

Fakultní nemocnice Brno Interní hematologická klinika Centrum molekulární biologie a genetiky	
---	--

Manuál pro odběry primárních vzorků
--

	Jméno	Podpis	
Vypracoval:	Mgr. Lukáš Tichý, Ph.D.		Vydání: 3
Přezkoumal	Doc. RNDr. Lenka Fajkusová, CSc.		Revize: 0
Schválil:	Prof. RNDr. Šárka Pospíšilová, PhD.		Platí od: 1.9.2020

Níže podepsaní zaměstnanci stvrzují svým podpisem, že byli seznámeni s obsahem dokumentu a obsah v plném rozsahu pochopili a budou se jím ve své práci řídit.

Jméno	Datum	Podpis
všichni zaměstnanci CMBG	2014	elektronicky
Všichni zaměstnanci CMBG	2020	elektronicky

Fakultní nemocnice Brno Interní hematoonkologická klinika Centrum molekulární biologie a genetiky	
---	--

Manuál pro odběry primárních vzorků

1. Základní informace

Centrum molekulární biologie a genetiky (CMBG) jako laboratorní pracoviště nedisponuje odběrovým místem pro žádný typ analyzovaného materiálu. Konkrétní postupy odběru jsou tedy v plné kompetenci požadujících zařízení. Tato pracoviště jsou pouze povinna přihlídnout k specifikám, která odběr zejména některých speciálních materiálů vyžadují.

Laboratorní příručka CMBG je k dispozici na našich webových stránkách (www.cmbgt.cz). Spektrum nabízených vyšetření je uveden v kapitole F laboratorní příručky.

2. Požadavkové listy (žádanky), informované souhlasy pacienta

Aktuální verze žádanek a informovaných souhlasů pacienta jsou k dispozici na internetových stránkách Centra molekulární biologie a genetiky (www.cmbgt.cz).

Zadavatel je povinen na žadance přesně specifikovat druh jím požadovaného vyšetření. V případě nutnosti může vyplnit časovou naléhavost vyšetření. Tato pak musí být vyplněna vždy, jedná-li se o vyšetření urgentní.

Dále jsou povinnými údaji na žadance:

- ✚ Identifikační údaje pacienta: jméno a příjmení pacienta, rodné (v případě cizích státních příslušníků identifikační) číslo a kód pacientovy diagnózy dle MKN10 (Mezinárodní statistická klasifikace nemocí a přidružených zdravotních problémů).
- ✚ Identifikace zdravotní pojišťovny.
- ✚ Název subjektu, oddělení, kontaktní adresa, telefonický kontakt a IČP požadujícího pracoviště. Dále jméno lékaře (popř. jiné osoby oprávněné požadovat vyšetření), razítko pracoviště a podpis lékaře (popř. jiné osoby oprávněné požadovat vyšetření).
- ✚ Informace týkající se odebraného biologického materiálu: datum a čas odběru (tam, kde je to žádoucí), typ odebraného biologického materiálu a anatomickou specifikaci místa odběru, je-li to vhodné.
- ✚ Pokud je to opodstatněné tak i doplňkové informace: tj. další upřesňující údaje (např. aktuální léčba, klinický stav), optimálně uváděné v kolonce pro poznámku.

Odběrové nádoby s biologickým materiálem musí být rovněž označeny:

- ✚ Identifikačními údaji pacienta: jméno a příjmení pacienta, rodné (identifikační) číslo, případně rok narození pacienta.
- ✚ Informací o materiálu: typ materiálu a datum odběru.

Odebraný biologický materiál je po transportu přejímán pracovníky laboratoře CMBG, kde proběhne vizuální kontrola kvality vzorku a dále prověření shody mezi vzorkem a přiloženou žádankou.

Postup laboratoře při nesprávné identifikaci biologického materiálu

Při nedostatečné identifikaci pacienta z hlediska nezaměnitelnosti biologického materiálu **se analýza neprovádí**. Odesílající subjekt obdrží informaci o odmítnutí nesprávně identifikovaného biologického materiálu.

