

Handbuch zur Primärprobenentnahme

Medicover Humangenetik - Berlin Lichtenberg

Adresse Labor:

Plauener Str. 163-165 Haus 13

13053 Berlin

Tel. 030 920907 27

Fax 030 920907 41

E-Mail: anmeldung@medicover-genetics.de

Inhalt

Vorwort	3
Allgemeine Informationen	4
2.1 Kontakt	4
2.2 Annahmezeiten für Proben	4
3. Präanalytik: Von der Probengewinnung bis zum Versand	5
3.1 Geeignetes Untersuchungsmaterial	5
3.2 Probenentnahme und Entnahmesysteme	6
3.2.1 Molekulargenetische Diagnostik	6
3.2.2 Zytogenetische Diagnostik	8
3.2.3 Polkörperdiagnostik	10
3.3 Benötigte Unterlagen, Probenbeschriftung	10
3.4 Probenlagerung und Versand	11
3.5 Untersuchungsdauer	11
4. Aufbewahrung untersuchter Proben	11
6. Externe Untersuchungen	12
7. Qualitätssicherung im Labor	12

Vorwort

Sehr geehrte Einsender,

das Labor der Medicover Humangenetik Berlin Lichtenberg verfügt über ein breites und modernes methodisches Leistungsspektrum. Das Angebot der einzelnen Funktionsbereiche umfasst neben der humangenetisch-fachärztlichen Validierung, molekulargenetische Untersuchungen inklusive moderner Hochdurchsatzsequenzierungen, die zytogenetische und molekularzytogenetische Diagnostik (konventionelle Chromosomenanalyse und Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung), DNA-Array-Diagnostik, Polkörperdiagnostik, Pränataldiagnostik und Tumorzytogenetik.

Mit diesem Handbuch möchten wir Ihnen auf den folgenden Seiten wichtige Informationen zur Probenentnahme und zum Probenversand für eine humangenetische Diagnostik geben.

Für weitere Fragen können Sie sich gerne direkt an uns wenden.

Allgemeine Informationen

Eine vollständige und aktuelle Übersicht zum diagnostischen Leistungsangebot unseres Labors finden Sie auf unseren Auftragsformularen oder online (www.medicover-genetics.de). Sollte die von Ihnen erwünschte Diagnostik dort nicht aufgelistet sein, so können Sie sich gerne direkt mit uns in Verbindung setzen (s. 2.1 Kontakt).

Bitte beachten Sie:

- Eine genetische Beratung durch einen **Facharzt für Humangenetik** oder einen Arzt mit Zusatzqualifikation Fachgebundene Humangenetische Beratung sollte nach Vorliegen des Untersuchungsergebnisses der betroffenen Person angeboten werden. Bei auffälligen Befunden muss eine genetische Beratung lt. §10 GenDG angeboten werden. Bei einer **pränatalen oder prädiktiven** genetischen Untersuchung wird eine Humangenetische Beratung durch dazu qualifizierte Ärzte vom Gesetzgeber ebenso gefordert. In diesem Fall muss der betroffenen Person vor der Untersuchung und auch nach Vorliegen des Untersuchungsergebnisses eine Humangenetische Beratung angeboten werden.
- Bei einer Pränataldiagnostik bitten wir Sie um vorherige Rücksprache.
- Unbeschriftete Probeneinsendungen können nicht für eine Untersuchung verwendet werden.

2.1 Kontakt

Labor:
Medicover Genetics GmbH
Plauener Str. 163-165, Haus 13
13053 Berlin
Tel. 030 920907 27
Fax 030 920907 41
E-Mail: anmeldung@medicover-genetics.de

Terminvergabe einer **genetischen Beratung**:

Tel.-Nr. 030/7974 8430 oder 030/3035 4926 oder 030/577 987 12

Mo., Di., Do. 08:00 – 16:00 Uhr

Mi., Fr. 08:00 – 14:00 Uhr

2.2 Annahmezeiten für Proben

Mo. – Fr. von 8:00 – 17:00

3. Präanalytik: Von der Probengewinnung bis zum Versand

Die Probenentnahme für eine humangenetische Diagnostik erfordert keine spezielle Vorbereitung des Patienten und kann zu jeder Tageszeit erfolgen. Proben sollten steril abgenommen und schnellstmöglich ungekühlt an das MVZ versandt werden.

