

	Cytogenetická laboratoř Brno Veveří 476/39, 602 00, BRNO		Kód dokumentu: S-02
	Vydání: 12	Datum vydání: 1.1.2022	Počet stran: 18

Příručka pro odběr primárních vzorků

Revize dokumentu

	Datum revize	Odpovědná osoba	Podpis
1			
2			
3			
4			
5			

Rozdělovník

Výtisk č.	Umístění	Odpovědná osoba	Podpis
1	Místnost č. 203	Romana Kamermeierová	

OBSAH

Zpracoval: Mgr. Radka Pirklová	Zkontroloval: Mgr. Diana Nikulenkov Grochová, Ph.D.	Výtisk číslo: 1
Schválil: <div style="text-align: center;"><i>RNDr. Jitka Kadlecová, PhD.</i></div>		
Tento dokument včetně všech příloh je duševním majetkem CYTOGENETICKÁ LABORATOŘ BRNO Kopírování tohoto dokumentu je přípustné pouze se souhlasem vedení společnosti.		

Cytogenetická laboratoř Brno	Příručka pro odběr primárních vzorků	Platné od: 05.09.2024
		Změna: 03
		Vydání.: 12

Úvod.....	3
1. Základní informace o laboratoři	3
2. Zaměření laboratoře a spektrum nabízených služeb	4
2.1. Nabízená laboratorní vyšetření	4
3. Prohlášení o informovaném souhlasu	5
4. Manuál pro odběr primárních vzorků.....	6
4.1. Základní informace pro uživatele laboratorních služeb	6
4.2. Identifikační označení primárního vzorku.....	6
4.3. Žádanka na laboratorní vyšetření	6
4.3.1. Požadavky na urgentní vyšetření	6
4.3.2. Ústní požadavky na vyšetření	6
4.3.3. Důvody pro odmítnutí vzorků pro zpracování.....	7
4.3.4. Způsob řešení neshod na příjmu materiálu	7
4.4. Informace pro odběr biologického materiálu včetně minimálního množství.....	7
4.4.1. Likvidace infekčního odpadu při odběru	7
4.4.2. Odběrové nádoby	7
4.4.3. Odběr plodové vody.....	7
4.4.4. Odběr choriových klků	8
4.4.5. Odběr periferní krve.....	9
4.4.6. Odběr tkáně potráceného plodu	10
4.4.7. Odběr pupečnickové krve	10
4.4.8. Bukální stěr	11
4.4.9. Krevní skvrnky.....	11
4.4.10. Embryonální DNA	11
4.4.11. Izolovaná DNA/RNA	11
4.4.12. Nasofaryngeální výtěr pro přímý průkaz přítomnosti patogenů	11
4.4.13. Vykultivovaná tkáňová kultura	12
4.5. Příjem vzorku do laboratoře	12
4.6. Transport a manipulace s biologickým materiálem (se vzorky).....	13
5. Fáze po vyšetření.....	13
5.1. Bezpečné odstraňování materiálů použitých při odběru.....	13
5.2. Manipulace a skladování materiálu	13
5.2.1. Skladování před a v průběhu vlastního vyšetření	13
5.2.2. Skladování po vyšetření	14
5.3. Dodatečná vyšetření a časový interval pro jejich požadování.....	14
5.4. Opakování vyšetření stejného primárního vzorku.....	14
6. Vydávání výsledků a komunikace s laboratoří	14
6.1. Informace o formách vydávání výsledků	14
6.2. Změny výsledků a nálezů	15
6.3. Intervaly od dodání materiálu k vydání výsledků	15
6.4. Konzultační činnost laboratoře	16
6.5. Způsob řešení stížností	16
6.6. Obecné zásady laboratoře na ochranu osobních informací	17
Přílohy	18

Cytogenetická laboratoř Brno	Příručka pro odběr primárních vzorků	Platné od: 05.09.2024
		Změna: 03
		Vydání.: 12

Úvod

Cílem dokumentu je informovat lékaře a žadatele o laboratorní vyšetření o nabídce našich služeb, poskytnout zdravotnickým pracovníkům potřebné informace před vlastním vyšetřením, o průběhu vyšetření a po vyšetření (informace o vydávání výsledků).

Tato příručka je jedním z prostředků pro komunikaci mezi lékaři a laboratoři a v neposlední řadě je prezentací naší práce. Obsahuje požadavky pro provedení správného odběru vzorků, jejich manipulaci a skladování tak, aby nebyl negativně ovlivněn výsledek laboratorních vyšetření. Žadatelé o vyšetření mají v příručce dostupné pokyny pro pacienty, formuláře pro informovaný souhlas a průvodky pro laboratorní vyšetření.

Soubor nabízených laboratorních vyšetření a metod je vytvořen a inovován dle požadavků klientů s přihlédnutím k odbornému vývoji v klinické genetice.

Laboratorní příručka je součástí řízené dokumentace laboratoře, je pravidelně aktualizována a žadatelům o vyšetření je dostupná na webových stránkách laboratoře – www.cytogenetika.cz. Žadatelé o vyšetření jsou informováni o změnách a aktualizacích. V tištěné podobě je k dispozici u správce dokumentace Cytogenetické laboratoře Brno.

1. Základní informace o laboratoři

„Cytogenetická laboratoř Brno“ má v souladu se svým přístrojovým vybavením a odbornými možnostmi stanoven soubor metod laboratorního vyšetření, který může realizovat. Zaměstnanci laboratoře splňují svým vzděláním podmínky odborné způsobilosti.

