

## Qualitätssicherungsregelungen für laboratoriumsmedizinische Untersuchungen komplett

Am 14. Dezember 2012 hat der Vorstand der Bundesärztekammer den speziellen Teil B 3 „Direkter Nachweis und Charakterisierung von Infektionserregern“ zur 5 Jahre zuvor beschlossenen neuen „Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen“ (Rili-BÄK) beschlossen. Damit ist das Gesamtkonzept der Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen vollständig. Dieses gliedert sich in einen Teil A mit Begriffsbestimmungen und grundlegenden Anforderungen an Qualitätssicherungen und Qualitätsmanagement bei laboratoriumsmedizinischen Untersuchungen. Es folgen 5 spezielle Teile, die Details zur regelmäßigen internen Qualitätssicherung und zur Teilnahme an Ringversuchen für folgende Bereiche regeln:

- B 1 „Quantitative laboratoriumsmedizinische Untersuchungen“ (in Kraft seit 1. 4. 2008)
- B 2 „Qualitative laboratoriumsmedizinische Untersuchungen“ (in Kraft seit 1. 7. 2011)
- B 3 „Direkter Nachweis und Charakterisierung von Infektionserregern“ (Inkraftsetzung zum 1. 4. 2013)
- B 4 „Ejakulatuntersuchungen“ (in Kraft seit 1. 1. 2011)
- B 5 „Molekular- und zytogenetische laboratoriumsmedizinische Untersuchungen“ (in Kraft seit 1. 10. 2011)

Die Rili-BÄK greift Erfahrungen mit Qualitätssicherung auf freiwilliger Basis und mit Vorläufern der Richtlinie auf. Anforderungen aus einschlägigen Normen und Erfahrungen aus dem Ausland sind ebenfalls eingeflossen.

Hervorzuheben ist, dass in der Rili-BÄK grundlegende Anforderungen an die regelmäßige Qualitätssicherung bei laboratoriumsmedizinischen Untersuchungen niedergelegt sind. Viele in der Vergangenheit bereits etablierte Regelungen waren freiwillig, eine Nichtbeachtung hatte keine förmlichen Konsequenzen. Die vorliegende Rili-BÄK beruht aber auf § 4a der Medizinproduktebetriebsverordnung und hat somit eine gesetzliche Grundlage. Da Verstöße nun auch formal Sanktionen nach sich ziehen können, wurde darauf geachtet, Mindestanforderungen festzule-

gen, die tatsächlich von allen Laboratorien eingehalten werden können. Dies eröffnet zugleich den Fachgesellschaften die Möglichkeit, auch weiterhin mit Leitlinien und Empfehlungen die Anforderungen an eine gute Laborpraxis und ein umfassendes Qualitätsmanagement im medizinischen Laboratorium, wie in der Rili-BÄK beschrieben, zu präzisieren und weiterzuentwickeln.

In der Arbeitsgruppe, die den Richtlinienteil B 3 erstellt hat, haben mitgearbeitet: *(alphabetische Nennung mit Angabe der jeweiligen Institution!)*

Dr. D. Auch (Kassenärztliche Bundesvereinigung),  
Dr. W. Bauersfeld (Deutsche Krankenhausgesellschaft),  
Prof. Dr. G. Haase (Deutschsprachige Mykologische Gesellschaft),  
Prof. Dr. R. Macdonald (Physikalisch-technische Bundesanstalt),  
Frau A. Michaelsen (Dachverband für Technologen/-innen und Analytiker/-innen in der Medizin Deutschland e.V.)  
Dr. K. H. Pick und B. Berressem (Verband der Diagnostica-Industrie),  
Dr. C. Schoerner (Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie),  
Dr. G. Siegemund (Bundesministerium für Gesundheit),  
Prof. Dr. E. Tannich (Deutsche Gesellschaft für Parasitologie),  
Prof. Dr. W. Vogt und M. Brüggemann (Bundesärztekammer),  
Dr. B. Wiegel (Deutsche Vereinte Gesellschaft für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin),  
Prof. Dr. H. Zeichhardt (Gesellschaft für Virologie),  
Dr. S. Ziesing (Instand e.V.).

Hinweis: Die Mitglieder der gemäß Rili-BÄK eingerichteten Gremien (Beirat und Fachgruppen) sind jeweils dem aktuellen Tätigkeitsbericht der Bundesärztekammer zu entnehmen.

Bundesärztekammer, 1. 3. 2013

### B3 Direkter Nachweis und Charakterisierung von Infektionserregern

#### 1 Grundsätze der Qualitätssicherung

- (1) In Teil B 3 sind Mindestanforderungen an die Sicherung der Qualität laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen zum direkten Nachweis von medizinisch relevanten Infektionserregern festgelegt. Diese umfassen auch sich gegebenenfalls daran anschließende Untersuchungen zur Charakterisierung von Infektionserregern (z. B. Differenzierung, Identifizierung, Typisierung) und zu deren relevanten Eigenschaften hinsichtlich der Therapie von Infektionen (z. B. Prüfung der Empfindlichkeit gegenüber Antinfektiva). Diese Mindestanforderungen umfassen die interne und die externe Qualitätssicherung.
- (2) Alle vom medizinischen Laboratorium nach Absatz (1) durchgeführten Untersuchungen 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.

