



**Институт за онкологију и радиологију Србије**

Пастерова 14, Београд, Србија

+381 11 2067 100

[iors@ncrc.ac.rs](mailto:iors@ncrc.ac.rs) [www.ncrc.ac.rs](http://www.ncrc.ac.rs)

01-1/2023/3532-2

15.12.2023.

**ПРОЦЕДУРА  
ИМУНОФЕНОТИПИЗАЦИЈЕ  
МЕТОДОМ ПРОТОЧНЕ  
ЦИТОМЕТРИЈЕ**

Ознака процедуре **П.ЕОЛ.03**

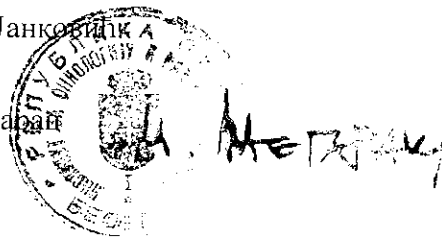
Верзија 02


Датум усвајања 15.12.2023.

Аутори процедуре  
Др сц мед Катарина Мирјачић Мартиновић  
Др сц. Невена Тишма Милетић  
Др сц Ана Вулетић  
Др сц Татјана Срдић Рајић

Носилац процедуре НС Др сц Радмила Јанковић

Процедуру одобрио Доц. др Милан Жегарац



 <b>ИНСТИТУТ ЗА ОНКОЛОГИЈУ И РАДИОЛОГИЈУ СРБИЈЕ</b>	Назив процедуре:		Ознака:
	Процедура имунофенотипизације методом проточне цитометрије		<b>П.ЕОЛ.03</b>
	Датум: 15.12.2023.	Верзија: 02	Страна: 2 од 5

## 1. ДЕФИНИЦИЈЕ И СКРАЋЕНИЦЕ

ИОРС: Институт за онкологију и радиологију Србије;

ОЕО: Одељење за експерименталну онкологију;

ВОК: Високо образовни кадар (лекари, дипл. биолози/молекуларни биолози, дипл. биохемичари)

## 2. ПРЕДМЕТ

Ова процедура одређује активности, носиоце активности и документацију за спровођење имунофенотипизације методом проточне цитометрије у ОЕО.

## 3. ПОДРУЧЈЕ ПРИМЕНЕ

Подручје примене је ОЕО.


## 4. ОДГОВОРНОСТИ

### Лекар специјалиста и остали ВОК:

- лекар специјалиста анализира медицинску документацију пацијента
- лекар специјалиста или остали ВОК уписује неопходне податке о пацијенту у Лабораторијски протокол
- лекар специјалиста одређује одговарајући панел антитела у складу са упутном дијагнозом
- ВОК врши сакупљање и анализу узорка
- лекар специјалиста описује резултат
- лекар специјалиста и остали ВОК врше контролу резултата лабораторијских анализа

### Лабораторијски техничар ОЕО је одговоран за:

- истовестност података на биолошком материјалу и интерном упуту/упуту из Дома здравља за лабораторијску дијагностику
- комплетност података на интерном упуту/упуту из Дома здравља за лабораторијску дијагностику
- уношење података из интерног упута/упута из Дома здравља за лабораторијску дијагностику у базу података ИОРС-а (Хелиант)
- пријем узорка
- проверу исправности биолошког материјала
- припрему узорка за анализу
- издавање резултата пацијенту
- текуће одржавање опреме

 <p><b>ИНСТИТУТ ЗА ОНКОЛОГИЈУ И РАДИОЛОГИЈУ СРБИЈЕ</b></p>	Назив процедуре:		Ознака:
	Процедура имунофенотипизације методом проточне цитометрије		<b>П.ЕОЛ.03</b>
	Датум: 15.12.2023.	Верзија: 02	Страна: 3 од 5

## 5. ОПИС ПРОЦЕДУРЕ

У току имунофенотипизације методом проточне цитометрије врше се следеће дијагностичке услуге:

