



SEZNAM VYŠETŘENÍ

KLINICKÉ LABORATOŘE TRANSFUZNÍHO ODDĚLENÍ

DNA LABORATOŘ



Krajská zdravotní, a.s.

- MASARYKOVA NEMOCNICE v Ústí nad Labem, o.z.

Sociální péče 3316/12A

401 13 Ústí nad Labem

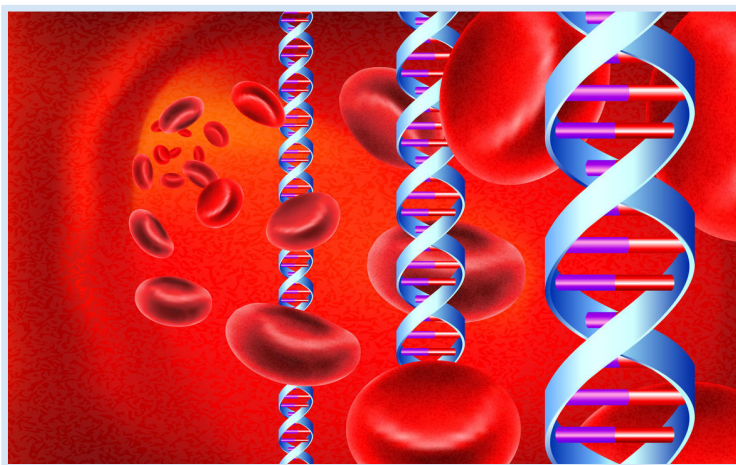
<http://www.kzcr.eu>

Tel: +420 477 113 454



OBSAH

Odběr vzorku pro molekulárně genetické vyšetření	3
Hereditární trombofilie / Trombotické stavy	4
Detekce genu HLA-B27	6
Stanovení RHD genu z fetální DNA	8
Janus tyrozin kináza 2	9
Hereditární hemochromatóza	11
Detekce parvoviru B19	13
Celiakální sprue (DQ2, DQ8)	14
Genotypování krevních skupin	16
Mikrodelece chromozomu Y	18



SEZNAM VÝŠETŘENÍ - KLINICKÉ LABORATOŘE TRANSFUZNÍHO ODDĚLENÍ - DNA laboratoř 2013



ODBĚR VZORKU

PRO MOLEKULÁRNĚ GENETICKÉ VYŠETŘENÍ

Pro většinu vyšetření je primárním materiálem nesrážlivá periferní krev, s tím, že většinou lze zpracovat i jiný materiál (kostní dřev, bukalní sliznice, plodová voda, pupečníková krev, kultivované amniocyty, pevné tkáně).

Pro vybraná vyšetření je nutný rychlý transport do laboratoře (do 24 / 48 hodin) s tím, že s prodlužující se dobou od odběru klesá výtěžnost izolace DNA a tím i úspěšnost vlastního laboratorního vyšetření. Případně je vzorek plně znehodnocen.

Výjimky:

Janus tyrozin kináza 2 (JAK2) – min. 6 ml periferní krve do EDTA, jiný materiál nelze použít.

Stanovení RHD genu z fetální DNA – min. 12 ml periferní krve těhotné do EDTA, jiný materiál nelze použít.

Detekce Parvoviru B19 – doporučený materiál: kostní dřev, pupečníková krev, kultivované amniocyty; v periferní krvi je často podlimitní množství virových partikulí, proto nelze vyloučit falešná negativita.

Vzorky zasílejte do laboratoře pomocí potrubní pošty, centrálního svozu, případně jiným svozem:

Klinické laboratoře Transfuzního oddělení
Krajská zdravotní a.s.
Masarykova nemocnice v Ústí n. L.
Sociální péče 3316/12A
401 13 Ústí nad Labem

Zkumavky s materiálem nikdy nezmrazujte, lze je skladovat až 3 dny při 4-8 °C (v chladicím zařízení).

Zmražený vzorek je nutné skladovat i transportovat při min. -18 °C, při opakovaném zmrazování a rozmrazování materiálu dochází k nevratné destrukci DNA a tím ke znehodnocení vzorku.

HEREDITÁRNÍ TROMBOFILIE

TROMBOTICKÉ STAVY

Název vyšetření: Hereditární trombofilie / Trombotické stavy

Zkrácený název: Trombofilie

Popis

Leidská mutace faktoru V (FV) G1691A se vyskytuje u více než 95 % osob s APC rezistencí, což představuje výskyt u cca 20 % pacientů s tromboembolickou nemocí (TEN) – normální populační frekvence je 3-6 %. Leidská mutace FV způsobuje záměnu aminokyseliny argininu za glutamin v pozici 506 a významně snižuje rychlost štěpení faktoru V (prodloužení aktivity FV). Mutace FII protrombinu (G20210A) se u nemocných s TEN vyskytuje v 6-8 %, koinheritance (koincidence) mutace FV-L a mutace FII je asi 1:1000. Mutace FV-L a FII jsou autozomálně dominantní s různou expresivitou (fenotypicky se nemusí projevit).

