

# LABORATORNÍ PŘÍRUČKA LABORATOŘE ODDĚLENÍ LÉKAŘSKÉ GENETIKY UL

## Obsah:

|       |   |    |
|-------|---|----|
| 1.    | Účel .....  | 3  |
| 2.    | Platnost směrnice .....   | 3  |
| 3.    | Použité zkratky a pojmy .....   | 3  |
| 4.    | Odpovědnosti a pravomoci .....  | 4  |
| 5.    | Vlastní popis předmětu .....  | 5  |
| A.    | Předmluva .....   | 5  |
| B.    | Základní informace o laboratoři .....   | 5  |
| B.1   | Identifikace laboratoře a důležité údaje .....                                    | 5  |
| B.2   | Kontakty a provozní doba laboratoře .....   | 5  |
| B.3   | Zaměření laboratoře .....   | 6  |
| B.4   | Úroveň a stav akreditace pracoviště: .....  | 7  |
| B.5   | Organizace laboratoře, její vnitřní členění, vybavení a personální obsazení ..... | 7  |
| B.6   | Spektrum nabízených služeb .....  | 7  |
| B.7   | Přehled nabízených genetických laboratorních vyšetření .....                      | 8  |
| B.8   | Přehled metod akreditovaných dle normy ISO 15189 .....                            | 8  |
| B.9   | Informace o poskytovaných genetických laboratorních vyšetřeních .....             | 9  |
| B.9.1 | Cytogenetické metody .....  | 9  |
| B.9.2 | Molekulárně cytogenetické metody .....  | 11 |
| B.9.3 | Molekulárně genetické metody .....  | 12 |
| C.    | Manuál pro odběry primárních vzorků .....   | 17 |
| C.1   | Identifikace primárního vzorku .....  | 18 |
| C.2   | Žádanka pro genetické laboratorní vyšetření .....                                 | 18 |
| C.3   | Informovaný souhlas .....   | 18 |
| C.4   | Požadavky na urgentní vyšetření (STATIM) .....                                    | 19 |
| C.5   | Ústní požadavky na vyšetření .....  | 19 |
| C.6   | Informace pro odběr biologického materiálu včetně minimálního množství .....      | 19 |
| C.6.1 | Používané odběrové nádoby .....   | 19 |

|  |    |
|--|----|
| C.6.2 Příprava pacienta před vyšetřením a informace a návody předávané pacientům ..... | 20 |
| C.6.3 Odběr periferní krve .....   | 20 |
| C.6.4 Odběr plodové vody – amniocentéza .....  | 22 |
| C.6.5 Odběr choriových klků .....  | 22 |
| C.6.6 Odběr stěru z bukalní sliznice.....  | 23 |
| C.6.7 Odběr potratového materiálu .....  | 23 |
| C.6.8 Odběr fetální (pupečnickové) krve – kordocentéza.....                            | 24 |
| C.7 Základní informace k bezpečnosti při práci se vzorky .....                         | 24 |
| C.8 Transport a manipulace s biologickým materiálem (se vzorky) .....                  | 24 |
| D Preanalytické procesy v laboratoři .....   | 25 |
| D.1 Příjem vzorků v laboratoři .....   | 25 |
| D.2 Důvody pro odmítnutí vzorku pro zpracování .....                                   | 25 |
| D.3 Způsob řešení neshod na příjmu materiálu .....                                     | 26 |
| D.4 Manipulace se vzorky a skladování materiálu před vyšetřením .....                  | 26 |
| E Fáze po vyšetření .....  | 26 |
| E.1 Bezpečné odstraňování materiálů použitých při odběru .....                         | 26 |
| E.2 Manipulace a skladování materiálu .....  | 26 |
| E.2.1 Skladování materiálu v průběhu vlastního vyšetření .....                         | 27 |
| E.2.2 Skladování materiálu po vyšetření.....   | 27 |
| E.2.3 Dodatečná vyšetření a časový interval pro jejich požadování .....                | 28 |
| E.2.4 Opakování vyšetření stejného primárního vzorku .....                             | 28 |
| F Vydávání výsledků a komunikace s laboratoří.....                                     | 28 |
| F.1 Forma vydávaných výsledků .....  | 28 |
| F.1.1 Telefonické sdělování výsledků .....   | 29 |
| F.1.2 Komunikace s lékaři indikujícími vyšetření .....                                 | 29 |
| F.2 Výsledkový list .....  | 29 |
| F.3 Vydávání výsledků přímo pacientům.....   | 29 |
| F.4 Změny výsledků a nálezů .....  | 30 |
| F.4.1 Oprava identifikace pacienta.....  | 30 |
| F.4.2 Oprava výsledkové části .....  | 30 |
| F.4.3 Záměna biologického materiálu odesílajícím oddělením .....                       | 30 |
| F.5 Intervaly od dodání materiálu k vydání výsledku.....                               | 30 |
| F.6 Konzultační činnost laboratoře .....   | 31 |
| F.7 Způsob řešení stížnosti .....  | 32 |
| F.8 Obecné zásady laboratoře na ochranu osobních informací.....                        | 32 |
| 6. Dokumentace .....   | 32 |
| 7. List provedených změn a revizí .....  | 33 |

## 1. Účel

Tuto laboratorní příručku (LP) vydala Laboratoř Oddělení lékařské genetiky Krajské zdravotní a.s. – Masarykovy nemocnice v Ústí nad Labem, o.z. (GENET UL) za účelem zlepšení komunikace s uživateli laboratorních služeb. LP obsahuje základní informace o laboratoři GENET UL, seznam nabízených genetických laboratorních vyšetření, návody pro správné odebrání primárních vzorků a zacházení s nimi, návody pro správné vyplňování žádanek, informace o způsobu vydávání výsledků, o způsobu řešení stížností a o konzultačních činnostech laboratoře.

Laboratorní příručka laboratoře GENET UL je součástí řízené dokumentace GENET UL, její aktuální verze je dostupná na intranetu KZ a na webových stránkách [www.kzcr.eu](http://www.kzcr.eu). Tištěná verze je k dispozici u manažera kvality GENET UL.

## 2. Platnost směrnice

Dokument je platný pro: Oddělení lékařské genetiky (GENET)

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

Sociální péče 3316/12A, 401 13 Ústí nad Labem

a pro všechny uživatele laboratorních služeb GENET UL.

Tato směrnice je součástí dokumentace Systému managementu kvality Krajské zdravotní, a.s. – Masarykovy nemocnice v Ústí nad Labem, o.z. a je závazná pro všechny pracovníky laboratoře GENET UL.

Na řízení Laboratorní příručky se vztahují postupy definované v dokumentu **KZ02\_SM0001 Řízení dokumentace**. Před použitím dokumentu je nutné si podle čísla verze ověřit, zda se jedná o aktuální verzi. Platná verze je k dispozici na intranetu.

Za zpracování a aktualizaci této LP odpovídá vedoucí laboratoře GENET UL.

## 3. Použité zkratky a pojmy

|           |   |
|-----------|---|
| Array CGH | – komparativní genomová hybridizace na čipu   |
| AZF       | – azoospermický faktor  |
| AS        | – Angelmanův syndrom  |
| ARMS      | – amplifikační refrakční mutační systém   |
| CBAVD     | – vrozené oboustranné chybění chánovodů   |
| CEQAS     | – Cytogenomics External Quality Assessment Service  |
| CF        | – cystická fibróza  |
| CFTR      | – transmembránový regulátor vodivosti pro cystickou fibrózu                                 |
| CGH       | – komparativní genomová hybridizace   |
| CMA       | – analýza chromosomů pomocí techniky microarray   |
| CNVs      | – změny počtu kopií sekvencí DNA  |
| CVS       | – vzorek choriových klků (chorionic villus sampling)  |
| DNA       | – deoxyribonukleová kyselina  |
| EHK       | – externí hodnocení kvality   |
| FISH      | – fluorescenční in situ hybridizace   |
| FMR1      | – lidský gen (fragile X messenger ribonucleoprotein 1) tvořící protein FRMP                 |
| FO        | – formulář  |
| FRAXA     | – syndrom fragilního X chromosomu   |
| FSH       | – folikulostimulační hormon   |
| FXPOI     | – předčasná ovariální insuficience asociovaná s fragilním X                                 |
| FXTAS     | – syndrom tremoru/ataxie asociovaný s fragilním X   |
| GENET     | – Oddělení lékařské genetiky  |
| GENET SOP | – standardní operační postup Oddělení lékařské genetiky                                     |
| GenQA     | – Genomics Quality Assessment   |
| GDPR      | – nařízení o ochraně osobních údajů   |
| IČP       | – identifikační číslo pracoviště  |
| IHK       | – interní hodnocení kvality   |
| ISO       | – International Organization for Standardization (Mezinárodní organizace pro standardizaci) |
| JOP       | – jiný odborný, vysokoškolsky vzdělaný, pracovník (nelékař)                                 |
| KZ        | – Krajská zdravotní, a.s.   |
| LP        | – laboratorní příručka  |
| MLPA      | – multiplexní amplifikace ligačně závislých sond  |
| MZD       | – Ministerstvo zdravotnictví České republiky  |

|                 |   |
|-----------------|---|
| <b>NEQAS</b>    | – National External Quality Assessment Service                          |
| <b>NGS</b>      | – sekvenování nové generace   |
| <b>NLZP</b>     | – nelékařský zdravotnický pracovník, středoškolák                       |
| <b>PAM</b>      | – Personální a mzdové oddělení Krajské zdravotní, a.s.                  |
| <b>PBS</b>      | – fosfátový pufr (phosphate buffered saline)                            |
| <b>PC</b>       | – počítačový systém   |
| <b>PCR</b>      | – polymerázová řetězová reakce  |
| <b>PWS</b>      | – Praderově-Williho syndrom   |
| <b>QF-PCR</b>   | – kvantitativní fluorescenční polymerázová řetězová reakce              |
| <b>SAK ČR</b>   | – Spojená akreditační komise, o.p.s.                                    |
| <b>SBS</b>      | – sekvenování syntézou  |
| <b>SOP</b>      | – standardní operační postup  |
| <b>SMK</b>      | – systém managementu kvality  |
| <b>STR</b>      | – krátké tandemové repetice   |
| <b>STS</b>      | – místa se sekvenční adresou  |
| <b>sy</b>       | – syndrom   |
| <b>SZŠ/VoZŠ</b> | – Střední škola zdravotnická/Vyšší odborná škola zdravotnická           |
| <b>UJEP</b>     | – Univerzita Jana Evangelisty Purkyně v Ústí nad Labem                  |
| <b>UL</b>       | – Krajská zdravotní, a.s. – Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem, o.z. |
| <b>UPD</b>      | – uniparentální disomie   |
| <b>UPD15</b>    | – uniparentální disomie chromosomu 15                                   |
| <b>UZ</b>       | – ultrazvuk   |
| <b>VL</b>       | – vedoucí laboratoře  |
| <b>VKK</b>      | – vedoucí Oddělení kvality, interního auditu a krizového managementu    |
| <b>VŠ</b>       | – vysokoškolsky vzdělaný pracovník                                      |

#### 4. Odpovědnosti a pravomoci

Odpovědnosti a pravomoci jednotlivých pracovníků včetně vedoucího oddělení jsou stanoveny popisem pracovní činnosti uvedené v dokumentu **KZ07\_FO0004 Popis pracovního místa a náplň práce**, uloženém v osobní složce pracovníka na PAM, kde je současně uvedeno pracovní zařazení pracovníka, viz **KZ07\_SM0009 Řízení lidských zdrojů** a dále ustanoveními danými v obecných a odborných dokumentech SMK.

| činnosti/funkce  | Vedoucí oddělení | Vedoucí laboratoře | VŠ odpovědný za metodu | Vedoucí laborant/ka | Laborant/ka |
|--|------------------|--------------------|------------------------|---------------------|-------------|
| Přijem vzorku a kontrola s údaji na žádance                  | -                | -                  | P                      | P                   | O           |
| Zápis identifikačních údajů do knihy metody a do databáze PC | -                | -                  | P                      | P                   | O           |
| Řešení neshod při příjmu materiálu v laboratoři              | -                | I                  | P                      | O                   | P           |
| Nasazení, zpracování, barvení                                | -                | -                  | P                      | P                   | O           |
| Izolace nukleových kyselin                                   | -                | -                  | P                      | P                   | O           |
| Analýza vzorku   | -                | I                  | O                      | S                   | S           |
| Zapsání výsledku do knihy metody a do databáze PC            | -                | P                  | O                      | -                   | -           |
| Hlášení statimů a patologických výsledků                     | I                | P                  | O                      | -                   | -           |
| Uvolnění výsledku  | P                | P                  | O                      | -                   | -           |
| Řešení stížností   | O                | S                  | S                      | S                   | -           |
| Konzultační činnost  | O                | P                  | S                      |                     |             |
| Likvidace vzorků   | -                | -                  | P                      | P                   | O           |
| Úklid pracovního místa, uschování vzorků v laboratoři        | -                | -                  | -                      | P                   | O           |

**Legenda:** O – odpovídá za danou činnost (má povinnost ji provést)

S – spolupracuje s odpovědnou osobou

I – je informován odpovědnou osobou

P – má pravomoc k vykonání dané činnosti a pak odpovídá za její výsledek

## 5. Vlastní popis předmětu

### A. Předmluva

LP se věnuje popisu činností souvisejících s přípravou biologického materiálu k rozboru, po něm následujících činností a dále systému řízení jakosti a dokumentace.

Slouží k informaci o poskytovaných službách a zároveň jako přehled informací nápomocných při interpretaci výsledků.

### B. Základní informace o laboratoři

#### B.1 Identifikace laboratoře a důležité údaje

|  |   |
|--|---|
| Název organizace                           | Krajská zdravotní a.s. – Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem, o.z.    |
| Identifikační údaje                        | IČ: 25488627  |
| Typ organizace                             | Nestátní zdravotnické zařízení  |
| Statutární zástupce                        | ředitel KZ  |
| Název oddělení                             | Oddělení lékařské genetiky  |
| Adresa                                     | Sociální péče 3316/12A, 401 13 Ústí nad Labem                           |
| Umístění                                   | Areál Masarykovy nemocnice v Ústí nad Labem, o.z., budova C, 3. podlaží |
| Předmět činnosti                           | Provádění vyšetření biologického materiálu v oblasti genetiky           |
| Okruh působnosti laboratoře                | pro Ústecký kraj a další spolupracující lůžková i ambulantní zařízení   |
| Vedoucí oddělení, primář                   | Prim. MUDr. Jana Laštůvková   |
| Vedoucí laboratoře                         | MUDr. Vjačeslav Harmaš  |
| Zástupce vedoucího oddělení                | <del>MUDr. Monika Soukupová</del> MUDr. Anna Pecková                    |
| Zástupce vedoucího laboratoře              | Mgr. Vlasta Čejnová   |
| Odborný garant za analytickou interpretaci | MUDr. Vjačeslav Harmaš  |
| Odborný garant za klinickou interpretaci   | MUDr. Jana Laštůvková   |
| Manažer kvality                            | Lenka Malá  |
| Internet                                   | <a href="http://www.kzcr.eu">www.kzcr.eu</a>                            |

#### B.2 Kontakty a provozní doba laboratoře

Kontakty:

tel.: 00420 477 11+

| jméno                                 | telefon   | email                   |
|---------------------------------------|-----------|-------------------------|
| <b>MUDr. Jana Laštůvková – primář</b> | 2470/2475 | jana.lastuvkova@kzcr.eu |

| jméno   | telefon        | email                    |
|---|----------------|--------------------------|
| <b>MUDr. Anna Pecková</b> – zástupce primáře  | 247768         | anna.peckova@kzcr.eu     |
| <b>MUDr. Vjačeslav Harmaš</b> – vedoucí laboratoře, VŠ zodpovědný za úsek cytogenetiky a molekulární cytogenetiky       | 2467/2472      | vjaceslav.harmas@kzcr.eu |
| <b>Mgr. Vlasta Čejnová</b> – zástupce vedoucího laboratoře, interní auditor, VŠ zodpovědný za úsek molekulární genetiky | 2474/2469      | vlasta.cejnova@kzcr.eu   |
| <b>Ing. Monika Stará</b> – VŠ zodpovědný za úsek prenatální diagnostiky, zástupce manažera kvality                      | 2472           | monika.stara@kzcr.eu     |
| <b>Lenka Malá</b> – vedoucí laborantka, manažer kvality, správce měřidel  | 2474/2459      | lenka.mala@kzcr.eu       |
| Genetická poradna – objednávání pacientů  | 2473           |                          |
| Příjem materiálu - laboratoř  | 2479/2459/2476 |                          |

**Provozní doba laboratoře:**

| Den          | Pracoviště         | Čas           | Poznámka                        |
|--------------|--------------------|---------------|---------------------------------|
| Pracovní dny | Laboratoř GENET UL | 06:30 - 15:00 | Po dohodě 6:00-18:00, ev. So,Ne |

**B.3 Zaměření laboratoře**

GENET UL poskytuje komplexní genetickou péči, poradenskou i laboratorní, pacientům celé spádové oblasti, která představuje Ústecký kraj a část kraje Libereckého. Pacienti jsou ke genetickému vyšetření doporučováni především gynekology, dětskými lékaři, neurology, dermatology a v menší míře i lékaři dalších odborností a praktickými lékaři.