- (3) Zusätzlich unterliegen alle in den Tabellen B 3–2 und B 3–2a aufgeführten Untersuchungen der externen Qualitätssicherung.
- (4) Die Untersuchungen in den Tabellen B 3–1, B 3–1a, B 3–2 und B 3–2a sind getrennt nach Art der Erreger oder der angewandten Methodik aufgeführt. Kriterien für die Aufnahme einer Untersuchung in diese Tabellen sind insbesondere die Häufigkeit der Untersuchung und deren medizinische Bedeutung nach dem Stand der Wissenschaft. Die Tabellen werden bei Bedarf nach jeweiligem Stand von Wissenschaft und Technik fortgeschrieben. ▶

## 2 Durchführung der Qualitätssicherung

### 2.1 Interne Qualitätssicherung

#### 2.1.1 Allgemeine Vorgaben

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

Unabhängig davon ist die interne Qualitätssicherung hinsichtlich ihrer Häufigkeit

- a) entsprechend Tabellen B 3–1 und B 3–1a für die dort aufgeführten Untersuchungen,
- b) ausreichend und regelmäßig entsprechend der medizinischen Notwendigkeit und der Untersuchungsfrequenz von Patientenproben, sofern die Untersuchungen oder Verfahren nicht in den Tabellen B 3–1 und B 3–1a aufgeführt sind,

durchzuführen.

Abs. (1) Satz 2 gilt als erfüllt, wenn in dem angewandten Analysesystem entsprechende Kontrollen integriert sind, welche die Richtigkeit des Ergebnisses sicherstellen.

- (2) Im Rahmen der internen Qualitätssicherung müssen überprüft werden:
- Nährmedien und Supplemente,
  - Zelllinien für Zellkulturverfahren,
  - Reagenzien, Färbelösungen, diagnostische Antikörper und Antigene,
  - Systeme zur Erregeridentifizierung und zur Empfindlichkeitsprüfung sowie
  - hierbei eingesetzte ergebnisrelevante Geräte und Instrumente.
- (3) Außerdem sind Qualitätssicherungsmaßnahmen nach Eingriffen ins Untersuchungsverfahren durchzuführen. Hierbei sind Herstellerangaben zu beachten. Eingriffe in Untersuchungsverfahren sind:
- a) Kalibration,
  - b) Durchführung von Reparatur oder Wartung ergebnisrelevanter Geräte und
  - c) Reagenzchargenwechsel\*.
- (4) Für das jeweilige Untersuchungsverfahren sind Kontrollproben mit bekanntem Ergebnis zu verwenden, sofern im Folgenden nicht anders bestimmt. Kontrollproben müssen den zu untersuchenden Patientenproben so ähnlich wie möglich sein.
- (5) Es sind Statistiken zur Häufigkeit nachgewiesener Erreger und zu deren Empfindlichkeit gegenüber Antiinfektiva zu führen und zu bewerten.

#### 2.1.2 Spezielle Vorgaben

##### 2.1.2.1 Mikroskopische Verfahren

Die interne Qualitätssicherung bei mikroskopischen Verfahren ist in Tabelle B 3–1 aufgeführt. Zusätzlich gilt: Geeignete Präparate (z. B. Dauerpräparate, konservierte Parasiten) oder Anschauungsmaterial (z. B. Bildtafeln, Atlanten) müssen als Referenz-, Vergleichs- und Schulungsmaterial in ausreichendem Umfang verfügbar sein.

##### 2.1.2.2 Kulturelle Verfahren

###### 2.1.2.2.1 Nicht-Zellkultur-basierte Verfahren

Die interne Qualitätssicherung bei Nicht-Zellkultur-basierten Verfahren ist in Tabelle B 3–1 aufgeführt. Zusätzlich gilt:

- (1) Zur Kontrolle werden entsprechend vorbereitete und ggf. kryokonservierte Kontrollstämme verwendet.
- (2) Das Laboratorium muss das für die Empfindlichkeitsprüfung verwendete Regelwerk benennen. Empfindlichkeitsprüfungen dürfen nur bei Vorliegen von Reinkulturen abschließend beurteilt werden. Deshalb ist immer eine Reinheitskontrolle des Inokulums mitzuführen. Orientierende Empfindlichkeitsprüfungen mit nicht standardisierten Inokula (z. B. aus Blutkulturen) sind standardisiert zu wiederholen.
- (3) Für die Empfindlichkeitsprüfung sind Stammkulturen mindestens monatlich aus Referenzvorratskulturen herzustellen. Gebrauchskulturen aus den Stammkulturen dürfen längstens eine Woche verwendet werden.

###### 2.1.2.2.2 Zellkultur-basierte Verfahren

Die interne Qualitätssicherung bei Zellkultur-basierten Verfahren ist in Tabelle B 3–1 aufgeführt. Zusätzlich gilt:

- (1) Als Kontrollproben werden entsprechend vorbereitete und ggf. kryokonservierte Kontrollstämme (positive Kontrollprobe) sowie eine nicht infizierte Zellkontrolle (negative Kontrollprobe) verwendet. Es ist zu dokumentieren, dass die mitgeführte negative Kontrollprobe morphologisch unauffällig ist.
- (2) Subkultivierungen zur Anreicherung geringer Erregermengen aus Patientenproben sind zu dokumentieren.
- (3) Bei Zellkultur-basierten Neutralisationstesten ist die Virusdosis durch eine TCID<sub>50</sub>-Bestimmung oder ein vergleichbares Verfahren zu ermitteln und zu dokumentieren.
- (4) Für die phänotypische Resistenztestung sind als positive und negative Kontrollproben sensitive und nicht-sensitive Kontrollstämme zu verwenden. Der Grad der Inhibition durch die antivirale Kontrollsubstanz ist zu dokumentieren.

