

10.8 Checkliste Mikrobiologie und Hygiene – Molekularbiologie in der Infektionsdiagnostik

U. Reischl, H. F. Rabenau, M. Abele-Horn, H. Blenk, H.-J. Boltze, L. Drath, B. Ganster, H. K. Geiss, U. Göbel, G. Haase, E. Heintschel von Heinegg, K. Janitschke, R. Küchler, E. Kühnen, W. Mathys, T. Mertens, C. Schoerner, S. Ziesing

Anwendungsbereich	3
Räumlichkeiten	3
Laboratoriumsausrüstungen	5
Temperaturabhängige Geräte	5
Reagenzien	5
Präanalytische Maßnahmen	5
Untersuchungsverfahren	6
Sicherung der Qualität von Untersuchungsverfahren	10
Allgemeines	10
<i>in-situ</i> -Hybridisierung	12
Befundberichte	12

4.1	Anwendungsbereich			
------------	--------------------------	--	--	--

Bei den angewandten molekularbiologischen Untersuchungsverfahren handelt es sich zur Zeit um häufig nicht standardisierte Verfahren. Die genaue Dokumentation der angewendeten Methodik, der Probenvorbehandlung, der eingesetzten Reagenzien, Primer, Sonden, Restriktionsenzyme und anderer Testbestandteile ist deshalb besonders wichtig. Unter den verwendeten Techniken nehmen die Nukleinsäureamplifikationsverfahren (z.B. Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR)) aufgrund ihrer methodenimmanenten extremen Empfindlichkeit eine besondere Stellung ein und erfordern spezielle Vorsichtsmaßnahmen bei der Testvorbereitung und –durchführung zum Schutz des Untersuchungsgutes vor Verschleppungen von nativer sowie amplifizierter Nukleinsäure (z.B. die räumliche Trennung der einzelnen Arbeitsschritte). Kontrollen sind bei allen Schritten des Untersuchungsganges erforderlich: Kontrolle der Effizienz der Nukleinsäureextraktion, Positiv-, Negativ-, Sensitivitäts-, ggf. Inhibitions- und Hybridisierungskontrollen. Die Identität des Amplifikates ist durch sequenzspezifische Analytik (Hybridisierung, Sequenzierung, nested PCR oder andere im Laboratorium hinreichend evaluierte Methoden, wie z.B. Restriktionsverdau mit aussagekräftigen Fragmentgrößen) zu überprüfen. Bei der elektrophoretischen Auftrennung müssen geeignete Molekulargewichtsmarker mitgeführt werden. Eine auf die Erfordernisse der Amplifikationsverfahren zugeschnittene Organisation der Arbeitsabläufe im Laboratorium ist eine Voraussetzung für eine ungestörte Analytik mit diesen Methoden.

Die vorliegende Checkliste wurde mit den molekularbiologischen Checklisten der anderen labormedizinischen Fachgebiete abgestimmt.

Siehe auch Checklisten für Medizinische Laboratorien
 Checkliste Mikrobiologie und Hygiene – Allgemeine Anforderungen

		U	O	Bemerkungen
4.1.1	<p><i>In welchem Umfang werden molekularbiologische Untersuchungen im Rahmen der Infektionsdiagnostik durchgeführt?</i></p> <p><input type="checkbox"/> Diagnostische Untersuchungen von Infektionserregern/Infektionserkrankungen (z.B. Nukleinsäureamplifikationsverfahren, Sequenzierung, in-situ-Hybridisierungen)?</p> <p><input type="checkbox"/> Infektionsepidemiologische Untersuchungen (DNA-/RNA-Analysen, z.B. RFLP)?</p>			

5.2	Räumlichkeiten			
------------	-----------------------	--	--	--

		U	O	Bemerkungen
5.2.1	Ist die Anzahl der zur Verfügung stehenden Räume bzw. Arbeitsbereiche den durchgeführten Untersuchungsverfahren angepasst?¹			

¹ Die in der Molekularbiologie verwendeten Nukleinsäureamplifikationsverfahren erfordern eine strikte physikalische Trennung einzelner Arbeitsschritte zur Vermeidung analytischer Fehler (d.h. zumindest ein Zwei-Raum-Konzept mit der Trennung der DNA-Isolierung von der Amplifikation und Detektion). Bei vollständig "geschlossenen" Testsystemen kann von dieser Anforderung jedoch u.U. abgewichen werden.

