



LABORATORNÍ PŘÍRUČKA

Transfuzní oddělení Fakultní nemocnice Hradec Králové

Laboratoř HLA systému a PCR diagnostiky

Účinnost od	01.10.2019	Verze č.	8
Tímto předpisem se ruší	Verze č.7, platná od 13.07.2018		

	Jméno a příjmení, funkce	Datum	Podpis
Odborný garant	Mgr. Kamila Trávníčková	25.09.2019	
Zpracoval	MUDr. Renata Kleinová	20.09.2019	
Přezkoumal	MUDr. Vít Řeháček Mgr. Kamila Trávníčková	25.09.2019	
Schválil	MUDr. Vít Řeháček	25.09.2019	

Rozdělovník		
Jméno	Funkce	Počet
MUDr. R.Kleinová	Manažer kvality	1 (originál)
	Intranet FN HK (Vnitřní předpisy)	elektronická forma
	Internet FN HK (www.fnhk.cz/ Dodavatelé a partneři/ Laboratorní příručky	elektronická forma
		Kopie 0

Tento dokument je vlastnictvím FN HK 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!

Obsah:

1. Úvod	3
2. Rozdělovník	3
3. Základní informace o laboratoři.....	4
3.1. Identifikace laboratoře, důležité údaje a kontakty	4
3.2. Zaměření laboratoře	5
3.3. Organizace laboratoře a její vnitřní členění.....	5
3.4. Systém kontroly kvality (úroveň a stav akreditace pracoviště).....	7
4. Pojmy a zkratky.....	7
5. Přehled prováděných vyšetření.....	8
6. Procesy před laboratorním vyšetřením	8
6.1. Manuál pro odběr biologického materiálu	8
6.1. a) Vyšetření sérologickou metodou	8
6.1. b) Vyšetření molekulárně genetické	9
6.1. c) Časová odezva	9
6.2. Požadavkové listy (žádanky)	10
6.3. Ústní požadavky na vyšetření (dodatečná a opakovaná vyšetření)	10
6.3.1. Požadavky na STATIM vyšetření.....	11
6.4. Transport primárního vzorku.....	11
6.5. Skladování vzorků.....	11
7. Kritéria pro odmítnutí vadných (kolizních) primárních vzorků	11
8. Uvolňování výsledků.....	12
8.1. Výdej výsledků	12
8.1.1. Hlášení výsledků.....	12
8.1.2. Telefonické vydávání výsledků	12
8.1.2.1. Telefonické sdělování výsledků vyšetření	12
8.1.2.2. Telefonické sdělování výsledků vyšetření	13
8.1.2.3. Komentáře k výsledkům, interpretace výsledků	13
8.2. Změny výsledků po jejich vydání (po uzavření výsledkového protokolu)	13
8.2.1. Oprava identifikační části.....	13
8.2.2. Oprava výsledkové části.....	14
8.2.3. Zrušení žádanky	14
8.3. Hlášení výsledků ve varovných (kritických) intervalech.....	14
9. Způsoby řešení reklamací a stížností.....	14
9.1. Reklamace	14
9.2. Stížnosti.....	14
9.3. Konzultační činnost laboratoře.....	14
10. Přílohy	15
Příloha č. 1 Záznam o proškolení	15
Příloha č. 2 Žádanka o vyšetření	15
Příloha č. 3 Revize a změnová řízení	17

1. Úvod

Cílem tohoto dokumentu je podání informace zdravotnickým pracovištím o laboratorních metodách, které zajišťuje **laboratoř HLA systému a PCR diagnostiky** na Transfuzním oddělení Fakultní nemocnice v Hradci Králové.

Informace jsou zaměřeny jen na metody týkající se molekulárně genetického vyšetření laboratoře v oblasti identifikace erytrocytového RhD antigenu, tzn. kvalitativní (variantní antigen) a kvantitativní odchylky (slabý antigen) a typizace HLA antigenního systému I. a II. třídy pro program orgánových transplantací.

Laboratorní příručka je součástí řízené dokumentace a je pravidelně aktualizována.

Laboratorní příručka pro laboratoř HLA systému a PCR diagnostiky (č. 17) je v **celém rozsahu** dostupná žadatelům našich služeb na webových stránkách Fakultní nemocnice Hradec Králové:

2. Rozdělovník

Laboratorní příručka je dostupná:

- www.fnhk.cz - dodavatelé a partneři – laboratorní příručky – Laboratorní příručka laboratoře HLA systému a PCR diagnostiky
- **Intranet** – informace – vnitřní předpisy – 9 Laboratorní komplementy - Laboratorní příručka laboratoře HLA systému a PCR diagnostiky

