|  |
| --- |
| **Průkaz mikroorganismů metodou Polymerázové řetězové reakce - PCR (Polymerase Chain Reaction)** |
| **Název vyšetření** | **Zkrácený název** | **Použitá metoda** | **Biologický materiál** | **Odběr** | **Provádí se** | **Doba odezvy**  | **Uchovávání a transport** | **Jednotka** | **Hodnocení výsledku** | **Pracoviště kontakt** |
| **CMV (DNA) PCR****(cytomegalovirus)** | CMV PCR kvant | real-time PCR | KE, L, BAL, M, MM, PV, BT | viz tabulka: Materiál pro PCR | každý den | 3 dny\* | při 4-8°C do 24 h od odběru | cp / objem(případně cp / počet buněk,cp / hmotnost )(podle lokality vyšetření)\*\* | kvantitativně:negativní / pozitivníplus udání množství v uvedených jednotách | 5852062-33, 35,36 |
| **HSV-1,2 (DNA) PCR****(herpes simplex 1,2 virus)** | HSV1,2 PCR kval | real-time PCR | KE, L, BT, SV, TP | viz tabulka: Materiál pro PCR | každý den | 3 dny\* | při 4-8°C do 24 h od odběru | není | kvalitativně:negativní / pozitivní | 5852062-33, 35,36 |
| **VZV (DNA) PCR****(varicella-zoster virus)** | VZV PCR kval | real-time PCR | KE, L, TP | viz tabulka: Materiál pro PCR | každý den | 3 dny\* | při 4-8°C do 24 h od odběru | není | kvalitativně:negativní / pozitivní | 5852062-33, 35,36 |
| **HBV (DNA) PCR****(virus hepatitidy B)** | HBV PCR kvant | real-time PCR | KE, KS, BT | viz tabulka: Materiál pro PCR | každý den | 3 dny\* | při 4-8°C do 24 h od odběru | IU / objem(případně IU / počet buněk,IU / hmotnost )(podle lokality vyšetření)\*\* | kvantitativně:negativní / pozitivníplus udání množství v uvedených jednotách | 5852062-33, 35,36 |
| **HCV (RNA) PCR****(virus hepatitidy C)** | HCV PCR kvant | real-time/RT-PCR | KE, KS, BT | viz tabulka: Materiál pro PCR | 1x týdně | 5 dnů\* | při 4-8°C do 24 h od odběru | IU / objem(případně IU / počet buněk,IU / hmotnost )(podle lokality vyšetření)\*\* | kvantitativně:negativní / pozitivníplus udání množství v uvedených jednotách | 5852062-33, 35,36 |
| ***Chlamydia trachomatis*** **(DNA) PCR** | CHT PCRkval | real-time PCR | VC, VU, M, SV | viz tabulka: Materiál pro PCR | každý den | 3 dny\* | při 4-8°C do 24 h od odběru | není | kvalitativně:negativní / pozitivní | 5852062-33, 35,36 |
| ***Chlamydia pneumoniae*****(DNA) PCR** | CHP PCRkval | real-time PCR | NV, VNS, SP, BAL | viz tabulka: Materiál pro PCR | každý den | 3 dny\* | při 4-8°C do 24 h od odběru | není | kvalitativně:negativní / pozitivní | 5852062-33, 35,36 |
| ***Mycoplasma pneumoniae*****(DNA) PCR** | MP PCRkval | real-time PCR | NV, VNS, SP, BAL | viz tabulka: Materiál pro PCR | každý den | 3 dny\* | při 4-8°C do 24 h od odběru | není | kvalitativně:negativní / pozitivní | 5852062-33, 35,36 |
| ***Bordetella pertussis/parapertussis*****(DNA) PCR** | BP-PP PCRkval | real-time PCR | NV, SP, P-A | viz tabulka: Materiál pro PCR | každý den | 3 dny\* | při 4-8°C do 24 h od odběru | není | kvalitativně:negativní / pozitivní | 5852062-33, 35,36 |
|  **HPV (DNA) PCR****(high-risk human papillomavirus)** | PV PCRkval | real-time PCR | VC, VU, VAS | viz tabulka: Materiál pro PCR | každý den | 3 dny\* | při 4-8°C do 24 h od odběru | není | kvalitativně:negativní / pozitivnítypizace HPV 16,18,45 | 5852062-33, 35,36 |
| ***Mycoplasma genitalium/hominis*****(DNA) PCR** | MGH PCRkval | real-time PCR |  VUT, M | viz tabulka: Materiál pro PCR | každý den | 3 dny\* | při 4-8°C do 24 h od odběru | není | kvalitativně:negativní / pozitivnídiferenciace druhu | 5852062-33, 35,36 |
| ***Ureaplasma parvum/urealyticum*****(DNA) PCR** | MGH PCRkval | real-time PCR | VUT, M | viz tabulka: Materiál pro PCR | každý den | 3 dny\* | při 4-8°C do 24 h od odběru | není | kvalitativně:negativní / pozitivnídiferenciace druhu | 5852062-33, 35,36 |
| ***Neisseria gonorrhoeae*****(DNA) PCR** | NG PCRkval | real-time PCR | VC, VU, VAS | viz tabulka: Materiál pro PCR | každý den | 3 dny\* | při 4-8°C do 24 h od odběru | není | kvalitativně:negativní / pozitivní | 5852062-33, 35,36 |
| ***Trichomonas vaginalis*****(DNA) PCR** | TV PCRkval | real-time PCR | VC, VU, VAS | viz tabulka: Materiál pro PCR | každý den | 3 dny\* | při 4-8°C do 24 h od odběru | není | kvalitativně:negativní / pozitivní | 5852062-33, 35,36 |
| ***Gardnerella vaginalis*****(DNA) PCR** | GV PCRkval | real-time PCR | VC, VU, VAS | viz tabulka: Materiál pro PCR | každý den | 3 dny\* | při 4-8°C do 24 h od odběru | není | kvalitativně:negativní / pozitivní | 5852062-33, 35,36 |

