

<b>Checkliste Humangenetik - Zytogenetische und molekularzytogenetische Untersuchungen</b>		Revision:	2.0
		Datum	12.12.2020
		Seite:	1/8

*K. Miller, H. Rieder, S. Heidemann*

**Vorwort:**

Diese Checkliste ersetzt die bis 2020 auf der Website der DAkkS abrufbare Checkliste zum Fachbereich zytogenetische Humangenetik, die als Handreichung für die Vorbereitung und Durchführung von Audits nach DIN ISO EN15189 genutzt werden kann und einige wesentliche Inhalte der Norm aufgreift. Diese Handreichung stellt nur eine Sammlung von Aspekten und Fragen dar, sie hat auf keinen Fall Anspruch auf Vollständigkeit und hat in keinem Fall eine normative Bedeutung. Sie spiegelt den Stand der Inhalte zum Zeitpunkt der Erstellung (2020) wider. Es ist geplant, eine dauernde Revisionierung im FAQ-Format durchzuführen. Rückmeldungen und Vorschläge für Erweiterungen und Änderungen sind daher willkommen und können an die Geschäftsstelle der GfH gerichtet werden.

**Inhalt:**

	<b>Anwendungsbereich</b>	<b>2</b>
<b>5.1</b>	<b>Personal</b>	<b>3</b>
<b>5.2</b>	<b>Räumlichkeiten und Umgebungsbedingungen</b>	<b>3</b>
<b>5.3</b>	<b>Laboratoriumsausrüstung, Reagenzien und Verbrauchsgüter</b>	<b>3</b>
<b>5.4</b>	<b>Präanalytische Maßnahmen</b>	<b>4</b>
<b>5.5</b>	<b>Untersuchungsverfahren</b>	<b>5</b>
<b>5.6</b>	<b>Sicherung der Qualität der Untersuchungsergebnisse</b>	<b>6</b>
<b>5.7</b>	<b>Postanalytische Maßnahmen</b>	<b>6</b>
<b>5.8</b>	<b>Befundberichte</b>	<b>6</b>
<b>5.9</b>	<b>Freigabe der Ergebnisse</b>	<b>7</b>
<b>5.10</b>	<b>Informationsmanagement des Laboratoriums</b>	<b>8</b>

<b>Checkliste Humangenetik - Zytogenetische und molekularzytogenetische Untersuchungen</b>		
	Revision:	<b>2.0</b>
	Datum	<b>12.12.2020</b>
	Seite:	<b>2/8</b>

## Anwendungsbereich

Diese Checkliste erstreckt sich auf die zytogenetische und molekularzytogenetische Analytik im Bereich der humangenetischen Diagnostik.

Siehe auch:

- S2k-Leitlinie Humangenetische Diagnostik und Genetische Beratung medgen 2018 30:469–522 (<https://doi.org/10.1007/s11825-018-0223-1>.
  - Modul Molekularzytogenetische Labordiagnostik, S. 490-506.
  - Modul Zytogenetische Labordiagnostik, S. 506-514.
  - Modul Tumorzytogenetische Labordiagnostik, S. 514-520.
- Leitlinien zum "pränatalen Schnelltest (FISH)", medgen 21 (2009) 393-396, aktualisiert 2019, medgen 31, 238–240 (2019). <https://doi.org/10.1007/s11825-019-0239-1>
- Leitlinien für die molekulare und cytogenetische Diagnostik bei Prader-Willi-Syndrom und Angelman-Syndrom, medgen 28 medgen 28, 376–380 (2016). <https://doi.org/10.1007/s11825-016-0099-x>.
- 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  
DOI: 10.3238/arztebl.2019.rili\_baek\_QS\_Labor20192312.
- Gesetz über genetische Untersuchungen am Menschen (Gendiagnostikgesetz; GenDG), Fassung vom 31.07.2009. Bundesgesetzblatt 50: 2529-2538.
- International System for Human Cytogenomic Nomenclature (ISCN), Karger 2016

Europäische und andere Leitlinien, die zur Orientierung in Fällen dienen können, die nicht durch nationale gesetzliche Bestimmungen, Richtlinien oder Leitlinien geregelt sind, die in jedem Fall vorrangig beachtet werden müssen:

- E.C.A. (2012) General Guidelines and Quality Assurance for Cytogenetics, A common European framework for quality assessment for constitutional, acquired and molecular cytogenetic investigations, E.C.A. Newsletter 29:7-25.
- E.C.A. (2012) Specific Constitutional Cytogenetic Guidelines, E.C.A. Newsletter 30:11-19.
- E.C.A. (2013) Guidelines and Quality Assurance for Acquired Cytogenetics, E.C.A. Newsletter 31:7-21.
- E.C.A. (2014) Guidelines for Cytogenetic Investigations in Tumours, E.C.A. Newsletter 34:7-18.
- 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).

