

CAT
Critically Appraised Topic

Titel: Monitoring the patient response as an alternative to commercial negative quality control in infectious serology.

Author: Jense Wils
Search/methodology verified by: N. Callewaert, J. Colaert
Supervisor: N. Callewaert, J. Colaert
Date: 27/03/2014

CLINICAL BOTTOM LINE

In de literatuur is er bijzonder weinig terug te vinden over hoe de performantie van de infectieuze serologische testen opgevolgd kan worden aan de hand van interne kwaliteitscontroles. Het resultaat is dat deze opvolging zich nog al te vaak beperkt tot de kwalitatieve output van de testen, hoewel de laatste jaren de kwantitatieve opvolging van commerciële positieve en negatieve controlematerialen toch meer ingang lijkt te vinden.

Er zijn echter belangrijke nadelen aan deze commerciële controles verbonden, meer bepaald aan de negatieve controles, waardoor de bruikbaarheid ervan in vraag kan worden gesteld. Een eerste nadeel is dat ze opgebouwd zijn uit een surrogaatmatrix, waarvan niet gegarandeerd is dat deze representatief is voor de matrix van patiëntstalen. Daarnaast hebben de commerciële negatieve controles ook nog een tweede beperking: aangezien niet gekend is hoe het signaal van de negatieve controle zich verhoudt tot het signaal van de patiëntstalen, is niet geweten in welke mate de controlewaarden mogen fluctueren zonder dat het risico op vals positieve patiëntresultaten significant toeneemt.

Omwille van deze nadelen werd gepoogd om een model uit te werken dat de analytische kwaliteit van de infectieuze serologie betrouwbaar kan monitoren zonder gebruik te maken van commerciële negatieve controles.

Dit alternatieve concept is gebaseerd op de opvolging van de dagmediaan van de kwantitatieve meetsignalen van patiëntstalen en werd geëvalueerd voor 3 verschillende testen (hepatitis C virus antilichamen, hepatitis B virus surface antigen en HIV antigen/antilichamen) die in het AZ Groeninge bepaald worden.

Uit deze beoordeling is gebleken dat het opvolgen van dagmedianen van patiëntstalen een valabele manier is om de performantie van de bovenvermelde serologische testen te monitoren. Bovendien biedt dit concept een oplossing voor de hoger vermelde nadelen van commerciële negatieve controles, waardoor het als een alternatief kan worden aangewend voor de interne kwaliteitscontrole bij infectieuze serologische testen.

CLINICAL/DIAGNOSTIC SCENARIO

De huidige praktijk in het AZ Groeninge voor de interne kwaliteitscontrole van de infectieuze serologie is een kwantitatieve opvolging van commerciële negatieve en positieve controlematerialen. De resultaten van deze iQC metingen worden opgevolgd in het laboratorium informatiesysteem (Glims) via een Levey-Jennings plot. Naar aanleiding van recente ongunstige ervaringen met de negatieve iQC van HIV (shifts en overschrijding van de grenswaarde) werd de betrouwbaarheid van deze controle in vraag gesteld. Hierbij zijn verschillende bedenkingen ontstaan betreffende commerciële negatieve controles in het algemeen, die het in vraag stellen van het gebruik van dergelijke controles verder onderbouwen.

Een eerste bedenking vloeit voort uit het feit dat de negatieve iQC eigenlijk een controle is op de ruis (met andere woorden: een matrix-controle). Het is bizar dat voor de monitoring hiervan commercieel controlemateriaal wordt gebruikt. Er is immers geen enkele garantie dat deze surrogaatmatrix representatief is voor wat we in de realiteit kunnen verwachten op patiëntenstalen. De paradox is dus dat het matrixeffect standaard gemonitord wordt aan de hand van een materiaal waarvan de matrix in zekere mate verschilt van de matrix van patiëntenstalen.

Een tweede bedenking betreft de acceptatiecriteria die voor de commerciële negatieve controles worden voorgesteld. Het idee is dat het QC-sigitaal 'negatief' moet blijven (m.a.w. in een targetrange die onder de lower cut-off van de grijze zone ligt). Zolang echter niet gekend is hoe het signaal van de negatieve controle zich verhoudt tot het signaal van de echte patiëntstalen, is ook niet gekend wat de marge is waarbinnen deze controlewaarden mogen fluctueren zonder dat het risico op vals positieve patiëntenresultaten significant toeneemt.

Omwille van bovenstaande opmerkingen werd gezocht naar een alternatieve interne kwaliteitscontrole, onafhankelijk van de commerciële negatieve controlematerialen. De focus van deze CAT ligt op de ontwikkeling van een alternatief concept waarbij gebruik gemaakt wordt van de dagmediaan van de kwantitatieve meetsignalen van patiëntstalen om de kwaliteit van infectieuze serologische testen te monitoren.

QUESTION(S)

- 1) *Vraag 1*
Kan de opvolging van de dagmediaan van patiëntstalen een waardevol alternatief bieden voor de commerciële negatieve kwaliteitscontrole binnen het gebied van de infectieuze serologie?

SEARCH TERMS

- 1) *MeSH Database (PubMed): "Quality control"[MeSH], "Immunoassay"[MeSH], "Hepatitis C Virus"[MeSH], "HIV"[MeSH], "Hepatitis B Virus"[MeSH]. Limieten: gepubliceerd tussen 01/01/1995 en 01/01/2014.*
- 2) *National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS; <http://www.nccls.org/>)*
- 3) *Westgard QC (<http://www.westgard.com>)*

RELEVANT EVIDENCE/REFERENCES

Guidelines and recommendations

1) Specifications for Immunological Testing for Infectious Diseases. NCCLS, I/LA18-A2, Vol.21 No. 15.

Original articles

2) Evaluation of assay methods and false positive results in the laboratory diagnosis of hepatitis C virus infection. Kesli R. *ACMicrob* 2011; 2: 3823-3833.

3) Performance evaluation of a new fourth-generation HIV combination antigen-antibody assay. Mühlbacher et al. *Med Microbiol Immunol* 2013; 202: 77-86.

4) Comparison of the technical and clinical performance of the Elecsys HBsAg II Assay with the Architect, AxSym, and Advia Centaur HBsAg Screening Assays. *J Med Virol* 2010; 82: 755-762.

5) Comparing exponentially weighted moving average and run rules in process control of semiquantitative immunogenicity immunoassays. *The AAPS Journal* 2010; 12: 79-86.

Reference works and Handbooks

6) *Clinical immunology and serology: a laboratory perspective*, 2nd edition. Stevens C.

Posters, grey literature and presentations

7) Roche diagnostics. Product Information brochure Anti-HCV II Immunoassay, edition 2012-01.

8) Roche diagnostics. Product Information brochure HBsAg II Immunoassay, edition 2007-01.

9) Roche diagnostics. Product Information brochure HIV Combi PT, edition 2010-01.

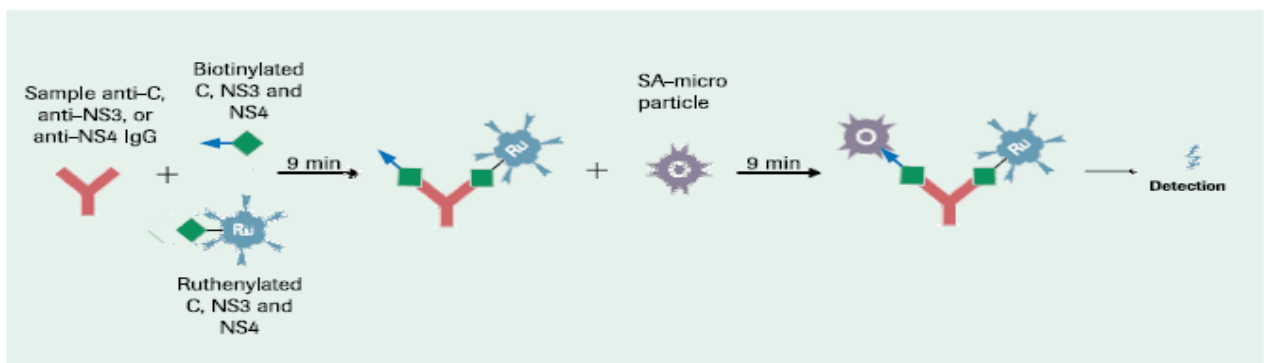
ACHTERGROND BIJ DE KWALITATIEVE INFECTIEUZE SEROLOGISCHE TESTEN

In het AZ Groeninge worden de testen van de infectieuze serologie op Cobas 6000 e601 (Roche) bepaald. Voor de evaluatie van het voorgestelde alternatieve model van interne kwaliteitscontrole werden 3 verschillende serologische testen gekozen: antilichamen tegen hepatitis C (HCV), hepatitis B surface antigen (HBsAg) en anti-humaan immunodeficiëntie virus antilichamen/humaan immunodeficiëntie virus antigen (HIV). Hierna volgt een kort overzicht van het analytische principe en de kalibratiemethode van deze verschillende testen.

