**Laboratorní příručka**

**název pracoviště**

 **KDHO, CLIP-Cytometrie**

**LP-LPC-1**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | **Zpracoval:** | **Uvolnil do systému managementu kvality:** | **Schválil:** |
| **Organizační útvar** | CLIP – cytometrie | KDHO, CLIP | CLIP – cytometrie |
| **Funkce** | Úsekový laborant | manažer kvality CLIP | Vedoucí laboratoře |
| **Jméno** | Daniel Thűrner | Hana Feixová | prof. MUDr. Ondřej Hrušák Ph.D. |

**Doba platnosti:** bez omezení, revize 1x ročně

**Výtisk: 2**

**Verze:** 9

**Počet stran výtisku:** 24

**Počet příloh:** 12

**Vazba na akreditační standardy:** Požadavky ČSN EN ISO 15189, SAK č. 2, 3, 33

 VYR-44, VYR-32

**Umístění podepsaného výtisku:** laboratoř 419

**List provedených revizí a změn**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Změna č.** | **Umístění změny** | **Popis provedené změny** | **Datum účinnosti** | **Odpovědná osoba** |
| 1 | - | Beze změn | 1.4.2013 | Daniel Thűrner |
| 2 | - | Beze změn | 1.4.2014 | Daniel Thűrner |
| 3 | str. 13, 14, 15, 20 | Detailnější popis stability vzorku, zacházení s ním a podmínek skladování a transportu | 10.3.2015 | Daniel Thűrner |
| 4 | str. 21-22 | Informované souhlasy a zásady ochrany osobních informací | 10.3.2015 | Daniel Thűrner |
| 5 | str. 5-6 | akreditace ČIA, drobná úprava základní informace o laboratoři | 10.3.2015 | Daniel Thűrner |
| 6 | str. 4, 7-8 | Přidáno vyšetření CD34+ buněk | 10.3.2015 | Daniel Thűrner |
| 7 | str. 11, 16 | Doplnění požadavků na žádance a výsledkovém listě (pohlaví pacienta) | 10.3.2015 | Daniel Thűrner |
| 8 | str. 17 | Doplnění Evidence hlášení | 10.3.2015 | Daniel Thűrner |
| 9 | - | Revize. Beze změny. | 2.3.2016 | Kanderová |
| 10 | str. 4str. 17 | Revize příloh (tj. žádanek)Revize vydávání výsledků  | 1.3.2017 | Kanderová |
| 11 | - | Revize. Beze změny. | 1.3.2018 | Kanderová |
| 12 | - | Revize. Beze změny. | 1.3.2019 | Kanderová |
| 13 | str 4 str 14 | Aktualizace žádanek dle nových protokolů. Aktualizace požadavků na dovyšetření vzorku. | 1.4.2019 | Kanderová |
| 14 | - | Revize. Beze změny. | 1.3.2020 | Kanderová |
| 15 | str 1str 20 | Úvodní strana – doplněno Uvolnil „do SMK“, vymazáno AOP 5, doplněna čísla Souvisejících předpisů | 10.11.2020 | Kanderová, Thűrner |
| 16 | str 9, 21str 15 str 5 | Doplnění spektra nabízených služeb Doplnění podmínek pro transport a skladování odebraného materiáluAktualizace seznamu žádanek | 12.4.2021 | Kanderová |
| 17 | Str. 8 Str. 20 | Aktualizace časůZměny výsledků a nálezůOdkaz na směrnici FN Motol | 1.3.2022 | Luknárová |
| 18 |  | Revize. Beze změn. | 1.3.2023 | Thurner |
| 19 |  | Revize žádanek a specifikací poskytovaných vyšetření.Doplnění požadavků VYR-44 a VYR-32. | 30.10.2023 | Kanderová |
|  |  |  |  |  |

**Obsah**

[1. Úvod 6](#_Toc151990029)

[2. Informace o laboratoři 6](#_Toc151990030)

[2.1. Identifikace laboratoře a důležité údaje 6](#_Toc151990031)

[2.2. Základní informace o laboratoři 6](#_Toc151990032)

[2.3. Zaměření laboratoře 8](#_Toc151990033)

[2.4. Organizace laboratoře 8](#_Toc151990034)

[2.4.1. Spektrum nabízených služeb: 8](#_Toc151990035)

[3. Manuál pro odběr primárních vzorků 11](#_Toc151990036)

[3.1. Žádanky (indikace) na vyšetření (viz webové stránky CLIP, sekce Diagnostika - Dokumenty) 12](#_Toc151990037)

[3.2. Používaný odběrový systém 13](#_Toc151990038)

[3.3. Příprava pacienta před vyšetřením, odběr vzorku 13](#_Toc151990039)

[3.3.1. Vliv infuzní terapie – odběr nejdříve hodinu po infusi 13](#_Toc151990040)

[3.3.2. Odběry z centrálních katétrů a kanyl 14](#_Toc151990041)

[3.4. Identifikace označení primárního vzorku 14](#_Toc151990042)

[3.5. Ústní a dodatečné požadavky na vyšetření 14](#_Toc151990043)

[3.6. Požadavky na vyšetření urgentních vzorků 14](#_Toc151990044)

[3.7. Nezbytné operace se vzorkem, stabilita 14](#_Toc151990045)

[3.8. Bezpečnostní aspekty při práci se vzorky 15](#_Toc151990046)

[3.9. Informace k dopravě vzorků 15](#_Toc151990047)

[3.10. Skladování vyšetřovaných vzorků 16](#_Toc151990048)

[4. Preanalytická fáze 16](#_Toc151990049)

[4.1. Kriteria pro přijetí vzorků 16](#_Toc151990050)

[4.2. Kritéria k odmítnutí dodaných vzorků a jejich řešení 16](#_Toc151990051)

[5. Postanalytické procesy v laboratoři 17](#_Toc151990052)

[5.1. Skladování vzorků po vyšetření v laboratoři CLIP-cytometrie 17](#_Toc151990053)

[5.2. Kontrola výsledků 17](#_Toc151990054)

[6. Vydávání výsledků 17](#_Toc151990055)

[6.1. Informace o formách výsledků, typy nálezů a laboratorních zpráv 17](#_Toc151990056)

[6.2. Výsledkový list obsahuje: 18](#_Toc151990057)

[6.3. Telefonické hlášení výsledků 18](#_Toc151990058)

