

## 9.1 Checkliste Immunologie<sup>1</sup> – Allgemeine Anforderungen

SK\_5 24a/04

*J. Steinmann, R. E. Schmidt*

<b>Anwendungsbereich</b>	<b>3</b>
<b>Personal</b>	<b>3</b>
<b>Räumlichkeiten</b>	<b>4</b>
<b>Geräte und Einrichtungen</b>	<b>4</b>
<b>Untersuchungsverfahren</b>	<b>4</b>
Allgemeines	4
Bluttyp-, Blutgruppen- und/oder Antikörper-Suchverfahren	4
Durchflusszytometrie	5
Immunophänotypisierung	5
Analyse des DNA-Gehalts	7
<b>Qualitätsmanagementsystem</b>	<b><u>89</u></b>
<b>Untersuchungsgut/Proben</b>	<b>10</b>

<sup>1</sup> Bis zur Veröffentlichung durch die Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH erfolgt keine endgültige redaktionelle Bearbeitung.



<b>1</b>	<b>Anwendungsbereich</b>			
----------	--------------------------	--	--	--

Fragen in diesem Abschnitt betreffen alle Bereiche der immunologischen Tätigkeiten: Immunologie, Durchflusszytometrie, Allergologie und Molekularbiologie.

Siehe auch: Checklisten für Medizinische Laboratorien

		U	O	Bemerkungen
1.1	<p>Welchem Typ ist das Laboratorium zuzuordnen:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li><input type="checkbox"/> Basislaboratorium,</li> <li><input type="checkbox"/> Laboratorium mit erweitertem Leistungsspektrum,</li> <li><input type="checkbox"/> Fachlaboratorium,</li> <li><input type="checkbox"/> Fachlaboratorium mit speziellem Leistungsspektrum? (Spezialitäten bitte benennen)</li> </ul> <p>.....</p> <p>.....</p>			
1.2	<p>Wenn es sich um ein Referenzlabor handelt, bitte spezifizieren:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li><input type="checkbox"/> Immunophänotypisierung,</li> <li><input type="checkbox"/> DNA-Analyse/Index,</li> <li><input type="checkbox"/> allergologische Untersuchungen?</li> </ul>			

<b>4</b>	<b>Personal</b>			
----------	-----------------	--	--	--

		U	O	Bemerkungen
4.1	<p><b>Wird das Personal, das in der Immunologie tätig ist, auf Farbunterscheidungsfähigkeit untersucht (z. B. Rot-Grün-Blindheit)?<sup>2</sup></b></p>			
4.2	<p><b>Verfügt die für die Durchflusszytometrie verantwortliche Person über eine Ausbildung und Erfahrung entsprechend einer MTA und über eine mindestens 1jährige praktische Erfahrung unter einem qualifizierten Laborleiter?</b></p>			

<sup>2</sup> Das heißt nicht, dass technisches Personal mit beeinträchtigtem Farbunterscheidungsvermögen nicht beschäftigt werden darf, sondern nur, dass die Mitarbeiter untersucht und ihre Aufgaben und Verantwortungsbereiche entsprechend zugewiesen werden müssen.

<b>5</b>	<b>Räumlichkeiten</b>			
----------	-----------------------	--	--	--

		<b>U</b>	<b>O</b>	<b>Bemerkungen</b>
5.1	<b>Liegt die vorgeschriebene Genehmigung für den Umgang mit Radioisotopen nach dem Strahlenschutzgesetz vor?</b>			

<b>6</b>	<b>Geräte und Einrichtungen</b>			
----------	---------------------------------	--	--	--

		<b>U</b>	<b>O</b>	<b>Bemerkungen</b>
6.1	<i>Gibt es eine biologische Sicherheitswerkbank?</i>			
6.2	<b>Wird die Sicherheitswerkbank jährlich überprüft, um sicherzustellen, dass die Filter ordnungsgemäß funktionieren, und die Luftströmungswerte innerhalb der Spezifikation liegen?</b>			
6.3	<b>Sind – soweit erforderlich – in Kühlgeräten, Kühlzellen, Inkubatoren, Bruträumen, Wasserbädern, Heiztischen, Trockenschränken usw. Thermometer vorhanden?</b>			

<b>8</b>	<b>Untersuchungsverfahren</b>			
----------	-------------------------------	--	--	--

		<b>U</b>	<b>O</b>	<b>Bemerkungen</b>
<b>8.1</b>	<b>Allgemeines</b>			
8.1.1	<i>Werden im Laboratorium für Immunologie Methoden der Allergologie oder Molekularbiologie angewandt?<sup>3</sup></i>			

