

INTEGRÁLT IRÁNYÍTÁSI RENDSZER

MUNKAUTASÍTÁS

A SEMMELWEIS ONKOLÓGIAI SZÖVETBANK (SEMMELWEIS ONKOBANK) MŰKÖDÉSI RENDJE



			Aláírás*
Készítette:	Dr. Figler Aida	onkobank koordinátor	dátum:
Ellenőrizte:	Dr. Tóth Péter	minőségfejlesztés i vezető	dátum:
Jóváhagyta :	Dr. Győrffy Balázs	tanszékvezető	dátum:

TARTALOMJEGYZÉK

1.1. JOGI AZONOSÍTHATÓSÁG ÉS FELELŐSSÉG	4
2. AZ ONKOBANK FELADATAI	4
3. AZ ONKOBANK SZERVEZETE	4
3.1. SZERVEZETI FELÉPÍTÉS	4
3.2. SZEMÉLYZETI FELÉPÍTÉS	5
4. A LABORATÓRIUM MŰKÖDÉSI RENDJE	6
4.1. LABORATÓRIUM HASZNÁLATA	6
4.2. MŰSZERHASZNÁLAT	6
4.3. ANYAGOK ÉS FOGYÓESZKÖZÖK HASZNÁLATA	7
4.4. A VIZSGÁLATI FOLYAMATOK	7
4.5. A VIZSGÁLAT UTÁNI FOLYAMATOK	8
4.6. OKTATÁS (KÉPZÉS, TOVÁBBKÉPZÉS)	9
5. A LABORATÓRIUM MUNKARENDEJE	10
5.1. MUNKAI DŐ	10
6. BELSŐ MINŐSÉGBELI KONTROLL	10
6.1. BELSŐ KONTROLL	10
6.2. AZ OLDATCÍMKE TARTALMI ELEMEI	10
6. LABORATÓRIUMI ESZKÖZÖK, MÉRŐMŰSZEREK KEZELÉSE	11
6.1. A LABORATÓRIUMI ESZKÖZÖK BESZERZÉSE ÉS KEZELÉSE	11
6.2. ÜZEMBE HELYEZÉS MENETE	11
6.3. MŰSZEREK NYILVÁNTARTÁSA	12
6.4. MŰSZER DOSSZIÉ	12
6.5. A LABORATÓRIUMI ESZKÖZÖK ELLENŐRZÉSE	12
6.6. AZ ESZKÖZÖK SZENNYEZŐDÉSÉNEK ÉS KÁROSODÁSÁNAK ELKERÜLÉSE	12
6.7. ESZKÖZÖK KARBANTARTÁSA ÉS JAVÍTÁSA	13
6.8. ELJÁRÁS AZ ESZKÖZÖK ISMÉTELT HASZNÁLATBAVÉTELE ESETÉN	13
6.9. AZ ESZKÖZÖK ILLETÉKTELEN BEAVATKOZÁSOKTÓL VALÓ VÉDELME	13
7. FOLYÉKONY NITROGÉN KEZELÉSE	14
7.1. A FOLYÉKONY NITROGÉN MEGRENDELÉSE, SZÁLLÍTÁSA	14
7.2. A FOLYÉKONY NITROGÉN TÁROLÓK HASZNÁLATA, UTÁNTÖLTÉSE	14
7.3. MUNKAVÉDELMI ESZKÖZÖK HASZNÁLATA	16
8. AZ ONKOBANK MŰKÖDÉSE	17
8.1. ELŐKÉSZÍTÉS	17
8.2. TÁJÉKOZTATÁS	17
8.3. MINTAGYŰJTÉS, MINTAÁTVÉTEL	18
a. Vérminta	19
b. Frissen fagyasztott szövetminta	19
c. FFPE minta	20

8.4 MINTATÁROLÁS, - FELDOLGOZÁS	21
a. Vérminta	21
b. Frissen fagyasztott szövetminta	24
c. FFPE minta	26
8.5 ADATRÖGZÍTÉS	27
8.6 MINTÁK FELHASZNÁLÁSA	29
9. KÜLFÖLDI INTÉZMÉNYEK BEVONÁSA	29
10. HIVATKOZÁSOK, FELHASZNÁLT IRODALOM.....	29
11. MELLÉKLETEK JEGYZÉKE.....	30
12. MUNKAUTASÍTÁSOK LISTÁJA.....	30

1. Általános és bevezető szabályok

A **Semmelweis Onkológiai Szövetbank** (röviden **Onkobank**) Laboratóriuma (továbbiakban Laboratórium) a Semmelweis Egyetem (továbbiakban Egyetem) Általános Orvostudományi Kar Bioinformatika Tanszékéhez (továbbiakban Tanszék) tartozó szervezeti egység, amely elsősorban kutató munkát végez, másrészt ezzel összefüggő oktatási és egyéb feladatokat lát el.

1.1. Jogi azonosíthatóság és felelősség

A **Semmelweis Egyetem** önálló jogi személy. (Lásd alapító okirat) Az Általános Orvostudományi Kar és ezen belül a **Bioinformatika Tanszék** szervezeti és gazdaságilag önálló egysége.

2. AZ ONKOBANK FELADATAI

Az Onkobank a Bioinformatika Tanszékhez kötődő **archivált szövetgyűjtemény**, amely tudományos kutatás céljából biológiai minták (tumor,- normál szövet, vér) gyűjtését és tárolását, valamint a betegek klinikai adatainak hosszútávú gyűjtését végzi.

3. AZ ONKOBANK SZERVEZETE

3.1. Szervezeti felépítés

Az Onkobanknak funkcionális (alapvető feladatok, ill. a fő munkafolyamatok szerinti) szervezeti tagozódása nincs. A Laboratórium vezetőjét a Tanszékvezető nevezi ki. A Laboratórium műszerparkjának felelőse az Laboratórium vezetője.

Semmelweis Onkobank tevékenységében az alábbi intézmények vesznek részt:

1. *mintagyűjtés (sebészeti eltávolítás, vérvétel, elhelyezés szállítókannában), mintaátadás, mintavizsgálat (kimetszés, patológiai vélemény), klinikai adatok szolgáltatása:*

- Belgyógyászati és Onkológiai Klinika
- Bőr-, Nemikórtani és Bőronkológiai Klinika
- Flór Ferenc Kórház
- Gyermekgyógyászati Klinika
- Laboratóriumi Medicina Intézet
- Országos Mentális, Ideggyógyászati és Idegsebészeti Intézet
- Orvosi Képző Klinika
- Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet
- Patológiai, Igazságügyi és Biztosítási Orvostani Intézet
- Pulmonológiai Klinika

- Sebészeti, Transzplantációs és Gasztroenterológiai Klinika
 - Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika
 - Urológiai Klinika
 - Új Szent János Kórház és Szakrendelő.
2. *adatok elemzése, szervezési feladatok:*
- Bioinformatika Tanszék
 - Eötvös Loránd Kutatási Hálózat Természettudományi Kutatóközpont

3.2. Személyzeti felépítés

A Laboratórium személyzete munkakör és szakképesítés szerint az alábbi 2 csoportra tagozódik:

1. diplomások
2. asszisztensek

A diplomások munkaköri csoportjába tartozó dolgozók a következők lehetnek:

- orvosok, biológusok, biomérnökök
- PhD-hallgatók
- egyéb diplomások

Az asszisztens munkakört az alábbi végzettséggel rendelkezők tölthetik be:

- laboratóriumi asszisztens
- laboratóriumi technikus
- egyéb, nem szakképzett munkatársak.

A megvalósításban közreműködő munkatársak:

- a Semmelweis Onkobank vezetője (Prof. Dr. Györffy Balázs),
- a Semmelweis Onkobank Laboratórium vezetője,
- a mintavételt végző orvosok,
- a minta kimetszést és diagnosztikai véleményt alkotó patológusok,
- a szövettani asszisztensek,
- a vérvételben és minta átadásban szerepet játszó nővérek és asszisztensek,
- a Semmelweis Onkobank laboratóriumi orvosa,
- a Semmelweis Onkobank asszisztens,
- a Semmelweis Onkobank adatbázisának felelőse.

4. A LABORATÓRIUM MŰKÖDÉSI RENDJE

4.1. Laboratórium használata

- A **laboratórium vezetője** gyakorolja a felügyeleti jogokat a laboratóriumban. Feladata a laboratóriumi rend, a hatékony munkához szükséges fegyelem és a laboratóriumra vonatkozó munkavédelmi szabályok betartatása, például a kötelező védőeszközök (köpeny, védőkesztyű) használata.
- Minden **felhasználó** (tanszéki munkatárs, hallgató, külsős) csak a laboratórium vezetőjével történt egyeztetés után használhatja a laboratórium erőforrásait. A TDK hallgatók foglalkoztatása a laboratóriumokban csak a témavezető felelősségvállalása mellett történhet.
- A laboratóriumot a munka befejeztével tisztán szükséges elhagyni, a műszerek ki,- ill. bekapcsolt állapotának meggyőződése után a helyiséget kulccsal be kell zárni. esetlegesen tapasztalt rendellenességeket a laboratórium vezetőjének azonnal be kell jelenteni. A laboratóriumokhoz a megfelelő személyek kulccsal rendelkeznek. A laboratórium éjszakára ne maradjon felügyelet nélkül nyitva, készülék ill. világítás feleslegesen ne maradjon bekapcsolva.