Analytisch principe:

Hepatitis C virus antilichamen:

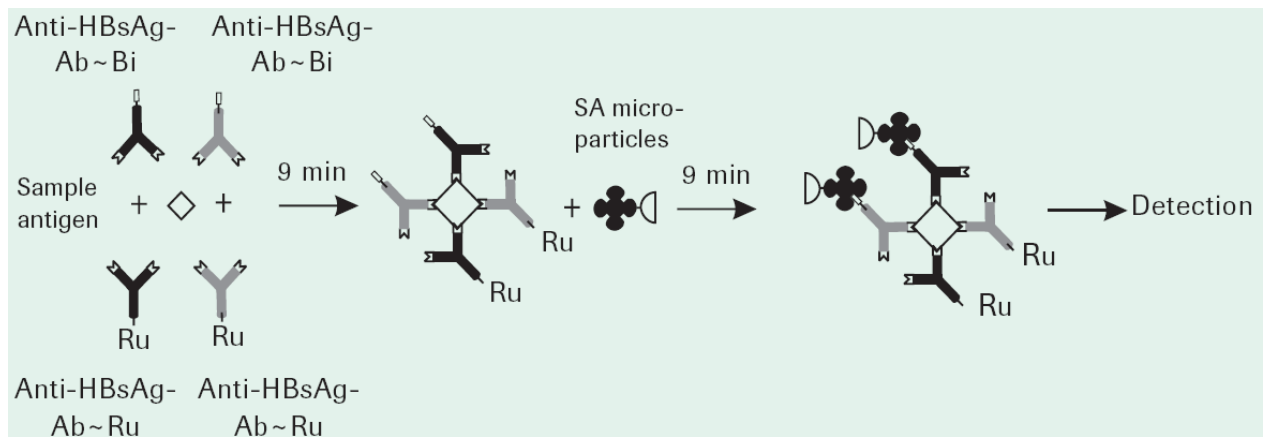
De HCV worden bepaald aan de hand van een electrochemiluminescentie immunoassay (ECLIA) (zie figuur 1). In een eerste stap wordt het staal geïncubeerd met gebiotinyleerd HCV-specifiek antigeen (core, NS3 & NS4) enerzijds en ruthenium gelabeld HCV-specifiek antigeen anderzijds. De gevormde sandwich complexen worden in een tweede stap gebonden op streptavidine gecoate magnetische micropartikels die in de meetcel worden gecaptureerd. Na elektrochemische stimulatie van het ruthenium wordt er licht gegenereerd. Hoe sterker het lichtsignaal (counts), hoe meer HCV-antistoffen er aanwezig zijn.



Figuur 1. Analytisch principe voor bepaling van HCV (7).

Hepatitis B surface antigen:

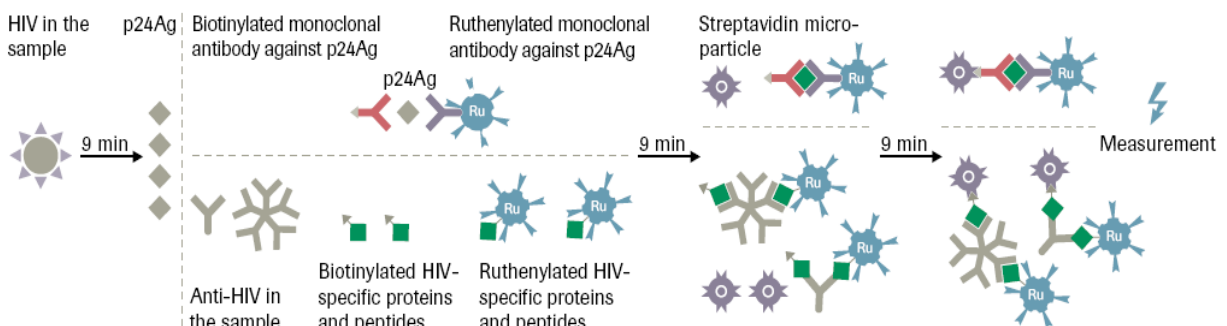
Analoog aan de bepaling van HCV (zie hoger), betreft het hier een ECLIA (zie figuur 2). Het enige verschil is dat de incubatie gebeurt met gebiotinyleerde HBsAg-specifieke antilichamen enerzijds en ruthenium gelabelde HBsAg-specifieke antilichamen anderzijds.



Figuur 2. Analytisch principe voor bepaling van HBsAg (8).

HIV:

De bepaling van HIV gebeurt via een gecombineerde one-step assay en een double-antigen sandwich (DAGS) assay (zie figuur 3). Bij de eerste stap wordt het HIV gelyseerd met behulp van een detergent, zodat de core-proteïnen (in het bijzonder p24Ag) bereikbaar zijn tijdens de verdere testprocedure. Tijdens de tweede stap worden gebiotinyleerde en ruthenium gelabelde anti-p24Ag antilichamen toegevoegd die enkelvoudige sandwich complexen vormen. Gelijktijdig worden ook gebiotinyleerde en ruthenium gelabelde HIV I/II proteïnen en peptiden toegevoegd. Bij aanwezigheid van anti-HIV antilichamen worden dan de DAGS gevormd. Het vervolg van de analytische procedure verloopt analoog aan de tweede stap van de HCVAl/HBsAg bepaling (zie hoger).



Figuur 3. Analytisch principe voor bepaling van HIV (9).

Kalibratie:

De kalibratie van deze testen gebeurt aan hand van één positieve (Cal2) en één negatieve (Cal1) kalibrator. Op basis van het aantal counts dat bij deze kalibratoren wordt gemeten wordt er een cut-off bepaald.

Omdat de primaire meetsignalen sterk variabel kunnen zijn wordt het resultaat (d.i. het aantal counts) uitgedrukt in functie van de cut-off: de cut-off index (COI). Een staal met een COI groter dan 1,0 wordt als positief beschouwd en een COI onder 0,9 wordt als negatief beschouwd. Wanneer de COI tussen deze 2 grenswaarden ligt bevindt het staal zich in de zogenaamde 'grijze zone'.

De berekening van de cut-off en COI gebeurt aan de hand van een formule, die anders is voor de verschillende bepalingen (zie tabel 1):

Tabel 1. Formules voor berekening van de cut-off en COI bij HCV, HBsAg en HIV (7-9).

	Cut-off	COI
HCV	$0.145 \cdot \text{Cal2} + 0.001 \cdot \text{Cal1}$	$\text{counts}(\text{staal}) / \text{counts}(\text{cut-off})$
HBsAg	$1.012 \cdot (\text{Cal1} - (0.796 \cdot \text{Cal1})) + 0.0396 \cdot (\text{Cal2} - (0.796 \cdot \text{Cal1}))$	$[\text{counts}(\text{staal}) - (0.796 \cdot \text{Cal1})] / \text{counts}(\text{cut-off})$
HIV	$0.2755 \cdot \text{Cal1} + 0.035 \cdot \text{Cal2}$	$[\text{counts}(\text{staal}) - (0.7 \cdot \text{Cal2})] / \text{counts}(\text{cut-off})$

Algemeen geldt voor elk staal dat de respons die door het systeem gemeten wordt een combinatie is van een ruissignaal en een eventueel testsignaal (2-4). Voor HCV bijvoorbeeld, geldt het volgende:

- Ruissignaal (Sr): matrix effect (geen antistof gemiddelde respons).
- Testsignaal (St): respons ten gevolge van de aanwezigheid van antistoffen met reactiviteit tegen NS3, NS4 en/of core antigenen. Deze respons kan specifiek (HCV positief) of aspecifiek (HCV negatief) zijn. Voorbeelden van antistoffen die een aspecifiek signaal kunnen veroorzaken zijn EBV IgM, paraproteïnen en bepaalde auto-antistoffen (2).