<b>Checkliste Humangenetik - Zytogenetische und molekularzytogenetische Untersuchungen</b>		
	Revision:	2.0
	Datum	12.12.2020
	Seite:	3/8

<b>5.1 Personal</b>	
	<b>Bemerkungen</b>
<b>Verfügt die Leitung des Labors über eine den Leitlinien zur zytogenetischen Labordiagnostik entsprechende Qualifikation?</b> <i>Hinweis: Bei Qualifikation als Fachhumangenetiker*in oder Fachärzt*in für Humangenetik wird eine angemessene Ausbildung vorausgesetzt.</i>	
<b>Verfügt das Personal, das an zytogenetischen Untersuchungsverfahren beteiligt ist, über eine spezifische Erfahrung in Zytogenetik?</b>	
<b>Ist die Möglichkeit einer direkten mikroskopischen Analyse zytogenetischer Präparate durch die Laborleitung gegeben?</b>	

<b>5.2 Räumlichkeiten und Umgebungsbedingungen</b>	
	<b>Bemerkungen</b>
<b>Stehen geeignete Räume für die Zellkultur zur Verfügung und wurden angemessene Vorkehrungen zur Vermeidung von Infektionen insbesondere bei Langzeit-Zellkulturen getroffen?</b>	
<b>Liegen Anweisungen in Bezug auf Vermeidung von Infektionen in schriftlicher Form vor und sind sie auch dem Reinigungspersonal und ggf. Mitarbeitern aus nicht-akkreditierten Bereichen der KBS entsprechend bekannt?</b>	
<b>Sind bei Mitbenutzung des Zellkulturbereiches durch Mitarbeiter, die nicht dem akkreditierten Bereich der KBS zugehören, die Einhaltung der Norm und die Zuordnung der Verantwortlichkeiten schriftlich geregelt?</b>	
<b>Bei Durchführung von Fluoreszenzuntersuchungen: Stehen geeignete verdunkelbare Räume zur Verfügung?</b>	
<b>Sind Warnhinweise für das Laborpersonal am Arbeitsplatz zum Schutz vor Stromschlag, UV-Licht und gefährlichen Substanzen vorhanden?</b>	

<b>5.3 Laboratoriumsausrüstung, Reagenzien und Verbrauchsgüter</b>	
	<b>Bemerkungen</b>
<b>Werden bei den sterilen Werkbänken zum Schutz vor Infektion des Personals Umluftsysteme verwendet (Geräte der Klasse II, d.h. mit Personenschutz)?</b>	
<b>Stehen für die Durchführung der Zellkulturen bei pränatalen Untersuchungen mindestens zwei Brutschränke zur Verfügung?</b>	
<b>Werden die Heizzonen von Heizplatten, Hybridisierungsgeräten oder Präparationsautomaten periodisch auf ihre Temperatur geprüft?</b>	

<b>Checkliste Humangenetik - Zytogenetische und molekularzytogenetische Untersuchungen</b>	Revision:	2.0
	Datum	12.12.2020
	Seite:	4/8

Weisen Anlagen zur digitalen Bildaufnahme und -Verarbeitung einen ordnungsgemäßen Zustand auf? Erfolgt eine regelmäßige Datensicherung?	
Werden Fluoreszenzmikroskope regelmäßig gewartet und wird sichergestellt, dass die Beleuchtungseinheit justiert ist?	
Sind Reagenzien und Zellkulturmedien, wo nötig, adäquat aliquotiert und gelagert sowie beschriftet?	
Werden hierzu geeignete Einmalgefäße verwendet?	
FISH-Untersuchungen: Sind die Chargennummern der verwendeten Sonden in den Untersuchungsprotokollen enthalten oder anderweitig nachvollziehbar?	

<b>5.4 Präanalytische Maßnahmen</b>	
	<b>Bemerkungen</b>
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 eine wirksame Einwilligung hingewiesen?	
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?	
Wird der Einsender umgehend benachrichtigt, wenn eine Probe ungeeignet ist?	
Werden bei der Untersuchung von Kindern die Leitlinien der Fachgesellschaft und das GenDG berücksichtigt?	

