

# DZHK-SOP-B-02

## Biomaterialverarbeitung

(externe DZHK-Zentren)

Version: V1.2

Gültig ab: 19.02.2020

Ersetzte Version: V1.1

Vom: 15.12.2014

	Fachliche Autorenschaft	Fachliches Review	Zustimmung Bereichsleitung	Freigabe DZHK
Name	Tanja Zeller	Tanja Heimberger	Matthias Nauck	Frank Edelmann
Datum	28.1.2020	31.01.2020	22.7.2020	22.7.20
Unterschrift				

## Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis .....	2
1 Abkürzungsverzeichnis .....	3
2 Änderung zur vorherigen Version.....	3
3 Einleitung zur SOP .....	3
3.1 Zielsetzung.....	3
3.2 Hintergrund .....	3
3.3 Begriffe und Definitionen .....	3
4 DZHK Basis-Biomaterialsammlung .....	4
5 Voraussetzungen für Biomaterialverarbeitung und Dokumentation .....	4
6 Ablauf der Biomaterialverarbeitung und Dokumentation .....	5
6.1 Vorgaben .....	5
6.2 Flow Chart .....	6
6.3 Ablauf der Probenverarbeitung und Dokumentation im Detail .....	6
6.4 Einlagerung des Biomaterials .....	7
6.5 Versand des Biomaterials (DZHK Basis-Set/Studien-spezifisches Set).....	7
6.6 Verarbeitungszeiten und Lagerung - Probenqualitäten .....	8
6.7 Verhalten bei Abweichung .....	8
7 Literatur / Quellen .....	8
8 Querverweise zu bestehenden DZHK-SOPs.....	8
9 An der SOP-Schreibung beteiligte Personen .....	9

# 1 Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Klartext
SOP	Standardarbeitsanweisung, engl. Standard Operating Procedure
DZHK	Deutsches Zentrum für Herz-Kreislauf-Forschung e.V.
BMS	Biomaterialsammlung
BD	Becton Dickinson AG
EDTA	Ethylen-Diamin-Tetra-Essigsäure

## 2 Änderung zur vorherigen Version

Überarbeitung der Kapitel 3.2, 3.3 sowie Kapitel 4 bis 9.

## 3 Einleitung zur SOP

### 3.1 Zielsetzung

Diese Standardarbeitsanweisung dient dazu, den Ablauf der Gewinnung von Flüssig-Biomaterial bis zum Transport ins Labor (zur weiteren Verarbeitung) innerhalb der DZHK-Projekte (i.d.R. einer klinischen Studie, eines Registers oder einer Kohorte) für das Anlegen einer DZHK-Biomaterialsammlung unter standardisierten Bedingungen zu beschreiben.

Kernelemente sind in dieser SOP grau unterlegt.

### 3.2 Hintergrund

In wissenschaftlichen Studien werden verschiedene Ansätze zur Untersuchung von humanen Biomaterialien verwendet, wie z.B. Bestimmung von (zirkulierenden) Biomarkern, Bestimmung von Standardlaborwerten, OMICs Verfahren, DNA-/RNA-Gewinnung oder „Biomonitoring“, für die eine hohe Probenqualität die Basis ist. Um präanalytische Faktoren, welche einen wesentlichen Einfluss auf die Probenqualität nehmen, zu minimieren, müssen die Schritte der Gewinnung, Prozessierung und Lagerung standardisiert nach DZHK-SOP erfolgen. Diese Standardisierung sichert nicht nur, dass möglichst viele der oben genannten Techniken auch nach langfristiger Lagerung von Biomaterialien noch durchgeführt werden können, sondern ermöglicht auch die Vergleichbarkeit der an den unterschiedlichen DZHK-Zentren prozessierten und gelagerten Biomaterialien sowie der gewonnenen Analysedaten im Rahmen von Nachnutzungsprojekten.