		U	O	Bemerkungen
5.2.2	Existiert ein Konzept der räumlichen Trennung für die Durchführung von Nukleinsäureamplifikationsverfahren?			
5.2.3	Ist der Bereich der Probenvorbereitung vom Analysenbereich räumlich getrennt?			
5.2.4	Sind die Lagerstätten für Reagenzien vom Analysenbereich räumlich getrennt?			
5.2.5	Ist der Bereich der Probenaufbewahrung vom Analysenbereich räumlich getrennt?			
5.2.6	Wird das Untersuchungsgut getrennt von daraus gewonnenen Nukleinsäuren, Kontrollmaterial und Reagenzien gelagert?			
5.2.7	Ist der Zugang zu den einzelnen Bereichen zur Vermeidung von Kontamination geregelt?			
5.2.8	<i>Bestehen bauliche Vorkehrungen (z.B. eine Schleuse), die eine Verschleppung amplifizierter DNA zusätzlich erschweren?</i>			(geändert)
5.2.9	Ist ein Wechsel der Schutzkleidung in den verschiedenen Arbeitsbereichen vorgeschrieben?			(aus CL Virologie) (geändert)
5.2.10	Erfolgt die Probenbearbeitung an einem Arbeitsplatz mit Sicherheitswerkbank?			(aus CL Virologie)
5.2.11	Erlaubt die Laboreinrichtung eine effiziente Dekontaminierung der Arbeitsflächen?²			
5.2.12	Gibt es einen spezifischen Reinigungsplan, der den Anforderungen für die molekularbiologische Diagnostik genügt?			(geändert)
5.2.13	Wird die Reinigung des molekularbiologischen Laboratoriumsbereiches durch das Laborpersonal selbst oder entsprechend geschulte Personen durchgeführt?			(geändert)
5.2.14	Ist zur Kontaminationsvermeidung das Reinigungspersonal mit den Zugangsregelungen des Bereiches vertraut, auch wenn externes Reinigungspersonal eingesetzt wird?			
5.2.15	<i>Wird mit gentechnisch veränderten Organismen (GVO) oder rekombinanter DNA (z.B. Kontrollplasmiden) gearbeitet?</i>			
5.2.16	Ist die Unterweisung des Laborpersonals im sicheren Umgang mit den Elektrophoresegeräten und in den Vorsichtsmaßnahmen zum Schutz vor elektrischen Schlägen dokumentiert?			

² Effektive Maßnahmen sind z.B. die regelmäßige Reinigung der Arbeitsflächen mit großen Mengen an "sauberem" Wasser bzw. die Einwirkung von Natriumhypochlorid-Lösung.

		U	O	Bemerkungen
5.2.17	Ist die Unterweisung des Laborpersonals im sicheren Umgang mit UV-Licht dokumentiert? Sind UV-Licht-absorbierende Brillen vorhanden?			
5.2.18	Sind Warnhinweise für das Laborpersonal am Arbeitsplatz zum Schutz vor Stromschlag, UV-Licht und mutagenen/kanzerogenen Substanzen (z.B. Ethidiumbromid, Acrylamid) vorhanden?			

5.3	Laboratoriumsausrüstungen			
------------	----------------------------------	--	--	--

Siehe auch Checkliste für Medizinische Laboratorien – Untersuchungsverfahren und Hilfsmittel

		U	O	Bemerkungen
5.3.1	Temperaturabhängige Geräte			
5.3.1.1	Wird die Leistung der Thermocycler bei Inbetriebnahme sowie periodisch überprüft? ³			(Fußnote neu)

		U	O	Bemerkungen
5.3.2	Reagenzien			
5.3.2.1	Sind alle Reagenzien, wo nötig, adäquat aliquotiert und gelagert?			(geändert)
5.3.2.2	Werden hierzu geeignete Einmalgefäße verwendet?			
5.3.2.3	Werden produktionssterile, RNase-freie Einmalröhrchen und -pipetten verwendet?			(aus der CL Virologie)
5.3.2.4	Werden Instrumente und Gebrauchsartikel in einem nicht zur Abfallbeseitigung verwendeten, separaten Autoklaven sterilisiert?			(aus der CL Virologie)
5.3.2.5	Werden bei konfektionierten Nachweissystemen Hersteller und Chargennummer dokumentiert?			(aus der CL Virologie)

5.4	Präanalytische Maßnahmen			
------------	---------------------------------	--	--	--

³ Beispielsweise können Drop-out-Kontrollen mitgeführt werden, um die Temperaturhomogenität des Thermocyclers kontinuierlich zu überprüfen. Dabei ist die Position der Drop-out-Kontrolle innerhalb des Thermoblocks zu variieren, da physikalisch keine gleichmäßige Verschlechterung der Temperaturkonstanz zu erwarten ist.

