



Všeobecná fakultní nemocnice v Praze

U Nemocnice 499/2, 128 08 Praha 2

<http://www.vfn.cz> <http://intranet.vfn.cz>

Klinika dětského a dorostového lékařství
Diagnostické laboratoře dědičných metabolických poruch
Pracoviště: Ke Karlovu 455/2, 128 08 Praha 2

Řád
RD-KDDL-DMP-02

Strana 1 z 53

Verze číslo: 7

Metabolická příručka

**Laboratorní příručka Diagnostických laboratoří dědičných
metabolických poruch**
Klinika dětského a dorostového lékařství
VFN a 1. LF UK

Ke Karlovu 455/2, 128 08 Praha 2

<http://udmp.lf1.cuni.cz/>

Zpracovatel:

Ing. Karolína Pešková
RNDr. Lenka Dvořáková, CSc.

Garant:

Ing. Karolína Pešková
RNDr. Lenka Dvořáková, CSc.

Kontroloval:

Mgr. Jana Jandová
manažer kvality

Účinnost dokumentu od:

17.9.2018

První vydání dne:

30.1.2009

Výtisk č.:

Schválil:

Ing. Karolína Pešková
Primář Diagnostických laboratoří DMP

Dne:

17.9.2018

Dokument zobrazený na intranetu VFN je řízen správcem dokumentace pracoviště.

Po výtiskění - pokud není označen „Řízený výtisk“ - slouží pouze pro informativní účely - nepodléhá pravidlům řízení dokumentace.



Autoři

Hlavní editoři:

Ing. Karolína Pešková

Mgr. Jana Jandová

Editoři:

RNDr. Josef Bártl, Ph.D.

RNDr. Lenka Dvořáková, CSc.

RNDr. Petr Horník, Ph.D.

Ing. Petr Chrastina

MUDr. RNDr. Pavel Ješina, Ph.D.

Eva Klímová

Ing. Olga Martincová

Ing. Markéta Nováková

Ing. Helena Poupětová

Mgr. Hana Vlášková

Tato laboratorní příručka byla připravena v souladu s normou ČSN ISO 15189:2013.

Byla vydána jako účelová publikace Všeobecné fakultní nemocnice v Praze.

Tisk laboratorní příručky byl spolufinancován **projektem RVO-VFN 64165/2012 MZ ČR.**



Původní verze této laboratorní příručky byla vydána v rámci projektu Metabolické diagnostické centrum, který bylo spolufinancováno Norským finančním mechanismem a Všeobecnou fakultní nemocnicí v Praze.



1. Obsah

1. Obsah
2. Diagnostické laboratoře dědičných metabolických poruch
3. Dědičné metabolické poruchy (DMP)
 - 3.1 Klinické symptomy u DMP
 - 3.2 Podpůrné známky zvyšující podezření na DMP
 - 3.3 Biochemické nálezy nasvědčující DMP
4. Laboratorní diagnostika DMP
5. Manuál pro odběr primárního vzorku
 - 5.1 Požadavek na vyšetření DMP - žádanka
 - 5.2 Kritéria pro odmítnutí vzorku nebo žádanky
 - 5.3 Obecné zásady na ochranu osobních údajů pacienta
6. Indikace vyšetření
 - 6.1 Standardní vyšetření
 - 6.2 Statimová vyšetření
 - 6.3 Dodatečná vyšetření
7. Materiál k laboratornímu vyšetření v Diagnostických laboratořích DMP
 - 7.1 Biochemická laboratoř
 - 7.2 Laboratoř DNA diagnostiky
 - 7.3 Enzymologická laboratoř
 - 7.4 Laboratoř tkáňových kultur
 - 7.5 Laboratoř pro studium mitochondriálních poruch
8. Vydávání výsledků
 - 8.1 Změna výsledkového listu
 - 8.2 Hlášení kritických hodnot – Biochemická laboratoř
 - 8.3 Stížnosti
9. Přehled laboratorních vyšetření
 - 9.1 Novorozenecký screening DMP
 - 9.2 Biochemická laboratoř
 - 9.3 Laboratoř DNA diagnostiky
 - 9.4 Enzymologická laboratoř
 - 9.5 Laboratoř tkáňových kultur
 - 9.6 Laboratoř pro studium mitochondriálních poruch
10. Metabolické vyšetření pro samoplátce
11. Použité zkratky
12. Přílohy



2. Diagnostické laboratoře dědičných metabolických poruch

Tabulka 1: Kontakty

Primář Diagnostických laboratoří DMP	Ing. Karolína Pešková karolina.peskova@vfn.cz TF 224 967 225
Sekretariát	TF 224 967 710, fax 224 967 081 udmp@vfn.cz
Manažer kvality Diagnostických laboratoří DMP	Mgr. Jana Jandová jana.jandova2@vfn.cz TF 224 967 694
Vedoucí laborantka Diagnostických laboratoří DMP	Eva Klímová eva.klimova@vfn.cz TF 224 967 712
Ekonom	Petra Vetešnicková petra.vetesnikova@vfn.cz TF 224 967 071
Centrální příjem materiálu (pro Biochemickou laboratoř, Enzymologickou laboratoř, Laboratoř DNA diagnostiky)	TF 224 967 707
Novorozenecký screening	TF 224 967 227
Biochemická laboratoř	Ing. Karolína Pešková karolina.peskova@vfn.cz TF 224 967 225
Enzymologická laboratoř	Ing. Helena Poupětová helena.poupetova@vfn.cz TF 224 967 032
Laboratoř DNA diagnostiky	RNDr. Lenka Dvořáková, CSc. lenka.dvorakova@vfn.cz TF 224 967 701 Mgr. Hana Vlášková hana.vlaskova@vfn.cz TF 224 967 232
Laboratoř tkáňových kultur	Ing. Markéta Nováková marketa.novakova3@vfn.cz TF 224 965 642
Laboratoř pro studium mitochondriálních poruch	RNDr. Hana Hansíková, CSc. TF 224 967 747 hana.hansikova@vfn.cz
Lékař - konzultace	TF 224 967 710
Lékař - konzultace mimo běžnou pracovní dobu	TF 725 739 992



Základem činnosti **Diagnostických laboratoří dědičných metabolických poruch** (dále DMP) je laboratorní diagnostika několika stovek DMP na různých úrovních (metabolit, enzym/protein, tkáň/buňka, gen) v laboratoři biochemické/metabolické, enzymologické a molekulárně genetické. Ročně se v Diagnostických laboratořích DMP vyšetří okolo 3000 nových pacientů s podezřením na některou DMP a diagnóza je prokázána přibližně u 100 pacientů ročně.

Pracoviště rovněž provádí vyšetření suché krevní kapky metodou tandemové hmotnostní spektrometrie u cca 80.000 novorozenců (tj. cca 2/3 všech novorozenců v ČR) v rámci celonárodního novorozeneckého screeningu, který byl od června 2016 rozšířen na 15 vybraných DMP. V roce 2010 bylo v rámci Diagnostických laboratořích DMP ustanoveno Koordinační centrum pro novorozenecký screening se sídlem ve VFN.

Pracoviště je také zapojeno do několika mezinárodních systémů externí kontroly kvality, které pokrývají všechny základní oblasti diagnostiky DMP.

Všechny Diagnostické laboratoře DMP (Biochemická laboratoř, Laboratoř DNA diagnostiky, Enzymologická laboratoř, Laboratoř tkáňových kultur, Laboratoř pro studium mitochondriálních poruch) jsou akreditované podle normy ČSN EN ISO 15189:2013.

Diagnostické laboratoře DMP nejsou pouze pasivním účastníkem systémů kontroly kvality, ale také aktivně zajišťují testování diagnostických laboratoří v rámci systému Diagnostic Proficiency Testing ERNDIM v Evropě.

Klinika dětského a dorostového lékařství v Metabolickém centru poskytuje ambulantní péči pro pacienty s podezřením na DMP i pro pacienty s již prokázanou DMP, a to zejména diferenciatně diagnostickou rozvahou, léčbu, genetické poradenství a psychologickou péči.

Ve výzkumných laboratořích DMP vzájemně spolupracuje několik pracovních skupin, které se věnují vědecko-výzkumné činnosti v různých oblastech biochemické genetiky, genomiky, buněčné a molekulární biologie a příbuzných oborech. Pracovníci výzkumných laboratoří DMP publikují výsledky svých prací v mezinárodně uznávaných odborných časopisech a pravidelně je prezentují na konferencích doma i v zahraničí. Pracoviště se dále aktivně podílí na pregraduální výuce lékařských oborů, školí řadu studentů postgraduálního studia a podílí se rovněž na dalším vzdělávání v oblasti biochemické genetiky a příbuzných oborů.



3. Dědičné metabolické poruchy (DMP) - jejich charakteristika, dědičnost, incidence a symptomy

3.1 Klinické symptomy u DMP

Tabulka 2: Klinické symptomy u DMP

Systém	Symptomy
Symptomy v graviditě	hypotrofie fétu, hypokinese až akinese fétu, neimunní hydrops fetalis, polyhydramnion, HELLP syndrom, AFLP
Symptomy u novorozence	malformace, hypotrofie, mikrocefalie, hypotermie, porucha sacího reflexu, problémy s krmením, opisthotonus, abnormální pohyby, RDS, apnoické pauzy, ikterus, sepse E. coli
Celkové symptomy	dysmorfie, stigmatizace, projevy střádání, hypotrofie, ataky dehydratace, abnormální zápach moči a potu, epistaxe, krvácivé projevy, hemolýza, tromboembolické příhody, horečka, opakované infekce, SCID, únavový syndrom, opožděná puberta, Reyův a Reye-like syndrom, časně úmrtí, neočekávané úmrtí, náhlé úmrtí
Neurologické symptomy	oligofrenie, mentální retardace, psychomotorická retardace, regres psychomotorického vývoje, demence, opožděný vývoj řeči, letargie, dráždivost, poruchy vědomí, koma, křeče, záchvatovité onemocnění, infantilní spasmy, myoklonie, stroke-like ataky, extrapyramidové příznaky, hypotonie, hypertonie, corpus callosum - agenese nebo hypoplasie, makrocefalie, mikrocefalie, atrofie cerebrální, atrofie kortikální, leukodystrofie, demyelinizace, ataxie, cerebellární symptomy, cerebellární atrofie nebo hypoplasie, hyporeflexie, areflexie, hyperreflexie, periferní neuropatie
Psychiatrické symptomy	poruchy chování, hyperaktivita, sebepoškozování, psychotické symptomy, autistické rysy
Oční symptomy	porucha zraku až slepota, oftalmoplegie, abnormální oční pohyby, strabismus, nystagmus, ptóza víčka, glaukom, korneální zákaly a depozita, opacity čočky až katarakta, ektopie čočky, myopie, retinitis pigmentosa, třeshňová skvrna na očním ozadí, atrofie optiku
Symptomy postižení sluchu	postižení sluchu až hluchota, hyperacusis
Gastrointestinální symptomy	makroglosie, hyperplasie gingiv, gotické patro, neprospívání, ataky zvracení, intolerance některé složky potravy, bolesti břicha, chronický průjem, ileus, hepatomegalie, splenomegalie, ikterus, cholestáza, steatóza jater, adenomy jater, cirhóza jater, karcinom jater, ascites, portální hypertenze, jaterní dysfunkce až selhání, cholelitiáza, akutní pankreatitida

**Metabolická příručka**

Renální symptomy	renální kolika, urolitiáza/nefrolitiáza, nefrokalcinóza, tubulopatie, abnormální barva moči, abnormální zápach moči, nefromegalie, renální cysty, akutní selhání ledvin, chronické selhání ledvin
Svalové symptomy	myopatie, svalová slabost, intolerance cvičení, svalové křeče, únavnost, bolesti svalů, atrofie svalů, selhání respiračních svalů, ragged-red fibres
Kardiální symptomy	kardiomyopatie hypertrofická, kardiomyopatie dilatační, endokardiální fibroelastóza, vrozené srdeční vady, získané postižení chlopní, arytmie, poruchy vedení vzruchu převodním systémem, srdeční selhání
Respirační symptomy	intersticiální pneumopatie, respirační insuficience, ataky hyperventilace
Kostní symptomy	malý vzrůst, opoždění růstu, vysoký vzrůst, dysproporcionální kostra, kyfóza, hyperlordóza, křivice, arthritida, dysostosis multiplex, bolesti kostí, osteoporóza, arachnodaktylie, kontraktury, tečkovité kalcifikace, syndaktylie
Kožní symptomy	angiokeratomy, hyperkeratóza, fotosenzitivita, zvýšené ochlupení, snížené ochlupení, světlé vlasy, pili torti, trichorrhexis nodosa
Endokrinní symptomy	kongenitální adrenální hyperplasie, adrenální insuficience, diabetes mellitus, hypotyreóza, hypoglykemie, kalcifikace nadledvin

3.2 Podpůrné známky zvyšující podezření na DMP

Tabulka 3: Podpůrné známky zvyšující podezření na DMP

• Souvislost příznaků s výživou – zhoršení při přívodu bílkovin, fruktózy či galaktózy
• Manifestace příznaků při zvýšené energetické zátěži – zejména při hladovění a zvýšené svalové práci
• Souvislost příznaků s horečnatým infektem, kdy se zvyšuje katabolismus bílkovin
• Multisystémovost příznaků
• Indicie pro hromadění neobvyklého metabolitu <ul style="list-style-type: none">○ abnormální zbarvení moči○ abnormální zápach moči a potu○ nerozpustnost látky v moči - krystalurie, urolitiáza



3.3 Biochemické nálezy nasvědčující DMP

Tabulka 4: Výsledky rutinních laboratorních vyšetření nasvědčující pro DMP

<u>Vyšetření krve</u>
Glykemie: <ul style="list-style-type: none">hypoglykemie na lačno s ketonurií (jaterní glykogenózy, poruchy glukoneogeneze, mitochondriální nemoci),hypoketotická hypoglykemie při delším hladovění a katabolickém stavu (poruchy beta-oxidace mastných kyselin),hypoglykemie po požití fruktózy/sacharózy/sorbitolu (intolerance fruktózy)
Amoniak: <ul style="list-style-type: none">hyperamonemie (poruchy cyklu močoviny, některé organické acidurie, porucha ATP syntázy)
Vyšetření acidobazické rovnováhy (Astrup): <ul style="list-style-type: none">metabolická acidóza (při hromadění organických kyselin - organické acidurie, laktátová acidóza u mitochondriálních poruch, při ztrátách bikarbonátu při generalizované tubulopatii),respirační alkalóza (hyperventilace při hyperamonemii u poruch cyklu močoviny)
Aminotransferázy/bilirubin: <ul style="list-style-type: none">hepatopatie je nespecifická známka poškození jaterního parenchymu u řady DMP typu nemocí malých molekul
Kyselina močová: <ul style="list-style-type: none">snížená koncentrace (izolovaný nebo kombinovaný deficit xantinoxidázy),zvýšená koncentrace (poruchy metabolismu nebo ledviného transportu purinů)
Kreatinkináza a myoglobin: <ul style="list-style-type: none">zvýšené koncentrace (mitochondriální onemocnění, glykogenóza II. typu),ponámahové transitorní zvýšení (některé poruchy beta-oxidace mastných kyselin, svalové glykogenózy a některé poruchy metabolismu purinů)
Laktát: <ul style="list-style-type: none">zvýšená koncentrace při dodržení podmínek preanalytické fáze a při absenci hypoxie může být známkou mitochondriálních onemocnění a některých glykogenóz
Homocystein: <ul style="list-style-type: none">hypohomocysteinemie se vyskytuje u deficitu sulfitoxidázy,výrazná hyperhomocysteinemie u remetylačních a transsulfuračních forem homocystinurie
Hemokoagulace: <ul style="list-style-type: none">prodloužený protrombinový čas (poruchy glykosylace-CDG syndromy),těžká hypoprodukční koagulopatie (některé DMP postihující játra)
<u>Vyšetření likvoru</u>
Glykorhachie: <ul style="list-style-type: none">hypoglykorhachie (porucha transportu glukózy)
Celková bílkovina: <ul style="list-style-type: none">výrazná hyperproteinorhachie (některé lyzosomální nemoci typu lipidóz)
Laktát: <ul style="list-style-type: none">zvýšená koncentrace (mitochondriální poruchy energetického metabolismu)



