

## An alle Einsender, Stationen und Funktionsbereiche

### Einsendungen für die Molekularpathologie

Sehr geehrte Frau Kollegin, sehr geehrter Herr Kollege,

anbei erhalten Sie Informationen für die **Anforderungen auf dem Gebiet der Molekularpathologie**. In kurzen Abschnitten erfahren Sie die Grundlagen der molekularpathologischen Untersuchungsmethoden und erhalten ferner Informationen zu Validierung und Qualitätssicherung. Vielen Dank für die aufmerksame Lektüre!

Im Falle von Companion Diagnostic verlangt die Kassenärztliche Vereinigung zwingend folgende Angaben auf dem Überweisungsschein:

- zu untersuchende Gene
- das zur Therapie in Betracht kommende Medikament (z. B. EGFR: vor geplanter Therapie mit Erlotinib)

Ihr Team des Vivantes Fachbereich Pathologie

Wir bieten Ihnen das folgende Untersuchungsspektrum an (Stand April 2024):

#### 1. Mutationsanalysen:

Mutationsanalysen werden bevorzugt mit Hilfe des Einsatzes von Massiver Parallelsequenzierung ('Next Generation Sequencing', NGS) durchgeführt, wobei wir je nach Fragestellung die Plattformen von ThermoFisher Scientific und Illumina nutzen. Vor der eigentlichen Analyse erfolgt eine Mikrodisektion des Probenmaterials, um das zu untersuchende Tumorgewebe anzureichern. Die Amplikon-basierte Erstellung sogenannter Libraries, also die gezielte Vermehrung der zu sequenzierenden Genombereiche ('Target Enrichment'), erfolgt mit Hilfe einer Multiplex-PCR unter Verwendung anwendungsspezifischer Primerpanels. Diese Panels erzeugen kleine, sich überlappende DNA-Fragmente, die die zu sequenzierenden Regionen komplett abdecken. Die anschließende Next-Generation-Sequenzierung wird auf einem IonTorrent S5XL Sequencer durchgeführt.

Für die Mutationsanalysen verwenden wir folgende Panels:

### **AmpliSeq Cancer Hotspot Panel v2 (ThermoFisher Scientific)**

Dieses Panel erlaubt die selektive Analyse von Mutationen in den Hotspots von 50 Onkogenen und Tumorsuppressorgenen:

ABL1, EGFR, GNAS, KRAS, PTPN11, AKT1, ERBB2, GNAQ, MET, RB1, ALK, ERBB4, HNF1A, MLH1, RET, APC, EZH2, HRAS, MPL, SMAD4, ATM, FBXW7, IDH1, NOTCH1, SMARCB1, BRAF, FGFR1, JAK2, NPM1, SMO, CDH1, FGFR2, JAK3, NRAS, SRC, CDKN2A, FGFR3, IDH2, PDGFRA, STK11, CSF1R, FLT3, KDR, PIK3CA, TP53, CTNNB1, GNA11, KIT, PTEN, VHL.

Mit dem 'AmpliSeq Cancer Hotspot Panel v2' werden ca. 2800 COSMIC-Mutationen erfasst.

### **Oncomine Focus DNA (ThermoFisher Scientific)**

Dieses Panel erlaubt die selektive Analyse von Mutationen in den Hotspots von 35 Onkogenen:

AKT1, ALK, AR, BRAF, CDK4, CTNNB1, DDR2, EGFR, ERBB2, ERBB3, ERBB4, ESR1, FGFR2, FGFR3, GNA11, GNAQ, HRAS, IDH1, IDH2, JAK1, JAK2, JAK3, KIT, KRAS, MAP2K1, MAP2K2, MET, MTOR, NRAS, PDGFRA, PIK3CA, RAF1, RET, ROS1, SMO

### **Oncomine BRCA (ThermoFisher Scientific)**

Dieses Panel erlaubt die Analyse von Mutationen in den kompletten codierenden Sequenzen der Gene BRCA1 und BRCA2.

