



TMF-Symposium Biomaterialbanken, 27. April 2006

Qualitätsanforderungen
Vom Konzept zu praktischen Anwendung
Proben gewinnen, lagern, verfügbar machen

Teilprojekt 4 „Organisation und QM von Biomaterialbanken“
des TMF-Projekts „Generisches Konzept
für den Aufbau und Betrieb von Biomaterialbanken“

Michael **Kiehntopf**, Kompetenznetz Sepsis, Institut für Klinische Chemie, Jena
Klas **Böer**, Institut für Klinische Chemie, Jena



Biobank Project of TMF

obstacles

obstacles of the availability of high quality biomaterials in multi-centre studies

influences that may enact adverse effects on the quality of laboratory investigations, such as

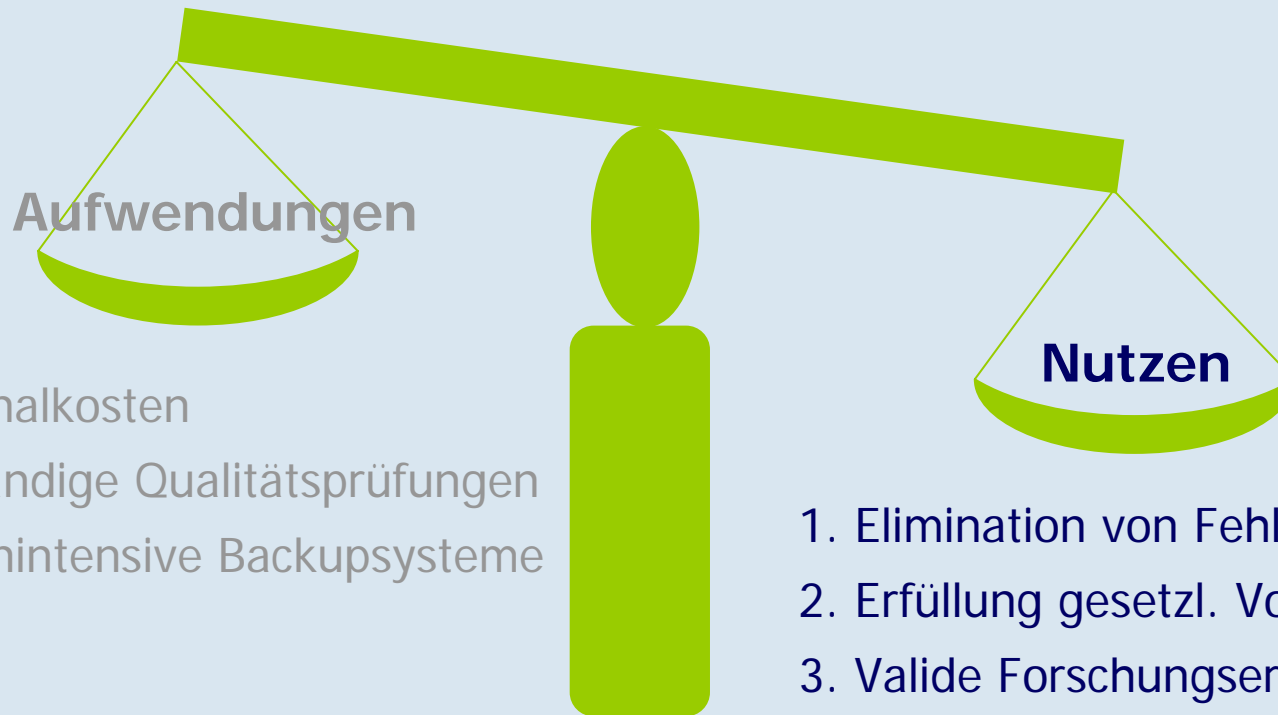
↳ heterogeneous environments affecting the pre-analytical process of

- sample collection
- sample handling and
- transport of specimen

↳ factors that determine the process of

- sample storage
- and distribution

↳ etc.



- 1. Personalkosten
- 2. Aufwändige Qualitätsprüfungen
- 3. Kostenintensive Backupsysteme
- 4. ...

- 1. Elimination von Fehlerquellen
- 2. Erfüllung gesetzl. Vorgaben
- 3. Valide Forschungsergebnisse
- 4. Attraktivität für Dritte bei Proben- und Ergebnisweitergabe
- 5. Sicherstellung der Langlebigkeit
- 6. ...



Ziele des Teilprojekts

- Sichtung und strukturierte Aufarbeitung relevanter Anforderungen und Vorgaben
- Erstellung einer kommentierten Checkliste
 - Teilaspekte:
 - Probensammlung
 - Probenverarbeitung
 - Probenlagerung
 - Probenrückgewinnung
 - Dokumentation
- Erstellung von Items zur Umsetzung der Checkliste
- Erstellung einiger Musterstandardarbeitsanweisungen

1. Planung und Aufbau

5. Material-Wiederfindung/-Verwendung/-Weitergabe

- 5.1.1 Allgemeine Qualitätssicherungsaspekte bei der Probenrückgewinnung
- 5.1.2 Sicherstellung einer eindeutigen Probenidentifikation bei der Rückgewinnung
- 5.1.3 Dokumentation der Materialentnahme
- 5.1.4 Überprüfung und Dokumentation der Probenqualität und der Lagerungsqualität nach Langzeitlagerung
- 5.1.5 Maßnahmen bei Feststellung einer fehlerhaften Einlagerung (Identifikationsfehler, Qualität)
- 5.1.6 Kriterien für die zweckentsprechende Verwendung bzw. Sperrung einer Probe nach Langzeitlagerung
- 5.2.1 Vertragliche Regelungen bei der Verwendung von Biomaterial innerhalb der BMB
- 5.2.2 Organisatorische Umsetzung der vertraglichen Regelungen innerhalb der BMB
- 5.3.1 Notwendige und freiwillige vertragliche Regelungen beim Probenzugang durch Dritte
- 5.3.2 Organisatorische Umsetzung der vertraglichen Regelungen zwischen Biobank und Nutzer
- 5.3.5 Kriterien zur Überprüfung der Qualität einer Probe vor Abgabe an Dritte
- 5.3.6 Dokumentation der Abgabe einer Probe an Dritte (Art, Menge, Qualität, Empfänger)
- 5.3.7 Informationen für Empfänger bei der Abgabe einer Probe an Dritte
- 5.3.8 Inhalt des Materialtransferagreements bei Weitergabe von Proben an Dritte
- 5.3.9 Auflistung und Dokumentation einzuhaltender Transportbedingungen beim Versenden einer Probe an Dritte

Transport, Lagerung und Verarbeitung Materialien

■ **Venipuncture**

- Needle gauge
- Details of blood collection set

■ **Phlebotomy**

- Tourniquet technique
- Patient position: seated/standing/lying
- Tube order- first *versus* last
- Blood source: venipuncture or from existing line

■ **Collection device**

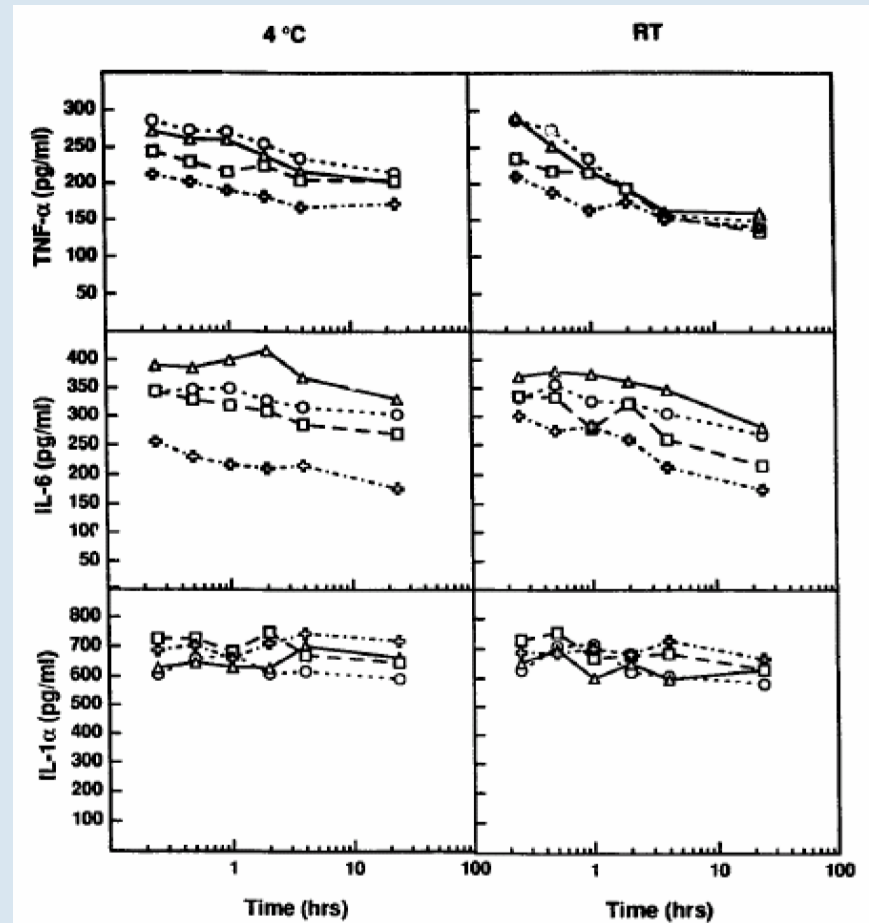
- Tube or bag
- If tube, glass or plastic
- Gel or non-gel separator
- Other tube additives
- Manufacturer & device information

■ **Blood derivative and processing**

- Sample type- plasma versus serum
- If plasma, nature of anticoagulant; EDTA, citrate, heparin
- If serum, clotting procedure used, and/or type of clot activator
- Details of processing: time, protocol ect.
 - Separation of blood from cells
 - Centrifugation, speed & duration
 - Aliquotting before analysis, and handling/storage of those aliquots, *e.g.*, time and temperature conditions
 - Length of time before analysis

