

***.* Checkliste Humangenetik –
Zytogenetische Untersuchungen**

SK_5 15/04

K. Miller, H. Rieder

Anwendungsbereich	3
5.1 Personal	3
5.2 Räumlichkeiten und Umgebungsbedingungen	4
5.3 Laboratoriumsausrüstung	4
5.4 Präanalytische Maßnahmen	6
5.5 Untersuchungsverfahren	7
5.6 Sicherung der Qualität der Untersuchungsverfahren	10
5.7 Postanalytische Maßnahmen	10
5.8 Befunde	11

	Anwendungsbereich		
--	--------------------------	--	--

Wesentliches Ziel der zytogenetischen Untersuchungsverfahren und Basis der zytogenetischen Diagnostik ist eine hohe Qualität der Chromosomendarstellung, die von verschiedenen Variablen beeinflusst wird. Der genauen Dokumentation der angewandten Methoden und der bei einzelnen Parametern zulässigen Veränderungen bei der Zellkultur und –präparation kommt daher besondere Bedeutung zu.

Siehe auch Checkliste für Medizinische Laboratorien

Leitlinien zur zytogenetischen Labordiagnostik, Med. Genetik 9, 560-561 (1997)

Leitlinien zur tumorzytogenetischen Diagnostik, Med. Genetik 8, 3-4 (1996)

Leitlinien zur molekularzytogenetischen Labordiagnostik, Med. Genetik 16, 358-359 (2004)

Chromosome analysis guidelines: Preliminary report

Am.J.Med.Genet. 41:566-569 und Cancer Genet.Cytogenet. 52:11-17 (1991)

American College of Medical Genetics, Standards and Guidelines for Clinical Genetics Laboratories: www.acmg.net/Pages/ACMG_Activities/stds-2002/e.htm

Bundesärztekammer: Richtlinien zur pränatalen Diagnostik von Krankheiten und Krankheitsdispositionen. Deutsches Ärzteblatt 95, A3236-A3242 (1998) mit

Bundesärztekammer: Richtlinien zur pränatalen Diagnostik von Krankheiten und Krankheitsdispositionen - Neuformulierung des Abschnitts 8. Deutsches Ärzteblatt 100, A583 (2003).

5.1	Personal		
------------	-----------------	--	--

		B	Bemerkungen
5.1.1	Verfügt die Leitung des Labors über eine den Leitlinien zur zytogenetischen Labordiagnostik entsprechende Qualifikation?		
5.1.2	Verfügt das Personal, das an zytogenetischen Untersuchungsverfahren beteiligt ist, über eine spezifische Ausbildung und Erfahrung in Zytogenetik?		
5.1.3	Liegt bei den technischen Mitarbeitern ein ausgewogenes Verhältnis zwischen solchen mit und ohne MTA-Ausbildung vor und sind die Tätigkeiten dem MTA-Gesetz entsprechend zugewiesen?		
5.1.4	Besteht eine ausreichende räumliche Nähe der Laborleitung zum Labor und ist deren Präsenz hinreichend gegeben?		
5.1.5	Gibt es ein Trainingsprogramm für neue Mitarbeiter? Werden externe Schulungsprogramme genutzt? Gibt es ein fortlaufendes internes Schulungsprogramm?		

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

Auflagen des Gewerbeaufsichtsamtes und Regelungen des Gemeindeunfallverbandes sind einzuhalten.

		B	Bemerkungen
5.2.1	Stehen geeignete Räume für die Zellkultur zur Verfügung und wurden angemessene Vorkehrungen zur Vermeidung von Infektionen insbesondere bei Langzeit-Zellkulturen getroffen?		
5.2.2	Liegen diese Anweisungen in schriftlicher Form vor und sind sie auch dem Reinigungspersonal entsprechend bekannt?		
5.2.3	Existiert ein Benutzerlogbuch für den Zellkulturbereich?		
5.2.4	Bei Durchführung von Fluoreszenzuntersuchungen (z.B. FISH-Verfahren): Stehen geeignete verdunkelbare Räume zur Verfügung?		
5.2.5	Sind Warnhinweise für das Laborpersonal am Arbeitsplatz zum Schutz vor Stromschlag, UV-Licht und gefährlichen Substanzen vorhanden?		

