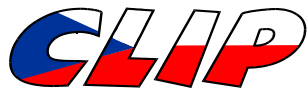


Název dokumentu: Laboratorní příručka	
Název úseku: Laboratorní centrum KDHO, CLIP-molekulární genetik	Identifikace: LP-LMG-1 Verze:6



Laboratorní příručka

název pracoviště

KDHO, CLIP-molekulární genetik

LP-LMG-1

	Zpracoval:	Uvolnil do systému:	Schválil:
Organizační útvar	CLIP – molekulární genetik		CLIP – molekulární genetik
Funkce	Zástupce manažera kvality	Manažer kvality	Vedoucí laboratorního centra
Jméno	RNDr. Leona Rezková Řezníčková	Hana Feixová	Prof. MUDr. Jan Trka Ph.D.

Účinnost laboratorní příručky od: 5.3. 2021

Doba platnosti: bez omezení, revize 1x ročně

Výtisk: 2

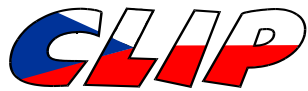
Verze: 6

Počet stran výtisku: 21

Počet příloh: 9

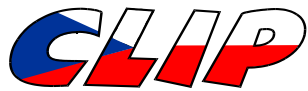
Vazba na akreditační standardy: Požadavky ČSN EN ISO 15189, SAK č. 2, 3, 33,

Umístění podepsaného výtisku: laboratoř 447

Název dokumentu: Laboratorní příručka	
Název úseku: Laboratorní centrum KDHO, CLIP-molekulární genetik	Identifikace: LP-LMG-1 Verze:6

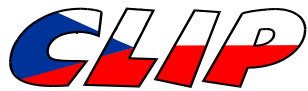
List provedených revizí a změn

Změna č.	Umístění změny	Popis provedené změny	Datum účinnosti	Odpovědná osoba
1	-	Beze změn	1.4. 2013	Ing. Kateřina Mužíková
2	-	Beze změn	1.4.2014	Mgr. Lucie Procházková
3	přílohy	Aktualizace příloh	9.4.2014	Mgr. Lucie Procházková
4	Kap.10	Doplnění textu o kap. 10 Informovaný souhlas/nesouhlas pacienta	9.4.2014	Mgr. Lucie Procházková
5	Str.20	Zásady ochrany osobních informací	10.3.2015	Ing. Jana Březinová
6	Str.5-6	Akreditace ČIA, drobná úprava základní informace o laboratoři	10.3.2015	Ing. Jana Březinová
7	Str.9	Doplnění požadavků na žadance (pohlaví pacienta)	10.3.2015	Ing. Jana Březinová
8	Str. 11	Detailnější popis stability vzorku, zacházení s ním a podmínek skladování a transportu	10.3.2015	Ing. Jana Březinová
9	-	Beze změn	1.3.2016	Ing. Jana Březinová
10	4	Doplnění žádanky MRN Slovensko	1.3.2017	RNDr. Leona Rezková Řezníčková
11	7,8,9	Doplnění označení aktuálního léčebného protokolu INTERIM.	1.3.2017	RNDr. Leona Rezková Řezníčková
12	13,14	Doplnění zabezpečení PDF.dokumentů	1. 3. 2017	RNDr. Leona Rezková Řezníčková
13	-	Beze změn	1. 3. 2018	RNDr. Leona Rezková Řezníčková
14		Beze změn	1.3:2019	RNDr. Leona Rezková Řezníčková
15	4,7,8,9,1 1	Aktualizace žádanek dle nových protokolů. Aktualizace požadavků na do vyšetření vzorků	1. 4. 2019	RNDr. Leona Rezková Řezníčková
16	1,5	Aktualizace MK,	1.3.2020	RNDr. Leona Rezková Řezníčková
17		Aktualizace, specifikace smluvní laboratoře	1.6.2020	RNDr. Leona Rezková Řezníčková
18	1,12	Úvodní strana – doplněno Uvolnil „do SMK“, vymazáno AOP 5, doplněna čísla Souvisejících předpisů, aktualizace: stabilita, doprava	5.3.2021	RNDr. Leona Rezková Řezníčková

Název dokumentu: Laboratorní příručka	
Název úseku: Laboratorní centrum KDHO, CLIP-molekulární genetik	Identifikace: LP-LMG-1 Verze:6

Obsah

1	Úvod	5
2	Informace o laboratoři	5
2.1	Identifikace laboratoře a důležité údaje	5
2.2	Základní informace o laboratoři	5
2.3	Zaměření laboratoře	7
2.4	Organizace laboratoře	7
2.5	Spektrum nabízených služeb	7
3	Manuál pro odběr primárních vzorků	9
3.1	Žádanky (indikace) na vyšetření	9
3.2	Používaný odběrový systém	10
3.3	Příprava pacienta před vyšetřením, odběr vzorku	10
3.4	Identifikace označení primárního vzorku	11
3.5	Ústní a dodatečné požadavky na vyšetření	11
3.6	Požadavky na vyšetření urgentních vzorků	11
3.7	Nezbytné operace se vzorkem, stabilita	12
3.8	Bezpečnostní aspekty při práci se vzorky	12
3.9	Informace k dopravě vzorků	12
3.10	Skladování vyšetřovaných vzorků a dodatečné analýzy	13
4	Preanalytická fáze	13
4.1	Kriteria pro přijetí vzorků	13
4.2	Kriteria k odmítnutí dodaných vzorků	13
4.3	Postup při chybné nebo neúplné identifikaci pacienta na žádance	14
4.4	Postup při chybné identifikaci vzorku	14
5	Postanalytické procesy v laboratoři	14
5.1	Skladování vzorků po vyšetření v laboratoři	14
5.2	Kontrola výsledků	14
6	Vydávání výsledků	14
6.1	Informace o formách výsledků, typy nálezů a laboratorních zpráv	14
6.2	Výsledkový list obsahuje:	15
6.3	Vydávání výsledků přímo pacientům	15
6.4	Telefonické hlášení výsledků	15
6.5	Změny výsledků a nálezů	16
6.6	Hlášení výsledků v kritických intervalech	16

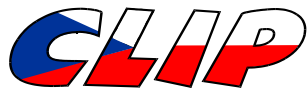
Název dokumentu: Laboratorní příručka	
Název úseku: Laboratorní centrum KDHO, CLIP-molekulární genetik	Identifikace: LP-LMG-1 Verze:6

6.7	Intervaly od dodání vzorku do vydání výsledku	16
7	Komunikace s laboratoří	16
7.1	Vyřizování stížností.....	16
7.2	Konzultační činnost laboratoře.....	17
8	Základní informace k prováděným vyšetřením	17
8.1	Seznam vyšetření.....	17
8.2	Požadavky na odběr.....	18
8.3	Formulace výsledků – rozmezí hodnot.....	18
9	Související předpisy, literatura	20
10	Informovaný souhlas/ nesouhlas pacienta	20
11	Rozdělovník.....	21
11.1	Seznam řízených výtisků a osoby, kterým jsou jednotlivé výtisky přiděleny	21
11.2	Seznam oprávněných pracovníků proškolených v dokumentu je vedeno na formuláři:	21

Přílohy: Žádanka k vyšetření průtokovou cytometrií, REGISTER AML BFM 2012 CZ, Žádanka k vyšetření minimální reziduální nemoci (MRN) u dětských pacientů s ALL (AIEOP-BFM 2017, AEIOP-BFM 2017 Slovensko), Žádanka k vyšetření minimální reziduální nemoci u pacientů před a po transplantaci kmenových buněk krvetvorby, Žádanka k vyšetření reziduální nemoci u pacienta s AML, Žádanka k vyšetření minimální reziduální nemoci (MRN) u pacientů s ALL (GMALL 07/03), Žádanka MRN Slovensko, Žádanka BLINA-CELL, Žádanka EWALL-INO, F-LMG-10 Informované souhlasy, Souhlas s léčbou ALL dětí a dospívajících podle léčebné studie AEIOP-BFM ALL 2017.

Klíčová slova:

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

Název dokumentu: Laboratorní příručka	
Název úseku: Laboratorní centrum KDHO, CLIP-molekulární genetika	Identifikace: LP-LMG-1 Verze:6

1 Úvod

Příručka popisuje pokyny týkající se metod prováděných pro léčebně-diagnostickou péči v laboratoři CLIP- molekulární genetika Laboratorního centra Kliniky dětské hematologie a onkologie. 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 Zdravotnické laboratoře – zvláštní požadavky na kvalitu a způsobilost. Obsah laboratorní příručky byl koncipován v souladu s touto normou. Laboratorní příručka je k dispozici na webových stránkách CLIP- molekulární genetika, kde je pravidelně aktualizována. Doufáme, že tato příručka přispěje ke zkvalitnění naší vzájemné spolupráce.

2 Informace o laboratoři

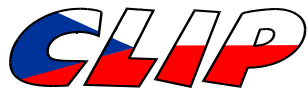
2.1 Identifikace laboratoře a důležité údaje

Laboratoř CLIP-molekulární genetika Kliniky dětské hematologie a onkologie UK 2. LF a FN Motol se nachází ve 2. patře budovy Nové onkologie, která je umístěna v nejvýhodnějším koutu areálu FN Motol. Je součástí Laboratorního centra KDHO a společně s laboratoří CLIP-cytometrie vytváří pracovní skupinu CLIP.

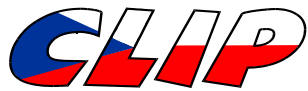
Kromě diagnostické části má laboratoř ještě část výzkumnou, kde pracují převážně postgraduální studenti.

2.2 Základní informace o laboratoři

Název laboratoře	CLIP - molekulární genetika
	Laboratorní centrum Kliniky dětské hematologie a onkologie 2.LF UK a FN Motol
Vedoucí laboratoře	Prof. MUDr. Jan Trka Ph.D.
Úsekový laborant	Daniel Thürner
Manažer/ka kvality	Hana Feixová
Pověřený pracovník pro metrologii	Daniel Thürner

Název dokumentu: Laboratorní příručka	
Název úseku: Laboratorní centrum KDHO, CLIP-molekulární genetik	Identifikace: LP-LMG-1 Verze:6

Kontaktní osoby	Prof. MUDr. Jan Trka Ph.D. Prof. MUDr. Jan Zuna Ph.D. RNDr. Leona Rezková Řezníčková
Adresa – poštovní	CLIP- molekulární genetik, Klinika dětské hematologie a onkologie FN Motol, V Úvalu 84, Praha 5 – Motol, CZ-150 06
Adresa – návštěvní	Budova nové onkologie, roh ulic Weberovy a Roentgenovy, Praha 5, II. patro, dveře 447
Telefonní spojení	pracovna 2 2443 6580 laboratoř 2 2443 6521 Fax: 2 2443 6521
e-mail	jan.trka@lfmotol.cuni.cz jan.zuna@lfmotol.cuni.cz leona.reznickova@lfmotol.cuni.cz
Internetová adresa	http://www.lf2.cuni.cz/clip
Provozní doba	pondělí až pátek od 8:00 do 17:00
Příjem materiálu	v provozní době, mimo provozní dobu po dohodě

Název dokumentu: Laboratorní příručka	
Název úseku: Laboratorní centrum KDHO, CLIP-molekulární genetika	Identifikace: LP-LMG-1 Verze:6

2.3 Zaměření laboratoře

Laboratoř CLIP-molekulární genetika se zabývá diagnostikou a sledováním akutních leukémií na molekulárně genetické úrovni. Stanovuje fúzní geny BCR/ABL, TEL/AML1, PBX1/E2A, TCF3/HLF, TEL/ABL a přestavby genu MLL, jejichž přítomnost stratifikuje pacienty do různých ramen léčebného protokolu. Provádí screening a sledování přítomnosti přestaveb Ig/TCR u pacientů na front line protokolu a dle přítomnosti těchto přestaveb v kostní dřeni v MRD TP1 (D+33), MRD TP2 (W12) léčby provádí stratifikaci pacientů do jednotlivých ramen léčebného protokolu. Sleduje na molekulární úrovni pacienty před a po transplantaci kmenových buněk krvetvorby, stratifikuje pacienty s pozdním relapsem onemocnění k chemoterapii či transplantaci kostní dřene a stanovuje pro KDHO Leidenskou mutaci a mutaci protrombinového genu. Provádí izolace DNA/RNA a kryoprezervaci leukocytů pro následné aplikace. Laboratoř provádí diagnostiku akutních myeloidních leukémií (AML), detekci fúzních genů a mutací u jednotlivých typů AML a sledování minimální reziduální nemoci u těchto pacientů. Laboratoř poskytuje i konzultace.

Mimo činnosti pro léčebně-diagnostickou péči laboratoř provádí široké spektrum vyšetření v rámci řešení molekulárně genetických výzkumných projektů 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy.

2.4 Organizace laboratoře

Laboratoř CLIP-molekulární genetika je součástí Laboratorního centra Kliniky dětské hematologie a onkologie.

Odpovědnou osobou je vedoucí laboratorního centra Prof. MUDr. Jan Trka, Ph.D.

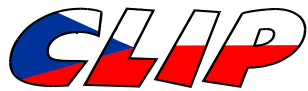
Laboratoř je vybavena pro PCR detekci fúzních genů, Ig/TCR přestaveb a pro jejich kvantifikaci.

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

Příjem materiálu v provozní době, mimo provozní dobu po dohodě

2.5 Spektrum nabízených služeb

Laboratoř CLIP-molekulární genetika diagnostikuje pacienty s akutní lymfoblastickou leukémií, u kterých provádí RNA screening na přítomnost fúzních genů TEL/AML1, mBCR/ABL, MBCR/ABL, TEL/ABL, TCF3/HLF, MLL/AF4, MLL/AF6, MLL/AF9, MLL/AF10, MLL/ENL, MLL/ELL, PBX1/E2A z kostní dřene, periferní krve, mozkomíšního moku případně tkání. Dále provádí screening přestaveb Ig/TCR z kostní dřene dětských pacientů s ALL léčených protokolem AIEOP BFM 2017, dospělých pacientů s ALL léčených protokolem GMALL 07/2003, studie BLINA-CELL, EWALL-INO, tyto přestavby kvantifikuje a dle odběru léčby stratifikuje pacienty do

Název dokumentu: Laboratorní příručka	
Název úseku: Laboratorní centrum KDHO, CLIP-molekulární genetik	Identifikace: LP-LMG-1 Verze:6

jednotlivých ramen léčebného protokolu. Kvantifikaci Ig/TCR přestaveb využívá také k monitorování pacientů s ALL před a po transplantaci kmenových buněk krvetvorby a pacientů, kteří prodělali pozdní relaps onemocnění. Dále provádí vyšetření na přítomnost mutace Protrombinového genu a Leidenské mutace u dětí s akutními leukémiemi, dětských onkologických pacientů a pacientů s jinými hematologickými onemocněními. Provádí kvantifikaci fúzních genů BCR/ABL, TEL/ABL a přestaveb genu MLL u pacientů s ALL a AML před a po transplantaci kmenových buněk krvetvorby, izolaci nukleových kyselin a kryoprezervaci vzorků. U akutní myeloidní leukémie (AML) provádíme vyšetření přítomnosti fúzních genů a genových mutací a to všech, které hrají roli v rizikové stratifikaci pacientů a/nebo jsou rozhodující pro genetickou klasifikaci AML. Fúzní geny, které se u AML vyskytují nejčastěji, vyšetřujeme pomocí PCR, vzácnější fúzní geny pomocí sekvenování celého transkriptomu. Genové mutace vyšetřujeme pomocí cíleného (tzv. panelového) sekvenování nové generace.

RNA screening, screening přestaveb genu MLL, kvantifikace genu BCR/ABLa TEL/ABL jsou prováděny dvakrát týdně, a to v úterý a ve čtvrtek. Výsledky jsou k dispozici následující den.

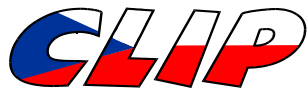
Vyšetření Leidenské mutace a mutace protrombinového genu, kryoprezervace vzorků a izolace DNA jsou dostupná během celého pracovního týdne a celé pracovní doby.

Screening Ig/TCR přestaveb je prováděn během celého pracovního týdne u každého pacienta, kterému byla nově diagnostikována ALL a který se bude léčit dle léčebného protokolu AIEOP BFM 2017, protokolem GMALL 07/2003, BLINA-CELL, EWALL-INO a dále u každého pacienta s relapsem ALL. Nejsou-li žádné přestavby Ig/TCR nalezeny, je tato skutečnost oznámena formou tištěného výsledku do centra, které léčí daného pacienta. V případě, že přestavby Ig/TCR nalezeny byly, jsou změřeny příslušné časové body a vydán výsledek MRN.

Kvantifikace Ig/TCR přestaveb se provádí během celého pracovního týdne u každého pacienta s ALL, dále u pacientů, kteří podstoupili transplantaci kmenových buněk krvetvorby a také u pacientů s relapsem ALL.

Akutní myeloidní leukémie

Vyšetření přítomnosti fúzních genů a genových mutací je prováděn během celého pracovního týdne u každého pacienta, kterému byla nově diagnostikována AML. O přítomnosti či nepřítomnosti fúzních genů a genových mutací je vydán výsledek.

Název dokumentu: Laboratorní příručka	
Název úseku: Laboratorní centrum KDHO, CLIP-molekulární genetik	Identifikace: LP-LMG-1 Verze:6

3 Manuál pro odběr primárních vzorků

Pracoviště a externí pracovníci provádějící přípravu pacienta nebo odběry vzorku mají být seznámeni s touto příručkou (laboratorní příručkou) pro odběry primárních vzorků. Laboratorní příručka je trvale k dispozici v elektronické podobě na webových stránkách Laboratorního centra CLIP nebo v papírové podobě v laboratoři 447. Rozsah vyšetření prováděných v laboratoři je průběžně aktualizován v souladu s rozvojem medicínských znalostí a formou nabídky laboratorních vyšetření dává na vědomí svým klinickým partnerům (lůžkovým i ambulantním zařízením), spolu s požadavky na způsob odběru biologického materiálu.

Laboratoř přijímá vzorky periferní krve, kostní dřeně, mozkomíšního moku případně tkání. Příjem biologického materiálu: Biologický materiál je odeslán do laboratoře CLIP-cytometrie umístěné v budově nové onkologie a radioterapie, 2. patře, dveře 417 a je doprovázen žádankou.

3.1 Žádanky (indikace) na vyšetření

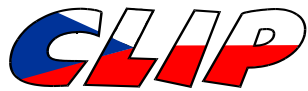
Vzorky jsou přijímány pouze tehdy, mají-li řádnou žádanku vydanou naší laboratoří (Žádanka AIEOP BFM 2017, žádanka AEIOP BFM 2017 Slovensko, žádanka GMALL 07/2003, žádanka WT1, žádanka bodové mutace, žádanka cytometrická vyšetření, žádanka HSCT, žádanka BLINA-CELL, žádanka EWALL-INO, AML žádanka,), která je řádně vyplněna identifikačními údaji o pacientovi, kde jsou vyplněny požadavky na vyšetření a která je identifikace lékaře. Všechny aktuální žádanky jsou dostupné na webových stránkách CLIP ([Dokumenty | CLIP - Childhood Leukaemia Investigation Prague \(cuni.cz\)](#)).

Jinou než vlastní žádanku laboratoře 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 a datum narození, u azylantů též číslo povolení k pobytu.

Základní identifikační znaky požadované na žádance:

- příjmení, jméno a pohlaví pacienta
- rodné číslo pacienta (číslo pojištěnce)
- kód pojišťovny pacienta
- základní a eventuálně další diagnózy pacienta
- datum, časový bod odběru v průběhu léčby (čas odběru je-li relevantní)
- identifikace zadavatele – název zařízení, oddělení, jméno lékaře, IČP, odbornost,

Název dokumentu: Laboratorní příručka	
Název úseku: Laboratorní centrum KDHO, CLIP-molekulární genetiky	Identifikace: LP-LMG-1 Verze:6

- kontakt na zadavatele – adresa, telefon – pokud není na razítku
- vypsaná nebo zaškrtnutá požadovaná vyšetření – vyšetření je indikováno lékařem laboratoře, vyplývá z nalezených genetických markerů každého jednotlivého pacienta
- druh biologického materiálu
- datum přijetí vzorku do laboratoře
- souhlas/nesouhlas s uchováním biolog. materiálu a využití biolog. mat. k vědeckým účelům.

Nepovinné, fakultativní údaje:

- na žádance lze uvést doplňující klinické informace týkající se pacienta a vyšetření (pro interpretační účely).
- nezbytné je na žádance zřetelně uvést telefonní číslo pro případné upřesnění.

Po přezkoumání údajů na žádance, 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.

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

3.2 Používaný odběrový systém

Periferní krev (PB): nesrážlivá krev do zkumavek s K₂ EDTA, Na₃Citrát či ACD roztoku běžně používaných ve FN Motol pro hematologická vyšetření. Minimální objem 1,0 ml, optimálně >2 ml.

Kostní dřev (BM): obdobně.

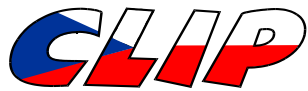
Mozkomíšni mok: minimální objem 500 mikrolitrů.

Ostatní biologický materiál: dle dohody s laboratoří.

Krev nesmí být odebrána do jiného antikoagulačního činidla než EDTA, Na₃Citrátu, ACD roztoku zejména ne do heparinu.

3.3 Příprava pacienta před vyšetřením, odběr vzorku

Vzorky materiálu lze odebrat v kteroukoli denní dobu, bez vztahu k jídlu, medikaci atd. Pro vyšetření Leidenské mutace/ mutace Protrombinového genu by pacient neměl mít počet leukocytů v periferní krvi nižší než $2 \times 10^9/l$.

Název dokumentu: Laboratorní příručka	
Název úseku: Laboratorní centrum KDHO, CLIP-molekulární genetik	Identifikace: LP-LMG-1 Verze:6

Pokud 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 v této laboratorní příručce. Tuto instrukci zadavatel vyšetření předává transportní službě.

3.3.1 Vliv infuzní terapie – odběr nejdříve hodinu po infuzi

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 zámekem 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 katetr infúze.

3.3.2. Odběry z centrálních katétrů a kanyl

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

3.4 Identifikace označení primárního vzorku

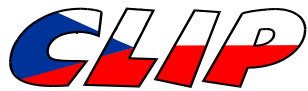
Ke zpracování budou přijaty jen vzorky, které jsou jednoznačně identifikovány štítkem tak, že je bezpečně vyloučena záměna s jinými vzorky, kde bude vyznačen druh biologického materiálu, a které jsou provázeny řádně vyplněnou žádankou.

3.5 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.

3.6 Požadavky na vyšetření urgentních vzorků

Statimová vyšetření nejsou laboratoří CLIP-molekulární genetik prováděna.

Název dokumentu: Laboratorní příručka	
Název úseku: Laboratorní centrum KDHO, CLIP-molekulární genetik	Identifikace: LP-LMG-1 Verze:6

3.7 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 zmraznout.**

3.8 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 je důvodem k odmítnutí vzorku. Vzorky jsou přepravovány tak, aby během přepravy vzorku do laboratoře nemohlo dojít k rozlití, potřísnění biologickým materiálem nebo jinému znehodnocení vzorku. Pozor, zvláště u pacientů po transplantacích jsou přítomna četná infekční agens, která nejsou nepřímými metodami 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.

3.9 Informace k dopravě vzorků

Vzorek je třeba doručit do laboratoře CLIP-cytometrie, do budovy nové onkologie a radioterapie, 2. patra, dveře 417 optimálně do 1 dne od odběru. Vzorek je do té doby možno skladovat při laboratorní teplotě. 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 zmraznout! Přeprava na ledu není vhodná. Do doby transportu je vzorek možno skladovat při pokojové teplotě; skladování v lednici není vhodné; vzorek nikdy nesmí zmraznout. **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:**

10-25°C

Doprava při pokojové teplotě!

Adresa:

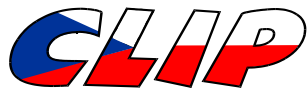
FN Motol, Budova č. 23 („Nová onkologie“)

Samostatný vjezd z ulice Roentgenova

CLIP - Laboratoř průtokové cytometrie

Příjem vzorků: 2. patro

(adresa ředitelství: V Úvalu 84, 150 06 Praha 5)

Název dokumentu: Laboratorní příručka	
Název úseku: Laboratorní centrum KDHO, CLIP-molekulární genetika	Identifikace: LP-LMG-1 Verze:6

3.10 Skladování vyšetřovaných vzorků a dodatečné analýzy

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, kryoprezervované buňky, periferní krev upravená pro vyšetření Leidenské mutace a mutace protrombinového genu jsou skladovány v laboratoři CLIP-molekulární genetika na dobu neurčitou.

Materiál je skladován v -20°C, -80°C a tekutém dusíku.

4 Preanalytická fáze

Vzorky kostní dřeň, periferní krve, mozkomíšního moku příp. tkání jsou přijímány v 2. patře, v laboratoři CLIP-cytometrie, dveře 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.

4.1 Kriteria pro přijetí vzorků

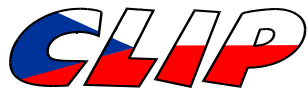
Nezbytnou identifikaci biologického materiálu před přidělením laboratorního čísla (kódu vzorku) tvoří jméno, příjmení pacienta a rodné číslo, jinak bude materiál odmítnut. Každému vzorku je přidělen kód, který se skládá z řady čísel a písmen.

4.2 Kritéria k odmítnutí dodaných vzorků

Odmítnout lze:

- žádanku s biologickým materiálem, na které chybí nebo jsou nečitelné základní údaje (rodné číslo, příjmení a jméno, základní diagnóza) a není možné je doplnit na základě dotazu ošetřujícímu pracovišti
- biologický materiál bez žádanky;
- zkumavku s biologickým materiálem, kde není způsob identifikace materiálu z hlediska nezaměnitelnosti dostatečný
- zkumavku 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.

Název dokumentu: Laboratorní příručka	
Název úseku: Laboratorní centrum KDHO, CLIP-molekulární genetik	Identifikace: LP-LMG-1 Verze:6

Pracovník přejímající takové vzorky o tomto neprodleně informuje vedoucího laboratoře. Výše uvedené skutečnosti budou zaznamenány v komentáři k výsledkům.

4.3 Postup při chybné nebo neúplné identifikaci pacienta na žádance

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 neshod.

4.4 Postup při chybné identifikaci vzorku

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 neshod.

5 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).

5.1 Skladování vzorků po vyšetření v laboratoři

Není-li uvedeno jinak, řídí se požadavky ke skladování pokyny pro stabilitu materiálu v jednotlivých standardních operačních postupech pro laboratorní vyšetření.

Do doby analýzy během se biologický materiál skladuje tak, aby se zabránilo znehodnocení, rozlítí, kontaminaci, přímému vlivu slunečního záření, tepla. Viz. kap. 3.10

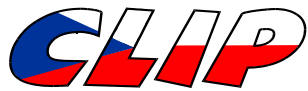
5.2 Kontrola výsledků

Po provedení analýz jsou výsledky zapsány či převedeny do LIS, v nichž jsou po kontrole odpovědným pracovníkem (podepsaný výsledek lékařem laboratoře + uložení výsledku v pdf formátu na sdílený disk kliniky, popř. odeslání výsledku v zabezpečeném pdf formátu elektronickou poštou pro pracoviště mimo FN Motol) uvolněny v nemocničním informačním systému pro ošetřujícího lékaře (v rámci pracoviště). Mimo laboratoř je tedy zobrazitelný pouze zkontrolovaný (uvolněný) výsledek. Všechny výsledky jsou v laboratoři dostupné archivovány.

6 Vydávání výsledků

6.1 Informace o formách výsledků, typy nálezů a laboratorních zpráv

Výsledky závěrem jsou uvolňovány a interpretovány odpovědným pracovníkem. Po kontrole a podepsání výsledku pracovníkem oprávněným k uvolňování výsledků, podepsání pracovníkem, který

Název dokumentu: Laboratorní příručka	
Název úseku: Laboratorní centrum KDHO, CLIP-molekulární genetik	Identifikace: LP-LMG-1 Verze:6

požadované vyšetření prováděl a datem vydání výsledku jsou výsledky uvolňovány v papírové podobě. V rámci kliniky jsou výsledky dostupné na zabezpečeném serveru kliniky a externím pracovištím jsou dostupné v papírové podobě. Výsledky je možné posílat na externí pracoviště v zabezpečené elektronické formě. Odpovědný pracovník laboratoře odpovídá na telefonické dotazy a interpretuje výsledky požadovaných vyšetření.

Výsledky jsou interpretovány a uvolňovány odpovědným pracovníkem. Tištěné výsledky rozesíláme na jednotlivá 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 žádank dle směrnic FN Motol. Kopie výsledků ukládáme na sdílený disk FN Motol.

Kopie výsledků jsou archivovány elektronicky a v papírové podobě po dobu 5 let.

6.2 Výsledkový list obsahuje:

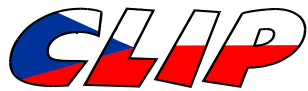
- název laboratoře, která výsledek vydala
- jednoznačnou identifikaci pacienta (jméno, příjmení, rodné číslo pacienta /číslo pojištěnce/datum narození)
- název oddělení a jméno lékaře požadujícího vyšetření, telefonní kontakt
- datum odběru primárního vzorku
- datum přijetí primárního vzorku laboratoří
- 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
- identifikaci osoby, která autorizovala uvolnění nálezu
- počet stran z celkového počtu

6.3 Vydávání výsledků přímo pacientům

Laboratoř nevydává výsledky pacientům.

6.4 Telefonické hlášení výsledků

Naše laboratoř výsledky telefonicky nesdílí.

Název dokumentu: Laboratorní příručka	
Název úseku: Laboratorní centrum KDHO, CLIP-molekulární genetika	Identifikace: LP-LMG-1 Verze:6

6.5 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.

6.6 Hlášení výsledků v kritických intervalech

Molekulárně genetická vyšetření, která se provádí v laboratoři CLIP-molekulární genetika, nemají žádné kritické intervaly.

6.7 Intervaly od dodání vzorku do vydání výsledku

Vzorky pro běžný provoz jsou ihned po přijetí zpracovány do fáze zamražení leukocytů a takto připraveny k následným analýzám (viz oddíl Popis nabízených služeb). Vzorky na izolaci DNA a vzorky určené ke kryoprezervaci jsou ihned zpracovány a DNA/leukocyty jsou skladovány na dobu neurčitou v $-20^{\circ}\text{C}/-80^{\circ}\text{C}$ /tekutém dusíku. V případě potřeby jsou vydány indikujícímu lékaři k dalším potřebným vyšetřením prováděných většinou v jiných/zahraničních laboratořích, kam jsou transportovány dle pokynů těchto laboratoří.

Běžná vyšetření (RNA, RNA – screening, kvantifikace fúzních genů BCR/ABL, PBX1/E2A, TEL/AML1, MLL/AF4, TCF3/HLF a další MLL přestavby) jsou prováděna většinou dvakrát týdně, zpravidla úterý a ve čtvrtek, výsledky jsou známy během středy, resp. pátku. Vyšetření MRN pomocí Ig/TCR real-time PCR je prováděno v průběhu celého týdne a výsledek je vydáván do 5 pracovních dnů.

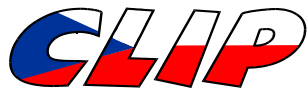
7 Komunikace s laboratoří

7.1 Vyřizování stížností

Stížnosti vždy řeší nadřízený pracovník (vedoucí laboratorního centra CLIP, úsekový laborant).

Drobné a jednoduché stížnosti jsou řešeny okamžitě pracovníkem, který je přijal a v případě potřeby je poté informován nadřízený.

Postup pro řešení stížností je uveden v organizační směrnici [č. ISM_15 Vyřizování stížností, oznámení a podnětů](#).

Název dokumentu: Laboratorní příručka	
Název úseku: Laboratorní centrum KDHO, CLIP-molekulární genetik	Identifikace: LP-LMG-1 Verze:6

7.2 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.

Konzultace v laboratoři CLIP-molekulární genetik provádí lékaři laboratoře: Prof. MUDr. Jan Trka Ph.D., Prof. MUDr. Jan Zuna Ph.D., doc. MUDr. Eva Froňková Ph.D.

8 Základní informace k prováděným vyšetřením

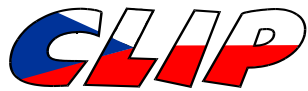
8.1 Seznam vyšetření

- RNA screening (vyšetření na přítomnost fúzních genů mBCR/ABL, MBCR/ABL, TEL/AML1, MLL/AF4, PBX1/E2A, TEL/ABL, TCF3/HLF)
- MLL screening (vyšetření na přítomnost přestaveb MLL genu – MLL/AF4, MLL/AF6, MLL/AF9, MLL/AF10, MLL/ENL, MLL/ELL)
- kvantifikace fúzního genu mBCR/ABL
- kvantifikace fúzního genu MBCR/ABL
- kvantifikace fúzního genu TEL/ABL
- Leidenská mutace
- mutace Protrombinového genu
- kryoprezervace vitálních leukocytů
- izolace nukleových kyselin (DNA, RNA)
- vyšetření MRN pomocí Ig/TCR real-time PCR (RQ-PCR)
- Screening přestaveb Ig/TCR/vyšetření klonality (metodou NGS)
- vyšetření přítomnosti fúzních genů a genových mutací u AML

8.1.1. Vyšetření na přítomnost minimální reziduální nemoci RQ-PCR na úrovni DNA pomocí klonálních přestaveb Ig/TCR - SOPm_01

Součástí vyšetření minimální reziduální nemoci (MRN) pomocí RQ-PCR na úrovni DNA pomocí klonálních přestaveb Ig/TCR – SOPm_01 jsou:

- izolace DNA
- vyšetření klonality (Ig/TCR screening metodou NGS)
- vyšetření MRN pomocí Ig/TCR real-time PCR (RQ-PCR)

Název dokumentu: Laboratorní příručka	
Název úseku: Laboratorní centrum KDHO, CLIP-molekulární genetik	Identifikace: LP-LMG-1 Verze:6

8.2 Požadavky na odběr

Periferní krev: nesrážlivá krev do zkumavek s K₂ EDTA, Na3Citrát či ACD roztoku běžně používaných ve FN Motol pro hematologická vyšetření. Minimální objem 1,0 ml, optimálně >2 ml.

Kostní dřeň: obdobně.

Mozkomíšni mok: minimální objem 500 mikrolitrů.

Ostatní biologický materiál: dle dohody s laboratoří.

Krev nesmí být odebrána do jiného antikoagulačního činidla než EDTA, Na3Citrátu, ACD roztoku zejména ne do heparinu.

Skladování a doprava: odebraný materiál k vyšetření skladovat při pokojové teplotě a dopravit do jednoho dne od odběru.

Dostupnost: u všech výše uvedených vyšetření je dostupnost do 5 pracovních dnů

8.3 Formulace výsledků – rozmezí hodnot

RNA screening (vyšetření na přítomnost fúzních genů mBCR/ABL, MBCR/ABL, TEL/AML1, MLL/AF4, PBX1/E2A, TCF3/HLF)

Výsledek je vydáván : **Je přítomen fúzní gen mBCR/ABL nebo MBCR/ABL nebo TEL/AML1 nebo MLL/AF4 nebo PBX1/E2A nebo TEL/ABL nebo TCF3/HLF.**

V případě negativního výsledku: **Žádný z vyšetřovaných fúzních genů není přítomen.**

MLL screening (vyšetření na přítomnost přestaveb MLL genu – MLL/AF4, MLL/AF6, MLL/AF9, MLL/AF10, MLL/ENL, MLL/ELL)

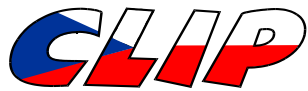
Výsledek je vydáván: **Je přítomen fúzní gen MLL/AF4 nebo MLL/AF6 nebo MLL/AF9 nebo MLL/AF10 nebo MLL/ENL nebo MLL/ELL**

V případě negativního výsledku: **Žádný z vyšetřovaných fúzních genů není přítomen.**

Kvantifikace fúzního genu mBCR/ABL

Výsledek je vydáván jako počet kopií mBCR/ABL fúzního genu na 10⁶ kopií kontrolního genu. V případě nulových hodnot je výsledek vydáván jako „negativní“. V případě, že hodnoty vyšetřovaného vzorku jsou nenulové, ale dosahují hodnot, které jsou pod citlivostí metodiky, jsou vydávány pouze jako „pozitivní“.

