
 NÁRODNÝ ÚSTAV DETSKÝCH CHORÔB Limbová 1, 833 40 Bratislava		Vydal: Laboratórium klinickej a molekulovej genetiky Detskej kliniky LFUK a NÚDCH
Označenie dokumentu	IP 14	Verzia/revízia: 3/0
Názov dokumentu	Laboratórna príručka	Strana 1 z 9

1. Informácie o laboratóriu

Laboratórium klinickej a molekulovej genetiky Detskej kliniky Lekárskej fakulty Univerzity Komenského (LFUK) a Národného ústavu detských chorôb (NÚDCH) (ďalej len laboratórium) bolo zriadené v roku 1996 za účelom zavedenia špeciálnych genetických vyšetrení v rámci diagnostiky vybraných dedičných chorôb u detí a dospelých na Slovensku a ich implementácie do klinickej praxe. Laboratórium pokračuje v tomto trende dodnes a poskytuje vysokošpecializovanú molekulovú diagnostiku vybraných ochorení najmä pre potreby detských pacientov hospitalizovaných v NÚDCH v Bratislave a pre externých žiadateľov. Súčasné personálne, prístrojové a priestorové vybavenie laboratória umožňuje poskytovať najvyššiu možnú kvalitu a spoľahlivosť výsledkov molekulovo-genetických vyšetrení. Laboratórium sa pravidelne zúčastňuje na externom hodnotení kvality za účelom zabezpečenia stálej kvality laboratórných výsledkov.

Významným poslaním laboratória je aj výskum a diagnostika rôznych foriem zriedkavých genetických ochorení. Laboratórium sa v tejto oblasti aktívne zapája do realizácie mnohých domácich a medzinárodných vedecko-výskumných projektov s cieľom zlepšiť poznatky o patogenéze zriedkavých ochorení za účelom vývoja inovatívnych spôsobov liečby. S podporou sponzorov a grantových projektov zabezpečuje dostupnosť molekulovej diagnostiky zriedkavých genetických ochorení nielen pre Slovenskú republiku ale i jednotlivé krajiny Európy. Pracovníci laboratória majú bohaté skúsenosti s genetickým a klinickým výskumom. Za posledných niekoľko rokov boli zodpovednými riešiteľmi a spoluriešiteľmi viacerých výskumných úloh v rámci grantov APVV, VEGA, MZ SR a grantov Univerzity Komenského. Výstupy z týchto projektov sú publikované vo vysoko impaktovaných karentovaných i recenzovaných časopisoch.

Unikátne spojenie výskumnej činnosti a rutinej diagnostiky vytvára z laboratória špecializované pracovisko umožňujúce implementovať diagnostiku zriedkavých ochorení priamo do klinickej praxe a zabezpečiť tak dostupnosť ich diagnostiky na Slovensku.

 NÁRODNÝ ÚSTAV DETSKÝCH CHORÔB Limbová 1, 833 40 Bratislava		Vydal: Laboratórium klinickej a molekulovej genetiky Detskej kliniky LFUK a NÚDCH
Označenie dokumentu	IP 14	Verzia/revízia: 3/0
Názov dokumentu	Laboratórna príručka	Strana 2 z 9

1.2. Umiestnenie laboratória a identifikačné údaje


Laboratórium vykonáva svoju činnosť v stálych priestoroch na 2. poschodí bloku C v budove NÚDCH so sídlom na Limbovej ulici č.1 v Bratislave. Svojim zameraním predstavuje molekulovo-genetické pracovisko, ktoré poskytuje genetickú diagnostiku vybraných ochorení.

Identifikačné údaje:

Laboratórium klinickej a molekulovej genetiky Detskej kliniky LFUK a NÚDCH	
Kontaktné údaje	Limbová 1, 833 40 Bratislava poschodie blok C
Vedúci laboratória a odborný garant	RNDr. Katarína Skalická, PhD., MPH tel: +421 2 / 593 71 162 email: katarina.skalicka@nudch.eu
Manažér kvality	RNDr. Slavka Požgayová tel: +421 2 / 593 71 873 email: slavka.pozgayova@nudch.eu
Web	http://www.detskaklinika.sk/
Príjem biologického materiálu	Andrea Jendeková tel: +421 2 / 593 71 681
Hlásenie výsledkov	tel: +421 2 / 593 71 162, +421 2 / 593 71 299
Prevádzka laboratória	pondelok – piatok od 7:00 do 15:00 hod