###### 2.1.2.3 Molekularbiologische Verfahren

Die interne Qualitätssicherung bei molekularbiologischen Verfahren ist in den Tabellen B 3–1 und B 3–1a aufgeführt. Zusätzlich gilt:

- (1) Die auf die Erreger- und Untersuchungsmaterial-Eigenschaften abgestimmten Verfahren zur Nukleinsäureisolierung sind regelmäßig zu überprüfen.
- (2) Es sind mindestens eine positive und eine negative Kontrollprobe mitzuführen und ggf. Inhibitionskontrollen durchzuführen. Soweit verfügbar, soll die Konzentration einer der positiven Kontrollproben nahe an der Sensitivitätsgrenze des angewendeten Amplifikationsverfahrens liegen. Auf die negative Kontrollprobe kann bei geschlossenen, vollmechanisierten Systemen verzichtet werden. Die Bewertung erfolgt anhand der zugewiesenen Zielvorgaben.
- (3) Bei Bestimmung der Nukleinsäurekonzentration sind Kontrollproben mit bekannter Nukleinsäure- oder Erregerkonzentration mitzuführen. Diese Kontrollproben sollen mit internationalen Standards, soweit vorhanden, abgeglichen sein.
- (4) Für die in der Tabelle 3–1a aufgeführten Bestimmungen sind die angegebenen Grenzen einzuhalten. Für nicht in der Tabelle 3–1a aufgeführte Bestimmungen gilt: Die zulässige absolute Abweichung des dekadisch logarithmierten Einzelwertes vom dekadisch logarithmierten Sollwert der quantitativen Positivkontrolle ist laborintern festzulegen und zu dokumentieren, ggf. alternativ bei Real-Time-PCRs die zulässige absolute Abweichung der Zykluszahl vom Sollwert

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

(Cycle Threshold/C<sub>t</sub>, Crossing Point/C<sub>p</sub>, Cycle quantitative/C<sub>q</sub>). Ebenso muss ein Gültigkeitsbereich für die quantitative Positivkontrolle festgelegt und dokumentiert sein.

- (5) Die Sequenzidentität von Amplifikationsprodukten muss nachgewiesen werden.

#### 2.1.2.4 Immunologische Verfahren zum direkten Erregernachweis

Die interne Qualitätssicherung bei immunologischen Verfahren zum direkten Erregernachweis ist in Tabelle B 3–1 aufgeführt. Zusätzlich gilt: Bei direkten Verfahren zum Nachweis von Erreger-Antigenen mit fluoreszenzmarkierten Antikörpern sind Kriterien für die Bewertung festzulegen und bei Verwendung von Partikel-/Erythrozyten-Suspensionen als Bestandteil des diagnostischen Verfahrens (z. B. Agglutinations-, Lysereaktion) Kriterien für die Ablesung zu definieren.

#### 2.1.3 Bewertung der Ergebnisse

- (1) Die Bewertung der Untersuchungsergebnisse der Kontrollen hat unverzüglich nach Vorliegen des Ergebnisses zu erfolgen. Die Bewertung erfolgt anhand der Zielvorgaben.
- (2) Werden die Vorgaben nicht erfüllt, ist das Untersuchungsverfahren zunächst für weitere Untersuchungen von Patientenproben 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 wieder freigegeben werden kann und ob noch weitergehende Maßnahmen getroffen werden müssen, z. B., ob die gesamten der Kontrollprobe vorhergehenden Untersuchungen einschließlich der Kontrolluntersuchung zu wiederholen sind oder ob die Einsender hinsichtlich bereits übermittelter Ergebnisse informiert werden müssen. Der gesamte Vorgang ist zu dokumentieren.

#### 2.1.4 Dokumentation

- (1) Alle Ergebnisse der internen Qualitätssicherung sind unter Berücksichtigung der jeweiligen Untersuchung, des Untersuchungsverfahrens und des Arbeitsplatzes oder Gerätes zu dokumentieren. Auf Anforderung der mit der Prüfung der Einhaltung dieser Richtlinie beauftragten zuständigen Stelle ist die Dokumentation vorzulegen.
- (2) Die Dokumentation muss – soweit relevant – enthalten:

- a) Bezeichnung des medizinischen Laboratoriums,
  - b) Bezeichnung des Arbeitsplatzes oder des Untersuchungsgerätes,
  - c) Datum und Uhrzeit der Untersuchung,
  - d) Untersuchung, Probenmaterial, gegebenenfalls Einheit,
  - e) Untersuchungsmethode,
  - f) Ergebnis der Kontrolle,
  - g) Vorgaben für die Kontrolle,
  - h) die Bewertung,
  - i) Freigabe- oder Sperrvermerk,
  - j) ergriffene Korrekturmaßnahmen,
  - k) Hersteller, Bezeichnung und Chargennummer der Kontrollprobe, soweit zutreffend,
  - l) Name/Namenszeichen oder Unterschrift des Untersuchers.
- (3) Die Dokumentation über die durchgeführte interne Qualitätssicherung ist zusammen mit den Bewertungen fünf Jahre aufzubewahren, sofern aufgrund anderer Vorschriften keine davon abweichenden längeren Aufbewahrungsfristen vorgeschrieben sind.

