



Handbuch zur Primärprobenentnahme

VA-PÄ 02

Labor für Leukämiediagnostik
der Medizinischen Klinik und Poliklinik III
Direktor Prof. Dr. Dr. M. von Bergwelt

Klinikum der Universität München, Campus Großhadern
Marchioninistr. 15, 81377 München
Tel. 089-4400-74977, Fax: 089-4400-74978
email: lf@med.lmu.de

Öffnungszeiten des Labors zur Annahme des Untersuchungsmaterials:

Mo.– Fr. 8.30 – 16:00 Uhr

Sa. 8.30 – 11.00 Uhr

Raumkoordinaten: /GH/M15/37KK/02/610

Inhaltsverzeichnis

Erstellung:

Zientara, Ewelina

Prüfung:

11.05.2026 Zientara, Ewelina

Freigabe:

12.05.2026 Schneider, Stephanie Dr.rer.nat.

Handbuch zur Primärprobenentnahme

VA-PÄ 02

1	Probenentnahme	6
1.1	Materialentnahmen in Behälter ohne Antikoagulanzen	6
1.2	Materialentnahmen mit bereits mit Antikoagulanzen versehenen Röhrchen	7
1.3	Kennzeichnung des Materialgefäßes/ -röhrchens	7
1.4	Lagerung Untersuchungsmaterial bis zum Transport	7
1.5	Indikationen für Analysen aus verschiedenen Materialien	7
1.6	Häufige Entnahmefehler	9
1.7	Aspiration (Zytologie) versus Biopsie (Histologie)	10
1.8	Indikationen für Aspiration und Biopsie von Knochenmark	10
1.9	Verhalten bei Punctio sicca	11
1.10	Interpretation	11
1.10.1	Ergüsse	11
1.10.2	Aszites	12
1.10.3	Liquor	12
1.10.4	Fibroblastenkultur nach Hautstanze	13
2	Entsorgung des bei der Probenentnahme verwendeten Materials (interne Einsender)	13
3	Benötigte Probenmengen und -arten	14
3.1	Dringendes Untersuchungsmaterial/Einsendungen	14
3.2	Nachforderung von Untersuchungen	15
4	Beeinflussung der Untersuchungsergebnisse	16
4.1	Einflussgrößen	16
4.2	Störgrößen	16
4.3	Gründe für die Zurückweisung von Untersuchungsmaterial	17
4.3.1	Zytomorphologie	17
4.3.2	Zytogenetik	17
4.3.3	Molekulargenetik	17
4.3.4	Immunphänotypisierung	17
5	Kriterien für die Probenannahme	17
5.1	Transport interner Einsender (Großhadern Rohrpostversand)	18
5.2	Transport externer Einsender	18
6	Untersuchungsantrag und Einverständniserklärung	19
6.1	Ausfüllen des Untersuchungsauftrags	19
6.1.1	Seite 1 Allgemeine Angaben	19
6.1.2	Seite 2 Molekulargenetik	20
6.1.3	Seite 3 Immunphänotypisierung	21

Handbuch zur Primärprobenentnahme

VA-PÄ 02

6.2	Anforderungen über das Klinische Auftragssystem KAS – KLAU anlegen (gilt nur für das KUM) 21	
6.3	Ausfüllen der Patienteneinverständniserklärung/Aufklärung	22
6.3.1	Patienteninformation	22
6.4	Anforderungen nach Gendiagnostikgesetz (GenDG)	22
6.4.1	§8 Einwilligung	23
7	Analysendauer	27
7.1	Zytomorphologie	27
7.2	Zytogenetik	28
7.2.1	Chromosomenanalyse	28
7.2.2	Molekulare Zytogenetik (FISH Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung)	28
7.3	Immunphänotypisierung	28
7.4	Molekulargenetik	28
7.5	Messunsicherheiten und Signifikanz	29
7.5.1	Zytomorphologie	30
7.5.2	Immunphänotypisierung	31
7.5.3	Humangenetik	31
7.6	Beschreibung der Risikoanalysen zum Restrisiko	32
8	Leistungsverzeichnis	32
9	Verpackung, Kennzeichnung und Transport des Untersuchungsmaterials	32
9.1	Integrität der Probe	33
9.2	Verpackung	33
9.3	Kennzeichnung und Dokumentation	35
9.4	Transport und Versand	35
10	Befunde	35
10.1	Inhalt des Befundberichts	35
10.2	Befundbeurteilung	36
10.3	Befundausgabe und Befundübermittlung	36
10.4	Beratungsleistungen	36
11	Qualitätssicherung im Labor	36
11.1	Interne Qualitätssicherung	36
11.2	Externe Qualitätssicherung	37
12	Vorgehen bei Änderungen	38
13	Mitgeltende Dokumente	38

Handbuch zur Primärprobenentnahme

VA-PÄ 02

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: UN-Nummer 3373 gilt für: Biologische Stoffe, Kategorie B (Ein ansteckungsgefährlicher Stoff, der den Kriterien für eine Aufnahme in Kategorie A nicht entspricht)	33
Abbildung 2: (A) Beispiel für eine Primärverpackung (B) Beispiel für eine Sekundärverpackung	34
Abbildung 3: Beispiel für die Außenverpackung P650 light	34
Abbildung 4: Beispiel für die Außenverpackung P650	34

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Indikationen für Untersuchungen anhand des Materials	7
Tabelle 2: Indikationen der Analysen anhand der Erkrankung	10
Tabelle 3: Materialanforderungen	14
Tabelle 4: Angaben für die Nachforderung von Analysen	15
Tabelle 5: Lagerung des Probenmaterials im Labor	18
Tabelle 6: Was fällt unter die Vernichtungspflicht nach § 12 GenDG und was nicht?	25
Tabelle 7: Abschnitt B: Zuordnungen, welche die GEKO in ihrem 3. Tätigkeitbericht erwogen hat ^b	26

Anhang 1 Untersuchungsauftrag	40
Anhang 2 Information und Einverständnis	40
Anhang 3 Einverständnis nach Gendiagnostik Gesetz incl. Widerruf	40

Handbuch zur Primärprobenentnahme

VA-PÄ 02

Änderungen zur Vorversion:

Kap. 1 wurde gelöscht und durch den Satz „Unser Labor ist nach DIN EN ISO 15189 akkreditiert. Die in diesem Handbuch beschriebenen Prozesse sichern die Einhaltung dieser Qualitätsstandards bereits vor Eintreffen der Probe im Labor.“ ersetzt.

Kap. 5.1 um den Hinweis ergänzt: Liquorproben dürfen nicht per Rohrpost versandt werden.

Handbuch zur Primärprobenentnahme

VA-PÄ 02

Unser Labor ist nach DIN EN ISO 15189 akkreditiert. Die in diesem Handbuch beschriebenen Prozesse sollen die Einhaltung dieser Qualitätsstandards bereits vor Eintreffen der Probe im Labor sichern.

1 Probenentnahme

Im Labor für Leukämiediagnostik können an den verschiedensten Materialien Analysen durchgeführt werden. Welche Materialien für welche Untersuchungen benötigt werden entnehmen Sie bitte [Kapitel 3](#).

Die Besonderheiten der Probenentnahme entnehmen Sie bitte folgenden Unterkapiteln.

Alle beteiligten Parteien tragen Verantwortung an dem Ergebnis der durchgeführten Untersuchung:

❖ Patientinnen

- Zustimmung zur Entnahme geeigneter Untersuchungsmaterialien

❖ der Einsender (Arzt, Pflegekraft)

- Vorbereitung des Patienten
- Organisation der korrekten Probenentnahme
- Erstellen der Untersuchungsanforderung entsprechend der Fragestellung (Bereitsstellung klinischer Angaben, Medikation)
- Beschriftung der Probengefäße und des Untersuchungsauftrags
- Lagerung und Transport der Probe
- Probentransport (innerhalb von **24 Stunden**)

❖ das Labor

- Probenannahme mit Erfassung und Überprüfung des Untersuchungsauftrags
- Aufbereitung der Probe vor der Analyse
- Lagerung und Entsorgung der verwendeten Probengefäße

Die Entnahme der Primärproben darf ausschließlich von medizinisch geschultem Personal nach internen und gesetzlichen Vorgaben durchgeführt werden. Eine Einwilligung (schriftlich) in die Prozeduren der Patient:innen wird vorausgesetzt. Deshalb wird an dieser Stelle auf eine ausführliche Beschreibung verzichtet.

1.1 Materialentnahmen in Behälter ohne Antikoagulanzen

Knochenmark und peripheres Blut

Zugabe von entsprechenden Antikoagulanzen (siehe 6.3)

Heparin 500 I.E./ml Material

EDTA 1,2-2 mg/ml Material (4,1 bis 6,8 mmol/L)

Citrat (0.109 mol/l oder 0.129 mol/l)

Handbuch zur Primärprobenentnahme

VA-PÄ 02

SOFORT nach Entnahme des Materials gut und gründlich mischen um ein Gerinnen des Materials zu verhindern.

Andere Materialien wie Liquor, Pleura, Aszites oder Hautstanzen nativ ohne Antikoagulanzen.

Knochenmarkstanzen/Stanzbiopsien (bei punctio sicca) für die Chromosomenanalyse kein Formalin, sondern nur mit 0,9% Natriumchloridlösung und 500 I.E. Heparin/ml.

1.2 Materialentnahmen mit bereits mit Antikoagulanzen versehenen Röhrchen

Bitte die Hinweise der Hersteller beachten.

1.3 Kennzeichnung des Materialgefäßes/ -röhrchens

Beschriftung des Röhrchens mit Patientennamen, Geburtsdatum des Patienten, sowie Antikoagulanzen, Material und Entnahmedatum.

1.4 Lagerung Untersuchungsmaterial bis zum Transport

Das entnommene Untersuchungsmaterial wird bis zur Verarbeitung bei Raumtemperatur gelagert (15-25°C). Temperaturen bis zu 30°C sind erlaubt. Direkte Sonnenstrahlung soll vermieden werden.

1.5 Indikationen für Analysen aus verschiedenen Materialien

Die Indikation ergibt sich aus der klinischen Verdachtsdiagnose entsprechend des klinischen Krankheitsbildes oder der vorliegenden Blutbildveränderungen.

Tabelle 1: Indikationen für Untersuchungen anhand des Materials

Material	Indikationen	Kontraindikationen	Material-anforderungen
Knochenmarkspirat	<ul style="list-style-type: none"> • V.a. hämatologische Neoplasien • Anderweitig nicht geklärte Zytopenie oder Anämie, insbesondere bei V.a. MDS • Staging-Untersuchung bei hämatologischen Neoplasien (z.B. NHL, M. Hodgkin) • V.a. Knochenmarkmetastasierung durch einen soliden Tumor • Verlaufskontrolle unter Therapie bei initialer Knochenmarkbeteiligung • Osteologische Fragestellungen • Angeborene Stoffwechselerkrankungen (z.B. M. Gaucher) • Fieber unklarer Genese 		
peripheres Blut	<ul style="list-style-type: none"> • Anämie: nicht erforderlich, wenn Ätiologie klar (z.B. 		