Genetická poradna zajišťuje genetické poradenství a indikace genetických laboratorních vyšetření včetně prenatální diagnostiky.

Cytogenetická laboratoř provádí vyšetření chromosomů z periferní krve, pupečnickové krve, plodové vody, choriových klků a dalších dlouhodobě kultivovaných tkání.

Laboratoř molekulární cytogenetiky provádí molekulárně cytogenetická vyšetření chromosomových aberací z kultivovaných buněk metodou FISH.

Laboratoř molekulární genetiky provádí izolace DNA z různých materiálů, molekulárně genetické vyšetření cystické fibrózy, molekulárně genetické vyšetření mikroleleci v AZF lokusu chromosomu Y, molekulárně genetické vyšetření aneuploidií chromosomů, ~~molekulárně genetické vyšetření delece v oblasti 15q11-15q13 a uniparentální disomie chromosomu 15~~, molekulárně genetické vyšetření chromosomových aberací na celogenomové úrovni metodou microarray, molekulárně genetické vyšetření syndromu fragilního X chromosomu, molekulárně genetické vyšetření klinického exomu metodou sekvenování nové generace.

Další molekulárně genetická vyšetření zajišťujeme na jiných specializovaných pracovištích v ČR i v zahraničí.

Kromě této rutinní činnosti se pracovníci GENET UL zabývají výukou studentů SZŠ/VoZŠ v Ústí nad Labem a studentů Ústavu zdravotnických studií UJEP a Přírodovědecké fakulty UJEP, a účastní se pregraduální a postgraduální výchovy lékařů. Pravidelně se aktivně zúčastňují odborných konferencí.

V roce 2006 získalo Oddělení lékařské genetiky UL akreditaci Ministerstva zdravotnictví pro postgraduální přípravu lékařů a jiných odborných vysokoškoláků v oboru Lékařská genetika a v roce 2011 akreditaci pro obor specializačního vzdělávání "Zdravotní laborant – Klinická genetika" k uskutečňování praktické části vzdělávacího programu.

Laboratoř zprostředkovává přeposlání vzorku nebo části vzorku do jiné laboratoře u vyšetření, která laboratoř GENET neprovádí. Laboratoř GENET plní funkci prostředníka, zajišťovatele servisu pro klienta – lékaře. Indikující lékař rozhodne, do které laboratoře bude vzorek odeslán.

Výsledky pak zadávajícímu lékaři (genetické poradně) zasílá laboratoř, která vyšetření provedla. Smluvním vztahem vyjadřujícím konkrétní požadavek klienta je žádanka o vyšetření viz kapitola C.2 LP.

#### B.4 Úroveň a stav akreditace pracoviště:

V laboratoři byl zaveden systém řízení kvality dle požadavků normy ČSN EN ISO 9001:2008 již od roku 2002. Tento systém byl během roku 2012 rozšířen o požadavky normy ČSN EN ISO 15189:2007.

Pro vybraná laboratorní vyšetření získala laboratoř v prosinci 2012 akreditaci ČIA dle normy ČSN EN ISO 15189:2007 a v roce 2015 akreditaci dle normy ČSN EN ISO 15189:2013.

V roce 2018 získala Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem, o. z. Certifikát o udělení akreditace na základě splnění akreditačních standardů SAK ČR.

Laboratoř GENET UL má zaveden systém interního hodnocení kvality (IHK) a účastní se systému externího hodnocení kvality (EHK), řídí se platnou legislativou a dostupnými doporučeními odborných společností.

Zaměstnanci GENET UL splňují svým vzděláním veškeré podmínky odborné způsobilosti.

#### B.5 Organizace laboratoře, její vnitřní členění, vybavení a personální obsazení

GENET UL se nachází v areálu Masarykovy nemocnice a je rozděleno na genetickou poradnu a laboratoř. Poradna i laboratoř se nacházejí v budově C ve 3. nadzemním podlaží.

Laboratoř je dále vnitřně členěna na tyto úseky:

- Cytogenetická laboratoř
  - Úsek prenatální diagnostiky
  - Úsek postnatální diagnostiky
- Laboratoř molekulární cytogenetiky (Úsek molekulární cytogenetiky)
- Laboratoř molekulární genetiky (Úsek molekulární genetiky)

Laboratoř je umístěna ve 3. nadzemním podlaží budovy C a vybraná vyšetření se provádějí v prostorách DNA laboratoře Transfúzního oddělení UL, ve **druhém 2.** podlaží budovy C.

Personální obsazení laboratoře tvoří: 1 lékař, **2-3** bioanalytici, **3-4-3** jiní odborní vysokoškoláci (JOP), **7-6** laborantů, 1 sanitářka. Laboratoř GENET UL využívá moderní přístrojové vybavení pro cytogenetiku, molekulární cytogenetiku a molekulární genetiku. Mezi hlavní přístrojové vybavení laboratoře patří: mikroskopy, automatizovaný karyotypovací systém LUCIA Karyo + FISH Cytogenetics teplotní CO<sub>2</sub> inkubátory, laboratorní odstředivky, laminární boxy, digestoř, PCR systémy, elektroforetické systémy, genetický analyzátor ABI 3130, spektrofotometr NanoDrop, hybridizační pec Agilent, SureScan Dx Microarray Scanner, **NGS sekvenátor MiSeq System**.

#### B.6 Spektrum nabízených služeb

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

- periferní krev
- plodová voda
- pupečnicková krev
- choriové klky
- stěr z bukalní sliznice
- potratový materiál
- kožní biopsie, event. jiné tkáně
- izolovaná DNA



Pracoviště GENET UL je rozděleno na genetickou poradnu a laboratoř, která je vnitřně členěna na cytogenetickou laboratoř, molekulárně cytogenetickou laboratoř a molekulárně genetickou laboratoř.

## B.7 Přehled nabízených genetických laboratorních vyšetření

- Vyšetření karyotypu z buněk periferní krve
- Vyšetření karyotypu z buněk plodové vody
- Vyšetření karyotypu z pupečnickové (fetální) krve
- Vyšetření karyotypu z buněk choriových klků
- Vyšetření získaných chromosomových aberací z periferní krve
- Urychlené vyšetření aneuploidií chromosomů 13, 18, 21, X a Y metodou QF-PCR z buněk plodové vody
- Chromosomové vyšetření potratového materiálu
- Vyšetření aneuploidií chromosomů 13, 15, 16, 18, 21, 22, X a Y metodou QF-PCR z potratového materiálu
- Molekulárně genetické vyšetření mutací v *CFTR* genu
- Molekulárně genetické vyšetření mikroleceí AZF oblasti chromosomu Y
- ~~Molekulárně genetické vyšetření delece v oblasti 15q11-15q13 a uniparentální disomie chromosomu 15~~
- Molekulárně cytogenetické vyšetření chromosomových aberací metodou FISH
- Vyšetření chromosomových aberací na celogenomové úrovni metodou microarray za účelem analýzy změn počtu kopií sekvencí DNA (CNVs)
- Molekulárně genetické vyšetření syndromu fragilního X chromosomu a *FMR1*-příbuzných onemocnění
- Molekulárně genetické vyšetření klinického exomu metodou sekvenování nové generace

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

Laboratoř GENET UL se pravidelně účastní systému EHK u metod, pro které je tento systém hodnocení kvality v České republice zaveden.

- V České republice není v současné době organizována žádná externí kontrola kvality cytogenetických laboratorních vyšetření. Proto se GENET UL zaregistrovalo do mezinárodního (evropského) systému kontroly kvality cytogenetických laboratoří CEQA ([www.ceqa.org](http://www.ceqa.org)), kterého se od roku 2013 účastní. Od roku 2016 se Laboratoř GENET UL účastní tohoto typu EHK i pro Vyšetření chromosomových aberací na celogenomové úrovni metodou microarray za účelem analýzy změn počtu kopií sekvencí DNA (CNVs). Od roku 2018 pořádá EHK pro metodu microarray i pro cytogenetické metody Genomics Quality Assessment (GenQA, UK). GenQA je členem UK NEQAS konsorcia. **Od roku 2022 se Laboratoř GENET UL v rámci GenQA účastí i EHK pro vyšetření syndromu Fragilního X chromosomu.**

Dále se laboratoř GENET UL zúčastňuje i mezilaboratorního porovnání kvality cytogenetických laboratorních vyšetření s akreditovanou laboratoří (Laboratoře ÚBLG 2. LF UK a FN Motol).

## B.8 Přehled metod akreditovaných dle normy ISO 15189

KZ03\_ST1283 UL GENET SOP Cytogenetické vyšetření karyotypu z kultivovaných buněk plodové vody pomocí G-pruhování a mikroskopie

KZ03\_ST1284 UL GENET SOP Cytogenetické vyšetření karyotypu z kultivovaných buněk periferní krve pomocí G-pruhování a mikroskopie

KZ03\_ST1286 UL GENET SOP Vyšetření chromosomových aberací metodou FISH u kultivovaných buněk

KZ03\_ST1287 UL GENET SOP Molekulárně genetické vyšetření mutací a Tn polymorfismů genu *CFTR* (cystická fibróza) metodou ARMS a fragmentační analýzou

KZ03\_ST1288 UL GENET SOP Molekulárně genetické vyšetření mikroleceí oblastí AZFa, AZFb a AZFc chromosomu Y metodou multiplexní PCR a fragmentační analýzou

KZ03\_ST1289 UL GENET SOP Molekulárně genetické vyšetření aneuploidií chromosomů 13, 18, 21, X a Y metodou QF-PCR a fragmentační analýzou

KZ03\_ST2299 UL GENET SOP Vyšetření chromosomových aberací na celogenomové úrovni metodou microarray



## B.9 Informace o poskytovaných genetických laboratorních vyšetřeních

Veškerá genetická laboratorní vyšetření jsou prováděna pouze s informovaným souhlasem vyšetřovaného (případně jeho zákonného zástupce). Pacient (případně jeho zákonný zástupce) musí být lékařem řádně poučen o charakteru, významu a důsledcích vyšetření a podepisuje KZ03\_PS0310 UL GENET Souhlas vyšetřované/ho (zákonného zástupce) s genetickým laboratorním vyšetřením.

### B.9.1 Cytogenetické metody

#### Chromosomální vyšetření

Slouží k určení karyotypu klasickými cytogenetickými metodami a fluorescenční *in situ* hybridizací.

**Vyšetření se provádí:**

#### Z periferní krve

Důvodem odběru je určení karyotypu vyšetřovaného pacienta.

K vyšetření je nutno dodat periferní krev odebranou do zkumavky s heparinem sodným. Při cytogenetickém vyšetření karyotypu z krve jsou kultivovány T-lymfocyty. Dělení T-lymfocytů je stimulováno přidavkem rostlinného lektinu Phytohaemagglutininu (PHA) do kultivačního media. Pod mikroskopem sledujeme počet a strukturu jednotlivých chromosomů. Odběr se neprovádí po transfúzi a provedené infuzi u novorozence z důvodu vlivu na výsledky vyšetření (karyotyp by odpovídal karyotypu dárce, nikoliv pacienta).

#### ➤ Indikace k vyšetření:

- abnormální fenotyp pacienta
- problémy růstu a vývoje u pacienta
- mentální retardace pacienta nebo v rodině pacienta
- narození mrtvého plodu a úmrtí novorozence
- opakované spontánní potraty
- poruchy plodnosti, neplodnost
- vyšetření dárců pohlavních buněk
- pozitivní rodinná anamnéza chromosomových přestaveb
- další méně časté indikace

#### Z plodové vody

Důvodem odběru plodové vody je požadavek na vyšetření karyotypu buněk plodu (tzv. amniocytů) nebo vyšetření jednotlivých genů k vyloučení vývojových vad u plodu. Zároveň lze vyšetřit hladinu alfafetoproteinu či jiných biochemických markerů v plodové vodě. Jedná se o invazivní vyšetření. Riziko komplikací výkonu se pohybuje okolo 0,5 – 1%, proto je k provedení odběru vzorku plodové vody (amniocentéze) vždy nutná indikace klinického genetika. Odběr vzorku plodové vody provádí vždy lékař-gynekolog pod ultrazvukovou kontrolou. Plodová voda obsahuje kožní a slizniční buňky z povrchu těla plodu. Tyto buňky se v laboratorních podmínkách v kultivačním mediu dále dělí a dalším zpracováním je možné z nich určit chromosomy plodu a jeho genetickou výbavu.

Změny v počtu nebo ve struktuře chromosomů doprovázejí závažné vrozené vývojové vady, které ve většině případů nelze po narození léčit.

Odběr vzorku plodové vody se provádí nejčastěji mezi 16. – 18. týdnem gravidity, lze ho však provést již od 15. týdne gravidity. V případě odběru provedeného ve vyšších týdnech gravidity je třeba brát v úvahu, že přerušení těhotenství z důvodu poškození plodu je dle platné legislativy až na výjimky povoleno pouze do konce 24. týdne těhotenství. Vlastní kultivace se pohybuje většinou mezi 9 – 16 dny, proto je důležitý termín provedení odběru. Při odběru je tedy třeba počítat s dostatečnou lhůtou na kultivaci a zpracování vzorku. Vyšetření slouží k určení karyotypu plodu klasickými cytogenetickými metodami a fluorescenční *in situ* hybridizací. Výsledky FISH jsou k dispozici do 4 pracovních dnů od dokončení kultivace a zpracování.

V indikovaných případech se provádí současně s cytogenetickým vyšetřením karyotypu plodu i urychlené vyšetření aneuploidií chromosomů 13, 18, 21, X a Y molekulárně genetickou metodou QF-PCR. Výsledky vyšetření QF-PCR jsou k dispozici do 3 – 6 pracovních dnů (statimová do 24 hodin po odběru).

Plodová voda je vzhledu naředěné moči. V některých případech může být plodová voda zbarvena krví; pokud je krev čerstvá, jedná se o následek krvácení do děložní dutiny v průběhu výkonu. Pokud

pacientka krvácela během gravidity, plodová voda může být nahnědlá, nazelenalá nebo tmavě červená.