2. Poskytované vyšetrenia

Zoznam poskytovaných vyšetrení je na žiadanke, ktorá sa nachádza na webovej stránke laboratória. Pracovisko má v súčasnosti zavedené všetky molekulové techniky potrebné na realizáciu genetických vyšetrení (izolácia DNA, PCR, real-time PCR, fluorescenčná PCR, elektroforetická separácia na agarózovom a polyakrylamidovom géli, elektroforetická

 NÁRODNÝ ÚSTAV DETSKÝCH CHORÔB Limbová 1, 833 40 Bratislava		Vydal: Laboratórium klinickej a molekulovej genetiky Detskej kliniky LFUK a NÚDCH
Označenie dokumentu	IP 14	Verzia/revízia: 3/0
Názov dokumentu	Laboratórna príručka	Strana 3 z 9

separácia na čipe, metódy detekcie genetických variantov metódami sekvenovania DNA Sangerovou metódou, ako aj sekvenovania novej generácie).

2. Predanalytické procesy

2.1. Požiadavky na odber a transport vyšetrovacieho materiálu


Správny odber biologického materiálu je jedným z významných faktorov, ktoré ovplyvňujú kvalitu genetického vyšetrenia. Odber biologického materiálu vykonávajú kvalifikovaní pracovníci podľa platných štandardov. **Laboratórium prijíma biologický materiál v pondelok až v piatok v čase od 7:00 do 15:00.** Pokyny pre odber a prepravu biologických materiálov určených k molekulovo-genetickému vyšetreniu je nasledovný.

Periférna krv

Odber: Periférna krv na molekulovo-genetické vyšetrenie sa odoberá do skúmavky s antikoagulantom K₃EDTA. Ihneď po odbere je nutné skúmavku s krvou premiešať opatrným otáčaním skúmavky 8 až 10-krát, aby sa zabránilo tvorbe zrazenín. K štandardnému genetickému vyšetreniu odporúčame odobrať 1 ml krvi.

Odber krvi na genetické vyšetrenie je možné uskutočniť počas celého dňa nakoľko nie je nutné vykonať odber nalačno. Odporúčame ho však realizovať v ranných hodinách z dôvodu rýchleho transportu materiálu do genetického laboratória. Krv určená na molekulovo-genetické vyšetrenie nesmie byť zamrznutá nakoľko dochádza k výraznému zníženiu extrahovaného množstva DNA.

Podmienky transportu: Biologický materiál je možné odoslať do laboratória prepravnou spoločnosťou alebo poštou bez potreby chladenia, avšak len v prípade doručenia do 48 maximálne 72 hodín. Vplyv teplotných podmienok skladovania na kvalitu izolovanej DNA z periférnej krvi bol experimentálne stanovený. V prípade transportu materiálu v rámci NÚDCH Bratislava je možné materiál s vyplnenou žiadankou doručiť priamo do laboratória (2. poschodie, blok C).

 NÁRODNÝ ÚSTAV DETSKÝCH CHORÔB Limbová 1, 833 40 Bratislava		Vydal: Laboratórium klinickej a molekulovej genetiky Detskej kliniky LFUK a NÚDCH
Označenie dokumentu	IP 14	Verzia/revízia: 3/0
Názov dokumentu	Laboratórna príručka	Strana 4 z 9

Kostná dreň

Odber: Kostná dreň sa odoberá do sterilnej skúmavky s antikoagulantom K₃EDTA. Túto skúmavku je potrebné ihneď po odbere opatrne premiešať otáčaním skúmavky a do transportu uchovať pri teplote 2-8°C.

Uchovávanie počas transportu: Odobratý materiál je potrebné transportovať v termoizolačnom obale pri teplote 2-8°C.

Bukálny ster


Odber: Odber je nutné vykonať nalačno, najmenej pol hodinu pred odberom nič nejst' a nepiť. Na odber je potrebné použiť sterilnú odberovú súpravu obsahujúcu tyčinku s vatovým tampónom. Počas odberu sa vatovou tyčinkou stiera povrch vnútornej strany líc opakovanými pohybmi hore a dolu a súčasným točením tyčinky aspoň 10-krát tak aby bol celý povrch vatového tampónu pokrytý sterom. Po odbere je potrebné tyčinku s odobratým materiálom poriadne vysušiť pri izbovej teplote minimálne jednu hodinu. Umiestnenie nedostatočne vysušenej vatovej tyčinky do odberovej skúmavky môže viesť k znehodnoteniu materiálu na molekulovo-genetické vyšetrenie.