Metabolická příručka

Vyšetření moči

Abnormální zápach může svědčit pro přítomnost malých těkavých molekul:

- z pocené nohy (izovalerová acidurie), karamel/javorový sirup (leucinóza), vařené zelí (hypermetioninemie), rybina (trimethylaminurie), myšina (fenylketonurie)

Abnormální zbarvení moči nebo plen:

- červenooranžové (uráty-poruchy metabolismu purinů), černohnědé po delším stání (alkaptonurie), hnědočervené (myoglobinurie), modré (Hartnupova nemoc), zelené (4-OH-butyrtátová acidurie)

Krystalurie: pro DMP může svědčit přítomnost krystalů

- cystinu, 2,8-dihydroxyadeninu, xantinu, urátů, oxalátů

pH moči:

- zvýšené pH v nepřítomnosti močové infekce (renální tubulární acidóza)

Ketolátky:

- zvýšené vylučování ketolátek při současné metabolické acidóze, zejména u novorozence (organické acidurie),
- absence ketonurie/jen mírná ketonurie při těžké hypoglykemii (poruchy beta-oxidace mastných kyselin)

Myoglobin:

- ponámahová myoglobinurie (poruchy beta-oxidace mastných kyselin a svalové glykogenózy)



4. Laboratorní diagnostika DMP

Laboratorní vyšetření je nezbytnou součástí diagnostického procesu DMP.

Stanovení diagnózy je důležité nejen pro možné terapeutické ovlivnění stavu pacienta, ale i pro genetické poradenství v rodině a případnou prenatální diagnostiku.

Vyšetření DMP začíná na úrovni metabolitu a diagnóza je potvrzena na úrovni enzymu/proteinu a/nebo DNA. Významnou součástí diagnostiky je v některých případech vyšetření na úrovni tkáň/buňky (vyšetření histologické, histochemické, imunohistochemické a elektronmikroskopické), které zajišťujeme ve spolupráci s Ústavem patologie VFN a 1.LF UK.

Materiál pro histologická, histochemická, imunohistochemická a elektronmikroskopická vyšetření tkání pro diagnostiku DMP zasílejte na Ústav patologie VFN a 1.LF UK.

Tabulka 5: Vyšetření standardně prováděná v Diagnostických laboratořích DMP

Typ vyšetření	Obsah vyšetření
Celoplošný novorozenecký screening	<ul style="list-style-type: none">vyšetření novorozenců ze spádových porodnic (2/3 novorozenců v ČR)screening 15 DMP v suché krevní kapce
Selektivní screening	<ul style="list-style-type: none">vyšetření osob, které mají symptomy vedoucí k podezření na DMP

Tabulka 6: Speciální vyšetření prováděná v Diagnostických laboratořích DMP

Typ vyšetření	Obsah vyšetření
Prenatální vyšetření	<ul style="list-style-type: none">vyšetření plodu v rodinách, ve kterých již byla prokázána DMP<ul style="list-style-type: none">je možné pouze tehdy, pokud byla u probanda stanovena přesná diagnózavždy indikována lékařským genetikem (po poskytnuté genetické poradě v rodině)
Postmortální vyšetření	<ul style="list-style-type: none">provádí se ve výjimečných případech – při podezření na DMP nebo pokud není diagnostika DMP dokončena

5. Manuál pro odběr primárního vzorku

5.1 Požadavek na vyšetření DMP - žádanka

S každým vzorkem biologického materiálu musí být do laboratoře dodána řádně vyplněná žádanka – Požadavek na vyšetření dědičných metabolických poruch, aktuální verze žadanek (včetně informovaných souhlasů) jsou k dispozici na webu Diagnostických laboratoří DMP (<http://udmp.lf1.cuni.cz/pozadavek-na-vysetreni-dmp>).

V Tabulce 7 jsou uvedeny informace nezbytné k identifikaci pacienta, které musí být na žádance uvedeny.

Tabulka 7: Identifikace pacienta a biologického materiálu na žádance

	Údaj
1	rodné číslo; u pojištěných cizinců číslo pojištěnce, u samoplátců datum narození, u novorozenců dosud bez rodného čísla datum narození (neplatí pro novorozenecký screening)
2	příjmení a jméno
3	kód zdravotní pojišťovny
4	základní diagnóza, event. ostatní diagnózy (kódem MKN-10, podle platné Metodiky pro pořizování a předávání dokladů VZP ČR)
5	identifikace odesílajícího lékaře a pracoviště: jméno, příjmení a podpis, IČP, odbornost; kontaktní údaje (tel., adresa); razítko
6	požadovaná vyšetření nebo podrobná epikríza včetně stravy, farmakoterapie a transfuze
7	druh primárního vzorku (moč, sérum, krevní papírek, likvor)
8	datum a čas odběru
9	identifikace osoby provádějící odběr (jméno, příjmení, podpis)
10	souhlas žadatele s úpravou a/nebo doplněním indikace lékařem-konzultantem DMP v odůvodněném případě na základě diferenciální diagnostické expertízy
11	požadavek na statimové vyšetření

Nezbytnou identifikaci biologického materiálu před přidělením laboratorního čísla tvoří vždy nejméně jméno a příjmení pacienta a rodné číslo (nebo datum narození pacienta), jinak vzorek nemůže být přijat do laboratoře. Pro molekulárně genetické vyšetření je nezbytný řádně vyplněný a podepsaný informovaný souhlas vyšetřovaného/ho (zákonného zástupce) s genetickým laboratorním vyšetřením (<http://udmp.lf1.cuni.cz/pozadavek-na-vysetreni-dmp>).

Laboratoř na žadanku doplní datum a čas přijetí vzorku do laboratoře (eviduje automaticky OpenLIMS po přijetí žádanky do systému), druh a množství přijatých primárních vzorků a jméno, příjmení a podpis přijímajícího laboranta.

Na webových stránkách je k dispozici Postup odběru biologického materiálu pro vyšetření v Diagnostických laboratořích DMP (<http://udmp.lf1.cuni.cz/file/5690/pp-udmp-09-postup-odberu-biologickeho-materialu.pdf>).



5.2 Kritéria pro odmítnutí vzorku nebo žádanky

Kritéria, podle kterých může laboratoř vzorky odmítnout, jsou uvedena v Tabulce 8.

Tabulka 8: Které žádanky nebo vzorky může laboratoř odmítnout

	Odmítnutá žádanka nebo vzorky
1	žádanka s biologickým materiálem, na které chybí nebo jsou nečitelné základní údaje (rodné číslo, příjmení a jméno, typ zdravotní pojišťovny, IČP a razítko odesílajícího lékaře, základní diagnóza) a není možné je doplnit
2	žádanka s požadavky na vyšetření, které laboratoř neprovádí ani nezajišťuje (viz Seznam vyšetření)
3	žádanka ambulantního pacienta s IČP lůžkového oddělení
4	žádanka nebo odběrová nádobka znečištěná biologickým materiálem
5	nádoba s biologickým materiálem, kde není způsob identifikace materiálu z hlediska nezaměnitelnosti dostatečný
6	biologický materiál, kde zjevně došlo k porušení doporučení o preanalytické fázi
7	neoznačený biologický materiál
8	biologický materiál bez žádanky, pokud nelze žádným způsobem jednoznačně dohledat žadatele o vyšetření

5.3 Obecné zásady na ochranu osobních údajů pacienta

Pro všechny pracovníky, kteří přicházejí jakýmkoliv způsobem do styku s osobními údaji pacientů, platí povinnost dodržovat **mlčenlivost** nejenom vůči osobám zvenčí, ale i vůči zaměstnancům VFN zakotvenou v platné legislativě, zejména v Zákonu č. 101/2000 Sb., o ochraně osobních údajů a podle Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) č. 2016/679, o ochraně fyzických osob v souvislosti se zpracováním osobních údajů a o volném pohybu těchto údajů a o zrušení směrnice 95/46/ES (obecné nařízení o ochraně osobních údajů); neboli GDPR (General Data Protection Regulation), a to i po skončení pracovního poměru, v souladu se směrnicí *SM-VFN-33 Ochrana osobních údajů*.

Osobní údaje vyšetřovaných pacientů jsou uchovávány tak, aby nebyly dostupné jiným osobám, než pracovníkům, kteří vyšetření provádějí.



6. Indikace vyšetření

6.1 Standardní vyšetření

Indikace vyšetření probíhá zpravidla na základě klinické informace o pacientovi, která je součástí žádanky o vyšetření a poskytne ji odesílající lékař.

Indikaci vyšetření provádí buď odesílající lékař nebo lékař-konzultant DMP po zhodnocení klinického stavu pacienta, případné telefonické konzultaci s odesílajícím lékařem.

6.2 Statimová vyšetření

Statimová metabolická vyšetření (Tabulka 9) provádíme u pacientů, u kterých předpokládáme akutně probíhající DMP. Může jít o první nebo opakovanou ataku dekompenzace.

Tabulka 9: Přehled statimových vyšetření

Metoda	Materiál	Minimální množství
Aminokyseliny	sérum nebo plazma separované nejlépe do 60 min. po odběru	1 ml
	krev nesrážlivá příp. srážlivá	2 ml
	likvor	1 ml
	moč	4 ml
Organické kyseliny	moč	4 ml
Tandemová hmotnostní spektrometrie (aminokyseliny, acylkarnitiny)	suchá krevní kapka na papíře pouze typu „903“, screeningová novorozenecká kartička (krevní papírek, KP)	min. 2 krevní skvrny Ø 1 cm
Kyselina orotová	moč	4 ml
Galaktitol	moč	2 ml
Galaktóza/galaktóza-1-fosfát	suchá krevní kapka na papíře pouze typ „903“, screeningová novorozenecká kartička (krevní papírek, KP)	min. 2 krevní skvrny Ø 1 cm
Kreatinin	moč	2 ml

Pokud ponecháváte indikaci vyšetření na našem lékaři, posílejte ke statimovému metabolickému vyšetření vždy minimálně 5 ml krve, 20 ml moči a krevní papírek se 4 krevními skvrnami Ø 1 cm.

Je **NUTNÉ** konzultovat zvažované statimové vyšetření s lékařem-konzultantem.
Telefonické kontakty jsou uvedeny v Tabulce 10.

Tabulka 10: Telefonické kontakty pro statimové vyšetření

TF	Kontakt
224 967 710	lékařská konzultace pro vyšetření metabolitů v běžnou pracovní dobu
725 739 992	lékařská konzultace pro vyšetření metabolitů mimo běžnou pracovní dobu
224 911 453	lékařská konzultace pro transport a statimové metabolické vyšetření dítěte vyžadujícího intenzivní péči - Jednotka intenzivní a resuscitační péče (JIRP) Kliniky dětského a dorostového lékařství VFN, Praha 2, Ke Karlovu 455/2

Během konzultace budete dotazováni na informace, uvedené v Tabulce 11.

Tabulka 11: Přehled informací, potřebných pro statim vyšetření

Nynější onemocnění	<p>Jde o 1. nebo opakovanou ataku akutní dekompenzace? Jaké jsou klinické symptomy - neurologické, gastrointestinální, kardiální, svalové, hematologické, jiné? Jde o progresivní onemocnění? Je postižen 1 orgán (systém) nebo jde o systémové postižení ? Okolnosti, které mohou ovlivnit interpretaci výsledků metabolického vyšetření: <u>klinický stav pacienta</u> – hypoxie, křeče, svalová aktivita, hepatopatie, nefropatie, multiorgánové selhání <u>výživa</u> – příjem bílkovin event. aminokyselin/kg/den, parenterální výživa, MCT oleje, hladovění, obezita, postprandiální odběr, veganská strava, kojené dítě, odmítání některé složky stravy <u>medikace</u> – uveďte veškerou medikaci během posledního týdne, zvl. valproát, vitamíny aj. <u>technika odběru a zpracování vzorku</u> – kontaminace, hemolýza, speciální požadavky na odběr má stanovení amoniaku, laktátu, homocysteinu, MTHF a pteriny (tma), neurotransmitery (teplota)</p>
Osobní anamnéza	perinatální anamnéza, prodělaná onemocnění, stavy akutní dekompenzace
Laboratorní nálezy a výsledky zobrazovacích vyšetření	<p>moč – atypický zápach, barva, ketolátky, redukující látky krev – krevní obraz, anion gap, glykemie, Astrup, hemokoagulační vyšetření, bilirubin, transaminázy, amoniak, laktát, CK sonografická vyšetření, rtg, CT, MR</p>
Rodinná anamnéza	stejně či podobné projevy onemocnění u sourozenců či jiných příbuzných, kosanguinita, nejasná úmrtí zvl. v dětském věku
Identifikace pacienta	jméno a příjmení, rodné číslo, pojišťovna
Identifikace ošetřujícího lékaře	jméno a příjmení, název a adresa pracoviště, telefon, IČZ, odbornost, číslo diagnózy

Poté bude domluven požadovaný materiál na vyšetření, doporučená metabolická vyšetření, transport materiálu do laboratoře a forma sdělení výsledků.

Informace o pacientovi i ošetřujícím lékaři uveďte též do žádanky

(<http://udmp.lf1.cuni.cz/pozadavek-na-vysetreni-dmp>).

6.3 Dodatečná vyšetření

Indikace vyšetření může být v odůvodněném případě upravena nebo doplněna lékařem - konzultantem DMP na základě diferenciálně diagnostické expertízy.

Žadatel může dodatečně doindikovat další vyšetření v případě, že je v laboratoři k dispozici dostatečné množství primárního vzorku. Na dodatečné vyšetření **MUSÍ** žadatel dodat novou žádanku.



7. Materiál k laboratornímu vyšetření v Diagnostických laboratořích DMP

7.1 Biochemická laboratoř

Materiál k vyšetření v Biochemické laboratoři (Tabulka 12) zasílejte na **Centrální příjem DMP (Ke Karlovu 455/2, Praha 2, budova E1a, přízemí)**.

Veškerý materiál je nutné dopravit co nejdříve na Centrální příjem DMP.

