DIN CEN/TS 17390-3

ICS 11.100.10

Molekularanalytische in-vitro-diagnostische Verfahren – Spezifikationen für präanalytische Prozesse für zirkulierende Tumorzellen (CTC) in venösen Vollblutproben – Teil 3: Vorbereitungen für die analytische CTC-Färbung; Deutsche Fassung CEN/TS 17390-3:2020

Molecular in vitro diagnostic examinations – Specifications for pre-examination processes for circulating tumor cells (CTCs) in venous whole blood – Part 3: Preparations for analytical CTC staining; German version CEN/TS 17390-3:2020

Analyses de diagnostic moléculaire in vitro – Spécifications relatives aux processus préanalytiques pour les cellules tumorales circulantes (CTC) du sang total veineux – Partie 3: Préparations pour l'analyse par coloration des CTC; Version allemande CEN/TS 17390-3:2020

Gesamtumfang 23 Seiten

DIN-Normenausschuss Medizin (NAMed)

Documents Document Sharing Hub

Full document details: DIN CEN/TS 17390-3:2020-05

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (CEN/TS 17390-3:2020) wurde vom CEN/TC 140 „In-vitro-Diagnostik“ erarbeitet, dessen Sekretariat von DIN (Deutschland) gehalten wird.

Das zuständige Normungsgremium ist der Arbeitsausschuss NA 063-03-03 AA „Qualitätsmanagement in medizinischen Laboratorien“ im DIN-Normenausschuss Medizin (NAMed) zuständig.

Technische Spezifikationen sind nicht Bestandteil des Deutschen Normenwerks.

Eine Technische Spezifikation ist das Ergebnis einer Normungsarbeit, das wegen bestimmter Vorbehalte zum Inhalt oder wegen des gegenüber einer Norm abweichenden Aufstellungsverfahrens von DIN noch nicht als Norm herausgegeben wird.

Zur vorliegenden Technischen Spezifikation wurde kein Entwurf veröffentlicht.

Erfahrungen mit dieser Technischen Spezifikation sind erbeten:

— vorzugsweise als Datei per E-Mail an NAMed@din.de in Form einer Tabelle. Die Vorlage dieser Tabelle kann im Internet unter www.din.de/stellungnahme abgerufen werden;

— oder in Papierform an den Normenausschuss Medizin (NAMed), 10772 Berlin.

Documents
Document Sharing Hub
Full document details: DIN CEN/TS 17390-3:2020-05

TECHNISCHE SPEZIFIKATION

TECHNICAL SPECIFICATION

SPÉCIFICATION TECHNIQUE

CEN/TS 17390-3

Januar 2020

ICS 11.100.10

Deutsche Fassung

Molekularanalytische in-vitro-diagnostische Verfahren — Spezifikationen für präanalytische Prozesse für zirkulierende Tumorzellen (CTC) in venösen Vollblutproben — Teil 3: Vorbereitungen für die analytische CTC-Färbung

Molecular in vitro diagnostic examinations — Specifications for pre-examination processes for circulating tumor cells (CTCs) in venous whole blood — Part 3: Preparations for analytical CTC staining

Analyses de diagnostic moléculaire in vitro — Spécifications relatives aux processus préanalytiques pour les cellules tumorales circulantes (CTCs) dans le sang total veineux — Partie 3: Préparations pour l'analyse par coloration des CTC

Diese Technische Spezifikation (CEN/TS) wurde vom CEN am 27. Oktober 2019 als eine künftige Norm zur vorläufigen Anwendung angenommen.

Die Gültigkeitsdauer dieser CEN/TS ist zunächst auf drei Jahre begrenzt. Nach zwei Jahren werden die Mitglieder des CEN gebeten, ihre Stellungnahmen abzugeben, insbesondere über die Frage, ob die CEN/TS in eine Europäische Norm umgewandelt werden kann.

Die CEN-Mitglieder sind verpflichtet, das Vorhandensein dieser CEN/TS in der gleichen Weise wie bei einer EN anzukündigen und die CEN/TS verfügbar zu machen. Es ist zulässig, entgegenstehende nationale Normen bis zur Entscheidung über eine mögliche Umwandlung der CEN/TS in eine EN (parallel zur CEN/TS) beizubehalten.

CEN-Mitglieder sind die nationalen Normungsinstitute von Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, den Niederlanden, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, der Republik Nordmazedonien, Rumänien, Schweden, der Schweiz, Serbien, der Slowakei, Slowenien, Spanien, der Tschechischen Republik, der Türkei, Ungarn, dem Vereinigten Königreich und Zypern.

