

Primärprobenhandbuch

des

ALL-BFM Referenzlabors

Universitätsklinikum Schleswig-Holstein


Campus Kiel

Klinik für Kinderonkologie und -rheumatologie

(Kinder- und Jugendmedizin I)

Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. med. Gunnar Cario

Bearbeitet am: 01.11.2024 Alten, Julia	Geprüft am: 01.11.2024 von Grade, Christiane	Freigegeben am: 01.11.2024 Cario, Gunnar	Version: 003/11.2024	Seite: 1 von 12
---	---	---	-------------------------	--------------------

	ID: 361845	Primärprobenhandbuch	UKSH, Campus Kiel ALL-BFM Referenzlabor Klinik für Kinderonkologie und -rheumatologie (Kinder- und Jugendmedizin I)
	Status: freigegeben		

Sehr geehrte Einsender*innen, auf den nachfolgenden Seiten möchten wir Ihnen wichtige Hinweise zur Entnahme und zum Versand von Proben für die in unserem Labor angebotene Diagnostik geben.

Sollten darüber hinaus weitere Fragen bestehen, nutzen Sie bitte die unten angegebenen Kontaktmöglichkeiten.

INHALTSVERZEICHNIS

1 DAS ALL-REFERENZLABOR STELLT SICH VOR4

2 GELTUNGSBEREICH UND ZUSTÄNDIGKEITEN4

3 KONTAKT5

3.1 Telefon5

3.2 Fax5

3.3 Email.....5

3.4 Beratungsdienstleistungen5

4 LABORÖFFNUNGSZEITEN.....5

4.1 Allgemeine Öffnungszeiten5

4.2 Probenannahme.....5

5 VERPACKUNG UND KENNZEICHNUNG6

5.1 Allgemeines.....6

6 PROBENBESCHRIFTUNG UND PROBENBEGLEITSCHNE.....7

6.1 Allgemeines.....7

6.2 Einwilligung des Patienten7

6.3 Anweisungen für Entnahmetätigkeiten7

6.4 Probenbeschriftung.....7

6.5 Probenbegleitscheine.....8

6.5.1 Allgemeines.....8

6.5.2 Externe Einsender8

6.5.3 Interne Einsender8

7 INFORMATIONEN ZUR GEWINNUNG VON UNTERSUCHUNGSMATERIAL.....8

7.1 Untersuchungsverfahren8

7.2 Peripheres Blut (PB), Knochenmark (KM), Liquor8

7.3 Aufteilung des gewonnenen Knochenmarkes für die Referenz-Diagnostik9

8 MATERIALVORGABEN9

8.1 Zytomorphologie (Diagnose/Responsebewertung)9

8.1.1 Besonderheiten (Stratifizierungsrelevante Zeitpunkte).....10

8.2 Molekulargenetik (Diagnose/Responsebewertung)10

8.2.1 Besonderheiten (Stratifizierungsrelevante Zeitpunkte).....10

8.3 Einflussgrößen und Störfaktoren11

8.4 Umgang mit fehlerhaften Proben11

8.5 Kosten11

8.6 Analysezeit11


8.6.1 Zytomorphologie.....11

8.6.2 Molekulargenetik (MRD).....11

8.6.2.1 Zeitpunkt der ersten Messung (MRD-HR-Monitoring).....12

8.6.2.2 Indikation für Folgemessungen.....12

Bearbeitet am: 01.11.2024	Geprüft am: 01.11.2024	Freigegeben am: 01.11.2024	Version:	Seite:
Alten, Julia	von Grade, Christiane	Cario, Gunnar	003/11.2024	2 von 12

	ID: 361845	Primärprobenhandbuch	UKSH, Campus Kiel ALL-BFM Referenzlabor Klinik für Kinderonkologie und -rheumatologie (Kinder- und Jugendmedizin I)
	Status: freigegeben		

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ALL	Akute Lymphoblastische Leukämie
B/HR	B-ALL im Hochrisikoarm
DNA	Desoxyribonuklein Säure (Erbinformation)
DNR	Daunorubicin
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure (Stabilisator in Blut/KM-Röhrchen)
HR	Hochrisiko
KM	Knochenmark
KMP	Knochenmarkpunktion
MRD	minimal residual disease; Minimale Resterkrankung
PB	peripheres Blut
RQ-PCR	real-time quantitative polymerase chain reaction; quantitative Echtzeit-PCR
T/HR	T-ALL im Hochrisikoarm
UKSH	Universitätsklinikum Schleswig-Holstein
VCR	Vincristin

HINWEISE UND ANMERKUNGEN

Aus Gründen der besseren Lesbarkeit wird bei Personenbezeichnungen und personenbezogenen Hauptwörtern in diesem Dokument die männliche Form verwendet. Entsprechende Begriffe gelten im Sinne der Gleichbehandlung grundsätzlich für alle Geschlechter. Die verkürzte Sprachform hat nur redaktionelle Gründe und beinhaltet keine Wertung.

