AgenDix Applied Genetic Diagnostics	**KAPITEL** I - V	Handbuch-PPH-0093 V-11
		Handbuch

Titel:
Primärprobenhandbuch

Ziel:
Mit dem Primärprobenhandbuch sollen die Einsender und Interessenten über die angebotenen Leistungen der Agendix GmbH und die dazugehörige Präanalytik informiert werden

Mitgeltende Dokumente:

Verantwortlichkeit:
Laborpersonal, Laborleiter

Änderungen:
Beschreibung der Verwendung des Akkreditierungssymbol;
Ausgliederung Beschwerdemanagement auf Homepage;
Kennzeichnung von Probenmaterial, welches sich nicht im Geltungsbereich der Akkreditierung befindet

Verweise:
Gebührenordnung für Ärzte (GOÄ), Einheitlicher Bewertungsmaßstab (EBM) Kassenärztliche Bundesvereinigung (KBV), Verordnung zur Gestaltung und Verwendung des Akkreditierungssymbols der Akkreditierungsstelle (Akkreditierungssymbolverordnung - SymbolVO)

Anhang:
- Probenanforderungsschein Chimaerismus
- Probenanforderungsschein molekularbiologische Diagnostik hämato-onkologischer Krankheiten
- Einwilligungserklärung
- Einwilligungserklärung nach GenDG
- Überblick aller akkreditierten Verfahren und Parameter im flexiblen Geltungsbereich

Datum und Unterschriften:

Elektronisch unterzeichnet Susann Brecht
Geschrieben: 18.03.2025
.....
S. Brecht
QMB

Elektronisch unterzeichnet Elena Hohlefeld
Überprüft: 19.03.2025
.....
E. Hohlefeld
QMB

Elektronisch unterzeichnet Christian Thiede
Genehmigt: 19.03.2025
.....
Prof. Dr. C. Thiede
Laborleiter

Elektronisch unterzeichnet Susann Brecht
Freigegeben: 19.03.2025
.....
S. Brecht
QMB

Erstellt:	18.03.2025
Gültig ab:	19.03.2025
Ersetzt:	01.07.2024

Verteiler:

- Büro
- Homepage

Inhalt

1. Vorwort

2. Probenentnahme

3. Untersuchungsauftrag

4. Verpackung, Kennzeichnung und Transport der Proben

5. Methodisches Spektrum

6. Leistungsverzeichnis

I. Vorwort

Das Primärprobenhandbuch der AgenDix GmbH dient als Leitfaden für die Gewinnung, die Handhabung und den Versand von Primärproben, wobei die geeigneten Probenmaterialien und diesbezüglich empfohlene Entnahmemedien vorgestellt werden. Zudem werden Hinweise zum korrekten Ausfüllen des Probenanforderungsscheins gegeben. Das Spektrum der angebotenen Analysen und das Leistungsverzeichnis werden ebenfalls vorgestellt.

Unsere Kontaktdaten:

AgenDix GmbH
Fiedlerstraße 36
01307 Dresden

Tel.: 0351 / 456 975 0
Fax: 0351 / 456 975 22
E-mail: labor@agendix.de

von Montag bis Freitag von 7.00 Uhr bis 17.00 Uhr
und Samstag von 8.00 Uhr bis 14.00 Uhr.

Ausnahmen bilden gesetzliche Feiertage[1]

[1]Gesetzliche Feiertage in Sachsen:

Neujahrstag (1. Januar)
Karfreitag
Ostermontag
Tag der Arbeit (1. Mai)
Christi Himmelfahrt
Pfingstmontag
Tag der deutschen Einheit (3. Oktober)
Reformationstag (31. Oktober)
Buß- und Bettag
1. Weihnachtstag (25. Dezember)
2. Weihnachtstag (26. Dezember)

II. Probenentnahme

2.1 Probenmaterial

2.1.1 Chimaerismus-Analytik

Für die Bestimmung des **Prä-Chimaerismus** von Spender und Patient:

- peripheres Blut
- Knochenmark
- DNA
- Apherese produkt

Für die Chimaerismusanalytik von Verlaufskontrollen:

- peripheres Blut
- Knochenmark
- Apherese produkt
- DNA
- Biopsien
- Liquor
- Pleurapunktat
- Paraffinschnitte

Für die Bestimmung des **Prä-Chimaerismus** des Patienten nach bereits erfolgter Transplantation:

- Biopsien
- Finger- bzw. Fußnagel[2]
- Wangenschleimhautabstrich[2]

2.1.2 Molekulare Diagnostik

- peripheres Blut
- Knochenmark
- Apherese produkt
- Biopsien
- Liquor
- Pleurapunktat
- Paraffinschnitte
- DNA
- zellfreie DNA[2]
- cDNA
- RNA

Die Bearbeitung weiterer Materialien ist nach Absprache mit der ärztlichen Leitung möglich. Nicht geeignet für die Analytik ist peripheres Blut ohne Antikoagulanz und Untersuchungsmaterial in Serummonovetten.

