

29.09.2020

Aussagekraft und Bedeutung von Ringversuchen zum Nachweis von SARS-CoV-2.

Hier: INSTAND-Ringversuch zum „Virusgenom-Nachweis - SARS-CoV-2“ im April 2020: Beurteilung der PCR-Ergebnisse

Ringversuche sind Interlaborvergleiche zur externen Qualitätskontrolle, bei denen durch eine Ringversuchsorganisation definierte Kontrollproben eingesetzt werden, um Auskunft über die Leistungsfähigkeit der teilnehmenden Laboratorien im Zusammenhang mit deren eingesetzten Testverfahren zu geben. Die Untersuchung dieser Kontrollproben entspricht allerdings nicht immer vollständig solchen des klinischen Alltags, da Schritte wie Präanalytik, Postanalytik inkl. medizinischer Befundung im Rahmen eines Ringversuches nicht beurteilt werden können.

Gerade in besonderen epidemischen Lagen kommt der Qualität der Diagnostik für die Erfüllung der Labormeldepflicht, der validen Bewertung der epidemiologischen Situation und den daraus abgeleiteten Maßnahmen besondere Bedeutung zu. Die Zahl der durchgeführten Tests wurde in kurzer Zeit enorm erhöht. Dies erhöht den Druck auf die durchführenden Laboratorien und stellt gleichzeitig hohe Anforderungen an die Sensitivität und Spezifität der Tests sowie die Bewertung der Testergebnisse.

Der INSTAND-Ringversuch zum „Virusgenom-Nachweis - SARS-CoV-2“ im April 2020 war einer der weltweit ersten Ringversuche zur externen Qualitätskontrolle des molekularbiologischen Nachweises von SARS-CoV-2.

Für Einzelheiten siehe:

- Kommentar von INSTAND zu diesem Ringversuch: <https://www.instand-ev.de/System/rv-files/340%20DE%20SARS-CoV-2%20Genom%20April%202020%2020200502j.pdf>
- „AG LABORKAPAZITÄT BEIM RKI (7.7.2020); Bericht zur Optimierung der Laborkapazitäten zum direkten und indirekten Nachweis von SARS-CoV-2 im Rahmen der Steuerung von Maßnahmen; Kommentar zu den Ringversuchen für die SARS-CoV-2-Diagnostik (INSTAND)“, Seite 19:
https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/Laborkapazitaeten.pdf;jsessionid=A64895B4D04A432B3C514B7C6C6890FD.internet052?__blob=publicationFile

Auf der Basis des o.g. Kommentars werden aus den Ringversuchsergebnissen Rückschlüsse auf die Zuverlässigkeit der Analysendurchführung der Laboratorien in Abhängigkeit verschiedener Teste zum Genomnachweis von SARS-CoV-2 bei negativen Untersuchungsproben gezogen.

Mit Ringversuchen wird primär die korrekte Abarbeitung von gut charakterisierten und definierten Kontrollproben durch diagnostische Laboratorien mittels der dort etablierten Tests zu Qualitätszwecken überprüft. Es ist grundsätzlich nicht das Ziel von Ringversuchen, Aussagen zur Testevaluation in Analogie zu klinisch-diagnostischen Studien zu machen.

Einzelheiten zum INSTAND-Ringversuch im April 2020

An dem Ringversuch nahmen insgesamt 463 Laboratorien teil, davon 284 deutsche Laboratorien. Die teilnehmenden Laboratorien erhielten insgesamt 7 Kontrollproben. Vier dieser Kontrollproben enthielten jeweils unterschiedlich konzentrierte SARS-CoV-2-Proben, insgesamt 3 Kontrollproben waren negativ für SARS-CoV-2. Die Gesamtzahl der aus deutschen Laboratorien rückgemeldeten Ergebnisse pro Kontrollprobe betrug 596, da in den teilnehmenden Laboratorien in der Mehrzahl Testsysteme zum Nachweis von mehr als einer Genregion von SARS-CoV-2 eingesetzt wurden.

Insgesamt zeigte sich für die Ergebnisse aller Ringversuchsteilnehmer für 6 der 7 untersuchten Kontrollproben Erfolgsquoten zwischen 97,8% und 99,7%. Die 7. Kontrollprobe, die mit einer SARS-CoV-2-Verdünnung von 1 : 1 000 000 an der Nachweisgrenze liegt und für edukative Zwecke eingesetzt wurde, erbrachte eine Erfolgsquote von 93,0%.