### 3.3 Begriffe und Definitionen

**Biomaterialien** sind z.B. Blut, Urin, Stuhl und Gewebe sowie die nach Verarbeitung entstandenen Materialien (z.B. Plasma, Serum, gewonnene DNA, RNA, Stammzellen).

Unter einer **Biomaterialsammlung (BMS)** ist die Lagerung von Biomaterialien sowie die Speicherung von Qualitätsmerkmalen des Biomaterials und zugehörige Informationen zu verstehen. Die Biomaterialien werden bei mindestens -80°C gelagert (z.B. in Tiefkühlschränken oder automatisiertem Kryolager).

**DZHK-Biomaterial** ist das Biomaterial, das im Rahmen eines DZHK-Projektes (i.d.R. einer klinischen Studie, eines Registers oder einer Kohorte) von jedem Patienten/Probanden entnommen und Eigentum des DZHK wird und somit der DZHK-Nutzungsordnung unterliegt. Die zu entnehmende Biomaterialmenge für Blut errechnet sich aus der studienübergreifenden und der studienspezifischen Menge (DZHK-Basismenge bzw. DZHK-Studienmenge), die verarbeitet und gelagert werden müssen.

Studienübergreifende Biomaterialien, die unabhängig von einer konkreten Studie gesammelt werden, werden als **DZHK Basis-Set** bezeichnet. Die **DZHK Basis-Biomaterialsammlung** umfasst alle DZHK Basis-Sets der verschiedenen DZHK-Studien.

Studien-spezifische Biomaterialien, die zusätzlich zum DZHK Basis-Set für die Beantwortung der Studienfragestellung gesammelt werden, werden als **DZHK Studien-spezifische Sets** bezeichnet. Die **DZHK Studien-spezifische Biomaterialsammlung** umfasst alle DZHK Studien-spezifischen Sets der verschiedenen DZHK-Studien.

**secuTrial®**: Das klinische Datenmanagementsystem dient der Dokumentation der Studiendaten und auch der ersatzweisen Erfassung der Biomaterial-Begleitschein-Daten.

## 4 DZHK Basis-Biomaterialsammlung

Von jedem Patienten/Probanden, der an einer DZHK-Studie, einem Register und/oder einer Kohorte teilnimmt wird zur Baseline Untersuchung ein DZHK Basis-Set abgenommen, sofern der Patient/Proband entsprechend eingewilligt hat. Das gewonnene Biomaterial wird verarbeitet und prospektiv eingelagert. Die Zusammensetzung des DZHK Basis-Sets ist studienunabhängig festgelegt und in Tabelle 1 gelistet.

**Tabelle 1 Primärgefäß, Volumen und Anzahl in der DZHK Basis-Biomaterialsammlung**

	Primärgefäß	BD		Sarstedt	
		Volumen	Anzahl	Volumen	Anzahl
<b>DZHK Basis-Set</b>	Serum	10,0 ml	1	7,5 ml	1
	EDTA	10,0 ml	1	7,5 ml	1
	Citrat	2,7 ml	1	3,0 ml	1
	Urin	11,0 ml	1	10,0 ml	1

Im Rahmen einer DZHK-Studie, einem Register und/oder einer Kohorte können neben dem DZHK Basis-Set noch ein oder mehrere studien-spezifische Sets abgenommen werden. Die Zusammensetzung dieses studien-spezifischen Sets obliegt dem Verantwortlichen Principle Investigator der jeweiligen Studie und wird den teilnehmenden Studienzentren vor Beginn der Studie mitgeteilt.