[6.4. Hlášení výsledků v kritických intervalech 18](#_Toc151990059)

[6.5. Intervaly od dodání vzorku do vydání výsledku 18](#_Toc151990060)

[6.6. Vydávání výsledků přímo pacientům 19](#_Toc151990061)

[6.7. Změny výsledků a nálezů 19](#_Toc151990062)

[7. Komunikace s laboratoří 19](#_Toc151990063)

[7.1. Vyřizování stížností 19](#_Toc151990064)

[7.2. Konzultační činnost laboratoře 19](#_Toc151990065)

[8. Základní informace k prováděným vyšetřením 19](#_Toc151990066)

[9. Související předpisy, literatura 22](#_Toc151990067)

[10. Informovaný souhlas / nesouhlas pacienta (či jeho zástupce) 22](#_Toc151990068)

[11. Rozdělovník 23](#_Toc151990069)

[11.1. Seznam řízených výtisků a osoby, kterým jsou jednotlivé výtisky přiděleny 23](#_Toc151990070)

[11.2. Seznam oprávněných pracovníků proškolených v dokumentu 23](#_Toc151990071)

**Přílohy: Žádanky**

Žádanka k vyšetření průtokovou cytometrií

Žádanka Kvantifikace CD34+ a CD3+ buněk pro účely buněčných terapií

Žádanka k vyšetření pro podezření na primární imunodeficit (PID)

Žádanka Molekulární genetika poruch imunity (KREC/TREC)

Žádanka Somatické NGS

Žádanka k vyšetření minimální reziduální nemoci (MRN) u dětských pacientů s ALL (AIEOP-BFM ALL 2017, AEIOP-BFM 2017 Slovensko)

Žádanka k vyšetření minimální reziduální nemoci (MRN) u pacientů s ALL (GMALL 07/03)

Žádanka REGISTER AML BFM 2012 CZ

Žádanka k vyšetření residuální nemoci u pacienta s AML

Žádanka k vyšetření minimální residuální nemoci u pacientů před a po transplantaci kmenových buněk krvetvorby (HSCT)

Žádanka MRN Slovensko

Žádanka k vyšetření geneticky podmíněných trombofilních stavů, zamražení a izolaci biologického materiálu

**Klíčová slova:**

Laboratorní příručka, spektrum vyšetření a poskytovaných služeb, preanalytická fáze, způsob vyjadřování výsledků, manuál pro odběr primárních vzorků

# Úvod

Laboratorní příručka popisuje pokyny týkající se metod prováděných pro léčebně-diagnostickou péči v laboratoři průtokové cytometrie (CLIP - cytometrie) Laboratorního centra Kliniky dětské hematologie a onkologie 2.LF UK a FN Motol. Nezabývá se metodami, které laboratoř provádí

v rámci své výzkumné a výukové činnosti.

V současné době je laboratoř akreditována ČIA dle ČSN EN ISO 15189: 2013 Zdravotnické laboratoře – zvláštní požadavky na kvalitu a způsobilost. Obsah laboratorní příručky je koncipován

v souladu s touto normou.

Laboratoř CLIP - cytometrie je také kontrolní laboratoří, která splňuje požadavky a návody správné výrobní praxe stanovené Nařízením Komise v přenesené pravomoci (EU) 2017/1569,. Poskytuje kontrolu jakosti humánních léčivých přípravků. Obsah laboratorní příručky proto také reflektuje pravidla VYR-44 a VYR-32.

Rozsah vyšetření prováděných v naší laboratoři je průběžně aktualizován v souladu s rozvojem medicínských znalostí, spolu s požadavky na způsob odběru biologického materiálu. Laboratoř je zapojena do systému externí kontroly kvality (UK NEQAS, SEKK, EuroFlow) a pracuje v souladu se standardy [ELN](http://www.leukemia-net.org/content/e35/index_eng.html).

 Laboratorní příručka je k dispozici na webových stránkách <http://clip.lf2.cuni.cz/>, kde je pravidelně aktualizována. Doufáme, že tato příručka přispěje ke zkvalitnění naší vzájemné spolupráce.

# Informace o laboratoři

#  Identifikace laboratoře a důležité údaje

Laboratoř CLIP - cytometrie Kliniky dětské hematologie a onkologie (KDHO) 2. LF UK a FN Motol se nachází ve 2. patře budovy Nové onkologie, která je umístěna v nejvýchodnějším koutu areálu FN Motol. Je součástí Laboratorního centra KDHO a společně s Laboratoří molekulární genetiky vytváří pracovní skupinu CLIP (Childhood Leukemia Investigation Prague).

Kromě diagnostické části má laboratoř ještě část výzkumnou, kde pracují převážně postgraduální studenti.

#  Základní informace o laboratoři

Název laboratoře CLIP - cytometrie

 Laboratorní centrum Kliniky dětské hematologie a onkologie

 2.LF UK a FN Motol

Vedoucí laboratoře prof. MUDr. Ondřej Hrušák, Ph.D.

Úsekový laborant Daniel Thürner

Manažer kvality Hana Feixová

Pověřený pracovník pro metrologii Daniel Thürner

Kontaktní osoby prof. MUDr. Ondřej Hrušák, Ph.D.

 MUDr. Ester Mejstříková, Ph.D.

 prof. MUDr. Tomáš Kalina, Ph.D.

 Daniel Thűrner

Adresa – poštovní CLIP - cytometrie, Klinika dětské hematologie a onkologie

 2.LF UK a FN Motol

 V Úvalu 84, Praha 5 – Motol, CZ -150 06

Adresa – návštěvní Budova dětské onkologie a ozařoven

 roh ulic Weberovy a Roentgenovy, Praha 5

 II. patro, dveře 417

Telefonní spojení pracovna 2 2443 6477

 laboratoř 2 2443 6413

Fax 2 2443 6413

e-mail ondrej.hrusak@lfmotol.cuni.cz

ester.mejstrikova@lfmotol.cuni.cz

tomas.kalina@lfmotol.cuni.cz

daniel.thurner@lfmotol.cuni.cz

mobil: 737345489 (MUDr. Mejstříková, Ph.D.)