		<b>U</b>	<b>O</b>	<b>Bemerkungen</b>
<b>8.2</b>	<b>Bluttyp-, Blutgruppen- und/oder Antikörper-Suchverfahren</b>			
8.2.1	<i>Werden Bluttyp-, Blutgruppen- und/oder Antikörper-Suchverfahren in der immunologischen Abteilung durchgeführt?</i>			

<sup>3</sup> Wenn „JA“, siehe auch *Checklisten Immunologie – Allergologie und Molekularbiologie in der Immunologie*

		U	O	Bemerkungen
8.2.2	<b>Sind am Arbeitsplatz Packungsbeilagen für die verwendeten Bestimmungsseren verfügbar?</b>			
8.2.3	Werden die Bestimmungsreagenzien entsprechend der Herstelleranleitung eingesetzt? Werden bei Abweichung von der Herstelleranleitung die medizinisch-wissenschaftlichen Anforderungen bzw. die gesetzlichen Vorschriften zur Validierung von In-Haus-Verfahren beachtet? <sup>4</sup>			
8.2.4	<b>Werden alle verwendeten Bestimmungsseren bei erstmaligem Gebrauch und an jedem Tag der Verwendung auf Reaktivität gegenüber bekannten positiven oder negativen Zellen kontrolliert?</b>			

		U	O	Bemerkungen
8.3	<b>Durchflusszytometrie</b>			
8.3.1	<b>Sind für alle mit Durchflusszytometrie-Instrumenten zu ermittelnden Parameter Ober- und Untergrenzen definiert worden, damit Ergebnisse außerhalb dieser Grenzen vor ihrer Weitergabe überprüft werden?</b>			

		U	O	Bemerkungen
8.4	<b>Immunophänotypisierung</b>			
8.4.1	<i>Wird die Immunophänotypisierung mit dem Verfahren der Durchflusszytometrie durchgeführt?</i>			
8.4.2	<b>Wird vor der Analyse an jeder Testprobe der Prozentsatz an lebensfähigen Zellen ermittelt?<sup>5</sup></b>			
8.4.3	<b>Wird bei jeder Testprobe oder Testprobencharge auch ein Durchlauf mit einer Kontrollprobe durchgeführt?</b>			
8.4.4	<b>Werden die Proben innerhalb von 24 Std. nach der Probenahme zum ersten Mal behandelt, und werden die behandelten Proben nach dieser ersten Behandlung ordnungsgemäß gelagert?</b>			

<sup>4</sup> Für die Verwendung von Medizinprodukten aus In-Haus-Herstellung ist das Medizinproduktegesetz (in der Neufassung vom 07.08.2002) §12 in Verbindung mit §7 zu beachten.

<sup>5</sup> Die routinemäßige Prüfung der Lebensfähigkeit ist nicht notwendig bei Vollblutproben, die innerhalb von 24 Stunden nach der Entnahme analysiert werden. Analysen an älteren Proben sind möglich, wenn das Labor nachgeprüft hat, dass keine statistischen Unterschiede zwischen den zu bewertenden Phänotyp-Fractionen der frischen und der alten Probe vorhanden sind.

		U	O	Bemerkungen
8.4.5	Werden die besonderen Eigenschaften von Reagenzantikörpern durch Versuche an geeigneten Kontrollproben bestätigt, bevor sie für Testproben verwendet werden?			
8.4.6	Werden die Proben so behandelt, dass das "Capping" (d. h. Migration oder Ablösung (Shedding) des Antikörpermembran-Antigenkomplexes von der Zelloberfläche) so minimal wie möglich ist?			
8.4.7	Werden bei dem Durchflusszytometer an jedem Benutzungstag als Teil des Kalibrierungsvorgangs für jedes Fluorochrom Durchläufe mit entsprechenden optischen Standards (z. B. Latexperlen) durchgeführt, und werden die Ergebnisse zu Qualitätskontrollzwecken protokolliert?			
8.4.8	Wird bei Laser-Instrumenten an jedem Benutzungstag der Leistungsausgang gemessen, und werden die Ergebnisse zu Qualitätskontrollzwecken protokolliert?			
8.4.9	Werden die Werte der Instrumenten-Kalibrierung und die Kontrollen der Laser-Ausgangswerte regelmäßig überprüft?			
8.4.10	Werden bei den durchflusszytometrischen Analysen Gating-Techniken angewandt, um die Zellpopulationen für die Analyse zu selektieren? <sup>6</sup> Gibt es schriftliche Anweisungen zur Überprüfung automatisch gesetzter Gates und zum manuellen Gating?			
8.4.11	Wird bei durchflusszytometrischen Analysen eine Negativkontrolle angewandt, um einen Schwellenwert für positiv färbende Zellen zu definieren? <sup>7</sup>			
8.4.12	Werden die Ergebnisse der Analysen von Patientenproben vom Laborleiter oder seinem Beauftragten überprüft? Werden die Originaldaten (Dotplots) vom Laborleiter oder seinem Beauftragten kontrolliert, und werden schlüssige Befundinterpretationen für den Kliniker dem Befund angefügt?			