### **Oncomine BRCA Vivantes (Custom Panel - ThermoFisher Scientific)**

Dieses Panel erlaubt die Analyse von Mutationen in den kompletten codierenden Sequenzen der folgenden Gene: ATM, BRCA1, BRCA2, PIK3CA, POLE und TP53 sowie Mutationen in den Hotspots von ERBB2.

### **Oncomine Lymphoma Panel (ThermoFisher Scientific)**

Dieses Panel erlaubt die Analyse von Mutationen in insgesamt 25 Onkogenen (bei 8 Genen Mutationen in den Hotspots sowie bei 17 Genen Mutationen in den jeweiligen gesamten codierenden Sequenzen).

Hotspots: BRAF, BTK, CARD11, CD79B, MTOR, MYD88, SF3B1, XPO1

Komplette codierende Sequenzen: ARID1A, ATM, B2M, BCL2, BCL6, CDKN2A, CREBBP, EZH2, GNA13, HIST1H1E, KMT2D, MYC, PIM1, SOCS1, TNFAIP3, TNFRSF14, TP53

### **Oncomine Myeloid DNA (ThermoFisher Scientific)**

Dieses Panel erlaubt die Analyse von Mutationen in insgesamt 40 Onkogenen (davon bei 23 Genen Mutationen in den Hotspots sowie bei 17 Genen Mutationen in den jeweiligen gesamten codierenden Sequenzen).

Hotspots: ABL1, BRAF, CBL, CSF3R, DNMT3A, FLT3, GATA2, HRAS, IDH1, IDH2, JAK2, KIT, KRAS, MPL, MYD88, NPM1, NRAS, PTPN11, SETBP1, SF3B1, SRSF2, U2AF1, WT1

Komplette codierende Sequenz: ASXL1, BCOR, CALR, CEBPA, ETV6, EZH2, IKZF1, NF1, PHF6, PRPF8, RB1, RUNX1, SH2B3, STAG2, TET2, TP53, ZRSR2

### **nNGM Panel 3.0 (Lunge / Nationales Netzwerk für Genomische Medizin)**

Dokument:	IN-IMTD-PATHO-ALLG-ALLG-106991-2	Version:	2	Seite:	2 von 8
Erstellung:	Regelungen der Pathologie	Freigabedatum:			29.05.2024

Dieses Panel erlaubt die selektive Analyse von Mutationen in den Hotspots von folgenden Onkogenen:

ALK, BRAF, CTNNB1, EGFR, ERBB2, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, IDH1, IDH2, KRAS, MAP2K1

MET, NRAS, PIK3CA, PTEN, ROS1, TP53, NTRK1, NTRK2, NTRK3, RET, HRAS, STK11, KEAP1, NFE2L2, CUL3

### **OncoPrint Comprehensive Panel v3 (ThermoFisher Scientific)**

Dieses Panel erlaubt die Analyse von Alterationen in insgesamt 146 Onkogenen (bei 87 Genen Mutationen in den Hotspots, bei weiteren 48 Genen Mutationen in den jeweiligen gesamten codierenden Sequenz sowie Kopienzahlveränderungen in 43 Genen):

Hotspots: AKT1, AKT2, AKT3, ALK, AR, ARAF, AXL, BRAF, BTK, CBL, CCND1, CDK4, CDK6, CHEK2, CSF1R, CTNNB1, DDR2, EGFR, ERBB2, ERBB3, ERBB4, ERCC2, ESR1, EZH2, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, FLT3, FOXL2, GATA2, GNA11, GNAQ, GNAS, H3F3A, HIST1H3B, HNF1A, HRAS, IDH1, IDH2, JAK1, JAK2, JAK3, KDR, KIT, KNSTRN, KRAS, MAGOH, MAP2K1, MAP2K2, MAP2K4, MAPK1, MAX, MDM4, MED12, MET, MTOR, MYC, MYCN, MYD88, NFE2L2, NRAS, NTRK1, NTRK2, NTRK3, PDGFRA, PDGFRB, PIK3CA, PIK3CB, PPP2R1A, PTPN11, RAC1, RAF1, RET, RHEB, RHOA, ROS1, SF3B1, SMAD4, SMO, SPOP, SRC, STAT3, TERT, TOP1, U2AF1, XPO1