Internetová adresa http://clip.lf2.cuni.cz/

Provozní doba pondělí až pátek od 8:00 do 17:00

Příjem materiálu pondělí až pátek od 8:00 do 16:30, po pracovní době po dohodě s vedoucím laboratoře

#  Zaměření laboratoře

1. diagnostika a diagnostické sledování akutních leukémií
2. diagnostika myelodysplastického syndromu
3. diagnostika maligních i nemaligních lymfoproliferací (NHL, HD, CLL či při podezření na tyto choroby či při diferenciální diagnostice příbuzných stavů)
4. diagnostika vrozených či sekundárních poruch imunity (imunodeficity, autoimunitní a autoinflamatorní stavy) metodou rozšířené imunofenotypizace lymfocytů
5. stanovení procentuálního zastoupení lymfocytárních subpopulací v periferní krvi
6. stanovení procenta CD34+ hematopoetických kmenových a progenitorových buněk
7. rekonstituce imunity po transplantaci hematopoetických buněk
8. odlišení specifických malignit vycházejících z buněk jiných než jsou krvetvorné
9. určení lymfocytární infiltrace při specifických onemocněních

#  Organizace laboratoře

Laboratoř je součástí Laboratorního centra Kliniky dětské hematologie a onkologie UK 2.LF a FN Motol (dále jen Laboratorní centrum CLIP). Odpovědnou osobou je vedoucí Laboratorního centra CLIP prof. MUDr. Jan Trka, Ph.D. Odpovědnou osobou za laboratoř CLIP - cytometrie je prof. MUDr. Ondřej Hrušák, Ph.D.

Provozní doba pondělí až pátek od 8:00 do 16:30

Příjem materiálu pondělí až pátek od 8:00 do 16:00, po pracovní době po dohodě s vedoucím laboratoře

# Spektrum nabízených služeb:

**Zastoupení základních lymfocytárních subpopulací v periferní krvi**

Diagnostika imunodeficitních stavů, nezbytné vyšetření pro diagnostické zařazení pacientů se (susp.)  kombinovaným imunodeficitem či těžkými protilátkovými deficity, součást imunologického sledování po transplantacích kostní dřeně nebo solidních orgánů, diagnostika těžkých sekundárních imunodeficitů. Součást diagnostiky (susp.) lymfoproliferací. Vyšetření se provádí během celého týdne a celé pracovní doby. Výsledky vyšetření základních lymfocytárních subpopulací v periferní krvi jsou vydány do 4 pracovních dnů.

**Zastoupení lymfocytárních subpopulací v jiných tkáních**

Diagnostika imunodeficitů, lymfoproliferací nebo autoimunitních onemocnění, určení lymfocytární infiltrace při specifických onemocněních. Výsledky vyšetření lymfocytárních subpopulací v jiných tkáních (kostní dřeň, bronchoalveolární laváž, mozkomíšní mok, homogenizovaná solidní tkáň a jiné tělní tekutiny) jsou vydány do 4 pracovních dnů.

**Imunofenotypizace susp. akutních leukémií, myelodysplazií, lymfomů a příbuzných onemocnění včetně monitorace minimální reziduální nemoci**

Imunofenotypizace je nezbytnou součástí diagnostiky a monitorace všech akutních leukémií, myelodysplastického syndromu, chronické lymfatické leukémie, lymfomů či při podezření na tyto chorobynebo při diferenciální diagnostice příbuzných stavů. Totéž platí u podezření na relaps těchto onemocnění. Vyšetření se provádí během celého týdne a celé pracovní doby. Výsledky vyšetření imunofenotypizace jsou vydány do 4 pracovních dnů.

**Zastoupení CD34+ hematopoetických kmenových a progenitorových buněk**

Stanovení zastoupení CD34+ se provádí v periferní krvi pro optimální načasování sběru autologního štěpu a v autologních štěpech ke zjištění nezbytného množství štěpu na hmotnost příjemce. Výsledky jsou poskytovány v den vyšetření.

**Stanovení PNH klonu erytrocytů, granulocytů, monocytů**

Při podezření na paroxysmální noční hemoglobinurii. Součást diagnostiky a sledování pacientů s aplastickou anémií a MDS. Výsledky vyšetření jsou vydány do 4 pracovních dnů.

**Cytometrický test s eosin-5-maleimidem (EMA) pro diagnostiku hereditární sférocytózy**

Test je založen na vazbě fluorescenční značky eosin-5-maleimid (EMA) na strukturální proteiny membrány erytrocytů periferní krve. Snížení EMA fluorescence odráží deficit strukturálních proteinů. Výsledky vyšetření jsou vydány do 4 pracovních dnů.

**Cytometrická analýza obsahu DNA (ploidie) u maligních onemocnění**

Součást diagnostického zařazení při novém záchytu či relapsu onemocnění. Vyšetření se provádí během celého týdne a celé pracovní doby. Výsledky cytometrické analýzy obsahu DNA jsou vydány do 4 pracovních dnů.

**Diagnostika vrozených či sekundárních poruch imunity (imunodeficity, autoimunitní a autoinflamatorní stavy) metodou rozšířené imunofenotypizace lymfocytů**

Imunofenotypizace T- a B-lymfocytů periferní krve se zaměřením na jejich vývojová stádia je nezbytná při podezření na primární nebo sekundární poruchu imunity (imunodeficit, cytopenie, autoimunitní stav aj). Detekce perforinu v NK buňkách může potvrdit nebo vyloučit jeho molekulární defekt. Při podezření na autoimunitní lymfoproliferativní syndrom stanovujeme CD4negCD8neg T-lymfocyty. Výsledky vyšetření jsou vydány do 4 pracovních dnů.

**Referenční meze pro průtokovou cytometrii**

Základní lymfocytární subpopulace.