3. Základní informace o laboratoři

3.1. Identifikace laboratoře, důležité údaje a kontakty

Laboratoř HLA systému a PCR diagnostiky, nákladové středisko 6474			
Vedoucí lékař laboratoře	MUDr. Řeháček Vít	tel. 495 833445	e-mail: rehacekv@lfhk.cuni.cz , vit.rehacek@fnhk.cz
Zástupce vedoucího lékaře, vedoucí auditor, správce dokumentace	MUDr. Kleinová Renata	tel. 495 833992	e-mail: renata.kleinova@fnhk.cz
Vedoucí laborantka, správce měřidel, přístrojový technik	Krejčí Hana	tel. 495 832 301	e-mail: hana.krejci@fnhk.cz
Odborný garant	Mgr. Trávníčková Kamila	tel. 495 833 562 fax. 495 832 025	e-mail: kamila.synkova@fnhk.cz
JOP VŠ Odpovědné osoby	Mgr. Trávníčková Kamila RNDr. Gabriela Červená, Ph.D.		
Úseková laborantka	Nováková Romana	tel. 495 833 562	e-mail: romana.novakova2@fnhk.cz
Zástupce	Kristýna Kloučková	tel. 495 833 562	e-mail: transhla@fnhk.cz
Odpovědné osoby	Dagmar Nixová	tel. 495 833 562	e-mail: transhla@fnhk.cz
	Kostková Václava	tel. 495 833 562	e-mail: transhla@fnhk.cz
	Radová Monika	tel. 495 833 562	e-mail: transhla@fnhk.cz
	Ivana Vaňková	tel. 495 833 562	e-mail: transhla@fnhk.cz
	Vavrušková Andrea	tel. 495 833 562	e-mail: transhla@fnhk.cz
	Bc. Tereza Beková	tel. 495 833 562	e-mail: transhla@fnhk.cz
	Veronika Bohdanecká	tel. 495 833 562	e-mail: transhla@fnhk.cz
	Erika Bojanovská	tel. 495 833 562	e-mail: transhla@fnhk.cz
	Bc. Tereza Myšková	tel. 495 833 562	e-mail: transhla@fnhk.cz

Adresa	Transfuzní oddělení, Fakultní nemocnice, Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové – Nový Hradec Králové, IČO: 00179906		
Vedoucí lékař TO	MUDr. Řeháček Vít	tel. 495 833 445 fax. 495 833 020	e-mail: rehacekv@lfhk.cuni.cz , vit.rehacek@fnhk.cz
Manažer kvality TO	MUDr. Kleinová Renata	tel. 495 833 992 fax. 495 833 020	e-mail: renata.kleinova@fnhk.cz
Vedoucí lékař laboratorního úseku TO	MUDr. Řeháček Vít	tel. 495 833 445 fax. 495 833 020	e-mail: rehacekv@lfhk.cuni.cz , vit.rehacek@fnhk.cz
Vedoucí laborantka TO	Krejčí Hana	tel. 495 832 301 fax. 495 833 020	e-mail: hana.krejci@fnhk.cz

Tento dokument je vlastnictvím FN HK 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!

3.2. Zaměření laboratoře

Laboratoř HLA systému a PCR diagnostiky stanovuje HLA typu vyšetřovaného jedince neboli HLA typizaci, a to pomocí dvou metod **sérologicky a molekulárně geneticky**. Sérologické vyšetření definuje HLA antigeny, tj. molekuly HLA exprimované na buněčných membránách a molekulárně genetické vyšetření určuje HLA alely, tj. sekvence oligonukleotidů kódující HLA antigeny.

Principem sérologického vyšetření je mikrolymfocytotoxický test za použití „panelu protilátek“ (soubor diagnostických sér pokrývajících spektrum známých HLA specifit). Sérologicky se stanovují HLA antigeny I. třídy (HLA-A, -B, -C) a antigen HLA-B27.

Molekulárně genetické vyšetření HLA systému se stanovuje pomocí polymerázové řetězové reakce za použití sekvenčně specifických primerů (PCR-SSP). Výsledek vyšetření je interpretován na úrovni nízkého rozlišení (low resolution).

- PCR SSP metodika slouží ke zjištění sekvence oligonukleotidů v DNA u konkrétní HLA oblasti (lokus -A*, -B*, -DRB1*, DQB1*). Detekce a následné vyhodnocení PCR produktů se provádí elektroforeticky.
- Dále provádí vyšetření RHD genotypizace (D-Weak, D-Partial) metodou PCR SSP.