		U	O	Bemerkungen
5.4.1	Gibt es Verfahrensvorschriften für den Einsender, damit Probenentnahme und Transport so erfolgen, dass die Stabilität der Zielsequenz sichergestellt ist?			
5.4.2	Gibt es schriftlich festgelegte Kriterien für die Zurückweisung von ungeeigneten Untersuchungsproben?			
5.4.3	Wird der Einsender umgehend informiert, wenn eine Probe ungeeignet ist?			
5.4.4	Gibt es Vorschriften für die Material- und Testspezifische Lagerung von Proben?			
5.4.5	Ist die Probenidentifikation jederzeit während aller Untersuchungsphasen gewährleistet einschließlich <input type="checkbox"/> Probeneingang <input type="checkbox"/> Nukleinsäureextraktion <input type="checkbox"/> Nukleinsäurequantifizierung <input type="checkbox"/> Enzymatische Amplifikation <input type="checkbox"/> Spaltung mit Restriktionsenzymen <input type="checkbox"/> Elektrophorese <input type="checkbox"/> Photographie <input type="checkbox"/> Transfer <input type="checkbox"/> Hybridisierung <input type="checkbox"/> Detektion <input type="checkbox"/> <i>in-situ</i> -Hybridisierung <input type="checkbox"/> Sequenzierung <input type="checkbox"/> Aufbewahrung?			
5.4.6	Wird der Einsender über die voraussichtlichen Probenlaufzeiten informiert?			
5.4.7	Ist auf Anfrage eine Zusammenfassung der eingesetzten Methoden, Primer, Restriktionsenzyme, Sonden usw. für den Einsender erhältlich?			

5.5	Untersuchungsverfahren			
------------	-------------------------------	--	--	--

Molekularbiologische Untersuchungen können mit verschiedenen Methoden durchgeführt werden. Eine bestimmte Technik wird bei gleicher Sensitivität und Spezifität nicht bevorzugt, falls das Laboratorium Standardverfahren folgt oder mit der von ihm gewählten Technik zuverlässige Ergebnisse und Qualitätskontrollen nachweisen kann.

		U	O	Bemerkungen
5.5.1	Gibt es Vorschriften zur Sicherstellung der Probenqualität und zur Vermeidung von Kontamination der Untersuchungsproben?			

		U	O	Bemerkungen
5.5.2	Gewährleistet das Vorgehen bei der Probenaliquotierung die Vermeidung möglicher Kreuzkontamination von Proben?			
5.5.3	Ist schriftlich festgehalten, dass ein Probenaliquot nie in das Originalprobengefäß zurückgegeben werden darf?			
5.5.4	Wird die Effizienz der reversen Transkription kontrolliert und dokumentiert?			(aus CL Virologie)
5.5.5	Werden in der aus zellulärem Material extrahierten RNA "House-keeping"-Gene als Kontrollen bei jedem Untersuchungsmaterial amplifiziert, und sind diese Kontrollergebnisse dokumentiert?			(aus CL Virologie)
5.5.6	Werden ggf. bei jeder Testdurchführung Positiv-, Negativ-, Sensitivitäts- und Inhibitionskontrollen – wenn vorhanden – mitgeführt?⁴			
5.5.7	Wird die Nukleinsäureextraktion und –reinigung gemäß einer Standardvorschrift durchgeführt?⁵ Falls nicht, ist die Validierung der angewendeten Methode dokumentiert?			
5.5.8	Wird die Effizienz der Extraktionsverfahren kontrolliert (z.B. durch Messung der Nukleinsäurekonzentration, Amplifikation von Single-Copy-Genen)?			(aus CL Virologie)
5.5.9	Erfolgt die Aufbewahrung von Nukleinsäuren so, dass ihr Abbau verhindert/minimiert wird?			
5.5.10	Wird die Integrität von hochmolekularer DNA ggf. mittels Elektrophorese oder vergleichbarer Methoden bestätigt?			
5.5.11	Wird die Integrität von RNA ggf. mittels Elektrophorese oder vergleichbarer Methoden bestätigt?			
5.5.12	Wird die Vollständigkeit von Restriktionsenzymspaltungen durch geeignete Methoden sichergestellt?			

