



EMPFEHLUNG ZUR STATISTISCHEN AUSWERTUNGEN VON POSITIVEN SEROLOGISCHEN KONTROLLEN BEI DER QUALITATIVEN BESTIMMUNGEN VON INFEKTMARKERN

Einleitung

Auf Anregung von Swissmedic sollten die bisherigen Regelungen für die Auswertung der positiven Qualitätskontrollen im Kapitel 11.5.1 der Vorschriften B-CH einer Revision unterzogen werden. Als zuständiges Gremium wurde die AG TTD betrachtet, die diese Empfehlungen im Auftrag der Direktorenkonferenz verfasst hat.

Gesetzliche Grundlagen

Gemäss dem Anhang 1, Gute Praxis in mikrobiologischen Laboratorien, der Verordnung über mikrobiologische Laboratorien (818.101.32), wird unter der Ziffer 5.14.3 festgelegt, dass interne Kontrollen bei jeder Analysenserie mitgeführt werden müssen. Diese internen Kontrollen müssen zwingend bestimmte Toleranzgrenzen erfüllen. Wenn dies nicht der Fall ist, sind die Resultate der Analysenserie ungültig und können nicht frei gegeben werden.

Periodisch sollen hingegen Kontrollen eingesetzt werden, die das Gesamtsystem hinsichtlich bestimmter Grenzwerte längerfristig überwachen. Diese Kontrollen müssen nicht zwingend bei jeder Analysenserie mitgeführt werden und sind deshalb auch nicht zwingend relevant für die Freigabe.

Die internen Kontrollen werden an dieser Stelle als interne Qualitätskontrolle (IQK) und die periodischen Qualitätskontrollen als Kit-unabhängige Kontrollen bezeichnet.

Weiter ist im oben zitierten Anhang 1 unter Ziffer 5.14.4 beschrieben, dass eine monatliche Trendauswertung der Kontrollproben für die Analysensysteme auf ihre Präzision und Richtigkeit erfolgen soll. Da eine Trendauswertung die Anwendung statistischer Regeln erfordert, wurden nachfolgend einige Empfehlungen für diese Anwendung formuliert.

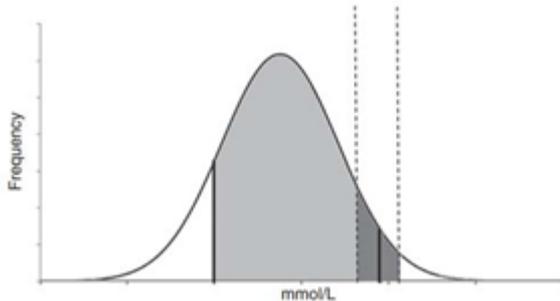
Trendauswertung der positiven serologischen Kontrollen

In der oben zitierten Verordnung werden keine näheren Angaben zu statistischen Trendauswertung gemacht. Die Kommission QUALAB erstellt gemäss Krankenversicherungsgesetz (KVG), Artikel 58 und 77, Konzepte und Programme betreffend der Qualitätssicherung. Die Trendauswertung der positiven serologischen Kontrollen wird von der QUALAB in den Richtlinien zur internen Qualitätskontrolle - Version 7.0 behandelt. Komplizierte quantitative und qualitative Tests werden ohne Unterschied nach Berechnung der Standardabweichung mittels Westgard-Regeln ausgewertet [1, 2]. Dabei wurde nicht berücksichtigt, dass die Normalverteilung der Werte bei quantitativen und qualitativen Tests in der Regel grundsätzlich verschieden ist.

Die Resultate der quantitativen Tests etwa der klinischen Chemie sind regelhaft normalverteilt. In der nachfolgenden Abbildung 1 ist als Beispiel die Häufigkeitsverteilung der Glucose-Werte (mmol/l) beim gesunden Erwachsenen im nüchternen Zustand dargestellt [3]. Es ergibt sich eine Normalverteilung nach Gauss. Der obere Grenzwert ist der klinisch relevante Wert, der durch die Qualitätskontrolle repräsentiert werden muss. Bereits kleine Abweichungen in der Präzision der Messung können zu einer falschen klinischen Interpretation führen, da im Grenzbereich die physiologischen und pathologischen Werte nahtlos ineinander übergehen.

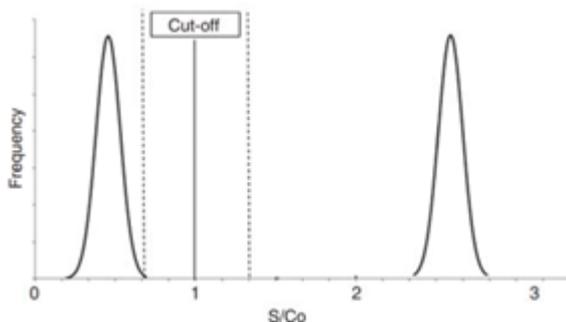
Auf dieser Basis wurden die Regeln von Westgard entwickelt, die sich auf quantitative Tests beziehen.