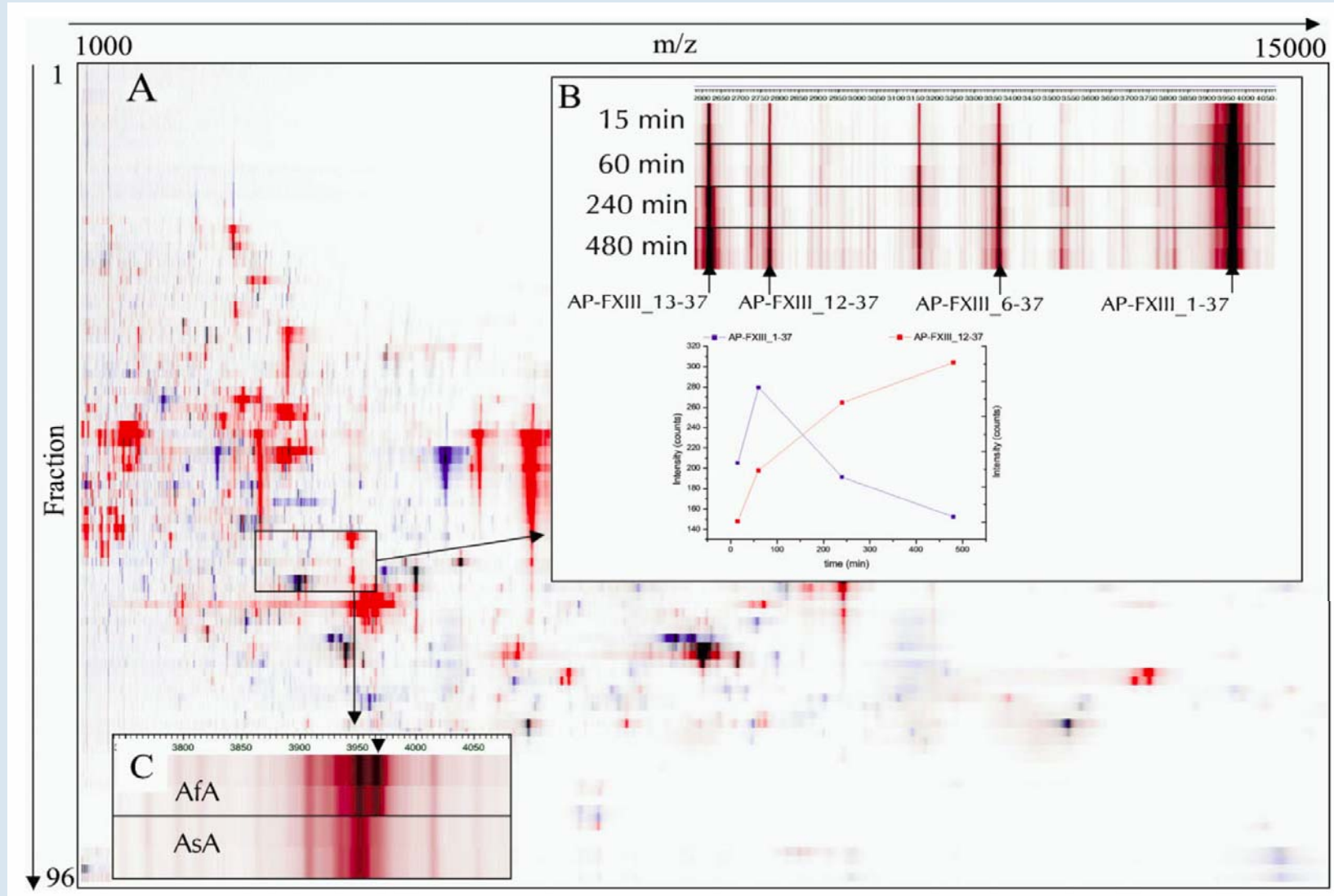


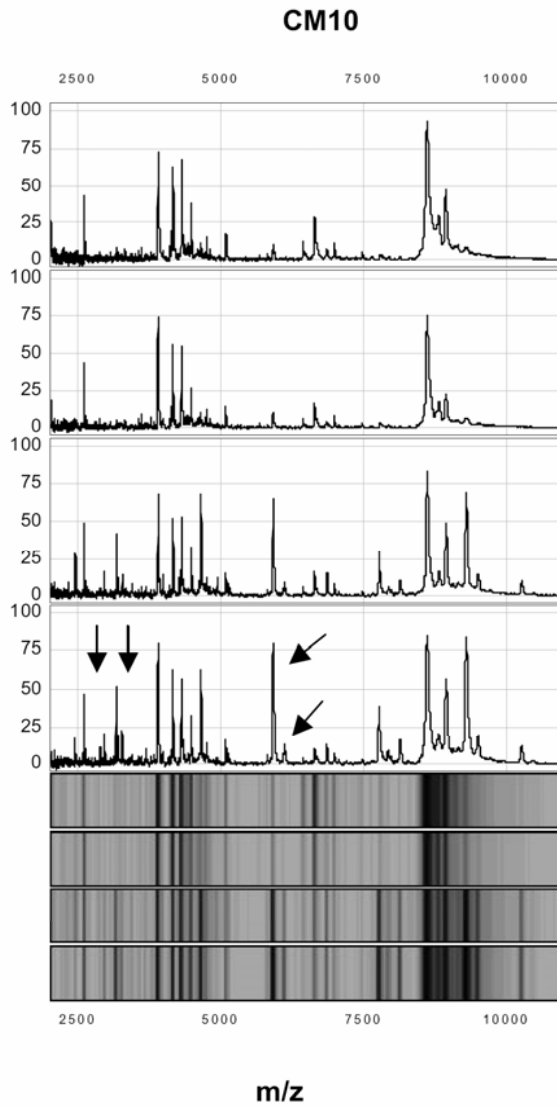
Tasks of sp4 organization and quality control of BMB: importance preanalytical conditions time before separation of blood / anticoagulants



