

Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
Laboratoř HLA serologie	233_LP_15_01

Zpracovatel:	RNDr. Eva Miarková		
Přezkoumal a schválil:	Mgr. Hana Tereza Bolcková		
Garant dokumentu:	RNDr. Eva Miarková		
Platnost od:	02.03.2026	Pro systém uvolnil:	Hana Feixová
Výtisk č:	2	Počet stran:	25
Verze:	A7	Přijato do evidence:	02.03.2026

Seznam změn a revizí řízeného dokumentu

Platnost od:	Verze	Obsah změny/ revize	Schválení revize
09.05.2016	A1	Beze změn	Mgr. Bolcková
11.04.2017	A1	Beze změn	Mgr. Bolcková
16.05.2018	A1	Beze změn	Mgr. Bolcková
28.06.2019	A2	Nová verze A2, Uvedení HSCT s haploid. a HLA neshod. dárce	Mgr. Bolcková
01.12.2019	A2	Změna zpracovatele a garanta a osoby, která dokument přezkoumala a schválila, změna str.4	Mgr. Bolcková
07.01.2020	A2	Odkaz na kapitolu č.5 při vydávání výsledků, str. 13	Mgr. Bolcková
12.06.2020	A2	Drobné úpravy textu str. 4, kapitoly 2.1 a 2.4	Mgr. Bolcková
19.03.2021	A2	Drobné úpravy textu str. 15, kap. 5.3, str. 17 a 18, kap. 6.2 a 6.3, nové logo ÚHKF v záhlaví	Mgr. Bolcková
29.04.2022	A3	Úprava formátování dokumentu, změna telefonní linky str. 3, informovaný souhlas a drobné úpravy textu	Mgr. Bolcková
24.05.2023	A3	Drobné úpravy textu	RNDr. Miarková
30.5.2024	A4	Drobné úpravy textu, upřesnění opravy výsledků na str. 16, upřesnění Seznamu laboratorních vyšetření, str. 17 – 20	RNDr. Miarková
02.10.2024	A5	Upřesnění informovaného souhlasu pacienta s genetickým laboratorním vyšetřením, str. 6–7, doplnění genotypizace HLA-A, -B, -C do seznamu nabízených vyšetření, str. 18-19, upřesnění doby příjmu vzorku, str. 12 a 18	RNDr. Miarková

Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
Laboratoř HLA serologie	233_LP_15_01

26.3.2025	A6	Zpracování požadavků normy ČSN EN ISO 15189:2023, .drobné úpravy textu str. 4 a str.7 , upřesnění požadavků na dodání vzorku na str. 20 a na skladování vzorku na str. 21	RNDr. Miarková
02.03.2026	A7	úprava telefonní linky, upřesnění zaměření laboratoře, úprava názvu vyšetření	RNDr. Miarková

ÚVOD

Vážené kolegyně, vážení kolegové, vážení pacienti

dovolujeme si Vám předložit tuto laboratorní příručku, která má za úkol komplexně informovat o činnosti Laboratoře HLA serologie. Je určena všem spolupracujícím zdravotníkům a poskytuje popis všech dostupných vyšetření, které naše laboratoř provádí.

Obsah laboratorní příručky byl koncipován v souladu s normou ČSN EN ISO 15189 Zdravotnické laboratoře – požadavky na jakost a způsobilost.

Obecně platné instrukce a pokyny byly převzaty z materiálů publikovaných na stránkách ÚKB LD VFN, SZU a dále byly převzaty materiály z odborných publikací.

Rozsah vyšetření prováděných v naší laboratoři je průběžně aktualizován v souladu s rozvojem medicínských znalostí spolu s požadavky na způsob odběru biologického materiálu.

Naší snahou je poskytovat maximálně kvalitní, co nejvíce dostupné a komplexní laboratorní služby a tím přispět k vysoké úrovni péče poskytované pacientům. Věříme, že i tato příručka může být přínosem v našem úsilí.

Prosíme, abyste věnovali zvláštní pozornost kapitolám, které obsahují zásady pro odběry, identifikaci a příjem vzorků a vydávání nálezů. Tato pravidla byla vypracována v souladu se současnou legislativou, doporučeními odborných společností a akreditačními normami a z nich vyplývajícími standardy a jsou závazná pro všechny pracovníky laboratoře.

Laboratorní příručka je k dispozici na webových stránkách ÚHKT www.uhkt.cz, kde je pravidelně aktualizována.

Doufáme, že tato příručka přispěje ke zkvalitnění naší vzájemné spolupráce.

Kolektiv laboratoře HLA serologie

Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
Laboratoř HLA serologie	233_LP_15_01

INFORMACE O LABORATOŘI

Identifikace laboratoře a důležité údaje

Název laboratoře a místo:	LABORATOŘ HLA SEROLOGIE ÚHKT Oddělení imunohematologie, laboratoř HLA SEROLOGIE, U Nemocnice 2094/1, 128 00, Praha 2
Telefonní spojení:	221 977 202, 221 977 261
Webová stránka:	www.uhkt.cz
Vedoucí laboratoře:	RNDr. Eva Miarková, Ph.D.
Manažer kvality:	Hana Feixová
e-mail:	Eva.Miarkova@uhkt.cz
Provozní doba :	po – pá 7:00 – 15: 30

Základní informace o laboratoři

Laboratoř HLA serologie je součástí oddělení imunohematologie a je začleněna do Systému řízení kvality Komplementu laboratoří ÚHKT (zdravotnická laboratoř č. 8081, kontinuálně obhajující nezávislé a nestranné posouzení odborné způsobilosti dle normy ČSN EN ISO 15189, jejíž aplikaci ověřuje Český institut pro akreditaci). Vyšetřovací metody v rozsahu akreditace jsou definovány přílohou Osvědčení o akreditaci v aktuální verzi. Tyto metody mají přiznaný flexibilní rozsah akreditace, o nichž je zadavatel informován prostřednictvím webových stránek (www.uhkt.cz). Zde je k dispozici aktuální Osvědčení o akreditaci, Seznam činnosti prováděných v rámci flexibilního rozsahu a dále v příloze Osvědčení o akreditaci je uveden stupeň volnosti každého vyšetření, v samostatném oddílu i upřesnění rozsahu akreditace.

K zajištění trvalé dostupnosti a integrity uchovaných vzorků a záznamů pacientů v případě uzavření, akvizici, nebo fúze laboratoře bude uzavřena dohoda s partnerskou společností, která převezme veškeré závazky související s uchováním vzorků biologického materiálu a papírové či elektronické dokumentace.

Zaměření laboratoře

Laboratoř HLA serologie provádí sérotypizaci antigenů HLA I. třídy u dárců krve ÚHKT. Pro externí zadavatele se provádí sérotypizace HLA antigenů I. tř. (zejména HLA-B27) v rámci diferenciální diagnostiky některých onemocnění. U pacientů refrakterních nebo potencionálně refrakterních na trombocytové přípravky se při vyhledávání vhodného dárce zjišťuje v séru pacienta aktuální přítomnost cytotoxických anti-HLA protilátek namířených specificky proti HLA antigenům dárce (lymfocytotoxický crossmatch). U pacientů před transplantací hematopoetických kmenových buněk (HSCT) s **příbuzným** nebo nepříbuzným dárce

Dokument zobrazený na [portále SMK](#) je aktuálně platnou verzí, po vytištění slouží pouze pro informativní účely.

Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
Laboratoř HLA serologie	233_LP_15_01

laboratoř zjišťuje v séru pacienta aktuální přítomnost anti-HLA protilátek s důrazem na protilátky namířené proti HLA antigenům dárce (vyšetření HLA protilátek **testy pevné fáze Luminex + u pacientů s příbuzným dárce** lymfocytotoxický crossmatch před HSCT). Detekce a identifikace anti-HLA protilátek (zejména u pacientů před HSCT) se provádí ve spolupráci s dalšími laboratořemi Odd. imunohematologie.

Organizace laboratoře

Přístup na pracoviště

Vstup do Laboratoře HLA serologie je řízen a povolen pouze osobám pracujícím v této laboratoři a jejich nadřízeným. Jiné osoby (zdravotničtí pracovníci jiných úseků, servisní technici, údržba) mohou na oddělení vstoupit pouze se souhlasem zaměstnance laboratoře za dodržení podmínek řízeného vstupu.

Spektrum nabízených služeb

Rutinní vyšetření

Laboratoř provádí sérotypizaci antigenů HLA I. třídy, lymfocytotoxický crossmatch, **lymfocytotoxický test** a ve spolupráci s dalšími laboratořemi Odd. Imunohematologie detekci a identifikaci anti-HLA protilátek **testy pevné fáze Luminex**.

Speciální vyšetření

Podrobnější informace o provedení a vyhodnocení těchto testů najdete v kapitole **Seznam laboratorních vyšetření**

PŘÍRUČKA PRO ODBĚRY PRIMÁRNÍCH VZORKŮ

Pracoviště a externí pracovníci provádějící přípravu pacienta nebo odběry vzorku mají být seznámeni s touto [Příručkou pro odběry primárních vzorků](#), příručka je trvale k dispozici v elektronické podobě www.uhkt.cz nebo 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.

Základní informace

Základní informace o odběrech primárních vzorků na jednotlivá vyšetření (viz str. 18 kapitola **Seznam laboratorních vyšetření**).

Laboratoř respektuje pravidla "Správné laboratorní praxe", odborná doporučení a akreditační standardy, což vede k dodržování režimu postupu provádění vyšetření i s ohledem na stabilitu stanovovaných analytů ve vyšetřovaných vzorcích.

Požadavkové listy (žádanky)

Veškeré požadavky na prováděná vyšetření z ÚHKT, jakož i výsledky jsou zpracovány pomocí systémů UNIS a AMADEUS firmy Steiner, spol. s r. o.

Dokument zobrazený na [portále SMK](#) je aktuálně platnou verzí, po vytištění slouží pouze pro informativní účely.

Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
Laboratoř HLA serologie	233_LP_15_01

Materiál dodávaný do laboratoře musí být správně označen a musí mít správně vyplněnou žádanku. U cizinců je nutné uvedení čísla pojistky a datum narození, pohlaví, u azylantů též číslo povolení k pobytu.

Základní identifikační znaky požadované na žádance

- příjmení, jméno pacienta
- rodné číslo pacienta (číslo pojištění), pohlaví
- kód pojišťovny pacienta
- základní a event. další diagnózy pacienta
- datum a čas odběru
- identifikace osoby provádějící odběr
- identifikace zadavatele – název zařízení, oddělení, jméno lékaře, IČP, IČZ, odbornost, podpis, ev. razítko
- kontakt na zadavatele – adresa, telefon – pokud není na razítku
- vypsání nebo zaškrtnutá požadovaná vyšetření

Nepovinné, fakultativní údaje

Na žádance lze uvést doplňující klinické informace týkající se pacienta a vyšetření (pro interpretační účely). Pro některá vyšetření je uvedení těchto údajů povinné (viz kapitola Seznam laboratorních vyšetření).

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.

Typy žádanek pro jednotlivá vyšetření jsou na vyžádání k dispozici v laboratoři nebo jsou publikovány na www.uhkt.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.

Samoplátci

Laboratoř poskytuje své služby i samoplátcům. Při zaslání vzorku na vyšetření samoplátce je nutno na žádanku uvést adresu, na kterou se provede fakturace. Na tuto adresu budou zaslány výsledky vyšetření. Cena vyšetření pro samoplátce je dána dle bodové hodnoty vyšetření v platném Seznamu výkonů. Aktuální ceník poskytne laboratoř na požádání. Následně bude provedena platba v pokladně ÚHKT v jejich úředních hodinách.

Výsledky jsou zasílány poštou nebo se může pacient dostavit přímo do laboratoře, kde bude provedena jeho identifikace (občanský průkaz, cestovní pas či jiný identifikačně platný dokument) a samoplátce obdrží výsledek testu

Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
Laboratoř HLA serologie	233_LP_15_01

Požadavky na dodatečná a opakovaná vyšetření

Je-li nutné doplnit některá vyšetření z již dříve dodaného vzorku, je možné uplatnit požadavek na dodatečné vyšetření ústně nebo telefonicky.

Ze vzorků dodaných do laboratoře lze dodatečně doobjednat lékařem vyšetření na základě dodržení těchto pravidel:

1. Dodatečná vyšetření požadovaná akutně (**statim**) budou provedena neprodleně po telefonickém doobjednání, ostatní vyšetření budou provedena v rámci rutinního provozu. Dodatečně, s ohledem na pravidla stanovená zdravotními pojišťovnami, musí být do laboratoře doručena žádanka s přibývaným vyšetřením. **Výsledky dodatečných vyšetření budou vydány až po zaslání dodatečné žádanky.**
2. Dodatečná vyšetření lze u některých analytů provést s určitým omezením, které je daná stabilitou analytu v biologickém materiálu.

Stabilita analytů v odebraném biologickém materiálu pro jednotlivé analýzy (viz kapitola Seznam laboratorních vyšetření).

Používaný odběrový systém

U jednotlivých analytů jsou uvedeny vhodné druhy odběrového materiálu (média a případné speciální požadavky na odběr. Při odběrech se respektuje předepsaný druh odběrového i biologického materiálu. Tabulka odběrových systémů viz **příloha č. 1**. Pro odběry jsou používány zkumavky sterilní, nerozbitné při pádu i centrifugaci, dokonale průhledné se štítkem pro identifikaci.

Odběry periferní krve v uzavřeném systému mají řadu výhod:

- Zkumavky jsou spolehlivě uzavřené s přesně definovaným elektronicky testovaným vakuem postačujícím k naplnění právě jen uvedeným objemem krve.
- V odběrovém systému jsou využity progresivní technologie umožňující téměř okamžité získání séra pro laboratorní vyšetření (akcelerátory hemokoagulace, separační gely), zajišťující dlouhodobou stabilitu vzorku a snadný transport.
- Všechna potřebná, vysoce kvalitní chemická aditiva jsou ve zkumavkách přesně nadávkována, takže je zachován jejich poměr k nabranému objemu krve, který odpovídá nastavenému vakuu. Z tohoto důvodu je bezpodmínečně nutné odebírat pouze takové množství krve, které je pro danou zkumavku definované (a vyznačené ryskou).
- Vakuovaný systém nabízí kompletní sortiment vakuovaných odběrových zkumavek v objemových velikostech 1–10 ml. Pro všechna rutinní laboratorní vyšetření z plné krve, séra a plazmy.
- Všechny součásti systému přicházející do styku s krví jsou určeny k jednorázovému použití a s výjimkou jehel jsou vyrobeny z velmi snadno likvidovatelných (spalováním nebo drcením), zdravotně i ekologicky nezávadných plastických hmot.
- Systém je kompatibilní se všemi vakuovanými odběrovými systémy a pomocí adaptéru i s veškerou „klasickou“ odběrovou a infuzní technikou typu Luer.

