

## Reserapport CEN-möte i Berlin

Möte:TC140 WG3

Plats: Berlin, Deutsches Institut für Normung (DIN).

Datum:140210-140212

Svensk spegelkommitté: SIS/TK331 Laboratoriemedicin

Representanter från: England, Tyskland, Österrike, Italien, Japan och Sverige

Svenska deltagare: Lena Morgan, Anna-Karin Wahlström och Linda Lindh

Söndagen den 9 februari kl 16.00 avgick tåget mot Arlanda, flyget mot Berlin gick kl 19,15 och jag landade på Tegels flygplats 20.15. Med taxi tog jag mig till hotell Ellington som låg i centrala Berlin. Resten av kvällen granskade jag dokument eftersom sista versionen kom sent fredag kväll.

Måndagen den 10 februari började med en utmärkt hotellfrukost. Därefter letade jag mig till mötet som hölls på Deutsches Institut für Normung (DIN). Det låg bara några kvarter från hotellet så jag var i god tid. Mötet öppnades av ordförande John James och sekreterare på mötet var Lena Krieger. Alla mötesdeltagare presenterade sig och där fanns representanter från England, Österrike, Tyskland, Italien, Japan och Sverige. Efter en kort introduktion av John James så började vi granska dokument. Först ut var:

### **Molecular in-vitro diagnostic examinations-Specifications for pre-examination process blood cellular RNA.**

Det började med en väldigt lång diskussion angående terminologin för pre-examination processes, pre-analytical phase och workflow. Det visade sig att olika länder använder sig av olika termer fast vi menar samma sak. Vi enades om en term. En annan diskussion som blev lång var vad är egentligen "room temperature". Vi enades till slut om att i detta dokument står "room temperature" för 18-25°C. Under rubriken "General considerations" skulle transport och säkerhetsaspekter komma in. Dock visade det sig att dessa bestämmelser är väldigt lokala även inom länder så här blev rekommendationen bred. Vi lade även till texten "Primary blood collection manual: selection of the blood collection tube by the laboratory. Eftersom det är det analyserande laboratoriet som anger vilket provmaterial som ska användas för respektive analys. Detta förslag kom från Sverige.

### **Molecular in-vitro diagnostic examinations-Specifications for pre-examination process blood cellular DNA.**

Lång diskussion angående hållbarhet, stabilitet av RNA och DNA från när provet är taget tills det ska extraheras. Två dygn i rumstemperatur var något som nämndes. Men inkluderar detta då även transport? Vad är det för tider som gäller om provet transporteras kylt och vilken temperatur menar vi då? Mario, som representerade Italien, visade oss olika studier som var gjorda angående stabilitet av DNA/RNA. Vi kommer att referera till dessa artiklar i standarden, men artiklarna behöver först genomgå ytterligare. Vi återkommer till detta.

På eftermiddagen hölls ett telefonmöte med Sheila W. från Nova Scotia Canada. Hon har skrivit ett förslag till en standard om transport och provtagning som bygger på dokument ISO 15189:2012. Vår arbetsgrupp var orolig att detta dokument kommer att strida mot det vi författat och/eller att det blir två parallella dokument. Som både innebär dubbelarbete, men även kan förvirra istället för att stötta. Sheila visade sitt dokument och vi gick igenom det punkt för punkt. Det visade sig att det Kanadensiska dokumentet var väldigt övergripande dokument om riktlinjer generellt vid transport och provtagning. Man kan använda det som ett paraplydokument som John James uttryckte sig. Det denna arbetsgrupp skriver på är mer specifikt för tex RNA och DNA. Vi konstaterade att båda dokumenten behövs och kan referera till varandra. Sheila höll med. Arbetsgruppen verkade lättad.

Tisdagen den 11 februari började med ett föredrag från den Japanska delegationen. "A proposal in ISO/TC212 from Japan" Det har cirkulerat som dokument N311 PWI resolution 356(?). Dock hade jag lite svårt att förstå den japanska engelskan så i kort handlade det mycket om det vi diskuterat tidigare RNA, DNA, stabilitet och vilka koncentrationer av RNA/DNA som var lägsta koncentration för att kunna detektera med en molekylärbiologisk metod. Föreläsningen finns nu att tillgå på CEN.

#### **Molecular in-vitro diagnostic examinations-Specifications for pre-examination process for frozen tissue- RNA**

#### **Molecular in-vitro diagnostic examinations-Specifications for pre-examination process for frozen tissue- Protein**

Dessa dokument granskades parallellt. Lång diskussion angående text under rubriken "General Consideration". Hur RNA och protein påverkas av "warm ischemia" och "cold ischemia". Temperaturen vid transport och hur detta regleras och kontrolleras.

Kommentaren "It is strongly recommended to investigate, if the specific RNA species level intended to be analysed in the analytical test is stable during the entire preanalytical workflow" Är detta en rekommendation, hur ska det göras?? Det blev ingen riktig klarhet i detta. Vi diskuterade även vikten av att använda RNAAs fria spetsar, lösningar m.m.