Rizikovými faktory pro hyperhomocysteinemii, aterosklerózu a také TEN jsou polymorfismy v genu MTHFR – metylentetrahydrofolát reduktáza (podílí se na metabolismu folátů). Tyto polymorfismy snižují aktivitu MTHFR – více polymorfismus C677T, druhý polymorfismus A1298C se u nás vyšetřuje pouze u heterozygotů pro C677T (jako samostatný rizikový faktor má A1298C malý význam – významný pouze v kombinaci s C677T). Vyšší koncentrace homocysteinu a výskyt hyperhomocysteinemie je u nosičů genetického polymorfismu MTHFR sdružen s nízkou hladinou vitamínů B6, B12 a kyseliny listové.

V případě jasného klinického obrazu a nepřítomnosti vyšetřovaných mutací se vzácně může jednat o jiné mutace vyšetřovaných genů nebo mutace dalších genů podílejících se na koagulační kaskádě nebo metabolismu folátů (tzv. genové pozadí).

Mutace FV (G1691A), FII (G20210A) a oba polymorfismy MTHFR (C677T a A1298C) vyšetřujeme nejméně jednou týdně pomocí metodiky přímé diagnostiky (PCR a následná RFLP v místě mutace).

Indikace

1. Opakovaná žilní trombóza v anamnéze
2. Věk pod 50 let a žilní trombóza
3. Idiopatická žilní trombóza

SEZNAM VYŠETŘENÍ - KLINICKÉ LABORATOŘE TRANSFUZNÍHO ODDĚLENÍ - DNA laboratoř 2013

4. Žilní trombóza po triviální provokaci
5. Žilní trombóza v netypické lokalizaci
6. Hluboká žilní trombóza s komplikací (např. plicní embolie)
7. Opakované spontánní potraty ve II. trimestru (> 2x)
8. Intrauterinní růstová retardace plodu a preeklampsie v graviditě
9. Jiné tromboembolické komplikace v graviditě: trombóza pupečníku, placenty, abrupce placenty, hluboká žilní trombóza
10. Pozitivní osobní nebo rodinná anamnéza tromboembolie před preskripcí antikoncepce či hormonální terapie
11. Pozitivní výsledek vyšetření APC rezistence
12. Ischemická cévní mozková příhoda a transitorní ischemická ataka u osob mladších 60 let
13. Ateroskleróza
14. Hyperhomocysteinemie

Indikuje

internista, neurolog, chirurg - po konzultaci s hematologem
hematolog a klinický genetik

U pacientů se záchytem hereditární formy TEN nebo nosičství mutace FV-L, FII (MTHFR) je doporučeno vyšetření klinickým genetikem – určení genealogie rodiny a zvážení genetického rizika.

Před vyšetřením je nutný písemný souhlas pacienta / zákonného zástupce s vyšetřením a uskladněním DNA.

Druh veličiny: přítomnost / nepřítomnost mutace

Materiál k analýze: nesrážlivá periferní krev

Odběr

- nesrážlivá periferní krev, zkumavka s protisrážlivou látkou K₃EDTA minimálně 2 ml
- po odběru je možné krev uchovávat v lednici, nemrazit!
- neodebírat do lithium heparinu
- odběr není nutno provádět nalačno

Vzorek poslat do laboratoře do 3 dní po odběru. Při delším skladování dochází k degradaci leukocytů a tím ke snížení úspěšnosti vyšetření.

Referenční hodnoty:

Negat. – mutace nebyla prokázána

Pozit. – mutace byla prokázána (heterozygotní nebo homozygotní stav)

Metoda: PCR s následným štěpením restriční endonukleázou

Provádí se: 1 x za týden

Doba odezvy: do měsíce

Odbornost: 816

DETEKCE GENU HLA-B27

Název vyšetření: Detekce genu HLA-B27

Zkrácený název: HLA-B27

Popis

Více než 95 % pacientů s ankylozující spondylitidou (AS) nese gen HLA-B27. K určení diagnózy však průkaz B27 nestačí, tento antigen se vyskytuje u 7 % bělochů. Pouze u 3 % procent B27 pozitivních bělochů dojde k rozvoji některé formy AS, proto se testování B27 používá jen pro vyloučení diagnózy AS.