INFORMOVANÝ SOUHLAS/NESOUHLAS PACIENTA

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

Dokument zobrazený na [portále SMK](#) je aktuálně platnou verzí, po vytištění slouží pouze pro informativní účely.

Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
Laboratoř HLA serologie	233_LP_15_01

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 odebrání informovaného souhlasu, provádění vyšetřovacích a léčebných výkonů bez souhlasu pacienta a formy odebrání informovaného souhlasu upravuje SŘ Informovaný souhlas pacienta v ÚHKT.

Informovaný souhlas pacienta s genetickým laboratorním vyšetřením (HLA-A,-B, -C, nízké rozlišení)

Požadavky na obsah informovaného souhlasu pro genetické vyšetření jsou specifikovány odbornou společností SLG ČLS JEP. Informovaný souhlas pacienta s genetickým laboratorním vyšetřením je možné najít na internetových stránkách www.uhkt.cz. K vyšetření je možné přijmout vzorek s informovaným souhlasem dle vzoru zadavatele, pokud obsahuje všechny potřebné údaje požadavků SLG ČLS JEP.

Za podpis informovaného souhlasu s provedeným vyšetřením a archivací biologického materiálu zodpovídá indikující lékař. Pokud není k žádance přiložen informovaný souhlas pacienta nebo jeho kopie, je třeba vyznačit na žádance požadované nakládání se vzorkem po vyšetření dle aktuálního informovaného souhlasu pacienta. Zadávající lékař je zodpovědný za přenos správné informace o nakládání se vzorkem od pacienta do laboratoře.

!! POKUD PACIENT NESOUHLASÍ S UCHOVÁNÍM VZORKU, PŘÍPADNĚ JEHO DALŠÍM VYUŽITÍM PRO VĚDECKÉ ÚČELY, JE TŘEBA NA ŽÁDANCE ZAŠKRTNOUT „NE“ V PŘÍSLUŠNÉM ŘÁDKU!!!

Odvolání informovaného souhlasu s uchováním vzorku

Zadavatel zodpovídá za předání informací laboratoři v případě, že dojde k odvolání informovaného souhlasu pacienta v souvislosti s uchováním vzorku.

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

Příprava pacienta před vyšetřením, odběr vzorku

Příprava pacienta na odběr

Pokud není uvedeno jinak, je vhodné provést odběr žilní krve ráno (7–10 hod.) nalačno. Pacient by neměl 12 hodin před odběrem jíst, pít alkohol, kouřit, den před odběrem by měl vynechat tučná jídla. Ráno před odběrem by měl vypít 250 ml vody nebo neslazeného čaje.

Pro speciální vyšetření je nutno dodržet speciální přípravu, která je uvedena u jednotlivých vyšetření (viz kapitola Seznam laboratorních vyšetření).

Hlavní chyby při odběrech krve

Postupně jsou zdůrazněny hlavní chyby při odběrech žilní krve:

- chyby při přípravě nemocného;
- chyby způsobené nesprávným použitím škrtila při odběru;

- chyby vedoucí k hemolýze vzorku;
- chyby při adjustaci, skladování a transportu;
- chyby při identifikaci patientského vzorku.

Chyby při přípravě nemocného

- pacient nebyl nalačno, požití tuky způsobí přítomnost chylomikrů v séru nebo plazmě, zvýší se koncentrace glukózy;
- v době odběru anebo těsně před odběrem dostal pacient infúzi, pacient nevysadil před určitým odběrem konkrétní léky, které mohou zkreslit výsledek;
- odběr nebyl proveden ráno nebo byl proveden po mimořádné fyzické zátěži (včetně nočních směn);
- delší cestování před odběrem se může negativně projevit např. u kardiaků;
- je zvolena nevhodná doba odběru: během dne řada biochemických a hematologických hodnot kolísá, odběry mimo ráno ordinujeme proto jen výjimečně, kde mimořádný výsledek může ovlivnit naléhavé diagnostické rozhodování;
- pokud příliš úzkostlivý pacient dlouho před odběrem ani nepil, jsou výsledky ovlivněny dehydratací.

Chyby způsobené nesprávným použitím škrtidla při odběru

- Dlouhodobé stažení paže nebo nadměrné cvičení ("pumpování") se zataženou paží před odběrem vede ke změnám poměrů tělesných tekutin v zatažené paži. Ovlivněny jsou např. koncentrace draslíku nebo proteinů.

Chyby vedoucí k hemolýze vzorku

Hemolýza vadí většině biochemických i hematologických vyšetření zejména proto, že řada látek přešla z erytrocytů do séra nebo plazmy nebo že zbarvení interferuje s vyšetřovacím postupem. Hemolýzu v našich podmínkách teoreticky může působit:

- znečištění jehly nebo pokožky stopami ještě tekutého dezinfekčního roztoku;
- použití příliš úzké jehly, kterou se pak krev násilně nasává;
- prudké třepání krve ve zkumavce (padá v úvalu i při nešetrném transportu krve ihned po odběru);
- prodloužení doby mezi odběrem a dodáním do laboratoře;
- použití nesprávné koncentrace protisrážlivého činidla;
- vstříkávání krve do zkumavky přes jehlu.

Chyby při skladování a transportu

- použily se nevhodné zkumavky;
- použilo se nesprávné protisrážlivé činidlo nebo jeho nesprávný poměr k plné krvi;
- zkumavky s materiálem nebyly dostatečně označeny;
- zkumavky s materiálem byly potřísněny krví;
- uplynula dlouhá doba mezi odběrem a oddělením krevního koláče nebo erytrocytů od séra či plazmy (řada látek včetně enzymů přešla z krve do séra nebo do plazmy, rozpad trombocytů vede k uvolnění destičkových komponent – ACP a další);

Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
Laboratoř HLA serologie	233_LP_15_01

- krev byla vystavena teplu, přímému slunečnímu světlu, nebo mrazu.

Vliv infuzní terapie – odběr nejdříve hodinu po infuzi

- Kontaminace infuzí, kdy se obecně 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 odběru použije), ale také zředění vzorku heparinovým zámkem katétru pro opakované odběry nebo přítomnost anastomóz v žilním řečišti. V případě použití heparinového zátku 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

Odběry z centrálních katetrů a kanyl

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

Pokyny k odběru krve vakuovým systémem

Bezpečnostní aspekty

- Každý vzorek krve je nutné považovat za potencionálně infekční. Je nutné zabránit zbytečným manipulacím s krví, které by mohly vést ke kontaminaci pokožky odebírající osoby, veškerých zařízení používaných při odběru nebo ke vzniku infekčního aerosolu.
- Je nutné zajistit dostupnost lékaře při předpokládaných komplikacích při odběru.
- U nemocných s poruchami vědomí nebo u malých dětí je nutné k zabránění případného poranění očekávat nenadálé pohyby nebo reakce na vpich. Komplikace se musí ohlásit.
- Veškeré manipulace s odběrovými jehlami se musí provádět s maximální opatrností.
- Je zakázáno provádět odběry materiálu v místnostech s možným zdrojem infekčního aerosolu (v místnostech s centrifugami, dávkovači, vývěvami a podobně).

Prevence hematomu zahrnuje zejména

- punkce pouze horní žilní stěny s jistotou, že jehla jen touto stěnou úplně pronikla
- včasné odstranění turniketu (zejména před odstraněním jehly ze žíly)
- používání jen velkých povrchových žil
- aplikace přiměřeně malého tlaku na místo vpichu při ošetření rány po odběru.

