

Retningslinje for håndtering, opbevaring og registrering af blod Regionernes Bio- og GenomBank

Introduktion

De nationale instrukser for blodprøver i Regionernes Bio- og GenomBank (RBGB) er baseret på anbefalingerne i Dansk CancerBiobank (DCB), som er udarbejdet af teknikgruppen under DCB's faglige følgegruppe. Valget af procedurer er generelt baseret på en vurdering og afvejning af forskellige metoder til indsamling i forhold til bl.a. fremtidig anvendelse, prøve kvalitet, praktiske muligheder og økonomi. Målet er at materialet i RBGB kan anvendes til translational forskning og dermed bidrage til en mere personaliseret behandling af de patientgrupper, der er dækket i RBGB. Desuden er det vurderet, at der vil være enkelte bekostelige elementer, som indtil videre må indgå i RBGB som projektønske pga. begrænset bevilling til biobanken. I det følgende uddybes baggrunden for instrukser til indsamling, opbevaring og registrering af blod i RBGB.

Sikkerhed i arbejdet med biologisk materiale

Arbejde med flydende kvælstof (N₂) og isopentan skal godkendes af den lokale sikkerhedsorganisation. Isopentan kan bl.a. være eksplosivt og de lokale afdelinger skal følge retningslinjer for håndtering, opbevaring, bortskaffelse m.m.

Alt blod betragtes som potentielt smittefarligt og skal håndteres ifølge lokale sikkerhedsforskrifter for smittefarligt materiale. Det anbefales at bruge handsker ved håndtering af prøver i laboratoriet.

Det forudsættes, at alle afdelinger ved håndtering af biologisk materiale arbejder på rene overflader og med rene rør, beholdere og instrumenter. Instrumenter rengøres efter lokale forskrifter. I forbindelse med håndtering af blod benyttes engangspipetter/pipetter med engangsspids og der skiftes pipette(spids) mellem hver patientprøve. De anbefalede mikrorør og skruelåg til nedfrysning af blod er certificeret fri for DNaser, RNaser og humant DNA.

Baggrund for blodprøver indsamlet til RBGB

Procedure

Blodprøver indsamlet til RBGB skal så vidt muligt tages *sammen med* de øvrige diagnostiske blodprøver, og vil typisk blive taget i forbindelse med ambulatoriebesøg på indikation af en kræftdiagnose (DCB) eller ved behandlingsopstart, -skift, -stop eller ved alvorlige bivirkninger (DRB) eller i andre primære kontakter/behandlingsrelaterede besøg i relation til biobankerne i RBGB. Dansk CancerBiobank indsamler korreponderende blod- og vævsprøver, hvorfor det skal tilstræbes, at blodprøverne tages maksimalt 14 dage *inden* behandling/operation. Hvis der går mere end 14 dage, før den tilhørende vævsprøve kan tages, anbefales blodprøvetagningen gentaget. Da blodprøven tages på indikation, kan man overordnet forvente flere blodprøver end vævsprøver i DCB. Det er klinikerens ansvar at bestille blodprøverne så det stemmer overens med ovenstående. Aftale ved generel indsamling skal indgås således at det er afklaret, hvem der indhenter og opbevarer evt. projektsamtykke fra patienterne.

Blodprøver fra de patienter, der viser sig at have benigne lidelser, kan udgøre værdifuldt kontrolmateriale i kommende projekter.

Der opbevares - i prioriteret rækkefølge - fuldblod, serum, plasma/buffy-coat samt optimalt PAXgene/TEMPUS rør til RNA. Af hensyn til materialets kvalitet for forskning bør håndteringstiden fra prøvetagning til nedfrysning være så kort som mulig. Blod bør således ifølge RBGB kvalitetsindikator være håndteret og nedfrosset indenfor 3 timer. Indikatoren indgår i årsrapporten.