Pokud je takovýto vzorek dodán a jedná se o **nenahraditelný vzorek**, laboratoř tento vzorek vyšetří, ale výsledek bude uvolněn pouze tehdy, když požadující lékař

Fakultní nemocnice Brno Interní hematoonkologická klinika Centrum molekulární biologie a genetiky	
---	--

Manuál pro odběry primárních vzorků

(pracoviště) převezme plnou odpovědnost za identifikaci dodaného vzorku. Pracovník příjmu uvede na žádance tuto okolnost, která je pak přenesena do výsledkové zprávy.

Všechny případné změny související s identifikací vzorku a údajů o pacientovi jsou náležitě dokumentovány se jmenovitým vypsáním kdo, kdy a proč změnu provedl. Dokumentace o dodatečných změnách je řazena k žádankám o vyšetření nebo jsou tyto údaje zaznamenány přímo na žádanku.

Postup laboratoře při nesprávně nebo neúplně vyplněné žádance (s výjimkou údajů z předchozí kap.)

Pokud je k dispozici údaj o odesílajícím lékaři a základní identifikace nemocného, laboratoř doplní chybějící údaje po telefonické domluvě. Záznam o doplnění údajů bude proveden přímo na žádanku a bude obsahovat minimálně údaje o datu a času doplnění, kontaktující a kontaktované osobě. Pokud laboratoř zasílá neúplnou žádanku k doplnění zpět na odesílající pracoviště, odpovědný pracovník původní nekompletní žádanku okopíruje a kopie se ponechá do doby, než bude zpět doručena žádanka kompletní. Laboratoř se snaží, aby vzorek pacienta s neúplně nebo nesprávně vyplněnou žádankou mohl být zpracován.

Pokud je k dispozici základní identifikace nemocného, ale nejsou k dispozici identifikační údaje požadujícího lékaře/pracoviště, laboratoř tento vzorek zpracuje do stádia, kdy je možné bezpečné a stabilní skladování vzorku pro případnou analýzu a vyčká, zda nebude některým z požadujících pracovišť vznesen dotaz na výsledky vyšetření. Pokud bude takovýto dotaz vznesen, je požadující pracoviště (lékař) povinen zaslat novou žádanku se všemi potřebnými údaji. V okamžiku kdy bude tato žádanka v laboratoři k dispozici, laboratoř analýzu dokončí.

Pokud by výše zmíněný dotaz nebyl vznesen ve lhůtě 3 kalendářních měsíců od data doručení vzorku do laboratoře, bude vzorek zlikvidován a původní žádanka trvale archivována.

Pokud by charakter vzorku neumožňoval jeho stabilní skladování po tuto lhůtu, nebo pokud se bude jednat o vzorek nenahraditelný, laboratoř vyšetření provede a žádanku spolu s výsledkem vyšetření archivuje do doby, než bude vznesen dotaz na výsledek.

Není-li k dispozici údaj o odesílajícím lékaři a základní identifikace nemocného, materiál se neanalyzuje, žádanka se trvale archivuje.

CMBG akceptuje informované souhlasy jiných pracovišť. Jejich kopii je však nutno vždy dodat spolu s žádankou pro dané vyšetření (s výjimkou laboratoře průtokové cytometrie). Oficiální informované souhlasy našeho pracoviště jsou k dispozici na našich webových stránkách www.cmbgt.cz.

Pravidla pro nasmlouvání a úhradu vyjmenovaných metod autorské odbornosti 816 – laboratoř lékařské genetiky

VZP ČR, SZP ČR a Česká společnost lékařské genetiky a genomiky ČLS JEP se dohodly na vytvoření VZP-výkonů/balíčků pro vybrané diagnózy molekulární genetiky, včetně podmínek a pravidel pro jejich provádění: „Pravidla pro nasmlouvání a vykazování – rok 2018“ - účinnost od 1. 1. 2019. Dle těchto pravidel vyšetření germinálního genomu indikuje ošetřující lékař pacienta odbornosti 208, event. odbornosti dle <https://www.vzp.cz/poskytovatele/informace-pro-praxi/vykazovani-a-uhrady/informace-pro-poskytovatele-hrazenych-sluzeb-v-odbornosti-816-laborator-lekarske-genetiky> - stratifikace odb. 816, a to na základě řádně zdokumentovaného klinického vyšetření (tj. vyšetření spojeného s fyzickou přítomností pacienta v ordinaci).