5.3	Laboratoriumsausrüstung		
------------	--------------------------------	--	--

Detaillierte Fragen zu Geräten und Einrichtungen finden sich im Fragebogen zur DIN EN ISO 15189 für Medizinische Laboratorien

		B	Bemerkungen
5.3.1	Werden die entsprechenden Punkte der o.g. Checkliste erfüllt?		
5.3.2	Werden bei den sterilen Werkbänken zum Schutz vor Infektion des Personals Umluftsysteme verwendet?		
5.3.3	Stehen für die Durchführung der Zellkulturen bei pränatalen Untersuchungen mindestens zwei Brutschränke zur Verfügung?		
5.3.4	Werden die Heizzonen von Heizplatten, Hybridisierungsgeräten oder Präparationsautomaten periodisch auf ihre Temperatur geprüft?		

		B	Bemerkungen
5.3.5	Weisen Anlagen zur digitalen Bildaufnahme und Verarbeitung einen ordnungsgemäßen Zustand auf, erfolgt regelmäßige Datensicherung und werden von jedem Fall auch Ausdrucke archiviert?		
5.3.6	Erfolgt bei Fluoreszenzmikroskopen neben der regelmäßigen allgemeinen Wartung eine periodische Justierung der Beleuchtungseinheit und wird die Lampenbrenndauer nach den Herstellerangaben überwacht?		
5.3.7	Sind Reagenzien und Zellkulturmedien, wo nötig, adäquat aliquotiert und beschriftet?		
5.3.8	Werden hierzu geeignete Einmalgefäße verwendet?		
5.3.9	FISH-Untersuchungen: Stehen für die angebotenen Untersuchungen geeignete DNA-Sonden bereit und werden deren Haltbarkeitsdaten periodisch überprüft?		
5.3.10	Sind die Chargennummern der in einzelnen Untersuchungsgängen verwendeten Reagenzien in den Untersuchungsprotokollen enthalten?		
5.3.11	Existiert ein chargenbezogenes Archiv von Reagenzieninformationen und Gebrauchsempfehlungen der Hersteller der Substanzen?		
5.3.12	Ist bei Hybridisierungsverfahren die Spezifität für jede Sonde durch geeignete Untersuchungen (z.B. bekannte positive und negative Proben) überprüft und dokumentiert?		

5.4 Präanalytische Maßnahmen			
		B	Bemerkungen
5.4.1	Liegt dem Patienten oder dem einsendenden Arzt als Auftraggeber das Angebot genetischer Beratung im Zusammenhang mit zytogenetischer Diagnostik – auch vor deren Durchführung - vor?		
5.4.2	Gibt es Vereinbarungen darüber, dass solche Untersuchungen nur mit dem Einverständnis des Patienten erfolgen?		
5.4.3	Liegen Vereinbarungen mit dem Auftraggeber über die Mitteilung pathologischer Befunde in der Pränataldiagnostik vor?		
5.4.4	Enthalten alle Anforderungen neben den üblichen Angaben zur Person folgende zusätzliche Angaben: <input type="checkbox"/> Indikation für die durchzuführende Untersuchung, bzw. klinischer Verdacht, <input type="checkbox"/> ggf. einen beigefügten Stammbaum, <input type="checkbox"/> ggf. Ergebnisse von Voruntersuchungen, <input type="checkbox"/> ggf. Angabe der Schwangerschaftswoche?		
5.4.5	Sind schriftliche Verfahren festgelegt, um ein Eintreffen der Proben im Labor in geeignetem Zustand zu erreichen?		
5.4.6	Wird der Einsender umgehend benachrichtigt, wenn eine Probe ungeeignet ist?		
5.4.7	Werden bei der Untersuchung von Kindern die Leitlinien der Fachgesellschaft berücksichtigt?		

