

DIN EN ISO 20166-4



ICS 11.100.10

Einsprüche bis 2020-09-24

Entwurf

**Molekularanalytische in-vitro-diagnostische Verfahren –
Spezifikationen für präanalytische Prozesse für formalinfixierte und
paraffineingebettete (FFPE-) Gewebeproben –
Teil 4: In-situ-Detektionstechniken (ISO/DIS 20166-4:2020);
Deutsche und Englische Fassung prEN ISO 20166-4:2020**

Molecular in vitro diagnostic examinations –
Specifications for preexamination processes for formalin-fixed and paraffin-embedded (FFPE)
tissue –

Part 4: In situ detection techniques (ISO/DIS 20166-4:2020);
German and English version prEN ISO 20166-4:2020

Analyses de diagnostic moléculaire in vitro –
Spécifications relatives aux processus préanalytiques pour les tissus fixés au formol et inclus
en paraffine (FFPE) –

Partie 4: Techniques de détection in situ (ISO/DIS 20166-4:2020);
Version allemande et anglaise prEN ISO 20166-4:2020

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2020-07-24 wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und
Stellungnahme vorgelegt.

Weil die beabsichtigte Norm von der vorliegenden Fassung abweichen kann, ist die Anwendung dieses Entwurfs
besonders zu vereinbaren.

Stellungnahmen werden erbeten

- vorzugsweise online im Norm-Entwurfs-Portal von DIN unter www.din.de/go/entwuerfe bzw. für Norm-Entwürfe der DKE auch im Norm-Entwurfs-Portal der DKE unter www.entwuerfe.normenbibliothek.de, sofern dort wiedergegeben;
- oder als Datei per E-Mail an named@din.de möglichst in Form einer Tabelle. Die Vorlage dieser Tabelle kann im Internet unter www.din.de/go/stellungnahmen-norm-entwuerfe oder für Stellungnahmen zu Norm-Entwürfen der DKE unter www.dke.de/stellungnahme abgerufen werden;
- oder in Papierform an den DIN-Normenausschuss Medizin (NAMED), 10772 Berlin oder Saatwinkler Damm 42/43, 13627 Berlin.

Die Empfänger dieses Norm-Entwurfs werden gebeten, mit ihren Kommentaren jegliche relevanten
Patentrechte, die sie kennen, mitzuteilen und unterstützende Dokumentationen zur Verfügung zu stellen.

DIN-Normenausschuss Medizin (NAMED)

Gesamtumfang 67 Seiten

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 20166-4:2020) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 212 „Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 140 „In-vitro-Diagnostik“ erarbeitet, dessen Sekretariat von DIN (Deutschland) gehalten wird.

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

Um Zweifelsfälle in der Übersetzung auszuschließen, ist die englische Originalfassung beigelegt. Die Nutzungsbedingungen für den deutschen Text des Norm-Entwurfes gelten gleichermaßen auch für den englischen Text.

Für die in diesem Dokument zitierten Dokumente wird im Folgenden auf die entsprechenden deutschen Dokumente hingewiesen:

ISO 15189	siehe	DIN EN ISO 15189
ISO/IEC 17020	siehe	DIN EN ISO/IEC 17020

Aktuelle Informationen zu diesem Dokument können über die Internetseiten von DIN (www.din.de) durch eine Suche nach der Dokumentennummer aufgerufen werden.

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN EN ISO 15189, *Medizinische Laboratorien — Anforderungen an die Qualität und Kompetenz*

DIN EN ISO/IEC 17020, *Konformitätsbewertung — Anforderungen an den Betrieb verschiedener Typen von Stellen, die Inspektionen durchführen*

<i>Titel de:</i>	Molekularanalytische in-vitro-diagnostische Verfahren — Spezifikationen für präanalytische Prozesse für formalinfixierte und paraffineingebettete (FFPE-) Gewebeproben — Teil 4: In-situ-Detektionstechniken (ISO/DIS 20166-4:2020)
<i>Titel en:</i>	Molecular in vitro diagnostic examinations — Specifications for preexamination processes for formalin-fixed and paraffin-embedded (FFPE) tissue — Part 4: In situ detection techniques (ISO/DIS 20166-4:2020)
<i>Titel fr:</i>	Analyses de diagnostic moléculaire in vitro — Spécifications relatives aux processus préanalytiques pour les tissus fixés au formol et inclus en paraffine (FFPE) — Partie 4: Techniques de détection in situ (ISO/DIS 20166-4:2020)

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	3
Vorwort	4
Einleitung	5
1 Anwendungsbereich	7
2 Normative Verweisungen	7
3 Begriffe	7
4 Allgemeine Betrachtungen	15
5 Außerhalb des Labors	17
5.1 Entnahme der Primärprobe	17
5.1.1 Allgemeines	17
5.1.2 Angaben zum Patienten/Primärprobenspender	17
5.1.3 Angaben zur Primärprobe	18
5.1.4 Aufbereitung der Primärprobe, Zwischenlagerung und Vorbereitung für den Transport	18
5.2 Transport	19
6 Im Labor	19
6.1 Entgegennahme der Primärprobe	19
6.2 Formalinfixierung der Primärprobe oder Probe(n)	20
6.3 Beurteilung der Pathologie des Untersuchungsmaterials und Auswahl der Probe(n)	21
6.3.1 Makroskopische Beurteilung	22
6.3.2 Auswahl der Probe(n)	22
6.4 Nachträgliche Fixierung gefrorener Proben nach intraoperativer Rücksprache	23
6.5 Entkalkung/Enthärtung der Probe	23
6.6 Gewebeverarbeitung und Paraffineinbettung	24
6.6.1 Allgemeines	24
6.6.2 Dehydrierung und Clearing	25
6.6.3 Infiltration mit Paraffin und Paraffineinbettung	25
6.7 Lagerung von FFPE-Gewebeblöcken	25
6.8 Mikrotomie von FFPE-Gewebeblöcken und Lagerung von auf Objektträgern aufgeklebten Schnitten	26
6.9 Entparaffinierung und Rehydrierung von auf Objektträgern aufgeklebten Schnitten	28
6.10 Vorbehandlung von auf Objektträgern aufgeklebten Schnitten für <i>In-situ</i> - Nachweisverfahren	28
6.10.1 Allgemeines	28
6.10.2 Vorbehandlung für <i>In-situ</i> -Nachweisverfahren auf der Basis von Antikörpern oder anderen Affinitätsbindern	28
6.10.3 Vorbehandlung für <i>In-situ</i> -Nachweisverfahren auf der Basis von Hybridisierung	29
6.10.4 Vorbehandlung für andere <i>In-situ</i> -Nachweisverfahren	29
6.11 Qualitätsbewertung der präanalytischen Phase des <i>In-situ</i> -Nachweises	29
Anhang A (informativ) Empfehlungen im Zusammenhang mit der Verifizierung und Validierung eines im Labor entwickelten Prüfverfahrens für den <i>In-situ</i> -Nachweis	30
Anhang B (informativ) Beispielprotokoll für die Gewebeverarbeitung	31
Literaturhinweise	32

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 20166-4:2020) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 212 „Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 140 „In-vitro-Diagnostik“ erarbeitet, dessen Sekretariat von DIN gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur parallelen Umfrage vorgelegt.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO/DIS 20166-4:2020 wurde von CEN als prEN ISO 20166-4:2020 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

Vorwort

ISO (die Internationale Organisation für Normung) ist eine weltweite Vereinigung nationaler Normungsinstitute (ISO-Mitgliedsorganisationen). Die Erstellung von Internationalen Normen wird üblicherweise von Technischen Komitees von ISO durchgeführt. Jede Mitgliedsorganisation, die Interesse an einem Thema hat, für welches ein Technisches Komitee gegründet wurde, hat das Recht, in diesem Komitee vertreten zu sein. Internationale staatliche und nichtstaatliche Organisationen, die in engem Kontakt mit ISO stehen, nehmen ebenfalls an der Arbeit teil. ISO arbeitet bei allen elektrotechnischen Normungsthemen eng mit der Internationalen Elektrotechnischen Kommission (IEC) zusammen.