<b>5.5 Untersuchungsverfahren</b>	
	<b>Bemerkungen</b>
Entspricht die Bandenauflösung der Fragestellung und den Leitlinien der Fachgesellschaft? Wird pro Fall mindestens eine den Leitlinien entsprechende Anzahl von Metaphasen strukturell analysiert und ein bis zwei als Karyotyp in Form eines Bilddokuments archiviert?	
Postnataldiagnostik:	

<b>Checkliste Humangenetik - Zytogenetische und molekularzytogenetische Untersuchungen</b>		
	Revision:	<b>2.0</b>
	Datum	<b>12.12.2020</b>
	Seite:	<b>5/8</b>

<b>Werden mindestens 10 Metaphasen numerisch analysiert?</b>	
<b>Pränataldiagnostik:</b> <b>Werden mindestens 15 Metaphasen numerisch analysiert?</b>  <b>Werden bei Untersuchungen aus Amnionzellen mindestens zwei unabhängige Zellkulturen angelegt?</b>  <b>Erfolgt die Analyse ggf. auch aus der zweiten Zellkultur?</b>  <b>Werden bei Untersuchungen aus Chorionzotten ein Verfahren der Direktpräparation <u>und</u> der Langzeit-Zellkultur (oder ersatzweise Amnionzellkultur) eingesetzt?</b>  <b>Werden beim Verdacht auf maternale Zellkontamination in der Zellkultur geeignete Maßnahmen zum Ausschluss einer Befundverfälschung ergriffen?</b>	
<b>Fluoreszenz-in situ Hybridisierung (FISH):</b> <b>Wird die chromosomale in situ-Hybridisierung in Verbindung mit oder auf dem Hintergrund einer Chromosomenanalyse an gebänderten Chromosomen eingesetzt?</b>  <b>Werden pro Sonde 10 Metaphasen sorgfältig ausgewertet und dokumentiert:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>a) bezüglich fehlender Signale auf den Zielchromosomen</li> <li>b) bezüglich Signalen auf anderen Chromosomen?</li> </ul> <b>Werden beim pränatalen Schnelltest mindestens 50 Kerne pro Sonde ausgewertet?</b>	
<b>Tumorzytogenetik:</b> <b>Werden für die jeweilige Erkrankung angepasste Kulturverfahren verwendet?</b>  <b>Werden die angewandten Kulturverfahren dokumentiert?</b>  <b>Werden bei ausreichendem Ausgangsmaterial mindestens jeweils eine Kultur nach maximal eintägiger und eine Kultur nach mehrtägiger Kultivierung aufgearbeitet?</b>  <b>Wird eine geeignete G-, Q-, oder R-Bandenfärbung eingesetzt?</b>  <b>Werden pro Fall mindestens zwei Karyogramme und pro aberrantem Klon mindestens ein bis zwei Karyogramme als Bilddokument archiviert?</b>  <b>Werden Metaphasen aus Kulturen nach unterschiedlicher Kultivierungsdauer analysiert?</b>  <b>Stehen Verfahren zur Verfügung, mit denen Chromosomenveränderungen daraufhin überprüft werden können, ob sie konstitutionellen oder somatischen Ursprungs sind?</b>	
<b>Molekulare Karyotypisierung:</b>	

<b>Checkliste Humangenetik - Zytogenetische und molekularzytogenetische Untersuchungen</b>		
	Revision:	<b>2.0</b>
	Datum	<b>12.12.2020</b>
	Seite:	<b>6/8</b>

<p><b>Liegt eine dokumentierte Indikationsstellung für die Molekulare Karyotypisierung vor?</b></p> <p><b>Ist das reale genomweite Auflösungsvermögen des Verfahrens der Fragestellung angemessen?</b></p> <p><b>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?</b></p> <p><b>Werden die Schwellenwerte entsprechend gesetzt? Wurde das Verfahren anhand von Imbalancen kleineren und größeren Umfangs verifiziert?</b></p> <p><b>Werden beispielhaft Nachweisgrenzen für Mosaik bestimmt?</b></p> <p><b>Sind Kriterien und Vorgehensweisen dokumentiert, Kopienzahlvarianten (copy-number-variations - CNV's) hinsichtlich ihrer klinischen Bedeutung zu bewerten?</b></p> <p><b>Liegen Kriterien vor, nach denen eine Untersuchung elterlicher DNA oder Chromosomen zu empfehlen ist?</b></p>	
<p><b>Ist sichergestellt, dass gegebenenfalls notwendige Kontrolluntersuchungen mit unabhängigen Verfahren wie z.B. FISH, Q-PCR, MLPA oder höher auflösenden Verfahren der Molekularen Karyotypisierung durchgeführt werden können?</b></p>	

<b>5.6 Sicherung der Qualität der Untersuchungsergebnisse</b>	
	<b>Bemerkungen</b>
<b>Werden fehlgeschlagene Chromosomenpräparationen und Wiederholungsansätze protokolliert?</b>	

