
	Checkliste Humangenetik - Molekulargenetische Untersuchungen	75 CL 3 002	
		Revision:	1.0
		Datum	26.04.2012
		Seite:	1/9

Datum der Bestätigung durch den Akkreditierungsbeirat: 06.10.2015

C. Aulehla-Scholz, C.R. Müller-Reible

Inhalt:

Anwendungsbereich	2
4.13 Qualitäts- und technische Aufzeichnungen	2
5.1 Personal	2
5.2 Räumlichkeiten und Umgebungsbedingungen	3
5.3 Laboratoriumsausrüstung	4
5.4 Präanalytische Maßnahmen	4
5.5 Untersuchungsverfahren	5
5.6 Sicherung der Qualität der Untersuchungsverfahren	7
5.7 Postanalytische Maßnahmen	8
5.8 Befunde	8

	Checkliste Humangenetik - Molekulargenetische Untersuchungen	75 CL 3 002	
		Revision:	1.0
		Datum	26.04.2012
		Seite:	2/9

Anwendungsbereich

Diese Checkliste erstreckt sich auf die molekulargenetische Analytik von Nukleinsäuren im Bereich der humangenetischen Diagnostik.

Siehe auch:

- Checkliste für Medizinische Laboratorien - Allgemeiner Teil
- Leitlinien zur molekulargenetischen Labordiagnostik. medgen 8 (1996) 3: Bl 4
- Leitlinien zur molekulargenetischen Diagnostik nach CVS. medgen 9 (1997) 132
- Leitlinien zur speziellen Diagnostik einzelner Erkrankungen (<http://www.bvmedgen.de>)
- Gesetz über genetische Untersuchungen am Menschen (Gendiagnostikgesetz; GenDG), Fassung vom 31.07.2009. Bundesgesetzblatt 50: 2529-2538.
- Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen, Deutsches Ärzteblatt 105, A341-355 (2008).

4.13 Qualitäts- und technische Aufzeichnungen			
		B	Bemerkungen
4.13.1	Sind die Laboraufzeichnungen in Bezug auf individuelle Untersuchungsreihen und Testbedingungen spezifisch, z.B. bzgl. Menge und Qualität der eingesetzten Nukleinsäuren, Untersuchungsmethode und -bedingungen?		
4.13.2	Sind die Chargennummern der verwendeten kritischen Reagenzien (z.B. Enzyme, Primer und Gensonden etc.) in Chargendokumentationslisten und ggf. in den Untersuchungsprotokollen enthalten?		
4.13.3	Werden alle Gelfotografien, Autoradiogramme und sonstige Untersuchungsergebnisse ausreichend gekennzeichnet, und werden die Kennzeichnungen in den Ergebnisaufzeichnungen angegeben?		
4.13.4	Werden die Befunde entsprechend den Anforderungen des GenDG aufbewahrt?		

5.1 Personal			
		B	Bemerkungen
5.1.1	Besitzt der verantwortliche Laborleiter die für die Interpretation der Ergebnisse erforderliche Fachkenntnis?		
5.1.2	Verfügt das technische Personal, das an den molekulargenetischen Untersuchungen beteiligt ist, über Ausbildung und Erfahrung in der Molekulargenetik?		

5.1.3	Gibt es ein entsprechendes Trainingsprogramm für neue Mitarbeiter? Gibt es ein fortlaufendes molekular-genetisches Schulungsprogramm?		
5.1.4	Ist die Anzahl der Mitarbeiter ausreichend?		
5.2	Räumlichkeiten und Umgebungsbedingungen		
		B	Bemerkungen
5.2.1	Ist die Anzahl der zur Verfügung stehenden Räume bzw. Arbeitsbereiche den durchgeführten Untersuchungsverfahren angepasst? ¹		
5.2.2	Ist der Bereich der Probenvorbereitung vom Analysenbereich im Laboratorium räumlich getrennt?		
5.2.3	Erfolgt eine getrennte Lagerung von Untersuchungsgut (Primärproben), daraus gewonnenen Nukleinsäuren, Kontrollmaterialien und Reagenzien?		
5.2.4	Ist der Zugang zu den einzelnen Bereichen zur Vermeidung von Kontaminationen geregelt?		
5.2.5	Erlaubt die Laboreinrichtung eine effiziente Dekontamination der Arbeitsflächen? Existieren Vorkehrungen und Einrichtungen (z. B. geeignete UV-Bestrahlung der Arbeitsflächen), mit denen sich der Arbeitsbereich effektiv dekontaminieren lässt?		
5.2.6	Gibt es einen Reinigungsplan?		
5.2.7	Wird die Reinigung der Arbeitsflächen des molekular-genetischen Laborbereiches durch das Laborpersonal durchgeführt?		
5.2.8	Ist das Reinigungspersonal, auch externes, mit den Zugangsregelungen des Bereiches zur Kontaminationsvermeidung vertraut?		
5.2.9	Erfüllt das molekularbiologische Laboratorium alle Sicherheitsanforderungen, die in der <i>Checkliste für Medizinische Laboratorien – Allgemeiner Teil</i> aufgeführt sind?		
5.2.10	Ist die Unterweisung des Laborpersonals im sicheren Umgang mit den Elektrophoresegeräten und in den Vorsichtsmassnahmen zum Schutz vor elektrischen Schlägen dokumentiert?		
5.2.11	Ist die Unterweisung des Laborpersonals im sicheren Umgang mit UV-Licht dokumentiert? Sind UV-		

