PRÄANALYTIK-HANDBUCH

Präanalytik, Probenannahme, Probentransport und GenDG

Molekulardiagnostisches Labor

LEITERIN: PROF. DR. G. LAHR

der

Klinik für Kinder- und Jugendmedizin
Ärztliche Direktorin Prof. Dr. med. Erlacher
(~~Ärztliche~~r ~~Direktor Prof. Dr. med. Debatin~~)

am

Universitätsklinikum Ulm

Erstellt	Formal geprüft	Freigegeben und in Kraft gesetzt
Datum: 23.05.2024	Datum: 23.05.2024	Datum: 23.05.2024
Unterschrift: Prof. Dr. G. Lahr	Unterschrift: Dr. E. Jacobsen	Unterschrift: Prof. Dr. G. Lahr

© copyright Universitätsklinikum Ulm – alle Rechte vorbehalten
Für die Übereinstimmung mit der im „QM-Arbeitsplatz“ hinterlegten Kopie trägt jede/r Mitarbeitende selbst die Verantwortung.

Inhalt

1 ALLGEMEINE INFORMATIONEN 4
1.1.1 Kontakt 4
1.1.2 Erreichbarkeit des Labors 5
1.1.3 Tätigkeiten 5
2 LEISTUNGSVERZEICHNIS MOLEKULARDIAGNOSTISCHER UNTERSUCHUNGEN 6
2.1 PCR 6
2.2 DNA-Sequenzanalyse (Sanger-Sequenzierung) 7
2.2.1 Limitationen der PCR und Sanger-Sequenzierung 7
2.2.2 Variantenklassifikation nach der Sequenzierung 8
3 PROBENENTNAHME UND ANFORDERUNG VON UNTERSUCHUNGEN 9
3.1 Indikationsstellung und Abnahmebedingungen 9
3.2 Eine Vorbereitung des Patienten auf die Probenentnahme ist nicht erforderlich 9
3.3 Anforderung an das die Probe entnehmende Personal 9
3.3.1 Entnahmesysteme für EDTA-Blut 9
3.3.2 Externe Einsendungen 10
3.3.3 Probenahme durch geschultes Laborpersonal 10
3.3.4 Entnahme weiterer Primärproben 10
3.3.5 Sachgerechte Lagerungsbedingungen und Entsorgung der bei der Entnahme verwendeten Materialien 10
3.4 Identifizierung und Prüfung 11
3.5 Annahmekriterien 11
3.6 Laboranforderungsbeleg und Probenidentifikation 11
3.6.1 Schriftliche Beantragung 11
3.6.2 Benötigte ausgefüllte und unterschriebene Formalien 12
3.6.3 Dringlichkeit der Anforderungen 12
3.6.4 Gendiagnostikgesetz 13
3.7 Gründe für die Nichtbearbeitung von Analysen 14
3.8 Transport und Lagerung 15
3.8.1 Interne Proben 15
3.8.2 Externe Proben 15
3.8.3 Auszug aus der P 650, die für UN 3373 gilt: 16
3.9 Laborergebnisse und Bearbeitungszeiten 17
3.10 Beeinflussung der Untersuchungsergebnisse 17
3.11 Untersuchung von Kindern, Jugendlichen und Betreuten 17
3.12 Wiederholungsanalysen/ Nachforderungen/ Entsorgung des Probenmaterials 17
4 BERICHT/(BEFUND) 18
4.1 Molekulargenetischer Bericht in gedruckter Form 18
4.1.1 Inhalt des Molekulargenetischen Berichtes 18
4.2 Datenschutz 18
5 QUALITÄTSSICHERUNG IM LABOR 19
5.1 Interne Qualitätssicherung 19
5.2 Externe Qualitätssicherung 19
5.3 Restrisiko fehlerhafter Befunde ..... **Fehler! Textmarke nicht definiert.**
6 VORGEHEN BEI ÄNDERUNGEN 20
7 BESCHWERDEMANAGEMENT 20

© copyright Universitätsklinikum Ulm – alle Rechte vorbehalten
Für die Übereinstimmung mit der im „QM-Arbeitsplatz“ hinterlegten Kopie trägt jede/r Mitarbeitende selbst die Verantwortung.

8 MITGELTENDE DOKUMENTE.....20

Auf Aktualität geprüft am:	***Durch:***
Verteiler:	
ORIGINAL: **QMB**	
Kopien: **nach Verteilerschlüssel (s. FB-LD 1)**	

© copyright Universitätsklinikum Ulm – alle Rechte vorbehalten
Für die Übereinstimmung mit der im „QM-Arbeitsplatz“ hinterlegten Kopie trägt jede/r Mitarbeitende selbst die Verantwortung.

1 ALLGEMEINE INFORMATIONEN

Das *Molekulardiagnostische Labor* der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin führt molekulargenetische Untersuchungen für die Klinik aber auch von außerhalb durch.

Tätigkeitsschwerpunkte im Bereichslabor „Molekulardiagnostisches Labor“:

In diesem Labor wird die molekularbiologische Analytik (PCR), (Sanger-) Sequenzierung und MLPA-Analyse aus den Bereichen Immunologie, Endokrinologie, Gastroenterologie und Hämatologie durchgeführt.

Die Untersuchungen erstrecken sich auf folgendes Probenmaterial: EDTA-Blut und in Ausnahmefällen genomische DNA.

Die zu untersuchenden Proben werden durch Personal der Kinderklinik oder mit der Hauspost gebracht oder durch externe Einsender mit der Post/FEDEX etc. verschickt.

Alle vom Labor „Molekulare Diagnostik“ angebotenen Untersuchungen sind mit den notwendigen Angaben zur Präanalytik, Indikation und Probenmenge im Leistungsverzeichnis aufgelistet. Das Leistungsverzeichnis wird elektronisch im Intranet (SAP - beleglose Anforderung) und im Internet auf der Homepage des Labors zur Verfügung gestellt https://www.uniklinik-ulm.de/kinder-und-jugendmedizin/labore/diagnostische-laboratorien/molekulardiagnostik-labor.html unter: *Untersuchungsauftrag Molekulargenetik PDF.*

Für Fragen zur Indikation, Auswahl Untersuchungen, Interpretation von Untersuchungsergebnissen wenden Sie sich bitte an unsere Laborleiterin, **Prof. Dr. Georgia Lahr.**

Prof. Dr. Georgia Lahr

Tel.: 0731/500-57234

e-Mail: georgia.lahr@uniklinik-ulm.de

Für technische Fragen z.B. zum Untersuchungsmaterial wenden Sie sich bitte direkt an das Labor unter 0731/500-57141.

1.1.1 Kontakt

Name der Labors:	*Molekulardiagnostisches Labor* der Universitätsklinik für Kinder- und Jugendmedizin
Adresse:	Eythstrasse 24 D-89075 Ulm Germany
Lieferadresse:	Eythstrasse 24 -2tes UG Haus 01- D-89075 Ulm Germany
Telefon:	+49 (0)731-500-57234; 57141

© copyright Universitätsklinikum Ulm – alle Rechte vorbehalten
Für die Übereinstimmung mit der im „QM-Arbeitsplatz“ hinterlegten Kopie trägt jede/r Mitarbeitende selbst die Verantwortung.

Telefax:	+49 (0)731-500-67594
e-Mail:	georgia.lahr@uni-ulm.de georgia.lahr@uniklinik-ulm.de
Homepage Molekulardiagnostisches Labor	https://www.uniklinik-ulm.de/kinder-und-jugendmedizin/labore/diagnostische-laboratorien/molekulardiagnostik-labor.html
Busverbindung:	Linie 7 Richtung Jungingen/Lehrer Feld bzw. Kliniken Michelsberg

1.1.2 Erreichbarkeit des Labors

Das Labor ist von ca. 8-16 Uhr besetzt.

