

Reseberättelse CEN-möte Berlin

Mötet ägde rum i Berlin 140604-140606

Deltagare: Mario Pazzagli, Mikael Kubista, Uwe Oelmüller, Karl Becker, Kurt Zatloukal, Paola Turano och en deltagare från Danmark. Sekreterare från DIN: Lena Krieger

Svensk Spegelkommitte': TK331

Svenska deltagare var jag och Mikael Kubista från TATAA Biocenter.

Resan till Berlin startade på tisdagen den 3 februari. Med bil tog jag mig till Arlanda och flög därifrån till Tegel, Berlin. Även denna resa bodde jag på hotell Ellington. Granskning av dokument förgyllde denna kväll, men gick smidigt eftersom jag nu har en bärbar dator.

Onsdag den 4 juni

Molecular in-vitro diagnostic examinations — Specifications for N 73 pre-examination processes for FFPE tissue — RNA:

En genomgång gjordes av alla kommentarer i dokument N93 som gällde detta dokument N 73. Mycket diskussioner angående vad man ska späda(buffra) formaldehyd med tex PBS eller TE. Det framkom att rätt PH (7.0) på buffertar är väldigt viktigt för RNA medans det för DNA kan vara 8.0. Därav måste vi ändra i alla dokument eftersom det stått samma oavsett om det varit RNA eller DNA vi jobbat med.

Även lång diskussionen att hela analys flödet måste verifieras och valideras även om själva metoden är CE-märkt eller IVD märkt eftersom preanalytiska flödet har stor påverkan på kommande resultat.

En professor från Tyskland beskrev att vacuumtransport kommer att bli det nya för transport av vävnad till patologi lab istället för på is eller kylboxar. Stor diskussion angående crosscontamination mellan prov vid hantering av proverna vid inbäddning, snittning osv. Enligt mig så har patologer inte samma syn på cross contaminering som molekylärbiologer. Dock har de rätt i att RNAas och DNAas fria lösningar inte behöver användas i det preanalytiska flödet men är väldigt viktigt vid själva extraktionen av DNA/RNA.

Annexet tillhörande detta dokument har ändrats lite sedan förra mötet och grafer och tillhörande text är nu mycket lättare att förstå. Jobbet med detta dokument tog 8 timmar.

Molecular in-vitro diagnostic examinations — Specifications for N 78 pre-examination processes for FFPE tissue — DNA:

Eftersom det första dokumentet ägnades 8 h och vi måste hinna med alla tre FFPE dokument så gjorde vi bara ändringar som lätt kunde klippa och klistras mellan de olika dokumenten. En webbkonferens kommer att hållas i juni där arbetet med dessa dokument ska slutföras.

Molecular in-vitro diagnostic examinations — Specifications for N 75 pre-examination processes for FFPE tissue — Extracted proteins

Eftersom det första dokumentet ägnades 8 h och vi måste hinna med alla tre FFPE dokument så gjorde vi bara ändringar som lätt kunde klippa och klistras mellan de olika dokumenten. En webbkonferens kommer att hållas i juni där arbetet med dessa dokument ska slutföras.

När vi var klar för dagen 19.00 så gick alla deltagare till en kinarestaurang och åt middag tillsammans.

Torsdagen den 5 juni

Molecular in-vitro diagnostic examinations — Specifications for N 80, N 81 pre-examination processes for metabolomics analyses in urine, plasma and serum:

Vi började med att gå igenom definitioner som tex plasma och serum för att se att det stämde genom hela dokumentet. Paula från Italien har jobbat mycket med detta dokument och ska be fler experter att granska det. Hon var även osäker på var gränsen går för stora metaboliter vid 1500 Da eller 2000 Da det blev hennes hemläxa.

Lång diskussion angående vilka tillsatser (heparin,citrat EDTA) som kan finnas i vacuum containers och hur de påverka de metaboliter man ska mäta. I detta dokument rekommenderas det att EDTA används eftersom man sett i flera studier att de påverkar resultatet minst.

