

Seznam vyšetření

Pracoviště Brno **Bauerova** Laboratoř molekulární diagnostiky

Skladování vzorků do transportu: Všechny vzorky na vyšetření pomocí metody PCR jsou stabilní při skladování v lednici (2-8°C) po dobu 1-3 dnů. RNA viry (HCV, HIV, HEV, Enteroviry, Influenza, TBEV, SARS-CoV-2) jsou stabilní při skladování v lednici (2-8°C) po dobu 1 dne. V případě potřeby delšího skladování je nutno vzorky zmrazit (-20°C), vzorky na SARS-CoV-2 při -70°C. V případě použití konzervačního média, např. při vyšetření urogenitálních patogenů (*Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma*, *Ureaplasma*, HPV, aj.) jsou vzorky stabilní až půl roku při pokojové teplotě. Vzorky periferní krve na vyšetření lidského genomu jsou stabilní při skladování v lednici (2-8°C) po dobu 3-6 dnů.

Genetická vyšetření lidského genomu

Detekce mutací a polymorfismů trombofilních faktorů

Faktor II – stanovení mutace G20210A metodou real-time PCR

Faktor V (Leiden) – stanovení mutace G1691A (Arg506Gln) metodou real-time PCR

MTHFR (C677T) – stanovení mutace C677T (Ala222Val) metodou real-time PCR

MTHFR (A1298C) – stanovení mutace A1298C (Glu429Ala) metodou real-time PCR

Faktor XIII – stanovení mutace Val34Leu metodou real-time PCR

Faktor PAI-1 – stanovení polymorfismu 4G/5G metodou real-time PCR

Vyšetřovaný materiál: 1) nesrážlivá krev (EDTA)

2) vyizolovaná genomová DNA z periferní krve (v TE nebo TB pufru)

Stabilita vzorku: 1) 2-8°C týden

2) 2-8°C měsíc, -20°C neomezeně

Doba odezvy: 1-10 dní

Druh veličiny: přítomnost/nepřítomnost mutace

Hodnocení: wild type = negativní - nebyla detekována mutace

heterozygot = byla detekována mutace v heterozygotní formě (na 1 alele genu)

mut. homozygot = byla detekována mutace v homozygotní formě (na obou alelách genu)

složený heterozygot = byly detekovány dvě mutace v heterozygotní formě

Komentář:

Mutace ve faktoru II (G20210A) má za následek zvýšené množství prothrombinu v krevní plasmě, což způsobuje náchylnost k tvorbě krevních sraženin. Uvádí se, že riziko hlubokožilní trombózy je v případě mutace zvýšeno 2x-3x, riziko opakovaných trombáz dokonce 6x. V součinnosti s dalšími rizikovými faktory a vnějšími vlivy (Leidenská mutace, mutace v MTHFR genu, dlouhodobá nepohyblivost, hormonální antikoncepcie) je tato mutace příčinou zvýšeného výskytu infarktu myokardu, mozkové mrtvice, pooperačních trombáz a komplikací v průběhu těhotenství a porodu.

Mutace ve faktoru V (A506G, G1691A, tzv. Leidenská mutace) vede ke tvorbě proteinu rezistentního ke štěpení aktivovaným proteinem C (APC-R). Následkem je nepřiměřená aktivace prothrombinu a náchylnost ke tvorbě krevních sraženin. Uvádí se, že riziko hlubokožilní trombózy je v případě mutace v heterozygotním stavu zvýšeno 3x-10x, v homozygotním stavu dokonce 20x-80x. V součinnosti s dalšími rizikovými faktory a vnějšími vlivy (mutace ve faktoru II, mutace v MTHFR genu, dlouhodobá nepohyblivost, hormonální antikoncepcie) je tato mutace příčinou zvýšeného výskytu infarktu myokardu, mozkové mrtvice, pooperačních trombáz a komplikací v průběhu těhotenství a porodu. Kombinace orálních contraceptiv s Leidenskou mutací zvyšuje riziko žilních trombáz 30x-100x.

Přítomnost mutace v genu MTHFR vede ke snížení aktivity enzymu, který je tímto genem kódován. Důsledkem je zvýšená hladina homocysteinu v krvi a naopak nedostatek metioninu. Nadbytek homocysteinu negativně ovlivňuje plazmatické bílkoviny i cévní stěnu, což přispívá k rozvoji aterosklerózy a trombózy. Trombotické komplikace zapříčiněné mutací v genu MTHFR se se projeví především v součinnosti s dalšími rizikovými faktory (kombinace mutace C677T a A1298C v genu MTHFR, mutace ve faktoru II, Leidenská mutace, dlouhodobá imobilizace, hormonální antikoncepcie). Vliv mutací přitom roste s počtem postižených alel v genotypu jedince. Přítomnost většího počtu mutací genu MTHFR je spojována s Alzheimerovou chorobou, se sníženou životaschopností plodu, s rozvojem neplodnosti u mužů i výskytem diabetes mellitus II. typu. Aktivita enzymu u heterozygotů C677T dosahuje 60% oproti jedinci bez mutace, u homozygotů je to pouze 30-40%. U homozygotů pro mutaci A1298C je pak aktivita enzymu na úrovni 60-70%.