Fakultní nemocnice Brno Interní hematoonkologická klinika Centrum molekulární biologie a genetiky	
---	--

Manuál pro odběry primárních vzorků

Indikovanou a provedenou specifikovanou péčí v odbornosti 816 – laboratoř lékařské genetiky lze vykazovat výhradně pod příslušnými diagnózami a VZP-výkony/balíčky (viz <https://www.vzp.cz/poskytovatele/informace-pro-praxi/vykazovani-a-uhrady/informace-pro-poskytovatele-hrazenych-sluzeb-v-odbornosti-816-laborator-lekarske-genetiky> - stratifikace odb. 816).

Tyto výkony/balíčky budou provedeny pouze v případě, pokud budou indikovány lékařem požadované odbornosti dle stratifikace odbornosti 816 a výhradně pod příslušnými diagnózami.

Pokud nebudou splněna pravidla stratifikace odbornosti 816, tzn. požadovaná odbornost indikujícího lékaře a příslušná diagnóza pro indikované vyšetření, bude vyšetření po izolaci DNA pozastaveno až do doby, kdy budou tato pravidla splněna. Od této doby pak bude počítána doba odezvy.

V případě neodpovídající diagnózy k požadovanému vyšetření bude indikující lékař kontaktován pracovníky laboratoří (osobně, telefonicky, písemně) a požádán o nápravu.

Informovaný souhlas / nesouhlas pacienta

Všechna genetická vyšetření zárodečného genomu se provádí pouze s informovaným souhlasem pacienta/zákonného zástupce. Výjimku tvoří vyšetření v rámci novorozeneckého screeningu cystické fibrózy, který se řídí dle Věstníku ministerstva zdravotnictví 6/2009 str. 7 – 14, čl. 1, bod 3 a 4. Výjimku tvoří i cytogenetická analýza periferních lymfocytů (CAPL) při skupinovém hodnocení v rámci preventivních prohlídek u osob exponovaných mutagenům v zaměstnání.

Informovaným souhlasem/nesouhlasem projevuje pacient vůli přijmout nebo nepřijmout navrhovaný diagnostický výkon (postup) na základě informace poskytnuté lékařem, zaznamenaný předepsanou formou.

Jsou používány následující formuláře:

- souhlas vyšetřované/ho (zákonného zástupce) s genetickým laboratorním vyšetřením
- nesouhlas vyšetřované/ho (zákonného zástupce) s genetickým laboratorním vyšetřením (negativní revers)

Vzory formulářů jsou dostupné na webových stránkách:

<http://www.fnbrno.cz/oddeleni-lekarske-genetiky/k1479>

3. Požadavky na urgentní vyšetření

V případě, že lékař či žadatel o vyšetření požaduje urgentní vyšetření biologického materiálu, využije stejné žádanky jako pro ostatní běžná vyšetření a zřetelně je označí červeným textem **STATIM** nebo se na žadance zaškrtně příslušné políčko, je-li k dispozici (pro účely laboratoří CMBG je toto označení ekvivalentní s označením URGENTNÍ VZOREK) (viz také kap. C-2 laboratorní příručky). Materiál s takto označenou žádankou bude **přednostně** zpracován.

Pověřený pracovník příjmu biologického materiálu přednostně provede kontrolu a identifikaci vzorku a žádanky tak, aby mohl být vzorek přednostně zpracován, zapíše datum a čas převzetí, zanese údaje o vzorku do informačního systému a provede kroky nezbytné k tomu, aby následná analýza mohla proběhnout v nejkratším možném čase.