4.2. Műszerhasználat

Ide tartozik:

centrifugák

pipetták

kézi QR-kód és vonalkód olvasó készülékek és rack scannerek

analitikai mérleg

-80° C-os ultramélyhűtők

-20° C-os hűtőszekrény

folyékony nitrogénes biológiai mintatárolók

10 és 20 literes folyékony nitrogén szállító Dewar-edények

kézi átfejtő készülék nitrogén utántöltéshez

adszorpciós mintaszállító kannák

oxigén detektor

- A **műszerfelelős** a műszer jó értelemben vett gazdája. Feladata a műszer rendeltetésszerű, hatékony használatának biztosítása és ellenőrzése, a felhasználók betanítása, továbbá a szükséges szervizelés, hibaelhárítás, ill. csere alkatrészek beszerzésének megszervezése. Szükség esetén segít a műszeridő felhasználás rugalmas tervezésében.
- Bármelyik műszert kizárólag az a személy használhatja, akit arra előzőleg betanítottak. Fél évnél hosszabb kihagyás esetén vagy kérésre a betanítást meg kell ismételni. A műszerfelelős dönti el a betanítás sikerességét, és csak ezután válik valakiből **felhasználó**. A felhasználók névsorát kompetencia táblázatban dokumentálni kell az alábbiak szerint: felhasználó neve, műszer pontos megnevezése, használat kezdetének dátuma.
- A **felhasználó** felelősséggel tartozik az általa használt műszer épségéért. Hiba észlelése esetén azonnal értesíteni kell a műszerfelelőst. A felhasználó nem próbálkozhat a hiba elhárításával.
- A műszert kikapcsolva és tisztán kell hagyni a munka befejezésekor.
- Aki a műszert nem megfelelő módon vagy felelőtlenül használja, első alkalommal a műszerfelelős, második alkalommal a tanszékvezető figyelmezteti, harmadik alkalommal (fegyelmi vétség) a műszer további használatától is eltiltható. Aki nem tartja be a műszer használatának szabályait, annak a nem megfelelő működtetéssel okozott kárt a Munka Törvénykönyv által szabályozott mértékig meg kell térítenie. Hallgatók esetén a felelősség elsősorban a témavezetőt terheli.

4.3. Anyagok és fogyóeszközök használata

- A laboratórium használatához szükséges anyagok, és fogyóeszközök beszerzését a laboratórium vezetője szervezi.
- A közös forrásból biztosított anyagok (pl. desztillált víz vagy folyékony nitrogén) használatánál az elvárható gondosság a minimális követelmény. Ha egy felhasználó azt észleli, hogy valami fogytán van, akkor erre hívja fel a laboratórium vezetőjének figyelmét.

4.4. A vizsgálati folyamatok

A vizsgálati folyamatok szabályozását metodikai leírásokban részletesen rögzítjük. A laboratórium vezetője felelős az alkalmazott metodikai módszerek kidolgozásáért, validálásáért és ellenőrzéséért.

- A Laboratórium vizsgálati módszereit és eljárásait megfelelő tudományos háttérrel rendelkező, nemzetközileg elfogadott irányelvek alapján választja ki.
- A Laboratórium a szakirodalom által elfogadott, saját igények szerint módosított vagy saját fejlesztésű (megfelelő referens anyagokkal validált) módszereket használ.
- A Laboratórium a vizsgálatait során használt minden műszer esetében használati utasítással rendelkezik, mely a dolgozók rendelkezésére áll.
- A vizsgálatok szakszerű végzéséhez szükséges módszertani leírások és munkautasítások aktuális változata a dolgozók rendelkezésére áll a Laboratóriumban nyomtatott, illetve a belső hálózaton elektronikus formában.
- A módszertani leírásokban foglaltaktól való eltéréseket a technikai vagy szakmai indokok megjelölésével dokumentáljuk.
- A Laboratórium az alkalmazott módszerek változtatása esetén ellenőrzi, hogy az miként befolyásolja a vizsgálat megfelelőségét, megbízhatóságát, és arról - szükség esetén - a témavezetőt tájékoztatja.
- A Laboratóriumban az eszközök karbantartása rendszeresen megtörténik, ennek az eredménye dokumentálva van.

4.5. A vizsgálat utáni folyamatok

- A laboratórium diagnosztikai vizsgálatokat nem végez.
- A laboratórium vezetője a kísérleti mintákon végzett vizsgálatok eredményét elektronikusan dokumentálja, a kutatási projektnek megfelelően archiválja, illetve a vizsgálatot kérő munkatárs részére továbbítja.
- A Laboratórium munkatársai, szükség esetén, a laboratóriumi eredményeket interpretálják, és szakmai véleménnyel látják el, úgy hogy a jelentésben szereplő, az eredményekkel összefüggésben álló vélemény, vagy megjegyzés szakmailag megalapozott legyen. A „Vizsgálati eredmények” adatlapon (jegyzőkönyv) megtalálhatóak a munkatársak által elvégzett kísérletek leírásai, megjegyzései. A jegyzőkönyvet elektronikus formában vezetjük.

4.6. Oktatás (képzés, továbbképzés)

- Az Intézet gondoskodik a Laboratórium munkatársainak belső és külső képzéséről és továbbképzéséről, és dolgozóit támogatja a magasabb színvonalú munkavégzéshez szükséges szakképesítések megszerzésében. Az Intézet a képzés feltételeit (idő, anyagi támogatás, könyvek, folyóiratok beszerzése, internet elérési lehetőség stb.) biztosítja.
- Új asszisztensek betanítását az Intézetvezető által kinevezett Laboratóriumvezető koordinálja.
- Új asszisztensek munkavállalásakor a képzés megszervezéséért a laboratóriumvezető felel. Új asszisztens csak akkor végezhet önálló munkát a laboratóriumban, ha gyakorlati jártasságáról és elméleti tudásáról a laboratóriumvezető diplomás elfogadja.

5. A LABORATÓRIUM MUNKARENDJE

5.1. Munkaidő

Heti 40 órában, általában hétfő - péntek, 8:00 - 16:00, ami a protokoll rendje szerint változtatható.

6. BELSŐ MINŐSÉGKONTROLL

6.1. Belső kontroll

Referensmódszerek:

Azok az anyagok/módszerek, amelyek az alkalmazott vizsgálati módszerben elfogadottak. A referens módszereket részletesen a metodikai leírások tartalmazzák.

Felhasznált anyagok

- Az Intézetben használt vegyszerek azok lejáratí idejükig használhatóak fel.
- Amennyiben a gyártó/forgalmazó nem határozott meg lejáratí időt, abban az esetben a felhasználhatósága az adott vegyszernek korlátlan. A vegszert felhasználó laboratórium meghatározhat ezen vegyszerek esetében is lejáratí időt, amit a tárolóedényen rögzít.
- Lejáratí idő után abban az esetben is használható vegyszer, ha a felhasználást megelőzően, vagy a felhasználással egyidejűleg kétséget kizáróan bizonyítható annak felhasználhatósága. Kontrollkísérletnek elfogadható az a dokumentált mérés, ami egyértelműen és mindent kétséget kizáróan bizonyítja, hogy az adott vegyszer megfelelően működik az adott kísérlethez.

6.2. Az oldatcímké tartalmi elemei

A laboratóriumokban készített keverékek, oldatok címkéi a következő elemeket tartalmazzák a pontos azonosíthatóság és a lejárat utáni felhasználás elkerülése érdekében.

- készítő neve
- oldat neve
- koncentrációja
- készítés időpontja
- lejáratá (ha értelmezhető)

6. LABORATÓRIUMI ESZKÖZÖK, MÉRŐMŰSZEREK KEZELÉSE

Laboratóriumi eszköznek tekintjük a műszereket, referenciaanyagokat, fogyóanyagokat, reagenseket és analitikai/mérő rendszereket. Ezek megfelelő beszerzése és kezelése jelentős hatással van a laboratórium szolgáltatásainak színvonalára. (SE Műszergazdálkodási Szabályzat)

6.1. A laboratóriumi eszközök beszerzése és kezelése

A Laboratóriumban használt valamennyi eszköz az Tanszék közvetlen felügyelete alá tartozik.