Bearbeitet am: 01.11.2024 Alten, Julia	Geprüft am: 01.11.2024 von Grade, Christiane	Freigegeben am: 01.11.2024 Cario, Gunnar	Version: 003/11.2024	Seite: 3 von 12
---	---	---	-------------------------	--------------------

1 DAS ALL-REFERENZLABOR STELLT SICH VOR

Das ALL-BFM Referenzlabor (nachfolgend im Dokument auch Labor genannt) ist in die Organisationsstruktur des ALL-Kompetenzzentrums der Klinik für Kinderonkologie und -rheumatologie (Kinder- und Jugendmedizin I) am UKSH, Campus Kiel eingegliedert.

Es führt die zytomorphologische Referenzbeurteilung sowie die Target-Identifizierung (Immunglobulin- und T-Zell-Rezeptorgen-Rearrangements) sowie Messung der minimalen Resterkrankung (*Minimal Residual Disease* (MRD)) bei Kindern und Jugendlichen durch, die an einer Akuten Lymphoblastischen Leukämie (ALL) erkrankt sind.

Die Referenzbeurteilung wird für alle kideronkologischen Zentren in Deutschland angeboten, die Ihre Patienten im Rahmen der Konzepte der ALL-BFM-Studiengruppe behandeln (ca. 80% aller in Deutschland an ALL erkrankten Kinder und Jugendliche in ca. 50 Zentren). Dies entspricht ca. 430 Neuerkrankungen pro Jahr.


Diese Diagnostik ist Grundlage für die richtige Diagnosestellung, die Beurteilung des Ansprechens der Erkrankung im Verlauf der Therapie und für die risikoadaptierte Therapieanpassung (Therapiestratifizierung).

2 GELTUNGSBEREICH UND ZUSTÄNDIGKEITEN

Ärztliche Leitung	Prof. Dr. med. G. Cario,
Laborleitung	Dr. med. J. Alten
Laborbereichsleitung (Zytomorphologie)	Saskia Sonnenberg
Qualitätsmanagementbeauftragter	Dr. rer. nat. R. Koch, Dr. med. J. Alten
Datenbankmanagement	Dr. rer. nat. R. Koch

Patient*in	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Untersuchungsmaterial ▪ Einwilligungserklärung
Einsender/Klinik	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Identitätssicherung Patienten ▪ Probenabnahme inklusive adäquater Beschriftung der Probengefäße ▪ Vollständiges Ausfüllen der Materialbegleitscheine ▪ Probenvorbereitung für Transport per Express-Kurierdienst (24h) ▪ Versand der Proben gemäß der gültigen Bestimmungen
ALL-BFM Referenzlabor	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Erstellung von Präanalytik-Informationen ▪ Probenannahme inklusive Erfassung des eingehenden Materials ▪ Prüfung des Begleitscheines ▪ Prüfung der Eignung des Materials (Art, Menge) ▪ Probenaufarbeitung für die Analyse, Biobanking ▪ Durchführung der Analyse ▪ Laborbefund

Bearbeitet am: 01.11.2024 Alten, Julia	Geprüft am: 01.11.2024 von Grade, Christiane	Freigegeben am: 01.11.2024 Cario, Gunnar	Version: 003/11.2024	Seite: 4 von 12
---	---	---	-------------------------	--------------------

	ID: 361845	Primärprobenhandbuch	UKSH, Campus Kiel ALL-BFM Referenzlabor Klinik für Kinderonkologie und -rheumatologie (Kinder- und Jugendmedizin I)
	Status: freigegeben		

3 KONTAKT

3.1 Telefon

Labor (Zytomorphologie)	+49 (0) 431 500 20259
Labor (MRD)	+49 (0) 431 500 20260
Laborleitung (Dr. J. Alten)	+49 (0) 431 500 20113
Qualitätsmanagementbeauftragter (Dr. R. Koch, Dr. J. Alten)	+49 (0) 431 500 20113

3.2 Fax

Labor (Allgemein)	+49 (0) 431 500 20278
Referenzzentrum (Allgemein)	+49 (0) 431 500 20144

3.3 Email

Labor (MRD)	allbfm.mrdlab@uksh.de
Labor (Zytomorphologie)	Haema.Labor@uksh.de
Laborleitung	julia.alten@uksh.de
Qualitätsmanagementbeauftragter	robin.koch@uksh.de, julia.alten@uksh.de
ALL-BFM Kompetenzzentrum	allbfm.kinderonkologie.kiel@uksh.de