Unsere Einsender sind vorwiegend Stationen und Ambulanzen des Universitätsklinikums Ulm sowie verschiedene andere Universitätskliniken. Einen Teil unserer Proben erhalten wir auch von überweisenden niedergelassenen Ärzten. Die Einsender aus dem Bereich der Klinik- für Kinder- und Jugendmedizin des Universitätsklinikums fordern die molekulargenetischen Untersuchungen beleglos im SAP-System an, die aus anderen Abteilungen des Klinikums auf den ausgedruckten Belegen. Bei einem Ausfall des EDV-Systems müssen die Anforderer auf Papierbelege ausweichen. Nicht Universitätsklinik-interne Einsender fordern auf den ausgedruckten Belegen und mit einem Überweisungsschein (ggf. nach telefonischer Rücksprache) an. Das Spektrum der verfügbaren Laboruntersuchungen wird den Einsendern als Leistungsspektrum im Intranet des Klinikums sowie im Internet zur (s.o.) Verfügung gestellt.

Die Untersuchungen erfolgen aus Vollblut (EDTA-Blut) und in Ausnahmefällen aus genomischer DNA.

Die Institutsleitung, die Bereichsleiter und im Rahmen ihrer Kompetenzen auch die Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter des Labors informieren und beraten Ärzte und Pflegepersonal umfassend in Bezug auf Indikationsstellung, Präanalytik und die Interpretation des molekulargenetischen Berichtes von den molekulargenetischen Untersuchungen.

Der Bereichsleiter ist unter der bekannten Dienst-Telefonnummer oder unter der Telefonnummer des Eingangslabors bzw. des Institutssekretariats erreichbar.

Zusätzlich stehen während der normalen Dienstzeit die Mitarbeiter des Eingangslabors für Auskünfte zu Untersuchungsspektrum, Abnahmebedingungen, etc. zur Verfügung.

1.1.3 Tätigkeiten

Das *Molekulardiagnostische Labor* führt molekulargenetische Diagnostik/Untersuchungen an DNA durch, die aus EDTA-Blut isoliert wurde. EDTA-Blut ermöglicht die optimale Ausbeute bei der DNA-Präparation, während Heparin-Blut die nachfolgende PCR hemmt. Im Wesentlichen erfolgenden die Untersuchungen auf folgenden Gebieten:

Immunologie

Endokrinologie

Gastroenterologie

Hämatologie

© copyright Universitätsklinikum Ulm – alle Rechte vorbehalten
Für die Übereinstimmung mit der im „QM-Arbeitsplatz“ hinterlegten Kopie trägt jede/r Mitarbeitende selbst die Verantwortung.

2 LEISTUNGSVERZEICHNIS MOLEKULARDIAGNOSTISCHER UNTERSUCHUNGEN

Alle Untersuchungen, die im *Molekulardiagnostischen Labor* durchgeführt werden sind dem Leistungsverzeichnis zu entnehmen. Dort wird auch auf die Präanalytik hingewiesen. Das Leistungsverzeichnis und das Präanalytik-Handbuch sind im Internet auf der Homepage des Klinikums auf der Seite des Molekulardiagnostischen Labors aufzurufen. Das Leistungsverzeichnis wird elektronisch im Intranet (SAP - beleglose Anforderung) und im Internet auf der Homepage des Labors zur Verfügung gestellt (https://www.uniklinik-ulm.de/kinder-und-jugendmedizin/labore/diagnostische-laboratorien/molekulardiagnostik-labor.html).

Ein Leistungsverzeichnis ist als gedruckte Version auch im Labor erhältlich.

Informationen zu den Kosten der Untersuchungen entnehmen Sie bitte dem Leistungsverzeichnis auf der Homepage.

In der DNA-Diagnostik wird nach krankheitsverursachenden Fehlern (Mutationen) oder krankheitsdisponierenden Variationen (Polymorphismen) in einzelnen Genen gesucht. Es werden Veränderungen oder Verluste einzelner Gene erfasst, die lichtmikroskopisch nicht nachweisbar sind. Am Beginn einer molekulargenetischen Untersuchung steht immer die Extraktion gereinigter Erbsubstanz (= DNA engl. Deoxyribonucleic Acid), die aus Blut isoliert wird (DNA-Extraktion). Die zu analysierenden Genabschnitte werden mit der PCR (Polymerase-Kettenreaktion) milliardenfach angereichert (Amplifikation). Entsprechend der Fragestellung werden dann mit geeigneten Verfahren (z.B. Sequenzanalyse, Fragmentlängenanalyse/MLPA-Analyse) die gesuchten Mutationen, Deletionen, Duplikationen oder Polymorphismen dargestellt. Da die Zahl der bekannten genetischen Störungen sehr groß ist, kann eine Suche nach Erbkrankheiten nur gezielt bei einem klinischen Verdacht oder bei einem bereits erfolgten Auftreten in der Familie durchgeführt werden.

2.1 PCR

Für die PCR wird ein sequenzspezifisches, komplementäres Oligonukleotidpaar (sense und antisense Primer), thermostabile DNA-Polymerase und ein Mix der 4 Nukleotide Guanin (G), Adenin (A), Thymin (T) und Cytosin (C) benötigt. Die Primer haben eine Länge von 20–40 Basenpaaren und werden so ausgewählt, dass die Zielsequenz zwischen ihnen liegt. Die Auswahl der Primer ist ebenfalls ein kritischer Schritt, da neben der Amplifikation von unspezifischen Produkten vor allem die Amplifikation von Pseudogenen vermieden werden muss. Pseudogene sind inaktivierte Gene, deren Sequenz den zu untersuchenden Genen sehr ähnlich ist, wodurch falsche Ergebnisse entstehen können. Die PCR wird in einem speziellen Gerät durchgeführt (Thermocycler), welches in der Lage ist, die Temperatur des Reaktionsblocks sehr rasch zu ändern. Verschiedene Temperaturen sind notwendig, um die DNA zunächst zu denaturieren (Bildung von Einzelsträngen bei 95°C), dann die Anlagerung der Primer zu ermöglichen (sog. Annealing bei 50-65°C) und schließlich die Elongation der Primer entlang der DNA-Matrize zu einem neuen Tochterstrang zu gewährleisten (Temperatur-Optimum der DNA-Polymerase bei 72°C). Dieser Vorgang (Denaturierung, Annealing, Strangelongation) wird auch PCR Zyklus genannt und 40–60 mal wiederholt. Bei jedem Zyklus verdoppelt sich idealerweise der zwischen den Primern liegende DNA- Abschnitt, die Gesamtreaktion dauert etwa 1–4 Stunden. Vorteile dieser einfachen und universell einsetzbaren Methode sind ihre Robustheit, Spezifität und Sensitivität. Auch geringste Spuren von DNA können mit dieser Methode nachgewiesen und diagnostischen Zwecken zugänglich gemacht werden. Dieser Vorteil bedingt allerdings auch den größten Nachteil: die Kontaminationsgefahr. Aus diesem Grund ist stets darauf zu achten, dass eine DNA-Probe möglichst nicht mit DNA-haltigem Material anderer Individuen in Berührung kommt. Zusätzlich werden in jedem Versuchsansatz entsprechende Kontaminationskontrollen mitgeführt.

© copyright Universitätsklinikum Ulm – alle Rechte vorbehalten
Für die Übereinstimmung mit der im „QM-Arbeitsplatz“ hinterlegten Kopie trägt jede/r Mitarbeitende selbst die Verantwortung.

2.2 DNA-Sequenzanalyse (Sanger-Sequenzierung)

Bei der Sequenzierung wird die genaue Basenabfolge auf der DNA in einem bestimmten Genabschnitt dargestellt. Mit Hilfe von fluoreszenz-gefärbten Basenbausteine (je eine Farbe für die vier Bausteine A,C,T,G), wird DNA vervielfältigt (PCR) und durch eine Software die Basenabfolge bestimmt.

Die Suche und der Nachweis unbekannter Mutationen erfordern aufwändigere Verfahren. Der Goldstandard ist die direkte DNA-Sequenzanalyse der einzelnen kodierenden Abschnitte (Exons) eines definierten Gens sowie deren angrenzende Regionen (Promotor, Exon/Intron Grenzen, 3`UTR) nach Amplifikation durch PCR. In der Sequenzierungsreaktion werden neben der DNA-Polymerase und dem Nukleotid-Mix zusätzlich fluoreszenzmarkierte Stopp-Nukleotide (Dideoxy-Nukleotide) eingesetzt, bei deren Einbau es zu einem Abbruch der Reaktion an dieser Stelle kommt. Hierdurch entstehen fluoreszenzmarkierte Sequenzfragmente unterschiedlicher Länge, die sich auf einem Polyacrylamidgel der Größe nach auftrennen und mittels Laserlichtanregung darstellen lassen. Für die Entwicklung dieses Verfahrens wurde **Fred Sanger** mir einem Nobelpreis ausgezeichnet.