#### 2.2 Externe Qualitätssicherung (Ringversuche)

- (1) Die Teilnahme an einem Ringversuch ist für jede in den Tabellen B 3–2 und B 3–2a genannte Untersuchung entsprechend der dort aufgeführten Häufigkeit Pflicht, sofern das medizinische Laboratorium diese Untersuchung bereithält.
- (2) 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.
- (3) 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.
- (4) 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 3–1 Interne Qualitätssicherung

Untersuchung	Anforderung	zulässige Abweichung	Häufigkeit
<b>Mikroskopische Verfahren</b>			
Gram-Färbung	charakteristische Anfärbung gramnegativer und grampositiver Keime auf einem Kontrollpräparat (z. B. Zungenabstrichmaterial)	keine Abweichung	arbeitstäglich
Ziehl-Neelsen-Färbung	charakteristische Anfärbung säurefester Stäbchen auf einem Kontrollpräparat	keine Abweichung	arbeitstäglich
Giemsa-Färbung	charakteristische Anfärbung von Erythrozyten und Leukozyten in einem Ausstrich, ggf. vom zu untersuchenden Patienten	keine Abweichung	arbeitstäglich
	pH-Wert des Puffers	6,8–7,2	wöchentlich
mikroskopischer Erregernachweis, z. B. Parasiten	Erkennung charakteristischer Erregerstrukturen, z. B. anhand von Bildtafeln oder Ringversuchs- und anderen Dauerpräparaten („Konsensustraining“)	höchstens 20 % Abweichung (bezogen auf die Anzahl der beurteilten Präparate)	jährlich

Untersuchung	Anforderung	zulässige Abweichung	Häufigkeit
Negativkontrastierung bei Transmissionselektronenmikroskopie von Viren	Einsatz von Proben mit definierten Viren/Virusmengen (Überprüfung der Integrität des Trägerfilms, seiner Bindungseigenschaften, der Negativkontrastierung und des Vergrößerungsfaktors), eindeutige Erkennung der eingesetzten Viren/Virengruppen	keine Abweichung	bei jeder neuen Charge beflimter Kupfernetze
<b>Kulturelle Verfahren</b>			
<b>Nicht-Zellkultur-basierte Verfahren</b>			
visuelle Kontrolle fester Kulturmedien	Aufdeckung von Transportschäden bzw. Lagerschäden, wie z. B. Verunreinigung, Austrocknung	keine Abweichung	jede Verpackungseinheit bei jeder Anlieferung bzw. Einsatz einer neuen Charge
Prüfung der Sterilität*1	kein Wachstum	keine Abweichung	bei Chargenwechsel
Überprüfung von Nährmedien*2 mit Kontrollstämmen oder parallele Testung im Vergleich mit früheren Chargen bei - allen Medien - Festnährmedien bei Langzeitbebrütung von mehr als 72 Stunden  - Selektivmedien - Indikatormedien - Induktion typischer Morphologien bei Pilzen	- Ausbildung der charakteristischen Koloniemorphologie - Nachweis der ausreichenden Feuchtigkeit durch Vorinkubation von mindestens 3 Tagen und Wachstum eines geeigneten Kontrollstammes nach anschließender Beimpfung (z. B. Sabouraud-Agar zum Nachweis von Dermatophyten) - Unterdrückung des Wachstums von Nicht-Ziel-Organismen - Erregertypischer Reaktionsausfall - Ausbildung der charakteristischen Morphologie	keine Abweichung	bei Chargenwechsel
<b>Erregeridentifizierung</b>			
Überprüfung von Einzelverfahren zur (orientierenden) Erregeridentifizierung mit Kontrollstämmen: Katalase, Oxidase, Indol, Koagulase, Keimschlauchtest, Urease	Erregertypischer Reaktionsausfall	keine Abweichung	arbeitstäglich
Verifizierung kommerzieller Systeme zur Erregeridentifizierung	Erregertypischer Reaktionsausfall von Kontrollstämmen	keine Abweichung	bei Chargenwechsel
Überprüfung der Inokulumreinheit bei kommerziellen Systemen zur Erregeridentifizierung	Reinkultur	keine Abweichung	bei jedem Isolat
<b>Empfindlichkeitsprüfungen</b>			
Beta-Laktamase	Positiv- und Negativkontrolle mit Kontrollstämmen	Keine Abweichung	arbeitstäglich
Verifizierung der Empfindlichkeitsprüfung	an 20 aufeinander folgenden Arbeitstagen mit geeigneten Kontrollstämmen, Bewertung der Ergebnisse der Erreger-Antibiotikum-Kombinationen	1 von 20 Ergebnissen pro Erreger-Antibiotikum-Kombination außerhalb des Toleranzbereiches	vor erstmaliger Verwendung und bei Nichterfüllung der Vorgaben der laufenden internen Qualitätskontrolle
laufende interne Qualitätskontrolle der Empfindlichkeitsprüfung	Einhaltung der Toleranzbereiche für die normativen Kontrollstämme	bei mehr als zweimaliger Abweichung für eine Erreger-Antibiotikum-Kombination: Fehlersuche, -beseitigung und ggf. erneute Verifizierung des Testsystems	wöchentlich und bei Chargenwechsel; bei jeder Durchführung bei Systemen, die seltener als einmal wöchentlich eingesetzt werden
Reinheitskontrolle	Überprüfung der Inokulumreinheit	keine Abweichung	bei jedem Isolat
<b>Zellkultur-basierte Verfahren</b>			
Überprüfung der Permissivität mit positiven Kontrollstämmen	Nachweis von virustypischem zytopathogenem Effekt oder Virusantigen	keine Abweichung	monatlich und bei Chargenwechsel der Zellen oder bei Neupassage aus kryokonservierten Zellkulturen

