



DODATEK NR 4 DO INFORMATORA

Badania z zakresu Genetyki
Wojewódzkie Wielospecjalistyczne Centrum Onkologii i Traumatologii
im. M. Kopernika w Łodzi

Spis treści

1. Pracownia Diagnostyki Molekularnej.....	2
2. Pobieranie materiału do badań	2
2.1. Przygotowanie pacjenta do badań	2
2.2. Czynniki wpływające na wynik badania	3
2.3. Skierowania/zlecenia na badania	3
2.4. Identyfikacja pacjenta i próbek	4
2.5. Pobieranie krwi z żyły obwodowej	4
2.6. Pobieranie szpiku kostnego z talerza kości biodrowej lub mostka	4
2.7. Pobieranie tkanek utrwalonych (FFPE)	4
3. Przyjęcie materiału do badań	5
4. Przygotowanie materiału do badań	6
5. Dokumentowanie niezgodności na etapie przedanalizy	6
6. Badania zlecone w trybie pilnym	6
7. Dozlecanie badań do już pobranego i przyjętego w Pracowni materiału	7
8. Przechowywanie materiału do badań	7
9. Przechowywanie materiału po wykonaniu badań	7
10. Utylizacja materiału biologicznego	7
11. Wydawanie sprawozdań z badań	7
12. Wyniki alarmowe (krytyczne)	8

1. Pracownia Diagnostyki Molekularnej

Pracownia Diagnostyki Molekularnej funkcjonuje w strukturach Zakładu Diagnostyki Laboratoryjnej WWCOiT im. M. Kopernika w Łodzi. Pracownia specjalizuje się w wykonywaniu badań genetycznych obejmujących choroby hemato-onkologiczne, nowotwory oraz genetyczne predyspozycje do ich rozwoju, schorzenia nieonkologiczne o podłożu dziedzicznym oraz oznaczenia z zakresu farmakogenetyki. Badania obejmują m. in. diagnostykę zmian somatycznych (nabytych), monitorowanie mierzalnej choroby resztkowej w hematoonkologii, badanie predyspozycji do zachorowania na nowotwory (zmiany germinalne (wrodzone)). Zadania te są wykonywane z wykorzystaniem technik biologii molekularnej - klasycznej reakcji łańcuchowej polimerazy (ang. *Polymerase chain reaction*, PCR) i jej modyfikacji: ilościowego PCR z pomiarem w czasie rzeczywistym i (RT-qPCR), oraz ilościowego *droplet digital* PCR, sekwencjonowania DNA modyfikowaną metodą Sangera i sekwencjonowania nowej generacji.

Pracownia stosuje zasady zgodne z Dobrą Praktyką Laboratoryjną – wykwalifikowany personel, w oparciu o aktualną wiedzę, wykonuje badania z użyciem nowoczesnych technik laboratoryjnych. Poziom jakości wykonywanych badań jest systematycznie monitorowany poprzez udział w zewnątrzlaboratoryjnych kontrolach jakości (krajowych i międzynarodowych).

2. Pobieranie materiału do badań

Materiał pobierany do badań genetycznych, w zależności od rodzaju badania i jednostki chorobowej, może stanowić szpik kostny lub krew obwodowa pobrana do probówek z EDTA oraz tkanki utrwalone w parafinie (FFPE) po ocenie histopatologicznej. W sytuacjach wyjątkowych, po uzgodnieniu z Pracownią możliwe jest pobranie materiału innego niż wyszczególniony.

W przypadku badań komercyjnych oraz zleczanych z poradni specjalistycznych Szpitala wymagane jest wcześniejsze umówienie się na pobranie/dostarczenie materiału biologicznego (nie dotyczy Oddziałów Szpitala). Lista badań wymagających wcześniejszego zapisu:

1. Wszystkie badania wykonywane ze szpiku
2. Multiplex *BCR::ABL1*
3. *BCR::ABL1* p210, p230, p190
4. Geny fuzyjne *RUNX1::RUNX1T1*, *CBPB::MYH11*, *PML::RARA*
5. Mutacje *NPM1*
6. Oznaczenie panelu mieloidalnego (NGS)
7. Mutacje w genie *TP53*
8. Hipermutacje somatyczne genu *IGHV* (m.Sanger)

