

Darlegung der mit der Aktualisierung der Rili-BÄK einhergehenden Änderungen, welche vom Vorstand der Bundesärztekammer in seiner Sitzung am 14.04.2023 beschlossen wurden.
(Bekanntgabe der aktualisierten Rili-BÄK: Deutsches Ärzteblatt, Jg. 120, Heft 21-22, 30.05.2023)

Die nachfolgenden Änderungen beziehen sich auf **Teil B 5** der geltenden Rili-BÄK.

- **Hinzufügungen** sind in **blauer Schrift** sowie zusätzlich unterstrichen,
- **Streichungen** sind in **roter Schrift** sowie zusätzlich durchgestrichen kenntlich gemacht.

Einige Regelungen des bisherigen Teils B 5 **wurden unverändert übernommen**, jedoch an eine andere Stelle innerhalb von Teil B 5 **verschoben**.

- Diese **Verschiebungen** sind in **grüner Schrift** kenntlich gemacht und sind zusätzlich
 - doppelt unterstrichen, um den **neuen** Ort innerhalb des überarbeiteten Teils B 5 zu kennzeichnen,
 - doppelt durchgestrichen, um den **bisherigen** Ort innerhalb von Teil B 5 zu kennzeichnen.

B 5 Molekulargenetische und zytogenetische laboratoriumsmedizinische Untersuchungen

1 Grundsätze der Qualitätssicherung

(1) In Teil B 5 sind Mindestanforderungen an die Sicherung der Qualität der Ergebnisse molekulargenetischer und zytogenetischer laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen festgelegt. Diese Mindestanforderungen umfassen die interne und die externe Qualitätssicherung sowie besondere Anforderungen zur Durchführung von bestimmten Messverfahren.

Im Allgemeinen werden molekulargenetische und zytogenetische laboratoriumsmedizinische Untersuchungen in postnatale-, pränatale- sowie tumorgenetische Diagnostik mit folgenden Anforderungen an das Untersuchungsmaterial unterschieden:

- a) Eine postnatale laboratoriumsmedizinische Untersuchung im Sinne dieser Richtlinie ist die molekulargenetische bzw. zytogenetische Untersuchung einer Blutprobe, einer Gewebeprobe, eines Zellabstrichs oder einer Zellkultur aus einem Körpergewebe nach der Geburt.
- b) Eine pränatale laboratoriumsmedizinische Untersuchung im Sinne dieser Richtlinie ist die molekulargenetische bzw. zytogenetische Untersuchung von fetalen Geweben wie z. B. von Amnionzellen, von Chorionzotten, von fetalen Lymphozyten, isolierten fetalen Zellen oder Nukleinsäuren aus mütterlichem Blut.
- c) Eine tumorgenetische laboratoriumsmedizinische Untersuchung im Sinne dieser Richtlinie ist die molekulargenetische bzw. zytogenetische Untersuchung von neoplastisch verändertem Gewebe, Knochenmark, zirkulierenden Tumorzellen sowie zellfreien Nukleinsäuren.

(2) Molekulargenetische laboratoriumsmedizinische Untersuchungen sind im Sinne dieses Richtlinienanteils alle ~~laboratoriumsmedizinischen~~ Untersuchungen am menschlichen Genom und Transkriptom, welche den Nachweis bekannter Sequenzvarianten, die

Identifizierung nicht bekannter Varianten oder die Ermittlung der Struktur oder Kopienzahl genomischer Abschnitte oder den Nachweis epigenetischer Modifikationen genomischer Abschnitte zum Ziele haben. ~~Sie schließen methodisch die molekulare Karyotypisierung mittels Array-Analyse (z.B. array-CGH, SNP-arrays) mit ein.~~

~~(2) Zytogenetische laboratoriumsmedizinische Untersuchungen sind im Sinne dieses Richtliniensteils alle laboratoriumsmedizinischen Untersuchungen der zytogenetischen Postnataldiagnostik, zytogenetischen Pränataldiagnostik und der tumorzytogenetischen Diagnostik. Diese schließen methodisch die molekulare Zytogenetik (ISH, zumeist als Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung [FISH]) sowie die molekulare Karyotypisierung mittels Array-Analyse ein.~~

~~a) Eine zytogenetische Postnataldiagnostik im Sinne dieser Richtlinie ist die zytogenetische Untersuchung einer Blutprobe, einer Gewebeprobe, eines Zellabstrichs oder einer Zellkultur aus einem Körpergewebe nach der Geburt.~~

~~b) Eine zytogenetische Pränataldiagnostik im Sinne dieser Richtlinie ist die zytogenetische Untersuchung von Amnionzellen, von Chorionzotten oder von fetalen Lymphozyten.~~

~~c) Eine tumorzytogenetische Diagnostik im Sinne dieser Richtlinie ist die Analyse von neoplastischen Zellen. Dies schließt die Analyse von Zellen aus Knochenmark, Blut, Lymphknoten und anderen Geweben ein.~~

~~Die zytogenetischen laboratoriumsmedizinischen Untersuchungen in der zytogenetischen Postnataldiagnostik, der zytogenetischen Pränataldiagnostik und der tumorzytogenetischen Diagnostik schliessen die Anwendung der konventionellen molekularen Zytogenetik (ISH, zumeist als Fluoreszenz *in situ* Hybridisierung (FISH)) mit ein.~~

(3) Alle vom medizinischen Laboratorium durchgeführten molekulargenetischen und zytogenetischen laboratoriumsmedizinischen Untersuchungen ~~(Messgrößen und Nominalmerkmale)~~ unterliegen der internen Qualitätssicherung. Findet eine Untersuchung an mehreren Geräten oder Arbeitsplätzen statt, so ist die interne Qualitätssicherung an jedem dieser Geräte oder Arbeitsplätze durchzuführen.