Komplette codierende Sequenzen: ARID1A, ATM, ATR, ATRX, BAP1, BRCA1, BRCA2, CDK12, CDKN1B, CDKN2A, CDKN2B, CHEK1, CREBBP, FANCA, FANCD2, FANCI, FBXW7, MLH1, MRE11, MSH2, MSH6, NBN, NF1, NF2, NOTCH1, NOTCH2, NOTCH3, PALB2, PIK3R1, PMS2, POLE, PTCH1, PTEN, RAD50, RAD51, RAD51C, RAD51D, RAD51B, RB1, RNF43, SETD2, SLX4, SMARCA4, SMARCB1, STK11, TP53, TSC1, TSC2

Kopienzahlveränderungen: KT1, AKT2, AKT3, ALK, AR, AXL, BRAF, CCND1, CCND2, CCND3, CCNE1, CDK2, CDK4, CDK6, EGFR, ERBB2, ESR1, FGF19, FGF3, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, FLT3, IGF1R, KIT, KRAS, MDM2, MDM4, MET, MYC, MYCL, MYCN, NTRK1, NTRK2, NTRK3, PDGFRA, PDGFRB, PIK3CA, PIK3CB, PPARG, RICTOR, TERT

### **TSO500 / TSO500 und HRD (Illumina)**

Dieser Assay ermöglicht eine umfassende genomische Profilerstellung und wird vor allem bei Entitäten wie Ovarial-, Mamma-, Prostata- und Pankreaskarzinomen eingesetzt. Der DNA-Teil erlaubt die Analyse von Alterationen in insgesamt 523 Genen bei einer Sequenzabdeckung von 1.94 Megabasen, während der RNA-Teil 55 Gene bei einer Panelgröße von 358 Kilobasen umfasst. Standardmäßig werden die Biomarker *Tumor Mutational Burden* (TMB) und *Mikrosatelliteninstabilität* (MSI) bestimmt. Zusätzlich ist es möglich, eine Untersuchung auf das eventuelle Vorliegen einer *Homologen Rekombinationsreparaturdefizienz* (HRD) durchzuführen, wobei Parameter wie *Loss of Heterozygosity*, *Telomeric Allelic Imbalance* (TAI), *Large-Scale State Transitions* (LST) und Mutationen in den Genen für die homologe Rekombinationsreparatur eine Rolle spielen. Die Berechnung des *Genomic Instability Score* (GIS) erfolgt mit einem proprietären Algorithmus von Myriad Genetics.

Abgedeckte Gene:

ABL1, ABL2, ACVR1, ACVR1B, AKT1, AKT2, AKT3, ALK, ALOX12B, AMER1, ANKRD11, ANKRD26, APC, AR, ARAF, ARFRP1, ARID1A, ARID1B, ARID2, ARID5B, ASXL1, ASXL2, ATM, ATR, ATRX, AURKA, AURKB, AXIN1, AXIN2, AXL, B2M, BAP1, BARD1, BBC3, BCL10, BCL2, BCL2L1, BCL2L11, BCL2L2, BCL6, BCOR, BCORL1, BCR, BIRC3, BLM, BMPR1A, BRAF, BRCA1, BRCA2, BRD4, BRIP1, BTG1, BTK, C11ORF30, CALR, CARD11, CASP8, CBFB, CBL, CCND1, CCND2, CCND3, CCNE1, CD274, CD276, CD74, CD79A, CD79B, CDC73, CDH1, CDK12, CDK4, CDK6, CDK8, CDKN1A, CDKN1B, CDKN2A, CDKN2B, CDKN2C, CEBPA, CENPA, CHD2, CHD4, CHEK1, CHEK2, chrY, CIC, CREBBP, CRKL, CRLF2, CSF1R, CSF3R, CSNK1A1, CTCF, CTLA4, CTNNA1, CTNNB1, CUL3, CUX1, CXCR4, CYLD, DAXX, DCUN1D1, DDR2, DDX41, DHX15, DICER1, DIS3, DNAJB1, DNMT1, DNMT3A, DNMT3B, DOT1L, E2F3, EED, EGFL7, EGFR, EIF1AX, EIF4A2, EIF4E, EML4, EP300, EPCAM, EPHA3, EPHA5, EPHA7, EPHB1, ERBB2, ERBB3, ERBB4, ERCC1, ERCC2, ERCC3, ERCC4, ERCC5, ERG, ERFFI1, ESR1, ETS1, ETV1, ETV4, ETV5, ETV6, EWSR1, EZH2, FAM175A, FAM46C, FANCA, FANCC,

