

Název dokumentu: Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
ODDĚLENÍ HLA	13900_LP_15_01

Zpracovatel:	Bc. J. Nedvědová, Ing. Milena Vraná		
Přezkoumal a schválil:	Ing. Milena Vraná		
Garant dokumentu:	Ing. Milena Vraná		
Platnost od:	01.06.2026	Uvolněno pro systém:	Hana Feixová
Výtisk č:	2	Počet stran:	17
Verze:	A10	Přijato do evidence:	01.06.2026

SEZNAM ZMĚN A REVIZÍ ŘÍZENÉHO DOKUMENTU

Platnost od:	Verze	Obsah změny/ revize	Schválení revize
01.03.2016	A2	Změna v příloze 01 - změna rozlišení typizace lokusu HLA-DQB1 z high resolution na low resolution	V. Šiffnerová
30.06.2016	A2	Beze změn	Ing. M. Vraná
30.06.2018	A3	Doplnění postupů C a D do související dokumentace, bod 10.1.3 odstranění primárního materiálu a DNA - nehty	Ing. M. Vraná
28.06.2019	A3	Pravidelná revize- beze změn	Ing. M. Vraná
01.03.2021	A4	Změna loga UHKT a verze u tohoto dokumentu a jeho přílohy.	Ing. M. Vraná
10.05.2022	A5	Aktualizace provozní doby laboratoře, tel. čísel, aktualizace typu primárního vzorku pro vyšetření CHIM (vyřazení nehtů), vyšetřovaného lokusu HLA-DPB1.	Ing. M. Vraná
13.02.2023	A6	Změna zástupce vedoucí, změna adresy oddělení, odstranění všech údajů o laboratoři chimerizmu, změna provozní doby oddělení.	Ing. M. Vraná
20.6.2023	A7	Doplnění obsahu dokumentu str. 2-3, upřesnění o nevydávání výsledků u vzorků bez informovaného souhlasu str. 6 a doplnění vydávání výsledků z HLA Databáze a HLA Orpheus str. 15-16.	Ing. M. Vraná

Název dokumentu: Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
ODDĚLENÍ HLA	13900_LP_15_01

18.4.2024	A8	Aktualizace obsahu dokumentu str. 2-3, změna stáří dodaného vzorku ze 2 na 10 dní a upřesnění přepravní teploty str. 7, doplnění pupečnickové krve do primárních vzorků str. 11, smazána kapitola „Odběry pacientů s nedostatečným množstvím jaderných buněk v krvi“ a „Pokyny pro provedení kožní biopsie pro dlouhodobou kultivaci fibroblastů“ str. 11-12. Doplnění vět o „informovaný souhlas“ a prodloužení doby dodání výsledku z 10 na 15 dní str. 11, 13 a 14.	Ing. M. Vraná
31.3.2025	A9	Zpracování požadavků normy ČSN EN ISO 15189:2023, oprava alely u predispozice celiakie str. 13, oprava znění bodu v žádance pro vyšetření celiakie a narkolepsie str. 13, drobné úpravy slov a interpunkce, aktualizace obsahu dokumentu.	Ing. M. Vraná
1.6.2026	A10	Testování HLA-B*57:01 nyní pouze na vyžádání zadavatele str. 15. Oprava související dokumentace str. 16.	Ing. M. Vraná

Obsah

SEZNAM ZMĚN A REVIZÍ ŘÍZENÉHO DOKUMENTU.....	1
ÚVOD.....	4
VŠEOBECNÉ INFORMACE O ODDĚLENÍ.....	4
ZÁKLADNÍ INFORMACE O ODDĚLENÍ	4
ZAČLENĚNÍ ODDĚLENÍ V ORGANIZAČNÍ STRUKTUŘE ÚHKU A VEDENÍ ODDĚLENÍ.....	5
Vedení oddělení:.....	5
ZAMĚŘENÍ ODDĚLENÍ	5
ORGANIZACE ODDĚLENÍ, VNITŘNÍ ČLENĚNÍ A PŘÍSTROJOVÉ VYBAVENÍ	5
VEDENÍ:	6
SPEKTRUM NABÍZENÝCH VYŠETŘENÍ	6
ODBĚR PRIMÁRNÍCH VZORKŮ	6
POKYNY PRO ZÍSKÁVÁNÍ VZORKŮ PACIENTA	6
POKYNY PRO PŘÍPRAVU PACIENTA	6
POKYNY PRO VYPLNĚNÍ ŽÁDANKY	7
INFORMOVANÝ SOUHLAS S VYŠETŘENÍM	7
ODVOLÁNÍ INFORMOVANÉHO SOUHLASU S UCHOVÁNÍM VZORKU.....	7
POKYNY PRO ČINNOSTI PŘI ODBĚRU.....	7

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

Název dokumentu: Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
ODDĚLENÍ HLA	13900_LP_15_01