⁴ Soweit verfügbar, sollten interne Kontrollen mitgeführt werden. Hierbei handelt es sich idealerweise um intakte Erreger oder um dem Reaktionsansatz definiert zugegebene, artifizielle Nukleinsäureabschnitte, die mit der Zielsequenz im Bereich der Primerbindungsstellen identisch sind und mit vergleichbarer Effizienz amplifiziert werden, aber eindeutig von der Zielsequenz unterscheidbar sind.

⁵ Die Probenvorbereitung muss gewährleisten, dass die zu amplifizierende Zielsequenz effizient und reproduzierbar aus dem Untersuchungsgut extrahiert oder freigelegt wird. Materialabhängige Inhibitoren müssen entfernt oder inaktiviert werden.

		U	O	Bemerkungen
5.5.13	Wird bei Amplifikationsverfahren (z.B. PCR) durch Anwendung geeigneter Maßnahmen und Verfahrenskontrollen die Möglichkeit einer Kontamination oder Verschleppung (falsch positive Ergebnisse) so gering wie möglich gehalten? ⁶			
5.5.14	Werden bei der Durchführung von Amplifikationsverfahren zusätzlich Verfahren zur Zerstörung von Amplifikaten eingesetzt (z.B. Uracil-N-Glykosidase), um eine Kontamination der Untersuchungsprobe mit dem Amplifikat zu verhindern?			
5.5.15	Sind die erforderlichen Geräte und Laborhilfsmittel in den einzelnen Arbeitsbereichen vorhanden und als diesen zugehörig gekennzeichnet?			
5.5.16	Gibt es im Laboratorium ein Reinigungsprogramm für Hilfsmittel, die zur Handhabung von amplifiziertem DNA-Material verwendet werden?			
5.5.17	Sind Vorkehrungen zur Vermeidung von Aerosolbildung getroffen (z.B. "positive displacement"-Pipettoren, aerosoldichte Filterpipettenspitzen)?			
5.5.18	Wird die Anwesenheit amplifizierbarer Nukleinsäure bei jedem Amplifikationstest bestätigt, bei dem das Fehlen einer nachweisbaren Bande ein positives Ergebnis bedeutet (z.B. im Zusammenhang mit dem Nachweis von Resistenzgenen)?			
5.5.19	Wird die Identität des Amplifikates durch Hybridisierung, Sequenzierung, nested PCR oder andere im Laboratorium hinreichend evaluierte Methoden (z.B. Restriktionsverdau mit aussagekräftigen Fragmentgrößen) kontrolliert und dokumentiert?			(geändert)
5.5.20	Werden bei jeder elektrophoretischen Auftrennung Molekulargewichtsmarker mitgeführt, die den Bereich der zu erwartenden Banden umfassen?			

⁶ Die wegen der extremen Empfindlichkeit besonders hohe Kontaminationsgefahr von Nukleinsäureamplifikationssystemen erfordert spezielle Vorsichtsmaßnahmen. So sollten einzelne Arbeitsschritte, insbesondere die Vorbereitung und die Bearbeitung der Proben nach der Amplifikation, in voneinander getrennten Räumen oder Arbeitsbereichen erfolgen, einschließlich der räumlichen Trennung der Laborausrüstung und Laborhilfsmittel. Handschuhe müssen getragen und häufig gewechselt werden. Es müssen Einwegmaterialien und geeignete Pipetten (z.B. mit aerosoldichten Filterspitzen) benutzt werden. Die Aerosolbildung ist so gering wie möglich zu halten. Die Zugabe der Untersuchungsprobe sollte **nach** der Zugabe aller Reagenzien in das Reaktionsgefäß erfolgen. Innerhalb einer Untersuchungsreihe sollte die Abfolge der Vorbereitung und Auftragung wie folgt sein: Untersuchungsproben, danach Positivkontrollen, danach Negativkontrollen.