Příčina autoimunitního onemocnění AS není přesně známa, předpokládá se, že souvisí s nefunkční homodimerní formou molekuly antigenu B27. V současné době je známo více než 106 alelických variant HLA-B27 genu (do roku 2012). Antigeny B27 se rozlišují do několika typů podle modifikací a záměn aminokyselin v sedmi strukturních „kapsách“ A-F proteinu. Největší rozdíly mezi variantami spojované s AS a také s rezistencí proti AS leží v „kapsách“ C, D a F. Alelická varianta B*2705 nesoucí typické změny v F „kapse“ proteinu je v evropské populaci majoritní a je zároveň spojována s AS. U některých alelických variant B*2706 a B*2709 se prokázal asociaci s AS nepodařilo.

Metodou molekulárně genetické detekce genu B27, využívající polymorfismus v exonu 2, lze v naší laboratoři detekovat většinu alelických variant z celkových 106. Pouze některé v evropské populaci vzácné alely B*2712, B*2716, B*2718 a B*2723 a další námi zavedenou metodou detekovat nelze, podle ultrastruktury proteinu se nepředpokládá významná asociace s AS (Yagüe J., Tissue Antig., 1999), frekvence alelických forem nedetekovatelných naší metodou je menší než

SEZNAM VYŠETŘENÍ - KLINICKÉ LABORATOŘE TRANSFUZNÍHO ODDĚLENÍ - DNA laboratoř 2013

0,1 % ze všech B27 genotypů.

Výsledek molekulárně-genetického vyšetření je nutné interpretovat v kontextu s klinickým obrazem, u některých pacientů se může projevit AS bez přítomnosti genu HLA-B27 a riziko opakování výskytu AS se v rodině alespoň s jedním nemocným zvyšuje, protože HLA geny se dědí jako haplotyp a tím dochází k udržování nevhodné kombinace HLA genů předávaných společně na další generaci.

Detekci HLA-B27 provádíme 2x měsíčně (v případě malého množství vzorků pouze 1x měsíčně) pomocí metodiky přímé diagnostiky (alelově specifická PCR části exonu 2 HLA-B genu).

Indikace

U pacientů s ankylozující spondyloartritidou (AS) – morbus Bechtěrev

Indikuje

revmatolog, praktický lékař, ortoped apod.

Před vyšetřením je nutný písemný souhlas pacienta / zákonného zástupce s vyšetřením a uskladením DNA.

Druh veličiny: přítomnost / nepřítomnost alely HLA-B27

Materiál k analýze: nesrážlivá periferní krev

Odběr

- nesrážlivá periferní krev, zkumavka s protisrážlivou látkou K₃EDTA minimálně 2 ml
- po odběru je možné krev uchovávat v lednici, nemrazit!
- neodebírat do lithium heparinu
- odběr není nutno provádět nalačno

Vzorek poslat do laboratoře do 3 dnů po odběru. Při delším skladování dochází k degradaci leukocytů a tím ke snížení úspěšnosti vyšetření.

Referenční hodnoty

Negat. – alela HLA-B27 nebyla prokázána

Pozit. – alela HLA-B27 byla prokázána (heterozygotní nebo homozygotní stav)

Metoda: alelově specifická PCR

Provádí se: 1 x za 14 dnů

Doba odezvy: do měsíce

Odbornost: 816

STANOVENÍ RHD GENU Z FETÁLNÍ DNA

Název vyšetření: Stanovení RHD genu z fetální DNA volně kolující v krvi matky

Zkrácený název: RHD gen z cfDNA

Popis

Určení RhD positivity nebo negativity je dáno přítomností RhD antigenu na povrchu erytrocytů. Problém může nastat v těhotenství, čeká-li RhD negativní žena RhD pozitivní dítě. Dostanou-li se v takovém případě erytrocyty plodu do krevního oběhu matky, může dojít k tvorbě protilátek anti-D, které po průchodu placentou způsobují hemolýzu erytrocytů plodu. K problémům většinou nedochází v průběhu prvního těhotenství. K prostupu RhD pozitivních erytrocytů plodu do krevního řečiště matky může docházet hlavně při porodu, potratu, odběru choriových klků, amniocentéze a jiných invazivních výkonech prenatalní diagnostiky. V ČR je všem RhD negativním ženám bez prokázaných anti-D protilátek preventivně podáván anti-D imunoglobulin ve 28. týdnu těhotenství, po invazivních výkonech v průběhu těhotenství a po porodu.

Z periferní krve matky je separována plazma prostá všech buněk. Z této plazmy je provedena izolace volné plazmatické DNA včetně fetální DNA. Poměr volné mateřské a fetální DNA se mění v průběhu těhotenství: ve 12. týdnu jsou to cca 3 % a v 15. – 16. týdnu je to cca 5 %. Po porodu volná fetální DNA velice rychle mizí a za 100 hodin po porodu je již v krvi matky nedetekovatelná.