***Vysvětlivky:***

**Materiál pro PCR:**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Zkratka:** | **Popis materiálu:** | **Poznámky:**  |
| BAL | bronchoalveolární laváž | Min. 2 ml BAL do sterilní jednorázové prázdné plastové odběrové zkumavky. |
| BT | bioptický materiál | Bioptický vzorek vložit do sterilní jednorázové !prázdné! plastové odběrové zkumavky. Pokud se materiál odebírá z více lokalit, pak odebrat odděleně sterilními nástroji do samostatných nádobek (zábrana vzájemné kontaminace různých tkání). |
| KE | krev EDTA | Min. 3 ml krve v jednorázové komerční odběrové zkumavce na krevní obraz, u kojenců lze zpracovat i 200 ul krve v komerční mikrozkumavce. |
| KS | krev srážlivá | Min. 3 ml srážlivé krve v jednorázové komerční odběrové zkumavce bez aditiv. |
| L | likvor | Min. 0,5 ml likvoru do sterilní jednorázové prázdné plastové odběrové zkumavky. |
| M | moč | Min. 10 ml moče do sterilního jednorázového kontejneru na moč nebo falcon 30-50 ml. |
| MM | mateřské mléko | Min. 1 ml mateřského mléka do sterilní jednorázové prázdné plastové odběrové zkumavky. |
| NV | nasofaryngeální výtěr | Výtěr z nosohltanu je nejlépe provádět ráno nalačno, nemělo by se použít kloktadla ani zubní pasty. Vyšetřovaný se nechá před odběrem zakašlat a dakronovým tamponem na plastové tyčince se energicky vytře (za rotace tamponem) zadní stěna nosohltanu a patrové oblouky tak, aby se zachytilo co nejvíce buněčného materiálu (pro virologické vyšetření se vyhnout tonzilám). Tampon vsunout-zalomit do prázdné sterilní zkumavky – uzavřít. !!!Pozor, na transport tampónu nelze použít žádné transportní půdy, pouze prázdná zkumavka, jinak dojde ke znehodnocení vzorku!!! |
| P-A | punktát, aspirát | Min. 1 ml punktátu-aspirátu do sterilní jednorázové prázdné plastové odběrové zkumavky. |
| PV | plodová voda | Min. 1 ml plodové vody do sterilní jednorázové prázdné plastové odběrové zkumavky. |
| SP | sputum | Min. 3-5 ml sputa do sterilního jednorázového prázdného plastového odběrového kontejneru (sputovka, falcon 30-50 ml). |
| SV | výtěr ze spojivkového vaku  | Je-li přítomen hnis nebo exudát, jemně očistit místo odběru vatovým tamponem. Poté vytřít dakronovým (nylonovým) tampónem malého objemu na plastové tyčince 2 až 3 tahy dolní a pak horní spojivku. Tampon vsunout-zalomit do prázdné sterilní zkumavky – uzavřít. !!!Pozor, na transport tampónu nelze použít žádné transportní půdy, pouze prázdná zkumavka, jinak dojde ke znehodnocení vzorku!!! |
| TP | tekutina puchýřků | Nechat vsáknout do suchého nylonovém tampónu malého objemu na plastové tyčince. Vsunout-zalomit do prázdné sterilní zkumavky – uzavřít. !!!Pozor, na transport tampónu nelze použít žádné transportní půdy, pouze prázdná zkumavka, jinak dojde ke znehodnocení vzorku!!! |