2.1. Przygotowanie pacjenta do badań

Lekarz zlecający badanie genetyczne powinien poinformować pacjenta o celu, możliwych wynikach i ryzykach wynikających z badania genetycznego oraz poświadczyć ten fakt na formularzu świadomej zgody (PR-01/p6 QD-02 „Deklaracja świadomej zgody na wykonanie diagnostycznych badań

genetycznych"). Przed przystąpieniem do badań pacjent lub jego opiekun prawny musi wyrazić świadomą zgodę na przeprowadzenie badania genetycznego oraz poświadczyć ten fakt na deklaracji świadomej zgody (PR-01/p6 QD-02 „Deklaracja świadomej zgody na wykonanie diagnostycznych badań genetycznych”).

Pacjent nie wymaga specjalnego przygotowania przed pobraniem krwi na badanie genetyczne (nie ma konieczności pobierania próbek na czczo).

Opis procedury pobrania szpiku kostnego na badanie genetyczne i inne (biopsja aspiracyjna cienkoigłowa lub trepanobiopsja) oraz sposób przygotowania pacjenta do zabiegu przedstawiono szczegółowo w procedurze PR-01 QD-H-33 „Zgoda na nakłucie i pobranie szpiku kostnego – trepanobiopsja i biopsja aspiracyjna”.

2.2. Czynniki wpływające na wynik badania

Na poprawność wykonania badania genetycznego z krwi, szpiku lub białaczki istotny wpływ ma prawidłowy sposób pobrania. Krew/szpik pobierane do probówki z EDTA muszą być dokładnie wymieszane z antykoagulantem. Materiał powinien zostać dostarczony do laboratorium w czasie krótszym niż 24h od momentu pobrania.

W przypadku badań wykonywanych z preparatów utrwalonych (FFPE) istotne jest, aby preparaty były przygotowywane zgodnie ze Standardami postępowania w patomorfologii. Istotnymi czynnikami jest tutaj zwłaszcza wykorzystanie formaliny buforowanej w procesie preparatyki i zachowanie odpowiednich czasów utrwalania (do 48h dla preparatów małych). Nieprawidłowa preparatyka może skutkować między innymi pojawieniem się artefaktów i utrudniać wykrycie zmian subklonalnych, a w przypadkach krytycznych całkowicie uniemożliwić wykonanie badania. Negatywny wpływ na badania z materiału FFPE ma również czas jaki upłynie od pobrania. Materiał starszy (powyżej 2 lat) może dać wyniki o gorszej jakości.

2.3. Skierowania/zlecenia na badania

Badania molekularne wykonywane są na podstawie zlecenia generowanego w systemie AMMS lub druku zlecenia „Skierowanie na badania molekularne” PR-01/p6 QD-01 dołączonego do niniejszego Dodatku. Do zlecenia na badanie genetyczne wymagany jest obligatoryjny formularz deklaracji świadomej zgody „Deklaracja świadomej zgody na wykonanie diagnostycznych badań genetycznych” PR-01/p6 QD-02 (również dołączonej do niniejszego Dodatku). Deklaracja świadomej zgody musi być podpisana przez lekarza udzielającego informacji i pacjenta, chyba że badanie jest dodatkowym zleceniem do wcześniejszego pobrania i zgoda została udzielona wcześniej. **Brak prawidłowo uzupełnionego dokumentu świadomej zgody uniemożliwia wykonanie badania genetycznego.**

W przypadku zlecenia badania z jednostek zewnętrznych należy wypełnić wyżej wymieniony druk skierowania i formularz deklaracji świadomej zgody obowiązujące w pracowni. Pozwoli to uniknąć błędów przedlaboratoryjnych spowodowanych niedokładnym nazewnictwem lub nieczytelnym pismem zlecającego.