Durch die richtige Mischung von Nukleotid-Mix und Stopp-Nukleotiden wird erreicht, dass die Reaktion „zufällig“ zum Stehen kommt und letztlich alle theoretisch möglichen Sequenzfragmente dargestellt werden. Da die Stopp-Nukleotide mit 4 unterschiedlichen Fluoreszenzfarbstoffen markiert sind, kann man bei der Auswertung die einzelnen Basen unterscheiden und die Abfolge anhand der Größe der Fragmente bestimmen. Das Auslesen der Rohdaten erfolgt mit Hilfe einer speziellen Software, die Feinauswertung (Editierung) durch einen erfahrenen Mitarbeiter am Computermonitor. Die DNA-Sequenzanalyse (mehrkanalige Kapillarelektrophoresegeräte) wird in der Routine zur Mutationssuche und zum Nachweis bekannter Mutationen bei monogenen Erkrankungen eingesetzt.
Zu den wichtigsten Vorteilen der direkten DNA-Sequenzanalyse gegenüber Screening-Verfahren gehören die Vergleichbarkeit der Daten, die auf einer weitgehend standardisierten Methode beruhen, die Robustheit und Reproduzierbarkeit der Methode, die Sicherstellung der Qualität durch Ringversuche und die vergleichsweise einfache Durchführbarkeit ohne aufwändige Optimierungsschritte.

2.2.1 Limitationen der PCR und Sanger-Sequenzierung

Mithilfe der Sanger-Sequenzierung kann man fast alle Nukleotid Substitutionen innerhalb eines PCR-Amplicons entdecken: man kann alle hetero- und homozygoten Deletionen innerhalb eines Amplicon sehen. Homozygote Deletionen, die eine oder mehrere Primer-Bindungsstellen überlappen, werden als sog. PCR-Ausfall (PCR-failure) sichtbar. Im Vergleich dazu können heterozygote Deletionen, die eine oder mehrere Primer-Bindungsstellen überlappen, nicht erkannt werden (siehe analytische Limitationen). Alle heterozygoten Insertionen bis zu 100 bp Länge innerhalb eines Amplicons werden erkannt. Größere heterozygote Insertionen können möglicherweise nicht erkannt werden. Alle homozygoten Insertionen bis zu etwa 300 bp Länge innerhalb eines Amplicons werden erkannt, größere homozygote Insertionen können allerdings als homozygote Deletionen (PCR-failure) imponieren.

Analytische Limitationen

- In Exons, bei denen unsere Sequenzierung keinerlei Variationen zwischen beiden autosomalen Allelen zeigt, können wir nicht sicher sein, ob die PCR beide Allele amplifiziert hat. Zufälligerweise kann ein Patient ein Allel tragen, das durch die PCR nicht amplifiziert wurde (z.B. aufgrund einer Deletion oder großen Insertion). In diesem Fall enthält unser molekulargenetischer Bericht keine Information über das zweite Allel.
- Unsere Sequenzierung kann keine Duplikationen, Triplikationen, etc. in den Gensequenzen entdecken.

© copyright Universitätsklinikum Ulm – alle Rechte vorbehalten
Für die Übereinstimmung mit der im „QM-Arbeitsplatz“ hinterlegten Kopie trägt jede/r Mitarbeitende selbst die Verantwortung.

- Nur die erwähnten Exons und 50 bp der flankierenden Sequenzen auf jeder Seite werden sequenziert. Daher enthält unser molekulargenetischer Bericht auch keine Informationen über andere Gen-Abschnitte und z.B. die regulierenden Sequenzen.
- Wenn wir zwei mögliche Krankheits-verursachende Mutationen bei einer rezessivern Erkrankung diagnostizieren, können wir nicht sicher sein, dass sich diese Mutationen auf unterschiedlichen Allelen befinden (compound heterozygot).
- Alle heterozygoten Insertionen innerhalb eines Amplicons bis zu 100 bp Länge werden erkannt, größere heterozygote Insertionen können möglicherweise nicht erkannt werden.
- Die Möglichkeit (unterrepräsentierte) Sequenzvarianten z.B. aufgrund von somatischen Mosaiken zu erkennen ist begrenzt. Sequenzvarianten die in weniger als 50% der kernhaltigen Zellen der Patienten vorkommen können möglicherweise nicht erkannt werden. Im Allgemeinen braucht man minimal 15% Anteil der Varianten Sequenzen.
- Mononukleotid-Läufe z.B. (A)n oder (T)n mit n>8 in der Referenzsequenz können aufgrund des sog. Strang „Rutschen“ (Slippage) während der PCR und der „Cycle“ Sequenzierung nicht analysiert werden.
- Wenn nicht anders beschrieben, beruhen die Sequenzier-Ergebnisse auf der genomischen DNA, die aus Blutzellen (EDTA-Blut) isoliert wurde. Der molekulargenetische Bericht enthält demnach keine Information über die Gensequenzen aus anderen Geweben.

2.2.2 Variantenklassifikation nach der Sequenzierung

Das Molekulardiagnostische Labor folgt bei der Klassifizierung von Sequenzvarianten den Empfehlungen des „American College for Medical Genetics and Genomics” (ACMG-Guidelines; Richards et al., *Genetics in Medicine, March 2015)*

https://www.acmg.net/docs/Standards_Guidelines_for_the_Interpretation_of_Sequence_Variants.pdf

Das ACMG Klassifizierungssystem dient der Einteilung von Sequenzvarianten für monogenetische Erkrankungen, unabhängig davon, ob Varianten per Sanger-Sequenzierung oder per NGS (Next Generation Sequencing) nachgewiesen wurden. Monogene Erbkrankheiten folgen i.d.R. den *Mendelschen* Gesetzen. Das ACMG Klassifizierungssystem arbeitet hauptsächlich mit drei Tabellen. Tabelle 3 listet Kriterien für eine pathogene Wirkung auf. In Tabelle 4 sind Kriterien aufgeführt die für eine benigne Wirkung sprechen. Um eine Sequenzvariante zu klassifizieren werden die entsprechenden Kriterien nach den Regeln von Tabelle 5 kombiniert, um zu einer eindeutigen Klassifizierung zu gelangen. Für detaillierte Informationen empfehlen wir die Lektüre der kompletten Veröffentlichung.

Die Sequenz-Varianten werden entsprechend der IARC Empfehlungen (Plon et al.; Hum Mutat 2008) in fünf Klassen eingeteilt:

Klasse 1	benign	Normvariante ohne klinische Relevanz
Klasse 2	likely benign	Wahrscheinliche Normvariante
Klasse 3	variant of uncertain significance (VUS)	Variante unklarer klinischer Relevanz
Klasse 4	likely pathogenic	Wahrscheinlich pathogene Variante
Klasse 5	pathogenic	Pathogene Variante

Vereinfachte Variantenklassifikation (Übersicht)

angelehnt an: LabCorp Variant Classification Summary - May 2015 und ACMG-Empfehlungen

© copyright Universitätsklinikum Ulm – alle Rechte vorbehalten
Für die Übereinstimmung mit der im „QM-Arbeitsplatz“ hinterlegten Kopie trägt jede/r Mitarbeitende selbst die Verantwortung.