5.5	Untersuchungsverfahren		
		B	Bemerkungen
5.5.1	<p>Allgemeine Verfahren zur zytogenetischen Analyse: Steht dem Labor mindestens jeweils ein Verfahren zur G-, Q-, R-, C-Banden, DA/DAPI- und AgNOR-Darstellung zur Verfügung?</p> <p>Werden pro Fall mindestens 5 Metaphasen strukturell analysiert und 1-2 als Karyotyp in Form eines Bilddokuments archiviert?</p> <p>Sind alle ausgewerteten Metaphasen dokumentiert oder auf den Originalpräparaten wiederauffindbar?</p> <p>Werden die Originalpräparate in geeigneter Form und für mindestens 10 Jahre archiviert?</p>		
5.5.2	<p>Postnataldiagnostik: Werden mindestens 10 Metaphasen gezählt?</p> <p>Setzt das Labor routinemässig ein Verfahren zur Hochauflösungsdarstellung von Chromosomen ein?</p> <p>Entspricht die Bänderungsqualität der Fragestellung und weist sie in der Regel mindestens 400 Banden phs auf?</p>		
5.5.3	<p>Pränataldiagnostik: Werden mindestens 15 Metaphasen gezählt?</p> <p>Weist die Bänderungsqualität in der Regel mindestens 300 Banden phs auf?</p> <p>Werden bei Untersuchungen aus Amnionzellen mindestens 2 unabhängige Zellkulturen angelegt?</p> <p>Erfolgt die Analyse ggf. auch aus der zweiten Zellkultur?</p> <p>Werden bei Untersuchungen aus Chorionzotten ein Verfahren der Direktpräparation <u>und</u> der Langzeit-Zellkultur (oder ersatzweise Amnionzellkultur) eingesetzt?</p> <p>Werden beim Verdacht auf maternale Zellkontamination in der Zellkultur geeignete Maßnahmen zum Ausschluss einer Befundverfälschung ergriffen?</p>		

		B	Bemerkungen
5.5.4	<p>Fluoreszenz-in situ Hybridisierung (FISH): Wird die chromosomale in situ-Hybridisierung nur in Verbindung mit und auf dem Hintergrund einer Chromosomenanalyse an gebänderten Chromosomen eingesetzt?</p> <p>Werden pro Sonde 10 Metaphasen sorgfältig ausgewertet und dokumentiert:</p> <ul style="list-style-type: none"> a) bezüglich fehlender Signale auf den Zielchromosomen b) bezüglich Signalen auf anderen Chromosomen? <p>Werden pro Sonde 3 ausgewertete Metaphasen in geeigneter Weise einschließlich der Mikroskopkoordinaten dokumentiert, so dass sie auf den Präparaten wiederauffindbar sind?</p> <p>Wird beim Einsatz von Bildverarbeitungssystemen pro Sonde eine ausgewertete Metaphase zusätzlich in elektronisch unbearbeiteter Form (Bildrohdaten) gespeichert?</p> <p>Werden beim pränatalen Schnelltest mindestens 50 Kerne pro Sonde ausgewertet?</p>		

		B	Bemerkungen
5.5.6	<p>Tumorzytogenetik:</p> <p>Werden für einzelne Erkrankungen angepasste Kulturverfahren verwendet?</p> <p>Werden die angewandten Kulturverfahren dokumentiert?</p> <p>Werden mindestens jeweils eine eintägige und eine zweitägige Kultur aufgearbeitet?</p> <p>Wird eine geeignete G-, Q-, oder R-Bandenfärbung eingesetzt?</p> <p>Werden von mindestens 15-20 Metaphasen jedes Chromosom und jede Chromosomenbande hinsichtlich struktureller Veränderungen sorgfältig analysiert?</p> <p>Werden pro Fall mindestens 2 Karyotypen und pro aberrantem Klon mindestens 1-2 Karyotypen als Bildokument archiviert?</p> <p>Bestehen schriftlich niedergelegte, auf dem aktuellen Stand der Wissenschaft beruhende laboreigene Richtlinien, in denen für einzelne Chromosomenveränderungen Vorgehensweisen festgelegt sind, nach denen präparative Artefakte von klonalen Chromosomenveränderungen unterschieden werden können?</p> <p>Werden Metaphasen aus Kulturen nach unterschiedlicher Kultivierungsdauer analysiert?</p> <p>Ist sichergestellt, dass konstitutionelle Chromosomenveränderungen als solche erkannt und von tumorassoziierten Veränderungen unterschieden werden können?</p> <p>Wird darauf hingewiesen, dass die Mitteilung einer konstitutionellen Chromosomenveränderungen mit dem Angebot einer genetischen Beratung verbunden sein muss?</p>		