Untersuchung	Anforderung	zulässige Abweichung	Häufigkeit
Ausschluss von viralen Kontaminationen der Zellkultur durch Mitführen von negativen Kontrollen (nicht infizierte Zellkontrolle)	Freiheit von viralen Kontaminationen	keine Abweichung	monatlich und bei Chargenwechsel der Zellen oder bei Neupassage aus kryokonservierten Zellkulturen
Virusanzucht: Ausschluss der Mykoplasmenkontamination der Zellkultur	Mykoplasmenfreiheit	keine Abweichung	vierteljährlich und bei Chargenwechsel der Zellkultur
<b>Molekularbiologische Verfahren</b>			
Nukleinsäureisolierung	Extraktionskontrolle über Nukleinsäurebestimmung einer im Untersuchungsmaterial vorkommenden oder zugesetzten Zielsequenz (die Extraktionskontrolle kann mit der Inhibitionskontrolle identisch sein)	keine Abweichung	bei jeder Probenextraktion* <sup>3</sup>
Reaktionskomponenten	Konformitätstestung der Reagenzien (Primer, Polymerase, Nukleotide und Sonden) durch Nukleinsäure-/Signalamplifikation der Zielsequenz mit alter und neuer Reagenziencharge	keine Abweichung	bei neuer Reagenziencharge oder neu gelöstem Reagenz
Erreger-spezifischer Nukleinsäurenachweis	Positiv- und Negativkontrolle gemäß 2.1.2.3	keine Abweichung	bei jeder Durchführung
Sequenz-basierte Verfahren (NAT, FISH und andere Hybridisierungsverfahren)	Datenbank-Abgleich der bei diesen Nachweisverfahren benutzten Primer- und Sondensequenzen hinsichtlich der deklarierten Speziespezifität	keine Abweichung, die das Testergebnis beeinflusst	mindestens jährlich, beziehungsweise gemäß Bereitstellung durch den Hersteller
<b>Immunologische Verfahren</b>			
diagnostische Antikörper	Positiv- und ggf. Negativkontrolle	keine Abweichung	bei Chargenwechsel
Antigennachweise (EIA, ELFA, CLIA und andere immunchemische Nachweise)	Positiv- und Negativkontrolle	keine Abweichung	arbeitstäglich
Antigennachweise mittels Schnelltests (z. B. immunchromatographische Tests) mit integrierten Funktionskontrollen (z. B. Stuhlpathogene)	Positiv- und ggf. Negativkontrolle	keine Abweichung	einmal pro Testpackung
direkter Immunfluoreszenztest (z. B. respiratorische Viren, Legionellen, Pneumocystis jirovecii, Giardia lamblia)	Positiv- und Negativkontrolle	keine Abweichung	arbeitstäglich
Partikel-/Erythrozyten-Suspensionen für Antigennachweise (Agglutinationsassays)	Funktionskontrolle durch Mitführen bekannt positiver und negativer Kontrollproben	keine Abweichung	arbeitstäglich

\*<sup>1</sup> Bei kommerziell bezogenen Nährmedien kann diese Überprüfung durch entsprechende Chargenzertifikate der Hersteller belegt werden.

\*<sup>2</sup> Die Prüfungen auf Wachstumsförderung, Koloniemorphologie und biochemische Reaktivität werden soweit möglich mit den gleichen Kontrollstämmen durchgeführt. Die Prüfung der Einhaltung der geforderten Spezifikation von Kulturmedien (z. B. Wachstumsförderung, Koloniemorphologie, ggf. biochemische Reaktivität) kann auch durch die regelmäßige Subkultivierung der für die interne Qualitätskontrolle benötigten Kontrollstämmen erfolgen.

\*<sup>3</sup> Liegen für geschlossene, mechanisierte Systeme Validierungsdaten für die effiziente Nukleinsäureextraktion aus dem entsprechenden Zielorganismus vor, so kann auf eine Extraktionsgegebenenfalls Inhibitionskontrolle verzichtet werden.

**Tabelle B 3–1a Interne Qualitätssicherung bei der Bestimmung der Nukleinsäurekonzentration in Blut/Plasma/Serum**

1 Lfd. Nr.	2 Analyt	3 Zulässige absolute Abweichung des dekadisch logarithmierten Einzelwertes vom dekadisch logarithmierten Sollwert* <sup>1</sup>	4 Gültigkeitsbereich der Spalte 3			5 Häufigkeit der Kontrolluntersuchung
			von	bis	Einheit	
1	CMV DNA	-0,5 bis +0,5	5 000	5 000 000	IU/mL	bei jeder Verwendung
2	HBV DNA	-0,5 bis +0,5	500	5 000 000	IU/mL	bei jeder Verwendung
3	HCV RNA	-0,5 bis +0,5	500	5 000 000	IU/mL	bei jeder Verwendung
4	HIV-1 RNA	-0,5 bis +0,5	500	5 000 000	Kopien/mL	bei jeder Verwendung

\*<sup>1</sup> Alternativ kann eine Kontrolle mit einem ausgewiesenen Zielbereich mit maximaler Spannweite von einer log<sub>10</sub>-Stufe eingesetzt werden.