Klasse	Bezeichnung	Beschreibung
5	**pathogene Mutation**	**a)** In der Literatur bzw. in genspezifischen Mutations-datenbanken als eindeutig pathogen klassifizierte Mutationen, **b)** nicht in der Literatur beschriebene Mutationen: - Nonsense- und Frameshift-Mutationen - Spleißmutationen in hochkonservierten Bereichen (+1+2/-1-2) - Deletionen (eines oder mehrerer Exons) - Klasse-4-Variante deren Ursächlichkeit durch Segregations- bzw. Funktionsanalysen nachgewiesen wurde
4	**wahrscheinlich pathogene Variante**	**a)** Spleißvarianten in mäßig konservierten Bereichen, bei denen *in silico*-Programme einen Spleißdefekt vorher sagen, **b)** nicht beschriebene Varianten, die von mind. 3 *in silico*-Programmen übereinstimmend als pathogen deklariert werden und die mit einer Häufigkeit <1% (krankheitsabhängig) in der Normalbevölkerung auftreten, **c)** nicht beschriebene Missense-Varianten, die von mind. 3 *in silico*-Programmen unterschiedlich bewertet werden und die mit einer Häufigkeit <1% (krankheitsabhängig) in der Normalbevölkerung auftreten, aber eine vergleichbare eindeutig pathogene Aminosäure-substitution an derselben Position bekannt ist.
3	**Variante unklarer Signifikanz**	**a)** Nicht beschriebene Varianten, die von mind. 3 *in silico*-Programmen nicht übereinstimmend bewertet werden und die mit einer Häufigkeit <1% (krankheitsabhängig) in der Normalbevölkerung auftreten, **b)** in der Literatur kontrovers diskutierte Varianten, **c)** Varianten, die keiner anderen Klasse zugeordnet werden können.

Erforderliche Parameter fehlen oder sind falsch.

3 PROBENENTNAHME UND ANFORDERUNG VON UNTERSUCHUNGEN

3.1 Indikationsstellung und Abnahmebedingungen

Um den Stationen und Einsendern möglichst Rückfragen zu ersparen, sind auf dem Anforderungsbeleg Hinweise zu den Indikationsstellungen und zu den Abnahmebedingungen (=Präanalytik) angegeben.

3.2 Eine Vorbereitung des Patienten auf die Probenentnahme ist nicht erforderlich

Die Patienten müssen nicht nüchtern sein.

3.3 Anforderung an das die Probe entnehmende Personal

Der Patient muss nach dem GenDG über die geplante genetische Untersuchung und deren Folgen aufgeklärt werden. Erst danach sollen die Blutproben für die unterschiedlichen Analysen in EDTA-Röhrchen (rote Monovette) gewonnen werden.

3.3.1 Entnahmesysteme für EDTA-Blut

	Monovetten mit EDTA-Zusatz: Bild: rote Sarstedt-S-Monovette: **S-Monovette®** EDTA K_2 Gel oder: 3 ml bzw. 9 ml **Vacuette® lila**

© copyright Universitätsklinikum Ulm – alle Rechte vorbehalten
Für die Übereinstimmung mit der im „QM-Arbeitsplatz“ hinterlegten Kopie trägt jede/r Mitarbeitende selbst die Verantwortung.

3.3.2 Externe Einsendungen

Für die Molekulargenetik (DNA-Diagnostik), benötigen wir etwa 3-5 ml EDTA-Blut (rote Monovette). Nach der Blutentnahme die Monovette sofort leicht schwenken, damit keine Teilgerinnung eintritt. Um ein optimales Mischungsverhältnis zwischen Blut und Antikoagulanz zu erhalten, sollten die Röhrchen möglichst bis zur vorgesehenen Markierung befüllt werden. Falls vorhanden, Stempel entfernen und die Monovette mit Name, Vorname und Geburtsdatum beschriften, optimal mit Aufkleber und wenn möglich in ein Trägergefäß geben. Diese zusammen mit dem vollständig ausgefüllten Begleitformular und einem Überweisungsschein in die vorfrankierte Versandtasche geben.

Zum Ablauf der Blutprobenentnahme gelten die Grundregeln: **Bekleben, Vergleichen** der **Röhrchen (**Verifizierung der **Identität des Pat.), Befragen** des **Patienten** und **Entnehmen** der **Probe! *Keine Blutentnahme in ein unbeschriftetes Behältnis!***

3.3.3 Probenahme durch geschultes Laborpersonal

Die Blutentnahme muss unter sterilen Bedingungen erfolgen. Die Gefäße sollten nicht wieder geöffnet oder das Blut umgefüllt werden.

Venöse Blutentnahme :

- die Übereinstimmung der persönlichen Angaben des Patienten mit der Angabe auf dem Anforderungsformular wird überprüft
- die zur Blutentnahme erforderlichen Materialien liegen bereit
- es folgt die Inspektion zur Suche einer geeigneten Punktionsstelle, indem der Patient die Faust schließt
- die Punktionsstelle wird desinfiziert
- die Staubinde wird angelegt
- Punktion und Füllung der Blutentnahmeröhrchen.
- Zur Vermeidung von Nachbluten und beim Herausziehen der Nadel wird ein Tupfer auf die Punktionsstelle gedrückt und für 15 – 20 sec komprimiert

3.3.4 Entnahme weiterer Primärproben

Für die Entnahme anderer Primärproben (z.B. Fruchtwasser, Chorionzotten) ist in der Regel ein operativer Eingriff notwendig und erfolgt nach den Regularien der Einsender. Auf die Beschreibung zur Entnahme wird daher an dieser Stelle verzichtet.

Pränataldiagnostik wird in unserem Labor nur **nach Voranmeldung und Vorabklärung der Voraussetzungen** angeboten.

3.3.5 Sachgerechte Lagerungsbedingungen und Entsorgung der bei der Entnahme verwendeten Materialien

Blutproben sollten möglichst frisch vor dem Versand entnommen werden. In Ausnahmefällen kann das entnommene EDTA-Blut einige Tage im Kühlschrank ca. (2-8°C) oder mehrere Wochen und Monate eingefroren (ca. -18—28°C) gelagert werden. Danach kann es bei Raumtemperatur (ca. 18-24°C) in den entsprechenden Versandbehältern verschickt werden. Höhere und niedrigere Temperaturen (-30 bis +50°C) haben nach unserer langjährigen Erfahrung keinen Einfluss auf die Analytik. Das bei der Probenahme verwendete Material muss in dafür vorgesehenen Spezialbehältern gesammelt und anschließend – sofern vorhanden- der zentralen Abfallentsorgung zugeführt werden. Falls nicht müssen die Materialien durch Autoklavierung dekontaminiert werden.

© copyright Universitätsklinikum Ulm – alle Rechte vorbehalten
Für die Übereinstimmung mit der im „QM-Arbeitsplatz“ hinterlegten Kopie trägt jede/r Mitarbeitende selbst die Verantwortung.

3.4 Identifizierung und Prüfung

Die im Labor eingehenden Aufträge werden durch die zuständigen Mitarbeiter auf Korrektheit bezüglich Etikettierung, Auftragserteilung, Material und Durchführbarkeit des Auftrages geprüft. Bei Unklarheiten wird Rücksprache mit dem Einsender gehalten und es erfolgt eine Abklärung mit der Laborleitung. Es werden ausschließlich Untersuchungsmethoden durchgeführt, für die das Labor die entsprechende personelle und technische Befähigung hat.

3.5 Annahmekriterien

Die Proben und Aufträge werden auf Vollständigkeit geprüft, ob zu jedem Auftrag das geeignete Material vorhanden ist und ob die Analysierbarkeit der Probe gewährleistet ist. Auf den Anforderungsbelegen müssen mindestens die folgenden Angaben vorhanden sein:

- ⇨ Klinische Angaben, Alter und Geschlecht des Patienten
- ⇨ Datum der Entnahme
- ⇨ Datum der Annahme im Labor

Die Proben werden bei der Auftragserfassung mit einer laborinternen Nummer versehen. Proben mit falschem oder ohne den erforderlichen Zusatz werden nicht akzeptiert und der Auftrag wird entsprechend kommentiert. Gleiches gilt für Proben, bei denen die Anforderungen an die Präanalytik nicht genügen (z.B. nicht geschüttelt, d.h. koaguliert). In diesen Fällen wird mit dem Einsender telefonisch Rücksprache gehalten.