[2] ***Probenmaterial außerhalb des akkreditierten Geltungsbereichs***

2.2 Materialgewinnung

Das Probenmaterial für die Untersuchung sollte möglichst steril und nach den hier genannten Vorgaben von medizinisch geschultem Personal gewonnen werden. Zudem muss durch den Probennehmer vor der Probenentnahme die Identität der Personen sichergestellt werden.

Eine Zusammenfassung der Hinweise zur korrekten Entnahme von Probenmaterial befindet sich auf den aktuell gültigen Probenanforderungsscheinen der AgenDix GmbH. Mit der Unterschrift des Probeneinsenders auf dem Anforderungsschein wird die Einhaltung der Abnahmebedingungen bestätigt.

Die Materialgewinnung erfolgt durch:

- *Blutentnahme:*
  Die Blutentnahme ist gemäß dem Standardverfahren der venösen Blutentnahme durchzuführen. Die Blutröhrchen mit geeignetem Antikoagulanz (siehe Abschnitt "Geeignete Probengefäße") sollten bis zur Markierung gefüllt und mehrmals über Kopf geschwenkt werden.

- *Punktion (Knochenmark, Liquor, Pleuraflüssigkeit)*

- *Stammzellapherese*

- *Biopsien*

- *Wangenschleimhautabstrich:*
  Die Patienten sollten **unmittelbar** vor der Entnahme der Proben nicht Essen oder Trinken! Wichtig ist, dass **keine** Speisereste dem Abstrich anhaften. Der Mundraum sollte ca. dreimal mit Wasser kräftig gespült werden. Als Abstrichstäbchen eignen sich Nylonfaserbürsten. Mit den Bürstchen wird mehrmals auf der Innenseite der Wange entlang gestrichen (ca. 6 Sekunden), wobei das Bürstchen leicht gedreht wird. Nach der Probennahme wird das Bürstchen in das sterile Röhrchen geschoben und der Stiel des Abstrichsets abgeknickt oder der Abstrichstab in ein Versandröhrchen gesteckt. Im Anschluss wird das Röhrchen fest verschlossen.

- *Hornentnahme (Finger- bzw. Fußnägel):*
  2-5 abgeschnittene Fingernägel werden in ein geeignetes Transportgefäß, (z.B. 1,5 ml Reaktionsgefäß), welches mit den Patientendaten beschriftet ist, gegeben.

2.3 Benötigte Probenmengen

Knochenmark

- ca. 2-8 ml

peripheres Blut

- ca. 8-16 ml

Stammzellasservat

- 0,5-1 ml

Wangenschleimhautabstrich

- 1 x

Finger- bzw. Fußnägel

- 2-5 Stk.

Liquor

- 3-5 ml

Pleurapunktat

- 3-5 ml

2.4 Geeignete Probengefäße

Für die Materialien Blut und Knochenmark können entweder Standard-Lithium-Heparin bzw. Standard-EDTA Monovetten oder alternativ mit 0,5 ml Lithium-Heparin durchspülte Spritzen, welche sofort befüllt werden sollten, verwendet werden. Die Verwendung von weiteren Antikoagulantien ist nach Absprache möglich.
Stammzellasservat kann in Kryo-Röhrchen abgefüllt werden.
Wangenschleimhautabstriche sollten bevorzugt trocken aufbewahrt werden, alternativ können auch festverschließbare, trockene, sterile Röhrchen verwendet werden.

Finger- bzw. Fußnägel können in ein steriles 2,0 ml Reaktionsgefäß gegeben werden.
Liquor, bzw. Pleurapunktate werden nativ in ein Probengefäß ohne Antikoagulanz abgefüllt.
Biopsien werden nach ihrer Entnahme in mit Heparin versetzte physiologische Kochsalzlösung oder in ihrer Fixationslösung (Formaldehyd) aufbewahrt. Paraffinschnitte können im Block oder als dickere Schnitte in 1,5 - 2,0 ml Reaktionsgefäßen aufbewahrt werden.
Auf Anfrage können die benötigten Probengefäße von der AgenDix GmbH zugesandt werden.

