



|   |  |             |            |
|---|--|-------------|------------|
|  | <b>Checkliste Humangenetik – Zytogenetische Untersuchungen</b> | 75 CL 3 003 |            |
|   |  | Revision:   | 1.0        |
|   |  | Datum       | 26.04.2012 |
|   |  | Seite:      | 1/11       |

Datum der Bestätigung durch den Akkreditierungsbeirat: 06.10.2015

*K. Miller, H. Rieder*

|   |    |
|---|----|
| Anwendungsbereich                                     | 2  |
| 5.1 Personal  | 3  |
| 5.2 Räumlichkeiten                                    | 3  |
| 5.3 Laboratoriumsausrüstung                           | 4  |
| 5.4 Präanalytische Maßnahmen                          | 5  |
| 5.5 Untersuchungsverfahren                            | 6  |
| 5.6 Sicherung der Qualität der Untersuchungsverfahren | 9  |
| 5.7 Postanalytische Maßnahmen                         | 9  |
| 5.8 Befunde   | 10 |

|   |  |             |            |
|---|--|-------------|------------|
|  | <b>Checkliste Humangenetik – Zytogenetische Untersuchungen</b> | 75 CL 3 003 |            |
|   |  | Revision:   | 1.0        |
|   |  | Datum       | 26.04.2012 |
|   |  | Seite:      | 2/11       |

## 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, medgen 19 (2007) 456-459
- Leitlinien zur tumorzytogenetischen Labordiagnostik. medgen 8 (1996) 3: Bl 3-4
- Leitlinien zur molekularzytogenetischen Labordiagnostik, medgen 16 (2004) 358-359
- Leitlinien zum "pränatalen Schnelltest (FISH)", medgen 10 (1998) 319
- Leitlinien für die molekulare und cytogenetische Diagnostik bei Prader-Willi-Syndrom und Angelman-Syndrom, medgen 13 (2001) 71-73
- E.C.A. (2006) Cytogenetic Guidelines and Quality Assurance, Guidelines Version 1.1. E.C.A. Newsletter 17:13-32..
- Guidelines for molecular karyotyping in constitutional genetic diagnosis. Eur J Hum Genet, 2007 15:1105-1114
- Proposals for standardized protocols for cytogenetic analyses of acute leukemias, chronic lymphocytic leukemia, chronic myeloid leukemia, chronic myeloproliferative disorders, and myelodysplastic syndromes, Genes Chrom.Cancer, 2007 46:494-499
- American College of Medical Genetics, Standards and Guidelines for Clinical Genetics Laboratories (2006 edition): [www.acmg.net/Pages/ACMG\\_Activities/stds-2002/e.htm](http://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).
- Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen, Deutsches Ärzteblatt 105, A341-355 (2008).
- Gesetz über genetische Untersuchungen am Menschen (Gendiagnostikgesetz; GenDG), Fassung vom 31.07.2009. Bundesgesetzblatt 50: 2529-2538.

| 5.1 Personal |  |          |                    |
|--------------|--|----------|--------------------|
|              |  | <b>B</b> | <b>Bemerkungen</b> |
| 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?<br>Werden externe Schulungsprogramme genutzt?<br>Gibt es ein fortlaufendes internes Schulungsprogramm?                           |          |                    |

| 5.2 Räumlichkeiten |  |  |  |
|--------------------|--|--|--|
|--------------------|--|--|--|