Dokument:	IN-IMTD-PATHO-ALLG-ALLG-106991-2	Version: 2	Seite:	3 von 8
Erstellung:	Regelungen der Pathologie		Freigabedatum:	29.05.2024

FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG, FANCI, FANCL, FAS, FAT1, FBXW7, FGF1, FGF10, FGF14, FGF19, FGF2, FGF23, FGF3, FGF4, FGF5, FGF6, FGF7, FGF8, FGF9, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, FH, FLCN, FLI1, FLT1, FLT3, FLT4, FOXA1, FOXL2, FOXO1, FOXP1, FRS2, FUBP1, FYN, GABRA6, GATA1, GATA2, GATA3, GATA4, GATA6, GEN1, GID4, GLI1, GNA11, GNA13, GNAQ, GNAS, GPR124, GPS2, GREM1, GRIN2A, GRM3, GSK3B, H3F3A, H3F3B, H3F3C, HGF, HIST1H1C, HIST1H2BD, HIST1H3A, HIST1H3B, HIST1H3C, HIST1H3D, HIST1H3E, HIST1H3F, HIST1H3G, HIST1H3H, HIST1H3I, HIST1H3J, HIST2H3A, HIST2H3D, HIST3H3, HLA-A, HNF1A, HNRNPK, HOXB13, HRAS, HSD3B1, HSP90AA1, ICOSLG, ID3, IDH1, IDH2, IFNGR1, IGF1, IGF1R, IGF2, IKBKE, IKZF1, IL10, IL7R, INHA, INHBA, INPP4A, INPP4B, INSR, IRF2, IRF4, IRS1, IRS2, JAK1, JAK2, JAK3, JUN, KAT6A, KDM5A, KDM5C, KDM6A, KDR, KEAP1, KEL, KIF5B, KIT, KLF4, KLHL6, KMT2B, KMT2C, KMT2D, KRAS, LAMP1, LATS1, LATS2, LMO1, LoH, LRP1B, LYN, LZTR1, MAGI2, MALT1, MAP2K1, MAP2K2, MAP2K4, MAP3K1, MAP3K13, MAP3K14, MAP3K4, MAPK1, MAPK3, MAX, MCL1, MDC1, MDM2, MDM4, MED12, MEF2B, MEN1, MET, MGA, MITF, MLH1, MLL, MLLT3, MPL, MRE11A, MSH2, MSH3, MSH6, MSI, MST1, MST1R, MTOR, MUTYH, MYB, MYC, MYCL, MYCN, MYD88, MYOD1, NAB2, NBN, NCOA3, NCOR1, NEGR1, NF1, NF2, NFE2L2, NFKBIA, NKX2-1, NKX3-1, NOTCH1, NOTCH2, NOTCH3, NOTCH4, NPM1, NRAS, NRG1, NSD1, NTRK1, NTRK2, NTRK3, NUP93, NUTM1, PAK1, PAK3, PAK7, PALB2, PARK2, PARP1, PAX3, PAX5, PAX7, PAX8, PBRM1, PDCD1, PDCD1LG2, PDGFRA, PDGFRB, PDK1, PDPK1, PGR, PHF6, PHOX2B, PIK3C2B, PIK3C2G, PIK3C3, PIK3CA, PIK3CB, PIK3CD, PIK3CG, PIK3R1, PIK3R2, PIK3R3, PIM1, PLCG2, PLK2, PMAIP1, PMS1, PMS2, PNRC1, POLD1, POLE, PPARG, PPM1D, PPP2R1A, PPP2R2A, PPP6C, PRDM1, PREX2, PRKAR1A, PRKCI, PRKDC, PRSS8, PTCH1, PTEN, PTPN11, PTPRD, PTPRS, PTPRT, QKI, RAB35, RAC1, RAD21, RAD50, RAD51, RAD51B, RAD51C, RAD51D, RAD52, RAD54L, RAF1, RANBP2, RARA, RASA1, RB1, RBM10, RECQL4, REL, RET, RFWD2, RHEB, RHOA, RICTOR, RIT1, RNF43, ROS1, RPS6KA4, RPS6KB1, RPS6KB2, RPTOR, RUNX1, RUNX1T1, RYBP, SDHA, SDHAF2, SDHB, SDHC, SDHD, SETBP1, SETD2, SF3B1, SH2B3, SH2D1A, SHQ1, SLIT2, SLX4, SMAD2, SMAD3, SMAD4, SMARCA4, SMARCB1, SMARCD1, SMC1A, SMC3, SMO, SNCAIP, SOCS1, SOX10, SOX17, SOX2, SOX9, SPEN, SPOP, SPTA1, SRC, SRSF2, STAG1, STAG2, STAT3, STAT4, STAT5A, STAT5B, STK11, STK40, SUFU, SUZ12, SYK, TAF1, TBX3, TCEB1, TCF3, TCF7L2, TERC, TERT, TET1, TET2, TFE3, TFRC, TGFBR1, TGFBR2, TMEM127, TMPRSS2, TNFAIP3, TNFRSF14, TOP1, TOP2A, TP53, TP63, TRAF2, TRAF7, TSC1, TSC2, TSHR, U2AF1, VEGFA, VHL, VTCN1, WISP3, WT1, XIAP, XPO1, XRCC2, YAP1, YES1, ZBTB2, ZBTB7A, ZFH3, ZNF217, ZNF703, ZRSR2