Tabelle B 3–2 Externe Qualitätssicherung (Ringversuche)

Lfd. Nr.	Untersuchung	Häufigkeit	Zielwertart im Ringversuch*1
<b>Bakterien</b>			
1.	Gramfärbung	Halbjahr	SW
2.	Anzüchtung, Identifizierung und Empfindlichkeitsprüfung von Bakterien	Halbjahr	SWLW
3.	Anzüchtung, Identifizierung und Empfindlichkeitsprüfung schnellwachsender Bakterien und gegebenenfalls Nachweis der Begleitflora des Uro-Genitalsystems	Halbjahr	SWLW
4.	<i>Bordetella pertussis</i> , Genom-Nachweis	Halbjahr	SW
5.	<i>Borrelia burgdorferi sensu lato</i> , Genom-Nachweis	Halbjahr	SW
6.	<i>Chlamydia pneumoniae</i> , Genom-Nachweis	Halbjahr	SW
7.	<i>Chlamydia trachomatis</i> , Antigen-Nachweis	Halbjahr	SW
8.	<i>Chlamydia trachomatis</i> , Genom-Nachweis	Halbjahr	SW
9.	EHEC/STEC (Shigatoxin), Genom-Nachweis	Halbjahr	SW
10.	<i>Helicobacter pylori</i> , Genom-Nachweis	Halbjahr	SW
11.	<i>Legionella pneumophila</i> , Genom-Nachweis	Halbjahr	SW
12.	<i>Listeria monocytogenes</i> , Genom-Nachweis	Halbjahr	SW
13.	Methicillin-resistenter <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA), Genom-Nachweis	Halbjahr	SW
14.	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> , Genom-Nachweis	Halbjahr	SW
15.	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> , Genom-Nachweis	Halbjahr	SW
16.	<i>Salmonella enterica</i> , Genom-Nachweis	Halbjahr	SW
17.	<i>Coxiella burnetii</i> , Genom-Nachweis	Halbjahr	SW
18.	<i>Francisella tularensis</i> , Genom-Nachweis	Halbjahr	SW
<b>Mykobakterien</b>			
19.	Mikroskopischer Nachweis von Mykobakterien	Halbjahr	SW
20.	Anzüchtung von Mykobakterien	Halbjahr	SW
21.	Differenzierung von Tuberkulosebakterien	Halbjahr	SW
22.	Empfindlichkeitsprüfung von Tuberkulosebakterien	Halbjahr	SW
23.	Identifizierung von Mykobakterien	Halbjahr	SW
24.	Tuberkulosebakterien, Genom-Nachweis	Halbjahr	SW
<b>Parasiten</b>			
25.	Parasiten im Blut, mikroskopischer Nachweis	Halbjahr	SWLW
26.	Parasiten im Stuhl, mikroskopischer Nachweis	Halbjahr	SWLW
27.	<i>Toxoplasma gondii</i> , Genom-Nachweis	Halbjahr	SWLW
<b>Pilze</b>			
28.	Anzüchtung und Identifikation von Sprosspilzen und Hyphomyzeten (Erreger von Schleimhaut-, Organ-, System- oder Verletzungsmykosen)	Halbjahr	SWLW
29.	Identifikation von Dermatophyten, Hefen und Schimmelpilzen (Erreger von Dermatomykosen und Pilzinfektionen der Schleimhäute)	Halbjahr	SWLW
30.	<i>Candida</i> , Antigen-Nachweis	Halbjahr	SW
31.	<i>Cryptococcus neoformans</i> , Antigen-Nachweis	Halbjahr	SW
<b>Viren</b>			
32.	Adenoviren, Genom-Nachweis	Halbjahr	SW
33.	Cytomegalovirus, Genom-Nachweis	Halbjahr	SW
34.	Enteroviren, Genom-Nachweis	Halbjahr	SW
35.	Epstein-Barr-Virus, Genom-Nachweis	Halbjahr	SW
36.	Hepatitis-A-Virus, Genom-Nachweis	Halbjahr	SW

Lfd. Nr.	Untersuchung	Häufigkeit	Zielwertart im Ringversuch* <sup>1</sup>
37.	Hepatitis-B-Virus, Genom-Nachweis	Halbjahr	SW
38.	Hepatitis-B-Virus, HBs-Antigen-Nachweis	Halbjahr	SW
39.	Hepatitis-B-Virus, HBc-Antigen-Nachweis	Halbjahr	SW
40.	Hepatitis-C-Virus, Genom-Nachweis	Halbjahr	SW
41.	Hepatitis-C-Virus Genotypisierung, Genom-Nachweis	Kalenderjahr	SW
42.	Hepatitis-C-Virus, HCV-Antigen-Nachweis	Halbjahr	SW
43.	Herpes-Simplex-Virus Typ 1 / Typ 2, Genom-Nachweis	Halbjahr	SW
44.	HIV-1 (RNA), Genom-Nachweis	Halbjahr	SW
45.	HIV-1, p24-Antigen-Nachweis	Halbjahr	SW
46.	Humane Papillomviren, Genom-Nachweis	Halbjahr	SW
47.	Influenza A- und B-Viren, Genom-Nachweis	Halbjahr	SW
48.	Influenza A- und B-Viren, Antigen-Nachweis	Halbjahr	SW
49.	Parvovirus B19, Genom-Nachweis	Halbjahr	SW
50.	Respiratory Syncytial Virus, Genom-Nachweis	Halbjahr	SW
51.	Respiratory Syncytial Virus, Antigen-Nachweis	Halbjahr	SW
52.	Varizella-Zoster-Virus, Genom-Nachweis	Halbjahr	SW

\*<sup>1</sup> SWLW = Sollwertlaboratorienwert: Die Zielwerte des Ringversuchs werden durch Sollwertlaboratorien als arithmetischer Mittelwert oder Median (sofern anwendbar) ermittelt.  
SW = Sollwert: Die Zielwerte werden aus den Ergebnissen des Ringversuches als arithmetischer Mittelwert oder Median (sofern anwendbar) ermittelt.