3.3. Organizace laboratoře a její vnitřní členění

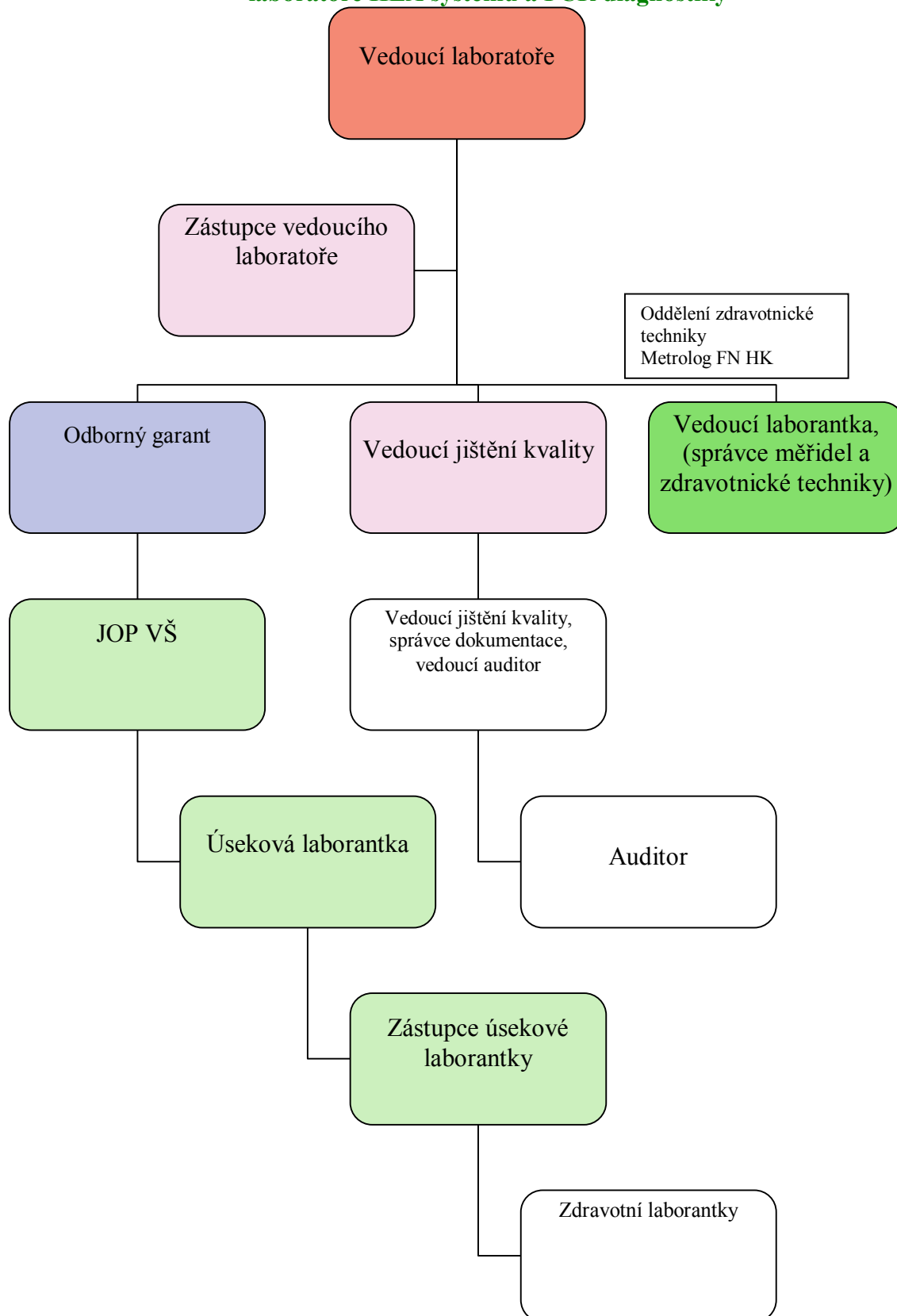
Laboratoř HLA systému a PCR diagnostiky je součástí Transfuzního oddělení Fakultní nemocnice Hradec Králové.

Provozní doba laboratoře HLA: pondělí – pátek: 7.00 – 15.30

Mimo pracovní dobu laboratoře HLA je transplantační pohotovost zajištěna na mobilním telefonu 602 872 676 (včetně soboty, neděle a státních svátků)

Po výzvě koordinátora pro orgánové transplantace (FN HK nebo KST Praha) si sloužící laborantka přichází pro odebrané vzorky osobně na určené místo.

ORGANIZAČNÍ SCHEMA
laboratoře HLA systému a PCR diagnostiky



Tento dokument je vlastnictvím FN HK 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 (úroveň a stav akreditace pracoviště)

- Pracoviště je součástí FN HK, která získala v roce 2017 Certifikát o Akreditaci od SAK ČR
- Od roku 2002 je Transfuzní oddělení držitelem Certifikátu v systému řízení kvality ČSN EN ISO 9001:2000, od roku 2009 pak ČSN EN ISO 9001:2008
- Laboratoř získala Osvědčení o úspěšném splnění podmínek AUDIT I. NASKL ČSL JEP (2009, 2011) a AUDIT II. NASKL (2013, 2015, 2017, 2019).
- Laboratoř HLA systému a PCR diagnostiky získala akreditaci ČIA pro laboratorní metody PCR podle normy ISO ČSN EN 15189:2007 (17. 5. 2013) a akreditaci ČIA pro laboratorní metody PCR podle normy ISO ČSN EN 15189:2013 (25.02.2016, 5/2017, 2018, 2019).