**Weiterhin können wir im Sinne einer Fast-Track-Analyse oder bei nicht ausreichendem Gewebematerial ausgewählte Mutationsanalysen mit Hilfe der RealTime-PCR oder der Didesoxysequenzierung nach Sanger durchführen.**

## 2. Fusionsanalysen

Fusionsanalysen werden ebenfalls mit Hilfe des 'Next Generation Sequencing' durchgeführt. Auch hier wird das Probenmaterial zunächst mikrodissiziert. Nach der RNA-Extraktion erfolgt allerdings zunächst eine Umschreibung in cDNA mit Hilfe der reversen Transkription. Anschließend werden die interessierenden Genombereiche mit Hilfe gen-spezifischer Panels angereichert.

Für die Fusionsanalysen verwenden wir folgende Panels:

#### **Oncomine Focus RNA (ThermoFisher Scientific)**

Dieses Panel erlaubt die Analyse möglicher Treiberfusionen unter Beteiligung von 23 Genen:

ALK, RET, ROS1, NTRK1, NTRK2, NTRK3, FGFR1, FGFR2, FGFR3, MET, BRAF, RAF1, ERG, ETV1, ETV4, ETV5, ABL1, AKT3, AXL, EGFR, ERBB2, PDGFRA, PPARG

#### **Oncomine Myeloid RNA (ThermoFisher Scientific)**

Dieses Panel erlaubt die Analyse möglicher Treiberfusionen unter Beteiligung von 29 Genen:

ABL1, ALK, BCL2, BRAF, CCND1, CREBBP, EGFR, ETV6, FGFR1, FGFR2, FUS, HMGA2, JAK2, KMT2A (MLL), MECOM, MET, MLLT10, MLLT3, MYBL1, MYH11, NTRK3, NUP214, PDGFRA, PDGFRB, RARA, RBM15, RUNX1, TCF3, TFE3