2.4. Identyfikacja pacjenta i próbek

Próbkę krwi pobiera się na podstawie wypełnionego i podpisanego przez lekarza zlecenia na badanie. Bezpośrednio przed pobraniem osoba pobierająca dokonuje jednoznacznej identyfikacji i weryfikacji tożsamości pacjenta. Po pobraniu, na etykiecie próbówki, w obecności pacjenta, na podstawie danych uzyskanych od pacjenta, wpisuje się: nazwisko i imię pacjenta (wielkimi literami); numer PESEL pacjenta, a w przypadku braku numeru PESEL – datę urodzenia pacjenta, datę i godzinę pobrania, rodzaj pobranego materiału (krew/szpik). Po pobraniu i opisanu próbówki osoba pobierająca sprawdza, czy dane pacjenta na etykiecie próbówki z próbką pacjenta są zgodne z danymi na zleceniu na badanie i składa na tym zleceniu czytelny podpis oraz wpisuje datę i godzinę pobrania.

2.5. Pobieranie krwi z żyły obwodowej

Pobieranie krwi żyłnej odbywa się zgodnie z zasadami opisanymi w Informatorze (Inf-ZDL) i dodatkowo w procedurach obowiązujących w Szpitalu: PR-01 QP-15 „Dezynfekcja skóry i błon śluzowych lub innych tkanek” oraz PR-01 QP-02 „Standardowa Procedura mycia i dezynfekcji rąk”. Krew żylna pobierana jest w systemie zamkniętym do próbek S-Monovette. Krew na badania molekularne należy pobierać do próbek zawierających **wyłącznie antykoagulant EDTA (10 ml)**.

W przypadku ekspozycji zawodowej postępujemy zgodnie z procedurą nr PR-01 QP-06 „Ekspozycja zawodowa pracownika na kontakt z krwią i/lub innym potencjalnie infekcyjnym materiałem (IPIM) – postępowanie”.

2.6. Pobieranie szpiku kostnego z talerza kości biodrowej lub mostka

Pobieranie szpiku kostnego opisane jest w formularzu PR-01 QD-H-33 „Zgoda na nakłucie i pobieranie szpiku kostnego – trepanobiopsja i biopsja aspiracyjna”. Szpik kostny pobierany jest w systemie otwartym do próbek S-Monovette zawierających **wyłącznie antykoagulant EDTA**, w objętości **2-4 ml**.

W przypadku ekspozycji zawodowej postępujemy zgodnie z procedurą nr PR-01 QP-06 „Ekspozycja zawodowa pracownika na kontakt z krwią i/lub innym potencjalnie infekcyjnym materiałem (IPIM) – postępowanie”.

2.7. Pobieranie tkanek utrwalonych (FFPE)

Pobranie reprezentatywnych wycinków ze zmiany u operowanego pacjenta wykonywane jest wg procedur obowiązujących w Szpitalu. Materiał umieszczany jest w specjalnym utrwalaczu. Następnie wycinek podlega mrożeniu w kriostacie (temperatura mrożenia powinna być niższa niż -20°C). Skrawanie zamrożonego materiału i tworzenie preparatu mikroskopowego, barwienie preparatu hematoksyliną i eozyną odbywa się w Zakładzie Histopatologii. Badanie histopatologiczne przeprowadzane jest przez lekarza patomorfologa, którego celem jest postawienie diagnozy patomorfologicznej (określenie charakteru zmiany: potwierdzenie lub wykluczenie złośliwości).

3. Przyjęcie materiału do badań

Pobrany materiał biologiczny należy dostarczyć w jak najkrótszym czasie. Pracownia zlokalizowana jest w TiG (budynek od ulicy Ciołkowskiego 2, poziom -1, pokój C2020).

Materiał nieutrwalony (krew / szpik) przyjmowany jest od poniedziałku do piątku w godzinach 8.00 - 12.00 z wyjątkiem:

- Materiał od pacjentów zapisanych przyjmowany jest od poniedziałku do czwartku do godziny 12:00.
- W innym czasie materiał może być dostarczony wyłącznie po uzgodnieniu z asystentem Pracowni (tel. 42 689-52-80).
- W szczególnie uzasadnionych przypadkach (np. godziny funkcjonowania Poradni) możliwe jest ustalenie za zgodą Kierownika Pracowni indywidualnych warunków przyjmowania materiału.
- Materiał od pacjentów z kartą DİLO przyjmowany jest poza kolejnością i nie wymaga zapisywania.

