

# ILNAS

Institut luxembourgeois de la normalisation  
de l'accréditation, de la sécurité et qualité  
des produits et services

## ILNAS-EN ISO 20166-3:2019

### **Molekularanalytische in-vitro- diagnostische Verfahren - Spezifikationen für präanalytische Prozesse für formalinfixierte und**

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

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

01/2019



## Nationales Vorwort

Diese Europäische Norm EN ISO 20166-3:2019 wurde als luxemburgische Norm ILNAS-EN ISO 20166-3:2019 übernommen.

Alle interessierten Personen, welche Mitglied einer luxemburgischen Organisation sind, können sich kostenlos an der Entwicklung von luxemburgischen (ILNAS), europäischen (CEN, CENELEC) und internationalen (ISO, IEC) Normen beteiligen:

- Inhalt der Normen beeinflussen und mitgestalten
- Künftige Entwicklungen vorhersehen
- An Sitzungen der technischen Komitees teilnehmen

<https://portail-qualite.public.lu/fr/normes-normalisation/participer-normalisation.html>

### **DIESES WERK IST URHEBERRECHTLICH GESCHÜTZT**

Kein Teil dieser Veröffentlichung darf ohne schriftliche Einwilligung weder vervielfältigt noch in sonstiger Weise genutzt werden - sei es elektronisch, mechanisch, durch Fotokopien oder auf andere Art!

Deutsche Fassung

**Molekularanalytische in-vitro-diagnostische Verfahren -  
Spezifikationen für präanalytische Prozesse für  
formalinfixierte und paraffineingebettete (FFPE)-  
Gewebeproben - Teil 3: Isolierte DNS (ISO 20166-3:2018)**

Molecular in vitro diagnostic examinations -  
Specifications for pre-examination processes for  
formalin-fixed and paraffin-embedded (FFPE) tissue -  
Part 3: Isolated DNA (ISO 20166-3:2018)

Analyses de diagnostic moléculaire in vitro -  
Spécifications relatives aux processus préanalytiques  
pour les tissus fixés au formol et inclus en paraffine  
(FFPE) - Partie 3: ADN extrait (ISO 20166-3:2018)

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 21. Dezember 2018 angenommen.

Die CEN-Mitglieder sind gehalten, die CEN/CENELEC-Geschäftsordnung zu erfüllen, in der die Bedingungen festgelegt sind, unter denen dieser Europäischen Norm ohne jede Änderung der Status einer nationalen Norm zu geben ist. Auf dem letzten Stand befindliche Listen dieser nationalen Normen mit ihren bibliographischen Angaben sind beim CEN-CENELEC-Management-Zentrum oder bei jedem CEN-Mitglied auf Anfrage erhältlich.

Diese Europäische Norm besteht in drei offiziellen Fassungen (Deutsch, Englisch, Französisch). Eine Fassung in einer anderen Sprache, die von einem CEN-Mitglied in eigener Verantwortung durch Übersetzung in seine Landessprache gemacht und dem Management-Zentrum mitgeteilt worden ist, hat den gleichen Status wie die offiziellen Fassungen.

CEN-Mitglieder sind die nationalen Normungsinstitute von Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, der ehemaligen jugoslawischen Republik Mazedonien, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, den Niederlanden, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, Rumänien, Schweden, der Schweiz, Serbien, der Slowakei, Slowenien, Spanien, der Tschechischen Republik, der Türkei, Ungarn, dem Vereinigten Königreich und Zypern.



