRONATAL s.r.o.

Řízený dokument: LP-SP-GL-03

Vydání: 7

Plodová voda je vzhledu naředěné moči. V některých případech může být plodová voda zbarvena krví; pokud je krev čerstvá, jedná se o následek krvácení do děložní dutiny v průběhu výkonu. Pokud pacientka krvácela během gravidity, plodová voda může být nahnědlá nebo tmavě červená. Pokud je indikováno vyšetření metodou QF PCR, je vždy nutné odebrat stěr z bukální sliznice matky, abychom byli schopni vyloučit kontaminaci mateřskou krví.

**Indikace k vyšetření:**

- pozitivní screening I. nebo II. trimestru
- věk matky nad 35 let
- patologický ultrazvukový nález
- chromozomální přestavby u jednoho z rodičů
- aneuploidie nebo mozaika pohlavních chromozomů u jednoho z rodičů
- opakované spontánní potraty
- předchozí narození plodu s vrozenou vývojovou vadou nebo s chromozomálními abnormalitami
- narození mrtvého plodu nebo úmrtí novorozence v předchozím těhotenství

**2.7.1.3 Vyšetření karyotypu z tkání abortu**

Důvodem vyšetření je určení karyotypu potraceného plodu.

**2.7.2 Molekulárně genetická vyšetření****2.7.2.1 Urychlené vyšetření chromozomů 13, 18, 21, X a Y metodou QF PCR z buněk plodové vody a z tkání choria**

Molekulárně genetické vyšetření nejčastějších aneuploidií z buněk plodové vody a tkání choria se provádí na základě indikace klinického genetika. Vyšetření právě této kombinace chromozomů 13, 18, 21, X a Y se provádí proto, že aneuploidie těchto chromozomů nejčastěji způsobují narození postiženého dítěte.

Vyšetření metodou QF PCR sestává z izolace DNA z buněk plodu obsažených v plodové vodě nebo biopsii choria, z amplifikace vybraných polymorfních STS markerů na chromozomech 13, 18, 21, X a Y pomocí fluorescenčně značených primerů metodou QF PCR a z detekce vzniklých amplifikovaných DNA fragmentů na genetickém analyzátoru. Současně se vzorkem plodové vody nebo choria se zpracovává a vyšetřuje i vzorek stěru z bukální sliznice matky, aby bylo možno vyloučit případnou kontaminaci mateřskou krví. Vyšetření se provádí vždy přednostně a výsledek vyšetření je znám do 24 hodin po odběru.

**Indikace k vyšetření:**

- pozitivní screening I. nebo II. trimestru
- patologický ultrazvukový nález
- kombinace více rizikových faktorů
- časový faktor
- psychologický faktor

K vyšetření používáme kit Devyser Complete, pro dovyšetření některých chromozomů Devyser Resolution (Deyser, SWE). Pro potvrzení či ověření nedostatečně informativních výsledků používáme alternativně kit Aneufast (Genomed AG, CH).

PRONATAL s.r.o.

Řízený dokument: LP-SP-GL-03

Vydání: 7

### 2.7.2.2 Molekulárně genetické vyšetření mutací v CFTR genu

Vyšetření 50 nejčastějších mutací vyskytujících se ve středoevropské populaci provádíme pomocí kitu Elucigene CF EU2 (Gen-Probe Life Sciences Ltd., UK). Tento kit zachytí více než 92% mutací v CFTR genu v české populaci. Principem metody je alelově specifická multiplex PCR s fluorescenčně značenými primery a fragmentační analýza na genetickém analyzátoru.

Jako alternativní vyšetřovací kit používáme OLA kit firmy Abbott, který je schopen zachytit 33 nejčastějších mutací vyskytujících se ve středoevropské populaci. Detekce fluorescenčně značených fragmentů probíhá na genetickém analyzátoru; tzv. slovanská mutace CFTRdel2.3 je vyšetřována zvlášť metodou PCR s následnou detekcí na agarózovém gelu. Vyšetření zachytí 91,7% všech mutací CFTR genu v české populaci.

Oba kity jsou schopny detekovat alely bez mutace a alely s mutací, takže zachytíme jak nepostížené heterozygotní přenašeče, tak postižené homozygoty.

#### Indikace k vyšetření:

- u dospělých mužů s poruchou plodnosti
- u partnera nosiče mutace před plánovaným těhotenstvím nebo v jeho průběhu
- prenatalní diagnostika, pokud jsou oba partneři heterozygoti pro mutace v CFTR genu
- prenatalní diagnostika u plodů s ultrazvukovým nálezem vykazujícím riziko cystické fibrózy (např. střevní hyperechogenita)
- potencionální dárce gamet a embryí

**Diagnóza:** N46, E84.9

### 2.7.2.3 Molekulárně genetické vyšetření mikrodelecí na chromozomu Y

Na dlouhém raménku chromozomu Y se nacházejí tzv. AZFa, AZFb a AZFc oblasti s výskytem genů důležitých pro správnou spermatogenezi. U některých skupin mužů s poruchou plodnosti, především u azoospermiků a těžkých oligozoospermiků, byly detekovány submikroskopické delece (mikrodelece) v těchto AZF oblastech. Vyšetření je prováděno kitem Devyser AZF (Deyser, SWE), který obsahuje po třech STS markerech v každé AZF oblasti. Amplifikované fluorescenčně značené DNA fragmenty jsou detekovány na genetickém analyzátoru.

#### Indikace k vyšetření:

- porucha plodnosti u mužů s těžkou oligozoospermii nebo azoospermii

### 2.7.2.4 Molekulárně genetické vyšetření trombofilních mutací

V naší laboratoři vyšetřujeme dvě mutace v genech pro koagulační faktory:

- **Leidenská mutace v genu pro koagulační faktor V**
- **Mutace G20210A v genu pro protrombin (gen pro koagulační faktor II)**

Vyšetření provádíme metodou real-time PCR kity QFaktorII a QFaktorV (oba IAB, CZ). Tímto vyšetřením jsme schopni odlišit heterozygotní i homozygotní pacienty.

#### Indikace k vyšetření:

- pacienti s pozitivní rodinnou anamnézou žilních trombóz
- pacientky s opakovanými potraty
- pacientky před plánovanou hormonální stimulací

**Diagnóza:** D68.9

PRONATAL s.r.o.

Řízený dokument: LP-SP-GL-03

Vydání: 7

### 2.7.2.5 Přímý průkaz nukleové kyseliny viru HBV a HCV metodou real-time PCR

Toto vyšetření se provádí ze séra jako „konfirmační“ v případech, kdy sérologické vyšetření dárců gamet provedené v biochemické laboratoři není negativní. „Konfirmační“ vyšetření metodou real-time PCR lze provést v režimu STATIM do 24 hodin od příjmu vzorku v případě, že pacientka je ve fázi stimulace oocytů a výsledek vyšetření je nutno vydat nejpozději v den punkce oocytů (OPU), aby byl znám výsledek vyšetření ještě před zahájením kryokonzervace buněk nebo embryí a aby bylo možno přizpůsobit režim kryokonzervace v případě pozitivního výsledku. V případě ne-negativního sérologického výsledku vstupního vyšetření pacientů (v době před hormonální stimulací partnerky) je vyšetření provedeno do 14 dnů od příjmu vzorku do laboratoře.

Vyšetření RNA viru HCV se provádí kitem artus<sup>®</sup> HCV RG RT-PCR Kit (Qiagen), vyšetření DNA viru HBV se provádí kitem artus<sup>®</sup> HBV RG RT-PCR Kit (Qiagen).

#### Indikace k vyšetření:

- dárci gamet nebo embryí s plánovanou kryokonzervací s ne-negativním výsledkem sérologického vyšetření
- pacienti před zahájením léčby s ne-negativním výsledkem vstupního sérologického vyšetření

Omezení metody: není vhodná heparinizovaná krev, v tomto případě je nutno použít speciální metodu izolace DNA. V případě, že je pacient heparinizován, je nutno upozornit na tuto skutečnost v žádance.

### 2.7.2.6 Přímý průkaz DNA některých patogenů se vztahem k neplodnosti z cervikálních nebo uretrálních stěrů, moče a ejakulátu metodou real-time PCR

Vyšetření na přítomnost DNA některých patogenů se vztahem k neplodnosti (*Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma sp.*, *Chlamydia trachomatis*) se provádí metodou real-time PCR kity RG detect (IAB, CZ). Vyšetření indikuje gynekolog (u žen) nebo urolog (u mužů).

#### Indikace k vyšetření:

- součást vstupního vyšetření před zahájením léčby neplodnosti
- dárci spermií (vyšetření *Chlamydia trachomatis* z moče nebo ejakulátu)

### 2.7.2.7 Vyšetření delece exonu 7 a 8 v genu SMN1 metodou MLPA

Podle doporučení Společnosti lékařské genetiky z prosince roku 2014 se u dárců gamet doporučuje rozšířit spektrum genetických vyšetření o vyšetření delece exonu 7 a 8 v genu SMN1. Cílem je eliminovat riziko narození dítěte se spinální muskulární atrofií (SMA) u párů s darovanými gametami.