#### **FusionPlex Lung v2 (ARCHER)**

Dieses Panel erlaubt eine Translokationsanalytik an 17 Genen, wobei die Archer-Technologie die Identifizierung von Fusionstranskripten zulässt, ohne dass der Fusionspartner (5' oder 3') bekannt sein muss:

ALK, BRAF, EGFR, ERBB2, FGFR1, FGFR2, FGFR3, KRAS, MET, NRG1, NTRK1, NTRK2, NTRK3, NUTM1, PIK3CA, RET, ROS1

#### **FusionPlex Sarcoma v2 (ARCHER)**

Dieses Panel erlaubt eine Translokationsanalytik an 63 Genen, wobei die Archer-Technologie die Identifizierung von Fusionstranskripten zulässt, ohne dass der Fusionspartner (5' oder 3') bekannt sein muss:

ALK, BCOR, BRAF, CAMTA1, CCNB3, CIC, CSF1, CTNNB1, EGFR, EPC1, ERG, ESR1, ETV1, ETV4, ETV5, ETV6, EWSR1, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FOS, FOSB, FOXO1, FUS, GLI1, HMGA2, JAZF1, MBTD1, MDM2, MEAF6, MET, MGEA5, MKL2, MYOD1, NCOA1, NCOA2, NCOA3, NR4A3, NTRK1, NTRK2, NTRK3, NUTM1, PAX3, PDGFB, PDGFRA, PHF1, PLAG1, PRKCA, PRKCB, PRKCD, RAF1, RET, ROS1, SS18, STAT6, TAF15, TCF12, TFE3, TFG, USP6, VGLL2, YAP1, YWHAE

#### **FusionPlex Pan Solid Tumor v2 (ARCHER)**

Dieses Panel erlaubt eine Translokationsanalytik an 137 Genen, wobei die Archer-Technologie die Identifizierung von Fusionstranskripten zulässt, ohne dass der Fusionspartner (5' oder 3') bekannt sein muss:

ACVR2A, AKT1, AKT2, AKT3, ALK, AR, ARHGAP26, ARHGAP6, AXL, BCOR, BRAF, BRD3, BRD4, CAMTA1, CCNB3, CCND1, CD274, CIC, CRT1, CSF1, CSF1R, CTNNB1, DNAJB1, EGF, EGFR, EPC1, ERBB2, ERBB4, ERG, ESR1, ESRRA, ETV1, ETV4, ETV5, ETV6, EWSR1, FGF1, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGR, FOS, FOSB, FOXO1, FOXO4, FOXR2, FUS, GLI1, GRB7, HMGA2, HRAS, IDH1, IDH2, IGF1R, INSR, JAK2, JAK3, JAZF1, KIT, KRAS, MAML2, MAP2K1, MAST1, MAST2, MBTD1, MDM2, MEAF6, MET, MGEA5, MKL2, MN1, MSMB, MUSK, MYB, MYBL1, MYC, MYOD1, NCOA1, NCOA2, NCOA3, NFATC2, NFE2L2, NFIB, NOTCH1, NOTCH2, NR4A3, NRAS, NRG1, NTRK1, NTRK2, NTRK3, NUMBL, NUTM1, PAX3, PAX8, PDGFB, PDGFD, PDGFRA, PDGFRB, PHF1, PHKB, PIK3CA, PKN1, PLAG1, PPARG, PRDM10, PRKACA, PRKACB, PRKCA, PRKCB, PRKCD, PRKD1, PRKD2, PRKD3, RAD51B, RAF1, RELA, RET, ROS1, RSPO2, RSPO3, SS18, SS18L1, STAT6, TAF15, TCF12, TERT, TFE3, TFEB, TFG, THADA, TMPRSS2, USP6, VGLL2, WWTR1, YAP1, YWHAE

### 3. Liquid Biopsy

Analysen von Liquid-Biopsy-Pröben werden ebenfalls mit Hilfe des 'Next Generation Sequencing' durchgeführt.