<sup>6</sup> Dies ist besonders wichtig, wenn die Zellproben einen niedrigen Lymphozytenwert und/oder einen relativ hohen Monozyten-Granulozyten-Wert aufweisen.

<sup>7</sup> Eine Negativkontrolle ist unbedingt notwendig, um den richtigen Wert für spezifische positiv färbende Zellen zu definieren.

		U	O	Bemerkungen
8.4.13	<b>Beinhaltet der Befund einen festgelegten Referenzbereich je nach Alter des Patienten und Entnahmepunkt der Probe?</b>			
8.4.14	<b>Werden die Ergebnisse von Tests, die das Personal in Abwesenheit des Leiters durchgeführt hat, im Laufe der nächsten routinemäßigen Arbeitsschicht vom Laborleiter oder einem Beauftragten für die Durchflusszytometrie überprüft?</b>			

		U	O	Bemerkungen
<b>8.5</b>	<b>Analyse des DNA-Gehalts</b>			
8.5.1	<i>Werden die Proben mit Verfahren der Durchflusszytometrie auf den DNA-Gehalt untersucht?</i>			
8.5.2	<b>Werden die Proben grob (oder nötigenfalls mikroskopisch) untersucht, um sicherzustellen, dass die für die DNA-Analyse gelieferte Probe für den Krankheitsprozess repräsentativ ist?</b>			
8.5.3	<b>Wird das analytische Verfahren auf der Basis einer festgelegten Methodik (und bestimmten zusätzlichen Vermerken) beschrieben?</b>			
8.5.4	<b>Werden die Proben mit RNase vorbehandelt, bevor sie mit einem Nukleinsäure-spezifischen Farbstoff gefärbt werden, oder ist der Farbstoff DNA-spezifisch?</b>			
8.5.5	<b>Gibt es schriftliche Kriterien zur Spezifizierung des Tumortyps, der auf DNA analysiert werden sollte?</b>			
8.5.6	<b>Gibt es schriftliche Kriterien für die Akzeptierbarkeit von Histogrammen zur Auswertung?</b>			
8.5.7	<b>Gibt es schriftliche Kriterien für die Zurückweisung von Proben zur Analyse des DNA-Gehalts?</b>			
8.5.8	<b>Ist die Konzentration des Nukleinsäure-spezifischen Farbstoffs als sättigend bestimmt worden?<sup>8</sup></b>			

<sup>8</sup> Bei den Standardtechniken wird mit einer hohen Fluorochromkonzentration gearbeitet, da nicht-sättigende Konzentrationen die Zellen als hypoploid erscheinen lassen.

		U	O	Bemerkungen
8.5.9	Werden Kontrollzellen mit bekanntem DNA-Gehalt bei jeder Probe oder Probencharge geprüft, um einen akzeptablen Variationskoeffizienten für den GO/1-Peak zu ermitteln?			
8.5.10	Sind Analysenkriterien zur Identifikation einer aneuploiden Zellpopulation in der Testprobe festgelegt worden? <sup>9</sup>			
8.5.11	Werden die Analyseergebnisse der Patientenproben vom Laborleiter oder dessen Beauftragten überprüft, und werden ggf. Anmerkungen für Kliniker angefügt, um die Auswertung der Ergebnisse zu erleichtern?			
8.5.12	Werden die Ergebnisse von Tests, die das Personal in Abwesenheit vom Leiter durchgeführt hat, im Laufe der nächsten routinemäßigen Arbeitsschicht vom Laborleiter oder einem Beauftragten für die Durchflusszytometrie überprüft?			

		U	O	Bemerkungen
<b>8.6</b>	<b>Leukämie- und Lymphomdiagnostik</b>			
8.6.1	Sind die eingesetzten Antikörper der klinischen Fragestellung angemessen?			
8.6.2	Werden die Antikörper in der optimalen Konzentration eingesetzt?			
8.6.3	Wird die Bindungsspezifität sicher gestellt (z.B. durch Isotypkontrollen)?			
8.6.4	Gibt es schriftliche Anweisungen zum manuellen Gating auf die abnormalen Zellen?			
8.6.5	Enthält der Befund ausreichende Angaben und Interpretationen zum Phänotyp und zur Bedeutung der abnormalen Zellen?			