○ EDTA/Trasylool + EDTA △ heparin + serum





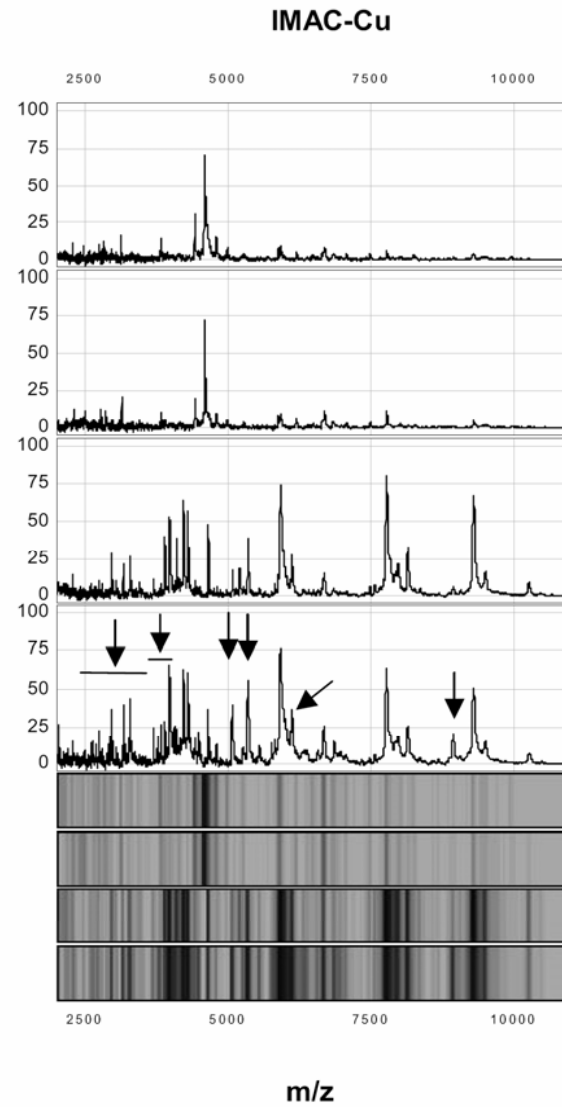


Citrate 0

Citrate 240

Serum 0

Serum 240



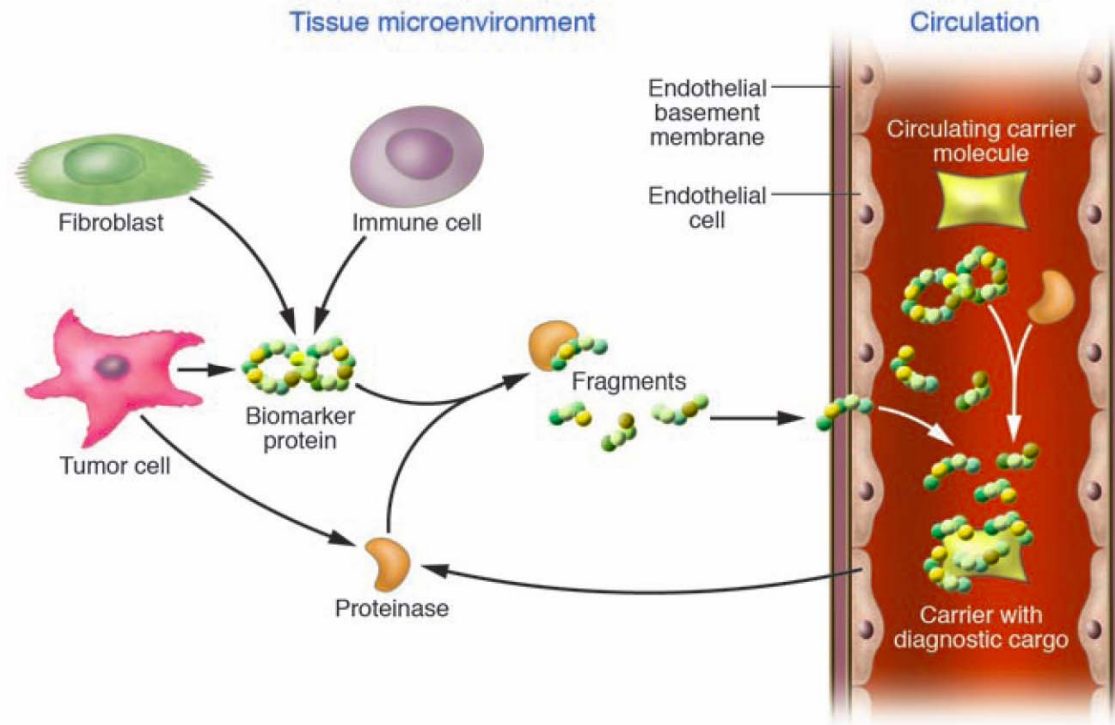
Citrate 0

Citrate 240

Serum 0

Serum 240







Pre-Analytical variables: Clotting time - Serum peptidome for cancer detection -

	Prostate	Bladder	Breast
FPA	1536.68 1465.65 1350.64 1263.60 1206.57 1077.53 1020.47 905.50 758.45		ADSGEGDPLABGGGVR DSGEGDPLABGGGVR SGEGDPLABGGGVR EGGDFLABGGGVR EGDPLABGGGVR GDPLABGGGVR DFLABGGGVR FLABGGGVR LABGGGVR
Fibrinogen α	3261.43 (K) 3190.36 (K) 2931.20 (K) 2768.26 (K) 2553.01 (K) 2379.03 (K) 2816.25 (R) 3239.22 (R) 2659.03 (R) 2021.06 1864.95 1777.93 1690.90 1562.84 1449.76 1348.70 1211.70 1055.60 942.43 1751.88	(K) SSSYSKQFTSSTSYNRGDSFESKSYKM (K) SSSYSKQFTSSTSYNRGDSFESKSYK (K) SSSYSKQFTSSTSYNRGDSFESKSY (K) SSSYSKQFTSSTSYNRGDSFESK (K) SSSYSKQFTSSTSYNRGDSFES .SSYSKQFTSSTSYNRGDSFES (R) GSEGLPTNKESSSHPCIAEFPSSG (K) SYKMADEAGSEADHEGTHSTKRGKAKSRPV (R) DEAGSEADHEGTHSTKRGKAKSRPV (R) SSKITHRIHWESASLLR SSKITHRIHWESASLL SSKITHRIHWESASLL KITHRIHWESASLL ITHRIHWESASLL THRIHWESASLL HRHWESASLL RIHWESASLL IHWESASLL HWESASLL SSKITHRIHWESASL..	
C3f	1895.99 1739.93 1626.85 1498.91 3200.52 (R) 2704.13 (R) 2305.20 (R) 1762.87 (R) 998.45 2183.91 3970.97 3272.50 2724.48 2627.48 2358.09 2271.14 2028.01 1786.86 842.4 3156.52 (R) 2115.00 (R) 3377.45 (R) 1807.78 (R) 3182.46 (R) 1971.16 (R) 2052.89 (K) 2508.16 2755.20 (K) 1927.94 1771.81 2565.45 (R) 2409.13 (R) 1277.71 822.41 1060.57 904.48 2209.08 (R) 1943.88 (R) 2126.94 (R) 2602.15 (R) 2451.11 (K)	(R) NGFKSHALQLMNRQI (R) (R) NGFKSHALQLMNRQI (R) (R) NGFKSHALQLMNRQ. (R) NGFKSHALQLMNR. (R) GLEELQLFSLGSKINVKVGGNSKGLVLR (R) GLEELQLFSLGSKINVKVGGNSKGL (R) GLEELQLFSLGSKINVKVGGNS (R) GLEELQLFSLGSKINVKVGGNS HAAYHFFR QLGLPGPPVDPDHAAYHFFR (R) QAGAAGSRMNRPGVLSSRQLGLPGPPVDPDHAAYHFF. NMFRPGVLSSRQLGLPGPPVDPDHAAYHFF. PGVLSSRQLGLPGPPVDPDHAAYHFF. GVLSRQLGLPGPPVDPDHAAYHFF. SSRQLGLPGPPVDPDHAAYHFF. SRQLGLPGPPVDPDHAAYHFF. QLGLPGPPVDPDHAAYHFF. GLPGPPVDPDHAAYHFF. HAAYHFF. (R) NVHSGSTFFKYLQGAKIFKPRASFSR (R) NVHSGAAGSRMNRPGVLSS (R) (R) AELQSGARQLHELQKLSPLGEEM_RDR (R) (R) ELQSGARQLHELQ (R) QGLLPVLESFRVSLSALEETKLMQ (R) VSLSALEETKLMQ (R) ATEHLSTLSEKAPLEDL (R) ISASAKELQRLAPLAEVDVGRHL (K) (K) GNTQLQNSLAELGGHLDQVVEFR SLAELGGHLDQVVEFR SLAELGGHLDQVVEFR (R) AATVGLAGQPLQERAQAWGERLR (R) AATVGLAGQPLQERAQAWGERL. HFFPKSRIV (R) HFFPK RPPGSPFR RPPGSPF. (R) KRNLGCHGKHERDQCHGRQ (R) (R) NLGNGHCHGKHERDQCHGRQ (R) (R) GBGLGCHGQHQGLGCHGK (R) (R) AVFPNMSAEDDLPTVELQGVVPR (K) ALGISPFHERAEVFTANDSGPR	

Peptide (m/z)	Norm. intensity Controls (median)	Ratio of medians (patients/controls)			P value Mann-Whitney			P value Kruskal-Wallis Multiclass
		Prostate	Bladder	Breast	Prostate	Bladder	Breast	
1536.68	979	0.58	0	0.54	1.08E-04	2.52E-10	1.38E-04	5.10E-12
1465.65	5134	0.66	0.55	0.8	1.44E-05	1.25E-11	0.128	1.88E-07
1350.64	4497	0.47	0.46	0.35	1.01E-15	4.50E-13	4.02E-05	1.38E-14
1263.60	3272	0.2	0.24	0.23	6.48E-17	3.05E-10	2.95E-05	2.74E-16
1206.57	4517	0.5	0.44	0.69	4.18E-06	1.30E-12	0.0654	1.31E-09
1077.53	3702	0.54	0.5	0.95	2.94E-11	7.65E-13	0.683	1.97E-14
1020.47	4019	0.28	0.28	0.47	1.34E-11	2.80E-13	0.0323	1.67E-13
905.50	3982	0.97	0.73	1.48	0.578	1.49E-09	1.62E-09	4.11E-08
758.45	426	0.66	0.95	0.65	5.47E-05	6.48E-05	0.448	1.25E-08
3261.43	4055	0.33	0.08	0.74	7.63E-12	1.82E-13	0.875	6.77E-21
3190.36	2189	0.52	0	0.94	7.74E-07	1.95E-13	0.499	3.76E-17
2931.20	2537	1.24	0.13	0.97	0.416	4.19E-11	0.937	5.39E-09
2768.26	1871	0.77	0.03	0.98	0.0514	8.42E-11	0.695	8.37E-11
2553.01	1333	1.25	1.31	1.5	0.163	0.101	0.0837	6.71E-08
2379.03	351	1.57	0.22	1.71	2.37E-04	1.25E-10	1.43E-04	1.54E-16
2816.25	1	68	223	1	5.35E-03	6.86E-13	0.627	2.18E-15
3239.22	1	1	1	1	0.316	0.82	0.906	0.575
2659.03	144	1.37	1.18	2.45	0.0205	0.254	2.70E-14	3.78E-08
2021.06	4775	1.05	0.86	0.93	0.193	0.147	1	0.041
1864.95	1219	2.18	3.33	0.3	1.80E-05	3.34E-11	1.39E-05	2.17E-19
1777.93	232	4.37	7.7	0.96	5.29E-07	1.60E-09	0.522	1.85E-15
1690.90	196	4.05	6.85	1.01	1.64E-04	8.23E-11	0.4	4.77E-13
1562.84	789	0.79	1.13	0.54	0.46	0.0904	6.15E-10	3.64E-08
1449.76	1	1885	2646	437	6.86E-07	6.37E-10	0.852	1.98E-14
1348.70	177	7.86	10.8	0.01	8.63E-04	9.43E-08	0.251	8.69E-11
1211.70	1	227	1051	1	5.29E-07	1.80E-13	8.13E-03	1.22E-13
1055.60	942.43	542	1.74	5.18	1.01E-03	7.65E-13	8.08E-08	6.77E-21
942.43	110	1.82	5.7	1.36	0.0103	4.50E-13	0.389	9.48E-13
1751.88	819	1.27	3.33	2.95	0.0153	4.60E-13	1.64E-06	9.14E-17
1895.99	1020	0.75	0.66	2.76	0.0758	0.12	3.92E-06	2.84E-08
1739.93	274	1.09	0.88	2.78	0.288	1	8.60E-08	4.28E-10
1626.85	1	1	809	1	0.0525	2.83E-15	0.429	5.31E-15
1498.91	1	1	1	1	0.46	0.0181	0.389	0.0349
3200.52	1	61	49	133	0.0338	0.0243	1.79E-07	2.17E-06
2704.13	54	3.75	2.56	3.49	5.53E-08	1.76E-05	1.09E-06	7.90E-10
2305.20	95	1.62	0.01	3.16	0.288	7.48E-06	3.00E-11	2.32E-13
1762.87	1	121	256	147	1.80E-05	2.15E-08	0.72E-08	7.92E-09
998.45	233	1.71	1.79	2.83	6.59E-07	2.21E-04	1.49E-08	9.87E-11
2183.91	1	1	957	1	1.00	5.98E-06	0.29	2.68E-09
3970.97	1	1	1277	1	0.0122	2.44E-14	0.887	2.82E-14
3272.50	93	1.75	6.17	1.64	5.99E-06	4.48E-09	4.31E-04	9.52E-13
2724.48	88	2.24	0.26	1.07	0.0235	3.31E-09	0.887	8.19E-06
2627.48	100	100	73	531	3.68E-04	4.39E-03	8.87E-08	8.05E-13
2358.09	177	4.58	2.64	1.46	7.63E-12	5.29E-06	0.0981	3.08E-13
2271.14	1	1	265	1	1	0.0181	0.8	0.0314
2028.01	97	2.39	2.88	2.3	0.0185	0.00333	1.01E-04	2.59E-03
1786.86	96	1.49	0.01	1.04	5.87E-06	1.01E-04	0.245	2.73E-12
842.4	134	3.43	10.68	1.33	2.62E-12	7.04E-10	0.198	1.74E-19
3156.52	95	3.22	12.23	10.61	2.36E-07	2.75E-11	8.10E-05	5.82E-18
2115.00	1	1	1	1	1	0.887	0.625	0.879
3377.45	1	1	1	1	1	0.0484	0.329	0.158
1807.78	130	0.74	6.36	1	0.0228	7.64E-08	0.923	1.38E-09
3182.46	1	1	641	1	0.989	4.10E-09	0.424	1.89E-10
1971.16	1	105	306	1	4.91E-04	4.50E-13	0.127	5.75E-12
2052.89	117	1.38	1.2	7.96	0.0101	0.0029	8.16E-10	5.60E-14
2508.16	89	1.11	12.35	1.22	0.605	1.95E-07	0.533	3.06E-07
2755.20	1	79	671	1	0.0241	6.60E-14	0.12	1.47E-16
1927.94	1	148	220	1	0.0418	1.20E-07	0.443	3.05E-05
1771.81	1	1	902	1	0.532	2.81E-07	0.105	4.26E-13
2565.45	1	97	2124	109	8.82E-04	3.52E-12	6.77E-03	7.39E-13
2409.13	1	251	1406	1	4.81E-09	1.95E-13	0.434	5.74E-20
1277.71	178	1.15	4.66	0.76	0.11	3.20E-12	7.42E-03	3.24E-15
822.41	3972	0.77	0.43	1.9	4.89E-04	1.03E-12	1.03E-11	9.04E-24
1060.57	4265	1.06	0.79	1.62	0.593	3.12E-07	7.39E-10	3.65E-14
904.48	100	1.72	2.07	1.56	0.00215	2.19E-05	0.625	1.37E-04
2209.08	1	158	141	1	1.03E-05	1.26E-06	0.779	1.18E-09
1943.88	1	1	1	71	0.453	0.639	4.66E-03	0.0286
2126.94	168	2.84	2.3	4.73	1.43E-08	0.0317	8.00E-07	6.60E-10
2602.15	58	0.02	1.17	3.07	0.64	0.396	4.08E-07	4.49E-05
2451.11								