Handbuch zur Primärprobenentnahme

VA-PÄ 02

	<p>Eisenmangel)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Erythrozytose: nicht erforderlich bei Sek. Polyglobulie oder relativer Erythrozytose, wohl aber zur Abgrenzung eines myeloproliferativen Syndroms • Neutropenie: erforderlich • Leukozytose: nicht erforderlich, wenn aufgrund anderer klinischer Daten von einer reaktiven Leukozytose auszugehen ist (z.B. Infektion, Steroid-Gabe) • Thrombopenie: erforderlich, nicht erforderlich bei V.a. ITP bei Patienten unter 60 Jahren • Thrombozytose: nicht erforderlich, wenn aufgrund anderer klinischer Daten von einer reaktiven Thrombozytose auszugehen ist (z.B. Infektion, Eisenmangel, etc.; dann sind aber weitere Verlaufskontrollen notwendig!) • Blasten: erforderlich • maligne Zellen: erforderlich 		
Liquor	<ul style="list-style-type: none"> • V.a. Infektionen des ZNS • bakteriell: z.B. Meningo-, Pneumo-, B-Streptokokken, Haemophilus infl., Listeria monocytogenes, Borellien • viral: z.B. Mumps, Masern, Varizellen, FSME, Herpes simplex • Pilzinfektion • Parasiten (opportunistische Infektion bei Immunsupprimierten) • Chronisch entzündliche Erkrankungen: z.B. Multiple Sklerose, Guillain-Barre-Polyneuritis • Tumore/Leukämien/Lymphome • intrathekale Medikamentenapplikation (Glucokortikosteroide, Chemotherapie) 		<p>1 ml für Zytomorphologie. Mind. 2 ml für Durchflusszytometrie (auf Anfrage kann Stabilisierungsmedium im Labor angefordert werden). Natives Material max. 2 h haltbar, deshalb sofortiger Transport ins Labor. Liquorproben dürfen nicht per Rohrpost versandt werden.</p>
Körperhöhlenergüsse	<ul style="list-style-type: none"> • diagnostische oder therapeutische Punktion eines 	<ul style="list-style-type: none"> • Blutungsanomalien (z.B. Hämophilie, 	

Handbuch zur Primärprobenentnahme

VA-PÄ 02

	<p>Ergusses</p> <ul style="list-style-type: none"> • Zytostatika-Instillation 	Marcumar®)	
Peritoneal-/Aszitespunktion	<ul style="list-style-type: none"> • Neu aufgetretener Aszites unklarer Ätiologie • Bekannter Aszites mit klinischer Verschlechterung, insbesondere bei Verdacht auf eine spontan bakterielle Peritonitis • Progredienz eines Aszites unbekannter Ursache • Therapeutische Punktion bei schmerzhaft gespanntem Abdomen sowie bei therapierefraktärem Aszites (Diuretikaresistenz) 	<ul style="list-style-type: none"> • hämorrhagische Diathese, z.B. Pat. mit Leberzirrhose und Gerinnungsstörung • hepatisches Präkoma, • große Ovarialzyste, • Gravidität, • Hydronephrose, • multiple Abdominal-OP oder Peritonitis in der Anamnese (Adhäsionen) 	
BAL	<ul style="list-style-type: none"> • Infektion • interstitielle Lungenerkrankung (Sarkoidose, allergische Alveolitis) • maligne Neoplasien, z.B. Lymphom 		10 ml BAL-Flüssigkeit (max. 2 h haltbar, deshalb sofortiger Transport ins Labor)
Hautbiopsat	<ul style="list-style-type: none"> • Untersuchung eines weiteren Gewebes bei V.a. Keimbahnvariante im Knochenmark oder PB nach humangenetischer Aufklärung 		<ul style="list-style-type: none"> • 5mm Hautstanze in physiologischer Kochsalzlösung bei Raumtemperatur. • Anmeldung im LFL mindestens 1 Tag vor Abnahme, • Eintreffen der Probe Montag bis Donnerstag bis spätestens 13:00, Keine Abnahme am Freitag. <ul style="list-style-type: none"> - Einwilligungserklärung des Patienten nach GenDX Gesetz - Untersuchungsauftrag des Institutes für Humangenetik: „Anforderungsschein-Postnataldiagnostik“, (Link auf Homepage) erforderlich. • Kultivierung der Fibroblasten erfolgt im Institut für Humangenetik am gleichen Tag • NGS Analyse erfolgt im LFL

1.6 Häufige Entnahmefehler

Bei der venösen Blutentnahme werden häufig folgende Fehler gemacht:

Handbuch zur Primärprobenentnahme

VA-PÄ 02

- bei der Entnahme aus einem Venenkatheter (Infusion) müssen die ersten 3 ml verworfen werden;
- zu lange Stauung (nicht länger als 30 Sekunden)
- „pumpen“ mit der Faust
- zu dünne Kanüle
- zu starke Aspiration
- unzureichende Durchmischung
- zu starkes Schütteln

1.7 Aspiration (Zytologie) versus Biopsie (Histologie)

Eine *Aspirationszytologie* ist immer dann ausreichend, wenn allein aus der Beurteilung der Zellen die Diagnose gestellt werden kann. Eine Biopsie ist jedoch bei Erstdiagnose einer Akuten Leukämie und bei „Punctio sicca“ (hier mit Abrollpräparat für die Zytologie) immer erforderlich. Eine *Knochenmarkbiopsie* sollte jedoch stets erfolgen, wenn das Knochenmark als Ganzes betrachtet werden muss, z.B. wenn die Topographie der Verteilung der hämatopoetischen Zellen diagnostisch wichtig ist, die zugrundeliegende Erkrankung mit einer Faservermehrung im Knochenmark einhergeht oder die für die Erkennung der hämatologischen Erkrankung entscheidenden Zellen nicht aspirabel sind (z.B. M. Hodgkin) bzw. ein nodulärer Befall vorliegen könnte (z.B. NHL).

1.8 Indikationen für Aspiration und Biopsie von Knochenmark

Tabelle 2: Indikationen der Analysen anhand der Erkrankung

Erkrankung	Aspiration	Biopsie
Myelodysplastische Neoplasie	+	+
Anämie	+	-
Neutropenie	+	(+)
Thrombopenie	+	(+)
Aplastische Anämie	(+)	+
Neutrophile Leukozytose	+	(+)
Polyglobulie, Polycythaemia vera	+	-
Akute Leukämien	+	initial
Chronische Leukämien	+	+

Handbuch zur Primärprobenentnahme

VA-PÄ 02

Plasmozytom / Multiples Myelom	+	(+)
M. Waldenström	+	+
NHL	+	+
Myelofibrose	(+)	+
Leukoerythroblastisches BB	+	+
Granulomatöse Krankheiten	-	+
Knochenmetastasen	(+)	+

Die Knochenmark-Stanze wird im Labor nur zum Zweck der Anfertigung von Abrollpräparaten benötigt, oder in ganz seltenen Fällen (Punctio sicca bzw. keine Blasten im peripheren Blut) kann aus dem Material der Knochenstanze eine Chromosomenanalyse versucht werden.

1.9 Verhalten bei Punctio sicca

Es kann versucht werden, durch Drehen der Sternalpunktionsnadel, Aspiration aus verschiedenen Schichttiefen sowie Herausziehen der Sternalpunktionsnadel mit aufgesetzter Spritze und anschließendem Ausspritzen des Nadelinhaltes doch noch Material zu gewinnen. Auch die Punktion auf der Gegenseite kann manchmal erfolgreich sein.

Sind auf diese Art und Weise jedoch keine Knochenmarkbröckel zu erhalten, sollte stets eine Knochenmarkbiopsie durchgeführt werden. Durch Abrollen der knöchernen Stanze zwischen zwei Objektträgern kann ein Herausschleudern der oberflächennahen Zellen erreicht werden. Diese so gewonnenen Ausstriche können gegebenenfalls eine frühere Diagnosestellung erlauben (als wenn erst das Ergebnis der histologischen Untersuchung abgewartet werden müsste; z.B. bei akuter Leukämie mit vollem Mark).

1.10 Interpretation

1.10.1 Ergüsse

In der Diagnostik und Interpretation von zytologischen Befunden in Ergüssen, sollten folgende Besonderheiten der serösen Höhlen (Pleura, Pericard, Peritoneum) berücksichtigt werden:

- Die Mehrzahl der Ergüsse sind in der Regel symptomatisch - reaktiv und deshalb unspezifischer Natur
- Die Zytologie muss in der Ergussdiagnostik alle morphologischen Fragen (Malignität, Histogenese und Ausgangsorgan bei metastatischen Tumoren) allein beurteilen, da hier eine histologische Bestätigung nicht erfolgt
- Die primären Krankheiten der serösen Höhlen (Hyalinose/Mesotheliome) sind äußerst selten
- Die Mesothelzelle ist eine pluripotente Zelle, die bei entzündlichen Reaktionen, wie auch bei malignen Tumoren, enorme Formvariationen zeigt. Sie kann alle im Körper vorkommenden Zellen imitieren

Handbuch zur Primärprobenentnahme

VA-PÄ 02

- Die Morphologie der Mesothelzellen und von Tumorzellen in Biopsien bzw. Tupfpräparaten weist gegenüber der Morphologie in Ergüssen sehr große Differenzen auf. Die abgeschilferten Mesothelzellen bzw. Tumorzellen im Erguss leben unter einem anderen Milieu. Dadurch erfahren sie auch eine morphologische Transformation. So kann ein histologisch plattenepithelial differenzierter Tumor z. B. im Erguss durchaus als Adenokarzinom erscheinen. Herkömmliche Malignitätskriterien sind daher im Erguss nicht immer anwendbar.
- Nicht alle malignen Tumore erscheinen zum gleichen Zeitpunkt in den Ergüssen. Das Plattenepithelkarzinom der Lunge zum Beispiel erscheint erst im sehr späten Stadium der Metastasierung im Erguss.
- Bei klinischem Verdacht auf einen malignen Erguss, sollte eine mehrmalige zytologische Untersuchung im Abstand von Tagen oder Wochen erfolgen.

Trotz der obengenannten Besonderheiten bei der Interpretation der Zytologie von Ergüssen kann eine große Anzahl von Erkrankungen im Erguss sehr sicher und zuverlässig diagnostiziert werden. Dazu zählen:

- Lymphome
- Leukämien
- Metastasierende Tumoren

1.10.2 Aszites

Entzündlicher Aszites entsteht bei einer Peritonitis oder Pankreatitis. Ein nicht entzündlicher Aszites hingegen ist auf eine Lebererkrankung (z. B. Leberzirrhose oder Pfortaderthrombose), auf fortgeschrittene Tumoren des Verdauungstraktes oder der Eierstöcke, auf Hypoproteinämie bzw. Hypalbuminämie oder Herzinsuffizienz zurückzuführen. Zerreißt ein Blutgefäß, entsteht ein so genannter hämorrhagischer Aszites. Beim chylösen Aszites kann die Darmlymphe, der sog. Chylus, nicht mehr über den Hauptlymphgang, den Ductus thoracicus, abfließen. Die meisten tumor- oder traumabedingten Lymphabflussstörungen, der daraus folgende Lymphstau und der Übertritt von Lymphflüssigkeit aus den Lymphgefäßen in die Bauchhöhle sind daher oft Grund für die Bildung solch eines Aszites.

1.10.3 Liquor

Für die richtige Interpretation ist eine unblutige Punktion entscheidend. Meist wird mit der diagnostischen Punktion zugleich auch eine zunächst prophylaktische Gabe von Zytostatika verbunden (z.B. ALL). Durch ein einstündiges Liegen auf dem Bauch in Kopftieflage wird eine bessere Verteilung der Zytostatika nach kranial erreicht wie auch ein postpunktionelles Syndrom vermieden. Im Liquor finden sich je nach Entnahmeort, hauptsächlich Lymphozyten und in geringerem Umfang auch Monozyten. Zudem enthält Liquor cerebrospinalis Eiweiße und Zucker. Pathologischer Liquor ist oft durch das Auftreten von Erythrozyten, Granulozyten, und eine Erhöhung des Eiweiß- und Zuckergehaltes gekennzeichnet. In einem zytologischen

Handbuch zur Primärprobenentnahme

VA-PÄ 02

Objektträgerpräparat werden die im Liquor enthaltenen Zellen identifiziert. Man sucht außer den oben genannten Zellarten nach Tumorzellen und Krankheitserregern wie Bakterien oder Parasiten. Die biochemische Analyse der Liquorflüssigkeit gibt Auskunft darüber, ob der Eiweiß- oder Zuckergehalt verändert ist.