Seznam vyšetření

Pracoviště Brno **Bauerova Laboratoř molekulární diagnostiky**

Polymorfismus V34L ve faktoru XIII má protektivní charakter a je spojován se sníženým rizikem žilní trombózy či infarktu myokardu. Tento polymorfismus totiž umožňuje lehké fibrinolýzu. Nicméně přítomnost této mutace zvyšuje u žen riziko opakovaných potratů v prvním trimestru, což bylo zjištěno i v souvislosti s mutací PAI-1 (4G/5G).

Polymorfismus 4G/5G v genu PAI-1 se významně projevuje na změně míry transkripční aktivity tohoto genu. Jeho hlavní funkcí je přítom inhibice plasminogenových aktivátorů tkáňového a urokinázového typu, které podporují fibrinolýzu. Alela 4G je asociována s nárůstem exprese genu PAI-1, a tedy sníženou mírou fibrinolýzy. Homozygoti pro alelu 4G mají oproti homozygotům pro alelu 5G zvýšenou hladinu PAI-1 až o 25%. Alela 4G je tudiž v případě přítomnosti dalších trombofilních mutací (mutace ve faktoru II, Leidenská mutace, mutace v genu MTHFR) rizikovým faktorem pro vznik trombóz. Jedinci nesoucí tuto alelu v homozygotní formě mají až 2x vyšší riziko infarktu myokardu a až 6x vyšší riziko vzniku septického šoku při meningokokové infekci. Nositelé alely 4G genu PAI-1 mají také zvýšené riziko pooperačních trombóz. U žen je zvýšené riziko komplikací v těhotenství a při porodu.

Stanovení alely HLA-B*27

Alela HLA-B*27: stanovení alely HLA-B27 metodou real-time PCR

Vyšetřovaný materiál: 1) nesrážlivá krev (EDTA)

2) vyizolovaná genomová DNA z periferní krve (v TE nebo TB pufru)

Stabilita vzorku: 1) 2-8°C týden

2) 2-8°C měsíc, -20°C neomezeně

Doba odezvy: 1-10 dní

Druh veličiny: přítomnost/nepřítomnost alely

Hodnocení: pozitivní = přítomnost alely (predispozice k ankylozující spondylitidě – Bechtěrevova nemoc)
negativní = nepřítomnost alely

HLA typizace DQ2, DQ8 – vyšetření genetické predispozice k celiakii

Heterodimer DQ2 a DQ8: stanovení alel metodou SSP-PCR

Vyšetřovaný materiál: 1) nesrážlivá krev (EDTA)

2) vyizolovaná genomová DNA z periferní krve (v TE nebo TB pufru)

Stabilita vzorku: 1) 2-8°C týden

2) 2-8°C měsíc, -20°C neomezeně

Doba odezvy: 1-10 dní

Druh veličiny: přítomnost/nepřítomnost rizikových alel

Hodnocení:

Přítomnost alel asociovaných s predispozicí k celiakii

1) přítomnost alel: DQA1*0501/DQB1*0201 (serologický ekvivalent DQ2.5 pozitivní)

Komentář: U pacienta byly nalezeny alely DQA1 a DQB1 lokusů asociované s celiakii.
NALEZENÝ GENOTYP HLA JE ASOCIOVANÝ S RIZIKEM CELIAKIE.

Vzhledem ke genetickému riziku predispozice k celiakii doporučujeme vyšetřit i příbuzné prvního stupně (rodiče, děti, sourozence).

Upozornění: Tento výsledek nelze samostatně interpretovat jako potvrzení celiakie. Diagnózu je potřeba potvrdit stanovením protilátek či dalšími diagnostickými postupy.

2) přítomnost alel: DQA1*0201/DQB1*0202, DQA1*0505/DQB1*0301 (serologický ekvivalent DQ2.5 pozitivní)

Komentář: U pacienta byly nalezeny alely DQA1 a DQB1 lokusů asociované s celiakii.
NALEZENÝ GENOTYP HLA JE ASOCIOVANÝ S RIZIKEM CELIAKIE.

Vzhledem ke genetickému riziku predispozice k celiakii doporučujeme vyšetřit i příbuzné prvního stupně (rodiče, děti, sourozence).

Upozornění: Tento výsledek nelze samostatně interpretovat jako potvrzení celiakie. Diagnózu je potřeba potvrdit stanovením protilátek či dalšími diagnostickými postupy.

3) přítomnost alel: DQA1*0301/DQB1*0302 (serologický ekvivalent DQ8 pozitivní)

Komentář: U pacienta byly nalezeny alely DQA1 a DQB1 lokusů asociované s celiakii.
NALEZENÝ GENOTYP HLA JE ASOCIOVANÝ S RIZIKEM CELIAKIE.

Vzhledem ke genetickému riziku predispozice k celiakii doporučujeme vyšetřit i příbuzné prvního stupně (rodiče, děti, sourozence).

Seznam vyšetření

Pracoviště Brno **Bauerova Laboratoř molekulární diagnostiky**

Upozornění: Tento výsledek nelze samostatně interpretovat jako potvrzení celiakie. Diagnózu je potřeba potvrdit stanovením protilátek či dalšími diagnostickými postupy.

Přítomnost alel asociovaných s mírnou predispozicí k celiakii

- 1) přítomnost alel DQA1*0201/DQB1*0202 (serologický ekvivalent DQ2.2 pozitivní)

Komentář: Přítomnost haplotypu DQA1*0201/DQB1*0202.

NALEZENÝ GENOTYP HLA JE ASOCIOVANÝ S OJEDINĚLÝM RIZIKEM CELIAKIE.

Diagnosu celiakie nelze zcela vyloučit.