3.4 Beratungsdienstleistungen

Klinische Anfragen, Befundanfragen	allbfm.kinderonkologie.kiel@uksh.de
Technische Beratung zu Laborverfahren	julia.alten@uksh.de
Zeitkritische Anfragen	+49 (0) 431 500 20139 / 20113

4 LABORÖFFNUNGSZEITEN

4.1 Allgemeine Öffnungszeiten

Montag - Donnerstag	08:00 Uhr bis 15:00 Uhr
Freitag	08:00 Uhr bis 14:00 Uhr
Samstag (nur Probenaufarbeitung, keine Befundung)	Zustellung bis 9 Uhr erforderlich
Sonntag	Geschlossen

4.2 Probenannahme

Montag – Samstag	Bis 10 Uhr
<p>Versand der Proben per Express mit Zustellung am Folgetag (regulär Montag bis Freitag bis 10 Uhr, in Ausnahmefällen (z.B. Erstdiagnose, Tag 15, Tag 33, V.a. Rezidiv) Samstag bis 9 Uhr.</p> <p>An gesetzlichen und bundeslandspezifischen Feiertagen ist das Labor nicht besetzt. Die Probenannahme bzw. Materialaufarbeitung finden am nächsten Werktag (inklusive Samstag) statt.</p> <p>Bitte beachten Sie bundeslandspezifische Feiertage für Schleswig-Holstein:</p> <p>31.10. Reformationstag</p>	

Bearbeitet am: 01.11.2024 Alten, Julia	Geprüft am: 01.11.2024 von Grade, Christiane	Freigegeben am: 01.11.2024 Cario, Gunnar	Version: 003/11.2024	Seite: 5 von 12
---	---	---	-------------------------	--------------------

5 VERPACKUNG UND KENNZEICHNUNG

5.1 Allgemeines

1. Die Verpackung muss aus drei Bestandteilen bestehen (siehe Abbildung 1):
 - a. Wasserdichtes Primärgefäß (bei Flüssigproben)
 - b. Wasserdichte Sekundärverpackung
 - c. Primärgefäß und Sekundärverpackung müssen einem Innendruck von 95 kPa (0,95 bar) standhalten können.
2. Zwischen dem Primärgefäß und der Sekundärverpackung ist absorbierendes Material in ausreichender Menge einzusetzen, so dass ein während der Beförderung austretender oder auslaufender flüssiger Stoff nicht die Außenverpackung erreicht und nicht zu einer Beeinträchtigung der Unversehrtheit des Polstermaterials führt (siehe Abbildung 1).
3. Die starre Außenverpackung muss mit einem Aufdruck „BIOLOGISCHER STOFF, KATEGORIE B“ gekennzeichnet sein. Wenn die Außenverpackung das Etikett UN 3373 nicht aufweist, muss eine Etikettierung der Außenverpackung mit diesem Etikett vorgenommen werden (siehe Abbildung 2).
4. Wenn mehrere zerbrechliche Primärgefäße in eine einzige Sekundärverpackung eingesetzt werden, sind diese entweder einzeln eingewickelt oder so voneinander getrennt, dass eine gegenseitige Berührung verhindert wird.
5. Als Primärgefäß für Festproben dient ein Objektträger. Als Primärgefäß für Flüssigproben dient eine Monovette.
6. Der Versand von Primärmaterial (wie Vollblut, Objektträger) erfolgt grundsätzlich ungekühlt.
 - > Ausnahme: Kryokonservierte Zellen (Versand auf Trockeneis)
 1. Trockeneis ist zwischen Sekundärverpackung und Außenverpackung zu platzieren.
 2. Innenhalterungen in der Außenverpackung sorgen für eine Fixierung des Trockeneises oder der Sekundärverpackung, damit bei vollständiger Verflüchtigung des Eises die Sekundärverpackung kein Bewegungsspielraum erhält.
 3. Um Beschädigungen zu vermeiden, muss das ausgasende Trockeneis in der Lage sein, die Außenverpackung zu durchdringen, damit kein Überdruck innerhalb der Verpackung entsteht.
 4. Die Außenverpackung muss den Aufdruck „KOHLENDIOXID, FEST, ALS KÜHLMITTEL“ aufweisen und das Etikett UN 1845 an der Außenverpackung angebracht sein (siehe Abbildung 3).