Použitý vyšetřovací kit: SALSA MLPA probemix P060 SMA (MRC Holland).

Kit SALSA MLPA P060 SMA obsahuje několik specifických sond, které se vážou na vybraná místa v SMN1, SMN2 genu. Směs sond použitá v tomto kitu je určena pro detekci delecí nebo duplikací v SMN1 a SMN2 genech; není určena pro detekci jiných mutací, jako jsou malé bodové mutace.

#### Indikace k vyšetření:

- Dárci spermií a dárkyně vajíček po indikaci klinickým genetikem.
- Testování rodinných příslušníků v rámci přípravy metody pro PGD monogenní choroby.

PRONATAL s.r.o.

Řízený dokument: LP-SP-GL-03

Vydání: 7

Omezení metody: není vhodná heparinizovaná krev, v tomto případě je nutno použít speciální metodu izolace DNA. V případě, že je pacient heparinizován, je nutno upozornit na tuto skutečnost v žádance.

### 2.7.2.8 Vyšetření vybraných onkogenů (BRCA1, BRCA2) metodou NGS a MLPA

Mutační analýza vybraných onkogenů (BRCA1 a BRCA2) se provádí u pacientů s diagnostikovaným nádorovým onemocněním a jejich rodinných příslušníků podle indikace klinického genetika na základě doporučení SLG. Mutační analýza/screening těchto genů umožňuje potvrzení genetického pozadí vzniku nádorového onemocnění u postižených jedinců a následné prediktivní testování jejich biologických příbuzných. Asymptomatictí nosiči mutace jsou zařazeni do dispenzarizačního programu, který slouží k včasnému záchytu možného nádorového onemocnění.

**Hereditární syndrom nádoru prsu a/nebo ovárií** je autozomálně dominantní syndrom s neúplnou penetrancí. Příčinou je kauzální (patogenní) mutace v tumor supresorových genech BRCA1 nebo BRCA2. Kumulativní riziko pro vznik nádoru prsu u nosiček zárodečné mutace v genech BRCA1 a BRCA2 je odhadováno zhruba na 85% do věku 70 let. Celoživotní riziko onemocnění nádorem vaječníků se u nosiček mutace v genu BRCA1 odhaduje na cca 40 – 60% a u nosiček mutace v genu BRCA2 dosahuje toto riziko cca 27%.

Mutační analýzy genů, prováděné standardními metodami (přímé sekvenování a další) jsou technicky časově i finančně velmi náročné. Sekvenování nové generace („next-generation sequencing“, NGS) je revoluční technologie, která poskytuje levné, správné a přesné informace o genomické sekvenci. Umožňuje paralelní sekvenování multiplexů různých DNA fragmentů. Kombinace metody multiplex PCR (amplifikace specifických cílových sekvencí) s následným resekvenováním za využití platformy firmy Illumina umožňuje resekvenovat a charakterizovat široké spektrum genů nebo oblastí genů, zodpovědných nebo podílejících se na genetických onemocněních, a to u mnoha pacientů současně. Tento metodický postup umožňuje vysoce výkonné a finančně efektivní sekvenování, přináší ve výrazně kratší době správné a přesné výsledky o velmi vysoké vypovídací hodnotě.

Systém Illumina MiSeq kombinuje osvědčenou technologii Sequencing by synthesis (SBS), která umožňuje generování klusterů, sekvenování a analýzu dat na jediném přístroji.

Metoda MLPA je používána pro detekci velkých intragenových přestaveb, které jsou nyní metodou NGS obtížně zachytitelné.

Každý nález varianty s patogenním klinickým významem je ověřován jinou metodou a výsledek musí být potvrzen vyšetřením vzorku z opakovaného odběru periferní krve.

#### Indikace k vyšetření:

- Onkologičtí pacienti s diagnostikovaným nádorovým onemocněním a jejich rodinní příslušníci

Vyšetření se provádí z plné nesrážlivé krve (K<sub>3</sub>EDTA).

### 2.7.3 Preimplantační genetická diagnostika

#### 2.7.3.1 Preimplantační genetický screening (PGS, screening aneuploidii)

PGS provádíme metodou NGS (Next Generation Sequencing), metodou arrayCGH (technologie DNA čipů) a metodou FISH, podle typu vyšetřovaného materiálu, požadavků klientů a indikace klinického genetika. PGS metodou NGS je používána pro screening všech 24 chromozomů a pro diagnostiku nebalancovaných strukturních chromozomových aberací s minimálním rozsahem disbalance v rozsahu 2Mb). Vyšetření se provádí na buňkách trofektodermu odebraných z embrya

PRONATAL s.r.o.

Řízený dokument: LP-SP-GL-03

Vydání: 7

ve stadiu blastocysty, tedy 5. den od oplodnění. Embrya po biopsii jsou vitrifikována, vzorky trofektodermu jsou vyšetřeny metodou NGS a přenos vhodných embryí doporučených k transferu je naplánován do některého z dalších přirozených cyklů ženy. V případě, že lékař nebo klient má specifický požadavek na čerstvý transfer vyšetřených embryí, lze vyšetřit všech 24 chromozomů v blastomerách z 3 denních embryí metodou arrayCGH. Metoda arrayCGH umožňuje vyšetření blastomer do 24 hodin a transfer lze provést 5. den po oplodnění embryí. Obě tyto metody, NGS i arrayCGH, vyžadují odběr buněk do zkumavek se sterilním PBS, který je do embryologických laboratoří dodáván z genetické laboratoře spolu s promývacím roztokem PBS/PVP a mrazicím stojánkem. Metoda FISH na interfázních jádrech je využívána pro rychlý screening vybraných chromozomů nebo pro vyšetření strukturních aberací na blastomerách 3 denních embryí. Vyšetřením osmi chromozomů (13, 15, 16, 18, 21, 22, X a Y) vyloučíme 87% všech chromozomálních abnormalit vyskytujících se v preimplantačních embryích. 72 hodin po oplodnění jsou v embryologické laboratoři v IVF centru bioptovány 1-2 blastomery z vhodných embryí, nafixovány na podložní sklíčko a odeslány s řádně vyplněným 10.401 Protokolem o fixaci do Genetické laboratoře.

V případech, kdy je z medicínských důvodů indikována **volba pohlaví**, např. u chorob vázaných na pohlaví nebo v případech, kdy u partnera byla diagnostikována mikrodelece na chromozomu Y, se provádí hybridizace se sondami pro 5 chromozomů (X, Y, 13, 18 a 21). K transferu jsou potom vybrána embrya s požadovaným gonozomálním komplementem.

Výsledek vyšetření blastomer u cyklů s požadovaným čerstvým transferem je znám v optimálním případě do 24 hodin po biopsii; transfer embryí po PGS je prováděn 5. den po oplodnění. Zprávy z preimplantačního vyšetření embryí jsou vždy v písemné formě doručeny bezprostředně po dokončení PGS do odesílajícího IVF centra.

#### **Indikace k vyšetření:**

- opakované selhání implantace
- opakované spontánní aborty
- věk matky
- postižený plod nebo narození postiženého dítěte v předchozí graviditě
- spermie získané metodou TESE
- gonozomální mozaika u jednoho z partnerů

#### **2.7.3.2 Preimplantační genetická diagnostika chromozomových aberací (PGD translokací a jiných strukturních chromozomálních aberací)**

U nosičů balancovaných chromozomálních aberací je riziko vzniku nebalancovaných gamet, což může vést k opakovaným těhotenským ztrátám nebo i k narození postiženého dítěte. Preimplantační vyšetření strukturních chromozomálních aberací v embryích se provádí buď metodou NGS v buňkách trofektodermu nebo metodou FISH se specifickými sondami pro derivované chromozomy na blastomerách. K transferu jsou doporučena pouze balancovaná embrya. Obě používané metody umí rozlišit balancované embryo od nebalancovaného, avšak neumožňují rozlišit embrya s normálním karyotypem od embryí s karyotypem s balancovanou chromozomální aberací.

#### **Indikace k vyšetření:**

- balancovaná chromozomová aberace u jednoho z rodičů

PRONATAL s.r.o.

Řízený dokument: LP-SP-GL-03

Vydání: 7

### 2.7.3.3 Preimplantační genetická diagnostika monogenních chorob

V indikovaných případech výskytu autozomálně dominantního, autozomálně recesivního nebo X-vázaného onemocnění v rodině je možno provést molekulárně genetické vyšetření na DNA z jedné nebo několika buněk embrya metodou PCR. Vyšetření se provádí na blastomerách nebo buňkách trofektodermy, proto je vždy nutné mimotělní oplodnění v IVF centru. Princip vyšetření je individuální, záleží na typu choroby, zda je či není známa kauzální mutace; v případě nepřímé diagnostiky a použití polymorfních STS markerů na stupni informativnosti (genetickém polymorfismu) rodinných příslušníků. Vždy je nutná konzultace s klinickým genetikem a vlastnímu vyšetření musí předcházet optimalizace metody na úseku molekulární genetiky.

