

Hvilke krav skal man stille til en biologisk bank?

STATUSARTIKEL

Anne M. Tjønneland & cand.scient. Anja Olsen

En biobank defineres som et system til opbevarelse af en eller flere typer biologisk materiale til senere analyse under betingelser, der tillader en optimal stabilitet og en effektiv anvendelse af materialet (1).

Biobanker finder stigende anvendelse i forskningen, både inden for molekylærgenetik og epidemiologi, men også lægemiddelindustrien ser i stigende grad muligheder for udvikling af nye produkter, der er baseret på den forståelse for de grundlæggende biologiske mekanismer bag sygdomme, som biobankerne kan bidrage med. Man kan således skelne mellem forskellige typer af biobanker afhængigt af deres formål, som f.eks. kliniske biobanker, der anvendes til forebyggelse, diagnose, behandling og pleje og forskningsbiobanker, hvis primære formål er forskning.

Kravene til en biobank vil i høj grad være de samme, uanset hvilket formål der ligger til grund for etableringen, nemlig at muliggøre den bedst mulige udnyttelse af det indsamlede materiale. Dette stiller krav om grundige overvejelser i forbindelse med etableringen og indsamlingen af prøvematerialet, såvel som under opbevaringen og ved analyse af prøverne.

I denne statusartikel gennemgås de forskellige videnskabelige og praktiske aspekter, som bør overvejes i forbindelse med etablering af en biobank.

Mange af overvejelserne og konklusionerne bygger på egne erfaringer med etablering og udnyttelse af den biologiske bank ved projektet »Kost, kræft og helbred«. Her blev der i løbet af 1990'erne etableret en biologisk bank, som omfatter 22 kvælstoftanke med biologisk materiale (blod, urin og fedtvæv) fra over 57.000 danskere (2).

Planlægning og etablering

Placering og sikkerhed

Den optimale placering af biobanken skal nøje overvejes. Placeringen afhænger både af den planlagte banks størrelse og i særdeleshed af, hvilke sikkerhedsforanstaltninger man ønsker at knytte til banken. Det er vigtigt, at der til en biobank er knyttet alarmer, der reagerer på udsving i temperatur, da mekaniske fejl ellers kan resultere i store ødelæggelser pga. optøning af det biologiske materiale. Det vil derfor være en fordel, hvis man ved placeringen af biobanken kan udnytte et allerede etableret vagtsystem, som kan tage sig af overvågningen af alarmer. Samtidig vil det være en fordel, hvis banken ikke er for langt fra eventuelle laboratorier. Dette er praktisk både i etableringsfasen, hvor det biologiske materiale skal nedfryses, og senere, når prøverne skal hentes op af tankene. Det bør også sikres, at der i biobanken er plads til en reservefryser eller -kvælstoftank, der hurtigt kan sættes i drift ved et eventuelt nedbrud.

Man bør ikke undervurdere præciseringen af den organisatoriske indplacering af banken. Det kan spare mange senere problemer, hvis man ved etableringen har gjort det fuldstændig klart, hvem der har ansvaret for og retten til at forhandle kontrakten med det firma, som skal etablere frysesystemet, og hvem der senere er ansvarlig for sikkerhed og opfølgning på de indgåede aftaler. Senere brugere af banken bør inddrages i processen. Aftalerne bør nedskrives i en egentlig kontrakt. Det bør også være helt klart, hvem der skal kontaktes ved alarmer og andre uregelmæssigheder i driften, og hvorledes procedurerne for tilkald af faglig ekspertise skal være. Personer, der kommer i kontakt med banken, bør instrueres i at overholde foreskrevne sikkerhedsregler, ligesom personalet bør instrueres i vigtigheden af hurtig reaktion på alarmer.

System og temperatur

Hvilken temperatur prøverne skal nedfryses til, og hermed hvilket nedkølingssystem, som vil være bedst egnet, er ligeledes en vigtig afgørelse. I princippet kan der vælges mellem elektriske fryserne (-80°C og -140°C) og flydende kvælstoftanke. I kvælstoftankene kan prøverne opbevares enten i det flydende kvælstof (-196°C) eller i gasfasen af det flydende kvælstof (omkring -140°C til -150°C).