1.10.4 Fibroblastenkultur nach Hautstanze

Der Verdacht auf das Vorliegen einer **Myeloischen Neoplasie** (MN) (AML, MDS, MPN, MDS/MPN) **mit Keimbahnprädisposition** (WHO 2022) kann sich bei Veränderungen in bestimmten Genen (WHO 2022: hauptsächlich *CEBPA*, *DDX41*, *TP53*, *GATA2*, *ANKR26*, *ETV6*) in der molekularen NGS Analyse ergeben. Dieser Verdacht kann durch ein Wiederholen der NGS Analyse aus einem weiteren gesunden Körpergewebe geklärt werden. Hierfür wird von der European Leukemia Net (ELN) die Analyse eines Hautbiopsats nach einer Kultivierung der Fibroblasten und damit Entfernung eventueller verunreinigenden Blutzellen empfohlen. Sowohl bei der Analyse von Mundschleimhaut als auch bei Fingernagelmateriale wurden Verunreinigung mit Blutzellen und falsch positive Ergebnisse beobachtet. Eine Klärung des Vorliegens einer MN mit Keimbahnprädisposition ist vor allem prognostisch und auch therapeutisch bei geplanter Transplantation mit einem Familienspender wichtig. Die Klärung einer Keimbahnprädisposition durch Analyse eines anderen Gewebes darf nur nach einer humangenetischen Aufklärung des Patienten nach dem Gendiagnostik Gesetz und unterschriebener Einwilligung durchgeführt werden (siehe S1 Leitlinie, Tumorgenetik, AWMF: [078-0171 S1 Tumorgenetik-Genetische-Diagnostik-bei-malignen-Erkrankungen 2022-03-verlaengert 01.pdf](#)). Sollte sich der Verdacht auf das Vorliegen einer Keimbahnvariante bestätigen, muss eine ausführliche genetische Beratung ggf. auch weiterer Familienmitglieder durchgeführt werden.

Siehe auch Kapitel 7.4 dieser VA.

2 Entsorgung des bei der Probenentnahme verwendeten Materials (interne Einsender)

Die [Entsorgungsvorschriften](#) des Klinikums der Universität München LMU müssen eingehalten werden.

Ansonsten gelten die jeweiligen Entsorgungsvorschriften der Kliniken oder Praxen, in denen das Primärprobenmaterial gewonnen wird.

Es ist darauf zu achten, dass spitze Gegenstände (Kanülen, Skalpelle etc.) in durchstichsichere Abfallgefäße entsorgt werden.

Bei der Entnahme der Primärproben muss aufgrund der Kontaminationsgefahr mit infektiösen Krankheiten ein besonderer Schutz beachtet werden, wie das Tragen von Handschuhen, Schutzbrillen u. ä. Auch um eine Übertragung von Infektionen auf den Patienten zu vermeiden, sind besondere Maßnahmen zu treffen (siehe auch Kap. 1).

Handbuch zur Primärprobenentnahme

VA-PÄ 02

3 Benötigte Probenmengen und -arten

Die unterschiedlichen Analysen benötigen unterschiedliche Probenmengen, die aber auch jeweils von der Zellzahl des Materials abhängig ist.

Tabelle 3: Materialanforderungen

Analyse	Material	Antikoagulanz
Zytomorphologie	<ul style="list-style-type: none"> • 6-8 ungefärbte Knochenmark- und periphere Blutausstriche • auch Flüssigmaterial für im Labor selbst anzufertigende Ausstriche • mind. 1 ml Liquor, Ascites- oder Pleuraerguss 	EDTA/Citrat
Zytogenetik: Chromosomenanalyse	<ul style="list-style-type: none"> • möglichst 5-10 ml Knochenmark 	Heparin
Zytogenetik: FISH	<ul style="list-style-type: none"> • möglichst 5-10 ml Knochenmark 	EDTA, Heparin möglich
Molekulargenetik (PCR, qRT-PCR, Mutationsanalysen u.ä.)	<ul style="list-style-type: none"> • möglichst 5-10 ml Knochenmark und/oder peripheres Blut (anderes Material nur nach Rücksprache) 	EDTA, Citrat, Heparin möglich
FACS/Immunphäotypisierung	<ul style="list-style-type: none"> • 5-10 ml Knochenmark und/oder peripheres Blut (bei AML-MRD im Verlauf ungeeignet), mind. 2 ml Liquor, 5-7 ml Ascites- oder Pleuraerguss (nur nach Rücksprache) 	EDTA, Citrat

Da für einige Untersuchungen frische noch lebende Zellen benötigt werden, sollte eine Transportdauer von **24 Stunden** nicht überschritten werden.

Zu den zeitkritischen Proben gehören Liquorpunktate. Die Zellen im Liquor sind nicht durch Nährstoffe versorgt und gehen deshalb innerhalb kurzer Zeit unter. Zu einer qualitativ hochwertigen Analyse sollten die Liquorproben deshalb nicht älter als 2 Stunden sein.

3.1 Dringendes Untersuchungsmaterial/Einsendungen

Aufgrund der zugrundeliegenden Erkrankungen die in unserem Labor diagnostiziert werden, unterliegen die meisten Probeneinsendungen einer hohen Dringlichkeit.

Es gibt jedoch auch innerhalb dieser Erkrankungen Diagnosen, die eine hohe Priorität aufweisen. Dazu gehört z. B. die Diagnose einer PML-RARA positiven AML (APL).

Die Diagnose kann nur durch das Zusammenspielen der zytomorphologischen und molekularzytogenetischen Analysen gestellt werden. Ein Ergebnis kann innerhalb von 5 Stunden geliefert werden (siehe auch VA-PA 04).

Handbuch zur Primärprobenentnahme

VA-PÄ 02

3.2 Nachforderung von Untersuchungen

Die Durchführung von zusätzlichen, auf dem Anforderungsschein nicht gestellter Untersuchungen ist prinzipiell möglich. Diese Nachforderungen können telefonisch oder per Fax gestellt werden.

Nachmeldungen von Anforderungen sind untersuchungsabhängig innerhalb einer bestimmten Zeit möglich. Die Art der gewünschten Analyse ist entscheidend dafür, ob eine Untersuchung abhängig von der Lagerungszeit noch medizinisch valide durchgeführt werden kann.

An- oder Nachforderungen können jederzeit telefonisch unter 089-440074977 innerhalb unserer Öffnungszeiten angefordert werden.

Öffnungszeiten des Labors zur Probenannahme:

Mo.– Fr.	8.30 – 16:00 Uhr
Sa.	8.30 – 11.00 Uhr

Ihre Nachforderung wird dann entsprechend dokumentiert und ausgeführt.

Nicht in allen Analysebereichen ist eine Nachforderung von Untersuchungen möglich bzw. ist die Nachforderung aufgrund des Materials und der Arbeitsschritte möglich. Wir beraten Sie hierzu gerne.

Tabelle 4: Angaben für die Nachforderung von Analysen

Anforderung	KM	PB	Liquor
Zytomorphologie	Am gleichen Tag der Einsendung	Am gleichen Tag der Einsendung	Innerhalb von 2 h
Immunphänotypisierung	Bis zu 3 Tagen nach der Einsendung	Bis zu 3 Tagen nach der Einsendung	Innerhalb von 2 h
Chromosomenanalyse	Am gleichen Tag der Einsendung	Am gleichen Tag der Einsendung	-
FISH	Wenn Material archiviert, sonst am gleichen Tag der Einsendung	Wenn Material archiviert unbegrenzt, sonst am gleichen Tag der Einsendung	Innerhalb von 2 h
Molekularanalysen	Wenn Material archiviert 3 Monate, sonst am gleichen Tag der Einsendung	Wenn Material archiviert 3 Monate, sonst am gleichen Tag der Einsendung	Innerhalb von 2 h

Handbuch zur Primärprobenentnahme

VA-PÄ 02

4 Beeinflussung der Untersuchungsergebnisse

4.1 Einflussgrößen

Einflussgrößen sind Faktoren, die in vivo zu Konzentrationsänderungen von Substanzen in dem zu untersuchenden System (Blut, Knochenmark usw.) führen. Sie sind damit unabhängig vom Analyseverfahren.

Zu den Einflussgrößen gehören unter anderem:

- Geschlecht
- Genetik (Erbfaktoren)
- ethnische Zugehörigkeit
- Lebensalter
- Medikamente

Die Einnahme von Medikamenten kann die Ergebnisse verschiedener Untersuchungen beeinflussen. Eine Immuntherapie z. B. kann die Messung der Oberflächenantigene bei der FACS-Analyse beeinflussen. Zum anderen hemmen Chemotherapeutika oder andere Medikamente das Zellwachstum, was einen starken Einfluss auf das Ergebnis der zytogenetischen Analysen haben kann.

4.2 Störgrößen

Störgrößen sind Beeinflussungen in vitro, also nach der Entnahme des Untersuchungsmaterials. Sie können methodenabhängig oder methodenunabhängig sein.

Methodenabhängige Störgrößen sind unter anderem:

- Hämolyse
 - langes Stauen
 - schnelle Aspiration, sowohl bei der Blutentnahme, als auch der Knochenmarkaspiration
 - zu kleines Kanülenlumen
 - fehlende Vermischung mit den Antikoagulanzen
 - zu starkes Abkühlen oder Erwärmen
- falsches oder gar kein Antikoagulanzen
 - kein Zellwachstum bei EDTA oder Citrat für die Zytogenetik
 - Inhibierung der PCR durch Heparin
 - Färbeartefakte bei der Pappenheimfärbung durch Heparin, Beurteilung der Zellen unmöglich
 - wird gar kein Antikoagulanzen zugegeben oder nicht ausreichend gemischt koaguliert das Material und es sind keine Zellen mehr zugänglich
- Alter und Lagerung des Untersuchungsmaterials
 - ist das Material zu alt, sind die Zellen lysiert (hämolytisch) und eine Analyse ist nicht mehr möglich

Handbuch zur Primärprobenentnahme

VA-PÄ 02

4.3 Gründe für die Zurückweisung von Untersuchungsmaterial

Allgemein gelten folgende Gründe für die Nichtbearbeitung von Probenmaterial:

- nicht oder unvollständig ausgefüllte Patienteneinverständniserklärung
- die Zellzahl ist zu gering
- das Material ist zu alt
- Material geronnen/ stark hämolytisch/ autolytisch

Da die einzelnen Analysebereiche aber auch separate Anforderungen an das Untersuchungsmaterial stellen, sind in der folgenden Liste diese nach Untersuchungsmethoden getrennt aufgeführt:

4.3.1 Zytomorphologie

- als Antikoagulant wurde kein EDTA oder Citrat verwendet

4.3.2 Zytogenetik

- als Antikoagulant wurde kein Heparin verwendet

4.3.3 Molekulargenetik

- die Qualität der RNA, angegeben als Menge an *ABL1* Kopien (*ABL1/p210* RQ PCR), ist nicht ausreichend. (gemäß der ELN 2022 Empfehlungen ≥ 10.000 *ABL1* Kopien, optimal: ≥ 30.000 *ABL1* Kopien).
- die Qualität der DNA, spektrometrisch gemessen mittels Nanodrop Ratio 260/280 ist außerhalb des zulässigen Bereiches (siehe FB-QK32: 1,8-2,1

4.3.4 Immunphänotypisierung

- bei der ALL- und AML-MRD Diagnostik liegt kein Knochenmark vor
- Zellzahl zu gering (je nach Panel 1×10^6 Zellen pro Ansatz)
- Blastenanteil im peripheren Blut ist zu gering

Hinsichtlich der medizinischen Versorgung im Interesse des Patienten kann im Einzelfall nach Rücksprache mit dem Einsender bzw. der Leitung des Labors entschieden werden, ob die Probe trotzdem bearbeitet werden kann. Dies wird entsprechend in der Datenbank des LFL dokumentiert. Wird die Probe angenommen, so muss nach Abwägung des Risikos für die Patientensicherheit im Befund auf die Art des Problems hingewiesen und ggf. zur Vorsicht bei der Interpretation von Ergebnissen geraten werden.

5 Kriterien für die Probenannahme

Untersuchungsmaterial kann nur mit einem vollständig ausgefüllten Anforderungsbogen angenommen werden. Auch muss beim Transport des Untersuchungsmaterials vom Absender dafür Sorge getragen werden, dass kein Material auslaufen kann und dadurch die Röhrchen von außen verunreinigt werden.

Vollblut und Knochenmarkspirat ohne Zusatz von Antikoagulant werden vernichtet.