(4) Zusätzlich unterliegen ~~alle in der Tabelle B 5-1 in Spalte 7 dieses Teils gekennzeichneten Untersuchungen und die in Tabelle B 5-2b aufgeführten Prüfgrößen der externen Qualitätssicherung.~~ Für molekulargenetische Untersuchungen, die nicht in Tabelle B 5-1 Spalte 7 gelistet sind, ist die in den Tabellen B 5 aufgeführten Untersuchungen der externen Qualitätssicherung. Die Teilnahme an einem Ringversuch zur externen Qualitätssicherung ist für jede der genannten Untersuchungen entsprechend der aufgeführten Häufigkeit an jedem Standort Pflicht, sofern diese Untersuchung dort bereitgehalten wird. Sofern das Labor ausschließlich Untersuchungen anbietet, deren Methodik nicht bereits durch die Teilnahme an einem Ringversuch nach den Tabellen des Abschnitts B 5 überprüft wird, hat die externe Qualitätssicherung durch die Teilnahme an einem Ringversuch, welcher die angewandte Methodik überprüft, zu belegen, sofern ein solcher Ringversuch angeboten wird. Satz 2 gilt als erfüllt, wenn die angewandte Methodik durch einen in Tab. B 5-1 aufgeführten Ringversuch erfasst und an diesem teilgenommen wird.

Bei einem Ringversuch im Sinne dieser Richtlinie handelt es sich um einen Ringversuch, der von Referenzinstitutionen gemäß Teil E dieser Richtlinie angeboten wird.

- ~~(5)~~ (5) Die Untersuchungen und Prüfgrößen die Anforderungen an die interne und externe Qualitätssicherung sind in den Tabellen ~~B 5-1, B des Abschnitts B 5-2a und B 5-2b~~ getrennt nach molekulargenetischen und zytogenetischen Untersuchungen aufgeführt. Kriterien für die Aufnahme in die Tabellen sind insbesondere die Häufigkeit der Untersuchung und deren medizinische Bedeutung nach dem Stand der Wissenschaft. Die Tabellen werden fortgeschrieben.

2. Validierung - Besondere Anforderungen zur Durchführung von bestimmten Verfahren

- (1) Die Validierung molekular- und zytogenetischer Messverfahren gemäß Teil A 6.2.2 umfasst das gesamte Messverfahren einschließlich der ggf. anschließenden bioinformatischen Auswertung.
- (2) Messverfahren, die für zirkulierende Tumor-DNA (ctDNA) aus zellfreien Körperflüssigkeiten eingesetzt werden, müssen mindestens eine Häufigkeit des varianten Allels (variant allele frequency, VAF) von 0,5% nachweisen können. Die methodenspezifische Nachweisgrenze (limit of detection, LOD) zum Ergebnis ist im Bericht anzugeben. Der quantitative Berichtsbereich muss einen Variationskoeffizienten von kleiner 25% aufweisen.
- (3) Für molekulargenetische Untersuchungen, die quantitative Ergebnisse erzielen, ist die Leistungsfähigkeit eines Messverfahrens für jede Messgröße und bei Hochdurchsatzverfahren für relevante Messgrößen (mindestens für die in den Tabellen B 5-2 und B 5-3 gelisteten Marker) zu erstellen und zu dokumentieren. Hierbei müssen eine Leerwertobergrenze (limit of blank, LOB), (limit of detection, LOD) und Quantifizierungsgrenze (limit of quantification, LOQ) bestimmt werden.

~~2-3~~ **Durchführung der Qualitätssicherung**

~~23.1~~ **Durchführung der Internen Qualitätssicherung**

~~2~~

~~23.1.1~~ **Durchführung**

1. Allgemeines

- (1) Hinsichtlich Art und Häufigkeit der Durchführung der -internen Qualitätssicherung sind die Vorgaben des Herstellers zu beachten.

- ~~(1)~~(2) Unabhängig davon -ist die interne Qualitätssicherung hinsichtlich ihrer Häufigkeit

- a) entsprechend den Tabellen ~~B 5-1 und B 5-2a,~~ des Abschnitts B 5 für diejenigen Untersuchungen oder Prüfgrößen, welche dort einzeln aufgeführt sind,

b) ausreichend und regelmäßig entsprechend der medizinischen Notwendigkeit und der Untersuchungsfrequenz von Patientenproben, sofern die Untersuchungen nicht in den Tabellen [des Abschnitts B-5-1 und B-5-2a](#) aufgeführt sind,

c) mindestens einmal wöchentlich, sofern in dieser Kalenderwoche mit diesem Verfahren Patientenproben untersucht werden.

durchzuführen.

~~Abs. (1) Satz 1 gilt als erfüllt, wenn in dem angewandten Analysesystem entsprechende Kontrollen integriert sind, welche die Richtigkeit des Ergebnisses sicherstellen.~~

~~(2)~~(3) Außerdem ist die interne Qualitätssicherung nach Eingriffen ins ~~Untersuchungsverfahren~~ Untersuchungsverfahren durchzuführen. Eingriffe ~~ins~~in das Untersuchungsverfahren sind:

~~a)~~ a) Neustart nach vollständiger Abschaltung des Gerätes

~~b)~~a) Kalibration durch den Anwender

~~e)~~b) Durchführung von Reparatur oder Wartung untersuchungsergebnisrelevanter Geräte und

↗

↗

~~d)~~c) Reagenzchargenwechsel¹

Abs. (2) und (3) gelten als erfüllt, wenn in dem angewandten Messverfahren Verfahrenskontrollen integriert sind, welche die Funktionalität des Messverfahrens sicherstellt.

3.1.2. Molekulargenetische laboratoriumsmedizinische Untersuchungen

(1) Die Kontrollproben müssen dem zu untersuchenden Patientenprobenmaterial so ähnlich wie möglich sein. Im selben Untersuchungsverfahren dürfen Kontroll- und Kalibriermaterial nicht identisch sein.