<b>5.7 Postanalytische Maßnahmen</b>	
	<b>Bemerkungen</b>
<b>Gibt es Regelungen zur Plausibilitätskontrolle?</b>	
<b>Stehen Verfahren zur Verfügung, um abklärungsbedürftige Untersuchungsergebnisse durch weitere Methoden zu überprüfen, wo immer dies sinnvoll oder möglich ist?</b>	
<b>Bei der Archivierung von Untersuchungsmaterial (Probenmaterial, DNA, Präparate, Zellsuspension): Erfolgt diese ggf. entsprechend GenDG?</b>	

<b>5.8 Befundberichte</b>	
	<b>Bemerkungen</b>
<b>Enthält die zytogenetische Bewertung:</b>	

**Checkliste Humangenetik -  
Zytogenetische und molekularzytogenetische Untersuchungen**

Revision:	2.0
Datum	12.12.2020
Seite:	7/8

- den Karyotyp nach ISCN in aktueller Version gemäß den eingesetzten Untersuchungsverfahren?
- Angaben über die verwendeten Zellen oder Gewebe, in der Tumorzytogenetik mit Nennung der Kultivierungsmethoden, -dauer und ggf. evtl. verwendeter Stimulanzen?
- die Anzahl numerisch bzw. strukturell analysierter Metaphasen?
- Pränataldiagnostik: die Anzahl ausgewerteter unabhängiger Zellkulturen oder Klone\*?
- verwendete Bänderungstechniken?
- Angabe zur Qualität der erreichten Bandenauflösung?
- Angaben zu den verwendeten Sonden und der Zahl der ausgewerteten Metaphasen oder Interphasekerne bei der Fluoreszenz-in situ-Hybridisierung?
- In der Tumorzytogenetik: Angabe der in drei Metaphasen maximal erreichten Bandenauflösung, getrennt für normale und aberrante Zellen/Zelllinien?
- Bei der Molekularen Karyotypisierung:
  - verwendete Plattform und Methode?
  - - erzielte genomweite Auflösung ?  
(durchschnittlich, min., max.)
  - ggf. verwendete Referenz-DNA bzw. Referenz-Daten?
  - Kriterien, nach denen eine genomische Imbalance bewertet wird?
  - den verwendeten Genom-Browser (mit Version)?
  - Angaben über die Anzahl und Größe der detektierten Imbalancen, getrennt nach klinisch bedeutsamen, klinisch potentiell bedeutsamen und klinisch wahrscheinlich bedeutungslosen Veränderungen bzw. CNV's?
  - die minimale und maximale genomische Ausdehnung der klinisch potentiell bedeutsamen Imbalance/n?
  - ggf. Aussage(n) über eine mögliche elterliche Herkunft einer Imbalance unter Beachtung des GenDG?
  - ggf. Ergebnisse der Überprüfung durch eine unabhängige Methode?
  - ggf. Angaben über die von der/den Imbalance/n betroffenen Gene?
- eine Interpretation des Untersuchungsergebnisses und ggf. eine Stellungnahme zum klinischen Bezug?
- ggf. Hinweise auf eine Einschränkung der Aussagekraft bei Nichterreichen von Standards?
- das Angebot einer genetischer Beratung gemäß den Vorgaben des GenDG?
- Regelungen, die sicherstellen, dass die Mitteilung der Befunde entsprechend den Vorgaben des GenDG erfolgt?

<b>Checkliste Humangenetik - Zytogenetische und molekularzytogenetische Untersuchungen</b>		
	Revision:	<b>2.0</b>
	Datum	<b>12.12.2020</b>
	Seite:	<b>8/8</b>

<b>5.9 Freigabe der Ergebnisse</b>	
	<b>Bemerkungen</b>
Ist sichergestellt, dass nur befugte Personen das Ergebnis freigeben?	
Ist sichergestellt, dass Befundberichte gemäß GenDG nur an den beauftragenden Arzt herausgegeben werden?	
Ist bei der Verwendung von Textbausteinen, Briefvorlagen u.ä. sichergestellt, dass diese keine Informationen aus anderen Datensätzen (Namen, Diagnosen, Untersuchungsmaterial u.ä.) einbringen?	
Sind ggf. die Kriterien für eine automatisierte Berichtsabfassung nachvollziehbar, festgelegt und genehmigt und können diese ggf. individuell angepasst werden?	

<b>5.10 Informationsmanagement des Labors</b>	
	<b>Bemerkungen</b>
Ist der zeitnahe Herstellersupport für die Systeme zur Metaphasensuche, Bilderverarbeitung und -analyse sichergestellt?	
Ist bei automatisierten Rechengängen die dauerhafte Richtigkeit sichergestellt (z.B. bei Excel-Macros)?	
Liefert die Anwendung der Software im Falle einer Black-Box-Validierung bei Test-Daten das erwartete Ergebnis?	