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

		B	Bemerkungen
5.6.1	Werden fehlgeschlagene Chromosomenpräparationen und Wiederholungsansätze protokolliert?		
5.6.2	Werden, wenn möglich, alle pathologischen Ergebnisse der cytogenetischen Pränataldiagnostik nach Geburt oder Schwangerschaftsunterbrechung bestätigt?		
5.6.3	Werden alle cytogenetischen Laborergebnisse statistisch ausgewertet?		
5.6.4	<i>Gibt es Sammlung ungewöhnlicher, schwieriger oder „lehrreicher Fälle“ für Schulungszwecke?</i>		
5.6.5	Wird bei Änderungen der Verfahren jeweils die Richtigkeit der verwendeten Verfahren erneut geprüft und dokumentiert?		

5.7	Postanalytische Maßnahmen		
------------	----------------------------------	--	--

		B	Bemerkungen
5.7.1	Gibt es Kriterien, um ungewöhnliche Untersuchungsergebnisse zu erkennen?		
5.7.2	Stehen Verfahren zur Verfügung, um abklärungsbedürftige Untersuchungsbefunde durch weitere Methoden zu überprüfen, wo immer dies sinnvoll oder möglich ist?		

5.8	Befunde		
5.8.1	<p>Enthält die zytogenetische Bewertung:</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Karyotyp nach ISCN in aktueller Version, auch bei FISH und Interphase-FISH-Untersuchungen <input type="checkbox"/> Angaben über die verwendeten Zellen oder Gewebe, in der Tumorzytogenetik mit Nennung der Kultivierungsmethoden, -dauer und ggf. evtl. verwendeter Stimulantien <input type="checkbox"/> Anzahl ausgezählter und strukturell analysierter Metaphasen <input type="checkbox"/> Pränataldiagnostik: Anzahl ausgewerteter unabhängiger Zellkulturen oder Klone* <input type="checkbox"/> Verwendete Bänderungstechniken <input type="checkbox"/> Angaben zu den verwendeten Sonden und der Zahl der ausgewerteten Metaphasen oder Interphasekerne bei der Fluoreszenz-in situ-Hybridisierung <input type="checkbox"/> Angabe zur Qualität des erreichten Bandenstadiums* <input type="checkbox"/> In der Tumorzytogenetik Angabe der in drei Metaphasen maximal erreichten Bandenauflösung (ca.-Werte), getrennt für normale diploide und aberrante Karyotypen <input type="checkbox"/> Interpretation des Untersuchungsergebnisses und ggf. eine Stellungnahme über den klinischen Bezug <input type="checkbox"/> Gegebenenfalls Hinweise auf eine Einschränkung der Aussagekraft bei Nichterreichen von Standards <input type="checkbox"/> Das Angebot genetischer Beratung bei auffälligen Befunden 		
5.8.2	<p>Werden die Leitlinien im Bezug auf die Mitteilung des <i>kindlichen</i> Geschlechts an die Schwangere nicht vor der 14. Schwangerschaftswoche p.m. beachtet?</p>		
5.8.3	<p><i>Werden in Zusammenhang mit dem Befund ggf. Literaturangaben gemacht, die dem Empfänger die eigene Orientierung ermöglichen?</i></p>		

* Diese Angaben können durch einen Hinweis auf die Einhaltung der Leitlinien ersetzt werden.