Die Verfahren, die bei der Entwicklung dieses Dokuments angewendet wurden und die für die weitere Pflege vorgesehen sind, werden in den ISO/IEC-Direktiven, Teil 1 beschrieben. Es sollten insbesondere die unterschiedlichen Annahmekriterien für die verschiedenen ISO-Dokumentenarten beachtet werden. Dieses Dokument wurde in Übereinstimmung mit den Gestaltungsregeln der ISO/IEC-Direktiven, Teil 2 erarbeitet (siehe www.iso.org/directives).

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. ISO ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren. Details zu allen während der Entwicklung des Dokuments identifizierten Patentrechten finden sich in der Einleitung und/oder in der ISO-Liste der erhaltenen Patenterklärungen (siehe www.iso.org/patents).

Jeder in diesem Dokument verwendete Handelsname dient nur zur Unterrichtung der Anwender und bedeutet keine Anerkennung.

Für eine Erläuterung des freiwilligen Charakters von Normen, der Bedeutung ISO-spezifischer Begriffe und Ausdrücke in Bezug auf Konformitätsbewertungen sowie Informationen darüber, wie ISO die Grundsätze der Welthandelsorganisation (WTO, en: World Trade Organization) hinsichtlich technischer Handelshemmnisse (TBT, en: Technical Barriers to Trade) berücksichtigt, siehe www.iso.org/iso/foreword.html.

Dieses Dokument wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 212, *Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems*, erarbeitet.

Eine Auflistung aller Teile der Normenreihe ISO 20166 ist auf der ISO-Internetseite abrufbar.

Rückmeldungen oder Fragen zu diesem Dokument sollten an das jeweilige nationale Normungsinstitut des Anwenders gerichtet werden. Eine vollständige Auflistung dieser Institute ist unter www.iso.org/members.html zu finden.

Einleitung

Die molekulare In-vitro-Diagnostik, darunter auch die molekulare Pathologie, hat bedeutende Fortschritte in der Medizin ermöglicht. Weitere Fortschritte werden von neuen Technologien erwartet, mit denen die Gewebemorphologie sowie Biomoleküle wie z. B. Proteine, DNA, RNA und/oder Metaboliten (z. B. Glukose) in menschlichen Geweben und Körperflüssigkeiten analysiert werden.

In der Pathologie beruht die Mehrzahl der Diagnosen auf der *In-situ*-Färbung von formalinfixierten und paraffineingebetteten (FFPE-)Gewebeschnitten. Im Zusammenhang mit der personalisierten Medizin wird die klassische histologische Färbung (z. B. mit Hämatoxylin und Eosin) zur morphologischen Beurteilung zunehmend ergänzt durch zusätzliche *In-situ*-Nachweistechiken, beispielsweise die Immunhistochemie oder *In-situ*-Hybridisierung sowie die molekulare Analyse isolierter Biomoleküle. So beruhen zum Beispiel viele der von den Genehmigungsbehörden zugelassenen Begleitdiagnostika in der Onkologie auf *In-situ*-Nachweisverfahren, die auf FFPE-Gewebeschnitte angewendet werden. Die Entwicklungen in der personalisierten Medizin und neue Technologien, wie die Mehrfach-Immunmarkierung und computer-gestützte Analyse digitaler Bilder, stellen neue Anforderungen an die Normierung der präanalytischen Verfahren, um reproduzierbare qualitative und quantitative Ergebnisse zu erhalten.

Die Profile und/oder Integrität von Biomolekülen und ihre Lokalisation *in situ*, ihre Menge sowie die Zugänglichkeit für den *In-situ*-Nachweis in Gewebeproben können sich im Verlauf des präanalytischen Prozesses, bestehend aus Entnahme der Primärprobe sowie Gewebeverarbeitung, Einbettung, Transport, Lagerung, Mikrotomie und Vorbehandlung für den *In-situ*-Nachweis, drastisch verändern. Das macht das Ergebnis des *In-situ*-Nachweises in Diagnostik oder Forschung unzuverlässig oder sogar unmöglich, da die anschließende Untersuchung nicht den *In-vivo*-Zustand von Molekülen, sondern ein künstliches Profil oder eine künstliche Morphologie repräsentiert, das bzw. die während des präanalytischen Prozesses entstanden ist.

Daher ist eine Normung des gesamten präanalytischen Verfahrens von FFPE-Gewebeproben, die für *In-situ*-Untersuchungen der Morphologie und von Biomolekülen an FFPE-Gewebeschnitten mittels verschiedener *In-situ*-Nachweisverfahren vorgesehen sind, erforderlich.

Es liegen mehrere wissenschaftliche Belege dafür vor, dass mehrere Faktoren der präanalytischen Phase der Untersuchung das Ergebnis (z. B. die Qualität oder Quantität in Bezug auf Spezifität oder Sensibilität) des *In-situ*-Nachweises beeinflussen und, folglich, eine größere Auswirkung auf die diagnostischen Ergebnisse haben können.

Bei der Organisierung und Normung der einzuhaltenden Schritte während der sogenannten präanalytischen Phase für mit Formalin fixiertes und in Paraffin eingebettetes Gewebe (FFPE-Gewebe) im Rahmen verschiedener *In-situ*-Nachweisverfahren stützt sich dieses Dokument auf diese Arbeiten. Diese Norm gilt für die präanalytische Phase von *In-situ*-Nachweisverfahren und ist auf das gesamte Spektrum der *In-situ*-Nachweisverfahren anwendbar.

Diese schließen folgende ein, sind aber nicht darauf begrenzt:

- klassische histologische Färbung, z. B. Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE-Färbung);
- histochemische Techniken, z. B. Lipidfärbung, Periodsäure-Schiff-(PAS-)Reaktion, Berliner-Blau-Reaktion nach Perl, Feulgen-Reaktion, Enzymhistochemie;
- immunhistochemische (IHC-)Färbung oder Immunfluoreszenz-Färbung mithilfe von Antikörpern (polyklonale, monoklonale oder rekombinante Antikörper) oder anderen Affinitätsbindern;

- auf Hybridisierung basierende Techniken wie RNA- oder DNA-*In-situ*-Hybridisierungs-(ISH-)Techniken, z. B. Fluoreszenz-*In-situ*-Hybridisierung (FISH), chromogene *In-situ*-Hybridisierung (CISH) oder silberverstärkte *In-situ*-Hybridisierung (SISH);
- molekulare Analyse isolierter Biomoleküle, die einer festgelegten Region eines FFPE-Gewebeschnitts zugeordnet werden können (z. B. durch *In-situ*-Sequenzierung, bildgebende Massenspektrometrie).