Abbildung 1: Beispiel einer Probenverpackung der Kategorie B




Abbildung 2: UN-Nummer und Symbol für Kategorie B



Abbildung 3: UN-Nummer und Symbol für Trockeneis

Bearbeitet am: 01.11.2024 Alten, Julia	Geprüft am: 01.11.2024 von Grade, Christiane	Freigegeben am: 01.11.2024 Cario, Gunnar	Version: 003/11.2024	Seite: 6 von 12
---	---	---	-------------------------	--------------------

	ID: 361845	Primärprobenhandbuch	UKSH, Campus Kiel ALL-BFM Referenzlabor Klinik für Kinderonkologie und -rheumatologie (Kinder- und Jugendmedizin I)	
	Status: freigegeben			

6 PROBENBESCHRIFTUNG UND PROBENBEGLEITSCHNE

6.1 Allgemeines

Jede vom Laboratorium akzeptierte Anfrage wird als eine Vereinbarung angesehen. Eine Probenaufarbeitung und Analyse erfolgt nur bei Vorhandensein eines korrekt ausgefüllten Probenbegleitscheins, mündliche Anforderungen bedürfen einer nachfolgenden schriftlichen Bestätigung! Bei fehlender Identifizierbarkeit der Probe darf keine Aufarbeitung stattfinden (siehe 8.4). Die Bearbeitung von Proben, die den Annahmekriterien nicht entsprechen, wird zurückgestellt, bis eine Klärung mit dem Einsender erfolgen konnte. Generell wird versucht, gemeinsam mit dem Einsender eine für beide Seiten zufriedenstellende Lösung zu finden. Unabhängig von den Wünschen des Einsenders hat das Labor die Verpflichtung, nur die Proben anzunehmen, welche die Voraussetzung für die Ermittlung valider Analyseergebnisse erfüllen. Ist die Probe jedoch klinisch/zeitlich kritisch oder nicht neu beschaffbar, liegt es in der Verantwortung des Labors zu entscheiden, ob die beeinträchtigte Probe unter gewissen Einschränkungen - nach Abwägung des Risikos für die Patientensicherheit - bearbeitet werden kann. Auf Besonderheiten bei der Probenannahme, die möglicherweise die Validität der Ergebnisse beeinträchtigen könnten, wird im Befund hingewiesen.

6.2 Einwilligung des Patienten

Die Aufklärung, insbesondere für invasive Verfahren, wie z.B. Knochenmark- oder Liquor- oder Venenpunktionen, obliegt den Einsendern und eine (schriftliche) Einwilligung des Patienten wird beim Versand von Material zur Referenzbeurteilung als vorausgesetzt angesehen.

Studien- /Registerspezifische Einwilligungen finden Sie im ALL-BFM Portal 1.0 (nur für Teilnehmer zugänglich).

6.3 Anweisungen für Entnahmetätigkeiten

Zur Sicherstellung einer sicheren und klinisch angemessenen Probenentnahme und Lagerung vor der Präanalytik, müssen folgende Bedingungen von dem Einsender erfüllt werden:

- Verifizierung der Identität des Patienten
- Verifizierung der Erfüllung der präanalytischen Anforderungen, wie Probenentnahme zu einer vorgegebenen Zeit (z.B. Prednison-Response Tag 8) oder in einem vorgegebenen Zeitintervall (z.B. Tag 15 KMP)
- Verwendung adäquater Probenbehälter mit erforderlichen Antikoagulanzen (siehe 8)
- Eindeutige Kennzeichnung der Proben (siehe 6.4) und vollständige Angaben auf dem Probenbegleitschein (siehe 6.5)
- Beachtung der Empfehlung zur Aufteilung des Materials bzw. Reihenfolge des Versands (siehe 7.3)
- Sachgerechte Lagerungsbedingungen vor dem Versand (siehe 8)


Sichere Entsorgung der beim Entnahmeverfahren verwendeten Materialien

6.4 Probenbeschriftung

Die Probenbeschriftung (Etikett, handschriftlich, vorzugsweise mit einem Labormarker) sollte Folgendes ausweisen:

- Eindeutige Patientenidentifikation (min. Name, Geburtsdatum)
- Materialart (z.B. peripheres Blut, Knochenmark, Liquor)
- Evtl. verwendete Antikoagulantien (falls nicht auf dem Primärgefäß ersichtlich)
- Abnahmedatum
- Evtl. Abnahmestelle

Bearbeitet am: 01.11.2024	Geprüft am: 01.11.2024	Freigegeben am: 01.11.2024	Version:	Seite:
Alten, Julia	von Grade, Christiane	Cario, Gunnar	003/11.2024	7 von 12

	ID: 361845	Primärprobenhandbuch	UKSH, Campus Kiel ALL-BFM Referenzlabor Klinik für Kinderonkologie und -rheumatologie (Kinder- und Jugendmedizin I)
	Status: freigegeben		