Testujeme kombinaci exonů 5 a 7 RHD (u černošské populace lze detekovat pseudogen RHD Ψ) pomocí metody kvantitativní fluorescenční PCR na real-time PCR cycleru. Každé vyšetření ověřujeme systémem interních kontrol pomocí genů β -globin a SRY. Úspěšnost vyšetření je cca 98 %.

Termíny odběru je vhodné navázat na již existující schémata – gynekologická, genetická.

Při určení krevní skupiny matky – 12. týden (riziko nedostatečného množství fetální DNA)

biochemický screening (MS AFP) – 15. - 16. týden (většinou dostačující množství fetální DNA)

Indikace

- nález klinicky významného titru protilátky anti-D v těhotenství

SEZNAM VYŠETŘENÍ - KLINICKÉ LABORATOŘE TRANSFUZNÍHO ODDĚLENÍ - DNA laboratoř 2013

Indikuje

gynekolog, imunohematolog

Před vyšetřením je nutný písemný souhlas pacienta / zákonného zástupce s vyšetřením a uskladněním DNA.

Druh veličiny: přítomnost/nepřítomnost alely

Materiál k analýze: nesrážlivá periferní krev

Odběr

- nesrážlivá periferní krev, zkumavka s protisrážlivou látkou K_3EDTA minimálně 12 ml
- po odběru je možné krev uchovávat v lednici, nemrazit!
- neodebírat do lithium heparinu
- odběr není nutno provádět nalačno

Vzorek poslat do laboratoře do 24 hodin po odběru. Při delším skladování dochází k degradaci leukocytů a tím ke znehodnocení volné plazmatické DNA.

Referenční hodnoty

RHD gen – RHD pozitivní / RHD negativní

Metoda: kvantitativní fluorescenční PCR

Provádí se: statimově

Doba odezvy: do 72 hodin

Odbornost: 816

JANUS TYROZIN KINÁZA 2

Název vyšetření: Janus tyrozin kináza 2

Zkrácený název: JAK-2 V617F

Popis

Myeloproliferativní nemoci jsou charakterizovány nadbytečnou produkcí krevních buněk. Velká část (více než polovina) pacientů s myeloproliferativními chorobami nese získanou mutaci V617F cytoplazmatické Janusovy tyrozin kinázy 2 (JAK2).

Polycytemia vera (PV) je charakterizovaná výrazným zmnožením erytrocytů a obvykle dochází i ke zmnožení buněk dalších hematopoetických řad. Bylo zjištěno, že většina pacientů s PV (74–97 %) má v hemopoetických kmenových buňkách v genu JAK2 mutaci. Gen JAK2 je lokalizován na chromozomu 9p24, jeho produktem je protein tyrosin kináza, který hraje roli při přenosu signálů mezi membránovými receptory hematopoetických růstových faktorů a intracelulárními signálními molekulami. Mutace V617F má za následek záměnu valinového zbytku za fenylalaninový v pozici 617 aminokyselinového řetězce (V617F) a způsobuje porušení autoinhibiční aktivity. Mutace V617F v genu JAK2 je získaná změna, která se vyskytuje v různě velké frakci granulocytů periferní krve a u pacientů s PV je jí přisuzován zásadní význam v patogenezi tohoto onemocnění. Dále je mutace detekována u 30–57 % pacientů s esenciální trombocytemií (ET) a u 35–95 % pacientů s chronickou idiopatickou myelofibrózou (IMF).

Indikace

- potvrzení diagnózy PV, ET, IMF
- potvrzení klonální poruchy hematopoetických kmenových buněk
- potvrzení myeloproliferativní poruchy (bcr-abl negativní) v případě vysokého počtu erytrocytů, leukocytů nebo krevních destiček
- odlišení PV od sekundární polyglobulie, ET od reaktivní trombocytózy

Indikuje

hematolog, onkolog, internista

Před vyšetřením je nutný písemný souhlas pacienta / zákonného zástupce s vyšetřením a uskladněním DNA.

Druh veličiny: přítomnost / nepřítomnost mutace

Materiál k analýze: nesrážlivá periferní krev

Odběr

- - nesrážlivá periferní krev, zkumavka s protisrážlivou látkou K₃EDTA min. 6 ml
- - po odběru je možné krev uchovávat v lednici, nemrazit!
- - neodebírat do lithium heparinu
- - odběr není nutno provádět nalačno

Vzorek poslat do laboratoře do 48 hodin po odběru. Při delším skladování dochází k degradaci granulocytů a tím zvýšené pravděpodobnosti falešně negativního výsledku.

Referenční hodnoty

Negat. - mutace nebyla prokázána

Pozit. - mutace byla prokázána (směs buněk s různým mutačním statutem, příp. homozygotní stav)

Metoda: real-time PCR

Provádí se: 1 x za 14 dnů

Doba odezvy: do měsíce

Odbornost: 816

HEREDITÁRNÍ HEMOCHROMATÓZA

Název vyšetření: Hereditární hemochromatóza typ I.

