



LABORATORNÍ PŘÍRUČKA



Cytogenetická laboratoř Oddělení lékařské genetiky

Fakultní nemocnice Hradec Králové

| | | | |
|--------------------------------|--|-----------------|---|
| Účinnost od | 1. 9. 2015 | Verze č. | 7 |
| Tímto předpisem se ruší | Laboratorní příručka Cytogenetické laboratoře Oddělení lékařské genetiky, verze č. 6 ze dne 4. 2. 2015 | | |

| | Jméno a příjmení, funkce | Datum | Podpis |
|-----------------------|---------------------------------|--------------|---------------|
| Odborný garant | Ing. Jana Rabasová | 31. 8. 2015 | |
| Zpracoval | Mgr. Lenka Bydžovská | 28. 8. 2015 | |
| Přezkoumal | Ing. Jana Rabasová | 31. 8. 2015 | |
| Schválil | MUDr. Mária Šenkeříková | 31. 8. 2015 | |

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

Pořízené kopie jsou pouze informativní!

| | |
|---|----|
| 1. Úvod | 3 |
| 2. Rozdělovník | 3 |
| 3. Základní informace o laboratoři | 3 |
| 3.1 Identifikace laboratoře, důležité údaje a kontakty | 3 |
| 3.2 Zaměření laboratoře | 4 |
| 3.3 Organizace laboratoře a její vnitřní členění | 4 |
| 3.4 Systém kontroly kvality | 5 |
| 4. Pojmy a zkratky | 5 |
| 5. Přehled prováděných vyšetření | 5 |
| 5.1 Prenatální vyšetření | 5 |
| 5.1.1 Vyšetření chromozómů z plodové vody | 6 |
| 5.1.2 Vyšetření chromozómů z fetální krve | 6 |
| 5.1.3 Vyšetření chromozómů z choriových klků | 7 |
| 5.1.4 Vyšetření chromozómů z tkání potráceného plodu | 8 |
| 5.2 Postnatální vyšetření | 8 |
| 5.2.1 Vyšetření chromozómů z periferní krve | 8 |
| 5.3 Vyšetření hematologických malignit | 9 |
| 5.3.1 Vyšetření chromozómů z kostní dřeně | 9 |
| 5.3.2 Vyšetření chromozómů z periferní krve | 9 |
| 5.4 Fluorescenční in situ hybridizace | 9 |
| 5.4.1 Vyšetření metodou FISH, M-FISH a M-Band | 10 |
| 5.5 Molekulárně-biologické metody | 10 |
| 6. Procesy před laboratorním vyšetřením | 10 |
| 6.1 Odběr biologického materiálu a doporučený odběrový systém | 10 |
| 6.1.1 Manuál pro odběr biologického materiálu | 11 |
| 6.2 Požadavkové listy (žádanky) | 13 |
| 6.3 Ústní požadavky na vyšetření, dodatečná a opakovaná vyšetření | 14 |
| 6.4 Transport primárního vzorku | 14 |
| 7. Kritéria pro odmítnutí vadných (kolizních) primárních vzorků | 15 |
| 8. Uvolňování výsledků | 16 |
| 8.1 Výdej výsledků | 16 |
| 8.2 Změny výsledků po jejich vydání | 17 |
| 8.2.1 Oprava identifikační části | 18 |
| 8.2.2 Oprava výsledkové části | 18 |
| 8.2.3 Zrušení žádanky | 18 |
| 8.3 Hlášení výsledků ve varovných (kritických) intervalech | 18 |
| 9. Způsoby řešení reklamací a stížností | 18 |
| 9.1 Reklamace | 18 |
| 9.2 Stížnosti | 19 |
| 10. Přílohy | 19 |
| 10. Revize a změnové řízení | 33 |

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

Pořízené kopie jsou pouze informativní!

1. Úvod

Cílem tohoto dokumentu je informovat lékaře a žadatele o cytogenetické laboratorní vyšetření o nabídce a podmínkách našich služeb. Poskytuje zdravotnickým pracovníkům potřebné informace před vlastním vyšetřením, údaje o jeho průběhu, vydávání výsledků a o interpretaci nálezů.

Tato příručka obsahuje pokyny k provedení správného odběru vzorků a podává informace o správném transportu vzorků a manipulaci s nimi tak, aby nebyl ohrožen výsledek laboratorních vyšetření. Žadatelé o vyšetření mají v příručce základní informace o našich pracovních postupech, dostupné pokyny pro pacienty, v příloze žádanky k laboratorním vyšetřením apod.

Soubor nabízených laboratorních vyšetření a metod je vytvořen a inovován podle požadavků klientů s přihlédnutím k odbornému vývoji v oblastech klinické cytogenetiky.

Laboratorní příručka je součástí řízené dokumentace laboratoře, je pravidelně aktualizována a doplňována a žadatelům o vyšetření je dostupná na webových stránkách Fakultní nemocnice.

2. Rozdělovník

Laboratorní příručka je k dispozici:

- v elektronické verzi uložené na centrálním serveru v síťové jednotce OLG – P
- v tištěné verzi uložené v hlavní laboratoři OLG - skříň v místnosti A416
- Intranet Fakultní nemocnice Hradec Králové
- www.fnhk.cz/oleg

Tato Laboratorní příručka je závazná pro všechny pracovníky Cytogenetické laboratoře OLG.

3. Základní informace o laboratoři

3.1 Identifikace laboratoře, důležité údaje a kontakty

Název a adresa pracoviště: Cytogenetická laboratoř Oddělení lékařské genetiky, Fakultní nemocnice, Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové – Nový Hradec Králové

Umístění pracoviště: areál Fakultní nemocnice Hradec Králové, budova č. 22

IČO organizace: 00179906

Nákladové středisko: 2571

Kontaktní údaje:

Vedoucí Oddělení lékařské genetiky:

MUDr. Mária Šenkeříková (tel. 495832146, e-mail: maria.senkerikova@fnhk.cz)

Vedoucí Cytogenetické laboratoře Oddělení lékařské genetiky:

Ing. Jana Rabasová (tel. 495832624, e-mail: jana.rabasova@fnhk.cz)

Zástupce vedoucího Cytogenetické laboratoře Oddělení lékařské genetiky:

Mgr. Lenka Bydžovská (tel. 495832624, e-mail: lenka.bydzovska@fnhk.cz)

Konzultace k požadavkům na laboratorní vyšetření je poskytována: tel. 495832624

Pracovní doba:

Po – Pá: 7.00– 15.30

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

Pořízené kopie jsou pouze informativní!

Laboratoř pracuje v jednosměnném provozu. Pracovní doba v laboratoři se řídí směrnicí FN HK – SM_40: Pravidla pro pracovní dobu, a je stanovena od 7 hod do 15.30 hod. Individuální pracovní dobu povoluje vedoucí lékař OLG.

3.2 Zaměření laboratoře

Cytogenetická laboratoř Oddělení lékařské genetiky FN HK provádí základní a specializovaná vyšetření v odbornosti 816. Jedná se především o vyšetření chromozomů z různých tkání, interpretaci patologických nálezů, stanovuje jejich rizika a určuje postup dalšího vyšetřování v rodinách s chromozomovými vadami.

Velký podíl rutinní práce laboratoře představuje prenatální problematika, která je ve svých důsledcích významným preventivním opatřením. Jde především o vyšetření buněk plodové vody, fetální krve a choriových klků u rizikových těhotenství (vyšší věk matky, pozitivní biochemický screening, patologický UZ, různé vady v předchozích těhotenstvích a další). Vyšetření chromozomů z periferní krve je prováděno u celé řady vrozených vývojových vad a syndromů, u poruch pohlavních znaků, fertility, u potratových partnerství, u nejasných psychomotorických retardací a u různých dalších podezření na možnou chromozomovou vadu a u pracovníků ve zvýšeném riziku vzniku získaných chromozomových aberací v důsledku expozice v pracovním prostředí.

Třetím okruhem cytogenetické problematiky jsou získané chromozomové aberace v buňkách kostní dřeně případně periferní krve související s hematologickými maligními onemocněními (akutní a chronické leukémie, myeloproliferativní a lymfoproliferativní onemocnění, lymfomy apod).

Cytogenetická laboratoř se v pravidelných intervalech účastní programu mezilaboratorního porovnání CEQA (mezinárodní systém kontroly kvality cytogenetických laboratoří CEQA – Cytogenetic European Quality Assessment) odpovídající příslušnému laboratornímu vyšetření a interpretaci výsledků tohoto vyšetření. Laboratoř získala pro vyšetření chromozomů z krve, kostní dřeně, plodové vody, choriové biopsie a FISH certifikát kvality CEQA.

Schéma cytogenetického vyšetření

Příloha č. 3

3.3 Organizace laboratoře a její vnitřní členění

Oddělení lékařské genetiky Fakultní nemocnice Hradec Králové se nachází v budově 22, v areálu nemocnice a skládá se z ambulantní části ve 3. patře (lékaři, sestry, administrativní pracovníci) a z části laboratorní ve 4. patře budovy (odborní pracovníci, laborantky a sanitářky)

Organizační schéma Fakultní nemocnice Hradec Králové

Příloha č. 1

Organizační schéma Oddělení lékařské genetiky

Příloha č. 2

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

Pořízené kopie jsou pouze informativní!

3.4 Systém kontroly kvality

Pracoviště je součástí FN HK, která v roce 2008 získala akreditaci SAK ČR. Laboratoř důsledně uplatňuje systém vnitřní kontroly kvality a zásady správné laboratorní práce v souladu s požadavky managementu kvality Fakultní nemocnice v Hradci Králové. Laboratoř je navíc akreditována ČIA pod číslem 8248 dle normy ČSN EN ISO 15 189:2013.