Zdroj: <http://www.mayomedicallaboratories.com/test-info/pediatric/refvalues/reference.php>

IABCS/88800: B-Cell Phenotyping Profile for Immunodeficiency and Immune Competence Assessment, Blood

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **T Cells (CD3)** |  |  |  |  |
| Věk od (roky) | Věk do (roky) | Minimum (x109/L) | Maximum (x109/L) | Minimum (%) | Maximum (%) |
| 0 | 0,25 | 2,5 | 5,5 | 53 | 84 |
| 0,25 | 0,5 | 2,5 | 5,6 | 51 | 77 |
| 0,5 | 1 | 1,9 | 5,9 | 49 | 76 |
| 1 | 2 | 2,1 | 6,2 | 53 | 75 |
| 2 | 6 | 1,4 | 3,7 | 56 | 75 |
| 6 | 12 | 1,2 | 2,6 | 60 | 76 |
| 12 | 18 | 1 | 2,2 | 56 | 84 |
| 18 | 56 | 0,677 | 2,383 | 59 | 83 |
| 56 | 150 | 0,617 | 2,254 | 49 | 87 |
| **Helper Cells (CD4)** |  |  |  |  |
| Věk od (roky) | Věk do (roky) | Minimum (x109/L) | Maximum (x109/L) | Minimum (%) | Maximum (%) |
| 0 | 0,25 | 1,6 | 4 | 35 | 64 |
| 0,25 | 0,5 | 1,8 | 4 | 35 | 56 |
| 0,5 | 1 | 1,4 | 4,3 | 31 | 56 |
| 1 | 2 | 1,3 | 3,4 | 32 | 51 |
| 2 | 6 | 0,7 | 2,2 | 28 | 47 |
| 6 | 12 | 0,65 | 1,5 | 31 | 47 |
| 12 | 18 | 0,53 | 1,3 | 31 | 52 |
| 18 | 56 | 0,424 | 1,509 | 31 | 59 |
| 56 | 150 | 0,43 | 1,513 | 32 | 67 |
| **Cytotoxic Cells (CD8)** |  |  |  |  |
| Věk od (roky) | Věk do (roky) | Minimum (x109/L) | Maximum (x109/L) | Minimum (%) | Maximum (%) |
| 0 | 0,25 | 0,56 | 1,7 | 12 | 28 |
| 0,25 | 0,5 | 0,59 | 1,6 | 12 | 23 |
| 0,5 | 1 | 0,5 | 1,7 | 12 | 24 |
| 1 | 2 | 0,62 | 2 | 14 | 30 |
| 2 | 6 | 0,49 | 1,3 | 16 | 30 |
| 6 | 12 | 0,37 | 1,1 | 18 | 35 |
| 12 | 18 | 0,33 | 0,92 | 18 | 35 |
| 6 | 18 |   |   | 18 | 35 |
| 18 | 56 | 0,169 | 0,955 | 12 | 38 |
| 56 | 150 | 0,101 | 0,839 | 8 | 40 |
| **B Cells (CD19)** |  |  |  |  |
| Věk od (roky) | Věk do (roky) | Minimum (x109/L) | Maximum (x109/L) | Minimum (%) | Maximum (%) |
| 0 | 0,25 | 0,3 | 2 | 6 | 32 |
| 0,25 | 0,5 | 0,43 | 3 | 11 | 41 |
| 0,5 | 1 | 0,61 | 2,6 | 14 | 37 |
| 1 | 2 | 0,72 | 2,6 | 16 | 35 |
| 2 | 6 | 0,39 | 1,4 | 14 | 33 |
| 6 | 12 | 0,27 | 0,86 | 13 | 27 |
| 12 | 18 | 0,11 | 0,57 | 6 | 23 |
| 18 | 56 | 0,099 | 0,527 | 6 | 22 |
| 56 | 150 | 0,031 | 0,409 | 3 | 20 |
| **Natural Killer (CD16+CD56+)** |  |  |  |
| Věk od (roky) | Věk do (roky) | Minimum (x109/L) | Maximum (x109/L) | Minimum (%) | Maximum (%) |
| 0 | 0,25 | 0,17 | 1,1 | 4 | 18 |
| 0,25 | 0,5 | 0,17 | 0,83 | 3 | 14 |
| 0,5 | 1 | 0,16 | 0,95 | 3 | 15 |
| 0,5 | 2 |   |   | 3 | 15 |
| 1 | 2 | 0,18 | 0,92 | 3 | 15 |
| 2 | 12 |   |   | 4 | 17 |
| 2 | 6 | 0,13 | 0,72 | 4 | 17 |
| 6 | 12 | 0,1 | 0,48 | 4 | 17 |
| 12 | 18 | 0,07 | 0,48 | 3 | 22 |
| 18 | 55 | 0,101 | 0,678 | 6 | 27 |
| 55 | 150 | 0,11 | 0,657 | 6 | 35 |

# Manuál pro odběr primárních vzorků

Pracoviště a externí pracovníci provádějící přípravu pacienta nebo odběry vzorku mají být seznámeni s touto příručkou pro odběry primárních vzorků. Laboratorní příručka je trvale k dispozici v elektronické podobě na intranetu FN Motol, na <http://clip.lf2.cuni.cz/> nebo v papírové podobě u vedoucího laboratoře. Rozsah vyšetření prováděných v laboratoři je průběžně aktualizován v souladu s rozvojem medicínských znalostí a formou nabídky laboratorních vyšetření dáván na vědomí svým klinickým partnerům (lůžkovým i ambulantním zařízením), spolu s požadavky na způsob odběru biologického materiálu.

Laboratoř přijímá vzorky krve, kostní dřeně, měkkých tkání, mozkomíšního moku, bronchoalveolární laváže a výpotky. Biologický materiál je odesílán do laboratoře CLIP – cytometrie, umístěné v budově nové onkologie a radioterapie, 2. patře, dveře 417, a je doprovázen žádankou.

# Žádanky (indikace) na vyšetření (viz webové stránky CLIP, sekce Diagnostika - Dokumenty)

Vzorky jsou přijímány pouze tehdy, mají-li řádnou žádanku s náležitými údaji:

Základní identifikační znaky požadované na žádance:

* + příjmení, jméno pacienta, pohlaví
	+ rodné číslo pacienta (číslo pojištěnce)
	+ kód pojišťovny pacienta
	+ základní a eventuálně další diagnózy pacienta
	+ datum a čas odběru (čas odběru se udává pouze u mozkomíšního moku)
	+ datum a čas přijetí vzorku do laboratoře (čas přijetí se udává pouze u mozkomíšního moku)
	+ identifikace zadavatele – název zařízení, oddělení, jméno lékaře, IČP, odbornost
	+ kontakt na zadavatele – adresa, telefon – pokud není na razítku
	+ vypsaná nebo zaškrtnutá požadovaná vyšetření, vyšetření je indikováno lékařem laboratoře, vyplývá z nalezených leukocytárních populací každého jednotlivého pacienta
	+ druh biologického materiálu

Nepovinné údaje:

* + na žádance lze uvést doplňující klinické informace týkající se pacienta a vyšetření (pro interpretační účely) např.: časový bod odběru v průběhu léčby
	+ nezbytné je na žádance zřetelně uvést telefonní číslo pro případné upřesnění

Jinou než vlastní žádanku laboratoře (např. Výměnný list) přijme laboratoř ke zpracování tehdy, splňuje-li žádanka veškeré náležitosti zmiňované v laboratorní příručce a jsou-li na ní jednoznačně identifikovatelná jednotlivá vyšetření, která má laboratoř provést.

