SPECIFIKACE LABORATORNÍCH SLUŽEB

**část 1 VZ – Laboratorní služby Karlovy Vary (Objektivizace účinku komplexní lázeňské léčebně rehabilitační péče na onemocnění a chronické komplikace diabetes mellitus 2. typu, prevenci a progrese steatózy jaterní)**

**Základní popis předmětu zakázky**

Zajištění kompletních služeb laboratorní diagnostiky u pacientů s předepsanou komplexní lázeňskou léčebně rehabilitační péčí (dále jen „KLP“), zařazených do výzkumné studie, která bude prováděna ve vybraném lázeňském zařízení v Karlových Varech.

Předávání **pseudonymizovaných** dat, dle vzájemně odsouhlaseného harmonogramu, Institutu lázeňství a balneologie, v.v.i. (dále jen „ILaB“), a to ve formátu standardní souhrnné laboratorní zprávy (.pdf) a dále v předem odsouhlaseném formátu .xls(x) (nebo .csv). Všechna data předávaná ILaBu, musí být **pseudonymizovaná** – tedy opatřena pouze „ID kódy“ jednotlivých pacientů, které bude předávat dané lázeňské zařízení. Laboratoř zodpovídá za správné použití ID kódů pacienta a je její zodpovědností, že nedojde k záměně.

Včasné vyzvednutí a řádný odvoz vzorků z vybraného lázeňského zařízení v Karlových Varech nejpozději do 24 hodin od objednání laboratorních služeb.

**Podrobný popis zakázky**

Předmětem zakázky je zajištění kompletních služeb laboratorní diagnostiky u pacientů s předepsanou KLP, zařazených do výzkumné studie, která bude prováděna ve vybraném lázeňském zařízení v Karlových Varech. Zadavatelem klinických studií je ILaB, výběr jednotlivých lázeňských zařízení bude realizován formou zadávacích řízení. Vysoutěžená laboratoř bude o výsledku těchto řízení ILaBem průběžně informována.

Vybraná laboratoř musí úzce spolupracovat s jednotlivými lázeňskými zařízeními, aby bylo zajištěno včasné vyzvednutí, řádný odvoz vzorků a provedení laboratorní diagnostiky vzorků všech pacientů, ale také na předání jedinečných „ID kódů“ pacientů, pod nimiž budou data předávána ILaBu.

Odběr bude probíhat vždy v ranních/dopoledních hodinách dle požadovaných parametrů odběru (lačnění pacienta, etc. – požadavky dodá laboratoř, přípravu pacienta i odběr samotný zajistí lázeňské zařízení). Laboratoř vyzvedne, odveze a vyhodnotí odebrané vzorky a výsledky laboratorní diagnostiky dodá lázeňskému zařízení nejpozději do druhého pracovního dne.

Odběry budou u všech probandů provedeny vždy na začátku KLP (tj. nejpozději 3. den od nástupu na KLP) a následně na konci KLP (tj. 20. nebo 21. den, ve výjimečných případech lze odběr realizovat 19. den KLP). Zde je nutná spolupráce s lázeňským zařízením, aby odběry proběhly dle plánovaného harmonogramu + byly zajištěny nutné podmínky pro odběr (viz výše).

Obr.1: *Harmonogram rozvrhu vstupního/výstupního odběru.*

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **DEN KOMPLEXNÍ LÁZEŇSKÉ LÉČEBNĚ REHABILITAČNÍ PÉČE** | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 1 | **2** | **3** | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 |
| **POPIS ČINNOSTÍ** | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| **Příjezd pacienta**, vstupní vyšetření, zařazení do studie | Vstupní vyšetření, zařazení do studie, **vstupní odběr,** KLP | **Vstupní odběr**, KLP | KLP | KLP | KLP | KLP | KLP | KLP | KLP | KLP | KLP | KLP | KLP | KLP | KLP | KLP | KLP | KLP | Výstupní vyšetření, **výstupní odběr**, KLP | Výstupní vyšetření, **výstupní odběr, odjezd pacienta** |

**KARLOVY VARY**

**(Objektivizace účinku komplexní lázeňské léčebně rehabilitační péče na onemocnění a chronické komplikace diabetes mellitus 2. typu, prevenci a progrese steatózy jaterní)**

Výzkum je zaměřen na pacienty s onemocněním diabetes mellitus 2. typu a na podskupinu pacientů, u nichž bude prokázán vyšší stupeň jaterní steatózy.