Fakultní nemocnice Brno Interní hematologická klinika Centrum molekulární biologie a genetiky	
---	--

Manuál pro odběry primárních vzorků

4. Ústní požadavky na vyšetření

Telefonické požadavky na opakovaná či dodatečná vyšetření lze dodatečně provést ze vzorků již do laboratoře dodaných při dodržení následujících pravidel:

- ✚ Dodatečná vyšetření lze telefonicky přibjedenat. Tam, kde je to žádoucí je však třeba zaslat informovaný souhlas pacienta s tímto dodatečným vyšetřením.
- ✚ Dodatečná vyšetření lze u některých diagnostik provádět s určitým omezením, které je dáno druhem nukleové kyseliny, která byla z dodaného materiálu vyizolována pro potřeby předchozí diagnostiky (viz kapitola F - Abecední seznam laboratorních vyšetření).

5. Používaný odběrový systém

Laboratoř CMBG nedisponuje odběrovou místností. Materiál pro vyšetření (tj. izolaci nukleových kyselin a jejich následnou analýzu) je odebírán v příslušných ambulancích, specializovaných odběrových centrech nebo na lůžkových odděleních požadujících pracovišť. Odběrový systém je plně v kompetenci požadujícího pracoviště. Požadující pracoviště také přebírá plnou odpovědnost za nevhodně zvolený odběrový systém pro daný typ vyšetření. Vzhledem k velkému spektru a specifičnosti řady zpracovávaných materiálů je požadující pracoviště povinno zvolit takový odběrový systém, který dokáže v pořádku uchovat příslušnou nukleovou kyselinu až do doby jejího zpracování laboratoří. Nároky kladené na materiál, jeho odběr a přepravu jsou uvedena vždy u konkrétního vyšetření v kapitole F této příručky.

Laboratoř může vyšetřit i již na jiných kooperujících pracovištích (např. FN Motol, ÚHKT, FN Olomouc, atd.) připravené buněčné lyzáty nebo izoláty nukleových kyselin. V takovýchto případech však CMBG neručí za neanalytickou fázi vyšetření.

6. Příprava pacienta před vyšetřením

Většina vzorků zpracovávaných laboratoří neklade na přípravu pacienta žádné nároky. Některé speciální vzorky jsou odebírány na lůžkových odděleních požadujících pracovišť, kde se o přípravu pacienta před odběrem odborně postará obsluhující personál a ošetřující lékař. Pokud materiál vyžaduje speciální přípravu pacienta před odběrem, je toto dostatečně zdůrazněno v části F laboratorní příručky u konkrétních stanovení.

Poučení pacienta o přípravě k odběru biologického materiálu a rozhodnutí o možném vysazení terapie provádí ošetřující lékař nebo zdravotní sestra.

7. Odběr vzorku, typ a množství vzorku

V této kapitole je uveden abecední seznam biologických vzorků, které laboratoř CMBG zpracovává. Pod typem materiálu je vždy uvedeno, které z pracovních sekcí z daného materiálu provádí některá ze svých vyšetření. Následný text je věnován krátkému popisu materiálu, odběru a jeho množství. Pokud některé z pracovních sekcí mají speciální požadavky pro tento typ materiálu, jsou tyto požadavky uvedeny pod popisnou částí.

Pro část biologických materiálů je na odběrových nádobkách zřetelně vyznačeno optimální odebírané množství. Podstatné nedodržení odebíraného objemu, způsobené

Fakultní nemocnice Brno Interní hematoonkologická klinika Centrum molekulární biologie a genetiky	
---	--

Manuál pro odběry primárních vzorků

například vadnou technikou odběru, či technickou závadou materiálu může být důvodem k neprovedení vyšetření.

Amniocentéza

Sekce: Vrozených genetických chorob
Screeningu genetických onemocnění

Jedná se o transabdominální průnik punkční jehly do amniální dutiny za současně ultrazvukové kontroly. Minimální odebrané množství potřebné pro vyšetření je 10 ml, optimum je 15-20 ml. Kultivace materiálu se pohybuje mezi 10 – 20 dny podle množství a typu amniocytů, které jsou následně použity k izolaci DNA.