Item 2.1.2.: Aspekte zur Probenverarbeitung am Entnahmeort in Abhängigkeit vom Material

Bewertung der Relevanz:	Notwendig
Gesetze/Regularien/Norm	Keine Angaben
Empfehlung Richtlin	Bewertung:

Biomaterialien können bereits während der Abnahme oder zumindest vom Zeitpunkt der Abnahme bis zum Zeitpunkt der Einlagerung in die Biobank Veränderungen unterliegen. In Abhängigkeit von der Struktur der Biomaterialbank (insbesondere Modell 2) kann daher die Notwendigkeit bestehen, bestimmte Parameter bereits am Ort der Entnahme zu messen, bzw. eine erste Verarbeitung der Proben durchzuführen um diese in eine stabilere Form (z.B. Extraktion von RNA, Trennung von Zellen und Plasma) zu überführen um eine anschließend Zwischenlagerung des Biomaterial am Ort der Entnahme zu ermöglichen ([Item 2.1.4.](#)) .

metastatic breast tumor to a lymph node, and/or (breast tissue), and the time of specimen resection and collection.

- Samples requiring snap freezing can be frozen in a Dewar of liquid nitrogen or on dry ice at the time of collection. Otherwise, it is recommended that samples be transported in saline, on wet ice, to the repository laboratory for additional processing.
- If a frozen section is cut for diagnostic reasons, then the Repository staff should make every effort to obtain an extra slide for QC. If sufficient amounts of tissue are available following a diagnosis, the Repository staff should save some of the tissue as snap frozen, and an adjacent section for making a paraffin block that will become the property of the Repository. An H&E slide can then be cut from each paraffin block that will serve as the QC for that specimen. If insufficient amounts of tissue are provided by the pathologist

serum or plasma should remain at +15°C to +30°C no longer than 8 hours. If assays are not completed within 8 hours, serum or plasma should be stored at +2°C to +8°C. If assays are not completed within 48 hours, or the separated sample is to be stored beyond 48 hours, samples should be frozen at -15°C to -20°C. Frozen samples should be thawed only once. Analyte deterioration may occur in samples that are repeatedly frozen and thawed (NCCLS Guidelines). However, there are data to suggest that many of these assays can be performed within 24 hours on whole blood chilled at

core set of assays
 out on all assays

Vollblut nicht
 nene Probe
 r zu belassen.

in 90°
 a nur hier die
 cel zur Röhrenwand
 gefahr mit dem
 ennahmen von
 (d. Verf.) vermindert.
 sollte die Probe
) g zentrifugiert

en, ist das
 ler Heparinblut)
 zu zentrifugieren.
 asma sollte die

temperatur in der Keger nicht unter 15°C sinken und nicht über 24°C steigen.

Wissenschaftl. Publikationen

[Holland et al., 2003] 5.4.6. Degradation: Proteins are sensitive to degradation by proteases, particularly if cell integrity has been compromised. Protein integrity is protected by addition of commercially available protease inhibitors ... to the sample immediately after collection. ... protease inhibitors are toxic to live cells... Furthermore, all steps during protein handling must take place on ice. RNA is also particularly sensitive to degradation by abundant and ubiquitous RNAses. RNA integrity is secured with RNase-free handling and addition of commercially available RNase inhibitors. Unlike proteins, however, RNA is not protected at low temperatures. In contrast, DNA is the most stable component in biological samples. The stability of DNA allows it to be retrieved and analyzed from dried bodily fluids, clotted blood, from Guthrie cards, dried blood smears on slides, or from clothing, as is often the case in forensic investigations.

5.4.5. Sterility
 The requirement for aseptic conditions during the collection process is essential if

**Standardvorgehen/
-lösung**

Es wird empfohlen, so weit möglich eine zentrale Verarbeitung der Biomaterialien durchzuführen und diese schnellstmöglich von der Entnahmestelle in die Biomaterialbank zu überführen (siehe Item 3.2.1 – 3.2.8). Bei Bedarf kann die Primärprobe in Teilproben geteilt werden, die unter unterschiedlichen Bedingungen aufbewahrt werden können. Ist eine Verarbeitung am Ort der Entnahme notwendig so werden folgende Verarbeitungsschritte empfohlen:

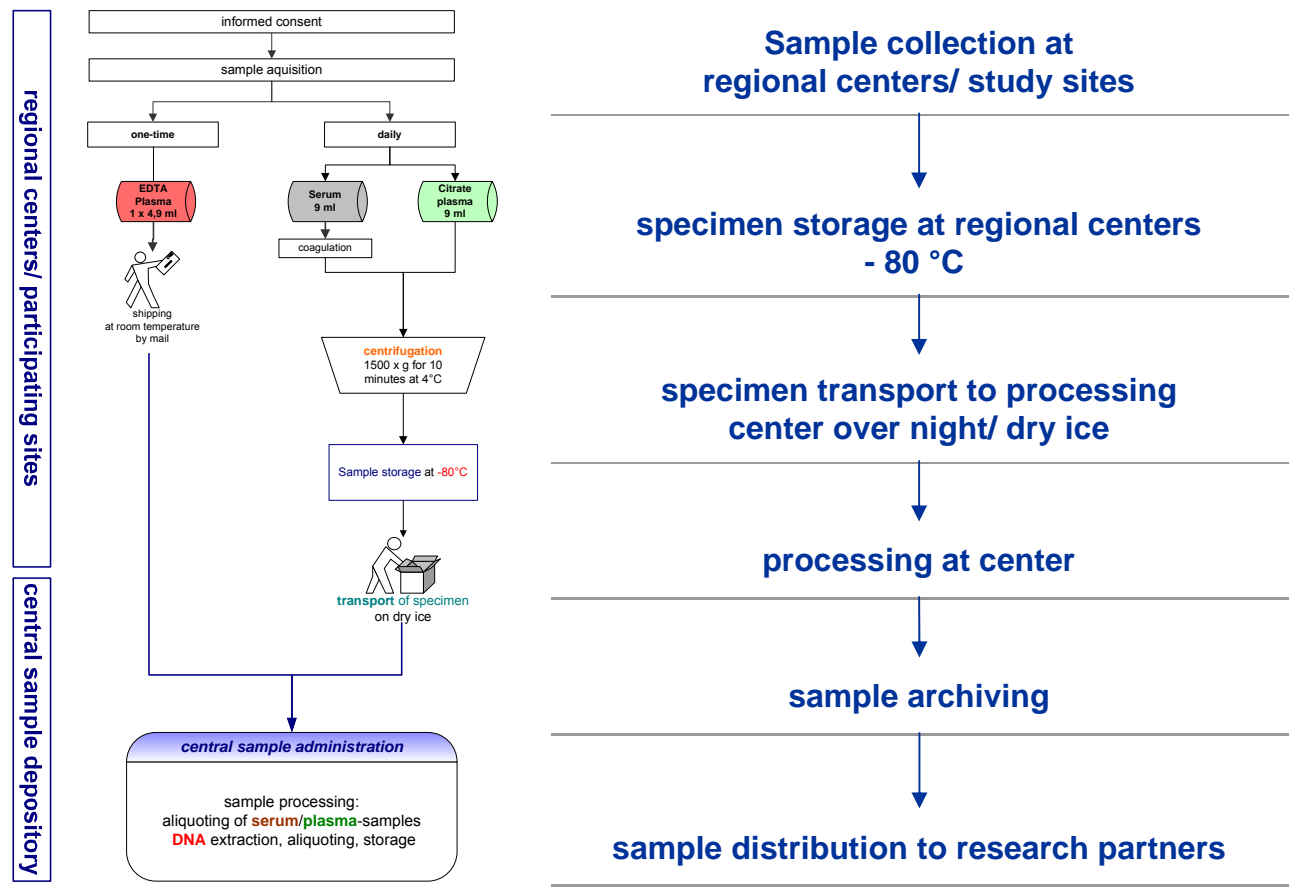
3. Anfertigung von histologischen Präparaten
4. Auftragen des Materials auf Trägerstoffe (z.B. Trockenblutkarten)
5. Überführung von Gewebeproben in sterile Behälter mit physiol. Kochsalzlösung
6. Kryokonservierung
7. Kontrolle und EDV-gestützte Dokumentation der Probenqualität, falls die Probe nach der Verarbeitung eingefroren wird

Für die Verarbeitung der Proben sind Standardarbeitsanweisungen zu erstellen und am Ort der Verarbeitung zur Verfügung zu stellen. Alternativ kann die Verarbeitung im Handbuch für die Primärprobenentnahme (siehe [Item 2.1.1.](#)) beschrieben werden. Die Verarbeitung muss in einer Form erfolgen, durch die Kontamination und Degradation der Proben und Biomarker vermieden werden.