Zkrácený název: HHC / HFE typ I.

Popis

Hereditární hemochromatóza (HHC) se dělí do čtyř typů.

HHC typ I. je dědičná autozomálně recesivní porucha metabolismu železa s projevem obvykle po 30. roce věku. Vyšetřujeme tři mutace genu HFE (C282Y, H63D, S65C), mutace C282Y je přítomna u 60-100 % klinicky diagnostikovaných pacientů s HHC typu I. Cca 5 % pacientů jsou složení heterozygoté pro mutace C282Y a H63D a do 2 % homozygoti pro H63D, mutace S65C se vyskytuje v kombinacích s C282Y a H63D do 1 % (frekvence homozygotů pro S65C – pod 0,1 %). Normální populační frekvence heterozygotů pro C282Y – 7,8 % a H63D – 26 %, frekvence homozygotů C282Y v ČR je asi 1:400–1:600 (Cimburova M. et al, Genet epidemiol. 2002).

Složení heterozygoti a homozygoti H63D mají obvykle mírnější formu nemoci, u heterozygotů pro mutaci C282Y se HHC obvykle neprojeví (pouze u necelých 5 %). U heterozygotů pro mutace H63D a S65C se také fenotypicky neprojeví.

U 5-15 % pacientů není zjištěna ani jedna z vyšetřovaných mutací – jde o vzácně se vyskytující mutace genu HFE nebo o mutace jiných genů (tzv. genové pozadí), popř. o jiné typy hemochromatózy.

Další typy HHC – mutace leží v jiném genu než HFE.

HHC typ II. – tzv. juvenilní hemochromatóza (1q); typ III. – HHC s autozomálně dominantní dědičností (mutace v genu pro transferin nebo v genu pro receptor transferinu); typ IV. – HHC s autozomálně dominantní dědičností (velmi vzácný typ).

Vyšetřované mutace genu HFE (t.j. HHC typ I): C282Y, H63D, S65C

Výsledek molekulárně-genetického vyšetření je nutné interpretovat v kontextu s klinickým obrazem, u některých homozygotů pro C282Y (H63D a složených heterozygotů) nedojde k fenotypickému projevu včetně zvýšení hladiny ferritinu.

Test slouží k potvrzení dědičné formu HHC-typ I. a identifikaci osob v časném asymptomatickém stadiu nemoci a dále k prediktivnímu testování rodinných příslušníků.

Indikace

U pacientů s kumulací železa v organismu s nálezem jaterních lézí, u kardiomyopatií, hypogonadismu, DM I. po 30. roce věku apod. **Předchází vyšetření ferritinu a saturace transferinu** (žádáme o zapsání hodnot na žádanku – alespoň množství ferritinu).

Indikuje

gastroenterolog, kardiolog, endokrinolog, klinický genetik, internista

Doporučeno vyšetření klinickým genetikem – určení genealogie rodiny a zvážení genetického rizika.

Před vyšetřením je nutný písemný souhlas pacienta / zákonného zástupce s vyšetřením a uskladněním DNA.

Druh veličiny: přítomnost / nepřítomnost mutace

Materiál k analýze: nesrážlivá periferní krev

Odběr

- - nesrážlivá periferní krev, zkumavka s protisrážlivou látkou K₃EDTA min. 2 ml
- - po odběru je možné krev uchovávat v lednici, nemrazit!
- - neodebírat do lithium heparinu
- - odběr není nutno provádět nalačno

Vzorek poslat do laboratoře do 3 dní po odběru. Při delším skladování dochází k degradaci leukocytů a tím ke snížení úspěšnosti vyšetření.

Referenční hodnoty

Negat. - mutace nebyla prokázána

Pozit. - mutace byla prokázána (heterozygotní nebo homozygotní stav)

Metoda: PCR s následným štěpením restriční endonukleázou

Provádí se: 1 x za 14 dnů
Doba odezvy: do měsíce
Odbornost: 816

DETEKCE PARVOVIRU B19

Název vyšetření: Detekce parvoviru B19
Zkrácený název: Parvo B19

Popis

Parvovirus B19 patří mezi běžné lidské patogeny, je řazen do čeledi Parvoviridae, což jsou nejmenší neobalené DNA viry (- ss DNA). Parvovirus B19 je jediný z čeledi Parvoviridae, který je patogenní pro člověka.

K přenosu infekce dochází přímým kontaktem s nemocným, transfuzí nebo z matky na plod. U většiny imunokompetentních jedinců probíhá infekce asymptomaticky nebo za nespecifických příznaků lehce probíhající infekce horních cest dýchacích. Promořenost populace 20letých je vyšší než 80 % a s věkem stoupá. Akutní infekce se může u dětí projevit jako „pátá nemoc“ (erythema infectiosum) a u dospělých jako horečnatá infekce. Intrauterinní infekce může u plodu vyvolat kongenitální aplastickou anémii nebo fetus mortus. Pomnožení viru dochází převážně v erytroidních progenitorových buňkách, fetálních myocytech a endoteliálních buňkách.