Transabdominální amniocentéza je prováděna po 15. týdnu gravidity, nejčastěji v období mezi 16.-18. týdnem. Za fyziologického stavu jde o slabě nažloutlou řídkou tekutinu. Patologické stavy plodové vody jsou signalizovány změnou barvy (červená – poranění placenty, tmavě hnědá – starší krvácení nebo odumření plodu, zelená – intrauterinní dechová tíseň).

Biopsie choria

Sekce: Vrozených genetických chorob
Screeningu genetických onemocnění

Pod ultrazvukovou kontrolou se zavádí odběrová jehla transabdominálně nebo transcervikálně do choriové plotny a pod tlakem se nasává shluk klků (chorionic villus sampling – CVS). Odebrané choriové klky jsou vloženy do mikrozskumavky a do izolace DNA skladovány v chladicím zařízení při teplotě 4 – 9 °C.

CVS je možné provádět od ukončeného 10. týdne gravidity. DNA analýza z CVS se vyznačuje rizikem falešné positivity výsledku, jelikož při odběru choriových klků dochází často ke kontaminaci mateřskou krví. Případnou kontaminaci je do určité míry možné potlačit kultivací choriových klků.

Bronchoalveolární laváž (BAL)

Sekce: Oportunních infekcí

Odběr BAL je indikován u pacientů s plicním postižením s možností infekční etiologie. Objem odebíraného materiálu by měl být 5 - 10 ml z promíchané lavážní tekutiny. Materiál by měl být následně uložen a transportován při teplotě 4°C.

Sekce: Průtokové cytometrie

Materiál je při pokojové teplotě nestabilní! BAL frakce II v objemu 10 ml a více ihned transportovat do laboratoře nebo nutno skladovat při 4 – 8°C a odeslat do 4 hod. Současně s BAL je třeba dodat vzorek periferní krve v EDTA (3ml) odebraný tentýž den.

Bukální stěr

Sekce: Nádorové genomiky a lymfoproliferativních onemocnění
Sekce myeloidních malignit a solidních tumorů
Screeningu genetických onemocnění

Bukální stěr je využíván pro neinvazivní odběr genetického materiálu pro testování patologických variant v DNA pacientů event. v případech, kde je potřeba nenádorová tkáň onkologických pacientů pro potvrzení/vyvrácení germinálního původu konkrétních

Fakultní nemocnice Brno Interní hematologická klinika Centrum molekulární biologie a genetiky	
---	--

Manuál pro odběry primárních vzorků

nalezených mutací. Stěr se provádí z bukalní sliznice pacienta tak, aby nedošlo ke kontaminaci krví pacienta. Stěrka se posléze vloží do sterilní zkumavky a transportuje se při pokojové teplotě ještě týž den do laboratoře.

DNA

Sekce: Myeloidních malignit a solidních tumorů
 Oportunních infekcí
 Vrozených genetických onemocnění
 Nádorové genomiky a lymfoproliferativních onemocnění
 Screeningu genetických onemocnění

Ke genetickému vyšetření je vhodné dodat DNA rozpuštěnou např. v TE pufru (roztok chránící DNA před degradací) v takovém poměru, aby konečné množství DNA ve vzorku bylo minimálně 5000 ng. DNA vyizolovaná z různých materiálů je skladována krátkodobě (dny) při 4°C a dlouhodobě (týdny – měsíce) při -20°C. V případě zaslání vyizolované DNA CMBG neručí za preanalytickou fázi.