SepNet Biomaterialbank

Sepsis: *specimen flow*



GEFÖRDERT VOM



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung



Universitätsklinikum Jena

seit 1558

Item 3.1.1: Qualitätssichernde Maßnahmen beim Probentransport (Probenqualität, -homogenität)

Standardvorgehen/-lösung

Grundsätzlich gilt, dass das Primärmaterial ohne Verzögerung zum Ort der Verarbeitung bzw. Einlagerung gebracht werden sollte. Es wird empfohlen ein kommerzielles Transportunternehmen zu beauftragen und vom Aufbau eines eigenen Probentransportsystems abzusehen. Entsprechend der Stabilität einzelner Biomarker sollte mit dem Transportunternehmen eine ein- oder mehrmalige Abholung der Proben vereinbart werden. Ein Transport bei 4°C erhält die Stabilität der meisten Biomarker, wobei die Transporttemperatur für jeden Biomarker nach den in [Item 2.1.4.](#) erwähnten Vorgaben überprüft und für das jeweilige Material festgelegt werden sollte. Während des Transports sollte eine Überwachung der Transportbedingungen z.B. elektronische Überwachung der Temperatur der Probe im Transportgefäß während des gesamten Probentransports erfolgen und diese dokumentiert werden ([Item 3.1.4.](#)). Während des Transports sollte der Standort des Probenmaterials jederzeit über ein „Tracking“-System zu verfolgen sein. Das Personal sollte in der Verpackung des Materials, dem korrekten Ausfüllen der Transportunterlagen geschult sein und alle Sicherheitsrelevanten Informationen zum regelrechten Umgang mit dem Material verfügbar haben. Der Versand und der Probeneingang muss dokumentiert werden (siehe [Item 3.1.4.](#)).

Die gesetzlichen Vorgaben sind nicht Inhalt dieses Items.



Item 2.1.6: Organisation der eindeutigen Probenidentifikation und -zuordnung

Bewertung der Relevanz:	Notwendig
Gesetze/Regularien/Normen	Keine Angaben
Empfehlungen/Delegationen	RAND (Summary XX) The use of common data elements and standardized terminology for data collection procedures allows

Zentrale Probenbank: Anforderungsbeleg / Serum / Plasma



Standardvorgehen/ -lösung

Proben müssen zu jedem Zeitpunkt eindeutig identifizierbar und zuordenbar sein. Wesentliche Voraussetzung für ein effizientes Identifizierungssystem ist eine EDV-gestütztes, barcodebasiertes Nummernvergabesystem, wobei dieses dem anzuwendende Datenschutzkonzept anzupassen ist. Es existieren 1D-, 2D- und 3D-Barcodesysteme, wobei 2D- und 3D-Systeme den Vorteil einer höheren Informationsdichte, einer Verkleinerung und damit einer verbesserten Nutzbarkeit (z.B. Fixierung am Boden des Probengefäßes) haben. Es wird als Mindeststandard die Nutzung eines 2D-Barcodesystems empfohlen. Werden Proben geteilt, so erhalten die Proben weitere LabID's (LabID_1,2,3...). Eine Zuordenbarkeit zur ursprünglichen LabID muss jederzeit gewährleistet sein. Auch die LabID_1,2,3... müssen von der Probenbank vergeben werden.

verbesserten Nutzbarkeit (z.B. Fixierung am Boden des Probengefäßes) haben. Es wird als Mindeststandard die Nutzung eines 2D-Barcodesystems empfohlen.

Werden Proben geteilt, so erhalten die Proben weitere LabID's (LabID_1,2,3...). Eine Zuordenbarkeit zur ursprünglichen LabID muss jederzeit gewährleistet sein. Auch die LabID_1,2,3... müssen von der Probenbank vergeben werden.

Modellabhängige Besonderheiten

Für alle drei Modellkonzepte wird das gleiche Standardvorgehen empfohlen.

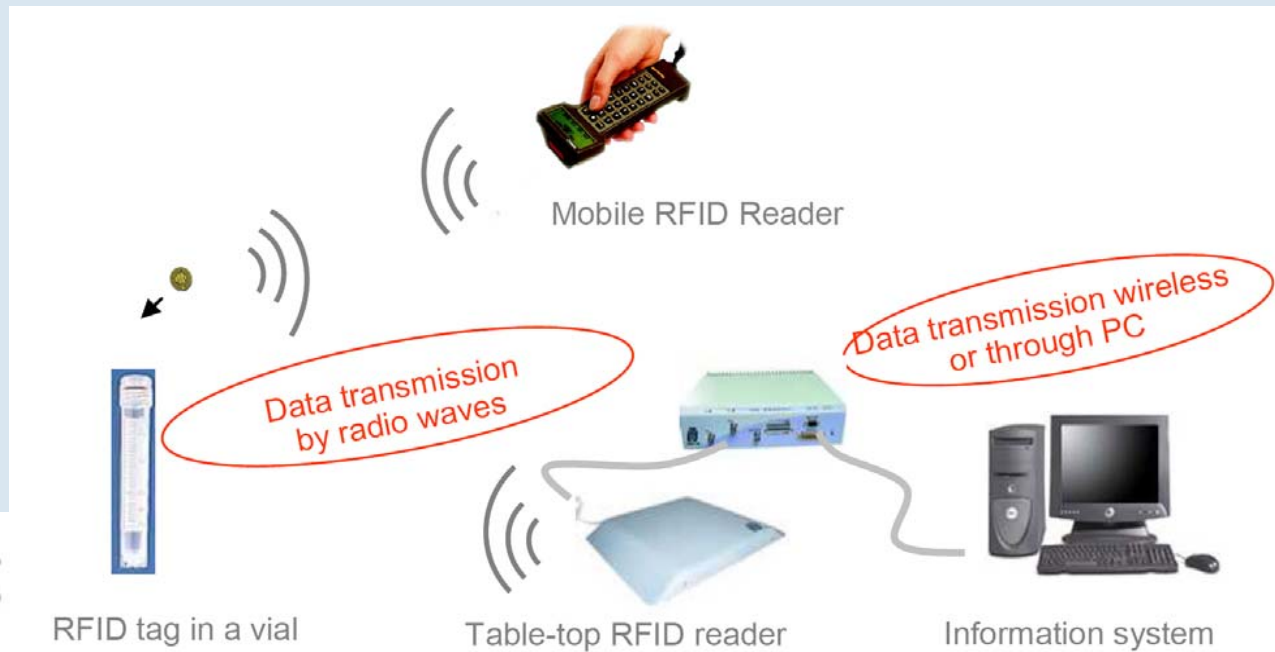




Sample Tracking: RFID-Based Management Solution for Biobanks



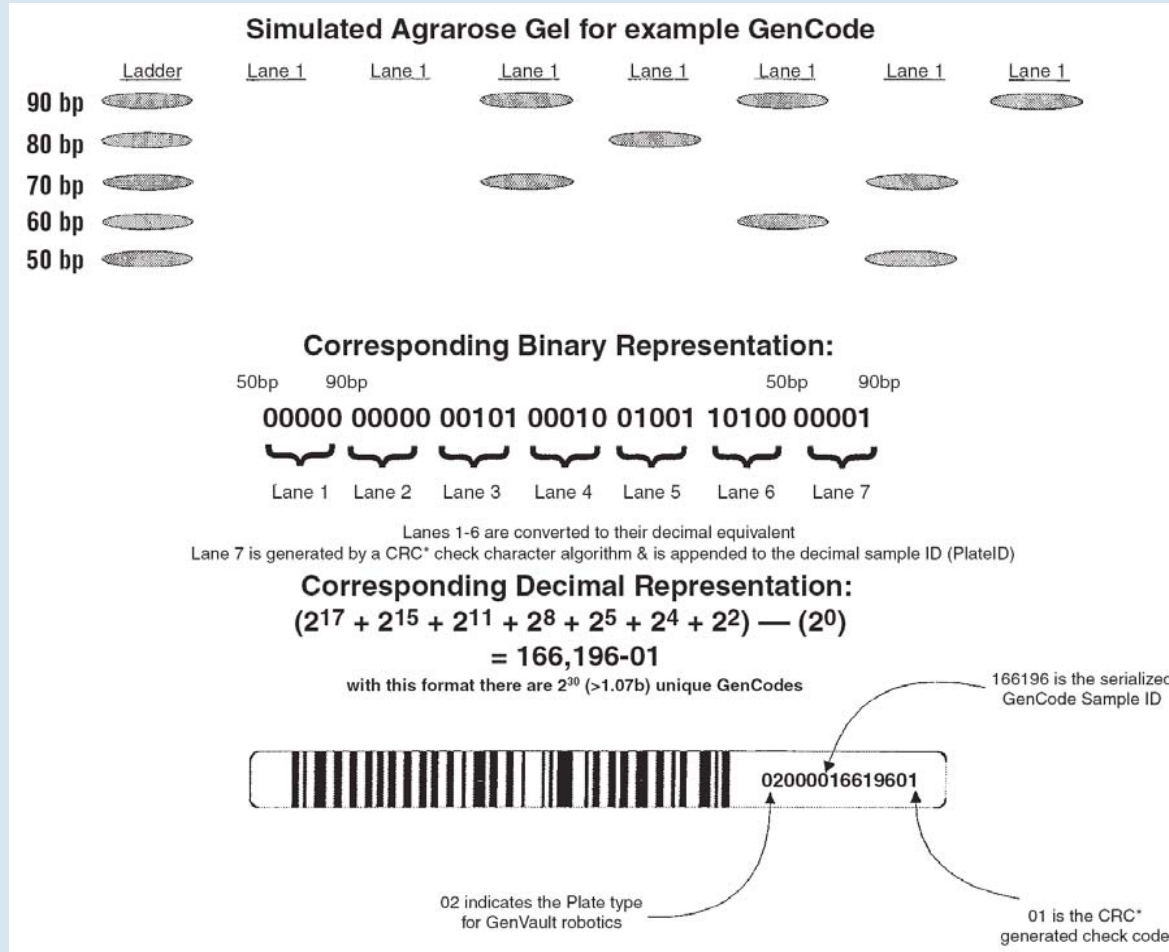
- An diminutive SDM (Small Disk Module) RFID tag containing data corresponding to the tissue sample is embedded in the vial cap.
- This tag is able to sustain temperatures as low as -320°F , (-196°C), as would be typical in liquid nitrogen storage, and can withstand a swing up to 257°F (125°C) in a matter of seconds.



