

DIN EN ISO 20186-2

ICS 11.100.10

Entwurf

Einsprüche bis 2017-03-13
 Vorgesehen als Ersatz für
 DIN CEN/TS 16835-2
 (DIN SPEC 13225-2):2015-12

**Molekularanalytische in-vitro-diagnostische Verfahren –
 Spezifikationen für präanalytische Prozesse für venöse Vollblutproben –
 Teil 2: Isolierte genomische DNA (ISO/DIS 20186-2:2016);
 Deutsche und Englische Fassung prEN ISO 20186-2:2016**

Molecular in vitro diagnostic examinations –
 Specifications for pre-examination processes for venous whole blood –
 Part 2: Isolated genomic DNA (ISO/DIS 20186-2:2016);
 German and English version prEN ISO 20186-2:2016

Tests de diagnostic moléculaire in vitro –
 Spécifications relatives aux processus pré-analytiques pour le sang total veineux –
 Partie 2: ADN génomique extrait (ISO/DIS 20186-2:2016);
 Version allemande et anglaise prEN ISO 20186-2:2016

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2017-01-13 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, Burggrafenstr. 6,
 10787 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.

Gesamtumfang 55 Seiten

DIN-Normenausschuss Medizin (NAMED)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 20186-2:2016) 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 deutsche 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 des prEN ISO 20186-2:2016 beigelegt. Die Nutzungsbedingungen für den deutschen Text des Norm-Entwurfes gelten gleichermaßen auch für den englischen Text.

Für die in diesem Dokument zitierten Internationalen Normen wird im Folgenden auf die entsprechenden Deutschen Normen hingewiesen:

ISO 9000:2015	siehe DIN EN ISO 9000:2015-11
ISO 15189:2012	siehe DIN EN ISO 15189:2014-11
ISO 17511:2003	siehe DIN EN ISO 17511:2003-11
ISO 18113-1:2009	siehe DIN EN ISO 18113-1:2013-01
ISO 22174:2005	siehe DIN EN ISO 22174:2005-05
ISO/IEC 17043:2010	siehe DIN EN ISO/IEC 17043:2010-05

Änderungen

Gegenüber DIN CEN/TS 16835-2 (DIN SPEC 13225-2):2015-10 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) komplette Überarbeitung des Inhaltes auf internationaler (ISO) Ebene;
- b) genauere Abgrenzung des Anwendungsbereiches.

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN EN ISO 9000:2015-11, *Qualitätsmanagementsysteme — Grundlagen und Begriffe (ISO 9000:2015); Deutsche und Englische Fassung EN ISO 9000:2015*

DIN EN ISO 15189:2014-11, *Medizinische Laboratorien — Anforderungen an die Qualität und Kompetenz (ISO 15189:2012, korrigierte Fassung 2014-08-15); Deutsche Fassung EN ISO 15189:2012*

DIN EN ISO 17511:2003-11, *In-vitro-Diagnostika — Messung von Größen in Proben biologischen Ursprungs — Metrologische Rückführbarkeit von Werten, die Kalibriermaterialien und Kontrollmaterialien zugeordnet sind (ISO 17511:2003); Deutsche Fassung EN ISO 17511:2003*

DIN EN ISO 18113-1:2013-01, *In-vitro-Diagnostika — Bereitstellung von Informationen durch den Hersteller — Teil 1: Begriffe und allgemeine Anforderungen (ISO 18113-1:2009); Deutsche Fassung EN ISO 18113-1:2011*

DIN EN ISO 22174:2005-05, *Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln — Polymerase-Kettenreaktion (PCR) zum Nachweis von pathogenen Mikroorganismen in Lebensmitteln — Allgemeine Anforderungen und Begriffe (ISO 22174:2005); Deutsche Fassung EN ISO 22174:2005*

DIN EN ISO/IEC 17043:2010-05, *Konformitätsbewertung — Allgemeine Anforderungen an Eignungsprüfungen (ISO/IEC 17043:2010); Deutsche und Englische Fassung EN ISO/IEC 17043:2010*