(2) Es sind Kontrollproben mit bekanntem Ergebnis zu verwenden. Beim Nachweis von bekannten Sequenzvarianten oder von Varianten der Struktur oder Kopienzahl genomischer Abschnitte sollen die Kontrollproben, soweit verfügbar, die bekannten Allele oder Allelbereiche repräsentieren.

(3) Sollten aufgrund der Seltenheit der nachzuweisenden molekulargenetischen Veränderung keine Kontrollproben zur Verfügung stehen oder deren Mitführung nicht durchführbar sein, ist eine Verfahrenskontrolle mit geeigneten Maßnahmen sicherzustellen.

¹ Hierunter sind auch Änderungen der Reagenzienzusammensetzung wie z. B. das Herstellen von Verdünnungen oder bei Eigenherstellung das erneute Ansetzen der Reagenzien zu verstehen.

~~(3)~~(4) Bei Untersuchungen mit Nukleinsäureamplifikationsverfahren sind ~~Kontrollen~~Maßnahmen zu ~~verwenden~~ergreifen, mit denen Kontaminationen erkannt werden können.

~~(4)~~ ~~Bei Arrayanalysen muss an Hand bekannter Kontrollgrößen sichergestellt werden, dass mindestens die Vorgaben des Herstellers für die Auswertung erreicht worden sind.~~

(5) Bei der Analyse zirkulierender Tumor-DNA (ctDNA) muss bei jeder Untersuchung die probenspezifische Nachweisgrenze LOD ermittelt werden. Bei quantitativen Verfahren muss für jede identifizierte Sequenzvariation der Anteil des varianten Allels (VAF) an allen Allelen ermittelt werden.

(6) Bei Untersuchungen mittels Hochdurchsatzsequenzierung muss die Vollständigkeit der Sequenzierdaten der zu untersuchenden genomischen Bereiche, einschließlich der Intron-Exon-Übergänge mit einer ausreichenden Sequenziertiefe (Coverage) abgedeckt sein (Tabelle B 5-6). Alle Bereiche, für die diese Anforderungen nicht erfüllt sind, sind erneut zu sequenzieren bzw. müssen im Bericht entsprechend vermerkt werden. Für die Bestimmung von Varianten (Variantcalling) muss neben der ausreichenden Sequenziertiefe (Tabelle B 5-6) auch die Qualität der die Varianten zeigenden Reads sowie deren Verteilung in beiden Sequenzierrichtungen kontrolliert werden. Eine Kontamination aus vorherigen Sequenzierungsläufen ist auszuschließen.

(7) Für die Bestimmung von Varianten (Variantcalling) bei onkologischen oder hämatologischen Fragestellungen müssen nachfolgende Anforderungen erfüllt sein: Varianten mit einer VAF < 1% dürfen durch eine alleinige Erhöhung der Coverage nicht definiert/bestimmt werden. Hier sind zusätzliche Algorithmen zur Fehlerunterdrückung und die Verwendung von sog. unique molecular identifier (UMIs) erforderlich. Varianten ab einer VAF >= 1% dürfen bestimmt werden, sofern sie in mindestens drei nicht duplizierten Reads enthalten sind. Ist dies nicht möglich, können Varianten erst ab einer VAF >= 5% mit einem Anteil an mutant-reads >=5% der durchschnittlichen Coverage bestimmt werden.

(8) Die Qualität molekulargenetischer Untersuchungen der Tabellen B 5-5 und B 5-6 ist in jeder Patientenprobe, soweit zutreffend, anhand der in diesen Tabellen aufgeführten Prüfgrößen zu bewerten. Unterschreitet die fetale Fraktion in der Analyse einer Probe den Grenzwert von 2 % gemäß Tabelle B 5-5, darf kein Befund zu dieser Probe erstellt werden. Überschreitet eine der Prüfgrößen die in Tabelle B 5-6 vorgegebenen Grenzen, entscheidet die verantwortliche Person, ob die Untersuchung zu wiederholen ist. Wird auch bei der Wiederholung der Untersuchung die Grenze überschreitet, muss nach der Ursache gesucht und diese, sofern möglich, beseitigt werden. Unter Beachtung der medizinischen Relevanz hat die verantwortliche Person zu entscheiden, ob mit dieser Probe dennoch Untersuchungsergebnisse erhoben und mit entsprechender Kommentierung im Bericht verwendet werden können.

3.1.3. Zytogenetische laboratoriumsmedizinische Untersuchungen

~~Alle Präparate aus Patientenproben müssen, soweit zutreffend, hinsichtlich der~~ Für alle berichteten Ergebnisse zytogenetischer Untersuchungen sind die Prüfgrößen (Bandenauflösung, der Anzahl der Überlagerungen, Anzahl der Helligkeitsstufen und der Hybridisierungseffizienz geprüft werden. Die Ergebnisse sind) gemäß Tabelle B 5-7 zu bestimmen und zu dokumentieren.

2.13.2 Bewertung der Ergebnisse

2.1.2.1 bei molekulargenetischen laboratoriumsmedizinischen Untersuchungen an Hand der Kontrollprobenuntersuchung

3.2.1 Bewertung der Ergebnisse molekulargenetischer laboratoriumsmedizinischer Kontrollproben und Prüfgrößen

- (1) Die Bewertung der Kontrollprobenuntersuchung beziehungsweise ~~der Kontrollgröße~~ der internen Verfahrenskontrolle anhand der Prüfgröße hat unverzüglich nach Vorliegen des Ergebnisses zu erfolgen. Die Bewertung erfolgt ~~an Hand~~ anhand der Zielvorgaben.
- (2) Werden die Vorgaben nicht erfüllt, ist das ~~Untersuchungsverfahren~~ Messverfahren zunächst für weitere Untersuchungen von Patientenprobenmaterial gesperrt. Es muss nach der Ursache der Nichterfüllung gesucht und diese ~~sofern möglich~~, beseitigt werden. Unter Beachtung der medizinischen Relevanz hat die verantwortliche Person zu entscheiden, ob das ~~Untersuchungsverfahren~~ Messverfahren wieder freigegeben werden kann ~~und~~ oder ob noch weitergehende Maßnahmen getroffen werden müssen, wie beispielsweise die gesamten der Kontrolle vorhergehenden Untersuchungen zu wiederholen sind oder ob die Einsender hinsichtlich bereits übermittelter Ergebnisse informiert werden müssen. Der gesamte Vorgang ist zu dokumentieren.