#### Indikace k vyšetření:

- monogenní onemocnění v rodině
- přenašečství autozomálně recesivní choroby u obou partnerů
- *de novo* vzniklé monogenní onemocnění u jednoho z partnerů plánujících rodičovství

## 3 Manuál pro odběry primárních vzorků

V této kapitole jsou popsány správné způsoby odběru a identifikace primárních vzorků biologického materiálu, včetně uvedení minimálního množství potřebného pro jednotlivá vyšetření. Obsažené informace jsou důležité nejen pro pracovníky laboratoře, ale zejména pro odesílající lékaře a personál zodpovědný za odběry a označení primárních vzorků, za manipulaci se vzorky v době od odběru do transportu, za dodržení správných podmínek transportu a předání vzorků a žádank do Genetické laboratoře. Správný způsob odběru primárních vzorků a správná manipulace s nimi do doby převzetí v Genetické laboratoři jsou nezbytné pro správný výsledek vyšetření. Pracovníci provádějící odběr primárních vzorků potvrzují svým podpisem na žádance, že odběr primárního vzorku byl proveden podle pokynů uvedených v tomto manuálu.

Každý primární vzorek (nádobka s biologickým materiálem) musí být jednoznačně identifikován a do laboratoře musí být dodán s nalepeným identifikačním štítkem a s vyplněnou žádankou o vyšetření.

### 3.1 Identifikace primárního vzorku

**Vzorky biologického materiálu bez řádné identifikace se v laboratoři nesmí vyskytovat.** Každý vzorek biologického materiálu musí být označen nalepeným identifikačním štítkem, na kterém jsou uvedeny takové údaje, aby byla zajištěna jednoznačná identifikace a nezaměnitelnost vzorku.

**Pracovník provádějící odběr vzorku nalepí na odběrovou nádobu identifikační štítek s těmito údaji:**

- jméno a příjmení pacienta
- rodné číslo (číslo pojištěnce), datum narození nebo identifikační číslo pacienta vygenerované v IVF centru (u nepojištěných cizinců – samoplátců)

Za jednoznačné označení vzorku odpovídá pracovník provádějící odběr biologického materiálu.



PRONATAL s.r.o.

Řízený dokument: LP-SP-GL-03

Vydání: 7

### 3.2 Žádanka pro laboratorní vyšetření

**Pracovník provádějící odběr primárního vzorku zapisuje na žádanku:**

- jméno a příjmení pacienta
- rodné číslo (číslo pojištění), datum narození nebo identifikační číslo pacienta vygenerované v IVF centru (u nepojištěných cizinců – samoplátců)
- pokud není možné ze jména a rodného čísla identifikovat pohlaví pacienta, je nutno napsat na žádanku, jedná-li se o muže či ženu
- kód zdravotní pojišťovny pacienta
- klinickou diagnózu pacienta
- titul, jméno a příjmení, odbornost a identifikační číslo lékaře požadujícího vyšetření (IČP) nebo jednoznačnou identifikaci pracovníka se zákonným oprávněním požadovat laboratorní vyšetření nebo používat zdravotní informace; vždy je nutné razítko a podpis lékaře, spolu s místem pro zaslání zprávy a kontaktními údaji
- datum odběru primárního vzorku
- požadovaná laboratorní vyšetření
- typ primárního vzorku
- identifikace osoby provádějící odběr primárního vzorku

Za správnost vyplnění žádanky zodpovídá sestra, popřípadě jiný pracovník pověřený lékařem indikujícím vyšetření. Lékař svým podpisem potvrzuje správnost údajů na žádance. Veškeré údaje musí být vyplněny čitelně.

Údaje psané rukou musí být vždy čitelné a požadavky jednoznačně formulované.

**Pokud žádanka chybí, není možné jednoznačně identifikovat biologický materiál, nebo jsou základní údaje nečitelné, je laboratoř oprávněna vyšetření odmítnout.**

### 3.3 Informovaný souhlas

Informovaný souhlas vyšetřované osoby s genetickým laboratorním vyšetřením je součástí lékařské dokumentace pacienta a je uložen v kartě pacienta. Vzhledem k tomu, že Genetická laboratoř Sanatoria PRONATAL zajišťuje vyšetření pro pracoviště skupiny PRONATAL medical group a veškerá lékařská dokumentace pacientů je dohledatelná v rámci PRONATAL medical group, není vyžadována fyzická přítomnost Informovaného souhlasu na pracovišti Genetické laboratoře. Bez lékařské indikace není možné provést žádné genetické vyšetření. Indikující lékař je zodpovědný za správné informování pacienta před genetickým vyšetřením. Zvláštní požadavky pacienta, např. jeho nesouhlas s uložením DNA po molekulárně genetickém vyšetření, uvede indikující lékař na žádance; jinak se předpokládá souhlas pacienta s uchováním jeho DNA podle [3-SOP-SP-16 Archivace biologického materiálu](#).

### 3.4 Požadavky na urgentní vyšetření (STATIM)

Vzorky, u kterých je požadováno přednostní vyšetření (STATIM) jsou dodávány do Genetické laboratoře s žádankou vyplněnou stejně jako u vzorků zpracovávaných v běžném režimu; žádanky jsou navíc označeny červeným slovem „STATIM“.

PRONATAL s.r.o.

Řízený dokument: LP-SP-GL-03

Vydání: 7

Veškerá cytogenetická vyšetření buněk plodové vody a biopsie choria jsou STATIMové povahy, zpracovávají a vyhodnocují se přednostně. Na žádance o vyšetření karyotypu z buněk plodové vody a choriových klků se označení STATIM neuvádí, protože přednostní zpracování vzorků je dáno povahou vyšetřovaného materiálu.

V režimu STATIM jsou dále prováděna „konfirmační“ vyšetření HCV a HBV metodou real-time PCR u pacientů před odběrem oocytů (OPU). U každého vzorku s požadavkem konfirmace RNA viru HCV si přijímající pracovník ověřuje telefonicky v příslušném IVF centru, zda se jedná o vzorek STATIM.

### 3.5 Používaný odběrový systém

Primární vzorky biologického materiálu musí být do laboratoře dodávány ve sterilních jednorázových odběrových nádobkách nebo zkumavkách. Výjimku tvoří blastomery fixované na podložním sklíčku pro PGS/PGD.

#### **Odběrové nádoby na periferní krev:**

- **na cytogenetické vyšetření:**  
zkumavky Vacuette NH Sodium Heparin se zeleným víčkem
- **na molekulárně genetická vyšetření:**  
zkumavky Vacuette K<sub>3</sub>EDTA s fialovým víčkem

#### **Odběrové nádoby na krevní sérum:**

Vyšetření ze séra se provádí při „konfirmaci“ sérologicky HCV nebo HBV ne-negativních vzorků a vzorky séra jsou zasílány z laboratoří AescuLab. Odběr a zpracování primárních vzorků pro sérologické vyšetření stejně jako transport ne-negativních vzorků do Genetické laboratoře se řídí příslušnými SOP. Biochemická laboratoř skladuje séra pro dodatečné analýzy při teplotě pod - 20 °C jeden měsíc od přijetí do laboratoře.

#### **Odběrové nádoby na plodovou vodu:**

zkumavky BD Vacutainer Z

#### **Odběrové nádoby na biopsii choria:**

zkumavky BD Vacutainer NH 170 I.U.

#### **Odběrové nádoby na bukalní stěry:**

zkumavka s kartáčkem nebo nylonové výtěrky k PCR vyšetření

#### **Odběrové nádoby na potracenou tkáň:**

Sterilní zkumavka s malým množstvím fyziologického roztoku (1 ml)

#### **Odběrové nádoby na blastomery a buňky trofektodermu na PGD/PGS:**

Pro FISH vyšetření: podložní sklíčko s připravenými vrypy podle šablony (připravuje laborantka IVF laboratoře)

Pro molekulárně genetické vyšetření (PGD monogenních chorob a arrayCGH): mikrozkušavka se sterilním PBS (do IVF laboratoře jsou dodávány před odběrem blastomer nebo buněk trofektodermu z Genetické laboratoře)

PRONATAL s.r.o.

Řízený dokument: LP-SP-GL-03

Vydání: 7

**Odběrové nádoby na stěry z cervixu a uretry:**

odběrová souprava DispoLab 8155CDL RAYON

**Odběrové nádoby na ejakulát:**

Z ejakulátu se v genetické laboratoři vyšetřuje přítomnost DNA Chlamydia trachomatis. Odběr ejakulátu se provádí v IVF centrech a do Genetické laboratoře jsou zasílány pouze alikvoty vzorků odebraných a zpracovaných podle příslušných SOP.