3.1 Geeignetes Untersuchungsmaterial

Molekulargenetische Diagnostik:

- EDTA-Blut 2x 2-3 ml; bei Säuglingen ca. 0,5-1 ml, bitte um Rücksprache wenn die Abnahme der geforderten Menge Schwierigkeiten bereitet. (s. 2.1 Kontakt)
 - DNA mind. 1 µg; Konz. >50 ng/µl
 - Fruchtwasser: 10-20 ml
 - Chorionzotten: >10 mg
 - Abortgewebe
 - Tumorproben in Paraffin
 - Andere Gewebe (z.B. Mundschleimhautabstriche, bitte im Vorfeld Rücksprache)
 - Pränatale molekulare Diagnostik (bitte im Vorfeld Rücksprache)
- } + EDTA-Blut der Mutter, ggf. auch vom Vater

Zytogenetische Diagnostik:

- Heparin-Blut 3 ml; bei Säuglingen 1 ml
- Fruchtwasser: 10-20 ml
- Chorionzotten: >10 mg
- Abortgewebe (kein Formalin siehe S. 9)
- Knochenmark: Heparin-Knochenmarkblut
- Andere Gewebe (z.B. Mundschleimhautabstriche, bitte vorherige Rücksprache)
- Bei Array-CGH-Analysen EDTA-Blut 2-3 ml; bei Säuglingen und Pränataldiagnostik bitte vorherige Rücksprache

Polkörperdiagnostik

Siehe Kapitel: 3.2.3 Polkörperdiagnostik

Falls Sie uns anderes Untersuchungsmaterial zusenden möchten, so nehmen Sie bitte vorab mit uns Kontakt auf (s. 2.1 Kontakt).

3.2 Probenentnahme und Entnahmesysteme

3.2.1 Molekulargenetische Diagnostik

3.2.1.1 Entnahme von Blut

Bitte benutzen Sie EDTA-Monovetten (z. B. Fa. Sarstedt, **EDTA-Monovette**). Die Blutproben müssen eindeutig und leserlich mit dem Namen, dem Vornamen und dem Geburtsdatum des Patienten beschriftet sein.

Die Blutentnahme sollte unter sterilen Bedingungen nach dem Aspirations- oder dem Vakuumprinzip erfolgen (ggf. anders bei Säuglingen). Da die Entnahme nur von medizinisch geschultem Personal durchgeführt werden darf, wird an dieser Stelle auf die ausführliche Beschreibung des Entnahmevorganges verzichtet.

Die Blutproben dürfen nicht wieder geöffnet oder das Blut umgefüllt werden. Um ein optimales Mischungsverhältnis zwischen Blut und Antikoagulans zu gewährleisten, sollten die Monovetten möglichst bis zur vorgesehenen Markierung gefüllt und durch vorsichtiges Schwenken gründlich durchmischt werden.

3.2.1.2. Entnahme von Abortgewebe: Rücksprache, (s. Kontakt 2.1)

Abortgewebe muss so keimarm/steril wie möglich entnommen und sofort und unfixiert in ein steriles, fest verschließbares Gefäß überführt werden (z. B. 10 ml Zentrifugenröhrchen mit Schraubverschluss), das randvoll mit steriler physiologischer Kochsalzlösung (Raumtemperatur) gefüllt ist. Auf Anfrage schicken wir Ihnen Transportröhrchen mit entsprechendem Medium zu. Das Probengefäß muss eindeutig mit dem Namen, dem Vornamen und dem Geburtsdatum beschriftet sein. Das Material kann bis zum Transport bei 4°C im Kühlschrank gelagert werden. Einfrieren oder Zugabe von **Formalin** macht das Material **unbrauchbar!**

(Hinweis: Lagerung der Transportröhrchen bei -20°C; vor Gebrauch auftauen und auf Raumtemperatur erwärmen).