<http://www.tagsysrfid.com>

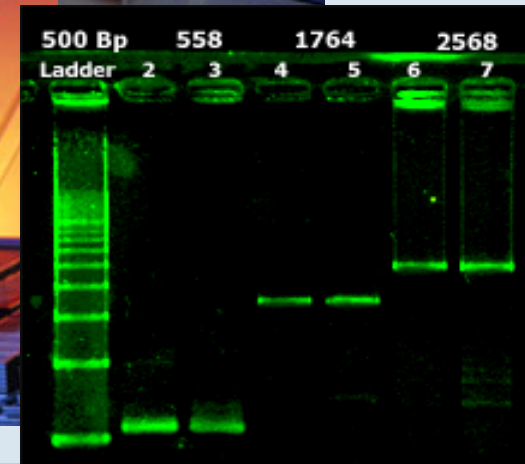
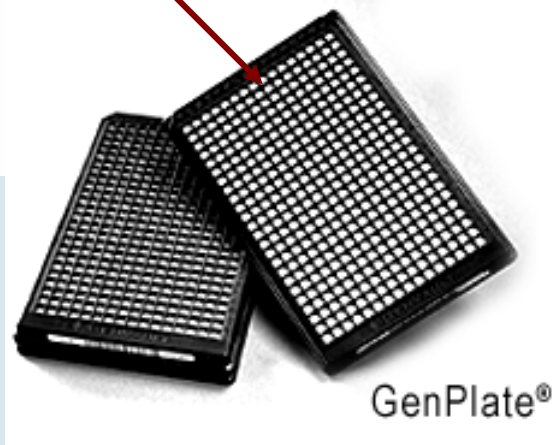
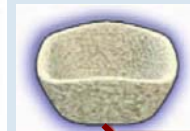


Sample Tracking: DNA-Based biological sample tracking method (I)





Sample Tracking: DNA-Based biological sample tracking method (II)



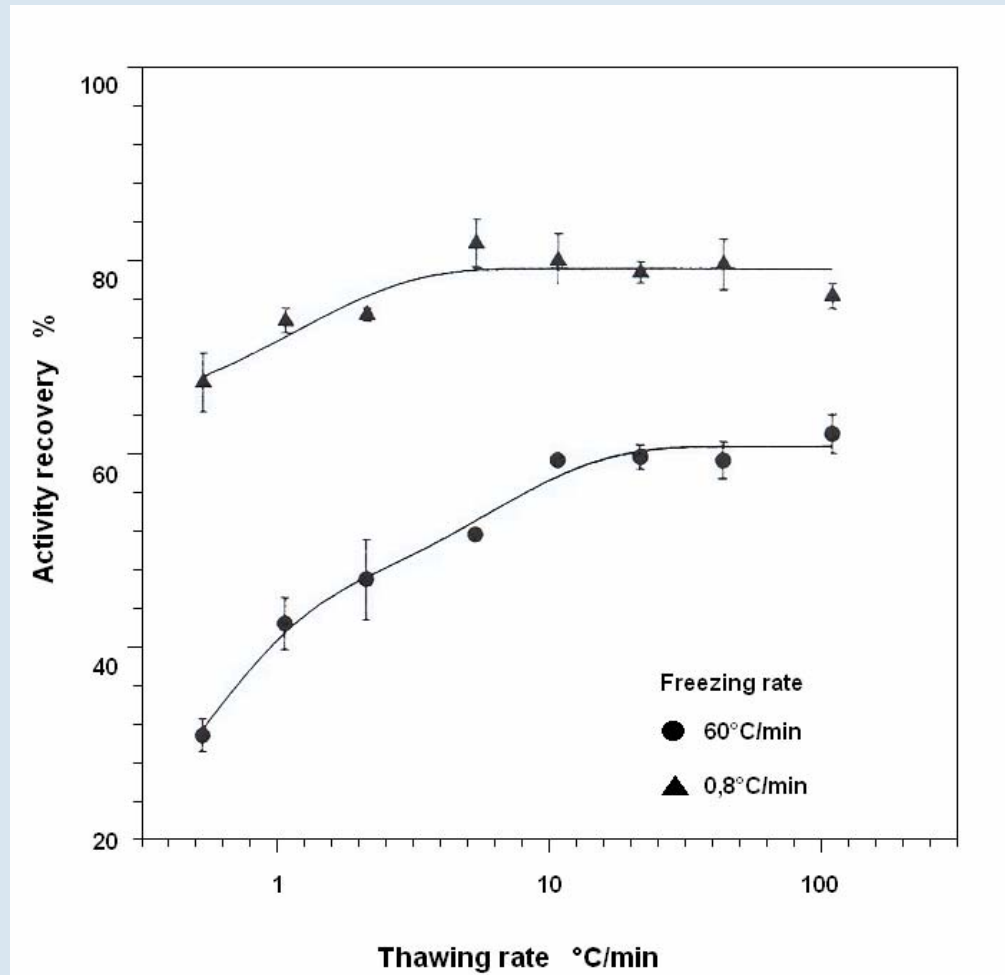


Item 3.2.9: Empfehlungen zum Auftauen/ Einfrieren von Biomaterial

Bewertung der Relevanz:	Notwendig
Gesetze/ Regularien/ Normen	Keine Angaben
Empfehlungen/ Richtlinien	SHSSR (S. 8) Sample security and Quality: Protect samples from freeze thaw degradation by storing multiple aliquots and by withdrawing samples from the archives under ultra-low temperature conditions. (S. 19) Frozen samples should be thawed only once. Analyte deterioration may occur in samples that are repeatedly frozen and thawed (NCCLS Guidelines).
Wissenschaftl. Publikationen	[Aziz et al., 1999], [Bellele et al., 2003], [Bhatnagar et al., 2005], [Cao et al., 2003], [Flower et al., 2000], [Garde et al., 2003], [Iglesias et al., 1985], [Kenis et al., 2002], [Reyna et al., 2001; Riisbro et al., 2001; Sanlidag et al., 2005; Thavasu et al., 1992; Tsui et al., 2002; Wickings and Nieschlag, 1976]
Bewertung:	Es existieren Untersuchungen zur Stabilität einer Vielzahl von Biomarkern, wie z.B. DNA, RNA, Zytokine, Hormone usw.. Die Ergebnisse zur Stabilität der Parameter variieren in Abhängigkeit vom Biomarker, wobei die meisten der gemessenen Parameter (darunter empfindliche Parameter wie Zytokine) über zumindest drei Auftau-/ Einfrierzyklen stabil waren. Im Einzelfall kann es jedoch zu erheblichen Stabilitätsproblemen bereits nach einmaligem Einfrieren/Auftauen kommen.

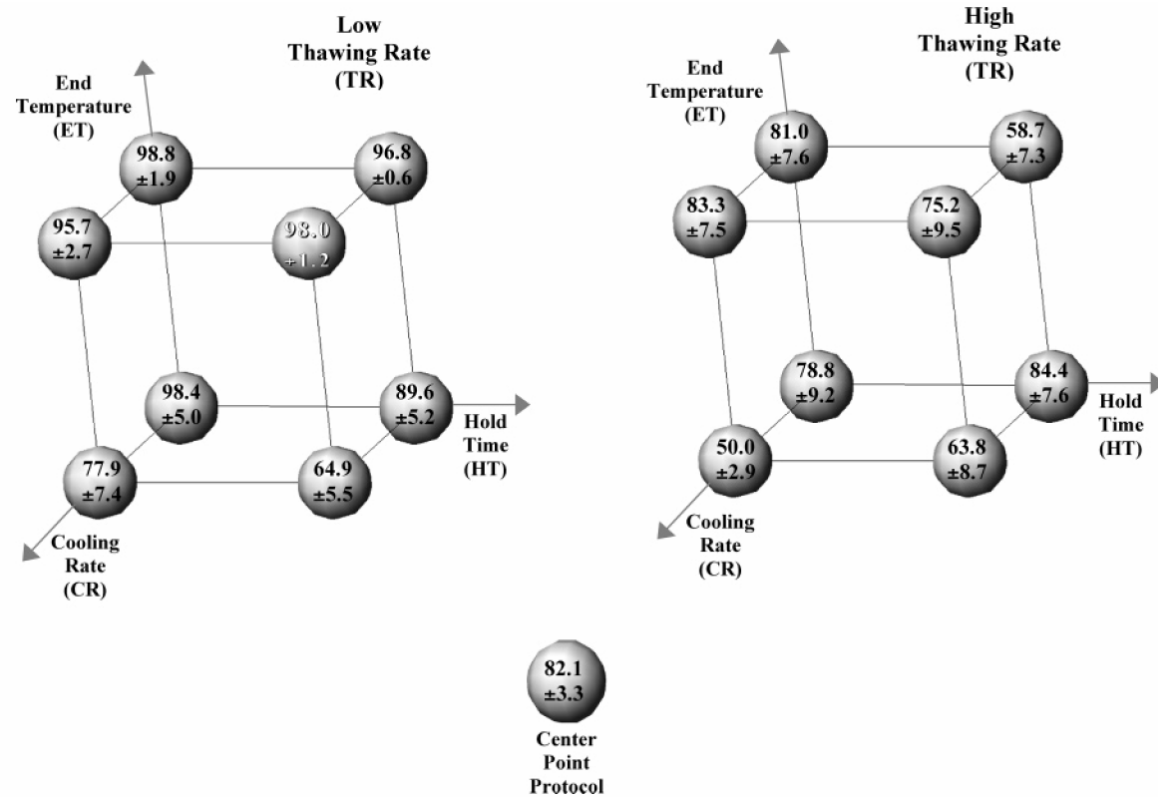


Storage conditions: The effect of thawing rate on LDH activity recovery





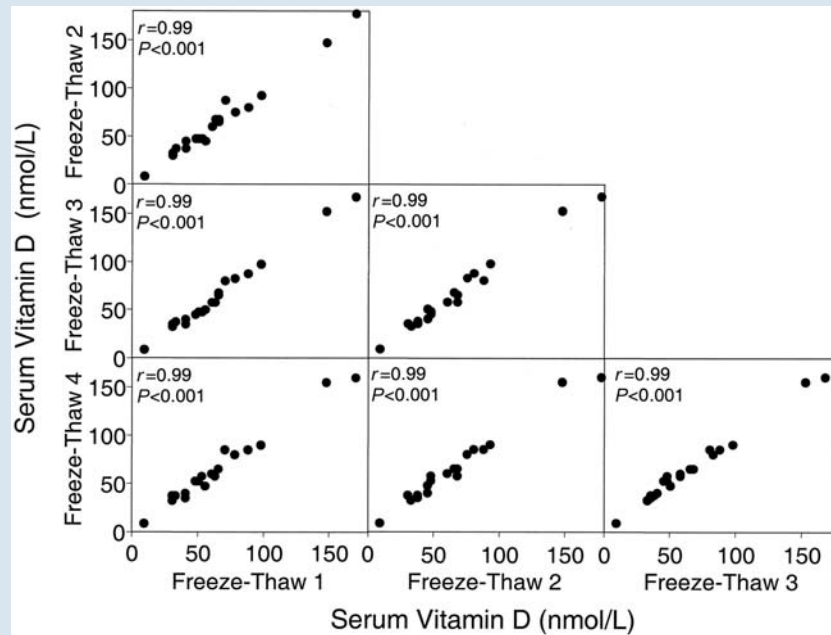
Importance of freeze-thaw cycles: Effect of Various Freezing Parameters on the Immediate Post-Thaw Membrane Integrity of Adipose Tissue Derived Adult Stem Cells



parameter	low value	high value
cooling rate, °C/min (CR)	1	40
end temperature, °C (ET)	-80	-20
hold time, min (HT)	1	15
thawing rate, °C/min (TR)	10	200