3.2.1.2-2 Bewertung der Ergebnisse bei zytogenetischen laboratoriumsmedizinischen Untersuchungen an Hand anhand der Prüfgröße

(1) Die Qualität der zytogenetischen Untersuchung jeder Patientenprobe ist, soweit zutreffend, ~~an Hand~~ anhand der in Tabelle B 5-~~2a~~7 aufgeführten Prüfgrößen zu ~~prüfen. Überschreitet~~ bewerten. Überschreitet eine der Prüfgrößen die in Tabelle B 5-~~2a~~7 Spalte 4 vorgegebenen Grenzen, entscheidet die verantwortliche Person, ob die Untersuchung ~~der Patientenprobe~~ zu wiederholen ist. Wird auch bei der Wiederholung der Untersuchung die Grenze verletzt, muss nach der Ursache gesucht und diese, sofern möglich, beseitigt werden. Unter Beachtung der medizinischen Relevanz hat die verantwortliche Person zu entscheiden, ob mit dieser Probe dennoch Untersuchungsergebnisse erhoben und mit entsprechender Kommentierung im ~~Befund~~ Bericht verwendet werden können.

(2.1.3) Die retrospektive Bewertung ~~der Ergebnisse bei zytogenetischen Untersuchungen an Hand~~ der Prüfgrößen erfolgt nach Beendigung einer ~~Kontrollperiode~~

Kontrollperiode. Eine Kontrollperiode umfasst in der Regel den Zeitraum eines Kalendermonats.

Liegen nach einem ~~Kalendermonat~~ mehr als 50 frei gegebene Ergebnisse von Patientenproben vor, hat das medizinische Laboratorium den relativen Anteil der Überschreitungen der in ~~Tab. Tabelle~~ B-5-~~2a~~7 Spalte 4 vorgegebenen Grenzen zu errechnen und ~~an Hand~~ anhand der in Spalte 4 aufgeführten Grenzen zu prüfen.

Wenn weniger als 50 Ergebnisse von ~~frei-gegebenen~~ freigegebenen Ergebnissen von Patientenproben vorliegen, verlängert sich der Zeitraum um jeweils einen Monat, bis mindestens 50 derartige Ergebnisse vorliegen. Der Gesamtzeitraum darf jedoch drei Monate nicht überschreiten.

Werden die in ~~Tab. der Tabelle~~ B-5-~~2a~~7 Spalte 4 vorgegebenen Grenzen überschritten, ist das Untersuchungsverfahren zunächst für die Untersuchung weiterer Patientenproben zu sperren. Das Untersuchungsverfahren darf erst dann wieder freigegeben werden, wenn die Funktionsfähigkeit des Verfahrens durch geeignete Maßnahmen festgestellt wurde. Wird voraussichtlich in drei Monaten die Anzahl von 50 ~~frei-gegebenen~~ freigegebenen Ergebnissen von Patientenproben nicht erreicht, entfällt die Errechnung des relativen Anteils der Überschreitungen gemäß Spalte ~~14~~. Wird in diesem Fall geringerer Untersuchungszahlen in drei

Monaten fünfmal die in [Tab.Tabelle B-5-2a7](#) Spalte 3 vorgegebene Grenze überschritten, ist ebenfalls nach den Sätzen 4 und 5 vorzugehen. Der gesamte Vorgang ist zu dokumentieren.

3.2.4.43 Dokumentation

- (1) Alle Ergebnisse der internen Qualitätssicherung sind nach Untersuchungen und Art des Probenmaterials unter Berücksichtigung des Untersuchungsverfahrens und des Arbeitsplatzes geordnet zu dokumentieren. Auf Anforderung der mit der Prüfung der Einhaltung dieser Richtlinie beauftragten zuständigen Stelle ist die Dokumentation vorzulegen.
- (2) Die Dokumentation muss enthalten:
 - a) Bezeichnung des medizinischen Laboratoriums,
 - b) Bezeichnung des Arbeitsplatzes oder Analysegerätes,
 - c) Datum und, sofern entscheidend, Uhrzeit der Untersuchung,
 - d) Untersuchung, Probenmaterial, ~~gegebenenfalls~~ ggf. Einheit,
 - e) Untersuchungsmethode,
 - f) Ergebnis der Kontrolle oder Prüfgröße; einschließlich der Geräte- und Software-generierten internen Verfahrenskontrollen der Untersuchungsproben (z.B. Phred-Score).
 - g) Vorgaben für die Kontrolle oder Prüfgröße,
 - h) die Bewertung,
 - i) Freigabe- oder Sperrvermerk,
 - j) Ergriffene Korrekturmaßnahmen,
 - k) Hersteller, Bezeichnung und Chargennummer der Kontrollprobe, soweit zutreffend und
 - l) Name ~~/~~ Namenszeichen oder Unterschrift des Untersuchers.
- ⊕
- (3) Die Dokumentation über die durchgeführte interne Qualitätssicherung ist zusammen mit den Bewertungen sowie den Protokollen der Maßnahmen bei Nichterfüllung der Vorgaben fünf Jahre aufzubewahren, sofern aufgrund anderer Vorschriften keine davon abweichenden längeren Aufbewahrungsfristen vorgeschrieben sind.