Indikace

Vyšetření se provádí především u imunokompromitovaných jedinců (akutní leukemie, vrozený imunodeficit, transplantace, imunosupresivní terapie), u nichž se může rozvinout perzistující infekce s chronickým poškozením erytropoézy a život ohrožující anémií. Další cílové skupiny jsou těhotné ženy, jedinci s hematologickými poruchami a děti.

Indikuje

klinický genetik, hematolog, dětský hematolog, dětský lékař, infekcionista
Před vyšetřením je nutný písemný souhlas pacienta / zákonného zástupce s vyšetřením a uskladněním DNA.

Druh veličiny: přítomnost / nepřítomnost patogenu

Materiál k analýze: kostní dřeň, pupečnicková krev, plodová voda, kultivované amniocyty

Odběr

- kostní dřeň, pupečníková krev: zkumavka s protisrážlivou látkou K_3EDTA minimálně 1 ml
- plodová voda: 7-10ml
- kultivované amniocyty: 0,5-1ml
- po odběru je možné materiál uchovávat v lednici, nemrazit!
- neodebírat do lithium heparinu
- odběr není nutno provádět nalačno

Vzorek poslat do laboratoře do 3 dní po odběru Při delším skladování dochází k degradaci leukocytů a tím ke snížení úspěšnosti vyšetření.

Referenční hodnoty

Silně pozitivní / slabě pozitivní / negativní

Metoda: nested PCR – semikvantitativní

Provádí se: 1 x za měsíc (dříve dle požadavků lékařů)

Doba odezvy: do měsíce

Odbornost: 816

CELIAKÁLNÍ SPRUE (DQ2, DQ8)

Název vyšetření: Celiakální sprue (DQ2, DQ8)

Zkrácený název: Celiakie

Popis

Celiakie (glutenová enteropatie, celiakální sprue) je celoživotní autoimunitní onemocnění, které se projevuje zánětlivými stavy sliznice tenkého střeva u jedinců s genetickou predispozicí. Onemocnění je způsobené nesnášenlivostí na lepek (gluten) v potravě. Imunologická intolerance ke glutenu vede k chronickým zánětlivým změnám ve sliznici tenkého střeva spojeným s malabsorpcí a průjmý. Symptomy nemoci jsou velmi pestré, vyskytují se různé klinické formy celiakie od plně rozvinutých až k formám neúplným či bezpříznakovým. Základním vyšetřením, které umožňuje diagnózu celiakie, je enterobiopsie a sérologický průkaz protilátek proti transglutamináze a IgA endomyziálních protilátek. Histologický obraz v duodenální sliznici je sice pro celiakii příznačný, ale neumožňuje jednoznačný diagnostický závěr. Manifestaci onemocnění může předcházet zátěžová situace (těhotenství, infekce, operace). Celiakie často bývá asociována s jinými

SEZNAM VYŠETŘENÍ - KLINICKÉ LABORATOŘE TRANSFUZNÍHO ODDĚLENÍ - DNA laboratoř 2013

autoimunitními chorobami (diabetes I. typu, autoimunitní thyreoiditida). V ČR je odhad prevalence celiakie kolem 1:200-250. Většina nemocných (více než 80 % případů) však zůstává nediagnostikována, včasná diagnóza je přitom důležitá pro zahájení bezlepkové diety.

Dědičnost onemocnění je autozomálně dominantní s neúplnou penetrancí. Genetické vyšetření predispozičních HLA alel II. třídy kódujících heterodimer DQ2 (DQA1*0501/DQB1*0201 nebo DQA1*02:01/DQB1*02:02) a heterodimer DQ8 (DQA1*0301/DQB1*0302) může sloužit jako diagnostický marker pro onemocnění celiakií. Heterodimer HLA-DQ2 se vyskytuje asi u 95 % pacientů s celiakií ve srovnání s 20 % u zdravých osob. Riziko pro jednotlivce spojené s přítomností heterodimeru HLA-DQ2 je 50× zvýšeno oproti průměrnému riziku v populaci. Asi 5 % pacientů, kteří jsou HLA-DQ2 negativní, bývají pozitivní na HLA-DQ8, často ještě ve spojení s alelou HLA-DRB1*04(DR4). Genetické vyšetření má vysokou negativní prediktivní hodnotu, nepřítomnost predispozičních alel DQ2/DQ8 téměř jistě (99 %) vylučuje diagnózu celiakie. Ve srovnání se sérologickým vyšetřením protilátek vykazuje menší výskyt falešně negativních výsledků, zejména u dětí mladších 2 let a u pacientů na bezlepkové dietě.