Eszköz választásakor és beszerzésekor az alábbiakat vesszük figyelembe:

- felhasználói igények,
- szakmai és minőségi megfelelés
- energiafelhasználás, erőforrásigény,
- beruházási és működési költségek,
- beüzemelési és betanítási költség,
- eszközzel kapcsolatos irodalmi adatok, szakmai referenciák,
- a máshol már működtetett hasonló eszköz felhasználóinak véleménye,
- fogyóeszközök, reagensek és a majdan amortizálódott eszköz megsemmisítésével kapcsolatos környezetvédelmi szempontok, valamint
- munkavédelmi szempontok, összhangban a munkavédelmi előírásokkal.

Eszköz átvételekor/átadásakor ellenőrizzük, hogy valamennyi alkotóelem, cseretartozék, pótalkatrész, beleértve az eszköz dokumentációját és a műszerkönyvben szereplő elemeket, átadásra/átvételre kerültek-e, melyet írásban is rögzíteni kell az eszközök átadásának/ átvételének igazolására készült dokumentum kitöltésével.

Ha az eszköz javítása helyben nem oldható meg, az elszállítását a gazdasági ügyintéző szervezi meg a szervizelő cég igénybevételével.

6.2. Üzembe helyezés menete

Az eszközök üzembe helyezése a beszerzést végző Igazgatóság felügyeletével és jóváhagyásával történhet.

- a. műszaki feltételek kiépítése a Beruházási és Létesítmény-
fenntartási Igazgatósággal (víz, villany csatorna)
- b. informatikai háttér telepítése
- c. üzembe helyezést a szakszerviz végzi

- oktatja a dolgozókat - segít kiválasztani a kompetens személyt a gép üzemeltetéséhez
- műszert működőképessé teszi, részt vesz a próbaüzemben: az első kalibrálásban, kontrollálásban és mintamérésben
- jegyzőkönyvet készít az üzembe helyezésről és betanításról, amelynek tartalmaznia kell a beüzemelés helyszínét, időpontját, a készülék azonosítóit, a jelenlévő személyeket mindkét fél részéről, a betanítás tárgyát.

6.3. Műszerek nyilvántartása

A műszerek nyilvántartása az **SE Gazdasági Főigazgatósága** által szervezett formában SAP -ban történik a SE Műszergazdálkodási Szabályzatban előírtak szerint.

6.4. Műszer dosszié

Eszköz/ műszer nyilvántartás- tartalmazza a műszer alábbi adatait:

Műszer leírása:

- milyen eszköz
- hol található
- a műszer használati utasítása hol található

Karbantartás folyamatának leírása (vizsgálati előírás szerinti, havi, éves) a karbantartási napló vezetése

6.5. A Laboratóriumi eszközök ellenőrzése

Az eszközök megfelelő működését használat előtt ellenőrizzük.

6.6. Az eszközök szennyeződésének és károsodásának elkerülése

A laboratórium a megfelelő működés biztosítása, valamint a szennyeződések és károsodások elkerülése érdekében:

- Az eszközt a munkafolyamatok logikájának megfelelően helyezi el a rendelkezésre álló helyiségekben.
- Az eszköz közvetlen környezetét a gyártó előírásai szerint alakítja ki.
- Az eszköz működtetését a rá vonatkozó munkautasítás szerint végzi, betartva a munkavédelmi előírásokat.

- Amikor az eszköz környezetében olyan tevékenység folyik, amely szennyezés, károsodás kockázatával jár, az eszközt letakarjuk, illetve, amennyiben szükséges, áthelyezzük.

6.7. Eszközök karbantartása és javítása

Az eszközök rutinkarbantartását legalább a gyártó előírásainak megfelelő szinten, a szerviz javaslatainak figyelembevételével, rendszeresen végezzük és a karbantartási naplóban dokumentáljuk, feltüntetve a karbantartás időpontját, típusát és végzőjét. A szerviz által kivitelezett karbantartási műveletek leírását feljegyzés formájában a karbantartási naplóban tároljuk.

A gyanús eredményeket adó vagy az előírt határértékeket nem tartó eszközök használatát haladéktalanul felfüggesztjük. Amennyiben a hiba a kalibráltság ellenőrzése és korrekciója után, valamint a szerviz telefonon adott javaslatai ellenére továbbra is fennáll, a műszerfelelős megrendeli a szerviz szolgáltatást. Az eszköz működését érintő, helyben nem megoldható egyéb meghibásodás, üzemzavar esetén is a lehető legrövidebb időn belül felvesszük a kapcsolatot a szervizzel.

A használatból kivont eszközön jól láthatóan jelöljük a nem használhatóság tényét (**Üzemen kívül**). A részlegvezető diplomás tájékoztatja kollégáit, hogy az eszköz használata szünetel mindaddig, amíg a javítást követő kontrollálás, szükség esetén a kalibrálás nem igazolja a pontos működését.

Javítás esetén a laboratórium gondoskodik a javításhoz szükséges munkaterületről és biztosítja a javítást végző személy biztonságos munkavégzéséhez szükséges körülményeket, illetve felszerelést.

6.8. Eljárás az eszközök ismételt használatbavétele esetén

A Laboratórium a felügyelete alól kikerülő eszköz (pl. javítás, kölcsönadás) ismételt használatbavétele előtt az eszköz pontosságáról kontrollméréssel győződik meg. A szervizelés előtti és utáni kontroll minták összehasonlítása a belső minőségbiztosítási eljárás szerint történik

A műszer újra alkalmazhatóságáról a műszerfelelős és/vagy az igazgató dönt.

6.9. Az eszközök illetéktelen beavatkozásoktól való védelme

A vizsgáló/kalibráló eszközöket és szoftverüket kizárólag a laboratórium arra jogosult (ld. munkatársak kompetenciái) dolgozója, valamint a laboratórium diplomás dolgozói által előzetesen képzésben részesített egyéb személyek kezelhetik. A számítógép belépési jelszóval védett, amit csak az Onkobank

munkatársai ismernek. A SampleWarehouse és REDCap szoftverekhez minden dolgozónak saját felhasználói fiókja van, amelynek belépési adatait csak az adott munkatárs ismeri. Az Onkobank ajtaja kulccsal zárható.

7. FOLYÉKONY NITROGÉN KEZELÉSE

7.1. A folyékony nitrogén megrendelése, szállítása

A folyékony nitrogént hetente a Semmelweis Egyetem Logisztika Osztálya szállítja ki. Hétfőn a heti megrendelést emailben kell elküldeni a Szolgáltatási Igazgatóság - Logisztika Osztálynak (logisztika@semmelweis-univ.hu), másolatban Gelóczi Miklósné (geloczi.miklosne@med.semmelweis-univ.hu) és Szandi Éva (szandi.eva@med.semmelweis-univ.hu) is megkapja a Gazdasági Igazgatóságon. Csatolni kell a 'GÁZ táblázatot', amit a logisztikától el lehet kérni. Megfelelő fülön kitöltve:

Bioinformatika Tanszék	661460	Cseppfolyós nitrogén	1	10 L= 8,1 kg vagy 20 L = 16,2 kg vagy 30 L=24,3 kg
---------------------------	--------	----------------------	---	--

A tanszék Messer vevőkódja 661460, ami alapján a számlát kiállítják. Ugyanezen táblázattal lehet rendelni szárazjeget és CO₂ gázt a laborba:

Bioinformatika Tanszék	661460	203010270	Szén-dioxid orvosi	20 kg
---------------------------	--------	-----------	--------------------	-------

Hétfő délután (vagy kérésre hétfő reggel) a 10 és/vagy 20 L-es kannát a II. Gyermekklinika 7-es kapujához (Angyal utcai bejárat) kell vinni, az épületen belül az ajtó elé letenni. Kedden reggel (vagy akár már hétfőn) a logisztikától Czák Attila (+36-20-825-9896) elviszi, a gurulós talpat az ajtóban hagyja. Szerda reggel 7-8 között feltöltve visszahozza. A 7-es kapunál adja át, Petényi Sándor betegszállító (+36-20-825-9470) leviszi az Onkobank melletti szobájába, amíg át nem vesszük, hogy a veszélyes anyagnak számító folyékony nitrogén ne maradjon őrizetlenül.

7.2. A folyékony nitrogén tárolók használata, utántöltése

7.2.1. Monitorozás:

A 140 literes folyékony nitrogénes mintatároló(ko)n (típusa: Antech CryoMaster 4800) két riasztó üzemel: a felső a folyékony nitrogén alacsony szintjénél riaszt, amit a tartály aljában lévő hőmérséklet alapján mér, de ekkor még a hőmérséklet elfogadható, csak a folyadékszint csökkentéséről kapunk tájékoztatást. Az alsó akkor riaszt, ha a tartály tetején a hőmérséklet -180°C fölé emelkedik, ekkor azonnal után kell tölteni 10 liter nitrogénnel. (Ha a folyadékszint folyamatosan ellenőrizve van és

rendszeresen utántöltjük nitrogénnel, az alsó riasztó a fontosabb, mivel ez tájékoztat arról, ha a hőmérséklet nem optimális a minták számára.) A riasztó hangját le lehet némítani (ám ezt ne felejtsük el, mert nem mutatja, hogy némítva van). A felső riasztót általában le szoktuk némítani, mert folyamatosan jelezné a -196°C -tól alacsonyabb hőmérsékletet/ alacsony nitrogénszintet.