Materiał utrwalony (tkanka FFPE) jest przyjmowany w godzinach 7.30 – 15.00 od poniedziałku do piątku w punkcie ekspedycji (poziom 01, pokój C2001).

Personel przyjmujący materiał do badania zobowiązany jest:

- odnotować na skierowaniu datę i godzinę przyjęcia materiału do Pracowni oraz potwierdzić to własnoręcznym podpisem,
- sprawdzić zgodność danych pacjenta na skierowaniu i na próbówce z materiałem badanym (imię, nazwisko, PESEL), a stwierdzone niezgodności niezwłocznie zgłosić kierownikowi Pracowni,
- sprawdzić obecność podpisanej przez pacjenta Deklaracji świadomej zgody na wykonanie diagnostycznych badań genetycznych, a w razie braku podpisu pacjenta potwierdzającego zgodę na badanie odnotować ten fakt w księdze badań i poinformować lekarza zlecającego,
- sprawdzić datę i godzinę pobrania materiału;
- ocenić jakość pobranego materiału pod kątem jego ilości, gęstości, obecności skrzepów, obecności grudek, limfocytozy krwi obwodowej; w przypadku stwierdzenia niedostatecznej ilości materiału do badań poinformować lekarza zlecającego,
- poinformować lekarza zlecającego lub lekarza aktualnie opiekującego się chorym o całkowitym wykrzepieniu materiału badanego i o konieczności powtórnego pobrania,
- w przypadku obecności niewielkich skrzepów w próbówce ze szpikiem kostnym poinformować o tym kierownika Pracowni, a w przypadku jego nieobecności bezpośrednio skontaktować się z lekarzem zlecającym lub lekarzem aktualnie opiekującym się pacjentem o jakości pobranego materiału i jego wpływie na wynik badania; decyzja o jego dalszym procedowaniu zostaje podjęta przez kierownika Pracowni w porozumieniu z lekarzem,
- sprawdzić obecność wskazania do badania na skierowaniu; w przypadku jego braku skontaktować się z lekarzem zlecającym lub lekarzem aktualnie opiekującym się pacjentem,

- sprawdzić kompletność innych danych na skierowaniu, które są niezbędne do poprawnego procedowania próbki, a w szczególności wskazanie do badania; podjąć kroki w celu ich uzupełnienia
- skontaktować się osobiście lub telefonicznie z lekarzem zlecającym badanie w celu uzupełnienia lub skorygowania danych na skierowaniu.
- Zarejestrowania materiału w laboratoryjnym systemie informatycznym Pracowni (LSI)

Kryteria odrzucenia próbki:

- brak danych pacjenta na probówce z materiałem badanym,
- niezgodność danych pacjenta na probówce z danymi na skierowaniu,
- brak formularza deklaracji świadomej zgody,
- skrzep w probówce z materiałem badanym,
- czas od pobrania krwi obwodowej do jej przyjęcia w Pracowni powyżej 24h (w przypadku badań hematoonkologicznych – diagnostyka/ocena mierzalnej choroby resztkowej),
- czas od pobrania szpiku kostnego do jego przyjęcia w Pracowni powyżej 24h (w przypadku badań hematoonkologicznych – diagnostyka/ocena mierzalnej choroby resztkowej),
- limfocytoza krwi obwodowej $< 1.0 \times 10^6/\text{ul}$.

4. Przygotowanie materiału do badań

Pierwszym etapem badania jest izolacja komórek krwi obwodowej/szpiku kostnego na gradiencie stężeń lub metodą lizy erytrocytów. Materiałem bezpośrednio poddanym analizie molekularnej są kwasy nukleinowe (DNA/RNA).

5. Dokumentowanie niezgodności na etapie przedanalizy

Stwierdzenie błędów na etapie przedanalizy opisywane jest w systemie LSI Pracowni jako „Zdarzenie kontroli jakości”. Po ustaleniu przyczyny powstałej niezgodności odpowiedzialny za zdarzenie personel oraz jego przełożony są informowani o niezgodności oraz podjęte zostają działania naprawcze (szkolenie z procedur i/lub inne kroki). W przypadku odrzucenia materiału do badań z powodu zaistniałej niezgodności personel Pracowni informuje o tym zleceniodawcę (telefonicznie lub osobiście), który podejmuje decyzję co do ponownego pobrania materiału do badań. Wszystkie podjęte działania opisywane są w systemie LSI Pracowni przy odpowiednim zdarzeniu kontroli jakości.