Vzhledem ke genetickému riziku predispozice k celiakii doporučujeme vyšetřit i příbuzné prvního stupně (rodiče, děti, sourozence).

Upozornění: Tento výsledek nelze samostatně interpretovat jako potvrzení celiakie. Diagnózu je potřeba potvrdit stanovením protilátek či dalšími diagnostickými postupy.

Nepřítomnost alel asociovaných s predispozicí nebo mírnou predispozicí k celiakii

Nepřítomnost specifických alel asociovaných s predispozicí nebo mírnou predispozicí k celiakii (DQ2 negativní, DQ8 negativní).

Komentář: U pacienta nebyly nalezeny alely DQA1 a DQB1 lokusů asociované s celiakií.

NALEZENÝ GENOTYP HLA NENÍ ASOCIOVANÝ S RIZIKEM CELIAKIE.

Výsledek s vysokou pravděpodobností tuto diagnosu vyloučuje.

Detekce polymorfismů v genu LCT způsobujících primární laktázovou intoleranci

Polymorfismus T-13910C - stanovení polymorfismu T-13910C metodou real-time PCR

Polymorfismus A-22018G - stanovení polymorfismu A-22018G metodou real-time PCR

Vyšetřovaný materiál: 1) nesrážlivá krev (EDTA)

2) vyizolovaná genomová DNA z periferní krve (v TE nebo TB pufru)

Stabilita vzorku: 1) 2-8°C týden

2) 2-8°C měsíc, -20°C neomezeně

Doba odezvy: 1-10 dní

Druh veličiny: přítomnost/nepřítomnost polymorfismu (mutace)

Hodnocení: genotyp T/T, A/A - tolerantní typ, nebyla detekována mutace

genotyp T/C, A/G - tolerantní typ, byla detekována mutace v heterozygotní formě (na 1 alele genu)

genotyp C/C, G/G - intolerantní typ (hypolaktázie), byla detekována mutace v homozygotní formě (na obou alelách genu)

genotyp T/C+A/G v pozici trans - intolerantní typ (hypolaktázie), byly detekovány dvě mutace v heterozygotní formě na obou alelách genu

Komentář:

Primární laktázová intolerance je způsobena úplnou nebo částečnou neschopností organismu produkovat enzym laktáza, který laktózu (mléčný cukr) ve střevech štěpí na jednodušší cukry (galaktózu a glukózu), které se dále vstřebávají do krevního oběhu. Pokud je laktázy nedostatek, mléčný cukr se ve střevech nestráví a jeho přebytkem se pak živí přirozené střevní bakterie, které při jeho zpracování produkují plyny (CO₂ či H₂) a další látky, které dráždí tlusté střevo, a tím způsobují nadýmání, střevní koliky, průjmy a zvracení. Méně častými projevy jsou atopické ekzémy, nechutenství, pálení žáhy, pocit plnosti a bolesti břicha. Jednonukleotidové polymorfismy v regulační oblasti genu LCT snižují expresi genu a tím způsobují nízkou produkci laktázy. Přítomnost polymorfismu v heterozygotní formě (pouze na jedné alelě genu) zajišťuje dostatečnou produkci enzymu laktázy pro funkční hydrolýzu laktózy, nieméně diagnózu primární intolerance laktózy nevyloučuje, neboť jinou patologickou variantu genu LCT nelze vyloučit.

Detekce mutací asociovaných s hereditární hemochromatózou

Mutace H63D v genu HFE - stanovení mutace His63Asp (C187G) metodou real-time PCR

Mutace S65C v genu HFE - stanovení mutace Ser65Cys (A193T) metodou real-time PCR

Mutace C282Y v genu HFE - stanovení mutace Cys63Tyr (G845A) metodou real-time PCR

Vyšetřovaný materiál: 1) nesrážlivá krev (EDTA)

2) vyizolovaná genomová DNA z periferní krve (v TE nebo TB pufru)

Stabilita vzorku: 1) 2-8°C týden

2) 2-8°C měsíc, -20°C neomezeně

Seznam vyšetření

Pracoviště Brno **Bauerova** Laboratoř molekulární diagnostiky

Doba odezvy: 1-20 dní dle rozsahu vyšetření

Druh veličiny: přítomnost/nepřítomnost mutace

Hodnocení: wild type = negativní - nebyla detekována mutace

heterozygot = byla detekována mutace v heterozygotní formě (na 1 alele genu)

mut. homozygot = byla detekována mutace v homozygotní formě (na obou alelách genu)

složený heterozygot = byly detekovány dvě mutace v heterozygotní formě

Komentář:

Hereditární hemochromatóza je dědičná metabolická porucha s autozomálně recesivní dědičností. Normální protein genu HFE se v komplexu s beta-2-mikroglobulinem váže na receptory pro transferin v dvanáctníku a blokuje je. U komplexu tvořeného mutovanou formou proteinu nedochází k blokování receptoru, což má za následek trvale zvýšené vstřebávání železa z potravy a jeho akumulaci v parenchymatických tkáních a orgánech (játra, slinivka břišní, srdce, gonády, pokožka). Tyto orgány pak může nevratně poškodit. Mezi nejčastější příznaky hereditární hemochromatózy patří zvýšená pigmentace kůže, diabetes mellitus nebo hepatomegalie.

Detekce polymorfismu v promotoru genu UGT1A1 způsobujícího Gilbertův syndrom (intermitentní benigní hyperbilirubémii)

Polymorfismus 6TA/7TA - stanovení přítomnosti inzerce TA v promotoru UGT1A1 (6TA>7TA) metodou real-time PCR s HRM.