— Leerseite —

Molekularanalytische in-vitro-diagnostische Verfahren — Spezifikationen für präanalytische Prozesse für venöse Vollblutproben — Teil 2: Isolierte genomische DNA (ISO/DIS 20186-2:2016)

Tests de diagnostic moléculaire in vitro — Spécifications relatives aux processus pré-analytiques pour le sang total veineux — Partie 2: ADN génomique extrait (ISO/DIS 20186-2:2016)

Molecular in vitro diagnostic examinations — Specifications for pre-examination processes for venous whole blood — Part 2: Isolated genomic DNA (ISO/DIS 20186-2:2016)

ICS:

Deskriptoren:

Dokument-Typ: Europäische Norm
Dokument-Untertyp:
Dokumentstufe: parallele Umfrage
Dokumentsprache: D

STD Version 2.8f

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	3
Vorwort	4
Einleitung	5
1 Anwendungsbereich	6
2 Normative Verweisungen	6
3 Begriffe	6
4 Allgemeine Betrachtungen	11
5 Außerhalb des Labors	12
5.1 Entnahme von Untersuchungsmaterial	12
5.1.1 Informationen über den Probenspender/Patienten	12
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
6 Im Labor	15
6.1 Eingang des Untersuchungsmaterials	15
6.2 Anforderungen an die Lagerung	15
6.3 Isolierung der genomischen DNA	16
6.3.1 Allgemeines	16
6.3.2 Verwendung handelsüblicher Kits	17
6.3.3 Anwendung laboreigener Protokolle	17
6.4 Quantitäts- und Qualitätsbewertung der isolierten zellulären RNA	17
6.5 Lagerung der isolierten genomischen DNA	18
Anhang A (informativ) Auswirkungen der Schritte des präanalytischen Prozesses auf die Qualität von DNA aus venösem Vollblut	19
A.1 Allgemeine Informationen über durchgeführte Untersuchungen in Anhang A	19
A.2 Einfluss präanalytischer Variablen (Dauer und Temperatur der Blutlagerung sowie DNA-Isolierungsverfahren)	19
A.3 Einfluss der Integrität der genomischen DNA auf eine Untersuchung auf der Basis langer PCR-Amplikons	20
A.4 Einfluss der Blutlagerdauer auf die Integrität der genomischen DNA	21
A.5 Einfluss der Bedingungen der Blutlagerung auf die Leistung von PCR-Assays auf der Basis kurzer Amplikons	23
Literaturhinweise	25

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 20186-2:2016) 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 20186-2:2016 wurde vom CEN als prEN ISO 20186-2:2016 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

Vorwort

ISO (die Internationale Organisation für Normung) ist eine weltweite Vereinigung von Nationalen Normungsorganisationen (ISO-Mitgliedsorganisationen). Die Erstellung von Internationalen Normen wird normalerweise von ISO Technischen Komitees 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 Organisationen, staatlich und nicht-staatlich, in Liaison mit ISO, nehmen ebenfalls an der Arbeit teil. ISO arbeitet eng mit der Internationalen Elektrotechnischen Kommission (IEC) bei allen elektrotechnischen Themen 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. Im Besonderen sollten die für die verschiedenen ISO-Dokumentenarten notwendigen Annahmekriterien 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 empfangenen Patenterklärungen (siehe www.iso.org/patents).

Jeder in diesem Dokument verwendete Handelsname wird als Information zum Nutzen der Anwender angegeben und stellt keine Anerkennung dar.

Eine Erläuterung der Bedeutung ISO-spezifischer Benennungen und Ausdrücke, die sich auf Konformitätsbewertung beziehen, sowie Informationen über die Beachtung der Grundsätze der Welthandelsorganisation (WTO) zu technischen Handelshemmnissen (TBT, en: Technical Barriers to Trade) durch ISO enthält der folgende Link: www.iso.org/iso/foreword.html.

Das für dieses Dokument verantwortliche Komitee ist ISO/TC 212, *Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems*.