EUROPÄISCHES KOMITEE FÜR NORMUNG
EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION
COMITÉ EUROPÉEN DE NORMALISATION

CEN-CENELEC Management-Zentrum: Rue de la Science 23, B-1040 Brüssel

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: DIN CEN/TS 17390-3:2020-05

Inhalt

Seite

Europäisches Vorwort **3**

Einleitung **4**

1 Anwendungsbereich **6**

2 Normative Verweisungen **6**

3 Begriffe **6**

4 Allgemeine Betrachtungen **11**

5 Außerhalb des Labors **11**
5.1 Entnahme von Untersuchungsmaterial **11**
5.1.1 Informationen über den Probenspender/Patienten **11**
5.1.2 Wahl des Entnahmeröhrchens für venöses Vollblut durch das Labor **12**
5.1.3 Entnahme von venösen Vollblutproben bei Spendern/Patienten und Stabilisierungsverfahren **12**
5.1.4 Informationen zum Untersuchungsmaterial und Anforderungen an die Lagerung in der Blutentnahmeeinrichtung **13**
5.2 Anforderungen an den Transport **14**
5.2.1 Allgemeines **14**
5.2.2 Verwendung von Blutentnahmeröhrchen mit Stabilisatoren **14**
5.2.3 Verwendung von Blutentnahmeröhrchen ohne Stabilisatoren **14**

6 Im Labor **14**
6.1 Eingang des Untersuchungsmaterials **14**
6.2 Anforderungen an die Lagerung von venösen Vollblut-Primärproben **15**
6.3 Anreicherung der CTCs **15**
6.3.1 Allgemeines **15**
6.3.2 Verwendung eines handelsüblichen CTC-Anreicherungssystems **15**
6.3.3 Verwendung laboreigener Protokolle zur CTC-Anreicherung **16**
6.4 Lagerung der angereicherten CTCs **16**
6.5 Vorbereitung für die CTC-Färbung **16**
6.5.1 Allgemeines **16**
6.5.2 Vorbehandlung für verschiedene Färbetechniken (Antikörper-, Farbstoff-Färbung, *In-situ*-Techniken) **17**

Anhang A (informativ) Entscheidungsleitfaden für die kritischen Schritte des präanalytischen Arbeitsablaufs für die Färbung von CTCs **18**

Literaturhinweise **20**

Documents
Document Sharing Hub

Full document details: DIN CEN/TS 17390-3:2020-05

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (CEN/TS 17390-3:2020) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 140 „In-vitro-Diagnostik“ erarbeitet, dessen Sekretariat von DIN gehalten wird.

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. CEN ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren.

CEN/TS 17390 besteht unter dem allgemeinen Titel *Molekularanalytische in-vitro-diagnostische Verfahren — Spezifikationen für präanalytische Prozesse für zirkulierende Tumorzellen (CTC) in venösen Vollblutproben* aus den folgenden Teilen*:*

— *Teil 1: Isolierte RNA*

— *Teil 2: Isolierte DNA*

— *Teil 3: Vorbereitungen für die analytische CTC-Färbung*

Entsprechend der CEN-CENELEC-Geschäftsordnung sind die nationalen Normungsinstitute der folgenden Länder gehalten, diese Technische Spezifikation anzukündigen: Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, die Republik Nordmazedonien, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, Niederlande, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, Rumänien, Schweden, Schweiz, Serbien, Slowakei, Slowenien, Spanien, Tschechische Republik, Türkei, Ungarn, Vereinigtes Königreich und Zypern.

AVA Documents
Document Sharing Hub

Full document details: DIN CEN/TS 17390-3:2020-05

Einleitung

Solide Tumoren geben Zellen und biologische Analyte an das Blut und andere Körperflüssigkeiten ab. Dies eröffnet die Möglichkeit eines minimalinvasiven Nachweises, der Diagnose und Charakterisierung eines Tumors anhand venöser Vollblutproben (Flüssigbiopsien). Es ist zu erwarten, dass Flüssigbiopsien den frühzeitigeren Nachweis und die Diagnose einer Krebserkrankung ermöglichen und zu Fortschritten in der personalisierten Behandlung der Patienten führen. Diese Anwendungen sind zu einem der am schnellsten wachsenden Segmente des gesamten Diagnostikmarktes geworden.