DODÁNÍ VZORKŮ NA ODDĚLENÍ A PODMÍNKY TRANSPORTU	7
ZÁKLADNÍ INFORMACE K BEZPEČNOSTI PŘI PRÁCI SE VZORKY	8
ZPRACOVÁNÍ PRIMÁRNÍCH VZORKŮ PŘED DODÁNÍM NA ODDĚLENÍ	8
FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ VYŠETŘENÍ	9
KRITERIA PRO PŘIJETÍ A ODMÍTNUTÍ VZORKŮ	9
ODBORNÉ KONZULTACE	9
ŘEŠENÍ STÍŽNOSTÍ	10
OCHRANA INFORMACÍ	10
INFORMACE K NABÍZENÝM VYŠETŘENÍM	11
VYŠETŘENÍ GENOTYPU HLA (HUMAN LEUKOCYTE ANTIGENS) PRO POTŘEBY HSCT	11
Princip	11
Platnost postupu/faktory ovlivňující vyšetření	11
Typy vzorků, které lze pro vyšetření použít	11
Doba vydání výsledku	12
VYŠETŘENÍ GENOTYPU HLA PRO VAZBU S CHOROBAMI	12
Princip	12
Platnost postupu/faktory ovlivňující vyšetření	12
Celiakie	12
Narkolepsie	13
Další	14
Typy vzorků, které lze pro vyšetření použít	14
Doba vydání výsledku	14
VYŠETŘENÍ GENOTYPU HLA PRO FARMAKOGENETIKU	14
Princip	14
Platnost postupu/faktory ovlivňující vyšetření	15
Typy vzorků, které lze pro vyšetření použít	15
Doba vydání výsledku	15
VYDÁVÁNÍ VÝSLEDKŮ	15
Vydávání výsledků z HLA databáze	15
Vydávání výsledků z HLA ORPHEUS	16
ZBYTKOVÁ RIZIKA	16
SOUVISEJÍCÍ DOKUMENTACE	16
PŘÍLOHY	16

Název dokumentu: Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
ODDĚLENÍ HLA	13900_LP_15_01

ROZDĚLOVNÍK 17

ÚVOD

Oddělení HLA je ve struktuře Ústavu hematologie a krevní transfuze (ÚHKT) samostatným oddělením v rámci Výzkumného úseku a je součástí 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.

Oddělení HLA je od roku 2007 akreditováno u mezinárodní odborné organizace European Federation for Immunogenetics. V rámci této organizace se pravidelně úspěšně zúčastňujeme mezinárodních kontrol kvality práce pro všechna prováděná vyšetření.

Základním zaměřením oddělení jsou vyšetření pacientů a spojená s vyhledáváním vhodných dárců pro transplantaci hematopoetických kmenových buněk a sledování potransplantačního průběhu. Pro tyto účely provádíme genotypizaci HLA (Human Leukocyte Antigens) na úrovni vysokého rozlišení a testování KIR genů (killer cell immunoglobulin-like receptors).

Dále se specializujeme na testování vazby HLA s chorobami, především HLA geny spojené s rizikem celiakie. Pro tato vyšetření sloužíme jako referenční pracoviště, zajišťující koordinaci a výměnu informací s ostatními DNA laboratořemi v ČR. Poskytujeme konzultační služby a organizujeme mezilaboratorní porovnávání zkoušek. Všechna vyšetření jsou prováděna metodami molekulární genetiky. Oddělení HLA se zabývá i výzkumnou činností a slouží jako školicí pracoviště.

VŠEOBECNÉ INFORMACE O ODDĚLENÍ

Základní informace o oddělení

Název organizace: **Ústav hematologie a krevní transfuze**

Adresa organizace: **U Nemocnice 2094/1, 128 00 Praha 2**

web: **www.uhkt.cz**

IČO: **00023736**

Název oddělení: **Oddělení HLA**

Součást Komplementu laboratoří ÚHKT

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

Název dokumentu: Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
ODDĚLENÍ HLA	13900_LP_15_01

Adresa a umístění: Kateřinská 521/19, 120 00 Praha 2

Provozní doba oddělení: 7.00 – 14.00 hodin (pracovní dny, pondělí až pátek)

Začlenění oddělení v organizační struktuře ÚHKÚ a vedení oddělení

Oddělení HLA je samostatným oddělením v rámci Výzkumného úseku a je součástí Komplementu laboratoří ÚHKÚ.

Vedení oddělení:

Vedoucí Oddělení HLA: Ing. Milena Vraná

Telefon: 221 977 430

E-mail: Milena.Vrana@uhkt.cz

Zástupce vedoucí Oddělení HLA: Mgr. Radek Plachý

Telefon: 221 977 430

E-mail: Radek.Plachy@uhkt.cz

Zaměření oddělení

Oddělení se zabývá molekulárně genetickými analýzami vzorků periferní krve, kostní dřeně, eventuálně jiného biologického materiálu, převážně pacientů indikovaných k transplantaci hematopoetických kmenových buněk, vyhledáním vhodných dárců a sledováním potransplantačního průběhu. Dále jsou vyšetřovány HLA geny pro diagnostiku některých chorob, které jsou s nimi vázány.