2.5 Kennzeichnung der Probengefäße

Zur eindeutigen Probenidentifikation ist eine eindeutige, lesbare Beschriftung der Gefäße mit Name, Vorname, Geburtsdatum und ggf. Spender- bzw. Empfänger-ID-Nummer erforderlich. Klinische Studien müssen über eine Chiffre eindeutig identifizierbar sein.

III. Untersuchungsauftrag

→ notwendige Formulare zum Untersuchungsauftrag (Anforderungsschein, Einwilligungserklärung) finden sich in der jeweils gültigen Form unter https://www.agendix.de

3.1 Ausfüllen des Probenanforderungsscheins

Um eine korrekte Bearbeitung der Proben zu gewährleisten, muss der Anforderungsschein vollständig ausgefüllt sein. Dieser beinhaltet folgende Angaben:

- Angaben zum Patienten:
  - Name, Vorname
  - Geburtsdatum
  - evtl. Geschlecht
  - ggf. Spender- oder Patienten-ID

- Angaben zum Kostenträger (Auswahl: Privatpatient, Kassenpatient, andere Versicherungsform, Abrechnung nach § 116b)
- Behandlungsform (Auswahl: stationär, ambulant)

→ Klinische Studien werden gemäß Good Clinical Practice gehandhabt

- Angabe krankheitsspezifischer Daten:
  - Diagnose (soweit bekannt, evtl. Verdachtsdiagnose)
  - evtl. zusätzliche Angaben zum Therapieverlauf (Bemerkungen)

- Angaben zu Material und Untersuchung:
  - Probenstatus:
    - Verlaufskontrolle
    - Spenderprobe
    - Empfängerprobe vor allogener Stammzelltransplantation
    - Angabe des Transplantationsdatums
    - Erstdiagnose
    - V. a. Rezidiv
    - gesichertes Rezidiv
  - Angabe des Untersuchungsmaterials
    - Entnahmedatum
    - Leukozytenzahl
  - Auswahl der gewünschten Untersuchung/Anforderung
    - Chimaerismus:
      - Gesamtchimaerismus (STR)
      - Gesamtchimaerismus (Real-Time-PCR)
      - Untersuchung von isolierten Zellpopulationen:
        - T-Zellen, Granulozyten
        - die Chimaerismusanalyse von weiteren Zellpopulationen kann ggf. nach Rücksprache mit der ärztlichen Leitung durchgeführt werden

- Molekulare Diagnostik:
  - Translokationen
  - Stufendiagnostik
  - Mutationsanalyse
  - MRD Diagnostik
- Bemerkungen:
  - Hinweise zur Probe oder Anmerkungen zu weiteren gewünschten Analysen

- Angaben zum Einsender:
  - Anfordernde(r) Ärztin/Arzt mit Unterschrift
  - Angaben zur Klinik (Adresse, Telefonnummer, Faxnummer, Ansprechpartner), vorzugsweise durch Klinik- bzw. Arztstempel

Die Angaben auf dem Anforderungsschein müssen klar und eindeutig identifizierbar und der entsprechenden Probe zuordenbar sein. Die Daten von Patienten dienen ausschließlich der Identitätssicherung und werden vertraulich behandelt.

Anforderungen mittels Überweisungsschein, welche unter das Kapitel 19.4.3 des einheitlichen Bewertungsmaßstabs der kassenärztlichen Vereinigung zählen (Indikationsbezogene Diagnostik hämatologischer Neoplasien) können ausschließlich durch Fachärzte im Bereich Hämatologie/Onkologie veranlasst werden.

3.2 Einwilligungserklärung (ggf. gemäß GenDG)

Von jedem Patienten muss einmalig die Einwilligung zur Durchführung einer molekulargenetischen Untersuchung vorliegen. Weiterhin willigt der Patient zu einer Datenverarbeitung gemäß den Anforderungen der DSGVO ein. Diese beinhaltet folgende Angaben:

- Name, Vorname Patient, bzw.
- Name, Vorname gesetzlicher Vertreter
- Zustimmung/Verneinung der anonymisierten Verwendung von überschüssigem Material für Forschungszwecke

- Angabe zu Ort und Datum
- Unterschrift Patient bzw. gesetzlicher Vertreter

IV. Verpackung, Kennzeichnung und Transport der Proben

4.1 Verpackung

Verpackungen für medizinische Untersuchungsmaterialien müssen so beschaffen sein, dass sie den Belastungen beim Transport standhalten und somit ein Freisetzen des Materials verhindert wird.
Das Untersuchungsmaterial muss sich in einem wasserdichten Primärgefäß (z.B.: Monovette) befinden. Dieses Primärgefäß sollte in ein wasserdichtes Sekundärgefäß verpackt werden. Die Außenverpackung sollte ausreichend fest sein bzw. durch Polsterung vor äußeren Einwirkungen geschützt sein. Zudem sollten die Proben zur Gewährleistung des Datenschutzes in einer blickdichten Verpackung versendet werden.