**3.6 Příprava pacienta před vyšetřením**

Před odběrem biologického materiálu pro vyšetření prováděná v Genetické laboratoři není nutná žádná zvláštní příprava pacienta.

**3.7 Postup pro odběr vzorku****3.7.1 Odběr periferní krve**

Odběr periferní krve pro cytogenetické a molekulárně genetické vyšetření se provádí podle [1-PP-Pmg-02](#): Odběr vzorků (krev, moč, potrácená tkáň, stěr z bukální sliznice, stěr z uretry, stěr z cervixu) a nevyžaduje žádnou speciální přípravu pacienta.

Krev se odebírá z periferní žíly v loketní jamce. Paže se volně položí, dezinfikuje se místo vpichu - nesmí se použít dezinfekce s obsahem jódu, která by mohla být příčinou neúspěšné kultivace. Po stabilizování polohy se provede vpich jehlou s nasazeným nástavcem a pak se na nástavec nasadí příslušná zkumavka. Místo vpichu se zakryje čtverečkem z buničiny, opatrně se přitlačí a vytáhne jehla a přelepí náplastí. Pacient je požádán, aby si místo vpichu tiskl asi ještě 5 minut a po 20 minutách si náplast odstranil.

**Odběr pro cytogenetická vyšetření (karvyotyp):**

Optimální množství odebrané krve je 4-5 ml, minimálně však 2 ml. Ihned po odběru je nutno zkumavku **promíchat** opakovaným opatrným obracením.

**Zkumavka pro cytogenetická vyšetření:** Vacuette se zeleným víčkem (NH Sodium Heparin).

**Odběr pro molekulárně genetická vyšetření (mutace v CFTR genu, Y-delece, trombofilní mutace, delece exonu 7 a 8 v genu SMN1 a pro vyšetření mutací ve vybraných onkogenech (BRCA1, BRCA2)):**

Optimální množství odebrané krve pro molekulárně genetická vyšetření je 4-5 ml, minimálně však 400 µl. Ihned po odběru je nutno zkumavku **promíchat** opakovaným opatrným obracením.

**Zkumavka pro molekulárně genetické vyšetření:** Vacuette s fialovým víčkem (K<sub>3</sub>EDTA).

**Uchování vzorků a transport:** Zkumavky s periferní krví je možno ponechat maximálně po dobu 4 hodin po odběru při laboratorní teplotě, při delší prodlevě do doby příjmu v laboratoři je nutno je uchovávat v ledničce při 2 až 8°C, chránit je před zmrznutím nebo přehřátím, aby se zachovaly živé buňky. Při transportu zkumavek s periferní krví se postupuje podle 1-PP-Pmg-03: Transport biologického materiálu. Vzorky se přepravují v termonádobě s chladicími vložkami a teploměrem, aby bylo možno kontrolovat teplotu v termoobalu (2 až 8°C). Transport vzorků periferní krve pro

PRONATAL s.r.o.

Řízený dokument: LP-SP-GL-03

Vydání: 7

cytogenetické vyšetření do Genetické laboratoře je nutno zajistit nejpozději do 24 hodin od odběru. Transport vzorků periferní krve pro molekulárně genetické vyšetření do Genetické laboratoře je nutno zajistit do 5 dnů.

### Hlavní chyby při odběrech krve:

#### Chyby vedoucí k hemolýze vzorku:

Hemolýza vadí při izolaci DNA a následné PCR při molekulárně genetických vyšetřeních.

Hemolýzu způsobuje:

- použití vlhké odběrové soustavy
- znečištění jehly nebo pokožky stopami ještě tekutého dezinfekčního prostředku
- použití příliš úzké jehly, kterou se pak krev násilně nasává
- prudké třepání krve ve zkumavce (k tomu dochází i při nešetrném transportu krve ihned po odběru)
- použití nesprávné koncentrace protisrážlivého činidla

#### Chyby vedoucí ke koagulaci vzorku:

Koagulace způsobuje znehodnocení vzorku biologického materiálu při veškerých vyšetřeních prováděných v Genetické laboratoři.

Koagulaci způsobuje:

- použití nevhodné odběrové zkumavky bez protisrážlivého činidla
- protražovaný odběr
- nesprávné a nedostatečné promíchání s protisrážlivým činidlem v odběrové zkumavce

#### Chyby při odběru, skladování a transportu vzorku:

- nevhodné zkumavky
- nesprávné protisrážlivé činidlo
- nesprávné a nedostatečné promíchání obsahu zkumavky po odběru
- nedostatečné označení zkumavky s odebraným biologickým materiálem
- zkumavky po odběru jsou potřísněny krví
- krev byla vystavena teplu nebo mrazu
- krev byla vystavena přímému slunečnímu světlu

### 3.7.2 Odběr krevního séra

Krevní sérum je zasíláno do Genetické laboratoře z laboratoří AescuLab pro „konfirmační“ vyšetření přítomnosti nukleových kyselin virů HBV a HCV.

**Uchování vzorků a transport:** Vzorky séra jsou do Genetické laboratoře dopravovány podle příslušných SOP a PP.

V Genetické laboratoři jsou vzorky ihned po příjmu uloženy při teplotě -18 až -25 °C až do doby izolace DNA.

### 3.7.3 Odběr plodové vody a choriových klků

**Odběr plodové vody** provádí vždy lékař-gynekolog pod ultrazvukovou kontrolou podle [1-PP-Pmg-04: Odběr vzorků \(plodová voda, choriové klky\)](#). Odběr plodové vody je prováděn v indikovaných případech u těhotných od ukončeného 15. týdne gravidity.

Při standardním odběru plodové vody je odsáto do tří zkumavek BD Vacutainer Z asi 20 ml plodové vody, což je asi 5% celkového množství plodové vody, která se během několika hodin po odběru opět doplní. Minimální množství plodové vody pro cytogenetické vyšetření je 10 ml. Pro molekulárně genetické vyšetření je minimální množství 1 ml, optimální jsou 2 ml.

PRONATAL s.r.o.

Řízený dokument: LP-SP-GL-03

Vydání: 7

**Odběr choriových klků** provádí vždy lékař-gynekolog pod ultrazvukovou kontrolou [podle 1-PP-Pmg-04: Odběr vzorků \(plodová voda, choriové klky\)](#). Biopsii choria je možno provést u těhotných od 11. týdne gravidity po indikaci klinickým genetikem v případě pozitivního výsledku prvotrimestrálního screeningu. Odebrané klky jsou odsáty do zkumavky BD Vacutainer NH 170 I.U.

Odběr plodové vody a choriových klků je prováděn na Pracovišti prenatalní diagnostiky, které se nachází v budově Genetické laboratoře PRONATAL, nebo na jiném pracovišti. Způsob objednávání pacientů, konzultace s klinickým genetikem, indikace k invazivnímu vyšetření plodu a způsob odběru plodové vody je prováděn podle postupů schválených v řízené dokumentaci PRONATAL medical group.

**Uchování vzorků a transport:** Protože se odběr plodové vody a biopsie choria provádí ve stejné budově a vzorky plodové vody a choriových klků se zpracovávají přednostně, je možno je uchovávat před nasazením do kultivace po dobu nezbytně nutnou při laboratorní teplotě. Pokud od odběru do nasazení uplyne doba delší než 4 hodiny, uchovává se vzorek při teplotě 2 až 8°C.

V případě, že je plodová voda odebrána na jiném pracovišti, je nutno při transportu do laboratoře používat termonádobu a transport provést při teplotě 2 až 8°C podle [1-PP-Pmg-03: Transport biologického materiálu](#).

#### Hlavní chyby při odběru plodové vody:

- odebráno malé množství plodové vody
- odběr proveden před ukončením 15. týdnem těhotenství, hrozí riziko poškození plodu
- odebraná plodová voda je sangvinolentní (kontaminovaná krví matky)

#### Hlavní chyby při odběru choriových klků

- odebráno malé množství choria
- odebrán vzorek z jediného izolovaného místa (riziko, že nebude u plodu zachycen případný mozaicismus)
- nadměrná kontaminace vzorku mateřskou tkání

### 3.7.4 Stěr z bukální sliznice

Stěr z bukální sliznice se provádí [podle 1-PP-Pmg-02: Odběr vzorků \(krev, moč, potrácená tkáň, stěr z bukální sliznice, stěr z uretry, stěr z cervixu\)](#). Pacient je požádán, aby si vypláchl ústa čistou vodou, a poté odběr provádí sestra, která pacientovi vytře sliznici ústní dutiny speciálním kartáčkem nebo výtěrkou (Dispolab, Omniswab). Výtěr vloží do čisté označené zkumavky. Dbá na to, aby se štetec nezkontaminoval jiným biologickým materiálem, zejména jiné osoby.

Výtěr je prováděn pacientkám při současném odběru plodové vody, aby bylo možno porovnat alelický profil matky a plodu, případně vyloučit kontaminaci vzorku plodové vody nebo biopsie choria mateřskou tkání.