3.2.4 Postanalytik

Die Befunde genetischer Untersuchungen müssen im Rahmen des Auftrages unter Beachtung des Gendiagnostikgesetzes neben der ärztlichen Bewertung enthalten:

1. Die Angaben gemäß Teil A 6.3.2,
2. die medizinische Indikation zur genetischen Untersuchung,
3. bei einer Chromosomenanalyse
 - a. die Angabe zur Bänderungstechnik, Bandenauflösung und den Karyotyp nach aktueller ISCN,
4. bei einer molekularen Karyotypisierung
 - a. die Angabe des verwendeten Genome-Builds, genomische Lokalisation nach Vorgabe der aktuellen ISCN,
5. bei einer molekulargenetischen Analyse
 - a. die untersuchten Gene bzw. Genabschnitte,
 - b. die verwendete Nomenklatur,
 - c. die Angabe der Varianten unter Verwendung einer anerkannten Nomenklatur:

- [1.alle krankheitsverursachenden und wahrscheinlich krankheitsverursachenden Varianten,](#)
- [2.unklare Varianten, falls eine Verbindung zur Krankheit besteht,](#)
- [d. die für die Datenanalyse eingesetzte Software \(Name und Version\) und das für den Variantenabgleich \(Calling\) als Referenz verwendete Genom,](#)
- [e. bewertete technische Angaben, soweit diese für die Beurteilung des Ergebnisses im Befund von Bedeutung sind,](#)
- [f. mittels Hochdurchsatzsequenzierung müssen alle Bereiche gemäß des Untersuchungsauftrages, für die keine Sequenziertiefe entsprechend Tabelle B 5-6 erreicht wurde, im Befund entsprechend vermerkt werden.](#)
- [6. Bei Untersuchungen von cfDNA ist das LOD ggf. probenspezifisch korrigiert anzugeben.](#)

3.3 Externe Qualitätssicherung (Ringversuche)

- (1) Der Ringversuchsteilnehmer führt die Untersuchungen der Ringversuchsproben unter Routinebedingungen durch und übermittelt die Ergebnisse und die von der Referenzinstitution benötigten Informationen. Mit der Übermittlung der Ergebnisse bestätigt der Teilnehmer, dass die Untersuchungen gemäß dieser Richtlinie in seinen Räumen und unter seiner Verantwortung durchgeführt worden sind.
- (2) Erhält ein Teilnehmer für eine Untersuchung kein Zertifikat, weil eines oder mehrere seiner Ergebnisse nicht mit den vom jeweiligen Referenzinstitut vorgegebenen Zielvorgaben übereinstimmen, so ist er verpflichtet, die Ursachen zu klären und - soweit in seiner Verantwortung möglich - zu beseitigen. Der gesamte Vorgang ist zu dokumentieren.
- (3) Die Bescheinigungen über die Teilnahme an Ringversuchen sowie die erworbenen Ringversuchszertifikate sind für die Dauer von fünf Jahren aufzubewahren, sofern aufgrund anderer Vorschriften keine davon abweichenden längeren Aufbewahrungsfristen vorgeschrieben sind.

Tabelle B 5-1

Interne und externe Qualitätssicherung spezifischer molekular-genetischer Untersuchungen

Lfd Nr.		Gen Trivialname(n)	Gen HGNC-Name	Molekular-genetische Kategorie(n) der genetischen Veränderungen*	Häufigkeit der internen Qualitätssicherung bzw. der Bewertung der Kontrollgröße	Häufigkeit der Teilnahme an Ringversuchen/ einmal pro
1	Alpha1-Antitrypsin	<i>AAT, PI1</i>	<i>SERPINA1</i>	MUT/SNP SNV	wöchentlich	Halbjahr
2	Antithrombin		SERPINC1	SNV	wöchentlich	Halbjahr

Lfd Nr.		Gen Trivialname(n)	Gen HGNC-Name	Molekulargenetische Kategorie(n) der genetischen Veränderungen*	Häufigkeit der internen Qualitätssicherung bzw. der Bewertung der Kontrollgröße	Häufigkeit der Teilnahme an Ringversuchen/ einmal pro
23	Apolipoprotein B 100	APOB	APOB	MUT/SNP SNV	wöchentlich	Halbjahr
34	Apolipoprotein E	APOE	APOE	MUT/SNP SNV	wöchentlich	Halbjahr
45	Cytochrom p450 2C9 (CYP2C9)	CYP2C9	CYP2C9 SNV	MUT/SNP SNV	wöchentlich	Halbjahr
56	Cytochrom p450 2C19 (CYP2C19)	CYP2C19	CYP2C19 SNV	MUT/SNP SNV	wöchentlich	Halbjahr
67	Cytochrom p450 2D6 (CYP2D6)	CYP2D6	CYP2D6 SNV	MUT/SNP SNV, IN/DEL, CNV	wöchentlich	Halbjahr
8	Dihydropyrimidin Dehydrogenase		DPYD	SNV	wöchentlich	Halbjahr
79	Faktor V (Leiden)	FV-Leiden	F5	MUT/SNP SNV	wöchentlich	Halbjahr
810	Hereditäre Hämochromatose	HLA-H	HFE	MUT/SNP SNV	wöchentlich	Halbjahr
911	HLA-B*27	HLA-B	HLA-B	MUT/SNP SNV	wöchentlich	Halbjahr
12	HLA-B*57:01		HLA-B	SNV	wöchentlich	Halbjahr
1013	Lactase-Phlorizin-Hydrolase	LPH	LCT	MUT/SNP SNV	wöchentlich	Halbjahr
1114	Methylen-Tetra-Hydrofolat-Reduktase	MTHFR	MTHFR SNV	MUT/SNP SNV	wöchentlich	Halbjahr
12	Plasminaktivator Inhibitor I	PAI1	SERPINE1	IN/DEL	wöchentlich	Halbjahr
1315	Prothrombin	FH	F2	MUT/SNP SNV	wöchentlich	Halbjahr
1416	Thiopurin-S-Methyltransferase	TPMT	TPMT SNV	MUT/SNP SNV	wöchentlich	Halbjahr
1517	Uridyl-Glucuronyltransferase-1A	UGT1	UGT1A1	IN/DEL	wöchentlich	Halbjahr
16	Vitamin K-Epoxid Reduktase	VKORC1	VKORC-1	MUT/SNP	wöchentlich	Halbjahr
18	Angiotensin Converting Enzym Apolipoprotein		ACE	IN/DEL	wöchentlich	Halbjahr
19	C-C motif chemokine receptor 5		CCR5	DEL	wöchentlich	Halbjahr