Laboratoř je akreditována dle normy ČSN EN ISO 15189:2023

Kontaktní údaje	
Cytogenetická laboratoř Brno <u>www.cytogenetika.cz</u>	Veveří 476/39, 602 00 Brno
Provozní doba laboratoře a příjem materiálu	Po - Pá : 7.00 – 15.00
Statutární zástupce: jednatelé - MUDr. Pavel Vlašín MUDr. Iva Tauberová	

Cytogenetická laboratoř Brno	Příručka pro odběr primárních vzorků	Platné od: 05.09.2024
		Změna: 03
		Vydání.: 12

Kontaktní údaje	
Vedoucí laboratoře:	RNDr. Jitka Kadlecová
Telefon:	545 247 489
E-mail:	cytogenetika @cytogenetika.cz
Manažer kvality:	Mgr. Radka Pirklová
Telefon:	545 247 489
E-mail:	cytogenetika @cytogenetika.cz
Vedoucí laborantka:	Romana Kamermeierová
Telefon:	545 247 489
E-mail:	cytogenetika@cytogenetika.cz

2. Zaměření laboratoře a spektrum nabízených služeb

Pracoviště provádí laboratorní diagnostická vyšetření cytogenetickými a molekulárně cytogenetickými metodami a metodami analýzy DNA/RNA z těchto materiálů:

- plodová voda
- choriové klky
- pupečnicková krev
- periferní krev
- tkáň potraceného plodu
- stěry bukalní sliznice
- krevní skvrnky
- volná fetální DNA z plazmy matky
- virová DNA/RNA
- izolovaná DNA a embryonální DNA po celogenomové amplifikaci
- nasofaryngeální výtěr

2.1. Nabízená laboratorní vyšetření

2.1.1 Akreditovaná vyšetření

- SOP-C1* Cytogenetické vyšetření karyotypu
 - z plodové vody, periferní krve, choriových klků, tkáně potraceného plodu a pupečnickové krve
- SOP-M1* Detekce aneuploidií chromozomů 13, 15, 16, 18, 21, 22, X a Y metodou QF-PCR
- SOP-M2* Vyšetření nejčastějších mutací genu CFTR metodou ARMS
- SOP-M3* Vyšetření variant lidského genomu metodou masivního paralelního sekvenování (MPS)

Cytogenetická laboratoř Brno	Příručka pro odběr primárních vzorků	Platné od: 05.09.2024
		Změna: 03
		Vydání.: 12

- SOP-M4* Vyšetření 3 trombofilních mutací HRM analýzou
- SOP-M6* Vyšetření mikroleceí a mikroduplikací vybraných diagnóz metodou MLPA®
- SOP-M7* Vyšetření chromozomových aberací v lidském genomu metodou array CGH
- SOP-M8* Neinvazivní detekce aneuploidií vybraných chromozomů metodou masivního paralelního sekvenování (MPS)
- SOP-M17* Vyšetření expanze CGG v 5'UTR genu *FMR1* u syndromu FRAX metodou dTP-PCR
- SOP-M20* Vyšetření 3 trombofilních mutací metodou real-time PCR

* postupy, u kterých laboratoř uplatňuje flexibilní rozsah akreditace (FRA)

Aktuální Seznamu činností prováděných v rámci flexibilního rozsahu je umístěn na webových stránkách laboratoře (<https://www.cytogenetika.cz/ke-stazeni/>)

2.1.2. Ostatní prováděná vyšetření

- Fluorescenční in situ hybridizace pro detekci mikrolečných syndromů, strukturních chromozomových aberací a mozaik aneuploidií chromozomů
- Izolace a uchování vzorku DNA z různého materiálu:
plodová voda, choriové klky, periferní a pupečnicková krev, tkáň, bukalní stěry, krevní skvrnky, volná fetální DNA, virová DNA
- Přímý průkaz cytomegalovirové DNA v plodové vodě pomocí metody PCR
- Analýza volné fetální DNA cirkulující v krvi matky pomocí metody real-time PCR
- Analýza STR markerů metodou PCR - např. pro stanovení příbuzenského vztahu či vyloučení kontaminace testovaného vzorku
- Detekce *SRY* specifických sekvencí pomocí real-time PCR
- Detekce mikroleceí azoospermatických faktorů pomocí PCR analýzy STS-markerů
- Detekce mutace G1138A v genu *FGFR3* pomocí restrikční analýzy
- Detekce nejčastějších mutací v genu *GJB2* metodou PCR a následnou DNA sekvenací
- Genotypizace HLA lokusů vázaných s celiakií pomocí PCR- SSP
- Přímý průkaz SARS-CoV-2 v nosofaryngeálním stěru pomocí metody PCR

3. Prohlášení o informovaném souhlasu

Lékař odebírající materiál pro genetické vyšetření je povinen informovat pacienty o podmínkách a významu tohoto vyšetření a pořídit písemný souhlas o tomto informování.

Pacient je vždy seznámen s účelem, povahou a důsledkem prováděného vyšetření. Svým podpisem stvrzuje, že souhlasí s odběrem a případným uchováváním odebraného genetického materiálu. Tento souhlas je vyhotoven ve dvou stejnopisech – jeden zůstává uložen v dokumentaci pacienta u lékaře – žadatele o vyšetření, druhý dostane pacient. **Laboratoř musí mít před zahájením vyšetření k dispozici nejméně kopii potvrzenou požadujícím lékařem.**

Samostatnou přílohou této příručky je formulář pro informovaný souhlas:

Souhlas vyšetřované/ho (zákonného zástupce) s genetickým laboratorním vyšetřením

Cytogenetická laboratoř Brno	Příručka pro odběr primárních vzorků	Platné od: 05.09.2024
		Změna: 03
		Vydání.: 12

Formulář ke stažení ve formátu .pdf je k dispozici na www.cytogenetika.cz.

4. Manuál pro odběr primárních vzorků

4.1. Základní informace pro uživatele laboratorních služeb

V této kapitole jsou všechny specifické pokyny týkající se správného odběru a zacházení s primárními vzorky. Tyto pokyny jsou důležité nejenom pro pracovníky laboratoře, ale i pro pracovníky odpovědné za odběry primárních vzorků či transport vzorků.