**Uchování vzorků a transport:** Nezpracovaný vzorek je možno uchovávat po dobu kratší než 8 hodin při pokojové teplotě, po dobu delší pak v lednici při 2 až 8°C maximálně 14 dní, poté je nutno skladovat při -18 až -25°C.

#### Hlavní chyby při stěrech z bukální sliznice

- kontaminace bukální sliznice potravou (je vhodné vypláchnout ústa před odběrem vodou)

PRONATAL s.r.o.

Řízený dokument: LP-SP-GL-03

Vydání: 7

- V případě výrazné bakteriální kontaminace se může snížit kvalita a trvanlivost vzorku.
- stěr je nutno provádět přiměřeným tlakem, aby bylo odebráno dostatečné množství buněk

### 3.7.5 Odběr potrácené tkáně

Odběr potrácené tkáně provádí vždy lékař-gynekolog ve zdravotnickém zařízení podle [1-PP-Pmg-02: Odběr vzorků \(krev, moč, potrácená tkáň, stěr z bukalní sliznice, stěr z uretry, stěr z cervixu\)](#). Materiál se sterilně vloží do sterilní označené sterilní zkumavky s malým množstvím fyziologického roztoku a s vyplněnou žádankou se odešle do laboratoře co nejdříve po odběru, nejdéle do 24 hodin po odběru.

**Uchování vzorků a transport:** tkáň je možno uchovávat před nasazením do kultivace po dobu maximálně 8 hodin při laboratorní teplotě a transport je možno provést při laboratorní teplotě. Pokud od odběru do nasazení kultivace uplyne doba delší než 8 hodin, uchovává se vzorek při teplotě 2 až 8°C a transportuje se rovněž při teplotě 2 až 8°C.

#### Hlavní chyby při odběrech potrácené tkáně

- odběr nebyl proveden sterilně nebo do sterilní nádoby
- nastala kontaminace vzorku dezinfekčním roztokem
- místo fyziologického roztoku použit 5% roztok formaldehydu

### 3.7.6 Odběr blastomer a buněk trofektodermu pro preimplantační genetické vyšetření

Biopsie blastomer se provádí podle [4-SOP-Pmg-13: PGD](#).

Odebrané blastomery se fixují na podložní sklíčko (pro vyšetření aneuploidii nebo chromozomálních aberací metodou FISH). Odebraný materiál pro vyšetření metodou PCR pro vyšetření monogenních chorob, metodou arrayCGH a metodou NGS se přenesou do sterilní mikrozkušavky s PBS dodané z Genetické laboratoře.

**Uchování vzorků a transport:** sklíčko s fixovanými blastomerami uložené v transportní krabičce je možno po dobu kratší než 8 hodin uchovávat při laboratorní teplotě. Pokud sklíčko bude zpracováno do 48 hodin, uchovává se při 2-8°C. Při době delší než 48 hodin se sklíčko skladuje při -18 až -25°C. Transport je možný vždy při normální laboratorní teplotě, s ohledem na křehkost skla. Transport ze Sanatoria PRONATAL zajišťují pověřenými pracovníci úseku PGD co nejdříve po biopsii blastomer v IVF laboratoři po telefonickém oznámení embryologa. Transport vzorků pro PGS/PGD ze spolupracujících IVF center zajišťuje externí firma na základě písemné objednávky (e-mail) z IVF centra.

Materiál odebraný pro molekulárně genetická vyšetření (metodou NGS, arrayCGH a PCR) a umístěné do mikrozkušavky s PBS jsou po odběru umístěny v chlazeném stojánku (-18 až -25°C) a převezeny v chlazené termónádobě s termovložkami do Genetické laboratoře.

#### Hlavní chyby při odběru a transportu blastomer nebo buněk trofektodermu

- odebraná blastomera neobsahuje jádro
- při fixaci dojde k deformaci jádra
- jádro při zasychání kapky fixačního roztoku odputuje mimo vryp
- chybné nebo chybějící označení jader nebo embryí
- přichycení buněk na stěnu pipety nebo zkumavky
- rozstříknutí obsahu zkumavky při transportu nešetrným zacházením nebo nedodržením transportní teploty

PRONATAL s.r.o.

Řízený dokument: LP-SP-GL-03

Vydání: 7

### 3.7.7 Stěr z cervixu, uretry

Stěry z cervixu a uretry se provádí sterilní odběrovou soupravou DispoLab 8155CDL RAYON podle PP Odběr vzorků.

**Uchování vzorků a transport:** odebrané vzorky je možno po dobu kratší než 8 hodin uchovávat při laboratorní teplotě. Při době delší než 8 hodin se vzorky uchovávají a rovněž transportují při 2-8°C.

### 3.7.8 Odběr moče

Moč pro molekulárně genetické vyšetření se odebírá do sterilní zkumavky (močová se žlutým uzávěrem) podle [1-PP-Pmg-02: Odběr vzorků \(krev, moč, potracená tkáň, stěr z bukalní sliznice, stěr z uretry, stěr z cervixu\)](#).

**Uchování vzorků a transport:** odebrané vzorky je možno po dobu kratší než 8 hodin uchovávat při laboratorní teplotě. Při době delší než 8 hodin se vzorky uchovávají a rovněž transportují při 2-8°C.

### 3.7.9 Odběr ejakulátu

Odběr ejakulátu probíhá podle [SOP 6-SOP-Pmg-03: Zisk ejakulátu](#).

**Uchování vzorků a transport:** odebrané vzorky (aliquoty) jsou do Genetické laboratoře transportovány při 2-8°C.

## 3.8 Operace se vzorkem, stabilita, transport

Odběr primárních vzorků probíhá ve všech centrech, která jsou součástí integrovaného systému PRONATAL medical group, a ve spolupracujících IVF centrech, se kterými má PRONATAL medical group uzavřenou smlouvu o poskytování PGS/PGD vyšetření. Odebrané vzorky biologického materiálu je nutno dodat do Genetické laboratoře v dobře uzavřených odběrových nádobkách, nejlépe v den odběru. Transport primárních vzorků zajišťuje externí firma (viz pracovní postup [1-PP-Pmg-03: Transport biologického materiálu](#).) Podmínky transportu biologického materiálu pro jednotlivá vyšetření jsou uvedeny v pracovním postupu 1-PP-Pmg-03. Za vhodné zabalení a správné označení vzorků odpovídá předávající. Za dodržení předepsaných podmínek transportu odpovídá řidič převážející vzorky.

Především musí být zajištěno:

- doprava primárních vzorků musí být rychlá a šetrná
- musí být dodržen čas a podmínky transportu
- žádanky musí být umístěny odděleně od zkumavek se vzorky, aby nedošlo k případnému potřísnění žádanek při náhodném porušení celistvosti zkumavek
- vzorky vyžadující transport při 2 – 8°C se přepravují ve speciálním termoobalu s chladicí vložkou a vloženým teploměrem

PRONATAL s.r.o.

Řízený dokument: LP-SP-GL-03

Vydání: 7

### 3.9 Základní informace k bezpečnosti při práci se vzorky

Obecné zásady bezpečnosti práce s biologickým materiálem jsou obsaženy ve **Vyhlášce Ministerstva zdravotnictví č. 306/2012 Sb.** o podmínkách předcházení vzniku a šíření infekčních onemocnění a o hygienických požadavcích na provoz zdravotnických zařízení a ústavů sociální péče.

Na základě této vyhlášky byly stanoveny tyto zásady pro bezpečnost práce s biologickým materiálem:

- každý primární vzorek je nutné považovat za potenciálně infekční,
- žádanky ani vnější strana zkumavky nesmí být kontaminovány biologickým materiálem – toto je důvodem k odmítnutí vzorku,
- vzorky jsou přepravovány v uzavřených zkumavkách, které jsou vloženy do stojánku nebo přepravního kontejneru tak, aby během přepravy vzorku do laboratoře nemohlo dojít k rozliti, potřísnění biologickým materiálem nebo jinému znehodnocení vzorku.

Genetická laboratoř a všechny spolupracující subjekty jsou povinny tyto pokyny aplikovat v plném rozsahu.

### 3.10 Informace k dopravě vzorků

**Svoz vzorků** do GL zajišťuje externí svozová služba.

Řidič převezme vzorky a dokumentaci, kterou připraví pracovníci jednotlivých center zodpovědní za odběry. Po zkontrolování počtu a celistvosti zkumavek umístí vzorky a dokumentaci do transportního boxu. Vzorky dopraví do Genetické laboratoře PRONATAL. Informace o průběhu transportu jsou sledovány v příslušných záznamech.

Režim svozu si řídí příslušná centra dle stanovených pravidel. Nutnou aktuální změnu konzultují s pracovníky laboratoře (např. akutní změnu času svozu).