V naší laboratoři provádíme genotypizaci HLA-DQ2 a HLA-DQ8 pomocí komerční CE diagnostické soupravy, která využívá SSP-PCR a přímou elektroforetickou detekci.

Doporučení k vyšetření – zaměřeno převážně na atypické projevy celiakie popř. neodpovídání na léčbu.

Indikace

- pozitivní rodinná anamnéza
- gastrointestinální symptomy (malabsorpce, průjmky, bolesti břicha s flatulencí)
- jiná autoimunitní onemocnění (diabetes mellitus I. typu, thyreoiditida)
- neprospívání u dětí (dětí s růstovou retardací)
- osteoporóza nepřiměřená věku
- anemie neznámého původu

Indikuje

gastroenterolog, dětský lékař, imunolog, internista

Před vyšetřením je nutný písemný souhlas pacienta / zákonného zástupce s vyšetřením a uskladením DNA.

Druh veličiny: přítomnost/nepřítomnost alely

Materiál k analýze: nesrážlivá periferní krev

Odběr

- nesrážlivá periferní krev, zkumavka s protisrážlivou látkou K₃EDTA min. 3 ml
- po odběru je možné krev uchovávat v lednici, nemrazit!
- neodebírat do lithium heparinu
- odběr není nutno provádět nalačno

Vzorek poslat do laboratoře do 3 dnů po odběru. Při delším skladování dochází k degradaci leukocytů a tím ke snížení úspěšnosti vyšetření.

Referenční hodnoty

Negat. - alela DQ2 nebo DQ8 nebyla prokázána

Pozit. - alela DQ2 nebo DQ8 byla prokázána

Metoda: alelově specifická PCR (SSP-PCR)

Provádí se: 1 x za měsíc

Doba odezvy: do 6 týdnů

Odbornost: 816

GENOTYPOVÁNÍ KREVNÍCH SKUPIN

Název vyšetření: Genotypování krevních skupin Rh, MNS, Kidd, Duffy, Kell

Zkrácený název: Krevní skup. Rh, MNS, Kidd, Duffy, Kell

Popis

Krevní skupiny se standardně vyšetřují fenotypicky, ale v případech, ve kterých je toto stanovení nemožné jako potransfuzní reakce, polytransfundovaný pacient nebo pozitivní přímý antiglobulinový test (PAT), používáme genotypování krevních skupin.

Rh systém představuje soubor celé řady antigenů lokalizovaných na RhD a RhCcEc proteinech Rh komplexu erytrocytové membrány. U kavkazské populace je RHD negativní skupina způsobena kompletní delecí genu RHD. V genu RHCE detekujeme polymorfismy (SNP) v intronu 2 – RHC/c a exonu 5 – RHE/e. Antigeny MNS kódují geny GYP-A a GYP-B, detekujeme SNP v exonu 2 (MN) a exonu 4 (Ss). Antigeny Duffy kóduje gen gpD – SNP v exonu 2, antigeny Kidd gen SLC14A1 – SNP v exonu 9. Antigeny Kell a Cellano kóduje gen KEL a detekujeme SNP v exonu 6.

Pro genotypování pacienta a následný výběr transfuzního přípravku pro poly-

transfundovaného pacienta (či s PAT pozitivitou) je nezbytná konzultace s lékařem transfuzního oddělení.

Indikace

- potransfuzní reakce
- nemožnost provedení fenotypizace krevních skupin (pozitivní přímý antiglobulinový test)
- polytransfundovaný pacient

Indikuje

hematolog-transfuziolog

Před vyšetřením je nutný písemný souhlas pacienta / zákonného zástupce s vyšetřením a uskladněním DNA.

Druh veličiny: přítomnost/nepřítomnost alely

Materiál k analýze: nesrážlivá periferní krev, bukalní sliznice

Odběr:

Periferní krev

- nesrážlivá periferní krev, zkumavka s protisrážlivou látkou K₃EDTA minimálně 2 ml
- po odběru je možné krev uchovávat v lednici, nemrazit!
- neodebírat do lithium heparinu
- odběr není nutno provádět nalačno

Bukální sliznice

- odběr bukalní sliznice se provádí stěrem na nylonový tampon
- vzorek nutné ihned transportovat do laboratoře nebo před transportem nechat min. 2 hodiny oschnout
- odběrové tampony jsou k dispozici na vyžádání

Vzorek poslat do laboratoře do 3 dnů po odběru. Při delším skladování dochází k degradaci leukocytů a tím ke snížení úspěšnosti vyšetření.