Узорковање крви (венепункција)

Пријем, контрола квалитета узорка и припрема узорка за лабораторијска испитивања  
Имунофенотипизација интрацелуларних антигена директном методом и проточном цитометријом (по антигену)

Имунофенотипизација плазмамембранских ћелијских антигена директном методом и проточном цитометријом (по антигену)

Лизирање еритроцита узорка хипотоничним раствором на бази амонијум хлорида (по епрувети)

Мерење и анализа узорка методом вишепараметарске проточне цитометрије Тумачење имунофенотипског налаза и имунофенотипска дијагностика

Издвајање моноклеара из крви и костне сржи

### 5.1. Пријем узорака

Пријем узорака биолошког материјала врши се по Процедури пријема биолошког материјала.

У лабораторији у којој се врше анализе на проточном цитометру постоје 3 начина пријема узорака:

1. узорак за анализу се доноси са Одељења медикалне онкологије
2. узорак за анализу се доноси из Амбуланте (и Конзилијума),
3. техничар ОЕО вади крв пацијентима који су сами дошли на ОЕО, према Процедури за узорковање крви.

У случају да је узорак послат са Одељења медикалне онкологије или Амбуланте (Конзилијума), заједно са узорком медицинска сестра доноси упут из Дома здравља, интерни упут ИОРС-а и евентуално одговарајућу документацију, како би лекар био упознат са током болести и претходним лечењем пацијента.

У случају да је пацијент сам дошао на ОЕО он са собом носи упут из Дома здравља и интерни упут ИОРС-а.


Медицинска документација се не доноси само у случају да пацијент долази први пут у ИОРС.

Лабораторијски техничар ОЕО проверава комплетност документације пацијента (здравствену књижицу и упут из Дома здравља). Податке из интерног упута или књижице уноси у базу података ИОРС-а (Хелиант), као и датум трајања упута. Уписује у Протокол болесника неопходне податке о пацијенту и шифре извршених услуга.

Неопходни подаци о пацијенту (име и презиме, године, дијагноза, број историје пацијента, терапија, број леукоцита) уписује лекар специјалиста или остали ВОК у Лабораторијски протокол.

Одговорни лабораторијски техничар врши процедуру пријема узорака.

У лабораторији у којој се врше анализе на проточном цитометру могуће је анализирати следеће узорке:

 <b>ИНСТИТУТ ЗА ОНКОЛОГИЈУ И РАДИОЛОГИЈУ СРБИЈЕ</b>	Назив процедуре:		Ознака:
	Процедура имунофенотипизације методом проточне цитометрије		П.ЕОЛ.03
	Датум: 15.12.2023.	Верзија: 02	Страна: 4 од 5

1. пуну крв,
2. косну срж
3. цереброспиналну течност (ЦСТ)
4. ткивну биопсију (лимфни чвор)
5. пунктирани садржај цисте, плеуре, зглоба..

Сви узорци које је потребно анализирати морају да се обележе одмах након пријема, уписује се име и презиме пацијента, датум пријема узорка. У случају да је за једног пацијента потребно анализирати више узорака, на епруветама јасно мора бити обележено порекло узорка (да ли је у питању пуна крв, косна срж,...).

Као антикоагуланси могу да се користе ЕДТА, или натријум хепарин.

Узорак ткивне биопсије се доноси у изотоничном медијуму (ПБС, РПМИ, Ханкс медијум) одмах након узорковања и обично не захтева антикоагуланс.

У случају ЦСТ и пунктираног садржаја није потребан антикоагуланс.

По пријему узорка визуелно се контролише квалитет узорка. Гледа се да ли је дошло до стварања коагулума, хемоллизе узорка, оштећења епрувете, као и да ли су узорци који се доносе адекватно обележени.

Сви узорци се третирају као инфективни и са њима се поступа на начин предвиђен Процедуром за пријем биолошког материјала, како би се смањио ризик за лабораторијске раднике и особе које транспортују узорак.