Det er en generel erfaring, at kvælstoftanke er mest stabile. De er dog dyre i anskaffelse, da de kræver etablering af et automatisk fyldesystem for at kunne fungere sikkert og effektivt. Et automatisk fyldesystem giver dog en række fordele, da det giver mulighed for at etablere central overvågning af hele anlægget, ligesom systemet kræver mindre plads på grund af udendørs forsyningsanlæg. Samtidig opnås der ved et automatisk fyldesystem lavest muligt nitrogenforbrug, bl.a. på grund af en optimering af antallet af nitrogenfyldninger, og det giver mulighed for dataopsamling af temperatur, herunder registrering af eventuelle uregelmæssigheder og fyldetider på de enkelte tanke. Udgifterne til etablering vil selvsagt være noget højere, hvis der vælges kvælstoftanke med automatisk fyldesystem, men de ekstra omkostninger vil tjene sig ind i løbet af biobankens levetid, der kan strække sig over flere dekader.

Ved anvendelse af elektriske fryserne skal de placeres i et lokale med passende ventilation, idet høje temperaturer og begrænset ventilation kan nedsætte frysernes levetid væsentligt. Der bør kun anvendes kummefryserne, da temperaturen i skabsfryserne hurtigt stiger ved åbning. Også de elektriske fryserne bør naturligvis være tilkoblet et alarmsystem, optimalt med døgnovervågning, og der bør fastlægges procedurer ved strømnedbrud.

Inventar

Ved indretning af tankene må ønsket om optimal udnyttelse af pladsen afvejes i forhold til minimering af den nødvendige håndtering af prøverne, ligesom man via indretningen bør begrænse den tid, det personale, som skal arbejde med biobanken, udsættes for lave temperaturer i.

Prøverør

Det biologiske materiale kan opbevares i flere typer af rør eller strå. Strå blev tidligere mest brugt i landbruget til opbevaring af tyresæd, men anvendes nu blandt andet i det store fælleseuropæiske kost og kræft-projekt *European prospective investigation into cancer and nutrition* (EPIC), som omfatter biologisk materiale fra 1/2 mio. europæere (3). Rør er nemmere at håndtere i laboratoriet, men kræver lidt ekstra plads i forhold til strå, dog afhængigt af, hvilken størrelse rør der vælges.

Prøvemateriale

Ofte vil en biobank indeholde forskellige fragmenter af blodprøver, men der kan også være tale om andet biologisk materiale som for eksempel urin og fedtvæv. Den præcise udnyttelse af prøverne er ofte ikke kendt på prøvetagningstidspunktet, og et princip om, at prøverne præpareres så lidt som muligt, kan vise sig at være en god idé.

Har man allerede på indsamlingstidspunktet planlagt analyser, skal man selvfølgelig sikre, at materialet indhentes på en sådan måde, at dette er muligt, og at procedurerne indarbejdes i protokollen vedrørende indsamling af prøverne.

Under alle omstændigheder vil det være en god ide at fryse materialet i så små samples som muligt for at undgå optøning og genfrysning af prøverne flere gange, da dette kan medføre degradering (4).

Prøverne bør mærkes enkeltvis med identifikation og type. Labeler med strekkoder og tilhørende software til brug for registrering ved indsamling og igen ved optagelse af den enkelte prøve giver en god mulighed for at opnå høj sikkerhed med hensyn til prøvens placering i tanken og muliggør simpel registrering af, hvilke prøver der er optaget. Disse labeler kan have registrering og prøvetype i både læsbar form og som strekkode. Det skal sikres, at den lim, som findes på labelerne, kan holde til de lave temperaturer og fugt.

Blodprøver

Tidligere var det ofte serum, der blev valgt ved opbygning af en biobank. Plasma, der bliver tilbage ved isolering af blodets cellulære komponenter, er også velegnet til mange analyser. Hæmoglobin i erythrocytter har vist sig at være et egnet medie til måling af en række adduktorer af elektrofile stoffer ved eksponering for karcinogener (5).

DNA kan oparbejdes fra enhver type af celler med cellekerne, men ofte anvendes hvide blodlegemer. Den samlede mængde af hvide blodlegemer kan overføres til prøverør efter centrifugering som en såkaldt *buffy coat*. Denne kan efter optøning oparbejdes til DNA, der er meget stabilt og kan opbevares i køleskab eller ved -20°C over en længere periode.