Kostní dřeň

Sekce: Myeloidních malignit a solidních tumorů
 Nádorové genomiky a lymfoproliferativních onemocnění
 Průtokové cytometrie
 Cytogenomiky
 Screeningu genetických onemocnění

Odběr materiálu je prováděn z hrudní kosti nebo plochých kostí. Doporučován je odběr 2-4 ml kostní dřeně do zkumavky s protisrážlivým činidlem EDTA. **Pro vyšetření průtokovou cytometrií nesmí být vzorek kostní dřeně starší 24h.**

Pro cytogenetické účely je **nutné provést odběr do heparinu!!!**

Likvor (mozkomíšní mok)

Sekce: Myeloidních malignit a solidních tumorů
 Oportunních infekcí
 Průtokové cytometrie

Likvor je nejčastěji získáván tzv. lumbální punkcí, tj. napíchnutím páteřního kanálu v bederní oblasti pacienta. Optimální je odběr 1-3 ml tekutiny do sterilní zkumavky bez aditiv.

Moč

Sekce: Oportunních infekcí
 Vyšetření moči je indikováno u pacientů po alogenní transplantaci při makroskopické hematurii či dysuriích jinak nevysvětlitelných. Požadovaný odběr materiálu je 5 ml moči do sterilní zkumavky.

Nasofaryngeální stěr

Sekce: Oportunních infekcí

Fakultní nemocnice Brno Interní hematologická klinika Centrum molekulární biologie a genetiky	
---	--

Manuál pro odběry primárních vzorků

Je indikován pouze u vyšetření respiračních virů. Stěr se provádí sterilním tampónem ze zadní stěny nosohltanu tak, aby bylo seřeno co nejvíce epiteliálních buněk. Je nutné se vyhnout mandlím. Tampon vložíme do sterilní zkumavky s fyziologickým roztokem. Druhým tamponem vytřeme obě nosní dírký a vložíme do téže zkumavky. Tento materiál se pak co nejrychleji transportujeme do laboratoře. Transportujeme v chladícím boxu při teplotě 4°C.

Periferní krev

Sekce: Myeloidních malignit a solidních tumorů
 Oportunních infekcí
 Vrozených genetických onemocnění
 Nádorové genomiky a lymfoproliferativních onemocnění
 Průtokové cytometrie
 Cytogenomická
 Screeningu genetických onemocnění

Odběr periferní krve je prováděn z periferní žíly, nejlépe uzavřeným odběrovým systémem do sterilní náběrové zkumavky (sterilita nutná z hlediska absence RNáz při izolaci RNA). Doporučován je odběr do 10 ml zkumavek obsahujících protisrážlivé činidlo (standardně EDTA, event. citrát, pro **molekulárně genetická vyšetření a pro vyšetření průtokovou cytometrií je heparin nežádoucí, pro vyšetření cytogenetická je heparin vyžadován**).

Pupečnicková (fetální) krev

Sekce: Screeningu genetických onemocnění

Kordocentéza (CC, punkce pupečníku) je invazivní metoda využívaná v rámci prenatalní diagnostiky. Vyšetření lze provádět obecně od 18. gestačního týdne. Punkce pupečníku a odběr fetální krve z pupečnickové vény se provádí speciální jehlou pod ultrazvukovou kontrolu. Získané krevní elementy (lymfocyty plodu) lze užít pro molekulárně genetické a cytogenetické vyšetření. Pro molekulárně genetické vyšetření je fetální krev odebrána do zkumavky s EDTA, množství odebrané pupečnickové krve je 1–3 ml. Pro kultivaie na karyotyp a vyšetření FISH je 10ml fetální krve odebráno do zkumavky s Lithium Heparinem.

Periferní krev pro izolaci volné fetální DNA

Sekce: Screeningu genetických onemocnění

Pro molekulárně genetické vyšetření je periferní krev matky odebrána do zkumavky s EDTA, množství odebrané pupečnickové krve je 9ml. Transport vzorku do laboratoře do 3 hod po odběru.

Separované PBSC

Sekce: Průtokové cytometrie
 Myeloidních malignit a solidních tumorů

Fakultní nemocnice Brno Interní hematologická klinika Centrum molekulární biologie a genetiky	
---	--

Manuál pro odběry primárních vzorků

Sekce průtokové cytometrie: Analýza CD34⁺ buněk z PBSC je stěžejním vyšetřením pro hodnocení kvality transplantátu i indikací jeho odběru technikou leukaferézy. PBSC odebrané do zkumavky s EDTA nebo citrátem.