4. Pojmy a zkratky

Pojmy:

vyšetření: soubor úkonů, jejichž cílem je stanovení hodnot nebo charakteristika vlastností
doba odezvy: čas, který uplyne mezi dvěma specifikovanými body v procesech před laboratorním vyšetřením, při vyšetření a po vyšetření

postupy předcházející vyšetření: preanalytická fáze; kroky začínající v chronologickém pořadí požadavkem lékaře a zahrnující žádanku, přípravu pacienta, odběr primárního vzorku, jeho skladování a dopravu do laboratoře nebo v rámci laboratoře a končící zahájením postupu analytického vyšetření

postupy následující po vyšetření: postanalytická fáze; procesy, které následují po vyšetření včetně systematického přezkoumání, formátování a interpretace, schvalování ke zveřejnění, předkládání zpráv a předávání výsledků a uložení vyšetřených vzorků

primární vzorek: diskrétní část tělní tekutiny, dechu, vlasů nebo tkáně odebraná pro laboratorní vyšetření, studii nebo analýzu jedné nebo více veličin nebo vlastností, o kterých lze předpokládat, že reprezentují celek

vzorek: jedna nebo více částí odebraných z primárního vzorku

Zkratky:

| | |
|--------------|---------------------------------------|
| OLG | Oddělení lékařské genetiky |
| FN HK | Fakultní nemocnice Hradec Králové |
| SAK | Spojená akreditační komise |
| ČIA | Český institut pro akreditaci, o.p.s. |

5. Přehled prováděných vyšetření

Seznam laboratorních vyšetření včetně kódů vykazovaných zdravotním pojišťovnám
Příloha č. 4

5.1 Prenatální vyšetření

Indikace k vyšetření

Indikaci k prenatálnímu cytogenetickému vyšetření provádí lékař-genetik, případně gynekolog z následujících důvodů:

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

Pořízené kopie jsou pouze informativní!

- pozitivní biochemický screening mateřského séra
- věk matky nad 35 let
- patologický nález na ultrazvuku
- pozitivní screening I. trimestru
- předchozí narození plodu s chromozomovou abnormalitou nebo s vrozenými vývojovými vadami
- nosičství chromozomové přestavby
- narození mrtvého plodu nebo úmrtí novorozence
- opakované spontánní potraty
- výskyt mozaiky nebo aneuploidie pohlavních chromozomů u jednoho z rodičů
- psychologické indikace a další méně časté indikace.

5.1.1 Vyšetření chromozómů z plodové vody

Důvodem odběru plodové vody je požadavek na chromozomální vyšetření buněk plodu (amniocytů) k vyloučení vývojových vad u plodu podmíněných chromozomovou aberací. Zároveň lze vyšetřit hladinu alfafetoproteinu v plodové vodě. Odběr se provádí nejčastěji mezi 16.-18. týdnem gravidity. Jedná se o invazivní vyšetření, kdy riziko komplikací se pohybuje okolo 0.5- 1%. Proto musí být jasná indikace k provedení odběru plodové vody (amniocentéze).

Z odebrané plodové vody jsou centrifugací odděleny buňky, pocházející z povrchu a ze sliznic plodu. Buňky jsou nasazeny do kultivačního media, ze životaschopných buněk spontánně vyrostou na dně kultivační lahve buněčné kolonie. Růst kultury je sledován ve fázovém kontrastu, kultivační medium je měněno podle potřeby. Ke konci kultivační doby je přidán Colcemid pro zablokování mitózy a následuje zpracování kultury. Součástí zpracování je hypotonie, fixace a příprava nativních preparátů. Následuje diferenciací barvení chromozomů technikou G a R pruhození a analýza karyotypu v cca 20 mitozách ve světelném mikroskopu s použitím karyotypovacího počítačového systému. Následuje vytištění zprávy s případnou interpretací patologického nálezu.

Za poplatek je ženám nabízena možnost vyšetřit aneuploidie chromozomů 13, 18 a 21 a sestavu pohlavních chromozomů metodou FISH na nekultivovaných buňkách plodové vody. Toto vyšetření vyloučí nebo potvrdí nejčastější chromozomální vady - Downův syndrom, Edwardsův syndrom, Patauův syndrom, Turnerův syndrom, Klinefelterův syndrom apod.. Výsledek je znám v ideálním případě do druhého dne od odběru. Pokud si žena takové vyšetření přeje, je odebráno 5 ml plodové vody navíc k přímému zpracování. Vždy jsou zároveň nasazeny buňky plodové vody do kultivačního media ke klasickému vyšetření karyotypu.

5.1.2 Vyšetření chromozómů z fetální krve

Odběr fetální krve, neboli kordocentéza, je test, také známý jako perkutánní pupeční odběr krve, je to vysoce specializovaná prenatální zkouška, při které je vzorek fetální krve odebrán z pupeční šňůry. Vyšetření lze provádět až relativně později, po 20. gestačním týdnu (nejlépe v 21. - 22.týdnu). Odběr fetální krve z pupečnickové vény se provádí speciální jehlou pod ultrazvukovou kontrolou. Získané krevní elementy (lymfocyty plodu) lze opět užít k vyšetření

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

Pořízené kopie jsou pouze informativní!

karyotypu plodu či pro molekulárně genetické vyšetření. Karyotypizace lymfocytů plodu je velmi rychlá, výsledky jsou k dispozici během 48–72 hodin. Kordocentézu lze tak s úspěchem použít pro opakované – rychlé vyšetření karyotypu, pokud předchází odběr s kultivací (amniocentéza, CVS) selhal nebo přinesl nejednoznačné výsledky. Riziko výkonu je ve zkušených rukách srovnatelné s rizikem amniocentézy (pod 1 % fetálních ztrát). Nasazení, kultivace, zpracování, nabarvení a vyhodnocení kultury fetální krve probíhá obdobným způsobem jako krve periferní, pouze s kratší kultivační dobou – obvykle 48 h. Pracovní postup má charakter STATIM vyšetření.

5.1.3 Vyšetření chromozómů z choriových klků

Odběr choriových klků (CVS, Chorionic villus sampling) se provádí dříve než amniocentéza, a to zhruba mezi 11. a 15. gestačním týdnem. Odběr choriové tkáně se provádí speciální jehlou pod ultrazvukovou kontrolu, nejčastěji transabdominálně, méně často pak transcervikálně (ne v ČR). Výhodou odběru choriových klků (CVS) oproti amniocentéze je možnost časnější diagnostiky (například v návaznosti na prvotrimestrální screening vývojových vad).

Riziko výkonu je stejné jako v případě amniocentézy (riziko ztráty těhotenství 0,5–1 %). Určitou nevýhodou CVS je riziko placentárního mozaicismu, který může být zdrojem diagnostických nejistot. Zjištěné chromozomální odchylky proto musí být ještě potvrzeny vyšetřením plodové vody, neboť nález v buňkách trofoblastu nemusí ještě znamenat stejné postižení tkání plodu.

Choriové klky se skládají ze tří vrstev. Vnější vrstvou je syncytiotrofoblast, střední vrstvou cytotrofoblast a vnitřní vrstvou je mezenchymové jádro. Střední vrstva obsahuje spontánně se dělicí buňky, proto je možné získat mitózy přímým zpracováním, nebo lépe po jednodenní kultuře. Kvalita těchto spontánních mitóz je ale nízká, proto je vhodné nasadit z choriových klků i dlouhodobou kulturu a získat kvalitnější mitózy z mezenchymového jádra pro spolehlivější záchyt drobných chromozomových aberací. Místo hodnocení chromozómů po jednodenní kultuře se v Cytogenetické laboratoři používá FISH vyšetření.

1. Přímé zpracování pro FISH vyšetření

Pro přímé zpracování je oddělena část vzorku a ještě v den odběru zpracována a připraveno sklo pro FISH vyšetření.

Metodou FISH se vyšetří aneuploidie chromozómů 13, 18 a 21 a sestava pohlavních chromozómů. Toto vyšetření vyloučí nebo potvrdí nejčastější chromozomální vady – Downův syndrom, Edwardsův syndrom, Patauův syndrom, Turnerův syndrom, Klinefelterův syndrom apod. Výsledek je znám v ideálním případě do druhého dne od odběru.

2. Dlouhodobá kultivace

Výsledek chromozomového vyšetření z choriových klků plodu lze získat po dlouhodobé kultivaci, která obvykle trvá 14 – 21 dní. Úspěšnost tohoto vyšetření je srovnatelná s vyšetřením z buněk plodové vody, ale kvalita chromozómů je nižší.

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

Pořízené kopie jsou pouze informativní!

5.1.4 Vyšetření chromozómů z tkání potráceného plodu

Odběr je prováděn za účelem chromozomálního vyšetření buněk potráceného plodu.

Z odebraného vzorku je založena v laboratoři dlouhodobá tkáňová kultura (minimálně 14 dní), proto musí být odběr proveden sterilně. Pokud byl zaslán celý plod, po odběru vzorku je plod dopraven na patologii.

Odebraná tkáň je v laboratoři přenesena do kultivačního média, ve kterém zůstává až do doby nasazení. Tkáň je přenesena na sterilní petriho misku, ve které je rozstříhána na malé segmenty, které jsou pomocí pasterky přeneseny do kultivační lahve (Sarstedt 25 cm), kde jsou umístěny v kapce média. Takto je v jedné lahvi umístěno 5-10 fragmentů, většinou jsou nasazeny 2-3 kultivační lahve. Lahve jsou označeny štítkem s evidenčním číslem a jménem pacientky. Lahve jsou vloženy do termostatu s CO₂. Za 4 -5 dní je do lahviček doplněno 3 – 5 ml kultivačního média. Za několik dní po dolití média jsou lahvičky prohlíženy ve fázovém kontrastu, měněno médium, je hodnocen růst atd.

Kultura trvá 2 – 4 týdny v závislosti na kvalitě a životaschopnosti odebraného vzorku, následuje zpracování kultury a vyhodnocení mitóz obdobným způsobem jako při kultivaci buněk plodové vody.

5.2 Postnatální vyšetření

Indikace k vyšetření

Cytogenetické vyšetření z periferní krve indikuje především lékař se specializací v lékařské genetice, případně u vybraných diagnóz indikaci provádí pediatr, internista, gynekolog, endokrinolog nebo jiný specialista.

Nejčastější důvody vyšetření:

- podezření na chromozomovou vadu (Downův sy., Edward-sův sy., Patauův sy., Turnerův sy., Klinefelterův sy. aj.)
- rodina s malformovaným dítětem
- nejasná mentální retardace, neprospívání
- mikrocefalie, genetická stigmatizace
- opakované potraty, sterilní manželství
- poruchy sekundárních pohlavních znaků, intersexy, amenorea, ženy s malou postavou, novorozenci s otoky končetin, hypospadie, makroorchidismus, azoospermie, gynekomastie

5.2.1 Vyšetření chromozómů z periferní krve

Zpracování buněk periferní krve je provedeno po krátkodobé nejčastěji třídní kultivaci po stimulaci T lymfocytů rostlinným lektinem fytohemaglutininem (PHA). Součástí zpracování je hypotonie, fixace a příprava nativních preparátů. Následuje diferenciační barvení chromozómů technikou G a R pruhození a analýza karyotypu v cca 20 mitozách ve světelném mikroskopu s použitím karyotypovacího počítačového systému. Následuje vytištění zprávy s případnou interpretací patologického nálezu.