<b>11</b>	<b>Qualitätsmanagementsystem</b>			
-----------	----------------------------------	--	--	--

*Zusätzliche Forderungen nur hinsichtlich der Speziellen Abläufe in der Qualitätssicherung*

<sup>9</sup> Ein internationaler Workshop hat empfohlen, dass Zellen (oder Zellkerne) so zu bezeichnen sind, wenn sie eine „abnorme DNA-Stammlinie“ oder „DNA-Aneuploidie“ aufweisen und mindestens zwei getrennte GO/1-Peaks nachgewiesen werden (Hiddemann W., et al., Nomenklatur-Konvention zur DNA-Zytometrie. Cytometry 1984;5;445-446).

		U	O	Bemerkungen
11.1	Werden an jedem Tag der Analyse und an jeder Probencharge für alle qualitativen oder semi-quantitativen serologischen Tests (z. B. Rheumafaktor, Rapid-Plasma-Reagin, ASO, hCG, heterophile Antikörper etc.) bekannte Positiv- und Negativ-Kontrollen vorgenommen? <sup>10</sup>			
11.2	Ist bei direkten Antigen-Tests eine Positiv- und Negativ-Kontrolle für jeden Durchlauf von Patientenproben vorgesehen? <sup>11</sup>			
11.3	Werden alle Farbstoffe an jedem Tag der Verwendung auf ihre beabsichtigte Reaktivität geprüft?			
11.4	Werden bei allen Fluoreszenz-Farbstoffen bei jeder Verwendung Durchläufe mit Positiv- und Negativ-Kontrollen durchgeführt?			
11.5	Sind am Arbeitsplatz Packungsbeilagen für die verwendeten Bestimmungsreagenzien verfügbar?			
11.6	Werden die Herstellerempfehlungen zur korrekten Verwendung der Bestimmungsreagenzien befolgt oder sind Alternativverfahren zur Beurteilung ihrer richtigen Verwendung bewertet worden?			

<sup>10</sup> Anhand des Zusammenfassungsberichts wird der Prüfer feststellen, welche spezifischen serologischen Tests diese Anforderung nicht erfüllen. Bei bestimmten Reagenzsystemen mit integrierten Kontrollen sind externe Kontrollen eventuell nicht erforderlich. Solche Systeme müssen als „moderat komplex“ oder „Prüfung verzichtbar“ klassifiziert sein, und die interne Kontrolle muss sich auf die Reaktivitätsmessung und nicht auf den Prozess beziehen.

<sup>11</sup> Ein analytischer Durchlauf ist das Intervall, in dem die Präzision des Messsystems (gemäß den Herstellerempfehlungen) als stabil angesehen wird. Er sollte 24 Stunden nicht überschreiten.

<b>12</b>	<b>Untersuchungsgut/Proben</b>			
-----------	--------------------------------	--	--	--

		<b>U</b>	<b>O</b>	<b>Bemerkungen</b>
12.1	<b>Werden festgelegte Transportmedien verwendet, falls dies erforderlich ist?</b>			
12.2	<b>Gibt es Regelungen für einen möglichst schnellen Probentransport ins Labor (Kryoglobuline, Komplementanalysen etc.)?</b>			
12.3	<b>Gibt es Lagerungshinweise für Proben, wenn die Bearbeitung erst später erfolgen kann (z. B. Kühlung von Urinproben)?</b>			
12.4	<b>Gibt es Verfahrensvorschriften zur sicheren Handhabung und zum ordnungsgemäßen Transport/ Versand von Proben?</b>			
12.5	<b>Werden Identität und Integrität der Proben geeignet überprüft (einschließlich Blut-, Körperflüssigkeits- und Gewebeproben)?</b>			
12.6	<b>Sind schriftlich festgelegte Kriterien für die Zurückweisung von inakzeptablen Proben oder die spezielle Behandlung von suboptimalen Proben vorhanden?<sup>12</sup></b>			

<sup>12</sup> Dies bedeutet nicht, dass alle „inakzeptablen“ Proben verworfen oder nicht analysiert werden. Wenn z. B. ein Lymphozyten-Immunophänotypisierungsbild in Auftrag gegeben wird und eine Hämolyse der Blutprobe eingetreten ist, sollte der anfordernde Arzt unterrichtet und der Zustand der Probe im Bericht vermerkt werden, sofern die Testung immer noch vom anfordernden Arzt gewünscht wird.