➤ **Indikace k vyšetření:**

- pozitivní screening chromosomových aberací v I. nebo II. trimestru
- nosičství chromosomové přestavby u jednoho z rodičů
- předchozí narození plodu s chromosomovou abnormalitou nebo s vrozenými vývojovými vadami
- výskyt mozaiky nebo aneuploidie pohlavních chromosomů u jednoho z rodičů
- věk matky nad 35 let
- abnormální nález při ultrazvukovém vyšetření plodu
- intrauterinní růstová retardace plodu
- další méně časté indikace

### **Z choriových klků**

Důvodem odběru choriových klků je požadavek na vyšetření karyotypu z kultivovaných buněk choriových klků. Vyšetřením karyotypu z choriových klků lze potvrdit či vyloučit případnou vrozenou chromosomovou aberaci plodu. Jedná se o invazivní vyšetření. Riziko komplikací výkonu se pohybuje okolo 0,5 – 1%, proto je k provedení odběru vzorku choriových klků (chorionic villus sampling, CVS) vždy nutná indikace klinického genetika. Odběr choriových klků provádí vždy lékař-gynekolog pod ultrazvukovou kontrolou. Choriové klky se skládají ze tří vrstev. Vnější vrstvou je syncytiotrofoblast, střední vrstvou cytotrofoblast a vnitřní vrstvou je mezenchymové jádro. Buňky choriových klků se v laboratorních podmínkách v kultivačním mediu dále dělí a dalším zpracováním je možné z nich určit chromosomy plodu a jeho genetickou výbavu.

Odběr vzorku choriových klků se provádí zhruba mezi 12. – 15. týdnem gravidity, optimálním obdobím pro provedení CVS je 12. – 13. týden gravidity. Výhodou odběru choriových klků oproti amniocentéze je možnost časnější diagnostiky (např. v návaznosti na prvotrimestrální screening vývojových vad). Určitou nevýhodou CVS je riziko placentárního mozaicismu, který může být zdrojem diagnostických nejistot. Vlastní kultivace se pohybuje většinou mezi 14 – 21 dny. Při odběru je tedy třeba počítat s dostatečnou lhůtou na kultivaci a zpracování vzorku. Vyšetření slouží k určení karyotypu plodu klasickými cytogenetickými metodami a fluorescenční in situ hybridizací. Výsledky FISH jsou k dispozici do 4 pracovních dnů od dokončení kultivace a zpracování.

Ve všech případech se provádí současně s cytogenetickým vyšetřením karyotypu plodu z buněk choriových klků i urychlené vyšetření aneuploidii chromosomů 13, 18, 21, X a Y molekulárně genetickou metodou QF-PCR. Výsledky vyšetření QF-PCR ze vzorku choriových klků jsou k dispozici do 3 – 6 pracovních dnů (statimová do 24 hodin po odběru).

Střední vrstva choriových klků obsahuje spontánně se dělící buňky, proto je možné získat mitózy přímým zpracováním, nebo lépe po jednodenní kultuře. Kvalita těchto spontánních mitóz je ale nízká, proto je vhodné nasadit z choriových klků dlouhodobou kulturu a získat kvalitnější mitózy z mezenchymového jádra pro spolehlivější záchyt drobných chromosomových aberací.

➤ **Indikace k vyšetření:**

- pozitivní kombinovaný screening I. trimestru
- patologický ultrazvukový nález v těhotenství
- předchozí narození plodu s chromosomovou abnormalitou nebo s vrozenými vývojovými vadami
- nosičství chromosomové přestavby
- narození mrtvého plodu nebo úmrtí novorozence
- opakované spontánní potraty
- výskyt mozaiky nebo aneuploidie pohlavních chromosomů u jednoho z rodičů
- věk matky nad 35 let
- další méně časté indikace

**Z potratového materiálu**

Důvodem odběru je určení karyotypu potraceného plodu. K vyšetření je nutné dodat sterilně odebraný materiál o velikosti 0,5 x 0,5 cm (minimálně), který je uložen do sterilní zkumavky s kultivačním nebo transportním médiem nebo fyziologickým roztokem, a v co nejkratší době je dopraven do laboratoře GENET UL.

**➤ Indikace k vyšetření:**

- stanovení karyotypu potraceného plodu

**Z pupečnickové (fetální) krve**

Důvodem odběru je stanovení karyotypu plodu.

**➤ Indikace k vyšetření:**

- obdobné indikace jako při vyšetření buněk plodové vody spolu s časovou tísň
- vyloučení nebo upřesnění mozaicismu zjištěného při předchozím vyšetření plodové vody

**Cytogenetické vyšetření získaných chromosomových aberací z periferní krve**

Důvodem odběru je stanovení hladiny ev. poškození chromosomů v buňkách lymfocytů periferní krve vyšetřovaného pacienta.

K vyšetření je nutno dodat periferní krev odebranou do zkumavky s heparinem sodným. Při cytogenetickém vyšetření karyotypu z krve jsou kultivovány T-lymfocyty. Dělení T-lymfocytů je stimulováno přidávkem rostlinného lektinu Phytohaemagglutininu (PHA) do kultivačního media. Pod mikroskopem sledujeme počet a strukturu jednotlivých chromosomů. Zaznamenáváme chromosomové i chromatidové aberace.

**➤ Indikace k vyšetření:**

- riziko expozice pacienta mutagenním vlivům vnějšího prostředí
- při potřebě monitorovat vliv léčby zvláště léky s možnými mutagenními účinky
- pro vyloučení či potvrzení některého syndromu či onemocnění spojeného se zvýšenou lomivostí chromosomů

**B.9.2 Molekulárně cytogenetické metody****FISH vyšetření**

Fluorescenční hybridizace *in situ* (FISH) je založena na navázání fluorescenčně značených DNA sond ke komplementárním úsekům cílové DNA chromosomů nebo interfázních buněčných jader fixovaných na mikroskopickém preparátu. Ty jsou následně vizualizovány a detekovány pomocí epifluorescenčního mikroskopu. FISH vyšetření se používá k upřesnění a doplnění chromosomového vyšetření, popř. verifikaci nálezu zjištěného běžným cytogenetickým rozbohem. V některých případech může FISH analýza nahradit běžný cytogenetický rozbor (selhání kultivace, časový stres).

Metodika dále platí pro analýzu komplexních chromosomových přestaveb a průkaz původu marker-chromosomů v mitosách metodou mnohobarevné fluorescenční *in situ* hybridizace (mFISH). Princip této metody spočívá v navázání celochromosomových malovacích DNA sond pro všechny lidské chromosomy, detekci mikroskopováním a následné počítačové analýze získaného mikroskopického mnohobarevného obrazu.

FISH vyšetření se používá vždy cíleně a po domluvě s indikujícím lékařem k upřesnění a doplnění klasického chromosomového vyšetření, popř. verifikaci nálezu zjištěného běžným cytogenetickým rozbohem, dále se používá k cílenému vyšetření tzv. mikrolečních syndromů. V některých případech může FISH analýza nahradit běžný cytogenetický rozbor (selhání kultivace, časový stres).

➤ **Používané FISH sondy:**○ **Centromerické sondy**

- lokalizace: hybridizují s repetitivními satelitními sekvencemi především v centromerických oblastech
- účel: slouží k diagnostice numerických chromosomových aberací, detekci chromosomů neznámého původu

○ **Lokus-specifické sondy**

- lokalizace: hybridizují s jedinečnými sekvencemi DNA
- účel: slouží k diagnostice numerických chromozomálních aberací, k vyšetření mikrolelecií u mikrolelečních syndromů (např. Praderové-Williho/Angelmanův sy, DiGeorgův sy), zjištění amplifikace onkogenů a některých specifických translokací

○ **Celochromosomové sondy**

- lokalizace: hybridizují s mnohočetnými chromosomovými sekvencemi, označují celý chromosom
- účel: slouží k vyšetření chromosomových přestaveb, analýze komplexních translokací a k detekci původu marker chromosomů

**B.9.3 Molekulárně genetické metody**

Molekulárně genetická vyšetření jsou prováděna po indikaci genetikem a řádném genetickém poradenství pouze s informovaným souhlasem vyšetřovaného (případně jeho zákonného zástupce). Při genetické konzultaci je pacient řádně poučen o charakteru, významu a důsledcích vyšetření a podepisuje ***KZ03\_PS0310 UL GENET Souhlas vyšetřovaného/ho (zákonného zástupce) s genetickým laboratorním vyšetřením.*** Součástí dokumentu je i rozhodnutí vyšetřovaného/ho o tom, jak má být naloženo se vzorkem DNA po dokončení daného laboratorního vyšetření.

Izolace DNA je výchozí krok ke všem metodám molekulární genetiky. Izolace DNA je prováděna za pomoci komerčně vyráběných izolačních kitů.

**Laboratoř provádí:**

- izolaci DNA ze vzorku periferní krve, pupečnickové krve, plodové vody, choriových klků
- izolaci DNA z kultivovaných buněk buněčných kultur
- izolaci DNA ze stěrů bukalní sliznice
- izolaci DNA z potratového materiálu
- izolaci DNA z dalších dodaných tkání

**Seznam prováděných molekulárně genetických vyšetření:****QF-PCR vyšetření**

Molekulárně genetické vyšetření nejčastějších aneuploidií z buněk plodové vody (nativní amniocyty) či vzorku choriových klků (nativní CVS) pomocí metody QF-PCR (kvantitativní fluorescenční polymerázová řetězová reakce) se provádí na základě indikace klinického genetika. Vyšetření právě této kombinace chromosomů 13, 18, 21, X a Y se provádí proto, že aneuploidie těchto chromosomů nejčastěji způsobují narození dítěte postiženého vrozenou chromosomovou aberací.

Vyšetření umožňuje detekovat vrozené chromosomové aberace zahrnující následující syndromy: Downův, Edwardsův, Patauův, Klinefelterův, Turnerův, Jacob (supermale), triple X (superfemale) a polyploidie.

Vyšetření metodou QF PCR zahrnuje izolaci DNA z buněk plodu obsažených v plodové vodě (nativní amniocyty) či izolaci DNA ze vzorku nativních choriových klků (CVS) představující placentární tkáň, amplifikaci vybraných polymorfních STR (short tandem repeat) markerů na chromosomech 13, 18, 21, X a Y pomocí fluorescenčně značených primerů a detekci vzniklých amplifikovaných DNA fragmentů

na genetickém analyzátoru. Vyšetření se provádí vždy přednostně a výsledek vyšetření je možné obdržet do 24 hodin po odběru (u statimů).

Pokud je to možné, tak se ve všech případech zpracovává a vyšetřuje také vzorek **stěru z bukální sliznice periferní krve** (případně **periferní krev stěru z bukální sliznice**) matky, aby bylo možno porovnat STR profil (alelický) matky a plodu, případně vyloučit kontaminaci vzorku plodové vody či CVS mateřskými buňkami. **Stěr z bukální sliznice Periferní krev** (případně **periferní krev stěr z bukální sliznice**) se odebírá pacientkám před odběrem vzorku plodové vody.

U potratových materiálů jsou vyšetřovány navíc ještě aneuploidie chromozomů 15, 16 a 22. Pokud je to možné, tak se s potratovým materiálem vyšetřuje také vzorek **stěru z bukální sliznice periferní krve** (případně **periferní krev stěru z bukální sliznice**) matky, aby bylo možno porovnat STR profil (alelický) matky a plodu a určit, že se u dodaného materiálu s jistotou jedná o materiál plodu (jedná se hlavně o případy, kdy je plod ženského pohlaví). **Stěr z bukální sliznice Periferní krev** (případně **periferní krev stěru z bukální sliznice**) se odebírá pacientkám před nástupem na ukončení těhotenství.

#### ➤ Indikace k vyšetření:

- pozitivní screening chromosomových aberací v I. nebo II. trimestru
- abnormální ultrazvukový nález
- kombinace více rizikových faktorů
- časový faktor
- psychologický faktor

### **Vyšetření mutací v genu pro cystickou fibrózu (CFTR)**

Vyšetření 50 nejčastějších mutací genu *CFTR* vyskytujících se v naší středoevropské populaci provádíme pomocí kitu Elucigene CF EU2 (Gen-Probe). Tyto mutace se vyskytují u cca 92% pacientů s cystickou fibrózou v naší středoevropské populaci. Principem metody je alelově specifická multiplex PCR s fluorescenčně značenými primery a fragmentační analýza na genetickém analyzátoru.

Jako alternativní vyšetřovací kit používáme INNOLiPA *CFTR* 19 kit a INNOLiPA *CFTR* 17+Tn kit. Tyto kity jsou vyráběné firmou INNOGENETICS, detekují 36 nejčastějších mutací genu *CFTR* vyskytujících se ve středoevropské populaci a zachytí cca 90% mutací *CFTR* genu detekovaných v české populaci referenční laboratoří.

Jak kit Elucigene CF EU2, tak kity INNOLiPA jsou schopny detekovat alely bez mutace a alely s mutací, takže zachytíme jak nepostižené (asymptomatické) heterozygotní přenašeče, tak postižené homozygoty.

Vyšetření dále odhalí intragenový polymorfismus Tn variant (5T, 7T, 9T) v intronu 8, kdy je identifikována homo- či heterozygotní přítomnost nebo absence 5T alely související s CBAVD (congenital bilateral absence of the vas deferens).

#### ➤ Indikace k vyšetření:

- podezření na onemocnění cystickou fibrózou
- příbuzní pacienta s cystickou fibrózou a detekovanými mutacemi v *CFTR* genu
- partner nosiče mutace před plánovaným těhotenstvím, případně v průběhu těhotenství
- muži s poruchou plodnosti
- prenatální diagnostika v případě partnerů heterozygotů pro mutaci v *CFTR* genu
- prenatální diagnostika u plodů s UZ známkami rizika CF (hyperechogenita kliček středních plodu)

### **Vyšetření mikroleceí AZF oblasti chromosomu Y**

Analýza AZF oblasti (azoospermický faktor) na dlouhém rameni Y chromosomu.

Jsou vyšetřovány oblasti AZFa, AZFb, AZFc a z každé oblasti jsou vyšetřovány nejméně 2 STS lokusy.

Uvedený postup zachytí cca 90% delecí v AZF oblastech.

#### ➤ Indikace k vyšetření:

- porucha plodnosti u mužů s těžkou oligospermii nebo azoospermii

**Vyšetření delece v oblasti 15q11-15q13 a uniparentální disomie chromosomu 15**

Nejčastější příčinou Praderové-Williho syndromu (PWS) nebo Angelmanova syndromu (AS) je delece v chromosomové oblasti 15q11-15q13 (70-75%). Deleční formy PWS a AS vznikají v 99 % de novo, s rizikem rekurence cca 1% pro další sourozence.

Druhou nejčastější příčinou je uniparentální disomie (UPD) – u PWS 20-25%, u AS 5%. UPD vznikne, pokud pacient zdědí dvě kopie chromosomu nebo části chromosomu od jednoho rodiče a žádnou kopii od druhého rodiče. Maternální a paternální UPD chromosomu 15 (UPD15) reprezentuje nejčastěji pozorovanou UPD. Pacient s maternální UPD15 trpí PWS, zatímco pacient s paternální UPD15 trpí AS.

PWS a AS jsou fenotypově zcela odlišná multisystémová onemocnění vyskytující se s incidencí 1/10-25 000.

Vyšetření je založeno na DNA polymorfismu (STR markery chromosomu 15) a umožňuje odhalit UPD i deleci. Jedná se o nepřímou diagnostiku, kdy je třeba s DNA pacienta (plodu) vyšetřit současně i DNA matky a otce.