Abbildung 1: Häufigkeitsverteilung der Glucose-Werte (mmol/l) beim gesunden Erwachsenen im nüchternen Zustand



Im Gegensatz dazu steht die Häufigkeitsverteilung der Resultate beim qualitativen Test etwa von HIV-1 Antikörper (Abbildung 2). Die Werteverteilung ist explizit nicht normalverteilt [3]. Grundsätzlich ergibt sich bei modernen serologischen Tests eine bimodale Verteilung von Werten, die bei einer Darstellung als Signal to Cut off (S/CO) zwei klar abgegrenzte Gruppen von Werten ergeben. Selbstverständlich existieren auch einzelne Werte zwischen diesen beiden Gruppen. Diese Werte sind in dieser Darstellung nicht sichtbar. In jedem Fall führen kleine Verschiebungen bei der Präzision der Messung zu einem viel kleineren Fehler, als dies bei einer Verteilung nach Gauss der Fall ist. Dies lässt sich visuell bei Vergleich der beiden Abbildungen leicht nachvollziehen.

Abbildung 2: Häufigkeitsverteilung der S/CO Werte beim einem Anti-HIV Test



Schon aus dem bisherigen Gründen ist es nicht adäquat, die Westgard Regeln unmodifiziert für qualitative serologische Tests anzuwenden. Ein weiterer wichtiger Grund ist die grundsätzlich andersgelagerte Natur der Antigen-Antikörper Reaktion im Vergleich zu biochemischen Reaktionen. Es ist technisch nicht möglich, Tests zum Nachweis von Antikörpern so einzustellen, dass unabhängig vom Herstellungs-Lot mit einer identischen Probe die gleiche Reaktionsstärke erreicht wird. Eine wirklich effektive Kalibration ist nicht machbar. Dies bedeutet, dass die Lot zu Lot Variation im Wertebereich berücksichtigt werden muss. Gemäss den Westgard Regeln sollen die ersten zwanzig konsekutiven Messwerte als Grundlage für die Berechnung der Standardabweichung und dem 3s-Bereich dienen. Es ist evident, dass unter diesen Bedingungen die Lot zu Lot Variation nicht berücksichtigt wird. Die Testhersteller berechnen in der Regel für jeden Test einen Wertebereich, der die Lot zu Lot Variation mit einbezieht. Aus diesem Grund ist es bei den internen positiven Kitkontrollen sicherlich sinnvoll, für die Infektmarkerserologie den Wertebereich der Test-Hersteller zu übernehmen. Bei den Kit-unabhängigen Kontrollen existiert kein Messbereich des Herstellers. Hier wird ein alternatives Verfahren benötigt.

Trendauswertung Positiver Kitkontrollen der Hersteller (IQK)

Für die Berechnung der Standardabweichung der positiven IQK-Werte wird der Messbereich des Herstellers (s.o.) zu Grunde gelegt. Aus dem Messbereich wird die Standardabweichung berechnet (Messbereich/6). Dies dient als Grundlage für die statistische Auswertung. Die festgelegten Westgard-Regeln der QUALAB (1-2s, 2-2s, R4-s, 1-3s) werden bei der Auswertung der Kontroll-Resultate verwendet. Allerdings richtet sich die Bewertung nach neuen Forschungsergebnissen, die erst bei



über 20% nicht konformer Regelergebnisse eine Überprüfung des Analysensystems vorsehen, wenn es sich um qualitative Infektmarker-Resultate handelt [4].

Trendauswertung Positiver Kit-unabhängiger Kontrollen

Für die Berechnung der Standardabweichung der Accurun-Werte existiert kein Messbereich des Herstellers. Gemäss neuen Forschungsergebnissen [3-5] kann anstatt eines Messbereichs ein Wertebereich aus sämtlichen Messwerten des Vorjahrs berechnet werden. Dies befindet sich auch in Einklang mit den Vorgaben der CLSI [5], die bezüglich der Anzahl Werte, die dem Wertebereich zu Grunde liegen, keine Angaben macht. Auch hier gilt für die Auswertung wie bei der IQK, dass erst bei über 20% nicht konformer Regelergebnisse eine Überprüfung des Analysensystems vorzusehen ist. Ebenfalls gelten die gleichen Westgard-Regeln wie bei der IQK. Da die Kit-unabhängigen-Kontrollen nicht freigabe-relevant sind, genügt es, die Accurun-Kontrollen einmal pro Analysen-System zu Beginn der Tagesroutine einzusetzen. Eine Schlusskontrolle nach Abschluss der Analysenserie entfällt.

Referenzen

1. Westgard, J.O., *Selecting appropriate quality-control rules*. Clin Chem, 1994. **40**(3): p. 499-501.
2. Westgard, J.O., et al., *A multi-rule Shewhart chart for quality control in clinical chemistry*. Clin Chem, 1981. **27**(3): p. 493-501.
3. Dimech, W., G. Vincini, and M. Karakaltsas, *Determination of quality control limits for serological infectious disease testing using historical data*. Clin Chem Lab Med, 2015. **53**(2): p. 329-36.
4. Dimech, W., M. Karakaltsas, and G.A. Vincini, *Comparison of four methods of establishing control limits for monitoring quality controls in infectious disease serology testing*. Clin Chem Lab Med, 2018. **56**(11): p. 1970-1978.
5. CLSI, *Statistical quality control for quantitative measurement procedures: principles and definitions*. Vol. CSLI Guideline C24, 2016. **4th ed.** Wayne, PA