Aspecifieke antistoffen hebben een zwakkere affiniteit (kruisreagerende antistoffen) en zijn meestal gericht tegen één i.p.v. multiple testantigenen (vb. 'NS3 only' responsen). Hierdoor ligt de aspecifieke respons in regel een stuk lager dan de specifieke respons, en kan er een onderscheid gemaakt worden met de echte seropositieve stalen. Dit onderscheid is echter niet absoluut en er bestaat een zekere overlap tussen beide soorten respons. De bovenstaande formule om de cut-off te berekenen is dan ook zo opgesteld dat een hoge sensitiviteit (minimum aantal vals negatieve) gecombineerd wordt met een aanvaardbare specificiteit (laag aantal vals positieve).

QC MONITORING IN DE INFECTIEUZE SEROLOGIE: HUIDIGE PRAKTIJK EN BEDENKINGEN

Met de overschakeling van de infectieuze serologie van manuele testsystemen en batch analyzers naar volautomatische, random-access immunochemie apparatuur valt het op dat de opvolging van de analytische kwaliteit aan de hand van interne kwaliteitscontroles in dit veld van de klinische biologie nog in de kinderschoenen staat, zeker voor wat betreft de kwalitatieve testen. Er wordt heel weinig over gepubliceerd en een algemeen theoretisch kader of concept zoals in de klinische chemie ontbreekt (5). De richtlijnen met betrekking tot dit gebied blijven dan ook vaag: zo stelt het Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) enkel dat het aan te raden is om controles te gebruiken, waarbij de acceptatiegrenzen voor deze controles overeen moeten stemmen met een variabiliteit die aanvaardbaar is voor de geteste patiëntstalen (1). Ook zou het meetsignaal van een van deze controles bij voorkeur in de buurt van de cut-off moeten liggen (1).

De huidige praktijk in het AZ Groeninge voor de interne kwaliteitscontrole van de infectieuze serologie is een kwantitatieve opvolging van de COI bij commerciële negatieve en positieve controlematerialen (iQC's). De meetresultaten worden opgevolgd in het laboratorium informatiesysteem (Glims), via Levey-Jennings plots. In dit concept is de positieve iQC een seropositief staal dat gebruikt wordt als controle op een eventuele afzwakking van het positief signaal (om vals negatieve resultaten te mijden). De negatieve iQC daarentegen, heeft als doel het kwantificeren van het matrixeffect. Omdat voor de kwalitatieve testen de cut-off dicht bij de ruis wordt geplaatst (om een maximale sensitiviteit te bekomen) is het monitoren van een stabiele ruis noodzakelijk om vals positieve resultaten te vermijden.

Met het gebruik van de commerciële negatieve controles zijn echter verschillende problemen gerezen die hebben geleid tot het in vraag stellen van de geschiktheid en de betrouwbaarheid van dit type commerciële kwaliteitscontrole.

Een eerste bedenking vloeit voort uit het feit dat de negatieve iQC eigenlijk een controle is op de ruis (met andere woorden: een matrix controle). Het is bizar dat voor de monitoring hiervan standaard commercieel controlemateriaal wordt gebruikt. Er is immers geen enkele garantie dat deze surrogaatmatrix representatief is voor wat we in de realiteit kunnen verwachten op patiëntstalen. De paradox is dus dat het matrixeffect gemonitord wordt aan de hand van een materiaal waarvan de matrix in zekere mate verschilt van de matrix van patiëntstalen.

Een tweede bedenking betreft de acceptatiecriteria die voor de commerciële negatieve controles worden voorgesteld. Het idee is dat het QC-signaal 'negatief' moet blijven, m.a.w. in een targetrange die onder de lower cut-off van de grijze zone ligt. Zolang echter niet gekend is hoe het signaal van de negatieve controle zich verhoudt tot het signaal van de echte patiëntstalen, is ook niet gekend wat de marge is waarin deze controlewaarden mogen fluctueren zonder dat het risico op vals positieve patiëntresultaten significant toeneemt.

Omwille van bovenstaande opmerkingen betreffende de negatieve commerciële iQC, werd gezocht naar een alternatieve controle om de analytische kwaliteit te bewaken. In deze CAT ligt de focus op de ontwikkeling van een concept waarbij de dagmedianen van de kwantitatieve meetsignalen van de patiëntstalen als een analytische controle gebruikt worden.

ALTERNATIEVE KWALITEITSCONTROLE AAN DE HAND VAN KWANTITATIEVE MEETSIGNALLEN VAN PATIENTENSTALEN

Theoretisch concept:

Om de stabiliteit van het ruissignaal accuraat te monitoren is dus een matrix compatibele controle gewenst. De meest betrouwbare informatiebron in dat opzicht is de respons op de eigen negatieve patiëntstalen. Typisch voor de Westerse wereld is dat voor de meeste infectieuze serologie (HIV, HCV, HBV, ...) het aandeel seropositieven ten opzichte van het totaal aantal geteste stalen zeer laag is. De overgrote meerderheid van de geteste patiënten is dus seronegatief. Dit betekent dan ook dat de mediane respons van de patiëntresultaten van dag tot dag vrij stabiel zal zijn. In tegenstelling tot het daggemiddelde zal de mediaan slechts weinig beïnvloed worden door een occasioneel positief resultaat. Het opvolgen van patiëntmedianen a.d.h.v. een gemiddelde en SD lijkt dan ook een ideale manier om eventuele drifts (tgv. reagens instabiliteit) of shifts (tgv. lot-lot variaties) op de ruis te detecteren. In tegenstelling tot de commerciële QC's kunnen er geen fouten optreden bij het oplossen en zijn er ook geen problemen met de lange termijn stabiliteit. Misschien wel het belangrijkste voordeel is echter dat men via de patiëntmedianen ook objectieve acceptatiegrenzen kan vastleggen (grenzen waarbinnen de probaliteit op een vals positief resultaat onder een gewenst niveau blijft, bijvoorbeeld <5%)! Hiervoor kunnen we het volgende model uitwerken:

Stel $x_{p,i}$ = éénmalig gemeten COI voor de seronegatieve patiënt p
 x_p = gemiddelde COI voor de seronegatieve patiënt p
 x = gemiddelde COI van alle seronegatieve patiënten

en σ_a = analytische variatie
 σ_p = variatie tussen de seronegatieve patiënten

dan geldt dat $x_{p,i} = x_p + \sigma_a = x + \sigma_p + \sigma_a$

Om vals positieve resultaten te vermijden moeten de individuele seronegatieve responsen onder de ondergrens van de grijze zone (OGZ) blijven:

$$x_{p,i} < \text{OGZ}$$

$$\Rightarrow x < \text{OGZ} - \sigma_p - \sigma_a$$

Als de dagmediaan onder de bovenstaande limiet blijft kunnen we zeker zijn dat de kans op een vals positief resultaat binnen de vooropgestelde probabiliteit blijft.

De bovenstaande variatie ($\sigma_p + \sigma_a$) kan experimenteel gekwantificeerd worden door retrospectief de spreiding van de COI's op patiëntstalen na te gaan. Deze spreiding omvat dan zowel de populatievariatie als de analytische variatie. Om eventuele instabiliteiten zoals drifts en shifts op het analytisch systeem te neutraliseren wordt geopteerd om voor de individuele patiëntresultaten de absolute verschillen ten opzichte van hun dagmedianen te berekenen en te gebruiken. Hierdoor moet ook nog de onzekerheid op de berekende

medianen extra mee in rekening gebracht worden. Omdat de COI's op de seronegatieve stalen niet normaal verdeeld zijn, zal ook de mediaan op de COI's een rechtsverschuiving vertonen. Dit impliceert dat de SD geen goede maat is voor de spreiding op de patiëntmedianen. Als alternatief wordt voor de spreiding het centrale 95% interval (verschil tussen de 2.5 en 97.5 percentiel) berekend aan de hand van een bootstrap van de verzamelde patiëntdata. Deze statistische methode kan gebruikt worden om een betrouwbaarheidsinterval van een bepaalde parameter te berekenen zonder dat er assumpties worden gemaakt over de soort verdeling. In praktijk werden telkens 1000 resamples van N individuele patiëntresultaten genomen. Uit de gegenereerde dataset van 1000 medianen werden dan de p2.5, de p50 en de p97.5 afgeleid. De bootstraps die voor HCVAl, HBsAg en HIVAl werden berekend (met behulp van Excel) zijn terug te vinden in attachment 6. Als voorwaarde voor een min of meer stabiele mediaan blijken toch wel minimum 5 patiëntstalen per dag vereist. N = 5 wordt dan ook als basis voor de spreiding op de mediaan genomen (uitgedrukt in onderstaande formule als $(p97,5-p50)_m$). De bovenlimiet voor de mediaan in een p95 setting wordt aldus:

$$x < OGZ - (p95-p50)x_{p,i} - (97,5-p50)_m$$

Praktische uitwerking van het theoretisch concept:

HCVAL:

Als prototype voor het uittesten van bovenstaand theoretisch model werd de bepaling van HCVAL genomen (omdat dit conceptueel een van de meest eenvoudige serologische testen is, zie hoger).