Wenn Ungewissheit über die Identität der Primärprobe besteht und die Primärprobe unersetzbar oder kritisch ist, steht es dem Laboratorium frei, die Probe zu bearbeiten; die Ergebnisse dürfen aber nicht freigegeben werden, bevor der anfordernde Arzt oder die für die Entnahme der Primärprobe verantwortliche Person die Verantwortung für die Identifizierung und Annahme der Probe übernimmt und/oder die geeigneten Informationen liefert. In einem solchen Fall wird der Name der Person, die die Verantwortung für die Identifizierung der Primärprobe übernimmt, auf dem Anforderungsformular und im Befund eingetragen.

Unstimmigkeiten zwischen Auftrag und Material (fehlende Daten bzw. Material) werden bereits bei der Abgabe der Proben oder telefonisch abgeklärt.

3.6 Laboranforderungsbeleg und Probenidentifikation

3.6.1 Schriftliche Beantragung

Die häufigste Kommunikationsform zwischen Arzt und Laboratorium ist die Anforderung von Laboruntersuchungen sowie die Berichtübermittlung. Auf den Anforderungsbelegen kann der einsendende Arzt die von ihm gewünschten Untersuchungen markieren.

Die Laboranforderung wird über vereinheitlichte Laboranforderungsbelege realisiert.

Die Laboranforderung wird hausintern über vereinheitlichte Laboranforderungsbelege (SAP) realisiert (Anleitung unter http://www1.klinik.uni-ulm.de/struktur/klinikstruktur/zentrale-einrichtungen/zik/home/it-anwendungen/schulungsunterlagen.html).
Die Anforderung von Laboruntersuchungen ist grundsätzlich eine ärztliche Handlung, die den Charakter einer ärztlichen Verordnung trägt. Sie bedarf deshalb der Schriftform (Laboranforderungsbeleg, Überweisungsschein o.ä.) und prinzipiell der Unterschrift des Arztes. Mit der Unterschrift bestätigt der Arzt:

- ❑ Die Indikation bzw. die Fragestellung der Anforderung
- ❑ Die Repräsentanz des Untersuchungsmaterials
- ❑ Die Richtigkeit spezieller Daten, wie Diagnose, Alter, Geschlecht, Abnahmedatum usw.

© copyright Universitätsklinikum Ulm – alle Rechte vorbehalten
Für die Übereinstimmung mit der im „QM-Arbeitsplatz“ hinterlegten Kopie trägt jede/r Mitarbeitende selbst die Verantwortung.

- ❑ Die Identität zwischen dem Namen auf dem Untersuchungsgefäß und dem Patienten, von dem das Untersuchungsmaterial gewonnen wurde

Für eine ordnungsgemäße Bearbeitung der Anforderung und die Befundübermittlung sind unbedingt erforderlich:

- ❑ Patientenname und -vorname und Geschlecht (m/w)
- ❑ Geburtsdatum
- ❑ Anforderer (Name, Code, postalische Anschrift)
- ❑ Untersuchungsgut (ggf. Menge), Entnahmedatum
- ❑ Erforderliche Untersuchung

3.6.2 Benötigte ausgefüllte und unterschriebene Formalien

Für die Durchführung einer molekulargenetischen Untersuchung benötigen wir einen ausgefüllten und unterschriebenen Auftrag sowie eine Einverständniserklärung nach dem Gendiagnostik-Gesetz (GenDG; s.u.) des Patienten bzw. der Erziehungsberechtigen/Betreuer, die auch eine klare Aussage über den künftigen Verbleib der Probe enthält (erhältlich per Download auf unserer Homepage). Aus dem Auftrag muss hervorgehen, welche Diagnostik aufgrund welcher Fragestellung angefordert wird und wer der verantwortliche Arzt ist, an den der Befund verschickt werden soll. Bitte geben Sie auch eine Telefonnummer für eventuelle Rückfragen an. Jedes Probenmaterial muss mindestens (s.o.) mit dem Namen und dem Geburtsdatum des Patienten oder einer eindeutigen, auch auf dem Auftrag vermerkten Patientennummer beschriftet sein, um eine eindeutige Identifikation zu ermöglichen. Kennzeichnung der Identität der die Primärprobe entnehmenden Person. Vermerken Sie außerdem den Namen der Person, die das Untersuchungsmaterial abgenommen hat, sowie das Datum der Probennahme.

Bei gesetzlich Krankenversicherten benötigen wir lt. KBV (vom 01.07.2010) einen Laborüberweisungsschein (Muster 10). Wird die Ziffer 32010 im Feld "Kennziffer" des Überweisungsscheins eingetragen belasten diese humangenetischen Leistungen das Laborbudget des anfordernden Arztes nicht. ((Details dazu direkt bei der KBV im Kapitel 32.2: http://www.kbv.de/ebm2013/html/000/1Y6000UI1000QG0.html)

Bei Privatpatiententeilen Sie uns bitte die Rechnungsanschrift mit. Auf Anfrage erstellen wir Ihnen für Privatpatienten einen Kostenvoranschlag für die Abklärung der Kostenübernahme bei humangenetischer Untersuchung. Informationen über Merkmale und Erkrankungen des Patienten sowie ggf. eine Familienanamnese sind hilfreich für die Konzeption der Untersuchungen und zur Diagnosefindung. Auch in diesem Kontext nützliche Arztbriefe können Sie gern mitschicken.

Nach Diagnostik verbleibende Patienten-DNA wird in der Regel asserviert, sofern das Einverständnis erteilt wurde. Prüfen Sie bitte, ob für die erweiterte Diagnostik das Einverständnis des Patienten vorliegt.

3.6.3 Dringlichkeit der Anforderungen

Bitte teilen Sie uns mit, wenn bei einer gewünschten Untersuchung eine Schwangerschaft bei einem Familienangehörigen besteht, für den oder für dessen Nachkommen das Ergebnis der gewünschten Untersuchung von Bedeutung sein könnte. Bitte haben Sie Verständnis, dass wir Proben zur vorgeburtlichen Diagnostik nur nach sorgfältiger Vorabklärung der Indikation oder ggf. vorliegender Vorbefunde oder Diagnosen annehmen können.

© copyright Universitätsklinikum Ulm – alle Rechte vorbehalten
Für die Übereinstimmung mit der im „QM-Arbeitsplatz“ hinterlegten Kopie trägt jede/r Mitarbeitende selbst die Verantwortung.

3.6.4 Gendiagnostikgesetz

Nach dem **Gendiagnostikgesetz** muss der Untersuchungsantrag vom Patienten und dem aufklärenden Arzt unterschrieben sein.

Am 1. Februar 2010 trat das neue Gendiagnostikgesetz in Kraft. Es beinhaltet erhöhte Anforderungen an Patientenaufklärung, Einwilligung und Datenschutz zur Stärkung der Patientenautonomie und zur Gewährleistung eines besseren Schutzes gegen Kommerzialisierung und Missbrauch genetischer Informationen.

Grundsätzlich bedeutet dies konkret, **dass keine genetische Untersuchung mehr ohne schriftliche Einverständniserklärung veranlasst werden darf**, zusätzlich ist für jede Pränataldiagnostik eine genetische Beratung vorgeschrieben. Bis zum 1. Februar 2012 dürfen Frauenärzte fachbezogene genetische Beratungen grundsätzlich noch selbst durchführen; danach ist eine Zusatzqualifikation erforderlich, deren Inhalte und Struktur noch durch die neue Gendiagnostik-Kommission gestaltet werden müssen. Auch für weitere Fragestellungen sind noch inhaltliche Klärungen und verbindliche Auslegungen des Gesetzestextes nötig. Zu diesem Zweck wurde beim Robert-Koch-Institut eine unabhängige, interdisziplinäre Gendiagnostik-Kommission eingerichtet.

3.6.4.1 Einverständnis bei genetischen Untersuchungen

Zu jeder genetischen Untersuchung ist eine schriftliche Einwilligung der zu untersuchenden Person oder deren gesetzlichen Vertreters zwingend erforderlich. Als genetische Untersuchung gilt hierbei jede gezielte Fehlbildungsdiagnostik.