Většina analýz je založena na různých typech polymerázové řetězové reakce (PCR) a na další práci s PCR produkty (sekvenování). Oddělení provádí základní molekulárně-genetická vyšetření, potřebná pro diagnostiku, prognostiku a sledování minimálního reziduálního onemocnění u vybraných onkohematologických onemocnění, určování genotypů hlavního histokompatibilitního systému člověka (HLA) pro účely transplantace hematopoetických kmenových buněk, pro predispozici k vybraným autoimunitním onemocněním a pro farmakogenetiku. Rovněž výzkumná činnost se týká převážně uvedených onemocnění.

Organizace oddělení, vnitřní členění a přístrojové vybavení

Všichni pracovníci oddělení mají vymezené odpovědnosti a pravomoci a jsou definovány instanční vztahy pracovníků. Oddělení je vedeno odborným vedoucím, který je členem vedení laboratoře a je zodpovědný za činnost oddělení po odborné i organizační stránce.

Pracovníci procházejí systémem kontinuálního vzdělávání a podléhají doзору přiměřeného jejich zkušenostem a odpovědnostem. Vedení oddělení odpovídá za vytváření a zajišťování takových technických zdrojů, které jsou nezbytné k zabezpečení požadované kvality prováděných vyšetření.

Název dokumentu: Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
ODDĚLENÍ HLA	13900_LP_15_01

Vedení:

Vedoucí Oddělení HLA: Ing. Milena Vraná

Telefon: 221 977 430 e-mail: Milena.Vrana@uhkt.cz

Zástupce vedoucí Oddělení HLA: Mgr. Radek Plachý

Telefon: 221 977 430 e-mail: Radek.Plachy@uhkt.cz

Oddělení má k dispozici prostory striktně rozdělené na práci v pre-PCR a post-PCR zóně, tak aby nemohlo dojít ke kontaminaci PCR produkty. Tyto zóny jsou jednoznačně definované prostorově a barevně. Všechny přístroje a pomůcky, jejichž výstupy mohou ovlivnit výsledky prováděných vyšetření, podléhají pravidelným kalibracím, validacím nebo ověřením.

Spektrum nabízených vyšetření

Vyšetření genotypu HLA (human leukocyte antigens) pro potřeby HSCT (hematopoietic stem cell transplantation) SOP 05

Vyšetření genotypu HLA pro vazbu s chorobami SOP 05

Vyšetření genotypu HLA pro farmakogenetiku SOP 05

Oddělení HLA nevyužívá služeb jiných laboratoří pro provádění nabízených vyšetření.

ODBĚR PRIMÁRNÍCH VZORKŮ

Pokyny pro získávání vzorků pacienta

Periferní krev a kostní dřeň se standardně odebírá do protisrážlivého roztoku EDTA, případně ACD. Nelze použít vzorky odebrané do heparinu (heparin inhibuje PCR reakce, vyšetření tedy nelze provést z takto odebraných vzorků).

Přesné požadavky na množství odebíraného materiálu je pro jednotlivá vyšetření v kapitole INFORMACE K NABÍZENÝM VYŠETŘENÍM.

Pro vyšetření lze přijímat i jiný biologický materiál dle specifikací uvedených pro jednotlivá vyšetření v kapitole INFORMACE K NABÍZENÝM VYŠETŘENÍM.

Každá zkumavka se vzorkem musí být náležitě označena identifikačními údaji vyšetřované osoby a datem odběru. Vzorky s řádně vyplněnou žádankou musí být dodány na Oddělení HLA, budova G, 6. patro.

Pokyny pro přípravu pacienta

Odběr periferní krve ani kostní dřeně pro provádění vyšetření nevyžaduje zvláštní přípravu pacienta před odběrem. Některá vyšetření nelze provést u pacientů po provedené alogenní transplantaci krvetvorných buněk a po infuzi dárcovských lymfocytů. Specifikace jsou uvedeny u jednotlivých vyšetření v kapitole INFORMACE K NABÍZENÝM VYŠETŘENÍM v části Platnost postupu/faktory ovlivňující vyšetření.

Název dokumentu: Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
ODDĚLENÍ HLA	13900_LP_15_01

Pokyny pro vyplnění žádanky

Ke každému provedenému odběru je třeba dodat řádně vyplněnou žádanku o vyšetření. Tu je možné najít na internetových stránkách www.uhkt.cz.

V žádance musí být náležitě identifikován lékař oprávněný indikovat vyšetření (včetně adresy klinického žadatele a jeho telefonního, ev. faxového spojení). Žádanka musí obsahovat jednoznačnou identifikaci vyšetřované osoby, včetně čísla zdravotní pojišťovny a číselného označení diagnóz, a údaj o datu a času odběru primárního vzorku.