## 5 Voraussetzungen für Biomaterialverarbeitung und Dokumentation

Um die Probenverarbeitung und -lagerung für das DZHK Basis-Set und ggf. Studien-spezifische Sets durchzuführen, werden folgende Voraussetzungen benötigt:

- Zentrifuge (gekühlt oder ungekühlt)
- Kalibrierte Pipetten

- Gefrierschrank -80°C mit Anschluss an Überwachungssystem und Ausfallsicherungskonzept
- Ausgefüllter Biomaterial-Begleitschein zur Probengewinnung
- Gewonnenes Biomaterial in etikettierten Primärprobengefäßen (DZHK Basis-/Studien-spezifisches Sets)
- Gelabelte und auf 96er Rack vorgesteckte Aliquotgefäße (Brooks, ehem. FluidX):



Abb. 1: Beispiel gelabelte Aliquotgefäße 300 µl von Brooks, ehem. FluidX

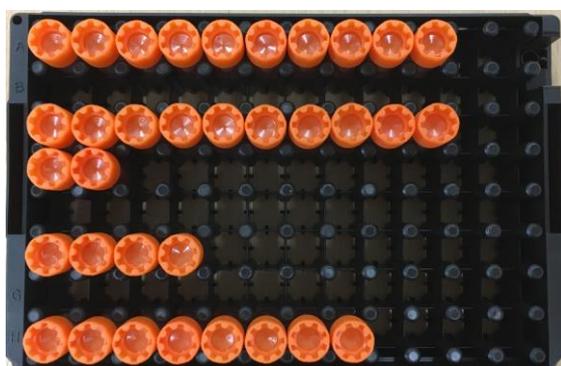


Abb. 2: Positionen der Aliquotgefäße auf dem Rack

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Serum (10 x 300µl)	A	<input type="checkbox"/>											
	B												
EDTA-Plasma (10 x 300µl)	C	<input type="checkbox"/>											
	D	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>										
Buffy Coat* (2 x bis 300µl)	E												
	F	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>								
Citrat (4 x 300µl)	G												
	H	<input type="checkbox"/>											

Abb. 3: Schematische Darstellung der Positionen der Aliquotgefäße auf dem Rack mit Probenart – Pipettierschema (\*entfällt bei Einfrieren des entsprechenden Primärrohrchens vor Pipettieren des Buffy Coats, siehe auch Abschnitt 6.3)

## 6 Ablauf der Biomaterialverarbeitung und Dokumentation

### 6.1 Vorgaben

Die Biomaterialverarbeitung und Dokumentation muss durch geschultes Personal unter Berücksichtigung der lokal gültigen Vorgaben gemäß dieser SOP erfolgen. Abweichungen von den hier folgenden Vorgaben werden als Abweichung auf dem Biomaterial-Begleitschein und in secuTrial® dokumentiert (siehe Abschnitt 6.4).

Weiterhin zu beachten sind:

- Regelmäßige Arbeitsflächendesinfektion
- Einhaltung gängiger Hygienevorschriften