EUROPÄISCHES KOMITEE FÜR NORMUNG  
EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION  
COMITÉ EUROPÉEN DE NORMALISATION

**CEN-CENELEC Management-Zentrum: Rue de la Science 23, B-1040 Brüssel**

# Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort .....	3
Vorwort .....	4
Einleitung .....	5
<b>1 Anwendungsbereich</b> .....	<b>6</b>
<b>2 Normative Verweisungen</b> .....	<b>6</b>
<b>3 Begriffe</b> .....	<b>6</b>
<b>4 Allgemeine Betrachtungen</b> .....	<b>10</b>
<b>5 Außerhalb des Labors</b> .....	<b>10</b>
<b>5.1 Entnahme der Primärprobe</b> .....	<b>10</b>
<b>5.1.1 Allgemeines</b> .....	<b>10</b>
<b>5.1.2 Angaben zum Spender der Primärprobe/Patienten</b> .....	<b>11</b>
<b>5.1.3 Angaben zur Primärprobe</b> .....	<b>11</b>
<b>5.1.4 Aufbereitung der Primärprobe</b> .....	<b>11</b>
<b>5.2 Transportbezogene Anforderungen</b> .....	<b>12</b>
<b>6 Im Labor</b> .....	<b>12</b>
<b>6.1 Angaben zum Erhalt der Primärprobe</b> .....	<b>12</b>
<b>6.2 Formalinfixierung der Primärprobe oder der Probe(n)</b> .....	<b>13</b>
<b>6.3 Auswertung der Pathologie des Untersuchungsmaterials und Auswahl der Probe(n)</b> .....	<b>14</b>
<b>6.4 Nachträgliche Fixierung gefrorener Proben</b> .....	<b>15</b>
<b>6.5 Dekalzifizierung</b> .....	<b>15</b>
<b>6.6 Verarbeitung und Paraffineinbettung</b> .....	<b>15</b>
<b>6.7 Lagerungsbedingungen</b> .....	<b>16</b>
<b>6.8 Isolierung der DNA</b> .....	<b>16</b>
<b>6.8.1 Allgemeines</b> .....	<b>16</b>
<b>6.8.2 Allgemeine Angaben zur DNA-Isolierung</b> .....	<b>16</b>
<b>6.8.3 Verwendung handelsüblicher Kits</b> .....	<b>17</b>
<b>6.8.4 Anwendung laboreigener Protokolle</b> .....	<b>18</b>
<b>6.9 Quantitäts- und Qualitätsbewertung isolierter DNA</b> .....	<b>19</b>
<b>6.10 Lagerung isolierter DNA</b> .....	<b>19</b>
<b>Anhang A (informativ) Auswirkung der Lagerungstemperatur auf die DNA-Integrität in</b>	
<b>FFPE-Gewebeblöcken</b> .....	<b>21</b>
<b>A.1 Einleitung</b> .....	<b>21</b>
<b>A.2 Ergebnisse</b> .....	<b>21</b>
<b>A.3 Schlussfolgerungen</b> .....	<b>22</b>
<b>Literaturhinweise</b> .....	<b>23</b>

## Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (EN ISO 20166-3:2019) 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.

Diese Europäische Norm muss den Status einer nationalen Norm erhalten, entweder durch Veröffentlichung eines identischen Textes oder durch Anerkennung bis Juli 2019, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis Januar 2022 zurückgezogen werden.

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. CEN ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren.

Entsprechend der CEN-CENELEC-Geschäftsordnung sind die nationalen Normungsinstitute der folgenden Länder gehalten, diese Europäische Norm zu übernehmen: Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, Niederlande, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, Rumänien, Schweden, Schweiz, Serbien, Slowakei, Slowenien, Spanien, Tschechische Republik, Türkei, Ungarn, Vereinigtes Königreich und Zypern.

### Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO 20166-3:2018 wurde von CEN als EN ISO 20166-3:2019 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