A folyadékszintet rendszeresen figyelni kell: a mérőpálcát a tartály oldalán ütközésig lecsúsztatjuk, pár másodpercig benne hagyjuk a folyadékban, majd hirtelen mozdulattal kiemeljük a pálcát. A folyadék szintjét pára kicsapódás jelzi. 0-1 cm körül kell újra tölteni 10 L nitrogénnel, ekkor kb. 4 cm lesz a szint, azaz maximum az állvány alsó szintje ér bele, ahová nem teszünk dobozt, a minták pedig folyékony nitrogén gőzében lesznek -180 és -196°C között. Túltölteni nem szabad.

7.2.2. Utántöltés:

A 10 L-es kannából (Dewar-edény, *típusa: Chart YDS-10L*) a műanyag tölcserrel vagy anélkül, átöntéssel vagy a pumpás átfejtővel is lehet tölteni. Megfelelő védőfelszerelés használata (védőkesztyű, arcvédő pajzs, kötény) kötelező.

A 20 L-es kannából (Dewar-edény, *típusa: Chart YDS-20L*) kézi pumpás átfejtővel (*típusa: Chart ZYB-5*) tudunk nitrogént vételezni. Az átfejtőt lassan, körkörös mozdulatokkal bele kell helyezni, az alsó csavart rászorítani, a szelep karját merőlegesre állítani és néhány pumpálás után elkezdi folyni a nitrogén. A kart párhuzamos állásba irányítva a nyomás megszűnik. A felső csavar kilazításával az átfejtő magasságát tudjuk beállítani. A Chart YDS-20L típusú, 20 literes kannába behelyezve az átfejtőt kb. 11-12 cm magasságban kell lennie a karnak a tartály szájától mérve, ekkor van jó magasságban.

Az adszorpciós mintaszállító kannákat is a kézi pumpával célszerű feltölteni. Első töltéskor kis adagokban, fokozatosan hűtjük le a kannát. Utántöltéskor annyit töltünk bele, hogy a kanna 7,2-7,7 kg között legyen (használati utasítás szintén a fiókban). 7,7 kg-val kb. 2 hetet bír ki a kanna, míg 7,2 kg-val kb. 1 hetet, de érdemes mindig inkább 7,7 kg-ra feltölteni. 7,7 kg-nál ne töltsünk bele többet, mert telítődik az adszorbens réteg és nem lesz képes felszívni a folyadékot, ami balesetet okozhat a mintagyűjtés, szállítás során. Utántöltés során 1 perc alatt, 5-7 pumpálással kb. 1 kg nitrogén kerül átfejtésre (gyakran 0,7 kg-t kell hetente átfejteni a szállítókannákba, ezt 45 mp alatt, 4-5 pumpálással lehet megvalósítani).

A folyékony nitrogén munkavédelmi leírását „**A cseppfolyós nitrogén szállításának, tárolásának, átfejtésének rendje**” című SE-BIOINFO-ONKOBANK-MU-02 munkautasítás szabályozza. A tevékenységben érintett munkatársaknak oktatásban kell részesülniük. Az oktatást a Biztonságtechnikai Igazgatóság által jóváhagyott, egy, a Bioinformatika Tanszéken dolgozó munkatárs hajthatja végre. Az oktatás tényét dátummal és aláírással a SE-BIOINFO-ONKOBANK-MU-02-A2 „Folyékony

nitrogén oktatási napló”-ban szükséges rögzíteni, az eredeti példányt lefűzve a Tanszéki titkárságon kell megőrizni.

A tartályokat a Kriomol Kft. forgalmazza, probléma, kérdés esetén hozzájuk lehet fordulni (Molnár Lajos +36-20-319-6098). Tájékoztató füzet a feltöltésről a labor fiókjában található.

7.3. Munkavédelmi eszközök használata

Az egyéni védőeszközök listáját „A cseppfolyós nitrogén szállításának, tárolásának, átfejtésének rendje” című SE-BIOINFO-ONKOBANK-MU-02 munkautasítás,- a felhasználó személyek listáját pedig a „Védőeszköz nyilvántartó lap” c. SE-BIOINFO-ONKOBANK-MU-02-A1 munkautasítás tartalmazza. A védőkesztyű, az arcvédő pajzs, továbbá a védőkötény különösebb ismertetést nem igényel, azonban a nitrogén szint monitorozására, légzésvédelemre szolgáló O2 detektor igen:

WatchGas PDM+ O2 fenntartható egygázos detektor:

Üzembe helyezés időpontja: 2023. 01. 10.

Élettartam: 24 hónap (lejár: 2025. január, ekkor akkumulátor és szenzor csere kell)

A PDM+ fenntartható egygázos detektort az oxigénhiány és a környezeti levegő mérgező gáz jelenlétének mérésére fejlesztették ki. LED fényjelzéssel, rezgéssel és hangjelzéssel riasztást ad ki, ha a veszélyes gázkoncentráció meghaladja a riasztási alapértéket. A használatot követően a műszer kikapcsolható. Rendszeresen ellenőrizni kell az érzékelő reakcióját a riasztási alapértéket meghaladó gázkoncentráció segítségével. Az ellenőrzés tényét a „Karbantartási napló”-ban (SE-BIOINFO-ONKOBANK-MU-01-M6) kell rögzíteni. A detektorokat puha törlőkendővel óvatosan tisztítsuk és ne használjunk vegyszereket, továbbá ne dörzsöljük száraz ruhával, kerüljük a műszer rázkódását és leejtését. Kerüljük a poros, koszos közegben történő használatát. Kerüljük a gomb gyakori, indokolatlan nyomkodását, illetve kerüljük a gyakori, riasztást kiváltó műveleteket, vagy a riasztási állapot tartós fenntartását. (Normál használat: Naponta egyszer és legfeljebb 2 min).

Bekapcsolás: gomb megnyomása addig, amíg visszaszámol (10 mp). Ezalatt egy önellenőrzést végez el (önteszt). Amennyiben megjelenik a „20.9 %vol” érték és az akkumulátor ikonja, a készülék működőképes.

Két szintnél kezd riasztani a műszer: ha 19v/v% alá vagy, ha 23 v/v% fölé emelkedik az O2 szint.

Gáz	O ₂
Alacsony riasztási szint	19%
Magas riasztási szint	23%

A detektoron kétféle kalibrálást kell elvégezni:

1) frisslevegő kalibrálás:

- minden hónapban 1x kell
- „Karbantartási napló”-ban vezetni

- szabad, friss levegőn, veszélyes gázoktól mentes helyen végezzük úgy, hogy szennyeződések ne blokkolják a detektort
- a kalibrálás folyamatának leírása megtalálható a „Műszerdosszié” mappában a készülék használati útmutatójának 5.1. pontja alatt

2) normál gáz kalibrálás:

- fél évente 1x kell (2023. januárjától számítva)
- a készülék kijelzi hány nap van hátra a következő kalibrálás elvégzéséig
- Nesler Kft. végzi el (14 000 Ft+ÁFA) 2 munkanapos határidővel

8. AZ ONKOBANK MŰKÖDÉSE

Az Onkobank Laboratóriumán kívüli működése minden résztvevő Klinikán és Intézetben egyedi Munkautasításban szabályozódik az eltérő adottságok és lehetőségek miatt. Ide tartozik a betegtájékoztatás, a mintavétel, mintaszállítás, patológiai feldolgozás. Alább az általános munkafolyamat leírása található, ami kismértékben eltérhet Klinikánként, Intézetenként, akik számára külön munkautasítás érhető el.

8.1 Előkészítés

Minden egyes, daganatos megbetegedéshez vagy kontroll minta vételéhez kapcsolódóan igény esetén az Onkobank biztosítja:

- A beteggel aláíratandó Betegtájékoztatót és Betegbeleegyező nyilatkozatot
- A minták gyűjtésére alkalmas vérvételi csöveket
- Fagyasztócsöveket

8.2 Tájékoztatás

A betegek korra és nemre való tekintet nélkül bevonhatók a mintagyűjtésbe. Beválasztható minden olyan, daganatos megbetegedésben szenvedő (beteg csoport) vagy ismertén daganatos megbetegedésben nem szenvedő egyén (kontroll csoport), aki a résztvevő intézetekben járó- vagy fekvőbeteg ellátásban részesül, és ő vagy törvényes képviselője megismeri a Betegtájékoztatóban foglaltakat, majd aláírja a Betegbeleegyező nyilatkozatot, továbbá elektív műtétre előjegyzett és a mintavétel hétköznap 8-15 óra között történik. Az I. Sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet 15 óráig, a Patológiai, Igazságügyi és Biztosítási Orvostani Intézet 14 óráig fogadja a mintákat.