Handbuch zur Primärprobenentnahme

VA-PÄ 02

5.1 Transport interner Einsender (Großhadern Rohrpostversand)

Der Anforderungsbogen darf nicht zusammen mit dem unverpackten Untersuchungsmaterial (Spritzen) in einer Plastiktüte verschickt werden (siehe Kapitel Verpackung, Kennzeichnung und Transport). Sind der Anforderungsbogen, die Einwilligung und/oder die Materialverpackung stark mit Knochenmark oder Blut verunreinigt, wird nach telefonischer Ankündigung das Material wieder zurückgeschickt mit der Bitte um Reinigung bzw. um erneutes Ausfüllen des Anforderungsbogens und der Einwilligung.

Fehlende Informationen sollen telefonisch angefragt werden. Es soll dazu das Formblatt *FB-LA 02 Unvollständiges Probenmaterial* als Dokumentation dienen. Das Untersuchungsmaterial lagert bis zur abschließenden Klärung in der schwarzen Schale „Quarantäne“ am Probeneingang.

Liquorproben dürfen nicht per Rohrpost versandt werden.

5.2 Transport externer Einsender

Aufgrund der Haltbarkeiten der eingesendeten Materialien kann das Untersuchungsmaterial von externen Einsendern nicht an sie zurückgeschickt werden. Deshalb müssen fehlende Informationen telefonisch angefragt werden. Es soll dazu das Formblatt *FB-LA 02 Unvollständiges Probenmaterial* als Dokumentation dienen. Das Untersuchungsmaterial lagern bis zur abschließenden Klärung in der schwarzen Schale „Quarantäne“ am Probeneingang.

Patientenmaterial, das nicht ordnungsgemäß vom Absender verpackt wurde, muss angenommen werden. Der Einsender wird telefonisch informiert.

Tabelle 5: Lagerung des Probenmaterials im Labor

Materialart	Lagerungs-temperatur	Aufbewahrungszeit	Aufbewahrungsort
peripheres Blut pB	Raum-temperatur	3-5 Tage	gelbe WIVA-Box am Probeneingang
Knochenmark KM	Raum-temperatur	3-5 Tage	gelbe WIVA-Box am Probeneingang
mononukleäre Zellen aus pB oder KM	4-8°C	1 Tag	Kühlschrank Nr. 25
Pleurapunktat	4-8°C	1 Tag	Kühlschrank Nr. 25
Ascitespunktat	4-8°C	1 Tag	Kühlschrank Nr. 25
Liquor	4-8°C	Bis zu 3 Tagen mit TransFix® stabilisiert (anschließend nur für FACS-Analyse)	Kühlschrank Nr. 25
Hautbiopsat in physiologischer Kochsalzlösung	Raum-temperatur	1 Tag	7K 02 610
RLT-Reste	-20°C	6 Monate	7K 02 610
RLT-Reste	-80°C	unbegrenzt	7K U2 655

Handbuch zur Primärprobenentnahme

VA-PÄ 02

Objektträger Morphologie Zytogenetik	aus und	Raumtemperatur	10 Jahre (nach Volljährigkeit des Patienten)	7K 02 610
Objektträger Ausstriche für FISH		Raumtemperatur	3 Monate	7K 02 610
FISH-Objektträger		4-8°C	3 Monate	7K 02 610
M-FISH-Objektträger		4-8°C	6 Monate	7K 02 610
Fix-Reste		-20°C	unbegrenzt	7K U2 655
gDNA		4-8°C bis -80°C	unbegrenzt	7K U2 655
cDNA		-20°C	6 Monate	7K 02 610
cDNA		-80°C	unbegrenzt	7K U2 655
Zellpellets		-80°C	unbegrenzt	7K U2 655
viable Zellen		-80°C	max. 2 Wochen (dann in N2 im ELLF unbegrenzt)	7K U2 655 ELLF

6 Untersuchungsantrag und Einverständniserklärung

6.1 Ausfüllen des Untersuchungsauftrags

6.1.1 Seite 1 Allgemeine Angaben

Der aktuelle Untersuchungsauftrag liegt diesem Dokument im Anhang bei. Es soll immer in Papierform der Einsendung beigelegt werden. In Ausnahmefällen kann der Auftrag per Fax an uns geschickt werden. Dieser wird im Labor ausgedruckt.

Labormedizinische Untersuchungen sind Leistungen, die nicht nur die Erstellung der Analyse beinhalten, sondern auch die Interpretation und Bewertung der Analysenergebnisse. Soweit für die Fragestellung relevant, sollten auch vorhandene andernorts erstellte Vorbefunde (am besten in Kopie) mitgeteilt werden.

Angaben zu Material:

- Ankreuzen der beigefügten Materialart
- Anzahl der beigefügten Ausstriche bitte angeben
- Angabe Tag und Uhrzeit der Materialentnahme
- Angabe ob Erstdiagnose oder Verlauf
- Studienbezeichnung und Studiennummer wenn vorhanden
- Auswahl der angeforderten Untersuchungen (Zytomorphologie, Chromosomenanalyse, FISH, Molekulargenetik, Immunphänotypisierung)

Angaben über den Patienten:

Handbuch zur Primärprobenentnahme

VA-PÄ 02

- Eindeutige Rückführbarkeit des Patienten zur Anforderung und Probe
- Versicherungsstatus des Patienten angeben Privat (PKV/Wahlleistung) oder nicht privat (GKV/Überweisung)
- Geschlecht bitte ankreuzen
- Patientenetikett bitte aufkleben mit Angaben über Namen, Vorname, Geburtsdatum, Adresse, Krankenversicherung (ggf. handschriftliche Angaben)

bei stationären Patienten bitte auch Station

Angaben zum aktuellen Blutbild

- Anzahl der Leukozyten und Thrombozyten und den Hämoglobinwert
- Angaben zum Differenzialblutbild (wenn vorhanden)

Angaben zu Diagnose und bisheriger Therapie

- Diagnose bzw. die Verdachtsdiagnose eintragen
- Therapieverlauf und Zeitpunkt, z.B. Angaben zu bisher erhaltenen Therapien (Medikationen, Radiatio, Transplantationen u. ä.)

Angaben zum Einsender

- Name und Adresse des einsendenden Klinikums und/oder Arztes/Ärztin (bitte unbedingt leserlich schreiben)
- Telefonnummer, Faxnummer, Stempel

Für die Patientenversorgung ist es ggf. erforderlich Rücksprache mit den Einsendern zu halten. Dies dient dann die Anforderung des Einsenders zu klären bzw. offene Punkte auf dem Untersuchungsauftrag zu klären. Die Ergebnisse der Absprachen werden auf dem Untersuchungsauftrag bzw. in der Datenbank dokumentiert.

6.1.2 Seite 2 Molekulargenetik

Der „Ergänzungsbogen Molekulargenetik“ gibt dem Einsender einen genauen Einblick in die molekulargenetischen Analysen, die bei einer bestimmten Verdachtsdiagnose im Labor für Leukämiediagnostik durchgeführt werden können, um eine diagnostische und prognostische Einschätzung nach den aktuellen Richtlinien der WHO bzw. ELN zu ermöglichen. Außerdem ist klar dargestellt, welche molekulargenetischen Analysen im Unterauftrag durchgeführt werden.

Zusätzlich zur Angabe der Diagnose bzw. Fragestellung auf Seite 1, kann die Verdachtsdiagnose auf Seite 2 bei Wunsch auf eine molekulare Diagnostik nochmals angewählt bzw. auch ergänzt werden.

Der Einsender erhält teilweise auch die Möglichkeit spezifische molekulargenetische Analysen aktiv anzuwählen. Dies ist bei „Myeloproliferativen Neoplasien/CML“ sowie bei der „Akuten lymphatischen Leukämie“ für eine Durchführung einer *ABL1* Mutationsanalyse bei Verdacht auf eine TKI Resistenz möglich. Außerdem kann im Abschnitt „Quantitative Verlaufsdagnostik

Handbuch zur Primärprobenentnahme

VA-PÄ 02

(MRD)“ der vorbekannte molekulare Marker zur molekularen Quantifizierung im Verlauf angewählt werden.

6.1.3 Seite 3 Immunphänotypisierung

Neben den typischen Indikationen zur Durchführung einer immunphänotypischen Diagnostik zum Zeitpunkt der Erstdiagnose einer hämatologischen Neoplasie (z.B. Identifikation und Linienzugehörigkeit von akuten Leukämien und Lymphomen, Nachweis von malignen Zellen im Liquor und Ergüssen) bietet unser Labor Spezialdiagnostik an. Der „Ergänzungsbogen Immunphänotypisierung“ gibt dem Einsender genauen Einblick in die vom Labor für Leukämiediagnostik angegebene durchflusszytometrische Spezialdiagnostik.

Dabei kann der Einsender zwischen den folgenden Möglichkeiten wählen:

- Identifikation von therapierelevanten Target-Antigenen (z.B. CD20-Expression bei ALL, MM)

Hier müssen Angaben zur Grunderkrankung und zum entsprechenden Target-Antigen gemacht werden.

- Klonalitätsanalyse bei (V.a.) T-Zell-Lymphom: TCR-Analyse (TCR-V β -Repertoire Kit)

Diese Analyse soll nur bei V.a. T-Zell-Lymphom anfordert werden.

- Verlaufsbeurteilung Lymphom

Hier muss die Angabe zur Grunderkrankung gemacht werden. Falls die gesuchte Erkrankung nicht in der Auswahl erscheint, hat der Einsender die Möglichkeit die entsprechende Grunderkrankung im Feld „Sonstiges“ als Freitext einzufügen.

- Durchflusszytometrische MRD-Diagnostik

Hier muss die Angabe zur Grunderkrankung gemacht werden. Dabei gilt zu beachten, dass eine MRD-Verlaufsdiagnostik für eine AML ausschließlich durchgeführt werden kann, wenn dem Labor für Leukämiediagnostik eine Erstdiagnose- bzw. Rezidiv Messung vorliegt.

Außerdem muss die Angabe zum entsprechenden Untersuchungszeitpunkt angegeben werden. Falls der gesuchte Zeitpunkt nicht in der Auswahl erscheint, hat der Einsender die Möglichkeit den entsprechenden Zeitpunkt im Feld „Sonstiges“ als Freitext einzufügen.

- CD19-CAR T-Zell-Detektion zu wissenschaftlichen Zwecken

Hier müssen die Angaben zur entsprechenden Grunderkrankung des Patienten, das verabreichte CAR-Produkt sowie das Datum der CAR-Transfusion gemacht werden.

6.2 Anforderungen über das Klinische Auftragssystem KAS – KLAU anlegen (gilt nur für das KUM)

Die Materialeinsendungen aus dem Klinikum der Universität München werden über das KAS – KLAU System angemeldet.

Handbuch zur Primärprobenentnahme

VA-PÄ 02

6.3 Ausfüllen der Patienteneinverständniserklärung/Aufklärung

Die Patienteneinverständniserklärung für die Durchführung der Untersuchungen und ggf. Nutzung überschüssigen Materials in der Forschung ist per Link im Anhang diesem Dokument angefügt.

Die Einverständniserklärung der Patienten ist bitte immer beizulegen.

6.3.1 *Patienteninformation*

Die Patienteninformation dient zur Aufklärung der Patienten über die bei ihnen durchzuführenden Analysen. Sie ist ein Leitfaden für den aufklärenden Arzt und es sollten sowohl ein ausgefülltes und unterschriebenes Exemplar der Patientenakte beigefügt werden, als auch ein zweites Exemplar dem Patienten mitgegeben werden.

Wir benötigen nur eine vollständig ausgefüllt und unterschriebene Kopie der Einwilligung.

Ausfüllen der Einwilligungserklärung

- Patientennamen und Geburtsdatum
- Angaben zur erfolgten Aufklärung durch behandelnden Arzt/Ärztin (Ja/Nein)
- Angaben zur Einwilligung für die durchzuführenden Untersuchungen (Ja/Nein)
- Ort, Datum
- Name, Vorname und Unterschrift behandelnder/aufklärender Arzt
- Name, Vorname und Unterschrift Patient bzw. Erziehungsberechtigter

jugendliche Patienten über 12 Jahren sollten zusammen mit ihrem Erziehungsberechtigten unterschreiben

- Angaben zur Einwilligung in Gebrauch überschüssigen Untersuchungsmaterials zu Forschungszwecken (in pseudonymisierter Form)
- Name, Vorname und Unterschrift zur Freiwilligkeit der gemachten Einwilligung

Es ist wichtig, dass alle Kreuze gemacht werden und das sowohl der aufklärende Arzt, als auch der/die Patient/in unterschreibt. Der/die Patient/in muss zweimal unterschreiben!