*Auflagen des Gewerbeaufsichtsamtes und Regelungen des Gemeindeunfallverbandes sind einzuhalten.*

|       |  | <b>B</b> | <b>Bemerkungen</b> |
|-------|--|----------|--------------------|
| 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 Anweisungen im Bezug auf Vermeidung von Infektionen 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>B</b> | <b>Bemerkungen</b> |
|--------|---|----------|--------------------|
| 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 (Geräte der Klasse II)?   |          |                    |
| 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?   |          |                    |
| 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?  |          |                    |

|        |  | <b>B</b> | <b>Bemerkungen</b> |
|--------|--|----------|--------------------|
| 5.3.12 | Ist bei Hybridisierungsverfahren die Spezifität für jede Sonde durch geeignete Untersuchungen (z.B. bekannte positive und negative Proben) überprüft und dokumentiert? |          |                    |

| <b>5.4 Präanalytische Maßnahmen</b> |  |          |                    |
|-------------------------------------|--|----------|--------------------|
|                                     |  | <b>B</b> | <b>Bemerkungen</b> |
| 5.4.1                               | Liegen Regelungen zur Sicherstellung einer Einwilligung gemäß GenDG vor und wird im Leistungsverzeichnis/Handbuch zur Entnahme von Primärproben auf die besonderen Anforderungen des GenDG an die qualifizierte Einwilligung hingewiesen?  |          |                    |
| 5.4.2                               | Erfolgen die Untersuchungen entsprechend den Bestimmungen des GenDG?   |          |                    |
| 5.4.3                               | Enthalten alle Anforderungen neben den üblichen Angaben zur Person folgende zusätzliche Angaben: <ul style="list-style-type: none"> <li><input type="checkbox"/> Indikation für die durchzuführende Untersuchung, bzw. klinischer Verdacht,</li> <li><input type="checkbox"/> ggf. einen beigefügten Stammbaum,</li> <li><input type="checkbox"/> ggf. Ergebnisse von Voruntersuchungen,</li> <li><input type="checkbox"/> ggf. Angabe der Schwangerschaftswoche?</li> </ul> |          |                    |
| 5.4.4                               | Sind schriftliche Verfahren festgelegt, um ein Eintreffen der Proben im Labor in geeignetem Zustand zu erreichen?  |          |                    |
| 5.4.5                               | Wird der Einsender umgehend benachrichtigt, wenn eine Probe ungeeignet ist?  |          |                    |
| 5.4.6                               | Werden bei der Untersuchung von Kindern die Leitlinien der Fachgesellschaft und das GenDG berücksichtigt?  |          |                    |

| 5.5 Untersuchungsverfahren |   |          |                    |
|----------------------------|---|----------|--------------------|
|                            |   | <b>B</b> | <b>Bemerkungen</b> |
| 5.5.1                      | <p>Allgemeine Verfahren zur zytogenetischen Analyse:<br/>Steht dem Labor mindestens jeweils ein Verfahren zur G-, Q-, R-, C-Banden, DA/DAPI- und AgNOR-Darstellung zur Verfügung?</p> <p>Entspricht die Bänderungsqualität der Fragestellung und weist sie eine den Leitlinien der Fachgesellschaft entsprechende Bandenauflösung auf?</p> <p>Werden pro Fall mindestens 5 Metaphasen strukturell analysiert und 1-2 als Karyotyp in Form eines Bilddokuments archiviert?</p> <p>Erfolgt die Archivierung der Präparate entsprechend GenDG?</p>                           |          |                    |
| 5.5.2                      | <p>Postnataldiagnostik:<br/>Werden mindestens 10 Metaphasen gezählt?</p> <p>Setzt das Labor routinemäßig ein Verfahren zur hochauflösenden Darstellung von Chromosomen ein?</p>   |          |                    |
| 5.5.3                      | <p>Pränataldiagnostik:<br/>Werden mindestens 15 Metaphasen gezählt?</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> |          |                    |