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

Pořízené kopie jsou pouze informativní!

5.3 Vyšetření hematologických malignit

Indikace k vyšetření

Vyšetření chromozomů z buněk kostní dřeně je prováděno u hematologických maligních onemocnění na základě indikace hematologa a to především u akutních a chronických leukemií, preleukémických stavů, myeloproliferativních a lymfoproliferativních onemocnění, lymfomů a některých dalších hematologických malignit. Vyšetření slouží ke stanovení a zpřesnění diagnózy, k stanovení prognózy, monitorování průběhu onemocnění, úspěšnosti léčby a posouzení výsledků, k záchytu zbytkového patologického klonu, k stanovení individuální terapie, sledování transplantované dřeně opačného pohlaví apod.

5.3.1 Vyšetření chromozómů z kostní dřeně

Získané chromozomové anomálie jsou integrální součástí maligního procesu. Chromozomové aberace vyvolávají mutace, amplifikace a další změny určitých genů, mezi které patří především onkogeny a tumor supresorové geny.

Odebraná kostní dřeň s heparinem je převedena do transportního media a dopravena do cytogenetické laboratoře, kde je nasazena do jednodenní kultury. Ke konci kultivační doby je přidán Colcemid a následuje zpracování kultury. Součástí zpracování je hypotonie, fixace a příprava nativních preparátů. Je provedeno diferenciací pruhovací barvení chromozomů a následuje analýza karyotypu v cca 25 mitozách ve světelném mikroskopu.

5.3.2 Vyšetření chromozómů z periferní krve

Místo kostní dřeně lze u některých diagnóz použít kultivaci periferní krve bez PHA, pokud jsou do ní spontánně vyplavovány nezralé blasty. Buňky krve jsou používány také u některých vyšetření FISH.

5.4 Fluorescenční in situ hybridizace

Indikace k vyšetření

Metody FISH používáme vždy cíleně, na základě výsledků klasického cytogenetického vyšetření a po domluvě s ošetřujícím lékařem. Přímé vyšetření metodou FISH bez výsledků klasické cytogenetiky je možné jen v případech, kdy lze použít tzv. interfázickou FISH (I-FISH) na nedělících se buňkách, např. při nezdaru kultivace jakéhokoliv typu buněk pro cytogenetické vyšetření, při cíleném stanovení diagnózy v prenatalním i postnatalním poradenství, při monitorování úspěšnosti chemoterapie nebo transplantace kostní dřeně, případně při časovém stresu.

Metody mFISH/mBAND používáme vždy cíleně, na základě výsledků klasického cytogenetického vyšetření a po domluvě s ošetřujícím lékařem.

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

Pořízené kopie jsou pouze informativní!

5.4.1 Vyšetření metodou FISH, M-FISH a M-Band

Fluorescenční in situ hybridizace (FISH) slouží k analýze chromozomových odchylek v mitózách i v nedělicích se interfázních jádrech za použití DNA sond pro specifické chromozomové struktury (centromery, telomery, satelitní DNA), sond pro jedinečné genové kopie (lokus-specifické sondy) a tzv. malovacích sond pro celé chromozomy. Metodika dále platí pro analýzu chromozomových odchylek v mitózách metodou mnohobarevné fluorescenční in situ hybridizace (mFISH) a mnohobarevného pruhování s vysokou rozlišovací schopností (mBAND).

Požadavky na primární vzorek

Pro vyšetření metodami FISH jsou používány nejčastěji již připravené cytogenetické preparáty z nekultivovaných buněk či po kultivaci plodové vody, fetální krve, choriových klků, periferní krve či kostní dřeně připravené klasickým způsobem. Rovněž lze použít tkáňové řezy používané v histologii či fixované buněčné nátěry. Dále je možné provádět interfázní FISH na tkáňových řezech získaných z parafinových bločků (před hybridizací nutná deparafinizace). Takovéto speciální požadavky je třeba předběžně konzultovat.

5.5 Molekulárně-biologické metody

Indikace k vyšetření

V rámci společného pracoviště OLG a ÚKBD jsou klinickými genetiky OLG indikovány molekulárně-biologické metody a jejich výsledky interpretovány. Molekulárně-biologické metody jsou prováděny na pracovišti ÚKBD, na úseku molekulární biologie, a jako průvodce těmito metodami slouží Laboratorní příručka ÚKBD, která je dostupná na webových stránkách Fakultní nemocnice <http://ukbd.fnhk.cz/laboratorni-prirucka.html>

Spektrum molekulárně-biologických metod

Příloha č. 8

6. Procesy před laboratorním vyšetřením

6.1 Odběr biologického materiálu a doporučený odběrový systém

Cytogenetická laboratoř nemá speciální požadavky na přípravu pacienta. Informovaný souhlas s vyšetřením je uložen u zadavatele o vyšetření.

Laboratorní vyšetření se provádějí z odběrů:

1. **plodové vody**: ve sterilní vakuové zkumavce nebo transportní zkumavce
2. **fetální krve**: ve stříkačce propláchnuté heparinem
3. **choriových klků**: ve sterilním fyziologickém roztoku
4. **tkání potracených plodů**: ve fyziologickém roztoku
5. **periferní krve**: v heparinu, v odběrovém systému Vacutainer (zelená zkumavka) nebo jiným odběrovým systémem, případně v klasické stříkačce s 0,2 ml heparinu
6. **kostní dřeně**: v transportní zkumavce s médiem (dodává Cytogenetická laboratoř OLG)
7. **periferní krev od hematologických pacientů**: ve stříkačce s 0,2 ml heparinu

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

Pořízené kopie jsou pouze informativní!

Příjem materiálu:

Vzorky kostní dřeně, plodové vody, choriové biopsie a plody je možno dodat každý pracovní den, do 14 hodin. Výjimku tvoří páteční vzorky plodové vody a choriové biopsie, které je ideální dodat do 12 hodin.

Vzorky periferní krve laboratoř přijímá každý pracovní den, ideálně však ve čtvrtek.

Dodání v čase hraničícím s koncem provozní doby je nutné telefonicky oznámit, aby se zajistilo řádné převzetí vzorku a zamezilo se jeho znehodnocení.

6.1.1 Manuál pro odběr biologického materiálu

6.1.1.1 Odběr plodové vody:

Odběr se provádí nejčastěji od 17. týdne gravidity. V případě odběru provedeného ve vyšších týdnech gravidity je potřeba brát v úvahu, že přerušeni těhotenství z důvodu genetického poškození plodu je až na výjimky povoleno pouze do konce 24. týdne těhotenství. Vlastní kultivace a zhodnocení preparátu se většinou pohybuje mezi 10 – 17 dny, proto je důležitý termín provedení odběru. Je nutné počítat s dostatečnou lhůtou na kultivaci, zpracování a vyhodnocení vzorku.

Po ultrazvukovém vyšetření se těhotné pacientce provede odběr plodové vody pod kontrolou ultrazvuku a za sterilních podmínek. Vlastní odběr plodové vody provádí lékař gynekolog punkcí přes stěnu břišní při kontrole ultrazvukem, aby nedošlo k poranění plodu. Těhotná leží na lůžku, břišní stěna je dezinfikována a poté je ultrazvukovou sondou vyhledáno vhodné místo pro vpich jehlou, na kterou se nasadí sterilní vakuová zkumavka. Poloha hrotu při vpichu je neustále kontrolována ultrazvukem. Dezinfekci kůže před vpichem je třeba provádět schváleným a doporučeným dezinfekčním prostředkem, který by měl působit předepsanou dobu za vlhka - nejméně 1-2 minuty. Vlastní místo vpichu je vhodné opakovaně otřít sterilním tamponem s dezinfekčním roztokem. Pozor na kontaminaci nesterilním sonogelem! Po provedení vpichu je nutné odsát 1-2 ml plodové vody do malé stříkačky a odstranit. Tento postup má zabránit kontaminaci plodové vody mateřskými buňkami, které mohou zcela zkreslit výsledek vyšetření. Minimální odebrané množství potřebné pro vyšetření je 10 ml. Při standardním odběru je odsáto do dvou zkumavek celkem 20 ml plodové vody, tj. pouze 5 % celkového množství plodové vody. Z doneseného vzorku je v laboratoři po stočení plodové vody odsáto 2 – 5 ml supernatantu, který je dopraven na úsek RIA a imunochemických metod na UKBD k vyšetření hladiny alfafetoproteinu. Odsáté množství se do několika málo hodin opět doplní. Bolestivost výkonu je srovnatelná s běžnou injekcí nebo odběrem krve. Po výkonu, pokud se těhotná cítí dobře, může s doprovodem odejít domů.

6.1.1.2 Odběr fetální krve

Odběr fetální krve pro Cytogenetickou laboratoř je prováděn na Porodnicko-gynekologické klinice ve FN HK. Odebíráno je 0,5 – 1,5 ml fetální pupečnickové krve do stříkačky propláchnuté heparinem.

V prenatální laboratoři OLG odebere pracovník z doneseného vzorku 0,3 – 0,5 ml fetální krve do speciální hematologické umělohmotné zkumavky, vyplní žádanku a dopraví vzorek do laboratoře IV. Interní hematologické kliniky k ověření fetálního původu krve.

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

Pořízené kopie jsou pouze informativní!

6.1.1.3 Odběr choriových klků

Choriové klky musí být vždy odebrány do sterilního fyziologického roztoku v dostatečném množství (literatura uvádí 50-80 mg).

Klky je pak třeba v Cytogenetické laboratoři pečlivě oddělit od mateřské decidui a mateřské krve. Při dlouhodobé kultivaci je nebezpečí, že mateřské buňky přerostou buňky klků.