Den postgenome æra har skabt basis for helt nye typer af analyser på DNA-materiale. Med DNA i biobanken er der mulighed for at kortlægge forskelle i gener og genekspression og undersøge disses betydning i sygdomsudvikling samt eventuelt udvikle test for disse varianter. Kortlægningen af det humane genom har derfor i teorien givet uanede muligheder vedrørende diagnose og udvikling af nye behandlinger for en lang række sygdomme (6, 7).

Kvalitetskontrol

Kvalitetskontrol i forbindelse med indsamling og oplagring af biologisk materiale består i princippet af to aktiviteter (8): 1) Protokollen for indsamling og opbevaring af prøver bør valideres i relation til risiko for kontaminering. Eksempelvis vil senere analyse af sporstoffer kræve særlige forholdsregler ved indsamlingen, ligesom typer af nåle, kanyler, prøverør og antikoagulans skal vurderes for at forhindre kontaminering af prøverne (9), og 2) prøvernes stabilitet under opbevaringen bør følges ved hjælp af en planlagt protokol. Dette kan f.eks. ske i form af jævnlige analyser til monitorering af degradering. Endvidere skal temperaturen logges kontinuert for at sikre, at den har været konstant. Det siger sig selv, at eventuelle optøninger bør registreres. Ikke desto mindre er det et jævnligt forekommende problem specielt ved elektriske fryserne, at strømmen har været afbrudt, uden at de ansvarlige forskere præcis ved hvor længe, og i hvilken grad prøverne har været optøet.

Generelt er enkle elementer i blodet mindre følsomme for degradering end komplekse proteiner, og prøver, hvor den metaboliske aktivitet er lav, som i f.eks. hår og negle, er mere stabile end prøver med en igangværende enzymatisk aktivitet. Der foreligger en omfattende litteratur om stabiliteten af biologisk materiale (8, 10), selv om studier, der beskriver længere tids (års) opbevaring, stadig er sjældne.

Hvis der planlægges gentagne analyser på bestemte prøver, for at kunne monitorere en eventuel degradering, skal dette selvsagt indgå i planlægningsfasen af biobanken.

Udlevering af prøver

Allerede i forbindelse med etablering af biobanken bør der opstilles kriterier for udlevering af prøver. Til hvem, med hvilket formål og på hvilke betingelser. Det kan anbefales at opstille et *peer review*-system i form af en uvildig bestyrelse, der kan vurdere indkomne ansøgninger om adgang til biobanken.

Perspektiver

Oplysninger, der kan udtrages fra biobanker, bliver i stigende grad anvendt i studier af en lang række kroniske sygdomme; dels for at klarlægge årsagen til sygdommen,

Valg af nedfrysningssystem

Elektriske fryserne

- Temperatur -80°C eller -140°C
- Kræver god rumventilation
- Nemme at arbejde med
- Risiko for sammenbrud, følsomme ved strømsvigt

Kvælstoftanke

- Temperatur fra -140°C til -196°C
- Kræver følere for O_2 -koncentration i rummet
- Noget vanskeligere at overskue indholdet i
- Meget stabile
- Dyrere ved etablering, men det udliges over tid
- Kræver regelmæssig tilførsel af flydende kvælstof

men også for at kunne prædiktere sygdomme. Studier af gen-miljø-interaktioner i årsagskæden er også nærliggende i sådanne studier. Viden om de grundlæggende biologiske mekanismer bag forskellige sygdomme ses således i stigende grad som en mulighed inden for lægemiddelindustrien til at udvikle nye produkter inden for diagnostik og terapi.

Der blev i år 2000 dannet et internationalt videnskabeligt selskab International Society of Biological and Environmental Repositories (ISBER). Formålet med dette selskab er at skabe et forum for udveksling af ideer vedrørende indsamling af prøver, design af biobanker, datamanagement, sikkerhed og etiske spørgsmål og identificering af ressourcer til støtte af biologiske biobanker (www.isber.org).

Summary

Anne M. Tjønneland & Anja Olsen: What are the requirements for establishing a biological specimen bank?

Ugeskr Læger 2003;165:1686-8.

Establishing of a biological bank requires consideration. Optimal location of the bank for handling of the samples and quick response to alarms are essential. Decisions about freezer system (electrical or liquid nitrogen container), how to store the biological material (tubes or straws) as well as proper labelling of the samples are important. Quality control

must be considered to monitor possible degradation over time.