ISO 20186 besteht aus folgenden Teilen unter dem allgemeinen Titel *Molecular in vitro diagnostic examinations — Specifications for pre-examination processes for venous whole blood*:

- *Part 1: Isolated cellular RNA*
- *Part 2: Isolated genomic DNA*
- *Part 3: Isolated circulating cell free DNA from plasma*

Einleitung

Die molekulare *In-vitro*-Diagnostik hat bedeutende Fortschritte in der Medizin ermöglicht. Weitere Fortschritte werden von neuen Technologien erwartet, mit denen Profile von Nukleinsäuren, Proteinen und Metaboliten in humanen Geweben und Körperflüssigkeiten analysiert werden. Die Profile dieser Moleküle können sich jedoch im Verlauf der Entnahme des Untersuchungsmaterials, des Transports, der Lagerung und der Verarbeitung drastisch verändern und dadurch die Diagnostik beziehungsweise Forschungsergebnisse unzuverlässig oder sogar unmöglich machen, da in der anschließenden Untersuchung nicht die Situation im Patienten, sondern ein künstliches Profil bestimmt wird, das während des präanalytischen Prozesses geschaffen wurde.

Genomische DNA kann nach der Blutabnahme fragmentiert oder abgebaut werden. Es sind daher besondere Maßnahmen erforderlich, um die Qualität von Untersuchungsmaterial sicherzustellen, das für die Untersuchung genomischer DNA vorgesehen ist. Dies ist besonders relevant für Untersuchungsverfahren, bei denen hochmolekulare DNA nötig ist.

Daher ist wegen des Abbaus und der Fragmentation der genomischen DNA nach der Blutabnahme eine Normung des gesamten Arbeitsablaufs von der Probenahme bis zur Untersuchung der genomischen DNA notwendig. Zur Bestimmung der wichtigen Einflussfaktoren wurden entsprechende Studien durchgeführt. Bei der Festlegung und Normung der Schritte, die während der sogenannten präanalytischen Phase der Untersuchung von genomischer DNA aus venösem Vollblut einzuhalten sind, stützt sich diese Internationale Norm auf diese Arbeiten.

1 Anwendungsbereich

Diese Internationale Norm gibt Empfehlungen zur Handhabung, Dokumentation, Lagerung und Verarbeitung von Proben venösen Vollbluts, die für die Untersuchung genomischer DNA vorgesehen sind, während der präanalytischen Phase vor der Durchführung einer molekularen Untersuchung. Diese Internationale Norm betrifft Proben, die mit Blutentnahmeröhrchen für venöses Vollblut entnommen wurden.

Diese Internationale Norm ist anwendbar auf alle molekularen *in-vitro*-diagnostischen Untersuchungen, die in medizinischen Laboratorien durchgeführt werden. Sie ist darüber hinaus für die Verwendung durch Kunden von Laboratorien, Entwickler und Hersteller von *In-vitro*-Diagnostika, durch Institutionen und kommerzielle Organisationen, die biomedizinische Forschungen durchführen, sowie durch Biobanken und Arzneimittelagenturen bestimmt.

Zur Stabilisierung von blutzellfreier zirkulierender DNA sind andere spezielle Maßnahmen erforderlich, die in dieser Internationalen Norm nicht beschrieben werden. Zellfrei im Blut zirkulierende DNA wird behandelt in ISO 20186-3, *Molecular in vitro diagnostic examinations — Specifications for pre-examination processes for venous whole blood — Part 3: Isolated circulating cell free DNA from plasma*.

Auch bei der Abnahme, Stabilisierung, dem Transport und der Lagerung von Kapillarblut sowie für die Gewinnung und Lagerung von Blut mithilfe von papierbasierten Techniken sowie anderen Techniken zur Herstellung von getrocknetem Blut sind verschiedene spezielle Maßnahmen nötig. Diese werden in dieser Internationalen Norm ebenfalls nicht beschrieben.

Diese Internationale Norm behandelt nicht die Isolierung von bestimmten Blutzellen und die anschließende Präparation von genomischer DNA aus diesen Zellen.

Auch DNA von im Blut vorliegenden Pathogenen wird in dieser Internationalen Norm nicht behandelt.