6.1.1.4 Odběr tkání potracených plodů

Cytogenetická laboratoř přijímá celý plod, část plodu (nejčastěji stehenní či hýžd'ový sval) nebo obsah dutiny děložní každý všední den do 14. hodiny.

Do laboratoře je nutné materiál dopravit v den potratu, případně je možné plod či část plodu nebo obsah dutiny děložní uložit do chladničky se 2-12°C. **Nesmí však zmrznout!**

Zasílanou část plodu je nutno odebrat sterilními nástroji (pinzeta, nůžky, skalpel). Odstraní se kůže, podkoží, fascie a odebere se ze svalu vzorek velikosti cca 5 × 5 mm (stačí i méně v závislosti na stáří a stavu plodu) a vloží se do sterilní nádoby. Jako fixační tekutinu použít fyziologický roztok, nepoužívat formalín!

Na žádanku o vyšetření je potřeba uvést:

informace o pacientce - jméno, bydliště, identifikační číslo, pojišťovna, důvod cytogenetického vyšetření, indikované vyšetření

informace o plodu – datum a hodina potratu, týden gravidity, hmotnost, délka, pohlaví plodu, zasílaný materiál. **Pokud je zasílán plod o hmotnosti 500g a více, je nutné současně zaslat List o prohlídce zemřelého!**

6.1.1.5 Odběr periferní krve

Do zkumavky Vacuette se zeleným uzávěrem, (lze použít i jiný uzavřený odběrový systém) nebo do běžné stříkačky s 0,2 ml heparinu sterilně odebrat 3-5 ml periferní krve, důkladně protřepat. Zkumavku opatřit štítkem pacienta a s vyplněnou žádankou se všemi požadovanými údaji dopravit do cytogenetické laboratoře.

6.1.1.6 Odběr kostní dřeně

Pro odběr kostní dřeně je nutná zkumavka s transportním médiem označeným datem expirace - dodává Cytogenetická laboratoř OLG, tel. 49 583 2624. Jde o sterilní zkumavky Sarstedt s 2,5 ml transportního média RPMI s bovinním sérem a antibiotiky, bez heparinu. Zkumavky skladovat v mrazícím boxe, expirace je 3 měsíce. Před odběrem zahřát médium alespoň na pokojovou teplotu.

Do odběrové stříkačky natáhnout 0,2 ml heparinu. Odebrat 1-2 ml dřeně - nejlépe první aspirát, vstříknout do transportní zkumavky, promísit. Transportní zkumavku otevírat pouze na nezbytnou dobu. Vyplnit žádanku.

Zkumavku co nejdříve po odběru dopravit na OLG - budova č. 22, 4. patro a to každý pracovní den do 14 hodin. Výjimečně je možno zkumavku uložit přes noc do chladničky 2 - 12°C, - nesmí zmrznout!!! Buňky musejí zůstat vitální.

Je třeba počítat s asi 10% neúspěšností vyšetření, která závisí především na diagnóze, množství a kvalitě odebraného materiálu.

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

Pořízené kopie jsou pouze informativní!

6.1.1.7 Odběr periferní krve u hematologických pacientů

Jako alternativu vyšetření ze dřeneš nebo spíše jako východisko z nouze lze provést vyšetření chromozomů z periferní krve, pokud obsahuje dostatek dělicích se blastů. Do stříkačky s 0,2 ml heparinu odebrat asi 2 ml krve, ponechat ve stříkačce, nepřevádět do transportního média. Pravděpodobnost získání výsledku z krve je v porovnání se dřeni podstatně nižší.

Vyšetření separovaných kmenových buněk: do stříkačky s 0,2 ml heparinu odebrat 1 ml vzorku, promíchat, dopravit na OLG. Pokud je separováno o víkendu, uložit stříkačku do chladničky.

6.2 Požadavkové listy (žádanky)

Žádanky o vyšetření chromozomů jsou součástí této laboratorní příručky (příloha č. 7) a zároveň jsou volně dostupné na webových stránkách pracoviště:

<http://www.fnhk.cz/oleg/olg-soubory-ke-stazeni>

Požadavky na vyšetření STATIM (akutní vyšetření) se do laboratoře dodávají na stejných žádankách jako pro ostatní běžná vyšetření, ale navíc se zaškrtně STATIM.

K vyšetření karyotypu z fetální krve, plodové vody a choriové biopsie je vždy přístupováno jako k akutnímu vyšetření.

Žádanka musí obsahovat tyto údaje

- jednoznačnou identifikaci pacienta jménem a příjmením včetně pohlaví, bydliště, kód pojišťovny, identifikační číslo a datum narození v případě, že nelze vyčíst z identifikačního čísla
- identifikaci lékaře (jméno lékaře, IČP, odbornost) včetně adresy
- druh odebraného materiálu
- požadované laboratorní vyšetření, urgentnost dodání výsledku vyšetření (statim)
- klinické informace o pacientovi, důvod vyšetření, kód diagnózy, indikovaná vyšetření
- datum odběru
- datum a čas příjmu vzorku

Povinné údaje na štítku transportní zkumavky:

- identifikace pacienta (jméno, příjmení, identifikační číslo, kód pojišťovny)

V případě nesouhlasu nebo chybění některých údajů na žadance, laboratoř se v nejkratší možné době spojí s odesílatelem a údaje doplní či upřesní a provede zápis o neshodě v preanalytické fázi. Pokud dojde k doručení neoznačeného nebo poškozeného materiálu, je opět proveden zápis o neshodě v preanalytické fázi.

Evidence vzorků

Všechny přijímané vzorky musí být v Cytogenetické laboratoři jednoznačně identifikovány. Na žadance se dopíše datum a čas převzetí vzorku, způsob transportu, parařa přijímajícího pracovníka. Každý vzorek je po přijetí zaevidován do záznamové knihy ambulance a výsledkové knihy (slouží pro evidenci postupu hodnocení preparátů) a je mu přiděleno

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

Pořizené kopie jsou pouze informativní!

evidenční číslo, které je dopsáno na žádanku. Následuje zápis pacienta do laboratorního informačního systému. V databázi je u každého případu uvedeno datum příjmu vzorku, jméno a identifikační číslo pacienta, diagnóza, číslo zdravotní pojišťovny, jméno a pracoviště odesílajícího lékaře a dále údaje o provedených vyšetřeních. Po ukončení vyšetření je do záznamové a výsledkové knihy a databáze doplněn výsledek, součástí database jsou výsledné zprávy. Vždy je zajištěna dohledatelnost veškerých informací souvisejících s vyšetřením. Evidenční číslo se přiřazuje nezaměnitelně jednotlivému primárnímu vzorku dle interních pravidel pracoviště.

6.3 Ústní požadavky na vyšetření, dodatečná a opakovaná vyšetření

Ústní/telefonické požadavky na dodatečná vyšetření již došlého a přijatého primárního vzorku jsou akceptovány pouze na základě komunikace žádajícího lékaře s lékařem OLG či odborným pracovníkem laboratoře s VŠ vzděláním. Pokud je vyšetření možné provést s ohledem na stabilitu a množství materiálu a/nebo jeho archivaci, je požadavek přijat, laboratoř je proveden záznam o dodatečném vyšetření do žádanky daného vzorku, je proveden záznam, kdy a kým byl požadavek přijat.

Od každého hematologického pacienta se ukládá buněčný sediment ve fixaci pro pozdější a dodatečná vyšetření, především technikou FISH. Ependorfky s buněčným sedimentem jsou skladovány v mrazícím boxu po dobu 10 let. Stejným způsobem je buněčný sediment uchován při požadavcích na FISH vyšetření u jiných primárních vzorků. Pro dodatečné FISH vyšetření u periferních kreví, fetálních kreví, plodových vod, choriových klků a dlouhodobých kultivací tkání jsou vždy 1-2 označená skla uložena do krabičky do mrazícího boxu a skladována po dobu 1 roku.

6.4 Transport primárního vzorku

- za zajištění transportu a zajištění bezpečnosti přeprave (vhodný způsob balení a označení) vždy odpovídá lékař požadující vyšetření
- se vzorky se nesmí během přepravy prudce manipulovat, aby nedošlo k mechanickému poškození – vhodná přeprava v transportních boxech
- při transportu je důležité chránit primární vzorky před světlem
- je nutné zabránit zmrznutí nebo přehřátí nad 30°C, aby se uchovala schopnost kultivace buněk a růstu in vitro
- v případě, že nelze přepravit materiál ihned po odebrání, je možné uložit vzorek do chladničky se 2-12°C (1-2 dny) – nesmí zmrznout

Vzorky **plodové vody** pocházející z pracovišť mimo FN HK do laboratoře přináší sanitární služba. Při odběru plodové vody na Porodnicko-gynekologické klinice ve FN HK je přítomen pracovník prenatální cytogenetické laboratoře, který zajišťuje bezchybné označení vzorku a jeho transport ke zpracování.

Odběr **fetální krve** pro Cytogenetickou laboratoř je prováděn na Porodnicko-gynekologické klinice ve FN HK a je přinášén sanitární službou.

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

Pořízené kopie jsou pouze informativní!

Vzorky **choriové biopsie a tkáně potracených plodů (plody)** jsou přinášeny z areálu FN HK pracovníky OLG, z pracovišť mimo FNHK sanitární službou

Vzorky **periferní krve** do laboratoře přináší sanitární služba nebo jsou doručovány potrubní poštou.

Vzorky **kostní dřene a periferní krev od hematologických pacientů** pocházející z pracovišť mimo FN do laboratoře přináší sanitární služba. V areálu FN HK jsou vzorky zasílány potrubní poštou.

7. Kritéria pro odmítnutí vadných (kolizních) primárních vzorků

Primární vzorky musí být běžně sledovatelné pomocí žádanky.

Odmítnout lze:

- Žádanku s primárním vzorkem, na které chybí nebo jsou nečitelné základní údaje
- Žádanku nebo odběrovou nádobu znečištěnou primárním vzorkem
- Nedostatečné množství primárního vzorku nutného pro zpracování (např. z důvodu rozliti či rozbití během transportu)
- Nádobu s primárním vzorkem, kde není způsob identifikace vzorku z hlediska nezaměnitelnosti dostatečný
- Primární vzorek bez žádanky (bez uvedení požadavků oprávněné osoby)
- Při transportu nebyla dodržena teplota, nebyl použit transportní box
- Primární vzorek odebrán nevhodnou odběrovou soustavou

Výjimku tvoří obtížně získatelné vzorky, které laboratoř vždy přijme a začne zpracovávat.