3.2.1.3 Entnahme von Mundschleimhaut

zur Entnahme von Mundschleimhaut mittels Abstrichtupfer bzw. Abstrichbürstchen ist wie folgt zu verfahren:

- Pro Testperson bitte zwei Tupfer verwenden!
- Eine halbe Stunde vor der Probeentnahme sollte die Testperson nichts essen und trinken!
- Bitte vergessen Sie nicht beide Röhrchen mit dem Vor- und Zunamen sowie dem Geburtsdatum der Testperson zu beschriften!
- Zur Probenentnahme mit den Tupfern auf jeder Wangeninnenseite 10x kräftig hin und her reiben (Reiben ist wichtig, um genügend Zellen der Mundschleimhaut einzusammeln).
Berühren Sie auf keinen Fall den Wattekopf mit den Fingern!
- Im Anschluss sollen beide Tupfer mindestens zwei Stunden an der Luft trocknen. Dazu werden die Tupfer ein paar Zentimeter in die Plastikhülle geschoben und abgelegt.
- Nach dem Trocknen wird die Hülle wieder fest auf die Tupfergriffe geschoben und die so verschlossenen Röhrchen verschickt.

3.2.1.4. Entnahme weiterer Primärproben

Für die Entnahme weiterer Primärproben ist in der Regel ein operativer Eingriff erforderlich, der ausschließlich von ärztlichem Personal durchgeführt werden darf. An dieser Stelle wird deshalb auf eine ausführliche Beschreibung des Entnahmeproganges verzichtet.

3.2.1.5 Entsorgung des bei der Probenentnahme verwendeten Materials.

Das bei der Probenentnahme verwendete Material muss in dafür vorgesehenen Spezialbehältern gesammelt und entsprechend geltender Bestimmungen entsorgt werden. Ansonsten müssen die Materialien durch Autoklavieren dekontaminiert werden.

3.2.2 Zytogenetische Diagnostik

3.2.2.1 Entnahme von Blut

Für die postnatale Chromosomenanalyse benötigen wir etwa 3ml venöses Heparin-Vollblut (1 ml bei Säuglingen), das am einfachsten mit einer (NH₄-Heparin oder Li-Heparin) Monovette abgenommen wird. Es eignet sich auch eine 5 ml Spritze, wobei das Blut mit Heparin (5000 Einheiten/ml) im Verhältnis 10:1 vermischt sein sollte.

Nach der Blutentnahme die Monovette sofort leicht schwenken, damit keine Teilgerinnung eintritt. Die Blutproben müssen eindeutig und leserlich mit dem Namen, dem Vornamen und dem Geburtsdatum des Patienten beschriftet sein.

Die Blutentnahme sollte unter sterilen Bedingungen nach dem Aspirations- oder dem Vakuumprinzip erfolgen (ggf. anders bei Säuglingen). Da die Entnahme nur von medizinisch geschultem Personal durchgeführt werden darf, wird an dieser Stelle auf die ausführliche Beschreibung des Entnahmeprozesses verzichtet.

3.2.2.2. Entnahme von Knochenmarkblut

Für die zytogenetische Untersuchung von hämatopoetischen Zellen benötigen wir eine Aspirationszytologie. Zur Entnahme eignet sich eine mit Heparin versetzte Spritze oder Monovetten (3-10 ml). Die Spritze anschließend mit sterilen Steckstopfen verschließen. Spritze oder Monovette unbedingt mit dem Namen, dem Vornamen und dem Geburtsdatum des Patienten versehen. Die Probe kann bei Raumtemperatur versandt werden.