U cizinců je nutné uvedení čísla pojistky, datum narození a pohlaví, u azylantů též číslo povolení

k pobytu.

Požadavkové listy (žádanky) jsou archivovány po dobu minimálně 5 let.

Po přezkoumání údajů na žádance a primárním vzorku a vizuální kontrole jeho kvality je vzorek

převzat a zaevidován pracovníkem laboratoře.

Požadavky na odběr primárního vzorku jsou koncipovány tak, aby odebírané množství materiálu

bylo co nejmenší, a aby nebyly zbytečně odebírány násobně tytéž druhy vzorků. Koncepce

žádanky zajišťuje, aby administrativní úkon při jejím vyplňování byl co nejjednodušší.

#  Používaný odběrový systém

Periferní krev: nesrážlivá krev do zkumavek s K3 EDTA nebo K2 EDTA (alternativně lze přijmout i zkumavky s protisrážlivými činidly Na3Citrát, heparin či roztok ACD) běžně používaných ve FN Motol pro hematologická vyšetření. Pro externí zadavatele platí, aby materiál byl odebrán do zkumavky s protisrážlivým činidlem viz „periferní krev“. Minimální objem 1,0 ml, optimálně > 2 ml.

Kostní dřeň: aspirát z punkce, zkumavky totožné jako pro periferní krev.

Mozkomíšní mok: minimální objem 500 mikrolitrů, zkumavky totožné jako pro periferní krev.

Ostatní biologický materiál: dle dohody s laboratoří.

**Krev nesmí být odebrána do zkumavky bez protisrážlivého činidla.**

#  Příprava pacienta před vyšetřením, odběr vzorku

Vzorky materiálu lze odebrat v kteroukoli denní dobu, bez vztahu k jídlu, medikaci atd.

Co se týká odběrů vzorků od externích zadavatelů, naše laboratoř uvádí základní pokyny ohledně množství odebíraného biologického materiálu, odběrového média a zacházení s odebraným vzorkem ke každému z prováděných vyšetření. Naše laboratoř sice nenese odpovědnost za to, zda byl vyšetřovaný materiál odebrán a transportován v souladu s těmito požadavky, nicméně systém vnitřní kontroly vyšetřovaných vzorků je nastaven tak, aby odhalil jakékoli pochybení v kvalitě vyšetřovaného materiálu.

# Vliv infuzní terapie – odběr nejdříve hodinu po infusi

Kontaminace infuzí : obecně se nedoporučuje odběr krve z katétru, který je určen pro podávání nitrožilní výživy. Bezpečným není odběr pod stejným turniketem ani v případě zdánlivě dostatečné vzdálenosti místa odběru a nitrožilního katétru. Příčinou kontaminace může být nejen zředění vzorku aplikovanou infuzí (v případě, že se tento vzorek při odběru použije), ale také zředění vzorku heparinovým zámkem katétru pro opakované odběry nebo přítomnost anastomóz v žilním řečišti. V případě použití heparinového zámku je i po jeho odstranění ovlivněno vyšetření koagulace. Kontaminace infuzí se dále projeví atypickým, často několikanásobným zvýšením těch analytů, které byly v infúzi ve vysoké koncentraci.

Pro prevenci těchto obtíží je jediným bezpečným způsobem odběr žilní krve z opačné končetiny, než kde je zaveden kateétr infúze.

# Odběry z centrálních katétrů a kanyl

První odebraná zkumavka se do laboratoře neposílá (zlikviduje se).

#  Identifikace označení primárního vzorku

Ke zpracování budou přijaty jen vzorky, které jsou jednoznačně identifikovány štítkem tak, že je bezpečně vyloučena záměna s jinými vzorky, kde bude vyznačen druh biologického materiálu, a které jsou provázeny řádně vyplněnou žádankou.

#  Ústní a dodatečné požadavky na vyšetření

V případě doobjednání vyšetření či při změně požadavků na vyšetření od požadujícího lékaře laboratoř přijme požadavek telefonicky. Pokud stav a množství vzorku nové vyšetření umožní, je vzorek dovyšetřen. Dodatečná vyšetření je oprávněn indikovat vedoucí laboratoře nebo jiný oprávněný VŠ pracovník. Pokud stav a množství vzorku neumožňuje další vyšetření, je požadován vzorek nový. Požadavek na nové vyšetření vždy musí doprovázet nová žádanka.

#  Požadavky na vyšetření urgentních vzorků

Statimová vyšetření nejsou laboratoří CLIP - cytometrie prováděna.

#  Nezbytné operace se vzorkem, stabilita

Po odběru žilní krve a/nebo kostní dřeně do zkumavky s EDTA, citrátem, ACD je třeba tuto zkumavku promíchat několikerým opatrným obrácením. Pokud nebude promíchána a byť i částečně se srazí, bude velmi ztíženo provést indikované vyšetření. Vzorek je třeba doručit do laboratoře CLIP - cytometrie, do budovy nové onkologie a radioterapie, 2. patra, dveří č. 417, optimálně do 1 dne od odběru. Vzorek je do té doby možno skladovat při pokojové teplotě (skladování v lednici není vhodné), nikdy nesmí zmrznout. U mozkomíšního moku je nutné, aby se do laboratoře dostal do 2 hodin od odebrání. Na žádanku je nutné napsat přesný čas odběru mozkomíšního moku.

#  Bezpečnostní aspekty při práci se vzorky

Každý vzorek biologického materiálu je nutné považovat za potenciálně infekční.

Žádanky ani vnější strana zkumavky nesmí být kontaminovány biologickým materiálem – toto může být důvodem k odmítnutí vzorku.

Pozor, zvláště u pacientů po transplantacích jsou přítomna četná infekční agens, která nejsou nepřímými metoda detekovatelná, a proto o nich ošetřující personál často neví. Z toho důvodu se s každým vzorkem biologického materiálu nakládá během přepravy i práce v laboratoři jako s potenciálně infekčním.