		U	O	Bemerkungen
5.5.21	Werden Farbmarder zur Bestimmung des Endpunktes der Gelelektrophorese mitgeführt?			
5.5.22	Werden bei analytischen Gelen nach Möglichkeit standardisierte Nukleinsäuremengen aufgetragen?			
5.5.23	Werden Hybridisierungssysteme zur Detektion der Nukleinsäureamplifikate initial auf ihre Spezifität und regelmäßig auf ihre Sensitivität (untere Nachweisgrenze) hin untersucht?			(geändert)
5.5.24	<i>Erfolgt bei quantitativen Nachweisverfahren die Quantifizierung über Verdünnungsreihen oder über kompetitive Verfahren?</i> Wird die kalibrierte DNA oder RNA parallel amplifiziert? Sind die Herkunft der Kalibratoren und deren erfolgreiche Amplifikation bei jedem Nachweis dokumentiert?			(aus CL Virologie)
5.5.25	<i>Werden Realtime-PCRs (z.B. Lightcycler®, Taqman®) durchgeführt?</i> Wenn "JA": Wird die Validität des Sondensignals (crossing-point und ggf. der erwartete Schmelzpunkt) kontrolliert? Wird eine standardisierte interne Laufkontrolle (z.B. eine native oder rekombinante Positivkontrolle) mitgeführt, die die Reproduzierbarkeit der PCR sicherstellt? ⁷			(neu)

⁷ Ggf. sollte die Effizienz der Nukleinsäureextraktion an einem geeigneten Modellsystem überprüft werden.

5.6	Sicherung der Qualität von Untersuchungsverfahren			
------------	--	--	--	--

		U	O	Bemerkungen
5.6.1	Allgemeines			
5.6.1.1	Sind die Laboraufzeichnungen in Bezug auf die individuellen Proben- und Testbedingungen ausreichend? ⁸			
5.6.1.2	Sind bei eigenentwickelten Testsystemen Primersequenzen, -regionen (Zielgen) und -auswahlkriterien dokumentiert und/oder ist, im Falle von kommerziellen Testsystemen, die Eignung der verwendeten Oligonukleotidkomponenten durch Literatur bzw. valide Studien- oder Evaluierungsdaten belegt?			(aus CL Virologie) (geändert)
5.6.1.3	Werden die Primer- bzw. Sonden-Sequenzen in regelmässigen Abständen auf die weiterhin bestehende Spezifität durch Gendatenbankabfrage überprüft (exponentiell wachsende Datenbankeinträge)?			(neu)
5.6.1.4	Enthalten die Verfahrensvorschriften ausreichende Aufzeichnungen über die Art und Beschaffenheit jeder eingesetzten Sonde oder jedes Primers für die Interpretation der Testergebnisse und eine eventuelle Fehlersuche? ⁹			
5.6.1.5	Sind Toleranz- und Akzeptanzgrenzwerte für alle Kontrollverfahren, -reagenzien und Standards festgelegt?			
5.6.1.6	Werden misslungene Untersuchungen (z.B. durch Kontamination der Untersuchungsproben) sowie die durchgeführten Korrekturmaßnahmen dokumentiert?			
5.6.1.7	Gibt es Kriterien, um ungewöhnliche Untersuchungsergebnisse zu erkennen?			

⁸ Die Aufzeichnungen sollten die Quantität und Qualität der isolierten Nukleinsäure sowie die eingesetzte Menge, die Chargennummern der eingesetzten Enzyme, Primer oder Sonden und anderer Testbestandteile enthalten. Es sollte zur Nachvollziehbarkeit ein Logbuch geführt werden, in dem dokumentiert wird, wer welche einzelnen Arbeitsschritte der Untersuchungen durchgeführt hat.

⁹ Wichtige Punkte hierbei sind: die Art (genomisch, cDNA, Oligonukleotid oder RNA) und die Herkunft (human, viral, usw.) der Sonde oder Sequenz; die erkannte Oligonukleotid- und Komplementärsequenz oder Genregion; eine geeignete Restriktionskarte der DNA; bekannte Polymorphismen, gegen Endonukleasenspaltung resistente Stellen und kreuzreagierende Banden; die angewendete Markierungsmethode und die Standards zur Kontrolle der Amplifikation oder Hybridisierung.