➤ **Indikace k vyšetření:**

- podezření na PWS nebo AS
- hypotonický syndrom
- mentální retardace

**Vyšetření chromosomových aberací na celogenomové úrovni metodou microarray**

Analýza chromosomů pomocí techniky microarray (chromosomal microarray analysis, CMA) představuje moderní diagnostickou metodu, která umožňuje odhalit genomické abnormality týkající se široké škály genetických chorob v postnatální i prenatalní genetické diagnostice. CMA zahrnuje metodu CGH array (komparativní genomová hybridizace) a SNP (single nucleotide polymorphism) array. Obě metody umožňují detekci submikroskopické změny v počtu kopií – varianty v počtu kopií (copy number variations, CNVs), jakými jsou mikrolece či mikroduplikace. CMA umožňuje identifikovat CNVs u pacientů s celkovým opožděným vývojem, mentální retardací, autismem, mnohočetnými vrozenými vývojovými vadami a dysmorfizmem. Dále se uplatňuje i v diagnostice nádorových onemocnění. Navíc tato metoda může odhalit CNVs nejasného klinického významu roztroušené po celém genomu.

Array CGH (komparativní genomová hybridizace na čipu) je molekulárně genetické (molekulárně cytogenetické) vyšetření celého genomu. Primárně slouží k odhalení nebalancovaných aberací (ztrát a získů sekvencí), jejichž umístění v genomu není předem známo. Hlavním principem je kompetice fluorescenčně značené referenční DNA se značenou DNA pacienta o komplementární sekvence rozprostřené na čipu. Intenzitu každého spotu poté zachytí speciální scanner, pomocí něhož můžeme analyzovat poměr obou fluorochromů. Pro efektivní hodnocení výsledku jsou využívány interpretační programy a databáze (interní a externí). Metodou nelze prokázat balancované chromosomové odchylky (balancované translokace či inverze), nízkofrekvenční mozaicismus a bodové mutace. Zjištěné aberace jsou obvykle ověřovány další metodou, např., FISH nebo MLPA.

➤ **Indikace k vyšetření:**

Technika CMA se používá v diagnostice postnatální, prenatalní i preimplantační. Indikační kritéria jsou podobná jako u vyšetření karyotypu a platí tedy, že chromosomové aberace jsou obvykle spojeny s komplexem fenotypových odchylek – mají charakter syndromů.

❖ **Postnatální diagnostika (při normálním karyotypu, event. normálním výsledku molekulárně genetických vyšetření, např. vyloučení syndromu fragilního X)**

- psychomotorická retardace/mentální retardace/faciální stigmatizace
- problémy růstu a vývoje
- vrozené vývojové vady
- zdánlivě balancovaná aberace, upřesnění nalezené aberace (marker chromozom, *de novo* aberace apod.)
- vyšetření obou rodičů v případě čipového nálezu u plodu nebo dítěte k objasnění, zda se jedná o aberaci *de novo* nebo zděděnou nebo pro posouzení patogenity nálezu
- nelze vyšetřit karyotyp (nemožnost kultivace, nedostatek materiálu apod.)

❖ **Prenatální diagnostika (normální karyotyp a zároveň):**

- abnormální ultrazvukový nález
- významně vyšší NT nad 3 mm
- nález chromosomové přestavby a to i zděděné od rodiče (vyloučení *de novo* mikroleceí nebo mikroduplikací v místech zlomů)
- výskyt psychomotorické retardace či mnohočetných vrozených vývojových vad v rodinné anamnéze bez známé etiologie postižení
- nelze vyšetřit karyotyp (nemožnost kultivace, nedostatek materiálu, nedostatečná lhůta pro provedení do ukončeného 24. týdnu těhotenství apod.)

**Vyšetření syndromu fragilního X chromosomu a *FMR1*-příbuzných onemocnění**

Syndrom fragilního X chromosomu (FRAXA, Martin-Bell syndrom) je X-vázané dědičné onemocnění, které je v naprosté většině případů způsobeno dynamickou plnou mutací – expanzí CGG nad 200 repetit v 5' nepřekládané oblasti genu *FMR1* na chromozomu X (Xq27.3). Plné mutace mají za následek hypermetylaci DNA na CpG ostrůvcích v promotorové oblasti genu a v CGG repetitcích, následně utlumení exprese genu *FMR1* a snížení produkce proteinu FMRP. Syndrom se projevuje mentální retardací (intelektovou nedostatečností) spojenou s dysmorfickými rysy, kterými jsou především vysoké čelo, úzký protažený obličej, výrazná brada, velké odstávající uši a u mužů makroorchidizmus. Často jsou pozorovány poruchy chování zahrnující hyperaktivitu a autismus. Onemocnění se může vlivem inaktivace X chromosomu projevit také u žen. Incidence tohoto onemocnění je uváděna jako cca 1 – 3 : 4000 u mužů a 1 : 8000 u žen.

K vyšetření je používán LabGscan™ FRAXA PCR kit (Experteam) založený na technologii PCR a určený pro amplifikaci a detekci CGG repetit v 5' nepřekládané oblasti *FMR1* genu. Kit umožňuje diagnostikovat syndrom fragilního X chromosomu (FRAXA) a další poruchy spojené s fragilním X, jako je například primární ovariální insuficience spojená s fragilním X (FXPOI) či syndrom fragilního X s tremorem/ataxií (FXTAS), a identifikovat nosiče syndromu fragilního X.

**➤ Indikace k vyšetření:**

- pacient s mentální retardací (intelektovou nedostatečností), opožděným vývojem, poruchami chování a/nebo s fenotypovými rysy FRAXA
- příbuzní pacienta s FRAXA
- příbuzní pacienta s blíže neurčenou mentální retardací
- příbuzní ženy přenašečky premutace nebo intermediární alely *FMR1* genu
- muži a ženy starší 50 let s progresivní cerebelární ataxií a intenzivním tremorem, u kterých jiné běžné příčiny ataxie byly vyloučeny
- ženy s nejasnou příčinou POI před 40. rokem
- ženy s reprodukčními problémy spojenými se zvýšenou hladinou FSH, zejména pokud mají v rodinné anamnéze výskyt POI, mentální retardace nebo FRAXA
- prenatální diagnostika u plodů žen přenašeček premutace nebo mutace *FMR1* genu
- prekoncepční vyšetření žen s tremorem u rodiče

**Vyšetření klinického exomu metodou sekvenování nové generace**

K vyšetření klinického exomu (panel 4490 genů) je používán kit SOPHiA Clinical Exome Solution v2 (SOPHiA GENETICS) a platforma Illumina (sekvenátor MiSeq System).

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

Sekvenační technologií jakou je masivně paralelní sekvenování je možné testování sekvencí desítek až stovek genů současně, což umožňuje testování známých, vysoce rizikových i potencionálně rizikových genů.



|              |              |          |                |             |        |         |
|--------------|--------------|----------|----------------|-------------|--------|---------|
| Účinnosť od: | Garant:      | Uvolnil: | Schválil:      | Distribuce: | Verze: | Strana: |
| 9.5.2023     | Mgr. Čejnová | VKK      | Prim. GENET UL | Intranet    | 10     | 16 z 35 |

- vyšetření je indikováno pouze klinickým genetikem
- diagnostické testování
- indikující lékař má možnost některé geny z panelu vyloučit a tyto nevyšetřovat, anebo naopak vybrat pouze některé geny, které na základě klinického podezření preferuje

V této kapitole jsou uvedeny všechny specifické pokyny týkající se správného odběru a zacházení s primárními vzorky - doporučené odběrové nádoby, minimální odebírané množství, požadavky na transport a případné zvláštní načasování odběru. Tyto pokyny jsou důležité nejenom pro pracovníky laboratoře, ale i pro pracovníky odpovědné za odběry a označení primárních vzorků, za manipulaci se vzorky v době od odběru do transportu, za dodržení správných podmínek transportu a předání vzorků a žádánek do laboratoře.

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

|              |              |          |                |             |        |         |
|--------------|--------------|----------|----------------|-------------|--------|---------|
| Účinnost od: | Garant:      | Uvolnil: | Schválil:      | Distribuce: | Verze: | Strana: |
| 9.5.2023     | Mgr. Čejnová | VKK      | Prim. GENET UL | Intranet    | 10     | 17 z 35 |

## C.1 Identifikace primárního vzorku

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

Označení každého vzorku biologického materiálu musí obsahovat minimálně:

1. jméno a příjmení pacienta
2. číslo pojištěnce – (identifikační číslo, rodné číslo pacienta) pokud je to možné, případně jiný kód (např. datum, rok narození apod.)

**U samoplátců (např. cizinci) je uveden jiný kód, vždy musí být zajištěna jednoznačná identifikace vzorku a dokumentů.**

Za jednoznačné označení průvodky a materiálu odpovídá pracoviště odebírající vzorek. **Vždy musí zajistit nezaměnitelnost materiálu a dokumentace.**

## C.2 Žádanka pro genetické laboratorní vyšetření

Do laboratoře je přijímán materiál doprovázený žádankou pro laboratorní genetické vyšetření, která musí obsahovat:

**Povinné údaje:**

- jednoznačná identifikace pacienta
  - jméno, číslo pojištěnce (rodné číslo nebo datum narození – novorozenci, cizinci). V případě, že není totožnost pacienta známá, jiný způsob identifikace
  - pohlaví, věk (je-li důležité pro výsledky vyšetření) – a nelze identifikovat z rodného čísla, jména
  - kód zdravotní pojišťovny pacienta
- identifikaci žadatele o vyšetření – IČP lékaře, adresa a telefonní kontakt na žadatele, vždy je nutné razítko a podpis lékaře
- diagnóza, důvod indikace
- druh primárního vzorku – vyšetřovaný materiál
- požadovaná vyšetření
- datum a čas odběru primárního vzorku
- datum a čas přijetí vzorku laboratoří
- bydliště (umístění) pacienta ev. kontakt na pacienta

Aktuální verze Formuláře **KZ03\_FO0612 UL GENET Žádanka ke genetickému laboratornímu vyšetření** je dostupná na [www.kzcr.eu](http://www.kzcr.eu). V případě požadavku na prenatální genetické laboratorní vyšetření slouží jako žádanka také Klinická zpráva pacienta od indikujícího lékaře označovaná jako „Nález“. V této Klinické zprávě se vyskytuje dvakrát termín pohlaví. V hlavičce se do termínu pohlaví uvádí pohlaví vyšetřované pacientky (probandky). V další části Klinické zprávy se do termínu Sdělení pohlaví plodu uvádí ANO nebo NE. Ano znamená, že si probandka přeje znát pohlaví plodu zjištěné z prenatálního genetického laboratorního vyšetření. Ne znamená, že si probandka nepřeje sdělit pohlaví plodu identifikované z prenatálního laboratorního genetického vyšetření.

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

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

V případě zjištěné neshody informuje laboratoř žadatele a zapíše se záznam o neshodě do **KZ03\_FO0478 Záznam neshod pro diagnostický komplement.**

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

## C.3 Informovaný souhlas

Genetická laboratorní vyšetření jsou prováděna pouze s informovaným souhlasem vyšetřované osoby nebo jejího zákonného zástupce – dokument **KZ03\_PS0310 UL GENET Souhlas vyšetřované/ho (zákonného zástupce) s genetickým laboratorním vyšetřením**. Tento dokument je uložen v lékařské dokumentaci pacienta v genetické poradně GENET UL, lékař poradny stvrzuje na Žádance o laboratorní vyšetření svým podpisem, že vyšetřovaná osoba (zákonný zástupce) souhlas udělila

a v jakém rozsahu. V tomto případě není fyzická přítomnost formuláře **KZ03\_PS0310 UL GENET Souhlas vyšetřované/ho (zákonného zástupce) s genetickým laboratorním vyšetřením** v dokumentaci laboratoře požadována. Pokud není žadatelem o vyšetření lékař genetické poradny GENET UL, je laboratoři dodáván originál, případně kopie **KZ03\_PS0310 UL GENET Souhlas vyšetřované/ho (zákonného zástupce) s genetickým laboratorním vyšetřením** vyplněná dotyčnou osobou a indikujícím lékařem spolu se žádankou o laboratorní vyšetření.

Bez lékařské indikace není možné provést žádné genetické laboratorní vyšetření. Indikující lékař je zodpovědný za správné informování pacienta před genetickým vyšetřením. Zvláštní požadavky pacienta, např. jeho nesouhlas s uložením DNA po molekulárně genetickém vyšetření, zdůrazní indikující lékaře na žadance.

Některé odběry pro genetická laboratorní vyšetření (např. amniocentéza) patří mezi invazivní a lékař indikující výkon i lékař provádějící výkon jsou povinni informovat pacienta o povaze a rizicích výkonu a pořídit písemný informovaný souhlas s invazivním odběrem biologického materiálu. Vyšetřovaná osoba (případně i její zákonný zástupce) je vždy seznámena s účelem, povahou a důsledkem prováděného vyšetření. Svým podpisem stvrzuje, že souhlasí s odběrem a případným uchováváním odebraného biologického materiálu (je vždy uvedeno v informovaném souhlasu s odběrem a uchováním vzorku DNA).

Formuláře pro informovaný souhlas a další dokumenty poskytující informace o odběrech vzorků a pokyny pro pacienty jsou dostupné jako samostatné dokumenty na [www.kzcr.eu](http://www.kzcr.eu) :

- **KZ03\_PS0310 UL GENET Souhlas vyšetřované/ho (zákonného zástupce) s genetickým laboratorním vyšetřením**  
Souhlasy s invazivním vyšetřením:
- **KZ03\_PS0332 UL Amniocentéza (pro GENET, GYNPO)**
- **KZ03\_PS0001 CV GYN Amniocentéza**
- **KZ03\_PS0171 MO GYNPO Amniocentéza**  
Informace pro pacienty:
- **KZ03\_IM0067 UL Informace o odběru plodové vody (pro GENET, GYNPO)**
- **KZ03\_IMO0001 CV GYN Informace o odběru plodové vody**

#### C.4 Požadavky na urgentní vyšetření (STATIM)

Požadavky na vyšetření STATIM (akutní, „přednostní“ vyšetření) se do laboratoře dodávají na stejných žádankách jako pro ostatní běžná vyšetření a jsou navíc označeny slovem STATIM, popřípadě je uveden datum, do kterého je požadován výsledek vyšetření. Žádanka musí obsahovat stejné povinné údaje jako u běžného vyšetření. Vzorek bude přednostně zpracován a odečten.

Veškerá cytogenetická vyšetření plodové vody, choriových klků a pupečnickové krve u pokračujících těhotenství jsou STATIMové povahy, zpracovávají a vyhodnocují se přednostně. Na žadance o vyšetření karyotypu z buněk plodové vody, choriových klků a pupečnickové krve u pokračujících těhotenství se označení STATIM neuvádí, protože přednostní zpracování vzorků je dáno povahou vyšetřovaného materiálu.

#### C.5 Ústní požadavky na vyšetření

V době, kdy je biologický materiál či primární vzorek uchováván v laboratoři pro požadované vyšetření, je možné přijmout ústní/telefonický požadavek k dodatečnému dovyšetření. Požadavek je přijímán od lékaře nebo sestry, nikoli od pacientů. Žadatel je požádán o dodání nové žádanky k dodatečnému vyšetření – na žadance je uvedeno, že požadavek se vztahuje k již dříve odebranému a dodanému materiálu.

#### C.6 Informace pro odběr biologického materiálu včetně minimálního množství

V této kapitole jsou uvedeny požadavky a pokyny pro odběr zpracovávaných biologických materiálů - doporučené odběrové nádoby, minimální odebírané množství a požadavky na transport a případné zvláštní načasování odběru.