Vyšetřovaný materiál: 1) nesrážlivá krev (EDTA)

2) vyizolovaná genomová DNA z periferní krve (v TE nebo TB pufuru)

Stabilita vzorku: 1) 2-8°C týden

2) 2-8°C měsíc, -20°C neomezeně

Doba odezvy: 1-10 dní

Druh veličiny: přítomnost/nepřítomnost mutantní alely UGT1A1*28 (mající 7 opakování TA)

Hodnocení: genotyp 6TA/6TA - zdravý jedinec, mutace nebyla detekována

genotyp 6TA/7TA – přenašeč mutace, mutace byla detekována v heterozygotní formě (na jedné alele genu)

genotyp 7TA/7TA – Gilbertův syndrom, mutace byla detekována v homozygotní formě (na obou alelách genu)

Komentář:

Gilbertův syndrom je benigní onemocnění nevyžadující terapii, jeho diagnostika je však vhodná pro vyloučení závažnějších poruch funkcí jater spojených s hyperbilirubémií (výskyt Gilbertova syndromu v populaci se totiž uvádí v rozmezí 10-15%). Detekce této mutace je také vhodná před zahájením léčby medikamenty, které jsou UDP-glukuronyltransferázou metabolizovány (např. chemoterapeutika irinotekan), kde omezená biotransformace může vést k rozvoji toxicitních účinků. Genotypizace poté umožňuje včasnu redukci terapeutických dávek či volbu alternativní terapie.

Gilbertovým syndromem jsou postiženi homozygotní nositelé genotypu s inzercí TA v promotoru genu UGT1A1. Tento gen kóduje enzym UDP-glukuronyltransferázu, který je zodpovědný za přestavbu nerozpustného/nekonjugovaného bilirubinu na rozpustný, konjugovaný s kyselinou glukuronovou. Přebytek nekonjugovaného bilirubinu se hromadí v tkáních. Nemutovaná varianta genu obsahuje 6 repetitive TA, mutovaná varianta pak nejčastěji 7 repetitive. Cílenou analýzou počtu TA repetitive v promotoru UGT1A1 6TA/7TA lze zachytit (resp. vyloučit) přibližně 90 % případů onemocnění.

Genotypizace TPMT – vyšetření deficitu thiopurin S-methyltransferázy

Polymorfismus G238C - stanovení polymorfismu c.238G>C (p.Ala80Pro) metodou real-time PCR

Polymorfismus G460A - stanovení polymorfismu c.460G>A (p.Ala154Thr) metodou real-time PCR

Polymorfismus A719G - stanovení polymorfismu c.719A>G (p.Tyr240Cys) metodou real-time PCR.

Vyšetřovaný materiál: 1) nesrážlivá krev (EDTA)

2) vyizolovaná genomová DNA z periferní krve (v TE nebo TB pufuru)

Stabilita vzorku: 1) 2-8°C týden

2) 2-8°C měsíc, -20°C neomezeně

Doba odezvy: 1-10 dní

Druh veličiny: přítomnost/nepřítomnost rizikové alely, určení haplotypů TPMT*2, TPMT*3A, TPMT*3B a TPMT*3C v homozygotní či heterozygotní formě v závislosti na zjištěné vzájemné kombinaci detekovaných alel

Hodnocení: wild type = negativní, nebyla detekována riziková alela

heterozygot = byl detekován polymorfismus v heterozygotní formě (1 riziková alela genu)

Seznam vyšetření

Pracoviště Brno **Bauerova Laboratoř molekulární diagnostiky**

mut. homozygot = byl detekován polymorfismus v homozygotní formě (obě alely genu)
složený heterozygot = byly detekovány dva různé polymorfismy v heterozygotní formě

Komentář:

Thiopurin S-methyltransferáza (TPMT) je cytoplasmatický enzym katalyzující S-methylaci aromatických a heterocyklických sulfhydrylových komponent thiopurinových léčiv (např. 6-thioguanin, 6-merkaptopurin a azathioprin). Thiopurinová léčiva se používají jako protinádorová léčiva a imunosupresiva při terapii autoimunitních onemocnění, hematoonkologických onemocnění u dětí, idiopatických střevních zánětů a při transplantacích. Deficit TPMT zabraňuje odbourávání thiopurinů, dochází k hromadění thioguaninových nukleotidů a vzniku vedlejších nežádoucích účinků jako jsou neurotoxicita, hepatotoxicita, myelosuprese, záněty sliznic a další. Snížená metabolická aktivita enzymu TPMT je důsledkem funkčních polymorfismů v kódující oblasti genu TPMT, z nichž mezi nejčastější v indoevropské populaci patří TPMT*2 (c.238G>C; p.Ala80Pro), TPMT*3A (c.460G>A/c.719A>G; p.Ala154Thr/p.Tyr240Cys), TPMT*3B (c.460G>A; p.Ala154Thr) a TPMT*3C (c.719A>G; p.Tyr240Cys). Přibližně 0,3 % osob má nedetekovatelnou enzymovou aktivitu TPMT (homozygoti), 10 % osob má výrazně sníženou aktivitu enzymu (heterozygoti) a 90 % osob má normální enzymovou aktivitu (wild type genotyp, TPMT*1). Klinické projevy deficitu TPMT mohou být závažné pro thiopuriny léčené heterozygoty a homozygoty pro funkčně variantní alely. Genetické polymorfismy tak značnou měrou mohou pacienta predisponovat pro účinnost a úspěšnost léčby (Vyskočilová et al., 2012).