Wenn das Einholen der Einwilligung in Notfallsituationen nicht möglich ist, darf das Labor notwendige Untersuchungen durchführen, vorausgesetzt sie liegen im Interesse des Patienten.

6.4 Anforderungen nach Gendiagnostikgesetz (GenDG)

Patienten bei denen der Verdacht einer tumorassoziierten Keimbahnmutation besteht, fallen unter das Gendiagnostikgesetz, das am 01.02.2010 in Kraft getreten ist. Für die Erstellung und den Umgang mit Befunden nach GenDG sind daher folgende Aspekte zu berücksichtigen.

Die wichtigsten Regelungen

- Genetische Laboruntersuchungen dürfen nur mit schriftlicher Einwilligung des Getesteten oder seines gesetzlichen Vertreters erfolgen.
- Vor Einholung der Einwilligung hat der verantwortliche Arzt über Zweck, Art und Umfang, Aussagekraft sowie eventuelle Risiken der vorgesehenen Untersuchung aufzuklären.

Handbuch zur Primärprobenentnahme

VA-PÄ 02

- Die Patienten müssen auf Ihr Recht hingewiesen werden, bis zum Abschluss der Untersuchung die Einwilligung jederzeit zurückziehen zu können. Ferner darauf, dass sie die Anweisung geben können, dass ihnen das Ergebnis nicht mitgeteilt und ggf. auch vernichtet werden soll.
- Falls die Untersuchungsergebnisse an andere Ärzte (z. B. Hausarzt, Frauenarzt usw.) mitgeteilt werden sollen, ist hierfür ein schriftliches Einverständnis des Patienten erforderlich.
- Die Patienten müssen darüber entscheiden, ob die Probe nach Abschluss der Untersuchungen sofort vernichtet werden soll (Standardregelung lt. GenDG). Alternativ ist eine Aufbewahrung für eine begrenzte Zeit oder ohne Fristbegrenzung möglich, z. B. für Zusatzuntersuchungen, Maßnahmen der Qualitätssicherung usw.
- Die Patienten müssen darüber entscheiden, ob die Ergebnisse der Untersuchung nach der gesetzlichen Standardfrist von zehn Jahren vernichtet oder länger aufbewahrt werden sollen.
- Die Patienten müssen darüber entscheiden, ob ihnen die Ergebnisse schriftlich (± telefonisch) oder im persönlichen Gespräch mitgeteilt werden sollen. Bei auffälligen Befunden besteht diese Wahlmöglichkeit nicht. Eine Wiedervorstellung zur persönlichen Besprechung der Resultate ist dann verpflichtend.

6.4.1 §8 Einwilligung

Ohne eine Aufklärung des Patienten und dessen Einwilligung in die entsprechende Untersuchung, darf diese nicht durchgeführt werden (§8).

Die ärztliche Person, die die Untersuchung in Auftrag gibt, hat dafür Sorge zu tragen, dass der Patient eine Aufklärung nach GenDG (§9) erhält und bei Zustimmung das Einwilligungsförmular (FB-PÄ 25) ausfüllt.

Wird eine Untersuchung nach GenDG durchgeführt, werden die Untersuchungsprotokolle oder Karteikarten (Molekulargenetik) speziell gekennzeichnet z.B. mit einem grünen Sticker.

6.4.1.1 §11 Mitteilung der Ergebnisse genetischer Untersuchungen und Analysen

Die Mitteilung von Befunden ist nach GenDG §11 genau festgelegt, deshalb dürfen Befunde nach GenDG nicht ins KAS gestellt werden. Der Befunder ist dafür verantwortlich, dass die Befunde entsprechend der Einwilligungserklärung (siehe auch §11) mitgeteilt werden.

6.4.1.2 §12 Aufbewahrung und Vernichtung der Ergebnisse genetischer Untersuchungen und Analysen

Die Aufbewahrungsfristen für Ergebnisse und Analysen sind im GenDG §12 geregelt. Der Patient hat jedoch die Möglichkeit die Aufbewahrung der Ergebnisse zu verlängern, dies ist aus der Einwilligungserklärung zu entnehmen. Der Zeitpunkt der Vernichtung von Ergebnissen genetischer Untersuchungen und Analysen wird im FB-PÄ 26 dokumentiert.

Handbuch zur Primärprobenentnahme

VA-PÄ 02

Damit durch die Vernichtungspflicht keine wichtigen Informationen für die Gesundheit und Lebensplanung der Betroffenen und insbesondere deren Angehörigen verloren gehen, hat der Gesetzgeber Ausnahmen von der Vernichtungspflicht ermöglicht:

1. Die untersuchten Personen können durch schriftliche Erklärungen eine längere Aufbewahrung verlangen. Die verantwortliche ärztliche Person muss dann ggf. von ihr gemäß § 7 Abs. 2 GenDG beauftragte Personen/Einrichtungen von der Verlängerung der Aufbewahrungsfrist unterrichten. Diese haben dann die Ergebnisse in ihren Unterlagen ebenfalls entsprechend länger aufzubewahren.
2. Die verantwortliche ärztliche Person kann die Vernichtung von Ergebnissen im eigenen Ermessen und ohne schriftliche Zustimmung der Betroffenen aussetzen, wenn nach ihrer Einschätzung Grund zu der Annahme besteht, dass durch eine Vernichtung schutzwürdige Interessen der untersuchten Person beeinträchtigt würden. Auch dann hat die verantwortliche ärztliche Person ggf. von ihr gemäß § 7 Abs. 2 GenDG beauftragte Personen/Einrichtungen von der Aussetzung der Vernichtung zu unterrichten, damit diese die Vernichtung der Ergebnisse in ihren Unterlagen ebenfalls aussetzen.

Einer Vernichtung auf Wunsch der untersuchten Person ist ebenfalls möglich, allerdings nur bis zur Ergebnismitteilung. Nach Kenntnisnahme der Ergebnisse ist deren Vernichtung erst nach Ablauf der gesetzlich vorgeschriebenen Aufbewahrungsfrist von 10 Jahren zulässig, auch wenn die Betroffenen eine frühere Vernichtung wünschen.

Praktische Umsetzung der Vernichtungspflicht

Um Ergebnisse zu vernichten, reicht es aus, sie derart unkenntlich zu machen, dass die gespeicherte Information von Menschen nicht mehr zur Kenntnis genommen werden kann. Papierne Unterlagen können dazu geschreddert oder unter geschützten Bedingungen datenschutzkonform verbrannt werden. Elektronische Dateien werden üblicherweise nur durch Löschung der Dateibezeichnung im Dateikatalog unzugänglich gemacht, ohne dass dabei die Information innerhalb der Datei gelöscht wird. Aufwändiger ist die Löschung einzelner Datenfelder innerhalb einer Datei, eines Datensatzes oder einer Datenbank in einem medizinischen Informationssystem. Dies ist sogar rechtlich bedenklich, da die Datensicherung aus Gründen der Dokumentenechtheit auf unveränderbaren Datenträgern erfolgen muss und alle Änderungen in papiernen und elektronischen Patientenakten sichtbar bleiben müssen (Patientenrechtegesetz, § 630f Abs. 1 Satz 2 f. BGB).

Verständnisfragen der Vernichtungspflicht

Der Gesetzestext enthält einige konkrete Anweisungen zur Vernichtungspflicht (siehe Tabelle 1, Abschnitt A), die jedoch für deren praktische Umsetzung nicht ausreichen. Die Gendiagnostik-Kommission (GEKO) hat sich deshalb frühzeitig intensiv mit diesem Thema befasst und in ihrem dritten Tätigkeitsbericht[7] Antworten auf einige offene Fragen gegeben (siehe Tabelle 1, Abschnitt B), aber auch die Klärung folgender Fragen eingefordert:

1. Was gehört zu den vernichtungspflichtigen Ergebnissen genetischer Analysen und Untersuchungen und was sind genetische Daten, die nicht vernichtet werden

Handbuch zur Primärprobenentnahme

VA-PÄ 02

müssen? Der Gesetzgeber hat zwar eine Legaldefinition für genetische Daten eingeführt, jedoch nicht verbindlich definiert, was er unter dem unbestimmten Rechtsbegriff „Ergebnisse genetischer Analysen und Untersuchungen“ versteht.

2. Was sind „schutzwürdige Interessen“ der untersuchten Person, die durch eine Vernichtung der Ergebnisse beeinträchtigt werden könnten mit der Folge, dass die Vernichtungspflicht auszusetzen ist“?
3. Wie soll verfahren werden, wenn die Vernichtungspflicht nach GenDG im Konflikt zu bereits bestehenden Aufbewahrungspflichten steht?
4. Wann beginnt die 10jährige Aufbewahrungspflicht? Mit dem Abschluss der genetischen Analyse/Untersuchung oder – wie in der Medizin allgemein üblich – nach Abschluss der Behandlung?
5. Wie kann eine ggf. erforderliche Neubewertung genetischer Eigenschaften erfolgen, wenn die Ergebnisse der genetischen Analyse/Untersuchung bereits vernichtet wurden?

Überlegungen zur Umsetzung der Vernichtungspflicht im 3. Tätigkeitsbericht der GEKO

Da erbliche genetische Eigenschaften unveränderlich sind und dadurch lebenslang von Bedeutung sein können, kann nach Ansicht der GEKO nahezu regelhaft eine Begründung gefunden werden, warum eine Vernichtung von Untersuchungs- und Analyseergebnissen schutzwürdige Interessen der untersuchten Person beeinträchtigt. Schutzwürdig können nach Ansicht der GEKO sowohl positive Ergebnisse im Sinne des Nachweises einer klinisch relevanten genetischen Eigenschaft (z. B. Nachweis einer Mutation oder eines relevanten Polymorphismus) als auch negative Ergebnisse (z. B. Ausschluss einer Mutation oder eines relevanten Polymorphismus) sein. Eine objektive Schutzwürdigkeit ist nach Ansicht der GEKO sogar unabhängig vom Ergebnis anzunehmen, wenn bei auffälliger Familienanamnese diagnostische genetische Untersuchungen bei Betroffenen (sog. Indexfall) durchgeführt wurden.

Die GEKO weist ferner darauf hin, dass bei jeder genetischen Variante von unklarer klinischer Bedeutung (VUS) so lange von einem schutzwürdigen Interesse ausgegangen werden muss, bis deren Bedeutung geklärt sei.

Tabelle 6: Was fällt unter die Vernichtungspflicht nach § 12 GenDG und was nicht?