6. Badania zlecone w trybie pilnym

Pracownia może wykonywać analizę wybranych zaburzeń molekularnych w trybie pilnym (w czasie 24-48h), pozostałe badania wykonywane są wg czasów określonych w Katalogu badań. Zleceniodawca odnotowuje tryb CITO na zleceniu.

7. Dozlecanie badań do już pobranego i przyjętego w Pracowni materiału

Istnieje możliwość rozszerzenia panelu badań do już pobranego i przyjętego w Pracowni materiału. Należy w tym celu wystawić odpowiednie zlecenie w systemie AMMS a następnie poinformować pracownię (telefonicznie, osobiście lub poprzez papierowy wydruk zlecenia) o tym, że wskazane badanie powinno zostać wykonane z materiału dostarczonego do pracowni wcześniej. Istotne jest wskazanie precyzyjnie materiału, którego ma dotyczyć badanie.

8. Przechowywanie materiału do badań

Materiał na badanie molekularne jest procedowany w dniu jego przyjęcia do Pracowni. Do chwili rozpoczęcia procesu krew i szpik przechowywane są w temperaturze lodówkowej (4-8°C).

9. Przechowywanie materiału po wykonaniu badań

Niewykorzystana krew jest przechowywany w lodówce (4-8°C) do rana dnia następnego po zabezpieczeniu materiału do dalszych analiz. Materiał ten może być wykorzystany do kolejnej procedury, jeśli materiał diagnostyczny z dnia poprzedniego jest zbyt ubogi. Po tym czasie próbki z niewykorzystanym materiałem trafiają do pojemników z odpadami medycznymi i są utylizowane zgodnie z procedurami obowiązującymi w Szpitalu.

10. Utylizacja materiału biologicznego

Zgodnie z procedurami obowiązującymi w Szpitalu (PR-01 QPŚ-03 „Gospodarka odpadami”), odpady odbierane są z Pracowni codziennie.

11. Wydawanie sprawozdań z badań

Sprawozdanie z badania wypisywane jest przez osobę wykonującą w systemie LSI pracowni. Wypisane sprawozdanie przekazywane jest w LSI do autoryzacji diagnoście laboratoryjnemu z ważnym prawem wykonywania zawodu lub specjalście medycznej genetyki molekularnej. Przed autoryzacją sprawozdanie sprawdzane jest z dokumentacją z przeprowadzonych analiz. Sprawdzone i autoryzowany wynik podpisywany jest elektronicznie i automatycznie odsyłany do systemów AMMS i P1. Zasady wydawania sprawozdań opisuje szczegółowo procedura **”PR-01/p6 QP-09 Autoryzacja wydawanie sprawozdań”**.

Formularz sprawozdania z badania molekularnego został zaprojektowany zgodnie z wymaganiami zawartymi w:

- Ustawie z dnia 15 września 2022 r. o medycynie laboratoryjnej,
- Rozporządzeniu Ministra Zdrowia z dnia 30 czerwca 2025 r. w sprawie standardów jakości dla laboratoriów.

W sytuacji opóźnienia w wydaniu sprawozdania Pracownia informuje telefonicznie lub osobiście zleceniodawcę o przyczynach zaistniałego opóźnienia i o najbardziej prawdopodobnym terminie uzyskania wyniku. Notatkę o rozmowie odnotowuje się w PR-01/p6 QP-43 Załącznik nr 1 - Wykaz konsultacji.

12. Wyniki alarmowe (krytyczne)

W przypadku wykrycia wariantów lub zmian genetycznych, których obecność wiąże się z wysokim ryzykiem progresji choroby lub możliwością modyfikacji sposobu leczenia na bardziej skuteczne personel Pracowni niezwłocznie informuje o uzyskanym wyniku i jego znaczeniu lekarza prowadzącego, telefonicznie lub osobiście. Prowadzone są zapisy z przekazania informacji w PR-01/p6 QP-43 Załącznik nr 1 - Wykaz konsultacji.