##### C.6.1 Používané odběrové nádoby

**Materiál musí být dodáván do laboratoře ve sterilních odběrových nádobkách nebo zkumavkách na jedno použití.** Doporučujeme užívat níže uvedené odběrové systémy, **minimálně uvedené konzervační látky:**



➤ **Odběrové nádoby na plodovou vodu:**

- sterilní uzavíratelná zkumavka bez aditiv (nejčastěji 30-ti ml)
- Vacutainer bez aditiv

➤ **Odběrové nádoby na choriové klky:**

- sterilní zkumavka Vacutainer (zelené víčko) s protisrážlivým přípravkem natrium Heparin s přídavkem předeřátého PBS na cca 37°C
- popřípadě sterilní uzavíratelná zkumavka s fyziologickým roztokem

➤ **Odběrové nádoby na potratový materiál:**

- sterilní uzavíratelná zkumavka s kultivačním nebo transportním médiem (medium na požádání laboratoř dodá) nebo sterilním fyziologickým roztokem
- pro molekulárně genetické vyšetření lze vzorek dodat ve sterilní zkumavce či jiné zajištěné nádobě ve sterilním fyziologickém roztoku, sterilní vodě nebo na sucho

➤ **Odběrové nádoby pro stěry z bukalní sliznice:**

- sterilní zkumavka s kartáčkem nebo sterilní nylonové výtěrky k PCR vyšetření

➤ **Odběrové nádoby na periferní krev:**○ **na chromosomální vyšetření a vyšetření získaných chromosomových aberací:**

- zkumavky Vacutainer (zelené víčko) s protisrážlivým přípravkem natrium Heparin

○ **na molekulárně genetické vyšetření:**

- zkumavky Vacutainer (fialové víčko) s protisrážlivým přípravkem K3EDTA

➤ **Odběrové nádoby na fetální (pupečnickovou krev):**○ **na chromosomální vyšetření:**

- inj. stříkačka propláchnutá natrium Heparinem – 0,1 ml Heparinu na 1 ml krve
- zkumavky Vacutainer (zelené víčko) s protisrážlivým přípravkem natrium Heparin

○ **na molekulárně genetické vyšetření:**

- zkumavky Vacutainer (fialové víčko) s protisrážlivým přípravkem K3EDTA

Pro všechny odběry je možné použít jiný odběrový systém se stejným protisrážlivým přípravkem.

Při odběru je nutné vždy odběrové nádoby vhodně označit (dle výše uvedených pravidel).

**Pozor na záměnu biologického materiálu!**

**Nestandardní odběr je nutno specifikovat na žádance.** Další podrobnosti manipulace s nestandardním vzorkem viz **KZ03\_ST1298 UL GENET SOP Manipulace se vzorkem biologického materiálu.**

**C.6.2 Příprava pacienta před vyšetřením a informace a návody předávané pacientům**

Většina odběrů pro genetická laboratorní vyšetření se provádí ambulantně. Odběry biologického materiálu před plánovaným genetickým laboratorním vyšetřením nevyžadují speciální přípravu pacienta, základní informace jsou uvedeny u konkrétních odběrů.

Žádný z odběrů není potřeba provádět nalačno, jídlo ani pití neovlivňují výsledky vyšetření.

Po odběru plodové vody nebo pupečnickové krve se nedoporučuje fyzická námaha a těhotné ženě se doporučuje krátkodobá pracovní neschopnost.

Genetická laboratorní vyšetření jsou prováděna pouze s informovaným souhlasem vyšetřované osoby nebo jejího zákonného zástupce – podrobnosti viz kapitola C.3 LP. Požadované formuláře jsou jako samostatné dokumenty volně přístupné ke stažení – [www.kzcr.eu](http://www.kzcr.eu).

**C.6.3 Odběr periferní krve**

Odběr materiálu na cytogenetické i molekulárně genetické vyšetření nevyžaduje žádnou speciální přípravu pacienta. Krev se odebírá z periferní žíly nejčastěji v loketní jamce. Paže se volně položí,

dezinfikuje se místo vpichu (např. SOFTASEPT N) – **nesmí se používat dezinfekce s obsahem jodu**, který by mohl být příčinou neúspěšné kultivace. Po stabilizování polohy se provede vpich jehlou s nasazeným nástavcem a po té se na nástavec nasadí příslušná zkumavka, eventuálně lze použít SAFETY LOK – křídlovou jehlu s hadičkou. Místo vpichu se zakryje čtverečkem z buničiny, opatrně se přitlačí a vytáhne se jehla a přelepí se náplastí. Vyzveme pacienta, aby si tisknul místo vpichu (cca 2-5 minut) a po cca 20 minutách si náplast odstraní. Při odběru je nutné vždy odběrové nádoby vhodně označit (dle výše uvedených pravidel). Nestandardní odběr je nutno specifikovat na žádance.

➤ **Specifika odběru:**

- **Odběr pro cytogenetická vyšetření (karyotyp a získané chromosomové aberace):**

Optimální množství je 4 – 5 ml krve, minimálně však **2 ml** (např. u malých dětí). Ihned po odběru je nutné zkumavku promíchat opakovaným opatrným obracením. Pro cytogenetické vyšetření se používá zkumavka se zeleným víčkem (**natrium heparin**).

- **Odběr pro molekulárně genetická vyšetření:**

Optimální množství odebrané krve pro molekulárně genetická vyšetření je 4 – 5 ml, minimálně však 400 µl. Ihned po odběru je nutno zkumavku promíchat opakovaným opatrným obracením. Pro molekulárně genetická vyšetření se používá zkumavka s fialovým víčkem (**K3EDTA**), event. zkumavka s citrátem sodným.

➤ **Uchování vzorků a transport:**

Zkumavky s periferní krví je možno ponechat maximálně po dobu 4 hodin při obyčejné teplotě, při delší prodlevě do doby příjmu v laboratoři je nutno je uchovávat v ledničce při 2 až 8°C, chránit je před zmrazením nebo přehřátím, aby se zachovaly živé buňky. Při transportu je vhodné užívat transportní nádobu – „termotaška“ nebo „termoska“. Transport vzorků periferní krve do genetické laboratoře je nutno zajistit co nejdříve, **nejpozději do 48 hodin**.

➤ **Hlavní chyby při odběrech krve:**

- **Chyby vedoucí k hemolýze vzorku:**

Hemolýza vadí při izolaci DNA a následné PCR i při kultivaci

Hemolýzu způsobuje:

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

- **Chyby vedoucí ke koagulaci vzorku:**

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

Koagulaci způsobuje:

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

- **Chyby při odběru, skladování a transportu:**

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

### C.6.4 Odběr plodové vody – amniocentéza

Odběr plodové vody provádí vždy lékař-gynekolog ve zdravotnickém zařízení. Odběr plodové vody je prováděn v indikovaných případech u těhotných žen od ukončeného 15. týdne gravidity. Po ultrazvukovém vyšetření se těhotné pacientce provede odběr plodové vody pod kontrolou ultrazvuku za sterilních podmínek. Vlastní odběr plodové vody provádí lékař- gynekolog punkcí amniální dutiny přes stěnu břišní při kontrole ultrazvukem, aby nedošlo k poranění plodu. Těhotná leží na lůžku, břišní stěnu dezinfikujeme a poté ultrazvukovou sondou hledáme vhodné místo pro vpich jehlou, na kterou se nasadí sterilní vakuová zkumavka nebo sterilní injekční stříkačka. Poloha hrotu jehly při vpichu je neustále kontrolována ultrazvukem.

#### ➤ Specifika odběru:

Při standardním odběru je odsáto do tří zkumavek celkem cca 20 – 25 ml plodové vody. Odsáté množství se do několika málo hodin opět doplní. Bolestivost výkonu je srovnatelná s běžnou injekcí nebo odběrem krve. Po výkonu, pokud se těhotná cítí dobře, může s doprovodem odejít domů. Minimální množství plodové vody pro cytogenetické vyšetření je **10 ml**. Pro molekulárně genetické vyšetření je minimální množství **1 ml**, optimální je 2 – 5 ml. Odběr plodové vody prováděný v prostorách Fetomaternálního centra Gynekologicko-porodnické kliniky MN UL, probíhá za asistence laborantky GENET UL a odebrané vzorky plodové vody jsou transportovány do laboratoře GENET v transportní nádobě – termotaška nebo „termoska“. Za správné provedení odběru vzorku a zajištění transportu vzorku z pracovišť mimo UL (vhodný způsob balení a označení) vždy zodpovídá lékař provádějící odběr. Je doporučen odběr do 3 sterilních zkumavek bez konzervační látky. Je nutné zajistit transport do laboratoře co nejdříve, **nejpozději však do 24 hodin po odběru**.

#### ➤ Uchování vzorků a transport:

Vzhledem k tomu, že se většinou odběr vzorků plodové vody provádí v areálu UL a vzorky plodové vody se zpracovávají přednostně, je možno je uchovávat před nasazením do kultivace po dobu nezbytně nutnou při obvyklé teplotě. Pokud od odběru do nasazení uplyne doba delší než 8 hodin, uchovává se vzorek při teplotě 2 až 8°C. V případě, že je plodová voda odebrána na jiném pracovišti, je vhodné při transportu do laboratoře používat transportní nádobu – termotašku nebo „termosku“.

#### ➤ Hlavní chyby při odběru plodové vody:

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

### C.6.5 Odběr choriových klků

Odběr choriových klků provádí vždy lékař-gynekolog ve zdravotnickém zařízení. Pro odběr CVS je nejvhodnější 12. až 13. týden těhotenství. Po ultrazvukovém vyšetření se těhotné pacientce provede odběr choriových klků pod kontrolou ultrazvuku za sterilních podmínek. Vlastní odběr choriových klků provádí lékař- gynekolog. Vpichem v oblasti podbřišku se do placentární tkáně zavede jehla, přes stěnu břišní při kontrole ultrazvukem, aby nedošlo k poranění plodu. Těhotná leží na lůžku, břišní stěnu dezinfikujeme a poté ultrazvukovou sondou hledáme vhodné místo pro vpich jehlou, na kterou se nasadí sterilní vakuová zkumavka nebo sterilní injekční stříkačka. Poloha hrotu jehly při vpichu je neustále kontrolována ultrazvukem.

#### ➤ Specifika odběru:

Při standardním odběru je odebráno asi 5 – 40 mg choriových klků. Bolestivost výkonu je srovnatelná s běžnou injekcí nebo odběrem krve. Po výkonu, pokud se těhotná cítí dobře, může s doprovodem odejít domů. Minimální odebrané množství potřebné pro vyšetření choriových klků je 5 mg. Pokud je získáno odběrem jen minimální množství, provádí se pouze vyšetření nejčastějších aneuploidíí chromosomů 13, 18, 21, X a Y, popřípadě vyšetření chromosomových aberací metodou microarray. Výjimečně je zapotřebí opakování odběru, pokud se získá málo materiálu. Choriové klky je pak potřeba v Laboratoři GENET UL pečlivě oddělit od mateřské decidui a mateřské krve. Ze zcela očištěných CVS je oddělen dílčí vzorek pro molekulárně genetická vyšetření, do sterilní mikrozkušavky s 0,5 ml PBS. Odběr choriových klků prováděný v prostorách Fetomaternálního centra Gynekologicko-porodnické kliniky MN UL, probíhá za asistence laborantky GENET UL a odebrané vzorky choriových klků jsou transportovány do laboratoře GENET v transportní nádobě – termotaška nebo „termoska“. Za správné provedení odběru vzorku a zajištění transportu vzorku z pracovišť mimo UL (vhodný způsob balení a označení) vždy zodpovídá lékař provádějící odběr. Je doporučen odběr do sterilní zkumavky Vacutainer (zelené víčko) s protisrážlivým přípravkem natrium Heparin s přísadkou předešlého PBS na cca 37°C, popřípadě do sterilní uzavíratelné zkumavky



s fyziologickým roztokem. Je nutné zajistit transport do laboratoře co nejdříve, **nejpozději však do 24 hodin po odběru**.

➤ **Uchování vzorků a transport:**

Vzhledem k tomu, že se většinou odběr vzorků choriových klků provádí v areálu UL a vzorky choriových klků se zpracovávají přednostně, je možno je uchovávat před nasazením do kultivace po dobu nezbytně nutnou při obyčejné teplotě. Pokud od odběru do nasazení uplyne doba delší než 8 hodin, uchovává se vzorek při teplotě 2 až 8°C. V případě, že jsou choriové klky odebrány na jiném pracovišti, je vhodné při transportu do laboratoře používat transportní nádobu – termotašku nebo „termosku“.

➤ **Hlavní chyby při odběru choriových klků**

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

### C.6.6 Odběr stěru z bukální sliznice

Odběr provádí sestra, která pacientovi oře sliznice ústní dutiny sterilním kartáčkem nebo výtěrkou (např. COPAN). Stěr vloží do označené sterilní zkumavky. Dbá na to, aby se kartáček nekontaminoval jiným biologickým materiálem, zejména jiné osoby. Doporučujeme, aby si pacient před odběrem vypláchl ústa čistou vodou. Odběr stěru z bukální sliznice je prováděn pacientkám před odběrem plodové vody, případně v souvislosti s odběrem potratového materiálu, aby bylo možno porovnat STR profil (alelický) matky a plodu, případně vyloučit kontaminaci vzorku plodové vody mateřskými buňkami (např. u pozdního záchytu gravidity, u dvojčetné gravidity).

➤ **Specifika odběru:**

Nezpracovaný vzorek je možno uchovávat po dobu kratší než 8 hodin při obyčejné teplotě.

➤ **Uchování vzorků a transport:**

Pokud uplyne od odběru stěru bukální sliznice doba delší než 8 hodin, pak uchováváme vzorek při 2 až 8°C maximálně 2 měsíce poté je nutno skladovat při -18 až -32°C.

➤ **Hlavní chyby při stěrech z bukální sliznice:**

- v případě výrazné bakteriální kontaminace se může snížit kvalita a trvanlivost vzorku
- kontaminace bukální sliznice potravou (je vhodné vypláchnout ústa před odběrem vodou)
- stěr je nutno provádět přiměřeným tlakem, aby bylo odebráno dostatečné množství buněk

### C.6.7 Odběr potratového materiálu

Odběr potratového materiálu provádí vždy lékař-gynekolog ve zdravotnickém zařízení. Odebraný materiál (**0,5 x 0,5 cm minimálně**) se sterilně vloží do sterilní označené zkumavky či nádoby s médiem nebo fyziologickým roztokem, pečlivě se uzavře a s řádně vyplněnou žádankou se odešle do laboratoře co nejdříve po odběru. Není-li možné doručit vzorek do laboratoře v krátké době, např. víkendy a svátky, je nutné vzorek potratového materiálu uložit do ledničky při 2 až 8°C a dodat do laboratoře hned, jak je to možné. Čím delší doba uplyne mezi odběrem a přijetím do laboratoře, tím je nižší pravděpodobnost získání výsledku. V případě odběru potratového materiálu mimo pracovní dny doporučujeme pokusit se kontaktovat laboratoř na tel. číslech 477112459, 477112476, **477112479** (v některých mimopracovních dnech je v laboratoři provoz zajištěn) a individuálně se domluvit na doručení vzorku do laboratoře.

➤ **Specifika odběru:**

**Odebraný vzorek je nutné co nejdříve po odběru dopravit do laboratoře** (nejdéle do 24 hodin po odběru).

➤ **Uchování vzorků a transport:**

Tkáň je možno uchovávat před nasazením do kultivace po dobu maximálně 3 hodin při obyčejné teplotě a transport je možno provést při obyčejné teplotě. Pokud od odběru do nasazení kultivace uplyne doba delší než 3 hodiny, uchovává se vzorek při teplotě 2 až 8°C a transportuje se ve vhodné transportní nádobě – „termotaška“ nebo „termoska“.

