

# 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 <i>in-vitro</i> -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
<b>Anhang A (normativ) <i>In-vitro</i>-diagnostischer NGS-Arbeitsablauf für Einzelzell-Analysen .....</b>		
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 Gewebeprobe.....	63
A.3.2	Sequenzierung für die Entwicklung der Untersuchung von CTCs und Einzelzellen aus Gewebeprobe.....	63
A.3.3	Anforderungen an die Datenanalyse für die Entwicklung der Untersuchung von CTCs und Einzelzellen aus Gewebeprobe.....	64
A.3.4	Anforderungen an die QC für die Entwicklung der Untersuchung.....	66
A.4	Umsetzung des <i>in-vitro</i> -diagnostischen NGS-Arbeitsablaufes in die Routinepraxis.....	66
A.5	Meldung und Interpretation der Ergebnisse.....	66
A.6	Verfahren der Qualitätssicherung.....	66
<b>Anhang B (normativ) Beispielhafter <i>in-vitro</i>-diagnostischer NGS-Arbeitsablauf für räumliche Transkriptomik .....</b>		
<b>Anhang C (informativ) Schema des <i>in-vitro</i>-diagnostischen NGS-Arbeitsablaufes zur Untersuchung von RNA.....</b>		
		68
<b>Literaturhinweise .....</b>		69

## Bilder

Bild C.1 — Schema des <i>in-vitro</i> -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