## 4 Preanalytické procesy v laboratoři

### 4.1 Příjem vzorků v Genetické laboratoři

#### 4.1.1 Identifikace pacienta na štítku zkumavky

Všichni pracovníci Genetické laboratoře jsou zaškoleni pro příjem vzorků podle [3-SOP-SP-06 Příjem primárních vzorků do GL](#). Přijímající pracovník zkontroluje neporušenost zkumavek s primárními vzorky, zda jsou zřetelně, čitelně a úplně vyplněny identifikační štítky a zda souhlasí údaje na štítkách s údaji na žádankách. V případě nejasností nebo neúplného vyplnění požadovaných povinných údajů na žádance nebo odběrové zkumavce, se ihned po zjištění nedostatku postupuje podle kapitoly 4.1.2.

Po této kontrole jsou vzorky zapsány do LIS, jsou jim vystaveny Laboratorní poukazy a automaticky přiřazeno číslo GL. Pro každý vzorek jsou vytištěny štítky s identifikačními údaji, které se pro konkrétní vzorek používají v průběhu laboratorního vyšetření na označení zkumavek a protokolů.



PRONATAL s.r.o.

Řízený dokument: LP-SP-GL-03

Vydání: 7

#### **Do databáze LIMS se zapisuje:**

- jméno a příjmení pacienta
- rodné číslo (RČ), číslo pojištěnce nebo vygenerované číslo pacienta, ze kterého lze odvodit pohlaví pacienta, případně datum narození a pohlaví
- jméno a identifikační údaje odesílajícího lékaře
- kód diagnózy
- kód zdravotní pojišťovny
- typ primárního vzorku
- datum odběru vzorku
- požadovaná vyšetření
- číslo GL (generuje se automaticky při vystavení Laboratorního poukazu)

Další evidence pacientů a vzorků se provádí na jednotlivých úsecích (úsek cytogenetiky, molekulární genetiky) podle zavedených pravidel popsanych v [3-SOP-SP-06 Příjem primárních vzorků do GL](#).

#### **4.1.2 Kritéria pro přijetí nebo odmítnutí vadných (nestandardních) primárních vzorků**

##### **Chyby zjištěné při přijímání vzorků:**

##### **1/ chybná identifikace**

##### **a/ vzorek nelze zpracovat:**

Při zjištěném nesouhlasu identifikace na žádance a na zkumavce **se nepřijmou a zlikvidují** vzorky v případě, že je dodán:

NEOZNAČENÝ VZOREK - bez nalepeného štítku,

ŠPATNĚ OZNAČENÝ VZOREK - na žádance je zcela jiné jméno, příjmení nebo RČ než na zkumavce.

Je proveden záznam do Knihy neshod.

##### **b/ informace lze doplnit, po doplnění zapsat vzorek do LIMS a dále zpracovat:**

NEDOSTATEČNĚ ZNAČENÝ VZOREK - částečně nesprávné jméno nebo RČ, případně chybí jedna část identifikace na štítku a na žádance je kompletní identifikace pacienta, ale **vzorek nelze zaměnit s jiným současně přijatým.**

K ŘÁDNĚ OZNAČENÉMU MATERIÁLU CHYBÍ ŽÁDANKA - po kontaktování odesílajícího lékaře je domluveno doručení originální žádanky. Přijímající pracovník vzorek zapíše do databáze, vypíše se patřičná dokumentace o příjmu vzorků s poznámkou o neshodě a vzorek je zpracován. Při obdržení chybějící žádanky se dokumentace zkompletuje. Postup musí být popsán v Knize neshod a žadatel informován. Je nutno zaznamenat kdo, kdy a s kým situaci řešil. Sporné případy řeší vedoucí laboratoře.

K ŽÁDANCE CHYBÍ VZOREK - přijímající pracovník kontaktuje odesílajícího lékaře a požaduje dodání chybějícího materiálu. Údaje o vzorku se zaznamenají do Knihy neshod s poznámkou, že se čeká na dodání vzorku. Do LIMS je vzorek zaevidován až po doručení primárního vzorku do laboratoře.

##### **2/ chyby na žádance**

Pokud je vzorek jednoznačně identifikovatelný, ale chybí pouze některé údaje na žádance, které nemají zásadní vliv na identifikaci vzorku (např. datum odběru, diagnóza, pojišťovna) jsou po ústní nebo telefonické domluvě s odebírající sestrou nebo s lékařem požadujícím vyšetření nebo z LIMS

PRONATAL s.r.o.

Řízený dokument: LP-SP-GL-03

Vydání: 7

doplněny chybějící údaje. Po doplnění údajů je vzorek zapsán do Knihy neshod se zápisem, co a s kým se řešilo a doplnilo.

### **3/ chyby při odběru**

Při zjištění chyb při odběru vzorku (např. nesprávná zkumavka, málo materiálu) je tato informace zapsána na žádanku a přijímající pracovník rozhodne, zda je možné vzorek dále zpracovat příp. s jakým omezením. Pokud nelze některá vyšetření provést, je o tom žadatel informován a důvod je zaznamenán do výsledkového listu.

GL je oprávněna nepřijmout zkumavku potřísněnou biologickým materiálem.

### **4/ postup při porušení celistvosti odběrových zkumavek**

Zjistí-li přijímající pracovník, že je odběrová zkumavka poškozena, požádá o nový odběr. Poškodí-li se vzorek v laboratoři při jeho zpracování (rozbití při odstředování), postupuje se obdobně.

U nenahraditelných vzorků se vzorek zpracuje, pokud postačuje množství vzorku pro požadované vyšetření; tato skutečnost se zaznamená do LIMS k příslušnému vzorku, do písemné dokumentace o vzorku a do Knihy mimořádných situací. V případě jakýchkoliv nejasností ve výsledku vyšetření je požadován nový odběr.

### **5/ nekvalitní materiál**

Všechny informace o odchylkách v kvalitě biologického materiálu jsou zaznamenány v příslušných protokolech.

## **4.2 Manipulace se vzorky a skladování materiálu před vyšetřením**

Vzorky periferní krve, bukalní stěry, stěry z cervixu nebo uretry a moč zpracovávají na úseku molekulární genetiky jsou před vyšetřením skladovány v lednici na vyhrazeném místě při teplotě 2-8°C. Do 7 dní od odběru je vyizolována DNA. Pokud nelze DNA z primárního vzorku vyizolovat do 7 dní po odběru (např. z organizačních důvodů), vzorek se uloží při -18 až -25°C na vyhrazeném místě.

Vzorky séra pro konfirmační vyšetření HBV a HCV se transportují při -18 až -25°C a při stejné teplotě se uchovávají až do doby zpracování.

Periferní krev pro cytogenetické vyšetření je před vyšetřením skladována na vyhrazeném místě v lednici při teplotě 2-8°C.

Vzorky plodových vod, biopsie choria a abortů jsou zpracovány do 24 hodin po příjmu do laboratoře. Pokud budou zpracovány do 4 hodin po příjmu, mohou se uchovávat při laboratorní teplotě, jinak se uchovávají na vyhrazeném místě v lednici při teplotě 2-8°C.

Konkrétní postupy jsou uvedeny v SOP pro jednotlivá vyšetření.

## **4.3 Spolupracující laboratoře a nejčastěji prováděná vyšetření**

Laboratoř využívá služeb smluvních státem určených laboratoří a konzultantů pro potvrzení (konfirmaci) a doplnění svých vlastních vyšetření v případě nejasného výsledku. Dále má nasmlouvány laboratoře pro případný výpadek ve vlastním provozu.

PRONATAL s.r.o.

Řízený dokument: LP-SP-GL-03

Vydání: 7

Za výběr smluvních laboratoří odpovídá vedení Genetické laboratoře. Parametrem pro výběr laboratoří je jejich akreditace, statut diagnostické laboratoře schválené SUKLEM či jiné reference.

Seznam smluvních laboratoří je veden ve [formuláři 2.12. Seznam smluvních laboratoří](#).

Dohody a smlouvy se smluvními laboratořemi jsou periodicky přezkoumávány. Výsledkem tohoto přezkoumávání je aktualizace Seznamu smluvních laboratoří.

## 5 Fáze po vyšetření

Vyšetření je ukončeno vypracováním zprávy o vyšetření (výsledkový list), kontrolou údajů ve zprávě oprávněnou osobou a přípravou výsledkových listů k odeslání indikujícím lékařům. Laboratoř není oprávněna interpretovat výsledky pacientům, toto je výhradně v kompetenci lékařů indikujících vyšetření.

Biologický materiál je po vyšetření uchováván nebo likvidován podle typu vyšetření.

### 5.1 Skladování primárních vzorků, cytogenetických preparátů, archivace vzorků s patologickým nálezem

#### Úsek molekulární genetiky:

**Plná krev** je uchovávána v původních zkumavkách po dobu vyšetření a do vydání výsledků při 2-8°C, poté je likvidována.