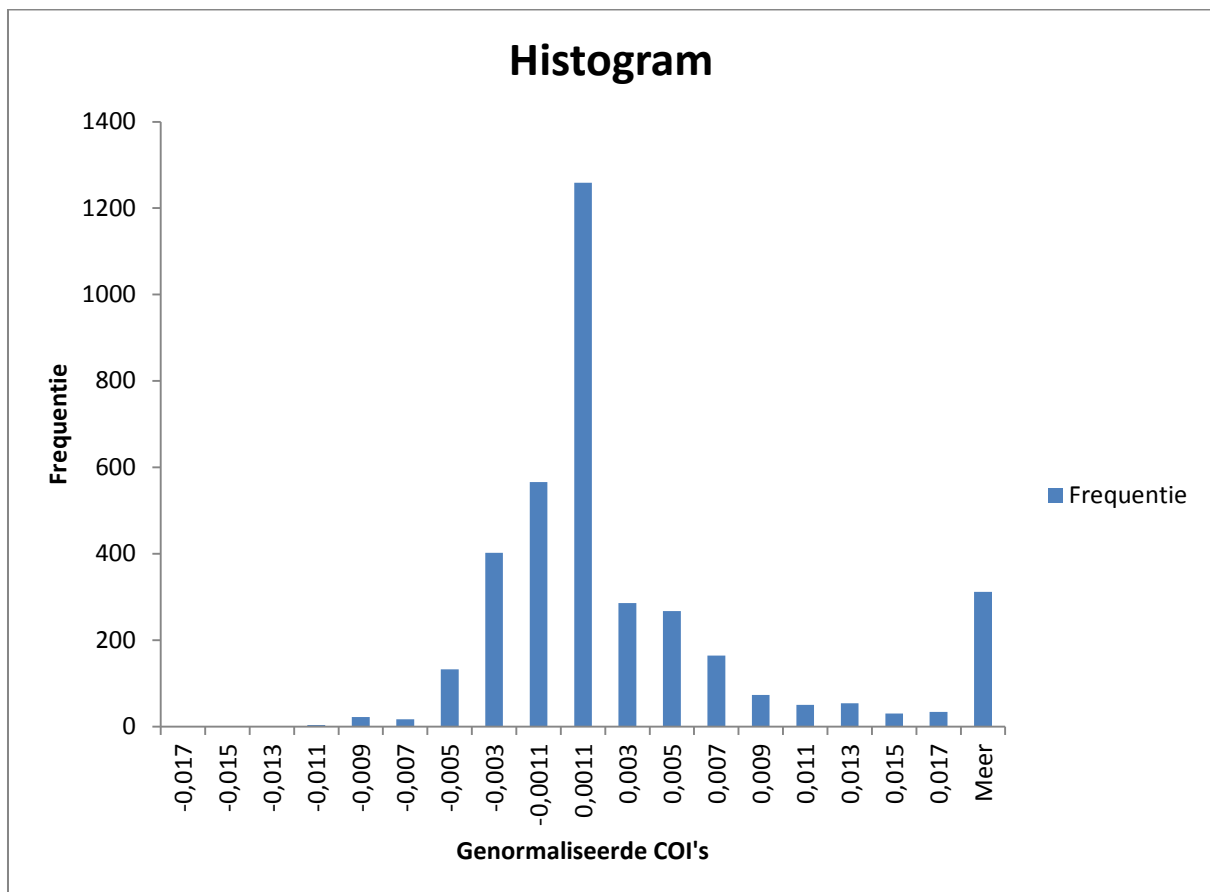
De data van de COI's van de patiëntenstalen en de negatieve iQC's werden retrospectief verzameld met behulp van het laboratorium informatiesysteem voor de periode van 14/02/2013 tot en met 31/12/2013.

Vervolgens werd de data van de dagen waar er minder dan 5 patiëntenstalen werden gerund uit de dataset verwijderd (om de variatie op de mediaan te beperken, zie hoger).

Dit leverde in totaal 3672 COI's van patiëntenstalen op. Van deze data werd telkens de dagmediaan berekend, zodat een genormaliseerde waarde per patiëntstaal kon berekend worden via de volgende formule:

$$\text{Genormaliseerde waarde} = \text{COI patiëntstaal} - \text{COI dagmediaan}$$

De verdeling van deze genormaliseerde waarden wordt weergegeven in figuur 4. Een samenvatting van enkele eigenschappen van deze dataset is terug te vinden in attachment 5.



Figuur 4. HCVAL: Histogram van de genormaliseerde waarden van patiëntstalen.

Wanneer we bovenvermelde formule toepassen op deze data bekommen we de volgende cut-off waarde (waarbij de probabilliteit op een vals positief resultaat onder de 5% blijft):

$$x < \text{OGZ} - (p95 - p50)x_{p,i} - (p97,5 - p50)m$$

of $x < 0,900 - 0,037 - 0,008$

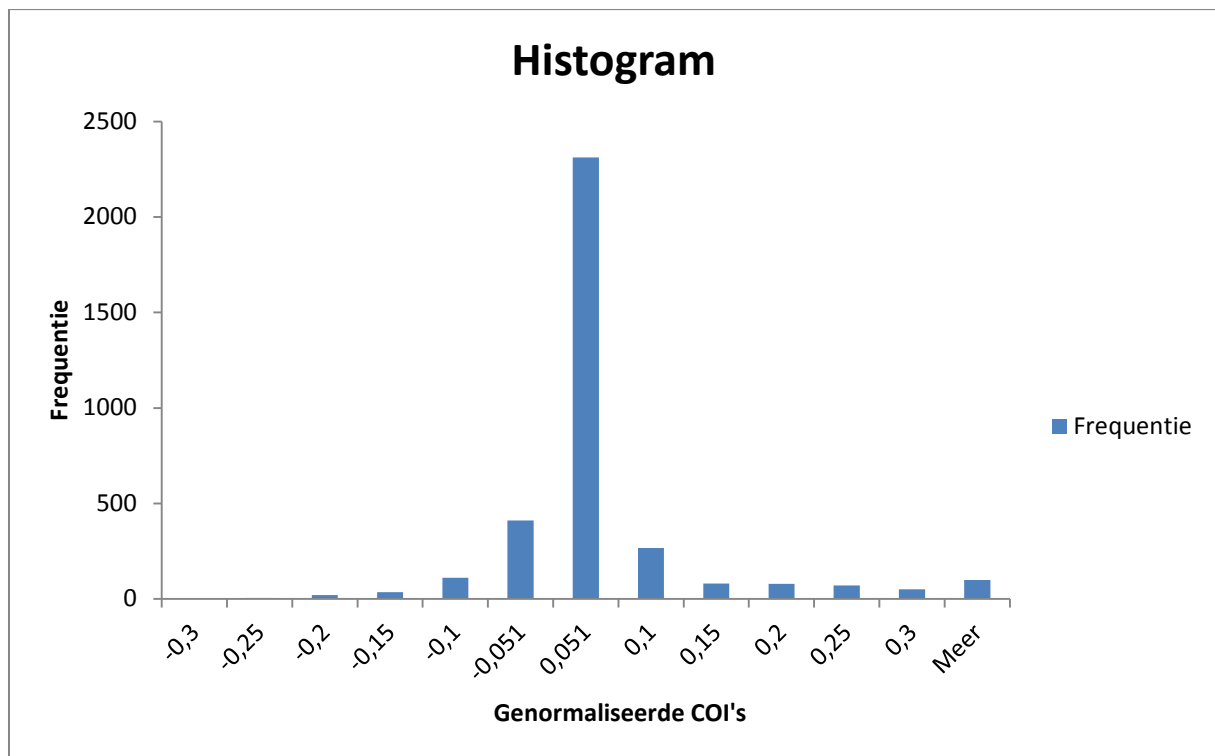
of $x < 0,855$

De resultaten van de bootstrap van de genormaliseerde dataset, die gebruikt werd voor de berekening van $(p97,5 - p50)_m$, zijn samengevat in attachment 6.