ANMERKUNG Internationale, nationale oder regionale Regelungen bzw. Anforderungen können ebenfalls für bestimmte Themen in dieser Internationalen Norm gelten.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente, die in diesem Dokument teilweise oder als Ganzes zitiert werden, sind für die Anwendung dieses Dokuments erforderlich. 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 15189:2012, *Medical laboratories — Requirements for quality and competence (ISO 15189:2012, Corrected version 2014-08-15)*

ISO 15190, *Medical laboratories — Requirements for safety*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

3.1

Umgebungstemperatur

ungeregelte Temperatur der Umgebungsluft

3.2

Analyt

im Namen der messbaren Größe angegebener Bestandteil

[QUELLE: ISO 17511:2013, 3.2]

3.3

Rückfließen

Fluss einer Flüssigkeit entgegen der üblichen oder gewünschten Richtung

3.4

Blutentnahmesystem

intravenöse Vorrichtung zur Punktion einer Vene, die aus einer abgeschrägten Kanülen aus Edelstahl und einem Schlauch mit befestigten Kunststoffflügeln und Verbindungsstück besteht, wobei das Verbindungsstück zum Anschluss einer weiteren Blutentnahmevorrichtung, z. B. eines Blutentnahmeröhrchens dient

3.5

Blutentnahmeröhrchen

Röhrchen, das zur Abnahme von Blut verwendet wird, in der Regel unter Anlegen von Unterdruck, der das Blut aus der Vene durch die Kanüle in das Röhrchen zieht

3.6

Stabilisatoren für genomische DNA aus Blut

Verbindungen, Lösungen oder Gemische, die dazu bestimmt sind, Abbau und Fragmentation genomischer DNA zu minimieren

3.7

geschlossenes System

nicht modifizierbares System, das vom Anbieter einschließlich aller für die Analyse erforderlichen Komponenten geliefert wird (d. h. Hardware, Software, Verfahren und Reagenzien)

3.8

DNA

Desoxyribonukleinsäure

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

[QUELLE: ISO 22174:2005, 3.1.2]

3.9

DNA-Eignungsprüfungsprogramm

Prüfung der Leistungsfähigkeit von Verfahren für DNA-basierte Untersuchungen

Anmerkung 1 zum Begriff: In der Regel ein Programm, bei dem mehrere Proben an die Mitglieder einer Gruppe von Laboren versendet werden, die die Proben analysieren und/oder identifizieren; anschließend werden die Ergebnisse jedes Labors mit den Ergebnissen der anderen Labore der Gruppe und/oder mit einem bestimmten Wert verglichen, und die Ergebnisse werden den teilnehmenden Laboren und Dritten mitgeteilt.

Anmerkung 2 zum Begriff: Andere Formen von PT/EQA-Programmen sind Datentransformationsübungen, Prüfungen einzelner Prüfobjekte (bei denen ein Prüfobjekt in Zeitabständen mehrmals an mehrere Labore versendet und von diesen an das Programm zurückgeschickt wird) und Einzelprüfungen (bei denen Labore einmalig ein Prüfobjekt erhalten).

3.10

DNase

Desoxyribonuklease

Enzym, das den Abbau von DNA in kleinere Komponenten katalysiert

3.11

Untersuchung

analytische Prüfung

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

[QUELLE: ISO 15189:2012, 3.7, modifiziert — Der Begriff und die Definition werden ohne die im Original vorhandenen Anmerkungen verwendet. Ein zusätzlicher Begriff wurde hinzugefügt.]

Anmerkung 1 zum Begriff: Prozesse, die mit dem isolierten Analyten beginnen und jegliche Art von Parameterprüfung oder chemischer Bearbeitung für die quantitative oder qualitative Untersuchung umfassen.

3.12

Leistungsfähigkeit einer Untersuchung

Leistung einer analytischen Prüfung

analytische Leistung

Fähigkeit eines Untersuchungsverfahrens zur Messung oder zum Nachweis eines bestimmten Analyten

Anmerkung 1 zum Begriff: Die analytische Leistung wird mithilfe von analytischen Leistungsprüfungen festgestellt, in denen die Fähigkeit eines *in-vitro*-diagnostischen Untersuchungsverfahrens zur Messung oder zum Nachweis eines bestimmten Analyten beurteilt wird.