4. Pojmy a zkratky

CET	Continuing Education and Training, testování kontroly kvality
ČR	Česká republika
ČSN	Česká soustava norem
DNA	deoxyribonukleová kyselina
EHK	externí hodnocení kvality
EN ISO	Mezinárodní organizace pro standardizaci
HLA	Human Leukocyte Antigen (Hlavní histokompatibilní systém člověka)
IČZ	identifikační číslo zařízení
IHK	interní hodnocení kvality
ISTO	informační systém transfuzního oddělení
JOP VŠ	jiný odborný vysokoškolský pracovník
MZ	Ministerstvo zdravotnictví
PC	Personál computer (osobní počítač)
PCR	Polymerase Chain Reaction (polymerázová řetězová reakce)
SM	směrnice
SOP	standardní operační postup
SSP	Sequence Specific Primers (sekvenčně specifické primery)
SÚKL	Státní ústav pro kontrolu léčiv
VŠ	vysokoškolský pracovník
TBSDR	trombocyty smíšené, deleukotizované z buffy-coatu, v resuspenzním roztoku
SSP+	Storage Solution for Platelets
TO	Transfuzní oddělení
*	metody akreditované ČIA

5. Přehled prováděných vyšetření

IMUNOLOGIE pro orgánové transplantace:

*SOP II.3.8.21. Typizace genů HLA systému metodou PCR SSP

Princip metody: PCR SSP metodika slouží ke zjištění sekvence oligonukleotidů v DNA pacienta na konkrétní HLA oblasti (-A*, -B*, -DRB1* či -DQB1*).

Prvním krokem je cílená amplifikace (PCR reakce) vyšetřovaného vzorku DNA pomocí DNA polymerázy za použití směsi sekvenčně specifických primerů, které jsou součástí firemního kitu. Druhým krokem je separace získaných amplikonů DNA (o různé velikosti) v elektrickém poli pomocí elektroforézy a barviva ethidium bromidu. Posledním krokem je identifikace velikosti amplikonů po UV ozáření gelu a interpretace výsledku pomocí odečítacího diagramu či aktuální verze PC softwaru.

Indikační oblast: transplantační program (transplantace ledvin a kostní dřeně), příbuzenské transplantace kostní dřeně, IHK a EHK.

IMUNOHEMATOLOGIE pro genotypizaci RHD (kvalitativní a kvantitativní odchylky):

*SOP II. 3.8.22. Typizace RHD variant (Partial D-TYPE) a slabých D typů (WEAK D-TYPE) PCR SSP.

Princip metody: prvním krokem je cílená amplifikace (PCR reakce) vyšetřovaného vzorku DNA pomocí DNA polymerázy za použití směsi sekvenčně specifických primerů, které jsou součástí firemního kitu. Druhým krokem je separace získaných amplikonů DNA (o různé velikosti) v elektrickém poli pomocí elektroforézy a barviva etidium bromidu. Posledním krokem je identifikace velikosti amplikonů po UV ozáření gelu a interpretace výsledku pomocí odečítacího diagramu či aktuální verze PC softwaru.

Indikační oblast: vyšetření se provádí u dárců krve a krevních složek, novorozenců, těhotných žena a pacientů v případě diskrepantního výsledku vyšetření získaného sérologickou metodikou.

* metody akreditované ČIA

6. Procesy před laboratorním vyšetřením

6.1. Manuál pro odběr biologického materiálu

6.1. a) Vyšetření sérologickou metodou

Typ laboratorní metody (vyšetření)	Laboratoř HLA (sérologická laboratoř)	
	Primární vzorek	Poznámka
Protilátky antileukocytové, antitrombocytové	5 ml srážlivé žilní krve nebo 2 ml séra	zkumavka bez protisrážlivého činidla dle firemního typu, lze i gelová (Vacutainer červená)

HLA systém I.třídy lokus A, B, C sérologicky	5 ml nesrážlivé žilní krve,	heparinum natrium dle firemního typu zkumavky Vacutainer zelená/heparin
HLA B27 antigen sérologicky	5 ml nesrážlivé žilní krve	heparinum natrium dle firemního typu zkumavky Vacutainer zelená/heparin
CM test (cross-match)	5 ml nesrážlivé žilní krve od dárce, nebo lymfocytární suspenze ze sleziny či uzliny	heparinum natrium dle firemního typu zkumavky Vacutainer zelená/heparin
	5 ml srážlivé žilní krve nebo 2-3 ml séra od příjemce	zkumavka bez protisrážlivého činidla dle firemního typu, lze i gelová (Vacutainer červená)

6.1. b) Vyšetření molekulárně genetické

Typ laboratorní metody (vyšetření)	Laboratoř HLA (PCR laboratoř)	
	Primární vzorek	Poznámka
*HLA systém I. a II. třídy PCR metodou	5 ml nesrážlivé žilní krve	K₂EDTA / K₃EDTA dle firemního typu zkumavky Vacutainer růžová/fialová
*Typizace RHD weak/varianty	5 ml nesrážlivé žilní krve	K₂EDTA / K₃EDTA dle firemního typu zkumavky Vacutainer růžová/fialová