Zirkulierende Tumorzellen (en: circulating tumour cells, CTCs) im venösen Vollblut spiegeln mit individuell ausgeprägten genetischen, epigenetischen und die Expression betreffenden Merkmalen die Komplexität der Erkrankung wider, die sich im Verlauf der Tumorprogression entwickelt. Neben der prognostischen Funktion der Identifizierung und/oder Auszählung der CTCs in der Tumorprogression kann die molekulare Charakterisierung der CTCs, z. B. die Vorhersage des Krankheitsverlaufs bzw. Therapieergebnisses, die therapeutischen Handlungsempfehlungen und die Überwachung des Patienten bei der Nachsorge verbessern.

CTCs werden derzeit als eine Surrogat-Probe für das Tumorgewebe sowohl in der frühen Entwicklungs- als auch in der Metastasierungsphase angesehen.

Aus der molekularen Charakterisierung der CTCs kann zum Beispiel eine Strategie für das Monitoring der Tumorgenotypen im Verlauf systemischer Therapien [1], die Erkennung von Mechanismen der Krankheitsprogression, die Identifikation neuer Zielstrukturen (Targets) für die Behandlung [2] und die Auswahl zielgerichteter Therapien abgeleitet werden. Darüber hinaus befindet sich mit der CTC-Einzelzellsequenzierung ein wichtiges Werkzeug für die Analyse der genomischen Heterogenität eines Tumors in der Entwicklung [3], [4], [5].

CTCs sind empfindliche Strukturen und werden innerhalb weniger Stunden abgebaut, wenn sie in herkömmlichen Blutentnahmeröhrchen, z. B. EDTA-enthaltenden Röhrchen ohne spezielle CTC-Stabilisatoren, entnommen werden. CTCs sind insbesondere in den Frühstadien der Erkrankung extrem selten, z. B. weniger als 10 Zellen je 10 ml Blut, entsprechend einem Verhältnis von etwa $1 : 10^7$ CTCs zu Leukozyten (WBCs, en: white blood cells). Dieses niedrige Verhältnis stellt eine erhebliche Herausforderung bei der erforderlichen CTC-Anreicherung für die Identifizierung und die Untersuchung als Zellen, die von einem Tumor abstammen, dar.

Darüber hinaus können sich die Morphologie der CTCs und die Biomoleküle im Verlauf des präanalytischen Prozesses verändern. So kann es Veränderungen in der Menge an Protein, der Integrität, Modifikation, Konformation und Lokalisation innerhalb der Zelle kommen. Dies wiederum kann sich auf die Gültigkeit und Zuverlässigkeit der Untersuchungsergebnisse auswirken.

Die CTC-Analyse beinhaltet üblicherweise einen CTC-Anreicherungsschritt (z. B. basierend auf biologischen Eigenschaften wie der Expression von Oberflächenmolekülen oder auf physikalischen Eigenschaften wie Größe und Dichte der CTCs oder einer Kombination davon), der vor der zytomorphologischen Untersuchung oder der Immunfluoreszenzfärbung durchgeführt wird. CTC-Anreicherungstechniken können CTCs liefern, die — immobilisiert auf einer festen Oberfläche — bereit sind für die zytologische Untersuchung, oder in Suspension befindliche CTCs, für die weitere Verarbeitungsschritte vor der Untersuchung erforderlich sind. Diese können zu einem möglichen Zellverlust führen [6].

Im Anschluss an die Anreicherung der CTCs erfolgt normalerweise ihre Identifizierung mittels konventioneller zytochemischer oder auf Proteinen als Zielstrukturen basierenden Färbemethoden, die den Nachweis der Zellmerkmale erlauben.

Documents
Document Sharing Hub
Full document details: DIN CEN/TS 17390-3:2020-05

Die Standardisierung aller Schritte des präanalytischen Arbeitsablaufs ist erforderlich. Dies umfasst die Blutentnahme und -stabilisierung, den Transport, die Lagerung, CTC-Anreicherung und CTC-Isolierung (falls erforderlich). Ein Entscheidungsleitfaden für die kritischen Schritte des präanalytischen Arbeitsablaufs für die CTC-Färbung wird in Anhang A bereitgestellt.

Dieses Dokument beschreibt Maßnahmen zur Standardisierung des präanalytischen Prozesses, um eine zweckdienliche CTC Färbung zu erhalten.

In diesem Dokument werden die folgenden Verbformen verwendet:

— „muss“ bezeichnet eine Anforderung;

— „sollte“ bezeichnet eine Empfehlung;

— „darf“ gibt eine Zulässigkeit an;

— „kann“ gibt eine Möglichkeit oder ein Vermögen an.

AVA Documents
Document Sharing Hub

Full document details: DIN CEN/TS 17390-3:2020-05