Een chronologisch overzicht van de dagmedianen ten opzichte van de negatieve iQC's wordt weergegeven in attachment I. Uit deze figuur kan geconcludeerd worden dat de trends die te zien zijn bij de commerciële kwaliteitscontrole ook te zien zijn bij de patiëntenmedianen. Verder is het duidelijk dat de grenswaarden (voor de iQC's en de patiëntmedianen) ver boven de gemeten/berekende waarden liggen. Op zich is dit niet onlogisch aangezien er bij de bepaling van HCVAl heel wat stalen zijn met specifieke testsignalen (duidelijk zichtbaar onder de vorm van de rechts geskewde verdeling op figuur 4). Als er hier geen grote marge zou zijn zou dit leiden tot frequent vals positieve resultaat bij deze stalen.

HBsAg:

Analoog aan HCVAl, werden de beschikbare data van de COI's van de patiëntstalen en de negatieve iQC's geselecteerd (voor de periode van 14/02/2013 tot en met 31/12/2013). Na filtering van deze data op een minimum van 5 patiëntstalen per dag, werden er 3540 COI's van patiëntstalen overgehouden. Een verdeling van de genormaliseerde waarden is terug te vinden in figuur 5. De samenvatting van enkele eigenschappen van deze dataset is terug te vinden in attachment 5.



Figuur 5. HBsAg: Histogram van de genormaliseerde waarden van patiëntstalen.

Wanneer we onze formule toepassen op de berekende data bekomen we de volgende cut-off waarde (waarbij de probabieliteit op een vals positief resultaat onder de 5% blijft):

$$x < \text{OGZ} - (p95 - p50)x_{p,i} - (p97,5 - p50)m$$

$$\text{of } x < 0,900 - 0,233 - 0,062$$

$$\text{of } x < 0,605$$

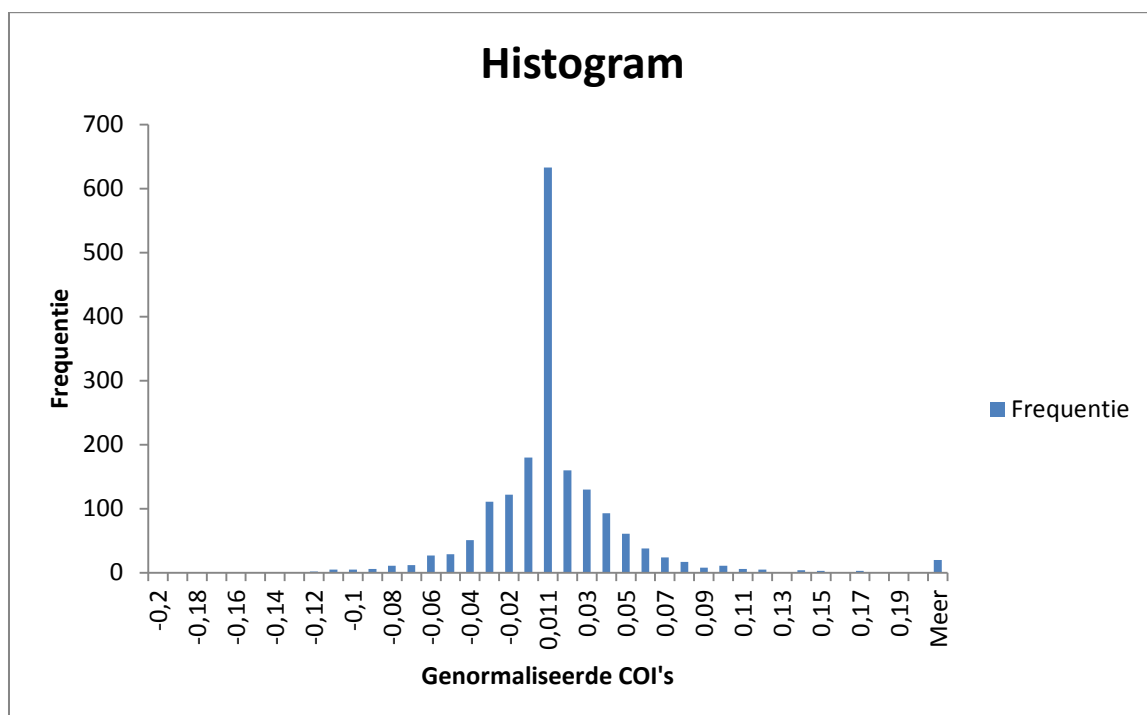
De resultaten van de bootstrap van de genormaliseerde dataset, die gebruikt werd voor de berekening van $(p97,5 - p50)m$, zijn samengevat in attachment 6.

Een chronologisch overzicht van de dagmedianen ten opzichte van de negatieve iQC's wordt weergegeven in attachment 2. Analoog aan de figuur van HCVAl is ook hier te zien dat dezelfde trends aanwezig zijn bij de commerciële kwaliteitscontrole en bij de patiëntmedianen.

Het valt echter op dat de grenswaarden van de patiëntmedianen, in tegenstelling tot die van de commerciële kwaliteitscontrole, regelmatig worden overschreden. De commerciële kwaliteitscontrole slaagt er dus niet in om op het geschikte moment duidelijk te maken dat er mogelijk vals positieve resultaten worden gegenereerd. Dit is een bevestiging van onze tweede bedenking betreffende het gebruik van commerciële kwaliteitscontroles, nl. zolang we niet weten hoe het signaal van de negatieve controle zich verhoudt tot het signaal van de echte patiëntstalen, kennen we ook de marge niet waarin deze controlewaarden mogen fluctueren zonder dat het risico op vals positieve patiëntenresultaten significant toeneemt!

HIV:

Analoog aan HCVAl/HIV werden de beschikbare data van de COI's van de patiëntstalen en de negatieve iQC's geanalyseerd. Hier werd (voor de periode van 14/02/2013 t.e.m. 21/8/2013) een dataset van 1783 bruikbare COI's van patiëntstalen bekomen. Voor een grafische weergave van de genormaliseerde waarden wordt verwezen naar figuur 6. Een samenvatting van enkele eigenschappen van deze dataset is terug te vinden in attachment 5.



Figuur 6. HIV: Histogram van de genormaliseerde waarden van patiëntstalen.

Wanneer we onze formule toepassen op de berekende data bekomen we volgende waarde als cut-off (waarbij de probabiteit op een vals positief resultaat onder de 5% blijft):

$$x < OGZ - (p95 - p50)x_{p,i} - (p97,5 - p50)m$$

$$\text{of } x < 0,900 - 0,066 - 0,030$$

$$\text{of } x < 0,804$$

De resultaten van de bootstrap van de genormaliseerde dataset, die gebruikt werd voor de berekening van $(p97,5 - p50)m$, zijn samengevat in attachment 6.

Een chronologisch overzicht van de dagmedianen ten opzichte van de negatieve iQC's wordt weergegeven in attachment 3. Uit deze figuur blijkt dat de trend die geobserveerd wordt bij de commerciële kwaliteitscontrole in overeenstemming is met de trend die te zien is bij de patiëntmedianen. Daarnaast is duidelijk te zien dat de gemeten/berekende waarden de grenswaarden (van de iQC's en de patiëntmedianen) nooit overschrijden.

Praktisch voorbeeld van de meerwaarde van monitoring van de patiëntmedianen:

Om de meerwaarde van het voorgestelde concept te illustreren, volgt hier nog een korte bespreking van de problematiek die zich heeft voorgedaan binnen het AZ Groeninge met betrekking tot de interne kwaliteitscontrole van HIV. Voor een chronologisch overzicht van de dagmedianen ten opzichte van de negatieve iQC's tijdens deze periode wordt verwezen naar attachment 4.

Uit deze figuur blijkt duidelijk dat er vanaf 21/10/2013, op het moment dat van reagenslot werd gewisseld, uitgesproken problemen met de commerciële kwaliteitscontrole optreden. De meetsignalen van de commerciële kwaliteitscontrole vertonen een trend naar boven toe, terwijl de dagmedianen naar beneden zakken. Daarnaast valt het op dat de grenswaarde van de commerciële kwaliteitscontrole regelmatig wordt overschreden, terwijl de patiëntmedianen ver onder de grenswaarde blijven. Wanneer we enkel naar de commerciële kwaliteitscontrole zouden kijken, lijkt het alsof er een risico op vals positieve resultaten bestaat (terwijl uit de patiëntmedianen eigenlijk eerder een risico op vals negatieve resultaten blijkt).