Anmerkung 2 zum Begriff: Die analytische Leistung betrifft Charakteristika wie analytische Empfindlichkeit, Nachweisgrenze, analytische Spezifität (Interferenz und Kreuzreaktivität), Richtigkeit, Präzision und Linearität.

[QUELLE: ISO/TS 17822-1:2014, 3.2, modifiziert — Es wurden zwei Begriffe hinzugefügt.]

3.13

Untersuchungsdienstleister

Analyseanbieter

Gruppe oder Unternehmen, die/das die Durchführung einer bestimmten analytischen Untersuchung anbietet

3.15

genomische DNA

DNA des nukleären und des mitochondrialen Genoms, die alle codierenden (Exons) und alle nicht codierenden (Introns und sonstige) Sequenzen enthält

Anmerkung 1 zum Begriff: In diesem Dokument wird ausschließlich auf die in Blutzellen vorliegende genomische DNA Bezug genommen, und frei zirkulierende DNA ist ausgeschlossen.

3.16

hochmolekulare DNA

HMW-DNA

für die Anwendung dieses Dokuments DNA mit einer durchschnittlichen Doppelstranggröße von mehr als 50 kb, bestimmt durch Pulsfeld-Gelelektrophorese

3.17

Störsubstanzen

endogene (z. B. Blutbestandteile, saure Polysaccharide) oder exogene (z. B. Talk, Antikoagulanzen) Substanzen in klinischem Untersuchungsmaterial, die das Ergebnis einer Untersuchung beeinflussen können

3.18

Kanülenhalter

Zylinder, der bei Routineverfahren zur Venenpunktion verwendet wird, um das Blutentnahmeröhrchen an Ort und Stelle zu halten und den Punktierenden vor dem direkten Kontakt mit dem Blut zu schützen

3.19

präanalytische Prozesse

präanalytische Phase

präanalytischer Arbeitsablauf

Verfahrensschritte, in chronologischer Reihenfolge, die mit der Anforderung durch den Arzt beginnen und die Untersuchungsanforderung, die Vorbereitung und Identifizierung des Patienten, die Entnahme der Primärprobe(n), die vorübergehende Lagerung, den Transport zum und im Analyselabor sowie die Aliquotierung, Gewinnung und Isolierung der Analyten einschließen und mit dem Beginn der analytischen Untersuchung enden

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

Anmerkung 1 zum Begriff: Die präanalytische Phase schließt vorbereitende Prozesse ein, die das Ergebnis der geplanten Untersuchung beeinflussen.

3.20

Primärprobe

Untersuchungsmaterial

getrennter Teil einer Körperflüssigkeit, Atemluft, Haar oder eines Gewebes, entnommen zur Untersuchung, 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 ohne die im Original vorhandenen Anmerkungen verwendet.]

3.21

Primärprobensammler

Apparat, der durch den IVD-Hersteller speziell zum Gewinnen, Aufnehmen und Aufbewahren einer Körperflüssigkeit oder eines Körpergewebes für eine In-vitro-Untersuchung vorgesehen ist

[QUELLE: ISO 18113-1:2009, 3.55]

Anmerkung 1 zum Begriff: Schließt Behälter und Vorrichtungen zur Aufbewahrung von Untersuchungsmaterial vor der Untersuchung ein.

Anmerkung 2 zum Begriff: Eingeschlossen sind Vakuum- und Nonvakuum-Primärprobensammler.

Anmerkung 3 zum Begriff: Nach Richtlinie 98/79/EG des europäischen Parlaments und des Rates von 27. Oktober 1998 über *In-vitro*-Diagnostika, Amtsblatt der Europäischen Union L331, 7. Dezember 1998, Artikel 1, 2(b).

3.22

Eignungsprüfung

Bewertung der Leistung eines Teilnehmers nach zuvor aufgestellten Kriterien durch Vergleiche zwischen Laboratorien

[QUELLE: ISO 17043:2010, 3.7 modifiziert — Der Begriff und die Definition werden ohne die im Original vorhandenen Anmerkungen verwendet.]