6.5 Probenbegleitscheine

6.5.1 Allgemeines

Grundsätzlich gilt: Bitte Probenbegleitschein leserlich und vollständig ausfüllen, so dass eine eindeutige Rückführbarkeit des Patienten zur Anforderung und zur Probe gewährleistet ist! Es steht Ihnen im Dokument des Einsendescheins die Möglichkeit zur Verfügung, diesen am PC, soweit es geht, auszufüllen. Folgende Informationen sind essenziell, um Ihre Anfrage auch zeitnah bearbeiten zu können:

1. Patientenetikett (Name, Vorname, Geburtsdatum)
2. Versicherungsnummer / Angaben zur Versicherung bei Ersteinsendung
3. Stempel des Einsenders
4. Verdachtsdiagnose, relevante Vortherapie, Besonderheiten beim Verlauf
5. Abnahmedatum (ggf. Uhrzeit)
6. Angaben zum Blutbild am Abnahmedatum (eintragen oder Ausdruck beilegen)
7. Materialart und Menge (Anzahl der Objektträger, Angaben zum Flüssigmaterial)
8. Therapiezeitpunkt
9. Datum, Name und Kontaktmöglichkeiten des Einsenders für Rückfragen, Unterschrift des Einsenders

6.5.2 Externe Einsender

Die Art des Probenbegleitscheins hängt von der Art des Einsenders ab. Wenn Sie Einsender einer Klinik sind, die Nutzer des ALL-BFM Portals 1.0 sind, verwenden Sie bitte den Register- / Studienspezifischen Einsendeschein von der MARVIN Startseite (siehe <https://gpoh-login.xclinical.net/idp/?ProjectId=gpoh-allbfm>).

Sollten Sie kein Teilnehmer des ALL-BFM Portals 1.0 sein oder keinen Zugang haben, verwenden Sie bitte den Einsendeschein von unserer Webseite oder kontaktieren Sie uns direkt (siehe 3.3).

6.5.3 Interne Einsender

Interne Einsender innerhalb des UKSH können Zugang zu den Probenbegleitscheinen auch über das Dokumentenmanagementsystem roXtra erhalten (siehe Dokument, ID: 383826 oder 383828).

7 INFORMATIONEN ZUR GEWINNUNG VON UNTERSUCHUNGSMATERIAL

7.1 Untersuchungsverfahren

Die angebotenen Untersuchungsverfahren im flexiblen Akkreditierungsbereich umfassen die Zytomorphologie sowie die Identifikation und Quantifizierung der minimalen Resterkrankung auf Basis von patientenspezifischen Immunglobin- und T-Zellrezeptorgen-Rearrangements.

7.2 Peripheres Blut (PB), Knochenmark (KM), Liquor

Eine **periphere Blutabnahme** gehört zu einem der Standards der klinischen Versorgung und wird aus diesem Grund hier nicht näher beschrieben.^{1,2} Der Patient muss in keiner besonderen Weise vorbereitet werden. Nüchternheit ist nicht erforderlich, das Blut kann zu jeder Tageszeit abgenommen werden (Ausnahme: Beurteilung des Ansprechens auf Prednison an Tag 8 der Therapie).

Eine **Knochenmark- sowie Liquorpunktion** im Kindesalter wird dagegen in der Regel nur in hoch spezialisierten Einrichtungen (z.B. Kinderonkologischen Zentren) mit einer gewissen Expertise

¹ von Meyer et al.: Standard-Arbeitsanleitung zur peripher venösen Blutentnahme, J Lab Med 2017; 41(6): 333–340

² KRINKO (2021): Kommentar zur Empfehlung „Anforderungen an die Hygiene bei Punktionen und Injektionen“ <https://edoc.rki.de/handle/176904/8470>

Bearbeitet am: 01.11.2024	Geprüft am: 01.11.2024	Freigegeben am: 01.11.2024	Version:	Seite:
Alten, Julia	von Grade, Christiane	Cario, Gunnar	003/11.2024	8 von 12

durchgeführt. Da unsere primären Einsender aus diesem Bereich kommen, wird aus diesem Grund auf eine nähere Beschreibung des Ablaufs ebenfalls verzichtet.^{2,3,4} In aller Regel finden diese invasiven Eingriffe unter Analgosedierung statt, die eine gewisse Zeit der Nüchternheit voraussetzt (siehe klinikinterner Standard).