Transportem vzorku se rozumí doba **od odběru** biologického materiálu **do jeho doručení** na Centrální příjem DMP.

Tabulka 12: Materiál k vyšetření – Biochemická laboratoř

Materiál	Zkratka	Odběr	Transport	Poznámky
Srážlivá krev	K	7 ml žilní krve (zkumavka bez úpravy)	při RT	nemrazit, při transportu nad 1h separovat sérum (viz níže)
Sérum	S	7 ml plné žilní krve, stočit při 2000 g (pro analýzu aminokyselin nejlépe do 60 min. po odběru), separovat sérum a zkumavku označit - <i>sérum</i>	0-8°C	nejlépe na ledu, při transportu nad 4h zamrazit
Nesrážlivá krev	NK	7 ml žilní krve do zkumavky s EDTA	při RT	nemrazit, při transportu nad 1h separovat plazmu (viz níže)
Plazma	P	7 ml žilní krve do zkumavky s EDTA - stočit při 2000 g (pro analýzu aminokyselin nejlépe do 60 min. po odběru), separovat plazmu a zkumavku označit - <i>plazma</i>	0-8°C	nejlépe na ledu, při transportu nad 4h zamrazit
Suchá krevní kapka (novorozenecká screeningová kartička)	KP	filtrační papír typ „903“ se 4 krevními skvrnami - ø1 cm (plná krev). Kruhy vyznačené na testovací kartičce musí být plně prosáknuty (viditelně z přední a zadní strany kartičky). Kartička nesmí být nasáknuta plnou krví opakovaně.	při RT	před transportem nechat uschnout při RT (nesmí schnout nad zdrojem tepla); vložit do sáčku až po <i>dokonalém usušení</i>
Likvor (mozkomíšni mok)	L	minimálně 1 ml (ve sterilní zkumavce bez úpravy)	0-4°C	transport na ledu, při transportu nad 4h zamrazit
Moč	M	20 ml, nejlépe ranní moči do 2 močových zkumavek, nepoužívat nádoby od léčiv!!!	0-8°C	nejlépe na ledu, při transportu nad 4h zamrazit
Moč ranní celá	MC	moč ranní celá porce včetně sedimentu	0-8°C	nejlépe na ledu, při transportu nad 4h zamrazit
Deproteinát krve v kyselině chloristé	CH	odběr nesrážlivé krve (EDTA) do dvojnásobného objemu studené 8% kys. chloristé	na ledu	společný odběr pro stanovení laktátu, pyruvátu a 3-hydroxybutyrátu



Metabolická příručka

Materiál	Zkratka	Odběr	Transport	Poznámky
Erytrocyty	Ery	3-5 ml nesrážlivé krve do zkumavky s EDTA	při RT	VŽDY po předchozí telefonické dohodě, zaslat nejpozději do 12h, vždy poslat i kontrolní vzorek od nepříbuzné osoby

RT = pokojová teplota

Primární vzorky jsou v Biochemické laboratoři uchovávány při teplotě -18°C minimálně 1 měsíc.

7.2 Laboratoř DNA diagnostiky

Materiál k vyšetření v Laboratoři DNA diagnostiky (Tabulka 13) zasílejte na **Centrální příjem DMP (Ke Karlovu 455/2, Praha 2, budova E1a, přízemí)**.

Materiál na prenatalní diagnostiku a vyšetření transkriptu zasílejte vždy po předchozí telefonické dohodě.

K žadance je nutné přiložit řádně vyplněný a podepsaný informovaný souhlas vyšetřované/ho (zákonného zástupce) s genetickým laboratorním vyšetřením. (<http://udmp.lf1.cuni.cz/pozadavek-na-vysetreni-dmp>)

Veškerý materiál je nutné dopravit co nejrychleji na Centrální příjem DMP, nesrážlivou krev na izolaci RNA ideálně do 2h po odběru.

Tabulka 13: Materiál k vyšetření – Laboratoř DNA diagnostiky

Materiál	Odběr	Transport
Nesrážlivá krev	2,7 ml nesrážlivé periferní krve odebrané za sterilních podmínek do zkumavek s EDTA	při RT, nechladit
Choriové klky nativní	pečlivě očištěné od maternální tkáně, minimálně 2 mg tkáně do sterilní plastové zkumavky naplněné sterilním transportním médiem	
Amniocyty nativní	Do sterilní zkumavky, minimální objem plodové vody 10 ml.	
Kultivované buňky	Fibroblasty, amniocyty, choriové klky Překryté kultivačním médiem	
Bioptický a autoptický materiál	Vzorky tkání (např. jater, myokardu, svalů, kůže)	ihned po odběru tkání zamrazit v tekutém dusíku, NEFIXOVAT FORMALDEHYDEM!!!
Suchá krevní kapka (novorozenecká screeningová kartička)	filtrační papír typ „903“ se 4 krevními skvrnami - ø1 cm (plná krev). Kruhy vyznačené na testovací kartičce musí být plně prosáknuty (viditelně z přední a zadní strany kartičky). Kartička nesmí být nasáknuta plnou krví opakovaně.	před transportem nechat uschnout při RT (nesmí schnout nad zdrojem tepla); vložit do sáčku až po <i>dokonalém usušení</i>

RT = pokojová teplota



Metabolická příručka

Primární vzorky krve, fibroblastů a tkání jsou v Laboratoři DNA diagnostiky uchovávány 50 let v mrazáku při teplotě min. -18°C, pokud pacient potvrdí informovaný souhlas s uskladněním vzorku.

Pokud je primárním vzorkem přímo izolovaná DNA, jsou tyto vzorky ukládány a skladovány v lednici (2-12°C).

7.3 Enzymologická laboratoř

Materiál k vyšetření v Enzymologické laboratoři (Tabulka 14) zasílejte na **Centrální příjem DMP (Ke Karlovu 455/2, Praha 2, budova E1a, přízemí)**.

Materiál zasílejte vždy po předchozí telefonické dohodě (tel. 22496 7032, 22496 7034).

Při enzymatickém vyšetření pošlete vždy současně s krví pacienta i krev kontrolní, ne od příbuzného, odebíranou a transportovanou za stejných podmínek jako krev pacienta.

Veškerý materiál je nutné dopravit co nejrychleji na **Centrální příjem DMP**, pro izolaci leukocytů do 12 hodin po odběru krve.

Tabulka 14: Materiál k vyšetření – Enzymologická laboratoř

Materiál	Zkratka	Odběr	Transport	Poznámky
Suchá krevní kapka (novorozenecká screeningová kartička)	KP	filtrační papír typ „903“ se 4 krevními skvrnami - ø1 cm (plná krev). Kruhy vyznačené na testovací kartičce musí být plně prosáknuty (viditelně z přední a zadní strany kartičky). Kartička nesmí být nasáknuta plnou krví opakovaně.	při RT	před transportem nechat uschnout při RT (nesmí schnout nad zdrojem tepla); vložit do sáčku až po <i>dokonalém usušení (minimálně 4h)</i>
Nesrážlivá krev na izolaci leukocytů	NK (Leu)	7 ml žilní krve do zkumavky s EDTA	při RT	VŽDY po předchozí telefonické dohodě, poslat vždy i kontrolní vzorek od nepříbuzné osoby, zaslat do 12 hodin od odběru
Nesrážlivá krev na izolaci erytrocytů	NK (Ery)	2 - 3 ml žilní krve do zkumavky s EDTA	při RT	
Nesrážlivá krev na separaci plazmy	NK (P)	2 - 3 ml žilní krve do zkumavky s EDTA	při RT	
Srážlivá krev na separaci séra	K (S)	2 - 3 ml žilní krve (zkumavka bez úpravy)	při RT	
Plazma	P	3 ml nesrážlivé krve do EDTA, separovat plazmu	0 - 8°C	nejlépe na ledu, při transportu nad 4h zamrazit
Sérum	S	3 ml plné žilní krve, separovat sérum	0 - 8°C	
Moč	M	2 - 5 ml, nejlépe ranní	0 - 8°C	
Kožní biopsie na kultivaci fibroblastů	F	kožní biopsie do transportního média	při RT	viz 7.4. Laboratoř tkáňových kultur

RT = pokojová teplota



7.4 Laboratoř tkáňových kultur

Materiál k založení tkáňové kultury zasílejte **přímo do laboratoře U Nemocnice 4** (vchod z ulice Pod Větrovem), Praha 2). Při odběru po úmrtí pacienta je žádoucí odběr 2 vzorků z různých míst do oddělených zkumavek (nádobek) s transportním roztokem. Je nutný odběr za sterilních podmínek. Přesné pokyny k odběru a transportu vzorku jsou uvedeny ve formuláři F-KDDL-DMP-T-08 „Pokyny pro odběr a transport vzorku kůže k založení kultury fibroblastů“, který je k dispozici na <http://udmp.lf1.cuni.cz/file/5803/f-udmp-t-08-pokyny-pro-odber-a-transport-vzorku-kuze-verze03.pdf>.

Materiál zasílejte vždy po předchozí telefonické dohodě (tel. 22496 5642, 22496 5643).

Veškerý materiál je nutné dopravit co nejrychleji do Laboratoře tkáňových kultur DMP.

7.5 Laboratoř pro studium mitochondriálních poruch

Veškeré informace naleznete v Laboratorní příručce na webových stránkách laboratoře <http://mitolab.lf1.cuni.cz/>.



8. Vydávání výsledků

Výsledkové listy jsou vydávány vždy písemně, jsou tištěny v kompletní podobě a zaslány poštou.

Telefonicky jsou výsledky pacientů sdělovány jen ve výjimečných případech – pouze ošetřujícímu lékaři na základě ověření znalostí o stavu vyšetřovaného pacienta a jeho jednoznačné identifikaci. Výdej výsledků pacientovi je možný pouze na základě žádosti ošetřujícího lékaře nebo pacientovi samoplátci. Pacient musí předložit průkaz totožnosti (občanský průkaz nebo pas).

Maximální doba odezvy laboratoře pro vydání kompletních výsledkových listů z laboratoře je 1 měsíc (mimo Laboratoř tkáňových kultur a Laboratoře pro studium mitochondriálních poruch, kde je doba odezvy 8, resp. 12 týdnů). Maximální doba odezvy v rámci Sekvenačního centra, kde se provádí metoda masivního paralelního sekvenování (NGS), je 6 měsíců. Výsledky jsou vydávány **VŽDY** v kompletní podobě.

V situaci, kdy není možno z určitého důvodu dodržet dobu odezvy, je kontaktován odesílající lékař a je dohodnut další postup.

Výsledky vyšetření **novorozeneckého screeningu** jsou známy max. do 3 pracovních dní od dodání novorozenecké screeningové kartičky do laboratoře. Do této doby jsou všechny patologické výsledky po opakování telefonicky nahlášeny a řešeny, fyziologické výsledky screeningu nejsou písemně vydávány.

8.1 Změna výsledkového listu

Pokud byla zjištěna chyba v odeslaném výsledkovém listu, je nutno chybný výsledek opravit. Žadatel o vyšetření je informován o chybném výsledku a požádán o vrácení původní nesprávné verze výsledkového listu.

Je vytištěn nový výsledkový list, na kterém je zřetelně uvedeno, že se jedná o opravený výtisk. Pokud se jedná o výsledkový list, na kterém jsou výsledky více vyšetření a oprava byla prováděna pouze u některého výsledku, je informace o opravě uvedena přímo u konkrétního výsledku vyšetření.

Původní výsledkové listy jsou uchovány v laboratorním informačním systému nebo ve složce pacienta.

O přepracování výsledkového listu je v laboratoři veden Záznam o řízení neshod a nápravném opatření.

8.2 Hlášení kritických hodnot – Biochemická laboratoř

Hlášení kritických hodnot u patologických výsledků (Tabulka 16) provádí lékař DMP, který rozhoduje vždy s individuálním přístupem ke konkrétnímu pacientovi.

Patologické výsledky jsou hlášeny odesílajícímu lékaři.

Výsledky v kritických intervalech se hlásí pouze u nově zachycených případů.

Tabulka 16: Kritické hodnoty v biochemické laboratoři

Vyšetření	Kritické hodnoty	Jednotky
Aminokyseliny v séru, plazmě, moči, likvoru	profil suspektní pro DMP	
Galaktitol v moči	> 200	mmol/mol kreatininu
Galaktóza /Galaktóza-1-fosfát v krvi	> 0,5 / > 0,5	mmol/l

Dokument zobrazený na intranetu VFN je řízen správcem dokumentace pracoviště.

Po vytištění - pokud není označen „Řízený výtisk“ - slouží pouze pro informativní účely - nepodléhá pravidlům řízení dokumentace.



Homocystein celkový v plazmě, séru	> 50	umol/l
Kreatinin v séru, plazmě*	> 300 (> 150 u dětí do 15 let)	umol/l
Kyselina močová v séru, plazmě*	> 600	umol/l
Kyselina orotová v moči	> 10	mmol/mol kreatininu
Laktát v krvi	> 5	mmol/l
Laktát v likvoru	> 4	mmol/l
Organické kyseliny v moči	profil suspektní pro DMP	
Tandemová hmotnostní spektrometrie aminokyseliny a acylkarnitiny	profil suspektní pro DMP	

* při selhání ledvin v anamnéze se nehlásí

8.3 Stížnosti

Při vyřizování stížností se postupuje v souladu se směrnicí SM-VFN-25 Šetření stížností (podání). Každá stížnost je odpovědně řešena a jsou přijatá nápravná opatření, která mají zabránit případnému opakování podobné stížnosti.

Způsob podání stížností a připomínek:

- písemně (dopis, e-mail),
- ústně (telefonicky nebo osobně).

V případě **oprávněné** stížnosti je snahou DMP dosáhnout toho, aby:

- byla co nejrychleji posouzena,
- byla co nejdříve vyřešena přijetím nápravného opatření nebo vysvětlením klientovi případnou omluvou,
- se přijetím preventivních opatření předešlo podání stížnosti ze stejného důvodu

Termíny pro vyřízení stížností

Pokud stížnost není řešena ihned, je termín na vyřízení stížnosti 30 kalendářních dnů. V tomto termínu oznámí odpovědný pracovník žadateli výsledek šetření. V případě, že nelze v tomto termínu stížnost dořešit, informuje stěžovatele o dosavadním postupu (např. znalecký posudek).



9. Přehled laboratorních vyšetření

9.1 Novorozenecký screening DMP

www.novorozeneckyscreening.cz

Tabulka 17: Kontakty – novorozenecký screening

Help line pro novorozenecký screening	screeningdmp@vfn.cz TF 224 967 109
---------------------------------------	--

Novorozenecký screening DMP se provádí u každého novorozence v ČR vyšetřením suché krevní kapky z novorozenecké screeningové kartičky metodou tandemové hmotnostní spektrometrie. Novorozenecký screening zahrnuje 15 DMP uvedených v Tabulce 18, odběr krve u novorozence se provádí 48-72 hodin po narození. DMP vyšetřuje ročně cca 80.000 novorozenců (tj. cca 2/3 všech novorozenců v ČR). V roce 2010 bylo ustanoveno Koordinační centrum pro novorozenecký screening se sídlem ve VFN.