3.6.4.2 Aufklärung bei genetischen Untersuchungen

Im Vorfeld muss die zu untersuchende Person über Durchführung, Aussagekraft und Risiken der Untersuchung durch den Arzt aufgeklärt werden (§ 9 Abs. 1), dies beinhaltet Informationen zu Unterstützungsmöglichkeiten für die Bewältigung möglicher körperlicher und seelischer Belastungen. Bei der Pränataldiagnostik muss darüber hinaus auch auf den Anspruch auf eine psychosoziale Beratung nach dem Schwangerschaftskonfliktgesetz hingewiesen werden. Ferner müssen Patienten auf ihr „Recht auf Nichtwissen“ bezüglich der Untersuchungsergebnisse und ihr Recht auf Widerruf der Einwilligung hingewiesen werden. Alle Aufklärungsinhalte müssen hierbei dokumentiert werden.

3.6.4.3 Genetische Beratung

Während bei den üblichen postnatalen „diagnostischen“ Untersuchungen eine genetische Beratung nach Vorliegen des Ergebnisses lediglich angeboten werden soll, muss diese vor und nach jeder prädiktiven oder pränatalen genetischen Untersuchung verpflichtend durch einen dafür qualifizierten Arzt erfolgen. Von dieser Verpflichtung kann nur im Einzelfall abgewichen werden, wenn die Patientin nach schriftlicher Information über die Inhalte der genetischen Beratung ihren Verzicht darauf schriftlich erklärt. Die genauen inhaltlichen Anforderungen für die genetische Beratung sollen durch die Gendiagnostik-Kommission festgelegt werden.

3.6.4.4 Qualifikationsanforderungen von genetischen Beratungen

Bislang lagen genetische Beratungen im alleinigen Zuständigkeitsbereich von Fachärzten für Humangenetik oder Ärzten anderer Fachgebiete mit einer entsprechenden Zusatzqualifizierung, die jedoch nicht mehr erworben werden kann. Da aufgrund der neuen Regelungen eine massive Ausweitung des Bedarfs nach genetischen Beratungen bevorsteht, soll künftig jedem Arzt für sein Fachgebiet die Möglichkeit einer entsprechenden Zusatzqualifizierung geboten werden. Die Modalitäten der Qualifizierung müssen von der Gendiagnostik-Kommission bereits in den kommenden Monaten festgelegt werden.

Vorerst dürfen Frauenärzte genetische Beratungen zu pränataler Diagnostik weiterhin in eigener Verantwortung selbst durchführen. Bis zum Stichtag 1.2.2012 müssen jedoch genügend

© copyright Universitätsklinikum Ulm – alle Rechte vorbehalten
Für die Übereinstimmung mit der im „QM-Arbeitsplatz“ hinterlegten Kopie trägt jede/r Mitarbeitende selbst die Verantwortung.

Frauenärzte eine berufsbegleitende Weiterbildung durchlaufen haben. Welche Inhalte und welcher zeitliche Umfang dafür erforderlich sind, ist noch nicht festgelegt.

3.6.4.5 Pränataldiagnostik

Eine pränatale genetische Diagnostik darf künftig nur zu „medizinischen Zwecken“ erfolgen (§ 15 Abs. 1). Wird dabei das Geschlecht des Kindes festgestellt, so darf die Schwangere erst nach der 12. Schwangerschaftswoche darüber aufgeklärt werden.

Insbesondere ist jetzt die umstrittene pränatale Diagnostik auf spätmanifestierende Erkrankungen (Chorea Huntington, Brustkrebs, u.a.) endgültig verboten (§ 15 Abs. 2).

Eine vorgeburtliche Vaterschaftsfeststellung darf nur erfolgen, wenn dringende Gründe für die Annahme sprechen, dass die Schwangerschaft durch eine Sexualstraftat eingetreten ist (§ 17 Abs. 6).

3.6.4.6 Prädiktive Diagnostik

Zur prädiktiven Diagnostik zählen laut GenDG (§ 3 Ziff. 8) insbesondere die Familienabklärung bei erblichen Krebsdispositionen sowie jegliche prädiktive genetische Screeningtests, beispielsweise auch auf Osteoporoseneigung. Hier ist eine genetische Beratung zwingend erforderlich.

Eine BRCA-Mutationsanalyse bei selbst vom Krebs betroffenen Indexpatienten sowie Analysen auf genetische Risikofaktoren für multifaktorielle Krankheiten gelten hingegen als „diagnostische“ genetische Untersuchungen und sind nicht an eine genetische Pflichtberatung gebunden.

3.6.4.7 Quellen:

* Deutscher Bundestag (2009) Gesetz über genetische Untersuchungen bei Menschen, Bundesgesetzblatt 50: 2529–2538.

* Henn W (2010) Das neue Gendiagnostikgesetz und seine Konsequenzen für den frauenärztlichen Alltag, Frauenarzt 51: 14–17 (ISSN 0016-0237)

* Mehnert K (2009) Das neue Gendiagnostikgesetz - Besonderheiten für den Praxisalltag, gen.ial 3: 10-11 (ISSN 1869-439X)

3.6.4.8 Angaben zur Identität der entnehmenden Person

Die beratende Person muss auf dem Anforderungsschein eingetragen werden und die Anforderung von einem Arzt unterschrieben sein.

3.7 Gründe für die Nichtbearbeitung von Analysen

Primärproben müssen, üblicherweise durch das Anforderungsformular, auf eine identifizierte Person rückverfolgbar sein. Primärproben, bei denen ein Nachweis der Identität fehlt, dürfen durch unser Labor nicht angenommen oder bearbeitet werden (siehe dazu 3.3.5. Annahmekriterien).

- Probe ohne Absender (keine Rückfragen möglich)
- Probe nicht eindeutig einem Auftrag zuzuordnen (Identifizierung auch nach Rücksprache mit dem Einsender unsicher/unmöglich)
- Probe für die Untersuchung ungeeignet (z.B. Blutprobe ist koaguliert)
- Probe zu alt
- Probe zu wenig Material

Sofern möglich, werden Sie als Einsender in diesen Fällen von uns sofort nach Probeneingang informiert. Bitte haben Sie Verständnis, dass wir nach dem geltenden Gendiagnostik-Gesetz

© copyright Universitätsklinikum Ulm – alle Rechte vorbehalten
Für die Übereinstimmung mit der im „QM-Arbeitsplatz“ hinterlegten Kopie trägt jede/r Mitarbeitende selbst die Verantwortung.

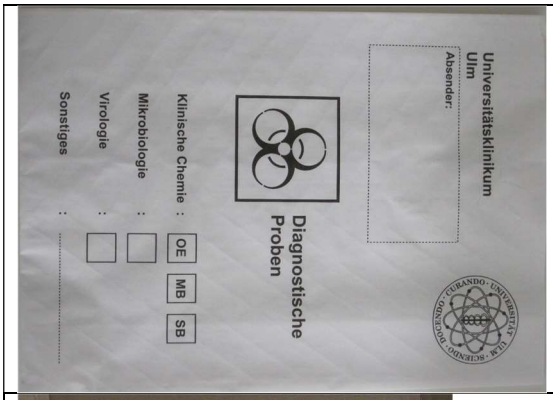
(GenDG) ohne vollständig ausgefüllte und vom Patienten und aufklärenden Arzt unterschriebene Einwilligungserklärung nicht diagnostisch tätig werden dürfen.

3.8 Transport und Lagerung

Das Probenmaterial sollte so schnell und sicher wie möglich unser Labor erreichen. Für den Versand per Post bitte die gesetzlich vorgeschriebenen Transportbedingungen beachten.

3.8.1 Interne Proben

Alle Laborproben sind grundsätzlich als infektiös zu betrachten. Für den Transport sollten die am Klinikum geltenden hygienischen Grundregeln beachtet werden:

	Alle Proben müssen in die unter der SAP-Nummer 60098755 erhältlichen Transporttüten verpackt werden. Diese gilt auch für den Transport durch den Transportdienst innerhalb des Klinikums. Bitte markieren Sie auf den Tüten das Absender- und Empfängerfeld
 	Für den Transport zwischen den Bereichen mit einem **Einzel-Taxi** müssen die Proben gemäß der Gefahrgutverordnungen für den Transport von Labormaterial im Straßenverkehr (GGSVE/ADR/BioStoffv) verpackt sein. Hierfür stellt das Klinikum Kartons unter der SAP-Nr.60098735 abgebildete Version bzw 60098754 (große Version) bereit. In diesem Transportkarton muss die Probe in einer zweiten Hülle mit Zellstoff verpackt sein. hierzu eignet sich ebenfalls der Transportbeutel, besser ist ein starres Gefäß. Der Zellstoff soll eventuell ausfließende Flüssigkeit aufsammeln. Bitte beachten Sie bei dem Transport mit einem Einzeltaxi auch den Datenschutz!

3.8.2 Externe Proben

Die externen Proben sollen unter UN 3373, Biologischer Stoff, Kategorie B versendet werden

© copyright Universitätsklinikum Ulm – alle Rechte vorbehalten
Für die Übereinstimmung mit der im „QM-Arbeitsplatz“ hinterlegten Kopie trägt jede/r Mitarbeitende selbst die Verantwortung.

	Die billigste Version zum Versand ist der baumustergeprüfte Maxibrief (T-Box - 901) als Pappkiste mit der Deutschen Post z.B. Sarstedt Mailing Box #95.900 oder 95.001
	Für den Versand mit anderen Transportdiensten (u. a. TNT) werden ähnliche kistenförmige Verpackungen aus Pappe (T-Box - Best. Nr. UKJ: 108571) für die meisten innerdeutschen Transporte als geeignet an Die Transportbedingungen müssen aber vor dem Versand abgeklärt werden Bei TNT ist zusätzlich ein Frachtbrief auszufüllen und am Versandstück zu befestigen. Es darf auf keinem Fall die Raute mit UN 3373 (siehe linke obere Ecke der Abbildung) bzw. die Benennung überklebt werden!

Die Proben können ungekühlt bei Raumtemperatur verschickt werden. Nach der Analytik wird die daraus isolierte DNA bei -20°C aufbewahrt, oder -falls gefordert- vernichtet.

3.8.3 Auszug aus der P 650, die für UN 3373 gilt:

Die Verpackung muss aus mindestens 3 Bestandteilen bestehen:

a. einem Primärgefäß,
b. einer Sekundärverpackung und
c. einer Außenverpackung,

wobei entweder die Sekundärverpackung oder die Außenverpackung starr sein muss.

- *Mindestens eine der Oberflächen der Außenverpackung muss eine Mindestabmessung von 100 mm x 100 mm haben.*
- *Das vollständige Versandstück muss in der Lage sein, die Fallprüfung des Unterabschnitts 6.3.5.3 nach den Vorschriften des Unterabschnitts 6.3.5.2 bei einer Fallhöhe von 1,2 m erfolgreich zu bestehen. Nach der jeweiligen Fallversuchsreihe darf aus dem (den) Primärgefäß(en), das (die), sofern vorgeschrieben, durch das absorbierende Material geschützt bleiben muss (müssen), nichts in die Sekundärverpackung gelangen.*
- *Für flüssige Stoffe gilt:*
  a. Das (die) Primärgefäß(e) muss (müssen) flüssigkeitsdicht sein.
  b. Die Sekundärverpackung muss flüssigkeitsdicht sein.
  c. Wenn mehrere zerbrechliche Primärgefäße in eine einzige Sekundärverpackung eingesetzt werden,

© copyright Universitätsklinikum Ulm – alle Rechte vorbehalten
Für die Übereinstimmung mit der im „QM-Arbeitsplatz“ hinterlegten Kopie trägt jede/r Mitarbeitende selbst die Verantwortung.

müssen diese entweder einzeln eingewickelt oder so voneinander getrennt werden, dass eine gegenseitige Berührung verhindert wird.

d. Zwischen dem (den) Primärgefäß(en) und der Sekundärverpackung muss absorbierendes Material eingesetzt werden. Das absorbierende Material muss ausreichend sein, um die gesamte im (in den) Primärgefäß(en) enthaltene Menge aufzunehmen, so dass ein Austreten des flüssigen Stoffes nicht zu einer Beeinträchtigung der Unversehrtheit des Polstermaterials oder der Außenverpackung führt.

e. Das Primärgefäß oder die Sekundärverpackung muss in der Lage sein, einem Innendruck von 95 kPa (0,95 bar) ohne Verlust von Füllgut standzuhalten.

3.9 Laborergebnisse und Bearbeitungszeiten

Die Ergebnisse der molekulargenetischen Untersuchung werden in einem Molekulargenetischen Bericht mitgeteilt.

Mit folgender Bearbeitungsdauer können Sie rechnen:

- Standarduntersuchungen 2 – 4 Wochen,
- Untersuchungen mit hohem Aufwand bis zu 8 Wochen.

Eine Pränatal-Diagnostik auf eine intrafamilär bekannte Mutation soll zuvor in unserem Labor angemeldet werden, damit die Analyse anschließend zügig in wenigen Tagen erfolgen kann.

Zur Meldung von kritischen Ergebnissen sollte zur Sicherstellung der Erreichbarkeit, bitte eine zweite Telefonnummer (Notfall Tel.) auf dem Anforderungsschein angeben werden.

3.10 Beeinflussung der Untersuchungsergebnisse

Ursachen für Veränderungen in der Probe :

- Nicht sorgfältig geschüttelte und daher koagulierte Blutprobe

Gegenmaßnahmen :

- Sorgfältiges Durchmischen der Proben nach der Entnahme

3.11 Untersuchung von Kindern, Jugendlichen und Betreuten

Gemäß Leitlinie zur genetischen Diagnostik bei Kindern und Jugendlichen (BVDH und GfH) werden Kinder und Jugendliche dann humangenetisch untersucht, wenn die Diagnostik zur Klärung der Differentialdiagnose einer bestehenden Symptomatik bzw. zur Feststellung einer Erkrankungsursache erforderlich ist. Eine prädiktive genetische Diagnostik im Kindesalter wird nur dann durchgeführt, wenn mit dem Auftreten einer Erkrankung in diesem Lebensalter zu rechnen ist, und wenn sinnvolle Maßnahmen zur Prävention der Erkrankung selbst bzw. zur Prävention von Komplikationen oder zur Therapie ergriffen werden können. Für eine erst im Erwachsenenalter auftretende (sog. spät manifestierende) Erkrankung wird dagegen bei einem gesunden Kind in der Regel keine prädiktive Diagnostik durchgeführt. Eine Ausnahme hiervon ist nur dann gegeben, wenn im Fall eines positiven Untersuchungsergebnisses anerkannte, für die Gesundheit des Kindes wichtige, medizinische Interventionen angeboten werden können. Rückfragen klären Sie bitte mit uns ab. Die humangenetische Untersuchung von Kindern, Jugendlichen und Betreuten ist generell nur mit Zustimmung des Erziehungsberechtigten bzw. des Betreuers belegt durch Unterschrift auf der Einverständniserklärung (siehe auf unserer Homepage) zulässig

3.12 Wiederholungsanalysen/ Nachforderungen/ Entsorgung des Probenmaterials

© copyright Universitätsklinikum Ulm – alle Rechte vorbehalten
Für die Übereinstimmung mit der im „QM-Arbeitsplatz“ hinterlegten Kopie trägt jede/r Mitarbeitende selbst die Verantwortung.

Nachforderungen zusätzlicher Untersuchungen, die nicht auf dem Auftragsformular vermerkt sind, können ausgeführt werden, sofern noch genügend Untersuchungsmaterial (DNA) vorhanden ist).

Unser Molekulardiagnostisches Labor des Universitätsklinikums Ulm bewahrt Untersuchungsmaterialien zum Zweck der Nachprüfbarkeit der Ergebnisse und für eventuelle Zusatzuntersuchungen (auch wissenschaftlicher Art) gemäß des auf der Einverständniserklärung durch den Probanden bzw. dessen Erziehungsberechtigte/Betreuer dokumentierten Willens auf. Es besteht jederzeit die Möglichkeit, dieser Vorgehensweise zu widersprechen. Bei molekulargenetischen Untersuchungen wird in der Regel (sofern das Einverständnis hierzu vorliegt), die verbleibende DNA asserviert die nicht für die Untersuchung verbraucht wurde

Eventuelle Zusatzuntersuchungen können nach Befundung des Primärauftrags nur durchgeführt werden, wenn hierfür das geeignete Material aufbewahrt wurde. Es ist in der Regel ein neuer Auftrag und das Einverständnis des Patienten erforderlich.