Abschnitt A: Zuordnungen, die sich aus den §§ 3, 7, 8 und 12 GenDG ableiten lassen

Der Vernichtungspflicht unterliegen

Der Vernichtungspflicht unterliegen nicht

die Ergebnisse genetischer

die im Rahmen einer genetischen Untersuchung oder

Handbuch zur Primärprobenentnahme

VA-PÄ 02

Untersuchungen und Analysen	Analyse erhobenen genetischen Daten
<ul style="list-style-type: none"> - in den Unterlagen zur untersuchten Person- der verantwortlichen ärztlichen Person und - ggf. von ihr beauftragter Personen/Einrichtungen 	<ul style="list-style-type: none"> - zu Verwandten der untersuchten Person - anderer Ärzte und Personen, welche diese mit dem erklärten Einverständnis der untersuchten Person von einer verantwortlichen ärztlichen Person erhalten haben
	<p>Unterlagen über</p> <ul style="list-style-type: none"> - genetische Beratungen ohne genetische Analyse/Untersuchung - die Erhebung der Eigen- und Familienanamnese - die Bewertung von Vorbefunden - körperliche Untersuchungen im Rahmen einer postnatalen klinisch-genetischen Diagnostik (sog. Phänotypanalyse), <p>da dies keine genetischen Untersuchungen im Sinne von § 3 Nr. 1 und 2 GenDG sind.^a</p>

Tabelle 7: Abschnitt B: Zuordnungen, welche die GEKO in ihrem 3. Tätigkeitsbericht erwogen hat^b

Vernichtungspflichtige Ergebnisse	Nicht vernichtungspflichtige Daten sind
<ul style="list-style-type: none"> - Ergebnisse genetischer Analysen dürften in Abgrenzung zur Legaldefinition genetischer Daten „zumindest eine technische Validierung oder Auswertung der genetischen Daten implizieren.“ - Sie „bestehen im Nachweis des Vorliegens oder Nicht-Vorliegens der untersuchten genetischen Eigenschaft.“ 	<ul style="list-style-type: none"> - genetische Rohdaten und Daten ohne technische Validierung oder Auswertung
<ul style="list-style-type: none"> - Ergebnisse übergeordneter genetischer Untersuchungen setzen eine abschließende Bewertung voraus.^c - Sie „bestehen aus dem Ergebnis der genetischen Analyse einschließlich deren Beurteilung unter Berücksichtigung des individuellen Kontextes“ und entsprechen „dem 	<ul style="list-style-type: none"> - genetische Rohdaten und Daten ohne abschließende Bewertung

Handbuch zur Primärprobenentnahme

VA-PÄ 02

Inhalt ärztlicher Befunde und Briefe über genetische Beratungen.^a

- | | |
|---|--|
| - z. B. Variantenpriorisierung/-auswertung nach NGS in verschiedenen Formaten | - Sequenzierrohdaten im BCL-Format |
| - z.B. schriftliche oder elektronische Befundberichte im pdf/doc-Format | - Reads im FASTQ-Format |
| | - Alignment im BAM-Format |
| | - Qualitätsmessungen in verschiedenen Formaten |
| | - detektierte Varianten im VCF-Format |

^aGesetzesbegründung, S. 17.

^b3. Tätigkeitsbericht der GEKO, Seite 31 ff.

^c§ 3 Nr. 1 GenDG: „Im Sinne dieses Gesetzes ist genetische Untersuchung eine ... a) genetische Analyse ... oder b) vorgeburtliche Risikoabklärung einschließlich der Beurteilung der jeweiligen Ergebnisse.“

^d3. Tätigkeitsbericht der GEKO, Seite 35: „Keine einheitliche Meinung lag ... bezüglich der detektierten Varianten im VCF-Format vor.“ Da diese für eine erneute Beurteilung der klinischen Relevanz genetischer Varianten nutzbar sind, könne eine Aufbewahrung durchaus sinnvoll erscheinen.

Die Vernichtungspflicht beschränkt sich ausdrücklich auf die Ergebnisse genetischer Untersuchungen und Analysen. Sie schließt genetische Daten nicht ein. Die GEKO weist in ihrem dritten Tätigkeitsbericht darauf hin, dass die Umsetzung der Vernichtungspflicht dazu führen würde, dass genetische Daten erhalten blieben, deren interpretierende und relativierende Bewertung hingegen vernichtet würde. Eine spätere Verwendung der aufbewahrten genetischen Daten wäre zwar möglich und erlaubt, könnte jedoch durch den Verlust der die konkreten individuellen Umstände berücksichtigenden Bewertung zu Fehlinterpretationen führen. Da dies nach Ansicht der GEKO nicht im Sinne des Gesetzes sein kann, ist bei der Umsetzung der Vernichtungspflicht nach Ansicht der Autorin Augenmaß zu wahren und von den Ausnahmeregelungen des § 12 GenDG großzügig Gebrauch zu machen. Auch wenn dadurch die vom Gesetzgeber intendierte Ausnahme zur Regel gemacht wird, scheint der Zweck des Gesetzes momentan nur so erreichbar zu sein.

Um bei großzügiger Auslegung unbestimmter Rechtsbegriffe wie Ergebnisse genetischer Analysen und Untersuchungen oder schutzwürdige Interessen der betroffenen Person den gesetzlichen Rahmen nicht zu überschreiten, empfiehlt es sich, interne Regelungen für die Umsetzung der Vernichtungspflicht festzulegen. Diese sollten an das eigene Untersuchungsspektrum angepasst, begründet und für alle Mitarbeiter verbindlich sein. Akkreditierte Labore legen ihr Vorgehen bei der Umsetzung der Vernichtungspflicht üblicherweise in Arbeits-/Verfahrensanweisungen fest, aber auch andere Formate sind möglich.

7 Analysendauer

7.1 Zytomorphologie

Die Analyse der Zytomorphologie und Zytochemie dauert in der Regel einen Arbeitstag.

Handbuch zur Primärprobenentnahme

VA-PÄ 02

7.2 Zytogenetik

7.2.1 Chromosomenanalyse

Die Analyse der Morphologie der Chromosomen ist die zeitaufwändigste Untersuchung, da die Zellen erst für 24 h bzw. 48 h inkubiert werden müssen. Danach erfolgt die Gewinnung der Metaphasen (ca. ½ Arbeitstag), die G-Bänderung (Färbung über Nacht), die Aufnahme der Metaphasen mit dem Mikroskop (½ Arbeitstag), das Karyotypisieren (ein bis zwei Arbeitstage) und letztendlich die Endkontrolle und Befundung (ein Arbeitstag).

Sind die Metaphasen von schlechter Qualität oder die Aberrationen nicht genau zu beurteilen, wird eine 24-Stunden-FISH Analyse oder eine andere FISH-Untersuchung angeschlossen, die in der Regel drei Arbeitstage benötigt.

Die Analyse der Metaphasen auf Aberrationen dauert also in der Regel etwa 10 bis 14 Arbeitstage.

7.2.2 Molekulare Zytogenetik (FISH Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung)

Die Analyse der FISH-Analyse dauert in der Regel zwei bis drei Arbeitstage.

7.3 Immunphänotypisierung

Die Analyse der Oberflächen-Antigene der Zellen für Erstdiagnosen und Lymphomverläufe dauert in der Regel zwei bis drei Arbeitstage.

Eine Ausnahme stellen MRD-Verlaufsbefunde (AML und ALL) dar. Auf Grund der aufwändigen Auswertung und Beurteilung ist der Befund spätestens nach 21 Arbeitstagen vom Eingang fertig.

7.4 Molekulargenetik

Die Zeitdauer für molekulargenetische Analysen errechnet sich von Erhalt der ficollierten bzw. lysierten Patientenzellen bis zum fertigen Befund:

- AML Erstdiagnosen: 14 Arbeitstage (AT)
- ALL Erstdiagnosen: 7 AT
- CML Erstdiagnosen: 7 AT
- MPN Erstdiagnosen: 14 AT
- MDS Erstdiagnosen: 14 AT
- CML Verläufe: 7 AT
- AML Verläufe: 14 AT
- Schnelldiagnostik FLT3 und NPM1 bei AML Erstdiagnosen: 3 AT
- TKI Resistenztestung bei Verdacht auf ABL1 Varianten in BCR-ABL1: 3 AT
- PML::RARA qualitative PCR bei fraglichem molekularzytogenetischen Ergebnis: 2 AT

Handbuch zur Primärprobenentnahme

VA-PÄ 02

- FLT3 Diagnostik bei der APL und AML Rezidiven: 4 AT

7.5 Messunsicherheiten und Signifikanz

Messunsicherheiten beschreiben die Streuung der Analysen. Streuungen treten bei jedem Analyseschritt auf. Deshalb führen wir regelmäßige Kontrollen (extern und intern) durch und ergreifen Maßnahmen, um Abweichungen und Schwankungen rechtzeitig zu erkennen und auf die vorgeschriebenen Grenzen beschränken zu können. Für eine sinnvolle Interpretation unserer Laborbefunde können wir die jeweiligen Messunsicherheiten im Bedarfsfall auf Anfrage mitteilen bzw. diskutieren.

Die für die Signifikanzbetrachtung entscheidende Gesamtmessunsicherheit im medizinischen Laboratorium hängt zumindest ab von:

a) Einflussgrößen können sein

Biologisch physiologische Einflüsse, u. a.

- Geschlechtsdifferenzen,
- Alter,
- Ernährung,
- Belastungszustand,
- Körperlage,
- Tagesrhythmik

Einflüsse diagnostischer und therapeutischer Maßnahmen

- z. B. i.m.-Injektion,
- pharmakologische Veränderung im Stoffwechsel,
- pathologische Einflüsse (Traumata, Operationen, Schock), Einflüsse, die sich aus der Probenahme ergeben (s. unten).

b) Störfaktoren (= in vitro Determinanten):

Als Konsequenz diagnostischer und therapeutischer Maßnahmen,

- insbesondere Störung durch Pharmaka
- Störung durch Probenbestandteile, die noch vor Abnahme in vivo oder durch falsche Lagerung der Probe in vitro auftreten

c) insbesondere der Untersuchungsmaterialnahme als Fehlerquelle

- Einflussgrößen

(Art des Untersuchungsmaterials, Körperlage, Stauungszeit, Tageszeit, Lipämie, Hämolyse usw.)

- Störfaktoren

(Gerinnung, Hämolyse, Lagerung, Lichtexposition, Raumluft usw.)

Handbuch zur Primärprobenentnahme

VA-PÄ 02

d) der Präanalytik (Transport, Probenvorbereitung etc.)

e) der Präzision des analytischen Laborprozesses (Maß für den statistischen Fehler bei wiederholter Messung = Streuung)

Das Maß für die Präzision ist der Variationskoeffizient. Seine Größe kann stark von der Lage des Messwertes abhängig sein, z.B. kann eine Methode bei niedrigen Messsignalen eine größere relative Streuung aufweisen als bei höheren Messsignalen.

f) der Richtigkeit des analytischen Laborprozesses (Maß für die Messsystemabhängige Abweichung vom "wahren Wert")

Eine Reihe der oben aufgeführten Punkte, die die „Gesamtmessunsicherheit“ bedingen, sind stark abhängig von den individuellen Gegebenheiten der Patienten*innen. Nur in Kenntnis des betroffenen Individuums und der medizinischen Gegebenheiten kann eine Abschätzung der Höhe des Beitrags dieser Unsicherheit vorgenommen werden. Entscheidend ist die Erkenntnis, dass diese Beiträge für sehr viele Analyte wesentlich größer sind als die eigentlichen analytischen Variablen der Messunsicherheit (Richtigkeit und Präzision).

Wir nehmen regelmäßig an Ringversuchen bei INSTAND e.V., des Berufsverbandes deutscher Humangenetiker und UKNEQAS teil.

Wir haben uns bemüht, die für die Beurteilung der Gesamtmessunsicherheit wichtigen Spezifika der einzelnen Analyte, wie Einflussgrößen und Störfaktoren in diesem Dokument aufzulisten.

Die Mitarbeiter*innen des Labors stehen zur Diskussion der Signifikanz eines Befundes jederzeit zur Verfügung. Sie werden die aktuellen Daten zur analytischen Messunsicherheit sowie Überlegungen zur Präanalytik in die Diskussion des Individualbefundes einbringen.

Der nicht zum klinischen Bild passende Laborbefund

Häufig werden unerwartet pathologische Befunde als klinisch nicht signifikant deklariert. Dies sollte nicht geschehen, da

1. eine entscheidende Veränderung im Krankheitsverlauf versäumt werden könnte und
2. Mängel bei der Probenentnahme, dem Transport und der Analytik nicht aufgedeckt würden und somit beibehalten werden.

Deshalb ist eine Rücksprache mit dem Labor zur Klärung der möglichen Ursachen dringend erforderlich.

