

## Seznam vyšetření

### Pracoviště Brno Viniční Laboratoř molekulární diagnostiky

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

## Genetická vyšetření lidského genomu

### Detekce mutací a polymorfismů trombofilních faktorů

**Faktor II** – stanovení mutace G20210A metodou real-time PCR

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

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

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

**Faktor XIII** – stanovení mutace Val34Leu metodou real-time PCR

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

**Panel trombofilních mutací** - stanovení mutací/polymorfismů FV Leiden G1691A, FV R2 A4070G, FII G20210A, MTHFR C677T, MTHFR A1298C, PAI-1 4G/5G alelově specifickou PCR a následnou fragmentační analýzou

**Vyšetřovaný materiál:** 1) nesrážlivá krev (EDTA)

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

**Stabilita vzorku:** 1) 2-8°C týden

2) 2-8°C měsíc, -20°C neomezeně

**Doba odezvy:** 1-10 dní

**Druh veličiny:** přítomnost/nepřítomnost mutace

**Hodnocení:** wild type = negativní - nebyla detekována mutace

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

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

složený heterozygot = byly detekovány dvě mutace v heterozygotní formě

#### **Komentář:**

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

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

Mutace c.4070A>G (p.His1299Arg), tzv. R2 mutace v genu F5 pro koagulační faktor V je relativně častý mírný rizikový faktor trombózy. Mutace zvyšuje riziko kardiovaskulárních onemocnění pro nositele Leidenské mutace.

Přítomnost mutace v genu MTHFR vede ke snížení aktivity enzymu, který je tímto genem kódován. Důsledkem je zvýšená hladina homocysteinu v krvi a naopak nedostatek metioninu. Nadbytek homocysteinu negativně ovlivňuje plazmatické bílkoviny i cévní stěnu, což přispívá k rozvoji aterosklerózy a trombózy. Trombotické komplikace zapříčiněné mutací v genu MTHFR se se projeví především v součinnosti s dalšími rizikovými faktory (kombinace mutace C677T a A1298C v genu MTHFR, mutace ve faktoru II, Leidenská mutace,

## Seznam vyšetření

### Pracoviště Brno Viniční Laboratoř molekulární diagnostiky

dlouhodobá imobilizace, hormonální antikoncepce). Vliv mutací přitom roste s počtem postižených alel v genotypu jedince. Přítomnost většího počtu mutací genu MTHFR je spojována s Alzheimerovou chorobou, se sníženou životaschopností plodu, s rozvojem neplodnosti u mužů i výskytem diabetes mellitus II. typu. Aktivita enzymu u heterozygotů C677T dosahuje 60% oproti jedinci bez mutace, u homozygotů je to pouze 30-40%. U homozygotů pro mutaci A1298C je pak aktivita enzymu na úrovni 60-70%.

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

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

### Stanovení alely HLA-B27

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

**Vyšetřovaný materiál:** 1) nesrážlivá krev (EDTA)

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

**Stabilita vzorku:** 1) 2-8°C týden

2) 2-8°C měsíc, -20°C neomezeně

**Doba odezvy:** 1-10 dní

**Druh veličiny:** přítomnost/nepřítomnost alely

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

negativní = nepřítomnost alely

### HLA typizace DQ2, DQ8 – vyšetření genetické predispozice k celiakii

**Heterodimer DQ2 a DQ8:** stanovení alel metodou SSP-PCR

**Vyšetřovaný materiál:** 1) nesrážlivá krev (EDTA)

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

**Stabilita vzorku:** 1) 2-8°C týden

2) 2-8°C měsíc, -20°C neomezeně

**Doba odezvy:** 1-10 dní

**Druh veličiny:** přítomnost/nepřítomnost rizikových alel

**Hodnocení:**

#### Přítomnost alel asociovaných s predispozicí k celiakii

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

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

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

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

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

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

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

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

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

## Seznam vyšetření

### Pracoviště Brno Viniční Laboratoř molekulární diagnostiky

#### Přítomnost alel asociovaných s mírnou predispozicí k celiakii

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

**Komentář:** Přítomnost haplotypu DQA1\*0201/DQB1\*0202. Nalezený genotyp je asociován s mírným rizikem celiakie.

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

#### Nepřítomnost alel asociovaných s predispozicí nebo mírnou predispozicí k celiakii

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

**Komentář:** U pacienta nebyly nalezeny alely DQA1 a DQB1 lokusů asociované s celiakií. Výsledek s vysokou pravděpodobností tuto diagnózu vylučuje.

### Detekce polymorfismů v genu LCT způsobujících primární laktózovou intoleranci

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

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

**Vyšetřovaný materiál:** 1) nesrážlivá krev (EDTA)

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

**Stabilita vzorku:** 1) 2-8°C týden

2) 2-8°C měsíc, -20°C neomezeně

**Doba odezvy:** 1-10 dní

**Druh veličiny:** přítomnost/nepřítomnost polymorfismu (mutace)

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

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

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

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

#### **Komentář:**

Primární laktózová intolerace je způsobena úplnou nebo částečnou neschopností organismu produkovat enzym laktáza, který laktózu (mléčný cukr) ve střevech štěpí na jednodušší cukry (galaktózu a glukózu), které se dále vstřebávají do krevního oběhu. Pokud je laktázy nedostatek, mléčný cukr se ve střevech nestráví a jeho přebytkem se pak živí přirozené střevní bakterie, které při jeho zpracování produkují plyny (CO<sub>2</sub> či H<sub>2</sub>) a další látky, které dráždí tlusté střevo, a tím způsobují nadýmání, střevní koliky, průjmy a zvracení. Méně častými projevy jsou atopické ekzémy, nechutenství, pálení žáhy, pocit plnosti a bolesti břicha. Jednonukleotidové polymorfismy v regulační oblasti genu LCT snižují expresi genu a tím způsobují nízkou produkci laktázy. Přítomnost polymorfismu v heterozygotní formě (pouze na jedné alele genu) zajišťuje dostatečnou produkci enzymu laktázy pro funkční hydrolýzu laktózy, nicméně diagnózu primární intolerance laktózy nevylučuje, neboť jinou patologickou variantu genu LCT nelze vyloučit.

### Detekce mutací v genu ALDOB způsobujících hereditární fruktózovou intoleranci

**Mutace G448C** - stanovení mutace c.448G>C (p.Ala149Pro) metodou real-time PCR

**Mutace C524A** - stanovení mutace c.524C>A (p.Ala174Asp) metodou real-time PCR

**Mutace C1005G** - stanovení mutace c.1005C>G (p.Asn334Lys) metodou real-time PCR

**Mutace del4E4** - stanovení mutace c.360\_363del4 metodou real-time PCR

**Vyšetřovaný materiál:** 1) nesrážlivá krev (EDTA)

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

**Stabilita vzorku:** 1) 2-8°C týden

2) 2-8°C měsíc, -20°C neomezeně

**Doba odezvy:** 1-10 dní

**Druh veličiny:** přítomnost/nepřítomnost mutace

**Hodnocení:** wild type = negativní, nebyla detekována mutace

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

## Seznam vyšetření

### Pracoviště Brno Viniční Laboratoř molekulární diagnostiky

mut. homozygot = byla detekována mutace v homozygotní formě (na obou alelách genu)  
složený heterozygot = byly detekovány dvě mutace v heterozygotní formě

#### Komentář:

Hereditární intolerance fruktózy je závažné autozomálně recesivně dědičné onemocnění. Jedná se o neschopnost organismu metabolizovat fruktózu a podobné cukry (sacharózu, sorbitol) v důsledku chybění enzymu fruktóza-1-fosfátaldoláza B (aldoláza B) kódovaného genem ALDOB. Fruktóza-1-fosfát se hromadí v játrech a působí kompetitivní inhibici fosforylázy, brání štěpení glykogenu na glukózu a také glukoneogenezi. Příznaky se projevují u kojenců po přijetí potravy s fruktózou, patří k nim silné bolesti břicha, zvracení, průjem, hypoglykémie způsobená blokací glykogenolýzy a glukoneogeneze. Dlouhotrvající příjem fruktózy vede k hepatomegalii, žloutence, hyperaminoacidurii, proximální tubulární renální poruše, až jaternímu selhání. Cílenou detekcí těchto mutací lze zachytit (resp. vyloučit) 85-90 % všech případů onemocnění.

### Detekce mutací asociovaných s hereditární hemochromatózou

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

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

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

**Detekce 18 mutací v genech HFE, TFR2, SLC40A1** – jsou analyzovány následující mutace v genu HFE: c.157G>A (p.Val53Met), c.175G>A (p.Val59Met), c.187C>G (p.His63Asp), c.189T>C (p.His63His), c.193A>T (p.Ser65Cys), c.381A>C (p.Gln127His), c.480delC (p.Arg161Glyfs\*50), c.502G>C (p.Glu168Gln), c.502G>T (p.Glu168Stop), c.506G>A (p.Trp169Stop), c.845G>A (p.Cys282Tyr), c.848A>C (p.Gln283Pro). Dále jsou testovány čtyři genetické markery v genu TFR2: c.178G>T (p.Glu60Stop), c.515T>A (p.Met172Lys), c.750C>G (p.Tyr250Stop), c.1861\_1872del12 (p.Ala621\_Gln624del) a dva markery v genu SLC40A1: c.430A>C (p.Asn144His), c.485\_487delTTG (p.Ala621\_Gln624del). Cílenou molekulárně genetickou analýzou uvedených diagnostických markerů v genech HFE, TFR2 a SLC40A1 (FPN1) lze zachytit (resp. vyloučit) přibližně 90 % případů onemocnění hemochromatózou.

**Vyšetřovaný materiál:** 1) nesrážlivá krev (EDTA)

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

**Stabilita vzorku:** 1) 2-8°C týden

2) 2-8°C měsíc, -20°C neomezeně

**Doba odezvy:** 1-20 dní dle rozsahu vyšetření

**Druh veličiny:** přítomnost/nepřítomnost mutace

**Hodnocení:** wild type = negativní - nebyla detekována mutace

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

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

složený heterozygot = byly detekovány dvě mutace v heterozygotní formě

#### Komentář:

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

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

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

**Vyšetřovaný materiál:** 1) nesrážlivá krev (EDTA)

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

**Stabilita vzorku:** 1) 2-8°C týden

2) 2-8°C měsíc, -20°C neomezeně

**Doba odezvy:** 1-10 dní

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

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

## Seznam vyšetření

### Pracoviště Brno Viniční Laboratoř molekulární diagnostiky

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

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

#### Komentář:

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

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

### Detekce mutací v genu ATP7B (Wilsonova choroba)

**Jednonukleotidové záměny a malé inserce a delece v genu ATP7B** jsou detekovány pomocí sekvenační analýzy kódující a přiléhající nekódující oblasti genu – je sekvenováno 21 exonů a část promotoru genu ATP7B.

**Vyšetřovaný materiál:** 1) nesrážlivá krev (EDTA)  
2) vyizolovaná genomová DNA z periferní krve (v TE nebo TB pufru)

**Stabilita vzorku:** 1) 2-8°C týden  
2) 2-8°C měsíc, -20°C neomezeně

**Doba odezvy:** 3-20 dní

**Druh veličiny:** přítomnost/nepřítomnost mutace

**Hodnocení:** wild type = negativní, nebyla detekována mutace  
heterozygot = byla detekována mutace v heterozygotní formě (na 1 alele genu)  
mut. homozygot = byla detekována mutace v homozygotní formě (na obou alelách genu)  
složený heterozygot = byly detekovány dvě mutace v heterozygotní formě

#### Komentář:

Wilsonova choroba je autozomálně recesivně dědičné onemocnění způsobené deficitem měď transportující ATPázy 7B v důsledku defektu v genu ATP7B, který tuto ATPázu kóduje. Deficitní měď transportující ATPáza znemožňuje vylučování mědi exkrecí z hepatocytů do žluče a inkorporaci mědi do apoceruloplasminu pro syntézu ceruloplasminu. To vede ke kumulaci mědi v orgánech, zejména v játrech a mozku, které nevratně poškozuje. Wilsonova choroba je klinicky velmi variabilní – rozlišuje se forma jaterní a neuropsychiatrická, časté jsou také symptomy oftalmologické, renální a hematologické. Jaterní forma tvoří asi 30 % všech případů a je typická pro dětský věk a adolescentní období. Projevuje se jako jaterní cirhóza, (fibro)steatóza, akutní nebo chronická neinfekční hepatitida nebo jako fulminantní jaterní selhání. Neurologicko-psychiatrická forma je dominující formou manifestace u dospělých, nejčastějšími příznaky jsou třes, dysartrie, dystonie, poruchy řeči, poruchy osobnosti, ataxie, anxiózně-depresivní syndrom, parkinsonský syndrom. Až 15 % případů onemocnění bývá zachyceno jako forma asymptomatická.

### Detekce polymorfismů v genu NOD2/CARD15 - vyšetření genetické predispozice ke Crohnově chorobě

**Mutace Arg702Trp** - stanovení polymorfismu Arg702Trp sekvenační analýzou DNA

**Mutace Gly908Arg** - stanovení polymorfismu Gly908Arg sekvenační analýzou DNA

**Mutace 3020insC** - stanovení polymorfismu 3020insC sekvenační analýzou DNA

**Vyšetřovaný materiál:** 1) nesrážlivá krev (EDTA)  
2) vyizolovaná genomová DNA z periferní krve (v TE nebo TB pufru)

**Stabilita vzorku:** 1) 2-8°C týden  
2) 2-8°C měsíc, -20°C neomezeně

**Doba odezvy:** 3-20 dní

**Druh veličiny:** přítomnost/nepřítomnost polymorfismu

## Seznam vyšetření

### Pracoviště Brno Viniční Laboratoř molekulární diagnostiky

**Hodnocení:** wild type = negativní, nebyl detekován polymorfismus

heterozygot = byl detekován polymorfismus v heterozygotní formě (na 1 alele genu)

mut. homozygot = byl detekován polymorfismus v homozygotní formě (na obou alelách genu)

složený heterozygot = byly detekovány dva polymorfismy v heterozygotní formě

**Komentář:**

Crohnova choroba je chronické zánětlivé onemocnění střev autoimunitní povahy, které se manifestuje vlivem externích faktorů (potravin, mikroorganismy, stres) v závislosti na genetickém pozadí. Tři nejčastější polymorfismy v genu NOD2 (později přejmenovaný na CARD15) - Arg702Trp, Gly908Arg a 3020insC se vyskytují ve 30-50 % všech případů onemocnění. U nositelů jedné mutace (heterozygotů) se udává 3x větší riziko rozvoje Crohnovy choroby a přibližně 40x vyšší riziko u nositelů dvou mutací. Tyto mutace se však vyskytují také u více než 10 % zdravé populace, znamenají tedy pouze genetickou dispozici k onemocnění, konečnou roli v manifestaci onemocnění hrají externí faktory.

### Detekce mutací v genu SERPINA1 (dědičný deficit alfa-1-antitrypsinu)

**Alela S** – stanovení přítomnosti mutace c.863A>T (p.Glu264Val) metodou real-time PCR nebo sekvenační analýzou

**Alela Z** – stanovení přítomnosti mutace c.1096G>A (p.Glu342Lys) metodou real-time PCR nebo sekvenační analýzou

**Vzácné alely/varianty genu SERPINA1** jsou detekovány pomocí sekvenační analýzy kódující a přiléhající nekódující oblasti genu a MLPA analýzy.

**Vyšetřovaný materiál:** 1) nesrážlivá krev (EDTA)

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

**Stabilita vzorku:** 1) 2-8°C týden

2) 2-8°C měsíc, -20°C neomezeně

**Doba odezvy:** 2-20 dní v závislosti na rozsahu požadované analýzy

**Druh veličiny:** přítomnost/nepřítomnost mutace

**Hodnocení:** genotyp MM/wild type – nebyla detekována mutace

genotyp MZ/MS/heterozygot – byla detekována mutace v heterozygotní formě (na 1 alele genu)

genotyp ZZ/SS/mut. homozygot – byla detekována mutace v homozygotní formě (na obou alelách genu)

genotyp SZ/složený heterozygot – byly detekovány dvě mutace v heterozygotní formě

**Komentář:**

Dědičný deficit alfa-1-antitrypsinu je geneticky podmíněné metabolické onemocnění, má autozomálně recesivní dědičnost s kodominantní expresí (každá alela genu odpovídá za polovinu tvorby proteinu v organismu). Alfa-1-antitrypsin (AAT) je protein kódovaný genem SERPINA1, tvořený v játrech a uvolňovaný do krevního řečiště. Je to inhibitor řady serinových proteáz, např. trypsinu, chymotrypsinu, reninu, plazminu, trombinu, kolagenázy, klinicky nejvýznamnější je však inhibice neutrofilní elastázy. Neutrofilní elastáza je enzym tvořený neutrofilními buňkami a je uvolňovaný při infekcích, poranění a zánětu jako přirozená ochrana organismu. Pokud však není její uvolňování pevně řízeno AAT, může elastáza poškozovat normální tkáň, zvláště plic a játra. Mutace v genu SERPINA1 vedou k nedostatku AAT nebo ke vzniku defektního AAT, který je blokován v hepatocytech a jeho hromadění poškozuje jaterní tkáň. To vede k chronickému jaternímu zánětu, jaterní cirhóze a může vyústit až v jaterní selhání nebo rakovinu jater. Deregulovaná neutrofilní elastáza také poškozuje plicní sklípky, dochází k jejich rozpadu a k rozvoji obstrukční plicní nemoci (plicní emfyzém, dušnost, astma).

Alely S a Z se vyskytují u pacientů s dědičným deficitem AAT přibližně v 98 % všech případů a vedou ke snížení hladiny AAT v séru. Různé kombinace alel M (standardní bez mutace), S (mutace S) a Z (mutace Z) znamenají různou hladinu AAT v plazmě a také fenotypovou variabilitu. Klinicky nejzávažnější je genotyp ZZ produkující pouze 10-15 % běžné plazmatické koncentrace AAT. Jedná se o pacienty s plicním a/nebo jaterním poškozením. Genotyp SS produkuje 50-60 % běžné plazmatické koncentrace AAT, což vede pouze k mírným příznakům onemocnění. Složení heterozygoti SZ produkují méně než 40 % běžné plazmatické koncentrace AAT a mají zvýšené riziko vzniku plicního emfyzému nebo jaterního postižení. Heterozygoti MS a MZ tvoří menší množství AAT (55-80 % běžné plazmatické koncentrace), jsou to přenašeči mutace, kteří nemají žádné nebo pouze velmi mírné známky onemocnění, mohou se u nich manifestovat některé autoimunitní nemoci, např. astma, revmatoidní artritida.

## Seznam vyšetření

Pracoviště Brno Viniční Laboratoř molekulární diagnostiky

**Detekce mutací v genech asociovaných s dědičnými poruchami tvorby zubů**  
**Poruchy dentinu** – dysplázie dentinu a Dentinogenesis imperfecta – geny SMOC2, DSPP, COL1A1, COL1A2.

**Poruchy tvorby zubní skloviny** – Amelogenesis imperfecta – geny ACPT, AIH3, AMBN, AMELX, AMTN, C4ORF26, DLX3, ENAM, FAM20A, FAM83H, GPR68, ITGB6, KLK4, LAMB3, MMP20, SLC24A4, WDR72

**Dědičné ageneze zubů nesyndromické** – hypo/oligodontie

**Dědičné ageneze zubů syndromické**

Patologické alely/varianty jednotlivých genů jsou detekovány pomocí sekvenační analýzy kódujících a přiléhajících nekódujících oblastí analyzovaných genů.

**Vyšetřovaný materiál:** 1) nesrážlivá krev (EDTA)

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

**Stabilita vzorku:** 1) 2-8°C týden

2) 2-8°C měsíc, -20°C neomezeně

**Doba odezvy:** 1-6 měsíců

**Druh veličiny:** přítomnost/nepřítomnost mutace

**Hodnocení:** wild type = negativní, nebyla detekována mutace

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

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

složený heterozygot = byly detekovány dvě mutace v heterozygotní formě

### Detekce mutací způsobujících spinální muskulární atrofii

**Delece/duplikace exonů 7 a 8 v genech SMN1 a SMN2** – stanovení počtu kopií obou exonů metodou MLPA (kit P060 MRC-Holland).

**Vyšetřovaný materiál:** 1) nesrážlivá krev (EDTA)

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

3) jiný materiál vhodný pro izolaci lidské genomové DNA (možno tel. konzultovat)

**Stabilita vzorku:** 1) 2-8°C týden

2) 2-8°C měsíc, -20°C neomezeně

**Doba odezvy:** 3-30 dnů

**Druh veličiny:** přítomnost/nepřítomnost mutace

**Hodnocení:** wild type = negativní, nebyla detekována mutace

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

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

složený heterozygot = byly detekovány dvě mutace v heterozygotní formě

**Komentář:**

Spinální muskulární atrofie je autozomálně recesivně dědičnou chorobou postihující alfa motoneurony (periferní motorické nervy) předních rohů míšních. V důsledku toho dochází k progredujícímu úbytku svalových vláken, oslabení svalů a snížené schopnosti pohybu. Vyvíjí se těžká skolióza, přidávají se polykací a dechové potíže. Incidence onemocnění je 1:6000-10000 živě narozených dětí. Podle časnosti nástupu a závažnosti průběhu onemocnění jsou klasifikovány 4 klinické typy onemocnění. Jedná se o heterogenní skupinu, avšak přibližně 95 % všech případů onemocnění tvoří tzv. proximální autosomálně recesivní forma způsobená delecí 7. nebo 7.-8. exonu genu SMN1.

### Genotypizace TPMT – vyšetření deficitu thiopurin S-methyltransferázy

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

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

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

**Vyšetřovaný materiál:** 1) nesrážlivá krev (EDTA)

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

**Stabilita vzorku:** 1) 2-8°C týden

2) 2-8°C měsíc, -20°C neomezeně

**Doba odezvy:** 1-10 dní

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

## Seznam vyšetření

### Pracoviště Brno Viniční Laboratoř molekulární diagnostiky

**Hodnocení:** wild type = negativní, nebyla detekována riziková alela  
 heterozygot = byl detekován polymorfismus v heterozygotní formě (1 riziková alela genu)  
 mut. homozygot = byl detekován polymorfismus v homozygotní formě (obě alely genu)  
 složený heterozygot = byly detekovány dva různé polymorfismy v heterozygotní formě

**Komentář:**

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

### Detekce mutací v genech CYP24A1 a SLC34A1 (idiopatická juvenilní hyperkalcémie)

**Jednonukleotidové záměny a malé inserce a delece v genech CYP24A1 a SLC34A1** jsou detekovány pomocí sekvenční analýzy kódujících a přiléhajících nekódujících oblastí genů – je sekvenováno 11 exonů genu CYP24A1 a 12 exonů genu SLC34A1.

**Vyšetřovaný materiál:** 1) nesrážlivá krev (EDTA)  
 2) vyizolovaná genomová DNA z periferní krve (v TE nebo TB pufru)

**Stabilita vzorku:** 1) 2-8°C týden  
 2) 2-8°C měsíc, -20°C neomezeně

**Doba odezvy:** 10 dnů -4 měsíce

**Druh veličiny:** přítomnost/nepřítomnost mutace

**Hodnocení:** wild type = negativní, nebyla detekována mutace  
 heterozygot = byla detekována mutace v heterozygotní formě (na 1 alele genu)  
 mut. homozygot = byla detekována mutace v homozygotní formě (na obou alelách genu)  
 složený heterozygot = byly detekovány dvě mutace v heterozygotní formě

**Komentář:**

Idiopatická juvenilní hyperkalcémie je heterogenní onemocnění charakterizované těžkou hyperkalcémií, neschopností prosperovat, zvracením, dehydratací a nefrokalcinózou. Dědičná forma je způsobena mutantními alelami genů CYP24A1 a SLC34A1. U obou genů se jedná o autozomálně recesivní dědičnost.

### Mutační analýza genu SHOX (idiopatický nízký vzrůst)

**Multiexonové delece v genu SHOX** jsou detekovány pomocí MLPA analýzy (kit P018 MRC-Holland).

**Jednonukleotidové záměny a malé inserce a delece v genu SHOX** jsou detekovány pomocí sekvenční analýzy kódujících a přiléhajících nekódujících oblastí genu.

**Vyšetřovaný materiál:** 1) nesrážlivá krev (EDTA)  
 2) vyizolovaná genomová DNA z periferní krve (v TE nebo TB pufru)  
 3) jiný materiál vhodný pro izolaci lidské genomové DNA (možno tel. konzultovat)

**Stabilita vzorku:** 1) 2-8°C týden  
 2) 2-8°C měsíc, -20°C neomezeně

**Doba odezvy:** 10 dnů - 4 měsíce v závislosti na rozsahu analýzy

**Druh veličiny:** přítomnost/nepřítomnost mutace

**Hodnocení:** wild type = negativní, nebyla detekována mutace  
 heterozygot = byla detekována mutace v heterozygotní formě (na 1 alele genu)  
 mut. homozygot = byla detekována mutace v homozygotní formě (na obou alelách genu)  
 složený heterozygot = byly detekovány dvě mutace v heterozygotní formě



## Seznam vyšetření

### Pracoviště Brno Viniční Laboratoř molekulární diagnostiky

**Komentář:**

Nejčastější příčinou idiopatického nízkého vzrůstu (OMIM 300582) je haploinsuficientní stav genu SHOX/SHOXY. Může však být způsoben také mutacemi v jiných genech, např. GH, GHR, GHRS. Gen SHOX (Short Stature Homeobox) je homeoboxový gen lokalizovaný na pseudoautozomálních úsecích obou pohlavních chromozomů (Xp22.33 a Yp11.3). Tento gen kóduje transkripční faktor, který se podílí na diferenciaci a maturaci chondrocytů a jeho nejvýznamnější úloha je při vývoji středních a distálních úseků horních i dolních končetin (předloktí a bérců). Gen má 7 exonů a alternativně se sestřihuje do dvou typů mRNA – SHOXa exprimující se v kosterním svalu, placentě, pankreatu, srdci a ve fibroblastech kostní dřevě a SHOXb exprimující se ve fetální ledvině, kosterním svalu a dřevových fibroblastech. Mutace v tomto genu mohou způsobovat také Leri-Weill dyschondrosteózu (jedna mutovaná či chybějící alela genu) nebo těžší formu – Langerovu mesomelickou dysplázi (mutace nebo delece obou kopií genu).

### Detekce mutací v genech asociovaných s dědičnými poruchami kostního metabolismu (osteochondrodysplázie)

Patologické alely/varianty jednotlivých genů jsou detekovány pomocí sekvenační analýzy kódujících a přiléhajících nekódujících oblastí analyzovaných genů.

**Vyšetřovaný materiál:** 1) nesrážlivá krev (EDTA)

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

3) jiný materiál vhodný pro izolaci lidské genomové DNA (možno tel. konzultovat)

**Stabilita vzorku:** 1) 2-8°C týden

2) 2-8°C měsíc, -20°C neomezeně

**Doba odezvy:** 1-6 měsíců v závislosti na rozsahu sekvenační analýzy

**Druh veličiny:** přítomnost/nepřítomnost mutace

**Hodnocení:** wild type = negativní, nebyla detekována mutace

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

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

složený heterozygot = byly detekovány dvě mutace v heterozygotní formě

**Komentář:**

Genetické poruchy skeletu (dědičné osteochondrodysplázie) jsou podle aktuální nosologie klasifikovány jako 436 samostatných onemocnění zařazených do 42 skupin podle klinicky a radiologicky podobných znaků. Vyšetřujeme geny asociované s onemocněními zařazenými do 24 těchto skupin. Aktuální nabídka vyšetřovaných/diagnostikovaných osteochondrodysplázií je vždy v souladu s aktuální verzí Žádanky na molekulárně genetické vyšetření humánního genomu.

## Seznam vyšetření

Pracoviště Brno Viniční Laboratoř molekulární diagnostiky

### Detekce DNA/RNA patogenních organismů

#### Panel respiračních patogenů

**Panel respirační patogeny (33 patogenů):** detekce DNA/RNA Influenza A; Influenza A H1N1 pandem.; Influenza B; Influenza C; Parainfluenza 1, 2, 3, 4; koronaviry NL63, 229E, OC43, HKU1; lidský Metapneumovirus A, B; Rhinovirus; respirační syncytiální viry A, B; Adenovirus; Enterovirus; Parechovirus; Bocavirus; *Pneumocystis jirovecii*; *Mycoplasma pneumoniae*; *Chlamydia pneumoniae*; *Streptococcus pneumoniae*; *Haemophilus influenzae* typ B (detekuje také *Haemophilus parahaemolyticus*, který je spojen s faryngitidou); *Staphylococcus aureus*; *Moraxella catarrhalis*; *Bordetella pertussis* (kromě *Bordetella parapertussis*); *Klebsiella pneumoniae*; *Legionella* sp.; *Salmonella* sp.; *Haemophilus influenzae* pomocí real-time PCR (vhodné především pro imunosuprimované pacienty po transplantacích, onkologických potížích, intubované pacienty, atd.)

**Vyšetřovaný materiál:** preferováno-výtěr do média (nosohltan, horní cesty dýchací), BAL, sputum (jiné materiály po domluvě)

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

**Doba odezvy:** 1-3 dny

**Druh veličiny:** přítomnost/nepřítomnost DNA/RNA patogenu ve vzorku

**Hodnocení:** pozitivní = potvrzení přítomnosti DNA/RNA patogenu ve vzorku  
negativní = nepotvrzení přítomnosti DNA/RNA patogenu ve vzorku

#### Detekce DNA/ RNA virů

**Cytomegalovirus (CMV):** detekce DNA viru metodou real-time PCR

**Vyšetřovaný materiál:** nesrážlivá krev (EDTA, citrát sodný), mozkomíšni mok, moč, plodová voda

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

**Doba odezvy:** 1-3 dny

**Druh veličiny:** přítomnost/nepřítomnost DNA viru ve vzorku

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

**Enteroviry:** detekce RNA viru metodou real-time PCR

**Vyšetřovaný materiál:** nesrážlivá krev (EDTA), mozkomíšni mok

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

**Doba odezvy:** 1-3 dny

**Druh veličiny:** přítomnost/nepřítomnost RNA viru ve vzorku

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

**Herpes simplex virus 1,2 (HSV 1,2):** detekce DNA viru metodou real-time PCR

**Vyšetřovaný materiál:** nesrážlivá krev (EDTA, citrát sodný), mozkomíšni mok, stěr, výtěr (cervix, pochva, postižené místo)

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

**Doba odezvy:** 1-3 dny

**Druh veličiny:** přítomnost/nepřítomnost DNA viru ve vzorku

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

## Seznam vyšetření

Pracoviště Brno Viniční Laboratoř molekulární diagnostiky

### **Human herpesvirus 6 (HHV6):** detekce DNA viru metodou PCR

**Vyšetřovaný materiál:** nesrážlivá krev (EDTA, citrát sodný), mozkomíšni mok

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

**Doba odezvy:** 1-3 dny

**Druh veličiny:** přítomnost/nepřítomnost DNA viru ve vzorku

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

### **Virus klíšťové encefalitidy:** detekce RNA viru metodou real-time PCR

**Vyšetřovaný materiál:** nesrážlivá krev (EDTA), mozkomíšni mok, plasma, sérum, klíště

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

**Doba odezvy:** 1-3 dny

**Druh veličiny:** přítomnost/nepřítomnost RNA viru ve vzorku

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

### **Lidský papillomavirus vysoce-rizikové genotypy (HPV):** detekce DNA viru metodou PCR

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

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

**Doba odezvy:** 1-14 dní

**Druh veličiny:** přítomnost/nepřítomnost DNA HPV16, HPV18, high-risk HPV (genotypy 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 67, 68, 69, 70, 73, 82, 85 a 97) ve vzorku

**Hodnocení:** HPV16 pozitivní = potvrzení přítomnosti DNA HPV16  
HPV16 negativní = nepotvrzení přítomnosti DNA HPV16  
HPV18 pozitivní = potvrzení přítomnosti DNA HPV18  
HPV18 negativní = nepotvrzení přítomnosti DNA HPV18  
HPV high risk pozitivní= potvrzení přítomnosti DNA některého genotypu high risk HPV  
HPV high risk negativní= nepotvrzení přítomnosti DNA některého genotypu high risk HPV

### **Lidský papillomavirus nízko-rizikové genotypy (HPV):** detekce DNA viru metodou PCR

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

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

**Doba odezvy:** 1-14 dní

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

**Hodnocení:** low risk HPV pozitivní = potvrzení přítomnosti DNA low risk HPV  
low risk HPV negativní = nepotvrzení přítomnosti DNA low risk HPV

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

**Vyšetřovaný materiál:** nasopharyngeální stěr, moč

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

**Doba odezvy:** 1-3 dny

**Druh veličiny:** přítomnost/nepřítomnost RNA viru ve vzorku

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

### **Parvovirus B19:** detekce DNA viru metodou PCR

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

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

**Doba odezvy:** 1-3 dny

**Druh veličiny:** přítomnost/nepřítomnost DNA viru ve vzorku

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

## Seznam vyšetření

Pracoviště Brno Viniční Laboratoř molekulární diagnostiky

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

**Vyšetřovaný materiál:** nesrážlivá krev (EDTA, citrát sodný), mozkomíšni mok, stěr (postížené místo)

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

**Doba odezvy:** 1-3 dny

**Druh veličiny:** přítomnost/nepřítomnost DNA viru ve vzorku

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

### **Virus Epstein-Barrové (EBV):** detekce DNA viru metodou PCR

**Vyšetřovaný materiál:** nesrážlivá krev (EDTA, citrát sodný), mozkomíšni mok

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

**Doba odezvy:** 1-3 dny

**Druh veličiny:** přítomnost/nepřítomnost DNA viru ve vzorku

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

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

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

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

**Doba odezvy:** 1-14 dní

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

**Hodnocení:** HBV DNA detekována vyšší než  $1,0 \times 10^9$  IU/ml (výsledek nad horní hranicí lineárního rozsahu testu)  
HBV DNA detekována  $10 - 1,0 \times 10^9$  IU/ml (výsledek v lineárním rozsahu testu)  
HBV DNA detekována nižší než 10 IU/ml (výsledek pod detekční hranicí testu)  
HBV DNA nedetekována

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

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

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

**Doba odezvy:** 1-14 dní

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

**Hodnocení:** HCV RNA detekována vyšší než  $1,0 \times 10^8$  IU/ml (výsledek nad horní hranicí lineárního rozsahu testu)  
HCV RNA detekována  $15 - 1,1 \times 10^8$  IU/ml (výsledek v lineárním rozsahu testu)  
HCV RNA detekována nižší než 15 IU/ml (výsledek pod detekční hranicí testu)  
HCV RNA nedetekována

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

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

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

**Doba odezvy:** 1-3 dny

**Druh veličiny:** přítomnost/nepřítomnost HEV RNA viru ve vzorku

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

### **Virus Influenza:** detekce RNA viru metodou real-time PCR

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

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

**Doba odezvy:** 1-3 dny

**Druh veličiny:** přítomnost/nepřítomnost RNA viru Influenza A, B a pandemické chřipky H1N1 ve vzorku

**Hodnocení:** pozitivní=potvrzení přítomnosti RNA viru chřipky kmene A, B nebo pandemické chřipky H1N1  
negativní=nepotvrzení přítomnosti RNA viru chřipky kmene A, B nebo pandemické chřipky H1N1

## Seznam vyšetření

Pracoviště Brno Viniční Laboratoř molekulární diagnostiky

**Zika virus:** detekce RNA viru metodou real-time PCR

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

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

**Doba odezvy:** 1-3 dny

**Druh veličiny:** přítomnost/nepřítomnost RNA viru ve vzorku

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

### Detekce bakteriální DNA

**Anaplasma phagocytophilum:** detekce DNA mikroorganismu metodou PCR

**Vyšetřovaný materiál:** nesrážlivá krev (EDTA, citrát sodný), mozkomíšni mok, klíště

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

**Doba odezvy:** 1-3 dny

**Druh veličiny:** přítomnost/nepřítomnost DNA mikroorganismu ve vzorku

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

**Borrelia burgdorferi (B.b. sensu stricto, B. afzelii, B. garinii):** detekce DNA mikroorganismu metodou real-time PCR

**Vyšetřovaný materiál:** nesrážlivá krev (EDTA, citrát sodný), mozkomíšni mok, synoviální tekutina, moč, tkáň, punktát, klíště

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

**Doba odezvy:** 1-3 dny

**Druh veličiny:** přítomnost/nepřítomnost DNA mikroorganismu ve vzorku

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

**Bordetella pertusis:** detekce DNA mikroorganismu metodou PCR

**Vyšetřovaný materiál:** nasopharyngeální aspirát nebo stěr

**Stabilita vzorku:** 1-4°C 3 dny

**Doba odezvy:** 1-3 dny  
-20°-(-80)°C po delší dobu

**Druh veličiny:** přítomnost/nepřítomnost DNA viru ve vzorku

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

**Helicobacter pylori:** detekce DNA mikroorganismu metodou PCR

**Vyšetřovaný materiál:** stolice odebraná do stabilizačního media

**Stabilita vzorku:** 1-25°C 3 dny  
-20°-(-80)°C po delší dobu

**Doba odezvy:** 2-10 dní

**Druh veličiny:** přítomnost/nepřítomnost DNA mikroorganismu ve vzorku

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

**Chlamydia pneumoniae:** detekce DNA mikroorganismu metodou PCR

**Vyšetřovaný materiál:** BAL, sputum, výtěr, nesrážlivá krev (EDTA, citrát sodný)

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

**Doba odezvy:** 1-3 dny

**Druh veličiny:** přítomnost/nepřítomnost DNA mikroorganismu ve vzorku

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

## Seznam vyšetření

Pracoviště Brno Viniční Laboratoř molekulární diagnostiky

### **Chlamydia trachomatis:** detekce DNA mikroorganismu metodou real-time PCR

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

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

**Doba odezvy:** 1-5 dní

**Druh veličiny:** přítomnost/nepřítomnost DNA mikroorganismu ve vzorku

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

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

### **Legionella pneumophila:** detekce DNA mikroorganismu metodou PCR

**Vyšetřovaný materiál:** BAL, sputum, synoviální tekutina

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

**Doba odezvy:** 1-3 dny

**Druh veličiny:** přítomnost/nepřítomnost DNA mikroorganismu ve vzorku

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

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

**Vyšetřovaný materiál:** BAL, sputum, moč, ejakulát, stěr, aj. (nevhodným materiálem je pouze krev!)

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

**Doba odezvy:** 1-10 dní

**Druh veličiny:** přítomnost/nepřítomnost DNA mikroorganismu ve vzorku

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

### **Mycoplasma pneumoniae:** detekce DNA mikroorganismu metodou PCR

**Vyšetřovaný materiál:** BAL, sputum, výtěr

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

**Doba odezvy:** 1-3 dny

**Druh veličiny:** přítomnost/nepřítomnost DNA mikroorganismu ve vzorku

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

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

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

**Doba odezvy:** 1-5 dny

**Druh veličiny:** přítomnost/nepřítomnost DNA mikroorganismu ve vzorku

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

### **Neisseria gonorrhoeae:** detekce DNA mikroorganismu metodou real-time PCR

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

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

**Doba odezvy:** 1-5 dní

**Druh veličiny:** přítomnost/nepřítomnost DNA mikroorganismu ve vzorku

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

## Seznam vyšetření

### Pracoviště Brno Viniční Laboratoř molekulární diagnostiky

#### **Toxoplasma gondii:** detekce DNA mikroorganismu metodou PCR

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

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

**Doba odezvy:** 1-3 dny

**Druh veličiny:** přítomnost/nepřítomnost DNA mikroorganismu ve vzorku

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

#### **Trichomonas vaginalis:** detekce DNA mikroorganismu metodou real-time PCR

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

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

**Doba odezvy:** 1-5 dny

**Druh veličiny:** přítomnost/nepřítomnost DNA mikroorganismu ve vzorku

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

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

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

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

**Doba odezvy:** 1-5 dny

**Druh veličiny:** přítomnost/nepřítomnost DNA mikroorganismu ve vzorku

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

#### **Universální detekce bakterií:** detekce DNA mikroorganismů metodou PCR-RFLP

**Vyšetřovaný materiál:** primárně sterilní materiály jako je: nesrážlivá krev (EDTA, citrát sodný), mozkomíšni mok, tkáň, výtěr

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

**Doba odezvy:** 3-10 dní

**Druh veličiny:** přítomnost/nepřítomnost DNA mikroorganismu ve vzorku

**Hodnocení:** pozitivní=potvrzení přítomnosti DNA mikroorganismu + specifikace  
negativní=nepotvrzení přítomnosti DNA mikroorganismu

#### **Universální detekce mykotických infekcí:** detekce DNA mikromycet metodou PCR-RFLP

**Vyšetřovaný materiál:** primárně sterilní materiály jako je: nesrážlivá krev (EDTA, citrát sodný), mozkomíšni mok, tkáň, výtěr

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

**Doba odezvy:** 3-10 dní

**Druh veličiny:** přítomnost/nepřítomnost DNA mikroorganismu ve vzorku

**Hodnocení:** pozitivní=potvrzení přítomnosti DNA mikroorganismu + specifikace  
negativní=nepotvrzení přítomnosti DNA mikroorganismu

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

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

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

## Seznam vyšetření

### Pracoviště Brno Viniční Laboratoř molekulární diagnostiky

**Vyšetřovaný materiál:** výtěr z parodontálních chobotů na vyšetření patogenů  
stěr z bukalní sliznice na vyšetření polymorfismu Interleukinu-1 či HLA-DR4

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

**Doba odezvy:** 1-10 dní

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

**Hodnocení:**

pozitivní=potvrzení přítomnosti DNA konkrétního parodontálního patogenu (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Campylobacter rectus*, *Capnocytophaga gingivalis*, *Capnocytophaga sputigena*, *Eikenella corrodens*, *Eubacterium nodatum*, *Fusobacterium nucleatum*, *Parvimonas micra*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*) nebo rizikového polymorfismu Interleukinu-1 či HLA-DR4

negativní=nepotvrzení přítomnosti DNA konkrétního parodontálního patogenu (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Campylobacter rectus*, *Capnocytophaga gingivalis*, *Capnocytophaga sputigena*, *Eikenella corrodens*, *Eubacterium nodatum*, *Fusobacterium nucleatum*, *Parvimonas micra*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*) nebo rizikového polymorfismu Interleukinu-1 či HLA-DR4

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

**Vyšetřovaný materiál:** výtěr (cervix, pochva, uretra, postižené místo)

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

**Doba odezvy:** 1-10 dní

**Druh veličiny:** přítomnost/nepřítomnost DNA mikroorganismu ve vzorku

**Hodnocení:**

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

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