Podmienky transportu: Odobratý materiál je možné transportovať bez potreby chladenia.

2.2. Označenie vzorky a vyplnenie žiadanky na genetické vyšetrenie

Každý materiál musí byť jednoznačne označený menom a priezviskom pacienta a rokom jeho narodenia.

Žiadanka o vyšetrenie musí obsahovať meno a priezvisko pacienta, rodné číslo (v prípade, že ide o pacienta bez rodného čísla alebo sa jedná o poistenca, ktorý má preukaz európskeho poistenca, resp. nemá poistenie v SR, je potrebné k žiadanke zaslať kópiu preukazu poistenca a uviesť dátum narodenia a pohlavie), označenie zdravotnej poisťovne pacienta, medzinárodný kód diagnózy, odtlačok pečiatky, kód a podpis odosielajúceho lekára, druh primárnej vzorky, požadované vyšetrenia a ďalšie potrebné údaje (klinické údaje, dátum a čas odberu a pod.). V prípade potreby je potrebné uviesť bydlisko, kontakt na pacienta. Na

 NÁRODNÝ ÚSTAV DETSKÝCH CHORÔB Limbová 1, 833 40 Bratislava		Vydal: Laboratórium klinickej a molekulovej genetiky Detskej kliniky LFUK a NÚDCH
Označenie dokumentu	IP 14	Verzia/revízia: 3/0
Názov dokumentu	Laboratórna príručka	Strana 5 z 9

žiadanke musí byť podpísaný informovaný súhlas pacienta, resp. zákonného zástupcu o oboznámení sa so spôsobom a účelom genetického vyšetrenia.


Žiadanky na rutinné genetické vyšetrenia a genetické vyšetrenia zriedkavých chorôb sú uvedené na webovej stránke laboratória.

2.3. Kritéria vyradenia vzoriek na analýzu

Prijatý biologický materiál na vyšetrenie môže byť z analýzy vyradený v prípadoch zvýšeného rizika ohrozenia správnosti a spoľahlivosti výsledkov. Informácia o vyradení vzorky z procesu analýzy a dôvod jej vylúčenia sa oznámia lekárovi telefonicky a v prípade vydania výsledkového listu formou komentáru na ňom. Dôvodom odmietnutia je:

- chýbajúce alebo nečitateľné údaje dôležité na identifikáciu vzorky uvedené na žiadanke alebo odbernej nádobe
- absencia priloženej žiadanky
- nesúhlas údajov na odberovej skúmavke a žiadanke
- viditeľné znehodnotenie materiálu v odberovej skúmavke nesprávnym odberom, transportom alebo uchovávaním
- kontaminácia žiadanky alebo vonkajšej strany odberovej skúmavky biologickým materiálom.
- nedodržanie časového limitu pre doručenie materiálu 72 hodín.

V prípade nezahody v základných identifikačných údajoch na žiadanke a odberovej skúmavke pracovník laboratória ihneď kontaktuje žiadateľa o genetické vyšetrenie a žiada o uskutočnenie nápravy a opakovaný odber. V prípade neadekvátne vyplnenej žiadanky, pracovník laboratória vyzve žiadateľa o doplnenie potrebných údajov zaslaním novej žiadanky. Ak je materiál v odberovej skúmavke odoslaný bez žiadanky ku genetickému vyšetreniu, pracovník laboratória na základe telefonického dohovoru s odosielajúcim lekárom, prípadne iným zodpovedným pracovníkom žiada o zaslanie žiadanky. Do času jej dodania je materiál uchovávaný v chladničke. V prípade prijatia žiadanky bez odberového materiálu, pracovník laboratória odmietne prijatie žiadanky a kontaktuje odosielajúceho lekára so žiadosťou o dodanie chýbajúceho materiálu. Ak je materiál dodaný v stave, ktorý neumožňuje

 NÁRODNÝ ÚSTAV DETSKÝCH CHORÔB Limbová 1, 833 40 Bratislava		Vydal: Laboratórium klinickej a molekulovej genetiky Detskej kliniky LFUK a NÚDCH
Označenie dokumentu	IP 14	Verzia/revízia: 3/0
Názov dokumentu	Laboratórna príručka	Strana 6 z 9

štandardné spracovanie (porušený obal odberovej skúmavky, vyliatie fixačného roztoku, nedodržaný odporúčaný čas dodania materiálu a pod.), pracovník laboratória kontaktuje odosielajúceho lekára so žiadosťou o zaslanie nového materiálu.