Celkem je plánováno zařadit do studie **150 pacientů** (75 žen + 75 mužů) z nichž 50 bude zařazeno jako podskupina pro výzkum účinku KLP na steatózu jaterní. Pro samotné odběry však vytvoření podskupiny pacientů se steatózou jaterní nemá vliv, odběry proběhnou u všech 150 pacientů stejně.

Odběry proběhnou ve vybraném lázeňském zařízení u všech probandů na začátku KLP (tj. nejpozději 3. den od nástupu na KLP) a následně na konci KLP (tj. 20. nebo 21. den, ve výjimečných případech lze odběr realizovat 19. den KLP). Zde je nutná spolupráce s lázeňským zařízením, aby odběry proběhly dle plánovaného harmonogramu + byly zajištěny nutné podmínky pro odběr (lačnění pacienta, etc.).

V rámci výzkumu v Karlových Varech jsou plánovány **dva typy odběrů**.

**Standardní odběry** (podrobný popis viz níže), výsledky provedení laboratorní diagnostiky budou předávány lázeňskému zařízení v běžném formátu a nejpozději do druhého pracovního dne.

**Speciální odběry** (podrobný popis viz níže), jejichž hlavním cílem je:

1. sledování vlivu KLP na změny metabolomu, proteomu, markerů zánětu v plazmě pacientů/pacientek s diabetes mellitus 2. typu;
2. sledování vlivu KLP na epitranskriptomické regulace a znaky, které by mohly být využity jako biomarkery odpovědi na léčbu, se speciální pozorností zaměřenou na pohlavní rozdíly.

Vyhodnocení těchto dvou konkrétních cílů bude probíhat ve spolupráci s FGÚ. Vzhledem k náročnosti vyhodnocení těchto dvou cílů a zejména pak s přihlédnutím k vybavení a možnostem FGÚ je nezbytné, aby laboratorní diagnostika probíhala přesně dle uvedeného popisu (podrobně viz. níže).

Vysoutěžené laboratorní zařízení bude zodpovědné za včasný a řádný převoz vzorků, přípravu plazmy dle uvedeného popisu, přesné popsání jednotlivých vzorků a jejich uskladnění v –80 °C. Uskladnění bude probíhat po dobu trvání studie, tedy do 30.4.2027. Po uplynutí této lhůty budou všechny zbývající vzorky transportovány do FGÚ. Převoz těchto speciálních vzorků do FGÚ bude probíhat na suchém ledu, po předchozí domluvě. Předání proběhne po shromáždění vzorků od 10 kompletních pacientů (pre i post KLP), nejpozději však 1× za 6 měsíců.

*Pozn.: V rámci tohoto speciálního odběru je v zadání uveden požadavek na konkrétní zkumavky s označením Eppendorf® Safe-Lock microcentrifuge tubes EP022363344, tyto byly vybrány na základě požadavků FGÚ na průběh studie.*

*Zkumavky Eppendorf® plně splňují požadavky potřebné během izolace totální RNA, přepisu RNA do cDNA, imunoprecipitace RNA či deplece rRNA. Umožňují centrifugaci vzorků až do 30 000 × g, mohou být používány v teplotách -86 °C až 100 °C a jsou autoklávovatelné. Splňují požadavek na PCR clean čistotu – neobsahují lidskou DNA, DNázy, RNázy a inhibitory PCR. Zároveň svou velikostí odpovídají požadavkům pro použití s magnetickým stojánkem DynaMag™-2 Magnet od firmy Invitrogen™ potřebným pro magnetickou separaci vzorků během deplece rRNA. Díky speciálnímu víčku Safe-lock poskytují dodatečnou ochranu proti neúmyslnému otevření během inkubace a skladování vzorků. Optimalizované těsnící vlastnosti zajišťují bezpečnost při práci s nebezpečnými látkami a minimální rychlosti odpařování při dlouhodobém skladování.*

Celkem tedy bude uskutečněno:

**Maximálně 350 „standardních“ odběrů** dle následujícího předpokladu:

|  |  |
| --- | --- |
| **VSTUP[[1]](#footnote-1)** | **VÝSTUP** |
| **max. 200 vzorků pro laboratorní analýzu** | **max. 150 vzorků pro laboratorní analýzu** |
| 1x 5ml, červená zkumavka (sérum) | 1x 5ml, červená zkumavka (sérum) |
| 1x 3ml, fialová zkumavka (K3EDTA) | 1x 3ml, fialová zkumavka (K3EDTA) |
| 1x zkumavka bez preparace na odběr moči | 1x zkumavka bez preparace na odběr moči |

**Maximálně 350 „speciálních“ odběrů** dle následujícího předpokladu:

|  |  |
| --- | --- |
| **VSTUP[[2]](#footnote-2)** | **VÝSTUP** |
| **max. 200 vzorků pro laboratorní analýzu** | **max. 150 vzorků pro laboratorní analýzu** |
| 1x 10ml, fialová zkumavka (K2EDTA) | 1x 10ml, fialová zkumavka (K2EDTA) |
| 1x 10ml, fialová zkumavka (K2EDTA) | 1x 10ml, fialová zkumavka (K2EDTA) |

**STANDARDNÍ ODBĚRY**

Stanoveny/vypočteny budou následující parametry:

**Glukóza** [mmol/l] „FPG“

- *venózní krev – plazma, odběr po min. 8 hodinách lačnění, 30 minut před odběrem pacient v klidovém režimu.*

**Močový sediment** [--]

- *první ranní moč ze středního proudu, odběr po min. 8 hodinách lačnění*

**Urea** [mmol/l]

- *první ranní moč ze středního proudu, odběr po min. 8 hodinách lačnění*

**Krevní obraz** [--]

- *periferní krev*

**Albumin v moči** [mg/l]

- *první ranní moč ze středního proudu*

**Kreatinin v moči**[mmol/l]

- *první ranní moč ze středního proudu*

**Albumin/Kreatinin ratio** [g/mol kreatininu] „ACR“

- *výpočet*

**Celková bílkovina v moči** [g/l]

- *první ranní moč ze středního proudu*

**Protein/Kreatinin ratio** [mg/mmol kreatininu] „PCR“

- *výpočet*

**Kreatinin v krvi** [µmol/l]

*- venózní krev*

**Kyselina močová v krvi**[µmol/l]

- *venózní krev*

**Kyselina močová v moči**[mmol/l]

- *první ranní moč ze středního proudu*

**C - peptid** [pmol/l] preprandiální a postprandiální

- *venózní krev, odběr po min. 8 hodinách lačnění, odběr 1 hodinu po stimulačním testu*

**Inzulin** [mIU/l] mimo sledovaných na terapii inzulínem

- *venózní krev, odběr po min. 8 hodinách lačnění*

**HOMA - IR** [--]

- *výpočet*

**Fruktosamin** [µmol/l]

- *venózní krev*

**Glykovaný hemoglobin HbA1C** [mmol/mol]

- *venózní krev*

**Celkový cholesterol** [mmol/l]

- *venózní krev*

**HDL cholesterol** [mmol/l]

- *venózní krev*

**LDL cholesterol** [mmol/l]

- *venózní krev*

**Triacylglyceroly** [mmol/l]

- *venózní krev*

**bilirubin** [µmol/l]

- *venózní krev*

**alaninaminotransferáza** [µkat/l] „ALT“

- *venózní krev*

**aspartátaminotransferáza** [µkat/l] „AST“

- *venózní krev*

**gama-glutamiltransferáza** [µkat/l] „GGT“

- *venózní krev*

**alkalická fosfatáza** [µkat/l] „ALP“

- *venózní krev*

**cholinesteráza** [µkat/l] „CHE“

- *venózní krev*

**apolipoprotein A-I** [g/l]

- *venózní krev*

**alfa-2-makroglobulin** [g/l]

- *venózní krev*

**FIB-4** [--]

- *výpočet (****pro výpočet je mj. třeba znát věk pacienta***)

Výsledky provedení laboratoraní diagnostiky budou předávány lázeňskému zařízení ve standardním termínu a formátu, tj. nejpozději do druhého pracovního dne v podobě „klasické“ laboratorní zprávy.

ILaBu budou předávána **pseudonymizová** data, dle vzájemně odsouhlaseného harmonogramu, a to ve formátu standardní souhrnné laboratorní zprávy (.pdf) a dále v předem odsouhlasené tabulce ve formátu .xls(x) (nebo .csv). Všechna data předávaná ILaBu musí být **pseudonymizovaná** – tedy opatřena pouze „ID kódy“ jednotlivých pacientů. Při spolupráci s lázeňskými zařízeními je třeba dbát zvýšené opatrnosti, aby nedošlo k záměně použitých kódů v rámci jednotlivých pacientů! Laboratoř zodpovídá za správné použití ID kódů pacienta a je její zodpovědností, že nedojde k záměně.

**SPECIÁLNÍ ODBĚRY**

1. změny metabolomu, proteomu, markerů zánětu v plazmě

materiál: **plazma**

cílový objem plazmy: **2 ml**

příprava plazmy:

* **lázeňské zařízení odebere 10 ml krve do zkumavky**

*+ anti-koagulant K2EDTA - levandulový uzávěr*

* **laboratoř krev stočí 10 min 1900 x g při 4 °C**
* **po stočení přepipetuje plazmu** **do 2ml RNAse-free Eppendorf zkumavky**

*Eppendorf® Safe-Lock microcentrifuge tubes EP022363344, Merck*

* **zkumavky chladit na ledu**
* **přenést do –80 °C;**

1. sledování vlivu KLP na epitranskriptomické regulace a znaky

materiál: **plazma**

cílový objem plazmy: **2 ml**

příprava plazmy:

* **lázeňské zařízení odebere 10 ml krve do zkumavky**

*+ anti-koagulant K2EDTA - levandulový uzávěr*

* **krev stočí 10 min 1900 x g při 4 °C**
* **po stočení přepipetuje plazmu do 2ml RNAse-free Eppendorf zkumavky**

*při přepipetování použít RNAse-free špičky s filtrem*

*Eppendorf® Safe-Lock microcentrifuge tubes EP022363344, Merck*

* **zkumavky chladit na ledu**
* **plazmu podruhé stočí 3000 x g, 15 minut při 4 °C**
* **po stočení přepipetuje plazmu do 2ml RNAse-free Eppendorf zkumavky**

*při přepipetování použít RNAse-free špičky s filtrem*

*Eppendorf® Safe-Lock microcentrifuge tubes EP022363344, Merck*

* **zkumavky chladit na ledu**
* **přenést do –80 °C.**

Výsledkem bude uložení celkem maximálně 700 kusů 2ml zkumavek typu *Eppendorf® Safe-Lock microcentrifuge tubes EP022363344,* v hlubokomrazícím boxu (–80 °C) po dobu trvání studie, tj. do 30.4.2027.

**VZORKY SE NESMÍ V ŽÁDNÉM PŘÍPADĚ ROZMRAZIT, ANI BÝT JINAK POŠKOZENY!**

Laboratoř je povinna vzorky viditelně označit tak, aby nedošlo k jejich záměně. Každý vzorek musí být čitelně označen ID kódem pacienta + označením typu sledovaného cíle. Při spolupráci s lázeňskými zařízeními je třeba dbát zvýšené opatrnosti, aby nedošlo k záměně použitých kódů v rámci jednotlivých pacientů!

Převoz těchto speciálních vzorků do FGÚ bude probíhat na suchém ledu, po předchozí domluvě. Předání proběhne po shromáždění vzorků od 10 kompletních pacientů (pre i post KLP), nejpozději však 1× za 6 měsíců. Příprava vzorku pro převoz bude hrazena laboratoří, samotnou přepravu vzorků pak bude hradit na své náklady FGÚ (bude komunikováno prostřednictvím ILaBu).

1. Vstupní odběry pokrývají odpadovost probandů, která může nastat v případě onemocnění během pobytu KLP, resp. nedokončení KLP a nepodstoupení výstupního odběru (vzorku). [↑](#footnote-ref-1)
2. Vstupní odběry pokrývají odpadovost probandů, která může nastat v případě onemocnění během pobytu KLP, resp. nedokončení KLP a nepodstoupení výstupního odběru (vzorku). [↑](#footnote-ref-2)