Pracovní postup žilního odběru krve

- Příprava materiálu a příslušné dokumentace, zejména s ohledem na prevenci záměn vzorků.
- Kontrola identifikace nemocného dostupným způsobem jak u nemocných schopných spolupráce, tak u nemocných neschopných spolupráce (bezvědomí, děti, psychiatrickí nemocní, cizinci), kde identifikaci verifikuje zdravotnický personál, případně příbuzní pacienta.
- Ověření dodržení potřebných dietních omezení před odběrem.
- Kontrola dostupnosti všech pomůcek potřebných pro odběr.
- Seznámení pacienta s postupem odběru.

- Zajištění vhodné polohy paže, tj. podložení paže opěrkou v natažené pozici, bez pokrčení v lokti, u ležících nemocných zajištění přiměřené polohy s vyloučením flexe v lokti. Pacient by neměl při odběru jíst nebo žvýkat.
- Kontrola identifikačních údajů na zkumavkách. Bezprostředně před odběrem se musí zkontrolovat kvalita jehly stříkaček a zkumavek.
- Aplikace turniketu (škrtidla), smí však být aplikován maximálně 1 minutu. Opakované použití je možné nejdříve až po dvou minutách. Instrukce nemocného k sevření pěstí, opakované „pumpování“ je nevhodné.
- Posouzení kvality žilního systému v loketní jamce, například zejména s ohledem na zhojenou popáleninu, hematomy, parenterální terapii (volí se vždy opačná paže). Málo zřetelné žíly lze zvýraznit například masáží paže od zápěstí k lokti, krátkými poklepy ukazovákem na místo vpichu, spuštěním paže podél postele.
- Dezinfekce místa vpichu doporučeným prostředkem. Po dezinfekci je nutné kůži nechat oschnout, jednak pro prevenci hemolýzy vzorku, jednak pro odstranění pocitu pálení v místě odběru. Po dezinfekci je další palpce místa vpichu nepřijatelná!!!
- Při použití vakuových systémů se vloží vhodná jehla do držáku, palcem ve vzdálenosti 2 až 5 cm pod místem odběru se stabilizuje poloha žíly, provede se venepunkce a teprve potom se postupně nasazují vhodné zkumavky. Vakuová zkumavka se nesmí nasadit na vnitřní jehlu držáku před venepunkcí, protože by se vakuum ve zkumavce zrušilo. Jakmile krev začne pomocí vakua vtékat do zkumavky, lze odstranit turniket. Pozice jehly v žíle se přitom nesmí změnit. Je-li ve vakuované zkumavce protisrážlivé nebo stabilizační činidlo, musí se zabránit styku tohoto činidla s víčkem zkumavky nebo případnému zpětnému nasátí krve s činidlem do žilního systému. Vakuum ve zkumavce zajistí jak přiměřené naplnění zkumavky, tak dostatečný poměr krve a protisrážlivého činidla. Jednotlivé zkumavky s přídatnými činidly je nutno bezprostředně po odběru promíchat pěti až desetinásobným šetrným převrácením. Jehla se ze žíly vyjímá samostatně, tedy až po sejmutí poslední vakuované zkumavky z jehly.

Pokud se nepodaří odebrat dostatečné množství krve, může se použít některý z následujících postupů:

- změni se pozice jehly
- použije se jiná vakuová zkumavka
- uvolní se příliš zatažený turniket.

Opakované sondování jehlou je nepřipustné.

Doporučené pořadí odběrů z jednoho vpichu:

1. zkumavka pro hemokultury
2. zkumavky s přísadami K₃EDTA
3. zkumavky pro hemokoagulaci
4. ostatní zkumavky

Pokud se odebírá pouze krev na vyšetření koagulace (obvykle citrátové zkumavky), odebere se nejprve 5 ml krve (tato krev se nepoužije), a teprve potom lze naplnit zkumavku na hemokoagulační vyšetření. Zabrání se tak kontaminaci vzorku tromboplastinem z místa odběru.

- Místo vpichu i s jehlou se zakryje gázovým čtverečkem. Na gázový čtvereček se jemně zatlačí, a pomalým tahem se odstraní jehla ze žíly. Přitom se dbá, aby nedošlo k poranění pacientovy paže.

Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
Laboratoř HLA serologie	233_LP_15_01

- Po odběru se za normálních okolností očistí místo odběru sterilní gázou a aplikuje se náplastové nebo gázové zakrytí místa odběru. Pacientovi se doporučí ponechat místo odběru zakryté nejméně 15 minut.
- Bezprostředně po odběru je nutné bezpečně zlikvidovat jehly.
- Pacientovi se po odběru povolí příjem potravy, pokud tomu nezabraňují jiné okolnosti. Zvláštní péči je nutno věnovat například diabetikům léčeným insulinem (včetně možnosti aplikace dávky a požití snídaně).

Do laboratoře se odešlou správně označené zkumavky s příslušnými požadavkovými listy.

Identifikace pacienta na žádance a označení vzorku

Nezbytnou identifikaci biologického materiálu před přidělením laboratorního čísla (kódu) tvoří nejméně příjmení pacienta a číslo pojištěnce (rodné číslo), jinak je nutné materiál odmítnout (viz dále). Výjimku tvoří nemocní, u nichž není kompletní identifikace k dispozici (neznámé osoby nebo osoby, u nichž jsou k dispozici povinné identifikační znaky jen v částečném rozsahu). Odesílající oddělení je povinno srozumitelně o této skutečnosti informovat laboratoř a zajistit nezaměnitelnost biologického materiálu a dokumentace.

Vzorky pacientů určené k analýze bez pozitivní identifikace pacienta se v laboratoři nesmějí vyskytovat.

Množství vzorku

Podrobné údaje jsou uvedeny u každého analytu (viz kapitola Seznam laboratorních vyšetření).

Pro odběry dětských pacientů na KO se používají speciální zkumavky (viz Příloha č. 1).

Nezbytné operace se vzorkem, stabilita

Transport primárních vzorků z jednotlivých oddělení ÚHKT si zajišťují oddělení sama. Veškeré nesrovnalosti týkající se odebraného materiálu nebo dokumentace řeší pracovník laboratoře telefonicky ihned se zdravotnickým personálem příslušného oddělení. Transport biologického materiálu z jednotlivých externích zařízení je prováděn tak, aby byly dodrženy požadavky na odběr primárních vzorků a časové limity pro stabilitu analytů.

Odebraný biologický materiál je uložen v uzavíratelných plastových nádobách. Dokumentace k materiálu je uložena tak, aby se při rozbití materiálu nezneškodnila.

Zkumavky s materiálem musí být zasílány uzavřené co nejdříve po odběru. Při extrémních vnějších teplotách je nutné zajistit transport vzorku v boxech zamezujících znehodnocení vzorku mrazem nebo horkem (chladicí vložka v létě, vytemperování boxu na laboratorní teploty v zimě).

Základní informace k bezpečnosti při práci se vzorky

Obecné zásady strategie bezpečnosti práce s biologickým materiálem vycházejí z příslušných právních předpisů a směrnic, tj. především z vyhlášky MZ ČR č. 306/2012 Sb. a jejich příloh, kterou se upravují podmínky předcházení vzniku a šíření infekčních onemocnění a hygienické požadavky na provoz

Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
Laboratoř HLA serologie	233_LP_15_01

zdravotnických zařízení. Všichni zaměstnanci jsou povinni postupovat při vyšetřování pacientů tak, aby nedocházelo ke vzniku a šíření nozokomiálních nákaz ve smyslu příslušných ustanovení této vyhlášky.