Reprints: Anne M. Tjønneland, Institut for Epidemiologisk Kræftforskning, Kræftens Bekæmpelse, Strandboulevarden 49, DK-2100 København Ø.

Antaget den 11. februar 2003.

Kræftens Bekæmpelse, Institut for Epidemiologisk Kræftforskning.

Litteratur

1. Winn DM, Reichman ME, Gunter E. Epidemiologic issues in the design and use of biologic specimen banks. *Epidemiol Rev* 1990;2:56-70.
2. Tjønneland AM, Overvad OK. Kost, kræft og helbred. *Ugeskr Læger* 2000;162:350-4.
3. Riboli E, Kaaks R. The EPIC project: rationale and study design. *European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. Int J Epidemiol* 1997;26 (suppl 1):S6-14.
4. Anchordoquy TJ, Girouard LG, Carpenter JF et al. Stability of lipid/DNA complexes during agitation and freeze-thawing. *J Pharm Sci* 1998;87:1046-51.
5. Hulka BS, Wilcosky TC, Griffith JD. *Biological markers in epidemiology*. Oxford: Oxford University Press, 1990.
6. Steinberg K, Beck J, Nickerson D et al. DNA banking for epidemiologic studies: a review of current practices. *Epidemiology* 2002;13:246-54.
7. Lavori PW, Krause-Steinrauf H, Brophy M et al. Principles, organization, and operation of a DNA bank for clinical trials: a Department of Veterans Affairs cooperative study. *Control Clin Trials* 2002;23:222-39.
8. Willett W. *Nutritional epidemiology*. 2 ed. Oxford: Oxford University Press, 1998.
9. Anand VD, White JM, Nino HV. Some aspects of specimen collection and stability in trace element analysis of body fluids. *Clin Chem* 1975;21:595-602.
10. Di Marino L, Maffettone A, Cipriano P et al. Assay of erythrocyte membrane fatty acids. *Int J Clin Lab Res* 2000;30:197-202.

Sygdomsbekæmpende foreningers holdning til afprøvning af nye lægemidler

STATUSARTIKEL

Sekretariatschef Hanne Wendel Tybkjær, cand.jur. Lene Witte & cand.scient.pol. Mette Bruun Johannessen

Gigtforeningen og Cystisk Fibrose-foreningen (CF) tog gerne imod invitationen til at præsentere et indlæg om vore foreningers holdning til afprøvning af nye lægemidler, da løbende udvikling af ny og bedre medicin er af allerstørste betydning for patientmedlemmerne i vore to sygdomsbekæmpende foreninger, forudsat naturligvis at forsøgsdeltagelse sker under de bedste forudsætninger.

Helsinki-deklarationen til sikring af forsøgspersoner blev indført i 1967, hvorefter Danmark i 1980 udvidede de beskyttende foranstaltninger ved at indføre det videnskabs-etiske komitéssystem til vurdering af bl.a. kliniske afprøvnings af lægemidler. Før en klinisk afprøvning skal der endvidere foreligge en positiv udtalelse fra Lægemiddelstyrelsen. Dette omfattende system er beskrevet i andre artikler i dette temanummer.

I 1990 indførtes i Europa retningslinjer for *good clinical practice* (GCP), og et EU-direktiv (1) om GCP og kliniske forsøg blev vedtaget i april 2001 med efterfølgende implementering i EU-medlemslandene i 2003. Komitéloven dækker dog langt hovedparten af de hensyn, der indgår i direktivet.

Både Gigtforeningen og Cystisk Fibrose-foreningen finder, at vi i Danmark har et meget velfungerende overvågningssystem, hvis lige ikke ses mange steder uden for landets grænser, til at sikre bedst mulig beskyttelse af forsøgspersonerne, og vi har således ikke fra vore medlemmer fået klager eller hørt utilfredshed med systemet.

Er der forskel på patienters holdning til forsøg?

Der er i vore to patientgrupper ikke foretaget egentlige holdningsundersøgelser. En undersøgelse foretaget af *Søren Madsen*, Herlev, viste, at der er faldende patientdeltagelse i lægevidenskabelige forsøg på trods af, at der er positive holdninger hertil i de undersøgte grupper (2). Forsøg blev betragtet som en nødvendig forudsætning for at udvikle nye