V cytogenetické laboratoři OLG FNHK se za obtížně získatelný vzorek považuje:

- kostní dřeň
- biopsie choria
- plodová voda
- fetální krev
- krev novorozence

Cytogenetická laboratoř se snaží ihned vyřešit co největší počet těchto událostí rychlou komunikací se žadatelem.

Při **neúplnosti údajů na žádance** a dalších komplikacích laboratoř ihned komunikuje se žadatelem o vyšetření a zajistí se veškeré potřebné informace pro možnost zpracování vzorků a uvolnění výsledků.

Pokud je dodán **primární vzorek bez žádanky nebo není jednoznačně identifikovaný**, nesmí být přijaty a v laboratoři zpracovány. Pokud se však o nenahraditelný vzorek (například krev plodu, plodová voda, choriová biopsie, kostní dřeň), laboratoř začne tento vzorek vždy zpracovávat, ale výsledky nebudou uvolněny, dokud žádající lékař nebo osoba odebírající materiál nepřevzme odpovědnost za doplnění správných identifikačních údajů.

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

Pořízené kopie jsou pouze informativní!

V případě, že vzorek nelze zpracovat (**nesprávně odebrán, znehodnocení, rozlití, rozbití během transportu, neoprávněný požadavek, nedostatečné množství apod.**), informuje pracovník laboratoře telefonicky žadatele.

Veškeré problémy s údaji, identifikací, kvalitou vzorku, transportem apod. jsou zaznamenány jako neshoda v preanalytické fázi s uvedením data, identifikací neshody, identifikací pacienta a vzorku, identifikací žadatele, závažnosti neshody, jaké bylo provedeno okamžité opatření, náprava, identifikací pracovníka laboratoře odpovědného za řešení neshody.

8. Uvolňování výsledků

8.1 Výdej výsledků

Každý výsledek chromozomového vyšetření je zapsán do laboratorního informačního systému laboratoře, z kterého je také vytištěna závěrečná zpráva.

Písemné zprávy o výsledku FISH, mFISH a mBAND jsou součástí souhrnné zprávy o cytogenetickém vyšetření pacienta.

Zpráva musí být jednoznačná, jasná, srozumitelná i pro nespecialisty a obsahuje vysvětlení klinického dopadu abnormálního nálezu. Ručně připsované poznámky ve výsledné závěrečné zprávě nemají být. Není nezbytné uvádět kultivační detaily, postupy apod.

Závěrečná zpráva obsahuje následující údaje

- Identifikace laboratoře
- Identifikace pacienta jménem a příjmením, identifikační číslo, pojišťovna, adresa
- Označení vyšetřovacího postupu
- Datum odběru
- Důvod vyšetření, diagnóza
- Odebraný materiál
- Číslo vzorku
- Identifikace žadatele
- Celkový počet hodnocených mitóz
- Karyotyp podle ISCN, sumární výsledek FISH
- Závěr s vyčerpávajícím popisem chromozomového výsledku, srozumitelná interpretace výsledku i pro nespecialistky
- Poznámky
- Identifikace hodnotitele
- Datum hodnocení
- Identifikace kontrolujícího
- Identifikace pracovníka oprávněného uvolňovat zprávu
- Datum uvolnění výsledku
- Číslování stran spolu s celkovým počtem stran

Interpretace abnormálního výsledku

Vedoucí laboratoře nebo jeho zástupce provádí závěrečnou interpretaci patologických záchytů, určí další metodický postup a do zprávy uvede:

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

Pořízené kopie jsou pouze informativní!

- Jasný popis abnormality, je-li balancovaná nebo nebalancovaná, správný zápis podle ISCN
- Pokud jde o mozaiku, uveďte počet buněk jednotlivých linií
- Jméno syndromu spojeného s abnormalitou
- Očekávaný fenotyp a klinické rysy
- Doporučení pro genetické poradenství
- Pokud kvalita analýzy nedosahuje standardní úrovně, mělo by to být uvedeno a vysvětleno
- Chromozomové varianty (satelitů, heterochromatinu, fluorescence) se do zprávy neuvádějí, aby se zabránilo nejasnostem. Jsou zaznamenány v laboratorních zápisech
- U maligních onemocnění závěrečnou interpretaci patologických nálezů provádí i odborní pracovníci se specializací na základě literatury a internetového Atlasu chromozomových abnormalit a je posouzen klinický význam zjištěných abnormálních klonů

Všechny výsledky kontroluje a uvolňuje vedoucí laboratoře, zástupce nebo jiný odborný pracovník se specializací.

Telefonické vydávání výsledků

Výsledky prenatálních vyšetření a vyšetření periferní krve laboratoř telefonicky nevydává. Telefonicky jsou vydávány pouze výsledky kostních dřeví, které jsou sdělovány pouze lékaři ze žádajícího pracoviště. O telefonickém sdělení výsledku je proveden záznam do Výsledkové knihy k údajům pacienta, kam se uvede, kdo a komu hlásil, a datum.

Termíny výsledků

Termíny výsledků (Reporting time) musejí být co nejkratší, je postupováno podle urgentnosti, nesmějí být administrativní průtahy. Výsledek musí být odeslán nejpozději příští pracovní den po kompletizaci vyšetření.

Doporučený čas Evropskou cytogenetickou asociací (ECA) pro 90% vyšetření:

| | |
|-------------------------------|---------|
| Plodová voda a dlouhodobé CVS | 21 dní |
| Fetální krev | 7 dní |
| Prenatální FISH | 4 dny |
| Periferní krev | 6 týdnů |
| Kostní dřevě | 6 týdnů |
| STATIM | 7 dní |

Rozhodnutí opakovat prenatální odběr při růstovém neúspěchu by nemělo být delší než 14 dní.

Ochrana dat

Pro mimořádnou závažnost genetických údajů nejsou výsledky laboratoře uvedeny v nemocničním informačním systému. V OLG byl vypracován samostatný laboratorní systém, který ukládá a zálohuje data v centrálním nemocničním serveru. Přístup je umožněn pouze pracovníkům oddělení na základě zajištění heslem.

8.2 Změny výsledků po jejich vydání

Laboratorní informační systém Cytogenetické laboratoře umožňuje úpravy, změny nebo vkládání dodatků do závěrečné zprávy.

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

Pořízené kopie jsou pouze informativní!

8.2.1 Oprava identifikační části

Opravou identifikační části se rozumí oprava jména a příjmení pacienta, identifikačního čísla, změna pojišťovny. V laboratorním informačním systému je u daného pacienta proveden přepis údajů oprávněným pracovníkem.

8.2.2 Oprava výsledkové části

V případě, že laboratoř zjistí chybně vydaný nález, komunikuje s žadatelem vždy vedení laboratoře, které zajistí opravu výsledkové části na závěrečné zprávě. Žadateli o vyšetření (ošetřujícímu lékaři) je dodán nový opravený výsledkový list se správnými údaji a je zřetelně identifikován jako přepracovaný. Jeho kopie je uložena do dokumentace pacienta. O opravě je proveden záznam do Výsledkové knihy, kdy a kým byla změna provedena, a o zjištěné chybě je proveden záznam jako o neshodě v postanalytické fázi a do dokumentace pacienta

8.2.3 Zrušení žádanky

Pokud se žadatel o vyšetření rozhodne zrušit vyšetření a vzorek je už zaevidován, na žádanku, do laboratorního informačního systému a do záznamové a výsledkové knihy se napíše, že vyšetření je zrušeno.

8.3 Hlášení výsledků ve varovných (kritických) intervalech

Na cytogenetická vyšetření se kritické intervaly nevztahují.

9. Způsoby řešení reklamací a stížností

Ve Fakultní nemocnici Hradec Králové stížnosti, podněty a oznámení přijímá, eviduje a zajišťuje jejich včasné vyřízení Odbor řízení kvality a kontroly. Způsob přijímání a vyřizování stížností upravuje směrnice FN HK SM_46: Stížnosti.

9.1 Reklamace

Za reklamaci je v Cytogenetické laboratoři považován nesouhlas s výsledným karyotypem ze strany žadatele, který je vyjádřen písemnou nebo ústní (telefonickou) formou.

Na základě reklamace výsledku je provedena kontrola vyšetření a žadateli je zaslán dodatek k závěrečné zprávě.

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

Pořízené kopie jsou pouze informativní!

9.2 Stížnosti

Drobnou připomínku k práci v laboratoři řeší okamžitě pracovník, který stížnost přijal, je-li to v jeho kompetenci. Jinak předává stížnost vedení laboratoře.

Písemné stížnosti nebo písemně zaznamenané závažné ústní stížnosti, které obdrží přímo laboratoř, se neprodleně posílají k vyřízení na Odbor řízení kvality a kontroly FN HK.