## 6.2 Flow Chart

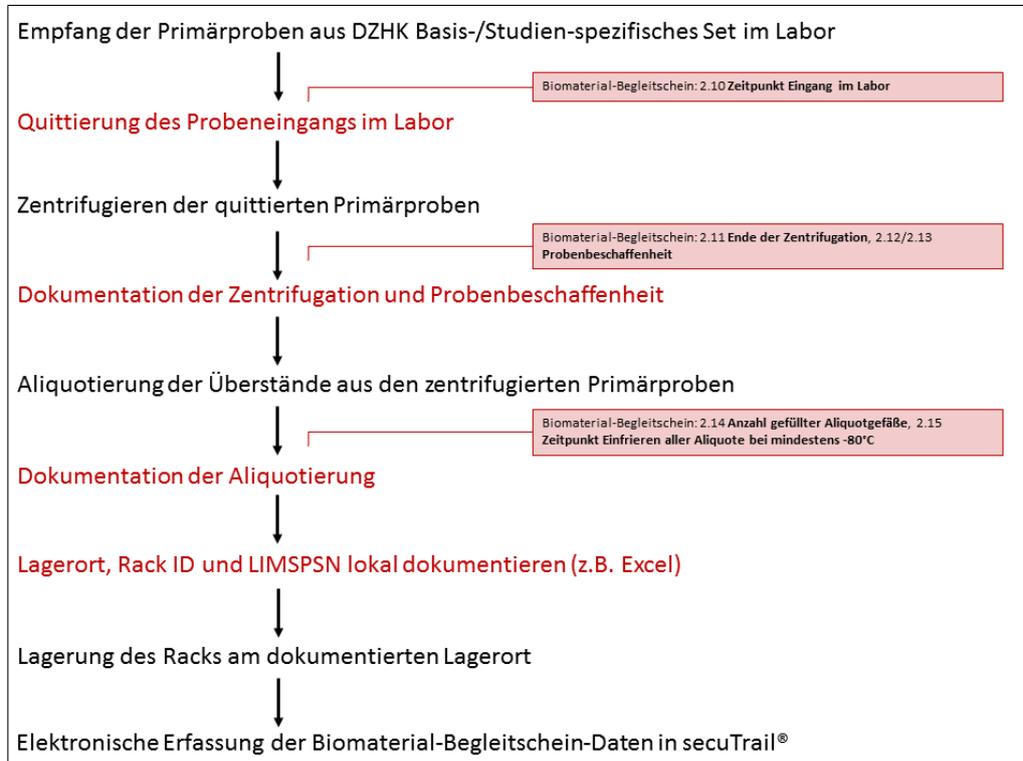


Abb.4: Ablauf der Verarbeitung von Biomaterialien und Dokumentation im Überblick.

## 6.3 Ablauf der Probenverarbeitung und Dokumentation im Detail

**Probeneingang** im Labor zeitnah auf dem Biomaterial-Begleitschein quittieren.

**Zentrifugation** der Primärproben erfolgt nachdem der Probeneingang im Labor quittiert wurde:

- Für die Zentrifugation der Primärproben muss eine der zwei folgenden Zentrifugationsarten genutzt werden: 2.000 g für 10 Minuten ODER 3.000 g für 5 Minuten.
- Die Zentrifugationen können jeweils in gekühlten Zentrifugen: Temperatureinstellung auf 18°C ODER ungekühlten Zentrifugen bei Raumtemperatur (RT) erfolgen: Zentrifuge nach jedem Lauf abkühlen lassen.
- Die Zentrifugationsart, der Zentrifugationszeitpunkt (Ende der Zentrifugation) sowie die Beschaffenheit jeder zentrifugierten Primärprobe (Blut: unauffällig, hämolytisch, ikterisch, lipämisch und Urin: unauffällig, trüb, blutig) werden auf dem Biomaterial-Begleitschein dokumentiert.

**Aliquotierung** der Überstände nach der Zentrifugation:

- Aliquotierung von 300 µl-Portionen in entsprechende Aliquotgefäße.

- Der Buffy Coat wird aus dem EDTA-Plasma Primärröhrchen gewonnen. Wenn nicht ausreichend Material vorhanden ist, kann das Aliquotgefäß auch mit weniger als 300 µl Buffy Coat befüllt werden.

In Ausnahmefällen kann anstelle des EDTA-Plasma Primärröhrchens auch Citratblut verwendet werden. Es ist auch möglich nach Pipettieren des Überstandes (Plasma-Aliquote) das Primärröhrchen mit dem restlichen Volumen einzufrieren und das Material für eine spätere DNA Isolation zu verwenden.