Lfd Nr.		Gen Trivialname(n)	Gen HGNC-Name	Molekulargenetische Kategorie(n) der genetischen Veränderungen*	Häufigkeit der internen Qualitätssicherung bzw. der Bewertung der Kontrollgröße	Häufigkeit der Teilnahme an Ringversuchen/ einmal pro
1720	Zystische Fibrose, Mukoviszidose	CFTR	CFTR CFT R	MUT/SNP SNV , IN/DEL, CNV	wöchentlich	Kalenderjahr
1821	Familiäres Brust-/Ovarial-Karzinom (BRCA)	BRCA1, BRCA2	BRCA1, BRCA2 BRCA1, BRCA2	MUT/SNP SNV , IN/DEL, CNV	wöchentlich	Kalenderjahr
1922	21-Hydroxylase-Defizienz (Adrenogenitales Syndrom)	P450-C21	CYP21A2	MUT/SNP SNV , IN/DEL, CNV	wöchentlich	Kalenderjahr
2023	Duchenne und Becker Muskeldystrophie	Dystrophin	DMD	CNV, MUT/SNP , IN/DEL,	wöchentlich	Kalenderjahr
2124	Fragiles-X-Syndrom	FRAXA	FMR1	EXP	wöchentlich	Kalenderjahr
2225	Erbliche Hörstörungen	Connexin-26	GJB2-	MUT/SNP SNV , IN/DEL, CNV	wöchentlich	Kalenderjahr
2326	Hereditäres Kolonkarzinom ohne Polyposis	HNPGC	MSH2, MLH1, MSH6, PMS2	MUT/SNP SNV , IN/DEL, CNV	wöchentlich	Kalenderjahr
2427	Huntington'sche Krankheit	Huntingtin	HTT	EXP	wöchentlich	Kalenderjahr
2528	Prader-Willi- und Angelman -Syndrome	Chr. 15q11-q13	ANGRS SNRPN	CNV, METH	wöchentlich	Kalenderjahr
2629	Spinale Muskelatrophie	SMA	SMN1, SMN2	CNV	wöchentlich	Kalenderjahr
2730	Wilson-Krankheit	ATPase	ATP7B	MUT/SNP SNV , IN/DEL	wöchentlich	Kalenderjahr
2831	Y-Chromosom, Mikrodeletionen	Azoospermiefaktor	AZF-Region	CNV	wöchentlich	Kalenderjahr

wöchentlich = jede Kalenderwoche, in welcher Patientenproben untersucht werden, ~~usw.~~

*) Aufgrund der genetischen Heterogenitäten sind - im Sinne des Platzhalterkonzepts - „molekulargenetische Kategorien“ als Klassifikatoren genetischer Veränderungen aufgeführt: ~~Punktmutation und/oder Einzelbasenpolymorphismus (MUT/SNP Einzelnukleotid-Varianten - Single-Nucleotide-Variants (SNV)~~, Insertion/Deletion (IN/DEL), Änderung der Kopienzahl des Gens- oder eines Gen-Teilabschnitts (CNV), Repeat-Expansion (EXP), Methylierungsstörung (METH)

~~Tabelle B 5-2a~~

Tabelle B 5-2

Interne und externe Qualitätssicherung molekulargenetischer ctDNA-Untersuchungen solider Tumore

<u>Lfd Nr.</u>	<u>Gen HGNC-Name</u>	<u>Molekulargenetische Kategorie (n) der genetischen Veränderungen</u>	<u>Messgröße (variant allele frequency, VAF)</u>	<u>Anforderungen an das Verfahren: Minimale Nachweisgrenze/VAF</u>	<u>Häufigkeit der Teilnahme an Ringversuchen/ einmal pro</u>
<u>1</u>	<u>BRAF</u>	<u>SNV</u>	<u>V600-Variante</u>	<u>0,5 %</u>	<u>Halbjahr</u>
<u>2</u>	<u>EGFR</u>	<u>SNV</u>	<u>T790M-Variante</u>	<u>0,5 %</u>	<u>Halbjahr</u>
<u>3</u>	<u>KRAS</u>	<u>SNV</u>	<u>Codon 12-Variante</u> <u>Codon 13-Variante</u> <u>Codon 61-Variante</u>	<u>0,5 %</u>	<u>Halbjahr</u>
<u>4</u>	<u>NRAS</u>	<u>SNV</u>	<u>Codon 61-Variante</u>	<u>0,5 %</u>	<u>Halbjahr</u>

Die interne Qualitätssicherung erfolgt anhand der unter 3.1.2 definierten Prüfgrößen und bei jeder Verwendung.