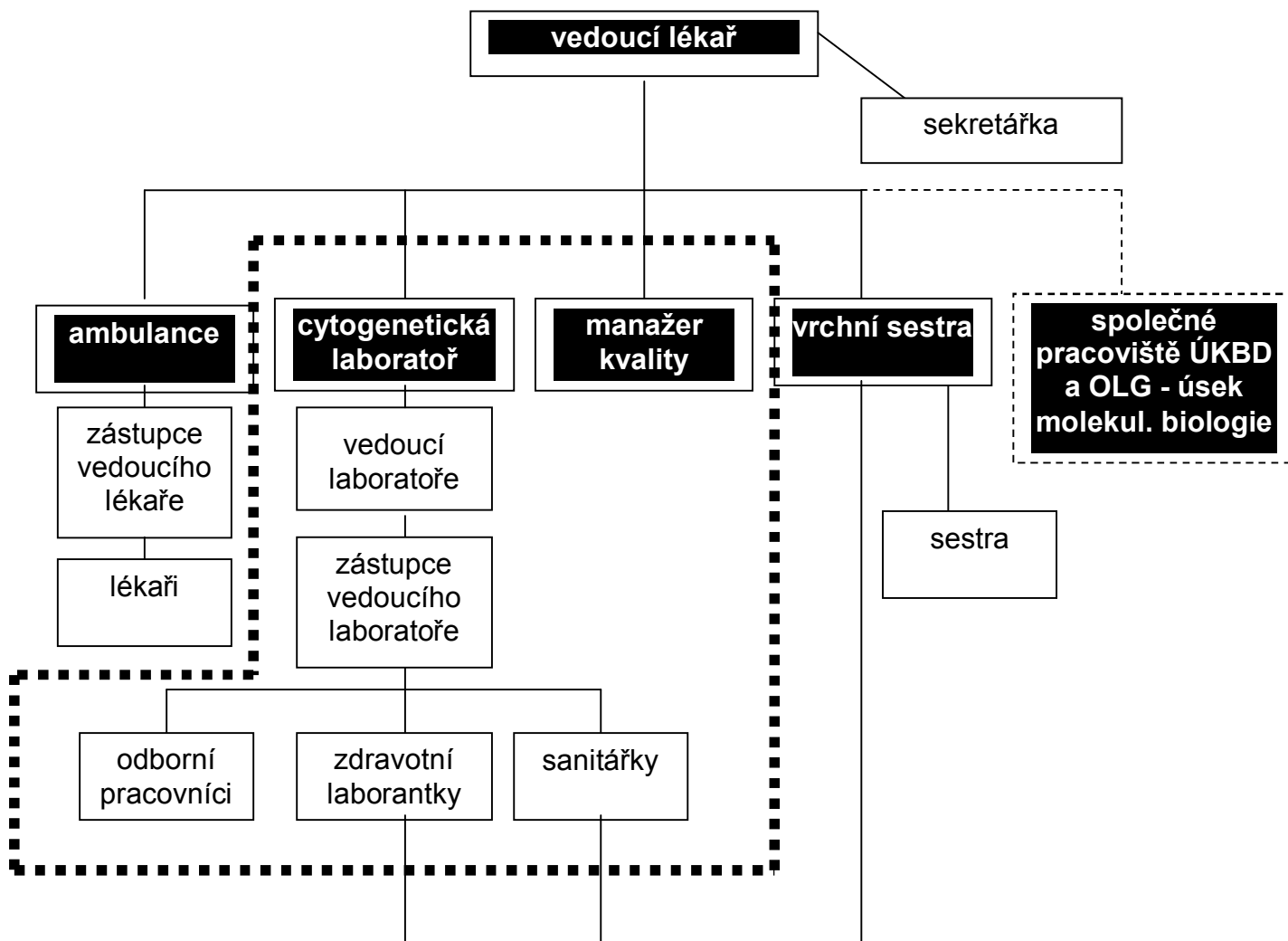
10. Přílohy

1. Organizační schéma Fakultní nemocnice Hradec Králové
2. Organizační schéma Oddělení lékařské genetiky
3. Schéma cytogenetického vyšetření
4. Seznam kódů vykazovaných zdravotním pojišťovnám
5. Vzorový karyotyp G-pruhování
6. Vzorový karyotyp R-pruhování
7. Žádanky
8. Spektrum molekulárně-biologických metod

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

Pořízené kopie jsou pouze informativní!

Organizační schéma Oddělení lékařské genetiky

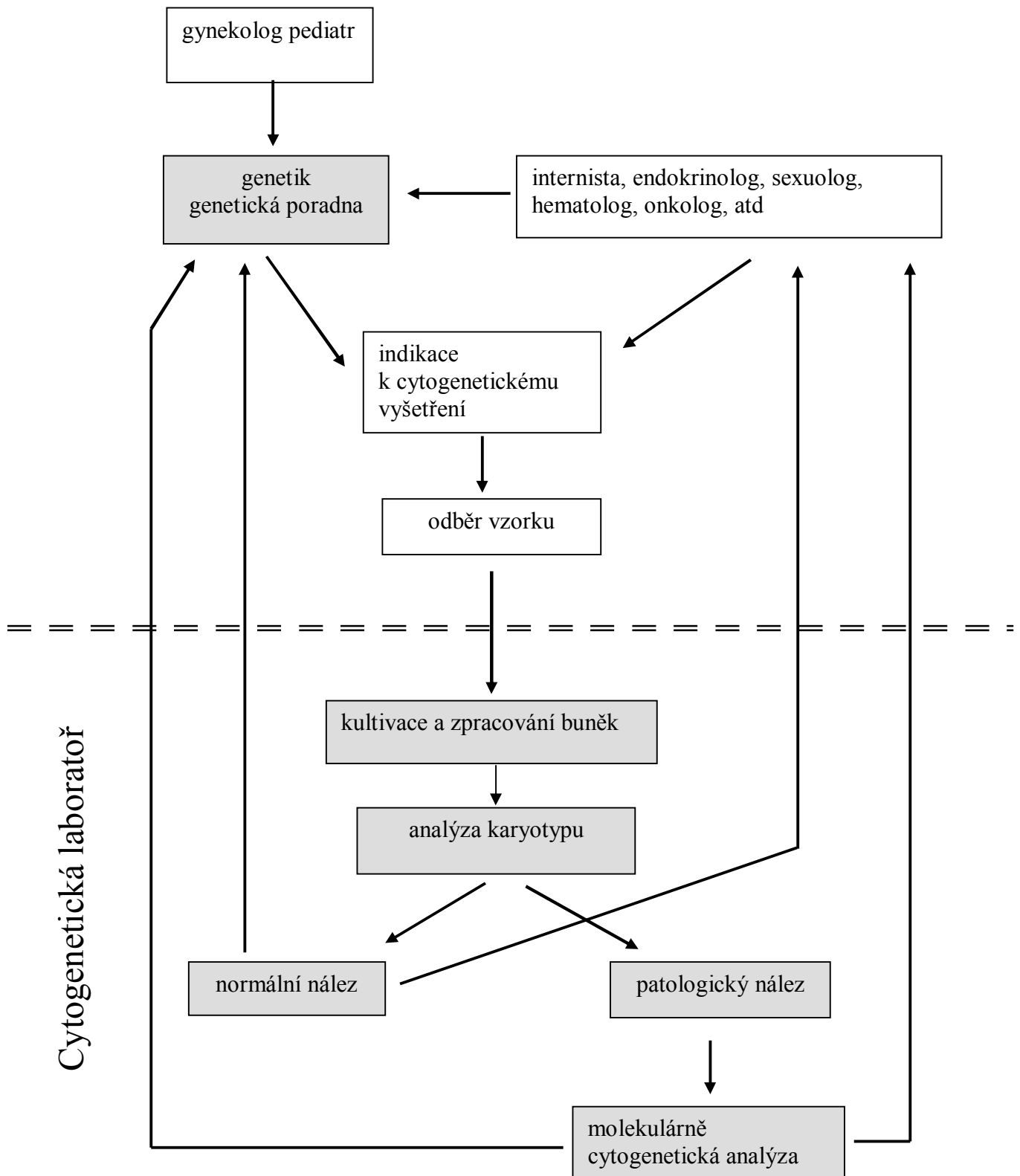


Akreditovaná
část pracoviště

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

Pořízené kopie jsou pouze informativní!

Schéma cytogenetického vyšetření



Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

Pořízené kopie jsou pouze informativní!

Seznam kódů vykazovaných pojišťovám

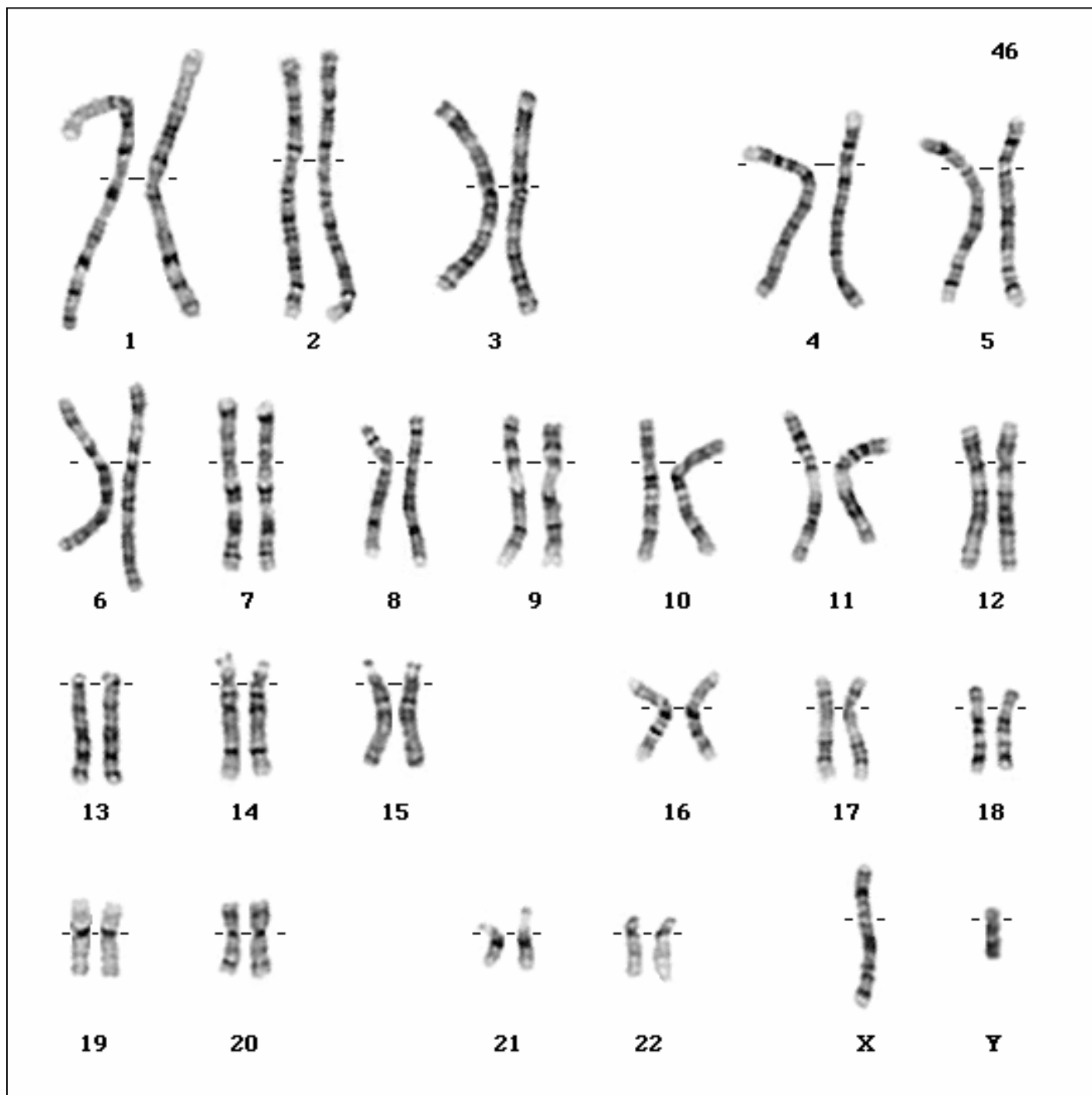
Verze dle vyhlášky: 331/2007 Sb.