Seznam vyšetření

Pracoviště Brno **Bauerova Laboratoř molekulární diagnostiky**

Hodnocení: pozitivní=potvrzení přítomnosti RNA viru
negativní=nepotvrzení přítomnosti RNA viru

Lidský papillomavirus vysoce-rizikové genotypy (HPV): detekce DNA viru metodou real-time PCR

Vyšetřovaný materiál: výtěr, výtěr do média (cervix, pochva, postižené místo)

Stabilita vzorku: výtěr do média 2-30°C 6 měsíců

Doba odezvy: 1-14 dní

Druh veličiny: přítomnost/nepřítomnost DNA HPV16, HPV18, high-risk HPV (genotypy 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 69, 73 a 82) ve vzorku

Hodnocení: HPV16 pozitivní = potvrzení přítomnosti DNA HPV16

HPV16 negativní = nepotvrzení přítomnosti DNA HPV16

HPV18 pozitivní = potvrzení přítomnosti DNA HPV18

HPV18 negativní = nepotvrzení přítomnosti DNA HPV18

HPV high risk pozitivní= potvrzení přítomnosti DNA některého genotypu high risk HPV

HPV high risk negativní= nepotvrzení přítomnosti DNA některého genotypu high risk HPV

Lidský papillomavirus nízko-rizikové genotypy (HPV): detekce DNA viru metodou real-time PCR

Vyšetřovaný materiál: výtěr, výtěr do média (cervix, pochva, postižené místo)

Stabilita vzorku: výtěr do média 2-30°C 6 měsíců
výtěr 1-4°C 1den

Doba odezvy: 1-14 dní

Druh veličiny: přítomnost/nepřítomnost lowrisk HPV DNA (genotypy 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61 a 70)

Hodnocení: low risk HPV pozitivní = potvrzení přítomnosti DNA low risk HPV

low risk HPV negativní = nepotvrzení přítomnosti DNA low risk HPV

Morbilli virus (virus spalniček): detekce RNA viru metodou real-time PCR

Vyšetřovaný materiál: nasopharyngeální stér, moč

Stabilita vzorku: 1-4°C 1 den
-20°až -70°C po delší dobu

Doba odezvy: 1-3 dny

Druh veličiny: přítomnost/nepřítomnost RNA viru ve vzorku

Hodnocení: pozitivní=potvrzení přítomnosti RNA viru
negativní=nepotvrzení přítomnosti RNA viru

Parvovirus B19: detekce DNA viru metodou real-time PCR

Vyšetřovaný materiál: nesrážlivá krev (EDTA, citrát sodný), plasma

Stabilita vzorku: 1-4°C 3 dny
-20°(-80)°C po delší dobu

Doba odezvy: 1-3 dny

Druh veličiny: přítomnost/nepřítomnost DNA viru ve vzorku

Hodnocení: pozitivní=potvrzení přítomnosti DNA viru
negativní=nepotvrzení přítomnosti DNA viru

RSV (respirační syncytialní virus): detekce RNA viru metodou real-time PCR

Vyšetřovaný materiál: výtěr do media (nosohltan, horní cesty dýchací), BAL

Stabilita vzorku: 1-4°C 1 den; -20°(-80)°C po delší dobu

Doba odezvy: 1-3 dny

Druh veličiny: přítomnost/nepřítomnost RNA viru ve vzorku

Hodnocení: pozitivní=potvrzení přítomnosti RNA viru
negativní=nepotvrzení přítomnosti RNA viru

SARS - CoV - 2 (COVID-19): detekce RNA viru metodou real-time PCR

Vyšetřovaný materiál: nasopharyngeální stér, výtěr do média

Stabilita vzorku: 1-4°C 1 den
-20°C 2 dny

Seznam vyšetření

Pracoviště Brno **Bauerova** Laboratoř molekulární diagnostiky

-70°C po delší dobu

Doba odezvy: 1-2 dny od doručení vzorku do laboratoře

Druh veličiny: přítomnost/nepřítomnost RNA viru ve vzorku

Hodnocení: pozitivní=potvrzení přítomnosti RNA viru

negativní=nepotvrzení přítomnosti RNA viru

Varicella zoster virus (VZV): detekce DNA viru metodou real-time PCR

Vyšetřovaný materiál: nesrážlivá krev (EDTA, citrát sodný), sérum, plasma, mozkomíšní mok, stér (postižené místo)

Stabilita vzorku: 1-4°C 3 dny
-20°(-80)°C po delší dobu

Doba odezvy: 1-3 dny

Druh veličiny: přítomnost/nepřítomnost DNA viru ve vzorku

Hodnocení: pozitivní=potvrzení přítomnosti DNA viru
negativní=nepotvrzení přítomnosti DNA viru

Virus Epstein-Barrové (EBV): detekce DNA viru metodou real-time PCR

Vyšetřovaný materiál: nesrážlivá krev (EDTA, citrát sodný), plasma, mozkomíšní mok, BAL

Stabilita vzorku: 1-4°C 3 dny
-20°(-80)°C po delší dobu

Doba odezvy: 1-3 dny

Druh veličiny: přítomnost/nepřítomnost DNA viru ve vzorku

Hodnocení: pozitivní=potvrzení přítomnosti DNA viru
negativní=nepotvrzení přítomnosti DNA viru