3.2.2.3. Entnahme von Fruchtwasser: Rücksprache, (s. 2.1 Kontakt)

Für die pränatale Chromosomenanalyse wird in der Regel ca. 10-20 ml natives Fruchtwasser benötigt. Zur Entnahme eignen sich Standard-Einmalspritzen (zweiteilig). Keine Spritzen mit Naturkautschuk-Kolben verwenden (dreiteilig), da diese zelltoxische Lösungsmittel enthalten. Für die DNA-Diagnostik bzw. Array-CGH aus Fruchtwasser ist es sinnvoll, vorher diesbezüglich Rücksprache mit dem Labor zu nehmen.

Das Fruchtwasser bleibt in der Entnahmespritze oder wird in ein steriles Transportröhrchen (im Labor anforderbar) überführt. Die Spritze mit sterilen Steckstopfen verschließen. Die Proben unbedingt mit dem Namen, dem Vornamen und dem Geburtsdatum der Patientin versehen. Fruchtwasserproben ungekühlt stets mit Kurier verschicken. Eine Lagerung bei 4°C ist möglich.

3.2.2.4. Entnahme von Chorionzotten: Rücksprache, (s. 2.1 Kontakt)

Für die pränatale Chromosomenanalyse werden ca. 10-15 mg Zottengewebe benötigt. Das Zottengewebe in ein steriles Röhrchen mit Transportmedium überführen. Mit Transportmedium gefüllte Röhrchen können im Labor angefordert werden. Sie sollten vor Punktionen vorrätig sein. Die Proben unbedingt mit dem Namen, dem Vornamen und dem Geburtsdatum der Patientin versehen.

Für die Array-CGH aus Chorionzotten benötigen wir in der Regel >20 mg. Da die benötigte Zottenmenge von der im Einzelfall durchzuführenden Untersuchung abhängt, ist es sinnvoll, vorher diesbezüglich Rücksprache mit dem Labor zu nehmen. (Hinweis: Lagerung der Transportröhrchen bei -20°C ; vor Gebrauch auftauen und auf Raumtemperatur erwärmen).

3.2.2.5. Entnahme von Abortgewebe: Rücksprache, (s. 2.1 Kontakt)

Zur Untersuchung von Abortgewebe ist extraembryonales Gewebe (Chorion- oder Plazentazotten) bestens geeignet. Als Minimum sollten 10-15 mg Zottengewebe für die genetische Untersuchung entnommen werden. Als Alternative bietet sich bevorzugt die Entnahme von Achillessehne an, da diese Zellen offensichtlich später degenerieren als Hautgewebe. Aber auch Hautgewebe zeigt in vielen Fällen Zellwachstum, insbesondere wenn das Abortereignis nicht bereits mehrere Tage zurückliegt.

Abortgewebe muss so keimarm/steril wie möglich entnommen und sofort und unfixiert in ein steriles, fest verschließbares Transportgefäß überführt werden (z. B. 10 ml Zentrifugenröhrchen mit Schraubverschluss), das randvoll mit steriler physiologischer Kochsalzlösung oder Transportmedium (beides bei Raumtemperatur) gefüllt ist. Das Probengefäß muss eindeutig mit dem Namen, dem Vornamen und dem Geburtsdatum beschriftet sein. Das Material kann bis zum Transport bei 4°C im Kühlschrank gelagert werden. Einfrieren oder Zugabe von **Formalin** macht das Material **unbrauchbar!**

Für den materialschonenden Transport von Chorion- und Abortgewebe an das Labor werden bei Anfrage Transportröhrchen mit entsprechendem Medium an die Einsender verschickt, die das Chorion- bzw. Abortgewebematerial in das Transportmedium geben und an das Labor für die diagnostische Untersuchung zurücksenden.

(Hinweis: Lagerung der Transportröhrchen bei -20°C ; vor Gebrauch auftauen und auf Raumtemperatur erwärmen).

Der Kulturansatz wird montags bis samstags durchgeführt (Postweg beachten, d. h. Proben sollen für den **Kulturansatz nicht älter als 2 Tage** sein).