¹ Die in der Molekulargenetik hauptsächlich angewandten Amplifikationstechniken erfordern eine räumliche Trennung der einzelnen Arbeitsschritte zur sicheren Vermeidung von analytischen Fehlern

	absorbierende Brillen bzw. Gesichtsschilde vorhanden?		
5.2.12	Ist die Unterweisung des Laborpersonals im sicheren Umgang mit gefährlichen Substanzen (Acrylamid, Ethidiumbromid, Formamid etc.) dokumentiert? Werden Ethidiumbromid- bzw. Acrylamid-undurchlässige Einmalhandschuhe verwendet?		
5.3	Laboratoriumsausrüstung²		
		B	Bemerkungen
5.3.1	Sind Gerätschaften und Bekleidung in den einzelnen Arbeitsbereichen als diesen zugehörig gekennzeichnet, um Kontaminationsquellen zu identifizieren?		
5.3.2	Sind pro Arbeitsbereich getrennte Pipettensätze vorhanden?		
5.3.3	Sind Vorkehrungen zur Aerosolvermeidung getroffen (z. B. positive Displacement-Pipetten, aerosoldichte Einmal-Pipettenspitzen)?		
5.3.4	Wird die Leistung von Thermocyclern bei Inbetriebnahme sowie periodisch überprüft?		
5.3.5	Sind Reagenzien, wo nötig, adäquat aliquotiert?		

5.4	Präanalytische Maßnahmen		
		B	Bemerkungen
5.4.1	Enthalten alle Anforderungen neben den üblichen Angaben (Name des Patienten, Geburtsdatum etc.) folgende zusätzliche Angaben: Begründung der angeforderten molekular-genetischen Untersuchung (Erkrankung in der Familie, Verdacht auf, Erkrankung beim Partner etc.)? <input type="checkbox"/> ggf. rassische/ethnische Daten, <input type="checkbox"/> ggf. beigefügter Stammbaum, <input type="checkbox"/> ggf. Ergebnisse von Voruntersuchungen, <input type="checkbox"/> ggf. Angabe der Schwangerschaftswoche?		
5.4.2	Wird die Untersuchung von Kindern auf Überträger-schaft oder auf spät manifestierende Erkrankungen abgelehnt?		
5.4.3	Liegen Regelungen zur Sicherstellung einer Einwilligung gemäß GenDG vor?		

² Zur Laboratoriumsausrüstung gehören Geräte, Referenzmaterialien, Verbrauchsgüter, Reagenzien und Analysensysteme.

5.4.4	Gibt es Verfahrensvorschriften für den Auftraggeber, damit Probenahme und Transport so erfolgen, daß die Stabilität der Zielsequenz sichergestellt ist?		
5.4.5	Gibt es schriftlich festgelegte Kriterien für die Zurückweisung von ungeeigneten Untersuchungs-proben?		
5.4.6	Wird der Einsender umgehend informiert, wenn eine Probe ungeeignet ist?		
5.4.7	Ist eine Reserve-Zellkultur verfügbar, wenn DNA aus Choriongewebe oder Fruchtwasserzellen untersucht wird?		
5.4.8	Ist die Probenidentifikation in allen Phasen der Analyse 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"/> Fotografie, <input type="checkbox"/> Transfer, <input type="checkbox"/> Hybridisierung, <input type="checkbox"/> Detektion, <input type="checkbox"/> PCR, <input type="checkbox"/> Sequenzierung, <input type="checkbox"/> Aufbewahrung?		