|       |  |  |  |
|-------|--|--|--|
| 5.5.4 | <p>Fluoreszenz-in situ Hybridisierung (FISH):<br/>Wird die chromosomale in situ-Hybridisierung nur in Verbindung mit oder auf dem Hintergrund einer Chromosomenanalyse an gebänderten Chromosomen eingesetzt?</p> <p>Werden pro Sonde 10 Metaphasen sorgfältig ausgewertet und dokumentiert:</p> <p style="padding-left: 40px;">a) bezüglich fehlender Signale auf den Zielchromosomen<br/>b) bezüglich Signalen auf anderen Chromosomen?</p> <p>Werden pro Sonde 3 ausgewertete Metaphasen in geeigneter Weise einschließlich der Mikroskopkoordinaten dokumentiert, so dass sie auf den Präparaten wieder auffindbar 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>  |  |  |
| 5.5.5 | <p>Tumorzytogenetik:<br/>Werden für einzelne Erkrankungen angepasste Kulturverfahren verwendet?</p> <p>Werden die angewandten Kulturverfahren dokumentiert?</p> <p>Werden mindestens jeweils eine Kultur nach eintägiger und eine Kultur nach zweitägiger Kultivierung aufgearbeitet?</p> <p>Wird eine geeignete G-, Q-, oder R-Bandenfärbung eingesetzt?</p> <p>Wird von mindestens 15-20 Metaphasen jedes Chromosom und jede Chromosomenbande hinsichtlich struktureller Veränderungen sorgfältig analysiert?</p> <p>Werden pro Fall mindestens 2 Karyogramme und pro aberrantem Klon mindestens 1-2 Karyogramme als Bilddokument 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 Chromosomenveränderung mit dem Angebot einer genetischen Beratung verbunden sein muss?</p>  |  |  |
| 5.5.6 | <p>Molekulare Karyotypisierung mittels Array-CGH (Comparative Genome Hybridization):</p> <p>Liegt eine dokumentierte Indikationsstellung für die Molekulare Karyotypisierung mittels Array-CGH vor?</p> <p>Ist das reale genomweite Auflösungsvermögen der Mikroarrays der Fragestellung angemessen?</p> <p>Werden angemessene Kontrollen (z.B. wiederholte Analysen, Selbst-Selbst-Hybridisierungen, XX/XY-Kontroll-DNA-Hybridisierungen, Hybridisierung mit bekannten Veränderungen der Kopienanzahl wie z.B. Trisomien) eingesetzt?</p> <p>Werden die Schwellenwerte entsprechend gesetzt? Wurde das Verfahren anhand von Imbalancen kleineren und größeren Umfangs validiert?</p> <p>Werden beispielhaft Nachweisgrenzen für Mosaik bestimmt?</p> <p>Können Kopienzahlvarianten (copy-number-variations - CNV's) erkannt, interpretiert und von pathologischen Veränderungen abgegrenzt werden? Gibt es regelmäßige statistische Auswertungen der Ergebnisse?</p> <p>Sind die Voraussetzungen für die Untersuchung elterlicher DNA und Chromosomen gegeben?</p> <p>Liegen Kriterien vor, nach denen eine Untersuchung elterlicher DNA oder Chromosomen erforderlich wird?</p> <p>Ist gewährleistet, dass bei genomischen Imbalancen bei einem Patienten FISH-Analysen zum Ausschluss / Nachweis von balancierten Veränderungen bei den Eltern durchgeführt werden können?</p> |  |  |



|  |   |  |  |
|--|---|--|--|
|  | <p>Ist sichergestellt, dass gegebenenfalls notwendige Kontrolluntersuchungen mit unabhängigen Verfahren wie z.B. FISH, Q-PCR, MLPA oder höher auflösenden Array-Techniken durchgeführt werden können?</p> <p>Ist die medizinische Interpretation der Analyseergebnisse in Bezug auf den Phänotyp durch einen Facharzt oder eine Fachärztin für Humangenetik sichergestellt?</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 zytogenetischen Pränataldiagnostik nach Geburt oder Schwangerschaftsunterbrechung bestätigt? |   |             |
| 5.6.3   | Werden alle zytogenetischen 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? |   |             |

|                    |  |  |
|--------------------|--|--|
| <b>5.8 Befunde</b> |  |  |
|--------------------|--|--|

