DIN CEN/TS 17981-2:2024-05 (D)

Next-Generation-Sequencing(NGS)-Arbeitsabläufe für die In-vitro-Diagnostik - Teil 2: Untersuchung von menschlicher RNA; Deutsche Fassung CEN/TS 17981-2:2023

Inhalt

Seite

Europäisches Vorwort 7

Einleitung 8

1 Anwendungsbereich 9

2 Normative Verweisungen 9

3 Begriffe 10

4 Allgemeine Anforderungen 23
4.1 Allgemeines 23
4.2 Konzeption der Untersuchung 24
4.3 Entwicklung des Untersuchungsverfahrens 28
4.4 Verifizierung und Validierung der Leistungsfähigkeit der Untersuchung 29
4.5 Technische Merkmale der Leistungsfähigkeit der Untersuchung 35

5 Präanalytische Verfahren für die Entwicklung der Untersuchung 36
5.1 Allgemeines 36
5.2 Isolierung von humaner RNA 37
5.2.1 Allgemeines 37
5.2.2 Isolierung aus formalinfixiertem und paraffineingebettetem (FFPE-)Gewebe 37
5.2.3 Isolierung aus frisch gefrorenem Gewebe 37
5.2.4 Isolierung aus Feinnadelaspiraten (FNAs) 37
5.2.5 Isolierung aus venösem Vollblut 38
5.2.6 Isolierung der zirkulierenden zellfreien RNA aus Plasma 38
5.3 Bewertung von Qualität und Menge der RNA-Probe 39

6 Untersuchungsprozesse für die Entwicklung der Untersuchung 40
6.1 Vorbereitung der Sequenzierungsbibliothek für die Entwicklung der Untersuchung 40
6.1.1 Allgemeines 40
6.1.2 Schritte bei der Vorbereitung einer Sequenzierungsbibliothek 41
6.1.3 RNA-Sequenzierung (RNA-Seq) 45
6.2 Entwicklung der Sequenzierungsuntersuchung 49
6.2.1 Allgemeines 49
6.2.2 Techniken 49
6.2.3 Qualitätskontrolle der Sequenzierung 50
6.3 Anforderungen an die Datenanalyse für die Entwicklung der Untersuchung 50
6.4 Anforderungen an die Qualitätskontrolle (QC) für die Entwicklung der Untersuchung 51
6.4.1 Allgemeines 51
6.4.2 RNA-Sequenzierung 52

7 Anforderungen für die Entwicklung des Berichterstellungs-Tools der Untersuchung 52
7.1 Allgemeines 52
7.2 Merkmale des Berichts 53
7.3 Inhalt des Berichts 54

8 Umsetzung des *in-vitro*-diagnostischen NGS-Arbeitsablaufes in die Routinepraxis 55

9 Meldung und Interpretation der Ergebnisse 56

10 Verfahren der Qualitätssicherung 57
10.1 Allgemeines 57

10.2 Überwachung der Leistung, Optimierung der Untersuchung und Vergleichsprüfung zwischen Laboratorien ... 57

Anhang A (normativ) *In-vitro*-diagnostischer NGS-Arbeitsablauf für Einzelzell-Analysen ... 58
A.1 Allgemeine Informationen und Anforderungen an Einzelzell-Analysen ... 58
A.2 Präanalytische Verfahren für die Entwicklung der Untersuchung ... 59
A.2.1 Allgemeine Angaben zu anwendbaren Verfahren ... 59
A.2.2 Anforderungen an CTCs von Entnahme der Blutprimärprobe bis zur CTC-Isolierung ... 59
A.2.3 Anforderungen an frisches gefrorenes oder FFPE-Humangewebe von der Entnahme des Untersuchungsmaterials bis zur Isolierung einzelner Zellen ... 59
A.2.4 Isolierung von humaner RNA ... 62
A.2.5 Bewertung der Qualität der RNA-Probe ... 62
A.3 Untersuchungsphase für die Entwicklung der Untersuchung ... 63
A.3.1 Vorbereitung der Sequenzierungsbibliothek für die Entwicklung der Untersuchung von CTCs und Einzelzellen aus Gewebeproben ... 63
A.3.2 Sequenzierung für die Entwicklung der Untersuchung von CTCs und Einzelzellen aus Gewebeproben ... 63
A.3.3 Anforderungen an die Datenanalyse für die Entwicklung der Untersuchung von CTCs und Einzelzellen aus Gewebeproben ... 64
A.3.4 Anforderungen an die QC für die Entwicklung der Untersuchung ... 66
A.4 Umsetzung des *in-vitro*-diagnostischen NGS-Arbeitsablaufes in die Routinepraxis ... 66
A.5 Meldung und Interpretation der Ergebnisse ... 66
A.6 Verfahren der Qualitätssicherung ... 66

Anhang B (normativ) Beispielhafter *in-vitro*-diagnostischer NGS-Arbeitsablauf für räumliche Transkriptomik ... 67

Anhang C (informativ) Schema des *in-vitro*-diagnostischen NGS-Arbeitsablaufes zur Untersuchung von RNA ... 68

Literaturhinweise ... 69

Bilder

Bild C.1 — Schema des *in-vitro*-diagnostischen NGS-Arbeitsablaufes zur Untersuchung von RNA ... 68

Tabellen

Tabelle 1 — Beispiele für bestimmungsgemäße Anwendungen und entsprechende klinische Leistungsmerkmale ... 33

Tabelle 2 — Analytspezifische Anforderungen für präanalytische Verfahren ... 36

Tabelle 3 — Für die EV-RNA-Sequenzierung angewendete Methoden ... 47