* metody akreditované ČIA

6.1. c) Časová odezva

Typ laboratorní metody (vyšetření)	Laboratoř	Časová odezva	Vyšetření mimo pracovní dobu	Vyšetření STATIM
Protilátky antileukocytové	HLA (sérologická laboratoř)	1 měsíc	ne	ne
antitrombocytové				
HLA systém I. třídy lokus - A, B, C (sérologicky)	HLA (sérologická laboratoř)	5 hod. (vzorek přijmutý laboratoři do 9.00)	ne	ne
HLA-B27 (sérologicky)	HLA (sérologická laboratoř)	5 hod. (vzorek přijmutý laboratoři do 9.00)	ne	ne

Tento dokument je vlastnictvím FN HK 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!

CM test (cross-match)	HLA (sérologická laboratoř)	4 hod.	transplantační program	transplantační program (aktuální cross match)
* HLA systém I. a II. třídy oblast - A*, B*, DRB1* DQB1* metodou PCR	HLA (PCR laboratoř)	6 hod.	transplantační program	ano transplantační program kadaverózní dárce
* HLA systém I. a II. třídy oblast - A*, B*, DRB1*, DQB1* metodou PCR	HLA (PCR laboratoř)	6 hod. (do 4 dnů pro neurgentní dg.)	ne	ne
* Typizace RHD variant a slabých D typů metodou PCR	HLA (PCR laboratoř)	6 hod. (do 4 dnů pro neurgentní dg.)	ne	ano

*** metody akreditované ČIA**

6.2. Požadavkové listy (žádanky)

- název, adresa a IČZ zdravotnického zařízení – žadatele
- jméno a příjmení pacienta
- číslo pojištěnce/datum narození pacienta
- pohlaví
- zdravotní pojišťovnu pacienta
- diagnózu nemoci
- žádost o vyšetření
- datum a čas odběru vzorku
- odebraný materiál (typ vzorku)
- podpis odesílajícího lékaře

Odběry vzorků a plánovaná vyšetření jsou prováděna se **souhlasem pacienta**, který zajišťuje žadatel o vyšetření podle směrnice FN HK SM_65 Podávání informací a informovaný souhlas. Externí žadatel je zodpovědný za zajištění informovaného souhlasu pacienta a správné předání informace o manipulaci se vzorkem v laboratoři v souladu s požadavky uvedenými v informovaném souhlasu (nesouhlas s uchováním vzorku).

6.3. Ústní požadavky na vyšetření (dodatečná a opakovaná vyšetření)

Ústní nebo telefonické požadavky na dodatečná vyšetření jsou akceptovány pouze po konzultaci mezi odesílajícím lékařem a pracovníkem laboratoře s vysokoškolským vzděláním v oboru Hematologie a transfuzní lékařství / Hematologie a transfuzní služba. Podmínkou dodatečného vyšetření je správně odebraný, ještě stabilní vzorek v dostatečném množství. Přijatý dodatečný požadavek je zaevidován a proveden.

6.3.1. Požadavky na STATIM vyšetření

Požadavky na STATIM (urgentní vyšetření) jsou určeny pouze pro **genotypizaci RHD** odchylky:

- dárce krve a krevních složek (při diskrepanci ve vyšetření KS)
- u rodiček a novorozenců dle indikace lékaře Porodnicko-gynekologického oddělení (aplikace anti-D imunoglobulinu do 72 hodin po porodu)

6.4. Transport primárního vzorku

Vzorky pro sérologické metody je nutné transportovat v den odběru do **9.00 hodin** z důvodu zachování životnosti lymfocytů v preanalytickém zpracování vzorku. Dlouhým skladováním vzorku se snižuje životnost lymfocytů nutných k provedení laboratorní metody.

Vzorky pro PCR diagnostiku lze doručit do laboratoře v pracovní době pondělí až pátek do **9.00 hodin** pro vyšetření téhož dne, jinak je vyšetřeno následující pracovní den dle časové odezvy viz 6.1. c).

V případě jakýchkoliv dotazů ohledně odběru a transportu vzorků lze kontaktovat laboratoř HLA systému a PCR diagnostiky na telefonu: **495833562**

Příjem materiálu k vyšetření probíhá v laboratoři expedice TO s nepřetržitým provozem 24 hodin denně.

6.5. Skladování vzorků

Před transportem a během transportu:

- a) primární vzorky pro vyšetření sérologickými metodami (odběr vzorku v heparinu) se po odběru a při transportu skladují při teplotě **+22°C ± 2°C**,
- b) primární vzorky pro vyšetření PCR metodou se po odběru a při transportu skladují při teplotě **+2°C až +8°C**,
- c) izolovaná DNA v označené PCR mikrozkušavce se skladuje a transportuje v mrazícím boxu při teplotě **≤ -20°C**.