4.2. Identifikační označení primárního vzorku

Každý vzorek musí být označen štítkem s uvedením minimálně:

1. jméno a příjmení pacienta
2. rodné číslo nebo datum narození
3. v případě paternitní DNA analýzy: vzorek označen kódem „PAT č. vzorku/rok“

Ke každému vzorku musí být přiložena **Žádanka** s označeným požadovaným vyšetřením. U paternitního DNA vyšetření je proveden protokolární odběr primárního vzorku s podpisem odebírané osoby, odebírající osoby a případně (soudní znalecký DNA test) je protokol doplněn fotografií s ověřením totožnosti odebírané osoby za přítomnosti soudního znalce.

Vzory *Žádanky pro prenatální vyšetření*, *Žádanky pro postnatální*, *Žádanky pro neinvazivní prenatální test aneuploidií včetně Informovaného souhlasu*, *Protokolární odběr bukální sliznice – nesoud*, *Protokolární odběr bukální sliznice u nezletilého – nesoud*, *Protokolární odběr bukální sliznice – soud*, *Protokolární odběr bukální sliznice u nezletilého - soud* jsou součástí přílohy této Příručky.

4.3. Žádanka na laboratorní vyšetření

Formuláře *Žádanek* ke stažení ve formátu .doc a .pdf jsou k dispozici na www.cytogenetika.cz.

4.3.1. Požadavky na urgentní vyšetření

Je-li požadováno urgentní vyšetření, je třeba označit žádanku výrazně (červeně) slovem STATIM.

4.3.2. Ústní požadavky na vyšetření

Ústní požadavky na vyšetření lze připustit jen ve vyjímečných a urgentních situacích, kdy se jedná o doordínování některých vyšetření od pacientů, kteří mají již v laboratoři dodaný materiál a žádanku. Podmínkou je, že materiál splňuje kritéria pro možnost provedení vyšetření. Žádost zpracovává pracovník přijímající požadavek a postupuje dle S-04 Průchod vzorku laboratoří. Požadavek je zaznamenán do laboratorního informačního systému – Open LIMS (LIS: CPO, CPH) slovem „dožádáno“, externí žadatel je požádán o dodání nové žádanky.

Ústní požadavek na vyšetření je uskutečňován v případě žádosti o testování otcovství.

Cytogenetická laboratoř Brno	Příručka pro odběr primárních vzorků	Platné od: 05.09.2024
		Změna: 03
		Vydání.: 12

4.3.3. Důvody pro odmítnutí vzorků pro zpracování

Odmítnout lze:

- žádanku s biologickým materiálem, na které chybí nebo jsou nečitelné základní údaje a nelze je pracovníky laboratoře zjistit (povinné dle kapitoly 5.2)
- žádanku nebo odběrovou nádobu znečištěnou biologickým materiálem
- nádobu s biologickým materiálem, kde není způsob identifikace materiálu z hlediska nezaměnitelnosti dostatečný
- nádobu s biologickým materiálem, kde zjevně došlo k porušení fáze před vyšetřením (nedodržení doby dodání materiálu na zpracování, špatné uložení vzorku)
- biologický materiál bez žádanky (bez uvedení požadavků oprávněné osoby) nebo informovaného souhlasu

Poznámka

V případě, že se jedná o těžce dostupný materiál (např. plodová voda), je vždy zahájeno jeho zpracování, ale výsledky nejsou uvolněny, dokud pracovník odebírající vzorek nebo požadující lékař nepřevzme odpovědnost za jeho identifikaci.

4.3.4. Způsob řešení neshod na příjmu materiálu

V případě zjištěné nesrovnalosti mezi žádankou a materiálem (na žádance nejsou všechny požadované údaje, údaje jsou nečitelné či chybné) si laborantka přijímající materiál telefonicky dožádá potřebné informace s žadatelem o vyšetření.

Na žádanku nebo do LIS (CPO, CPH) uvede důvod telefonického dožadování, datum, čas a svoji parafu.

(Příklad: chybné rodné číslo, opraveno s lékařem. Datum, čas, parafa.)

4.4. Informace pro odběr biologického materiálu včetně minimálního množství

4.4.1. Likvidace infekčního odpadu při odběru

Nebezpečný a infekční odpad vzniklý při odběru biologického materiálu je nutné zlikvidovat dle zákona č. 541/2020 Sb. a vyhl. 306/2012 Sb.

4.4.2. Odběrové nádoby

Viz pokyny k odběru konkrétního materiálu - kap.5.4.2 – 5.4.8

4.4.3. Odběr plodové vody

Odběr plodové vody pro stanovení karyotypu plodu:

- Optimální množství pro kultivaci fibroblastů je 15 – 20 ml plodové vody, minimální množství 10 ml, pokud je požadováno ještě vyšetření metodou FISH či PCR, je třeba odebrat o cca 5 ml více.
- Odběr proveďte do sterilních stříkaček či zkumavek bez konzervačních látek, řádně označených dle uvedených pravidel.
- Přiložte vyplněnou žádanku s označeným požadovaným vyšetřením a lékařem potvrzenou kopii informovaného souhlasu

Cytogenetická laboratoř Brno	Příručka pro odběr primárních vzorků	Platné od: 05.09.2024
		Změna: 03
		Vydání.: 12

Vzorky uchovávejte v lednici při 2 – 9°C a nejlépe do 4 dnů předejte dopravci k transportu do laboratoře ve vhodné, transportním obalu – termotašce s možností použití chladících vložek.