| VAS | vaginální stěr | Provést výtěr na suchém dakronovém (nylonovém) tampónu středního objemu na plastové tyčince. Tampon vsunout-zalomit do prázdné sterilní zkumavky – uzavřít. !!!Pozor, na transport tampónu nelze použít žádné transportní půdy, pouze prázdná zkumavka, jinak dojde ke znehodnocení vzorku!!! |
| VC | výtěr z cervixu*(Chlamydia trachomatis)* | Pro Chl. trachomatis odstranit přebytečný mukus z cervikální osy a okolniho ektocervixu, tampon odložit. Poté zavést druhý tampon do endocervikálního kanálu a rotovat jím 3-5 sekund. Tampon vyjmout a vyvarovat se dotyku se sliznicí vaginy. Tampon vsunout-zalomit do prázdné sterilní zkumavky – uzavřít. |
| VNS | výtěr z nosní sliznice | Provést výtěr na suchém dakronovém (nylonovém) tampónu malého objemu na plastové tyčince. Tampon vsunout-zalomit do prázdné sterilní zkumavky – uzavřít. !!!Pozor, na transport tampónu nelze použít žádné transportní půdy, pouze prázdná zkumavka, jinak dojde ke znehodnocení vzorku!!! |
| VU | výtěr z uretry | Pacient nesmí nejméně 1 hodinu před odběrem močit. Malý uretrální dakronový (nylonový) tampón na plastové tyčince zavést 2-4 cm do uretry, jemně rotovat 3-5 sekund, tamponek vyjmout a vložit-zalomit do prázdné sterilní zkumavky – uzavřít. !!!Pozor, na transport tampónu nelze použít žádné transportní půdy, pouze prázdná zkumavka, jinak dojde ke znehodnocení vzorku!!! |
| VUT | výtěr z urogenitálního traktu | Provést výtěr na suchém dakronovém (nylonovém) tampónu středního objemu na plastové tyčince. Tampon vsunout-zalomit do prázdné sterilní zkumavky – uzavřít. !!!Pozor, na transport tampónu nelze použít žádné transportní půdy, pouze prázdná zkumavka, jinak dojde ke znehodnocení vzorku!!! |

***Poznámky:***
**1 Doba odezvy** je čas, který uplyne od přijetí vzorku ke zpracování v laboratoři do vydání výsledku.

\* Výsledek je standardně při dodání vzorků do laboratoře při odpoledním svozu materiálu uvolněn do 3 pracovních dní, po telefonické domluvě můžete získat předběžný výsledek již následující pracovní den.

**\*\* Hodnocení - kvantitativní výsledek:**

|  |  |
| --- | --- |
| **Vyjádření:** | **Vysvětlení:** |
| cp / ml | počet kopií amplifikované DNA / objem vzorku |
| cp / počet buněk | počet kopií amplifikované DNA / počet jaderných buněk (průměrně 200 000 buněk v interfázi = 1,2 ug lidské DNA)(užívá se při vyšetření buněčných suspenzí) |
| cp / ug lidské DNA | počet kopií amplifikované DNA / ug lidské DNA(průměrně 200 000 buněk v interfázi = 1,2 ug lidské DNA)(užívá se při vyšetření vzorku tkáně - biopsie) |
| cp / 10 mg tkáně | počet kopií amplifikované DNA / hmotnost tkáně(užívá se při vyšetření vzorku tkáně - biopsie) |
| IU / ml | mezinárodní jednotky / objem(kalibrace na mezinárodní standartní sérum) |