Volgens de informatie van Roche is de oorzaak van deze shift een contaminatie van het HIV reagens door sporen van het troponine T (high sensitivity) reagens. Deze positieve interferentie vindt plaats wanneer beide testen worden geanalyseerd op dezelfde module, wat in het az Groeninge inderdaad het geval is. De interferentie treedt enkel op bij de commerciële kwaliteitscontrole en de negatieve kalibrator, en niet bij patiëntstalen, wat impliceert dat het hier een zuiver matrix effect betreft (cfr. onze eerste bedenking betreffende de matrix incomparibiliteit bij commerciële kwaliteitscontroles, die hoger werd beschreven). Het resultaat is dat de iQC signalen gradueel toenemen. Door te herkalibreren wordt ook de cut-off naar boven opgetrokken waardoor de COI op de iQC's lijken te normaliseren terwijl de COI's op de patiëntstalen naar beneden zakken (cfr tabel 2)!

Tabel 2. Effect van de interferentie op de kalibratoren, iQC's en patiëntstalen.

	Commerciële kwaliteitscontrole	Patiëntstalen
Cut-off	$0.2755 * \text{Cal1} \uparrow + 0.035 * \text{Cal2} = \uparrow$	$0.2755 * \text{Cal1} \uparrow + 0.035 * \text{Cal2} = \uparrow$
COI	$[\text{counts}(\text{staal}) \uparrow \uparrow - (0.7 * \text{Cal2})] / \text{counts}(\text{cut-off}) \uparrow = \uparrow$	$[\text{counts}(\text{staal}) - (0.7 * \text{Cal2})] / \text{counts}(\text{cut-off}) \uparrow = \downarrow$

Dit voorbeeld uit de praktijk illustreert dus hoe door het gebruik van commerciële controles een vertekend beeld over de analytische performantie kan ontstaan. De meerwaarde van de onderzochte kwaliteitscontrole op basis van patiëntmedianen ligt in het feit dat deze controle in staat is om dat vertekende beeld te corrigeren.

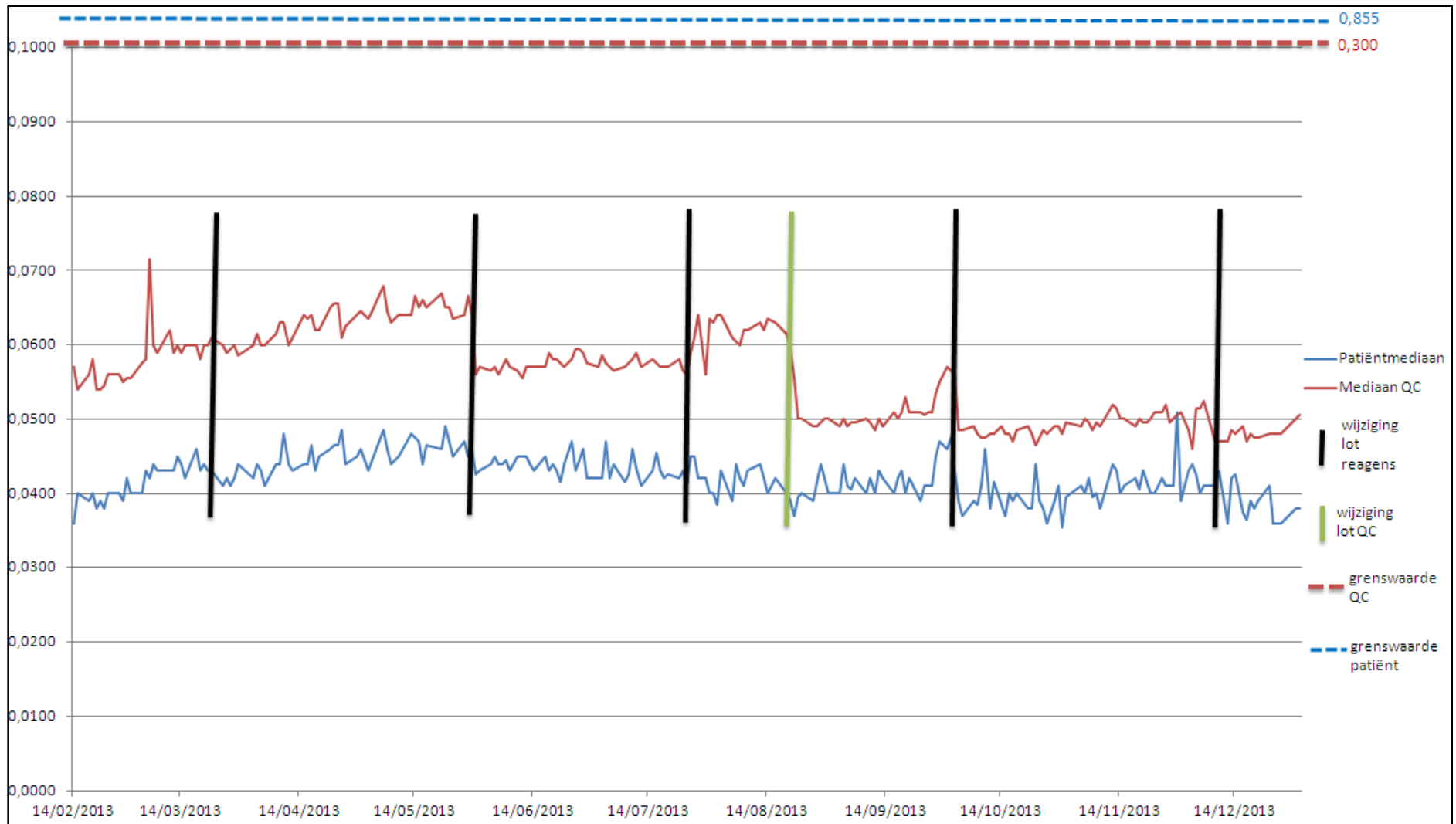
BESLUIT

Het alternatieve concept van interne kwaliteitscontrole, dat gebaseerd is op de opvolging van de dagmedianen van patiëntstalen, werd geëvalueerd voor 3 testen: hepatitis C antilichamen, hepatitis B surface antigen en HIV antigen/antilichamen.

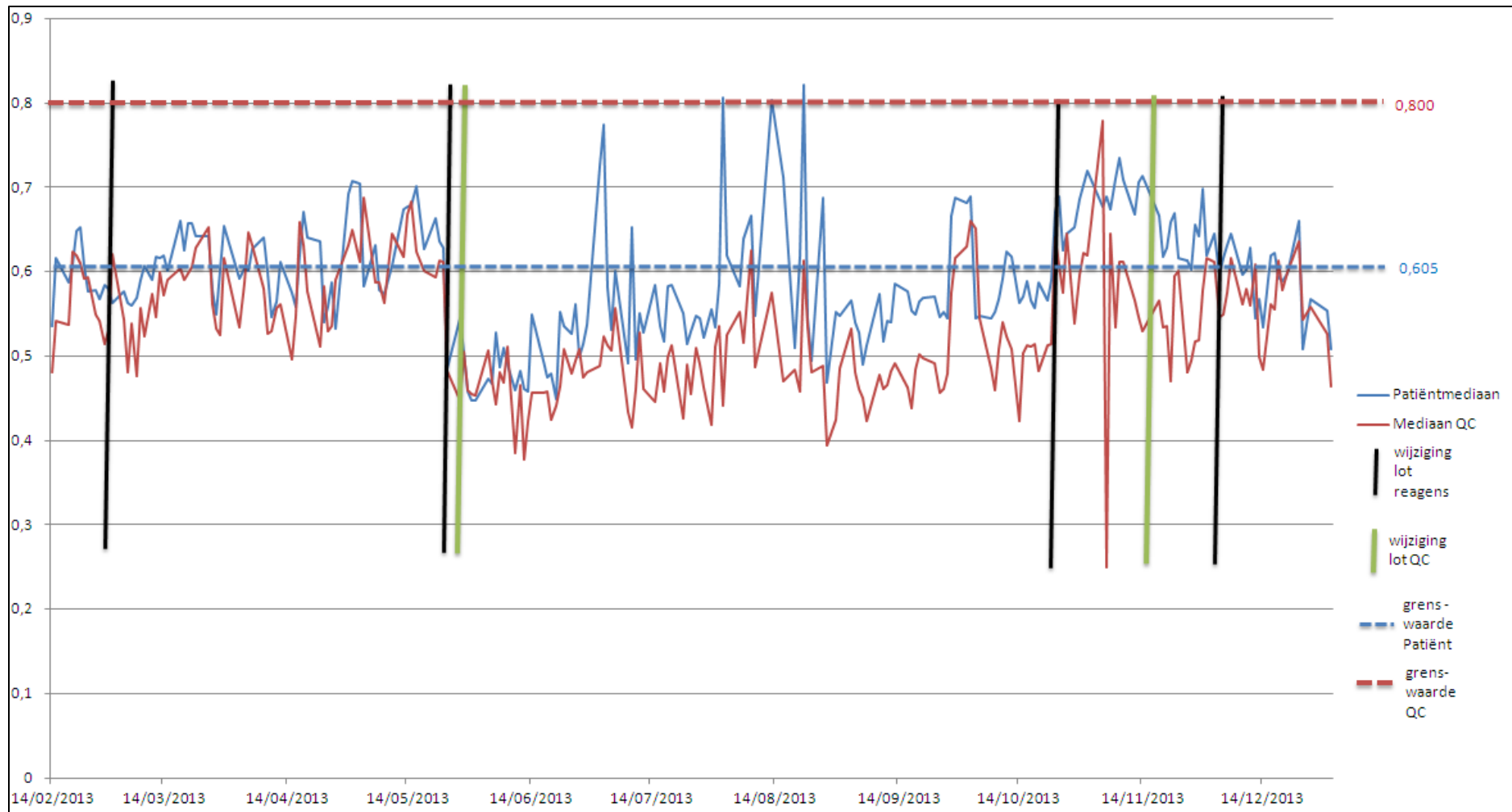
Uit deze evaluatie is gebleken dat deze alternatieve interne kwaliteitscontrole een valabele manier is om de performantie van de bovenvermelde serologische testen te monitoren. Bovendien werd duidelijk dat de opvolging van patiëntmedianen enkele belangrijke voordelen heeft ten opzichte van de commerciële negatieve controles. Hierdoor kan het vertekende beeld, dat soms door de commerciële negatieve kwaliteitscontrole wordt gegenereerd, worden gecorrigeerd.