		U	O	Bemerkungen
5.6.1.8	Stehen Verfahren zur Verfügung, um abklärungsbedürftige Untersuchungsbefunde durch weitere Methoden auf ihre Plausibilität zu überprüfen, wo immer dies sinnvoll oder möglich ist?			(geändert)
5.6.1.9	Stehen – wenn immer möglich – alternative, nicht-molekularbiologische Untersuchungsverfahren zur Überprüfung und Absicherung molekularbiologischer Untersuchungsergebnisse im Laboratorium zur Verfügung?			
5.6.1.10	Werden unterschiedliche oder abweichende Ergebnisse zwischen molekularbiologischen und anderen Laboruntersuchungen und/oder dem klinischen Befund analysiert und dokumentiert, und ggf. Korrekturmaßnahmen ergriffen?			
5.6.1.11	Werden alle molekularbiologischen Laborergebnisse statistisch ausgewertet (z.B. Prozentsatz normaler und pathologischer Befunde)?			
5.6.1.12	<i>Gibt es ein Logbuch für außergewöhnliche, schwierige oder lehrreiche Fälle?</i>			
5.6.1.13	Werden alle Gelphotographien, Autoradiogramme und <i>in-situ</i>-Hybridisierungs-Objektträger zur Identifizierung ausreichend gekennzeichnet, und die Kennzeichnungen in den Ergebnisaufzeichnungen angegeben?			
5.6.1.14	Werden Elektrophoresegele oder Autoradiogramme anhand objektivierbarer Kriterien bewertet?			
5.6.1.15	Ist die Auflösung und Qualität von Gelphotographien und Autoradiogrammen ausreichend (geringer Hintergrund, gut erkennbares Signal, keine Blasen, Auflösung des Molekulargewichtsstandards usw.), um das mitgeteilte Untersuchungsergebnis nachvollziehen und bestätigen zu können? ¹⁰			
5.6.1.16	Ist bei Hybridisierungsverfahren die Spezifität der Sonden durch geeignete Untersuchungen (z.B. positive und negative Kontrollen) überprüft und dokumentiert?			
5.6.1.17	Sind die Hybridisierungsverfahren zum Nachweis spezifischer Amplifikate (z.B. Autoradiographie oder nichtradioaktive Verfahren) von ausreichender Signalintensität, geeignet niedrigem Hintergrund, geeigneter Signalschärfe der Banden usw.?			

¹⁰ Hinweis für den Begutachter: Überprüfen Sie einige Gelphotographien und Autoradiogramme

		U	O	Bemerkungen
5.6.1.18	Sind die Expositionszeiten (z.B. bei Autoradiographie oder Chemiluminographie) ausreichend und standardisiert?			
5.6.1.19	Sind die Sequenzierchromatogramme von geeigneter Qualität (Bandenschärfe und -auflösung, geringer Hintergrund, keine Lauf- und Gelartefakte, Kettenabbrüche oder Kompressionen, hinreichend gutes "base spacing" bei Sequenzierautomaten usw.)?			

		U	O	Bemerkungen
5.6.2	<i>in-situ</i>-Hybridisierung			
5.6.2.1	Sind die Bedingungen für die Gewebevorbehandlung und -aufarbeitung zur Detektion der gesuchten Zielsequenz festgelegt?			
5.6.2.2	Sind für alle RNA-Nachweise in Geweben RNase-freie Bedingungen gewährleistet?			
5.6.2.3	Ist die Qualität von <i>in-situ</i> -Hybridisierungen (geringer Hintergrund, eindeutiges Signal, geeignete Morphologie und Gegenfärbung, usw.) ausreichend für die mitgeteilte morphologische und molekulare Befundinterpretation? ¹¹			

5.8	Befundberichte			
------------	-----------------------	--	--	--

		U	O	Bemerkungen
5.8.1	Enthält der Abschlussbefund eine klinische Bewertung der Ergebnisse in leicht verständlicher Form?			
5.8.2	Werden in der Befundmitteilung Angaben über die verwendete Zielsequenz, die Nachweisgrenzen und ggf. Literaturangaben gemacht, die dem Empfänger eine geeignete Orientierung ermöglichen?			(geändert)

¹¹ Hinweis für den Begutachter: Überprüfen Sie einige kürzlich durchgeführte *in-situ*-Hybridisierungen sowie die dazugehörigen Kontrollen