A mintagyűjtést irányító orvos megállapítja, hogy a járó- illetve fekvőbeteg alkalmas-e a mintavételezésre, azaz a fenti kritériumoknak megfelel. A beteget szóban tájékoztatja az Onkobank célkitűzéseiről, a mintavételről és a beteget megillető jogokról, ezt követően a beteg aláírásával igazolja, hogy elolvasta és ismeri a Betegtájékoztatóban foglaltakat. A Betegbeleegyező nyilatkozat aláírásával a beteg (vagy törvényes képviselője) és a tájékoztatást végző orvos igazolja a mintagyűjtéshez és tároláshoz való hozzájárulást. Kiskorú- vagy cselekvőképességében korlátolt személy esetében a tájékoztatást és a beleegyező nyilatkozat aláírását a szülő/törvényes képviselő felé szükséges irányozni. Amennyiben a beteg vagy törvényes képviselője olvasni nem tud, a beteg (vagy törvényes képviselőjének) aláírásától el lehet tekinteni, ilyenkor két független tanú írásos nyilatkozata is elégséges. Hasonlóképpen kell eljárni, ha a beteg - állapotából kifolyólag - nem tud aláírni és nincs jelen (vagy nem ismert) törvényes képviselője, de szóbeli beleegyezését adja a kutatásban való részvételhez.

A beleegyező nyilatkozaton szerepelnie kell a tájékoztatást adó szakember nevének, beosztásának és aláírásának (orvosi pecsétjének), a beteg nevének, TAJ-számának, születési dátumának és helyének, lakcímének, a beteg aláírásának és az aláírás dátumának is. A tájékoztatást és a beleegyezést külön íven kell írásba foglalni. A beleegyező nyilatkozat és az írásos tájékoztató egy-egy eredeti példánya az Onkobankba kerül, egy-egy eredeti példányát pedig a vizsgálati alanyoknak kell átadni. Ezen okból kifolyólag, a biológiai mintával együtt az aláírt Betegtájékoztató és Betegbeleegyező nyilatkozatoknak is meg kell érkezniük a Semmelweis Onkobankba. Ezt követően a Betegtájékoztató és Betegbeleegyező nyilatkozat szkennelt formátumát az adatbázisba (REDCap) fel kell tölteni és az eredeti nyilatkozatokat a Bioinformatika Tanszék titkárságán kell tárolni.

A jogszabályoknak megfelelően, a beteg bármikor visszavonhatja a hozzájárulását, ilyen esetben a mintáit, regisztrációját és adatait meg kell semmisíteni. A beleegyezés visszavonásáról a beteg írásban, indoklás nélkül nyilatkozhat, amelyhez rendelkezésre áll a „Betegbeleegyező nyilatkozat visszavonása” melléklet. A visszavonó nyilatkozatot a betegnek az aktuális osztályos orvostól kell igényelnie, aki értesíti az Onkobank munkatársát a +36-30-016-4020 telefonszámon hétköznap 8-15 óra között. Ezt követően a Semmelweis Onkobank munkatársai a beteg mintáját és a hozzá tartozó adatokat haladéktalanul, de legkésőbb 7 napon belül megsemmisítik.

8.3 Mintagyűjtés, mintaátvétel

Mintagyűjtés alatt törekszünk arra, hogy az Onkobank munkájához kapcsolódó résztvevők a lehető leggyorsabban tudjanak összedolgozni.

a. Vérminta

A beteg dönthet úgy, hogy a rutindiagnosztikai vizsgálatokból visszamaradt - megsemmisítésre váró - vérmintáját rendelkezésünkre bocsátja és/vagy dönthet úgy, hogy vérvétel során számunkra is szolgáltat mintát. Ekkor a nővér/asszisztens:

- Dátummal, névvel, TAJ számmal ellátja a vérvételi csöve(ke)t.
- 1 db EDTA-s (lila kupakos) csőbe levesz min. 5 ml vért.
- 1 db natív/ géles (piros/ narancssárga kupakos) csőbe levesz min. 5 ml vért. A véralvadás elősegítésének érdekében 15-30 percig szobahőn állni hagyja.
- A szállításig hűtve, állítva tárolja a csöveket.
- Értesíti az Onkobank munkatársát, hogy 1 napon belül a laboratóriumba kerülhessen a minta.
- A minták átvételéről Átvételi elismervényt kell vezetni (ld. „Átvételi elismervény_vér” melléklet), amely tartalmazza a beteg adatait (név, TAJ szám), a vérvétel idejét, a vérvételi cső típusát, átadott minták számát, a minta átadók és átvevők nevét, aláírásukat és a dátumot.

b. Frissen fagyasztott szövetminta

A sebészeti műtét során eltávolított tumor egy darabja csak és kizárólag akkor bocsátható a rendelkezésünkre, ha a diagnózis felállítását nem kockáztatja.

A frissen kimetszett tumor Onkobankba való érkezése alapvetően két módon valósulhat meg:

1. a mintavétel (műtét) helyszínén adszorpciós szállítókannában való azonnali fagyasztás (tömeges mintagyűjtés):

Az Onkobank által biztosított adszorpciós szállítókannában a porózus szerkezetű abszorbens anyag megköti a folyékony nitrogént, így a kiömlés veszélye nem áll fenn, azonban a tartály szája és a kiemelhető kaniszter **EXTRÉM HIDEG** hőmérsékletű (-196 °C), hozzáérni a fagyásveszély miatt **TILOS!** A fagyasztócsöveket betegenként egy tasakba, majd a kiemelhető kaniszterbe kell helyezni. A kanisztart először emeljük ki a tartályból, majd hosszú csipesszel, óvatosan, lassan engedjük bele a csövet. A mintákat tartalmazó csöveket **TILOS** beleejteni/ dobni a kaniszterekbe, mert megrepedhetnek, ezáltal a nitrogén be tud szivárogni, ami balesetet okozhat. A szövetmintának a műtétől számított 30-60 percen belül, maximum 2 órán belül a folyékony nitrogénes adszorpciós szállítókannába kell kerülnie. Az Onkobank asszisztense előre egyeztetett időpontban átveszi a szövetmintákat tartalmazó kannát és az Onkobank laboratóriumába szállítja, ahol a kriocsövek végleges helyükre kerülnek a folyékony nitrogénes tárolóban. Az átvételt minden esetben az „Átvételi elismervény_szövet” dokumentumon kell rögzíteni, amely tartalmazza a betegek

nevét, TAJ-számát, kriocsovok sorszámát, a minta átadók és átvevők nevét, aláírásukat, a dátumot, a műtét idejét, a fagyasztás idejét és az átadott minták számát.

2. a műtéti úton eltávolított szövet begyűjtése a patológia számára, majd egy órán belüli fagyasztás az Onkobankban (egyenkénti mintagyűjtés):

Ha nincs lehetőség adszorpciós kannába helyezni a mintát, az Onkobank munkatársa a lehető legrövidebb időn belül hűtve ($-4-8^{\circ}\text{C}$) - és nem fagyasztva! - az Onkobank laboratóriumába szállítja. Ebben az esetben, az orvossal egyeztetett műtéti terv alapján a megfelelő időpontban megjelenik a műtő előtt, ahol egy asszisztens a szervet, szövetet vákuumcsomagolva vagy szárazon, fixálatlanul átadja az Onkobank munkatársának részére, aki azt 15 percen belül a Patológiai Intézet szövettani laborjába szállítja hűtőtáskában. A mintának a műtéttől (szerv eltávolításától) számított 1 órán belül meg kell érkeznie az Onkobank laboratóriumába. A szövet és/vagy vérminta átvételéről Átvételi elismervényt írnak alá. Az Onkobank munkatársa ezen felül az orvos által rögzített Patológiai vizsgálatkérő adatlapot is magával viszi, amely a szövet és a beteg beazonosítását, dátumot és a kért vizsgálatok leírását tartalmazza. Mielőtt a Patológiára indul, telefonon értesíti a megfelelő kontakt személyt, aki a vizsgálatot és a kimetszést végzi.