2.4. Žiadosť o dodatočné genetické vyšetrenie z archivovaného materiálu

V prípade potreby uskutočnenia ďalších genetických vyšetrení z archivovanej vzorky nukleovej kyseliny je potrebné o danej skutočnosti vopred kontaktovať pracovníkov laboratória za účelom overenia dostatočnej kvantity potrebného vyšetrovacieho materiálu. V prípade že množstvo vyšetrovacieho materiálu je dostatočné, indikujúci lekár zašle žiadanú o genetické vyšetrenie pričom ako vyšetrovací materiál uvedie archivovaná vzorka DNA. V opačnom prípade je nutné k žiadanke zaslať aj nový odber biologického materiálu.


3. Výsledky vyšetrenia

3.1. Popis výsledkového listu

Výsledok genetického vyšetrenia a formát výsledkového listu vychádza z medzinárodných odporúčaní. Výsledkový list obsahuje: identifikáciu laboratória, kontaktné údaje odosielajúceho lekára s adresou pracoviska, základné údaje o pacientovi (meno, priezvisko, rodné číslo, kód diagnózy), typ vyšetrovaného materiálu, dátum odberu a dodania materiálu a kód poisťovne, charakteristické znaky vyšetrovaného génu (názov, referenčná sekvencia, vyšetrovaná oblasť) a typ použitej metódy.

Za popis výsledkov zodpovedá pracovník laboratória, ktorý je poverený vedúcim laboratória za realizáciu daného genetického vyšetrenia. Pred odoslaním výsledku genetického vyšetrenia je výsledkový list skontrolovaný a následne predložený na podpis a prípadnú interpretáciu odbornému garantovi laboratória. Na výsledkovom liste je uvedený dátum uvoľnenia výsledkového listu.

3.2. Telefonické hlásenie výsledku

 NÁRODNÝ ÚSTAV DETSKÝCH CHORÔB Limbová 1, 833 40 Bratislava		Vydal: Laboratórium klinickej a molekulovej genetiky Detskej kliniky LFUK a NÚDCH
Označenie dokumentu	IP 14	Verzia/revízia: 3/0
Názov dokumentu	Laboratórna príručka	Strana 7 z 9

O výsledku vyšetrenia sa môže informovať len príslušný indikujúci lekár. V prípade, že zamestnanec laboratória nevie jednoznačne overiť jeho totožnosť, výsledok oznámi až po spätnom zavolaní na známe číslo uvedeného poskytovateľa zdravotnej starostlivosti. Telefonické oznámenie výsledku pacientovi nie je možné. Ak pacient žiada o výsledok telefonicky, pracovník laboratória si overí dátum odberu a meno indikujúceho lekára. Výsledok vyšetrenia následne oznámi indikujúcemu lekárovi a požiada pacienta, aby sa na výsledok informoval u svojho lekára. Telefonické hlásenie výsledku genetického vyšetrenia môže zabezpečiť len pracovník laboratória zodpovedný za dané genetické vyšetrenie a po schválení vedúcim laboratória. Každá telefonická informácia o výsledkoch vyšetrení je v laboratóriu zaznamenaná.


3.4 Vydávanie výsledku genetického vyšetrenia pacientom

Výsledok genetického vyšetrenia je možné vydať priamo do rúk pacienta, resp. zákonného zástupcu len vo výnimočných prípadoch a to pri splnení nasledovných požiadaviek:

1. Na žiadanke je ošetrojúcim lekárom uvedená požiadavka o osobnom prebraní výsledku vyšetrenia pacientom, resp. zákonným zástupcom.
2. Pokiaľ na žiadanke nie je lekárom uvedená požiadavka, pracovník laboratória je povinný túto informáciu overiť telefonicky u odosielajúceho lekára.
3. Osoba preberajúca výsledok je povinná preukázať sa dokladom totožnosti (občiansky preukaz, pas, preukaz poistenca), pričom o preberaní výsledku genetického vyšetrenia pracovník laboratória uskutoční písomný záznam.