**Tabelle B 3–2a Externe Qualitätssicherung bei der Bestimmung der Nukleinsäurekonzentration in Blut/Plasma/Serum**

1 Lfd. Nr.	2 Analyt	3 Zulässige Abweichung der dekadisch logarithmierten Werte vom dekadisch logarithmierten Sollwert beim Ringversuch	4 Gültigkeitsbereich der Spalte 3			5 Zielwertart beim Ringversuch	6 Häufigkeit des Ringversuches
			von	bis	Einheit		
1	CMV DNA	-0,8 bis +0,8	5 000	5 000 000	IU/mL	SW	Halbjahr
2	HBV DNA	-0,6 bis +0,6	500	5 000 000	IU/mL	SW	Halbjahr
3	HCV RNA	-0,6 bis +0,6	500	5 000 000	IU/mL	SW	Halbjahr
4	HIV-1 RNA	-0,6 bis +0,6	500	5 000 000	Kopien/mL	SW	Halbjahr

### D 3 Fachgruppe „Direkter Nachweis und Charakterisierung von Infektionserregern“

- (1) Bei der Bundesärztekammer wird eine Fachgruppe „Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen zum direkten Nachweis und zur Charakterisierung von Infektionserregern“ gebildet, die folgende Aufgaben wahrnimmt:
- Beratung der Bundesärztekammer in allen Fragen zu Teil B 3 und E 3,
  - Festlegung der Bestehensmodalitäten für die Ringversuche,
  - Bearbeitung von Fragen in der Anwendung des Teils B 3 und E 3,
  - Sammlung, Bewertung und Erarbeitung von Vorschlägen zur Fortschreibung des Teils B 3 und E 3,
  - Formulierung der Ausführungsbestimmungen für Ringversuche (siehe E 3, Kapitel 1, Absatz 9).
- (2) Die Mitglieder der Fachgruppe werden durch die unter Absatz 3 genannten Institutionen vorgeschlagen und vom Vorstand der Bundesärztekammer für die Dauer von

vier Jahren berufen. Nachberufungen in der laufenden Amtsperiode gelten bis zu deren Ende. Wiederberufungen sind zulässig. Die Fachgruppe wählt aus ihrer Mitte den Vorsitzenden. Die Mitglieder der Fachgruppe können sich mit Zustimmung des Vorsitzenden vertreten lassen.

Die Fachgruppe kann weitere Sachverständige hinzuziehen.

- (3) Der Fachgruppe gehören an:
- fünf Vertreter der fachlich zuständigen Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften,
  - ein Vertreter der Bundesärztekammer,
  - ein Vertreter der Kassenärztlichen Bundesvereinigung,
  - ein Vertreter der Deutschen Krankenhausgesellschaft,
  - ein Vertreter des Dachverbandes für Technologen/-innen und Analytiker/-innen in der Medizin Deutschland (dvta),
  - ein Vertreter des zuständigen Industrieverbandes,
  - ein Vertreter der Länder,
  - je ein Vertreter der PTB, des RKI, des PEI, des BfArM. ►

### E 3 Spezielle Anforderungen an Ringversuche zum laboratoriumsmedizinischen Nachweis und zur Charakterisierung von Infektionserregern