Tabelle B 5-3

Interne und externe Qualitätssicherung zielgerichteter molekular-genetischer, quantitativer Untersuchungen bei hämato-onkologischen Erkrankungen

Lfd. Nr.	Transkript	Molekulargenetische Kategorie(n) der genetischen Veränderungen	Zulässige absolute Abweichung des logarithmierten (Basis 10) Einzelwertes vom logarithmierten Sollwert	Zulässige Abweichung der logarithmierten (Basis 10) Werte vom logarithmierten Sollwert beim Ringversuch	Anforderungen an das Verfahren: Minimale Nachweisgrenze unter Verwendung eines Kontrollgens	Häufigkeit der internen Qualitätssicherung	Zielwertart beim Ringversuch	Häufigkeit der Teilnahme an Ringversuchen einmal pro
1.	BCR::ABL1	Expression	+/- 0,8 log (Basis 10) des Sollwerts	+/- 1,0 log (Basis 10) des Sollwerts	10⁻⁵*	bei jeder Verwendung	Sollwert	Halbjahr
2.	PML::RARA	Expression	+/- 0,8 log (Basis 10) des Sollwerts	+/- 1,0 log (Basis 10) des Sollwerts	10⁻⁴	bei jeder Verwendung	Sollwert	Halbjahr

* Angabe des Messwertes unter Verwendung des International Scale (IS)

Tabelle B 5-4

Interne und externe Qualitätssicherung zielgerichteter molekulargenetischer Untersuchungen bei hämato-onkologischen Erkrankungen bei Erst- und Rezidivdiagnostik

Lfd. Nr.	Gen HGNC-Name/ Transkript	Molekulargenetische Kategorie(n) der genetischen Veränderungen	Anforderungen an das Verfahren: Minimale Nachweisgrenze / VAF	Häufigkeit der Teilnahme an Ringversuchen einmal pro
1.	BCR::ABL1	Genfusion	5 %	Halbjahr
2.	PML::RARA	Genfusion	5 %	Halbjahr
3.	ABL1	Variante	5 %	Halbjahr
4.	JAK2	V617F-Variante	5 %	Halbjahr
5.	JAK2	Exon-12-Variante	5 %	Halbjahr
6.	KIT	D816V-Variante	0,1 %	Halbjahr
7.	FIP1L1::PDGFRA	Genfusion	5 %	Halbjahr
8.	FLT3	Interne Tandem-Duplikation (ITD)	5 %	Halbjahr
9.	TP53	Variante	5 %	Halbjahr
10.	BRAF	V600-Variante	5 %	Halbjahr

[Die interne Qualitätssicherung erfolgt anhand der unter 3.1.2, Nr. 1 bis 4 festgelegten Grundsätze und bei jeder Verwendung.](#)

Tabelle B 5-5

Interne und externe Qualitätssicherung molekulargenetischer cffDNA-Untersuchungen zur nominalen Aussage des fetalen Geschlechts und Aneuploidie* (Nicht-invasiver Pränatal-Test - NIPT)

<u>Prüfgröße</u>	<u>Kontinuierliche Qualitäts-sicherung</u> <u>Vorgaben</u>	<u>Retrospektive Qualitäts-sicherung</u> <u>Vorgaben</u>	<u>Häufigkeit der Qualitäts-sicherung</u>
<u>Interne Qualitätssicherung</u>			
<u>Fetale Fraktion (FF)</u>	<u>≥ 2 % FF in der Einzelprobe</u>	<u>höchstens 5 % der Einzelproben mit FF < 4 %</u>	<u>wöchentlich</u>
<u>Erzielbares Ergebnis ("Call")</u>		<u>höchstens 5 % der Einzelproben "no call"</u>	<u>wöchentlich</u>
<u>Externe Qualitätssicherung</u>	<u>Zulässige Abweichung beim Ringversuch</u>		
<u>Nominale Aussage zum fetalen Geschlecht und Aneuploidie*</u>	<u>keine Abweichung</u>		<u>Halbjahr</u>
<u>Bestimmung der Fetalen Fraktion</u>	<u>Abweichung innerhalb 2σ der Teilnehmer</u>		<u>Halbjahr</u>

*Aneuploidie: Hinweis auf Trisomie 13, 18 oder 21

Tabelle B 5-6
Interne und externe Qualitätssicherung bei
Hochdurchsatzsequenzierung (molekulargenetischen
Untersuchungen mittels Next-Generation-Sequencing - NGS)

<u>Anwendungsbereich</u>	<u>Geforderte minimale Sequenziertiefe der Zielgene</u>	<u>Intron-Exon-Übergänge (minimale Länge)</u>	<u>Häufigkeit der Teilnahme an Ringversuchen einmal pro</u>
<u>Molekulare Analyse von konstitutionellen Veränderungen</u>	<u>20</u>	<u>≥ 15 Basen</u>	<u>Kalenderjahr</u>
<u>Molekulare Analyse hämato-onkologischer Veränderungen</u>	<u>400</u>	<u>≥ 3 Basen</u>	<u>Kalenderjahr</u>
<u>Molekulare Analyse solider Tumoren</u>	<u>100</u>	<u>≥ 3 Basen</u>	<u>Kalenderjahr</u>
<u>Molekulare Analyse zirkulierender Tumor-DNA (ctDNA)</u>	<u>3000*</u>	<u>entfällt, da ausschließlich Hotspot-Regionen untersucht werden</u>	<u>Kalenderjahr</u>

* um eine analytische Sensitivität von 0,1% zu erreichen. Zur Erzielung einer höheren Sensitivität muss die Sequenziertiefe entsprechend erhöht werden.

Die interne Qualitätssicherung erfolgt mindestens anhand der in der Tabelle B 5-6 genannten Prüfgrößen (Sequenziertiefe und Länge der Übergänge) bei jeder Verwendung. Bei Hochdurchsatzsequenzierung erfolgt dies regelhaft mit integrierten Verfahrenskontrollen.

Die Teilnahme an einem externen Qualitätssicherungsprogramm für NGS ersetzt nicht die Teilnahme an spezifischen Ringversuchsprogrammen der Tabellen B 5-1, B 5-2 und B 5-4.