In diesem Dokument werden die folgenden Verbformen verwendet:

- „muss“ gibt eine Anforderung an;
- „sollte“ gibt eine Empfehlung an;
- „darf“ gibt eine Zulässigkeit an;
- „kann“ gibt eine Möglichkeit oder ein Vermögen an.

1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument enthält Anforderungen und Empfehlungen zur Entnahme, Handhabung, Dokumentation, zum Transport sowie zu Lagerung und Verarbeitung von formalinfixierten und paraffineingebetteten (FFPE-)Gewebeproben, die für die qualitative und/oder (semi-)quantitative *In-situ*-Untersuchung der Morphologie und von Biomolekülen, beispielsweise Metaboliten, Proteinen, DNA und/oder RNA, an FFPE-Gewebeschnitten mittels verschiedener *In-situ*-Nachweisverfahren vorgesehen sind, während der präanalytischen Phase.

Dieses Dokument gilt für *in-vitro*-diagnostische Untersuchungen, bei denen *In-situ*-Nachweisverfahren angewendet werden. Dazu zählen auch im Labor entwickelte Prüfverfahren, die von pathologischen Laboratorien (histopathologischen Laboratorien) sowie von molekularpathologischen Laboratorien und anderen medizinischen Laboratorien durchgeführt werden. Es soll auch von Laborkunden, Entwicklern und Herstellern von *In-vitro*-Diagnostika, Biobanken, Einrichtungen und kommerziellen Organisationen, die in der biomedizinischen Forschung tätig sind, sowie Aufsichtsbehörden eingesetzt werden.

Dieses Dokument gilt nicht für die präanalytische Phase der Untersuchung von RNA, Proteinen und DNA, die zu Untersuchungszwecken aus FFPE-Gewebeproben isoliert wurden. Diese wird in ISO 20166-1, ISO 20166-2 bzw. ISO 20166-3, *Molecular in vitro diagnostic examinations — Specifications for pre-examination processes for isolated RNA, proteins and DNA* behandelt.

Für die präanalytischen Prozesse von Feinnadelaspiraten (FNAs) sind andere zweckbestimmte Maßnahmen zu treffen. Diese werden in CEN WI 00140128, CEN WI 00140126 bzw. CEN WI 00140129, *Molecular in vitro diagnostic examinations — Specifications for pre-examination processes for Fine Needle Aspirates (FNAs) isolated cellular RNA, isolated proteins, and isolated genomic DNA* behandelt.

ANMERKUNG Für bestimmte Bereiche, die in diesem Dokument behandelt werden, können auch internationale, nationale oder regionale Bestimmungen oder Anforderungen gelten.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente werden im Text in solcher Weise in Bezug genommen, dass einige Teile davon oder ihr gesamter Inhalt Anforderungen des vorliegenden Dokuments darstellen. Bei datierten Verweisungen gilt nur die in Bezug genommene Ausgabe. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe des in Bezug genommenen Dokuments (einschließlich aller Änderungen).

ISO 15189, *Medical laboratories — Requirements for quality and competence*

ISO 15190, *Medical laboratories — Requirements for safety*

ISO/IEC 17020, *Conformity assessment — Requirements for the operation of various types of bodies performing inspection*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die Begriffe nach ISO 15189 und die folgenden Begriffe.

ISO und IEC stellen terminologische Datenbanken für die Verwendung in der Normung unter den folgenden Adressen bereit:

- ISO Online Browsing Platform: verfügbar unter <https://www.iso.org/obp>
- IEC Electropedia: verfügbar unter <http://www.electropedia.org/>

3.1

Affinitätsbinder

Moleküle, u. a. Affibody, Peptide, Fragmente von *Antikörpern* (3.3) oder andere kleine Moleküle, die mit *Biomolekülen* (3.6) und Strukturen innerhalb einer Zelle interagieren und in *In-situ-Nachweisverfahren* (3.27) verwendet werden können

3.2

Umgebungstemperatur

ungeregelte Temperatur der Umgebungsluft

[QUELLE: ISO 20166-1:2018, 3.2]

3.3

Antikörper

Protein (3.37) (Immunglobulin), das als Antwort auf ein als fremd erkanntes Molekül (*Antigen*) (3.4) von B-Lymphozyten produziert und abgesondert wird und in der Lage ist, an dieses spezifische *Antigen* (3.4) zu binden

[QUELLE: ISO 16577:2016, 3.10, modifiziert — Anmerkung 1 zum Begriff wurde gelöscht.]

3.4

Antigen

Substanz, die die Produktion von *Antikörpern* (3.3) stimuliert und mit diesen reagiert

[QUELLE: ISO 15089:2000, 3.5]

3.5

Antigendemaskierung

Epitopdemaskierung

Verfahren zur Demaskierung von *Antigenen* (3.4)/*Epitopen* (3.14) und Wiederherstellung ihrer Bindungseigenschaften für *Antikörper* (3.3), die in der *Immunhistochemie* (3.25) eingesetzt werden, durch Neutralisieren der durch die *Formalinfixierung* (3.19), *Gewebeverarbeitung* (3.47) und *Paraffineinbettung* (3.33) eingeführten Modifikationen des Gewebes

3.6

Biomolekül

organisches, in lebenden Organismen produziertes Molekül, das an der Aufrechterhaltung und den Stoffwechselprozessen der Organismen beteiligt ist

Anmerkung 1 zum Begriff: Beispiele für organische Moleküle sind Proteine (3.37), Kohlenhydrate, Lipide oder Nukleinsäuren.

3.7

Clearing

Verfahrensschritt in der *Gewebeverarbeitung* (3.47), bei dem formalinfixiertes Gewebe aus dem *Dehydrierungsreagens* (3.10) in das Aufhellungsmittel (z. B. Xylol) überführt wird, um das Gewebe für die *Infiltration* (3.26) vorzubereiten

3.8

kalte Ischämie

Zustand nach der Gewebeentnahme aus dem Körper bis zur Stabilisierung oder Fixierung

[QUELLE: ISO 20166-1:2018, 3.5]

3.9

Entkalkung

Verfahren zur Entfernung von mineralischem (anorganischem Kalzium) aus Knochen oder anderem kalzifiziertem Gewebe mithilfe von chemischen Mitteln, um die Hartgewebebestandteile an den Weichheitsgrad des *Paraffins* (3.32) zur Anfertigung von Gewebeschnitten anzupassen

3.10

Dehydrierung

Verfahrensschritt in der *Gewebeverarbeitung* (3.47) zur Entfernung des Wassers aus formalinfixiertem Gewebe durch Eintauchen des Gewebes in eine Reihe von Lösungen eines Dehydrierungsreagens mit ansteigender Konzentration, die mit wasserfreier (100%iger) Lösung abschließt

3.11

Abweichung

Abweichen von einer/einem zugelassenen Anweisung, Verfahren und/oder Methode oder einer festgelegten Norm

[QUELLE: ISO 15378:2017(en), 3.7.5 modifiziert — Die Wörter „zugelassene Standardverfahrensanweisung“ („approved (3.7.1) standard operating procedure (SOP) (3.7.10)“ wurden ersetzt durch „Anweisung, Verfahren und/oder Methode“ („instruction, procedure and/or method“).]