Folgende zusätzliche Dokumentation zu den Ausnahmefällen ist auf dem Biomaterial-Begleitschein in secuTrial® im Feld 2.14 unter „Kommentar“ verpflichtend:

2.14. Anzahl gefüllter Aliquotgefäße Alle 10 Serumgefäße [300µl] gefüllt? Alle 10 EDTA-Gefäße [300µl] gefüllt? Alle 4 Citrat-Gefäße [300µl] gefüllt? Alle 8 Urin-Gefäße [300µl] gefüllt? Alle 2 Buffy Coat-Gefäße [<300µl] gefüllt? Kommentar	<input type="radio"/> ja <input type="radio"/> nein <input type="radio"/> unbekannt <input type="radio"/> nicht erhoben <input type="radio"/> ja <input type="radio"/> nein <input type="radio"/> unbekannt <input type="radio"/> nicht erhoben <input type="radio"/> ja <input type="radio"/> nein <input type="radio"/> unbekannt <input type="radio"/> nicht erhoben <input type="radio"/> ja <input type="radio"/> nein <input type="radio"/> unbekannt <input type="radio"/> nicht erhoben <input type="radio"/> ja <input type="radio"/> nein <input type="radio"/> unbekannt <input type="radio"/> nicht erhoben	<div style="border: 1px solid black; height: 40px; width: 100%;"></div>
---	---	---

1. Es wurde ausnahmsweise Citratblut verwendet:
  - Unter „Kommentar“ eintragen: „**Citratblut verwendet**“.
2. Es wurde das EDTA-Primärgefäß für eine spätere DNA Isolation aufbewahrt:
  - Unter „Kommentar“ eintragen: „**EDTA Primärgefäß**“.

- Verschluss der Aliquotgefäße.
- Leere Aliquotgefäße entfernen.
- Dokumentation der Aliquotierung und des Einlagerungszeitpunktes auf dem Biomaterial-Begleitschein.

## 6.4 Einlagerung des Biomaterials

- Übertragung der Biomaterial-Begleitschein-Dokumentation in secuTrial®.
- Lokale Dokumentation des **Rack-Lagerortes, Rack ID und LIMSPSN**.
- Lagerung des Racks am dokumentierten Lagerort.
- **Keine Probenaliquote auf den Racks verdichten**. Wenn eine Verdichtung notwendig sein sollte, diese ausdrücklich erst nach Rücksprache mit dem DZHK-Supportteam durchführen ([biobanking@dzhk.de](mailto:biobanking@dzhk.de)).

## 6.5 Versand des Biomaterials (DZHK Basis-Set/Studien-spezifisches Set)

Wenn Sie an Ihrem Studienzentrum nicht über die geforderten Lagerkapazitäten (-80°C) verfügen, dann können Sie **das bereits verarbeitete Biomaterial** an die entsprechende **Studienzentrale** (in Ausnahmefällen auch an ein nahegelegenes DZHK-Studienzentrum) versenden. Die Versandabwicklung erfolgt erst nach Rücksprache mit der zuständigen Studienzentrale (ggf. DZHK-Studienzentrum). Die Studienzentrale (ggf. DZHK-Studienzentrum) übernimmt die Verantwortung für die Abwicklung des Versandprozesses, inklusive der notwendigen Dokumentationsschritte gemäß „Leitfaden zum Probenversand aus externen Zentren“.

## 6.6 Verarbeitungszeiten und Lagerung - Probenqualitäten

Die Dauer der Probenverarbeitung sowie die Lagerkonditionen nehmen einen wesentlichen Einfluss auf die Probenqualität. Liegt mindestens eine der folgend gelisteten Bedingungen vor (\*Dokumentation gefordert, siehe Abschnitt 6.7), wird die Probe damit in das jeweilige Qualitätslevel eingestuft:

### DZHK Qualitätslevel Stufe 1

- Das Primärgefäß wurde nicht innerhalb von 60min nach Probengewinnung verarbeitet.\*
- Das Probenaliquot wurde über 6h bei -20°C zwischengelagert.\*
- Die Gesamtdauer von Biomaterialgewinnung, -verarbeitung und Einlagerung bei -80°C betrug über 240min.

### DZHK Qualitätslevel Stufe 2

- Das Probenaliquot wurde bis max. 6h bei -20°C zwischengelagert.\*
- Die Gesamtdauer von Biomaterialgewinnung, -verarbeitung und Einlagerung bei -80°C betrug max. 240min.