Bei einigen Patienten kann die Gewinnung einer ausreichenden Menge an Knochenmark mit Schwierigkeiten verbunden sein. In diesen Fällen ist folgendes Vorgehen bei Erstdiagnose zu beachten: Bei Hyperleukozytose und / oder einem peripheren Blastenanteil von > 80% ist die Versendung von peripherem Blut ausreichend, sofern nicht ausreichend Knochenmark gewonnen werden kann. In vielen Fällen kann auch bei einem geringeren Blastenanteil peripheres Blut für die Diagnostik genutzt werden. Im Zweifelsfall nehmen Sie bitte mit dem Labor (Laborleitung) oder dem ALL-BFM Kompetenzzentrum Kontakt auf.

Für detaillierte Angaben bezüglich Art und Menge des zu versendenden Materials beachten Sie bitte unbedingt Abschnitt 7.3!

7.3 Aufteilung des gewonnenen Knochenmarkes für die Referenz-Diagnostik

Bei den nacheinander abgenommenen KM-Proben ist bei der Verschickung an die verschiedenen Labore folgende Reihenfolge zu berücksichtigen:

Spritze (ggf. Stabilisator)	Zweck
1. Spritze (<0,5 ml, nativ)	Ausstriche (6 Objektträger), ALL-Referenzlabor
2. Spritze (Heparin/EDTA)	PCR-MRD (5-10 ml), ALL-Referenzlabor <u>Ausnahme Therapietag 15:</u> Hier sollte die 2. Spritze an das FCM-MRD Referenzlabor (Labor Brüggemann) geschickt werden.
> 2. Spritze (Heparin/EDTA):	andere Referenzlabore (bspw. Immunphänotypisierung, Onkogenetik), die nicht Teil des ALL-Referenzlabors sind.

8 MATERIALVORGABEN


8.1 Zytomorphologie (Diagnose/Responsebewertung)

Lagerung und Versand immer bei Raumtemperatur! Ausstriche nicht feucht verpacken.

Therapiezeitpunkt	Untersuchungsmaterial
Initial und bei Rezidiv(-verdacht), Bei Diagnose (Initial, Tag 0)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 6 native, ungefärbte Blutausstriche ▪ 6 native, ungefärbte KM-Ausstriche ▪ 2 Liquor-Zytospinpräparate
Tag 8 nach Diagnose/Therapiebeginn	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 6 native, ungefärbte Blutausstriche
Bei Start jedes weiteren Therapieelements (siehe Probenversandschein) und stets bei Einsendung von PCR-MRD-Material	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 6 native, ungefärbte KM-Ausstriche

³ Bott Alexander et al. SOP Beckenkampnpunktion, Krankenhaushygiene up2date 2021

⁴ Schrauzer T. SOP Diagnostische Lumbalpunktion Krankenhaushygiene up2date 2019; 14: 11–16

	ID: 361845	Primärprobenhandbuch	UKSH, Campus Kiel ALL-BFM Referenzlabor Klinik für Kinderonkologie und -rheumatologie (Kinder- und Jugendmedizin I)
	Status: freigegeben		

8.1.1 Besonderheiten (Stratifizierungsrelevante Zeitpunkte)

Therapiezeitpunkt	Untersuchungsmaterial
Tag 33	<ul style="list-style-type: none"> Die Punktion sollte, sofern möglich, an Protokolltag 33 (d. h. 4 Tage nach der 4. VCR/DNR-Gabe) durchgeführt werden. Bei Panzytopenie im peripheren Blut an Tag 33 mit Leukozyten < 500/µl evtl. kurzfristiger Aufschub der KMP bis zur beginnenden KM-Regeneration. Bei nicht repräsentativen KM und Panzytopenie im peripheren Blut sollte eine Repunktion bei beginnender KM-Regeneration durchgeführt werden. Die Nachpunktionsaufforderung wird durch das Labor verschickt.

8.2 Molekulargenetik (Diagnose/Responsebewertung)

Für die molekulargenetische Diagnostik wird DNA benötigt, die aus mononukleären Zellen extrahiert wird. Bei Erstdiagnose dient die DNA der Blasten als Grundlage für die Identifizierung von patientenspezifischen Immunglobulin- und T-Zell-Rezeptorgen-Rearrangements, die im weiteren Verlauf der Therapie zur Quantifizierung der minimalen Resterkrankung (MRD, *minimal residual disease*) verwendet werden können (RQ-PCR).

Generell: Bitte bei Einsendung von Untersuchungsmaterial für die PCR-MRD immer Ausstriche vom selben Untersuchungstag mitschicken! Bei Leukopenie < 1000/µl nach Möglichkeit mind. 10 ml Untersuchungsmaterial einsenden.


Lagerung und Versand von Vollblut/Knochenmark immer bei Raumtemperatur! Das Material sollte nicht älter als drei bis vier Tage sein.