Informovaný souhlas s vyšetřením

Veškerá vyšetření lze provést pouze na základě informovaného souhlasu pacienta. Bez dodaného informovaného souhlasu nejsou vydávány výsledky vyšetření tam, kde nehrozí riziko komplikací při zdržení výsledku. U pacientů před transplantací kostní dřeně a jejich dárců je zadavatel informován o nutnosti dodání informovaného souhlasu.

Požadavky na obsah informovaného souhlasu pro genetická vyšetření jsou specifikována odbornou společností SLG ČLS JEP. Informované souhlasy pro prováděná vyšetření 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 dle požadavků SLG ČLS JEP.

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. Zadávací 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.

Pokyny pro činnosti při odběru

Při provedení odběru musí být splněny tyto požadavky:

- Ověření totožnosti pacienta
- Ověření, že pacient splnil požadavky před vyšetřením
- Musí být proveden záznam o totožnosti osoby, která primární vzorek odebrala, datum a čas odběru

Dodání vzorků na oddělení a podmínky transportu

Vzorek musí být pro přepravu zabezpečen tak, aby nemohlo dojít k rozlití, potřísnění biologickým materiálem nebo jinému znehodnocení vzorku.

Název dokumentu: Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
ODDĚLENÍ HLA	13900_LP_15_01

Vzorek periferní krve/kostní dřeně by měl být doručen na oddělení co nejdříve po jeho odběru. Maximální doba uchování a transportu vzorků periferní krve/kostní dřeně je deset dní od náběru. Není zapotřebí zvláštních opatření pro transport, vzorek se pouze nesmí vystavit zahřátí (např. vystavení slunci, držení v ruce apod.). Přesahuje-li doba od náběru 3 hodiny, je vhodné vzorek transportovat při 2-8 °C. Při této teplotě je možné jej skladovat až 10 dní. Transport vzorku zajišťuje zadavatel a odpovídá za něj. Oddělení nekontroluje hodinu odběru. Systém vnitřní kontroly vyšetřovaných vzorků je totiž na oddělení nastaven tak, aby odhalil pochybení v kvalitě vyšetřovaného materiálu.

Specifikace uchování a přepravy pro jiný biologický materiál, který může být použit pro jednotlivá vyšetření, je uvedena v kapitole INFORMACE K NABÍZENÝM VYŠETŘENÍM.

Ke každému dodanému vzorku je třeba dodat řádně vyplněnou žádanku o vyšetření.

Vzorky jsou přijímány v provozní době oddělení, a to v pracovní dny v čase 7.00–14.00 hodin.

Možné chyby při skladování a transportu:

- použití nevhodné zkumavky
- použití nesprávného protisrážlivého činidla
- nedostatečné označení zkumavek s materiálem
- potřísnění zkumavky s materiálem (anebo průvodní žádanky) krví
- vystavení vzorku teplu, přímému slunečnímu světlu, nebo mrazu

Základní informace k bezpečnosti při práci se vzorky

Obecné zásady strategie bezpečnosti práce s biologickým materiálem vycházejí z příslušných právních předpisů a směrnic. 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.
- Žadanky ani vnější strana zkumavky nesmí být kontaminovány biologickým materiálem – toto je důvodem k odmítnutí vzorku.

Vzorky jsou přepravovány v uzavřených zkumavkách, které jsou vloženy do stojánku nebo přepravního kontejneru tak, aby během přepravy vzorku do laboratoře nemohlo dojít k rozlití, potřísnění biologickým materiálem nebo jinému znehodnocení vzorku.

ZPRACOVÁNÍ PRIMÁRNÍCH VZORKŮ PŘED DODÁNÍM NA ODDĚLENÍ

Na oddělení mohou být přijímány i vzorky, které byly připraveny z primárního vzorku v jiné laboratoři. K takovým vzorkům je třeba dodat žádanku na vyšetření od zadavatele a současně řádně vyplněnou PRŮVODKU VZORKU. Typy vzorků, které lze přijímat pro jednotlivá vyšetření, jsou uvedeny v kapitole INFORMACE K NABÍZENÝM VYŠETŘENÍM v části Typy vzorků, které lze pro vyšetření použít.

Formulář PRŮVODKA VZORKU je možné najít na internetových stránkách www.uhkt.cz. Všechny nádoby se vzorky připravenými v jiné laboratoři musí být označeny minimálně identifikačními údaji uvedenými

Název dokumentu: Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
ODDĚLENÍ HLA	13900_LP_15_01

v PRŮVODCE VZORKU. Značení zpracovaných vzorků musí být jednoznačné, aby nemohlo dojít k záměně s jinými vzorky.

FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ VYŠETŘENÍ

Předpokladem úspěšného vyšetření primárního vzorku je přítomnost dostatečného množství jaderných buněk v periferní krvi odebírané osoby (minimálně 1.5×10^6 leukocytů/ml). Požadavek dostatečnosti jaderných buněk platí i pro primární vzorky kostní dřeně. V případě hypocelularity periferní krve či kostní dřeně (zejména v raném období po alogenní HSCT a v průběhu chemoterapie) je žádoucí odebrat větší množství primárního vzorku příslušné tkáně, než je níže uvedeno.

KRITÉRIA PRO PŘIJETÍ A ODMÍTNUTÍ VZORKŮ

Na oddělení mohou být přijaty pouze vzorky, které splňují výše uvedená kritéria. Přehled postupu při nesplnění těchto kritérií uvádí následující tabulka.

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

Ve zvlášť výjimečných případech (např. z důvodu vitální indikace) lze vzorky potřísněné biologickým materiálem či vzorky s menším než doporučeným množstvím materiálu vyšetřit. Pracovník přijímající 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 a Protokolu o výsledku vyšetření.

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

Při přijímání nového odběru u dříve odmítnutých vzorků je nutné, aby zadavatel zaslal novou žádanku.

ODBORNÉ KONZULTACE

V případě potřeby jsou zákazníkům poskytovány další konzultace a návody v odborné oblasti související s prováděnými činnostmi.

Název dokumentu: Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
ODDĚLENÍ HLA	13900_LP_15_01

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.

Pracovníci Oddělení HLA nekomunikují přímo s pacienty. Výsledky prováděných vyšetření jsou předávány přímo ošetřujícímu lékaři (zákazníkovi), který je rovněž zodpovědný za další komunikaci s pacientem.

Zásadní informace a konzultace k prováděným vyšetřením podává především vedoucí oddělení. Informace a konzultace k jednotlivým vyšetřením podávají vedoucí příslušných pracovních skupin nebo jejich zástupci. Informace ke klinickým interpretacím prováděných vyšetření jsou v kompetenci příslušných lékařů. Informace týkající se technických detailů, především preanalytické fáze – tj. způsobu odběru, transportu vzorků apod. podávají všichni oprávnění pracovníci příslušných pracovních skupin.

Vedoucí oddělení je dostupná v laboratoři (tel. 221 977 430).

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 ÚHKU Vyřizování stížností.

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 pracovníci Oddělení HLA jsou si 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 ÚHKU. 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.
- Na oddělení 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.

Název dokumentu: Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
ODDĚLENÍ HLA	13900_LP_15_01

INFORMACE K NABÍZENÝM VYŠETŘENÍM

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.

VYŠETŘENÍ GENOTYPU HLA (HUMAN LEUKOCYTE ANTIGENS) PRO POTŘEBY HSCT

Princip

Odběr primárních vzorků se provádí pro účely získání DNA a stanovení přesného genotypu HLA pro potřebu stanovení shody mezi pacientem indikovaným k transplantaci hematopoetických kmenových buněk a jeho dárce.

Platnost postupu/faktory ovlivňující vyšetření

Příjem vzorků na genotypizaci není nutno objednávat. Pro provedení genotypizace je požadována indikace k HSCT.

Postup HLA vyšetření pro alloHSCT je uveden v příloze Algoritmus vyšetření HLA při vyhledávání dárce HSCT.

Bez této indikace bude provedena pouze izolace DNA. Požadovaná genotypizace bude z této DNA provedena bezprostředně po indikaci k HSCT na základě informace z indikačního semináře ÚHKT (u dospělých pacientů). Indikace k HSCT pro dětské pacienty je v kompetenci hlavního transplantologa transplantanční jednotky KDHO Motol.

Informace lze získat na telefonech 221 977 -307, -430 nebo -484 (interní linky ÚHKT).

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

DNA vyizolovaná z primárních vzorků je v laboratoři značena a uchována dle platných interních předpisů. Doba jejího uchování je neomezená. Tuto DNA lze po kontrole kvality (provedené interně) použít pro další genotypizaci HLA vyžádanou zadavatelem. Požadavky na taková vyšetření jsou přijímána na novém Protokolu o převzetí primárního vzorku (žádanka), na základě rozhodnutí interní indikační komise, případně telefonicky od hlavních zadavatelů (transplantologů ÚHKT a KDHO Motol, transplantančního koordinátora a koordinátorů registru nepříbuzných dárců)

Typy vzorků, které lze pro vyšetření použít

Primární vzorky:

- Periferní krev
- Kostní dřeň
- Stěr buněk z bukalní sliznice
- Pupečnicková krev

Název dokumentu: Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
ODDĚLENÍ HLA	13900_LP_15_01

Periferní krev se odebírá v množství 2 ml do protisrážlivého roztoku EDTA, případně ACD. Je nutné dostatečné množství jaderných buněk v krvi při odběru (min. $0,5 \times 10^9$ /l leukocytů, při nižším počtu leukocytů je třeba odebrat větší množství krve, cca 10 ml). Krev v EDTA je možno skladovat při 2-8 °C až 10 dní.