Referenční hodnoty

Rh faktor – RHD+ / RHD-; varianty RHCE – RHC/c a RHE/e; MNS – MM/MN/NN a SS/Ss/ss; Kidd – Jk AA/AB/BB; Duffy – Fy AA/AB/BB, Kell – KK/Kk/kk (kk - cellano)

Metoda: alelově specifická PCR (SSP-PCR)

Provádí se: statimově v pracovních dnech

Doba odezvy: do 24 hodin

Odbornost: 816

MIKRODELECE CHROMOZOMU Y

Název vyšetření: Mikrodelece chromozomu Y

Zkrácený název: ---

Popis

Mikrodelece chromozomu Y (dále mikrodelece Y) se vyskytuje u 8 % všech neplodných mužů. Mikrodeleci Y má až 50 % azospermiků, až 28 % mužů s těžkou oligospermii (do 5 mil./1ml), u ostatních oligospermii nad 5 mil./1ml je to asi 6 % mužů.

Vznik mikrodelecí je prakticky vždy de novo. Velmi vzácně se dědí drobná delece, která se v další generaci může významně zvětšit.

Vyšetření je založeno na principu detekce DNA Yq ramen (dlouhých ramen chromozomu Y), kde jsou lokalizovány geny podílející se na vývoji testes a spermiogenezi – u mikrodelecí část tohoto úseku chybí.

Vyšetřujeme tři oblasti Yq ramen označované jako AZFa, AZFb a AZFc (AZF – azospermic factor). V oblasti AZFc leží jeden z nejdůležitějších genů - DAZ (*deleted in azospermic*).

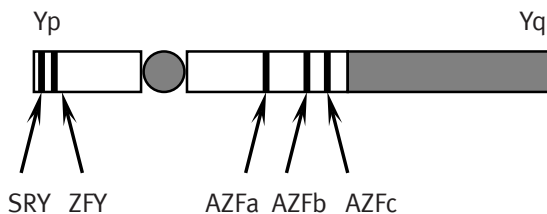
Čím je deletovaný úsek delší, tím je menší množství spermií v ejakulátu, rozsáhlé delece AZF oblastí jsou příčinou syndromu “*Sertoli cells only*”.

V každé oblasti AZFa-c detekujeme 2 STS markery, které jsou jedinečné právě pro tuto oblast chromozomu Y. Yq ramena pokryjeme 6 STS markery a detekujeme naprostou většinu mikrodelecí vedoucí k oligo- a azospermii (metodika viz Laboratory Guidelines EMQN).

Indikace

U dysfertilních mužů s azospermii nebo oligospermii (pod 5 mil. spermií na 1ml ejakulátu).

Vhodné vyšetření před IVF a ICSI apod. Při podezření na strukturální aberace chromozomu Y – především Yq ramene. Před vyšetřením (event. souběžně) je nutné vyšetření karyotypu (na Oddělení lékařské genetiky, Krajské zdravotní, a.s. – Masarykovy nemocnice v Ústí nad Labem, o.z.).



Indikuje

klinický genetik, sexuolog (doporučena konzultace s klinickým genetikem)

Před vyšetřením je nutný písemný souhlas pacienta / zákonného zástupce s vyšetřením a uskladněním DNA.

Druh veličiny: přítomnost / nepřítomnost mutace

Materiál k analýze: nesrážlivá periferní krev

Odběr

- - nesrážlivá periferní krev, zkumavka s protisrážlivou látkou K_3EDTA min. 2 ml
- - po odběru je možné krev uchovávat v lednici, nemrazit!
- - neodebírat do lithium heparinu
- - odběr není nutno provádět nalačno

Vzorek poslat do laboratoře do 3 dnů po odběru. Při delším skladování dochází k degradaci leukocytů a tím ke snížení úspěšnosti vyšetření.

Referenční hodnoty

Negat. – mutace nebyla prokázána

Pozit. – mutace byla prokázána (heterozygotní nebo homozygotní stav)

Metoda: multiplex PCR

Provádí se: 1 x za měsíc

Doba odezvy: do měsíce

Odbornost: 816

Kontakt


Krajská zdravotní, a.s.
Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem, o.z.
Klinické laboratoře transfuzního oddělení
Sociální péče 3316/12A
401 13 Ústí nad Labem

prim. MUDr. Jiří Masopust
tel.: 477 113 430
e-mail: jiri.masopust@kzcr.eu

RNDr. Petr Štolba
tel.: 477 113 432
e-mail: petr.stolba@kzcr.eu

DNA laboratoř
tel.: 477 113 454

Brožura vydána pod číslem KZ03_IM0109 UL TRANS
Datum vydání: 1.9.2013
Odpovědná osoba: prim. MUDr. Jiří Masopust
verze 2.0/2013

 **Krajská zdravotní, a.s.**
- Masarykova nemocnice
v Ústí nad Labem, o.z. 