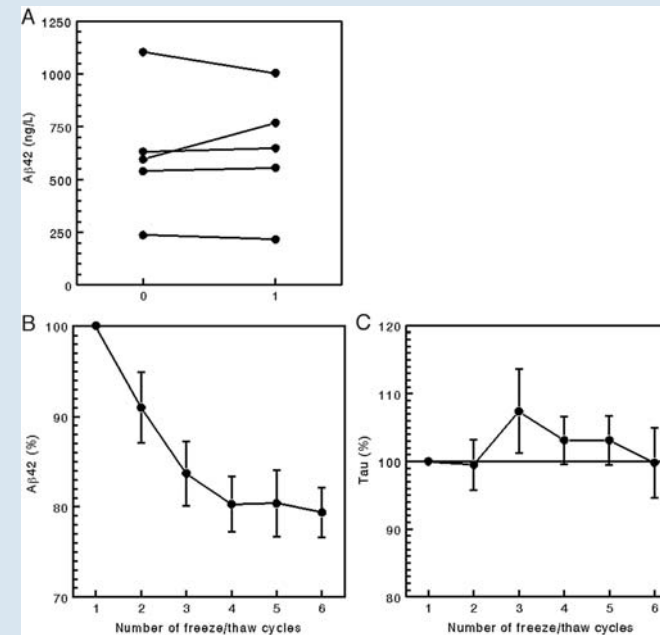


Correlations between serum 25OHD measurements at each freeze-thaw cycle



Antoniucci et al.: Serum 25-hydroxyvitamin d is unaffected by multiple freeze-thaw cycles Clin Chem. 2005 Jan;51(1):258-61.

Effect of freezing/thawing on Aβ42 and tau concentrations



Schoonenboom et al.: Effects of Processing and Storage Conditions on Amyloid β (1–42) and Tau Concentrations in Cerebrospinal Fluid: Implications for Use in Clinical Practice Clin Chem. 2005 Jan;51(1):189-195



Item 3.2.9: Empfehlungen zum Auftauen/ Einfrieren von Biomaterial

**Bewertung der Notwendig
Relevanz:**

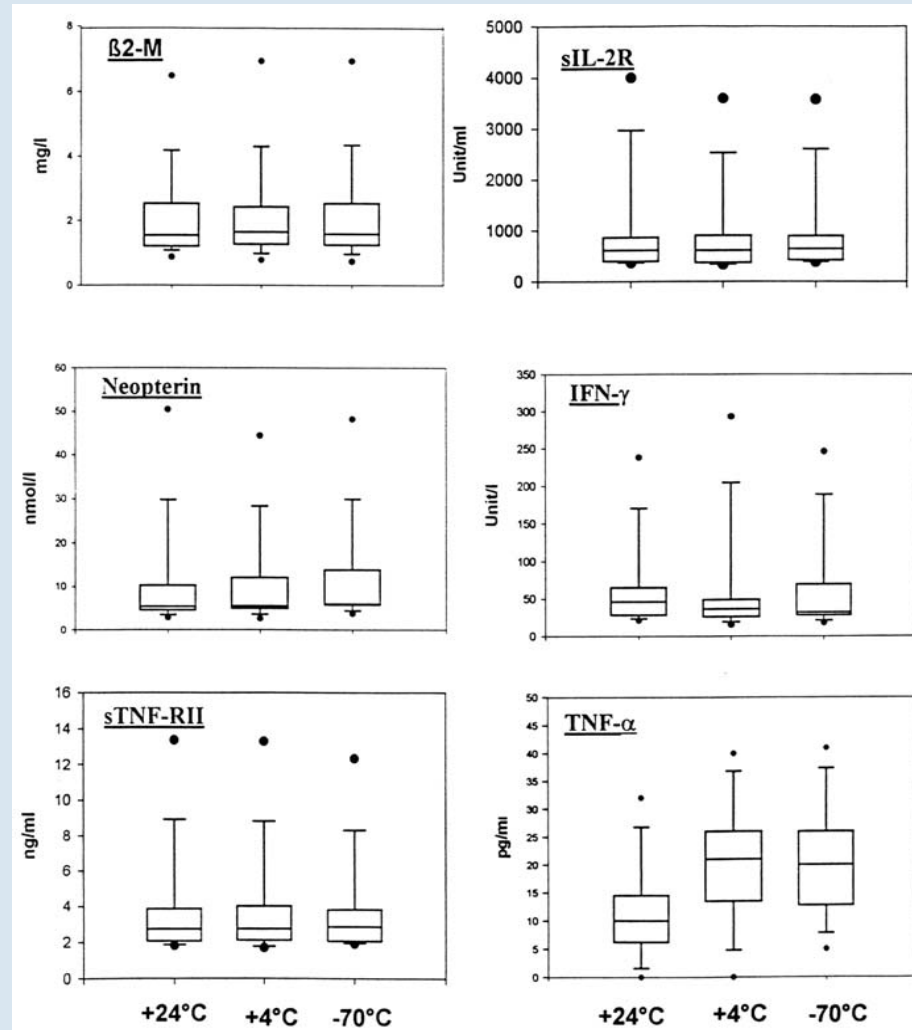
**Standardvorgehen/
-lösung**

Generell ist ein wiederholtes Auftauen und Einfrieren zu vermeiden. Voraussetzungen dafür ist die Teilung der Proben in Teilproben (Aliquots), die zu unterschiedlichen Zeiten analysiert werden können und die Schaffung räumlicher Bedingungen zur Entnahme unter sehr tiefen Temperaturen. Ein wiederholtes Auftauen und Einfrieren muss nicht generell zu einer Degradation von Biomarkern führen. Die Empfindlichkeit für definierte Parameter muss, falls noch nicht erfolgt, in einem Pilotversuch getestet werden. Hinsichtlich der Einfrierrate wird ein kontrolliertes, langsames Einfrieren (1°C/min) und ein schnelles Auftauen (10°C/min) empfohlen, wobei sich diese Angaben auf Vergleichsmessungen von Enzymaktivitäten vor und nach dem Einfrieren beziehen [Bhatnagar et al., 2005]. Diese Vorgehensweise ist möglicherweise auch generell für das Einfrieren und Auftauen von Proteinen zu empfehlen. Zellen sollten kontrolliert langsam eingefroren und schnell aufgetaut werden (siehe [Item 3.2.5](#)). Eingefrorene Gewebe sollten vor der Nutzung generell nicht aufgetaut werden.

empfindliche Parameter wie Zytokine) über zumindest drei Auftau-/ Einfrierzyklen stabil waren. Im Einzelfall kann es jedoch zu erheblichen Stabilitätsproblemen bereits nach einmaligem Einfrieren/Auftauen kommen.

Item 4.4: Einfluss der Lagerungstemperatur auf die Langzeitstabilität verschiedener Biomaterialien

Bewertung der Relevanz:	Notwendig	
Gesetze/ Regularien/ Normen	Keine Angaben	
Empfehlungen/ Richtlinien	SHSSR	<p>Appendix 3: Tabelle mit empfohlenen Temperaturen für die Langzeitlagerung verschiedener Analyte (S. 25) Dry samples</p> <p>... whole blood spotted onto paper for DNA extraction is stored at high density in bar coded asymmetric rigid supports (stiff card or plastic) in duplicate room temperature low humidity archives.</p>
	RAND	<p>(S. 81) 20. Develop standards for storage depending on tissue type and preservation condition (e.g., snap frozen, paraffin embedded, tissue microarray). This practice exists in several repositories but should be “industrywide.” However, there is no consensus on the optimum storage condition for specimens. Storage for frozen specimens ranges from -80°C in mechanical freezers to -150°C in the vapor phase of liquid nitrogen. Many think that storage at lower temperatures helps preserve the integrity of the specimens for long-term storage. Paraffin-embedded specimens should be 82 Case Studies of Existing Human Tissue Repositories stored under conditions that protect them from melting or other damage (e.g., by water/humidity or insects).</p>
	OECD	<p>11. The BRC must select preservation and maintenance methods according to recommendations from the depositor and/or previous experience. The BRC must document these preservation procedures to ensure they are reproducible and that key parameters of the process are recorded and monitored.</p> <p>11.1 Methodology</p> <p>11.1.1. The biological material must be preserved by at least two methods (where two distinct methods are not applicable to the biological material, cryopreserved stocks should be maintained in separate locations) and as master cell banks and as stocks for distribution. ...</p>



Influence of storage temperature on plasma levels of β_2 M, sIL-2R, neopterin, IFN- γ , sTNF-RII, and TNF- α (20 days)



Item 4.6: Anforderungen an Probenaufbewahrungsgefäße (Probengefäße, Boxen, Label usw.)

Bewertung der Relevanz: **Notwendig**

**Gesetze/
Regularien/
Normen**

MPG

1) Medizinprodukte, mit Ausnahme von Sonderanfertigungen, Medizinprodukten aus In-Haus-Herstellung, Medizinprodukten gemäß § 11 Abs. 1 sowie Medizinprodukten, die zur klinischen Prüfung oder In-vitro-Diagnostika, die für Leistungsbewertungszwecke bestimmt sind, dürfen in Deutschland nur in den Verkehr gebracht oder in Betrieb genommen werden, Maßgabe des Absatzes sind.