Odběr plodové vody pro molekulárně biologické vyšetření:

- Optimální množství je 3 – 5 ml plodové vody
- Odběr proveďte do sterilních stříkaček či zkumavek bez konzervačních látek, řádně označených dle uvedených pravidel.
- Ke každému vzorku plodové vody je důležité odebrat i krev matky do zkumavky s K3EDTA popř. buklální stěr k vyloučení případné kontaminace, záměny vzorku apod. Postup pro odběr krve matky je popsán v odstavci „Odběr periferní krve pro molekulárně biologické vyšetření“
- Přiložte řádně vyplněnou žádanku s označeným požadovaným vyšetřením a lékařem potvrzenou kopii informovaného souhlasu
- Stejný postup platí i při odebírání vzorku na vyšetření virové DNA z plodové vody

Vzorky uchovávejte v lednici při 2 – 9°C a nejlépe do 4 dnů předejte dopravci k transportu do laboratoře ve vhodném transportním obalu – termotašce s možností použití chladících vložek.

4.4.4. Odběr choriových klků

Ke každému vzorku choriových klků je důležité odebrat i krev matky do zkumavky s K3EDTA k vyloučení případné kontaminace, záměny vzorku apod. Postup pro odběr krve matky je popsán v odstavci „Odběr periferní krve pro molekulárně biologické vyšetření“

Odběr choriových klků pro stanovení karyotypu plodu:

- Optimální množství pro stanovení karyotypu je cca 10 mg klků; pokud možno z různých oblastí choria, aby bylo minimalizováno riziko stanovení chybné diagnózy z důvodu placentálního mozaicismu
- Odběr proveďte do sterilních nádobek s kultivačním médiem, které od nás získáte po domluvě
- Přiložte řádně vyplněnou žádanku s označeným požadovaným vyšetřením a lékařem potvrzenou kopii informovaného souhlasu

Transport do laboratoře zajistěte nejlépe do 48 hodin. Vzorky uchovávejte v lednici při 2 – 9°C a předejte dopravci k transportu do laboratoře ve vhodném transportním obalu – termotašce s možností použití chladících vložek.

Odběr choriových klků pro molekulárně biologické vyšetření:

- K vyšetření se doporučuje odběr nejméně dvou klků z různých oblastí choria, aby bylo minimalizováno riziko stanovení chybné diagnózy z důvodu placentálního mozaicismu
- Odběr proveďte do sterilních nádobek s kultivačním médiem, které od nás získáte po domluvě, popř. do sterilních nádobek s fyziologickým roztokem
- Přiložte řádně vyplněnou žádanku s označeným požadovaným vyšetřením a lékařem potvrzenou kopii informovaného souhlasu

Transport do laboratoře zajistěte nejlépe do 48 hodin. Vzorky uchovávejte v lednici při 2 – 9°C a předejte dopravci k transportu do laboratoře ve vhodném transportním obalu – termotašce s možností použití chladících vložek.

Cytogenetická laboratoř Brno	Příručka pro odběr primárních vzorků	Platné od: 05.09.2024
		Změna: 03
		Vydání.: 12

4.4.5. Odběr periferní krve

Odběr periferní krve pro stanovení karyotypu:

- Odběr nevyžaduje speciální přípravu pacienta
- Kultivaci T-lymfocytů z periferní krve může negativně ovlivnit léčba ATB, podávání cytostatik, imunosupresiv, a také probíhající infekce organismu.

Nelze odebírat krev po transfúzi a po transplantaci kostní dřeně – výsledkem by byl karyotyp dárce

- Krev odebírejte z periferní žíly do sterilních zkumavek s heparinem lithným, optimální množství je 5 ml krve.
- Místo vpichu desinfikujte pouze alkoholem-benzínem, vyvarujte se desinfekci jodovými preparáty, které negativně ovlivňují kultivaci.
- Bezprostředně po odběru zkumavku s krví důkladně promíchejte, aby bylo zabráněno tvorbě sraženin
- Přiložte řádně vyplněnou žádanku s označeným požadovaným vyšetřením a lékařem potvrzenou kopii informovaného souhlasu

Vzorky uchovávejte v lednici při 2 – 9°C a nejlépe do 4 dnů předejte dopravci k transportu do laboratoře ve vhodném transportním obalu – termotašce s možností použití chladících vložek

Odběr periferní krve pro molekulárně biologické vyšetření:

Nelze odebírat krev po transfúzi krve (do 3 měsíců po transfúzi) a po transplantaci kostní dřeně – výsledkem by byl DNA profil dárce.

- Odběr nevyžaduje speciální přípravu pacienta
- Krev odebírejte z periferní žíly do sterilních zkumavek s K3EDTA, optimální množství je 2-5 ml krve.
- Bezprostředně po odběru zkumavku s krví důkladně promíchejte a uložte do lednice při 2 – 9 °C
- Přiložte řádně vyplněnou žádanku s označeným požadovaným vyšetřením a lékařem potvrzenou kopii informovaného souhlasu
- Stejný postup platí i při odebírání vzorku na vyšetření virové DNA z periferní krve.

Vzorky uchovávejte v lednici při 2 – 9°C a nejlépe do 4 dnů předejte dopravci k transportu do laboratoře ve vhodném transportním obalu – termotašce s možností použití chladících vložek

Odběr periferní krve matky pro neinvazivní vyšetření plodu z volně cirkulující DNA plodu v plazmě matky:

- Odběr za maximálně sterilních podmínek pro zamezení kontaminace, která by mohla vést k falešně pozitivním výsledkům
- místo vpichu je nutné pořádně očistit a desinfikovat.
- Krev odebírejte z periferní žíly do sterilních zkumavek s K3EDTA, optimální množství je 5-10 ml krve.
- Bezprostředně po odběru zkumavku s krví důkladně promíchejte a uložte do lednice při 2 – 9 °C
- Přiložte řádně vyplněnou žádanku s označeným požadovaným vyšetřením a lékařem potvrzenou kopii Informovaného souhlasu pacienta s molekulárně genetickým vyšetřením.