Virus hepatitidy B (HBV): kvantitativní detekce DNA viru metodou real-time PCR

Vyšetřovaný materiál: nesrážlivá krev (EDTA), sérum, plasma

Stabilita vzorku: 2-8°C 1 den; -80°C po delší dobu

Doba odezvy: 1-14 dní

Druh veličiny: přítomnost/nepřítomnost a kvantita DNA viru ve vzorku

Hodnocení: HBV DNA detekována vyšší než $1,0 \times 10^9$ IU/ml (výsledek nad horní hranicí lineárního rozsahu testu)

HBV DNA detekována $10 - 1,0 \times 10^9$ IU/ml (výsledek v lineárním rozsahu testu)

HBV DNA detekována nižší než 10 IU/ml (výsledek pod detekční hranicí testu)

HBV DNA nedetekována

Virus hepatitidy C (HCV): kvantitativní detekce RNA viru metodou real-time PCR

Vyšetřovaný materiál: nesrážlivá krev (EDTA), sérum, plasma

Stabilita vzorku: 2-8°C 1 den; -80°C po delší dobu

Doba odezvy: 1-14 dní

Druh veličiny: přítomnost/nepřítomnost a kvantita RNA viru ve vzorku

Hodnocení: HCV RNA detekována vyšší než $1,0 \times 10^8$ IU/ml (výsledek nad horní hranicí lineárního rozsahu testu)

HCV RNA detekována $15 - 1,1 \times 10^8$ IU/ml (výsledek v lineárním rozsahu testu)

HCV RNA detekována nižší než 15 IU/ml (výsledek pod detekční hranicí testu)

HCV RNA nedetekována

Virus hepatitidy E (HEV): detekce RNA viru metodou real-time PCR

Vyšetřovaný materiál: nesrážlivá krev (EDTA), sérum, plasma

Stabilita vzorku: 2-8°C 1 den; -80°C po delší dobu

Doba odezvy: 1-3 dny

Druh veličiny: přítomnost/nepřítomnost HEV RNA viru ve vzorku

Hodnocení: pozitivní=potvrzení přítomnosti RNA viru HEV

negativní=nepotvrzení přítomnosti RNA viru HEV

Virus Influenza: detekce RNA viru metodou real-time PCR

Vyšetřovaný materiál: výtrž do media (nosohltan, horní cesty dýchací), BAL

Seznam vyšetření

Pracoviště Brno **Bauerova** Laboratoř molekulární diagnostiky

Doba odezvy: 1-3 dny

-20°-(-80)°C po delší dobu

Druh veličiny: přítomnost/nepřítomnost DNA viru ve vzorku

Hodnocení: pozitivní=potvrzení přítomnosti DNA mikroorganismu ve vzorku
negativní=nepotvrzení přítomnosti DNA mikroorganismu ve vzorku

Helicobacter pylori: detekce DNA mikroorganismu metodou real-time PCR

Vyšetřovaný materiál: stolice odebraná do stabilizačního media, tkáňová biopsie

Stabilita vzorku: 1-25°C 3 dny

-20°-(-80)°C po delší dobu

Doba odezvy: 2-10 dní

Druh veličiny: přítomnost/nepřítomnost DNA mikroorganismu ve vzorku

Hodnocení: pozitivní=potvrzení přítomnosti DNA mikroorganismu
negativní=nepotvrzení přítomnosti DNA mikroorganismu

Chlamydia pneumoniae: detekce DNA mikroorganismu metodou real-time PCR

Vyšetřovaný materiál: BAL, sputum, stér, výtěr do média (nasopharynx, oropharynx)

Stabilita vzorku: 1-4°C 3 dny

-20°-(-80)°C po delší dobu

Doba odezvy: 1-3 dny

Druh veličiny: přítomnost/nepřítomnost DNA mikroorganismu ve vzorku

Hodnocení: pozitivní=potvrzení přítomnosti DNA mikroorganismu
negativní=nepotvrzení přítomnosti DNA mikroorganismu

Chlamydia trachomatis: detekce DNA mikroorganismu metodou real-time PCR

Vyšetřovaný materiál: ejakulát, moč, výtěr, výtěr do media (cervix, pochva, uretra, postižené místo)

Stabilita vzorku: 1-4°C 3 dny; výtěr do media 2-30°C 12 měsíců

-20°-(-80)°C po delší dobu

Doba odezvy: 1-5 dní

Druh veličiny: přítomnost/nepřítomnost DNA mikroorganismu ve vzorku

Hodnocení: pozitivní=potvrzení přítomnosti DNA mikroorganismu
negativní=nepotvrzení přítomnosti DNA mikroorganismu

Limit detekce testu na Chlamydia trachomatis sérovar D je 3 IFU/ml pro výtěr a 0,75 IFU/ml pro moč s mírou pozitivity vyšší než 95% (IFU = Inclusion Forming Units).

Legionella pneumophila: detekce DNA mikroorganismu metodou real-time PCR

Vyšetřovaný materiál: BAL, sputum, stér

Stabilita vzorku: 1-4°C 3 dny

-20°-(-80)°C po delší dobu

Doba odezvy: 1-3 dny

Druh veličiny: přítomnost/nepřítomnost DNA mikroorganismu ve vzorku

Hodnocení: pozitivní=potvrzení přítomnosti DNA mikroorganismu
negativní=nepotvrzení přítomnosti DNA mikroorganismu

Mycobacterium tuberculosis KOMPLEX: detekce DNA mikroorganismu metodou real-time PCR

Vyšetřovaný materiál: BAL, sputum, moč, stér, výpotek, punktát, likvor, tkáň (nevhodným materiálem je pouze krev!)