Dokument:	IN-IMTD-PATHO-ALLG-ALLG-106991-2	Version:	2	Seite:	5 von 8
Erstellung:	Regelungen der Pathologie	Freigabedatum:			29.05.2024

Ausgehend von eigens dafür gewonnenen Blutproben erfolgt zunächst die Abtrennung des Plasmas, aus dem im weiteren Verlauf die zellfreie, zirkulierende DNA (cfDNA) extrahiert wird. Anschließend werden die interessierenden Genombereiche mit Hilfe Gen-spezifischer Panels angereichert.

Eine Analyse der cfDNA sollte diejenige aus geeignetem Tumormaterial nicht ersetzen, sondern immer nur ergänzen.

Für die Mutationsanalysen aus Liquid-Biopsy-Proben verwenden wir folgende Panels:

**OM Breast cfDNA v2 (ThermoFisher Scientific)**

Dieses Panel erlaubt die selektive Analyse von Mutationen in den Hotspots von 12 Protoonkogenen und Tumorsuppressorgenen:

AKT1, CCND1, EGFR, ERBB2, ERBB3, ESR1, FBXW7, FGFR1, KRAS, PIK3CA, SF3B1 und TP53

**OM Lung cfDNA (ThermoFisher Scientific)**

Dieses Panel erlaubt die selektive Analyse von Mutationen in den Hotspots von 12 Protoonkogenen und Tumorsuppressorgenen:

ALK, BRAF, EGFR, ERBB2, KRAS, MAP2K1, MET, NRAS, PIK3CA, RET, ROS1 und TP53

**4. Infektionserreger-Diagnostik**

- **HPV** (aus Paraffinmaterial)  
Differenzierung zwischen mindestens 41 verschiedenen HPV-Typen sowohl der High-Risk- als auch der Low-Risk-Gruppe  
  
**HPV** (aus gynäkologischen Zytologien)  
zum Nachweis von HPV-Typen der High-Risk-Gruppe
- **Mykobakterien**  
Differenzierung zwischen MTUB-Komplex sowie 16 atypischen Mykobakterien-Arten
- ***Chlamydia trachomatis***

## 5. Fragmentanalysen

- **Klonalitätsanalysen**

zur Diagnose von lymphatischen Erkrankungen der B-Zell- und der T-Zell-Reihe

- **Mikrosatelliten-Instabilität \***

insbesondere beim hereditären nicht-polypösen Kolonkarzinom (HNPCC), Ovarialkarzinom und Endometriumkarzinom

\* Sofern die Abrechnung über KV-Schein erfolgen soll, sind die folgenden Indikationskriterien für die molekulargenetische Untersuchung beim Hereditären non-polypösen kolorektalem Karzinom, HNPCC (gemäß §1 Abs.2 und §6 Abs.2 aus: „Qualitätssicherungsvereinbarung Molekulargenetik“) zu berücksichtigen:

Die indikationsbezogene molekulargenetische Untersuchung darf erst dann durchgeführt werden, wenn aus den Unterlagen gemäß §6 der Qualitätssicherungsvereinbarung Molekular-Genetik hervorgeht, dass die unten aufgeführten Kriterien an die Indikationsstellung erfüllt sind. Die Voraussetzung für die Berechnung von EBM Gebührenordnungspositionen für Mikrosatelliten-Analysen ist gemäß der revidierten Bethesda-Kriterien<sup>1</sup> gegeben.

Mindestens eines der folgenden Kriterien muss erfüllt sein:

- Patienten mit kolorektalem Karzinom vor dem 50. Lebensjahr
- Patienten mit synchronen oder metachronen kolorektalen Karzinomen oder anderen HNPCC-assoziierten Tumoren<sup>2</sup>, unabhängig vom Alter
- Patienten mit kolorektalem Karzinom mit MSI-H Histologie<sup>3</sup> vor dem 60. Lebensjahr
- Patienten mit kolorektalem Karzinom (unabhängig vom Alter), die einen Verwandten 1. Grades mit einem kolorektalen Karzinom oder einem HNPCC-assoziierten Tumor vor dem 50. Lebensjahr haben
- Patienten mit kolorektalem Karzinom (unabhängig vom Alter), die mindestens zwei Verwandte 1. oder 2. Grades haben, bei denen ein kolorektales Karzinom oder ein HNPCC-assoziiertes Tumor (unabhängig vom Alter) diagnostiziert wurde
  