4.2 Kennzeichnung

Neben der Angabe von Absender und Empfänger sollte die Außenverpackung mit „Biologischer Stoff, Kategorie B“ gekennzeichnet werden.

4.3 Lagerungs- und Versandbedingungen

Die Lagerung bzw. der Versand des Untersuchungsmaterials erfolgt ungekühlt. Extreme Kälte (< 0°C) oder Wärme (> 30°C) sollte vermieden werden.
RNA sollte auf Trockeneis gelagert und versandt werden.

4.4 *Zeitraum zwischen Probenabnahme und Probeneingang*

Zur Gewährleistung eines optimalen Ergebnisses sollte die Versanddauer möglichst nicht mehr als 24 Stunden betragen, dies kann durch einen Expressservice oder Kurierdienst gewährleistet werden (u.a. DHL, UPS, TNT). Alternativ ist ein Versand mit der Deutschen Post AG als Brief „National“ möglich.

Längere Intervalle liegen ggf. außerhalb der ***Spezifikation (validierter Bereich)*** und können zu Verlusten in der Qualität und Quantität der Zellen bzw. zu einer Verschlechterung der RNA-Qualität führen (Vermerk auf Befund).

- DNA-Analytik aus Gesamtleukozyten: 7 Tage
- RNA-Analytik aus Gesamtleukozyten: 4 Tage
- Analytik aus T-Zellen: 4 Tage
- Analytik aus Granulozyten: 6 Tage

V. Methodisches Spektrum

5.1 Angebotene Analysen

Das komplette Spektrum ist den aktuellen Anforderungsscheinen zu entnehmen (siehe https://www.agendix.de). ***Akkreditierte Verfahren können auf dem Überblick aller akkreditierten Verfahren und Parameter im flexiblen Geltungsbereich eingesehen werden. Weiterhin wird das Akkreditierungssymbol ausschließlich für akkreditierte und flexibel akkreditierte Verfahren auf Anforderungsscheinen und Befunden verwendet. Dabei werden die Regelungen der SymbolVO eingehalten.***

Für alle angebotenen Untersuchungen wurden biologische Referenzbereiche definiert und eine Risikoanalyse durchgeführt. Dennoch kann ein minimales Restrisiko nicht vollständig ausgeschlossen werden. Bei Rückfragen steht die ärztliche und technische Leitung unter den im Punkt 1 angegebenen Kontaktdaten zur Verfügung.

Auch Angaben zur Messunsicherheit (der einzelnen Untersuchungsverfahren stellen wir Ihnen auf Anfrage gern zur Verfügung.

5.2 Angewandte Methoden

1 Dichtegradientenzentrifugation zur Separation der Leukozyten aus den gesamten Blutzellen
2 Gewinnung von T-Zellen (CD3+) durch immunomagnetische Selektion
3 Isolation von RNA, genomischer DNA aus den Leukozyten mit Hilfe eines Extraktions-Kits
4 Photometrische Konzentrationsmessung von Nukleinsäuren
5 Simultane Amplifikation mehrerer Nukleinsäurefragmente mittels Multiplex - Polymerase - Kettenreaktion ***(Multiplex-PCR)***
6 Amplifikation eines Nukleinsäurefragments mittels Singleplex - Polymerase - Kettenreaktion ***(PCR)***
7 Reverse Transkription ***(RT)***
8 Quantitative Real-Time-PCR ***(qPCR)***
9 Auftrennung und Detektion der amplifizierten Nukleinsäurefragmente mittels Kapillargelelektrophorese
10 Gelektrophorese
11 DNA-Sequenzierung nach Sanger
12 Next Generation Sequencing (NGS) ***(amplikonbasierte Ultradeep-Sequenzierung oder Hybridisierungs-basierte Zielgenanreicherung)***
13 Allelspezifische Amplifikation zum Mutationsnachweis
14 Restriktionsfragmentanalyse
15 Digital Droplet Polymerase Kettenreaktion ***(ddPCR)***
16 Fluoreszenz-aktivierte Zellsortierung ***(FACS)***
17 IMGT V-Quest&ARResT Analyse

→ Biologische Referenzbereiche, sowie die Angabe der angewandten Methoden können auf dem Befund eingesehen werden.