Stabilita vzorku: 1-4°C 1 týden

-20°-(-80)°C po delší dobu

Doba odezvy: 1-10 dní

Druh veličiny: přítomnost/nepřítomnost DNA mikroorganismu ve vzorku

Hodnocení: pozitivní=potvrzení přítomnosti DNA mikroorganismu
negativní=nepotvrzení přítomnosti DNA mikroorganismu

Mycoplasma pneumoniae: detekce DNA mikroorganismu metodou real-time PCR

Vyšetřovaný materiál: BAL, sputum, stér, výtěr do média (nasopharynx, oropharynx)

Seznam vyšetření

Pracoviště Brno **Bauerova Laboratoř molekulární diagnostiky**

Stabilita vzorku: 1-4°C 3, dny
-20°(-80)°C po delší dobu

Doba odezvy: 1-3 dny

Druh veličiny: přítomnost/nepřítomnost DNA mikroorganismu ve vzorku

Hodnocení: pozitivní=potvrzení přítomnosti DNA mikroorganismu
negativní=nepotvrzení přítomnosti DNA mikroorganismu

Mycoplasma sp.: detekce DNA mikroorganismu metodou real-time PCR a druhová typizace na *M. genitalium* a *M. hominis*

Vyšetřovaný materiál: ejakulát, moč, výtěr, výtěr do media (cervix, pochva, uretra, postižené místo)

Stabilita vzorku: 1-4°C 3 dny; výtěr do media 2-30°C 12 měsíců
-20°(-80)°C po delší dobu

Doba odezvy: 1-5 dní

Druh veličiny: přítomnost/nepřítomnost DNA mikroorganismu ve vzorku

Hodnocení: pozitivní (*M. genitalium*)=potvrzení přítomnosti DNA *M. genitalium*
pozitivní (*M. hominis*)=potvrzení přítomnosti DNA *M. hominis*
pozitivní (*M. genitalium* i *M. hominis*)=potvrzení přítomnosti DNA *M. genitalium* i *M. hominis*
negativní=nepotvrzení přítomnosti DNA mikroorganismu

Neisseria gonorrhoeae: detekce DNA mikroorganismu metodou real-time PCR

Vyšetřovaný materiál: ejakulát, moč, výtěr, výtěr do media (cervix, pochva, uretra, postižené místo)

Stabilita vzorku: 1-4°C 3 dny; výtěr do media 2-30°C 12 měsíců
-20°(-80)°C po delší dobu

Doba odezvy: 1-5 dní

Druh veličiny: přítomnost/nepřítomnost DNA mikroorganismu ve vzorku

Hodnocení: pozitivní=potvrzení přítomnosti DNA mikroorganismu
negativní=nepotvrzení přítomnosti DNA mikroorganismu

NTM (netuberkulózní mykobakterie): detekce DNA mikroorganismu metodou real-time PCR

Vyšetřovaný materiál: BAL, sputum, tkáň

Stabilita vzorku: 1-4°C 1 týden
-20°(-80)°C po delší dobu

Doba odezvy: 1-10 dní

Druh veličiny: přítomnost/nepřítomnost DNA mikroorganismu ve vzorku

Hodnocení: pozitivní=potvrzení přítomnosti DNA mikroorganismu
negativní=nepotvrzení přítomnosti DNA mikroorganismu

Toxoplasma gondii: detekce DNA mikroorganismu metodou real-time PCR

Vyšetřovaný materiál: nesrážlivá krev (EDTA, citrát sodný), mozkomíšní mok, plodová voda

Stabilita vzorku: 1-4°C 3 dny
-20°(-80)°C po delší dobu

Doba odezvy: 1-3 dny

Druh veličiny: přítomnost/nepřítomnost DNA mikroorganismu ve vzorku

Hodnocení: pozitivní=potvrzení přítomnosti DNA mikroorganismu
negativní=nepotvrzení přítomnosti DNA mikroorganismu

Treponema pallidum: detekce DNA mikroorganismu metodou real-time PCR

Vyšetřovaný materiál: ejakulát, moč, výtěr, výtěr do media

Stabilita vzorku: 1-4°C 3 dny
-20°(-80)°C po delší dobu

Doba odezvy: 1-5 dní

Druh veličiny: přítomnost/nepřítomnost DNA mikroorganismu ve vzorku

Hodnocení: pozitivní=potvrzení přítomnosti DNA mikroorganismu
negativní=nepotvrzení přítomnosti DNA mikroorganismu

Trichomonas vaginalis: detekce DNA mikroorganismu metodou real-time PCR

Seznam vyšetření

Pracoviště Brno **Bauerova Laboratoř molekulární diagnostiky**

Vyšetřovaný materiál: ejakulát, moč, výtér, výtér do media (cervix, pochva, uretra, postižené místo)

Stabilita vzorku: 1-4°C 3 dny; výtér do media 2-30°C 12 měsíců
-20°(-80)°C po delší dobu

Doba odezvy: 1-5 dní

Druh veličiny: přítomnost/nepřítomnost DNA mikroorganismu ve vzorku

Hodnocení: pozitivní=potvrzení přítomnosti DNA mikroorganismu
negativní=nepotvrzení přítomnosti DNA mikroorganismu