Zpracované vzorky:

- Fibroblasty kultivované z kožní biopsie
- DNA izolovaná ze somatických jaderných buněk
- DNA izolovaná z buněčných frakcí

Doba vydání výsledku

Běžná doba: 15 dnů od dodání vzorku

Statim: 3 dny od dodání vzorku

Uvedený počet dní znamená počet pracovních dnů od dodání primárního vzorku (odebraného dle této LP) s řádně vyplněnou žádankou a informovaným souhlasem pacienta do laboratoře do data uvolnění výsledku.

VYŠETŘENÍ GENOTYPU HLA PRO VAZBU S CHOROBAMI

Princip

Odběr primárních vzorků se provádí pro účely získání DNA a stanovení přesného genotypu HLA při diagnostice vybraných chorob (viz bod 8.8.2)

Platnost postupu/faktory ovlivňující vyšetření

Na našem pracovišti vyšetřujeme HLA pro vazbu především s chorobami uvedenými dále. Pro tato vyšetření pracujeme i jako referenční laboratoř, tj. organizujeme kontroly kvality, poskytujeme konzultace a konfirmační vyšetření u nejasných výsledků.

Celiakie

Celiakie je geneticky podmíněné autoimunitní onemocnění. Základním předpokladem vzniku celiakie je přítomnost specifických HLA epitopů, které vážou gliadinové zbytky z lepku přijímaného v potravě a tím spouštějí vlastní onemocnění. Genotyp HLA většiny pacientů s celiakií obsahuje HLA-DQA1*05 a HLA-DQB1*02 (cca 95 %) nebo HLA-DQA1*03:01 a DQB1*03:02. U osob, které nemají žádnou z těchto HLA-DQ alel, je diagnóza celiakie nepravděpodobná, to znamená, že vyšetření má vysokou senzitivitu (96%). Proto hlavní význam HLA-DQ typizace pro tuto diagnózu je vyloučení choroby u osob bez predisponujících alel.

Uvedené genotypy HLA se však vyskytují i u zdravých osob (cca 20 % zdravé populace ČR). Z toho plyne, že přítomnost HLA-DQA1*05 – DQB1*02 (DQ2) nebo HLA-DQA1*03:01 – DQB1*03:02 (DQ8) nelze interpretovat jako potvrzení této diagnózy bez dalších vyšetření. Dle doporučení Evropské společnosti pro dětskou gastroenterologii, hepatologii a výživu (ESPGHAN) z roku 2012 u pacientů s přesvědčivým klinickým obrazem a vysokou pozitivitou protilátek (TG 2 IgA > 10x nad normu), pozitivita HLA-DQA1*05 – DQB1*02 (DQ2) nebo HLA-DQA1*03:01 – DQB1*03:02 (DQ8) umožňuje stanovit diagnózu celiakie bez bioptického vyšetření. Tento postup je však v ČR v současné době ve stadiu ověřování platnosti.

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

Název dokumentu: Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
ODDĚLENÍ HLA	13900_LP_15_01

V odborné literatuře je sporadicky uváděna diagnóza celiakie i u pacientů, kteří mají přítomnu pouze jednu z predispozičních alel (nejčastěji HLA-DQA1*05 + DQB1*XX – vše kromě *02). U osob s takovým genotypem proto nelze diagnózu celiakie vyloučit ani potvrdit.

Výhody vyšetření HLA pro diagnostiku celiakie:

- vyšetření se provádí jednou za život
- odběr biologického materiálu nezatěžuje pacienta
- výsledek vyšetření neovlivňuje bezlepková dieta
- nepřítomnost žádné z predisponujících alel (HLA-DQA1*05/ DQB1*02; DQA1*03:01/ DQB1*03:02) umožňuje vyloučit onemocnění celiakie bez biotického vyšetření

Žádanka o vyšetření a postup pro odběr vzorků, uvedený v Laboratorní příručce (LP), je společný pro všechna vyšetření HLA genotypu. Z nabídky požadovaného vyšetření na žadance vyberte: „HLA-DQA1/DQB1 pro diagnostiku celiakie“.

Narkolepsie

Neurologické onemocnění s prevalencí 0,02 - 0,067 %, v ČR podle epidemiologického odhadu existuje cca 2500-5000 osob s touto chorobou. Jedná se pravděpodobně o autoimunitní onemocnění s určitým dědičným sklonem nastartované vnějším faktorem (např. streptokoková infekce), namířené proti hypocretinovým neuronům, které mají budivou funkci.

Narkolepsie s kataplexií vzniká vymizením hypocretinových neuronů jednorázovým autoimunitním procesem, ve kterém HLA systém hraje výraznou roli. HLA-DQB1*06:02 je přítomen u 85–100 % pacientů s diagnózou narkolepsie s kataplexií. Většina těchto pacientů je současně HLA-DQB1*06:03 negativních.