TO DO/ACTIONS

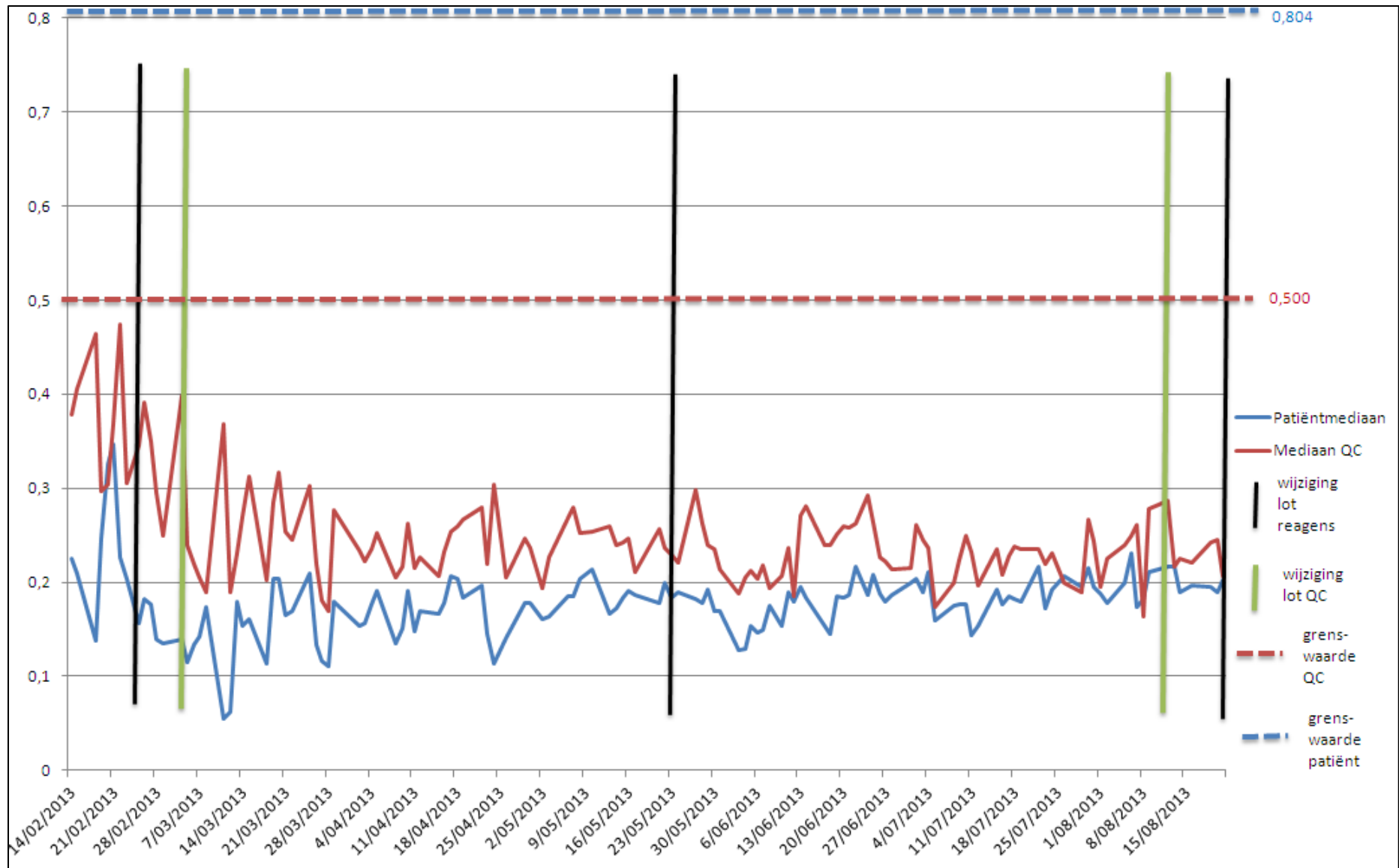
- 1) **Implementatie van de monitoring van patiëntmedianen voor de interne kwaliteitscontrole van hepatitis C antilichamen, hepatitis B surface antigen en HIV antigen/antilichamen in het AZ Groeninge.**
- 2) **Evaluatie van de bruikbaarheid van monitoring van patiëntmedianen voor de interne kwaliteitscontrole van andere kwantitatieve infectieuze serologische testen.**



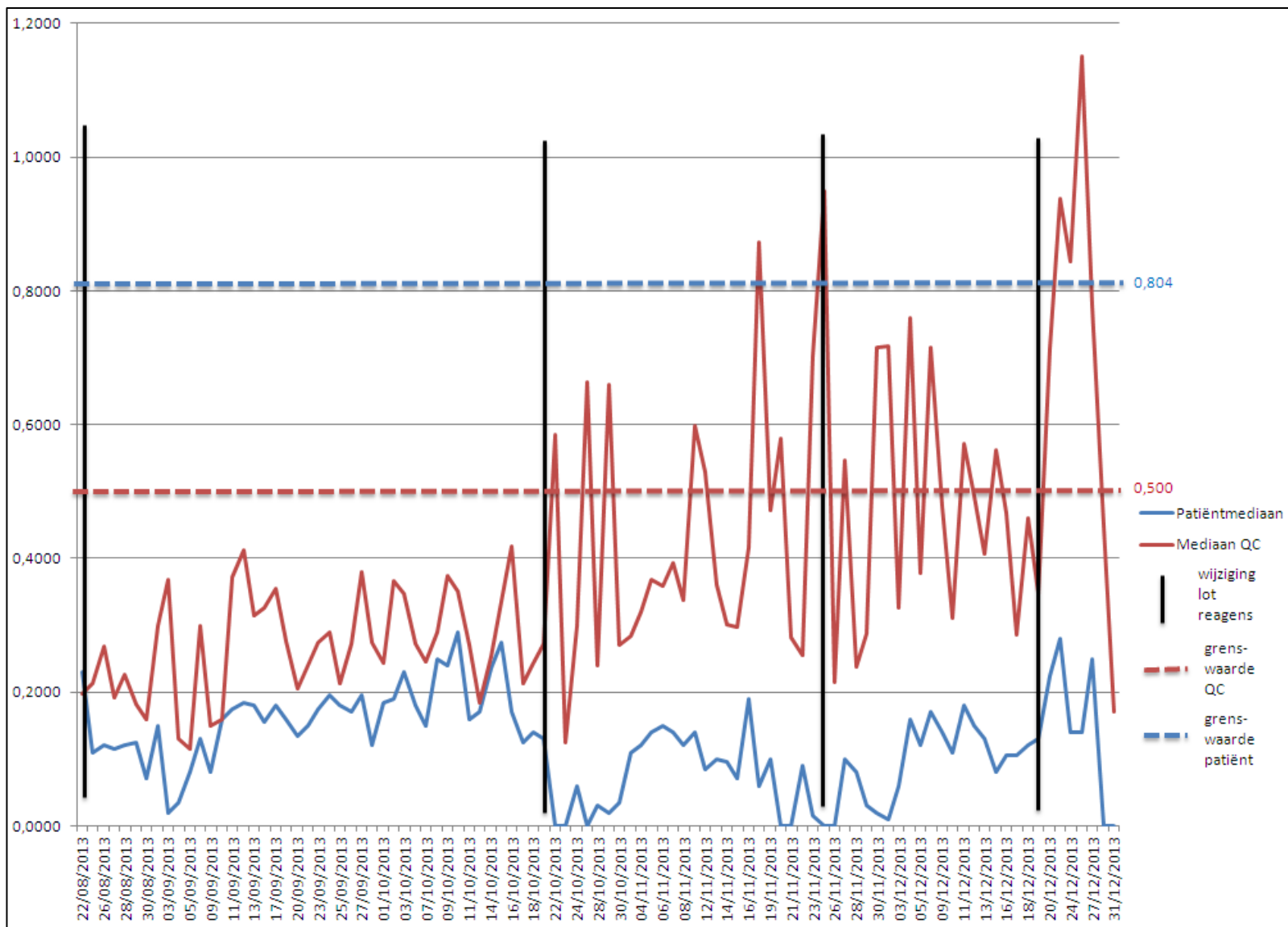
Attachement I. HCVAL: chronologisch overzicht van de patiëntmedianen en negatieve iQC's (14/2/13-31/12/13).