#  Informace k dopravě vzorků

Vzorek je třeba doručit do laboratoře CLIP - cytometrie, do budovy nové onkologie a radioterapie, 2. patra, dveří č. 417, optimálně do 1 dne od odběru. Vzorek se transportuje za standardních podmínek vhodných pro transport biologického materiálu. Zkumavky s materiálem musí být zasílány uzavřené. Při extrémních vnějších teplotách je nutné zajistit transport vzorku v boxech zamezujících znehodnocení vzorku mrazem. **Vzorek nesmí zmrznout!** Přeprava na ledu není vhodná. Do doby transportu je vzorek možno skladovat při pokojové teplotě; skladování v lednici není vhodné; vzorek nikdy nesmí zmrznout.

Zadavatelé vyšetření jsou seznámeni s požadavky na transport vedoucím laboratoře, k zasílaným vzorkům přikládají **štítek** s adresou laboratoře a s indikací k transportu a uchovávání vzorku při běžné pokojové teplotě:

 

U mozkomíšního moku je nutné, aby se do laboratoře dostal do 2 hodin od odebrání. Na žádanku je nutné napsat přesný čas odběru.

# Skladování vyšetřovaných vzorků

Do doby analýzy během pracovního dne se biologický materiál skladuje tak, aby se zabránilo znehodnocení, rozlití, kontaminaci, přímému vlivu slunečního záření, tepla a mrazu.

 Všechny vzorky DNA, RNA, cDNA, a kryoprezervované buňky jsou skladovány v laboratoři CLIP-molekulární genetika na dobu neurčitou. Materiál je skladován v  -20oC, -80oC a v tekutém dusíku.

# Preanalytická fáze

Vzorky se v laboratoři přijímají průběžně, zpracovávají se v intervalech daných režimem pro jednotlivá vyšetření. Za přijetí vzorku odpovídá určený laborant/ka, který/á v případě odmítnutí informuje odesílajícího lékaře.

Vzorky krve, kostní dřeně, měkkých tkání, mozkomíšního moku, bronchoalveolární laváže a výpotky jsou přijímány v 2. patře, v laboratoři CLIP - cytometrie, dveře č. 417. Zde dojde ke zkontrolování materiálu a žádanek. Vzorek je rozdělen na dvě části. Jednu část zpracovává laboratoř CLIP - cytometrie, druhou část laboratoř CLIP - molekulární genetika.

#  Kriteria pro přijetí vzorků

Nezbytnou identifikaci biologického materiálu před přidělením laboratorního čísla (kódu vzorku) musí tvořit jméno a příjmení pacienta a rodné číslo, jinak bude materiál odmítnut.

#  Kritéria k odmítnutí dodaných vzorků a jejich řešení

|  |  |
| --- | --- |
|   | **Tab. Kritéria k odmítnutí dodaných vzorků a jejich řešení** |
|   |   |   |
| ***žádanka*** | ***vzorek*** | ***řešení laboratoře*** |
| chybí nebo jsou nečitelné základní údaje (rodné číslo, příjmení a jméno, základní diagnóza atd.…)  | Pokud je k dispozici údaj o odesílajícím oddělení a alespoň základní identifikace nemocného, laborant, který materiál přijímá si telefonicky vyžádá novou kompletní žádanku nebo doplňující údaje. Provede se záznam o neshodě do Deníku oprav a neshod. |
| není žádanka | je vzorek | Pokud je k dispozici údaj o odesílajícím oddělení a alespoň základní identifikace nemocného, laborant, který materiál přijímá, si telefonicky vyžádá novou kompletní žádanku. |
| je žádanka | není vzorek | Pokud je k dispozici údaj o odesílajícím oddělení a alespoň základní identifikace nemocného, laborant, který žádanku přijímá, si telefonicky vyžádá nový vzorek. |
| zkumavka s biologickým materiálem, kde není způsob identifikace materiálu z hlediska nezaměnitelnosti dostatečný | Požadující subjekt je neprodleně informován o chybné identifikaci vzorku a pokud je to možné, je vyžádán nový vzorek a žádanka. Laboratoř nesmí provést analýzu z neoznačeného vzorku. Provede se záznam o neshodě do Deníku oprav a neshod. |
|   | zkumavka s biologickým materiálem, která je tímto materiálem zjevně kontaminovaná z vnější strany | Ve zvlášť výjimečných případech (např. z důvodu vitální indikace) lze vzorky potřísněné biologickým materiálem či vzorky s menším než doporučeným množstvím materiálu vyšetřit. Pracovník přejímající takové vzorky o tomto neprodleně informuje vedoucího laboratoře. Výše uvedené skutečnosti budou zaznamenány v komentáři k výsledkům. |

# Postanalytické procesy v laboratoři

Veškerý materiál, který je dodán do laboratoře, se zpracovává ve většině případů v den dodání vzorků. (S přihlédnutím na pracovní postupy jednotlivých vyšetření).

#  Skladování vzorků po vyšetření v laboratoři CLIP-cytometrie

Není-li uvedeno jinak, řídí se požadavky ke skladování pokyny pro stabilitu materiálu

v jednotlivých standardních operačních postupech pro laboratorní vyšetření.

Obecně platí: skladování od doby vyšetření do konce pracovního týdne

Do doby analýzy během pracovního dne se biologický materiál skladuje tak, aby se zabránilo znehodnocení, rozlití, kontaminaci, přímému vlivu slunečního záření, tepla a mrazu.

#  Kontrola výsledků

Po provedení analýz jsou výsledky zapsány či převedeny do LIS, po kontrole odpovědným pracovníkem jsou podepsány a uvolněny.

# Vydávání výsledků

#  Informace o formách výsledků, typy nálezů a laboratorních zpráv

Lékaři laboratoře odpovídají na telefonické dotazy a interpretují výsledky požadovaných vyšetření.

Výsledky se závěrem jsou interpretovány a uvolňovány odpovědným pracovníkem. V rámci FN Motol jsou výsledky dostupné na zabezpečeném serveru ve formátu pdf. Tištěné výsledky rozesíláme na jednotlivá pražská/mimopražská pracoviště poštou. Pro Kliniku dětské hematologie a onkologie UK 2.LF a FN Motol roznáší tištěné výsledky odpovědný pracovník osobně lékařům, kteří indikovali vyšetření. Výsledky jsou archivovány v pravidelně pořizovaných zálohách databáze. Archivace žádanek dle směrnic FN Motol. Kopie výsledků zasíláme ve formě zabezpečeného PDF po předchozí dohodě také emailem na kontaktní adresu udanou jednotlivými pracovišti.