Narkolepsie bez kataplexie je předmětem studie mechanismů vzniku. U této diagnózy je vazba s HLA-DQB1 předmětem celosvětových studií.

Vyšetření přítomnosti HLA-DQB1*06:02 a DQB1*06:03 je v naší laboratoři prováděno na úrovni genotypizace.

Žádanka o vyšetření a postup pro odběr vzorků, uvedený v Laboratorní příručce (LP), je společný pro všechna vyšetření HLA genotypu. Z nabídky požadovaného vyšetření na žadance vyberte: „HLA-DQB1*06:02 pro diagnostiku narkolepsie“.

HLA-B*27 – spojeno s Morbus Bechtěrev, Reiterovým syndromem (reaktivní artritida), juvenilní revmatoidní artritidou s uveitidou

HLA-B*27 se vyskytuje přibližně u 7 % obyvatel České republiky.

U **Morbus Bechtěrev** jej lze prokázat až v 90 % případů. Pravděpodobnost onemocnění Morbus Bechtěrev je až 300krát vyšší oproti osobám, které tento antigen nemají. Přítomnost HLA-B*27 však ještě neznamená, že nositel bude Bechtěrevovou nemocí postižen, jedná se pouze o zvýšené riziko.

Reiterův syndrom (reaktivní artritida) – u jedinců HLA-B*27 pozitivních je vyšší riziko vzniku této choroby, nicméně testování tohoto znaku není součástí doporučených vyšetření.

Název dokumentu: Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
ODDĚLENÍ HLA	13900_LP_15_01

Juvenilní revmatoidní artritida spojená s uveitidou, v takových případech spojeno s HLA-B*27 pozitivitou. Testování tohoto znaku je pro tuto diagnózu doporučeno jako doplňkové vyšetření.

Vyšetření přítomnosti HLA-B*27 je v naší laboratoři prováděno na úrovni genotypizace.

Žádanka o vyšetření a postup pro odběr vzorků, uvedený v Laboratorní příručce (LP), je společný pro všechna vyšetření HLA genotypu. Z nabídky požadovaného vyšetření na žádance vyberte: „HLA-B*27 pro diagnostiku revmatoidních onemocnění a dalších souvisejících diagnóz“.

Další

Na základě požadavku lze provést genotypizaci kteréhokoliv vybraného znaku HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQA1, -DQB1 a -DPB1.

V případě zájmu o vyšetření dalších HLA znaků ve vazbě s chorobami, kontaktujte prosím Ing. Milenu Vranou telefonicky nebo e-mailem.

Typy vzorků, které lze pro vyšetření použít

Primární vzorky:

- Periferní krev
- Stěr buněk z bukalní sliznice

Periferní krev se odebírá v množství 2 ml do protisrážlivého roztoku EDTA, případně ACD. Je nutné dostatečné množství jaderných buněk v krvi při odběru (min. $0,5 \times 10^9$ /l leukocytů, při nižším počtu leukocytů je třeba odebrat větší množství krve, cca 10 ml). Krev v EDTA je možno skladovat při 2-8 °C až 10 dní.

Zpracované vzorky:

- DNA izolovaná ze somatických jaderných buněk
- DNA izolovaná z buněčných frakcí

Doba vydání výsledku

Běžná doba: 15 dnů od dodání vzorku

Statim: 3 dny od dodání vzorku

Uvedený počet dní znamená počet pracovních dnů od dodání primárního vzorku (odebraného dle této LP) s řádně vyplněnou žádankou a informovaným souhlasem pacienta do laboratoře do data uvolnění výsledku.

VYŠETŘENÍ GENOTYPU HLA PRO FARMAKOGENETIKU

Princip

Odběr primárních vzorků se provádí pro účely získání DNA a stanovení přesného genotypu HLA pro prevenci hypersensitivní reakce před podáním Abacaviru, případně pro další účely (viz 8.9.2).

Název dokumentu: Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
ODDĚLENÍ HLA	13900_LP_15_01

Platnost postupu/faktory ovlivňující vyšetření

Studium HLA systému začíná být i důležitým nástrojem farmakogenetiky, kdy HLA znak může predikovat odpovídavost/neodpovídavost či senzitivitu pacienta na podání léčebného preparátu.

V současné době testujeme přítomnost HLA-B*57:01 u HIV+ pacientů před podáním Abacaviru pro vyloučení hypersenzitivní reakce na tento lék pouze na vyžádání klinického zadavatele. Typizace je prováděna z dodané DNA vyšetřovaných pacientů.

Na základě požadavku lze provést genotypizaci kteréhokoliv vybraného znaku HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQA1, -DQB1 a -DPB1.

V případě zájmu o vyšetření dalších HLA znaků, kontaktujte prosím Ing. Milenu Vranou telefonicky nebo e-mailem.