### DZHK Qualitätslevel Stufe 3

- Die Gesamtdauer von Biomaterialgewinnung, -verarbeitung und Einlagerung bei -80°C betrug max. 120min.

## 6.7 Verhalten bei Abweichung

Aufgetretene Abweichungen zu den unter Abschnitt 6.1-6.6 beschriebenen sind auf dem Biomaterial-Begleitschein in secuTrial® unter „3. Besonderheiten“ zu dokumentieren.

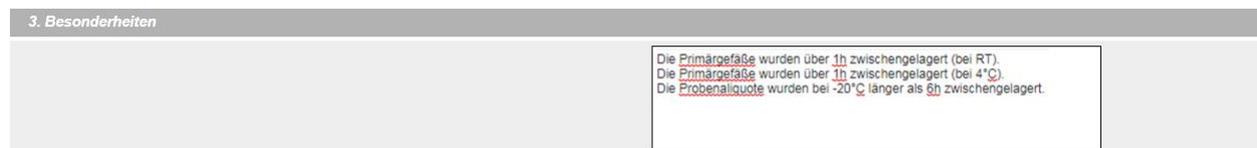


Abb.5: Beispiele für SOP-Abweichungen und deren Dokumentation unter „3. Besonderheiten“.

## 7 Literatur / Quellen

Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen (Rili-BÄK). Deutsches Ärzteblatt | DOI: 10.3238 / arztebl.2019.rili\_baek\_QS\_Labor20192312

## 8 Querverweise zu bestehenden DZHK-SOPs

Gültig ist die jeweils aktuellste, verfügbare Version.

SOP-ID	Titel
DZHK-SOP-THS-01	DE Erfassung-IDAT-Informed Consent
DZHK-SOP-B-01	Biomaterialgewinnung_ext
DZHK-SOP-B-01_A	Begleitschein_Basis-Set_ext
DZHK-SOP-B-01	Merkblatt „Gewinnung von Mittelstrahlurin“

## 9 An der SOP-Schreibung beteiligte Personen

Name	Funktion	Beteiligung
Prof. Dr. Tanja Zeller	AG-Leiterin, Autorin der SOP	SOP-Erstellung
Prof. Dr. Matthias Nauck	Leiter „Scientific Infrastructure“	Fachliche Prüfung
Dr. Nadine Umbach	AG-Mitglied, Reviewer	Fachliche Prüfung
Christiane Heiß	AG-Mitglied, Koordinatorin	Fachliche Prüfung
Dr. Jennifer Franke	AG-Mitglied	Fachliche Prüfung
Dr. Christian Geier	AG-Mitglied	Fachliche Prüfung
Sabine Hübler	AG-Mitglied	Fachliche Prüfung
Sophia Lamp	AG-Mitglied	Fachliche Prüfung
Antje Müller	AG-Mitglied	Fachliche Prüfung
PD Dr. Astrid Petersmann	AG-Mitglied	Fachliche Prüfung
PD Dr. Thomas Pickardt	AG-Mitglied	Fachliche Prüfung
Prof. Dr. Daniel Teupser	AG-Mitglied	Fachliche Prüfung
Prof. Dr. Christian Troidl	AG-Mitglied	Fachliche Prüfung
Dr. Tanja Weis	AG-Mitglied	Fachliche Prüfung
Prof. Dr. Philipp Wild	AG-Mitglied	Fachliche Prüfung
Prof. Dr. Frank Edelmann	Klinischer Sprecher WGCR	Fachliche Prüfung
Dr. Tanja Heimberger	Koordination Biobank Heidelberg	Fachliche Prüfung
Tabea Scharfe	DZHK Klinische Datenhaltung	Fachliche Prüfung
Dr. Ivonne Wallrabenstein	DZHK GSt., DZHK Biobanking	SOP-Anpassungen