- bei Patienten vor geplanter immunonkologischer Therapie, zum Beispiel mit Pembrolizumab (Untersuchung kann 2x jährlich abgerechnet werden)

1 Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche Krebshilfe, AWMF): S3-Leitlinie Kolorektales Karzinom, Langversion 1.1, 2014, AWMF Registrierungsnummer: 021-007OL, <http://leitlinienprogramm-onkologie.de/Leitlinien.7.0.html> [Stand: 11.12.2014].

2 Zu den HNPCC-assoziierten Tumoren gehören Tumoren in: Kolon, Rektum, Endometrium, Magen, Ovar, Pankreas, Dünndarm, Ureter und Nierenbecken, Gallengang, Gehirn (üblicherweise Glioblastome wie beim Turcot-Syndrom), Talgdrüsenadenome und Keratoakanthome (beim Muir-Torre-Syndrom).

3 Vorliegen von Tumor-infiltrierenden Lymphozyten, Crohn-ähnlicher lymphozytärer Reaktion, muzinöser/Siegelring-Differenzierung oder medullärem Wachstum.

*Achtung, bei Beauftragung einer molekularpathologischen Untersuchung über die KV bitten wir im Falle einer Companion Diagnostik um Angabe des geplanten Wirkstoffes oder zumindest der Wirkstoffgruppe (z.B. Antikörper gegen den EGF-Rezeptor, Tyrosinkinase Inhibitoren).*

## **Zusätzliche Informationen für „Molekularpathologie-Einsteiger“:**

### **1. Techniken der Molekularpathologie**

Für die angewandten molekularpathologischen Techniken wird ausgewähltes Zell- und Gewebematerial untersucht. Zielmoleküle sind die Nucleinsäuren DNA und RNA, auf deren Ebene sich tumorassoziierte Veränderungen (z.B. Mutationen, Kopienzahlveränderungen von Genen, Gentranslokationen bzw. Genfusionen), aber auch Infektionen mit bestimmten Erregern nachweisen lassen. Durch Mikrodissektion des entsprechenden Gewebeareals werden die zu untersuchenden Zellen angereichert. Nach Isolation der DNA wird der spezifische genomische Bereich mit Hilfe der Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) amplifiziert, während nach Isolation der RNA die zu untersuchenden Fragmente zunächst in cDNA umgeschrieben und anschließend amplifiziert werden. Als weiterführende diagnostische Methoden kommen die DNA-Sequenzierung nach Sanger sowie das Next Generation Sequencing (NGS), die DNA-Fragmentanalyse, spezielle Hybridisierungstechniken sowie die Real-Time-PCR zur Anwendung. Alle diese Analysen dienen der Erzielung diagnostisch relevanter Aussagen, die dann Grundlage für Ihre Therapieentscheidungen sind.

### **2. Validierung**

Molekularbiologische Untersuchungsmethoden stellen hohe Anforderungen an die Qualität des Gewebes. Wir haben Protokolle etabliert, die die Diagnostik an formalin-fixiertem, paraffin-eingebettetem (FFPE-) Material erlauben.

Jede von uns angebotene Untersuchungsmethode wird gemäß den bestehenden Akkreditierungsrichtlinien des **College of American Pathologists (CAP)** zunächst validiert. Dazu wird eine relevante Anzahl an Proben parallel an einem anderen Institut oder mit einer anderen Methode untersucht und mit den Ergebnissen der neuen Technik verglichen.

### **3. Qualitätssicherung**

Zur weiteren Qualitätssicherung von evaluierten molekularpathologischen Nachweisverfahren nehmen wir regelmäßig an den entsprechenden Ringversuchen sowohl unserer Akkreditierungsinstitution (CAP) als auch der gemeinsamen Qualitätssicherungs-Initiative Pathologie (QuIP) der Deutschen Gesellschaft für Pathologie und des Berufsverbandes Deutscher Pathologen teil.