Узорак се чува на собној температури до припреме за имунофенотипизацију. Необрађен узорак се може чувати на собној температури 24-48 часова, зависно од типа узорка и антикоагуланса.

Уколико је узорак пуна крв + ЕДТА, или косна срж + ЕДТА, узорак се мора обрадити у току 24 часа.

Уколико је узорак пуна крв + натријум хепарин, или косна срж + натријум хепарин, узорак се мора обрадити у току 48 часова. Уколико је узорак биопсија ткива, ЦСТ или пунктирани садржај анализу је неопходно што пре извршити.

## 5.2. Припрема узорка

Узорак за анализу припрема лабораторијски техничар.

Припрема узорка за имунофенотипизацију се изводи у складу са стандардним протоколима који се чувају у „Регистру протокола“ на видљивом месту у лабораторији у којој се врше анализе на проточном цитометру, према препоруци произвођача.

Приликом дијагностиковања хематолошких малигнитета користе се одговарајући панели моноклонских антитела (панел за акутне и хроничне леукемије и лимфоме, панел за мултипли мијелом) који се налазе у „Регистру протокола“.


Након припреме, узорак се анализира на проточном цитометру. Обрађен узорак може да се чува на 2-8°C, најдуже 24 часа.

## 5.3 Сакупљање узорка на апарату и анализа узорка

Сакупљање и анализу узорка врши ВОК.

Опис резултата врши лекар специјалиста.

Проточни цитометар се пушта у рад у складу са стандардним протоколом који се чува на видљивом месту у лабораторији у којој се врше анализе на проточном цитометру.

 <b>ИНСТИТУТ ЗА ОНКОЛОГИЈУ И РАДИОЛОГИЈУ СРБИЈЕ</b>	Назив процедуре:		Ознака:
	Процедура имунофенотипизације методом проточне цитометрије		<b>П.ЕОЛ.03</b>
	Датум: 15.12.2023.	Верзија: 02	Страна: 5 од 5

Калибрација проточног цитометра се изводи један пут недељно, или у случају да се апарат дуже време не користи, пре пуштања узорка, а све у складу са процедуром произвођача која се налази на видљивом месту у лабораторији.

Антитела, која се користе за обележавање узорака за имунофенотипизацију се чувају на 2-8°C до истека рока означеног на бочици, према упутству произвођача.

Након издавања резултата, обрађени узорци се чувају 24 часа на температури од 2-8°C, а необрађени узорци крви или косне сржи се чувају 24-48 часова, на собној температури, у случају да је потребна допунска анализа.

Након комплетно завршене анализе узорци необрађене и обрађене крви се одлажу према процедури за безбедан рад и заштиту на раду у ОЕО у за то предвиђене контејнере.

#### **5.4. Издавање резултата**

Након завршетка анализе, описан резултат, на коме стоји име лекара специјалисте и ВОК-а се штампа у два примерка. Један примерак лабораторијски техничар доставља ординирајућем лекару (факсимил на интерном упуту), или даје пацијенту уколико је пацијент сам дошао на ОЕО. Готови резултати се до издавања чувају у одређеним фасциклама под кључем у лабораторији где се врши пријем материјала и издавање резултата. Други примерак се чува под кључем у „Лабораторијском протоколу“ на предвиђеном месту у лабораторији у којој се врше анализе на проточном цитометру. Описани резултат се уноси у базу података (Хелиант).

Сирови подаци се чувају електронски у посебном фолдеру који је под шифром и доступан је само лекару специјалисти и осталом ВОК-у.

Чување резултата се врши у складу са Процедуром лабораторијске дијагностике у ОЕО. Главни лабораторијски техничар ОЕО прави месечни извештај о броју и врсти извршених анализа.

## **6. ДОКУМЕНТА И ЗАПИСИ КОЈИ СЕ ЧУВАЈУ**

- Формулари за резултате у е-форми
- Издати резултати у папирној форми
- Издати резултати у е-форми
- Књиге евиденције