Kvantifikace fúzního genu MBCR/ABL

Název dokumentu: Laboratorní příručka	
Název úseku: Laboratorní centrum KDHO, CLIP-molekulární genetik	Identifikace: LP-LMG-1 Verze:6

Výsledek je vydáván jako počet kopií MBCR/ABL fúzního genu na 10^6 kopií kontrolního genu. V případě nulových hodnot je výsledek vydáván jako „negativní“. V případě, že hodnoty vyšetřovaného vzorku jsou nenulové, ale dosahují hodnot, které jsou pod citlivostí metodiky, jsou vydávány pouze jako „pozitivní“.

Kvantifikace fúzního genu TEL/ABL

Výsledek je vydáván jako množství exprese TEL/ABL fúzního genu na 10^6 kopií kontrolního genu vztaženého k expresi fúzního genu při diagnóze. V případě nulových hodnot je výsledek vydáván jako „negativní“. V případě, že hodnoty vyšetřovaného vzorku jsou nenulové, ale dosahují hodnot, které jsou pod citlivostí metodiky, jsou vydávány pouze jako „pozitivní“.

Leidenská mutace

V případě, že je přítomna bodová mutace (Leidenská mutace) v homozygotní nebo heterozygotní formě je vydán výsledek:

Je přítomna heterozygotní forma Leidenské mutace faktoru V.

Je přítomna homozygotní forma Leidenské mutace faktoru V.

V případě, že Leidenská mutace není přítomna je vydán výsledek:

Leidenská mutace faktoru V není přítomna.

Mutace Protrombinového genu

V případě, že je přítomna bodová mutace (mutace protrombinového genu) v homozygotní nebo heterozygotní formě je vydán výsledek:

Je přítomna heterozygotní forma mutace protrombinového genu.

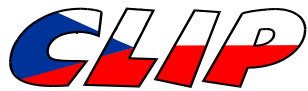
Je přítomna homozygotní forma mutace protrombinového genu.

V případě, že mutace protrombinového genu není přítomna, je vydán výsledek:

Mutace protrombinového genu není přítomna

Vyšetření MRN pomocí Ig/TCR , MLL genu, fúzních genů/mutací u AML, real-time PCR

V případě pozitivního výsledku je vydávána hodnota hladiny MRN, která je softwaerově odečtena z kalibrační křivky systému pacienta. V případě, že hodnota výsledku leží mimo kvantitativní rozmezí

Název dokumentu: Laboratorní příručka	
Název úseku: Laboratorní centrum KDHO, CLIP-molekulární genetiky	Identifikace: LP-LMG-1 Verze:6

systému nebo je pozitivní pouze 1 nebo 2 vzorky z triplikátu je výsledek vydáván pouze jako **pozitivní**. V případě negativního výsledku je výsledek formulován jako **negativní**.

Vyšetření klonality (Ig/TCR screening)

Nejsou-li žádné přestavby Ig/TCR nalezeny je výsledek formulován jako „Nebyly nalezeny žádné přestavby“. V případě, že přestavby Ig/TCR nalezeny byly, se výsledek oznámí výsledkem vyšetření MRN pomocí Ig/TCR real-time PCR dané přestavby.

Kryoprezervace živých leukocytů

V tomto případě není vydáván žádný výsledek. Biologický materiál je zpracován do příslušné fáze a je kryoprezervován pro následná vyšetření.

Izolace nukleových kyselin (DNA,RNA)

V tomto případě není vydáván žádný výsledek. Biologický materiál je zpracován do příslušné fáze a je kryoprezervován pro následná vyšetření.

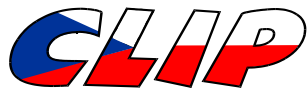
9 Související předpisy, literatura

- Standardní operační postupy laboratoře CLIP-molekulární genetiky
- 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: S odběrem za účelem genetické analýzy IS_0742

10 Informovaný souhlas/ nesouhlas pacienta

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.

Název dokumentu: Laboratorní příručka	
Název úseku: Laboratorní centrum KDHO, CLIP-molekulární genetik	Identifikace: LP-LMG-1 Verze:6

Způsob odebrání informovaného souhlasu, provádění vyšetřovacích a léčebných výkonů bez souhlasu pacienta a formy odebrání informovaného souhlasu upravuje odborná směrnice FN Motol č. IIOS_10 Informovaný souhlas pacienta. Informované souhlasy/nesouhlasy splňují požadavky této směrnice.

K odebrání informovaného souhlasu/nesouhlasu se v 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 buď 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 žadance vyplnit dle aktuálního informovaného souhlasu pacienta.

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

Zadávací lékař je zodpovědný za přenos správné informace o nakládání se vzorku 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“.

11 Rozdělovník

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

Výtisk č.	Jméno	Datum převzetí	Podpis
1	Manažer kvality CLIP	5.3.2021	
2	Internet - elektronicky	5.3.2021	
3	Intranet FN Motol - elektronicky	5.3.2021	
4	Sdílený disk CLIP - elektronicky	5.3.2021	

11.2 Seznam oprávněných pracovníků proškolených v dokumentu je vedeno na formuláři: F-LMG-180.