5.5	Untersuchungsverfahren		
		B	Bemerkungen
5.5.1	Werden Nukleinsäureextraktion und –reinigung gemäss einer Standardvorschrift durchgeführt? Falls nicht, ist die Validierung der angewendeten Methode dokumentiert?		
5.5.2	Wird die Nukleinsäure so gelagert, dass ein Abbau nicht eintreten kann?		
5.5.3	Wird die Nukleinsäure ggf. quantitativ bestimmt?		
5.5.4	Wird die Qualität (Intaktheit) der hochmolekularen DNA mittels Gelelektrophorese oder einer vergleichbaren Methode bewertet, wenn dies erforderlich ist?		
5.5.5	Wird die Vollständigkeit von Restriktionsendo-nuklease-Spaltungen durch geeignete Methoden sichergestellt?		

5.5.6	Werden die Empfehlungen des Herstellers für Enzyme, z.B. Polymerasen, Restriktionsendonukleasen zu folgenden Punkten eingehalten: <input type="checkbox"/> Lagertemperatur, <input type="checkbox"/> Testtemperatur, <input type="checkbox"/> Puffer?		
5.5.7	Werden bei Southern-Blot-Verfahren in jeder Spur vergleichbare Mengen an DNA aufgetragen?		
5.5.8	Werden geeignete Molekulargewichtsmarker bei der Elektrophorese mitgeführt?		
5.5.9	Werden Farbmarker zur Bestimmung des Endpunktes der Gelelektrophorese mitgeführt?		
5.5.10	Wird jeder Gellauf mit Ethidiumbromid oder einer anderen geeigneten Färbelösung gefärbt und fotografiert?		
5.5.11	Ist bei den Hybridisierungsverfahren die Spezifität für jede Sonde durch geeignete Untersuchungen (z. B. bekannte positive Proben) überprüft und dokumentiert?		
5.5.12	Werden die folgenden Schritte korrekt durchgeführt und entsprechend kontrolliert: <input type="checkbox"/> Prähybridisierung, <input type="checkbox"/> Hybridisierung, <input type="checkbox"/> Autoradiographie bzw. Farbentwicklung?		
5.5.13	Wird bei den Amplifikationsverfahren (PCR) durch Anwendung geeigneter physikalischer Maßnahmen und Verfahrenskontrollen die Möglichkeit einer Kontamination oder Verschleppung (falsch positive Ergebnisse) so gering wie möglich gehalten? ³		
5.5.14	Sind die Benutzungshinweise der Hersteller kommerzieller Kits (mit Angaben zur Herkunft, der Chargennummer, des Verfallsdatums und der Lagerbedingungen) am Arbeitsplatz verfügbar?		
5.5.15	Werden die Primer sachgerecht gelagert?		

³ Streng getrennte Arbeitsbereiche, insbesondere für die Vorbereitung der Amplifikation und die Bearbeitung der Proben nach der Amplifikation, einschließlich der Laborausrüstung und Laborhilfsmittel. Die Aerosolbildung ist so gering wie möglich zu halten. Die Zugabe der Untersuchungsprobe sollte nach Zugabe aller Reagenzien erfolgen. Innerhalb einer Untersuchungsreihe sollte die Abfolge der Vorbereitung und Auftrennung wie folgt sein: Untersuchungsproben, danach Positivkontrollen, danach Negativkontrollen.

5.5.16	Sind die folgenden Bedingungen für jedes Primerpaar optimiert worden: <input type="checkbox"/> Konzentration und Temperatur der Annealing- und Extensionsphase, <input type="checkbox"/> Enzymkonzentration, <input type="checkbox"/> Primerkonzentration, <input type="checkbox"/> Mg ²⁺ Konzentration?		
5.5.17	Werden bei jeder Testdurchführung alle notwendigen Kontrollproben – wenn vorhanden – mitgeführt? ⁴ Werden bei jedem MLPA-Lauf entsprechende normale Kontrollproben mitgeführt?		
5.5.18	Werden in jedem Amplifikations-Testansatz negative Kontrollen, die keine Nukleinsäuren enthalten, mitgeführt? Werden die PCR-Produkte auf einem Agarosegel überprüft?		
5.5.19	Wird die Anwesenheit amplifizierbarer Nukleinsäuren bei jedem Amplifikationstest bestätigt, bei dem das Fehlen einer Bande ein positives Ergebnis bedeutet (Deletionsnachweis)?		
4.5.20	Werden misslungene Untersuchungen sowie die durchgeführten Korrekturmaßnahmen dokumentiert?		