5.3 Zeitraum der Probenver- und bearbeitung

Die Befundausgabe für die Chimaerismusanalyse erfolgt in der Regel innerhalb von 1-3 Werktagen nach Probeneingang. Für andere Analysen liegen die Bearbeitungszeiten zwischen 2-10 Werktagen, je nach Komplexität der Analysen. Bei spezifischen Anforderungen oder bei Komplikationen bei der Probenbearbeitung (z.B. geringe Zellzahlen, notwendige Wiederholung der PCR) kann sich der Zeitraum bis zur Befundausgabe jedoch verzögern.

5.4 Zurückweisung von Proben

Befinden sich Primärproben in einem Zustand, der sich für die angeforderte Untersuchung als ungeeignet erweist, wird telefonisch Rücksprache mit dem Einsender gehalten, ob diese verworfen werden sollen. Darunter zählen Proben, welche für die Bearbeitung den zulässigen Zeitraum überschritten haben (siehe Abschnitt "Transport und Versand"), sowie Proben, welche aufgrund einer unzureichenden Kennzeichnung nicht identifizierbar sind.

Weiterhin können Proben, welche geronnen oder aufgrund sehr niedriger Temperaturen gefroren sind, evtl. nur eingeschränkt bearbeitet werden. In dem Befund wird der Probeneinsender mit einem entsprechenden Hinweis informiert.

VI. Leistungsverzeichnis

Nummer	Leistung
A3696	Anreicherung von Zellen mittels spezifischer Antikörpermarkierung
A4782	Reverse Transkription
3920	Isolierung humaner Nukleinsäuren
3922	Amplifikation von humanen Nukleinsäuren oder Nukleinsäurefragmenten mit Polymerasekettenreaktion (PCR)
3923	Amplifikation von humanen Nukleinsäuren mit Polymerasekettenreaktion (PCR)
3924	Identifizierung von humanen Nukleinsäurefragmenten

3926	Identifizierung von humanen Nukleinsäurefragmenten durch Sequenzermittlung
4003	Dichtegradientenisolierung von Zellen, Organellen oder Proteinen, je Isolierung
11301	Grundpauschale humangenetische in-vitro-Diagnostik bei Probeneinsendung
11522	Mutationssuche zum Nachweis oder Ausschluss einer krankheitsrelevanten oder krankheitsauslösenden genomischen Mutation mittels Sequenzierung menschlicher DNA
19401	Grundpauschale tumorgenetische in-vitro-Diagnostik
19402	Zuschlag zu den Gebührenordnungspositionen 19410, 19411, 19421, 19424, 19426, 19432, 19450, 19453, 19464 und 19503 bis 19506 für eine wissenschaftliche ärztliche Beurteilung komplexer krankheitsrelevanter tumorgenetischer Analysen im individuellen Kontext
19403	Laborgrundpauschale Tumorgenetik
19404	Aufarbeitung einer Gewebe- oder Organprobe
19411	Gezielte Untersuchung einer/eines krankheitsrelevanten oder krankheitsauslösenden Translokation/Fusionsgens
19421	Gezielter Nachweis oder Ausschluss einer krankheitsrelevanten oder krankheitsauslösenden somatischen genomischen Punktmutation, Deletion oder Duplikation in kodierenden oder regulatorischen Sequenzen
19424	Mutationssuche zum Nachweis oder Ausschluss einer krankheitsrelevanten oder krankheitsauslösenden somatischen genomischen Mutation mit klinisch relevanten Eigenschaften in bis zu 20 Kilobasen kodierender Sequenz einschließlich zugehöriger regulatorischer Sequenzen
19430	Affinitätsanreicherung neoplastischer Zellen mittels spezifischer Ligand-Zell-Interaktion (z.B. immunomagnetische Anreicherung)
19433	B-Zell- oder T-Zell-Klonalitätsuntersuchung
19434	Chimärismusanalyse nach allogener Stammzelltransplantation
19435	Nachweis einer minimalen Resterkrankung bei hämatologischen Neoplasien

19453	***Mutationssuche zum Nachweis oder Ausschluss einer krankheitsrelevanten oder krankheitsauslösenden somatischen genomischen Mutation mit klinisch relevanten Eigenschaften***
32510	Dichtegradienten- oder immunomagnetische Isolierung von Zellen als vorbereitende Untersuchung
32864	Untersuchung auf die C282Y- und die H63D-Mutation des HFE (Hämochromatose)-Gens
32867	Genotypisierung zur Bestimmung des Dihydropyrimidin-Dehydrogenase (DPD)-Metabolisierungsstatus vor systemischer Therapie mit 5-Fluorouracil oder dessen Vorstufen gemäß der Zusammenfassung der Merkmale des Arzneimittel (Fachinformation)