

DZHK-SOP-B-04

Bioprobenverarbeitung (Studienzentren ohne DZHK Clinical Study Unit)

Version: V1.3

Gültig ab: 01.12.2023

Ersetzte Version: V1.2

Vom: 19.02.2020

Hinweis: Ausdrücke unterliegen nicht dem Aktualisierungsprozess!

Änderungshinweis: Änderung Wording

Redaktionelle Änderungen

	Fachliche Autorenschaft	Fachliches Review	Zustimmung WGCR Sprecher:in	Freigabe DZHK
Name	Tanja Zeller	Ivonne Wallrabenstein	Sabine Hanß	Katharina Eulenburg
Datum				
Unterschrift	Diese SOP ist aufgrund überwiegend redaktioneller Änderungen ohne Unterschriften gültig.			

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	2
1 Einleitung.....	3
1.1 Abkürzungsverzeichnis.....	3
1.2 Zielsetzung.....	3
1.3 Hintergrund.....	3
1.4 Begriffe und Definitionen.....	3
2 DZHK-Set.....	4
3 Voraussetzungen für Bioprobenverarbeitung und Dokumentation.....	4
4 Ablauf der Bioprobenverarbeitung und Dokumentation	5
4.1 Vorgaben.....	5
4.2 Flow Chart.....	6
4.3 Ablauf der Probenverarbeitung und Dokumentation im Detail	6
4.4 Einlagerung der Bioproben	7
4.5 Bioprobendaten in SecuTrial®	7
4.6 Versand der Bioproben (DZHK-Set/Studien-Set)	7
4.7 Verarbeitungszeiten und Lagerung - Probenqualitäten.....	7
4.8 Verhalten bei Abweichung.....	8
5 Literatur / Quellen.....	8
6 Querverweise zu bestehenden DZHK-SOPs.....	8
7 Änderungen	8
8 Beteiligte Personen	9
9 Anlagen.....	10
9.1 Freigabe Vorversion.....	10

1 Einleitung

1.1 Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Klartext
DZHK	Deutsches Zentrum für Herz-Kreislauf-Forschung e.V.
EDTA	Ethylen-Diamin-Tetra-Essigsäure
eCRF	Electronic Case Report Form
SOP	Standardarbeitsanweisung, engl. Standard Operating Procedure

1.2 Zielsetzung

Diese Standardarbeitsanweisung beschreibt die Verarbeitung und Lagerung der im Rahmen von DZHK-Projekten (i.d.R. einer klinischen Studie, eines Registers oder einer Kohorte) gewonnenen Bioproben für den Aufbau einer Bioprobenressource unter standardisierten Bedingungen.

Kernelemente sind in dieser SOP grau unterlegt.

1.3 Hintergrund

In wissenschaftlichen Studien werden verschiedene Ansätze zur Untersuchung von humanen Bioproben 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-SOPs erfolgen. Diese Standardisierung sichert nicht nur, dass möglichst viele der oben genannten Techniken auch nach langfristiger Lagerung der Bioproben noch durchgeführt werden können, sondern ermöglicht im späteren Verlauf auch die Vergleichbarkeit gewonnener Analysedaten, der an den unterschiedlichen Studienzentren prozessierten und gelagerten Bioproben.

1.4 Begriffe und Definitionen

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

DZHK-Biobanking¹ für die DZHK Heart Bank

Die [DZHK Heart Bank](#) vereint wertvolle Ressourcen von Bioproben, assoziierten klinischen Daten, Bilddaten sowie genomischen Daten, die im Rahmen von DZHK-Projekten sowie weiteren Projekten zusammengetragen werden. Damit soll ein nachhaltiger Beitrag zur Forschung und Verbesserung der Gesundheit geleistet werden. Die zweckoffene Ressource steht weltweit für Forschungsprojekte zur

¹ Ehemals „DZHK-Basis-Biobanking“

Verfügung. Das DZHK-Biobanking wird mit einem fest definierten **DZHK-Set**² durchgeführt. Die DZHK Heart Bank enthält alle gewonnenen DZHK-Sets.

Studienbiobanking³ zur Beantwortung der Studienfrage

Neben dem DZHK-Set kann eine studienspezifische Probengewinnung gemäß der hier vorliegenden SOP notwendig sein. Die Zusammensetzung dieser **Studien-Sets**⁴ sowie die Festlegung der Entnahmezeitpunkte obliegt dem verantwortlichen Principle Investigator des jeweiligen DZHK-Projekts und wird den teilnehmenden Studienzentren planmäßig spätestens zur Initiierungsveranstaltung mitgeteilt.