#  Výsledkový list obsahuje:

* název laboratoře, která výsledek vydala
* jednoznačnou identifikaci pacienta (jméno, příjmení, rodné číslo)
* název oddělení a jméno lékaře požadujícího vyšetření, popřípadě telefonní kontakt
* datum odběru primárního vzorku (je-li podstatný pro péči o pacienta) a čas, je-li relevantní
* datum zpracování primárního vzorku laboratoří (a čas, je-li relevantní)
* datum uvolnění nálezu
* název vyšetřovaného systému (skupiny)
* druh primárního vzorku
* nezaměnitelnou identifikaci vyšetření (odkaz na SOP)
* výsledek vyšetření včetně jednotek měření a tam, kde je to možné, rovněž referenční intervaly
* v případě potřeby textové interpretace výsledků
* jiné poznámky (texty ke kvalitě nebo dostatečnosti primárního vzorku, které mohou nežádoucím způsobem ovlivnit výsledek, atd.)
* identifikaci osoby, která autorizovala uvolnění nálezu

#  Telefonické hlášení výsledků

Naše laboratoř výsledky telefonicky nesděluje.

#  Hlášení výsledků v kritických intervalech

Výrazně patologické nálezy (např. jiný než předpokládaný typ leukemie, atd. (záleží na posouzení odpovědného VŠ pracovníka)) neprodleně sděluje odpovědný VŠ pracovník požadujícímu pracovišti bez ohledu na to, zda bylo vyšetření provedeno v režimu vitální indikace nebo se jednalo o rutinní (běžný) vzorek. Tato hlášení jsou evidována.

#  Intervaly od dodání vzorku do vydání výsledku

Vzorky pro běžný provoz jsou analyzovány do 4 pracovních dnů. Výsledek je tedy k dispozici do 4 pracovních dnů od převzetí vzorku. Výsledky vyšetření CD34poz buněk jsou vydány v den vyšetření.

#  Vydávání výsledků přímo pacientům

Laboratoř nevydává výsledky pacientům.

#  Změny výsledků a nálezů

 Každá změna vydaného výsledku je dokumentována. Změna je jednoznačně provedena, aby nemohlo dojít k chybné interpretaci. Změny jsou prováděny výjimečně – při zjištění chyby. Pokud je výsledek změněn, je lékař informován o změně výsledků a nový výsledkový list je mu zaslán s novým datem a s informací o změně výsledku. Pokud byl výsledkový list již odeslán, je lékař odpovědným pracovníkem informován. O oznámení se vede záznam.

# Komunikace s laboratoří

#  Vyřizování stížností

Stížnosti vždy řeší nadřízený pracovník (vedoucí laboratoře, vedoucí laboratorního centra, vedoucí laborant). Drobné a jednoduché stížnosti jsou řešeny okamžitě pracovníkem, který je přijal, a v případě potřeby je informován nadřízený. Viz. IOS\_15/2009-5

#  Konzultační činnost laboratoře

O konzultaci lze požádat na všech laboratorních úsecích. Příslušnou informaci podá vždy kompetentní zdravotnický pracovník pro danou problematiku (laborant, VŠ nebo lékař).

Odborné informace jsou poskytovány vedoucím laboratoře.

# Základní informace k prováděným vyšetřením

|  |  |
| --- | --- |
|   | **Tab. Základní informace k prováděným vyšetřením** |
|   |   |   |
|   | **Požadavky na odběr:** | **Formulace výsledků:** |
| zastoupení základních lymfocytárních subpopulací v periferní krvi | Je potřeba minimálně 1 ml periferní krve | Výsledek je vydáván v procentech jednotlivých subpopulací z lymfocytů a v absolutních číslech po přepočtu krevního obrazu s diferenciálním rozpočtem (je-li dostupný). Normy pro jednotlivé subpopulace závisí na věku pacienta. |
| zastoupení lymfocytárních subpopulací v jiných tkáních  | Kostní dřeň minimálně 1 ml | Výsledek je vydáván jako zastoupení lymfocytárních subpopulací v jiných tkáních. |
| Periferní krev minimálně 1 ml |
| Měkké tkáně cca 10 mm x 10 mm x 1 mm |
| Mozkomíšní mok minimálně 0,5 ml |
| Bronchoalveolární laváž minimálně 3 ml |
| Výpotky minimálně 5 ml |
| imunofenotypizace susp. akutních leukémií, myelodysplazií, lymfomů a příbuzných onemocnění | Kostní dřeň minimálně 2 ml | Výsledek je vydáván jako procento z vybrané populace buněk. Součástí výsledku je popis vybrané populace, slovní komentář a definitivní klasifikace nálezu odpovědného pracovníka (VŠ, lékaře). |
| Periferní krev minimálně 1 ml |
| stanovení CD34poz krvetvorných buněk | Periferní krev minimálně 1 mlProdukt aferézy minimálně 400 ul | Výsledek je vydáván jako zastoupení viabilních CD34poz krvetvorných buněk ze všech leukocytů. |
| cytometrická analýza obsahu DNA u maligních onemocnění | Kostní dřeň minimálně 0,5 ml | Výsledek je vydáván jako procento z vybrané populace buněk. Součástí výsledku je popis vybrané populace a její počty, slovní komentář a definitivní klasifikace nálezu odpovědného pracovníka (VŠ, lékaře). |
| Periferní krev minimálně 0,5 ml |
| Měkké tkáně cca 10 mm x 10 mm x 1 mm |
| Mozkomíšní mok minimálně 0,5 ml |
| Bronchoalveolární laváž minimálně 0,5 ml |
| Výpotky minimálně 0,5 ml |
| stanovení PNH klonu erytrocytů, granulocytů, monocytů | Periferní krev minimálně 1 ml | Výsledek je vydáván jako procento suspektního PNH klonu z vybrané populace buněk. U pacientů s prokázáným PNH klonem je staveno v rámci erytrocytů, granulocytů a monocytů rozdělení na typ I, II a III. U jednotlivých antigenů navíc uvádíme procento buněk vybrané populace nesoucích daný antigen. Součástí výsledku je popis vybrané populace, slovní komentář a definitivní klasifikace nálezu odpovědného pracovníka (VŠ, lékaře). |
| stanovení EMA fluorescence | Periferní krev minimálně 0,5 ml | Výsledek je vydávám slovně jako relativní poměr EMA fluorescence pacienta a zdravé kontroly. |
| diagnostika vrozených či sekundárních poruch imunity | Periferní krev minimálně 2 ml | Výsledek je vydáván jako procenta z vybraných populací buněk. Výsledek je vydáván se slovním komentářem a ev. s doporučením následného vyšetření v případě podezření na onemocnění, která další vyšetření vyžadují. |
| laboratorní diagnostika autoimunitního lymfoproliferativního syndromu | Kostní dřeň minimálně 1 ml | Výsledek je vydáván jako procento z vybrané populace buněk. Součástí výsledku je popis vybrané populace, slovní komentář a definitivní klasifikace nálezu odpovědného pracovníka (VŠ, lékaře). |
| Periferní krev minimálně 1 ml |
| Měkké tkáně cca 10 mm x 10 mm x 1 mm |
| Mozkomíšní mok minimálně 0,5 ml |
| Bronchoalveolární laváž minimálně 3 ml |
| Výpotky minimálně 5 ml |
|  |
| Sortování subpopulací u pacientů po transplantaci kostní dřeně, stanovení čistoty frakcí a izolace DNA | Periferní krev minimálně 9 ml | Výsledek je vydáván jako procento z vybrané populace buněk. Součástí výsledku je popis vybrané populace a její počty, slovní komentář a definitivní klasifikace nálezu odpovědného pracovníka (VŠ, lékaře). |
| Exprese CD107a po stimulaci NK buněk buněčnou linií K562 (test degranulace, výzkumné vyšetření, pouze po předchozí domluvě) | Periferní krev minimálně 9 ml | Výsledek je vydáván jako procento z vybrané populace buněk. Součástí výsledku je popis vybrané populace, slovní komentář a definitivní klasifikace nálezu odpovědného pracovníka (VŠ, lékaře). |