## Vorwort

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

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

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

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

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

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

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

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

## Einleitung

Die molekulare *In-vitro*-Diagnostik, darunter auch die molekulare Pathologie, hat bedeutende Fortschritte in der Medizin ermöglicht. Weitere Fortschritte werden von neuen Technologien erwartet, mit denen Nukleinsäuren, Proteine und Metaboliten in humanen Geweben und Körperflüssigkeiten analysiert werden. Die Profile und/oder die Integrität dieser Moleküle können bzw. kann sich jedoch im Verlauf der Entnahme der Primärprobe, des Transports, der Lagerung und der Verarbeitung drastisch verändern und dadurch die Diagnostik bzw. Forschungsergebnisse unzuverlässig oder sogar unmöglich machen, da in der anschließenden Untersuchung nicht die Situation im Patienten, sondern ein künstliches Molekülprofil bestimmt wird, das in einem präanalytischen Verfahren geschaffen wurde. Zur Bestimmung der Einflussfaktoren der Untersuchung von DNA aus mit Formalin fixiertem und in Paraffin eingebettetem Gewebe (FFPE-Gewebe) wurden entsprechende Studien durchgeführt. Diese Studien zeigten, dass eine Normung des gesamten Prozesses von der Primärprobenahme bis zur DNA-Untersuchung notwendig ist. Bei der Festlegung und Normung einzuhaltender Schritte während der sogenannten präanalytischen Phase für mit Formalin fixiertes und in Paraffin eingebettetes Gewebe (FFPE-Gewebe) im Rahmen der DNA-Untersuchung stützt sich dieses Dokument auf diese Arbeiten.

Die DNA-Integrität in Geweben kann sich vor, während und nach der Formalinfixierung, der Verarbeitung und der Lagerung verändern. Während der Gewebefixierung in die DNA eingebrachte chemische Modifikationen können zu Fragmentierungen und Sequenzänderungen, Veränderung des Methylierungszustands oder sogar zu Strukturveränderungen führen, die z. B. störende Kopienanzahlveränderungen in Array-CGH-Profilen bewirken können. Diese Modifikationen der DNA-Moleküle können die Gültigkeit und Zuverlässigkeit der Untersuchungen beeinträchtigen. Daher ist es wichtig, dass besondere Maßnahmen getroffen werden, um die beschriebenen DNA-Veränderungen und -modifikationen im Hinblick auf die anschließende Untersuchung möglichst gering zu halten.

In diesem Dokument werden die folgenden Verbformen verwendet:

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

## 1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument dient als Leitfaden zur Handhabung, Dokumentation, Lagerung und Verarbeitung von aus FFPE-Gewebe bestehendem und für die DNA-Untersuchung vorgesehenem Untersuchungsmaterial während der präanalytischen Phase vor Beginn der molekularen Analyse.

Dieses Dokument gilt für molekulare *in-vitro*-diagnostische Untersuchungen, wozu auch im Labor entwickelte Prüfungen zählen, die von medizinischen Laboratorien und Laboratorien der molekularen Pathologie durchgeführt werden. Sie soll auch von Laborkunden, Entwicklern und Herstellern von *In-vitro*-Diagnostika sowie Biobanken, Einrichtungen und kommerziellen Organisationen, die in der biomedizinischen Forschung tätig sind, und Aufsichtsbehörden eingesetzt werden.

**ANMERKUNG** Zu bestimmten Bereichen, die in diesem Dokument behandelt werden, können lokale, nationale oder regionale Bestimmungen oder Anforderungen gelten.

## 2 Normative Verweisungen

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

ISO 15189:2012, *Medical laboratories — Requirements for quality and competence*

ISO 15190, *Medical laboratories — Requirements for safety*

## 3 Begriffe

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

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

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

**3.1 Aliquot**  
Anteil einer größeren Menge homogenen Materials, der unter Annahme eines vernachlässigbaren Probenahmefehlers entnommen wurde

Anmerkung 1 zum Begriff: Der Begriff wird üblicherweise für Flüssigkeiten verwendet. Gewebe sind heterogen und können daher nicht aliquotiert werden.

Anmerkung 2 zum Begriff: Diese Definition beruht auf den Verweisungen [25], [26] und [27].

**3.2 Umgebungstemperatur**  
unregelte Temperatur der Umgebungsluft

**3.3 Analyt**  
Komponente, die im Namen einer messbaren Größe dargestellt wird

[QUELLE: ISO 17511:2003, 3.2, modifiziert — Das BEISPIEL wurde entfernt.]