SecuTrial®: Das klinische Datenmanagementsystem dient neben der Dokumentation der klinischen Items auch der Erfassung eines definierten Bioprobendatenset (via eCRF). Nach abgeschlossener Erfassung wird die Korrektheit, Vollständigkeit und Plausibilität durch die Vergabe eines Review A bestätigt und die Bioprobendaten des eCRFs freigegeben zur Überführung in das zentrale Labor-Informations- und Management-System des DZHK (DZHK-LIMS).

2 DZHK-Set

Von jeder Teilnehmer:in eines DZHK-Projekts wird **einmalig zur Baseline-Visite (vor Intervention) ein einheitliches DZHK-Set** abgenommen, sofern der:die Teilnehmer:in eingewilligt hat. Die Zusammensetzung des DZHK-Sets ist folgend in Tabelle 1 gelistet. Je nach etablierten Klinikroutinen können entweder Gefäße der Firma BD oder der Firma Sarstedt verwendet werden.

Tabelle 1 Typ, Volumen und Anzahl der Primärgefäße

	Primärgefäß	BD		Sarstedt	
		Volumen	Anzahl	Volumen	Anzahl
DZHK-Set	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

3 Voraussetzungen für Bioprobenverarbeitung und Dokumentation

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

- Zentrifuge (gekühlt oder ungekühlt)
- Kalibrierte Pipetten
- Gefrierschrank -80°C mit Anschluss an Überwachungssystem und Ausfallsicherungskonzept
- Ausgefüllter Bioproben-Begleitschein zur Probengewinnung
- Gewonnene Bioproben in etikettierten Primärprobengefäßen (DZHK-Set/Studien-Set)

² Ehemals „DZHK-Basis-Set“

³ Ehemals „Studienspezifisches Biobanking“

⁴ Ehemals „Studienspezifisches Set“

- Gelabelte und auf 96er Rack vorgesteckte Aliquotgefäße (siehe Abb. 1)



Abb. 1: Beispiel gelaserte Aliquotgefäße 500 µl von LVL-Technologies

		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. 2: Schematische Darstellung der Positionen der Aliquotgefäße auf dem Rack mit Probenart – Pipettierschema

4 Ablauf der Bioprobenverarbeitung und Dokumentation

4.1 Vorgaben

Die Bioprobenverarbeitung 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 Bioproben-Begleitschein und in SecuTrial® dokumentiert (siehe Abschnitt 6.4).

Weiterhin zu beachten sind:

- Regelmäßige Arbeitsflächendesinfektion
- Einhaltung gängiger Hygienevorschriften