3.12

Diagnose

Feststellung eines Gesundheits- oder Erkrankungszustands anhand seiner Anzeichen und/oder Symptome, wobei im diagnostischen Verfahren *Untersuchungen* (3.15) und Prüfungen zur Einordnung des Zustands einer Person in getrennte und verschiedene Kategorien und Unterkategorien enthalten sein können, auf deren Grundlage medizinische Entscheidungen zur Behandlung und Prognose getroffen werden können

[QUELLE: ISO 20166-1:2018, 3.7]

3.13

DNA

Desoxyribonukleinsäure

Polymer von Desoxyribonukleotiden, das in Doppelstrangform (dsDNA) oder in Einzelstrangform (ssDNA) vorkommt

[QUELLE: ISO 22174:2005, 3.1.2]

3.14

Epitop

Bindungsstelle auf einem *Biomolekül* (3.6), die als *Antigen* (3.4) fungiert und an die ein *Antikörper* (3.3) bindet

3.15

Untersuchung

analytische Prüfung

Folge von Handlungen, deren Ziel die Bestimmung des numerischen Wertes oder der Merkmale einer Eigenschaft ist

Anmerkung 1 zum Begriff: Prozesse, die mit dem *In-situ-Nachweis* (3.27) mithilfe von *Antikörpern* (3.3), Nukleinsäure-Sonden oder Farbstoffen beginnen und jegliche Art von Parameterprüfung oder chemischer Bearbeitung für die quantitative oder qualitative Untersuchung umfassen.

[QUELLE: ISO 15189:2012, 3.7, modifiziert — Anmerkungen 1 bis 3 zum Begriff wurden entfernt. Anmerkung 1 zum Begriff wurde hinzugefügt und „analytische Prüfung“ wurde als eine Vorzugsbenennung hinzugefügt.]

3.16

Hersteller des Untersuchungsverfahrens

Hersteller des analytischen Prüfverfahrens

Entität, die das Verfahren für die spezifische *analytische Prüfung* (3.15) herstellt

3.17

FFPE-Gewebe

formalinfixiertes, paraffineingebettetes Gewebe

Gewebe-Primärproben (3.36)/-Proben (3.42), nachdem sie der Fixierung in *Formalin* (3.18, 3.19), *Gewebeverarbeitung* (3.47) und *Paraffineinbettung* (3.33) in einer Gewebekassette unterzogen worden sind

3.18

Formalin

gesättigte, wasserhaltige Formaldehydlösung, die bei 100 % einen Massenanteil an Formaldehyd von 37 % (entspricht einem Volumenanteil von 40 %) enthält

[QUELLE: ISO 20166-1:2018, 3.11]

3.19

Formalinfixierung

Behandlung einer *Probe* (3.42) mit *standardgepufferter Formalinlösung* (3.45) zur Stabilisierung

[QUELLE: ISO 20166-1:2018, 3.12]

3.20

Formalinpigment

saures Formalin-/Hämatinpigment

saures Hämatin

schwarze bis braune amorphe bis mikrokristalline Granula, die als Artefakt in histologischen Schnitten, welche aus in *Formalin* (3.18, 3.19) fixiertem Gewebe mit erhöhter Ameisensäurekonzentration präpariert wurden, auftreten und durch die Einwirkung von Ameisensäure auf Hämoglobin entstehen

3.21

Zuschneiden

makroskopische Untersuchung

Untersuchung von pathologischen Primärproben mit dem bloßen Auge zum Erhalt diagnostischer Informationen, während sie für eine weitere mikroskopische *Untersuchung* (3.15) verarbeitet werden

[QUELLE: ISO 20166-1:2018, 3.13]

3.22

histochemische Technik(en)

Technik(en) des *In-situ-Nachweises* (3.27) zur Visualisierung und Charakterisierung von *Biomolekülen* (3.6), an der/denen chemische Reaktionen mit spezifischen Gruppen, Radikalen oder chemischen Bindungen in *Biomolekülen* (3.6) beteiligt sind und die Informationen über die *In-situ-Lokalisation* der *Biomoleküle* (3.6) in *Gewebeschnitten* (3.49) liefern

Anmerkung 1 zum Begriff: Beispiele für Biomoleküle (3.6) sind Kohlenhydrate, Lipide, andere Metabolite, Proteine (3.37), Aminosäuren, Nukleinsäuren, Pigmente oder Enzyme usw.

3.23

histologische Färbung

Technik des *In-situ-Nachweises* (3.27), die angewendet wird, um *Gewebeschnitte* (3.49) herzustellen, bei denen histologische Farbstoffe (z. B. Hämatoxylin und Eosin (HE-Färbung), Chromotrop-Anilinblau (CAB)) zur Hervorhebung von Merkmalen am *Gewebeschnitt* (3.49) und zur Verstärkung des Kontrasts von *Gewebeschnitten* (3.49) eingesetzt werden

3.24

homogen

einheitlich in Struktur und Zusammensetzung

[QUELLE: ISO 20166-1:2018, 3.31]

3.25

Immunhistochemie

IHC

Technik des *In-situ-Nachweises* (3.27), der auf dem Prinzip der spezifischen Bindung von *Antikörpern* (3.3) an *Antigene* (3.4)/*Epitope* (3.14) in biologischen Geweben oder Zellen beruht, um die *Antigene* (3.4) [z. B. *Proteine* (3.37)] mittels Hellfeldmikroskopie sichtbar zu machen

3.26

Infiltration

Infiltration mit Paraffin

Verfahrensschritt bei der *Gewebeverarbeitung* (3.47), um das Aufhellungsmittel zu ersetzen und das Gewebe mit geschmolzenem *Paraffin* (3.32) zu durchtränken (infiltrieren)

3.27

***In-situ*-Nachweis**

Verfahren, das eine präzise Lokalisierung eines spezifischen *Biomoleküls* (3.6) in einem auf einem Objektträger aufgetragenen Gewebeschnitt ermöglicht

BEISPIEL *Immunhistochemie* (3.25) zum Nachweis von *Protein* (3.37), *In-situ-Hybridisierung* (3.30) zum Nachweis von Nukleinsäuren, *histologische Färbung* (3.23), *histochemische Techniken* (3.22), bildgebende MALDI-Massenspektrometrie, bildgebende Massenzymetrie, *In-situ*-Raman-Spektroskopie.

3.28

***In-situ*-Nachweissystem**

Nachweissystem

Satz von Reagenzien, der dazu dient, *in situ* die Bindung von Molekülen an ihre Zielstruktur (Target) in einem *Gewebeschnitt* (3.49) sichtbar zu machen

Anmerkung 1 zum Begriff: Beispiele für Moleküle sind *Antikörper* (3.3), *Affinitätsbinder* (3.1) und Nukleinsäuren.

Anmerkung 2 zum Begriff: Für den *In-situ-Nachweis* (3.27) werden am häufigsten Nachweissysteme auf der Grundlage von Enzymen und Fluorophoren verwendet.