Sekce myeloidních malignit a solidních tumorů: Hodnocení přítomnosti/absence nádorových buněk v transplantátu v případě autologní transplantace PBSC po indikaci lékařem.

Sputum

Sekce: Oportunních infekcí

Odběr sputa je indikován u imunokompromitovaných pacientů s plicním postižením s možností infekční etiologie při kontraindikaci provedení BAL. Objem odebraného materiálu by měl být 200 µl až 2 ml.

Stěr

Sekce: Oportunních infekcí

Indikací k odběru tohoto materiálu je orofaryngeální mukositida, slizniční afekty dutiny ústní, opar na rtu či slizniční defekty genitální oblasti. Odběr se provádí štětičkou krouživým pohybem z afekce tak, aby se střelo co nejvíce epiteliálních buněk. Poté se štětička vkládá do sterilní zkumavky s fyziologickým roztokem, tak aby došlo k úplnému ponoření.

Suché krevní skvrny

Sekce: Screeningu genetických onemocnění

K odběru krve pro účely řádného i opakovaného novorozeneckého screeningu slouží speciální screeningové karty Guthrieho kartičky (FTA karty). V České republice jsou laboratorní vyšetření optimalizovány pro použití karet typu Whatmann 903 se 4 krevními skvrnami - ø1 cm.

Kruhy vyznačené na testovací kartičce musí být plně prosáknuty (viditelně z přední a zadní strany kartičky). Před transportem nechat uschnout při pokojové teplotě (nesmí schnout nad zdrojem tepla).

Tkáň fixovaná

Sekce: Myeloidních malignit a solidních tumorů
Oportunních infekcí

Jedná se o vzorek odebraný pro histologická vyšetření nebo vzorek získaný při autopsii. Nejčastěji se jedná o tkáň fixovanou formaldehydem a zalitou v parafínu (FFPE).

Sekce oportunních infekcí: vyšetření je indikováno zejména pro objasnění etiologie infekčního procesu ve tkáni, nejčastěji původce invazivní mykotické infekce. Vhodným vzorkem pro molekulárně biologické vyšetření je několik řezů (minimálně 3) z parafinového bločku, který obsahuje vzorek postižené tkáně. Řezy je nutné vložit na sucho do sterilní mikrozkuavky a zaslat na pracoviště. Materiál nemá speciální požadavky na transportní podmínky.

Tkáň nativní (biopsie)

Sekce: Myeloidních malignit a solidních tumorů
Oportunních infekcí

Fakultní nemocnice Brno Interní hematologická klinika Centrum molekulární biologie a genetiky	
---	--

Manuál pro odběry primárních vzorků

Vrozených genetických onemocnění
 Nádorové genomiky a lymfoproliferativních onemocnění
 Průtokové cytometrie
 Screeningu genetických onemocnění

Vzorek tkáně je odebírán za sterilních podmínek do sterilní odběrové nádoby (s fyziologickým roztokem, nasucho, do RNA lateru, -případně speciálním fixačním činidlem). Sekce oportunních infekcí: vyšetření je indikováno u imunokompromitovaných pacientů s ložiskovým procesem (plíce, játra, slezina,...). Část odebrané tkáně je nutné vložit nasucho do sterilní zkumavky.

Sekce vrozených genetických onemocnění: vzorek tkáně (10-50 mg) je odebírán za sterilních podmínek do sterilní odběrové nádoby s roztokem RNAlater® (QIAGEN). Po odběru je vzorek uložen při teplotě 4°C po dobu 24 hodin a následně se uchovává při teplotě -20°C do izolace RNA.

Sekce myeloidních malignit a solidních tumorů: vzorek tkáně je odebírán za sterilních podmínek a prudce zamražen vhozením do tekutého dusíku (šokové zamražení), po odběru je vzorek transportován v prostředí suchého ledu nebo v tekutém dusíku a následně uchováván při teplotě minimálně -70°C do izolace RNA. Případně je možné vzorek tkáně odebírat za sterilních podmínek do sterilní odběrové nádoby s roztokem RNAlater® (QIAGEN). Po odběru je vzorek uložen při teplotě 4°C po dobu 24 hodin a následně se uchovává při teplotě -20°C do izolace RNA.