**Stěry z bukální sliznice a cervikální/uretrální stěry** jsou uchovávány v původních zkumavkách po dobu vyšetření a do vydání výsledků při 2-8°C, poté jsou likvidovány.

Primární vzorky **plodové vody a biopsie choria** jsou beze zbytku zpracovány.

**DNA** u vzorků s informovaným souhlasem pacienta s uložením a archivací DNA je skladována při -60 až -70°C podle [3-SOP-SP-16 Archivace biologického materiálu](#).

**DNA** izolovaná z primárních vzorků pacientů, kteří si nepřejí uložení a archivaci DNA, je po vydání výsledků likvidována.

DNA izolovaná za účelem stanovení **DNA patogenů (v cervikálních/uretrálních stěrech)** je po vydání výsledků likvidována.

Primární vzorky i izolovaná DNA/RNA ke confirmaci přítomnosti nukleových kyselin virů **HBV a HCV** jsou po vydání výsledků likvidovány.

#### Úsek cytogenetiky:

**Plná krev** je uchovávána po dobu 5 dnů od nasazení buněčné kultury, poté je likvidována.

**Cytogenetické preparáty a zbylé buněčné suspenze** jsou po vydání výsledků archivovány podle 3-SOP-SP-16 Archivace biologického materiálu.

Veškeré cytogenetické preparáty s **patologickým nálezem** jsou archivovány podle [3-SOP-SP-16 Archivace biologického materiálu](#).

#### Úsek PGD:

Skla s fixovanými blastomerami jsou po vyšetření a vydání výsledku skladována 1 měsíc při 2-8°C a poté likvidována.

Blastomery po celogenomové amplifikaci DNA jsou uchovávány při -80°C [podle 3-SOP-SP-16 Archivace biologického materiálu](#).

PRONATAL s.r.o.

Řízený dokument: LP-SP-GL-03

Vydání: 7

## 5.2 Likvidace biologického materiálu po vyšetření

Veškeré odběrové nádoby se zbytky primárních vzorků jsou po uplynutí nezbytné doby archivace umístěny do příslušných sběrných nádob určených k likvidaci. Obdobně jsou likvidovány i ostatní vzorky odvozené od primárního vzorku (buněčné suspenze, mikroskopická skla atd.). Vzhledem k potenciálně infekčnímu charakteru všech primárních vzorků je s nimi po provedeném vyšetření nakládáno jako s infekčním odpadem. Jejich likvidace se řídí Organizační směrnici [OS-Pmg-07 Nakládání s odpady](#) a příslušnými SOP.

## 5.3 Dodatečné vyšetření

Dodatečné vyšetření je možné v závislosti na časovém intervalu mezi prvním náběrem a dodatečným požadavkem. V případě dodatečného molekulárně genetického vyšetření z periferní krve, plodové vody nebo biopsie choria, kdy pacient podepsal souhlas s uložením DNA, lze vzorek dovyšetřit bez časového omezení, pokud je k dispozici dostatečné množství DNA.

Dodatečné cytogenetické vyšetření je možné z opakované kultivace nebo z uložené suspenze lymfocytů periferní krve v závislosti na časovém odstupu a typu požadovaného dodatečného vyšetření; v případě delšího časového odstupu je nutné provést opakovaný odběr.

Na dodatečné vyšetření požaduje laboratoř novou žádanku s indikací klinického genetika nebo původní žádanku, kterou doplní klinický genetik o požadované doplňující vyšetření. Žadanku vždy doplní klinický genetik aktuální parafou, datem a razítkem.

## 6 Vydávání výsledků a komunikace s laboratoři

### 6.1 Uvolňování a vydávání výsledků

#### Kontrola výsledků

Každý výsledek genetického vyšetření je kontrolován a výsledkový list po vytištění je podepsán odpovědnou osobou oprávněnou uvolňovat výsledky. Veškeré operace prováděné během vyšetření jsou dohledatelné a autorizované podpisem pracovníka.

#### Vydávání výsledků

Genetická laboratoř vydává výsledky vyšetření vždy v písemné formě.

Zprávy jsou vytištěny v potřebném počtu kopií podle vnitřních předpisů laboratoře, zařazeny do laboratorní dokumentace pacienta a odeslány podle typu vyšetření indikujícím lékařům.

**Pacientům interpretuje výsledky vždy lékař s odpovídající odborností.**

Zprávy o **cytogenetickém vyšetření karyotypu a zprávy o molekulárně genetickém vyšetření** jsou předány klinickému genetikovi indikujícím vyšetření, který jediný komunikuje s pacienty a informuje je o výsledku vyšetření.

**PGD zprávy** jsou dopraveny nebo odeslány do IVF centra tak, aby byly k dispozici lékařům a embryologovi provádějícím transfer embryí. Bez písemné zprávy nelze transfer embryí provést.

V případě vyšetření **patogenů** se vztahem k neplodnosti a „konfirmačního“ vyšetření nukleových kyselin viru **HCV a HBV** metodou real-time PCR se výsledek vyšetření zapíše přímo do žádanky o vyšetření do příslušné kolonky, kompletně vyplněná žádanka se zkopíruje pro potřeby archivace v laboratoři a originál se odešle lékařovi požadujícímu vyšetření.

PRONATAL s.r.o.

Řízený dokument: LP-SP-GL-03

Vydání: 7

V případě potřeby je možná komunikace laboratoře s lékaři telefonicky nebo emailem.

## 6.2 Telefonické sdělování výsledků

Telefonicky se sdělují pouze výsledky tzv. urychleného vyšetření aneuploidií chromozomů z plodové vody nebo biopsie choria metodou QF-PCR. Pracovník provádějící vyšetření sdělí výsledek bezprostředně po ukončení vyšetření a napsání Zprávy o vyšetření lékaři provádějícímu odběr. Ten v případě, že nebyly diagnostikovány žádné aneuploidie, může pověřit odpovědnou osobu, aby telefonicky informovala pacientku o výsledku vyšetření. Pověřená odpovědná osoba si ověřuje kontrolními dotazy jméno, příjmení a rodné číslo pacientky a poté informuje pacientku pouze o tom, že urychlené vyšetření chromozomů 13, 18, 21, X a Y metodou QF PCR jejího plodu je v pořádku. Veškeré další informace podává pacientce lékař. Odpovědnou osobou se rozumí pracovník úseku molekulární genetiky, který je zaškolen do vyšetření aneuploidií chromozomů 13, 18, 21, X a Y metodou QF PCR.

## 6.3 Výsledkový list

Výsledkové listy mají různé formy podle typu vyšetření.

### Výsledkový list v podobě papírové obsahuje:

- identifikaci pacienta (jméno, příjmení, RČ nebo číslo pojištěnce), číslo GL
- identifikaci laboratoře, která výsledek vydala
- identifikaci vyšetření
- identifikaci žadatele vyšetření
- datum odběru primárního vzorku
- typ primárního vzorku
- kód diagnózy
- kód zdravotní pojišťovny
- datum tisku zprávy
- výsledek vyšetření
- jméno a podpis osoby zodpovědné za výsledek
- jméno a podpis osoby kontrolující a uvolňující výsledkový list, razítko laboratoře
- jiné poznámky (např. kvalita primárního vzorku, která mohla nežádoucím způsobem ovlivnit výsledek).

Výsledkové listy jsou rozváženy na centra v zalepených obálcích svozovou službou. Výsledkové listy určené pro lékaře ordinující v budově Genetické laboratoře jsou předávány lékařům podle zavedených interních předpisů.

## 6.4 Poskytování výsledků vyšetření provedených smluvní laboratoří

Za dodání požadovaných výsledků vyšetření je žadateli odpovědná Genetická laboratoř Sanatoria PRONATAL a nikoli laboratoře smluvní. Výsledky vyšetření smluvní laboratoře jsou zpravidla použity k doplnění výsledků vlastních vyšetření. V případě potřeby mohou být tyto výsledky doplněny vlastní interpretací laboratoře, která vychází i ze znalosti klinických informací o

PRONATAL s.r.o.

Řízený dokument: LP-SP-GL-03

Vydání: 7

pacientovi. Výsledky vyšetření ze smluvní laboratoře jsou přiloženy k Výsledkovému listu vytvořenému laboratoří a takto předány lékaři požadujícímu vyšetření.

## 6.5 Úhrada vyšetření samoplátci a cizinci

Úhrady vyšetření samoplátců a cizinců se řídí vnitřními předpisy společnosti PRONATAL medical group.

Pacienti samoplátci odeslaní ze Sanatoria PRONATAL platí mimo prostory laboratoře a v režimu určeném vnitřními směrnicemi společnosti.

Genetická laboratoř vyhotovuje podklady pro fakturaci za genetické vyšetření pro pacienty z ostatních center. Data pro fakturaci připravuje laboratoř souhrnně jednou měsíčně.

## 6.6 Změny výsledků a nálezů

### A. Oprava identifikace pacienta

Opravou identifikace pacienta se rozumí oprava rodného čísla a změna nebo významná oprava příjmení a jména pacientů, příp. způsobu pojištění.