3.5 Interval trvania genetického vyšetrenia

Výsledok genetických vyšetrení prostredníctvom metód real-time PCR, PCR amplifikácie / fluorescenčnej PCR sú uskutočnené v rozsahu 3-5 dní. V prípade žiadosti o urgentné vyšetrenie chimérizmu po alogénnej transplantácii kostnej drene garantujeme výsledok vyšetrenia na druhý deň odo dňa prijatia vyšetrovanej vzorky. Interval vyšetrení realizovaných sekvenovaním DNA podľa Sangera závisí od rozsahu analyzovaného génu

 NÁRODNÝ ÚSTAV DETSKÝCH CHORÔB Limbová 1, 833 40 Bratislava		Vydal: Laboratórium klinickej a molekulovej genetiky Detskej kliniky LFUK a NÚDCH
Označenie dokumentu	IP 14	Verzia/revízia: 3/0
Názov dokumentu	Laboratórna príručka	Strana 8 z 9

a pohybuje sa v rozmedzí 3-14 dní. V prípade zriedkavých ochorení diagnostikovaných metódou masívneho paralelného sekvenovania vyžadujúcich rozsiahlu bioinformatickú analýzu dát sú výsledky spravidla sprístupnené do 1 až 2 mesiacov, pričom pri overovaní pozitívnych variantoch sa čas môže predĺžiť na 4 mesiace.

4. Ochrana osobných údajov pacienta

Laboratórium dodržiava pravidlá ochrany osobných údajov so všetkými všeobecne záväznými právnymi predpismi platnými v Slovenskej republike, najmä v súlade s Nariadením Európskeho Parlamentu a Rady (EÚ) 2016/679 z 27. apríla 2016 o ochrane fyzických osôb pri spracúvaní osobných údajov a o voľnom pohybe takýchto údajov, ktorým sa zrušuje smernica 95/46/ES (všeobecné nariadenie o ochrane údajov) (ďalej len GDPR“) a zákonom č. 18/2018 Z. z. o ochrane osobných údajov (ďalej len „Zákon o ochrane osobných údajov“).

5. Sťažnosti

Sťažnosti lekára, pacienta a ostatných účastníkov sú podnetom na zlepšenie práce laboratória a preto je každá uplatnená sťažnosť dôkladne prešetrená.

Sťažnosti je možné podať na:

- výsledky laboratórných vyšetrení
- správanie pracovníkov
- nedodržanie stanovených podmienok o vykonaní vyšetrení, najmä nedodržanie dohodnutej lehoty trvania výsledku a pod.

Sťažnosť sa môže podať:

1. telefonicky – kontakty sú uvedené na internetovej stránke laboratória a NÚDCH
2. elektronicky - kontaktné maily sú uvedené na webovej stránke laboratória
3. písomne listom na adresu laboratória
4. osobne vyplnením formulára [F4 Podanie sťažnosti](#), ktorý je uvedený na webovej stránke laboratória alebo osobne v laboratóriu.



**NÁRODNÝ ÚSTAV
DETSKÝCH CHORÔB**
Limbová 1, 833 40 Bratislava

Vydal:
**Laboratórium klinickej
a molekulovej genetiky
Detskej kliniky LFUK a NÚDCH**

Označenie dokumentu	IP 14	Verzia/revízia: 3/0
Názov dokumentu	Laboratórna príručka	Strana 9 z 9

6. Kontrola kvality

Kontrola kvality analytického procesu je jedným najzákladnejších prvkov riadenia kvality v klinickom laboratóriu. Efektívne vykonávanie tejto činnosti má zabezpečiť spoľahlivé výstupy analýz a poskytuje údaje o stabilite používaných analytických metód. Laboratórium na monitorovanie výsledkov vyšetrení využíva internú kontrolu kvality a externé hodnotenie kvality. Interná kontrola kvality prebieha pri každom vyšetrovacom procese za účelom sledovania vplyvu náhodných chýb a posúdenie presnosti výsledku vyšetrenia. Účasť laboratória na externom hodnotení kvality prebieha v pravidelných intervaloch a v spolupráci s medzinárodne uznávanými organizátormi. Získané výsledky sú zobrazené na webovej stránke laboratória.