Pravidla pro odběr krve, povinnosti laboratoří a zajištění péče o diagnostikované děti určuje Metodický návod k zajištění celoplošného novorozeneckého laboratorního screeningu a následné péče, který byl uveřejněn ve Věstníku MZ ČR 2016, Částka 6.

Tabulka 18: Seznam DMP vyšetřovaných v rámci novorozeneckého screeningu

	Seznam DMP vyšetřovaných v rámci novorozeneckého screeningu
1	argininémie (ARG)
2	citrulinémie I. typu (CIT)
3	deficit acyl-CoA dehydrogenázy mastných kyselin se středně dlouhým řetězcem (MCAD)
4	deficit acyl-CoA dehydrogenázy mastných kyselin s velmi dlouhým řetězcem (VLCAD)
5	deficit biotinidázy (BTD)
6	deficit 3 – hydroxyacyl-CoA dehydrogenázy mastných kyselin s dlouhým řetězcem (LCHAD)
7	deficit karnitinpalmityltransferázy I (CPT I)
8	deficit karnitinpalmityltransferázy II (CPT II)
9	deficit karnitinacylkarnitintranslokázy (CACT)
10	fenylketonurie (PKU) a hyperfenylalaninémie (HPA)
11	glutarová acidurie typ I (GA I)
12	homocystinurie z deficitu cystathionin beta-syntázy (CBS), pyridoxin non-responzivní forma
13	homocystinurie z deficitu methylenetetrahydrofolátreduktázy (MTHFR)
14	izovalerová acidurie (IVA)
15	leucinóza (nemoc javorového sirupu, MSUD)



9.2 Biochemická laboratoř

Tabulka 19: Kontakty – Biochemická laboratoř

Dětský areál Karlov, Ke Karlovu 455/2, Praha 2, 128 08 Budova E3c		
	Telefon	Kontaktní osoba
Vedoucí laboratoře	22496 7225	Ing. Karolína Pešková
Vrchní laborantka	22496 7712	Eva Klímová
Lékařské konzultace (v pracovní době)	22496 7710	Lékař konzultant
Lékařské konzultace (mimo pracovní dobu)	725 739 992	Lékař konající službu
Sekretariát	22496 7710	Petra Vetešníková, Iveta Vojíková

Biochemická laboratoř provádí laboratorní vyšetření na úrovni metabolitů a enzymů.

V rámci selektivního screeningu (tj. u pacientů s příznaky, které vedou k podezření na DMP) je možno diagnostikovat cca 120 DMP. V laboratoři je zavedeno více než 50 metod na kvalitativní, kvantitativní a profilové vyšetření metabolitů, stanovujeme aktivitu 8 enzymů pro diagnostiku deficitu biotinidázy, klasické galaktosemie a poruch metabolismu purinů. (Tabulka 20, 21)

Provádíme též screening maternální hyperfenylalaninemie u těhotných.

Každoročně rozšiřujeme spektrum prováděných laboratorních metod.

Pracoviště je jedním z 5 center, které organizuje systém externí kontroly kvality (ERNDIM Diagnostic Proficiency Testing, tj. testování diagnostické zdatnosti) pro biochemicko-genetické laboratoře Evropy a Asie.

Pracoviště se s vysokou úspěšností účastní několika systémů externí kontroly kvality (český - SEKK a zahraniční systémy - ERNDIM, INSTAND, CDC), které pokrývají všechny základní oblasti diagnostiky DMP.

Biochemická laboratoř je akreditována Českým institutem pro akreditaci podle normy ČSN EN ISO 15189:2013.

Vyšetření na úrovni metabolitů zahrnuje vyšetření intermediátů metabolismu lipidů, aminokyselin, sacharidů, oligosacharidů, glykosaminoglykanů, purinů, pyrimidinů a dalších látek.

Součástí vyšetření je i biochemická interpretace nálezů, což vyžaduje informace o pacientově věku, rodinné a osobní anamnéze, aktuální symptomatologii klinické, laboratorní aj., stravě aj. výživě, medikaci a předpokládané diagnóze.



Metabolická příručka

Tabulka 20: Seznam vyšetření – Biochemická laboratoř

Aminokyseliny (AMK) kvantitativně v séru/plazmě	
Typ metody:	kvantitativní, profilová
Statim:	ano
Materiál:	<ul style="list-style-type: none">plazma nebo sérumoddělit nejlépe do 60 min. po odběruvzorky určené pro diagnostiku DPM nutno odebrat v době, kdy nejsou podávány i. v. aminokyseliny
Minimální spotřeba vzorku	250 μ l
Poznámky:	<ul style="list-style-type: none">glutamin a glutamát jsou zároveň hodnoceny dohromadykromě běžných AMK lze stanovit i AMK obvykle v séru /plazmě nepřítomné - alloizoleucin, kys. argininojantarovou a její anhydridy, cystathionin, fosfoetanolamin, homocystin, karnosin, metylhistidiny, sarkosin aj.interference - lékysekundární a nespecifické odchylky - postprandiální odběr, parenterální výživa, hepatopatie, kontaminace, hemolýza, pozdní oddělení séra/plazmy aj.
Indikace:	<p><u>klinické symptomy</u> – intolerance stravy, neobvyklé dietní zvyky, zvracení, neprospívání, hypotonie, letargie, křeče, koma, mentální retardace, mikrocefalie, ataxie, choreoatetóza, spastická paraparéza nebo diplegie, poruchy chůze, problémy s učením, poruchy chování, neuropsychiatrické symptomy, atrofie optiku, retinitis pigmentosa, dysmorfie, atypický zápach, hepatomegalie, pankreatitis, tubulopatie, tachypnoe, systémové kostní změny, atypické vlasy, kožní léze, akutní dekompenzace;</p> <p><u>laboratorní symptomy</u> – metabolická acidóza, hyperamonemie, ketonurie, vyšší anion gap, neutropenie, megaloblastická anemie, deficit vitamínu B12 nebo folátů, hepatopatie, hypokreatininemie; aminoacidopatie</p>
Aminokyseliny (AMK) kvantitativně v moči	
Typ metody:	kvantitativní, profilová
Statim:	ano
Materiál:	moč
Minimální spotřeba vzorku	250-1000 μ l (závisí na koncentraci kreatininu v moči)
Poznámky:	<ul style="list-style-type: none">kromě běžných AMK lze stanovit i AMK obvykle v moči nepřítomné a další ninhydrin-pozitivní látky (α-aminoadipovou kyselinu, argininojantarovou kyselinu a její anhydridy, aspartylglukosamin, citrulin, δ-aminolevulovou kyselinu, fosfoetanolamin, homocystin, hydroxyprolin, iminodipeptidy, ornitin, prolin, sacharopin, aj.);interference – metabolity některých léků (2-merkaptoethansulfonát, ampicilin, vigabatrin aj.)
Indikace:	viz aminokyseliny kvantitativně v séru/plazmě
Aminokyseliny (AMK) kvantitativně v likvoru	
Typ metody:	kvantitativní, profilová



Metabolická příručka

Statim:	ano
Materiál:	likvor
Minimální spotřeba vzorku	250 µl
Poznámky:	-
Indikace:	susp. neketotická hyperglycinemie: psychomotorická retardace, hypotonie, křeče; susp. defekt v biosyntéze serinu: kongenitální mikrocefalie, psychomotorická retardace, křeče, poruchy mitochondriálního energetického metabolismu
Biotinidáza kvalitativně	
Typ metody:	kvalitativní
Statim:	ne
Materiál:	suchá krevní kapka nebo sérový papírek
Minimální spotřeba vzorku	-
Poznámky:	<ul style="list-style-type: none">nelze provést z plazmyinterference - sulfonamidy
Indikace:	provádí se u každého poprvé vyšetřovaného pacienta susp. deficit biotinidázy – viz Biotinidáza v séru kvantitativně
Biotinidáza kvantitativně	
Typ metody:	kvantitativní
Statim:	ne
Materiál:	sérum
Minimální spotřeba vzorku	50 µl
Poznámky:	<ul style="list-style-type: none">nelze z plazmysulfonamidy
Indikace:	susp. deficit biotinidázy - v různé kombinaci symptomy laboratorní (intermitentní ataky ketoacidózy) a/nebo klinické: neurologické (psychomotorická retardace, křeče, hypotonie, ataxie), kožní (seborrhoická dermatitida, raš, alopecie), oční (atrofie optiku, keratokonjunktivitida), respirační (tachypnoe, apnoe, stridor), gastrointestinální (neprospívání, zvracení, průjem), imunologické (recidivující infekty); ověření deficitu biotinidázy zjištěného screeningovým vyšetřením
Disulfidy	
Typ metody:	semikvantitativní
Statim:	ne
Materiál:	moč
Minimální spotřeba vzorku	1 ml
Poznámky:	cystin je relativně nerozpustný a po vymočení krystalizuje na dně nádoby; <u>před odlitím vzorku moči je nutné celý objem moči v nádobě důkladně promíchat, aby v odlitém vzorku i ve zbylé moči v nádobě byla stejná koncentrace cystinu !!</u>
Indikace:	urolitiáza, zvl. familiární, susp. cystinurie; provádí se u každého poprvé vyšetřovaného pacienta



Metabolická příručka

Galaktitol a jiné polyoly	
Typ metody:	kvantitativní
Statim:	ano (pouze galaktitol)
Materiál:	moč
Minimální spotřeba vzorku	0,5 ml
Poznámky:	Při stanovení galaktitolu se kvantifikují i další polyoly (erytritol, arabitol, ribitol) a fruktóza. Statimově pouze galaktitol.
Indikace:	<ul style="list-style-type: none">• susp. galaktosemie - u novorozence po expozici laktózou stav připomínající sepsi s hepatopatií a hypoglykemií s rozvojem akutního jaterního selhání, v pozdějším věku katarakta, hepatopatie, neprospívání, mentální retardace;• susp. poruchy pentózo-fosfátového cyklu (deficit ribóza-5-fosfát izomerázy, deficit transaldolázy);• susp. poruchy metabolismu fruktózy (deficit fruktóza-1,6-bisfosfatázy, vrozená intolerance fruktózy, deficit fruktokinázy v játrech)
Galaktóza/galaktóza-1-fosfát	
Typ metody:	semikvantitativní
Statim:	ano
Materiál:	krevní papírek
Minimální spotřeba vzorku	-
Poznámky:	falešně negativní nálezy při vyšetření do 3 měsíců od krevní transfuze
Indikace:	<ul style="list-style-type: none">• susp. galaktosemie - u novorozence po expozici laktózou stav připomínající sepsi s hepatopatií a hypoglykemií s rozvojem akutního jaterního selhání, v pozdějším věku katarakta, hepatopatie, neprospívání, mentální retardace• při zvýšeném vylučování galaktitolu močí
Glykogen	
Typ metody:	kvantitativní
Statim:	ne
Materiál:	nesrážlivá krev, vyšetření se provádí z izolovaných erytrocytů
Minimální spotřeba vzorku	3-5 ml
Poznámky:	-
Indikace:	susp. jaterní glykogenóza typu III
Homocystein celkový	
Typ metody:	kvantitativní
Statim:	ne
Materiál:	EDTA plazma; sérum je méně vhodné, lze ho použít pro orientační vyloučení střední a těžké hyperhomocysteinemie;
Minimální spotřeba vzorku	150 µl
Poznámky:	<ul style="list-style-type: none">• nesrážlivou krev odebranou do EDTA dopravit do 1 hodiny do laboratoře k separaci plazmy (zkumavka částečně ponořená do vody s ledem);• při předpokládaném transportu krve po odběru delším než 1 hodina je nutné krev zcentrifugovat, plazmu odsát ihned po centrifugaci a



Metabolická příručka

	zamrazit, k vyšetření poslat zamraženou plazmu; • nelze vyšetřovat hemolytické a silně lipemické vzorky: hemoglobin nad 3 g/l, TG nad 10 g/l, bilirubin nad 0,2 g/l;
Indikace:	A) marfanoidní habitus, včetně subluxace či luxace čočky (k dif.dg. Marfanova syndromu a homocystinurie); B) tromboembolické příhody nejasné etiologie (k dif.dg. střední či těžké hyperhomocystinemie jako příčiny žilních trombóz); C) neurologické poruchy s postižením bílé hmoty (k dif.dg. remetylačních forem homocystinurie); D) makrocytární a megaloblastová anemie nejasné etiologie (k dif.dg. remetylačních forem homocystinurie); E) metylmalonová acidurie; F) psychomotorická retardace a encefalopatie nejasné etiologie; G) veganská strava; H) indikace k vyšetřování mírně zvýšených koncentrací celkového homocysteinu u kardiovaskulárních onemocnění je kontroverzní a je podrobněji uvedena v publikaci: Refsum H et al.: Facts and recommendations about total homocysteine determinations: an expert opinion; Clin Chem 2004 Jan;50(1):3-32; I) chronické selhání ledvin a metabolický syndrom
3-Hydroxybutyrát	
Typ metody:	kvantitativní
Statim:	ne
Materiál:	krev
Minimální spotřeba vzorku	deproteinát krve 300 µl
Poznámky:	• odběr EDTA krve <u>bez ischemizace končetiny</u> do dvojnásobného objemu studené 8% kys. chloristé, důkladně protřepat, transport zkumavky v malém množství vody s ledem, centrifugovat, odsát deproteinát; • společný odběr pro stanovení laktátu, pyruvátu a 3-hydroxybutyrátu
Indikace:	ketonurie, ketóza, ketoacidóza
Karnitin volný, celkový, acylovaný , poměr acylovaný/volný karnitin v séru	
Typ metody:	kvantitativní
Statim:	ne
Materiál:	sérum
Minimální spotřeba vzorku	100 µl
Poznámky:	FC volný karnitin TC celkový karnitin AC acylovaný karnitin acylovaný karnitin = rozdíl celkového a volného karnitinu poměr AC/FC = poměr acylovaný karnitin/volný karnitin