➤ **Hlavní chyby při odběrech potracené tkáně:**

- odběr nebyl proveden sterilně nebo do sterilní nádoby

**C.6.8 Odběr fetální (pupečnickové) krve – kordocentéza**

Odběr provádí pouze kvalifikovaný lékař – gynekolog s náležitou erudiicí na specializovaném pracovišti při hospitalizaci. Odběr provádí pod ultrazvukovou kontrolou. Vzorek odebírá do sterilní odběrové stříkačky s příslušným protisrážlivým prostředkem (heparin sodný pro cytogenetické vyšetření, K3EDTA pro izolaci DNA) nebo do sterilního odběrového systému (např. Vacutainer) s uvedenými protisrážlivými prostředky.

➤ **Specifika odběru:**• **Odběr pro cytogenetická vyšetření (karyotyp):**

Optimální množství je 2 ml krve, minimálně však 0,5 ml. Ihned po odběru je nutné stříkačku (zkumavku) promíchat opakovaným opatrným obracením.

• **Odběr pro molekulárně genetická vyšetření:**

Optimální množství odebrané krve pro molekulárně genetická vyšetření je 1 ml, minimálně však 300 µl. Ihned po odběru je nutno stříkačku (zkumavku) promíchat opakovaným opatrným obracením.

➤ **Uchování vzorků a transport:**

Stříkačku (zkumavku) s pupečnickovou krví je nutno neprodleně dopravit do laboratoře, nejpozději do 4 hodin od odběru – v tomto případě po odběru uchovávat v ledničce při 2 až 8°C, chránit před zmraznutím nebo přehřátím, aby se zachovaly živé buňky. Při transportu je vhodné užívat transportní nádobu – „termotaška“ nebo „termoska“.

➤ **Hlavní chyby při odběru pupečnickové (fetální) krve:**

- nedodržené minimální množství
- nedodaná pupečnicková krev ale plodová voda nebo krev matky
- odběr nebyl proveden do vhodného protisrážlivého prostředku – vzorek je sražený

**C.7 Základní informace k bezpečnosti při práci se vzorky**

Obecné zásady bezpečnosti práce s biologickým materiálem jsou obsaženy ve **Vyhláše Ministerstva zdravotnictví č. 306/2012 Sb.**, kterou se upravují podmínky předcházení vzniku a šíření infekčních onemocnění a hygienické požadavky na provoz zdravotnických zařízení. Na základě této směrnice byly stanoveny tyto zásady pro bezpečnost práce s biologickým materiálem:

- každý vzorek krve je nutné považovat za potencionálně infekční
- žádanky ani vnější strana zkumavky nesmí být kontaminovány biologickým materiálem – toto je důvodem k odmítnutí vzorku
- vzorky jsou přepravovány v uzavřených zkumavkách

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

**C.8 Transport a manipulace s biologickým materiálem (se vzorky)**

Informace k dopravě:

- Za zajištění transportu a zajištění bezpečnosti přepravce (vhodný způsob balení a označení) vždy odpovídá pracoviště odebírající vzorek - lékař či sestra provádějící odběr vzorku.
- Doprava materiálu má být šetrná, rychlá a musí být dodržovány specifické podmínky – uvedené v rámci kapitoly **C.6, zejména dodržen čas a podmínky transportu.**
- S biologickým materiálem se nesmí během přepravy prudce manipulovat, aby nedošlo k mechanickému poškození a je důležité jej chránit před extrémní teplotou a světlem (je nutné

zabránit zmrznutí nebo přehřátí, aby se uchovala schopnost kultivace buněk a růstu *in vitro*).  
**Doporučujeme přepravovat biologický materiál ve vhodné transportní nádobě – „termotaška“ nebo termoska“.**

- Žádanky musí být umístěny v samostatném obalu, např. v igelitovém sáčku tak, aby nemohlo při náhodném vylití biologického materiálu dojít k jejich poškození při transportu
- V případě, že nelze přepravit materiál ihned po odebrání, musí být dodrženy specifické podmínky uvedené v kapitole C.6 LP.

### Upozornění:

Pokud je materiál během transportu vylitý nebo rozbitý, laboratoř to telefonicky oznámí odesílajícímu pracovišti a požádá je o nový odběr.

## D Preanalytické procesy v laboratoři

### D.1 Příjem vzorků v laboratoři

Při příjmu vzorku do laboratoře laborantka ihned zkontroluje, zda je odběrová zkumavka (nádobka apod.) čitelně a vhodně označena a zda připojená žádanka obsahuje veškeré potřebné údaje k provedení požadovaného vyšetření. Po provedené kontrole je vzorek uložen do lednice, podle požadovaného vyšetření a žádanka předána laborantce nebo VŠ příslušného úseku. Před zpracováním vzorku je žádanka označena pořadovým číslem vyšetření, podle knihy příslušné metody.

Do knihy zapíše laborantka či VŠ potřebné údaje:

Jméno a příjmení

číslo pojištění – (identifikační číslo, rodné číslo pacienta) pokud je to možné, případně jiný kód (např. datum, rok narození apod.)

Kód zdravotní pojišťovny nebo poznámku SAMOPLÁTCE

Kód diagnózy

Indikaci slovně – nepovinný údaj

Datum přijetí vzorku

Datum, kdy byl vzorek laboratorně zpracován (např.: datum nasazení kultivace, datum izolace DNA, datum provedení příslušné metody...)

Vždy je zajištěna dohledatelnost veškerých informací souvisejících s příjmem vzorku. Číslo se přiřazuje nezaměnitelně jednotlivému biologickému materiálu dle interních pravidel laboratoře.

Označení požadavku:

- na žádance, kde jsou předdefinovány požadavky, označení křížkem do patřičného okénka
- na žádance, kde nejsou požadavky definovány, je nutno je vypsát ručně, psacím strojem nebo vytisknout na tiskárně
- pokud je vhodné uvést i některé další údaje, tak je doplnit (např. délka gravidity, poslední menstruace apod.)

Vždy musí být požadavek na vyšetření jednoznačný a údaje psané rukou čitelné. Příjem biologického materiálu probíhá po celou pracovní dobu laboratoře, event. po telefonické domluvě i mimo tuto dobu (domluva na telefonních číslech 477112459, 477112476, 477112479). V případě nejasností nebo neúplného vyplnění požadovaných povinných údajů se ihned po zjištění nedostatku postupuje podle kapitoly D.2 LP.

Další evidence pacientů a vzorků se provádí na jednotlivých úsecích (úsek cytogenetiky, úsek molekulární cytogenetiky, molekulární genetiky) podle zavedených pravidel popsanych v SOP pro jednotlivá vyšetření, v **KZ03\_SM00189 UL GENET Příjem biologického materiálu** a **KZ03\_ST1298 UL GENET SOP Manipulace se vzorkem biologického materiálu**.

### D.2 Důvody pro odmítnutí vzorku pro zpracování

Odmítnout lze:

- žádanku s biologickým materiálem, na které chybí nebo jsou nečitelné základní identifikační údaje (povinné dle kapitoly C.2 LP)

- žádanku nebo odběrovou nádobu znečištěnou biologickým materiálem
- nádobu s biologickým materiálem, kde není způsob identifikace materiálu z hlediska nezaměnitelnosti dostatečný, za dostatečnou identifikaci materiálu se považuje splnění uvedených pokynů o nezbytné identifikaci biologického materiálu
- nádobu s biologickým materiálem, kde zjevně došlo k porušení doporučení „fáze před vyšetřením“ (výsledky vyšetření by byly negativně ovlivněny kvalitou materiálu)
- biologický materiál bez žádanky (bez uvedení požadavků oprávněné osoby)
- krev nabranou do zkumavky s nevhodným aditivem pro požadované vyšetření
- potratový materiál odebraný do nevhodné nádoby

V případě, že je přesto materiál přijat, např. proto, že se jedná o nenahraditelný vzorek, jsou zjištěné neshody zapsány do **FO KZ03\_F00478 Záznam neshod pro diagnostický komplement** a k pacientovi do knihy příslušné metody. Řešení neshod viz kapitola D3 LP.

### D.3 Způsob řešení neshod na příjmu materiálu

Neúplnost údajů na žádance - ihned se komunikuje se žadatelem o vyšetření a zajistí se veškeré informace pro možnost zpracování materiálu a uvolnění výsledků.

Pokud je dodán materiál bez žádanky, nebo není jednoznačně identifikovaný a jedná se o nenahraditelný vzorek (například potratový materiál) laboratoř začne tento materiál vždy zpracovávat, ale výsledky nebudou uvolněny, dokud indikující lékař nebo osoba odebírající materiál nepřevzme odpovědnost za doplnění správných identifikačních údajů. Laborantka GENET doplní informace k pacientovi do knihy příslušné metody s uvedením jména pracovníka, který poskytl doplňující informace a podepíše se.

V případě chybějící dokumentace je žadatel požádán o zaslání příslušné žádanky.

V případě, že vzorek nesplňuje všechna kritéria správně odebraného vzorku, ale není zcela znehodnocen, laboratoř se pokusí vzorek zpracovat (např. nedostatečné množství, částečně sražená krev apod.). Neshoda je zapsána do **FO KZ03\_F00478 Záznam neshod pro diagnostický komplement** a k pacientovi do knihy příslušné metody.

V případě zcela nevhodného vzorku, je tento vrácen odesílajícímu oddělení po sanitáři, který vzorek přinesl a odesílající oddělení je informováno, že poslalo vzorek nevhodný pro vyšetření v genetické laboratoři.

### D.4 Manipulace se vzorky a skladování materiálu před vyšetřením

Materiál zpracovávaný na úseku molekulární genetiky je před vyšetřením skladován v lednici při teplotě 2 až 8°C.

Periferní krev pro cytogenetické vyšetření je skladována rovněž v lednici při teplotě 2 až 8°C

Vzorky plodových vod, choriových klků a potratového materiálu jsou zpracovány bezprostředně po příjmu do laboratoře, je-li to možné, nebo jsou skladovány v lednici při teplotě 2 až 8°C.

Konkrétní postupy jsou uvedeny v SOP pro jednotlivá vyšetření a v **KZ03\_ST1298 UL GENET SOP Manipulace se vzorkem biologického materiálu**.

## E Fáze po vyšetření

### E.1 Bezpečné odstraňování materiálů použitých při odběru

Materiál použitý při odběru primárních vzorků je považován za potencionálně infekční (vatové tampony nebo buničité čtverce, rukavice, jehly), ukládá se do nepropustného obalu a je likvidován dle platné legislativy. V rámci pracoviště je postup specifikován v interní dokumentaci. Použité jehly se odhazují do plastových uzavíratelných kontejnerů k tomu určených a jsou rovněž likvidovány výše zmíněným způsobem.

Likvidace pomůcek použitých při odběru, úklid a případná dekontaminace místa potřísněného biologickým materiálem probíhá v souladu s §10 vyhlášky 306/2012 Sb. MZD.

### E.2 Manipulace a skladování materiálu

Neprodleně po odběru zajistí odebírající pracovník transport materiálu do laboratoře ke zpracování tak, aby nedošlo k jeho znehodnocení fyzikálními vlivy a k ohrožení fyzických osob. V průběhu zpracování je materiál uchováván dle podmínek uvedených v SOP pro jednotlivá vyšetření

a v **KZ03\_ST1298 UL GENET SOP Manipulace se vzorkem biologického materiálu**. S materiálem se manipuluje tak, aby nedošlo k jeho znehodnocení a s ohledem na bezpečnost práce a ochranu zdraví pracovníků.

### E.2.1 Skladování materiálu v průběhu vlastního vyšetření

V průběhu vyšetření až do doby vydání výsledků se část biologického materiálu skladuje v lednici při teplotě 2 až 8°C.

Materiál zpracováváný na úseku molekulární genetiky je v průběhu vyšetření skladován v lednici při teplotě 2 až 8°C.

Periferní krev pro cytogenetické vyšetření je skladována rovněž v lednici při teplotě 2 až 8°C.

Vzorky plodových vod, choriových klků a potratový materiál jsou v průběhu vyšetření skladovány v lednici při teplotě 2 až 8°C.

Konkrétní postupy jsou uvedeny v SOP pro jednotlivá vyšetření a v **KZ03\_ST1298 UL GENET SOP Manipulace se vzorkem biologického materiálu**.

### E.2.2 Skladování materiálu po vyšetření

Materiál může být použit pro opakovanou kultivaci nebo dodatečná vyšetření.

#### Primární vzorky

- **Periferní krev pro cytogenetické vyšetření** – po dobu, kdy je možné ji použít pro další nebo opakované vyšetření (cca 7 dnů)
- **Pupečníková krev pro cytogenetické vyšetření** – po dobu, kdy je možné ji použít pro další nebo opakované vyšetření (cca 7 dnů)
- **Periferní krev (pupečníková krev) pro molekulárně genetické vyšetření** – po dobu zpracování, až do doby vydání výsledku nebo do vyizolování DNA v odpovídajícím množství a kvalitě pro odeslání k vyšetření do spolupracující laboratoře (max. 2 měsíce)
- **Stěr bukalní sliznice pro molekulárně genetické vyšetření** 2 měsíce v lednici při 2 až 8°C, po té je zamražen při -18 až -32°C a uchováván max. 2 roky
- **Plodová voda** – po dobu zpracování, až do doby vydání výsledku (cca 30 dnů)
- **Choriové klky** – po dobu zpracování, až do doby vydání výsledku (cca 30 dnů)
- **Potratový materiál a ostatní tkáně** – 24 hodin, ale hned při nasazení je odebrána část nativního vzorku a zamražena ve fyziologickém roztoku pro případná molekulárně genetická vyšetření, v mrazničce je materiál uchováván min. 2 roky

Po vydání výsledků jsou primární vzorky likvidovány jako nebezpečný odpad a pro další možná dovyšetření je uchováván zpracovaný vzorek po níže definované době.

#### Sekundární vzorky

- **Izolovaná DNA** je uchovávána v mrazničce při -20°C (-18°C až -32°C) po předchozím souhlasu pacienta po neomezenou dobu
- **Suspenze**
  - **suspenze kultivovaných lymfocytů:**
    - **z pupečníkové krve** – se uchovává v mrazničce nejméně 3 měsíce po odevzdání výsledku
    - **z periferní krve pacientů do 10 let věku** – se uchovává v mrazničce po dobu minimálně 1 roku
    - **z periferní krve pacientů starších 10 let** – se uchovává v mrazničce nejméně 3 měsíce
  - **suspenze kultivovaných amniocytů** – se uchovává v mrazničce po dobu minimálně 3 roky
  - **suspenze kultivované tkáně** – se uchovává v mrazničce nejméně 3 měsíce po odevzdání výsledku

- **suspenze kultivovaných choriových klků** - se uchovává v mrazničce po dobu minimálně 3 roky
- **Fluorescenčně značený PCR amplifikát** – je uchováván na tmavém místě v lednici do vydání výsledků
- **Fluorescenčně značená genomická DNA (gDNA)** – je uchovávána v lednici do vydání výsledku

#### Trvalé preparáty

- **Krev periferní, pupečnicková** – nakapaná skla jsou po nabarvení a vyhodnocení uchovávána 10 roků.
- **Plodová voda** – nakapaná skla jsou po nabarvení a vyhodnocení uchovávána nejméně 5 roků
- **Tkáně (včetně choriových klků)** – nakapaná skla jsou po nabarvení a vyhodnocení uchovávána nejméně 5 roků

#### FISH preparáty

V případě potřeby dlouhodobého skladování jsou umístěny v mrazáku max. 1 měsíc.

Podrobné informace pro archivaci biologického materiálu jsou uvedeny v **KZ03\_ST1298 UL GENET SOP Manipulace se vzorkem biologického materiálu**.

### E.2.3 Dodatečná vyšetření a časový interval pro jejich požadování

Dodatečná vyšetření jsou limitována vlastnostmi, množstvím a uchováním zpracovávaného biologického materiálu. Dodatečné vyšetření je možné v závislosti na časovém intervalu mezi odběrem primárního vzorku a dodatečným požadavkem.