Für laborinterne Qualitätskontrollen sowie für wissenschaftliche Forschung, werden Proben, für welche die entsprechende Erlaubnis erteilt wurde, nur noch in pseudonymisierter Form aufbewahrt; d.h. evtl. auf dem Probengefäß vorhandener Patientenname wird unkenntlich gemacht, und die Identifikation gelingt nur noch mit der laborinternen Auftragsnummer.

Nach Ablauf der Aufbewahrungszeit erfolgt die sachgerechte Entsorgung nach den Richtlinien des Hauses.

4 BERICHT/(BEFUND)

4.1 Molekulargenetischer Bericht in gedruckter Form

4.1.1 Inhalt des Molekulargenetischen Berichtes

Auf dem Molekulargenetischen Bericht sind in jedem Fall mindestens folgende Angaben zu finden:

- Die Adresse unseres Molekulardiagnostischen Labors
- die klare und eindeutige Bezeichnung der Untersuchung und das Analyseverfahren
- die eindeutige Identitätsbezeichnung den Namen oder eine andere eindeutige Identitätsbezeichnung des Anfordernden und dessen Anschrift;
- Datum des Eingangs im Laboratorium;
- Datum der Berichtsfreigabe;
- Herkunft und Art der Primärprobe;
- falls zutreffend Interpretation der Ergebnisse;
- sonstige Kommentare (z. B. über Qualität oder Eignung der Primärprobe, die das Ergebnis beeinträchtigen haben können;
- Angabe der Person, die den Bericht freigibt

4.2 Datenschutz

Alle Mitarbeiter, sind zu Beginn ihrer Tätigkeit schriftlich und mündlich nach § 6 Landesdatenschutzgesetz Baden-Württemberg ("Datengeheimnis") sowie in regelmäßig stattfindenden Belehrungen zur Wahrung der Vertraulichkeit und Verschwiegenheit verpflichtet. Die Ergebnisse genetischer Untersuchungen dürfen nur der untersuchten Person selbst und nur durch den Arzt mitgeteilt werden, der die Untersuchung veranlasst oder die genetische Beratung durchgeführt hat. Eine Weitergabe an Dritte darf nur mit schriftlicher Einwilligung der Patientin erfolgen. Arbeitgeber und Versicherungsunternehmen ist der Zugang zu genetischen Befunden grundsätzlich verwehrt, selbst wenn eine pauschale Entbindung von der Schweigepflicht vorliegt.

© copyright Universitätsklinikum Ulm – alle Rechte vorbehalten
Für die Übereinstimmung mit der im „QM-Arbeitsplatz“ hinterlegten Kopie trägt jede/r Mitarbeitende selbst die Verantwortung.

Genetische Untersuchungsbefunde müssen nach einer Aufbewahrungsfrist von zehn Jahren vernichtet werden. Falls Grund zu der Annahme besteht, dass mit der Vernichtung schutzwürdige Interessen der untersuchten Person beeinträchtigt werden, müssen die Untersuchungsergebnisse gesperrt werden. Hier bedarf es noch einer genauen Regelung.

5 QUALITÄTSSICHERUNG IM LABOR

In unserem Labor werden verschiedene molekulargenetische Untersuchungen durchgeführt. Ziel der Laboranalysen ist die Erhebung eines Molekulargenetischen Berichtes.

- Schritte zur Erhebung eines Molekulargenetischen Berichtes

Die Durchführung der Analyse selbst ist nur einer von 4 Teilschritten im Ablauf des Gesamtvorgangs. Die vier Teilschritte sind:

- Untersuchungsentscheidung, Entnahme des Untersuchungsgutes einschließlich Analysenvorbereitung (Präanalytischer Teilschritt)
- Durchführung der Analyse mit Analysenergebnis
- Analytische Freigabe
- Medizinische Freigabe

- Prüfung der Zuverlässigkeit der Analysenergebnisse

Der Bericht entsteht in einem komplexen Untersuchungsgang. Die Prüfung der Zuverlässigkeit der Analysenergebnisse ist dabei ein unerlässlicher Bestandteil jeder Untersuchung.

Die für die Durchführung der Analysen verwendeten Reagenzien und Geräte müssen die definierten Qualitätskriterien erfüllen. Wenn die Qualitätskontrollen ungültig sind, müssen sie wiederholt sowie kommentiert werden und nach der Fehlerkorrektur muss ggf. die Analysenserie ebenfalls wiederholt werden.

Um diese Anforderungen sicherzustellen, ist ein Qualitätssicherungs-System im Labor etabliert.

Ziele der Qualitätssicherung im molekulardiagnostischen Laborbereich sind:

- Überwachung der Richtigkeit und Präzision der Analysen
- Kontrolle der Reagenzienqualität und Überprüfung der Funktion der für die Analytik verwendeten Reagenzien und Geräte
- Erkennung von Störreaktionen und Störeinflüssen auf die Analysen

5.1 Interne Qualitätssicherung

Es werden positive und negative Qualitätskontrollen verwendet.

5.2 Externe Qualitätssicherung

Für die Molekulare Diagnostik (PCR und Sequenzierung) wird vom Referenzinstitut für Bioanalytik (RfB) in Bonn (www.dgkl-rfb.de) 2x jährlich ein Ringversuch (SQ DNA Sequenzierung) angeboten. Eine Teilnahme erfolgt zweimal pro Jahr.

5.3 Restrisiko fehlerhafter Befunde

Trotz aller Maßnahmen zur Qualitätssicherung und Fehlervermeidung bleibt ein geringes Restrisiko für die Erstellung fehlerhafter Befunde (ca. 0,2%). Bislang sind im Molekulardiagnostischen Labor keine therapierelevanten Fehler festgestellt worden. Ein konsequentes Fehlermanagement trägt dazu bei, dass aus Fehlern gelernt und diese zukünftig vermieden werden.

© copyright Universitätsklinikum Ulm – alle Rechte vorbehalten
Für die Übereinstimmung mit der im „QM-Arbeitsplatz“ hinterlegten Kopie trägt jede/r Mitarbeitende selbst die Verantwortung.

Seit Ende 2016 wird 2x jährlich am Ringversuch MG1 und MG2 (PCR und Sequenzierung; ebenfalls von RfB) teilgenommen

Es erfolgt ebenfalls die methodische Validierung einzelner Gene durch Probenaustausch mit anderen Diagnostiklaboren.

6 VORGEHEN BEI ÄNDERUNGEN

Notwendige Änderungen bzw. Aktualisierungen werden umgehend in das vorliegende Handbuch zur Primärprobenentnahme eingefügt. Die geänderten Textpassagen werden farblich gekennzeichnet.

7 BESCHWERDEMANAGEMENT

Die Zufriedenheit unserer Einsender und Patienten ist uns ein zentrales Anliegen. Durch die systematische Erfassung und Nachverfolgung von Beschwerden / Reklamationen wollen wir Probleme lösen und durch die Einleitung von Korrektur- oder Vorbeugungsmaßnahmen ein erneutes Auftreten des Problems verhindern.

Beschwerden und Reklamationen, die an das Labor herangetragen werden, werden von den Mitarbeitern erfasst und an die Qualitätsmanagement-Beauftragten weitergeleitet. Sie dokumentiert ebenfalls, welche Maßnahmen eingeleitet worden sind.

Der Beschwerdeführer wird über die eingeleiteten Maßnahmen informiert

Bei Beschwerden richten Sie sich bitte an die unter 1.1.1 bzw. auf unserer Homepage: http://www.uniklinik-ulm.de/struktur/kliniken/kinder-und-jugendmedizin/home/klinische-labore/molekulargenetik.html genannten Kontaktpersonen.

8 MITGELTENDE DOKUMENTE

- Anforderungsbogen
- Leistungsverzeichnis
- Aufklärung/Einverständniserklärung des Patienten

© copyright Universitätsklinikum Ulm – alle Rechte vorbehalten
Für die Übereinstimmung mit der im „QM-Arbeitsplatz“ hinterlegten Kopie trägt jede/r Mitarbeitende selbst die Verantwortung.