Attachement 2. HBsAg: chronologisch overzicht van de patiëntmedianen en negatieve iQC's (14/2/13-31/12/13).



Attachement 3. HIV: chronologisch overzicht van de patiëntmedianen en negatieve iQC's (14/2/13-21/8/13).



Attachement 4. HIV: chronologisch overzicht van de patiëntmedianen en negatieve iQC's (22/8/2013-31/12/2013).

HCVAL (14/2/2013-31/12/2013)

Sample size	3672
Lowest value	-0,01600
Highest value	236,4550
Arithmetic mean	0,9381
95% CI for the mean	0,6056 to 1,2706
Median	0,0000
95% CI for the median	0,0000 to 0,0000
Variance	105,6208
Standard deviation	10,2772
Relative standard deviation	10,9551 (1095,51%)
Standard error of the mean	0,1696
Coefficient of Skewness	14,2043 (P<0,0001)
Coefficient of Kurtosis	233,1136 (P<0,0001)
D'Agostino-Pearson test for Normal distribution	reject Normality (P<0,0001)

Percentiles		95% Confidence Interval
2,5	-0,006000	-0,006388 to -0,006000
5	-0,005000	-0,005000 to -0,005000
10	-0,004000	-0,004000 to -0,004000
25	-0,002000	-0,002000 to -0,002000
75	0,003000	0,003000 to 0,004000
90	0,01350	0,01200 to 0,01600
95	0,03700	0,03060 to 0,04800
97,5	0,1317	0,07945 to 0,2542

HBSAG (14/2/2013-31/12/2013)

Sample size	3540
Lowest value	-0,3125
Highest value	11849,2950
Arithmetic mean	84,6156
95% CI for the mean	59,1819 to 110,0492
Median	0,0000
95% CI for the median	0,0000 to 0,0000
Variance	595699,0294
Standard deviation	771,8154
Relative standard deviation	9,1214 (912,14%)
Standard error of the mean	12,9721
Coefficient of Skewness	9,9723 (P<0,0001)
Coefficient of Kurtosis	104,4191 (P<0,0001)
D'Agostino-Pearson test for Normal distribution	reject Normality (P<0,0001)

Percentiles		95% Confidence Interval
2,5	-0,1340	-0,1440 to -0,1220
5	-0,09800	-0,1055 to -0,09300
10	-0,07000	-0,07400 to -0,06700
25	-0,03300	-0,03500 to -0,03100
75	0,03250	0,02950 to 0,03500
90	0,1143	0,09800 to 0,1330
95	0,2327	0,2088 to 0,2485
97,5	0,3150	0,2872 to 0,3741

HIV (14/2/2013-21/8/2013)

Sample size	1783
Lowest value	-0,2020
Highest value	1642,8080
Arithmetic mean	1,6327
95% CI for the mean	-0,3687 to 3,6341
Median	0,0000
95% CI for the median	0,0000 to 0,0000
Variance	1856,6965
Standard deviation	43,0894
Relative standard deviation	26,3910 (2639,10%)
Standard error of the mean	1,0205
Coefficient of Skewness	33,5138 (P<0,0001)
Coefficient of Kurtosis	1217,7048 (P<0,0001)
D'Agostino-Pearson test for Normal distribution	reject Normality (P<0,0001)

Percentiles		95% Confidence Interval
2,5	-0,07000	-0,07874 to -0,06600
5	-0,05300	-0,05900 to -0,04800
10	-0,03700	-0,04000 to -0,03400
25	-0,01700	-0,01900 to -0,01500
75	0,01900	0,01684 to 0,02100
90	0,04460	0,04000 to 0,04800
95	0,06600	0,05900 to 0,07550
97,5	0,09981	0,08700 to 0,1324

Attachment 5. Samenvatting van de genormaliseerde waarden van de drie datasets.

HCVAl							HBsAg							HIVAl						
N	mediaan	SD	p2,5	p97,5	Spread	%	N	mediaan	SD	p2,5	p97,5	Spread	%	N	mediaan	SD	p2,5	p97,5	Spread	%
100,000	0,000	0,000	-0,001	0,001	0,002	1,349	100	0,000	0,004	-0,009	0,009	0,018	3,442	100	0,000	0,002	-0,005	0,005	0,009	4,227
50,000	0,000	0,001	-0,001	0,001	0,002	1,349	50	0,000	0,007	-0,016	0,016	0,032	6,193	50	0,000	0,003	-0,007	0,008	0,015	7,158
25,000	0,000	0,001	-0,001	0,002	0,003	2,023	25	0,000	0,010	-0,022	0,021	0,042	8,259	25	0,000	0,005	-0,011	0,011	0,022	10,326
20,000	0,000	0,001	-0,002	0,002	0,004	2,529	20	0,000	0,012	-0,024	0,022	0,046	9,046	20	0,000	0,007	-0,013	0,015	0,027	12,676
15,000	0,000	0,001	-0,002	0,003	0,005	3,372	15	0,000	0,057	-0,030	0,028	0,057	11,208	15	0,000	0,007	-0,015	0,017	0,032	14,781
10,000	0,000	0,001	-0,002	0,004	0,006	3,878	10	0,000	0,017	-0,033	0,036	0,069	13,618	10	0,000	0,009	-0,018	0,019	0,037	17,363
8,000	0,000	0,002	-0,003	0,008	0,010	6,744	8	0,000	0,020	-0,038	0,043	0,081	15,830	8	0,000	0,011	-0,024	0,022	0,046	21,348
6,000	0,000	0,003	-0,003	0,007	0,009	6,265	6	0,000	0,026	-0,047	0,053	0,100	19,567	6	0,000	0,012	-0,025	0,026	0,051	24,043
5,000	0,000	0,004	-0,003	0,008	0,011	7,419	5	0,000	0,033	-0,060	0,062	0,122	23,894	5	0,000	0,014	-0,028	0,030	0,058	27,213
4,000	0,000	0,015	-0,003	0,010	0,013	8,612	4	0,001	0,036	-0,058	0,099	0,157	30,832	4	0,001	0,019	-0,026	0,037	0,063	29,674
3,000	0,000	0,967	-0,004	0,012	0,016	10,791	3	0,000	155,523	-0,074	0,137	0,211	41,422	3	0,000	0,021	-0,039	0,044	0,083	38,933
2,000	0,001	8,645	-0,005	0,095	0,099	66,815	2	0,002	465,808	-0,090	0,346	0,436	85,730	2	0,001	12,388	-0,046	0,106	0,152	71,099
1,000	0,000	12,204	-0,006	0,142	0,148	100,000	1	0,000	914,125	-0,137	0,372	0,509	100,000	1	0,000	53,469	-0,071	0,142	0,213	100,000

Attachment 6. Resultaten van de bootstrapping van de datasets van HCVAl, HBsAg en HIV.