V případě dodatečného molekulárně genetického vyšetření z periferní (pupečnickové) krve, plodové vody, choriových klků, buňkálního stěru, tkáně, potratového materiálu, kdy pacient podepsal souhlas s uložením DNA, lze vzorek dovyšetřit bez časového omezení, pokud je k dispozici dostatečné množství DNA.

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

Dodatečné molekulárně cytogenetické vyšetření kultivovaných amniocytů je možné z uložené suspenze amniocytů v závislosti na časovém odstupu od odběru nebo z nakapaných nenabarvených skel.

Dodatečné molekulárně cytogenetické vyšetření kultivovaných choriových klků je možné z uložené suspenze choriových klků v závislosti na časovém odstupu od odběru nebo z nakapaných nenabarvených skel.

V případě, že pro konečné vydání výsledků je nutné dodatečné vyšetření nebo případný nový odběr biologického materiálu, požaduje laboratoř novou žádanku s indikací dodatečného genetického laboratorního vyšetření.

### E.2.4 Opakování vyšetření stejného primárního vzorku

Je-li potřeba opakovat vyšetření z důvodu podezření na nesprávně vydané výsledky, takové vyšetření provede laboratoř na vlastní náklady. V případě, že již primární vzorek není k dispozici, komunikuje s žadatelem vždy vedoucí laboratoře. O potřebě zopakovat vyšetření okamžitě informuje žadatele, tj. indikujícího lékaře.

## F Vydávání výsledků a komunikace s laboratoří

### F.1 Forma vydávaných výsledků

#### Kontrola výsledků

Každý výsledek genetického vyšetření je kontrolován a výsledkový list po vytištění je podepsán odpovědnou osobou (vedoucím úseku nebo jeho zástupcem).

Veškeré operace prováděné během vyšetření jsou dohledatelné.

|              |              |          |                |             |        |         |
|--------------|--------------|----------|----------------|-------------|--------|---------|
| Účinnost od: | Garant:      | Uvolnil: | Schválil:      | Distribuce: | Verze: | Strana: |
| 9.5.2023     | Mgr. Čejnová | VKK      | Prim. GENET UL | Intranet    | 10     | 28 z 35 |

## Vydávání výsledků

Genetická laboratoř vydává výsledky vyšetření vždy **v písemné formě**.

Zprávy jsou generovány buď v programu LUCIA (Výsledek cytogenetického vyšetření plodové vody, Cytogenetická zpráva, Cytogenetická zpráva FISH vyšetření), nebo v programu Word (Zpráva o molekulárně genetickém vyšetření), vytištěny v potřebném počtu kopií, zařazeny do laboratorní dokumentace pacienta a odeslány indikujícímu lékaři.

**Pacientům interpretuje výsledky vždy lékař s odpovídající odborností.** Při interpretaci výsledků je důležité brát v úvahu doporučení odborných společností a platnou legislativu.

### F.1.1 Telefonické sdělování výsledků

Komunikace telefonem je užívána jen v případě nebezpečí z prodlení, řešení nějakého vzniklého problému, k zajištění potřebných chybějících informací apod.

Výjimku tvoří pouze výsledky tzv. urychleného vyšetření aneuploidií chromosomů 13, 18, 21, X a Y z plodové vody. Výsledky se sdělují telefonicky pouze v těch případech, kdy **nebyly diagnostikovány žádné aneuploidie**. Pracovník odpovědný za metodu sdělí výsledek bezprostředně po ukončení vyšetření a napsání Zprávy o vyšetření lékaři indikujícímu vyšetření, tzn. lékaři genetické poradny GENET UL. Ten v případě, že nebyly diagnostikovány žádné aneuploidie, pověří odpovědnou osobu, aby telefonicky informovala pacientku o výsledku vyšetření. Pověřená odpovědná osoba si ověřuje kontrolními dotazy jméno, příjmení a rodné číslo pacientky, přidělené heslo a poté informuje pacientku pouze o tom, že urychlené vyšetření aneuploidií chromosomů 13, 18, 21, X a Y metodou QF-PCR u jejího plodu neprokázalo aneuploidie vyšetřovaných chromosomů. Veškeré další informace podává pacientce lékař.

### F.1.2 Komunikace s lékaři indikujícími vyšetření

Zprávy o cytogenetickém vyšetření karyotypu, zprávy o FISH vyšetření a zprávy o molekulárně genetickém vyšetření jsou předány klinickému genetikovi indikujícímu vyšetření, případně jinému lékaři, který laboratorní vyšetření indikoval. S pacienty komunikuje pouze lékař a informuje je o výsledku vyšetření. Výjimku tvoří telefonické sdělování výsledků tzv. urychleného vyšetření aneuploidií chromosomů 13, 18, 21, X a Y metodou QF-PCR. V tomto případě, pokud nebyly diagnostikovány žádné aneuploidie, může výsledek vyšetření sdělit matce i sestra genetické poradny, která je pověřena indikujícím lékařem.

## F.2 Výsledkový list

**Výsledkový list v podobě papírové obsahuje:**

- identifikaci pacienta (jméno a číslo pojištěnce), kód zdravotní pojišťovny, číslo vzorku (kód), diagnózu
- identifikaci laboratoře, která vyšetření provedla
- identifikaci vyšetření
- identifikaci požadujícího subjektu
- datum a čas odběru vzorku, pokud jsou dostupné a jsou podstatné pro péči o pacienta
- datum a čas přijetí vzorku do laboratoře
- datum tisku zprávy
- druh primárního vzorku
- podpis osoby, která výsledkový list kontroluje a razítko laboratoře
- výsledek vyšetření a jednotky, jsou-li relevantní
- autora výsledku (osoba zodpovědná za výsledek), jméno osoby, která výsledek uvolnila, příp. interpretaci výsledku a jiné poznámky (např. kvalita primárního vzorku, která mohla nežádoucím způsobem ovlivnit výsledek).

Výsledkové listy určené pro Genetickou poradnu GENET UL jsou předávány lékaři genetické poradny vysokoškolským odpovědným za provedení metody při pravidelných poradách nad laboratorními výsledky v genetické poradně. Výsledkové listy určené pro jiné indikující lékaře jsou jim zasílány doporučenou poštou.

### F.3 Vydávání výsledků přímo pacientům

Výsledkový list s vlastními výsledky nemůže laboratoř předávat přímo pacientovi. Výjimečné situace řeší vedoucí laboratoře nebo jeho zástupce.



## F.4 Změny výsledků a nálezů

Ke změně výsledků by nemělo docházet. Pokud by k ní došlo, je zaznamenán 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 (indikujícímu lékaři) je dodán nový výsledkový list se správnými výsledky.

### F.4.1 Oprava identifikace pacienta

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

Administrativní chyba v důsledku chybného přepisu ze žádanky nebo administrativní chyby na žádance: je vytištěn nový výsledek, na výsledkové zprávě je označen jako OPRAVENÝ s uvedením o jakou opravu se jedná a s podpisem odpovědné osoby a je-li to možné, je stažen nesprávný výsledek a skartován.

Pracovník laboratoře, vysokoškolák nebo laborantka, opraví data v databázi i v knize metody předepsaným způsobem, vysokoškolák odpovědný za provedení metody opravu zkontroluje, uvolní výsledek, vytiskne nový výsledkový list a odešle s případným komentářem indikujícímu lékaři.

### F.4.2 Oprava výsledkové části

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

Pokud některý pracovník zjistí, že byla výsledková zpráva odeslána se špatným výsledkem ať už v důsledku administrativní chyby nebo chybného stanovení výsledku, informuje VŠ odpovědného za provedení metody a ten informuje vedoucího laboratoře. Vedoucí laboratoře rozhodne, jak se výsledek opraví. Co nejdříve informuje lékaře, který vyšetření indikoval a domluví se na výměně původního výsledkového listu za správný.

V případě, že se jedná o **administrativní chybu** – laboratoř provedla vyšetření správně, ale výsledek byl chybně zapsán do výsledkové zprávy, provede VŠ odpovědný za metodu opravu v databázi počítače a vytiskne novou výsledkovou zprávu. Takto vydaný výsledek je označený jako OPRAVENÝ s uvedením o jakou opravu se jedná a podpisem odpovědné osoby.

**Chybný výsledek vyšetření:** neprodleně je informováno odesílající oddělení telefonicky nebo osobně vysokoškolákem odpovědným za provedení metody nebo vedoucím laboratoře, chybný výsledek vyšetření je znovu zkontrolován a zkontrolován alespoň dvěma vysokoškoláky provádějícími dané vyšetření, pokud je nutné, provede se vyšetření znovu. Následně je vytištěna zpráva se správným výsledkem vyšetření. Tento nový výsledek je označen jako OPRAVENÝ s vysvětlením, jaký byl důvod změny nálezu a je-li to možné, je stažen nesprávný výsledek a tento je založen v laboratorní dokumentaci pacienta s označením NESPRÁVNÝ VÝSLEDEK. Změna nálezu musí být zaznamenána v dokumentaci pacienta s datem a jménem osoby odpovědné za tuto změnu.

Tam, kde to umožňuje používaný počítačový program, je oprava evidovaná i v databázi počítače.

Zjištěná neshoda je zaznamenána ve **FO KZ03\_FO0478 Záznam neshod pro diagnostický komplement** a následně jsou přijata příslušná nápravná opatření a je vystavena **KZ02\_FO0012 Karta nápravného – preventivního opatření**.

### F.4.3 Záměna biologického materiálu odesílajícím oddělením

Podobně se postupuje, pokud oznámí odebírající lékař či NLZP, že byl zaměněn biologický materiál při odběru či transportu. I v těchto případech je třeba zaznamenat všechny důležité okolnosti. Veškeré opravy s autorizací jsou v systému dokumentace Laboratoře GENET UL dohledatelné. Při záměně vzorku napíše pracovník, který byl o záměně informován, záznam o záměně do knihy příslušné metody k pacientovi a do **FO KZ03\_FO0478 Záznam neshod pro diagnostický komplement** s identifikací pracovníka, který záměnu ohlásil.

## F.5 Intervaly od dodání materiálu k vydání výsledku

Vzorky jsou průběžně zpracovávány podle požadovaného vyšetření v pořadí, ve kterém jsou přijímány do laboratoře. Výjimku tvoří vzorky označené STATIM – ty jsou zpracovávány přednostně. Doba požadovaného vyšetření od příjmu vzorku do vydání závěrečné zprávy pro jednotlivé diagnózy se liší dle povahy požadovaného vyšetření:

- **Vyšetření karyotypu z buněk periferní krve:** 30 - 60 dní, STATIM – 5 – 6 dnů (pracovní dny, nemělo by přesáhnout 7 pracovních dnů) nebo do požadovaného termínu
- **Vyšetření získaných chromosomových aberací z buněk periferní krve:** 2 – 8 týdnů 30 -60 dní, STATIM – 5 – 6 dnů (pracovní dny, nemělo by přesáhnout 7 pracovních dnů) nebo do požadovaného termínu
- **Vyšetření karyotypu z buněk plodové vody:** 2 – 3 týdny (nemělo by přesáhnout 4 týdny)
- **Vyšetření karyotypu z buněk choriových klků:** 2 – 3 týdny (nemělo by přesáhnout 4 týdny)
- **Vyšetření karyotypu z pupečnickové (fetální) krve u pokračujících těhotenství:** 5 – 6 dnů (pracovní dny, nemělo by přesáhnout 7 pracovních dnů)
- **Chromosomové vyšetření potratového materiálu:** 3 – 12 týdnů
- **Molekulárně cytogenetické vyšetření chromosomových aberací metodou FISH:** 2 – 4 týdny (nemělo by přesáhnout 6 týdnů), STATIM – 4 dny od data převzetí suspenzí kultivovaných buněk k vyšetření nebo do požadovaného termínu.
- **Urychlené vyšetření aneuploidií chromosomů 13, 18, 21, X a Y metodou QF-PCR z buněk plodové vody či choriových klků:** 3 – 6 dní (pracovní dny, nemělo by přesáhnout 7 pracovních dnů), při požadavku STATIM – 24 hodin (pracovní dny)
- **Vyšetření aneuploidií chromosomů 13, 15, 16, 18, 21, 22, X a Y metodou QF-PCR z potratového materiálu:** 4 týdny 8 týdnů – 6 měsíců
- **Vyšetření chromosomových aberací (mikrodelecí/mikroduplikací) na celogenomové úrovni metodou microarray:**
  - Běžící těhotenství: kultivované amniocyty 10 – 20 dní (pracovní dny, nemělo by přesáhnout 1 měsíc)
  - Běžící těhotenství: nativní CVS 3 5 – 10 dní (pracovní dny, nemělo by přesáhnout 14 dní)
  - Postnatální vzorky: 8 týdnů – 12 týdnů (nemělo by přesáhnout 5 měsíců)
  - Potratový materiál: 12 týdnů – 16 týdnů (nemělo by přesáhnout 6 měsíců)
  - STATIM (obecně): 10 pracovních dnů (od vyizolované DNA), nemělo by přesáhnout 14 pracovních dnů u prenatalních vzorků (běžící těhotenství) a 8 týdnů u postnatálních vzorků nebo do požadovaného termínu
  - Vyšetřované vzorky u běžících těhotenství mají obecně přednost před vyšetřením postnatálních vzorků a vzorků potratového materiálu, nejedná-li se u těchto vzorků o statimová vyšetření
- **Vyšetření klinického exomu metodou NGS:** 5 – 8 měsíců
  - **STATIM pouze po předchozí domluvě**
- **Ostatní molekulárně genetická vyšetření (obecně):** obvykle 2 – 12 týdnů, STATIM – 5 pracovních dnů od vyizolované DNA (pracovní dny, nemělo by přesáhnout 7 pracovních dnů; pokud se jedná o vyšetření z kultivovaných buněk, bere se 5 dnů od doby, kdy jsou buňky narostlé pro izolaci DNA) nebo do požadovaného termínu

#### Nedodržení očekávaného času dodání výsledku:

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

Krizové situace řeší vedoucí laboratoře, příp. i odesláním vzorků k vyšetření do smluvní laboratoře.

## F.6 Konzultační činnost laboratoře

Lékařům a žadatelům o vyšetření jsou poskytovány konzultace a návody v odborné oblasti související s laboratorními vyšetřeními. Kontakty jsou uvedeny v kapitole B.2 LP.

## F.7 Způsob řešení stížnosti

Laboratoř GENET UL přijímá veškeré připomínky, stížnosti či jiné zpětně vazebné informace, které mají vliv na činnost laboratoře. Stížnost lékaře, pacienta, event. dalších osob je podnětem pro zlepšení práce na genetickém pracovišti a zabýváme se prošetřením každé přijaté stížnosti.

Veškerá opatření a aktivity v rámci kontroly kvality směřují k tomu, aby situace vedoucí ke vzniku stížnosti vůbec nevznikaly.

Každý pracovník je povinen převzít stížnost. Málo závažné stížnosti vyřeší na místě a informuje vedoucího laboratoře. Závažnější stížnosti předá k řešení vedoucímu laboratoře a vedoucímu oddělení. Pro zapsání ústně podané stížnosti slouží **KZ11\_F00001 Záznam o podání ústní stížnosti**.

Pro řešení stížností je pro pracovníky laboratoře závazná směrnice **KZ11\_SM0001 Přijímání a vyřizování stížností a ostatních podání v KZ**.

## F.8 Obecné zásady laboratoře na ochranu osobních informací

Laboratoř nakládá s osobními a citlivými údaji pacientů tak, aby nemohlo dojít k neoprávněnému přístupu k nim, k jejich 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 Laboratoře GENET UL a řízením vstupu cizích osob.