V co nejkratší době zajistěte transport vzorků do laboratoře ve vhodném transportním obalu – termotašce s možností použití chladících vložek

Cytogenetická laboratoř Brno	Příručka pro odběr primárních vzorků	Platné od: 05.09.2024
		Změna: 03
		Vydání.: 12

U neinvazivního vyšetření aneuploidií chr. 21, 18 a 13 resp. 13, 18, 21, X a Y u plodu z krve matky (Trisomy test a Trisomy XY test) lze odběr provádět:

1. **K3EDTA** (předpoklad doručení do laboratoře do 36 hodin od odběru)

- Odběr za maximálně sterilních podmínek pro zamezení kontaminace, která by mohla vést k falešně pozitivním výsledkům
- místo vpichu je nutné pořádně očistit a desinfikovat.
- Krev odebírejte z periferní žíly do sterilních zkumavek s K3EDTA, optimální množství je 5-10 ml krve.
- Bezprostředně po odběru zkumavku s krví důkladně promíchejte a uložte do lednice při 2 – 9 °C. Do laboratoře doručit do 36 hodin/ 2-9°C

2. **Streck zkumavky (Cell Free DNA BCT)** (předpoklad doručení do laboratoře do 7 dní od odběru)

- Odběr za maximálně sterilních podmínek pro zamezení kontaminace, která by mohla vést k falešně pozitivním výsledkům
- místo vpichu je nutné pořádně očistit a desinfikovat.
- Krev odebírejte z periferní žíly do sterilních Streck zkumavek, optimální množství je 5-10 ml krve.
- Po odběru je nutné zkumavku min. 10x převrácením důkladně, ale jemně promíchat. Po odběru zkumavky uchovávat při pokojové teplotě a dopravit do laboratoře maximálně do 7 dní. Nedávat do ledničky!

Vyšetření je možné provést od ukončeného 10. týdne těhotenství.

4.4.6. Odběr tkáně potráceného plodu

Odběr tkáně potráceného plodu pro stanovení karyotypu a pro molekulárně biologické vyšetření:

- Optimální velikost vzorku je několik mm²
- Odběr proveďte co nejsterilněji do nádoby či zkumavky s kultivačním médiem, které získáte od nás po domluvě, popř. do zkumavky s fyziologickým roztokem.
- Přiložte řádně vyplněnou žádanku s označeným požadovaným vyšetřením lékařem a potvrzenou kopii informovaného souhlasu

Transport do laboratoře zajistěte nejlépe do 48 hodin, k transportu je vhodné použít tepelně izolovaný obal- termotašku či termosku.

4.4.7. Odběr pupečnickové krve

Odběr pupečnickové krve pro stanovení karyotypu:

- Pupečnickovou krev odebírejte do sterilní stříkačky s cca 0,1 ml heparinu lithného pro 1-2 ml krve
- Po odběru krev jemně promíchejte, aby se zabránilo tvorbě sraženin
- Přiložte řádně vyplněnou žádanku s označeným požadovaným vyšetřením a lékařem potvrzenou kopii informovaného souhlasu

Cytogenetická laboratoř Brno	Příručka pro odběr primárních vzorků	Platné od: 05.09.2024
		Změna: 03
		Vydání.: 12

Vzorky uchovávejte v lednici při 2 – 9°C a v co nejkratší době zajistěte transport vzorků do laboratoře ve vhodném transportním obalu – termotašce s možností použití chladících vložek

Odběr pupečnickové krve pro molekulárně biologické vyšetření:

- Pupečnickovou krev odebírejte do sterilní stříkačky s přísadkou K3EDTA
- Přiložte řádně vyplněnou žádanku s označeným požadovaným vyšetřením a lékařem potvrzenou kopii informovaného souhlasu

Vzorky uchovávejte v lednici při 2 – 9°C a v co nejkratší době zajistěte transport vzorků do laboratoře ve vhodném transportním obalu – termotašce s možností použití chladících vložek.

4.4.8. Bukální stěr

Provádí se pomocí odběrového systému DISPOLAB, Guthrieho kartiček nebo ekvivalentního systému bez přítomnosti DNáz, RNáz a nukleových kyselin.

Před provedením stěru je potřeba nejméně hodinu nejíst, pít pouze neslazené nesycené nápoje, nekojit, nežvýkat a neprovádět hygienu dutiny ústní. Odběrovou tyčinkou vytírejte oblast mezi čelistí a vnitřní stranou tváře po dobu 30 sekund. Nedotýkejte se sterilní části odběrové tyčinky a zamezte styku s jinými materiály. Po odběru vložte odběrovou tyčinku zpět do obalu a popište ji jménem a rodným číslem pacienta. Uchovávejte při pokojové teplotě, nevkládejte do lednice.

Přiložte řádně vyplněnou žádanku s označeným požadovaným vyšetřením a informovaný souhlas nebo jeho kopii, v případě testování otcovství podepsaný protokolární odběr.

4.4.9. Krevní skvrnky

Kapilární krev se odebírá na Guthrieho kartičky (FTA papírky). Přiložte řádně vyplněnou žádanku a lékařem potvrzenou kopii informovaného souhlasu.

4.4.10. Embryonální DNA

Po domluvě laboratoř přijímá embryonální DNA po celogenomové amplifikaci prováděné pomocí GenetiSure Pre-Screen Amplification and Labeling Kitu (Agilent), PicoPLEX WGA Kitu (Rubicon Genomics) nebo pomocí jiného aktuálně používaného amplifikačního kitu. Amplifikace musí být provedena v prostorách určených pro práci s neamplifikovaným materiálem bez přítomnosti nukleáz a nukleových kyselin. V každém amplifikačním běhu musí být se vzorky amplifikován také vzorek negativní kontroly a referenční vzorky.

Embryonální DNA po celogenomové amplifikaci musí být uchovávána při teplotě 2-9°C nebo pro dlouhodobé uskladnění při teplotě -16 až -25°C a transportována při teplotě 2-9°C.

4.4.11. Izolovaná DNA/RNA

Izolovaná DNA i RNA musí být uchovávána při teplotě 2-9°C nebo pro dlouhodobé uskladnění při teplotě -16 až -25°C a transportována při teplotě 2-9°C, nejlépe na ledu.