3.29

***In-situ*-Untersuchung**

analytische *In-situ*-Prüfung

Untersuchung (3.15) auf der Grundlage eines *In-situ-Nachweises* (3.27)

3.30

***In-situ*-Hybridisierung**

ISH

Technik des *In-situ-Nachweises* (3.27), der auf dem Prinzip komplementärer Nukleinsäure-Sonden beruht, die spezifisch an Segmente von *RNA* (3.38) oder *DNA* (3.13) in biologischen Geweben oder Zellen binden, um Nukleinsäuren (z. B. *DNA* (3.13) oder *RNA* (3.38)) mittels Hellfeldmikroskopie sichtbar zu machen

3.31

Nichtkonformität

Nichterfüllung einer Anforderung

[QUELLE: ISO 9000:2005, 3.6.2]

3.32

Paraffin

Paraffinwachs

aus Destillaten erhaltenes Produkt, das im Wesentlichen aus einem Gemisch von gesättigten, bei *Raumtemperatur* (3.41) festen Kohlenwasserstoffen besteht und das zur *Paraffineinbettung* (3.33) von formalinfixierten Gewebe-*Primärproben* (3.36)/-*Proben* (3.42) verwendet wird

3.33

Paraffineinbettung

Einbettung in Paraffin

Verfahren im Anschluss an die *Gewebeverarbeitung* (3.47), in dem eine *Gewebeprobe* (3.42) in geschmolzenes *Paraffin* (3.32) gelegt wird, um eine harte umgebende Matrix zu erreichen, damit dünne mikroskopische Schnitte abgeschnitten werden können

3.34

posttranslationale Modifikation

durch Enzyme katalysierte Modifikationen an einem *Protein* (3.37), nachdem seine Translation durch Ribosomen abgeschlossen ist; dabei kann es sich um die kovalente Addition einer funktionellen Gruppe an ein *Protein* (3.37), beispielsweise eine Phosphorylierung und Neddylierung, die proteolytische Prozessierung und/oder Faltungsprozesse handeln, die für ein funktionell reifes *Protein* (3.37) notwendig sind

[QUELLE: Nature.com, modifiziert – Die beiden Sätze wurden zu einem zusammengefasst [1].]

3.35

präanalytisches Verfahren

präanalytischer Arbeitsablauf

präanalytische Phase

präanalytische Phase vor der Untersuchung

Prozess, in chronologischer Reihenfolge, der mit der Anforderung des Arztes einschließlich der Anforderung der *Untersuchung* (3.15) beginnt, der die Vorbereitung und Identifizierung des Patienten, die Entnahme der *Primärprobe(n)* (3.36), den Transport zum und im medizinischen Labor, die Beurteilung, die *Gewebeverarbeitung* (3.47), die Einbettung, die *Lagerung* (3.46) und Entnahme der FFPE-Blöcke, die Mikrotomie (inklusive Aufkleben auf Glasobjektträger und Färbung), die *Lagerung* (3.46) von ungefärbten, auf Objektträgern aufgeklebten *Gewebeschnitten* (3.49) (sofern zutreffend) und die Vorbehandlungsschritte für die Techniken des *In-situ-Nachweises* (3.27) einschließt und mit dem Beginn der analytischen *Untersuchung* (3.15) endet

Anmerkung 1 zum Begriff: Die präanalytische Phase für den *In-situ-Nachweis* (3.27) beinhaltet vorbereitende Prozesse, z. B. die *Antigen-/Epitopdemaskierung* (3.5) und Vorhybridisierungsverfahren, die das Ergebnis der beabsichtigten *Untersuchung* (3.15) beeinflussen.

[QUELLE: ISO 15189:2012, 3.15, modifiziert — Ein zusätzlicher Begriff wurde hinzugefügt und es wurden weitere Einzelheiten aufgenommen.]

3.36

Primärprobe

Untersuchungsmaterial

getrennter Teil einer Körperflüssigkeit, Atemluft, Haar oder eines Gewebes, entnommen zur *Untersuchung* (3.15), Erforschung oder Analyse von einer oder mehrerer Größen oder Eigenschaften, als Annahme für die Beschaffenheit des Ganzen

[QUELLE: ISO 15189:2012, 3.16, modifiziert — Der Begriff und die Definition werden hier ohne die ursprünglichen Anmerkungen verwendet.]

3.37

Protein

Typ von biologischen *Biomolekülen* (3.6), bestehend aus einer oder mehreren Kette(n) mit einer definierten Sequenz von Aminosäuren, die über Peptidbindungen miteinander verbunden sind

[QUELLE: ISO 20166-2:2018, 3.14]

3.38

RNA

Ribonukleinsäure

Polymer von Ribonukleotiden, das in Doppelstrangform oder in Einzelstrangform vorkommt

[QUELLE: ISO 20166-1:2018, 3.20]

3.39

RNA-Profil

Mengen einzelner *RNA*-Moleküle (3.38), die in einer *Probe* (3.42) vorliegen und die gemessen werden können, wenn keine Verluste, Hemmungen und Beeinflussungen auftreten

[QUELLE: ISO 20166-1:2018, 3.19]

3.40

RNase

Ribonuklease

Enzym, das den Abbau von *RNA* (3.38) in kleinere Komponenten katalysiert

[QUELLE: ISO 20166-1:2018, 3.21]

3.41

Raumtemperatur

Temperatur im Bereich von 18 °C bis 25 °C

Anmerkung 1 zum Begriff: Lokale oder nationale Bestimmungen können unterschiedliche Definitionen haben.

[QUELLE: ISO 20166-1:2018, 3.22]

3.42

Probe

ein Teil oder mehrere Teile, das (die) einer *Primärprobe* (3.36) entnommen wird (werden)

[QUELLE: ISO 15189:2012, 3.24, modifiziert — BEISPIEL wurde entfernt.]

3.43

Behälter der Primärprobe

Behälter, in den die Gewebe-*Primärprobe* (3.36) nach ihrer Entnahme für die weiteren Schritte (z. B. Transport und/oder Fixierung) des *präanalytischen Arbeitsablaufes* (3.35) überführt werden

3.44

Stabilität

Fähigkeit eines *Probenmaterials* (3.42), bei der Lagerung unter festgelegten Bedingungen einen bestimmten Merkmalswert innerhalb festgelegter Grenzwerte für eine festgelegte Zeitdauer aufrechtzuerhalten

Anmerkung 1 zum Begriff: Für die Anwendung dieses Dokuments sind die Analyte die *Biomoleküle* (3.6), die *in situ* bzw. im Gewebe lokalisiert sind.

[QUELLE: ISO 20166-1:2018, 3.24, modifiziert — Anmerkung 1 wurde entfernt und eine neue Anmerkung 1 zum Begriff wurde hinzugefügt.]

3.45

standardgepufferte Formalinlösung

neutral gepuffertes Formalin

NBF (en: neutral buffered formalin)

10%ige wässrige *Formalinlösung* (3.18) mit einem Massenanteil an Formaldehyd von 3,7 % (entspricht einem Volumenanteil von 4 %), auf pH 6,8 bis pH 7,2 gepuffert

Anmerkung 1 zum Begriff: Standardgepufferte Formalinlösungen enthalten häufig kleine Mengen Methanol zur Unterbindung der Oxidation und Polymerisation des Formaldehyds.