| ODB | Číslo | Název |
|------------|--------------|--|
| <u>816</u> | 94115 | <u>IN SITU HYBRIDIZACE LIDSKÉ DNA SE ZNAČENOU SONDOU</u> |
| <u>816</u> | 94129 | <u>RUTINNÍ VYŠETŘENÍ CHROMOZOMU Z PERIFERNÍ KRVE</u> |
| <u>816</u> | 94131 | <u>STANOVENÍ FRAGILNÍHO X Z PERIFERNÍ KRVE</u> |
| <u>816</u> | 94133 | <u>VYŠETŘENÍ PROFAZICKÝCH CHROMOZOMŮ Z KRVE S PRUHOVÁNÍM</u> |
| <u>816</u> | 94139 | <u>RUTINNÍ VYŠETŘENÍ CHROMOZOMŮ Z PERIFERNÍ KRVE S RUTINNÍM PRUHOVÁNÍM - STATIM (EXTRA POSTUP)</u> |
| <u>816</u> | 94141 | <u>VYŠETŘENÍ CHROMOZOMŮ Z KRVE BEZ PHA STIMULACE S RUTINNÍM PRUHOVÁNÍM</u> |
| <u>816</u> | 94143 | <u>RUTINNÍ VYŠETŘENÍ CHROMOZOMŮ Z KOSTNÍ DŘENĚ PŘÍMÉ S RUTINNÍM PRUHOVÁNÍM</u> |
| <u>816</u> | 94149 | <u>VYŠETŘENÍ CHROMOZOMŮ Z KOSTNÍ DŘENĚ PŘÍMÉ A S KULTIVACÍ - STATIM</u> |
| <u>816</u> | 94151 | <u>VYŠETŘENÍ CHROMOZOMŮ Z FETÁLNÍ KRVE (BRÁT JAKO STATIMOVÉ)</u> |
| <u>816</u> | 94153 | <u>VYŠETŘENÍ CHROMOZOMŮ Z PLODOVÉ VODY</u> |
| <u>816</u> | 94159 | <u>VYŠETŘENÍ CHROMOZOMŮ Z CHORIOVÉ TKÁNĚ PŘÍMO NEBO PO KRÁTKODOBÉ KULTIVACI</u> |
| <u>816</u> | 94163 | <u>VYŠETŘENÍ CHROMOZOMŮ Z TKÁNÍ DLOUHODOBĚ KULTIVOVANÝCH</u> |
| <u>816</u> | 94165 | <u>G PRUHOVÁNÍ CHROMOZOMŮ</u> |
| <u>816</u> | 94169 | <u>R PRUHOVÁNÍ CHROMOZOMŮ</u> |
| <u>816</u> | 94173 | <u>C PRUHOVÁNÍ CHROMOZOMŮ</u> |
| <u>816</u> | 94175 | <u>HODNOCENÍ DALŠÍCH MITÓZ</u> |
| <u>816</u> | 94135 | <u>HODNOCENÍ ZÍSKANÝCH ABERACÍ V PERIFERNÍ KRVI</u> |

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

Pořízené kopie jsou pouze informativní!

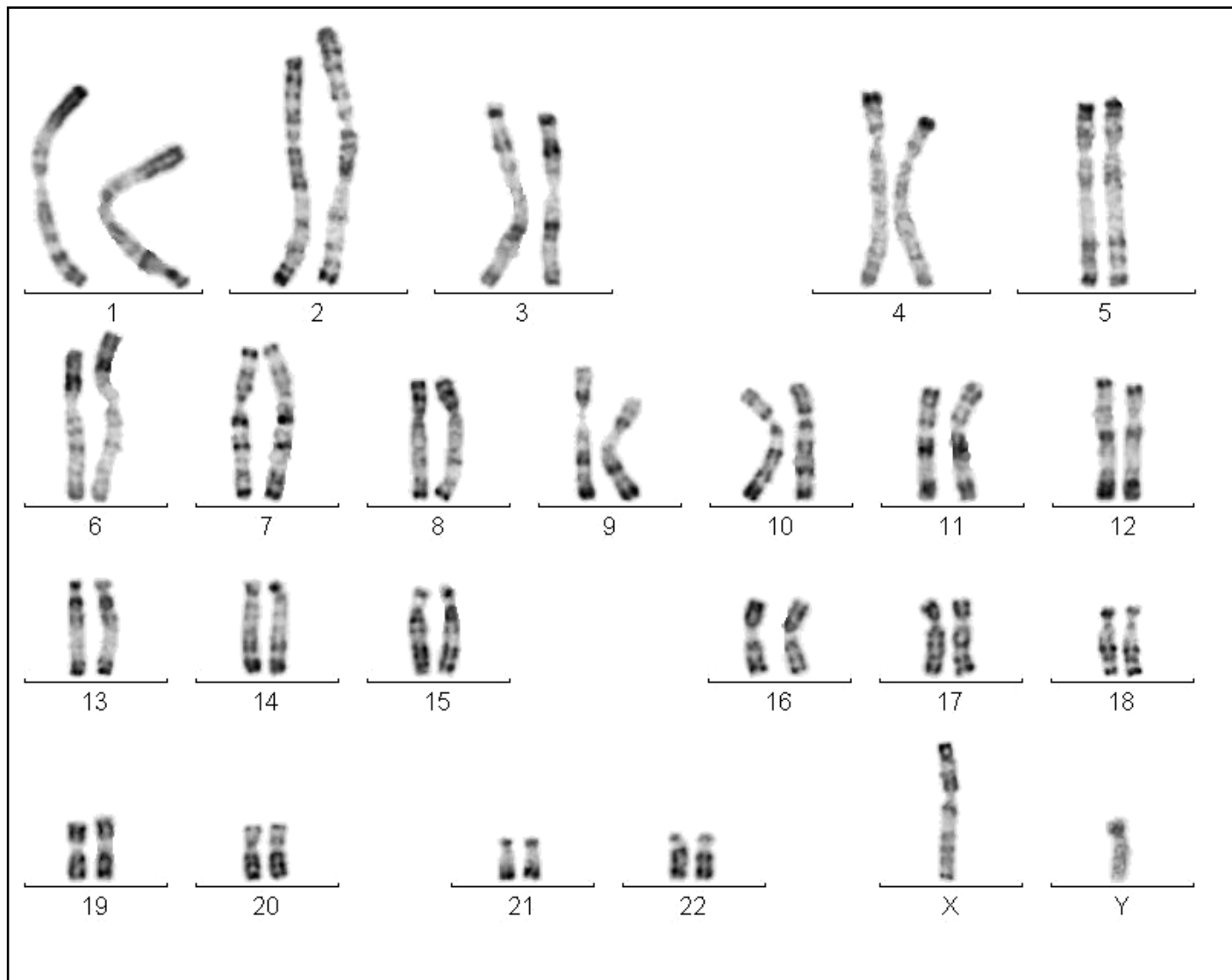
Vzorový karyotyp G-pruhování



G pruhování - 550 pruhů

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.
Pořízené kopie jsou pouze informativní!

Vzorový karyotyp R-pruhování



R pruhování

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

Pořízené kopie jsou pouze informativní!



Cytogenetická laboratoř Oddělení lékařské genetiky
Fakultní nemocnice, Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové
budova 22, 4. p., IČO 00179906, tel. 495832553, e-mail: jana.rabasova@fnhk.cz



Žádanka o prenatální vyšetření chromozomů

Laboratoř přijímá vzorky ve všední dny do 14.00. Dopravit do laboratoře v den odběru, v případě nutnosti je možné vzorek přes noc uložit do chladničky se 2-12°C – nesmí zmraznout!

jméno ženy: _____ lékař: _____
identifikační číslo: _____ klinika (odd.): _____
pojišťovna: _____ IČZ: _____
bydliště: _____ kód odbornosti: _____
poslední měsíčky dle UZ: _____ 24. týden gravidity: _____

indikovaná vyšetření: karyotyp kultivace na jiná vyšetření
 FISH:

důvod vyšetření: _____

materiál: **plodová voda**
Způsob odběru: Nejlépe 20 ml plodové vody do vakuových zkumavek nebo transportní zkumavky. Při požadavku na vyšetření metodou FISH odebrat 5 ml navíc. Odběr důsledně sterilní – důkladná dezinfekce kůže, pozor na sterilitu Sonogelu!!! K zabránění kontaminace mateřskými buňkami nejprve odebrat a odstranit cca 2 ml plodové vody

choriové klky (CVS)
Způsob odběru: Choriové klky musí být odebrány do sterilního fyziologického roztoku. Odběr důsledně sterilní – důkladná dezinfekce kůže, pozor na sterilitu Sonogelu!!!

fetální krev
Způsob odběru: 0,5 – 1,5 ml fetální pupečnickové krve do stříkačky propláchnuté heparinem.

datum odběru: _____ podpis žádajícího lékaře: _____

přijetí vzorku (vyplní laboratoř): _____ datum a čas: _____
přijal: _____
číslo vzorku: _____

Formulář F1

strana 1/1

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

Pořízené kopie jsou pouze informativní!