5.6 Sicherung der Qualität der Untersuchungsverfahren ⁵			
		B	Bemerkungen
5.6.1	Wird bei allen pränatalen Untersuchungen eine maternale Kontamination ausgeschlossen?		
5.6.2	Ist die Auflösung und Qualität von Gelfotografien, Autoradiogrammen und sonstigen Untersuchungsergebnissen (z. B. Streifentest) ausreichend (geringer Hintergrund, gut erkennbares Signal, Auflösung des Molekulargewichtsstandards), um das Untersuchungsergebnis nachvollziehen und bestätigen zu können?		

⁴ Für die nachzuweisende Mutation positive (heterozygot oder homozygot) und negative Proben.

⁵ siehe auch Kapitel 5.5 Untersuchungsverfahren

5.6.3	Werden bei Fragmentanalysen geeignete Längenstandards verwendet? Werden bei Fragmentanalysen von „Repeat“-Erkrankungen geeignete Kontrollproben im Bereich von Normalfragmenten, Grauzonenfragmenten und pathologischen Fragmenten als interne Kontrollen mitgeführt.		
5.6.4	Sind die Sequenzen nach Auftrennung auf einem automatischen Sequenzer (z.B. Kapillarsequenzer) eindeutig (ausreichende Signalhöhe, klare Signale, keine Farbüberlagerungen)?		
5.6.5	Wird in beide Richtungen sequenziert? Oder werden zumindest „Heterozygoten“-Befunde durch Sequenzierung in die umgekehrte Richtung überprüft? Erfolgt die Sequenzierung dabei an einem neu amplifizierten PCR-Produkt?		
5.6.6	Werden Autoradiographien, Elektrophoresegele und Sequenzen unabhängig von mindestens zwei qualifizierten Auswertern beurteilt?		
5.6.7	Gibt es ein Logbuch über ungewöhnliche, schwierige oder „lehrreiche“ Fälle?		
5.6.8	Nimmt das Labor regelmäßig und erfolgreich an Maßnahmen zur externen Qualitätssicherung teil?		

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?		
5.7.3	Werden pathologische Befunde unabhängig wiederholt, wenn möglich mit einer anderen Methode?		
5.7.4	Werden alle pathologischen pränatalen Testergebnisse nach der Geburt oder Schwangerschaftsunterbrechung bestätigt, wenn dies möglich ist?		

5.8	Befunde		
		B	Bemerkungen
5.8.1	Erfolgt die Mitteilung der Befunde entsprechend den		

	Vorgaben des GenDG?		
5.8.2	Sind die Befunde so abgefasst, dass die Patientendaten übersichtlich und vollständig vermittelt werden?		
5.8.3	Enthält der Abschlussbericht eine geeignete Zusammenfassung der verwendeten Methoden, der untersuchten Mutationen, der objektiven Befunde sowie die klinische Bewertung der Ergebnisse in leicht verständlicher Form?		
5.8.4	Wird für die Bezeichnung von Mutationen eine international anerkannte Nomenklatur verwendet (z.B. Human Genome Variation Society)?		
	Wird im Befund auf mögliche populationspezifische Unterschiede der Mutationsverteilung, z. B. bei der Mukoviszidose, eingegangen? Wird das erhaltene Ergebnis im Hinblick darauf interpretiert?		
5.8.5	Wird im Befund auf die Grenzen des verwendeten Untersuchungsverfahrens (z.B. den Prozentsatz der ausgeschlossenen Mutationen) und ggf. auf die Möglichkeit weiterführender Untersuchungen hingewiesen?		
5.8.6	Werden in der Befundmitteilung ggf. Literaturangaben gemacht, die dem Empfänger eine geeignete Orientierung ermöglichen?		
5.8.7	Wird bei einem pathologischen Ergebnis (krankheitsverursachende Mutation vorhanden) in der Befundmitteilung auf die Konsequenzen für die nächsten Anverwandten eingegangen? Wird auf die Notwendigkeit einer genetischen Beratung verwiesen?		
5.5.8	Werden unterschiedliche oder abweichende Ergebnisse zwischen molekulargenetischen und klinisch-chemischen Befunden analysiert und dokumentiert und ggf. Korrekturmaßnahmen ergriffen?		