Fazit 1:

Die Ergebnisse des INSTAND-Ringversuchs zum „Virusgenom-Nachweis - SARS-CoV-2“ im April 2020, der bereits drei Monate nach Auftreten der ersten gesicherten SARS-CoV-2-Infektionen in Deutschland durchgeführt wurde, zeigten eine sehr hohe Qualität sowohl für die analytische Leistungsfähigkeit der Laboratorien als auch für die eingesetzten Testverfahren anhand von definierten und vorcharakterisierten Einzelproben zu diesem Zeitpunkt.

Kommentierung der nicht richtig negativen Ergebnisse im INSTAND-Ringversuch April 2020 zum SARS-CoV-2-Genom-Nachweis

Die 3 SARS-CoV-2-negativen Kontrollproben dienten im Ringversuch der Überprüfung der Frage, ob die teilnehmenden Laboratorien Untersuchungsproben, die frei von SARS-CoV-2 sind, auch richtig negativ für SARS-CoV-2 bestimmen können. Dazu wurden 2 Proben mit anderen humanen Coronaviren (HCoV OC43 und 229E) und 1 Probe mit nicht-infizierten Kontrollzellen (MRC-5-Zellen) eingesetzt. Für die RV-Probe 340062 mit MRC-5-Zellen (negativ für SARS-CoV-2) wurde bei 1,4 % der Analysen kein „negatives Ergebnis“ mitgeteilt. Diese 1,4% nicht richtig negativen Ergebnisse basieren auf insgesamt 14/983 Analysen von allen Teilnehmern und setzen sich wie folgt zusammen:

Insgesamt 7 Ergebnisse wurden als „positiv“ (0,7%) und 4 Ergebnisse wurden als „fraglich“ (0,4%) gemeldet. Drei Ergebnisangaben waren unvollständig (0,3%). Das bedeutet für die Ringversuchsauswertung, dass die o.g. 1,4% nicht richtig negativen Ergebnisse keinesfalls generell als "falsch positiv" betrachtet werden dürfen, sondern im Ringversuch als falsche Ergebnisse gewertet wurden.

Insgesamt wurden im Ringversuch April 2020 von 284 deutschen Laboratorien 596 Ergebnisse je Probe gemeldet (je Probe Ergebnisangabe für mehr als eine Genregion möglich). Von diesen 284 deutschen Laboratorien meldeten lediglich 3 Laboratorien insgesamt 2 falsch positive Ergebnisse/596 Ergebnisse (entspricht 0,34 %) und 2 inkomplette Ergebnisse/596 Ergebnisse (entspricht 0,34 %). Dabei ist zu beachten, dass aus diesen prozentualen Angaben eine Hochrechnung auf die Gesamtzahl der in Deutschland durchgeführten Teste nicht zulässig ist.

Fazit 2:

Der Ringversuch April 2020 zeigt, dass die Ergebnisse für die negative Probe (Probe 340062 - mit MRC-5-Zellen) eine sehr gute Testdurchführung in deutschen Laboratorien widerspiegeln. Die im Kommentar zum Ringversuch vom April 2020 für diese Probe ausgewiesenen 1,4% als „falsch“ gewerteten Ergebnisse sind im Sinne einer medizinischen Gesamtbewertung der Ergebnisse nicht generell als "falsch positiv" zu werten und erlauben keinesfalls eine Aussage zur Spezifität und Sensitivität der eingesetzten Teste bei der Untersuchung SARS-CoV-2-negativer Proben.

Eindeutig falsch positive Ergebnisse wurden tatsächlich nur von 2 der 284 deutschen Laboratorien übermittelt. Da das Ziel eines Ringversuches die Qualitätssicherung und Qualitätsverbesserung ist, haben die beiden Labore die Aufgabe, Maßnahmen zu ergreifen, um die Ursachen der nicht-korrekten Ergebnisse zu identifizieren und zu beheben.

Aussagen zur analytischen Leistungsfähigkeit der PCR zum SARS-CoV-2-Nachweis aus den Ergebnissen des INSTAND-Ringversuchs April 2020

Prinzipiell ist festzustellen:

- Die angegebenen Ergebnisse beziehen sich **nur** auf die teilnehmenden Laboratorien, **nicht auf alle deutschen Laboratorien**. Das heißt, dass die teilnehmenden Laboratorien lediglich eine Auswahl der tatsächlichen Anzahl von Laboratorien in Deutschland sind, die den Nachweis von SARS-CoV-2 anbieten.
- Die Ergebnisse dieses Ringversuchs lassen primär Aussagen zur analytischen Leistungsfähigkeit und Zuverlässigkeit der teilnehmenden Laboratorien im Zusammenhang mit deren eingesetzten Testverfahren in einer „Momentaufnahme“ zum Ringversuchstermin April 2020 zu. Dies betrifft ausschließlich die analytische Phase des diagnostischen Zyklus. Der Gesamtzyklus der Diagnostik hingegen beinhaltet weitere wichtige und ggf. Ergebnis-beeinflussende Prozessschritte (u.a. Indikationsstellung, Probennahme, Transport, Durchführung der Untersuchungen inkl. Extraktion, Validierung der Ergebnisse, Bewertung im Rahmen der Befundung und Mitteilung an den Arzt und Patienten). Unter Berücksichtigung der analytischen Leistungsfähigkeit der Laboratorien spiegeln die Ringversuchsergebnisse nur indirekt die Leistungsfähigkeiten der verwendeten Teste bzgl. Spezifität und Sensitivität wider.
- Fragen zur Prä- und Postanalytik sowie zur medizinischen Validation, die bei der Routinediagnostik von Untersuchungsproben von Patienten oder Probanden essentielle Bestandteile sind, wurden bei dem INSTAND-Ringversuch „Virusgenom-Nachweis - SARS-CoV-2“ im April 2020 nicht behandelt und können somit auch nicht beantwortet werden.

Eine über die rein analytische Bewertung der Ergebnisse hinausgehende Beurteilung des Infektionsstatus des Patienten im Rahmen einer medizinischen Gesamtinterpretation wurde in diesem Ringversuch nicht abgefragt. Auf Grund der Konfiguration dieses Ringversuchs konnte eine medizinische Gesamtinterpretation nicht ermittelt werden.

- Die im Ringversuch dargestellten Erfolgsquoten (richtige Ergebnisse in Prozent) erlauben keine generellen Aussagen zur Spezifität sowie zur Sensitivität der in den Laboratorien verwendeten Teste. Das betrifft sowohl die analytische als auch klinische Sensitivität bzw. Spezifität der angewendeten Teste.
- Für die Bestimmung der analytischen Spezifität der einzelnen Teste wären definierte Studienbedingungen mit Mehrfachbestimmungen einer Vielzahl von Kontrollproben in den Laboratorien nötig. Für die Ermittlung der klinischen Spezifität sind der Einsatz definierter klinischer Proben und der Vergleich verschiedener Methoden notwendig.
- Weiterhin ist zu beachten, dass – wie in der Routinediagnostik – die im Ringversuch gemeldeten Ergebnisse der einzelnen Laboratorien auch durch menschliche Fehler beeinflusst sein können, wie
 - Vertauschen der Proben beim Messen
 - Verschleppung von positivem Material in negative Proben
 - fehlerhafte Eintragung bei der Ergebnismeldung.

Fazit 3:

Die im Ringversuch angegebenen Ergebnisse beziehen sich nur auf die teilnehmenden Laboratorien und nicht auf alle deutschen Laboratorien. Aus den angegebenen Ringversuchsergebnissen kann keine Ableitung von Angaben zur analytischen Spezifität und Sensitivität von bestimmten Testen verschiedener Hersteller vorgenommen werden. Zudem ist es nicht zulässig, aus prozentualen Angaben zu Ringversuchsergebnissen auf die Gesamtzahl der in Deutschland durchgeführten Teste hochzurechnen. Derartige Betrachtungen sind grundsätzlich nicht Ziel eines Ringversuchs, der die analytische Qualität eines Labors im Zusammenhang mit dessen eingesetztem Testverfahren erfassen soll.

Vorstand von INSTAND e.V.

Prof. Dr. Michael Spannagl, Prof. Dr. Ingo Schellenberg, Prof. Dr. Klaus-Peter Hunfeld
INSTAND-Ringversuchsleiter für die virologischen Ringversuche

Prof. Dr. Heinz Zeichhardt, Dr. Martin Kammel

ad hoc-Gruppe der Gemeinsamen Diagnostikkommission der Deutschen Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten (DVV e.V.) und Gesellschaft für Virologie (GfV e.V.)

Prof. Dr. Holger F. Rabenau, Prof. Dr. Heinz Zeichhardt, Dr. Rolf Kaiser,

Dr. Martin Obermeier, Prof. Dr. Jonas Schmidt-Chanasit

Robert Koch-Institut, Leiter der Abteilung 1, Abteilung für Infektionskrankheiten

Prof. Dr. Martin Mielke

Charité – Universitätsmedizin Berlin, Institut für Virologie, Leiter des Konsiliarlabors für Coronaviren,

Prof. Dr. Christian Drosten, Dr. Victor Corman