Typy vzorků, které lze pro vyšetření použít

Primární vzorky:

- Periferní krev
- Stěr buněk z bukalní sliznice

Periferní krev se odebírá v množství 2 ml do protisrážlivého roztoku EDTA, případně ACD. Je nutné dostatečné množství jaderných buněk v krvi při odběru (min. $0,5 \times 10^9/l$ leukocytů, při nižším počtu leukocytů je třeba odebrat větší množství krve, cca 10 ml). Krev v EDTA je možno skladovat při 2-8 °C až 10 dní.

Zpracované vzorky:

- DNA izolovaná ze somatických jaderných buněk
- DNA izolovaná z buněčných frakcí

Doba vydání výsledku

Běžná doba: 15 dnů od dodání vzorku

Statim: 3 dny od dodání vzorku

Uvedený počet dní znamená počet pracovních dní od dodání primárního vzorku (odebraného dle této LP) s řádně vyplněnou žádankou a informovaným souhlasem pacienta do laboratoře do data uvolnění výsledku.

VYDÁVÁNÍ VÝSLEDKŮ

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.

Vydávání výsledků z HLA databáze

Po provedení testů jsou dosažené výsledky zadány do HLA Databáze <https://hla.uhkt.cz>, umístěné na serveru ÚHKT a pravidelně zálohované.

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

Název dokumentu: Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
ODDĚLENÍ HLA	13900_LP_15_01

Vydávání výsledků zadavateli vyšetření je provedeno automaticky v elektronické formě při uzamčení Protokolu o výsledku po kontrole odpovědným pracovníkem (vedoucí laboratoře, zástupce vedoucí laboratoře). Na ověřenou emailovou adresu zadavatele je odeslán email s výsledky v heslem uzamčeném PDF formátu. Výsledky jsou vydávány zadavateli a dalším oprávněným osobám uvedeným na Protokolu.

Výsledky nejsou sdělovány telefonicky. O opakované elektronické zaslání uzamčených výsledků zadavateli (či o jejich zaslání poštou) lze požádat telefonicky. O telefonním hovoru se zadavatelem je proveden záznam v Evidenci telefonních rozhovorů se zadavateli.

Protokoly o výsledku obsahují odkaz na příslušný standardní operační postup (SOP).

Vydávání výsledků z HLA ORPHEUS

Po provedení testů jsou dosažené výsledky zadány do programu HLA ORPHEUS. Po kontrole odpovědným pracovníkem (vedoucí laboratoře, zástupce vedoucí laboratoře) jsou uvolněny v elektronické formě.

Výsledky nejsou sdělovány telefonicky. O opakované elektronické zaslání uzamčených výsledků zadavateli (či o jejich zaslání poštou) lze požádat telefonicky. O telefonním hovoru se zadavatelem je proveden záznam v Evidenci telefonních rozhovorů se zadavateli.

Protokoly o výsledku obsahují odkaz na příslušný standardní operační postup (SOP).

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.

SOUVISEJÍCÍ DOKUMENTACE

NRL_05_SOP_14_01 POSTUP A: VYŠETŘENÍ GENOTYPU HLAVNÍHO HISTOKOMPATIBILNÍHO SYSTÉMU ČLOVĚKA – HLA METODOU PCR-SSP

NRL_05_SOP_14_01 POSTUP C: VYŠETŘENÍ GENOTYPU HLAVNÍHO HISTOKOMPATIBILNÍHO SYSTÉMU ČLOVĚKA – HLA METODOU REAL-TIME PCR

NRL_05_SOP_14_01 POSTUP D: VYŠETŘENÍ GENOTYPU HLAVNÍHO HISTOKOMPATIBILNÍHO SYSTÉMU ČLOVĚKA – HLA METODOU MASIVNĚ PARALELNÍHO SEKVENOVÁNÍ (VYŠETŘENÍ HLA - NGS)

NRL_05_SOP_14_01 POSTUP E: VYŠETŘENÍ GENOTYPU HLAVNÍHO HISTOKOMPATIBILNÍHO SYSTÉMU ČLOVĚKA – HLA METODOU NANOPÓROVÉHO SEKVENOVÁNÍ NGS

13900_F_15_03 ŽÁDANKA O VYŠETŘENÍ GENOTYPU HLA A SOUVISEJÍCÍCH GENŮ

13900_F_15_05-07 INFORMACE PRO PACIENTY

F_SMJ_87 INFORMOVANÝ SOUHLAS - GENETICKÉ LABORATORNÍ VYŠETŘENÍ

PŘÍLOHY

13900_LP_15_01 příloha 01 Algoritmus vyšetření HLA při vyhledávání dárce HSCT

Název dokumentu: Laboratorní příručka	 Ústav hematologie a krevní transfuze
ODDĚLENÍ HLA	13900_LP_15_01

ROZDĚLOVNÍK

Číslo výtisku	Uložení
1	Portál SMK
2.	WEB ÚHKT