3.2.3 Polkörperdiagnostik

3.2.3.1 Entnahme von Polkörpern: Rücksprache, (s. 2.1 Kontakt)

Manche Arbeitsgruppen bevorzugen die sequenzielle Entnahme von PK1 und PK2. Ca. 2-3 Stunden nach Durchführung der ICSI wird dann der PK1 entnommen und nach weiteren 7 - 8 Stunden der PK2. Andere Arbeitsgruppen bevorzugen die simultane Entnahme beider Polkörper ca. 7 - 8 Stunden nach der ICSI. Nach unserer eigenen Erfahrung ist die sequenzielle Entnahme von PK1 und PK2 zu favorisieren, da bei einer simultanen Entnahme, die DNA des PK1 schon stark degradiert sein kann.

Die Chromosomenverteilung kann in beiden Polkörpern getrennt (PK1 und PK2 werden in zwei unterschiedlichen Reaktionsgefäßen abgelegt) oder gemeinsam (PK1 und PK2 werden in einem Reaktionsgefäß gepoolt) analysiert werden. Da die Entnahme nur von medizinisch geschultem Personal durchgeführt werden darf, wird an dieser Stelle auf die ausführliche Beschreibung des Entnahmeproganges verzichtet.

3.3 Benötigte Unterlagen, Probenbeschriftung

Jede Probe muss mindestens mit dem Name, dem Vorname und dem Geburtsdatum des Patienten beschriftet sein, um eine eindeutige Identifikation zu gewährleisten. **Bitte beachten Sie, dass unbeschriftete Proben für eine Untersuchung nicht verwendet werden können.**

Weiterhin sind für die Durchführung einer humangenetischen Analyse folgende Unterlagen erforderlich:

- Vollständig ausgefüllte und unterschriebene Auftragsformulare (inkl. Untersuchungsauftrag, ggf. klinische Angaben zum Patienten und Einwilligungserklärung nach Gendiagnostikgesetz (GenDG)),
- Laborüberweisungsschein Muster 10 bzw. Rechnungsanschrift (bei Privatpatienten oder Klinikaufträgen),
- wenn möglich aussagekräftige ärztliche Befunde oder zusammenfassender Arztbrief,
- Name des verantwortlichen Arztes (in Druckbuchstaben).

3.4 Probenlagerung und Versand

Soweit keine speziellen Hinweise auf Art und Weise des Versands angegeben sind, sollte eine entnommene Probe möglichst nicht gelagert, sondern umgehend und ungekühlt an das Labor gesandt werden (s. 2.1 Kontakt), bevorzugt am Wochenbeginn (Montag bis Donnerstag). Wird eine Probe abends oder am Wochenende entnommen sollte die Probe bis zur Versendung bei 4-8°C aufbewahrt werden. Fruchtwasser und Chorionzotten nicht einfrieren, so schnell wie möglich mit einem Kurier versenden.

Versandmaterial und Röhrchen mit speziellem Medium für Gewebeproben können telefonisch im Labor angefordert werden unter Tel. **030 92090727**.

Der von Kollegen des Labors beauftragte Kurierdienst holt die Probe bei Ihnen ab. Die Probe kann auch auf dem Postweg als Päckchen (Deutsche Post AG oder Kurierdienst) zugesandt werden. Bitte achten Sie auf eine bruch- und auslaufsichere Verpackung (Primärgefäß, Sekundärgefäß mit saugfähigem Flies, starre Außenverpackung aus Hartkarton mit Gefahrgutkennzeichnung UN 3373 für Biologische Stoffe/Kategorie B) oder als sog. „freigestellte“ medizinische Probe, wenn nur eine minimale Wahrscheinlichkeit besteht, dass sie Krankheitserreger enthalten. Bei pränatalen Proben empfehlen wir den Versand per Kurier.