7. Kritéria pro odmítnutí vadných (kolizních) primárních vzorků

Identifikační označení primárního vzorku

- Správně zvolená zkumavka pro požadované vyšetření
- Zkumavka uzavřená uzávěrem (dle typu firemní zkumavky)
- Zkumavka nepotřísněná biologickým materiálem (krví)
- Číselný kód vyšetření laboratoře nesmí překrývat identifikační štítek na zkumavce z oddělení.

► SPRÁVNĚ OZNAČENÝ VZOREK

Na štítku uveďte tyto údaje jednoznačně identifikující vyšetřovaného v souladu s údaji na žadance:

- 1. dárce** číselný kód odběru (pro dárce krve)
- 2. pacient** jméno pacienta
 číslo pojištěnce (nebo datum narození)
 datum odběru vzorku

Vzorek krve **nesmí být hemolytický !**

Vyšetřují se jen správně označené vzorky!

► **Chybně označený vzorek** a vzorky nesplňující požadavky na standardní značení a odběr nelze vyšetřit (rozbití zkumavky, potřísněný biologickým materiálem, nedostatečné množství materiálu, neoprávněný požadavek, znehodnocený vzorek), **vzorky se zlikvidují** na TO dle platných vnitřních předpisů – směrnice FN SM_05 „Nakládání s odpady“ a nutně musí být vyžádán odběr **nového vzorku** dle požadavků standardního značení.

Zacházení s tzv. vzácnými (jedinečnými) vzorky je v laboratoři HLA systému a PCR diagnostiky řízeno Metodickým pokynem č. 04/09.

Požadavek na zaslání nového vzorku k vyšetření

- vyřizuje **v pracovní době** laborantka přijímající materiál k vyšetření **telefonickou** domluvou s žadatelem o vyšetření:
 - provede záznam na zaslanou žádanku – **jméno** kontaktní osoby na oddělení, které byl požadavek předán, **čas** telefonického oznámení požadavku,
 - provede záznam do deníku „Neshody v preanalytické fázi“.

Odmítnout lze tyto případy:

- žádanku o vyšetření, kde chybí nebo jsou nečitelné základní údaje, které nelze telefonicky doplnit a ověřit,
- žádanku o vyšetření nebo zkumavku potřísněnou biologickým materiálem,
- nedostatečné množství materiálu způsobené chybným odběrem, rozlítím, rozbitím odběrové nádoby,
- chybně nebo nedostatečně označený primární vzorek,
- chybně odebraný primární vzorek (jiná, než doporučená odběrová nádoba, jiný protisrážlivý roztok, sražený, hemolytický primární vzorek),
- nedodržení podmínek odběru a transportu vzorku určených v LP.

8. Uvolňování výsledků

8.1. Výdej výsledků

8.1.1. Hlášení výsledků

je prováděno podle SM_65 Vedení zdravotnické dokumentace ve FN HK. Hlášení výsledků obsahuje úplnou formu výsledku, případné poznámky či komentáře.

- Dokumentace výsledků vyšetření je uložena v databázi informačního systému Transfuzního oddělení.

Výsledky vyšetření jsou žadateli zasílány v písemné formě poštou v časové odezvě uvedené v tabulce č. 6.1.c).

8.1.2. Telefonické vydávání výsledků

je na laboratoři řízeno vnitřní směrnici č. 5.8. Sdělování výsledků dle normy ISO ČSN EN 15189.

■ **Výsledky vyšetření se telefonicky pacientům nesdělují.**

- a) pracovník laboratoře má v odůvodněných případech právo odmítnout telefonickou žádost o sdělení výsledku vyšetření,
- b) ve vnitřní směrnici č. 5.8./15189 jsou uvedeny případy, kdy pracovník laboratoře může výsledek vyšetření sdělit.

8.1.2.1. Telefonické sdělování výsledků vyšetření

- HLA genotypizace: HLA systém I. a II. třídy (A*, B*, DRB1*, DQB1*)

Tento dokument je vlastnictvím FN HK 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!

- genotypizace RHD odchylek (D weak/varianta)

je v rámci FN HK pro:

- Porodnická a gynekologická klinika
- Dětská klinika
- koordinátorka transplantačního centra IV. interní hematologické kliniky FN HK
- koordinátorka MTC (Mezioborové transplantační centrum Urologické kliniky FN HK)

8.1.2.2. Telefonické sdělování výsledků vyšetření

- HLA genotypizace: HLA systém I. a II. třídy (A*, B*, DRB1*, DQB1*)
pro **KST Praha** (Koordinační středisko transplantací Praha), kdy se **výsledky vyšetření** z laboratoře HLA systému a PCR diagnostiky z transplantační služby odesílají pomocí elektronického komunikačního systému **TRINIS**.

V případě selhání systému lze sdělit výsledky vyšetření **faxem**, vytištěné potvrzení o odeslání zprávy faxem obsahuje datum, čas, příjemce výsledků, odesílatele výsledků, počet stran výsledků. Zakládá se k dokumentaci dárce.