Bewertung:

Es existieren in der wissenschaftlichen Literatur vielfältige Hinweise darauf, dass die stoffliche Zusammensetzung der Probengefäße Einfluss auf die Messung von Analytkonzentrationen sowohl analytabhängig als auch messmethodenabhängig haben kann.
Hinsichtlich der Qualität der Aufbewahrungsgefäße müssen die Vorgaben der MPG nicht eingehalten werden, solange die Proben nicht im diagnostischen Kontext genutzt werden, wobei die Nutzung von Produkten, zertifizierter Hersteller zu bevorzugen ist.

be used for all steps of
are sufficient for this
duce contamination
(ed). Sterile single-use
ted for culture and/or

[Drake et al., 2004] ... most types of commonly used blood collection tubes for serum collection add polymeric components that can be detected by MALDI TOF mass spectrometry in the m/z range 1000–3000. ...

- (a) The type of collection tube used for a diagnostic application should be standardized, as should the procedure for specimen processing and handling. ...
- (b) Collection tubes should be tested for interference in the analysis of interest.

Standardvorgehen/ -lösung

E
ABx
ABx
ABx
A β 1
A β 1
A β 1
Tot:
P-ta
a
b
c

Grundsätzlich müssen alle Proben in den gleichen Aufbewahrungsgefäßen und unter exakt den gleichen Bedingungen (z.B. Füllstand) aufbewahrt werden. Sind die Inhalte einer Studie zu Beginn der Lagerung bereits bekannt (Biomarker, Messgeräte), so empfiehlt sich in Abhängigkeit vom Umfang der Probensammlung die Durchführung einer Pilotstudie zur Feststellung möglicher Interferenzen zwischen Aufbewahrungscontainer und Probe.
Abhängig von der späteren Nutzung der Probe (Patienten- oder Forschungskontext) müssen die Probengefäße bestimmte Qualitätskriterien erfüllen (CE-Kennzeichnung), und sollten immer von zertifizierten Herstellern bezogen werden. Für die Aufbewahrung spezieller Analyte kann die Nutzung spezieller Probengefäße notwendig sein. Bestandteile eines Probenaufbewahrungsgefäßes sind der Behälter, der die Probe aufnimmt, der Verschluss des Behälters und das Label. Alle drei Bestandteile müssen für die mechanische Beanspruchung (Kälte, Transport, Dichtheit des Verschlusssystems) evaluiert werden, ggf. in einem Pilotversuch. Für bestimmte Analyte (z.B. RNA) kann die Benutzung spezieller Gefäße (z.B. RNase-frei) notwendig sein. Die Probenaufbewahrungsgefäße müssen der geforderten Aufbewahrungstemperatur und der mechanischen Beanspruchung bei der Lagerung standhalten.

9)^a
2)^a
)
0)^a
7)
)^{b,c}
4)^a
)

Item 3.2.10: Empfehlungen zur Automatisierung von Probenbearbeitungsprozessen

Standardvorgehen/-lösung

Eine Automatisierung ist insbesondere für Verarbeitungsschritte zu empfehlen, bei denen es häufig zu Probenverwechslungen kommen kann. Das gilt für die folgenden Arbeitsschritte :

- Aliquotierung von Serum-/ Plasmaproben
- Erfassung der Proben über maschinenlesbare Belege/ Barcodes
- Nutzung eines barcodebasierten Probentrackingsystems

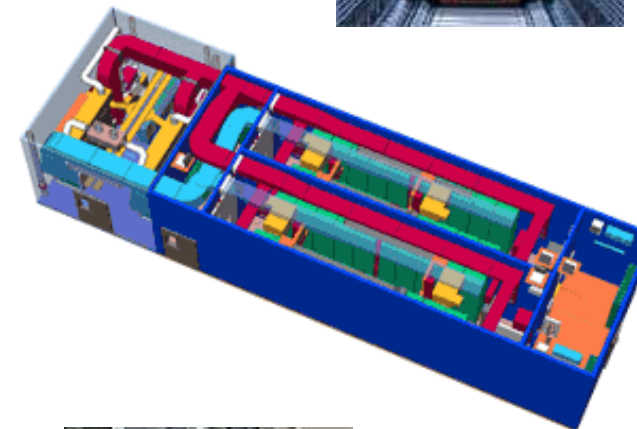
Die folgenden Arbeitsschritte können automatisiert werden:

- Zentrifugation der Proben (z.B. Plasma- und Serumproben)
- Öffnen der Probenröhrchen
- Automatische Anfertigung und Färbung von Ausstrichen und Gewebeschnitten
- Automatisches Transportsystem für Proben
- Automatische Probenextraktion (DNA, RNA, Proteine)
- Automatische Isolation von Zellen

Modellabhängige Besonderheiten

Das empfohlene Standardvorgehen ist grundsätzlich modellunabhängig. Da es sich bei Biomaterialbanken immer um große Probensammlungen handelt, ist zur Verhinderung von Probenverwechslungen die Automatisierung bestimmter (s.o.) Verarbeitungsschritte immer empfohlen. Die Notwendigkeit zur Automatisierung der anderen genannten Verarbeitungsschritte sollte mit Hilfe von Kosten-Nutzen-Analysen für den konkreten Fall überprüft werden.

- Verringerung der Fehlerquote
- Reduktion der Verarbeitungszeit
- Verringerung der Probenverlustrate
- Schnellere Verfügbarkeit von Proben
- Reduktion von Personalkosten
- Verringerung des Gesundheitsrisiko für das Personal



Item 5.1.1: Allgemeine Qualitätssicherungsaspekte bei der Probenrückgewinnung

Bewertung der Relevanz:	Notwendig
Gesetze/Regularien/Normen	Keine Angaben
Empfehlungen/Richtlinien	RAND (S. 74) Repositories that store specimens for extended periods of time conduct additional tests on or checks of the specimens after the initial characterization and verification procedures. Often these are performed before the specimen is distributed to researchers. Before tissue is sent to customers, Arda's pathologists perform a verification of each sample ... to ensure that the sample identity is correct and the sample pathology is consistent with the pathology report from the submitting hospital.
Wissenschaftl. Publikationen	Keine Angaben
Bewertung:	Wesentlich Aspekte bei der Probenrückgewinnung sind: Identifikation der Probe Prüfung der der Probenmenge, der Qualität der Lagerung und der Qualität der Proben bzw. des Gewebes Dokumentation der Auslagerung Einhaltung von Umgebungsbedingungen, die Integrität der Probe (Gehalt und Integrität des Biomarkers) bzw. des Gewebes bewahrt
Standardvorgehen/-lösung	Wird eine Probe oder eine Gewebe aus der Biomaterialbank zur Weitergabe oder zur Analyse ausgelagert, so ist die Probe zu identifizieren (Item 5.1.2), die Qualität der Lagerung und die Qualität der Probe zu beurteilen (Item 5.1.4) die Auslagerung zu dokumentieren (Item 5.1.4) und im Falle einer fehlerhaften Einlagerung (Item 5.1.3) oder einer Nichterfüllung der Qualitätskriterien (Item 5.1.6) die Probe zu sperren. In Abhängigkeit von der Stabilität des jeweiligen Biomarkers muss die Kühlkette eingehalten werden. Wiederholtes Auftauen und Einfrieren ist zu vermeiden.
Modellabhängige Besonderheiten	Für alle drei Modellkonzepte wird das gleiche Standardvorgehen empfohlen.

Nur Proben die eindeutig identifizierbar sind dürfen nach der Auslagerung weiterverwendet werden. Alle nichtidentifizierbaren Proben sowie Proben mit ungültigen Barcodes (z. B. mehrfach vergeben) sind zu verwerfen. Die Identifikation sollte über Barcodes erfolgen. Angaben finden sich in **Item 2.1.6.**, **Item 3.1.4.** und **Item 4.1.**

Es ist empfehlenswert, eine Checkliste für die Entnahme von Proben aus der Biomaterialbank zu entwickeln und Proben nur nach Erfüllung aller Kriterien weiterzugeben bzw. bei Nichterfüllung zu sperren. Beispielkriterien, die jeweils an die Art des Biomaterials und der Art der Einlagerung adaptiert werden müssen:

- Probe entspricht qualitativ, optisch dem Zustand bei Einlagerung (z.B. Gewebeschnitte)
- Lagerungsqualität entspricht den Vorgaben
- Probenqualität entspricht dem Zustand bei Einlagerung (abhängig von den Vorgaben des Anforderers)
- Probengefäß in ordnungsgemäßem Zustand
- Probengefäß eindeutig identifizier- und zuordenbar

Die Überprüfung der Qualität der Lagerung erfolgt durch einen kontinuierliche Überwachung der Umgebungsparameter (Item 4.9.) und eine Aussonderung von Proben, die bestimmten, definierten Kriterien nicht genügen (Item 4.11.).

Nach einer Langzeitlagerung muss die Qualität der Probe, abhängig von der geplanten Verwendung (genomische Untersuchungen bedingen die Überprüfung der DNA-Qualität, Untersuchungen des Proteoms setzen die Überprüfung der Proteinqualität voraus usw.) mit der Qualität bei Einlagerung verglichen werden. Befindet sich die Probe in einem Zustand der eine Überprüfung ausschließt (z.B. eingefrorene Probe) so muss zur Bewertung der Probenqualität ein Empfänger-Feedback eingeholt werden. Es kann so weit möglich mit Hilfe von Testproben versucht werden auf die Qualität der Einzelprobe zu



A fundamental problem with biobanks concerns the need to collect samples today, or better still yesterday, for research needs that may arise tomorrow.

Accordingly, there is a significant problem in determining which samples should be collected and on what terms.

Storing and Using Biobanks for Research, Lena Jonsson and Ulf Landegren

Korrespondenzadresse



seit 1558

Universitätsklinikum Jena



Michael Kiehntopf

Klas Boeer

Institut für Klinische Chemie und
Laboratoriumsdiagnostik

Universitätsklinikum Jena

michael.kiehntopf@med.uni-jena.de

sepnet.probenbank@med.uni-jena.de

Kompetenznetz SEPIS

SepNet Büro

Klinik f. Anästhesiologie und Intensivtherapie,
Universitätsklinikum Jena

Mehr Information: <http://www.tmf-ev.de/>

Vielen Dank!