**Skladování a doprava:**

Odebraný materiál k vyšetření skladovat při pokojové teplotě (nesmí zmrznout; skladování v lednici není vhodné) a dopravit nejlépe v den odběru, nejdéle 1 den po odběru. U mozkomíšního moku je nutné, aby se do laboratoře dostal do 2 hodin od odebrání. Na žádanku je nutné napsat přesný čas odběru.

**Dostupnost:**

Výsledky pro všechna vyšetření jsou dostupné do 4 pracovních dnů. Výsledky CD34poz buněk jsou vydány v den vyšetření.

# Související předpisy, literatura

* Standardní operační postupy laboratoře CLIP - cytometrie
* Nakládání s odpady ve Fakultní nemocnici v Motole IOS\_23/2005-6
* Organizační řád Fakultní nemocnice v Motole IR\_1/2009-7
* Pracovní řád Fakultní nemocnice v Motole IR\_1/2007-6
* Provozní řád pracoviště Klinika dětské hematologie a onkologie IIIPRP\_KDHO\_54/2009-4
* Zajištění bezpečnosti a ochrany zdraví při práci ve Fakultní nemocnici v Motole IOS\_14/2009-5

# Informovaný souhlas / nesouhlas pacienta (či jeho zástupce)

Veškerá vyšetření jsou prováděna s informovaným souhlasem pacienta (zajišťuje klinický zadavatel).

Pacient je informován o plánovaném diagnostickém nebo léčebném postupu formou informovaného souhlasu (IS). Informovaným souhlasem/nesouhlasem projevuje pacient vůli přijmout nebo nepřijmout navrhovaný léčebný nebo diagnostický výkon (postup) na základě informace poskytnuté lékařem,

zaznamenaný předepsanou formou.

Způsob odebírání informovaného souhlasu, provádění vyšetřovacích a léčebných výkonů bez souhlasu pacienta a formy odebírání informovaného souhlasu upravuje odborná směrnice FN Motol č. IIOS\_10 Informovaný souhlas pacienta. Informované souhlasy/nesouhlasy splňují požadavky této směrnice.

K odebírání informovaného souhlasu/nesouhlasu se v laboratorním centru CLIP používají pouze schválené IS FN Motol, které jsou vedené v Katalogu informovaných souhlasů Právního odboru FN Motol na intranetu FN Motol (jsou dostupné z intranetu FN Motol bud přímo z Právního odboru FN Motol, nebo přes sekci formuláře/formuláře LPP/Informované souhlasy všeobecně platné/ a sekce formuláře/formuláře LPP / Informované souhlasy jednotlivých klinik a oddělení).

Pro externí žadatele služeb jsou informované souhlasy dostupné na webových stránkách CLIP <http://clip.lf2.cuni.cz/> informované souhlasy pacienta.

Nakládání se vzorkem po vyšetření je třeba na žádance vyplnit dle aktuálního informovaného souhlasu pacienta.

**Pokud pacient nesouhlasí s uchováním vzorku, případně jeho dalším využitím pro vědecké účely, je třeba na žádance zaškrtnout příslušnou kolonku**.

Zadávající lékař je odpovědný za přenos správné informace o nakládání se vzorkem pacienta v souladu s informovaným souhlasem.

Laboratoře CLIP dodržují zásady ochrany osobních informací dle směrnice č. IOS 3 „Bezpečnostní politika Fakultní nemocnice v Motole“. Prohlášení všech pracovníků laboratoří CLIP je evidováno ve formuláři F-LMG-7 „Prohlášení pracovníka laboratorního centra CLIP“.

# Rozdělovník

# Seznam řízených výtisků a osoby, kterým jsou jednotlivé výtisky přiděleny

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Výtisk č. | Jméno | Datum převzetí |
| 1 | Manažer kvality CLIP | 30.10.2023 |
| 2 | Internet - elektronicky | 30.10.2023 |
| 3 | Intranet FN Motol - elektronicky | 30.10.2023 |
| 4 | Sdílený disk CLIP - elektronicky | 30.10.2023 |
| 5 | Laboratoř CLIP - cytometrie | 30.10.2023 |

# Seznam oprávněných pracovníků proškolených v dokumentu

viz formulář F-LMG-180 \_ Seznámení s řízenou dokumentací