4.4.12. Nasofaryngeální výtěr pro přímý průkaz přítomnosti patogenů

Manipulace s odběrovou soupravou musí být prováděna **za sterilních podmínek**.

- Odběrovou soupravu tvoří **dva vatové tampony, záznamová karta a zkumavka s virologickým odběrovým médiem**. Odběrové médium se uchovává v mrazničce při teplotě -20 ± 5 °C. Před odběrem je nutné médium rozmrazit tak, aby před použitím neobsahovalo kousky ledu.

Cytogenetická laboratoř Brno	Příručka pro odběr primárních vzorků	Platné od: 05.09.2024
		Změna: 03
		Vydání.: 12

- Největší výtěžnost má odběr v akutní fázi infekce, tj. v prvních třech až čtyřech dnech od rozvoje klinických příznaků onemocnění.
- Výtěr je nejlépe provést po ránu nalačno, bez předchozího používání kloktadel a jiných dezinfekcí, které zkreslují laboratorní vyšetření. Totéž mohou způsobovat některé zubní pasty.
- Pacienta před výtěrem necháme zakašlat. Jedním vatovým tamponem provedeme stěr zadní stěny nosohltanu krouživým pohybem tak, aby se setřelo co nejvíce epiteliálních buněk. Je nutné se vyhnout mandlím! Tampon vložíme do virologického odběrového média a asi uprostřed špejli zalomíme o okraj zkumavky. Druhým tamponem vytřeme obě nosní dírky a špejli opět zalomíme o okraj téže zkumavky (co možná nejmenší nařazení výtěru).
- **Provedeme přesný zápis údajů do záznamové karty**, tj. jméno, rodné číslo pacienta, kód zdravotní pojišťovny, všechny symptomy choroby, dosavadní terapii, jméno a odbornost a IČZ odesílajícího lékaře a jeho telefon.

Výtěr v odběrovém médiu ihned uložíme do chladničky při teplotě +2 až +8 °C. Ideálně co nejrychleji materiál transportovat do laboratoře. Pokud se do laboratoře dostane do 72 hodin, není nutné materiál zamrazovat, ale je nutné důsledně uchovávat při teplotě +2 až +8 °C i během transportu. Nad 72 hodin materiál zamrazíme při teplotě nejméně -18°C. Při následném transportu je nutné udržovat stejnou teplotu, při které byl materiál zamražen.

4.4.13. Vykultivovaná tkáňová kultura

Obvykle se jedná o experimentální buněčné linie kultivované na pracovišti žadatele. Doporučujeme kultivovat kultury v námi běžně používaných kultivačních lahvičkách. Vzorky jsou žadatelem obvykle dodány den před plánovaným zpracováním kultury.

Při požadavku na stanovení karyotypu z tkáňové kultury je vždy nutné předem kontaktovat zodpovědného pracovníka laboratoře.

4.5. Příjem vzorku do laboratoře

Provozní doba laboratoře

Pondělí až pátek 7 – 15 hod.

4.5.1. Příjem primárních vzorků

Vzorky pro molekulárně biologické vyšetření je možné zpracovávat v pondělí až pátek do 14 hod. Pokud vzorek dojde po této době, je uchován v lednici při teplotě 2-9°C a zpracován následující pracovní den.

Periferní a pupečnickovou krev pro vyšetření karyotypu kultivujeme v úterý a pátek, v tyto dny je třeba ji doručit do laboratoře nejpozději do 10.00 hod. V ostatní všední dny je možno vzorky krví doručit do 15.00 hod.

Plodovou vodu, choriové klky a tkáň potraceného plodu pro vyšetření karyotypu je možno zpracovat každý všední den do 15.00 hod.

Cytogenetická laboratoř Brno	Příručka pro odběr primárních vzorků	Platné od: 05.09.2024
		Změna: 03
		Vydání.: 12

4.5.2. Příjem DNA a embryonální DNA po celogenomové amplifikaci

Izolovaná DNA a embryonální DNA po celogenomové amplifikaci je přijímána po domluvě. Před okamžitým zpracováním je DNA uložena v lednici při teplotě 2-9°C, pro dlouhodobé uskladnění je DNA uložena na -16 až -25°C.

4.6. Transport a manipulace s biologickým materiálem (se vzorky)

Při transportu vzorků je nutno dodržet pokyny uvedené v kap. 5.4.2. až 5.4.10

Během přepravy je důležité chránit biologický materiál před extrémními teplotami a před mechanickým poškozením.

Pokud je transport vzorků zajišťován externí přepravní službou, musí být její zaměstnanci seznámeni s podmínkami přepravy vzorků uvedenými v této Příručce.

5. Fáze po vyšetření

5.1. Bezpečné odstraňování materiálů použitých při odběru

Nebezpečný a infekční odpad vzniklý při odběru biologického materiálu je nutné zlikvidovat dle zákona č. 541/2020 Sb. a vyhl. 306/2012 Sb.

Bezpečná likvidace biologického materiálu po vyšetření již nepotřebných vzorků je popsána v Provozním řádu Cytogenetické laboratoře. Postupy vychází z platných právních předpisů v oblasti nakládání s nebezpečnými odpady.

5.2. Manipulace a skladování materiálu

5.2.1. Skladování před a v průběhu vlastního vyšetření

Skladování primárního vzorku je definováno v S-04 Průchod vzorku laboratoří a postup je vypracován v souladu s obecnými předpisy a doporučeními odborných společností.

Vzorky, u kterých je to možné, jsou skladovány pro případné opakování vyšetření, nebo dovyšetření na základě dodatečného požadavku žadatele o laboratorní vyšetření. Vždy je posuzována kvalita biologického materiálu a jeho vhodnost pro provedení vyšetření.

Periferní krev: materiál zbylý po založení kultury je uchován po celou dobu kultivace pro případné opakované nasazení, není-li tato kultivace úspěšná.