Therapiezeitpunkt	Untersuchungsmaterial (Stabilisator)
Initial und bei Rezidiv(-verdacht), Bei Diagnose, Tag 0	<ul style="list-style-type: none"> min. 5 ml, besser 10 ml KM (Heparin/EDTA) min. 5 ml, besser 10 ml PB (Heparin/EDTA)
alle weiteren Zeitpunkte (siehe Probenbegleitschein)	<ul style="list-style-type: none"> min. 5 ml, besser 10 ml KM (Heparin/EDTA)

8.2.1 Besonderheiten (Stratifizierungsrelevante Zeitpunkte)

Therapiezeitpunkt	Untersuchungsmaterial
Tag 15	<ul style="list-style-type: none"> Steht nur wenig Untersuchungsmaterial zur Verfügung, hat die Einsendung von Material für die FCM-MRD-Untersuchung (Labor Brüggemann, Kiel) Priorität. Achtung: Der FCM-MRD Response kann nur bei KMP 6-8 Tage nach der 1. VCR/DNR- und <u>vor</u> 2. VCR/DNR-Gabe bewertet werden!
Tag 33	<ul style="list-style-type: none"> Die Punktion sollte, sofern möglich, an Protokolltag 33 (d. h. 4 Tage nach der 4. VCR/DNR-Gabe) durchgeführt werden (siehe auch Zytomorphologie). Bei nicht repräsentativen KM und Panzytopenie im peripheren Blut sollte eine Repunktion bei beginnender KM-Regeneration erfolgen. Im Fall von zu wenig Material bzw. nicht repräsentativen Ausstrichen bei guter peripherer Regeneration sollte die Punktion so zeitnah wie möglich nachgeholt werden, spätestens jedoch vor Start von Cons A/Prot IB. Eine Aufforderung zur Nachpunktion wird seitens des Labors versandt (siehe 8.4).

Bearbeitet am: 01.11.2024 Alten, Julia	Geprüft am: 01.11.2024 von Grade, Christiane	Freigegeben am: 01.11.2024 Cario, Gunnar	Version: 003/11.2024	Seite: 10 von 12
---	---	---	-------------------------	---------------------

	ID: 361845	Primärprobenhandbuch	UKSH, Campus Kiel ALL-BFM Referenzlabor Klinik für Kinderonkologie und -rheumatologie (Kinder- und Jugendmedizin I)
	Status: freigegeben		

8.3 Einflussgrößen und Störfaktoren

generell	Lebensalter, Vor- bzw. Begleiterkrankungen, Ernährung, Medikamente
speziell	Schwierige Punktion (z.B. Punctio sicca), periphere Blutbeimengung (KM), verzögerte Probenzustellung, Vorbehandlung mit Steroiden

8.4 Umgang mit fehlerhaften Proben

Fehler	Konsequenz	Maßnahme
Fehlende oder unzureichende Kennzeichnung der Proben	Material wird zurückgewiesen, sofern es nicht gelingt in RS mit dem Einsender die Probenidentität zu verifizieren	Versand FO <i>Probenidentifikation</i> , ggf. Nachforderung von Material
Ungeeignete Untersuchungsmaterialien, zu geringe Materialmenge	Analyse kann nicht / nur eingeschränkt durchgeführt werden	Versand FO <i>Rückmeldung zu Material</i> bzw. FO <i>Nachpunktion anfordern</i>
Unzureichend ausgefüllte Einsendescheine	evtl. verzögerter Bearbeitungsbeginn	Versand FO <i>Rückmeldung zu Material</i>
Defekte / unzulässige Proben-(transport)gefäße	keine Bearbeitung bei Kontaminations- oder Verletzungsgefahr möglich	Versand FO <i>Rückmeldung zu Material</i> bzw. FO <i>Nachpunktion anfordern</i>

8.5 Kosten

Die Kosten für das MRD-Targetscreening bzw. Standardzeitpunkte der MRD-Quantifizierung sind im Rahmen der Referenzleistungen abgedeckt.

8.6 Analysezeit

Generell gilt, dass eingegangene Proben alsbald analysiert und befundet werden, wobei stratifizierungsrelevante Zeitpunkte, sowie Materialeinsendungen mit spezieller bzw. dringlicher klinischer Fragestellung vorrangig bearbeitet werden (Priorisierung, s.u.).