A szövettani laborban a patológus szakorvos megvizsgálja a rezekátumot, orientálja a mintát és a rezekciós széleket megfesti, rávág a preparátumra, szükség esetén lenyomati kenetet készít vagy fagyasztásos vizsgálatra szövetet vág ki. Ezt követően formalinba helyezi a rezekátumot. A rezekátum formalinba helyezése előtt, amennyiben ez nem veszélyezteti a patológiai feldolgozást és a végleges diagnózist, akkor egy vagy több "borsónyi", azaz 1-3 grammos kb $0,5\text{ cm}^3$ nagyságú szövetet az Onkobank számára elkülönít, steril csipesszel normál és tumorszövetből is. Azokat az Onkobank által biztosított QR-kóddal és sorszámmal ellátott fagyasztócsőbe helyezi steril csipesszel. Távozás előtt kitölti és aláírja az Átvételi elismervény dokumentumot.

c. FFPE minta

Amennyiben az azonnali mintakimetszés és fagyasztás nem lehetséges, a hagyományos munkafolyamat után kerül hozzánk a minta: a műtét után a patológiai laboratórium dolgozza föl és konzerválja a mintát. A paraffin-blokkból 4×8 db, 5-10 μm -es szöveti metszetet elkülönítenek az Onkobank számára. Az eredeti paraffin-blokk a Patológiai Intézetben marad, így a kötelező 30 éves megőrzés és a betegek biztonsága nem sérül. A Semmelweis Onkobank munkatársa veszi át a mintákat a szövettani feldolgozást végző asszisztentstől, előzetes megbeszélés alapján.

A Semmelweis Onkobank munkanapokon, heti 40 órában üzemel. Értesítést követően, a klinikával/ laboratóriummal előre egyeztetett időpontban a laboratóriumi munkatárs veszi át a mintát. A átadás-átvétel tényét minden esetben dokumentálni kell az Átvételi elismervényen.

8.4 Mintatárolás, - feldolgozás

A minták tárolása a II. Sz. Gyermekgyógyászati Klinika területén lévő Semmelweis Onkobank helyiségében történik (8. épület alagsora), ahol a -20°C -os és -80°C -os hűtők, a gőzfázisú folyékony nitrogén tárolók, a QR- és vonalkódleolvasók (szkenner), illetve a számítógép található. A Semmelweis Onkobank helyisége kulccsal zárható, illetéktelen személyek számára a belépés nem engedélyezett. A helyiségbe való belépésre jogosult: az Onkobank vezetője, koordinátora, laboratóriumi orvosa, laboratóriumi munkatársa, asszisztense és adatbázis-felelőse, továbbá az Onkobank vezetőjének engedélyével lehetséges. Kivétel a takarítást, eszközök szervizelését végzők felügyelet mellett.

A mélyhűtők állapotának megőrzéséért az Onkobank munkatársai felelősek, hiba észlelése esetén szerződött cég a javítást biztosítja. A -80°C -os mélyhűtő audiovizuális riasztóval és CO_2 back-up rendszerrel van ellátva. A folyékony nitrogén tároló folyadékszint- és hőmérséklet monitorozó rendszerrel van ellátva. A riasztó hangos sípolással jelez, ami a folyosón is hallható. Munkaidőn kívül az épület felügyeletét végző portaszolgálat észlelheti és az ajtón megadott telefonszámon értesíti az Onkobank munkatársát. Péntek délután kötelezően ellenőrizzük a folyadékszintet a tárolóban és szükség esetén újratöltjük. A nitrogén-rendelést úgy kell ütemezni, hogy mindig legyen tartalék folyékony nitrogén az Onkobankban.

A minta beérkezésekor minden beteg Onkobank azonosítót kap: egy jelszóval védett Excel táblázatban és papír alapon tároljuk a feloldó kulcsot. Az Onkobank azonosítók AA001-től kezdődően folytatólagosan kerülnek kiadásra, a beteg TAJ-számát és nevét rendeljük hozzá. A papír alapú táblázatot a tanszéki titkárságon őrizzük, amely a beteg nevét, TAJ-számát és Onkobank azonosítóját tartalmazza. A feloldókulcshoz az Onkobank vezetője, a fagyasztást és kód kiadást végző laboratóriumi munkatárs és a REDCap adatbázis kitöltésével megbízott orvostanhallgatók jogosultak hozzáférni.

a. Vérminta

EDTA (lila kupakos) vérvételi csőben érkezett vérmintákat legfeljebb 3 napon belül, lehetőség szerint 1 napon belül fel kell dolgozni, addig 4°C -on kell tárolni. Az ilyen típusú cső antikoagulánssal van bevonva, így plazma izolálására alkalmas.

Előkészületek:

- Centrifuga behűtése 4°C-ra
- „Fém jég” feliratú doboz elővétele a -80°C-ról és belehelyezni (1 mintához elegendő):
 - 1 db 3,5 ml-s QR-kódos csövet
 - 5 db 0,7 ml-s QR-kódos csövet
 - 1 db 15 ml-s Falcon csövet, hogy lehűljenek
- Ellenőrizni a Qiagen kitben a Buffer RLT frissességét. Ha nincs bekeverve vagy lejárt, akkor: 1 ml Buffer RLT-hez kell 10 µl β-merkaptoetanol (1 hónapig eláll)

Feldolgozás:

- 4-6x lassan, óvatosan megforgatjuk a vérvételi csövet.

i. felhasználás:

- 500 µl teljes vér pipettázása 1 db 1,3 ml RNAlater-t tartalmazó új 3,5 ml-s QR-kóddal ellátott csőbe. Alaposan szuszpendáljuk, buborék ne keletkezzen. 1-2x lassan forgassuk meg a QR-kódos csövet.
- egy éjszakán át 4°C-on tároljuk, hogy az RNAlater teljesen átjárja az oldatot és ne keletkezzenek jégkristályok, amik a sejteket károsítanák. Másnap a csövet a -80°C-as hűtőbe helyezzük.

ii. felhasználás:

- 500 µl teljes vér pipettázása egy 0,7 ml-s kriocsőbe, natívan, majd -80°C-on tároljuk

iii. felhasználás:

Protokoll: QIAamp RNA Blood Mini Kit HB-0322-004 (Cat. No.: 52304)

- 1 ml vér feloldása 5 ml Buffer EL-ben egy 15 ml-s Falcon csőben, alapos szuszpendálás.
- 10-15 perc inkubálás jégen. Vortex-szel 2x átkeverni inkubálás közben. Felhős, zavaros oldat inkubálás alatt átlátszó lesz, ami az eritrociták lízisét jelenti. Ha kell, 20 percre növelhető az inkubálási idő.
- 400 g, 10 min, 4°C, felülúszó teljes eltávolítása, a pelletnek fehér kell lennie. Ha piros, 5-10 perc további inkubálás jégen, majd folytassuk a következő lépéssel.
- 2 ml Buffer EL hozzáadása a pellethez, rövid vortex.
- 400 g, 10 min, 4°C, felülúszó teljes eltávolítása (ha marad felülúszó, az zavarhatja a lízist és RNS kötődést az oszlophoz)
- 350 µl Buffer RLT (β-merkaptotetanollal kiegészített!) a pellethez, majd szuszpendálni/ vortexelni.
- Tárolás -80°C-on

iv. felhasználás:

- a maradék vér centrifugálása 4°C, 2000 g, 10 perc
 - centrifugálás után 3 réteget kapunk: legalsó frakcióban vannak a vörösvérsejtek, középső, vékony rétegben a vérlemezkék és a fehérvérsejtek ("buffy coat"), felül pedig a plazma
- a) 3 x 500 µl plazma szétosztása QR-kóddal ellátott 0,7 ml-es kriocsővekbe, a maradék plazmát Pasteur-pipettával lassan szívjuk le (egy hulladékcsőbe) úgy, hogy a vörösvértestek rétege fölött kb. 1 mm maradjon
 - b) buffy coat réteget is óvatosan elkülönítjük (kb. 100-500 µl szokott lenni) egy másik csőbe ugyanazzal a Pasteur-pipettával: a cső széléről kezdve körkörösén haladva, csiga-szerűen, lassan felszívjuk a buffy coat-ot

- c) (A centrifugálási időt ne növeljük, mert ezzel a vérlemezkék szétesését idézhetjük elő, ami nem tanácsos, hiszen a makromolekulák szabaddá válnak. Még egy centrifugálás lépés beiktatásával azonban koncentrálhatjuk a buffy coat réteget pl. 2000 g 10 min/ 1000 g 10 min/ 2000 g 5 min. Ezt azonban értelemszerűen még a plazma leszívása előtt végezzük el, ha látjuk, hogy nagyon kevés buffy van.)