Na základě této vyhlášky byly stanoveny tyto zásady pro bezpečnost práce s biologickým materiálem:

- Každý vzorek krve je nutné považovat za potenciálně infekční.
- Žádanky ani vnější strana zkumavky nesmí být kontaminovány biologickým materiálem – toto je důvodem k odmítnutí vzorku.
- Vzorky od pacientů s přenosným virovým onemocněním či multirezistentní nosokomiální nákazou mají být viditelně označeny.
- Vzorky jsou přepravovány v uzavřených zkumavkách, které jsou vloženy do stojánku nebo přepravního kontejneru tak, aby během přepravy vzorku do laboratoře nemohlo dojít k rozlítí, potřísnění biologickým materiálem nebo jinému znehodnocení vzorku.
- Při práci s přijímaným materiálem používá s ním manipulující pracovník ochranné pomůcky jako při práci s infekčním materiálem.

Rozlítí biologického materiálu při transportu potrubní poštou

Zaměstnanec laboratoře zásilku s biologickým materiálem nerozbaluje a ihned informuje telefonicky odesílající oddělení o vzniklé situaci a technika potrubní pošty, které se postará o dezinfekci a vyčištění potrubní pošty. Laboratoř si od odesílatele vyžádá nový odběr i s patřičnou dokumentací.

PREANALYTICKÉ PROCESY V LABORATOŘI

Preanalytická fáze má významný podíl na spolehlivosti a správnosti laboratorního vyšetření. Zahrnuje veškeré procesy před vlastním analytickým stanovením. Je zdrojem preanalytické variability laboratorního výsledku. Některé zdroje lze ovlivnit, jiné jsou neovlivnitelné.

Příjem žádanek a vzorků

Příjem primárních vzorků na veškerá laboratorní vyšetření se provádí v laboratoři. Vzorek musí být správně odebraný, viditelně nepoškozený, nepotřísněný a správně identifikovaný v souladu se správně vyplněnou a nepotřísněnou dodanou žádankou. 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.

Příjem vzorků v pracovní dny: 7,00 – 13,00h., pro externí žadatele serologické typizace HLA antigenů (B27 nebo HLA-A,-B,-Cw) pondělí - čtvrtek 7,00 – 13,00 h., pátek 7,00 - 10,00 h.

Vzorky se předávají vždy osobně pracovníkům laboratoře.

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.

Obecně platí: **skladování do doby vyšetření během pracovního dne (do 24 hod ke zpracování).**

Dokument zobrazený na [portále SMK](#) je aktuálně platnou verzí, po vytištění slouží pouze pro informativní účely.

Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
Laboratoř HLA serologie	233_LP_15_01

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

Kritéria pro přijetí nebo odmítnutí vadných (kolizních) primárních vzorků

Nesoulad v základních identifikačních znacích pro přidělení žádanky ke vzorku biologického materiálu (jméno a příjmení pacienta, rodné číslo pacienta nebo číslo pojistky pacienta)	<i>materiál není přijat dalšímu zpracování.</i>
Je porušen obal (část materiálu vytekla při transportu apod.)	<i>materiál není přijat k dalšímu zpracování</i>
Není správně proveden odběr	<i>materiál není přijat k dalšímu zpracování</i>
Žádanka není řádně vyplněná (schází některé povinné údaje (diagnóza, IČP ordinujícího lékaře, odbornost)	<i>biologický materiál je přijat</i>

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 ošetřujícího lékaře. Pouze na výslovnou žádost lékaře, který vyšetření požaduje, budou tyto vzorky vyšetřeny. Výše uvedené skutečnosti budou zaznamenány v komentáři k výsledkům v LIS.

Za závazné se vždy považují údaje uvedené na štítku vzorku. O odmítnutí vadných (kolizních) primárních vzorků je v laboratoři veden záznam.

Postupy při nesprávné identifikaci vzorku nebo žádanky

Nesoulad v základních identifikačních znacích pro přidělení žádanky ke	<i>materiál není přijat dalšímu zpracování.</i>
vzorku biologického materiálu	dané oddělení nebo ambulance je informováno a požádáno o nový odběr, zapíše se v LIS do komentáře. *
(jméno a příjmení pacienta, rodné	
číslo pacienta nebo číslo pojistky pacienta)	
Je porušen obal	<i>materiál není přijat k dalšímu zpracování</i>
(část materiálu vytekla při transportu apod.)	dané oddělení nebo ambulance je informováno a požádáno o nový odběr, zapíše se v LIS do komentáře. *
Není správně proveden odběr	<i>materiál není přijat k dalšímu zpracování</i>
	dané oddělení nebo ambulance je informováno a požádáno o nový odběr, zapíše se v LIS do komentáře. *
Žádanka není řádně vyplněná	<i>biologický materiál je přijat</i>
(schází některé povinné údaje (diagnóza, IČP ordinujícího lékaře, odbornost)	nesrovnalosti dořešeny laborantem telefonicky dříve než je vydán výsledek

*** Za každých okolností je tedy nutné naimportovat či založit žádanku.**

VYDÁVÁNÍ VÝSLEDKŮ A KOMUNIKACE S LABORATOŘÍ

Veškerý materiál, který je dodán do laboratoře, se zpracovává nejlépe ihned (s přihlédnutím na pracovní postupy jednotlivých vyšetření). Výsledky se po kontrole odpovědným pracovníkem vydávají v písemné formě podle typu vyšetření, viz Seznam laboratorních vyšetření. V případě telefonického sdělení výsledku provede oprávněná osoba laboratoře záznam. Zaznamenaná čas, kdo výsledek ohlásil a komu byl výsledek ohlášen.

Dokument zobrazený na [portále SMK](#) je aktuálně platnou verzí, po vytištění slouží pouze pro informativní účely.

Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
Laboratoř HLA serologie	233_LP_15_01

V případě, že byl přijat pochybnosti budící, klinicky významný, kritický, nebo nenahraditelný vzorek, musí být v závěrečné zprávě po zvážení rizik pro bezpečnost pacienta uvedena podstata problému a případně doporučena opatrnost při interpretaci těchto výsledků, které mohou být ovlivněny.

Kontrola výsledků

Po provedení analýz jsou výsledky zapsány či převedeny do UNIS/AMADEUS, v němž jsou po kontrole odpovědným pracovníkem uvolněny v nemocničním informačním systému pro ošetřujícího nebo transfuzního lékaře (v rámci pracoviště ÚHKT). Mimo laboratoř je tedy zobrazitelný pouze zkontrolovaný (uvolněný) výsledek. Všechny výsledky jsou v laboratoři dostupné v elektronické i tištěné formě a jsou archivovány.

Hlášení výsledků v kritických intervalech

Výrazně patologické výsledky se neprodleně telefonují požadujícímu pracovišti bez ohledu na to, zda bylo vyšetření provedeno v režimu vitální indikace, statim nebo se jednalo o rutinní (běžný) vzorek. Pracovník laboratoře přesně zaznamená komu, kdy a kým a jak (telefonicky, přímým osobním sdělením) byl výsledek na oddělení předán (sdělen, nahlášen).

Informace o formách vydávání výsledků, typy nálezů a laboratorních zpráv

Po provedení analýz jsou výsledky převedeny do UNIS nebo AMADEUS, kde jsou po kontrole odpovědným pracovníkem dostupné ošetřujícímu nebo transfuznímu lékaři. Všechny výsledky jsou zadavateli následně zasílány v tištěné podobě.

Výsledky pro externí zadavatele se vydávají v tištěné formě, výsledkové listy jsou zaslány na pracoviště zadavatele v následující den po dokončení analýzy. Všechny výsledky jsou v laboratoři dostupné v elektronické i písemné formě, v elektronické formě jsou výsledky také archivovány v systémech UNIS/AMADEUS. Archivace žádank: podle směrnice Spisového a skartačního řádu ÚHKT.