Cytogenetická laboratoř Oddělení lékařské genetiky
Fakultní nemocnice, Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové
budova 22, 4. p., IČO 00179906, tel. 495832553, e-mail: jana.rabasova@fnhk.cz

Žádanka o vyšetření chromozomů u hematologických malignit



Laboratoř přijímá vzorky ve všední dny do 14.00. Dopravit do laboratoře v den odběru, v případě nutnosti je možné vzorek přes noc uložit do chladničky se 2-12°C - **nesmí zmraznout!**

jméno: _____ lékař: _____
pohlaví: _____ klinika (odd.): _____
identifikační číslo: _____ IČZ: _____
pojišťovna: _____ kód odbornosti: _____
bydliště: _____ datum odběru: _____
kód diagnózy: _____ pacient po transplantaci: ano ne
upřesnění diagnózy slovně: _____ pohlaví dárce: _____

případné zaměření cytogenetického vyšetření (FISH):

materiál: dřev z hrudní kosti

dřev z kyčelní kosti

periferní krev

Způsob odběru: Do stříkačky s 0,2 ml heparinu odebrat 1-2 ml dřevě – nejlépe první aspirát, vstříknout do zkumavky s transportním médiem (pokojová teplota, otevírat pouze na nezbytnou dobu), promístit.

Způsob odběru: Do stříkačky s 0,2 ml heparinu odebrat 3 ml krve, ponechat ve stříkačce.

STATIM

podpis žádajícího lékaře: _____

přijetí vzorku (vyplní laboratoř):

datum a čas:

přijal:

číslo vzorku:

Formulář F4

strana 1/1

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

Pořízené kopie jsou pouze informativní!



Cytogenetická laboratoř Oddělení lékařské genetiky
Fakultní nemocnice, Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové
budova 22, 4. p., IČO 00179906, tel. 495832553, e-mail: jana.rabasova@fnhk.cz

Žádanka o vyšetření chromozomů z krve



Laboratoř přijímá vzorky ve všední dny do 14.00. Dopravit do laboratoře v den odběru, v případě nutnosti je možné vzorek přes noc uložit do chladničky se 2-12°C – **nesmí zmraznout!**

jméno:

lékař:

pohlaví:

klinika (odd.):

identifikační číslo:

IČZ:

pojišťovna:

kód odbornosti:

bydliště:

materiál: periferní krev

způsob odběru: Odebrat 3 ml krve odběrovým systémem Vacutainer (zelená zkumavka s heparinem) nebo jiným odběrovým systémem, případně do klasické stříkačky s 0,2 ml heparinu. Promíchat převrácením.

indikovaná vyšetření:

karyotyp

ZCA

k vyloučení mozaiky

FISH:

kód diagnózy:

STATIM

upřesnění diagnózy slovně:

datum odběru:

podpis žadajícího lékaře:

přijetí vzorku (vyplní laboratoř):

datum a čas:

přijal:

číslo vzorku:

Formulář F3

strana 1/1

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

Pořízené kopie jsou pouze informativní!



Cytogenetická laboratoř Oddělení lékařské genetiky
Fakultní nemocnice, Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové
budova 22, 4. p., IČO 00179906, tel. 495832553, e-mail: jana.rabasova@fnhk.cz

Žádanka o vyšetření potraceného plodu



Laboratoř přijímá vzorky ve všední dny do 14.00. Dopravit do laboratoře v den odběru, v případě nutnosti je možné vzorek přes noc uložit do chladničky se 2-12°C – **nesmí zmraznout! Nepoužívat formalin** jako fixační tekutinu (pouze fyziologický roztok)!

jméno ženy:

lékař:

identifikační číslo:

klinika (oddělení):

pojišťovna:

IČZ:

bydliště:

kód odbornosti:

poslední měsíčky:

datum a hodina potratu:

kód diagnózy:

týden gravidity:

důvod vyšetření:

hmotnost, délka, pohlaví plodu:

materiál:

indikovaná vyšetření: karyotyp

kultivace na jiná vyšetření

FISH:

jiné:

datum odeslání:

podpis žádajícího lékaře:

přijetí vzorku (vyplní laboratoř):

datum a čas:

přijal:

číslo vzorku:

Formulář F2

strana 1/1

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

Pořízené kopie jsou pouze informativní!

Spektrum molekulárně-biologických metod

Spektrum molekulárně-biologických metod, verze 3, říjen 2016

Aktuální informace k metodám naleznete v Laboratorní příručce ÚKBD:

<http://ukbd.fnhk.cz/laboratorni-prirucka.html>

Indikace a interpretace výsledků by měla podléhat klinickému genetikovi

| Název vyšetření | Vyšetřovaný gen (geny) | Použití |
|---|--|---|
| FRAXA (pre-screen) | FMR1 | vyšetření trinukleotidové expanze v promotoru FMR1 jako možné příčiny mentální retardace, autismu nebo poruchy řeči |
| Kongenitální hypotonie-screening (SMA1, MD1, epigenetické změny zodpovědné za PWS/AS) | SMN-1 (přítomnost homozygotní delece), DMPK (expanze CTG trinukleotidů), sledování změn v metylaci genů SNRPN a NDN pomocí MS-MLPA | vyšetření jako možné příčiny vrozené (infantilní) hypotonie |
| Centrální hypoventilační syndrom (CHS) | PHOX2B | vyšetření polyalaninové homeodomény jako možné příčiny CHS |
| CGH-array+SNP analýza | celý genom | Indikační kritéria jsou podobná jako u vyšetření karyotypu. Metodou lze zachytit i menší aberace a delece jednotlivých genů. Zatím jen postnatální diagnostika: mentální retardace, vrozené vývojové vady, faciální stigmatizace při negativním výsledku karyotypu a FRAXA |
| RhD genotypizace plodu | RhD (pouze u RhD-matek) | doplňující vyšetření pouze v případě invazivní prenatalní diagnostiky (IPD) |
| Fragmentační analýza (MLPA) | nejčastěji BRCA1, TP53, STK11 | vyšetření jako možné příčiny onkologických, onko-hematologických onemocnění, Peutz-Jeghers syndrom |
| Fragmentační analýza (MLPA) | mikrodeleční syndromy, PMP22, SHOX | doplňující vyšetření při podezření na mikrochromozomální aberaci, Charcot-Marie-Tooth disease (CMT1), Leri-Weill sy |
| Sekvenační analýza metodou Sanger | BRCA1/2, GJB2, PMP22 (CMT1), DHCR7 (SLOS), TTN, KAT6B, RUNX2, RAI 1 | velice často jako prediktivní vyšetření pro známou familiární mutaci v rodině, průkaz nosičství; screening kódujících/splite site oblastí genů: PMP22, DHCR7, GJB2, RunX2. |

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

Pořízené kopie jsou pouze informativní!

| | | |
|---------------------------------------|---|---|
| Celogenová analýza BRCA1 a BRCA2 genu | kódující /split site oblasti genu BRCA1 a BRCA2 | zahrnuje analýzu MLPA BRCA1 genu a NGS sekvenaci BRCA1 a BRCA2 genu –průkaz germline mutace |
|---------------------------------------|---|---|

Metoda FRAXA screening, sekvenování metodou Sanger a MLPA analýza je ve FN HK akreditovaná ČIA.

kontakt:

Mgr. Ema Ruzzová, Ph.D.

Oddělení lékařské genetiky FNHK

tel. 495 83 3348

ema.ruzzova@fnhk.cz

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

Pořízené kopie jsou pouze informativní!

ZÁZNAM O PROŠKOLENÍ

Potvrzuji svým podpisem, že jsem byl/a seznámen/a s obsahem Laboratorní příručky, revize ze dne 11.10. 2016. Obsahu jsem porozuměl/a a jsem schopen/na podle příručky pracovat

| Jméno a příjmení | Datum | Podpis |
|------------------|-------|--------|
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

Pořízené kopie jsou pouze informativní!

10. Revize a změnové řízení

Revize Laboratorní příručky je prováděna 1 x ročně.

| | | | |
|-----------------|---|-----------|--------------------|
| 1. Revize dne: | 14. 10. 2013 | | |
| Záznam o změně: | Verze č. 4 zrušena. Z důvodu zásadních změn vytvořena verze č. 5. | | |
| Provedl: | Mgr. Pavlína Havlíková | Schválil: | Ing. Jana Rabasová |

| | | | |
|-----------------|------------------------|-----------|--------------------|
| 2. Revize dne: | 3. 10. 2014 | | |
| Záznam o změně: | Beze změn. | | |
| Provedl: | Mgr. Pavlína Havlíková | Schválil: | Ing. Jana Rabasová |

| | | | |
|-----------------|--|-----------|--------------------|
| 3. Revize dne: | 4. 2. 2015 | | |
| Záznam o změně: | Verze č. 5 zrušena a vytvořena verze č. 6 z důvodu zásadních změn, které jsou vyznačeny v textu. | | |
| Provedl: | Mgr. Lenka Bydžovská | Schválil: | Ing. Jana Rabasová |

| | | | |
|-----------------|---|-----------|--------------------|
| 4. Revize dne: | 1. 9. 2015 | | |
| Záznam o změně: | Verze č. 6 zrušena. Vytvořena verze č. 7 - z důvodu přepracování dle nové šablony podle dokumentace FN HK, - nově bod 5.4 Molekulárně-biologické metody - nově příloha č.8 | | |
| Provedl: | Mgr. Lenka Bydžovská | Schválil: | Ing. Jana Rabasová |

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

Pořízené kopie jsou pouze informativní!

| | | | |
|-----------------|--|-----------|--------------------|
| 5. Revize dne: | 18. 1. 2016 | | |
| Záznam o změně: | Provedeny změny na straně č. 3, 10, 11, 13, 16, 17, 18 a 21. Změny jsou u textu označeny | | |
| Provedl: | Mgr. Lenka Bydžovská | Schválil: | Ing. Jana Rabasová |

| | | | |
|-----------------|--|-----------|--------------------|
| 6. Revize dne: | 11. 10. 2016 | | |
| Záznam o změně: | Provedeny změny na straně č. 5, 18. Změny jsou u textu označeny. Na straně 30 a 31 výměna přílohy č.8. | | |
| Provedl: | Mgr. Lenka Bydžovská | Schválil: | Ing. Jana Rabasová |

| | | | |
|-----------------|--|-----------|--|
| 7. Revize dne: | | | |
| Záznam o změně: | | | |
| Provedl: | | Schválil: | |

| | | | |
|-----------------|--|-----------|--|
| 8. Revize dne: | | | |
| Záznam o změně: | | | |
| Provedl: | | Schválil: | |

Tento dokument je vlastnictvím FNHK a jeho šíření mimo organizaci v jakékoliv formě bez souhlasu schvalovatele je zakázáno. Každý zaměstnanec odpovídá za to, že pracuje s platnou verzí dokumentu.

Pořízené kopie jsou pouze informativní!