Under "General Consideration" lade vi även till en mening av vikten att undvika kontamination. Detta tog jag upp eftersom det knappt nämndes något om detta i något av de molekylärbiologiska dokumenten. Detta lades sedan till i alla dokument vi granskade.

#### **Molecular in-vitro diagnostic examinations-Specifications for pre-examination process for FFPE tissue- Protein**

Sista dokumentet för dagen granskades i en syrefri miljö där vi endast hade haft mackor att livnära oss på hela dagen. En lång diskussion angående koncentrationsförhållandet formalin till vävnad 1/10 eller 1/5. Jag poängterade att i Gävles provtagningsanvisningar rekommenderar 1/10. Detta skiljer mellan länder men verkade även skilja mellan laboratorier i tyskland. De verkade inte heller ha riktlinjer angående detta som vi har i Sverige, som tex provtagningsanvisningar. Även lång diskussion om kontamination och vilken påverkan formaldehyd har på de kemiska bindningarna, korsbindningar(cross-linking). Diskussionen avbröts eftersom dagen var till ända, efter 10h granskning av dokument och endast 5 min rast.

Onsdagen den 12 februari började en timme innan utsatt tid eftersom vi låg efter i schemat.

**Molecular in-vitro diagnostic examinations-Specifications for pre-examination process for FFPE tissue- DNA**

**Molecular in-vitro diagnostic examinations-Specifications for pre-examination process for FFPE tissue- Protein**

**Molecular in-vitro diagnostic examinations-Specifications for pre-examination process for FFPE tissue- RNA**

Eftersom vi nu låg efter granskade vi nu tre dokument parallellt. Lång diskussion där vi granskade artiklar som visade förändringar som sker vid arkivering av paraffininbäddade vävnadssnitt. En kemisk process sker där oftast basparet C byts ut mot T. Fler referenser behövs angående detta. Det sker även en DNA/RNA degradering under arkivering av paraffininbäddat material. En av patologerna på mötet hade forskat mycket på detta och visade sina resultat. Vi gick igenom vilka artiklar samt vilka grafer/tabeller som tydligast visade resultaten. Detta blev inte klart. Vi hade även en lång diskussion angående IVD-märkning, validering, verifiering och in-house metoder. Terminologin är inte riktigt lika i de olika länderna. Jag förklarade vad som gällde i Sverige och hur vi gjorde på laboratoriet i Gävle när vi byter metod. Tiden började nu rinna ut och folk lämnade mötet för att resa hemåt eller vidare. Vi som var kvar hade ett sista maraton i att se till att vi hade gjort rätt ändringar i rätt dokument. Vissa ändringar skulle in i alla dokument. Resan tillbaka till Sverige gick kl 17.00 från DIN och jag flög sedan 19.30 från Tegel till Arlanda. Tåget mot Gävle var framme kl 23.15. Tågtaxin väntade på mig och 00.10 så stängde jag ytterdörren bakom mig, gäsp!

### Diskussion/kommentarer:

Detta var mitt första CEN-möte och jag hade bara haft en kort introduktion i Stockholm av Lena Morgan(eftersom det var så nära in på mötet). Jag har fortfarande väldigt svårt att förstå hur allt är uppbyggt gällande arbetsgrupper W3, W4 osv. ISO-dokumenterna är också

nya för mig. En sak som också förvirrar mig är att dokumenten får nya N-nummer vid nya upplagor ibland och ibland inte. Jag var den enda personen på mötet som INTE hade en dator utan hade gått igenom alla dokument på papper. Några av dokumenten hade Lena Krieger skickat väldigt sent på fredagen. Så pga att jag ej kommer åt min jobbmail hemifrån så hade jag granskat dokument som inte var senaste versionen. Detta innebar att vissa ändringar som jag påpekade redan var justerade. Om jag ska åka på fler möten känns det som att jag måste få tillgång till en dator samt ha tillgång till min jobbmail där alla dokument finns.

Den stora vinsten för mig var all den enorma kunskap jag har fått på detta möte och tar med mig hem. I Gävle är vi på gång att börja analysera patologi med molekylärbiologi. Detta möte handlade just mycket om detta. Vad man ska tänka på när man handskas med DNA, RNA och proteiner. Hur de påverkas av formaldehyd, arkivering i paraffin, degradering av DNA, RNA och proteiner. Hur det sedan påverkar den molekylärbiologiska analysen som följer tex inhibering av påföljande PCR. Eftersom jag idag jobbar med molekylärbiologiska analyser av bakterier och virus har jag haft väldigt lite insikt i hur viktigt just det preanalytiska flödet är för dessa prover. Den kunskapen har jag nu (finns såklart mer att lära) och dessutom har jag tillgång till dokumenten samt de artiklar som dokumenten refererar till. Detta kommer bli en till en stor vinst för mitt laboratorium som jag gärna delger andra.

Nästa möte för att granska dessa dokument blir 140604-140606, eventuellt ett telefonmöte i maj.

**Linda Lindh**

**Mikrobiologen Gävle**

**Gävle sjukhus**

**801 87 Gävle**

**tele: 026-150349**

**E-post: linda.lind@lg.se**