[QUELLE: ISO 20166-1:2018, 3.25]

3.46

Lagerung

Aufrechterhaltung des biologischen Materials unter geeigneten Bedingungen für die beabsichtigte Verwendung

3.47

Gewebeverarbeitung

Prozess während der Herstellung von *FFPE-Gewebe* (3.17) bestehend aus den vier aufeinanderfolgenden Schritten Gewebefixierung, *Dehydrierung* (3.10), *Clearing* (3.7) und *Infiltration mit Paraffin* (3.26)

3.48

Gewebeverarbeiter

automatisiertes Instrument zur Fixierung, *Dehydrierung* (3.10), *Clearing* (3.7) und *Infiltration* (mit Paraffin) (3.26)

[QUELLE: ISO 20166-1:2018, 3.27]

3.49

Gewebeschnitt

sehr dünne Scheibe von Gewebe, die durch das Schneiden des Gewebes mit einem speziell dafür vorgesehenen Gewebeschnidegerät (d. h. einem Mikrotom) erzeugt wird

Anmerkung 1 zum Begriff: *FFPE-Gewebe* (3.17) wird mithilfe eines Mikrotoms geschnitten, um wenige Mikrometer dicke Schnitte zu erzeugen, die dann zur Durchführung der *In-situ-Nachweisverfahren* (3.27) auf Glasobjektträgern aufgeklebt werden.

3.50

Validierung

Bestätigung durch Bereitstellung eines objektiven Nachweises, dass die Anforderungen für einen spezifischen beabsichtigten Gebrauch oder eine spezifische beabsichtigte Anwendung erfüllt worden sind

Anmerkung 1 zum Begriff: „Validiert“ wird zur Bezeichnung des entsprechenden Status verwendet.

Anmerkung 2 zum Begriff: Basierend auf ISO 9000:2005, Definition 3.8.5.

[QUELLE: ISO 9000:2015, 3.8.13, modifiziert — Anmerkung 1 zum Begriff und Anmerkung 3 zum Begriff wurden entfernt.]

3.51

Verifizierung

Bestätigung durch Bereitstellung eines objektiven Nachweises, dass spezifizierte Anforderungen erfüllt worden sind

Anmerkung 1 zum Begriff: Der Begriff „verifiziert“ wird zur Bezeichnung des entsprechenden Status verwendet.

Anmerkung 2 zum Begriff: Bestätigungen können aus Tätigkeiten bestehen wie:

- Durchführen alternativer Berechnungen,
- Vergleichen einer neuen Entwicklungsspezifikation mit einer ähnlichen, bereits bewährten Entwicklungsspezifikation,
- Vornehmen von Prüfungen und Demonstrationen, und
- Überprüfen von Dokumenten, bevor sie herausgegeben werden.

[QUELLE: ISO 9000:2005, 3.8.4]

3.52

warme Ischämie

Zustand, bevor das Gewebe aus dem Körper entfernt wird, aber von seiner normalen Blutzufuhr getrennt ist

[QUELLE: ISO 20166-1:2018, 3.29]

3.53

Arbeitsablauf

Reihe von Aktivitäten, die zur Beendigung einer Aufgabe erforderlich sind

[QUELLE: ISO 20166-1:2018, 3.30]

4 Allgemeine Betrachtungen

Zu allgemeinen Aussagen hinsichtlich Qualitätsmanagementsystemen medizinischer Laboratorien und insbesondere hinsichtlich Entnahme, Empfang und Handhabung von Primärproben (einschließlich der Vermeidung von Kreuzkontaminationen) siehe ISO 15189, ISO/IEC 17025 oder ISO/IEC 17020. Die Anforderungen zu Laboratoriumsmaterial, Reagenzien und Verbrauchsgütern müssen in Übereinstimmung mit ISO 15189 befolgt werden; ISO/IEC 17025 und ISO/IEC 17020 können ebenfalls anwendbar sein.

Alle Schritte der präanalytischen Phase, der Untersuchung und der postanalytischen Phase (d. h. der gesamte Arbeitsablauf) können die Diagnose oder die Ergebnisse einer Forschungsstudie beeinflussen. Daher muss dieser gesamte Arbeitsablauf verifiziert und validiert werden. Dies schließt insbesondere alle Schritte der präanalytischen Phase mit ein, unter anderem die Untersuchungsanforderung, die Vorbereitung und Identifizierung des Patienten, die Entnahme der Primärprobe(n), den Transport zum und im medizinischen Labor, die Fixierung, Verarbeitung, Einbettung, Mikrotomie und Lagerung.

Schritte des präanalytischen Arbeitsablaufes, die nicht immer kontrolliert werden können (z. B. Dauer und Zustand der warmen Ischämie in Abhängigkeit von dem chirurgischen Verfahren), müssen dokumentiert werden. Eine Risikobeurteilung von Schritten des präanalytischen Arbeitsablaufes, einschließlich ihrer möglichen Auswirkungen auf die Leistung der analytischen Prüfung muss durchgeführt und Maßnahmen zur Risikominderung müssen festgelegt werden, um die notwendige Leistung der analytischen Prüfung zu erhalten.

ANMERKUNG Die Unterbrechung der normalen Blutzufuhr variiert von Fall zu Fall erheblich. Daher sind die Dauer und die Auswirkungen der warmen Ischämie von den im Einzelfall vorliegenden Bedingungen abhängig.

Die Erhaltung der Gewebemorphologie sowie die Stabilität der spezifischen zu untersuchenden Biomoleküle und ihre posttranslationalen Modifikationen (sofern sie für die analytische Prüfung wichtig sind) sollten über den gesamten präanalytischen Prozess untersucht werden, bevor eine analytische Prüfung entwickelt und implementiert wird (z. B. indem ein(e) Zeitverlaufsexperiment bzw. -studie durchgeführt wird; siehe Literaturhinweise [2], [3], [4]).

Bevor Gewebe in standardgepuffelter Formalinlösung fixiert werden, können sich die *In-situ*-/subzelluläre Lokalisation, Mengen, Konformationen und Bindungsstatus von Biomolekülen verändern, z. B. durch Abbau, Auswaschen, Quervernetzung und veränderte Synthese der Biomoleküle nach z. B. Geninduktion, Herabregulation von Genen, RNA-Degradation, Veränderungen in der posttranslationalen Modifikation des Proteins und Veränderungen des biochemischen Stoffwechselwegs und Energiestatus. Diese Effekte hängen von der Dauer der warmen und kalten Ischämie und der Temperatur vor der Formalinfixierung ab. Darüber hinaus können die beschriebenen Veränderungen je nach Gewebe des Patienten/Spenders unterschiedlich ausfallen.

Allgemein ist das Risiko von Veränderungen des Biomolekül-Profiles und der *In-situ*- bzw. subzellulären Lokalisation umso höher, je länger die warme und kalte Ischämie dauert und je höher die Umgebungstemperatur vor dem Fixieren der Gewebeprobe ist.

ANMERKUNG Die Mengen, Modifikationen und *In-situ*-/subzelluläre Lokalisation der Biomoleküle können auch je nach Herkunft und Art des Gewebes, je nach Grunderkrankung, chirurgischem Verfahren, Medikamentenregime und der zur Anästhesie oder Behandlung von Begleiterkrankungen verabreichten Medikamente sowie abhängig von unterschiedlichen Umgebungsbedingungen nach der Gewebeentnahme aus dem Körper variieren. Eine längere kalte Ischämie führt zu Veränderungen der Mengen an Protein und Phosphoprotein [5], [6], [48]. Das Halten der Primärproben auf einer niedrigen Temperatur (z. B. 4 °C) vermindert diesen Effekt [7]. RNA-Profile können sich abhängig von der Dauer der warmen und kalten Ischämie und der Temperatur vor der Formalinfixierung (z. B. durch Geninduktion, Herabregulation von Genen, RNA-Degradation) signifikant verändern [8], [9]. Veränderungen der DNA, der Sequenz oder der Kopienzahlen (z. B. vergleichende genomische Hybridisierungs-(CGH-)Profile) aufgrund längerer Dauer von warmer und kalter Ischämie sind nicht bekannt [10]. DNA-Methylierungsmuster können sich allerdings als Reaktion auf die Ischämie verändern [11].