Serum er den foretrukne prøve til en række biokemiske/hæmatologiske analyser. Det anbefales generelt at anvende serum rør *uden* gel. Gel er en olieholdig substans, der især ved længere tids kontakt kan afgive materiale til blodet og dermed interferere med biokemiske analyser. Serum rør antages derfor at give et renere serum prøvemateriale end serum-gel rør. Serum-gel rør kan anvendes, hvis blodprøverne skal transporteres over længere tid før håndtering. Det anbefales i så fald at anvende rør med nyere typer af gelmateriale (f.eks. BD SST II™ rør), der minimerer adsorption af analytter til gelen (1). Rørene centrifugeres inden transport, hvorved gelen sørger for adskillelse mellem koagel og serum, så både blodtilblanding og hæmolyse minimeres.

Til plasma anvendes laboratoriets gængse EDTA rør, enten i form af K2- eller K3-EDTA. RBGB anbefaler ikke den ene form frem for den anden, men gør opmærksom på, at K3-EDTA *kan* påvirke visse antistoffer/analyser.

Buffy-coat indeholder - udover blodplader - leukocytter til DNA analyser.

PAXgene/TEMPUS rør indgår ikke i standardsættet, da midlerne tildelt RBGB er begrænsede (listepriis er ca. 88 kr./rør.). Det anbefales i stedet, at PAXgene/TEMPUS blodprøver kan tilknyttes konkrete forskningsprojekter, der selv betaler for rørene. Det skal via samarbejdsaftale fremgå om der ønskes indsamling af PAXgene/TEMPUS glas. Dette er i overensstemmelse med, hvad man anbefaler fra Karolinska Institutets Biobank. Hvis PAXgene/TEMPUS rør inkluderes, kan blodprøven med fordel tages lige før operation/behandlingsstart for at minimere antallet af PAXgene/TEMPUS blodprøver fra patienter med benigne lidelser. Blodprøvetagning i ambulatorier/på afdelinger betyder, at blodprøver til biobank kan være et stykke tid undervejs inden modtagelse i laboratoriet, hvor de kan komme på køl. PAXgene/TEMPUS rør er derfor særdeles relevant for blodprøveindsamling og vil betyde forbedret prøve kvalitet til RNA målinger i blod. UK Biobanks "Sample handling and storage subgroup protocol and recommendations" har en liste med alle tænkelige analyser og foretrukken prøvetype (www.ukbiobank.ac.uk).

Opbevaring

Serum og plasma opbevares ved -80 °C. Fuldblod og buffy-coat ved -20 °C, alternativt -80 °C. Minus 20 °C fryserer er betydeligt billigere end -80 °C fryserer både i anskaffelse og i daglig drift, og generelt er -20 °C fuldt tilstrækkelig til de nævnte fraktioner. Dog kan der være en logistisk fordel i at opbevare alle fraktioner ved samme temperatur. Praksis i de biobanker, som RBGB kender til, er således også at opbevare alle blodfraktioner ved -80 °C. Opbevaringstemperaturen indberettes i registreringsmodulet for RBGB, idet temperaturen defineres som standardværdi for hver fraktion i et fraktionssæt.

Det enkelte biobankcenter vælger selv, hvordan prøveopbevaring organiseres, f.eks. i) serum og plasma i én fryser, fuldblod og buffy-coat sammen i en anden fryser, ii) serum og plasma fordeles ud på to fryserer for ikke at opbevare alt materiale fra den enkelte patient samlet, iii) alle fraktioner placeres fortløbende i samme fryser, iv) fraktionerne sorteres efter projektreservation.

På Karolinska har der aldrig været registreret et uopdaget frysernedbrud. Risiko for tab af materiale bør således kunne elimineres ved overvågning af fryserer (manuelt/elektronisk) og ved altid at have en tom af-

kølet fryser stående som reservefryser. Den enkelte afdeling har selv ansvar for at vedligeholde og overvåge fryserne der opbevarer prøverne indsamlet til RBGB samt at sikre materialet ved evt. frysernedbrud.

Baggrundsinformationer, registrering af blod

Det enkelte biobankcenter registrerer baggrundsdata om laboratoriet i registreringsmodulet for Regionernes Bio- og GenomBank.

Oplysninger om prøvetagningsrør registreres, idet præ-analytiske faktorer (f.eks. mængde EDTA i rørene) kan påvirke et analyseresultat. Oplysninger om blodprøverør (type, katalog nr. og producent) registreres som en **klassifikation** i registreringsmodulet (beholder). Det er muligt, at indsætte tidsperiode for anvendelsen af de forskellige rørtyper, men informationen er ikke koblet til den specifikke blodfraktion. Det er vigtigt at oplysningerne er tilgængelige for sekretariatet for RBGB, da oplysningerne kan være relevante, hvis der forespørges på materiale til projekter.

Fryser defineres i registreringsmodulet (**klassifikation: fryser**) med angivelse af frysernavn, temperatur og beskrivelse f.eks. af indhold (se evt. instruks for dette). Fryseren får automatisk en forkortelse (ID). Registreringsmodulet tildeler automatisk fryserposition til de enkelte fraktioner, når man ved registrering har valgt en fryser. Systemet kan sortere automatisk til henholdsvis -20 °C og -80 °C fryser, hvis disse temperaturer er defineret som standardværdier for opbevaring af specifikke fraktioner. For at registreringsmodulet kan forudsige næste position, oprettes fryseren med et antal søjler/racks med angivelse af antal bokse i hver søjle og antal positioner i hver boks. Den enkelte fryser er således unik for det enkelte indsamlingssted. Det er ikke nødvendigt at oprette fryseren med det endelige antal søjler og bokse fra start, da der kan tilføjes nye enheder efterhånden som fryseren fyldes. Der udskrives etiketter til både fryser, racks og bokse fra registreringsmodulet; til bokse genereres automatisk 2 ens etiketter til henholdsvis bund og låg. Centrifugeringsbetingelser, indfrysings- og opbevaringstemperatur samt beholder (mikrorør) defineres en gang for alle som **standardværdier** for hver fraktion i et blodfraktionssæt. N.B. hvis de enkelte afdelinger under centeret bruger forskellige mikrorør, skal der oprettes et fraktionssæt for hver afdeling. Disse oplysninger vil derefter fremkomme som default og være koblet til den specifikke prøve. De skal altså ikke indtastes igen, medmindre der er ændringer i forhold til standardværdierne.

Registrering og mærkning af blodprøver

Specifikke tidspunkter for prøvetagning, modtagelse i laboratoriet, samt for nedfrysning af materialet registreres. Tidspunkt for centrifugering kan evt. registreres (håndtering start og håndtering slut).

Stregkoder og skanning anbefales frem for manuel mærkning af hensyn til sikkerhed mod fejl. Etiketter med 2D stregkode udskrives fra registreringsmodulet til mikrorør. Ved statusskift i materialeoversigten kan prøver *enten* fremkaldes ved at udfylde søgekriterierne med relevante værdier *eller* ved at skanne 2D koden på hvert mikrorør. Det anbefales, at afdelingerne installerer en skanner til registrering af statusskift.

Det eksterne prøvenummer, der fremgår af etiketten, kan f.eks. være Labka nummeret. Hvis der håndteres flere prøver på én gang, kan de enkelte fraktioner sammenholdes med oplysningerne på den medfølgende Labka seddel for at undgå ombytning af prøver.

Referencer

1. Bowen RAR, Remaley AT. Interferences from blood collection tube components on clinical chemistry assays. *Biochem medica*. 2014 Jan;24(1):31–44.
2. SAMPLE HANDLING AND STORAGE SUBGROUP PROTOCOL AND RECOMMENDATIONS VERSION 1.0, 7 JULY 2004 FOR COMMENT - PDF [Internet]. [cited 2017 Feb 14]. Available from: <http://docplayer.net/39586372-Sample-handling-and-storage-subgroup-protocol-and-recommendations-version-1-0-7-july-2004-for-comment.html>

*Oplysninger om Regionernes Bio- og GenomBank (RBGB) kan fås ved henvendelse til:
Sekretariatet for Regionernes Bio- og GenomBank, Afdeling for Patologi, Herlev Hospital, Borgmester Ib Juuls Vej 73, Opgang 7, 4. etage, L5, 2730 Herlev. Tlf. (+45): 3868 9132/3868 9812 (i tidsrummet kl. 10-12). E-mail: RBGB.sekretariat.herlev-og-gentofte-hospital@regionh.dk*