■ Pravidla pro telefonické sdělování výsledků

- otázka k ověření totožnosti volající strany
 - nabídka pro volajícího je:
- odeslat **OPIS** výsledku vyšetření,
- odeslat **e-mail**: transexp@fnhk.cz nebo transhla@fnhk.cz
(jméno pacienta, identifikační číslo, číslo vyšetření, výsledek vyšetření, jméno odesílající laborantky).

8.1.2.3. Komentáře k výsledkům, interpretace výsledků

Vyšetření antileukocytových protilátek:

Interpretace výsledku:

1) **Negativní**: nebyla zachycena žádná pozitivní reakce s panelem použitých leukocytů.

Pacient nemá v plazmě antileukocytové protilátky reagující s aktuálně použitým panelem leukocytů.

2) **Pozitivní**: byla zachycena alespoň jedna pozitivní reakce s panelem použitých leukocytů.

Pacient má antileukocytové protilátky v plazmě. Číselný údaj v % vyjadřuje počet pozitivních reakcí v aktuálně použitém panelu 30 leukocytů (např. 20 % = 6 pozitivních z 30). Vzhledem k variabilitě používaného panelu leukocytů nelze při opakování vyšetření interpretovat změnu výsledku do $\pm 10\%$ jako projev zlepšení nebo zhoršení stavu.

■ Odpovědnost za sdělování výsledků vyšetření :

- odborný garant laboratoře + odpovědné osoby

8.2. Změny výsledků po jejich vydání (po uzavření výsledkového protokolu)

8.2.1. Oprava identifikační části

Opravy v identifikační části výsledkové zprávy jsou evidovány v protokolu Změna zprávy:

- a) odpovědná osoba provede opravu v textu v databázi SW,
- b) vytiskne opravený (správný) výsledek vyšetření,

c) provede kontrolu správnosti (metoda 4 očí) a předá k uvolnění výsledku vyšetření odpovědné osobě.

d) původní zprávu označí: datum, „**OPRAVA**“ výsledku, jmenovka + podpis, v textu podtrhne chybný údaj, který byl opraven a založí do evidence neshod „Změna zprávy“ (datum, čas, číslo vyšetření, jmenovka + podpis).

8.2.2 Oprava výsledkové části

Opravy ve výsledkové části jsou evidovány v protokolu Změna zprávy:

a) odpovědná osoba provede opravu v textu v databázi IS TO

b) vytiskne opravený (správný) výsledek vyšetření

c) provede kontrolu správnosti (metoda 4 očí) a předá k uvolnění výsledku vyšetření odpovědné osobě

d) původní zprávu označí: datum, „**OPRAVA**“ výsledku, jmenovka + podpis, v textu podtrhne chybný údaj, který byl opraven a založí do evidence neshod „Změna zprávy“ (datum, čas, číslo vyšetření, jmenovka + podpis).

Výsledky, které byly propuštěny mimo TO, musí být označeny jako **závažná neshoda** a musí být zaznamenány do karty neshod, případně nahlášeny jako nežádoucí událost.

O neshodě musí být neprodleně informován žadatel, kterému je ihned po opravě odeslán nový výsledkový list se správnými údaji.

8.2.3 Zrušení žádanky

Zrušení žádanky žadatelem – po telefonické domluvě.

Zrušení žádanky z důvodu velký neshod v základních údajích – telefonická žádost o vydání nové žádanky, provede se záznam do listu chybová hlášení.

8.3. Hlášení výsledků ve varovných (kritických) intervalech

Pro laboratoř HLA systému a PCR diagnostiky je povinnost STATIM vyšetření pouze u genotypizace RHD u rodiček a novorozenců po porodu, kdy je rozhodující interval pro podání anti-D imunoglobulinu do 72 hodin po porodu RhD pozitivního plodu RhD negativní matce.

9. Způsoby řešení reklamací a stížností

9.1. Reklamace

Reklamace jsou řešeny individuálně telefonicky nebo e-mailem.

9.2. Stížnosti

Ve Fakultní nemocnici v Hradci Králové přijímá stížnosti, podněty a oznámení, eviduje a zajišťuje jejich interpretaci a včasné vyřízení odbor řízení kvality a kontroly podle směrnice **SM_46 FN HK Postup pro vyřizování stížností.**

9.3. Konzultační činnost laboratoře

V problematice imunologie transplantací a imunohepatologie pro genotypizaci RHD antigenu v souvislosti s výsledky vyšetření podává odborný garant laboratoře a odpovědné osoby.

Otázky ohledně organizace laboratoře, laboratorních metod a organizace odběru vzorků mohou podávat vysokoškolsky vzdělání pracovníci laboratoře.