Wo dies relevant ist, muss die Dauer der warmen Ischämie dokumentiert werden (z. B. bei größeren Tumorsektionen). Ist eine kalte Ischämie nicht zu vermeiden (z. B. aufgrund des Transports ins Labor vor der Formalinfixierung), muss ihre Dauer dokumentiert werden; die Umgebungstemperaturen der Behälter des Untersuchungsmaterials müssen dokumentiert werden.

Die Formalinfixierung (einschließlich der Qualität der Formalinlösung, des Verhältnisses von Probenvolumen zu Volumen der Formalinlösung sowie der Fixierungsdauer und -temperatur) und andere präanalytische Verfahren können sich auf die Morphologie auswirken [12], Modifikationen von Biomolekülen verursachen und zu suboptimaler Leistung der analytischen Prüfung führen, wodurch die durch *In-situ*-Nachweis erhaltenen Ergebnisse beeinträchtigt werden. Diese präanalytischen Prozesse umfassen die Gewebeverarbeitung [13], Lagerung der FFPE-Gewebeblöcke [13] und die Mikrotomie (einschließlich der Auswahl der Objektträgertypen, der Schnittdicke, der Trocknung und Lagerung ungefärbter, auf Objektträgern aufgeklebter Gewebeschnitte). Dies sollte bei der Qualitätskontrolle und Anwendung der *In-situ*-Nachweisprüfungen berücksichtigt werden. Die Optimierung der analytischen Prüfung für FFPE-Gewebe und/oder der Vorbehandlung von auf Objektträgern aufgeklebten FFPE-Gewebeschnitten (z. B. Antigendemaskierung, Vorhybridisierung; siehe 6.10.3) sind Möglichkeiten, um dieses Problem für Untersuchungen zum *In-situ*-Nachweis zu minimieren.

Die Immunhistochemie kann durch Modifikation oder Verlust der Immunreaktivität im FFPE-Gewebe aufgrund von Denaturierung der Moleküle [14], Quervernetzung von Proteinen und in der Folge durch Verlust oder „Maskierung“ von Epitopen oder sterischen Behinderungen der Antikörperbindung an Epitope beeinträchtigt sein [3], [15]. Es liegen Hinweise vor, die belegen, dass viele Antigene (Epitope) in erheblichem Umfang, wenn nicht sogar vollständig, durch Antigendemaskierung wiederhergestellt werden können [16], [17]. Die Antigendemaskierung darf daher durchgeführt werden, um die Immunreaktivität im FFPE-Gewebe wiederherzustellen und/oder um „maskierte“ oder durch die Formalinfixierung und Gewebeverarbeitung und Einbettung veränderten Epitope zu „demaskieren“. Da optimale Antigendemaskierungsverfahren von den angewendeten präanalytischen Bedingungen abhängen, müssen die Anforderungen an die Antigendemaskierung im Zusammenhang mit dem gesamten präanalytischen und analytischen Arbeitsablauf verifiziert werden.

ANMERKUNG Eine übermäßige Antigendemaskierung kann morphologische Artefakte verursachen.

Die *In-situ*-Hybridisierung kann durch Eigenschaften von Biomolekülen, beispielsweise die Nukleinsäure-Integrität, Wechselwirkungen zwischen Nukleinsäuren oder zwischen Nukleinsäuren und Proteinen, beeinträchtigt werden; derartige Effekte können durch Vorhybridisierungsverfahren, die für die spezifischen präanalytischen Bedingungen optimiert sind, rückgängig gemacht werden. Daher müssen die Anforderungen an das Vorhybridisierungsverfahren im Zusammenhang mit dem gesamten präanalytischen Arbeitsablauf verifiziert werden.

Während des gesamten präanalytischen Prozesses müssen Vorsichtsmaßnahmen ergriffen werden, um Kreuzkontaminationen unter den Primärproben/Proben (z. B. durch Verwendung von Material für den einmaligen Gebrauch, wo möglich, oder angemessene Reinigungsverfahren zwischen der Aufbereitung verschiedener Primärproben/Proben) und um eine Verwechslung der einzelnen Primärproben/Proben zu vermeiden.

Für den gesamten präanalytischen Prozess geltende Sicherheitshinweise müssen vorhanden sein und eingehalten werden. Sicherheitshinweise zu Entnahme, Transport und Handhabung der Primärprobe müssen berücksichtigt werden (siehe ISO 15189 und ISO 15190). Wenn ein Transport über öffentliche Flächen erforderlich ist, müssen die Bestimmungen oder Gesetze zu Verpackung und Transport eingehalten werden (z. B. der IATA in Bezug auf den Lufttransport).

Wird ein handelsübliches Produkt aufgrund von nicht erfüllten Patientenbedürfnissen nicht nach den Herstellerangaben angewendet, muss das Laboratorium es für die vorgesehene Verwendung verifizieren und validieren. Die Verantwortung und das Risiko für dessen Verwendung liegt beim Anwender. Siehe Anhang A.

5 Außerhalb des Labors

5.1 Entnahme der Primärprobe

5.1.1 Allgemeines

Für die Entnahme der Primärprobe sollten die Anforderungen (z. B. Erkrankungszustand, Probengröße) an die beabsichtigte Untersuchung (siehe auch Abschnitt 6) berücksichtigt werden.

Das mit der klinischen oder chirurgischen Abteilung und Arztpraxen zusammenarbeitende Labor muss Anleitungen für die erforderliche Dokumentation des Patienten/Primärprobenspenders, der Entnahme der Primärprobe, der Auswahl und Kennzeichnung des Primärproben-Behälters und der Transportverfahren für die Primärprobe erstellen.

Siehe auch ISO 15189.

5.1.2 Angaben zum Patienten/Primärprobenspender

Die Dokumentation muss die Identität des Patienten/Primärprobenspenders enthalten, die in Form des Namens oder eines Codes vorliegen kann.

Die Dokumentation sollte unter anderem Folgendes umfassen:

- a) den entsprechenden Gesundheitszustand des Patienten/Primärprobenspenders [z. B. gesund, Erkrankungsart, Begleiterkrankung, demografische Angaben (z. B. Alter und Geschlecht)];
- b) die relevanten Informationen zu routinemäßigen medizinischen Behandlungen und Sonderbehandlungen vor der Gewebeentnahme (z. B. Anästhetika, Medikationen, chirurgische oder diagnostische Verfahren);
- c) die erforderliche Zustimmung des Patienten/Primärprobenspenders.

5.1.3 Angaben zur Primärprobe

Die Dokumentation muss die folgenden Punkte umfassen, ist aber nicht auf diese beschränkt:

- a) für chirurgische Primärproben: falls für die Untersuchung erforderlich, der Beginn der Ischämie im Körper (warme Ischämie) durch Dokumentation des Zeitpunkts der Ligatur/des Abklemmens von für die Ischämie relevanten Gefäßen [üblicherweise der Zeitpunkt des Abklemmens von Arterien], um die Berechnung der Dauer der warmen Ischämie zu ermöglichen, welche mit der Exzision der Primärprobe und Entnahme aus dem Körper endet (siehe 6.6)]. Zur Dokumentation der Dauer der warmen Ischämie ist die Zusammenarbeit mit dem Personal des Operationssaals erforderlich.