Ureaplasma sp.: detekce DNA mikroorganismu metodou real-time PCR a druhová typizace na *U. urealyticum* a *U. parvum*

Vyšetřovaný materiál: ejakulát, moč, výtér, výtér do media (cervix, pochva, uretra, postižené místo)

Stabilita vzorku: 1-4°C 3 dny; výtér do media 2-30°C 12 měsíců
-20°(-80)°C po delší dobu

Doba odezvy: 1-5 dní

Druh veličiny: přítomnost/nepřítomnost DNA mikroorganismu ve vzorku

Hodnocení: pozitivní (*U. urealyticum*)=potvrzení přítomnosti DNA *U. urealyticum*
pozitivní (*U. parvum*)=potvrzení přítomnosti DNA *U. parvum*
pozitivní (*U. urealyticum* i *U. parvum*)=potvrzení přítomnosti DNA *U. urealyticum* i *U. parvum*
negativní=nepotvrzení přítomnosti DNA mikroorganismu

Detekce parodontálních patogenů a predispozice genotypu Interleukinu-1 a HLA-DR4:

detekce DNA 12 nejzávažnějších parodontálních patogenů: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Campylobacter rectus*, *Capnocytophaga gingivalis*, *Capnocytophaga sputigena*, *Eikenella corrodens*, *Eubacterium nodatum*, *Fusobacterium nucleatum*, *Parvimonas micra*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*

Zhodnocení polymorfismů Interleukinu-1 a HLA-DR4 vzhledem k efektivitě imunitní odpovědi, která má vliv na rozsah destrukce parodontu.

Vyšetřovaný materiál: výtér z parodontálních chobotů na vyšetření patogenů
stér z bukalní sliznice na vyšetření polymorfismu Interleukinu-1 či HLA-DR4

Stabilita vzorku: 2-8°C 3 měsíce
-20°(-80)°C po delší dobu

Doba odezvy: 2-20 dní

Druh veličiny: přítomnost/nepřítomnost DNA mikroorganismu ve vzorku, detekce rizikového polymorfismu Interleukinu-1 a HLA-DR4

Hodnocení:

pozitivní=potvrzení přítomnosti DNA konkrétního parodontálního patogenu (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Campylobacter rectus*, *Capnocytophaga gingivalis*, *Capnocytophaga sputigena*, *Eikenella corrodens*, *Eubacterium nodatum*, *Fusobacterium nucleatum*, *Parvimonas micra*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*) nebo

rizikového polymorfismu Interleukinu-1 či HLA-DR4

negativní=nepotvrzení přítomnosti DNA konkrétního parodontálního patogenu (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Campylobacter rectus*, *Capnocytophaga gingivalis*, *Capnocytophaga sputigena*, *Eikenella corrodens*, *Eubacterium nodatum*, *Fusobacterium nucleatum*, *Parvimonas micra*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*) nebo

rizikového polymorfismu Interleukinu-1 či HLA-DR4

Detekce STD patogenů: detekce DNA 6 nejzávažnějších patogenů: HSV1 a 2, HPV, *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Treponema pallidum* metodou real-time PCR

Vyšetřovaný materiál: výtér (cervix, pochva, uretra, postižené místo), stér, ejakulát, moč, výtér do média

Stabilita vzorku: 1-4°C 3 dny
-20°(-80)°C po delší dobu

Doba odezvy: 1-10 dní

Druh veličiny: přítomnost/nepřítomnost DNA mikroorganismu ve vzorku

Hodnocení:

Seznam vyšetření

Pracoviště Brno **Bauerova Laboratoř molekulární diagnostiky**

pozitivní=potvrzení přítomnosti DNA konkrétního patogenu (HSV1,2, HPV, *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Treponema pallidum*)
negativní=nepotvrzení přítomnosti DNA konkrétního patogenu (HSV1,2, HPV, *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Treponema pallidum*)

Detekce neurotropních bakterií:

Detekce Bartonella/Babesia: detekce DNA mikroorganismů metodou real-time PCR

Vyšetřovaný materiál: krev (EDTA), likvor

Stabilita vzorku:-- likvor při 4°C do 12 hodin od odběru, nad 12 hodin likvor zamrazit, krev při pokojové teplotě do 12 hodin od odběru , nad 12 hodin krev uchovat při 4 °C

Doba odezvy: 1-2 dny

Druh veličiny: přítomnost/ nepřítomnost DNA mikroorganismu ve vzorku

Hodnocení: pozitivní=potvrzení přítomnosti DNA konkrétního patogenu ve vzorku

negativní=nepotvrzení přítomnosti DNA konkrétního patogenu ve vzorku

Bakteriální meningitidy: detekce 6 nejzávažnějších patogenů: *Streptococcus agalactiae*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis* a *Streptococcus pneumoniae* metodou real-time PCR

Vyšetřovaný materiál: krev (EDTA), likvor

Stabilita vzorku:-- likvor při 4°C do 12 hodin od odběru, nad 12 hodin likvor zamrazit, krev při pokojové teplotě do 12 hodin od odběru , nad 12 hodin krev uchovat při 4 °C

Druh veličiny: přítomnost/ nepřítomnost DNA mikroorganismu ve vzorku

Hodnocení: pozitivní=potvrzení přítomnosti DNA konkrétního patogenu ve vzorku

negativní=nepotvrzení přítomnosti DNA konkrétního patogenu ve