|       |   | <b>B</b> | <b>Bemerkungen</b> |
|-------|---|----------|--------------------|
| 5.8.1 | <p>Enthält die zytogenetische Bewertung:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li><input type="checkbox"/> Karyotyp nach ISCN in aktueller Version, auch bei FISH und Interphase-FISH-Untersuchungen sowie Array CGH</li> <li><input type="checkbox"/> Angaben über die verwendeten Zellen oder Gewebe, in der Tumorzytogenetik mit Nennung der Kultivierungsmethoden, -dauer und ggf. evtl. verwendeter Stimulanzen</li> <li><input type="checkbox"/> Anzahl ausgezählter und strukturell analysierter Metaphasen</li> <li><input type="checkbox"/> Pränataldiagnostik: Anzahl ausgewerteter unabhängiger Zellkulturen oder Klone*</li> <li><input type="checkbox"/> Verwendete Bänderungstechniken</li> <li><input type="checkbox"/> Angabe zur Qualität des erreichten Bandenstadiums*</li> <li><input type="checkbox"/> Angaben zu den verwendeten Sonden und der Zahl der ausgewerteten Metaphasen oder Interphasekerne bei der Fluoreszenz-in situ-Hybridisierung</li> <li><input type="checkbox"/> In der Tumorzytogenetik Angabe der in drei Metaphasen maximal erreichten Bandenauflösung (ca.-Werte), getrennt für normale und aberrante Zellen/Zelllinien</li> <li><input type="checkbox"/> Bei Array-CGH: <ul style="list-style-type: none"> <li>- verwendete Plattform und Methode</li> <li>- Anzahl und Wiederholungen der DNA-Sonden auf dem Array</li> <li>- erzielte genomweite Auflösung (durchschnittlich, min., max.)</li> <li>- verwendete Referenz-DNA</li> <li>- Kriterien nach denen die Bewertung von abweichenden Fluoreszenz-Verhältnissen zwischen Test- und Referenz-DNA als genomische Imbalance gewertet wird.</li> <li>- den verwendeten Genom-Browser (mit Version)</li> <li>- Anzahl und Größe der detektierten Imbalancen, getrennt nach klinisch bedeutsamen, klinisch potentiell bedeutsamen und klinisch wahrscheinlich bedeutungslosen Veränderungen bzw. CNV's</li> </ul> </li> </ul> |          |                    |

|       |   |  |  |
|-------|---|--|--|
|       | <ul style="list-style-type: none"> <li>- minimale und maximale genomische Ausdehnung der klinisch potentiell bedeutsamen Imbalance/n</li> <li>- ggf. Aussage über elterliche Herkunft einer Imbalance</li> <li>- Ergebnisse der Überprüfung durch eine unabhängige Methode</li> <li>- ggf. Angaben über die von der/den Imbalance/n betroffenen Gene</li> <li><input type="checkbox"/> Interpretation des Untersuchungsergebnisses und ggf. eine Stellungnahme zum klinischen Bezug</li> <li><input type="checkbox"/> Gegebenenfalls Hinweise auf eine Einschränkung der Aussagekraft bei Nichterreichen von Standards</li> <li><input type="checkbox"/> Das Angebot genetischer Beratung bei auffälligen Befunden</li> </ul> |  |  |
| 5.8.2 | Wird das GenDG, insbesondere im Bezug auf die Mitteilung des <i>kindlichen</i> Geschlechts an die Schwangere nicht vor der 12. Schwangerschaftswoche p.m. beachtet?   |  |  |
| 5.8.3 | Werden in Zusammenhang mit dem Befund ggf. Literaturangaben gemacht, die dem Empfänger die eigene Orientierung ermöglichen?   |  |  |
| 5.8.4 | Erfolgt die medizinische Freigabe von Befunden entsprechend den Richtlinien der Bundesärztekammer?  |  |  |

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