#### 1 Pflichten der Referenzinstitutionen

- (1) Die Referenzinstitutionen stellen sicher, dass für alle in den Tabellen B 3–2 und B 3–2a genannten Untersuchungen Ringversuche in so ausreichender Zahl angeboten werden, dass jedes medizinische Laboratorium entsprechend dem in den Tabellen B 3–2 und B 3–2a aufgeführten Intervall teilnehmen kann. Hiervon darf nur abgewichen werden, wenn nachvollziehbar keine geeigneten Ringversuchsproben in ausreichender Menge zur Verfügung stehen.
- (2) Die Referenzinstitutionen kündigen jeweils im Voraus für ein Jahr die von ihnen geplanten Ringversuche für die Untersuchungen gemäß Absatz (1) an. In diesen Ankündigungen nennen sie
  - a) die Anmeldetermine für die Teilnahme an den Ringversuchen,
  - b) den jeweiligen Termin für den Probenversand und den letzten Absendetag der Ergebnisse,
  - c) die in den Ringversuch eingeschlossenen Untersuchungen, erforderlichenfalls mit Angabe des Untersuchungsverfahrens,
  - d) die Art des Probenmaterials, das Probenvolumen von flüssigen oder rekonstituierten Ringversuchsproben,
  - e) Bestehensmodalitäten.
- (3) Die Referenzinstitutionen wählen die Ringversuchsproben aus und prüfen deren Eignung. Die Eignung der ausgewählten Ringversuchsproben muss vor dem Einsatz in Ringversuchen unter Routinebedingungen mit Routineuntersuchungsverfahren geprüft werden.
- (4) Die Referenzinstitutionen lassen bei jedem Ringversuch von jedem Teilnehmer mindestens zwei Ringversuchsproben untersuchen.
- (5) Die Referenzinstitutionen versenden an jeden Ringversuchsteilnehmer die Ringversuchsproben mit Hinweisen zum Umgang mit den Proben und zur Übermittlung der Untersuchungsergebnisse.
- (6) Von den Referenzinstitutionen werden nur Ergebnisse ausgewertet, die bis zur gesetzten Frist vom Ringversuchsteilnehmer abgesandt wurden.
- (7) Jedem Ringversuchsteilnehmer ist ein Zertifikat mit Datum des Einsendeschlusses des Ringversuchs darüber auszustellen, welche seiner Untersuchungsergebnisse mit den Zielergebnissen übereinstimmen bzw. innerhalb der zulässigen Bewertungsgrenzen liegen. Darüber hinaus ist für alle Untersuchungen eine Teilnahmebescheinigung auszustellen. Zertifikat und Teilnahmebescheinigung müssen spätestens vier Wochen vor dem nächsten Ringversuchstermin an die Teilnehmer versandt werden.  
Zusätzlich sind dem Ringversuchsteilnehmer mitzuteilen:
  - a) Zielergebnisse und gegebenenfalls Bewertungsgrenzen der Ringversuchsproben,
  - b) Lage der Untersuchungsergebnisse aller Teilnehmer sowie gegebenenfalls für das von ihm verwendete Verfahren,
  - c) Anzahl der Teilnehmer, gegebenenfalls differenziert nach Untersuchungsverfahren.
 Die Gültigkeit eines Zertifikats beträgt das Doppelte des in den Tabellen B 3–2 und B 3–2a vorgegebenen Intervalls.
- (8) Stellt die Referenzinstitution fest, dass Teilnehmer bei einer Untersuchung mit Reagenzien oder Geräten bestimmter Her-

steller gehäuft kein Zertifikat erhalten und wurden Ursachen dafür in diesen Laboratorien und in der Referenzinstitution ausgeschlossen, ist die Bundesoberbehörde darüber zu informieren, wenn der Begriff des Vorkommnis nach Medizinprodukte-Sicherheitsplanverordnung § 2 erfüllt ist.

- (9) Weitere Einzelheiten zur Durchführung von Ringversuchen und zur Bewertung von Ringversuchsergebnissen werden in Ausführungsbestimmungen geregelt. Diese werden von der Bundesärztekammer und den Referenzinstitutionen veröffentlicht.

#### 2 Ermittlung von Zielergebnissen

- (1) Die Bundesärztekammer legt nach Beratung der fachlich zuständigen Gremien und nach Anhörung der betroffenen Kreise für die Untersuchungen fest, welche Zielergebnisart anzuwenden ist und wie die Zielwerte ermittelt werden, und gibt dies bekannt.
- (2) Die Festlegung der Versuchspläne für die Ermittlung der Zielergebnisse der Ringversuchsproben, die Beauftragung der Referenz- und Sollwertlaboratorien, die Auswertung der Ergebnisse und deren Zusammenfassung zu einem Zielergebnis erfolgen durch die Referenzinstitutionen.
- (3) Die Referenzinstitutionen müssen die Dokumentation über die Ermittlung der Zielergebnisse über einen Zeitraum von mindestens fünf Jahren, gerechnet vom Zeitpunkt der Verwendung an, bei den Ringversuchen aufbewahren.

#### 3 Bewertung der Ringversuchsergebnisse

- (1) Die Bewertung erfolgt anhand der Zielergebnisse.
- (2) Weisen das Gesamtkollektiv oder verfahrensabhängige Teilkollektive der Teilnehmerergebnisse eine wesentliche, d. h. die Bestehensquote beeinflussende Abweichung zum Zielergebnis auf, müssen die Referenzinstitutionen nach der Ursache suchen und diese in Zusammenarbeit mit dem betroffenen Hersteller der Ringversuchsprobe, den Herstellern der jeweiligen Testsysteme oder Sachverständigen, sofern möglich, beseitigen. Sie haben zu prüfen, ob in einem solchen Fall eine Änderung des Zielergebnisses eine sachgerechte Ergebnisbewertung erlaubt. Sie entscheiden, ob der Ringversuch für diese Untersuchung zu wiederholen ist. Das Vorgehen ist zu begründen und zu dokumentieren. Die Ringversuchsteilnehmer und die Fachgruppe bei der Bundesärztekammer nach Teil D 3 sind zu informieren.

#### Inkrafttreten

Die Richtlinien Teile B 3, D 3 und E 3 treten am 01.04.2013 in Kraft. Die hierin niedergelegten Anforderungen sind spätestens bis zum Ablauf von zwei Jahren nach Inkrafttreten zu erfüllen.

Die Fachgruppe D 3 soll binnen zwölf Monaten nach Inkrafttreten konstituiert werden. Mindestens eine Referenzinstitution gemäß E 3 soll binnen zwölf Monaten nach Inkrafttreten bestellt werden.

Die „Richtlinien zur Qualitätssicherung in der Mikrobiologie“ vom 10. Januar 1992 (Deutsches Ärzteblatt, Jahrgang 89, Heft 20, Mai 1992) werden mit Ablauf der Übergangsfrist außer Kraft gesetzt. Innerhalb der Übergangsfrist hat der für die mikrobiologischen Untersuchungen Verantwortliche festzulegen, ab welchem Zeitpunkt die Qualitätssicherung nach dem Richtlinien Teil B 3 durchgeführt wird.

Berlin, 14. 12. 2012