10. Přílohy

- Příloha č. 1 Záznam o proškolení
- Příloha č. 2 Žádanka o vyšetření
- Příloha č. 3 Revize a změnová řízení

Příloha č. 1
Záznam o proškolení

<p>Potvrzuji svým podpisem, že jsem se seznámila s dokumentem LABORATORNÍ PŘÍRUČKA *Laboratoř HLA systému a PCR diagnostiky V8 _platná od 01.10.2019 Obsahu jsem porozuměl/a, budu jej dodržovat a podle LP pracovat.</p>		
Jméno a příjmení	Datum	Podpis

Příloha č. 2
Žádanka o vyšetření

Laboratoř HLA systému a PCR diagnostiky
Zdravotnická laboratoř č. 8267 akreditovaná ČIA dle ČSN EN ISO 15189:2013
Transfuzní oddělení Fakultní nemocnice Hradec Králové
Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové - Nový Hradec Králové
Vedoucí laboratoře: MUDr. Vít Řeháček, tel.: 49 5833 44 5, e-mail: vit.rehacek@fnhk.cz
Kontakt: Mgr. K. Trávníčková
tel.: +420 49 5833 562, fax: +420 49 5832 025, e-mail: tranhla@fnhk.cz

ŽADANKA O VYŠETŘENÍ

Jméno a příjmení pacienta: _____ Číslo pojištěnce: _____ *Datum narození: _____ Pohlaví: <input type="checkbox"/> muž <input type="checkbox"/> žena Kód pojišťovny: _____ Diagnóza: _____	Datum a čas odběru vzorku: _____ Odebraný materiál: _____
--	--

* Pouze v případě, že číslo pojištěnce není rodným číslem pacienta

Ordinující lékař (jméno, adresa, razítko a podpis): → → → _____
 IČP: → → → → → → → → → → Pacient souhlasí s: _____
 Odbornost: → → → → → → → → → _____ vyšetřením DNA
 tel./fax/e-mail: → → → → → → → → → _____ uskladněním DNA

Požadavky na vyšetření (zaškrtněte prosím požadované vyšetření)

název vyšetření	metoda	požadavek na vzorek
<input type="checkbox"/> HLA – B27	(sérologická typizace)	5 ml/heparin
<input type="checkbox"/> HLA – A, B, Cw	(sérologická typizace HLA antigenů I. třídy)	5 ml/heparin
<input type="checkbox"/> antileukocytové protilátky	(MCT) komentář viz LP bod 8.1.2.3. Komentáře k výsledkům, interpretace výsledků	2-3 ml séra (srážlivá krev)
<input type="checkbox"/> anti-trombocytové protilátky	(Capture-P)	2-3 ml séra (srážlivá krev)
<input type="checkbox"/> Cross-match test	(MCT)	5 ml/heparin (dárce) 2-3 ml séra (příjemce)
<input type="checkbox"/> • HLA – A*, B*, DRB1*	(PCR-SSP genotypizace HLA genů I. a II. třídy)	5 ml/K ₃ EDTA
<input type="checkbox"/> • HLA – DRB1*	(PCR-SSP genotypizace genů II. třídy)	5 ml/K ₃ EDTA
<input type="checkbox"/> • Weak, Partial-D-Type	(PCR-SSP RHD genotypizace)	5 ml/K ₃ EDTA

• akreditovaná metoda – ČIA

Vyšetření příbuzných pacienta indikovaného k transplantaci

Jméno a příjmení: _____ Rodné číslo: _____ Vztah k pacientovi: _____
--

Poznámka: Odběr primárního vzorku (izolace DNA) byl proveden s informovaným souhlasem pacienta a dle pokynů laboratorní příručky (www.fnhk.cz), za informovaný souhlas zodpovídá odebírající pracoviště.

Zkratky:

Capture-P detekce protilátek proti trombocytům metodou pevné fáze → → → RHD gen RH systému
 ČIA Český institut pro akreditaci → → → Weak-D-Type alby D antigen
 MCT mikrolimfocytotoxický test → → → Partial-D-Type variantní D antigen
 PCR-SSP polymerázová řetězová reakce se sékvencí specifickými primery → → →

Vyplňuje laboratoř: _____ Číslo vyšetření: _____ Datum a čas přijetí vzorku do PC: _____ Převzal a zkontroloval: _____
--

TransPHLA tabloň

Příloha č. 3

Revize a změnová řízení

1. Revize dne:	K 01.10.2019 vydána nová verze dokumentu		
Záznam o změně:	Provedené změny v dokumentu podbarveny šedivě. Změny související se stěhováním budovy č. 13. Přidán bod 8.1.2.3. Komentáře k výsledkům, interpretace výsledků :Vyšetření antileukocytových protilátek. Personální změny. Formální změny.		
Provedl:	MUDr. R. Kleinová	Schválil:	

2. Revize dne:			
Záznam o změně:			
Provedl:		Schválil:	

3. Revize dne:			
Záznam o změně:			
Provedl:		Schválil:	

4. Revize dne:			
Záznam o změně:			
Provedl:		Schválil:	

5. Revize dne:			
Záznam o změně:			
Provedl:		Schválil:	

6. Revize dne:			
Záznam o změně:			
Provedl:		Schválil:	

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

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