7.5.1 Zytomorphologie

Für die Zytomorphologie liegen keine publizierte Untersuchung zum individuellen Einfluss von verschiedensten Faktoren oder deren Kombination auf die Messunsicherheiten vor. Es ist jedoch davon auszugehen, dass durch z.B. fehlende Bröckel im Knochenmark. Probleme in der Präanalytik, weitere Einflussgrößen wie z.B. Tagesrhythmik oder Störfaktoren wie z.B. Störung

Handbuch zur Primärprobenentnahme

VA-PÄ 02

durch Pharmaka die Messunsicherheit zunimmt. Eine Reihe dieser Punkte, die die „Gesamtmessunsicherheit“ bedingen, ist stark von den individuellen Gegebenheiten beim Patienten abhängig und können nur unzureichend kontrolliert werden. Eine Abschätzung des Beitrags dieser Unsicherheit kann nur in Kenntnis des betroffenen Individuums und der medizinischen Gegebenheiten vorgenommen werden. Entscheidend ist die Erkenntnis, dass diese Beiträge für sehr viele Analyten wesentlich größer sind als die eigentlichen analytischen Variablen der Messunsicherheit. Im Rahmen der Qualitätskontrolle wird die analytische Präzision und Richtigkeit für alle quantitativen Parameter ständig aktualisiert und überprüft. Es erfolgt eine regelmäßige Teilnahme an Ringversuchen, um Messunsicherheiten nach Möglichkeit zu kontrollieren. Hierzu gehört auch die Nichtbearbeitung von Untersuchungsmaterial bei z.B. unzureichender Qualität. Siehe hierzu Kapitel 7.3.

7.5.2 Immunphänotypisierung

Die Messunsicherheit von Untersuchungsergebnissen in der Durchflusszytometrie sind von verschiedenen Faktoren abhängig. Die Angabe eines definierten Abweichungswert erscheint aufgrund der unterschiedlichen Fehlerquellen nicht zielführend, da u.a. auch patienten- und materialspezifische (peripheres Blut, Knochenmark, Liquor und andere Ergüsse) Variablen die Messung beeinflussen. Neben diesen Faktoren sind hier vor allem die Art des Antikoagulans (EDTA vs. Heparin) und die Alterung der Probe (z.B. bei externen Einsendern) zu nennen, welche Einfluss auf die Qualität der Messungen haben. Um den Fehler möglichst gering zu halten wird im Labor – nach Möglichkeit – EDTA-Blut/Knochenmark für die durchflusszytometrische Analyse eingesetzt. Um möglichen Einflüssen der Messgeräte zu minimieren werden diese wöchentlich mit standardisierten Probenmaterial (CD-Chex) kontrolliert. Um Instabilität von Fluorochromen (z.B. bei Tandem-Konjugate) vorzubeugen werden die angesetzten Mastermixe für maximal 14 Tage genutzt und anschließend verworfen und neu angesetzt. Ein weiterer wichtiger Punkt für die *multicolor* Durchflusszytometrie ist außerdem die korrekte Kompensation der Probe, da es hierdurch zu falsch positiven oder falsch negativen Ergebnissen kommen kann. Daher wird die Kompensation nach der Messung von qualifiziertem Personal überprüft und – falls nötig – auch angepasst. Zur sicheren Unterscheidung von positiven und negativen Signalen werden für die jeweiligen Panel spezifische Isotypkontrollen mitgeführt anhand derer das nachfolgende Gating vorgenommen wird.

7.5.3 Humangenetik

Definition der Messunsicherheit laut 2S-Leitlinien „Humangenetische Diagnostik und genetische Beratung (Glossar zu „Modul molekulargenetische Diagnostik“ ohne Seitenangabe):

„Messunsicherheit Die Messunsicherheit des Schätzwertes grenzt einen Wertebereich ein, innerhalb dessen der wahre Wert der Messgröße liegt. Eine Wahrscheinlichkeit dazu ist nicht angebar. Das Ergebnis einer Messung ist erst durch Schätzer und Messunsicherheit definiert. Sinn und Ziel des Schätzens von Messunsicherheiten ist es, Intervalle festzulegen, die die wahren Werte der Messgrößen einschließen oder „lokalisieren“ sollen. Ein Schätzwert der Messunsicherheit ist für alle quantitativen Analysen relevant (zum Beispiel Repeat-Expansionen, Fragmentlängenanalysen, Southern-Blot-Analysen). Insbesondere die

Handbuch zur Primärprobenentnahme

VA-PÄ 02

Unterscheidung von grenzwertigen Messwerten erfordert die Kenntnis der Messungengenauigkeit, um eine fundierte Unterscheidung zwischen „normal“ und „pathologisch“ zu ermöglichen.“

7.5.3.1 Zytogenetik

Das Analyseergebnis eines Befundes mit einem pathogenen Karyotyp kann in der Regel mit hoher Sicherheit als „echt“ und damit nachgewiesen betrachtet werden. Der Nachweis eines „normalen“ Karyotyps ohne pathologische Variante hingegen, kann nicht mit völliger Sicherheit belegen, dass die aberranten Zellen in Kultur gewachsen sind.

Das gleiche gilt für Interphase-FISH Analysen: Liegt ein negatives Ergebnis vor, bedeutet das nicht automatisch auch einen unauffälligen Karyotyp. Ist z. B. der Blastenanteil im Ausgangsmaterial zu gering, können kleine Varianten übersehen werden (die Analyseergebnisse liegen um die „cut-off“-Werte der einzelnen FISH-Sonden).

7.5.3.2 Molekulargenetik

Das Ergebnis eines Befundes mit einer pathogenen Variante ist in der Regel mit einer hohen Sicherheit nachgewiesen. Wird in dem untersuchten Gen keine krankheitsverursachende Variante gefunden, so kann nicht mit völliger Sicherheit ausgeschlossen werden, dass in der untersuchten Region oder anderen nicht untersuchten Genen eine solche Variante vorliegt, wenn z. B. der Blastenanteil im Ausgangsmaterial ist zu gering ist. Dadurch lässt sich auch eine genetische Veranlagung für eine Krankheit meist nicht mit völliger Sicherheit ausschließen.

7.6 Beschreibung der Risikoanalysen zum Restrisiko

In unserem Labor werden Qualität und somit auch die Analysen von Risiken in allen Bereichen sehr ernst genommen. Trotz aller vorgenommenen Risikominderungen (technisch, baulich, wissenschaftlich) bleiben oft vertretbare Restrisiken bestehen.

8 Leistungsverzeichnis

Siehe FB-PÄ 07 [Leistungsverzeichnis](#).

9 Verpackung, Kennzeichnung und Transport des Untersuchungsmaterials

Von Menschen entnommenes Untersuchungsmaterial (Patientenproben), bei denen eine minimale Wahrscheinlichkeit besteht, dass sie Krankheitserreger enthalten, unterliegen NICHT den Vorschriften des ADR (Europäisches Übereinkommen über die Beförderung gefährlicher Güter auf der Straße), wenn die Probe in einer Verpackung befördert wird, die jegliches Freiwerden des Inhalts verhindert und die mit dem Aufdruck „FREIGESTELLTE MEDIZINISCHE PROBE“ gekennzeichnet ist (Absatz 2.2.62.1.5.6 des ADR).

Handbuch zur Primärprobenentnahme

VA-PÄ 02

9.1 Integrität der Probe

Wir möchte in Vorfeld darauf hinweisen, dass unsere Vorgaben zum Verpacken und Versand der Proben genau eingehalten werden.

Werden die Proben durch unsachgemäßen Transport beschädigt, werden wir

- 1) Transport in der Rohrpost, die Proben wieder auf die entsprechende Station zurückschicken
- 2) Mit den externen Einsendern Rücksprache zum weiteren Vorgehen nehmen

Zu diesen Vorfällen muss ein Fehlerprotokoll erstellt werden und ergriffene Maßnahmen gemäß unserer QM Vorgaben nachverfolgt werden.

9.2 Verpackung

Verpackungen für medizinische Untersuchungsmaterialien müssen grundsätzlich so beschaffen sein, dass sie allen üblicherweise beim Transport auftretenden Belastungen standhalten und jegliche Freisetzung des Inhalts verhindert wird. Das gilt für jeglichen Versand.

Die Verpackung wird als den oben aufgeführten Vorschriften entsprechend angesehen, wenn sie folgende Bedingungen erfüllt:

- a) Die Verpackung besteht aus drei Bestandteilen:
 - (i) einem wasserdichten Primärgefäß (Spritze, Monovette etc., siehe Abb. 2A)
 - (ii) einer wasserdichten Sekundärverpackung (Abb. 2B)
 - (iii) und einer ausreichend festen Außenverpackung (Abb. 2C) (mindestens eine Oberfläche muss die Mindestabmessung von 100 x 100 mm aufweisen)

Die Sekundärverpackungen sind mit geeignetem Polstermaterial, in die Außenverpackung einzusetzen. Bei flüssigen Stoffen muss außerdem zwischen der Primär- und Sekundärverpackung ausreichend absorbierendes Material eingesetzt werden, um ein freisetzen der Flüssigkeit zu verhindern.

Diese Verpackungen entsprechen bis auf einige Erleichterungen der Verpackungsanweisung P650 der ADR und werden daher oft als „P650 light“ bezeichnet (Abb. 2C).



Abbildung 1: UN-Nummer 3373 gilt für: Biologische Stoffe, Kategorie B (Ein ansteckungsgefährlicher Stoff, der den Kriterien für eine Aufnahme in Kategorie A nicht entspricht)

Handbuch zur Primärprobenentnahme

VA-PÄ 02

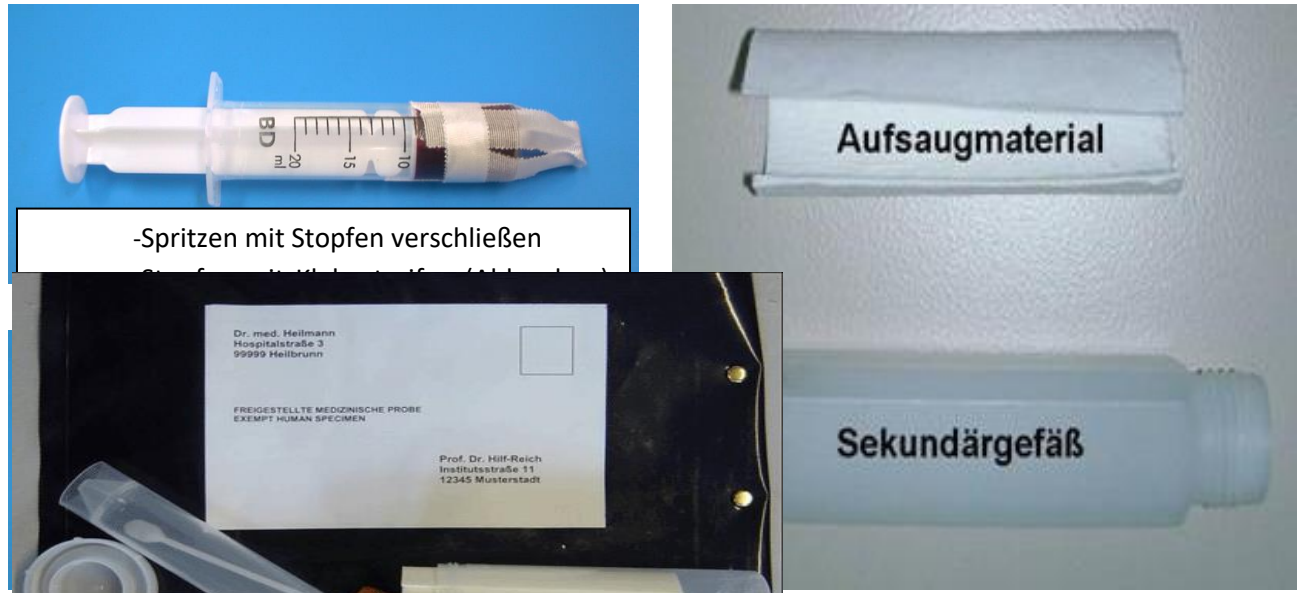


Abbildung 2: (A) Beispiel für eine Primärverpackung

(B) Beispiel für eine Sekundärverpackung



Abbildung 3: Beispiel für die Außenverpackung P650 light

Die Verpackungen der Verpackungsanweisung P650 für infektiöse Patientenproben und Kulturen der Kategorie B (UN-Nr. 3373) (siehe Abb. 1) entsprechen in ihrem Aufbau denen für freigestellte Patientenproben (Dreifachverpackung). Bei der P650 muss jedoch entweder die Sekundär- oder die Außenverpackung starr sein. Zusätzlich muss entweder das Primär- oder das Sekundärgefäß einer Druckdifferenz von 95 kPa standhalten. Ferner muss das gesamte Versandstück in der Lage sein, einen Falltest von 1,2 m Höhe unbeschadet zu überstehen (siehe Abb 2D).