Veškeré údaje o zdravotním stavu pacientů, tedy i výsledky laboratorních vyšetření a výsledky genetického testování obzvláště patří mezi citlivé údaje a vztahují se na ně ustanovení o ochraně osobních údajů. Tuto problematiku specifikuje Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2016/679 o ochraně fyzických osob v souvislosti se zpracováním osobních údajů a o volném pohybu těchto údajů (GDPR – General Data Protection Regulation). KZ zapracovala tyto požadavky do dokumentů **KZ01\_SM0007 Směrnice o ochraně osobních údajů**, **KZ01\_SM0006 Pravidla systému řízení bezpečnosti informací**.

Zaměstnanci GENET UL jsou seznámeni se závazkem o zachování mlčenlivosti týkající se důvěrných informací o pacientech – tento závazek je stvrzen podpisem zaměstnance na příslušném záznamu – v **KZ07\_F00066 Prohlášení zaměstnance** a **KZ07\_F00004 Popis pracovního místa a náplň práce**. Externí zaměstnanci podepisují seznámení se závazkem o povinném zachování mlčenlivosti v záznamu **KZ07\_F00065 Prohlášení o zachování důvěrnosti informací**. Pracovníci jsou prokazatelně seznámeni s vnitřními předpisy Laboratoře GENET UL, 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.

Zdravotnická dokumentace uložená v počítačových databázích je chráněna omezeným přístupem jen pro vybrané pracovníky a po přihlášení uživatelským jménem a heslem v souladu se směrnici

**KZ06\_SM0005 Správa elektronických dat v KZ**.

Všechna opatření jsou v souladu s dokumentem **KZ02\_SC0242 Politika systému řízení bezpečnosti informací**, platným v celé KZ, a.s.

## 6. Dokumentace

### • Související dokumentace:

Vyhláška Ministerstva zdravotnictví České republiky č.306/2012 Sb.

KZ03\_ST0159 UL GENET SOP Kultivace a zpracování lymfocytů pupečnickové krve

KZ03\_ST1283 UL GENET SOP Cytogenetické vyšetření karyotypu z kultivovaných buněk plodové vody pomocí G-pruhování a mikroskopie

KZ03\_ST1284 UL GENET SOP Cytogenetické vyšetření karyotypu z kultivovaných buněk periferní krve pomocí G-pruhování a mikroskopie

KZ03\_ST1285 UL GENET SOP Cytogenetické vyšetření získaných chromosomových aberací z kultivovaných buněk periferní krve pomocí konvenčního barvení a mikroskopie

KZ03\_ST1286 UL GENET SOP Vyšetření chromosomových aberací metodou FISH u kultivovaných buněk

KZ03\_ST1287 UL GENET SOP Molekulárně genetické vyšetření mutací a Tn polymorfismů genu CFTR (cystická fibróza) metodou ARMS a fragmentační analýzou

KZ03\_ST1288 UL GENET SOP Molekulárně genetické vyšetření mikroleceí oblastí AZFa, AZFb a AZFc chromosomu Y metodou multiplexní PCR a fragmentační analýzou

KZ03\_ST1289 UL GENET SOP Molekulárně genetické vyšetření aneuploidí chromosomů 13, 18, 21, X a Y metodou QF-PCR a fragmentační analýzou

KZ03\_ST1290 UL GENET SOP Molekulárně genetické vyšetření aneuploidí chromosomů 13, 15, 16, 18, 21, 22, X a Y z potratového materiálu metodou QF-PCR a fragmentační analýzou

~~KZ03\_ST1291 UL GENET SOP Molekulárně genetické vyšetření delece v oblasti 15q11-15q13 a uniparentální disomie chromosomu 15 metodou multiplexní PCR a fragmentační analýzou STR markerů~~

KZ03\_ST1293 UL GENET SOP Cytogenetické vyšetření karyotypu z kultivovaných buněk potratového materiálu pomocí G-pruhování a mikroskopie

KZ03\_ST2299 UL GENET SOP Vyšetření chromosomových aberací na celogenomové úrovni metodou microarray

KZ03\_ST0971 UL GENET SOP Molekulárně genetické vyšetření syndromu fragilního X chromosomu a *FMR1*-příbuzných onemocnění metodou TP-PCR a fragmentační analýzou

KZ03\_ST2949 UL GENET SOP Molekulárně genetické vyšetření klinického exomu metodou sekvenování nové generace na platformě Illumina

KZ03\_ST2335 UL GENET SOP Cytogenetické vyšetření karyotypu z choriových klků

KZ03\_SC0389 UL GENET Seznam metod

KZ11\_SM0001 Přijímání a vyřizování stížností a ostatních podání v KZ

KZ03\_SM0189 UL GENET Příjem biologického materiálu

KZ03\_ST1298 UL GENET SOP Manipulace se vzorkem biologického materiálu

KZ03\_SM0147 UL GENET Provozní řád GENET

KZ03\_IM0067 UL Informace o odběru plodové vody (pro GENET, GYNPO) - dostupné na

<http://www.kzcr.eu/>

KZ03\_IMO0001 CV GYN Informace o odběru plodové vody - dostupné na <http://www.kzcr.eu/>

- **Záznamy**

KZ11\_F00001 Záznam o podání ústní stížnosti

KZ03\_FO0478 Záznam neshod pro diagnostický komplement

KZ03\_FO0612 UL GENET Žádanka ke genetickému laboratornímu vyšetření - dostupné na

<http://www.kzcr.eu/>

KZ03\_PS0310 UL GENET Souhlas vyšetřované/ho (zákonného zástupce) s genetickým laboratorním vyšetřením - dostupné na <http://www.kzcr.eu/>

KZ03\_PS0001 CV GYN Amniocentéza - dostupné na <http://www.kzcr.eu/>

KZ03\_PS0332 UL Amniocentéza (pro GENET, GYNPO) - dostupné na <http://www.kzcr.eu/>

KZ03\_PS0171 MO GYNPO Amniocentéza - dostupné na <http://www.kzcr.eu/>

- **Přílohy:**

- **Nahrazené dokumenty**

KZ03\_SM0180 UL GENET Laboratorní příručka v9

## 7. List provedených změn a revizí

| Číslo změny | Kapitola/strana | Stručné zdůvodnění obsahu změny  | Datum účinnosti | Schválil       |
|-------------|-----------------|--|-----------------|----------------|
| 1           | název           | Upřesnění názvu  | 15.11.2012      | Prim. GENET UL |
| 2           | C7, E1          | Vyhl. 195/2005 nahrazena 306/2012  | 15.11.2012      | Prim. GENET UL |
| 3           | 3               | Doplnění zkratk  | 20.11.2013      | Prim. GENET UL |
| 4           | 4               | NZLP nahrazeno Laborant/ka   | 20.11.2013      | Prim. GENET UL |
| 5           | 5               | Celý text – vynecháno umístění v budově D2 (souvislost se stěhováním laboratoře) | 20.11.2013      | Prim. GENET UL |
| 6           | 5/B1            | Vynecháno jméno statutárního zástupce  | 20.11.2013      | Prim. GENET UL |
| 7           | 5/B2            | Aktualizovány emailové adresy, doplněna informace o zástupci manažera kvality    | 20.11.2013      | Prim. GENET UL |
| 8           | 5/B4            | Doplněna informace o získání akreditace  | 20.11.2013      | Prim. GENET UL |
| 9           | 5/B5            | Aktualizace personálního obsazení  | 20.11.2013      | Prim. GENET UL |
| 10          | 5/B7            | Aktualizace informace o EHK u cytogenetických laboratorních vyšetření            | 20.11.2013      | Prim. GENET UL |
| 11          | 5/B8            | Výraz metod k akreditaci nahrazeno akreditovaných metod                          | 20.11.2013      | Prim. GENET UL |
| 12          | 5/B9            | Doplněn text o informovaném souhlasu pro genetická laboratorní vyšetření         | 20.11.2013      | Prim. GENET UL |
| 13          | 5/C6.5          | Doplnění textu, změna doby uchování v lednici                                    | 20.11.2013      | Prim. GENET UL |
| 14          | 5/D4            | Doplnění textu   | 20.11.2013      | Prim. GENET UL |

|    |                                 |  |            |                           |
|----|---------------------------------|--|------------|---------------------------|
| 15 | 5/E2.3                          | Doplnění časového údaje u Periferní krev pro molekulárně genetická vyšetření, změna časového údaje u Stěr bukalní sliznice | 20.11.2013 | Prim. GENET UL            |
| 16 | 3                               | Aktualizace zkratk podle platného organizačního řádu KZ  | 1.11.2014  | Prim. GENET UL            |
| 17 | 4                               | Doplnění tabulky   | 1.11.2014  | Prim. GENET UL            |
| 18 | 5/B.1                           | Doplnění podlaží   | 1.11.2014  | Prim. GENET UL            |
| 19 | 5/B.2                           | Aktualizace kontaktů   | 1.11.2014  | Prim. GENET UL            |
| 20 | 5/B.5                           | Aktualizace umístění a personálního obsazení   | 1.11.2014  | Prim. GENET UL            |
| 21 | 5/B.9.1                         | Doplnění údajů u plodové vody  | 1.11.2014  | Prim. GENET UL            |
| 22 | 5/B.9.3                         | Doplnění údajů u QF-PCR  | 1.11.2014  | Prim. GENET UL            |
| 23 | 5/E2.3                          | Úprava doby uchovávání suspenze kultivovaných amniocytů, úprava textu u trvalé preparáty, periferní krev                   | 1.11.2014  | Prim. GENET UL            |
| 24 | 5/F1.2                          | Doplnění textu   | 1.11.2014  | Prim. GENET UL            |
| 25 | 5/F2                            | Doplnění v souladu s normou 15189  | 1.11.2014  | Prim. GENET UL            |
| 26 | 5/F5                            | Úprava doby odezvy u vyšetření QF-PCR u potratového materiálu  | 1.11.2014  | Prim. GENET UL            |
| 27 | B4/7                            | Doplnění textu   | 15.4.2016  | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 28 | B5/7                            | Upřesnění textu  | 15.4.2016  | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 29 | C3/14                           | Doplnění textu   | 15.4.2016  | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 30 | C6.7/18                         | Změna množství odebírané pupečnickové krve pro mol. genetická vyšetření  | 15.4.2016  | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 31 | F5/24                           | Změna doby odezvy u karyotypu z buněk periferní krve   | 15.4.2016  | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 32 | F5/25                           | Výraz spolupracující nahrazen výrazem smluvní  | 15.4.2016  | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 33 | 3/3                             | Doplnění zkratk  | 20.3.2017  | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 34 | B2/6                            | Změna tel. kontaktu  | 20.3.2017  | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 35 | B3/6                            | Doplnění textu o metodu microarray   | 20.3.2017  | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 36 | B5/7                            | Doplnění přístrojového vybavení  | 20.3.2017  | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 37 | B7/8                            | Doplnění vyšetření microarray, doplnění EHK  | 20.3.2017  | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 38 | B9.3/11                         | Aktualizace textu u vyšetření CF   | 20.3.2017  | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 39 | B9.3/12                         | Aktualizace textu u vyšetření delece v oblasti 15q11-15q13   | 20.3.2017  | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 40 | B9.3/13 - 13                    | Doplnění metody microarray   | 20.3.2017  | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 41 | C2/14                           | Doplnění povinných údajů na žádance  | 20.3.2017  | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 42 | C6.4/17                         | Aktualizace místa odběru plodové vody  | 20.3.2017  | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 43 | F5/25 - 26                      | Doplnění doby odezvy u metody microarray   | 20.3.2017  | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 44 | F8/26                           | Doplněna kapitola  | 20.3.2017  | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 45 | 3/3-4                           | Aktualizace zkratk   | 18.6.2018  | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 46 | B.3/6                           | Doplnění a aktualizace textu   | 18.6.2018  | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 47 | B.5/7                           | Doplnění a aktualizace textu   | 18.6.2018  | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 48 | B.7/8                           | Doplnění metod, doplnění EHK   | 18.6.2018  | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 49 | B.9.1/9<br>B.9.1/10<br>B.9.1/11 | Odstranění textu u mFISH<br>Doplnění kapitoly o choriové klky<br>Doplnění kapitoly o získané chromosomové aberace          | 18.6.2018  | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 50 | B9.3/12-13                      | Doplnění textu o CVS a nativní amniocyty, aktualizace textu  | 18.6.2018  | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 51 | C.4/16                          | Doplnění textu o choriové klky   | 18.6.2018  | Prim. MUDr. J. Laštůvková |

|    |             |   |           |                           |
|----|-------------|---|-----------|---------------------------|
| 52 | C.6.1/17    | Doplnění textu o choriové klky a získané chromosomové aberace | 18.6.2018 | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 53 | C6.3/18     | Doplnění textu o získané chromosomové aberace                 | 18.6.2018 | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 54 | C.6.5/19-20 | Doplněn odběr choriových klků                                 | 18.6.2018 | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 55 | D.4/23      | Doplnění textu o choriové klky                                | 18.6.2018 | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 56 | E.2.1/24    | Doplněny choriové klky a pupečnicková krev                    | 18.6.2018 | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 57 | E.2.2/24-25 | Doplnění textu o choriové klky, pupečnickovou krev a gDNA     | 18.6.2018 | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 58 | E.2.3/25    | Doplnění textu o choriové klky a pupečnickovou krev           | 18.6.2018 | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 59 | F.1/26      | Aktualizace textu   | 18.6.2018 | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 60 | F.5/28      | Aktualizace intervalů od dodání materiálu k vydání výsledku   | 18.6.2018 | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 61 | 6/29-30     | Doplnění dokumentace  | 18.6.2018 | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 62 | 3/3,4       | Doplnění zkratk   | 9.9.2019  | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 63 | B.1/5       | Změna u manažéra kvality                                      | 9.9.2019  | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 64 | B.2/6       | Změna u vedoucí laborantky                                    | 9.9.2019  | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 65 | B.4/7       | Doplnění o SAK  | 9.9.2019  | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 66 | B.5/7       | Personální aktualizace  | 9.9.2019  | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 67 | B.7/8       | Aktualizace EHK   | 9.9.2019  | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 68 | B.8/8       | Doplnění akreditované metody                                  | 9.9.2019  | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 69 | B.9.3/12    | Aktualizace textu   | 9.9.2019  | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 70 | C.2/15      | Doplnění vysvětlení termínu pohlaví                           | 9.9.2019  | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 71 | C.3/16      | Aktualizace textu   | 9.9.2019  | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 72 | C.6.2/18    | Aktualizace textu   | 9.9.2019  | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 73 | F.8/29      | Doplnění údajů GDPR   | 9.9.2019  | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 74 | B.2/6       | Aktualizace textu   | 10.9.2021 | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 75 | F.5/28      | Aktualizace textu   | 10.9.2021 | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 76 | 3/3-4       | Aktualizace zkratk  | 9.5.2023  | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 77 | B.1/5       | Aktualizace zástupce vedoucího oddělení                       | 9.5.2023  | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 78 | B.2/6       | Aktualizace kontaktů  | 9.5.2023  | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 79 | B.3/6       | Aktualizace spektra prováděných vyšetření                     | 9.5.2023  | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 80 | B.5/7       | Aktualizace pracovníků a přístrojového vybavení               | 9.5.2023  | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 81 | B.7/8       | Aktualizace nabízených vyšetření, doplnění EHK                | 9.5.2023  | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 82 | B.9.3/12-17 | Aktualizace molekulárně genetických metod                     | 9.5.2023  | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 83 | F.5/31      | Aktualizace doby odezvy                                       | 9.5.2023  | Prim. MUDr. J. Laštůvková |
| 84 | 6/33        | Aktualizace dokumentace                                       | 9.5.2023  | Prim. MUDr. J. Laštůvková |