ANMERKUNG Im Fall von Biopsien kann die warme Ischämie als vernachlässigbar angesehen werden.

für Autopsie-Primärproben: der geschätzte Zeitpunkt des Todeseintritts (zur Bestimmung des Post-mortem-Intervalls);

- b) der Zeitpunkt und das Datum der Gewebeentnahme vom Körper [um die Berechnung der Dauer der kalten Ischämie zu ermöglichen, die mit dem Beginn der Fixierung endet (siehe 6.2)], und das Entnahmeverfahren (z. B. Kernnadelbiopsie, Resektion, für die Entnahme verwendetes Biopsiegerät);
- c) die Beschreibung der Gewebeart und -herkunft, des Gewebezustands (z. B. erkrankt, von der Erkrankung nicht betroffen), einschließlich Verweisungen auf jede im oder außerhalb des Operationssaals vom Chirurgen, Radiologen oder Pathologen vorgenommene Markierung. Die Dokumentation sollte auch die Identität (Name oder Code) der für die Entnahme der Primärprobe verantwortlichen Person enthalten.

5.1.4 Aufbereitung der Primärprobe, Zwischenlagerung und Vorbereitung für den Transport

Folgende Schritte müssen durchgeführt werden:

- a) die Dokumentation aller Zusätze zu oder jeder Modifikationen der Primärprobe nach der Entnahme aus dem Körper [z. B. Kennzeichnung der Lage des Untersuchungsmaterials (z. B. Markierung mit Tinte, Nahtstiche), Schnitt(e), Maßnahmen, um das Austrocknen der Primärprobe zu vermeiden, z. B. Anfeuchten mit isotonischer Pufferlösung zur Vermeidung des Austrocknens der Oberfläche der Primärprobe];
- b) die Auswahl und Verwendung von Primärproben-Behältern und -Verpackungen (z. B. verschließbarer Behälter, Vakuumverpackung; Kühlbox, Kiste zum Lagern und Transportieren) für den Transport entsprechend den geltenden Transportbestimmungen; der Primärproben-Behälter muss sicher verschließbar sein. Bei Verwendung von Primärproben-Behältern, die bereits mit standardgepufferter Formalinlösung gefüllt sind, müssen die Anweisungen des Herstellers eingehalten werden;
- c) die Auswahl und Anwendung entweder eines Formalinfixierungsverfahrens (wie in 6.2 beschrieben) oder, sofern die Formalinfixierung des Gewebes im Labor vorgenommen wird, eines Stabilisierungsverfahrens (z. B. Vakuumverpackung, Kühlverfahren) für den Transport; die Dokumentation der unter 6.2 beschriebenen Schritte; der Zeitpunkt und das Datum müssen ebenfalls dokumentiert werden, wenn die Formalinfixierung außerhalb des Labors beginnt;

ANMERKUNG Ein versehentliches Gefrieren des Gewebes (z. B. durch falsche Anwendung von Kühlpackungen) kann zu einem Abbau von Biomolekülen führen, wenn das Gewebe anschließend taut. Außerdem kann dadurch die morphologische Charakterisierung beeinträchtigt werden.

- d) die Beschriftung des Primärproben-Behälters (z. B. ID des Patienten, Registrierungs- oder Krankenhausaufnahmenummer, Art und Menge der Primärprobe und Ursprungsorgan des Gewebes) sowie zusätzliche Dokumentation [Angaben entsprechend 5.1.2, 5.1.3 und 5.1.4 a) bis c)]. Zwei Patientenkennungen sollten als Mindestangaben angesehen werden, die für eine ordnungsgemäße Identifizierung des Patienten/Primärprobenspenders notwendig sind. Die Beschriftung des Primärproben-Behälters [z. B. durch selbstklebende Etiketten, Beschriftung von Hand, Hochfrequenz-Identifizierungs-Geräte (RFID), vorbeschriftete Behälter, Strichcodes] muss die geeignete Rückverfolgbarkeit der Primärproben oder Proben sicherstellen.

Das Untersuchungsmaterial sollte unverzüglich nach der Entnahme aus dem Körper in den Primärproben-Behälter überführt werden. Anschließend sollte der Primärproben-Behälter kalt gehalten, d. h. bei 2 °C bis 8 °C gelagert werden, um Veränderungen der Morphologie und/oder der Biomoleküle auf ein Mindestmaß zu beschränken.

Mehrere Primärproben desselben Patienten/Spenders mit ähnlichen Merkmalen (z. B. makroskopisches Erscheinungsbild, Gewebeart, Erkrankungszustand und anatomische Lage), dürfen in einen einzelnen Primärproben-Behälter bzw. ein einzelnes Behälterfach gelegt werden.

Die Überwachung der Temperatur sowie die Dokumentation der Umgebungsbedingungen des Primärproben-Behälters [z. B. der Temperaturen während der Zwischenlagerung in verschiedenen Räumen; während des Transports (siehe 5.2)] sollten in angemessener Weise (z. B. mittels Temperaturverfolgung) erfolgen. Wenn die Temperatur nicht gemessen werden kann, sollte die Temperatur (z. B. als Umgebungstemperatur, Raumtemperatur oder bei 2 °C bis 8 °C) geschätzt und dokumentiert werden.

5.2 Transport

Sofern sich die Primärprobe nicht bereits in der standardgepufferten Formalinlösung befindet, sollte sie unverzüglich auf Eis (Kühlpackung) oder bei 2 °C bis 8 °C transportiert werden, um Veränderungen der Morphologie und der Biomoleküle auf ein Mindestmaß zu beschränken.

ANMERKUNG Es liegen Hinweise vor, die belegen, dass die Gewebemorphologie und die Biomoleküle in Kunststoffbeuteln unter Vakuum bei 4 °C während des Transports stabilisiert werden können [18], bevor die Proben für Biobanken archiviert oder für die histopathologische Beurteilung verwendet werden.

Wenn die Primärprobe bereits außerhalb des Labors in standardgepufferte Formalinlösung überführt wurde, sollte die Temperatur während des Transports die Raumtemperatur nicht überschreiten.

Die Überwachung der Temperatur sollte in angemessener Weise erfolgen (siehe 5.1.4).

Alle Abweichungen von diesen Anweisungen müssen beschrieben und dokumentiert werden.

6 Im Labor

6.1 Entgegennahme der Primärprobe

Die Identität der Person, die die Primärprobe entgegennimmt (z. B. in Form des Namens oder eines Codes), muss zusammen mit Datum und Uhrzeit des Eingangs der Primärprobe dokumentiert werden.

Das Datum und der Zeitpunkt des Primärprobeneingangs und der Zustand (z. B. Beschriftung, Transportbedingungen einschließlich Temperatur, Art und Menge der Primärprobe, Undichtigkeit/Beschädigung des Behälters) des entgegengenommenen Untersuchungsmaterials müssen überprüft und dokumentiert werden.

Alle Abweichungen, einschließlich solcher vom etablierten Transportverfahren (siehe 5.2), müssen dokumentiert werden. Ein Verfahren zur Handhabung von Nichtkonformitäten muss etabliert sein. Siehe zusätzlich auch ISO 15189.