3.23

RNA

Ribonukleinsäure

Polymer von Ribonukleotiden, das in Doppelstrangform oder in Einzelstrangform vorkommt

[QUELLE: ISO 22174:2005, 3.1.3]

3.24

RNase

Ribonuklease

Enzym, das den Abbau von RNA in kleinere Komponenten katalysiert

3.25

Raumtemperatur

Temperatur, die für die Anwendung dieses Dokuments als 18 °C bis 25 °C definiert ist

Anmerkung 1 zum Begriff: In lokalen oder nationalen Regulierungen können andere Definitionen festgelegt sein.

3.26

Probe

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

[QUELLE: ISO 15189:2012, 3.24, modifiziert — Das Beispiel wurde nicht übernommen.]

3.27

Stabilität

die Eigenschaft eines Probenmaterials, bei der Lagerung unter festgelegten Bedingungen einen bestimmten Merkmalswert innerhalb festgelegter Grenzwerte für eine festgelegte Zeitdauer aufrechtzuerhalten

[QUELLE: ISO Guide 30:2015, 2.1.15, modifiziert — Der Begriff „Referenzmaterial“ wurde durch „Probenmaterial“ ersetzt.]

Anmerkung 1 zum Begriff: Für die Anwendung dieses Dokuments ist der Analyt genomische DNA.

3.28

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: Der Begriff „validiert“ wird zur Bezeichnung des entsprechenden Status verwendet.

[QUELLE: ISO 9000:2015, 3.8.13, modifiziert — Anmerkung 1 und Anmerkung 3 wurden nicht übernommen.]

3.29

venöses Vollblut

direkt nach der Punktion einer Vene in der Regel mit einer Kanüle plus Spritze und mit einem Blutentnahmesystem entnommenes Blut

3.30

Verifizierung

Bestätigung durch Bereitstellung eines objektiven Beweises, dass festgelegte Anforderungen erfüllt worden sind

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

[QUELLE: ISO 9000:2015, 3.8.12, modifiziert — Anmerkung 1 und Anmerkung 2 wurden nicht übernommen.]

Anmerkung 2 zum Begriff: Die Bestätigung kann folgende Aktivitäten umfassen:

- Durchführung alternativer Berechnungen;
- Vergleich einer neuen Designspezifikation mit einer ähnlichen, bewährten Designspezifikation;
- Durchführung von Prüfungen und Demonstrationen; und
- Überprüfung von Dokumenten vor der Veröffentlichung.

3.31

Arbeitsablauf

Reihe von Aktivitäten, die zur Fertigstellung einer Aufgabe notwendig sind

4 Allgemeine Betrachtungen

Für allgemeine Aussagen über die Qualitätsmanagementsysteme von medizinischen Laboratorien und insbesondere über die Entnahme und Handhabung von Untersuchungsmaterial (einschließlich der Vermeidung von Kreuzkontaminationen), siehe ISO 15189:2012, 4.2, 5.4.4. Die Anforderungen an Laborausrüstungen, Reagenzien und Verbrauchsmittel nach ISO 15189:2012, 5.3 müssen befolgt werden; ISO 15189:2012, 5.5.1.2 und 5.5.1.3 können ebenfalls gelten.

Sämtliche Schritte eines diagnostischen Arbeitsablaufs können das endgültige Ergebnis der analytischen Untersuchung beeinflussen. Deshalb muss der gesamte Arbeitsablauf, einschließlich der Stabilitätsbedingungen für Biomoleküle und der Lagerbedingungen für Proben/Untersuchungsmaterial verifiziert und validiert werden. Schritte des Arbeitsablaufs, die nicht immer kontrolliert werden können, müssen dokumentiert und ihr Einfluss auf die Leistungsfähigkeit des Untersuchungsverfahrens muss untersucht werden. Außerdem müssen Minderungsmaßnahmen eingeführt werden, damit die erforderliche Leistungsfähigkeit des Untersuchungsverfahrens gewährleistet ist. In diesen Fällen wird eine Risikobewertung empfohlen.

Die Stabilität der genomischen DNA sollte während des gesamten präanalytischen Arbeitsablaufs überprüft werden. Nach der Blutabnahme können weitere Effekte auftreten, wie z. B. die Fragmentation der genomischen DNA [8].

Vor der Planung einer analytischen Untersuchung sollte daher geprüft und sichergestellt werden, dass die für die Untersuchung erforderliche Mindestmenge und Mindestgröße der genomischen DNA vom gesamten geplanten präanalytischen Arbeitsablauf nicht beeinträchtigt werden.

Sicherheitsverfahren für die Handhabung und den Transport müssen festgelegt sein. Internationale, nationale oder regionale Bestimmungen sind anwendbar.

Während des gesamten präanalytischen Arbeitsablaufs müssen Vorsichtsmaßnahmen getroffen werden, um eine Kreuzkontamination zwischen verschiedenen Proben/Untersuchungsmaterialien zu vermeiden, z. B. durch die Verwendung von Einwegmaterial, wo immer dies praktikabel ist, oder durch geeignete Reinigungsverfahren zwischen der Verarbeitung verschiedener Proben.

Wird ein handelsübliches Produkt nicht den Herstellerangaben entsprechend angewendet, liegt die Verantwortung für dessen Validierung, Verifizierung, Verwendung und Leistung beim Anwender.

5 Außerhalb des Labors

5.1 Entnahme von Untersuchungsmaterial

5.1.1 Informationen über den Probenspender/Patienten

Die Dokumentation muss die ID des Probenspenders/Patienten angeben, die in Form eines Codes vorliegen kann.

Die Dokumentation sollte unter anderem Folgendes umfassen:

- a) relevante Angaben zum Gesundheitszustand des Probenspenders/Patienten (z. B. gesund, Erkrankungsart, Begleiterkrankung, demographische Daten (z. B. Alter und Geschlecht));
- b) Informationen zur medizinischen Behandlung und zu evtl. Sonderbehandlungen vor der Blutabnahme (z. B. Anästhetika, Arzneimittel);
- c) die Art und den Zweck der angeforderten Untersuchung;
- d) die erforderliche Zustimmung des Probenspenders/Patienten.

Siehe auch EN ISO 15189:2012, 5.4.4.

5.1.2 Wahl des Entnahmeröhrchens für venöses Vollblut durch das Labor

Die Qualität genomischer DNA kann durch ungeeignete Verfahren zur Abnahme von venösem Vollblut, ungeeignete Lager- und Transportbedingungen sowie durch DNA-Isolierungsverfahren beeinflusst werden (z. B. DNA-Fragmentation) [9], [10], [11], [12], [13], [14], [15], [16].

Blut sollte mit für die Gewinnung von venösem Vollblut geeigneten Blutentnahmeröhrchen abgenommen werden, die ein Antikoagulans wie EDTA oder Acid-Citrate-Dextrose (ACD) [17] enthalten, und ihre Katalog- und Chargennummer sollte dokumentiert werden.

ANMERKUNG Blutentnahmeröhrchen, die EDTA als Antikoagulans enthalten, sind für die meisten Untersuchungen an genomischer DNA vorzuziehen. Blutentnahmeröhrchen, die Heparin als Antikoagulans enthalten, können die Reinheit der isolierten genomischen DNA beeinträchtigen, wenn zur Isolation der genomischen DNA Verfahren zum Einsatz kommen, bei denen das Heparin nicht entfernt wird. Die Verschleppung von Heparin in das Eluat der genomischen DNA kann zur Inhibition bei Untersuchungstechniken wie der PCR führen.

Insbesondere sind auch speziell entwickelte Blutentnahmeröhrchen verfügbar, die die genomische DNA stabilisierende Substanzen enthalten und mit denen sich die Abnahme, der Transport und die Lagerung von venösem Vollblut standardisieren lassen.

5.1.3 Entnahme von venösen Vollblutproben bei Spendern/Patienten und Stabilisierungsverfahren

- 1) Die Identität der Person, die das Untersuchungsmaterial entnimmt, sowie Uhrzeit und Datum der Blutabnahme müssen nach ISO 15189:2012, 5.4.4.3, f) dokumentiert werden.
- 2) Für die Kennzeichnung (Identifizierung der Probe/des Untersuchungsmaterials) des Blutentnahmeröhrchens muss ein Routineverfahren (ISO 15189:2012, 5.4.4.3, e)) oder ein Verfahren mit zusätzlichen Informationen (z. B. 2D-Barcode) angewendet werden.