A mintatároló csöveken csak az adott mintához tartozó QR-kód és sorszám látható, így a kódolt mintatárolás biztosított.

b. Frissen fagyasztott szövetminta

A 8.3. b) pontban leírtak szerint a szövetminták két úton kerülhetnek az Onkobankba:

1. *a mintavétel (műtét) helyszínén adszorpciós szállítókannában való azonnali fagyasztás (tömeges mintagyűjtés):*

A szállítókannákat hetente egyszer az Onkobank asszisztense a laboratóriumba szállítja, ekkor az alábbiak szerint kell eljárni:

- d) Betegtájékoztató, Betegbeleegyező, Szövet,- valamint a Vérátvételi elismervények ellenőrzése (minden adat megvan-e). A Szövetátvételi elismervényen szerepelnie kell a fagyasztás pontos időpontjának is (mivel korábban a patológus/ mintagyűjtő személy a megvizsgált mintát azonnal folyékony nitrogén szállítókannába tette). A Szövetátvételi papíron a megnézni a beérkezett mintaszámokat, majd a kannából való kivétel során összeegyeztetni a papíron lévő számot a kannában lévő csövek számával, hogy biztosan megvan-e minden (nem-e maradt a szállítókannában cső).
- e) Jelszóval védett, betegazonosításra alkalmas excel táblázat megnyitása: beteg nevének, TAJ-számának rögzítése egy új Onkobank azonosító mellé. Ezeket az adatokat papír alapon is vezetni kell.
- f) ! A szállítókannából való kivételkor a csövek gyakran szétpattannak, elrepülnek. A csövek hirtelen becsapódását, ütését kerülni kell. Szintén kerüljük a hirtelen hőmérsékletváltozásnak való kitételt (pl. szobahőmérsékletű tárgyakkal való érintkezés vagy közvetlenül megfogni a csöveket a kezünkkel). Az alábbi lépéseket kötelező betartani a balesetek megelőzése érdekében:
- a. Léghőszigetelés bekapcsolása 19°C-ra
 - b. „Fém jég” feliratú doboz kivétele a -80°C-as fagyasztóból és fém csipesz elővétele (állítsuk bele a fém jég dobozba)
 - c. Arcvédő pajzs, munkavédelmi kesztyű felvétele

- d. Szállítókannából kaniszter kivétele: a kanisztert tartsuk az arcunktól elfelé, távol, majd óvatosan, lassan gurítsuk ki belőle a csöveket a fém jégre. Ezalatt a fém jég dobozának a tetejét tartsuk a csövek fölött, hogy ha elpattannak, akkor ne repüljenek el, a tető fogja meg őket. A tetőt tegyük rá a dobozra úgy, hogy valamennyi rés maradjon (de ne közvetlenül a csövek fölött). Vagyis ne csukjuk rá a dobozra a tetőt teljesen. Várjunk 1-2 percet, majd vegyük ki a rack-et a folyékony nitrogén tárolóból, amibe el szeretnénk rakni. Nyissuk ki a rack-et, vegyük le a tetejét. A „fém jég” doboz tetejét is nyissuk fel óvatosan (a tetőt érdemes folyamatosan magunk előtt tartani az egyik kézzel), majd fém csipesszel fogjuk meg az egyik cső tetejét és helyezzük gyorsan a rack-be és folytassuk minden csővel a leírt módon. (NE fogjuk meg kézzel, mert a kéz melegétől szétpattanhat. Akár a rack-be bezárva is szétpattanhat, ekkor óvatosan nyissuk ki és nézzük meg, hogy eltört-e a cső. Ha igen, akkor új csőbe kell átrakni és a változást rögzíteni az átvételi elismervényen.).
- g) A rack-et az új mintákkal szkenneljük be a SampleWarehouse szoftverrel (*szoftver leírása a „Mintamenedzsment szoftverek használati utasítása” dokumentumban*):
- a. A kivett fagyos rack-kel kicsit várni kell (kesztyűvel dörzsölhetjük is), hogy a sárga biztonsági zár nyitható legyen. Belehelyezzük az új mintákat, a kriocsövek alját absz. alkohollal letöröljük, hogy a kicsapódó pára ne zavarja a leolvasást. A scannerre helyezzük a rack-et: „Tömeges beolvasás megkezdése”. Ha valamelyik csövet nem tudja leolvasni (piros jelzés), újra le kell törölni alkohollal és „Újbóli beolvasás” (ne mentsük!). Ha mindegyik csövet jól leolvasta (zöld jelzés), kattintsunk a „Mentés”-re, ezzel létrehozza az új mintákat.
 - b. Rack pozicionálása: meg kell adni, hogy hová helyeztük el a rack-et: melyik állvány melyik polcára
 - i. 1. Sárga állvány: Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika
 - ii. 2. Kék állvány: Urológiai Klinika
 - iii. 3. Zöld állvány: Sebészeti, Transzplantációs és Gasztroenterológiai Klinika
 - iv. 4. Fekete állvány: Bőr-, Nemikórtani és Bőronkológiai Klinika
 - v. 5. Piros állvány:
 - vi. 6. Sárga-zöld csíkos állvány:
 - c. Minta tulajdonságok megadása:
 - i. Rack ID-re kattintva felugrik a rack képe, a mintát kiválasztva kitölthetők az adatok vagy
 - ii. a Minta ID-re duplán kattintva Szerkesztés pontban vagy

- iii. szűrve pl. dátum alapján: Tömeges tulajdonság megadása
 - d. Minta tulajdonságok és pozíció RedCap exportja: minden listázott mintát exportál, ezért szűrni kell az exportálni kívánt mintákra. A letöltött CSV file a REDCap Data Import Tool menüpontban feltölthető (kiválasztani: Record Format Columns, Format for date and datetime values: YYYY-MM-DD; Ignore blank values, Comma). *(Szoftver leírása a „Mintamenedzsment szoftverek használati utasítása” dokumentumban.)*
 - e. Az adatbázisban egy beteghez tartozó minden minta minden adata összehangoltan lesz tárolva. A csövek, mintatartó dobozok így évek múltán is, másodpercek alatt beazonosíthatók, megőrizve a minták intaktságát, minőségét, lecsökkentve a fagyasztási-olvasztási ciklusok számát
2. *a műtéti úton eltávolított szövet begyűjtése a patológia számára, majd egy órán belüli fagyasztás az Onkobankban (egyenkénti mintagyűjtés):*
- A munkafolyamat megegyezik az előző pontban ismertettekkel, az alábbiaktól eltekintve:
 - Nem heti egyszer jönnek ömlesztve a minták, hanem a műtétet és patológiai vizsgálatot követően azonnal. A mintának a műtéttől számítva 1 órán belül meg kell érkeznie az Onkobankba.
 - A limitáló tényező az idő. Amíg az előző folyamatban lassan, óvatosan kellett dolgozni, várni néhány percet, hogy melegedjenek a csövek, addig itt sokkal gyorsabban kell végezni a folyamatokat, mivel itt nem fagyottan érkeznek a minták.
 - A korábban említett óvintézkedések éppen ezért nem szükségesek, mivel hűtőtáskában, kb. -4°C -on érkeznek be a csövek, így nem kell félni a nyomáskülönbségek miatt szétdurranó csövektől.
 - A QR-kódosított csöveket kézzel is meg lehet fogni és elhelyezni a megfelelő rack-ben, majd a folyékony nitrogén tárolóban. Rack-et beszkenyelni, SampleWH-t, REDCap-et kitölteni a fent leírtak alapján.
 - A Szövetátvételi elismervényen töltsük ki a fagyasztás időpontját (amikor elhelyeztük a rack-et nitrogén tárolóban) és rögzítsük a fagyasztó személy nevét. Ha nincs feljegyezve a műtét időpontja, írjuk be azt is (körülbelül lehet becsülni a mintaátvétel/ patológiára/ Onkobankba való érkezés idejéből).

c. FFPE minta

A legstabilabb minták, amelyek mintafeldolgozás szempontjából harmadlagos prioritásúak, a patológiai laboratóriumtól készen kapott paraffin-blokkokból

lemetszett FFPE minták. Az Onkobank munkatársa az asszisztenssel előre egyeztetett időpontban átveszi a mintánként 4 db Eppendorf csövet, amelyben - a Mintavételi útmutatóban leírtak szerint - 8-8 db, 5-10 µm-es szöveti metszet található. Az átvételt minden esetben írásban rögzítik. Az Onkobank munkatársa gondoskodik a QR-kóddal és/vagy vonalkóddal ellátott csövek és mintatartó dobozok elhelyezéséről a laboratórium 4 °C-os hűtőszekrényében.

Az archivált szövetbankban a minták 30 évig történő megőrzését vállaljuk. Célunk azonban nem csupán a tárolás, hanem hogy a mintákat tudományos kutatásokhoz használjuk fel. Ez csak engedélyezett kutatási projekt keretében, a mintaadó írásos beleegyezésével lehetséges. A minta feldolgozása után megmaradt, tovább nem használható mintadarabot megsemmisítjük, veszélyes hulladékként kezeljük.

8.5 Adatrögzítés

A beteg egészségügyi (klinikai) adatainak gyűjtéséhez személyi adatokat (pl. név, TAJ-szám, lakcím) használunk fel a MedSol rendszerből. Ez természetesen csak a beteg írásos hozzájárulása után történhet meg (a Betegbeleegyző nyilatkozat aláírásával). A begyűjtött személyi- és egészségügyi adatokat a Semmelweis Onkobank arra megbízott munkatársai egy biztonságos adatbázisban rögzítik (REDCap - lásd később). A betegtájékoztatóban foglaltak szerint, a továbbiakban a mintaadó beteg személyi, egészségügyi adatait a hatályos adatvédelmi jogszabályok (1997. évi XLVII. törvény) maradéktalan betartása mellett kezeljük és használjuk fel kutatási célokra.