Komplement laboratoří zpřístupní příslušné informace pacientovi a jakémukoli jinému poskytovateli zdravotních služeb na základě žádosti pacienta, nebo na žádost poskytovatele zdravotních služeb, který jedná jménem pacienta.

Výstup z UNIS v podobě výsledkového listu obsahuje:

- název laboratoře, která výsledek vydala,
- jednoznačnou identifikaci pacienta (jméno, rodné číslo)
- název oddělení a jméno lékaře požadujícího vyšetření
- datum a čas přijetí primárního vzorku laboratoří
- datum a čas uvolnění výsledku
- název vyšetřovaného systému (skupiny)
- nezaměnitelnou identifikaci vyšetření
- výsledek vyšetření
- v případě potřeby textové interpretace výsledků

Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
Laboratoř HLA serologie	233_LP_15_01

- jiné poznámky (označení vzorku v UNIS, texty ke kvalitě nebo dostatečnosti primárního vzorku, které mohou nežádoucím způsobem ovlivnit výsledek atd.)
- identifikaci osoby, která autorizovala uvolnění nálezu

Vydávání výsledků přímo pacientům

Výdej výsledků pacientovi je možný na základě jeho žádosti. Personál vydávající výsledek musí mít jistotu v identifikaci nemocného. Nemá-li ji, pacient musí předložit průkaz totožnosti (občanský průkaz, pas nebo průkaz pojištěnce).

Lze vydat výsledky do rukou pacienta pro informaci jeho samého, anebo třetí osoby. Lze vydat jak běžný denní výsledek (musí však být validovaný), anebo již dříve archivovaný výsledek. Výsledky se vytisknou z UNISu a vloží se do obálky. Je-li výsledek určen pro třetí osobu, je obálka poté zalepena, označena podpisem přes lepení a vydána pacientovi.

Telefonické hlášení výsledků

Výsledky lze telefonicky sdělovat pouze ošetřujícím lékařům a těm, kteří se podílejí na ošetřování daného pacienta. Po telefonickém sdělení výsledku provede oprávněná osoba laboratoře záznam. Zaznamenaná čas, kdo výsledek ohlásil a komu byl výsledek ohlášen. Výsledky se telefonicky nesdělují žádným jiným zdravotnickým ani nezdravotnickým pracovníkům (uklízečky, civilní služba, sanitárky), ani pacientům.

Pověření pracovníci laboratoře sami hlásí výsledky v následujících situacích:

- výsledky vyžadující neodkladné oznámení
- zásadní komentář k výsledkům laboratorních vyšetření (v neodkladných případech).

Pověření pracovníci laboratoře odpovídají na telefonickou žádost o výsledek vyšetření:

- mimo výše uvedený výčet případů jsou telefonické dotazy zcela výjimečné a musí být žadatelem řádně odůvodněné
- žadatel o telefonický výsledek vyšetření musí uvést pracoviště, odkud volá a své jméno
- pokud je pracovník laboratoře odpovídající na dotaz v pochybnostech o identifikaci volaného a jedná se o závažný laboratorní údaj, vyžádá si telefonní číslo oddělení, odkud je vznášen požadavek, spojí se s uvedeným žadatelem opětovně a oznámí požadované údaje. V případě jakýchkoliv nejasností může požadovat k telefonu jinou kompetentní osobu.

Změny výsledků a nálezů

Změna identifikace pacienta	při zadávání žádanky do počítače
<i>(jméno a příjmení pacienta, rodné číslo pacienta nebo číslo pojistky pacienta)</i>	- provede laborant

**Oprava nebo změna rodného čísla, sloučení
špatně zadaného rodného čísla se správným**

(příjmení, titulu, pojišťovny)

Oprava výsledků (nálezů)

**Oprava údajů na uvolněném výsledkovém listu
se nahlásí manažerovi kvality, ten opravu zadá
správci**

počítačové sítě, sepišeme záznam o neshodě

**Oprava výsledků na uvolněném výsledkovém
listu se nahlásí manažerovi kvality, ten opravu
zadá správci počítačové sítě; sepišeme záznam o
neshodě. **Vydáme opravný výsledek a zadavatele
obratem informujeme****

Opravený výsledek po lékařské kontrole, kdy změna může mít vliv na péči o pacienta anebo byl již nahlášen telefonicky **se vždy oznámí telefonicky** a pokud byl výsledkový list již odeslán, pošle se nový a změna se také nahlásí telefonicky. O nahlášení se vede záznam. **Oprava identifikačních údajů a výsledků na uvolněném výsledkovém listu se nahlásí manažerovi kvality, ten opravu zadá správci počítačové sítě; sepišeme záznam o neshodě. Vydáme opravný výsledek a zadavatele obratem informujeme.**

Intervaly od dodání vzorku k vydání výsledku

Intervaly se liší podle druhu požadavku, zda se jedná o rutinní nebo speciální požadavky.

Rutinní požadavky jsou ihned po doručení do laboratoře zpracovány a jednotlivé vzorky analyzovány. Laboratoř eviduje přijetí každého vzorku, a vyhotovení výsledků. Podrobné časové údaje k jednotlivým laboratorním položkám jsou uvedeny v dokumentu kapitola Seznam laboratorních vyšetření.

Zbytková rizika

Laboratoř si je vědoma existence zbytkových rizik, která se pokusila snížit na minimum. Zbytková rizika jsou dostupná v laboratoři na požádání, pokud je to relevantní v rámci daného vyšetření.

Způsob řešení stížností

Stížnosti mohou být adresovány na vedení laboratoře, případně další pracovníky. Není-li stížnost k práci laboratoře adresována přímo vedoucímu laboratoře, řeší ji pracovník, který ji přijal a informuje vedoucího laboratoře. Výsledek a způsob řešení je evidován.

Drobné připomínky k práci laboratoře přijímá a okamžitě řeší kterýkoliv pracovník laboratoře a následně informuje svého nadřízeného. Vyřizování všech ostatních stížností je věcí vedoucího laboratoře. Postup se řídí Směrnice ředitele ÚHKT Vyřizování stížností.

Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
Laboratoř HLA serologie	233_LP_15_01

Zaměstnanci KL jsou vázáni přísnou mlčenlivostí, ctí práva stěžovatelů a regulačních orgánů. Totožnost zdroje stížnosti zůstává vždy uchováována v tajnosti a bez písemného souhlasu nemůže být prolomena. Prošetřování a řešení stížností nesmí vést k diskriminačním opatřením. Řešení stížností provádějí nebo přezkoumávají a schvalují osoby, které nejsou zapojeny do dané stížnosti. Pokud to zdroje neumožní, nesmí žádný alternativní přístup ohrozit nestrannost.

Ochrana informací

Všichni zaměstnanci laboratoře si jsou vědomi povinnosti zachovávat mlčenlivost o veškerých informacích získaných v průběhu poskytování služby a své povinnosti chovat se tak, aby práva zákazníka a pacienta nebyla poškozena.

Ochrana informací se řídí platnými právními předpisy a vnitřními předpisy ÚHK. Pravidla pro zachování důvěrnosti informací a ochranu elektronicky ukládaných dat jsou zavedena ve dvou úrovních:

- Každý pracovník se podpisem závazku důvěrnosti a mlčenlivosti zavazuje k mlčenlivosti o skutečnostech, o nichž se dozvěděl v souvislosti s výkonem svého povolání s výjimkou případů, kdy skutečnost sděluje na základě oznamovací povinnosti dle zvláštních předpisů.
- V laboratoři jsou zavedena a dodržována systémová a technická opatření pro zabezpečení důvěrnosti informací, především ochrana písemných i elektronických dokumentů pomocí řízeného přístupu se specifickými oprávněními pro jednotlivé skupiny pracovníků.
- Zaměstnanci pracují v souladu s nastavenými předpisy v oblasti GDPR.

Konzultační činnost

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.

SEZNAM LABORATORNÍCH VYŠETŘENÍ

Sérotypizace antigenů HLA I. třídy

Název vyšetření na žádance: Typizace HLA antigenů - serologicky

Vyšetřovaný materiál: plná periferní heparinizedovaná krev

Odběr: systém Vacutainer s protisrážlivou úpravou **Heparin**

Periferní krev se odebírá v množství 9 ml do protisrážlivého roztoku s heparinem.

Okamžitě po odběru je nutno opakovaným převrácením krev ve zkumavce promísit, aby nedošlo k jejímu sražení. K typizaci je nutné dostatečné množství lymfocytů v krvi (min. 2×10^9 /l leukocytů, při nižším počtu leukocytů $0,5 - 2 \times 10^9$ /l je možno se o typizaci pokusit z většího vzorku krve 20 až 30 ml).

Příjem vzorků pro externí žadatele serologické typizace HLA antigenů (B27 nebo HLA-A,-B,-Cw) :

pondělí - čtvrtek 7,00 – 13,00 h., pátek 7,00 - 10,00 h. Manipulace s materiálem (transport):

Vzorek krve v heparinu se uchovává a přepravuje při pokojové teplotě. V případě, že transport probíhá z objektivních důvodů déle než 12 hod. nebo za teploty vyšší než 25 °C, je nutné vzorky dodat v temperovaném boxu, nejdéle do 24 hod. po odběru. Při extrémních vnějších teplotách je nutné zajistit transport vzorku v boxech zamezujících znehodnocení vzorku mrazem nebo horkem (chladicí vložka v létě, vytemperování boxu na laboratorní teplotu v zimě). Krev v heparinu se zpracovává ihned, max. do 24 hod. po odběru.

Omezení a interference:

Vyšetření nelze provést u pacientů po transplantaci hematopoetických kmenových buněk nebo po infuzi dárcovských lymfocytů.

Krevní transfuze podaná před testem může způsobit extra reakce ztěžující až znemožňující interpretaci výsledků. Odběr krve od transfundovaných nemocných by měl proběhnout až po min. 24 hod. po transfuzi, aby se snížila možnost typizace transfundovaných buněk.

Ke zkreslení výsledků může dojít také při léčbě antiglobuliny (např. ATG) a terapeutickými monoklonálními protilátkami (např. Campath) = falešná pozitivita reakcí. Při léčbě cytostatiky, kortikoidy apod. může dojít k falešně negativním reakcím.

Doba odezvy:

Výsledky jsou odesílány obvykle do 2 pracovních dnů po převzetí primárního vzorku, při výskytu nejasností vyžadujících dovyšetření do 3 dnů.

Vyhodnocování a evidence výsledků:

Výsledek je průkazem HLA antigenů I. třídy nacházejících se na lymfocytech vyšetřované osoby. Pozitivní reakce vznikne v jamce, kde specifita antigenu souhlasí se specificitou diagnostické protilátky. Vyhodnocením reakcí lymfocytů se specifickými HLA séry na typizační desce se určí HLA fenotyp vyšetřovaných lymfocytů (tj. vyšetřované osoby). Reakce se odečítají mikroskopicky a zapisují se do předtištěných pracovních protokolů (listů).

Genotypizace antigenů HLA-A, -B, -C (nízké rozlišení)

Název vyšetření na žádance: HLA-A, -B, -C genotypizací (nízké rozlišení)

Vyšetřovaný materiál: plná periferní krev v EDTA (5 ml)

Při provedení odběru musí být splněny tyto požadavky:

Ověření totožnosti pacienta.

Ověření, že pacient není po alogenní transplantaci krvetvorných buněk ani po infuzi dárcovských lymfocytů.

Musí být proveden záznam totožnosti osoby, která primární vzorek odebrala a datum, popř. čas odběru.

Genotypizační vyšetření je potřeba předem telefonicky domluvit s pracovníky laboratoře.

Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
Laboratoř HLA serologie	233_LP_15_01

Dodání správně odebraného primárního vzorku s řádně vyplněnou žádankou a informovaným souhlasem pacienta do laboratoře.

Manipulace s materiálem (transport):

Vzorek periferní krve je vhodné doručit co nejdříve po odběru. Maximální doba uchování a transportu vzorků periferní krve je deset dní od odběru. Pro transport není potřeba zvláštních opatření, vzorek se pouze nesmí zahřát (př. na slunci, v ruce). Přesahuje-li doba od odběru 3 hodiny, je vhodné vzorek transportovat při 2-8 °C. Při této teplotě je vzorek možné skladovat až 10 dní. Odběr a transport vzorku zajišťuje zadavatel a zodpovídá za něj.

Omezení a interference:

Vyšetření nelze provést u pacientů po alogenní transplantaci hematopoetických kmenových buněk nebo po infuzi dárcovských lymfocytů.

Krevní transfuze podaná krátce před odběrem vzorku může způsobit extra reakce ztěžující interpretaci výsledků. Odběr krve od transfundovaných nemocných by měl proběhnout až po min. 24 hod. po transfuzi, aby se snížila možnost typizace transfundovaných buněk.

Doba odezvy:

Běžná doba odezvy je do 15 dnů od dodání vzorku. Uvedený počet dní znamená počet pracovních dní od dodání správně odebraného primárního vzorku s řádně vyplněnou žádankou a informovaným souhlasem pacienta do laboratoře do uvolnění výsledku.

Lymfocytotoxický crossmatch (před podáním trombokoncentrátu a před HSCT s příbuzným dárce)

Název vyšetření na žádance: Lymfocytotoxický crossmatch pro výběr trombocytů / Pacient před HSCT s příbuzným dárce: lymfocytotoxický crossmatch + HLA protilátky

Vyšetřovaný materiál: a) srážlivá krev pacienta

b) heparinizovaná krev dárce

Odběr: ad a) systém Vacutainer bez aditiv

ad b) systém Vacutainer s protisrážlivou úpravou **Heparin**

Periferní plná krev pacienta (příjemce) se odebírá v množství min. 2 ml k separaci séra.

Od dárce se odebírá 5 ml periferní krve do heparinu k izolaci lymfocytů.

Datum příjmu krevního vzorku se může u dárce a příjemce lišit, maximálně však o 3 dny.

Manipulace s materiálem (transport):

Vzorek krve v heparinu se uchovává a přepravuje při pokojové teplotě. V případě, že transport probíhá z objektivních důvodů déle než 12 hod. nebo za teploty vyšší než 25 °C, je nutné vzorky dodat v

Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
Laboratoř HLA serologie	233_LP_15_01

temperovaném boxu, nejdéle do 24 hod. po odběru. Při extrémních vnějších teplotách je nutné zajistit transport vzorku v boxech zamezujících znehodnocení vzorku mrazem nebo horkem (chladicí vložka v létě, vytemperování boxu na laboratorní teplotu v zimě). Krev v heparinu se zpracovává ihned, max. do 24 hod. po odběru.

Krevní sérum je možno skladovat při 2–8 °C 3 dny.

Omezení a interference:

Ke zkreslení výsledků může dojít při léčbě antiglobuliny (např. ATG) a terapeutickými monoklonálními protilátkami (např. Campath) = falešná pozitivita reakcí nebo při léčbě cytostatiky, kortikoidy apod. (falešná negativita reakcí).

Doba odezvy:

Výsledky jsou odesílány pracovníky laboratoře bezprostředně po vyhodnocení a uvolnění odpovědným pracovníkem laboratoře, při pozitivním výsledku vyžadujícím dovyšetření do 3 dnů.

Vyhodnocování a evidence výsledků:

Účelem crossmatch testu je zjistit, zda v séru pacienta nejsou přítomny lymfocytotoxické, na komplementu závislé anti-HLA protilátky specifické pro potencionálního dárce.

Reakce se odečítají mikroskopicky a zapisují se do pracovního listu.

Screening, ev. identifikace anti-HLA protilátek

Název vyšetření na žádance: Vyšetření HLA protilátek/ Pacient před HSCT s nepříbuzným dárce: HLA protilátky

Vyšetřovaný materiál: srážlivá krev pacienta

Odběr: systém Vacutainer bez aditiv

Periferní plná krev pacienta (příjemce) se odebírá v množství min. 2 ml k separaci séra.

Manipulace s materiálem (transport):

V případě, že transport probíhá z objektivních důvodů déle než 12 hod. nebo za teploty vyšší než 25 °C, je nutné vzorky dodat v chladicím boxu nejdéle do 48 hod. po odběru. Při extrémních vnějších teplotách je nutné zajistit transport vzorku v boxech zamezujících znehodnocení vzorku mrazem nebo horkem (chladicí vložka v létě, temperování boxu na laboratorní teplotu v zimě).

Krevní sérum je možno skladovat při 2–8 °C 3 dny, při zamražení na –10 °C až - 30 °C 6 měsíců.

Omezení a interference:

Ke zkreslení výsledků může dojít při léčbě pacienta antiglobuliny (např. ATG) a terapeutickými monoklonálními protilátkami (např. Campath) = možná falešná pozitivita reakcí.

Doba odezvy:

Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
Laboratoř HLA serologie	233_LP_15_01

Výsledky jsou kompletovány v průběhu 2-3 týdnů.

Výsledky jsou odesílány bezprostředně po vyhodnocení lymfocytotoxického testu a testů pevné fáze. Následná interpretace dle souvisejících výsledků vyšetření HLA.

Vyhodnocování a evidence výsledků:

Účelem lymfocytotoxického testu je zjistit, zda jsou v séru pacienta přítomny lymfocytotoxické, na komplementu závislé anti-HLA protilátky.

Reakce se odečítají mikroskopicky a zapisují se do pracovního protokolu.

Účelem testů pevné fáze na multiplexním imunoanalyzátoru (Luminex) je zjistit, zda jsou v séru pacienta přítomny anti-HLA protilátky. Dle typu použitého testu pevné fáze rozlišujeme pro screening anti-HLA protilátek I. a II. třídy výsledek pozitivní/hraniční/negativní. Při použití identifikačního testu pevné fáze je možné určit profil pozitivních/hraničních a negativních specifit anti-HLA protilátek I. a/nebo II. třídy.

Reakce jsou vyhodnocovány specializovaným softwarem, výsledky kontroluje pověřená laborantka a interpretuje pověřený VŠ nebo lékař.

U pacientů před HSCT je přítomnost protilátek anti-HLA I. a II. třídy testována i pomocí identifikačních testů pevné fáze Luminex a vyhodnocena s důrazem na detekci donor specifických protilátek (DSA) proti neshodným HLA antigenům dárce.

Příloha č. 1

Tabulka odběrových systémů

Uzavřený systém – firma SARSTEDT

		OBJEM	PŘÍSLUŠENSTVÍ	POUŽITÍ
Zkumavka s bílým uzávěrem		5,5 ml 7,5 ml krve	Zkumavka s aktivátorem srážení vč. Granulátu	Biochemická vyšetření
Zkumavka s červenou zátkou		2,7 ml krve	Zkumavka s K ₃ EDTA	Hematologické testy. Vyšetření z nesrážlivé krve
Zkumavka se zelenou zátkou		3 ml 5 ml krve	Zkumavka s Na citrát 3,13 % (1:10)	Koagulační testy
Zkumavka s oranžovou zátkou		3 ml	Zkumavka s Li heparin	Hematologické testy

Dokument zobrazený na [portále SMK](#) je aktuálně platnou verzí, po vytištění slouží pouze pro informativní účely.

Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
Laboratoř HLA serologie	233_LP_15_01

		7,5 ml		
		krve		
Zkumavka zátkou	s fialovou 	1 ml krve	Zkumavka s Na citrát 3,8%, sedimentační kalibrovaná kapilára	Sedimentace

Otevřený systém – firma Dispolab – systém MEUS

		OBJEM	PŘÍSLUŠENSTVÍ	POUŽITÍ
Zkumavka s bílým uzávěrem 		10 ml, 5 ml krve	Zkumavka s granulovaným separátorem a akcelerátorem	Biochemická a serologická vyšetření,
Zkumavka uzávěrem	se zeleným 	2,5 ml 0.5-1 ml krve	K ₃ EDTA	Krevní obraz,
Zkumavka uzávěrem	se žlutým 	5 ml krve	0,5 ml citrátu sodného	Koagulační vyšetření
Zkumavka uzávěrem	se žlutým 	2 ml krve	0,2 ml Na citrát. Sedimentační kalibrovaná kapilára, sedimentační stojan	Sedimentace
Zkumavka uzávěrem	s růžovým 	2,5 ml krve	0,25 ml Na citrát	Dětské odběry na koagulace
Konická, kalibrovaná zkumavka se žlutým uzávěrem – moče			12 ml moče	Biochemické vyšetření moče
Sterilní zkumavka s červeným uzávěrem 			10 ml moče	Mikrobiologické vyšetření moče

Polouzavřený systém – firma Dispolab – systém TAPVAL

		OBJEM	PŘÍSLUŠENSTVÍ	POUŽITÍ
Zkumavka zátkou	s červenou 	10 ml 7 ml 2 ml krve	Zkumavka s granulovaným separátorem a akcelerátorem	Biochemická a serologická vyšetření.

Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
Laboratoř HLA serologie	233_LP_15_01

Zkumavka s fialovou zátkou		0,5 ml krve	K ₃ EDTA	Dětské odběry na krevní obraz
Zkumavka zátkou	s modrou 	1 ml krve	Citrát Na 1:10	Dětské odběry na koagulace
Zkumavka zátkou	s černou 	1 ml krve	Zkumavka s citrátem, sedimentační kalibrovaná kapilára, sedimentační stojan	Sedimentace

Uzavřený systém – firma Terumo, distribuce Dispolab – systém VENOSAFE

		OBJEM	PŘÍSLUŠENSTVÍ	POUŽITÍ
Zkumavka červenou zátkou	s tmavě 	5.5 ml 9 ml krve	Zkumavka s aktivátorem srážení	Biochemická a serologická vyšetření.
Zkumavka zátkou	s fialovou 	3 ml krve	Zkumavka s K ₃ EDTA	Hematologie, biochemie – vyšetření z plazmy
Zkumavka zátkou	s modrou 	2,7 ml krve	Zkumavka s Na citrát 3,8 %	Koagulační testy
Zkumavka zátkou	s černou 	2,4 ml krve	Zkumavka s Na citrát 3,8 %, Sedimentační kalibrovaná kapilára, sedimentační kalibrovaný stojan	Sedimentace

Rozdělovník

Číslo výtisku	Uložení
1	Portál SMK
2.	WEB ÚHK

Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
Laboratoř HLA serologie	233_LP_15_01

3.	Jitka Šimáčková
----	-----------------