4.2 Flow Chart

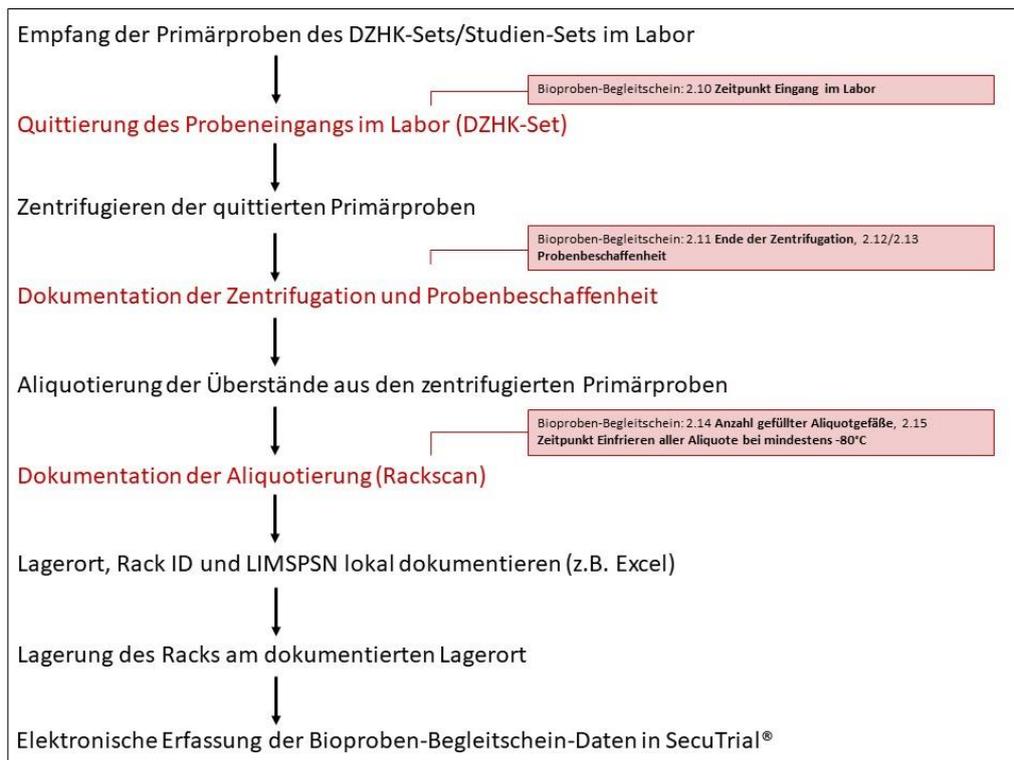


Abb.4: Ablauf der Verarbeitung von Bioproben und Dokumentation im Überblick.

4.3 Ablauf der Probenverarbeitung und Dokumentation im Detail

Probeneingang im Labor zeitnah auf dem Bioproben-Begleitschein quittieren.

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

- Für die Zentrifugation der Primärproben muss eine der zwei folgenden Varianten 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 Bioproben-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. Hierfür ist eine zusätzliche Dokumentation auf dem Bioproben-Begleitschein in SecuTrial® im Feld 2.14 unter „Kommentar“ verpflichtend. Unter „Kommentar“ einzutragen: „Citratblut verwendet“.

DZHK-SOP-B-04	Gültig ab: 01.12.2023	Nächste Prüfung 12/2025
Version: V1.3	Autor:in: T. Zeller	Seite 6 von 10

<p>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</p>	<p><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</p>

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

4.4 Einlagerung der Bioproben

- 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).

4.5 Bioprobandaten in SecuTrial®

- Digitalisierung der dokumentierten Daten vom Bioproben-Begleitschein **im eCRF in SecuTrial®.**

4.6 Versand der Bioproben (DZHK-Set/Studien-Set)

Wenn Sie an Ihrem Studienzentrum nicht über die geforderten Lagerkapazitäten (-80°C) verfügen, dann können Sie **die bereits verarbeiteten Bioproben, also die Aliquote** an die entsprechende **Studienzentrale** versenden. Die Versandabwicklung erfolgt erst nach Rücksprache mit der zuständigen Studienzentrale. Die Studienzentrale übernimmt die Verantwortung für die Abwicklung des Versandprozesses, inklusive der notwendigen Dokumentationsschritte.

4.7 Verarbeitungszeiten und Lagerung - Probenqualitäten

Anhand der dokumentierten Zeiten von Gewinnung bis zur Einlagerung sowie der Lagerkonditionen werden die Qualitätslevel vergeben. **Liegt mindestens eine der folgend gelisteten Bedingungen vor (*Dokumentation gefordert, siehe Abschnitt 6.8), 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.

4.8 Verhalten bei Abweichung

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



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

5 Literatur / Quellen

Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen (Rili-BÄK). Deutsches Ärzteblatt | DOI: 10.3238 / arztebl.2019.rili_baek_QS_Labor20192312

6 Querverweise zu bestehenden DZHK-SOPs

Gültig ist die jeweils aktuellste, verfügbare Version.

SOP-ID	Titel
DZHK-SOP-P-06	Erfassung-IDAT-Informed Consent
DZHK-SOP-B-01	Bioprobengewinnung (Studienzentren ohne DZHK Clinical Study Units)
DZHK-SOP-B-05	Versand von Bioproben

7 Änderungen

Änderungen gegenüber der vorherigen Version.

Abschnitt	Änderungen gegenüber der vorherigen Version
Gesamtes Dokument	Wording vormals Biomaterial wird zu Bioproben vormals DZHK Basisbiobanking wird zu DZHK-Biobanking vormals DZHK Basisset wird zu DZHK-Set vormals Studienspezifisches Biobanking wird zu

	Studienbiobanking vormals Studienspezifisches Probenet wird zu Studien-Set
Gesamtes Dokument	Redaktionelle Änderungen

8 Beteiligte Personen

Name	Funktion	Beteiligung
Prof. Dr. Tanja Zeller	Erstautorin	Erstellung der SOP
Dr. Ivonne Wallrabenstein	Reviewer	Fachliche Prüfung
Dr. Ilka Wilhelmi	DZHK GST	Koordination

9 Anlagen

9.1 Freigabe Vorversion

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	23.1.20
Unterschrift		