Sekce screeningu genetických onemocnění: vzorek tkáně je odebírán za sterilních podmínek do sterilní odběrové nádoby s roztokem RNAlater® (QIAGEN) nebo ihned po odběru zmražen v tekutém dusíku, množství odebrané tkáně: fragment tkáně 5 mm.

Sekce Průtokové cytometrie:

Vzorek tkáně je odebírán do odběrové nádoby s fyziologickým roztokem. Ihned transportovat nebo uchovávat při 4 – 8°C max. 4 hodiny.

Výpotek

Sekce: Průtoková cytometrie

Odběr do zkumavky v objemu min. 0,2 ml. Zaslát co nejdříve do laboratoře. Stabilita max. 6 hodin.

8. Nezbytné operace se vzorkem, stabilita

Potřebné informace jsou uvedeny v předchozí kapitole u jednotlivých typů materiálu. Pokud některé z prováděných vyšetření vyžaduje speciální operace s primárním materiálem nebo pokud by se jednalo o případy, kdy by mohla být ohrožena stabilita vzorku, je toto dostatečně zdůrazněno v kapitole F laboratorní příručky u konkrétních vyšetření.

9. Základní informace k bezpečnosti při práci se vzorky

Každý vzorek biologického materiálu je považován za potenciálně infekční, proto je nutné zamezit možnému kontaktu pacientů i veřejnosti s biologickým materiálem po odběru. Svoz vzorků je zajišťován v uzavřených transportních nádobách tak, aby během transportu nedošlo k jeho rozlítí nebo jinému znehodnocení, nedošlo ke kontaminaci osob nebo dopravních prostředků použitých k přepravě. Vzorky by měly být umístěny ve stojánku nebo

Fakultní nemocnice Brno Interní hematologická klinika Centrum molekulární biologie a genetiky	
---	--

Manuál pro odběry primárních vzorků

zabezpečeny v přepravním kontejneru. V případě rozlití je třeba se řídit platnými zásadami dezinfekce a dekontaminace. Potřísnění vnější strany zkumavky nebo žádanky biologickým materiálem může být důvodem odmítnutí příjmu vzorku do laboratoře.

10. Informace k dopravě vzorků

Transport biologických vzorků do laboratoře by měl být uskutečněn co možná nejdříve po odběru, tj. s minimální časovou prodlevou. Transport materiálu do laboratoře zajišťuje zadavatel a tento za něj také zodpovídá.

V případě, kdy doba od náběru materiálu do předání laboratoři CMBG nepřesáhne 3 hodiny, není ve většině případů nutno materiál transportovat za zvláštních podmínek (specificky v kapitole F laboratorní příručky). Pouze je nutno dbát na to, aby vzorek biologického materiálu nebyl vystaven zahřátí (sluncem, držením v ruce, apod.) nebo mrazu v zimních měsících. Je-li doba od náběru po předání delší než 3 hodiny, je optimální vzorek transportovat při 4°C (v nádobách k tomu určených).

Laboratoř CMBG přijímá i vzorky biologického materiálu došlé poštou. Vzhledem k tomu, že během takového typu přepravy není ani laboratoř ani požadující pracoviště schopno zaručit bezchybnou preanalytickou fázi, zříká se laboratoř předem zodpovědnosti za kvalitu došlého materiálu. U hodnocení výsledků vyšetření získaných z takového materiálu je třeba brát v úvahu nestandardní transport do laboratoře. Veškerou zodpovědnost za tyto komplikace přebírá požadující pracoviště. U vzorků došlých poštou bude tato skutečnost zaznamenána na žádance spolu s datem a podpisem osoby, která vzorky přebrala.

11. Informace o zajišťovaném svozu vzorků

CMBG svoz vzorků nezajišťuje.