Metabolická příručka

Indikace:	susp. sekundární karnitinový deficit - u organických acidurií, u pacientů na nízkobílkovinné dietě, u pacientů na léčbě valproátem, u pacientů na dlouhodobé parenterální výživě, při poruchách příjmu potravy, při ketóze a ketoacidóze; myopatie, hypotonie; monitorování u pacientů na suplementaci karnitinem,
Karnitin volný, celkový, acylovaný, poměr acylovaný/volný karnitin v moči	
Typ metody:	kvantitativní
Statim:	ne
Materiál:	moč
Minimální spotřeba vzorku	50 µl
Poznámky:	FC volný karnitin TC celkový karnitin AC acylovaný karnitin acylovaný karnitin = rozdíl celkového a volného karnitinu poměr AC/FC = poměr acylovaný karnitin/volný karnitin
Indikace:	při odchylkách ve vyšetření karnitinu v séru
Kreatinin v séru, plazmě	
Typ metody:	kvantitativní
Statim:	ano
Materiál:	sérum, EDTA plazma
Minimální spotřeba vzorku	200 µl
Poznámky:	<u>vliv materiálu:</u> bilirubin do 440 µmol/l nemá vliv na falešné snížení výsledku; hemoglobin do 7 g/l nemá vliv na falešné zvýšení výsledku; triacylglyceroly do 17 mmol/l a kyselina askorbová do 9 mmol/l neinterferují
Indikace:	doplňuje vyšetření kyseliny močové pro výpočet indexů (index dle Stapletona, exkreční frakce); susp. porucha syntézy kreatinu (mentální/psychomotorická retardace/regres, porucha vývoje řeči, hypotonie, extrapyramidové příznaky, epilepsie, autistické příznaky)
Kreatinin v moči	
Typ metody:	kvantitativní
Statim:	ano
Materiál:	moč
Minimální spotřeba vzorku	100 µl
Poznámky:	<ul style="list-style-type: none"><u>vliv materiálu</u> - stanovení v moči mohou ovlivnit Jaffé pozitivní chromogeny - např. acetoacetát, 2-oxoglutarát, pyruvát, hippurát a askorbát ve vysokých koncentracích;koncentrace kreatininu v moči je ovlivněna pitným režimem, množstvím svalové hmoty, funkcí ledvin;koncentrace kreatininu < 1 mmol/l - snižuje přesnost kvantifikace látek vylučovaných močí, výsledky některých semikvantitativních



Metabolická příručka

	metod mohou být falešně negativní; <ul style="list-style-type: none">• <u>koncentrace kreatininu > 10-15 mmol/l</u> - výsledky některých semikvantitativních metod mohou být falešně pozitivní
Indikace:	provádí se v každém vzorku moče pro standardizaci vylučování vyšetřovaných analytů do moči
Kyselina homovanilová a 5-hydroxyindolacetát v likvoru	
Typ metody:	kvantitativní
Statim:	ne
Materiál:	likvor
Minimální spotřeba vzorku	200 µl
Poznámky:	<ul style="list-style-type: none">• odběr provést v dopoledních hodinách (9. -11. hod)• u dětí do 2 let použít likvor z 2. -3. ml• u dětí nad 2 roky z 3. - 4. ml• vzorek ihned stočit !!!• vzorek po odběru ihned zmrazit !!! (tekutý dusík, suchý led)• vzorky skladovat při -80 °C-při transportu do laboratoře zabránit rozmražení
Indikace:	poruchy syntézy neurotransmiterů klinicky – neprospívání, neurologická symptomatologie - PMR, hypotonie
Kyselina močová	
Typ metody:	kvantitativní
Statim:	ne
Materiál:	sérum, EDTA plazma, moč
Minimální spotřeba vzorku	sérum/plazma 200 µl, moč 200 µl
Poznámky:	standardizované vyšetření kyseliny močové a purinového metabolismu se provádí po 3 denní bezpurinové dietě <u>před odlitím vzorku moči je nutné celý objem moči v nádobě důkladně promíchat, aby v odlitém vzorku i ve zbylé moči v nádobě byla shodná koncentrace kyseliny močové !!</u> vliv materiálu: výsledky stanovení nejsou ovlivněny přítomností hemoglobinu do 5 g/l, bilirubinu do 513 µmol/l, triacylglycerolu do 23 mmol/l, kys. askorbové do 0,3 g/l
Indikace:	<u>susp. hyperurikemie</u> 1. familiární dna, zejména u žen v mladém věku, akutní dnava arthritida, urolitiáza, zvl. familiární, familiární intersticiální nefritida 2. <u>susp.deficit hypoxantinfosforibozyltransferázy (HPRT)</u> kompletní deficit (<u>Lesch-Nyhanův syndrom</u>) - psychomotorická retardace, křeče, automutilace, extrapyramidové symptomy, dna, urolitiáza, dnava nefropatie parciální deficit (<u>Kelley-Seegmillerův syndrom</u>) - bez neurologických symptomů 3. <u>susp. zvýšená aktivita fosforibosylpyrofosfátsyntetázy (PRPPs)</u> - ataxie, psychomotorická retardace, dysmorfie, hluchota, dna, urolitiáza, dnava nefropatie



Metabolická příručka

	<p>4. <u>susp. familiární juvenilní hyperurikemická nefropatie (FJHN)</u> - dna, progresivní nefropatie s chronickým renálním selháním, autozomálně dominantní dědičnost</p> <p>5. <u>glykogenózy</u> jaterní i svalové aj. sekundární hyperurikemie</p> <p>6. monitorování pacientů s hyperurikemií</p> <p><u>susp. hypourikemie</u></p> <p>1. <u>susp. xantinurie (deficit xantinoxidázy)</u> – xantinová urolitiáza</p> <p>2. <u>susp. kombinovaný deficit xantinoxidázy a sulfitoxidázy</u> - xantinová urolitiáza, symptomatologie deficitu sulfitoxidázy (psychomotorická retardace, křeče, ataxie, dislokace oční čočky)</p> <p>3. <u>susp. deficit purinnukleosidfosforylázy</u> – SCID, imunodeficit s postižením buněčné imunity</p> <p>4. <u>susp. deficit fosforibosylpyrofosfátsyntetázy (PRPPs)</u> – mentální retardace, křeče, megaloblastická anemie</p> <p>5. <u>susp. dědičná renální hypourikemie</u> – izolovaná hypourikemie se zvýšenou exkreční frakcí kyseliny močové</p>	
Kyselina močová - Index podle Kaufmana (IK)		
Typ metody:	výpočtová	
Statim:	ne	
Materiál:	sérum, moč	
Minimální spotřeba vzorku	sérum 200 µl, moč 200 µl	
Poznámky:	IK = kyselina močová v moči / kreatinin v moči udává vylučování kyseliny močové močí	
Indikace:	určen k dynamickému vyšetření kyseliny močové a metabolismu purinů	
Kyselina močová - Index podle Stapletona (IS)		
Typ metody:	výpočtová	
Statim:	ne	
Materiál:	sérum, moč	
Minimální spotřeba vzorku	sérum 200 µl, moč 200 µl	
Poznámky:	$IS = (\text{kyselina močová v moči} : \text{kreatinin v moči}) \times \text{kreatinin v séru}$; hodnotí vylučování kyseliny močové ve vztahu ke kreatininu	
Indikace:	určen k dynamickému vyšetření kyseliny močové a metabolismu purinů	
Kyselina močová - Exkreční frakce kyseliny močové EF_{KM}		
Typ metody:	výpočtová	
Statim:	ne	
Materiál:	sérum, moč	
Minimální spotřeba vzorku	sérum 200 µl, moč 200 µl	
Poznámky:	$EF_{KM} = (\text{kys. močová v moči} : \text{kreatinin v moči}) \times (\text{kreatinin v séru} : \text{kys. močová v séru}) \times 100$	
Indikace:	Familiární Juvenilní Hyperuremická Nefropatie susp. familiární dna, hyperurikemie, hyperurikemická nefropatie susp. dědičná renální hypourikemie	
Kyselina orotová		
Typ metody:	kvantitativní stanovení	
Statim:	ano	



Metabolická příručka

Materiál:	moč
Minimální spotřeba vzorku	250-1000 μ l (závisí na koncentraci kreatininu v moči)
Poznámky:	nutné uvést léky (allopurinol) u intermitentní symptomatologie je nutné vyšetřit také moč z akutní ataky
Indikace:	Hyperamonemie, hepatopatie, neprospívání susp. poruchy cyklu močoviny susp. HHH syndrom (hyperamonemie, hyperornitinemie, homocitrulinurie) susp. intolerance bílkovin s lyzinurií (LPI) zátěžový test s allopurinolem k detekci heterozygotek pro deficit ornitintranскарbamoylázy (OTC) susp. dědičná orotová acidurie z deficitu uridinmonofosfátsyntetázy (UMPS) - megaloblastická anemie rezistentní na léčbu, urolitiáza
Laktát a pyruvát	
Typ metody:	kvantitativní
Statim:	Ne
Materiál:	krev (laktát, pyruvát), likvor (laktát), moč (laktát)
Minimální spotřeba vzorku	deproteinát krve 300 μ l, likvor 200 μ l
Poznámky:	<ul style="list-style-type: none">• odběr EDTA krve bez ischemizace končetiny do dvojnásobného objemu studené 8% kyseliny chloristé, důkladně protřepat, transport zkumavky v malém množství vody s ledem, centrifugovat, odsát deproteinát;• stanovuje se pouze L-laktát (nikoliv D-laktát);• metabolická acidóza se objevuje až při koncentraci laktátu v krvi > 5 mmol/l;• společný odběr pro stanovení laktátu, pyruvátu a 3-hydroxybutyrátu v krvi;• poměr L/P v krvi = koncentrace laktátu/koncentrace pyruvátu; poměr L/P se vypočte pouze v případě zvýšené koncentrace laktátu
Indikace:	<u>příčiny laktátové acidózy (L-laktát):</u> glykogenózy, poruchy glukoneogeneze, Krebsova cyklu, β -oxidace mastných kyselin, deficit pyruvát dehydrogenázy, poruchy respiračního řetězce, organické acidurie (metylmalonová, propionová, izovalerová), citrulinemie dynamický zátěžový test
Metabolismus kreatinu	
Typ metody:	kvantitativní
Statim:	Ne
Materiál:	moč
Minimální spotřeba vzorku	10 μ l
Poznámky:	nejlépe 12 nebo 24 hodinový sběr
Indikace:	při klinické nebo laboratorní symptomatologii vedoucí k podezření na poruchu biosyntézy nebo transportu kreatinu: <u>klinické symptomy</u> – mentální/psychomotorická retardace/regres, porucha vývoje řeči, hypotonie, extrapyramidové příznaky, epilepsie; <u>laboratorní symptomy</u> – snížená koncentrace kreatininu v séru, nízká



Metabolická příručka

	koncentrace kreatinu při vyšetření MRS mozku
5-Metyltetrahydrofolát	
Typ metody:	kvantitativní
Statim:	ne
Materiál:	likvor
Minimální spotřeba vzorku	200 µl
Poznámky:	<ul style="list-style-type: none">• centrifugace• odsátí do hnědé/černé zkumavky – nutná ochrana před světlem!!!• zamražení na -80°C
Indikace:	poruchy syntézy 5-metyltetrahydrofolátu, odchylky v metabolismu folátů v CNS, poruchy v cyklu homocysteinu-metioninu klinicky – neprospívání, anemie, neurologická symptomatologie - PMR, poruchy chování, epilepsie, autismus, polyneuropatie, intrakraniální kalcifikace
Mukopolysacharidy semikvantitativně (glykosaminoglykany)	
Typ metody:	semikvantitativní
Statim:	ne
Materiál:	moč
Minimální spotřeba vzorku	1 kapka
Poznámky:	<ul style="list-style-type: none">• vylučování mukopolysacharidů kolísá během dne a klesá s věkem, k vyšetření je proto vhodný vzorek z 12 hodinového sběru;• před odlitím vzorku moči je nutné celý objem moči v nádobě důkladně promíchat, aby v odlitém vzorku i ve zbylé moči v nádobě byla stejná koncentrace mukopolysacharidů!!
Indikace:	susp. stádavé onemocnění ze skupiny mukopolysacharidóz - kostní deformity, faciální dysmorfie s hrubšími rysy, retardace/regres psychomotorického vývoje, hepatosplenomegalie, zákaly rohovek, hernie, kardiomyopatie, známky stádání v tkáních; provádí se u každého poprvé vyšetřovaného pacienta (součást screeningu při dodání dostatečného množství moče)
Mukopolysacharidy kvantitativně (glykosaminoglykany)	
Typ metody:	kvantitativní
Statim:	ne
Materiál:	moč
Minimální spotřeba vzorku	100 µl
Poznámky:	<ul style="list-style-type: none">• vylučování mukopolysacharidů kolísá během dne a klesá s věkem, k vyšetření je proto vhodný vzorek z 12 hodinového sběru;• před odlitím vzorku moči je nutné celý objem moči v nádobě důkladně promíchat, aby v odlitém vzorku i ve zbylé moči v nádobě byla stejná koncentrace mukopolysacharidů!!
Indikace:	susp. stádavé onemocnění ze skupiny mukopolysacharidóz - kostní deformity, faciální dysmorfie s hrubšími rysy, retardace/regres psychomotorického vývoje, hepatosplenomegalie, zákaly rohovek, hernie, kardiomyopatie, známky stádání v tkáních; ověření zvýšeného vylučování zjištěného orientačním vyšetřením

**Mukopolysacharidy kvalitativně – elektroforéza (glykosaminoglykany)**

Typ metody:	kvalitativní, profilová
Statim:	ne
Materiál:	moč
Minimální spotřeba vzorku	0,5 – 15 ml (závisí na koncentraci kreatininu v moči)
Poznámky:	<ul style="list-style-type: none">vylučování mukopolysacharidů kolísá během dne a klesá s věkem, k vyšetření je proto vhodný vzorek z 12 hodinového sběru;před odlitím vzorku moči je nutné celý objem moči v nádobě důkladně promíchat, aby v odlitém vzorku i ve zbylé moči v nádobě byla stejná koncentrace mukopolysacharidů!!
Indikace:	susp. stádavé onemocnění ze skupiny mukopolysacharidóz - kostní deformity, faciální dysmorfie s hrubšími rysy, retardace/regres psychomotorického vývoje, hepatosplenomegalie, zákaly rohovek, hernie, kardiomyopatie, známky stádání v tkáních; doplňující vyšetření po zjištění zvýšeného vylučování mukopolysacharidů zjištěného kvantitativním vyšetřením

Oligosacharidy, sialyloigosacharidy

Typ metody:	kvalitativní, profilová
Statim:	ne
Materiál:	moč
Minimální spotřeba vzorku	závisí na koncentraci kreatininu v moči
Poznámky:	<ul style="list-style-type: none">k vyšetření je vhodný vzorek z 12 hodinového sběru, protože vylučování oligosacharidů kolísá během dne<u>před odlitím vzorku moči je nutné celý objem moči v nádobě důkladně promíchat, aby v odlitém vzorku i ve zbylé moči v nádobě byla stejná koncentrace oligosacharidů !!</u>vysoká koncentrace solí a barviv (orcino pozitivní látky) v moči způsobuje <u>sníženou transparentci chromatogramu</u> a znemožňuje správnou interpretaci nálezuvysoká koncentrace solí způsobuje <u>zdeformování frakcí</u> a znemožňuje správnou interpretaci nálezu vylučování oligosacharidů klesá s věkem
Indikace:	susp. stádavé onemocnění ze skupiny glykoproteinóz a glykolipidóz; známky stádání v tkáních, psychomotorická retardace; enzymatické poruchy v odbourávání oligosacharidů a lipidů v lyzosomech, které mají za následek stádání inkompletně odbouraných substrátů)

Organické kyseliny v moči

Typ metody:	profilová, semikvantitativní
Statim:	ano
Materiál:	moč, sběr moči (nejlépe 12 hodinový), případně moč z akutní ataky
Minimální spotřeba vzorku	0,5 – 3,5 ml (závisí na koncentraci kreatininu v moči)
Poznámky:	nutno uvést výživu, dietu, léky u intermitentní symptomatologie je nutné vyšetření moče také v akutní atace
Indikace:	susp. organická acidurie, aminoacidopatie, porucha β -oxidace mastných



Metabolická příručka

	kyselin nebo jiná porucha energetického metabolismu; susp. hyper IgD syndrom, tyrosinemie typ I, choroba Cannavanové, alkaptonurie; nejasné akutní, recidivující nebo chronické stavy s metabolickou acidózou nebo alkalózou, hyperamonemií, hyperlaktacemií, hypoglykemií, ketonurií, epileptická encefalopatie, progredující neurologické nebo multisystémové onemocnění, neprospívání
Organické kyseliny v séru/plazmě	
Typ metody:	profilová, semikvantitativní
Statim:	ne
Materiál:	sérum, plazma
Minimální spotřeba vzorku	400 µl
Poznámky:	nutné uvést výživu, dietu, léky u intermitentní symptomatologie je nutné vyšetření séra/plazmy také v akutní atace
Indikace:	Při podezření na deficit MCAD, VLCAD, LCHAD a glutarovou acidurii typ II., a to pouze tehdy, není-li k dispozici jiný materiál (moč a/nebo suchá krevní skvrna), a nebo v případech, kdy nálezy v moči a/nebo suché krevní skvrně jsou pro výše uvedené poruchy suspektní.
Pteriny	
Typ metody:	kvantitativní, profilová
Statim:	ne
Materiál:	moč chráněná před světlem (neprůhledná zkumavka, nebo zkumavku zabalit do alobalu), zamrazit
Minimální spotřeba vzorku	500 µl
Poznámky:	–
Indikace:	1. odlišení hyperfenylalaninemie/fenylketonurie z deficitu fenylalanin- hydroxylázy od hyperfenylalaninemie s poruchou metabolismu pterinů 2. při klinickém podezření na poruchu metabolismu pterinů
Puriny a pyrimidiny	
Typ metody:	kvantitativní, profilová
Statim:	ne
Materiál:	moč, plazma, likvor
Minimální spotřeba vzorku	Moč 200 – 600 µl (závisí na koncentraci kreatininu v moči), plazma 150 µl, likvor 150 µl
Poznámky:	<ul style="list-style-type: none">nejlépe 24 hodinový sběr (moč nutno uchávat během sběru v chladu) nebo ranní močinterference některých běžně užívaných léků (ibuprofen, acetaminophen, acycloguanosin aj.)den před sběrem a v den sběru moče je vhodné vyloučit ze stravy nápoje a jídla obsahující metylxantiny (káva, černý čaj, kakao, lékořice)
Indikace:	<u>moč</u> – mentální/psychomotorická retardace, tonusové poruchy (hypo/hyper/dystonie), ataxie, automutilace, křeče, poruchy chování, urolitiáza/nefrolitiáza, nejasná hyperurikemie s hyperurikurií, zejména



Metabolická příručka

	v mladém věku nebo familiární, renální selhání, SCID, nejasný imunodeficit s postižením buněčné imunity, susp. deficit ornitintraskarbamoylázy (OTC), anemie megaloblastická/hemolytická, monitorování pacientů léčených allopurinolem, MNGIE <u>krev</u> - monitorování léčby allopurinolem - k vyloučení rizik nežádoucích účinků, MNGIE <u>likvor</u> – pouze u susp. deficitu adenylosukcinátlyázy (ADSL)
Redukující látky	
Typ metody:	semikvantitativní
Statim:	ne
Materiál:	moč
Minimální spotřeba vzorku	1 ml
Poznámky:	prokazuje zvýšenou koncentraci sacharidů v moči; <u>pozitivní reakce</u> - glukóza, fruktóza, galaktóza, maltóza, laktóza, xylóza a dextróza; <u>negativní reakce</u> - sacharóza; <u>falešně pozitivní nález</u> - vysoká koncentrovanost moče, vitamin C a jiné redukující látky (4-hydroxyfenylpyruvát, kyselina homogentisová, kyselina močová, oxalát, salicyláty, hippurát)
Indikace:	susp. melliturie; susp. galaktosemie, susp. hereditární intolerance fruktózy; provádí se u každého poprvé vyšetřovaného pacienta
Siřičitany	
Typ metody:	semikvantitativní
Statim:	ne
Materiál:	moč
Minimální spotřeba vzorku	1 ml
Poznámky:	siřičitany jsou nestabilní, test je nutno provést v čerstvé moči; přítomnost kys. askorbové ruší stanovení
Indikace:	susp. deficit sulfitoxidázy a deficit molybdenového kofaktoru; provádí se u každého poprvé vyšetřovaného pacienta
Sukcinylaceton	
Typ metody:	kvantitativní
Statim:	ne
Materiál:	moč, krevní papírek
Minimální spotřeba vzorku	moč 60 µl
Poznámky:	pro diagnostické účely tyrozinémie I. typu se indikuje výhradně metoda profilu organických kyselin v moči
Indikace:	pouze u pacientů s tyrosinemií I. typu v rámci monitorování léčby
Tandemová hmotnostní spektrometrie (MS/MS) aminokyseliny a acylkarnitiny	
Typ metody:	screeningová
Statim:	ano
Materiál:	krevní papírek



Metabolická příručka

Minimální spotřeba vzorku	-
Poznámky:	u intermitentní symptomatologie je nutné vyšetření také v akutní atace
Indikace:	1. <u>susp. poruchy metabolismu aminokyselin</u> - hyperfenylalaninemie, hypertyrosinemie, leucinóza, citrulinemie I 2. <u>susp. organické acidurie a poruchy oxidace mastných kyselin se zvýšeným vylučováním specifických acylkarnitinů</u> - glutarová acidurie typu I, metylmalonová acidemie, propionová acidemie, izovalerová acidemie, deficit β -ketothiolázy, deficit 3-metylkrotonyl-CoA karboxylázy, 3-hydroxy-3-metylglutarová acidurie, deficit karnitinacylkarnitintranslokázy, deficit SCAD, MCAD, LCHAD, VLCAD, glutarová acidurie II. typu, deficit CPT I a CPT II
Thiosířany kvalitativně	
Typ metody:	kvalitativní
Statim:	ne
Materiál:	moč
Minimální spotřeba vzorku	1 ml
Poznámky:	interferuje nadbytek kyseliny askorbové
Indikace:	susp. deficit sulfitoxidázy a deficit molybdenového kofaktoru; provádí se u každého poprvé vyšetřovaného pacienta
Thiosířany kvantitativně	
Typ metody:	kvantitativní
Statim:	ne
Materiál:	moč
Minimální spotřeba vzorku	600 μ l
Poznámky:	interferuje ampicilin a salicyláty (vč. paracetamolu)
Indikace:	susp. deficit sulfitoxidázy a deficit molybdenového kofaktoru
Velmi dlouhé mastné kyseliny (VLCFA) a plazmalogeny	
Typ metody:	kvantitativní, profilová
Statim:	ne
Materiál:	sérum, plazma, erytrocyty (pouze plazmalogeny)
Minimální spotřeba vzorku	Sérum, plazma: 200 μ l Erytrocyty: 3 – 5 ml krve do EDTA
Poznámky:	<ul style="list-style-type: none">stanovení následujících <u>velmi dlouhých mastných kyselin</u>: nevětvené (kyselina behenová C_{22:0}, lignocerová C_{24:0}, cerotová C_{26:0}) a s rozvětveným řetězcem (kyselina pristanová, kyselina fytanová)stanovuje kyseliny volné i vázané ve formě lipidůplazmalogeny hodnoceny v poměru k příslušné mastné kyseliněVliv materiálu:<ul style="list-style-type: none">vyšetření nelze provést z hemolytického séra;případná lipémie zvyšuje riziko falešně pozitivních nálezů
Indikace:	susp. peroxisomální onemocnění – v různé kombinaci příznaky neurologické (encefalopatie, hypotonie, křeče, periferní neuropatie, poruchy chůze), oční (retinopatie, slepota, katarakta), hepatální dysfunkce (hepatomegalie, hepatopatie, cholestáza), kraniofaciální dysmorfie a kostní abnormality multisystémová onemocnění



Tabulka 21: Seznam vyšetření enzymů – Biochemická laboratoř

	Onemocnění	Enzym	Materiál
Biosyntéza tetrahydrobiopterinu	deficit DHPR	dihydropteridinreduktáza (DHPR)	Krevní papírek
Sacharidy	klasická galaktosemie	galaktóza-1-fosfát uridyltransferáza (GALT)	Erytrocyty
Puriny	Lesch-Nyhanův syndrom Kelley-Seegmillerův syndrom	hypoxantinfosforibosyltransferáza (HPRT)	Erytrocyty
	deficit APRT	adeninfosforibosyltransferáza (APRT)	Erytrocyty
	deficit ADA	adenosindeamináza (ADA)	Erytrocyty
	deficit PRPPs	fosforibosylpyrofosfátsyntetáza (PRPPs)	Erytrocyty
Jiné	deficit PNP	purinnukleosidfosforyláza (PNP)	Erytrocyty
	deficit BTM	biotinidáza (BTM)	Sérum

U enzymatického vyšetření je nutno poslat i materiál od zdravé nepřibuzné kontroly – odběr a transport společně s vyšetřovaným vzorkem.



9.3 Laboratoř DNA diagnostiky

Tabulka 22: Kontakty – Laboratoř DNA diagnostiky

Dětský areál Karlov, Ke Karlovu 455/2, Praha 2, 128 08 Budova E1a		
Telefon	Kontaktní osoba	
22496 7701	RNDr. Lenka Dvořáková, CSc.	Sekvenování NGS Sekvenační centrum
22496 7232	Mgr. Hana Vlášková	Sangerovo sekvenování

Laboratoř provádí molekulárně genetickou diagnostiku vybraných DMP a jiných genetických chorob. V současné době pracoviště může analyzovat více než 60 genů pro potřeby postnatální i prenatalní diagnostiky (Tabulka 23). Základními technikami je sekvenování Sangerovou metodou, fragmentační analýza a MLPA (multiplex ligation-dependent probe amplification).

Při vyšetření genomové DNA je metodou Sangerova sekvenování analyzována celá kódující sekvence genu spolu s přiléhajícími intronovými oblastmi. Pokud byly v rodině mutace již identifikovány, u příbuzných se obvykle vyšetřují pouze tyto mutace.

Všechna molekulárně genetická vyšetření jsou indikována přísně individuálně a jsou prováděna nejlépe po předchozí telefonické nebo písemné dohodě (e-mail). K žádance je nutné přiložit řádně vyplněný a podepsaný informovaný souhlas vyšetřované/ho (zákonného zástupce) s genetickým laboratorním vyšetřením (<http://udmp.lf1.cuni.cz/pozadavek-na-vysetreni-dmp>).

U podezření na diagnózu CADASIL požadujeme i osobní a rodinnou anamnézu pacienta. V případě požadavku na vyšetření genů *UMOD* a *LAMP2* je vhodné řídit se indikačními doporučeními DMP (<http://udmp.lf1.cuni.cz/specialni-infikacni-doporuceni>).

Prenatální diagnostika je indikována lékařským genetikem po poskytnutí genetické porady v rodině. Vyšetření je možné pouze pokud byly v rodině identifikovány kauzativní mutace.

V roce 2016 se v laboratoři začal rozvíjet nový přístup pro detekci mutací – metoda masivního paralelního sekvenování (MPS). Masivní paralelní sekvenování nazývané též sekvenování nové generace (NGS) umožňuje detekci genetických variant v celém souboru genů nebo ve vybraných oblastech lidského genomu u většího počtu pacientů v rámci jedné analýzy.

V současné době jsou metodou NGS vyšetřovány panely genů související s poruchami v určitých metabolických drahách. Vyšetřované geny jsou rozděleny do následujících panelů:

Poruchy metabolismu glykogenu: *AGL, ALDOA, ALDOB, ALDOC, ENO3, FBP1, G6PC, GAA, GBE1, GYG1, GYS1, GYS2, KHK, PC, PFKL, PFKM, PGAM2, PGM1, PHKA1, PHKA2, PHKB, PHKG2, PRKAB1, PRKAB2, PRKAG2, PYGL, PYGM, SLC2A2, SLC37A4*

Poruchy cyklu močoviny, orotové aciurie: *ARG1, ASL, ASS1, CAD, CPS1, DHODH, FTCD, NAGS, OTC, SHMT1, SHMT2, SLC25A13, SLC25A15, SLC25A2, SLC46A1, SLC7A7, TYMP, TYMS, UMPS*

Peroxisomální onemocnění: *ABCD1, ABCD3, ACOX1, AGPS, AGXT, AMACR, BAAT, CAT, DNMI1, FAR1, GDA1, GNPAT, HSD17B4, MFF, PEX1, PEX2, PEX26, PEX3, PEX5, PEX5L, PEX6, PEX7, PEX10, PEX11A, PEX11B, PEX11G, PEX12, PEX13, PEX14, PEX16, PEX19, PHYH, SCP2*

Hyperhomocysteinémie: *ABCC1, ABCD4, ADK, AHCY, ALDH1L1, ALDH7A1, AMN, BLMH, BHMT, BHMT2, CBS, CD320, CEPT1, CIC, CPS1, CTH, CUBN, DHFR, DPEP1, FOLH1,*



Metabolická příručka

FOLR1, FOLR2, FOLR3, FTCD, FUT1, FUT2, GIF, GNMT, HCFC1, CHDH, LMBRD1, MARS, MAT1A, MAT2A, MAT2B, MMACHC, MMADHC, MTHFD1, MTHFD2, MTHFR, MTHFS, MTR, MTRR, NOX4, PDXK, PDXP, PEMT, PNPO, PON1, PON2, PON3, SHMT1, SHMT2, SLC19A1, SLC46A1, SLC6A12, TCN1, TCN2, THAP11, TYMS, ZNF143

Rhabdomyolýzy: *ACADM, ACADVL, AGL, ALDOA, AMPD1, ANO5, ATP2A1, CACNA1S, CASQ1, CAV3, CHKB, CPT1A, CPT2, CTDPI, CYP2C8, DGUOK, DYSF, ENO3, ETFA, ETFB, ETFDH, FDX1L, FKRP, HADHA, HADHB, HRAS, ISCU, LAMP2, LDHA, LPIN1, MHS4, PFKM, PGAM2, PGK1, PGM1, PHKA1, PHKB, POLG, PYGM, QARS, RYR1, SCN4A, SIL1, SLC16A1, SLC25A20, TANGO2, TSEN54, TSFM*

Leucinózy: *BCKDHA, BCKDHB, DBT, DLD*

V roce 2018 byla zavedena analýza genů souvisejících s **kardiomyopatiemi**, panel obsahuje více než 170 genů:

Kardiopanel: *ABCC9, ABCG5, ABCG8, ACTA1, ACTA2, ACTC1, ACTN2, AKAP9, ALMS1, ANK2, ANKRD1, APOA4, APOA5, APOB, APOC2, APOE, BAG3, BRAF, CACNA1C, CACNA2D1, CACNB2, CALM1, CALR3, CASQ2, CAV3, CBL, CBS, CETP, COL3A1, COL5A1, COL5A2, COX15, CREB3L3, CRELD1, CRYAB, CSRP3, CTF1, DES, DMD, DNAJC19, DOLK, DPP6, DSC2, DSG2, DSP, DTNA, EFEMP2, ELN, EMD, EYA4, FBN1, FBN2, FHL1, FHL2, FKRP, FKTN, FXN, GAA, GATAD1, GCKR, GJA5, GLA, GPD1L, GPIHBP1, HADHA, HCN4, HFE, HRAS, HSPB8, ILK, JAG1, JPH2, JUP, KCNA5, KCND3, KCNE1, KCNE2, KCNE3, KCNH2, KCNJ2, KCNJ5, KCNJ8, KCNQ1, KLF10, KRAS, LAMA2, LAMA4, LAMP2, LDB3, LDLR, LDLRAP1, LMF1, LMNA, LPL, LTBP2, MAP2K1, MAP2K2, MIB1, MURC, MYBPC3, MYH11, MYH6, MYH7, MYL2, MYL3, MYLK, MYLK2, MYO6, MYOZ2, MYPN, NEBL, NEXN, NKX2-5, NODAL, NOTCH1, NPPA, NRAS, PCSK9, PDLIM3, PKP2, PLN, PRDM16, PRKAG2, PRKARIA, PTPN11, RAF1, RANGRF, RBM20, RYR1, RYR2, SALL4, SCN1B, SCN2B, SCN3B, SCN4B, SCN5A, SCO2, SDHA, SEPNI, SGCB, SGCD, SGCG, SHOC2, SLC25A4, SLC2A10, SMAD3, SMAD4, SNTA1, SOS1, TAZ, TBX20, TBX3, TBX5, TCAP, TGFB2, TGFB3, TGFB1, TGFB2, TMEM43, TMPO, TNNC1, TNNI3, TNNT2, TPM1, TRDN, TRIM63, TRPM4, TTN, TTR, TXNRD2, VCL, ZBTB17, ZHX3, ZIC3*

V roce 2017 bylo v rámci Diagnostických laboratoří založeno Sekvenační centrum, ve kterém probíhají analýzy NGS různého diagnostického zaměření ve spolupráci s dalšími diagnostickými laboratořemi a klinickými pracovišti.

Laboratoř DNA diagnostiky je akreditována Českým institutem pro akreditaci podle normy ČSN EN ISO 15189:2013. V laboratoři je uplatňován flexibilní rozsah akreditace.

Laboratoř se s vysokou úspěšností účastní dvou systémů externí kontroly kvality (EMQN a DGKL-RfB).

Tabulka 23: Seznam vyšetření – Laboratoř DNA diagnostiky

Onemocnění #	Alternativní název	Materiál	Gen	MIM (fenotyp)	Dědičnost
Poruchy metabolismu aminokyselin - Cyklus močovinový a hyperamonemie					
Deficit ornitintraskarbamoylázy (OTC)	Deficit ornitinkarbamoyltransferázy	gDNA, cDNA	OTC	311250	XR

**Poruchy metabolismu aminokyselin - Organické acidurie**

Canavanové choroba	Deficit aspartoacylázy	gDNA, cDNA	<i>ASPA</i>	271900	AR
Deficit beta-ketothiolázy	Alfa-metylacetoctová acidurie	gDNA, cDNA	<i>ACATI</i>	203750	AR
Deficit 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA lyázy; Deficit HMG-CoA lyázy	Hydroxymethylglutarová acidurie	gDNA, cDNA	<i>HMGCL</i>	246450	AR
Glutarová acidurie typ I	Deficit glutaryl-CoA dehydrogenázy; Glutarová acidemie typ I	gDNA	<i>GCDH</i>	231670	AR
Methylmalonová acidurie, typ mut(0), typ mut (-)	Deficit methylmalonyl-CoA mutázy	gDNA, cDNA	<i>MUT</i>	251000	AR

Poruchy metabolismu sirných aminokyselin

Deficit SAH hydrolázy	Hypermetioninemie z deficitu S-adenosylhomocystein-hydrolázy	gDNA	<i>AHCY</i>	613752	AR
Homocystinurie klasická	Deficit cystathionin beta-syntázy	gDNA, cDNA	<i>CBS</i>	236200	AR
Homocystinurie, typ CblE	Deficit metionin syntázy reduktázy (MTRR)	gDNA	<i>MTRR</i>	236270	AR

Poruchy metabolismu cukrů - Glykogenózy

Glykogenóza typ Ia	Von Gierkova nemoc, GSD 1a	gDNA	<i>G6PC</i>	232200	AR
Glykogenóza typ Ib	GSD 1b	gDNA	<i>SLC37A4</i>	232220	AR
Glykogenóza typ II	Pompeho choroba, GSD 2	gDNA	<i>GAA</i>	232300	AR
Glykogenóza typ III	Coriho nemoc, GSD 3	gDNA	<i>AGL</i>	232400	AR
Glykogenóza typV	McArdleova nemoc	gDNA	<i>PYGM</i>	232600	AR
Kardiomyopatie z dysfunkce AMP-aktivované protein kinázy	Syndrom Wolff-Parkinson-Whitův	gDNA, cDNA	<i>PRKAG2</i>	600858, 261740, 194200	AR

Poruchy mitochondriální oxidace mastných kyselin

Deficit LCHAD	Deficit dehydrogenázy 3-hydroxyacyl-CoA s dlouhým řetězcem	gDNA, cDNA	<i>HADHA</i>	609016	AR
Deficit MCAD	Deficit dehydrogenázy acyl-CoA se středně dlouhým řetězcem	gDNA, cDNA	<i>ACADM</i>	201450	AR
Deficit CPT2	Deficit karnitin palmitoyltransferázy 2	gDNA	<i>CPT2</i>	255110, 600649, 608836	AR

Poruchy energetického metabolismu

Syndrom Mohr-Tranebjaergův	Dystonia Deafness Syndrome	gDNA, cDNA	<i>TIMM8A (DDP1)</i>	304700	XR
----------------------------	----------------------------	---------------	----------------------	--------	----

Poruchy metabolismu purinů



Deficit adenylosukcinátlyázy (ADSL)	Deficit adenylosukcinázy	gDNA, cDNA	<i>ADSL</i>	103050	AR
Familiární dna a hyperurikémie		gDNA	<i>ABCG2</i>	138900	AD
Familiární juvenilní hyperurikemická nefropatie 1 (FJHN; HNFJ1)	Medullary cystic kidney disease 2	protein ^s , gDNA	<i>UMOD</i>	162000, 603860, 603860	AD
Lesch-Nyhanův syndrom, Kelley-Seegmillerův syndrom	Deficit hypoxantinguaninfosforibosyltransferázy (HPRT)	gDNA, cDNA	<i>HPRT1</i>	300322, 300323	XR
Renální hypourikémie, 2	Renální hypourikémie z dysfunkce urátového transportéru SLC2A9	gDNA	<i>SLC2A9</i>	612076	AR
Renální hypourikémie, 1	Renální hypourikémie z dysfunkce urátového transportéru 1 (URAT1)	gDNA	<i>SLC22A1</i> 2	220150	AR
Xantinurie typ I	Deficit xantindehydrogenázy, deficit xantinoxidázy	gDNA	<i>XDH</i>	278300	AR
Poruchy metabolismu sterolů					
Mevalonová acidurie	Deficit mevalonátkinázy	gDNA	<i>MVK</i>	610377	AR
Lyzosomální poruchy - Mukopolysacharidózy					
Mukopolysacharidóza typ I	Deficit alfa-L-iduronidázy	gDNA	<i>IDUA</i>	607014, 607015, 607016	AR
Mukopolysacharidóza typ II	Deficit iduronát 2-sulfatázy	gDNA, cDNA	<i>IDS</i>	309900	XR
Mukopolysacharidóza typ IIIA	Deficit heparan-N-sulfatázy	gDNA	<i>SGSH</i>	252900	AR
Mukopolysacharidóza typ IIIC	Deficit heparan acetyl-CoA:alfa-glucosaminid N-acetyltransferázy	gDNA	<i>HGSNAT</i>	252930	AR
Mukopolysacharidóza typ IVB	Deficit beta-galaktosidázy	gDNA	<i>GLBI</i>	253010	AR
Lyzosomální poruchy - Sfgingolipidózy					
Deficit prosapinu a saposinů A, B, C a D	Kombinovaný deficit saposinů	gDNA, cDNA	<i>PSAP</i>	611721	AR
Fabryho choroba	Deficit alfa-galaktosidázy A	gDNA, cDNA	<i>GLA</i>	301500	XR
Gaucherova choroba	Deficit beta-glukocerebrosidázy	gDNA	<i>GBA</i>	230800, 230900, 231000, 231005, 608013	AR



G _{M1} gangliosidóza typ I		gDNA	<i>GLBI</i>	230500	AR
G _{M2} gangliosidóza typ I	Tay-Sachsova choroba	gDNA	<i>HEXA</i>	272800	AR
G _{M2} gangliosidóza typ II	Sandhoffova choroba	gDNA, cDNA	<i>HEXB</i>	268800	AR
Krabbeho choroba	Deficit galaktocerebrosidázy	gDNA	<i>GALC</i>	245200	AR
Metachromatická leukodystrofie	Deficit arylsulfatázy A	gDNA, cDNA	<i>ARSA</i>	250100	AR
Niemann-Pickova choroba typ A/B	Deficit kyselé sfingomyelinázy	gDNA	<i>SMPD1</i>	257200, 607616	AR
Niemann-Pickova choroba typ C		gDNA, cDNA	<i>NPC1</i> <i>NPC2</i>	257220, 607625	AR
Lyzosomální poruchy - Neuronální ceroidlipofuscinózy					
Neuronální ceroidlipofuscinóza typ 2	Deficit tripeptidyl-peptidázy 1	gDNA, cDNA	<i>TPP1</i>	204500	AR
Neuronální ceroidlipofuscinóza typ 3	Battenova choroba, JNCL	gDNA	<i>CLN3</i>	204200	AR
Neuronální ceroidlipofuscinóza typ 4B	Kuffsova choroba	gDNA	<i>DNAJC5</i>	162350	AD
Neuronální ceroidlipofuscinóza typ 5		gDNA	<i>CLN5</i>	256731	AR
Neuronální ceroidlipofuscinóza typ 6		gDNA, cDNA	<i>CLN6</i>	601780	AR
Neuronální ceroidlipofuscinóza typ 7		gDNA, cDNA	<i>MFSD8</i>	610951	AR
Neuronální ceroidlipofuscinóza typ 8		gDNA, cDNA	<i>CLN8</i>	600143	AR
Lyzosomální poruchy - Ostatní					
Danonova choroba	Deficit LAMP2	gDNA, cDNA	<i>LAMP2</i>	300257	XD
Mukolipidóza typu II/III	Deficit N-acetylglukosamin-1-fosfotransferázy (GlcNAc-fosfotransferázy)	gDNA, cDNA	<i>GNPTAB</i>	252500, 252600	AR
Peroxisomální poruchy					
Adrenoleukodystrofie, X-vázaná		gDNA, cDNA	<i>ABCD1</i>	300100	XR
Poruchy metabolismu vitamínů a neproteinových kofaktorů - Metabolismus a transport folátů					
Cerebrální deficit folátů	Deficit folátového receptoru 1 (FOLR1)	gDNA	<i>FOLR1</i>	613068	AR
Deficit metylenetetrahydrofolát reduktázy (MTHFR)	Homocystinurie z deficitu N(5,10)-metylenetetrahydrofolát reduktázy	gDNA, cDNA	<i>MTHFR</i>	236250	AR
Deficit dihydrofolát reduktázy	Megaloblastická anemie z deficitu dihydrofolát reduktázy	gDNA	<i>DHFR</i>	613839	AR



Metabolická příručka

Hereditární malabsorpce folátů	Deficit PCFT (proton-coupled folate transporter)	gDNA	<i>SLC46A1</i>	229050	AR
Varianty v genu pro folátový receptor 2	Varianty v genu pro FOLR2	gDNA	<i>FOLR2</i>	*136425	
Varianty v genu pro folátový receptor 3	Varianty v genu pro FOLR3	gDNA	<i>FOLR3</i>	*602469	
Varianty v genu pro folátový transportér 1	Varianty v genu pro RFC1 (Reduced folate carrier 1)	gDNA	<i>SLC19A1</i>	*600424	
Varianty v mitochondriálním folátovém transportéru/přenašeči	Varianty v genu pro MFT (mitochondrial folate transporter)	gDNA	<i>SLC25A3</i> 2	*610815	
Poruchy metabolismu vitamínů a neproteinových kofaktorů – Absorpce, transport a metabolismus kobalaminu					
Methylmalonová acidurie, typ cblA	Methylmalonová acidemie z dysfunkce MMAA (methylmalonic aciduria type A protein)	gDNA, cDNA	<i>MMAA</i>	251100	AR
Methylmalonová acidurie, typ cblB	Deficit kob(I)alamin adenosyltransferázy	gDNA, cDNA	<i>MMAB</i>	251110	AR
Poruchy metabolismu vitamínů a neproteinových kofaktorů - Metabolismus biotinu					
Deficit biotinidázy (BTD)	-	gDNA, cDNA	<i>BTD</i>	253260	AR
Jiné nemoci (mimo okruh dědičných poruch metabolismu)					
Alexanderova choroba		gDNA, cDNA	<i>GFAP</i>	203450	AD
Amyloidóza z depozice apolipoproteinu AI (Apo AI)		gDNA	<i>ApoA1</i>	105200	AR
Amyloidóza z depozice transthyretinu	Familiální amyloidní polyneuropatie	gDNA	<i>TTR</i>	105210	AD
Amyloidóza při mutaci fibrinogenu A (amyloid FA α)		Exon 5	<i>FGA</i>	105200	AD
Bestova viteliformní dystrofie makuly		gDNA	<i>BEST1</i>	153700	AD, AR
CADASIL	Cerebrální arteriopatie se subkortikálními infarkty a leukoencefalopatií	gDNA	<i>NOTCH3</i>	125310	AD
Choroideremie		gDNA	<i>CHM</i>	303100	XR
Myofibrilární myopatie z dysfunkce desminu	Myofibrilární myopatie, MFM1	gDNA	<i>DES</i>	601419	AR
Myofibrilární myopatie z dysfunkce alfa-B-krystalinu	Myofibrilární myopatie, MFM2	gDNA	<i>CRYAB</i>	608810	AD
X-vázaná retinoschíza		gDNA	<i>RS1</i>	312700	XR



Zadní polymorfní dystrofie rohovky typ 1 (PPCD1), promotor		gDNA	<i>OVOL2</i>	122000	AD
--	--	------	--------------	--------	----

Klasifikace onemocnění podle SSIEM 2011 (<http://www.ssiem.org/resources/IEC.asp>)

\$ vyšetření gDNA předchází vyšetření proteinu metodou Western blot

*Číslo MIM – popis fenotypu

Vyšetření s uplatněním flexibility jsou uvedena v příloze č. 1 Metabolické příručky.



9.4 Enzymologická laboratoř

Tabulka 24: Kontakty – Enzymologická laboratoř

Dětský areál Karlov, Ke Karlovu 455/2, Praha 2, 128 08 Budova E4	
Telefon	Kontaktní osoba
22496 7032	Ing. Helena Poupětová
22496 7034	laboratoř

Laboratoř se specializuje na enzymatickou diagnostiku lyzozomálních chorob pro diagnostiku postnatální i prenatalní. Na pracovišti je zavedeno 27 enzymatických metod, zátěžové testy v buněčné kultuře kožních fibroblastů a screeningové enzymatické metody v suché kapce krve. (Tabulka 25)

Laboratoř se od roku 2006 úspěšně zapojuje do systému externí kontroly kvality QA-ESGLD/ERNDIM.

Spektrum prováděných laboratorních metod je průběžně rozšiřováno.

Enzymologická laboratoř je akreditována Českým institutem pro akreditaci podle normy ČSN EN ISO 15189:2013.

Všechna enzymatická vyšetření v leukocytech a erytrocytech jsou indikována přísně individuálně a jsou prováděna **pouze po předchozí telefonické dohodě**.

U enzymatického vyšetření v leukocytech je nutno poslat i materiál od zdravé nepříbuzné kontroly – odebraný a transportovaný za stejných podmínek jako vyšetřovaný vzorek.

Prenatální diagnostika je indikována lékařským genetikem po poskytnutí genetické porady v rodině.



Tabulka 25: Seznam vyšetření – Enzymologická laboratoř

Metabolická oblast	Onemocnění	Enzym / Metabolit	Materiál
Lyzosomální střešádavá onemocnění (LSD)			
screening	LSD	Chitotriosidáza *	Plazma, Sérum
glykogenózy	glykogenóza typ II, Pompeho choroba	kyselá α -1,4-glukosidáza	Leukocyty Krevní papírek Fibroblasty
	glykogenóza typ IV	amylo-1,4-1,6-transglukosidáza	Erytrocyty
	glykogenóza typ VI	jaterní fosforyláza	Leukocyty
	glykogenóza typ IX	fosforyláza-b-kináza	Erytrocyty
mukopolysacharidózy	mukopolysacharidóza I (m.Hurler/Scheie)	α -L-iduronidáza	Leukocyty Fibroblasty
	mukopolysacharidóza II (m.Hunter)	iduronosulfátsulfatáza	Leukocyty, Plazma, Sérum Fibroblasty
	mukopolysacharidóza IIIA (m.Sanfilippo A)	heparinsulfamidáza	Leukocyty Fibroblasty
	mukopolysacharidóza IIIB (m.Sanfilippo B)	α -N-acetyl-D-glukosaminidáza	Leukocyty, Plazma, Sérum Fibroblasty
	mukopolysacharidóza IIIC (m.Sanfilippo C)	acetyl-CoA: α -glukosaminid N-acetyltransferáza	Leukocyty Fibroblasty
	mukopolysacharidóza IIID (m.Sanfilippo D)	N-acetylglukosamin-6-sulfátsulfatáza	Leukocyty Fibroblasty



	mukopolysacharidóza IVA (m.Morquio A)	N-acetylgalaktosamin-6-sulfátsulfatáza	Leukocyty Fibroblasty
	mukopolysacharidóza IVB (m.Morquio B)	β -galaktosidáza	Leukocyty Krevní papírek Fibroblasty
	mukopolysacharidóza VI (m.Maroteaux-Lamy)	arylsulfatáza B	Leukocyty Fibroblasty
	mukopolysacharidóza VII (m.Sly)	β -glukuronidáza	Leukocyty Krevní papírek Fibroblasty
sfingolipidózy a lipidózy	G _{M1} gangliosidóza	β -galaktosidáza	Leukocyty Fibroblasty
	Metachromatická leukodystrofie	arylsulfatáza A	Leukocyty Fibroblasty
		sulfatidy	Moč
	Gaucherova choroba	glukocerebrosidáza (kyselá β -glukosidáza)	Leukocyty Fibroblasty
	Fabryho choroba	α -galaktosidáza	Krevní papírek (muži) Leukocyty, Plazma, Sérum Fibroblasty
	Krabbeho choroba	galaktocerebrosidáza	Leukocyty Fibroblasty



	Niemann-Pickova choroba typ A/B	kyselá sfingomyelináza	Leukocyty Fibroblasty
		SPC a SPD509	Plazma
	Niemann-Pickova choroba typ C	SPC a SPD509	Plazma
	G _{M2} gangliosidóza, Sandhoffova choroba	β-hexosaminidáza	Leukocyty, Plazma, Sérum Krevní papírek Fibroblasty
	G _{M2} gangliosidóza, Tay-Sachsova choroba	β-hexosaminidáza A	Leukocyty, Plazma, Sérum Krevní papírek Fibroblasty
	choroba ze střádání esterů cholesterolu Wolmanova choroba	kyselá lipáza	Leukocyty Fibroblasty
	prosaposinový deficit, deficit proteinových aktivátorů A,B,C,D skupiny lyzomálních glykosidáz	glykolipidy	Moč
glykoproteinózy	α-mannosidóza	α-manosidáza	Leukocyty Krevní papírek Fibroblasty
	β-mannosidóza	β-manosidáza	Leukocyty Fibroblasty Plazma
	fukosidóza	α-L-fukosidáza	Leukocyty Fibroblasty
	Schindlerova choroba	α-N-acetyl-D-galaktosaminidáza	Leukocyty Fibroblasty



	sialidóza, mukolipidóza I	α -neuraminidáza	Fibroblasty
	mukolipidóza II, III, I-cell disease	lyzomální hydrolázy N-acetyl- glukosaminofotferáza	Plazma, Sérum Fibroblasty
NCL	neuronální ceroidlipofuscinóza typ 1 (NCL1)	palmitoyl-proteinthioesteráza	Leukocyty Fibroblasty
	neuronální ceroidlipofuscinóza typ 2 (NCL2)	tripeptidylpeptidáza I	Leukocyty Fibroblasty
Jiné	X-vázaná ichtyóza	steroidsulfatáza, arylsulfatáza C	Leukocyty Fibroblasty

* normální aktivita chitotriosidázy nevyklučuje lyzomální střeďavé onemocnění

9.5 Laboratoř tkáňových kultur

Tabulka 30: Kontakty – Laboratoř tkáňových kultur

U nemocnice 4 (vchod z ulice Pod větrovem), Praha 2, 128 08	
Telefon	Kontaktní osoba
22496 5642	Ing. Markéta Nováková
22496 5643	Kateřina Sátrová

Náplní Laboratoře tkáňových kultur je zakládat, kultivovat a ve zmrazeném stavu dlouhodobě uchovávat linie kožních fibroblastů pacientů s dědičnými poruchami metabolismu, stejně tak jiných buněčných linií potřebných pro všechna pracoviště DMP a Mitochondriální laboratoř KDDL.

V současné době je v buněčné bance ve zmrazeném stavu uchováváno cca 1 250 linií kožních fibroblastů a cca 70 linií ostatních buněk.

Laboratoř tkáňových kultur je akreditována Českým institutem pro akreditaci podle normy ČSN EN ISO 15189:2013.

9.6 Laboratoř pro studium mitochondriálních poruch

Tabulka 31: Kontakty – Laboratoř pro studium mitochondriálních poruch

Dětský areál Karlov, Ke Karlovu 455/2, Praha 2, 128 08 Budova E4	
Telefon	Kontaktní osoba
22496 7748	RNDr. Hana Hansíková, CSc.
22496 7748	Ing. Markéta Tesařová, PhD.

Laboratoř pro studium mitochondriálních poruch je akreditována Českým institutem pro akreditaci podle normy ČSN EN ISO 15189:2013. V molekulárně-genetickém úseku laboratoře je uplatňován flexibilní rozsah akreditace.

Veškeré další informace naleznete v Laboratorní příručce na webových stránkách laboratoře <http://mitolab.lf1.cuni.cz/>.

10. Metabolické vyšetření pro samoplátce

Vyšetření pro samoplátce se provádí za přímou úhradu, bodové ohodnocení kódů i cena bodu se může měnit.

V Tabulkách 32 a 33 je uveden seznam nabízených vyšetření a jejich bodové ohodnocení dle Seznamu zdravotních výkonů s bodovými hodnotami v roce 2018.

Tabulka 32: Seznam klinických vyšetření s bodovým ohodnocením

Kód	Klinická vyšetření	Body
28021	Komplexní klinicko-genetické vyšetření se stanovením diagnózy	2483
28022	Klinicko-genetické vyšetření při dosud neuzavřené diagnóze	1522
28023	Kontrolní klinicko-genetické vyšetření	351
29001	Komplexní vyšetření dětským neurologem	702
29002	Cíleně zaměřené vyšetření dětským neurologem	355
29003	Kontrolní vyšetření dětským neurologem	178
31021	Komplexní vyšetření pediatrem	702
31022	Cílené vyšetření pediatrem	355
31023	Kontrolní vyšetření pediatrem	178
81021	Komplexní vyšetření klinickým biochemikem	694
81022	Cílené vyšetření klinickým biochemikem	347
81023	Kontrolní vyšetření klinickým biochemikem	174

Tabulka 33: Seznam vyšetření metabolitů s bodovým ohodnocením

Kód	Vyšetření metabolitů	Body
81655	Aktivita biotinidázy kvantitativně	569
81265	Aktivita enzymů HPLC	1093
81665	Aktivita lyzosomálních enzymů s neradioaktivním substrátem	1691
81667	Aktivita lyzosomálních enzymů s radioaktivním substrátem	2712
81655	Aktivita lyzosomálních enzymů v suché krevní kapce	569
81339	Aminokyseliny kvantitativně	654
81645	Disulfidy	13
81751	Expertíza pro laboratorní diagnostiku DMP	347
81413	Fenylalanin	213
81659	Galaktitol	296
81651	Galaktóza + galaktóza-1-fosfát	108
81655	Glykogen v erythrocytech	569
81651	Guanidinoacetát	108
81461	Homocystein celkový	483
91433	Izolace leukocytů sedimentací	168
81655	3-hydroxybutyrát	569
81487	Karnitin (2x - celkový a volný karnitin)	348
81499	Kreatinin	17

Dokument zobrazený na intranetu VFN je řízen správcem dokumentace pracoviště.

Po výtisk - pokud není označen „Řízený výtisk“- slouží pouze pro informativní účely - nepodléhá pravidlům řízení dokumentace.



Kód	Vyšetření metabolitů	Body
81661	Kyselina homogentisová kvantitativně	461
81661	Kyselina metylmalonová	461
81523	Kyselina močová	22
81655	Kyselina orotová	569
81521	Laktát	53
81651	Mukopolysacharidy elektroforéza	108
81549	Mukopolysacharidy kvantitativně	112
81645	Mukopolysacharidy orientačně	13
81747	Novorozenecký screening DMP tandemovou hmotnostní spektrometrií	187
81651	Oligosacharidy	108
81661	Organické kyseliny	461
81663	Pteriny	578
81663	Puriny a pyrimidiny	578
81587	Pyruvát	82
81645	Redukující látky screening	13
81749	Selektivní screening DMP tandemovou hmotnostní spektrometrií	187
97111	Separace séra nebo plazmy	17
81651	Sialyloligosacharidy	108
81645	Sířičitany	13
81655	Thiosířany kvantitativně	569
81645	Thiosířany orientačně	13
81657	Velmi dlouhé mastné kyseliny a kyselina fyтанová (VLCFA)	281

Cenová kalkulace na základě bodového ohodnocení molekulárně genetických vyšetření je vypočítána vždy individuálně na základě indikovaných vyšetření. V případě zájmu kontaktujte prosím naši ekonomku p. Vetešníkovou.

11. Použité zkratky

ADA	adenosyldeamináza
ADSL	adenylosukcinátlyáza
AMK	aminokyselina
APRT	adeninosforibosyltransferáza
BTD	biotinidáza
CBS	cystathionin β -syntáza
cDNA	komplementární DNA
CADASIL	cerebrální autosomálně dominantní arteriopatie se subkortikálními infarkty a leukoencefalopatií
CK	kreatinkináza
CoA	koenzym A
CPT	karnitinpalmitoyltransferáza
DHPR	dihydropteridinreduktáza
DMP	dědičné metabolické poruchy
DNA	deoxyribonukleová kyselina
EDTA	etylendiamintetraacetát
EF _{KM}	ekreční frakce kyseliny močové
Ery	erytrocyty
FC	volný karnitin
FJHN	familiární juvenilní hyperurikemická nefropatie
GAG	glykosaminoglykany
GALT	galaktóza-1-fosfát uridyltransferáza
GAMT	guanidinoacetátmetyltransferáza
gDNA	genomová DNA
GSD	glykogenóza
HELLP	hemolysis, elevated liver enzyme levels, low platelet count
HHH	hyperamonemie, hyperornitinemie, homocitrulinurie
HPA	hyperfenylalaninemie
HPLC	vysokoučinná kapalinová chromatografie
HPRT	hypoxantinfosforibosyltransferáza
CH	odběr krve do kyseliny chloristé
IgD	imunoglobulin D
IK	index podle Kaufmana
IS	index podle Stapletona
K	krev
KP	krevní papírek
L	likvor (mozkomíšní mok)
Leu	leukocyty
LCHAD	3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenáza mastných kyselin s dlouhým řetězcem
M	moč
MCAD	acyl-CoA dehydrogenáza mastných kyselin se středně dlouhým řetězcem
MR	magnetická rezonance
MS/MS	tandemová hmotnostní spektrometrie



MTHFR	metylentetrahydrofolátreduktáza
NCL	neuronální ceroidlipofuscinóza
NK	nesrážlivá krev
OTC	ornitintranskarbamoyláza
OpenLIMS	Laboratorní informační a manažerský systém Stapro s.r.o.
P	plazma
PCR	polymerázová řetězová reakce
Phe	fenylalanin
PKU	fenylketonurie
PNP	purinnukleosidfosforyláza
PRPPs	fosforibosylpyrofosfátsyntetáza
RDS	respiratory distress syndrome
RT	pokožová teplota
S	sérum
SCID	severe combined immunodeficiency
T	tkáň
TC	celkový karnitin
TG	triacylglyceridy
UMPS	uridinmonofosfátsyntáza
VLCFA	velmi dlouhé mastné kyseliny

12. Přílohy

Příloha č. 1 k Metabolické příručce: Vyšetření s uplatněním flexibility

Laboratoř DNA diagnostiky

Úsek DNA vývoj

Seznam parametrů pro Vyšetření variant lidského genomu metodou masivně paralelního sekvenování (MPS) podle SOP-KDDL-DMP-G-61

V současné době se neprovádí žádné vyšetření s uplatněním flexibilního rozsahu akreditace.

Úsek DNA diagnostiky

Seznam parametrů pro Vyšetření genů vzácných onemocnění Sangerovou sekvenační metodou dle SOP-KDDL-DMP-G-62

V současné době se neprovádí žádné vyšetření s uplatněním flexibilního rozsahu akreditace.

Dokument zobrazený na intranetu VFN je řízen správcem dokumentace pracoviště.

Po výtisk - pokud není označen „Řízený výtisk“ - slouží pouze pro informativní účely - nepodléhá pravidlům řízení dokumentace.