Plodová voda: primární vzorek je uchováván po dobu 1 roku ve formě cca 5 ml plné plodové vody pro případné vyšetření molekulárně genetickými metodami.

Cytogenetická laboratoř Brno	Příručka pro odběr primárních vzorků	Platné od: 05.09.2024
		Změna: 03
		Vydání.: 12

5.2.2. Skladování po vyšetření

Pokud vyšetřovaná osoba nesouhlasí s archivací vzorku a vyjádří tuto svou vůli v odst. B3 „Informovaného souhlasu“, je veškerý materiál nespotřebovaný k vyšetření zlikvidován dle pravidel pro likvidaci biologického odpadu. Tento požadavek je zaznamenán v příslušné Příjmové knize, je „zrušen“ Souhlas s uchováním materiálu. Se vzorkem je nakládáno dle instrukce I-39 Postup práce s nearchivovanými vzorky.

V ostatních případech se fixovaná suspenze plodových vod s nálezem normálního karyotypu uchovává 1 rok v mikrozkmavkách při teplotě -16 °C až -25°C, suspenze periferních krví s nálezem normálního karyotypu se neuchovává. Veškerá suspenze s patologickým nálezem se uchovává minimálně 5 let (při vyšetření dárců gamet 10 let), nejlépe však trvale.

Veškerá vyzolovaná DNA/RNA bez patologického nálezu se uchovává v mikrozkmavkách při teplotě -16°C až -25°C po dobu 5 let, vyzolovaná DNA/RNA s patologickým nálezem a DNA dárců gamet se uchovává po dobu 10 let.

5.3. Dodatečná vyšetření a časový interval pro jejich požadování

Pravidla pro požadavky na dodatečná vyšetření jsou obdobná jako pro ústní požadavky na vyšetření (viz. kap. 5.3.2 této Příručky). Časový interval pro jejich požadování se liší podle materiálu a požadovaného vyšetření. Vždy je třeba konzultace žadatele s pracovníky laboratoře.

5.4. Opakování vyšetření stejného primárního vzorku

Platí v zásadě totéž jako pro 6.3

V případě, že je potřeba opakovat vyšetření z důvodu podezření na nesprávnost výsledku, je toto opakování provedeno na náklady laboratoře. Pokud primární vzorek již není k dispozici, je zahájena komunikace se žadatelem vyšetření o možnosti opakovaného odběru primárního vzorku.

6. Vydávání výsledků a komunikace s laboratoří

6.1. Informace o formách vydávání výsledků

Žadatelům-lékařům

- hlášení telefonem
- elektronickou poštou
- tisk Závěrečných zpráv a jejich distribuce

V rámci předběžného telefonického hlášení výsledků (závažné patologie apod.) se pracovník, který sděluje výsledky, přesvědčí o tom, komu výsledky sděluje.

Pacientkám – výhradně se souhlasem lékaře indikujícího vyšetření

- telefonický dotaz pacientky/pacienta- její/jeho totožnost si informující pracovník ověří dotazem na poslední čtyřčíslí jejího RČ

Cytogenetická laboratoř Brno	Příručka pro odběr primárních vzorků	Platné od: 05.09.2024
		Změna: 03
		Vydání.: 12

- E-mail:
 - Na webovém serveru pronajatém pouze pro tento účel bude uložena Závěrečná zpráva. Ta bude pacientce přístupná poté, co se zde pod určeným heslem zaregistruje.
 - Zpráva se po měsíci automaticky vymaže.
- tištěná forma poštou

Pacientům zásadně nejsou přímo sdělovány nálezy jakýmkoli způsobem odlišné od normy.

6.2. Změny výsledků a nálezů

Ke změně výsledků by nemělo docházet. Pokud by k němu došlo, je zaznamenáno datum a jméno osoby, která změnu dodatečně provedla.

V případě, že laboratoř zjistí chybně vydaný nález, komunikuje s žadatelem vždy vedoucí laboratoře. Žadateli o vyšetření (ošetřujícímu lékaři) je dodána nová Závěrečná zpráva se správnými výsledky.

6.3. Intervaly od dodání materiálu k vydání výsledků

Cytogenetická vyšetření

Karyotyp z plodové vody a choriových klků po kultivaci	17 dnů
Karyotyp z tkáně potracených plodů po kultivaci	21 dnů
Karyotyp z periferní krve	28 dnů
statimová vyšetření	7 dnů
Karyotyp z pupečnickové krve	7 dnů
Karyotyp z vykultivované tkáňové kultury	dle domluvy

Molekulárně cytogenetická vyšetření (FISH)

Navazuje na kultivaci a přípravu cytogenetického preparátu, poté lze výsledek vydat do 2 dnů.

Vyšetření DNA

Detekce aneuploidií z DNA izolované z nekultivovaných amniocytů nebo choriových klků (amnio PCR) do druhého prac. dne
(Ve výjimečných případech nutnosti zopakování analýzy a tedy prodloužení doby vyšetření budeme žádajícího lékaře informovat telefonicky)

Vyšetření nejčastějších mutací v genu pro cystickou fibrózu	3 týdny
Statim	5 pracovních dnů

Vyšetření na přítomnost trombofilních variant	3 týdny
---	---------

Vyšetření chromozomových aberací v lidském genomu se zaměřením na mikrodeleční/duplikační syndromy metodou array CGH	dle domluvy
--	-------------

Přímý průkaz cytomegalovirové DNA v plodové vodě pomocí metody PCR	3 týdny
--	---------

Cytogenetická laboratoř Brno	Příručka pro odběr primárních vzorků	Platné od: 05.09.2024
		Změna: 03
		Vydání.: 12