- 3) Es können Standardtechniken für die Punktion von Venen angewendet werden. Es können Maßnahmen zur Verhinderung eines möglichen Rückfließens in den Körper des Spenders/Patienten erforderlich sein. Die Anweisungen des Herstellers zum Gebrauch der Blutentnahmeröhrchen müssen befolgt werden. Ein Blutentnahmesystem und ein Kanülenhalter können erforderlich sein, wenn Röhrchen verwendet werden, die Substanzen zur Stabilisierung der genomischen DNA aus Blut (im Folgenden „Genom-DNA-Stabilisatoren“ genannt) enthalten. In diesem Fall müssen die Anweisungen des Herstellers des Blutentnahmesystems und des Kanülenhalters befolgt werden.

ANMERKUNG Es ist kein spezieller Effekt des Verfahrens zur Abnahme von venösem Vollblut auf die genomische DNA bekannt. Daher können Routineverfahren angewendet werden.

- 4) Blutentnahmeröhrchen müssen nach den Anweisungen des Herstellers gefüllt werden, und es sollte auf die korrekte Positionierung des Entnahmeröhrchens während der Blutabnahme sowie auf das erforderliche Volumen geachtet werden.
- 5) Die Anweisungen des Herstellers der Blutentnahmeröhrchen für das Mischen oder Umdrehen des Röhrchens unmittelbar nach der Blutabnahme müssen befolgt werden. Das Mischen oder Umdrehen des Blutentnahmeröhrchens muss vorsichtig erfolgen.

ANMERKUNG Werden die Zusätze in den Blutentnahmeröhrchen mit dem Untersuchungsmaterial nicht homogen gemischt, kann die Qualität der genomischen DNA beeinträchtigt werden. Dies kann wiederum die Validität und die Zuverlässigkeit der Untersuchungsergebnisse beeinflussen.

- 6) Jede Manipulation des Untersuchungsmaterials und/oder das Hinzufügen von Substanzen zum Untersuchungsmaterial muss dokumentiert werden.

5.1.4 Informationen zum Untersuchungsmaterial und Anforderungen an die Lagerung in der Blutentnahmeeinrichtung

5.1.4.1 Allgemeines

Genomische DNA aus Blut kann nach der Blutabnahme fragmentiert oder abgebaut werden (Bild A.1), was die Validität und Zuverlässigkeit des Untersuchungsergebnisses beeinträchtigen kann (Bild A.2). In der Dokumentation zum Untersuchungsmaterial muss daher das Datum festgehalten werden und die Uhrzeit der Blutabnahme sollte ebenfalls berücksichtigt werden [17].

Bei Untersuchungsmaterial, das für die Langzeitlagerung in einer Biobank vorgesehen ist, ist in der Regel nicht bekannt, welche Untersuchungen an der genomischen DNA nach der langfristigen Lagerung im Einzelnen vorgenommen werden. Daher sollten entweder Röhrchen mit Genom-DNA-Stabilisatoren verwendet werden, oder wenn Röhrchen ohne Genom-DNA-Stabilisatoren verwendet werden, sollten die Empfehlungen für HMW-DNA befolgt werden (siehe Tabelle 1 und 5.1.4.3.2).

Die Dauer der vorübergehenden Lagerung in der Blutentnahmeeinrichtung zählt zur Gesamtlagerdauer.

5.1.4.2 Verwendung von Blutentnahmeröhrchen mit Stabilisatoren

Bei der Lagerung des in Blutentnahmeröhrchen mit Genom-DNA-Stabilisatoren entnommenen Untersuchungsmaterials müssen die Anweisungen des Herstellers der Blutentnahmeröhrchen zu den Lagerbedingungen befolgt werden (z. B. Temperatur und Dauer der Lagerung). Sind die Anweisungen des Untersuchungsdienstleisters strikter, müssen diese befolgt werden. Die Lagerbedingungen (d. h. Temperatur und Dauer der Lagerung) müssen dokumentiert werden.