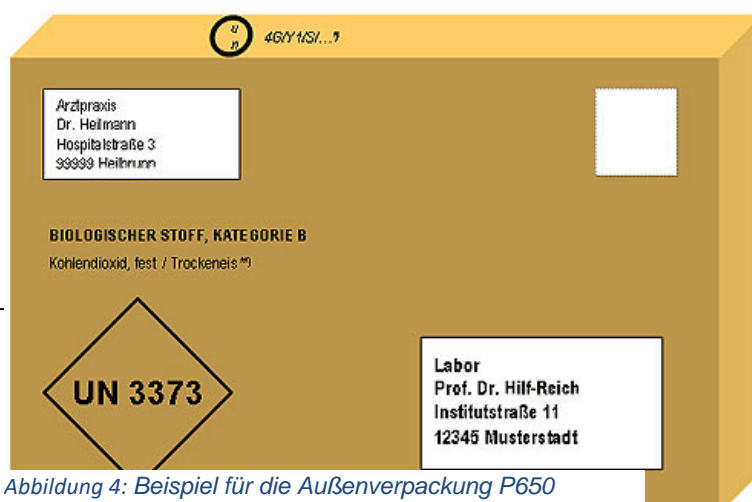


Abbildung 4: Beispiel für die Außenverpackung P650

Handbuch zur Primärprobenentnahme

VA-PÄ 02

9.3 Kennzeichnung und Dokumentation

Freigestelltes Untersuchungsmaterial ist neben der Angabe von Absender und Empfänger deutlich als „freigestellte medizinische Proben“ zu kennzeichnen.

9.4 Transport und Versand

Die Versanddauer sollte nicht länger als 24 h betragen. Dies wird durch Transportdienste mit 24-h-Expressservice (z. B. von TNT, UPS, DHL u.a.) gewährleistet. Bei einem Versand am Freitag muss darauf geachtet werden, dass „Samstagszustellung“ und „vor 10.00 Uhr“, angekreuzt wird. Ein Versand des Untersuchungsmaterials für Samstag oder an Feiertagen sollte möglichst vorher angekündigt werden (Tel: 089-4400-74977).

Weiterhin sollte bei einem Versand vor Feiertagen darauf geachtet werden, dass Feiertagszustellung angekreuzt ist. Bitte achten Sie besonders auf die **nicht bundeseinheitlichen** Feiertage: 06.01. Heilige drei Könige, zweiter Donnerstag nach Pfingsten - Fronleichnam, 15. 08. Mariä Himmelfahrt und 01.11. Allerheiligen.

Alternativ ist der Versand mit der Deutschen Post als Brief „National“ möglich.

Beim internem Versand des Untersuchungsmaterials mit der „Rohrpost“ gelten die gleichen Bedingungen wie unter 5.1 beschrieben.

Da es sich bei allen eingesendeten Materialien um humanes Material handeln, sollten alle Proben ohne Kühlaggregate oder ähnliches versendet werden (siehe auch Kap. 3.3).

Sollte der Patient/die Patientin unter bekannten Kälteantikörpern leiden, ist es erforderlich das Untersuchungsmaterial in einem Thermobehälter ins das Labor zu senden. Eine telefonische Ankündigung im Vorfeld ist dann erforderlich.

10 Befunde

Die Einsender werden in Abhängigkeit von der Analysendauer (siehe Kap. 3) zeitnah über die Ergebnisse der Analysen benachrichtigt. Die Übermittlung der regulären Befunde erfolgt per Fax, Rohrpost und/oder postalisch bzw. elektronisch über KAS (interne Einsender). Bei kritischen Befunden werden die Einsender zusätzlich telefonisch benachrichtigt. Die Dokumentation über die Befundbenachrichtigung erfolgt in der LfL-Datenbank.

10.1 Inhalt des Befundberichts

Der Befundbericht enthält neben dem Namen und dem Geburtsdatum des Patienten, auch die Materialart, das Abnahme- und das Eingangsdatum des Probenmaterials sowie die jeweilige

Handbuch zur Primärprobenentnahme

VA-PÄ 02

Uhrzeit vermerkt. Weiterhin ist die interne Labornummer, und soweit vorhanden die Diagnose auf dem Befundbericht vermerkt.

Dazu kommt die Befundbeurteilung.

In der Zytogenetik kommen außerdem noch folgende Angaben hinzu:

- Angaben zum Untersuchungsverfahren
 - Art der Probenaufbereitung (hier Kulturzeiten und Stimulantien)
 - Art der Bänderungstechnik aufgeführt
 - Art des Untersuchungsmaterials aufgeführt
 - Angabe der in drei Metaphasen max. erreichten Bandenauflösung (ca. –Werte) für normale diploide Karyotypen
 - Angabe der in drei Metaphasen max. erreichten Bandenauflösung (ca. –Werte) für aberrante Karyotypen
 - Angaben des Karyotyps gemäß ISCN (ISCN, An International System for Human Cytogenomic Nomenclature, Ed. McGowan-Jordan J., Simons A., Schmid M., Karger) in der aktuell gültigen Fassung.

10.2 Befundbeurteilung

Die Befundbeurteilung erfolgt anhand der Erkrankung und der Therapie des Patienten. Die Grundlage der Beurteilung beruht auf der WHO Klassifikation (*The WHO Classification of Tumors of Hematopoietic and Lymphoid Tissues*), Cancer Cytogenetics (*Chromosomal and Molecular Genetic Aberrations of Tumor Cells*; Heim, Mitelman).

10.3 Befundausgabe und Befundübermittlung

Alle Befundberichte werden in PDF-Format elektronisch gespeichert. Die Befundberichte werden an die Einsender gefaxt und auch auf postalischem Weg (externe Einsender) versendet. Für interne Einsender erfolgt die Befundübermittlung über klinischen Arbeitsplatz in SAP. Im KAS werden auch alle Befunde archiviert.

10.4 Beratungsleistungen

Wir bieten unseren Einsendern eine offene, interdisziplinäre Kooperation an. Die Ärzte und die zuständigen Mitarbeiter informieren und beraten Ärzte und Pflegepersonal umfassend in Bezug auf Indikationsstellung, Präanalytik und Befundinterpretation von Laboruntersuchungen. Dazu gehören auch z.B. Beratungen über die Auswahl der Untersuchungen einschließlich der Häufigkeit ihrer Wiederholungen, die erforderliche Art der Probe und ggf. eine Interpretation der Untersuchungsergebnisse.

Die Mitarbeiter stehen während der Dienstzeiten für Auskünfte zu Untersuchungsspektrum, Abnahmebedingungen, etc. zur Verfügung.

11 Qualitätssicherung im Labor

11.1 Interne Qualitätssicherung

Die interne Qualitätssicherung beinhaltet

Handbuch zur Primärprobenentnahme

VA-PÄ 02

- Umfangreiche Fort- und Weiterbildung der Mitarbeitenden
- Einsatz geeigneter analytischer Verfahren nach Validierung bzw. Verifizierung
- Ausführliche Dokumentation aller Laborprozesse
- Einsatz interner Qualitätskontrollen
- Überwachung aller analytischen Geräte durch Wartung, Kalibrierung und sorgfältige Qualifizierung
- Durchführung von internen Audits zur Selbstkontrolle
- Ständige Verbesserung unserer Prozesse
- Im Labor wurde ein umfassendes Risikomanagementsystem implementiert, das darauf abzielt, fortlaufend potenzielle Risiken zu identifizieren und somit möglichen Schaden von den Patienten abzuwenden. Trotz aller von uns ergriffenen Maßnahmen bleibt jedoch immer ein Restrisiko bestehen. Auf Anfragen informieren wir Sie gerne über individuelle verbleibende Restrisiken.

11.2 Externe Qualitätssicherung

Das Labor für Leukämiediagnostik beteiligt sich im Rahmen der Qualitätssicherung in regelmäßigen Abständen an Ringversuchen der folgenden Anbieter:

- **INSTAND e.V.**
 - Zytomorphologie
 - Immunphänotypisierung
 - Molekulargenetik
- **Ringversuche des Berufsverbandes Deutscher Humangenetiker e.V. (BVDH)**
 - Zytogenetik (Tumorzytogenetik)
 - Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) (Tumorzytogenetik)
- **UK NEQAS Leukocyte Immunphenotyping programm**
 - BCR-ABL and AML Translocation Identification Programme (Accredited)
 - BCR-ABL1 Kinase Domain Variant (Mutation) Status (Accredited)
 - BCR-ABL1 Major Quantification (Accredited)
 - BCR-ABL1 Minor Quantification (Accredited)
 - FLT-3 Mutation Status (Accredited)
 - Lymphoid Gene Panels (Not Accredited)
 - Measurable Residual Disease for AML by Molecular Methods (Not Accredited)
 - Myeloid Gene Panels (Not Accredited)
 - Myeloproliferative Neoplasms Diagnostic Testing (Accredited)
 - NPM1 Mutation Status (Accredited)

Handbuch zur Primärprobenentnahme

VA-PÄ 02

- Post-Stem Cell Transplant Chimerism Monitoring (Accredited)

Weiter hat das Labor für verschiedene Analyten Laborvergleiche mit dem Münchener Leukämielabor MLL aufgebaut.

12 Vorgehen bei Änderungen

Werden neue Methoden eingeführt werden die Haupteinsender darüber informiert. Werden etablierte Methoden verändert, werden die Einsender nur dann informiert, sofern die Änderungen große Auswirkungen auf die Ergebnisse haben.

13 Mitgeltende Dokumente

- Leistungsspektrum des Labors für Leukämiediagnostik
- Patienteninformation und Einverständniserklärung
- Untersuchungsauftrag
- [Europäisches Übereinkommen über die internationale Beförderung gefährlicher Güter auf der Straße](#); ADR-2009
- Thum et al., Versand von medizinischem Untersuchungsmaterial Neue Bestimmungen ab 2007; Bundesärztekammer, Dt. Ärzteblatt, Jg. 104, Heft 46, 16. 11. 2007
- Heim und Mitelman, Cancer Cytogenetics: Chromosomal and molecular genetic aberrations of tumor cells, in der aktuell gültigen Fassung
- ISCN: An International System for Human Cytogenomic Nomenclature, in der aktuell gültigen Fassung
- WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, in der aktuell gültigen Fassung
- Fuchs et al., Maligne Lymphome Diagnostik, Therapie, 2007
- Fuchs et al., Manual Hämatologie 2008
- Nguyen et al., Flow Cytometry in Hematopathology, A Visual Approach to Data Analysis and Interpretation, 2003

Handbuch zur Primärprobenentnahme

VA-PÄ 02

Anhang 1: [Untersuchungsauftrag](#)

Anhang 2: Information und Einverständnis

Deutsche Version

<http://qmportal.info.med.uni-muenchen.de/MED3-Lfi/Lists/QMSPDF/Information%20und%20Einverst%C3%A4ndniserkl%C3%A4rung.pdf>

Englische Version

<http://qmportal.info.med.uni-muenchen.de/MED3-Lfi/Lists/QMSPDF/Information%20und%20Einverst%C3%A4ndnis%20ENGLISCH.pdf>

Anhang 3: Einverständniserklärung nach Gendiagnostik Gesetz incl. Widerruf

Deutsche Version

<http://qmportal.info.med.uni-muenchen.de/MED3-Lfi/Lists/QMSPDF/Einwilligungserkl%C3%A4rung%20zur%20Durchf%C3%BChrung%20genetischer%20Analysen%20gem%C3%A4%C3%9F%20GenDG%20mit%20Widerrufsformular.pdf>

Englische Version

<http://qmportal.info.med.uni-muenchen.de/MED3-Lfi/Lists/QMSPDF/Einverst%C3%A4ndniserkl%C3%A4rung%20nach%20GenDinG%20ENGLISCH.pdf>