Přímý průkaz SARS-CoV-2 v nosofaryngeálním stěru pomocí metody PCR	dle domluvy
Analýza mikroleceí/mikroduplikací pomocí metody MLPA	dle domluvy
<i>(v urgentních případech je možné analýzu provést do 14 dnů).</i>	
Neinvazivní detekce nejčastějších aneuploidií metodou masivního paralelního sekvenování	3 týdny
Analýza volné fetální DNA cirkulující v krvi matky pomocí metody real-time PCR	3 týdny
Analýza STR markerů metodou PCR	
- např. pro stanovení příbuzenského vztahu či vyloučení kontaminace testovaného vzorku	3 týdny
Detekce SRY specifických sekvencí pomocí real-time PCR	3 týdny
Detekce mikroleceí azoospermatických faktorů pomocí PCR analýzy STS-markerů	3 týdny
Detekce mutace G1138A v genu <i>FGFR3</i> pomocí restriční analýzy	3 týdny
Detekce nejčastějších mutací v genu <i>GJB2</i> metodou PCR a následnou DNA sekvenací	3 týdny
Osobní test DNA otcovství	3 týdny
Znalecký test DNA otcovství	3 týdny
Mutační analýza genů asociovaných s dědičným kardiologickým onemocněním metodou masivního paralelního sekvenování	
Mutační analýza genů asociovaných s RASopatiemi metodou masivního paralelního sekvenování	dle domluvy
Genotypizace HLA lokusů vázaných s celiakií pomocí PCR-SSP	6 týdnů
Fragilní X chromozóm (FRAXA) - expanze CGG repetice v genu <i>FMRI</i>	dle domluvy
Vyšetření aneuploidií z DNA izolované z tkání	dle domluvy

6.4. Konzultační činnost laboratoře

Konzultace – osobní i telefonické – poskytují v rámci svého úvazku v Cytogenetické laboratoři lékaři-kliničtí genetici. V rozsahu daném svojí specializací, tj. především ohledně laboratorních metod, mohou poskytovat konzultace i odborní VŠ pracovníci.

6.5. Způsob řešení stížností

Zákazníci (lékaři požadující vyšetření) nebo jiné strany (státní správa, ČIA apod.) mohou podávat stížnosti na činnosti Cytogenetické laboratoře na:

- výsledky laboratorních vyšetření
- způsob jednání pracovníků
- nedodržení ujednání vyplývajících z uzavřené dohody o provedení vyšetření, zejména pak nedodržení dohodnuté lhůty

Způsob podání stížností:

- písemně – pošta/fax/e-mail

Cytogenetická laboratoř Brno	Příručka pro odběr primárních vzorků	Platné od: 05.09.2024
		Změna: 03
		Vydání.: 12

- ústně – osobní jednání/telefonicky

Jakýkoliv z výše uvedených způsobů je podnětem pro řešení stížnosti.

Vyřízení stížnosti

Při řešení stížnosti se vždy provádí:

- přešetření oprávněnosti stížnosti a činností, které ke stížnosti vedly
- určení oprávněné osoby k řešení stížnosti

Stížnosti řeší odpovědný pracovník podle druhu stížnosti následovně:

- není-li stížnost přímo určena nebo adresována vedení laboratoře, přijímá ji pracovník laboratoře v rámci svých kompetencí. Drobnou připomínku k práci laboratoře řeší okamžitě pracovník, který stížnost přijal, případně předá vedení laboratoře.
- při zjevně neoprávněné stížnosti pracovník předává stížnost k řešení vedení laboratoře
- veškeré písemné stížnosti a stížnosti na pracovníky řeší vedoucí laboratoře

Termíny pro vyřízení stížností:

Pokud stížnost není řešena ihned, je termín na vyřízení stížnosti 30 kalendářních dnů.

V tomto termínu oznámí odpovědný pracovník lékaři (nebo pacientovi) výsledek šetření.

V případě, že nelze v tomto termínu stížnost dořešit, informuje stěžovatele o dosavadním postupu (např. znalecký posudek).

6.6. Obecné zásady laboratoře na ochranu osobních informací

Cytogenetická laboratoř se řídí čl. 13 Nařízení Evropského parlamentu a Rady č. 2016/679, o ochraně fyzických osob v souvislosti se zpracováním osobních údajů a o volném pohybu těchto údajů. Informace pro pacienty o zpracování osobních údajů jsou k dispozici také na internetových stránkách laboratoře: www.cytogenetika.cz.

Cytogenetická laboratoř nakládá s osobními a citlivými údaji pacientů tak, aby nemohlo dojít k jejich neoprávněnému přístupu, změně nebo zneužití. Obecné zásady pro ochranu osobních údajů:

1) Organizační opatření:

Osobní a citlivá data pacientů jsou vedena v listinné formě.

Listinná forma záznamu je zabezpečena uzamčením vstupu do Cytogenetické laboratoře a řízením vstupu cizích osob.

Pracovníci a externí spolupracující osoby mají ve své pracovní náplni (nebo na interním dokumentu F 27 Závazek mlčenlivosti externích pracovníků) podepsanou mlčenlivost. Pracovníci jsou prokazatelně seznámeni s vnitřními předpisy Cytogenetické laboratoře, ve kterých jsou stanovena pravidla pro nakládání s osobními údaji.

2) Technická opatření:

Technická opatření jsou stanovena na úrovni mechanického zabránění přístupu neoprávněných osob do míst, kde je uložena zdravotnická dokumentace. Jedná se o řízený vstup do laboratoře.

Cytogenetická laboratoř Brno	Příručka pro odběr primárních vzorků	Platné od: 05.09.2024
		Změna: 03
		Vydání.: 12

Přílohy

1. Souhlas vyšetřované/ho s genetickým laboratorním vyšetřením
2. Žádanka o postnatální vyšetření
3. Žádanka o prenatalní vyšetření
4. Žádanka o neinvazivní prenatalní test aneuploidí Trisomy/Trisomy XY
5. Souhlas vyšetřované s neinvazivním prenatalním testem aneuploidí 13, 18, 21, X a Y
6. Informace pro pacienty o zpracování osobních údajů