3.5 Untersuchungsdauer

Bei dringenden Fällen (z.B. Neugeborene) nehmen Sie bitte mit den Labormitarbeitern Kontakt auf.

- Konventionelle molekulargenetische Analysen: ca. 2-4 Wochen (Ausnahme: heterogene Erkrankungen, komplexe Gene)
- Konventionelle zytogenetische Verfahren 2-3 Wochen
- NGS-Analytik: i.d.R. 6-12 Wochen
- Array-Analytik: ca. 4-8 Wochen
- Pränataldiagnostik: 1 Werktag bis 3 Wochen

4. Aufbewahrung untersuchter Proben

Das Labor bewahrt Untersuchungsmaterial lt. GenDG bzw. abweichend davon so lange auf, wie es vom Patienten in der Einwilligungserklärung (im Anforderungsschein enthalten) schriftlich festgelegt wurde. Dies dient ggf. der Nachprüfbarkeit der Ergebnisse, eventuellen Zusatzuntersuchungen (auch wissenschaftlicher Art) und laborinternen Qualitätskontrollen. Es besteht jederzeit die Möglichkeit, die Patienten-Einwilligung (auch in Teilen) schriftlich zu ändern bzw. zu widerrufen.

5. Genetische Untersuchung bei nicht-einwilligungsfähigen Personen (Kinder, Jugendliche, Betreute)

Gemäß der Richtlinie der Gendiagnostik-Kommission (GEKO vom 01.07.2011) zu genetischen Untersuchungen bei nicht-einwilligungsfähigen Personen sollten diese nur dann humangenetisch untersucht werden, wenn die Diagnostik zur Klärung der Differentialdiagnose einer bestehenden Symptomatik bzw. zur Feststellung einer Erkrankungsursache erforderlich ist.

Eine prädiktive genetische Diagnostik wird bei diesem Personenkreis nur dann durchgeführt, wenn mit dem Auftreten einer Erkrankung in diesem Lebensalter zu rechnen ist und wenn sinnvolle medizinische Maßnahmen zur Prävention der Erkrankung bzw. zur Prävention von Komplikationen oder zur Therapie ergriffen werden können. Für eine erst im Erwachsenenalter auftretende Erkrankung wird dagegen bei einem gesunden Kind keine prädiktive Diagnostik durchgeführt. Bitte klären Sie Rückfragen im Einzelfall mit den zuständigen Labormitarbeitern ab. Die humangenetische Untersuchung von nicht-einwilligungsfähigen Personen ist generell nur mit Zustimmung des Sorgeberechtigten bzw. des gesetzlichen Betreuers durch deren Unterschrift auf der Einverständniserklärung zulässig.

6. Externe Untersuchungen

Falls Sie humangenetische Untersuchungen durchführen lassen möchten, die nicht im Leistungsspektrum des MVZ aufgeführt sind, so leiten wir Ihren Auftrag gerne an ein geeignetes und anerkanntes Labor weiter. Bitte setzen Sie sich für eine derartige Anfrage mit dem MVZ (s. 2.1 Kontakt) in Verbindung. Auf Wunsch stellen wir Ihnen eine Liste der kooperierenden Auftragslabore zur Verfügung.

7. Qualitätssicherung im Labor

Die diagnostischen Labore der Funktionsbereiche Molekulargenetik und Zyto- und Molekularzytogenetik des MVZ arbeiten gemäß der aktuellen Leitlinien des Berufsverbandes deutscher Humangenetiker (BVDH) und der Deutschen Gesellschaft für Humangenetik (GfH). Die Diagnostik erfolgt nach den aktuellen Richtlinien der Bundesärztekammer (RiLiBÄK) und entspricht den Anforderungen des

Gendiagnostik-Gesetzes (GenDG). Die Labore nehmen regelmäßig an den externen Ringversuchen zur Qualitätssicherung des European Molecular Genetics Quality Network (EMQN), CF European Network, Berufsverband Deutscher Humangenetiker e.V. (BVDH) und INSTAND e.V. teil.