För urin så anser Paula att urinprovet sak tas på morgonen eftersom det då blir mest standardiserat pga fastan som sker över natten. Några deltagare tyckte att detta kunde bli en diskriminerande faktor. Efter en lång diskussion enades de genom att lägga till en NOTE.

Paula ska skriva ett exempel på ett flöde för att ta fram metaboliter det kommer att läggas i ett Annex tillhörande standarden.

Molecular in-vitro diagnostic examinations — Specifications for N 77 pre-examination processes for snap frozen tissue — RNA:

Här diskuterades vikten av att de frysta proven förvaras fryst och att om avvikelser från detta sker måste det dokumenteras. Genom temperaturövervakning av -70 frysar och alarm. Detta beror på att RNA så lätt kan degradera vid felhantering. Detta har man sett vid flertalet studier. Vi ändrade även rekommendationen angående tjockleken på snitten från 5µm-20µm till 4 µm-20µm.

Fredagen den 6 juni

Molecular in-vitro diagnostic examinations — Specifications for N 86, N 87 pre-examination processes for blood — Cellular RNA (Recommendation for change of title)

Molecular in-vitro diagnostic examinations — Specifications for N 74, N 82 pre-examination processes for blood — Circulating cell free DNA
(Recommendation for change of title)

Molecular in-vitro diagnostic examinations — Specifications for N 84, N 85 pre-examination processes for blood — Genomic DNA

Mario från Italien och Mikael från Tatta Sverige gick igenom alla kommentarerna på de tre bloddokumenterna på torsdagen. Nu gick vi gemensamt igenom RNA dokumentet, och ändrade bla en del terminologi, tex RNA speices ändrades till mRNA, tRNA och miRNA. Annexet granskades och diskuterades länge, vi ändrade en hel del terminologi och meningar för att tydliggöra de olika graferna. Det hela slutade med att vi kom fram till att Mario måste titta igen eftersom vi inte ville ändra för mycket i det som han har skrivit. Dock hittade vi mycket otydligheter som måste tydliggöras.

I flera av dokumenten har det används olika benämningar på "cyclic treshold" Mikael som är expert på området informerade om att Cq är den benämning som ska användas.

Kommande möten: Ett möte som kommer att beröra molekylärdokumenterna blir i november (datum ej satt) samt den 2-5 feb 2015. Lena Krieger undrade även vilka av oss som kunde delta på ISO-mötet i Toronto den 15-17 oktober. Om jag tolkat rätt så kommer molekylärdokumenterna upp för granskning på ISO-nivå.

Diskussion/kommentarer:

Detta var mitt andra CEN-möte i Berlin och jag känner nu att jag hänger med på ett helt annat sätt än förra mötet även om det såklart finns en del saker som är svåra att förstå. Detta möte tycker jag främst att jag har fått förståelse för hur man kommenterar dokumenten när de är ute på remiss eftersom vi på detta möte gick igenom alla kommentarerna.

Vi gick även grundligt igenom alla Annexen tillhörande standard dokumenten. Annexen tycker jag känns som väldigt användbara för de som kommer att läsa den kommande standarden. Där finns bevis för tex hur stabiliteten av RNA och DNA i FFPE klossar påverkas över tid och hur temperaturen vid lagring har för betydelse för RNA. Samma studier har även gjorts för CCfDNA. Man har även tittat på hur RNA påverkas i vävnad under det preanalytiska flödet. I varje annex hänvisas även till vidare läsning och det finns en litteraturlista.

I höst ska vi i tillsammans med Patologen se över de molekylärpatologiska analyserna som vi idag skickar till andra laboratorier för analys. Finns det möjlighet för oss att utföra dessa analyser på mikrobiologen i Gävle? Detta material kommer då att vara till stor användning för oss. Jag har även hört med några av patologerna som deltar i detta möte om jag kan få kontakta dem om vi stöter på funderingar och det var inga problem, vilket kan komma att ha en stor betydelse för oss.

Gävle 2014-07-22

Linda Lindh
Mikrobiologen Gävle sjukhus