Pracovník laboratoře opraví data v databázi předepsaným způsobem, vedoucí laboratoře opravu zkontroluje, propustí výsledek, vytiskne nový výsledkový list a odešle s případným komentářem indikujícímu lékaři.

Při opravě pojišťovny nebo drobných opravách jména se na oddělení nezasílá nový výsledkový list, oprava se zaznamená v laboratoři v dokumentaci pacienta.

### B. Oprava výsledkové části

Opravou výsledkové části se rozumí oprava (změna údajů) textové informace u odeslaných výsledkových listů.

Pokud některý pracovník zjistí, že byl výsledek špatně stanoven a odeslán, informuje vedoucího úseku. Ten rozhodne, jak se výsledek opraví. Co nejdříve se domluví s odesílajícím lékařem na výměně původního výsledkového listu za správný a na změně záznamu v lékařském informačním systému.

Laboratoř eviduje opravu výsledkové části v LIMS a v databázi LUCIA. Změna nálezu musí být zaznamenána v dokumentaci pacienta s datem a jménem osoby odpovědné za tuto změnu. V laboratoři je uložen původní výsledek a nový výsledkový list s vysvětlením, jaký byl důvod změny nálezu.

### C. Záměna biologického materiálu odesílajícím oddělením

Podobně se postupuje, pokud oznámí odesílající lékař, že byl zaměněn biologický materiál. I v těchto případech je třeba zaznamenat všechny důležité okolnosti. Veškeré opravy s autorizací jsou v systému dokumentace GL dohledatelné. Při záměně vzorku vypracuje pracovník na příjmu prohlášení o záměně.

## 6.7 Doby trvání jednotlivých vyšetření od příjmu vzorku do laboratoře

- **Vyšetření karyotypu z buněk periferní krve:** 4 týdny (nemělo by přesáhnout 8 týdnů)
- **Vyšetření karyotypu z buněk plodové vody a z tkání choria:** 2 týdny (nemělo by přesáhnout 4 týdny)

PRONATAL s.r.o.

Řízený dokument: LP-SP-GL-03

Vydání: 7

- **Urychlené vyšetření chromozomů 13, 18, 21, X a Y metodou QF-PCR z buněk plodové vody a z tkání choria:** 24 hodin (nemělo by přesáhnout 3 pracovní dny)
- **Chromozomální vyšetření potracených plodů:** 4 týdny (nemělo by přesáhnout 8 týdnů)
- **Molekulárně genetická vyšetření indikovaná klinickým genetikem:** 1-2 týdny, obvykle se kompletují s výsledkem cytogenetického vyšetření a zprávy se společně předávají klinickému genetikovi
- **Vyšetření trombofilních mutací FV a FII jako součást vstupního vyšetření pacientek před hormonální stimulací:** 10 pracovních dní
- **Vyšetření vybraných onkogenů (BRCA1, BRCA2) metodou NGS a MLPA:** 6 měsíců
- **„Konfirmační“ vyšetření - přímý průkaz RNA viru HCV metodou real-time PCR:** 24 hodin při požadavku STATIM (OPU), jinak 2 týdny
- **„Konfirmační“ vyšetření - přímý průkaz DNA viru HBV metodou real-time PCR:** 2 týdny (požadavek STATIM je u tohoto vyšetření irelevantní)
- **Přímý průkaz DNA některých patogenů se vztahem k neplodnosti z cervikálních stěrů a moče metodou real-time PCR:** 10 pracovních dní
- **Preimplantační genetická diagnostika metodou FISH (screening aneuploidií, strukturní chromozomální aberace):** 24 hodin, nesmí přesáhnout 48 hodin, u screeningu aneuploidií lze vyšetření v případě potřeby provést do 8 hodin
- **Preimplantační genetická diagnostika metodou arrayCGH (screening aneuploidií, případně PGD Robertsonských translokací), vyšetření blastomer:** 24 hodin, nesmí přesáhnout 48 hodin
- **Preimplantační genetická diagnostika metodou NGS a nebo arrayCGH (screening aneuploidií, případně PGD translokací), vyšetření buněk trofektodermu:** aktuálně podle instrukcí embryologa a lékaře v závislosti na plánovaném termínu embryotransferu
- **Preimplantační genetická diagnostika monogenních chorob metodou PGH:** v případě vyšetření blastomer do 48 hodin, při vyšetření trofektodermu aktuálně podle instrukcí embryologa a lékaře v závislosti na plánovaném termínu embryotransferu. Laboratoř si vyhrazuje 3 měsíce na přípravu a optimalizaci metody PGH (testování rodinných příslušníků a určení míry informativnosti STR markerů).

### **Nedodržení očekávaného času dodání výsledku**

V laboratoři se mohou vyskytnout neočekávané provozní problémy- např. porucha přístroje, výpadek el. proudu. O změně času dodání výsledků informuje laboratoř oddělení, kterých se problém dotkne, případně se domluví na přednostních vyšetřeních.

Krizové situace řeší vedoucí laboratoře, jednou z možností je odeslání vzorku do spolupracující laboratoře.

## **6.8 Konzultační činnost laboratoře**

Upozornění a komentáře k výsledkům ovlivňující interpretaci jsou uvedeny v textové části výsledkového listu. Individuální konzultace výsledků vyšetření jsou umožněny kontaktem s odbornými pracovníky laboratoře.

Laboratoř průběžně informuje všechny klienty o změnách, které se týkají laboratorních služeb, úměrně jejich závažnosti. Mailem nebo telefonicky upozorňuje vedoucí laboratoře na chyby objednávacích oddělení, informuje o aktuálních provozních událostech, zodpovídá dotazy nebo

PRONATAL s.r.o.

Řízený dokument: LP-SP-GL-03

Vydání: 7

reaguje na připomínky k práci laboratoře. Důležité pokyny, které se týkají vzájemné spolupráce, jsou vydávány jako směrnice závazné pro všechna centra.

## **6.9 Způsob řešení stížností**

Postup při převzetí a řešení stížnosti klientů je popsán ve vnitřních předpisech Pmg.

Veškerá opatření a aktivity v rámci kontroly kvality v Pmg směřují k tomu, aby situace směřující ke vzniku stížnosti vůbec nevznikaly. Každý pracovník Genetické laboratoře je povinen převzít stížnost. Málo závažné stížnosti vyřeší na místě a informuje vedení laboratoře. Závažnější stížnosti předá k řešení vedení laboratoře. Pro registraci stížností slouží příslušné formuláře.

## **7 Přílohy**

Nejsou





PRONATAL s.r.o.

Řízený dokument: LP-SP-GL-03

Vydání: 7

**1. Revizní list**

	<b>Revize č.1</b>	<b>Revize č.2</b>	<b>Revize č.3</b>
<i>Datum revize</i>	27.11.2017		
<i>Výsledek revize</i>	<i>Dokument <del>vyhověl</del> – nevyhověl*</i>  <i>Vydání 07</i>	<i>Dokument vyhověl – nevyhověl*</i>	<i>Dokument vyhověl – nevyhověl*</i>
<i>Revidující odp. osoba</i>	<i>Mgr.P.Lonský</i>		
<i>Podpis</i>			

\*) – *nehodící se škrtněte*

PRONATAL s.r.o.

Řízený dokument: LP-SP-GL-03

Vydání: 7

**9 Rozdělovník, záznam o seznámení**

**ROZDĚLOVNÍK**  
**Řízené dokumentace číslo: LP-SP-GL-03**

Číslo	Datum	Funkce a jméno – převzal a byl seznámen	Podpis
<b>Orig.</b>	1.12.2017	Mgr. K Hrbková – manažerka kvality ISM	
<b>1</b>	1.12.2017	RNDr. M. Kosářová, PhD. – vedoucí GL	
<b>2</b>	1.12.2017	www stránky (elektronicky)	
<b>3</b>	1.12.2017	P2 – J. Procházková (elektronicky) – provozní manažerka	
<b>4</b>	1.12.2017	P3 – Ing. P. Štefanová (elektronicky) – provozní manažerka	
<b>5</b>	1.12.2017	P4 – Bc. B.Kozáková (elektronicky) – provozní manažerka	
<b>6</b>	1.12.2017	P5 – B.Zjakič (elektronicky) – provozní manažerka	
<b>7</b>	1.12.2017	P6 – M. Provazníková (elektronicky) – provozní manažerka	
<b>8</b>			
<b>9</b>			
<b>10</b>			

PRONATAL s.r.o.

Řízený dokument: LP-SP-GL-03

Vydání: 7

**ZÁZNAM O SEZNÁMENÍ**  
**Řízené dokumentace číslo: LP-SP-GL-03**

<b>Číslo</b>	<b>Datum</b>	<b>Funkce a jméno – byl seznámen</b>	<b>Podpis</b>
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			
18			
19			
20			