Tabelle B 5-2a-7

Zytogenetische Untersuchungen - Interne Qualitätssicherung

	Prüfgröße	Kontinuierliche Qualitätssicherung Vorgaben	Retrospektive Qualitätssicherung Vorgaben
Postnatale Analyse			
Lymphozyten	Bandenauflösung	mindestens 400 bphs	höchstens 5% der Proben mit Bandenauflösung \leftarrow \leq 400 bphs
	Anzahl der Überlagerungspunkte bei \leq 400 bphs \leftarrow 400	höchstens 12 pro Metaphase	höchstens 5% der Proben $>$ 12
	Anzahl der Überlagerungspunkte bei \geq 400 bphs \geq 400	höchstens 20 pro Metaphase	höchstens 5% der Proben $>$ 20
	Helligkeitsstufen	mindestens 3	höchstens 5% der Proben $<$ 3
Pränatale Analyse			
Amnionzellen	Bandenauflösung	mindestens 400 bphs	höchstens 5% der Proben $<$ 400 bphs
Chorionzotten-Zellen	Bandenauflösung	mindestens 300 bphs	höchstens 5% der Proben \leftarrow \leq 300 bphs
Amnion- und Chorionzotten-Zellen	Anzahl der Überlagerungspunkte bei bphs $<$ 400 <u>bphs</u>	höchstens 12 pro Metaphase	höchstens 5% der Proben $>$ 12
	Anzahl der Überlagerungspunkte bei bphs \geq 400 <u>bphs</u>	höchstens 20 pro Metaphase	höchstens 5% der Proben $>$ 20
	Helligkeitsstufen	mindestens 3	höchstens 5% der Proben $<$ 3
<u>FISH-Diagnostik</u>			
<u>FISH (Metaphase, konstitutionell)</u>	<u>Hybridisierungseffizienz</u>	<u>pro Ansatz</u>	<u>höchstens 10 % der Metaphasen ohne Signale der Kontrollsonde</u>
FISH (Interphase), konstitutionell und Tumorzytogenetik	Hybridisierungseffizienz	entfällt <u>pro Ansatz</u>	höchstens 10 % der <u>Interphasekerne</u> ohne Signale der Kontrollsonde
<u>FISH (Interphase, somatisch)</u>	<u>Hybridisierungseffizienz</u>	<u>pro Ansatz</u>	<u>höchstens 10 % der Interphasekerne ohne Signale der Kontrollsonde</u>

	<u>Prüfgröße</u>	<u>Kontinuierliche Qualitäts- sicherung</u> <u>Vorgaben</u>	<u>Retrospektive Qualitäts- sicherung</u> <u>Vorgaben</u>
<u>Molekulare Karyotypisierung</u>			
<u>Array-Diagnostik</u>	<u>die Vorgaben des Herstellers für die interne Qualitätssicherung sollen erreicht werden</u>	<u>pro Ansatz</u>	<u>höchstens 5 % der Ansätze erreichen die Vorgaben nicht</u>

bphs = "band per haploid set"

Tabelle B 5-2b-8

Zytogenetische Untersuchungen - Externe Qualitätssicherung

	Prüfgröße	Vorgabe	Teilnahme am Ringversuch einmal pro
Postnatale Analyse			
Lymphozyten	nominale Chromosomenzahl*	keine Abweichung	Kalenderjahr
<u>Lymphozyten</u>	Bandenauflösung	keine der Proben < 400 bphs	Kalenderjahr
	Anzahl der Überlagerungspunkte bei bphs < 400 <u>bphs</u>	keine der Proben > 12	Kalenderjahr
	Anzahl der Überlagerungspunkte bei ≥ 400 <u>bphs</u>	keine der Proben > 20	Kalenderjahr
	Helligkeitsstufen	keine der Proben < 3	Kalenderjahr
Pränatale Analyse			
	nominale Chromosomenzahl*	keine Abweichung	Kalenderjahr
Amnionzellen	Bandenauflösung	keine der Proben < 400 bphs	Kalenderjahr
Chorionzotten-Zellen	Bandenauflösung	keine der Proben < 300 bphs	Kalenderjahr
Amnion- und Chorionzotten-Zellen	Anzahl der Überlagerungspunkte bei bphs < 400 <u>bphs</u>	keine der Proben > 12	Kalenderjahr
	Anzahl der Überlagerungspunkte bei ≥ 400 <u>bphs</u> > 400	keine der Proben > 20	Kalenderjahr
	Helligkeitsstufen	keine der Proben < 3	Kalenderjahr
<u>FISH-Diagnostik</u>			
<u>FISH (Metaphase, konstitutionell)</u>	<u>Qualitativer und quantitativer Nachweis der Zielgröße</u>	<u>keine Abweichung</u>	<u>Kalenderjahr</u>
FISH (Interphase), konstitutionell und Tumorzytogenetik	<u>Qualitativer und quantitativer Nachweis der Zielgröße</u> Hybridisierungseffizienz	keine der Proben > 10% ohne Signal der Kontrollsonde <u>keine Abweichung</u>	Kalenderjahr
Molekulare Zytogenetik (Oligo-Array) FISH (Interphase, somatisch)	DLRS Wert <u>Qualitativer und quantitativer Nachweis der Zielgröße</u>	keine der Proben <u>> 0,4 Abweichung</u>	Kalenderjahr

	<u>Prüfgröße</u>	<u>Vorgabe</u>	<u>Teilnahme am Ringversuch einmal pro</u>
<u>Molekulare Karyotypisierung</u>			
<u>Array-Diagnostik</u>	<u>Qualitativer und quantitativer Nachweis der Zielgröße</u>	<u>keine Abweichung</u>	<u>Kalenderjahr</u>

***nominale** Chromosomenzahl z. B. ~~45~~,X (Turner-Syndrom), **46**,XX (normal weiblich), ~~47~~,XXY

(~~Klinefeltersyndrom~~)Klinefelter-Syndrom]

bphs = "band per haploid set"

Übergangsregelung

Die mit dem überarbeiteten Teil B 5 dieser Richtlinie niedergelegten Anforderungen sind spätestens bis drei Jahre nach Bekanntgabe im Deutschen Ärzteblatt zu erfüllen.

[**Hinweis:** diese Übergangsregelung ist Inhalt von Teil F der überarbeiteten Richtlinie]