Referenzinstitut für Bioanalytik
Friesdorfer Str. 153
D-53175 Bonn
Telefon +49 (0)228 926895-0
Telefax +49 (0)228 926895-29
internet: www.dgkl-rfb.de
E-Mail: info@dgkl-rfb.de

zirkulierende Tumor-DNA (ctDNA) Ringversuch 2/18

Ringversuchsleiter:
Prof. Dr. med. C. Knabbe, Prof. Dr. Dr. K. P. Kohse, Prof. Dr. M. Neumaier

Koordination:
Prof. Dr. M. Neumaier, Mannheim

Wissenschaftliche Beratung:
Dr. V. Haselmann, Mannheim; Prof. Dr. P. Ahmad-Nejad, Wuppertal

Organisation und Durchführung:
Dr. W.-J. Geilenkeuser, Dr. A. Kessler

Versuchsanleitung

Der Ringversuch wird in Kooperation mit dem European Molecular Genetics Quality Network EMQN durchgeführt.

Proben und Probenvorbereitung
Anbei erhalten Sie pro Set drei K-EDTA Plasmaproben (Proben A1, A2, A3 und/oder Proben B1, B2, B3 und/oder Proben C1, C2, C3). Jede Probe besteht aus 3 ml Plasma, das mit fragmentierter gDNA aus Zelllinien (mediane Fragmentgröße 100-200bp) versetzt wurde und dient der cfDNA-Isolation und nachfolgender Geotypisierung (*BRAF* V600E, *KRAS* Codon12 und Codon13 sowie *EGFR* T790M).

Folgende Sequenzvariationen können analysiert werden:
Set A: NM_033360.2:c.34G>A/C/T, NM_033360.2:c.35G>A/C/T, NM_033360.2:c.37G>A/C/T, NM_033360.2:c.38G>A/C/T (*KRAS* Codon 12/13)
Set B: NM_004333.4:c.1799T>A (*BRAF V600E*)
Set C: NM_005228.4:c.2369C>T (*EGFR* T790M)

WICHTIG: Bitte isolieren Sie die cfDNA entweder unmittelbar nach Erhalt der Proben oder lagern Sie die Proben ohne zeitliche Verzögerung bis zur Isolation bei mindestens **-20°C.**

Falls die Proben nicht in einwandfreiem Zustand beim Teilnehmer eintreffen, bitten wir um sofortige telefonische Reklamation mit Angabe der Teilnehmernummer und des Ringversuchs.

Kontrollproben sind potentiell infektiös und daher mit der entsprechenden Sorgfalt zu behandeln.

Probenqualität
Das Material wurde hinsichtlich Stabilität, cfDNA-Isolation und nachfolgender Amplifizierbarkeit geprüft. Eine Homogenität der Proben ist gewährleistet.

Ringversuchsanalytik
Die Wahl der Methode zur cfDNA-Isolation und nachfolgenden Genotypisierung ist freigestellt. Bitte füllen Sie den Ergebnisbogen so vollständig wie möglich aus.

TERMIN FÜR DIE ERGEBNISRÜCKSENDUNG:

27.10.2018

Fertigen Sie bitte für Ihre Unterlagen eine Fotokopie Ihres ausgefüllten Ergebnisformulars an.

Ergebnismeldung senden Sie bitte an:
Referenzinstitut für Bioanalytik
Friesdorfer Str. 153
D-53175 Bonn

Referenzinstitut für Bioanalytik
Friesdorfer Str. 153
D-53175 Bonn
Telefon +49 (0)228 926895-0
Telefax +49 (0)228 926895-29
internet: www.dgkl-rfb.de
E-Mail: info@dgkl-rfb.de

zirkulierende Tumor-DNA (ctDNA) Ringversuch 2/18

Ringversuchsleiter:
Prof. Dr. med. C. Knabbe, Prof. Dr. Dr. K. P. Kohse, Prof. Dr. M. Neumaier

Koordination:
Prof. Dr. M. Neumaier, Mannheim

Wissenschaftliche Beratung:
Dr. V. Haselmann, Mannheim; Prof. Dr. P. Ahmad-Nejad, Wuppertal

Organisation und Durchführung:
Dr. W.-J. Geilenkeuser, Dr. A. Kessler

Ergebnisbogen

Für Rückfragen senden Sie bitte eine E-Mail direkt an Frau Verena Haselmann, Mannheim: Verena.haselmann@umm.de

1. Nach Erhalt der Proben für den ctDNA Ringversuch können die Proben bei 4°C gelagert werden, sofern die Isolation am gleichen Tag erfolgt. Ansonsten lagern Sie die Proben bitte bei mindestens -20°C bis zur Isolation.

2. Bitte füllen Sie nachfolgende Felder unmittelbar nach Erhalt des Ringversuches aus:

a. Teilnehmernummer:.....

b. Kontaktperson:.....

c. Adresse Labor:.....

.....

.....

d. Datum Probenerhalt:.....

e. Uhrzeit Probenerhalt:.....

3. Falls Sie die Proben vor Isolation der cfDNA eingefroren haben, lassen Sie diese bitte vor Isolation vollständig bei Raumtemperatur auftauen und sammeln die Flüssigkeit durch kurze Zentrifugation. Bitte füllen Sie nach Auftauen der Proben folgende Felder aus:

a. Lagerungstemperatur :..... °C

b. Lagerungsdauer:..... Stunden

c. Datum ctDNA Isolation:.....

d. Uhrzeit Beginn ctDNA Isolation:.....

4. Isolieren Sie bitte die cfDNA entsprechend der in Ihrem Labor existenten SOPs und füllen anschließend folgende Felder aus:

a. Methode der Isolation:

i. Automatisiert:

Hersteller Reagenz:.....

Kit:.....

Hersteller Gerät:.....

ii. Manuell:

Hersteller Reagenz:.....

Kit:.....

b. Dauer der Isolation.....Stunden..... Minuten

c. Plasmavolumen, das für die Isolation eingesetzt wurde:..... µl

d. Elutionsvolumen..... µl

e. Elutionspuffer.....

5. Nach der Isolation der cfDNA führen Sie bitte entsprechend Ihrer SOPs eine Quantifizierung der isolierten cfDNA durch und füllen Sie anschließend folgende Felder aus:

a. Ermittelte Konzentration

Set A:

Sample A1: .....ng/µl

Sample A2: ..... ng/µl

Sample A3: ..... ng/µl

Set B:

Sample B1: .....ng/µl

Sample B2: ..... ng/µl

Sample B3: ..... ng/µl

Set C:

Sample C1: .....ng/µl

Sample C2: ..... ng/µl

Sample C3: ..... ng/µl

b. Methode zur Konzentrationsbestimmung

.....

c. Bei real-time PCR-basierter Konzentrationsbestimmung bitte Angabe des amplifizierten Gens:.....

6. Nach Isolation der cfDNA lagern Sie die Proben bitte bei 4°C bis zur Durchführung der genetischen Analysen oder für einen längeren Aufbewahrungszeitraum bei -20°C.

7. Führen Sie bitte die von Ihnen gewünschten genetischen Analysen durch und tragen Sie das Ergebnis in die nachfolgenden Felder ein:

a. Zur Genotypisierung eingesetzte cfDNA-Menge:

SET A: .....ng sample A1

.....ng sample A2

.....ng sample A3

SET B: .....ng sample B1

.....ng sample B2

.....ng sample B3

SET C: .....ng sample C1

.....ng sample C2

.....ng sample C3

b. Identifikationsmethode:

Set A:

COLD-PCR:.....

Real-time PCR:.....

Sequenzierung, Art:.....

BEAMing:.....

Digitale PCR:.....

andere, Kit:.....

andere, lab-developed:.....

Set B:

COLD-PCR:.....

Real-time PCR.:.....

Sequenzierung, Art:.....

BEAMing:.....

Digitale PCR.:.....

andere, Kit:.....

andere, lab-developed.:.....

Set C:

COLD-PCR:.....

Real-time PCR.:.....

Sequenzierung, Art:.....

BEAMing:.....

Digitale PCR.:.....

andere, Kit:.....

andere, lab-developed.:.....

c. Identifizierter Genotyp *KRAS* Codon12/13

	WT	Mut	MAF*%
Sample A1			
Sample A2			
Sample A3			

*MAF: mutant allele frequency

Bitte geben Sie, falls möglich, zusätzlich im Klartext die identifizierte Mutation an:

Sample A1:.....

Sample A2:.....

Sample A3:.....

Bitte kreuzen Sie in jedem Fall die von Ihnen untersuchten Mutationen an:

KRAS Codon12:

NM_033360.2:c.34G>A/C/T: ☐

NM_033360.2:c.35G>A/C/T: ☐

KRAS Codon 13:

NM_033360.2:c.37G>A/C/T: ☐

NM_033360.2:c.38G>A/C/T: ☐

d. Identifizierter Genotyp *BRAF* V600E

	WT	Mut	MAF*%
Sample B1			
Sample B2			
Sample B3			

*MAF: mutant allele frequency

e. Identifizierter Genotyp *EGFR* T790M

	WT	Mut	MAF*%
Sample C1			
Sample C2			
Sample C3			

*MAF: mutant allele frequency

8. Nach Isolation der cfDNA und Durchführung der von Ihnen gewünschten genetischen Analysen fertigen Sie sich bitte eine Kopie des Ergebnisbogens für Ihre eigenen Unterlagen an und senden Sie den vollständig ausgefüllten Ergebnisbogen an das Referenzinstitut für Pathobiochemie:

Referenzinstitut für Bioanalytik
Friesdorfer Str. 153
D-53175 Bonn

Fax: +49 (0)228 926895-29

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte direkt an:

Dr. Verena Haselmann
Institut für Klinische Chemie
Universitätsmedizin Mannheim
Verena.haselmann@umm.de

Ich bestätigte, dass die Ringversuchsproben durch mein Labor analysiert wurden.

.....
Ort, Datum, Unterschrift