8.6.1 Zytomorphologie

Priorisierung:

Initial Tag 0, Tag 8 (T-ALL), Remission Tag 33, inkl. Nachpunktion, TP2 (EsPhALL), V. a. Rezidiv

- Befundübermittlung 1-3 Werktage nach Materialeingang

Routine:


- Befundübermittlung 5-10 Werktage nach Materialeingang

8.6.2 Molekulargenetik (MRD)

Die MRD-Targetetablierung sowie die Messung der Zeitpunkte TP1 (Tag 33) und TP2 (Tag 78) wird bei Patienten ≥ 1 Jahr bei Erstdiagnose (ED) im Referenzlabor Heidelberg (Institut für Humangenetik, Universitätsklinikum Heidelberg) durchgeführt (Versand der DNA über das ALL-BFM Referenzlabor). Die Befundübermittlung inkl. Stratifizierung anhand der Ergebnisse sowie weiterer Faktoren im Rahmen der ALL-BFM Therapiekonzepte erfolgt über das ALL-BFM Kompetenzzentrum.

Die MRD-Targetetablierung inkl. Messung der Zeitpunkte TP1 (Tag 33) und TP2 (Tag 78) bei Patienten < 1 Jahr bei ED, sowie die Fortführung des HR-MRD-Monitorings wird im ALL-BFM Referenzlabor durchgeführt.

Bearbeitet am: 01.11.2024 Alten, Julia	Geprüft am: 01.11.2024 von Grade, Christiane	Freigegeben am: 01.11.2024 Cario, Gunnar	Version: 003/11.2024	Seite: 11 von 12
---	---	---	-------------------------	---------------------

	ID: 361845	Primärprobenhandbuch	UKSH, Campus Kiel ALL-BFM Referenzlabor Klinik für Kinderonkologie und -rheumatologie (Kinder- und Jugendmedizin I)
	Status: freigegeben		

- **Screening:** Befundübermittlung bis Tag 33 (nur falls keine MRD-Targets für eine PCR-MRD Messung identifiziert werden konnten).
- **TP1 + TP2:** Befundübermittlung 7-14 Tage nach Materialeingang.
- **MRD-HR Monitoring:**
Priorisierung:
 Vor alloSZT, Blina1 d 29, MRD-Anstieg, V. a. Rezidiv
 - Befundübermittlung 3-7 Werktage nach MaterialeingangRoutine:
 - Befundübermittlung 8-10 Werktage nach Materialeingang

8.6.2.1 Zeitpunkt der ersten Messung (MRD-HR-Monitoring)

Der Zeitpunkt der ersten MRD-Messung bei HR-Patienten, die im Rahmen der ALL-BFM (bzw. AIEOP-BFM ALL) Therapiekonzepte behandelt werden, ist abhängig vom individuellen Risikoprofil:

- **TPHR1:**
 - MRD-Level 10^{-2} an TP2 oder fehlendes MRD-Ergebnis an TP2
- **TPHR2:**
 - B/HR, Indikation zur alloSZT (z.B. MRD-HR (TP2 $\geq 10^{-3}$))
 - T/HR, MRD positiv an TP2, inkl. Indikation zur alloSZT (z.B. MRD-HR (TP2 $\geq 10^{-3}$))
- **TPHR3:**
 - B/HR, keine Indikation zur alloSZT
 - T/HR, MRD negativ an TP2
- **Blina1 d29:**
 - B-ALL, unabhängig vom Risikoprofil

Für Studienteilnehmer der EsPhALL-COG bzw. Interfant-21 Studie können die Angaben abweichen. Bitte konsultieren Sie hier das entsprechende Studienprotokoll.

8.6.2.2 Indikation für Folgemessungen

Die Indikation für Folgemessungen nach TPHR3 bzw. Blina2 d29 bei HR-Patienten, die im Rahmen der ALL-BFM (bzw. AIEOP-BFM ALL) Therapiekonzepte behandelt werden, hängt vom individuellen Risikoprofil bzw. Therapieansprechen über die HR-Blöcke/Blina-Zyklen ab.

Abschluss des MRD-Monitorings:

- B-ALL, ohne SZT-Indikation → min. zwei negative Messzeitpunkte nach TP2 in Folge
- T-ALL, ohne SZT-Indikation → Messung bis zum letzten HR-Element der Re-Induktion
- Alter < 1 Jahr bei ED → Messung bis zum letzten HR-Element der Re-Induktion
- Indikation zur alloSZT → Messung bis 18 Monate post SZT (individuell festlegbar)

Für Teilnehmer der *EsPhALL-COG* bzw. *Interfant*-Studie können die Angaben abweichen. Bitte konsultieren Sie hier das entsprechende Studienprotokoll.

Bearbeitet am: 01.11.2024 Alten, Julia	Geprüft am: 01.11.2024 von Grade, Christiane	Freigegeben am: 01.11.2024 Cario, Gunnar	Version: 003/11.2024	Seite: 12 von 12
---	---	---	-------------------------	---------------------