A Semmelweis Onkobank kutatási célból a következő egészségügyi (klinikai) adatokat gyűjti:

- nem, életkor
- epidemiológiai adatok (dohányzás, vírusfertőzés...)
- a vételezett minta vagy minták jellege (vér- vagy daganatból származó szövetminta)
- diagnózisok dátummal (betegség megnevezése vagy kontroll),
- patológiai diagnosztika, amennyiben releváns (szövettan, stage, grade, TNM)
- laboratóriumi és radiológiai diagnosztikai tesztek eredményei
- a kezelt daganatos megbetegedés ismert molekuláris, illetve sejtbiológiai jellemzői
- sebészeti, radiológiai és gyógyszeres kezelések
- utánkövetés (kontrollok ideje)
- relapszus-mentes és teljes túlélés hossza.

Az Onkobank munkatársai a beteg egészségügyi (klinikai) adatain felül a tárolt minták adatait (típus, fagyasztás ideje, stb.) a HIPAA,- GDPR,- FISMA,- és 21 CFR Part-11 megfelelésekkel rendelkező, National Institute of Health (NIH) által támogatott és kifejezetten hosszútávú, biztonságos, klinikai adatgyűjtésre fejlesztett REDCap (Research Electronic Data Capture) adatbázist használjuk. Az adatbázis kialakítása, működtetése, a rögzített adatok belső szerveren történő biztonságos tárolása, ellenőrzése az Onkobank adatbázis-felelősének (megbízott informatikus) a feladata. A REDCap-ben a betegek személyi adatai már nem találhatóak meg, mivel az Onkobank azonosítók szerint kódolva tároljuk az egészségügyi (klinikai) adatokat, valamint a minták adatait is.

A klinikai adatok összegyűjtése a megbízási szerződéssel alkalmazott orvostanhallgatók feladata. A MedSol rendszerből a releváns adatokat a REDCap adatbázisba vezetik át.

Minőségbiztosítási célból az adatok integritását a laboratórium orvosa ellenőrzi függetlenül, a MedSol és a REDCap adatbázis összehasonlításával.

A REDCap adatbázisba történő belépésre jogosultak:

- Semmelweis Onkobank tudományos irányítója
- Semmelweis Onkobank koordinátora, laboratórium vezetője
- Semmelweis Onkobank adatbázis felelőse
- Semmelweis Onkobank laboratóriumi orvosa
- Adatgyűjtéssel megbízott orvostanhallgatók

Az adatbázis-felelős (admin) a felhasználói jogosultságokat beállítva tudja szabályozni, hogy melyik munkatárs milyen adatokat, funkciókat (pl. csak adatrögzítést vagy egész adatbázist) érhet el a REDCap felületén, biztosítva az adatok konzisztenciáját és biztonságát.

Az adatbázisból adatok kigyűjtésére, exportálására a Semmelweis Onkobank tudományos irányítója, a laboratórium vezetője, az adatbázis felelőse és az Onkobank eseti, felhatalmazott munkatársa jogosult. A REDCap-ben a betegek az Onkobank azonosítóval kódoltan szerepelnek, így az adatok exportálása is személyazonosító adatok nélkül történik.

Az adatbázisban az egy beteghez tartozó összes információ megtalálható: az egyedi Onkobank azonosító, a mintatároló csövek sorszáma, tárolási pozíció, a minta típusa, klinikai adatok, utánkövetési adatok stb., amelyeket automatikus- illetve manuális módon vezetünk fel.

Tekintve, hogy a REDCap egy felettebb rugalmas, ugyanakkor biztonságos felület, hiánypótlásra, további információk bevitelére, dokumentumok feltöltésére, utánkövetésre a REDCap adatbázis kifejezetten alkalmas. Bármely, korábban rögzített információra szűrve vagy keresve, megkapjuk a hiányosan kitöltött adatlapot és pótolhatjuk, kiegészíthetjük a kérdőívet.

8.6 MINTÁK FELHASZNÁLÁSA

A Semmelweis Onkobankban tárolt minták és a hozzájuk tartozó adatok felhasználása tudományos kutatás céljából belső (klinikai), vagy külső kutatócsoportnak kizárólag a Semmelweis Onkobank vezetőjének engedélyével, hivatalosan engedélyezett kutatási projekt keretében a mintaadó írásos beleegyezésével lehetséges. A minták Onkobankból történő kivételére kizárólag a Semmelweis Onkobank tudományos irányítója jogosult, a minták átadása/átvétele írásos dokumentációban rögzítendő.

A Semmelweis Onkobankból kivett minták dokumentálása elektronikus adatbázisban történik, ahol rögzíteni kell a kivett minták számát, kódját, típusát; a kivétel idejét, célját, a kutatási projekt megnevezését, a felhasználást végző személyt/kutatócsoportot.

A Semmelweis Onkobank nem titkolt célja többek között, hogy a Semmelweis Egyetem Klinikáin egységes mintaizolálási,- feldolgozási protokollok legyenek érvényben, ezzel is segítve a minél inkább reprodukálható eredmények létrejöttét. Jelen beadvány összes dokumentumát, illetve a mintakezelési módszereket tartalmazó leírásokat közzétesszük a www.onkobank.com honlapon.

9. KÜLFÖLDI INTÉZMÉNYEK BEVONÁSA

A Semmelweis Onkobankkal szerződött külföldi partnerintézmény (Asklepios Kliniken) esetén a mintavétel- és szállítás egyéni módon, az adott klinika által kerül elrendezésre. A minták Magyarországra történő beérkezése után a fentebb részletezett folyamatoknak megfelelően zajlik a tárolás és feldolgozás.

A mintákat külföldre szállítani csak a Semmelweis Onkobank vezetőjének engedélyével, TUKÉB engedély birtokában lehetséges.

10. HIVATKOZÁSOK, FELHASZNÁLT IRODALOM

A Semmelweis Onkobank működése a hatályos jogszabályoknak megfelelően szabályozódik (a 2008. évi XXI. és a 1997. évi XLVII. törvény).

A Semmelweis Onkobank vezetése biztosítja, hogy munkatársai a minőségirányítási rendszeréhez tartozó dokumentumokat megismerjék, munkájuk során alkalmazzák és a fenti tevékenységeket az MSZ EN ISO 9001:2015 szabványoknak megfelelően végezzék el.

11. MELLÉKLETEK JEGYZÉKE

SE-BIOINFO-ONKOBANK-MU-01-M1 Átvételi elismervény_vér
SE-BIOINFO-ONKOBANK-MU-01-M2 Átvételi elismervény_szövet
SE-BIOINFO-ONKOBANK-MU-01-M3 Betegtájékoztató
SE-BIOINFO-ONKOBANK-MU-01-M4 Betegbeleegyező nyilatkozat
SE-BIOINFO-ONKOBANK-MU-01-M5 Betegbeleegyező nyilatkozat visszavonása
SE-BIOINFO-ONKOBANK-MU-01-M6 Karbantartási napló
SE-BIOINFO-ONKOBANK-MU-01-M7 Laboratóriumi protokollok
SE-BIOINFO-ONKOBANK-MU-01-M8 Laboratóriumi jegyzőkönyv
SE-BIOINFO-ONKOBANK-MU-01-M9 Mintamenedzsment szoftverek használati utasítása
SE-BIOINFO-ONKOBANK-MU-01-M10 Mintavételi útmutató
SE-BIOINFO-ONKOBANK-MU-01-M11 Résztevő személyek listája

12. MUNKAUTASÍTÁSOK LISTÁJA

SE-BIOINFO-ONKOBANK-MU-02 A cseppfolyós nitrogén szállításának, tárolásának, átfajtásának rendje
SE-BIOINFO-ONKOBANK-MU-03 Onkobank mintagyűjtés rendje az Urológiai Klinikán
SE-BIOINFO-ONKOBANK-MU-04 Onkobank mintagyűjtés rendje a Bőr-, Nemikórtani és Bőronkológiai Klinikán
SE-BIOINFO-ONKOBANK-MU-05 Onkobank mintagyűjtés rendje a Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézetben
SE-BIOINFO-ONKOBANK-MU-06 Onkobank mintagyűjtés rendje a Patológiai, Igazságügyi és Biztosítási Orvostani Intézetben
SE-BIOINFO-ONKOBANK-MU-07 Onkobank mintagyűjtés rendje a Sebészeti, Transzplantációs és Gasztroenterológiai Klinikán
SE-BIOINFO-ONKOBANK-MU-08 Onkobank mintagyűjtés rendje a Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikán