

Infektiologie u. Mikrobiologie  
(Schwerpunkt Virologie)

Redaktion: Bernard Weber

## Anforderungen an die Qualität und Kompetenz nach DIN EN ISO 15189 im Bereich der virologischen Laboratoriumsdiagnostik. Ein Erfahrungsbericht

Requirements for quality and competence according to EN ISO 15189 for  
medical virological laboratory diagnostics. A field report

**Holger F. Rabenau<sup>1,\*</sup> und Andreas Steinhorst<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Institut für Medizinische Virologie (Direktor: Prof. Dr. H. W. Doerr), Klinikum der Johann-Wolfgang-Goethe-Universität Frankfurt, Frankfurt, Deutschland

<sup>2</sup> DACH Deutsche Akkreditierungsstelle Chemie GmbH, Frankfurt, Deutschland

Infektionsserologie, die molekularbiologische Diagnostik und die Virusisolierung auf Zellkulturen eingegangen.

**Schlüsselwörter:** Akkreditierung; Diagnostik; DIN EN ISO 15189; Qualitätsmanagement; Virologie.

### Zusammenfassung

In der internationalen Norm DIN EN ISO 15189 (kurz ISO 15189) sind für medizinische Laboratorien besondere Anforderungen an die Qualität und Kompetenz festgelegt. Die ISO 15189 gilt für alle medizinischen Laboratorien. Sie wurde für den Bereich der Virologie durch eine gemeinsame Arbeitsgruppe der Gesellschaft für Virologie (GfV) und der Deutschen Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten (DVV) in Form von fachspezifischen Checklisten konkretisiert.

Viele medizinische Laboratorien lassen sich im Rahmen einer Akkreditierung bestätigen, dass sie die Anforderungen der ISO 15189 erfüllen. Wesentlicher Bestandteil der Akkreditierung ist eine Begutachtung in den Laboratorien. Die Begutachtungen in der Virologie werden von Experten durchgeführt, die von der GfV benannt werden.

Gründe der Laboratorien für eine Akkreditierung können sehr unterschiedlich sein. Sie reichen von der Verbesserung der internen Abläufe und Ermittlung sicherer/richtiger Untersuchungsergebnisse bis zu einer besseren Positionierung am Markt.

Der Artikel stellt die Anforderungen und Probleme virusdiagnostisch tätiger Laboratorien, basierend auf der ISO 15189, als Erfahrungsbericht vor. Dabei wird auf die

### Abstract

The International Standard EN ISO 15189 (in short ISO 15189) provides requirements for competence and quality that apply to medical laboratories. The ISO 15189 applies to all medical laboratories. For virology this standard has been established by a joint working group of the German Society of Virology (GfV) and the German Association Against Virus Diseases (DVV) in the form of check lists. Numerous medical laboratories get the fulfilment of the requirements of ISO 15189 confirmed by accreditation. A substantial part of the accreditation process is the onsite assessment in the laboratories. In the case of virology, this assessment is performed by experts appointed by the GfV.

Laboratories may have very different reasons for accreditation. These range from the improvement of the internal processes and determination of reliable examination results to better positioning at the market.

The article presented here is a field report outlining the requirements and problems for laboratories in medical virology – based on ISO 15189 – thereby addressing the issues of serology, molecular-biological diagnostics and virus isolation on cell cultures.

**Keywords:** accreditation; diagnostics; EN ISO 15189; quality management; virology.

### Einleitung

In den letzten zwei Jahrzehnten hat die Diagnostik viraler Infektionen wesentlich an Bedeutung gewonnen. Dazu haben nicht nur neu aufgetretene Viren wie das Humane Immundefizienz Virus (HIV), das SARS-Coronavirus oder

\*Korrespondenz: Prof. Dr. Holger F. Rabenau, Institut für Medizinische Virologie Klinikum der Johann-Wolfgang-Goethe-Universität Frankfurt Paul-Ehrlich-Str. 40, 60596 Frankfurt, Deutschland  
Tel.: +49 (069) 6301-5312  
Fax: +49 (069) 6301-83061  
E-mail: rabenau@em.uni-frankfurt.de

das „Vogelgrippe“-Virus beigetragen, sondern auch Verbesserungen in der Medizin, wie die zunehmende Zahl von Organtransplantationen oder die Vielzahl von Bluttransfusionen bzw. die Applikation von Blutprodukten. So kann die transplantationsbedingte Immunsuppression zur Reaktivierung von latent im Körper vorhandenen Viren wie z.B. Cytomegalievirus (CMV) führen. Die Applikation von Blut hat in den 80er und 90er Jahren des letzten Jahrhunderts zu einer Reihe von Übertragungen virämisch auftretender Viren wie HIV, Hepatitis B Virus und Hepatitis C Virus geführt. Auch der weltweite Tourismus trägt zur schnellen Verbreitung viraler Erkrankungen bei, wie das Beispiel des Chikungunya-Virus eindrucksvoll belegt. Weiterhin soll der intensive Handel mit Tieren nicht unerwähnt bleiben. Die Verbreitung des gefürchteten Influenza A (H5N1)-Virus wird u.a. auf diesen Weg zurückgeführt.

Diese wenigen Beispiele zeigen die zunehmende Bedeutung der Virusdiagnostik, denn selbstverständlich möchte jeder Beteiligte, Arzt und Patient, valide, zuverlässige, schnelle und nicht zuletzt kostengünstige Laborbefunde erhalten.

### Akkreditierung von medizinischen Laboratorien

Obwohl Bemühungen um valide Resultate ein Grundbestandteil der Laboratoriumsdiagnostik sind, belegen die Ergebnisse nationaler und internationaler Ringversuche die Heterogenität einiger Einzelwerte, die in verschiedenen Laboratorien erzeugt werden [1–6]. Diese Schwankungen bzw. Abweichungen vom Sollwert haben eine Reihe von möglichen Ursachen. Beispielhaft seien Fehler in der Präanalytik und der Testdurchführung, die unterschiedliche Qualität der eingesetzten Tests aber auch unzureichend standardisierte Arbeits- und Logistikkabläufe genannt. Die Vermeidung solcher Schwankungen ist u.a. das Ziel der Einführung eines Qualitätsmanagementsystems, wie es im Rahmen einer Akkreditierung gefordert wird.

In Deutschland hat die Anzahl akkreditierter medizinischer Laboratorien in den letzten Jahren stark zugenom-

men (Abbildung 1). Bis Mitte 2006 waren bei der Deutschen Akkreditierungsstelle Chemie (DACH) ca. 170 medizinische Laboratorien akkreditiert. Viele dieser Laboratorien verfügen über mehrere selbstständige Standorte, so dass die tatsächliche Zahl der akkreditierten Laboratorien über 200 liegt. Während die meisten der niedergelassenen Laboratorien bereits akkreditiert sind, kommen die neuen Anträge auf Akkreditierung mehrheitlich aus dem Universitäts-/Klinikbereich. Die Gründe der Laboratorien für eine Akkreditierung sind sehr unterschiedlich. Sie reichen von der Verbesserung der internen Abläufe und Ermittlung sicherer/richtiger Untersuchungsergebnisse, bis hin zu einer besseren Positionierung am Markt.

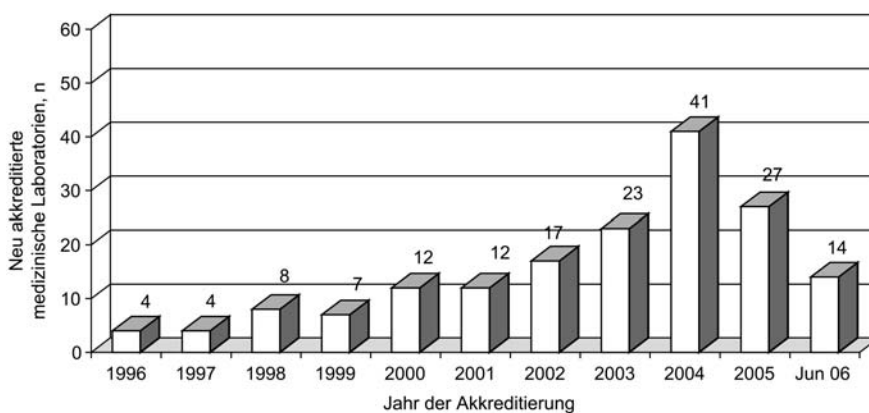
Bei der Akkreditierung kommt es im Gegensatz zur Zertifizierung nicht nur auf die Beschreibung und Sicherstellung von Prozessen an, sondern entscheidend ist die Kompetenz, richtige Untersuchungsergebnisse liefern und bewerten zu können.

Wesentlicher Bestandteil der Akkreditierung ist eine Begutachtung in den Laboratorien [7]. Die Begutachtungen in der Virologie werden von Experten (so genannten Begutachtern) durchgeführt, die von der Gesellschaft für Virologie (GfV) benannt und von der Akkreditierungsstelle zugelassen werden.

### Anforderungen der ISO 15189 im Bereich der Virusdiagnostik

Auf internationaler Ebene wurden für die medizinischen Laboratorien und damit auch für die virologische Laboratoriumsdiagnostik besondere Anforderungen an die Qualität und Kompetenz in einer Norm zusammengefasst, der DIN EN ISO 15189 [8]. Während in Abschnitt 4 der ISO 15189 Anforderungen an das Qualitätsmanagement aufgeführt sind, betrifft Abschnitt 5 insbesondere die fachlichen Anforderungen, die folgende Teilbereiche abdecken:

- Personal,
- Räumlichkeiten und Umgebungsbedingungen,



**Abbildung 1** Anzahl durch die DACH akkreditierter medizinischer Laboratorien in Deutschland.

- Laboratoriumsausrüstungen,
- Präanalytische Maßnahmen,
- Untersuchungsverfahren,
- Sicherstellung der Qualität der Untersuchungsverfahren,
- Postanalytische Maßnahmen und
- Befundberichte.

Neben den Anforderungen der ISO 15189 wurden für den Bereich der Virologie in einer gemeinsamen Arbeitsgruppe der GfV und der Deutschen Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten (DVV) weitere fachspezifische Anforderungen formuliert und in speziellen Checklisten zusammengefasst. Für den Bereich der Virusdiagnostik sind besonders der allgemeine Fragebogen zur ISO 15189 [9] und die speziellen Checklisten der Mikrobiologie, Virologie, Infektionsserologie und Molekularbiologie in der Infektionsdiagnostik relevant [10–13].

Im Rahmen der Begutachtungen wird in den Laboratorien überprüft, ob die Anforderungen der ISO 15189 und der dazugehörigen speziellen Checklisten erfüllt sind. Nicht erfüllte Anforderungen werden im Allgemeinen als Abweichungen (Nichtkonformitäten) bezeichnet und noch während der Begutachtung vor Ort in Form von Abweichungsberichten dokumentiert.

Im Folgenden werden die fachlichen Anforderungen der ISO 15189 und der dazugehörigen Checklisten sowie im Rahmen der Begutachtungen häufig festgestellte Abweichungen vorgestellt.

## Personal

Die Anforderungen an das Personal betreffen u.a. die Qualifikationen der Mitarbeiter und die Aufzeichnungen zur Ausbildung, Weiterbildung und Berufserfahrung, Einarbeitung, Stellenbeschreibung, Schulung sowie Autorisierung für den Aufgabenbereich/Arbeitsplatz. Weiterhin sind für die Funktionsträger Stellvertreter zu benennen.

Im Bereich Virusdiagnostik wurde diesbezüglich nur eine begrenzte Anzahl von Abweichungen festgestellt, d.h. die Normforderungen werden von den Laboratorien im Regelfall erfüllt. Problemfelder lassen sich meist auf folgende Punkte eingrenzen. Eine zu begrenzte Anzahl an Mitarbeitern steht zur Verfügung, um das Spektrum an Untersuchungsmethoden und den Umfang an Untersuchungsaufträgen angemessen zu bearbeiten. Gleichzeitig war in wenigen Fällen das zahlenmäßige Verhältnis zwischen fachspezifisch ausgebildeten MTAs, Arzthelferinnen und angelernten Kräften unzureichend. Vereinzelt traten Mängel in der Fachkompetenz des Personals sowie zu Fragen der Qualitätssicherung und des Qualitätsmanagements auf. Das Fehlen einer Dokumentation der Teilnahme an Fortbildungen, die fehlende Autorisierung für den jeweiligen Aufgabenbereich und die fehlenden Stellvertreterregelungen führten zu Abweichungsberichten. Fehlende oder unklare Vorgaben zum Arbeits-

schutz der Mitarbeiter, insbesondere zum Tragen bzw. Wechseln von Schutzhandschuhen (besondere Schwachstellen: Türklinken, Tastaturen, Telefone usw.) wurden ebenso erfasst, wie Defizite bei den regelmäßigen betriebsärztlichen Untersuchungen.

## Räumlichkeiten und Umgebungsbedingungen

Die Anforderungen umfassen u.a. die Zugangskontrolle zu den Laboratorien sowie die Forderung nach geeigneten Räumlichkeiten und Umgebungsbedingungen, die eine ausreichende Haustechnik (Klimatisierung, Verdunklung, Computerarbeitsplätze) und geeignete Labormöbel bieten, gleichzeitig jedoch Gefährdungen ausschließen müssen. Ferner besteht der Anspruch nach ausreichender Sauberkeit und der räumlichen Trennung von Tätigkeiten, die sich gegenseitig negativ beeinflussen könnten (z.B. Kontaminationsgefährdung im Bereich der PCR). Ebenfalls zu berücksichtigen sind gesetzliche Bestimmungen, wie die Forderung nach L3-Laborbereichen beim Umgang mit entsprechend pathogenen Erregern. Diese werden, in Abhängigkeit des von ihnen ausgehenden Risikopotentials, in verschiedene Biologische Sicherheitsstufen (BSL 1-4) eingeteilt (Abbildung 2).

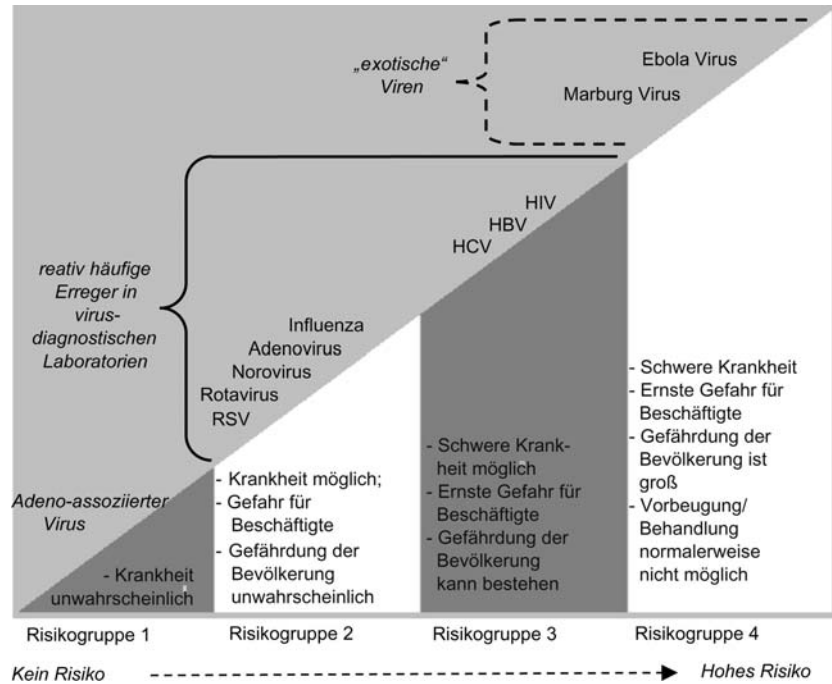
Um Kreuzkontaminationen oder Verschleppungen im Bereich der molekularbiologischen Diagnostik zu vermeiden, wurden in den letzten Jahren Konzepte der räumlichen Trennung von PCR-Arbeitsschritten entwickelt. Diese umfassen im Idealfall das „Drei-Raum-Konzept“ (Abbildung 3A). Bei eingeschränkten räumlichen Kapazitäten ist ein sicheres Arbeiten unter Einhaltung von besonderen Schutzvorkehrungen (z.B. Durchführung der Untersuchungen in sequentieller Weise; „Einbahnstraßen-Regelung“) auch unter „Zwei-Raum“-Bedingungen (Abbildung 3B) und dank neuerer Technologien mit geschlossenen Testsystemen auch unter „Ein-Raum“-Bedingungen (Abbildung 3C) möglich.

Abweichungen von den Normforderungen treten bezüglich der räumlichen Gegebenheiten nur in begrenztem Maße auf. Sie umfassen im Wesentlichen unzureichende Laborzugangskontrollen/-beschränkungen für Besucher, aber auch für Labormitarbeiter in speziellen Laborbereichen (z.B. PCR-Bereich), die ungenügende räumliche Trennung kontaminationsgefährdeter Bereiche, speziell der PCR, aber auch in der Virusisolierung, sowie eine nicht ausreichende Raumluftklimatisierung und z.T. defekte, nicht desinfizierbare Arbeitsoberflächen.

## Laboratoriumsausrüstungen

Die Laboratoriumsausrüstung umfasst gemäß der ISO 15189 Geräte, Referenzmaterialien, Verbrauchsgüter, Reagenzien und Analysensysteme oder Testkits.

Die Norm fordert, dass geeignete Einrichtungen und Laborausrüstungen verfügbar sind. Jeder ergebnisrelevante Ausrüstungsgegenstand ist eindeutig zu kenn-



**Abbildung 2** Risikoeinteilung pathogener Viren nach biologischem Gefährdungspotential.

zeichnen. Ferner sind Aufzeichnungen u.a. zu den festzulegenden bzw. festgelegten Kalibrierungen und Wartungen zu führen. Die Bedienung der Geräte darf nur durch autorisiertes Personal erfolgen. Defekte Geräte sind als solche zu kennzeichnen und dürfen bis zur Behebung des Defektes und Prüfung der Funktionalität nicht benutzt werden.

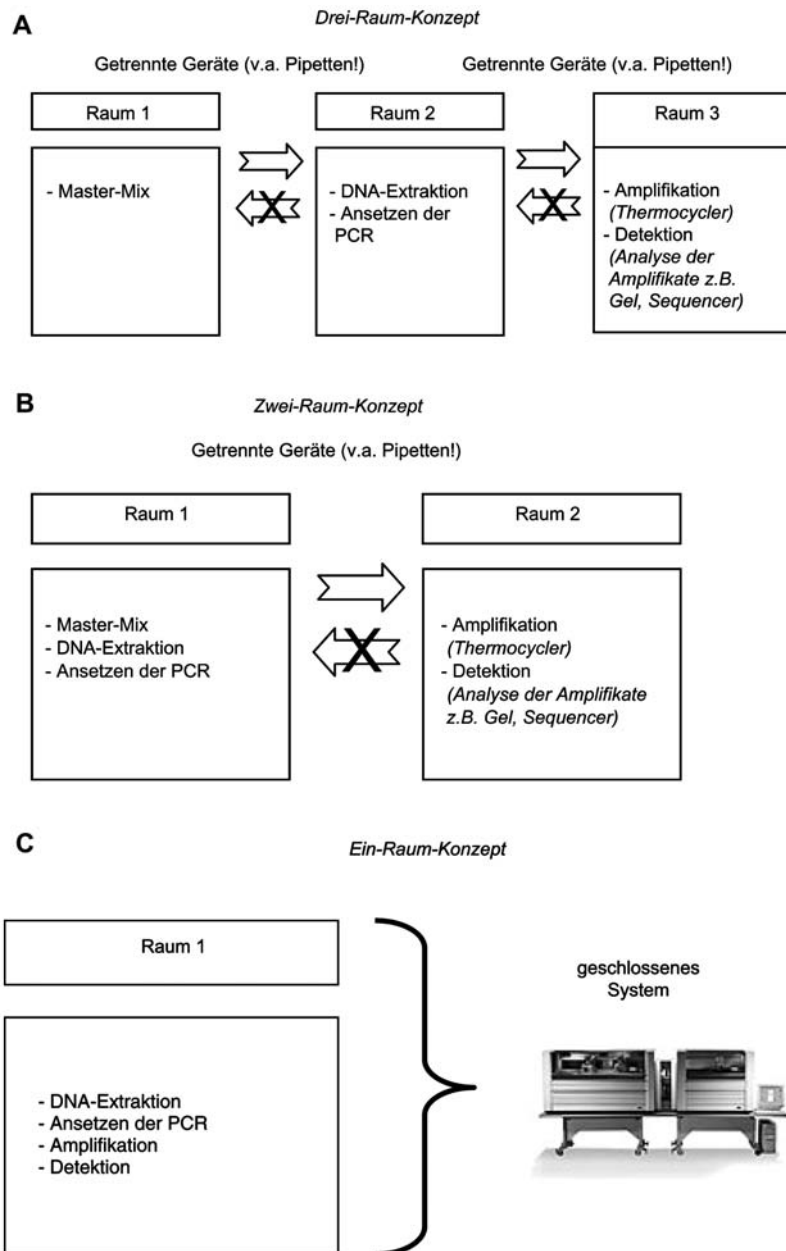
Verlangt wird auch die Kennzeichnung von Chemikalien und Reagenzien nach Identität, Konzentration, Gefahrstoffkennung, Lagerungsbedingungen, Herstell-, Anbruchs- und Haltbarkeitsdatum. Es ist zu gewährleisten, dass sich keine Reagenzien/Testkits mit überschrittenem Haltbarkeitsdatum im Zugriff befinden und die Lagerungsbedingungen der Reagenzien und Testkits keinen negativen Einfluss (z.B. Stabilität, Aktivität, Kontamination) haben. Relevante Sicherheitsdatenblätter sind am Arbeitsplatz bereitzustellen. Eingangskontrollen von Reagenzienlieferungen sind durchzuführen. Es ist zu empfehlen, ein System zu etablieren, das gewährleistet, dass zunächst die älteren Reagenzien aufgebraucht werden.

Nicht-Konformitäten für den Teilbereich Laborausrüstung wurden bei Laborbegutachtungen bezüglich nicht definierter, respektive eingehaltener oder dokumentierter Geräteprüfintervalle und -umfänge (z.B. fehlende Überprüfung der Temperatur von Thermocyclern) und fehlender bzw. unzureichender Beschriftung von Chemikalien und Reagenzien gefunden. Ein relativ häufiges Problem stellt die fehlende oder unzureichende Chargendokumentation dar, die die Dokumentation der Versionen der Hersteller-Beipackzettel einschließt sowie die teilweise

begrenzte Rückverfolgbarkeit, welche Reagenzien/Charge bei welcher Patientenprobe verwendet wurden. Weitere Abweichungen bei Begehungen waren abgelaufene Haltbarkeitsdaten von Reagenzien oder Testkits sowie nicht vorhandene Sicherheitsdatenblätter am Arbeitsplatz.

### Präanalytische Maßnahmen

Da die Diagnostik versagt, wenn ungeeignetes Untersuchungsmaterial oder falsche Proben eingesandt oder während des Transportes, der Lagerung oder der Aufbereitung die gesuchten Analyten zerstört oder verfälscht werden, stellt die DIN EN ISO 15189 eine Reihe von Vorgaben zu präanalytischen Maßnahmen. Eine gute Zusammenarbeit zwischen Einsender und Labor gewährleistet die bestmögliche Ausgangssituation für eine gute Diagnostik. Daher verlangt die Norm eine verstärkte Kooperation mit den Einsendern durch Bereitstellung von allgemeinen Informationen, u.a. zu Laboranalytik, klinischen Indikationen, Probenentnahme, -behandlung und -versand, Anforderungsscheinen und Proben-/Transportgefäßen etc. Die Informationen müssen dem Einsender in Form eines Handbuchs für die Primärprobenentnahme als Leistungsverzeichnis zur Verfügung gestellt werden. Der Probentransport ist vom Laboratorium zu überwachen und Kriterien sind festzulegen, wie mit fehlerhaften Primärproben inkl. fehlender Identität zu verfahren ist. Der Probeneingang ist mit Datum, Uhrzeit und Namen des annehmenden Mitarbeiters aufzuzeichnen. Schließ-



**Abbildung 3** Räumliche Anforderungen zur Durchführung von virusdiagnostischen Untersuchungen mittels PCR (A: Drei-Raum-Konzept; B: Zwei-Raum-Konzept; C: Ein-Raum-Konzept).

lich sind Verfahren für Notfalluntersuchungen und für mündliche Nachanforderungen zu definieren.

Zum Thema Präanalytik finden sich in virusdiagnostischen Laboratorien einige relativ häufig wiederkehrende Abweichungen von der ISO 15189. Diese betreffen u.a. die unzureichende Regelung zum Umgang mit Mischproben (z.B. Liquorproben, die molekularbiologisch und serologisch untersucht werden sollen) und nicht festgelegte Kriterien für die Ablehnung von Primärproben. Insbesondere bei Proben zur Untersuchung auf Zellkulturen (Virusisolierung) oder bei molekularbiologischen Anforderungen kann der Zeitraum zwischen Probenentnahme und Probeneingang im Labor von großer Bedeutung sein. Bei einigen Laboratorien besteht keine ausreichende

Möglichkeit auf dem Anforderungsschein die Uhrzeit der Probenentnahme anzugeben oder Angaben relevanter klinischer Daten zu machen.

### Untersuchungsverfahren

Einer der wichtigsten Einflussparameter für valide Ergebnisse und patienten-relevante Befunde sind die eingesetzten Untersuchungsverfahren. Die ISO 15189 fordert, dass nur geeignete und anerkannte Verfahren eingesetzt werden und dass diese durch autorisierte Personen vor der Einführung sowie in festgelegten Abständen bewertet werden. Alle Untersuchungsverfahren sind zu dokumen-



tieren, z.B. in Form von SOPs (Standard operation procedures) bzw. SAAs (Standardarbeitsanweisungen), wobei Herstelleranleitungen eingebunden und auch Kurzanleitungen genutzt werden können, diese jedoch auch gelenkt werden müssen. Bei ergebnisrelevanter Veränderung eines Untersuchungsverfahrens ist der Einsender vorab schriftlich zu informieren.

Unter dem Stichwort „anerkannte Untersuchungsverfahren“ ist auch zu erwähnen, dass im April 2006 im Sektorkomitee Medizin eine neue Regelung bezüglich der Komplementbindungsreaktion (KBR) verabschiedet wurde. Danach ist die KBR zum Nachweis virusspezifischer Antikörper gegen Enterovirus, Masernvirus, Mumpsvirus, Rötelnvirus und Frühsommer-Meningoenzephalitis-Virus wegen ihrer eingeschränkten Sensitivität nicht mehr akkreditierbar. Diese Entscheidung basiert auf der Empfehlung der gemeinsamen Diagnostikkommission der GfV und der DVV, die betonen, dass für die genannten Parameter andere zuverlässige und sensitivere Methoden, vor allem auf ELISA-Basis, zur Verfügung stehen. Ringversuche im Rahmen der externen Qualitätskontrolle haben wiederholt gezeigt, dass die KBR mehrfach zu falsch-negativen Ergebnissen geführt hatten.

Erwartungsgemäß ergeben sich die häufigsten Abweichungen von den Normanforderungen im Bereich der Untersuchungsverfahren, wobei differenziert werden kann zwischen spezifischen Problemen in den verschiedenen Teilgebieten Infektionsserologie, Virusisolierung auf Zellkulturen und molekularbiologische Virusdiagnostik.

In der Infektionsserologie, einschließlich Virusantigen-nachweisen, fällt besonders ins Gewicht, dass z.T. keine bzw. unzureichende Kontrollen (Positiv-/Negativkontrollen bei Western-/Immunoblots) mitgeführt werden. Teilweise werden nicht ausreichend gelenkte Dokumente genutzt (z.B. SOP-Verteiler unklar; nicht gelenkte, mitgeltende Unterlagen) und die Protokollierung ist teilweise unzureichend (z.B. fehlende Kennzeichnung; wer, wann einen Test durchgeführt hat und welche Testkit-Charge verwendet wurde).

Wenngleich nur noch in einer begrenzten Anzahl von Laboratorien durchgeführt, so ergeben sich bei der Virusisolierung auf Zellkulturen als nicht standardisiertes Verfahren eine vergleichsweise hohe Zahl von Nicht-Konformitäten, wie z.B. der unzureichenden Dokumentation der Historie von Zellen und Viren einschließlich Zellpassagezahl und Viruspropagierung, der fehlenden Festlegung/Dokumentation der maximalen Passagenzahl von Zellen und Viren und der Nachvollziehbarkeit von Medien- und Serumchargen sowie deren Konzentrationen. Da die Suszeptibilität wesentlich von der Qualität der eingesetzten Zellkulturen abhängt, müssen diese regelmäßig auf Mykoplasmenkontaminationen und die Eignung des verwendeten fetalen Kälberserums (FKS) geprüft werden. Häufig wird weder auf Mykoplasmen noch das FKS geprüft oder es fehlen entsprechende Aufzeichnungen. Letzteres gilt auch für das Referenzmaterial (fehlende Referenzmaterialliste). Nahezu ebenso häufig fehlt das Mitführen von Negativ- (unbeimpfte Zellkultur-

röhrchen) und Positivkontrollen (mit Referenzvirus beimpfte Röhrchen), sowie bei semiquantitativen Tests, wie z.B. dem shell vial assay (z.B. zum Nachweis von Zytomegalievirus (CMV) in Urin), eine semiquantitative Positivkontrolle. Bei letztgenanntem Verfahren liegt zudem vielfach keine ausreichende Dokumentation vor, welche die verwendeten Antikörperkonzentrationen und den Ausschluss möglicher Kreuzreaktivitäten belegen. Beim CMV-pp65-Antigennachweis in menschlichen Lymphozyten fiel wiederholt das Fehlen einer Positivkontrolle auf. Schließlich wurde häufig die fehlende Kontrolle/Dokumentation der Temperatur und des CO<sub>2</sub>-Gehaltes der eingesetzten Brutschränke beobachtet.

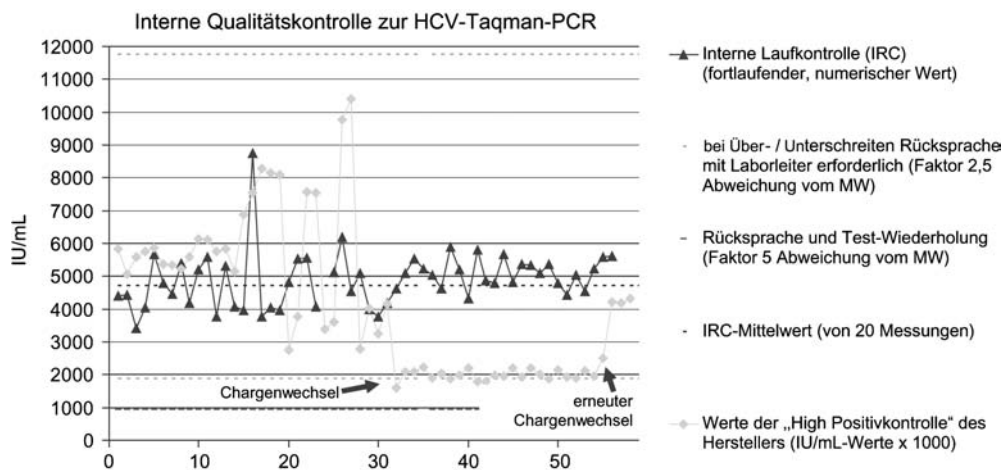
Zellkulturbasierte Neutralisationstests z.B. zum Nachweis neutralisationskompetenter Antikörper gegen Coxsackie-, ECHO, Polio- oder Masernvirus werden ebenfalls nur noch in einer begrenzten Zahl von Laboratorien durchgeführt. Hier fällt auf, dass die eingesetzten Virusstämme teilweise nicht definiert sind, dass die notwendige Rücktitration des Testvirus fehlt und nur eine unzureichende Anzahl von Parallelansätzen pro Verdünnungsstufe (z.B. bei Polio) und keine Positivkontrollen (z.B. bekannte Immunseren) mitgeführt werden.

Die Liste der Abweichungen in der molekularen Virusdiagnostik ist vergleichsweise kurz, wenngleich nicht weniger bedeutsam im Sinne einer möglicherweise das Ergebnis beeinflussenden Störung. So werden meist aus Gründen der Kosteneinsparung teilweise keine oder nicht ausreichende Positiv- und Negativkontrollen bei den Testansätzen mitgeführt und den (speziell In-house) Tests fehlt eine zufriedenstellende Extraktions-/Inhibitions- und Amplifikationskontrolle. Insbesondere bei In-house-Verfahren erfolgt nicht immer ein dokumentierter Abgleich der verwendeten Primer mit einer Genomdatenbank und bei den erzeugten Amplifikaten fehlt bei Verwendung von Gel-PCRs eine Bestätigung der Amplifikatidentität. Inzwischen nur noch relativ selten wird ungeeignetes Untersuchungsmaterial eingesetzt (z.B. Serum für die HIV-Viruslast-Bestimmung) und wie bereits beim Bereich Infektionsserologie angemerkt, werden in den Labors wiederholt nicht ausreichend gelenkte Dokumente (mitgeltende Unterlagen) genutzt.

Die grundsätzliche Eignung eines Verfahrens für die Durchführung eines Tests muss noch nicht bedeuten, dass es auch in jedem Fall richtig durchgeführt wird und valide Ergebnisse hervorbringt. Daher besagt die DIN EN ISO 15189, dass jedes Verfahren im eigenen Laboratorium validiert bzw. verifiziert werden muss. Detaillierte Ausführungen zur Validierung von Untersuchungsverfahren in der Virusdiagnostik sind getrennt dargestellt (siehe Rabenau et al., dieses Heft).

### **Sicherstellung der Qualität der Untersuchungsverfahren**

Neben der Validierung von Untersuchungsverfahren ist die Sicherstellung der Qualität der Untersuchungsverfahren durch Einführung entsprechender interner und exter-



**Abbildung 4** Möglichkeiten der erweiterten internen Qualitäts-Kontrolle durch Mitführen Interner Laufkontrollen (IRC) wie Pool-Proben oder Referenzproben zur Erkennung von Trends z.B. mittels Westgard Rules. Die Abbildung zeigt am Beispiel der quantitativen HCV-RNA-Bestimmung, dass die IRC die hohe Reproduzierbarkeit des Tests belegt, während die testinterne Hersteller-Positivkontrolle große Schwankungen suggeriert, die auf einem Chargenwechsel beruhen.

ner Kontrollsysteme eine wichtige Anforderung der DIN EN ISO 15189. Diese fordert u.a. die Bestimmung der Messunsicherheit, die Kalibrierung der Messsysteme und Rückführung der Ergebnisse auf SI-Einheiten, sowie die Teilnahme an Ringversuchen (RV). Werden keine RV angeboten, sind andere Arten externer Vergleichsprogramme anzuwenden, z.B. als Laborvergleich. Auch wenn gleiche Untersuchungen/Parameter mit verschiedenen Verfahren, Geräten oder an unterschiedlichen Standorten durchgeführt werden, müssen sie hinsichtlich der Vergleichbarkeit überprüft werden.

Wiederkehrende Abweichungen von den Anforderungen der ISO 15189 betreffen die unzureichende RV-Teilnahmefrequenz (mindestens zweimal pro Jahr und Parameter, sofern verfügbar) sowie die nicht ausreichende Anzahl an mitgeführten Positiv-/Negativ-Kontrollen. Fehlende statistische Auswertungen der Korrelation verschiedener Testverfahren (z.B. anti-HCV negativ, bei gleichzeitiger HCV-PCR Reaktivität) wurden ebenfalls als Abweichungen festgestellt.

Auf eine zusätzliche Möglichkeit der internen Qualitätskontrolle soll an dieser Stelle hingewiesen werden. Das Mitführen interner Laufkontrollen (IRC), z.B. Pool-Proben oder Referenzproben und die statistische Auswertung zur Erkennung von Trends, z.B. mittels Westgard Rules vereinfacht es, Qualitätsschwankungen von Testsystemen oder Kontrollproben zu erkennen (Abbildung 4).

### Postanalytische Maßnahmen

Zu den fachlichen Anforderungen an die postanalytischen Maßnahmen gehören u.a. die technische und medizinische Beurteilung der Ergebnisse, die geeignete Aufbewahrung der Proben und die sichere Entsorgung der Proben und Abfälle nach anerkannten Regeln.

Problematisch erweist sich z. T. die Lagerung und Aufbewahrung von Proben in ungeeigneter Form, z.B. ohne Abdeckung/Verschluss.

### Befundberichte

Zu den Befunden wird von der DIN EN ISO 15189 u.a. gefordert, dass diese innerhalb eines vereinbarten Zeitraums beim Anforderer vorliegen müssen. Ferner ist der Mindestinhalt der Befunde festgelegt und es wird gefordert, dass die Freigabe der Befunde, insbesondere auch bei alarmierenden oder kritischen Ergebnissen geregelt ist. Ebenfalls verlangt wird, dass nach einem Vorabefund immer ein Endbefund folgen muss und dass Änderungen von Befunden mit Datum, Uhrzeit und Namen zu kennzeichnen sind. Bei Änderungen von EDV-gespeicherten Befunden muss der Originalbefund gespeichert bleiben bzw. Änderungen durch geeignete Verfahren nachvollziehbar sein und im Befund deutlich erkennbar gemacht werden.

Das Sektorkomitee Medizinische Laboratorien hat inzwischen festgelegt, dass sofern nicht anderweitig geregelt, Befunde in medizinischen Laboratorien auch von entsprechend qualifizierten Naturwissenschaftlern (z.B. Klinische Chemiker mit entsprechender Berufserfahrung) freigegeben werden können. Eine medizinische Validation ausschließlich durch einen Arzt wird nicht immer gefordert.

Bezüglich des Themenkomplexes Befunde ergeben sich nur relativ selten Probleme. Diese bestehen im Wesentlichen aus fehlenden Angaben von Datum und Uhrzeit der Entnahme der Primärprobe (sofern verfügbar und relevant) auf dem Befund sowie einer unzureichenden Regelung zur Änderung von Befunden – insbesondere wenn diese durch Überschreiben des Erstbefundes erfolgt (fehlende Rückverfolgbarkeit).

Zusammenfassend zeigt sich, dass die Einführung eines Qualitätsmanagementsystems wie der DIN EN ISO 15189 im Bereich der virologischen Laboratoriumsdiagnostik mit Aufwand verbunden ist. Demgegenüber stehen die Vorteile einer Akkreditierung. Sie ist weltweit anerkannt und bietet die beste Möglichkeit, die Kompetenz des Laboratoriums nachzuweisen. Gleichzeitig können sich Vorteile im Wettbewerb und/oder in den eigenen Kliniken/Unternehmen ergeben und durch bessere Arbeitsabläufe die Qualität der medizinischen Untersuchungsergebnisse verbessert werden.

## Literatur

1. Drosten C, Doerr HW, Lim W, Stohr K, Niedrig M. SARS molecular detection external quality assurance. *Emerg Infect Dis* 2004;10:2200–3.
2. Kessler HH, Muhlbauer G, Rinner B, Stelzl E, Berger A, Doerr HW, et al. Detection of Herpes simplex virus DNA by real-time PCR. *J Clin Microbiol* 2000;38:2638–42.
3. Preiser W, Rabenau HF, Doerr HW. *Viren-Viruserkrankungen. Synopsis der Epidemiologie, Klinik, Diagnostik und Therapie viraler Erkrankungen*. Steinen (Deutschland): Zett-Verlag 2002:1–228.
4. Schirm J, van Loon AM, Valentine-Thon E, Klapper PE, Reid J, Cleator GM. External quality assessment program for qualitative and quantitative detection of hepatitis C virus RNA in diagnostic virology. *J Clin Microbiol* 2002;40:2973–80.
5. Schloss L, van Loon AM, Cinque P, Cleator G, Echevarria JM, Falk KI, et al. An international external quality assessment of nucleic acid amplification of herpes simplex virus. *J Clin Virol* 2003;28:175–85.
6. Valentine-Thon E, van Loon AM, Schirm J, Reid J, Klapper PE, Cleator GM. European proficiency testing program for molecular detection and quantitation of hepatitis B virus DNA. *J Clin Microbiol* 2001;39:4407–12.
7. DACH-Richtlinie zum Akkreditierungsverfahren (QM-VA 0900-01 (07)), <http://www.dach-gmbh.de>.
8. *Medizinische Laboratorien-Besondere Anforderungen an die Qualität und Kompetenz (ISO 15189:2005)*; Deutsche Fassung EN ISO 15189:2005. Berlin (Deutschland): Beuth Verlag GmbH.
9. DACH-Fragebogen zur DIN EN ISO 15189 (QM-VA 0900-31 (02)), <http://www.dach-gmbh.de>.
10. Rabenau HF, Fleckenstein B, Habermehl O, Jahn G, Jilg W, Korn K, et al. Checkliste Mikrobiologie und Hygiene-Virologie (2004). <http://www.dach-gmbh.de>.
11. Reischl U, Rabenau HF, Abele-Horn M, Blenk H, Boltze HJ, Drath L, et al. Checkliste Mikrobiologie und Hygiene-Molekularbiologie in der Infektionsdiagnostik (2005). <http://www.dach-gmbh.de>.
12. Schoerner C, Abele-Horn M, Blenk H, Boltze HJ, Drath L, Ganster B, et al. Checkliste Mikrobiologie und Hygiene-Allgemeine Anforderungen (2004). <http://www.dach-gmbh.de>.
13. Schoerner C, Hagedorn HJ, Abele-Horn M, Blenk H, Boltze HJ, Drath L, et al. Checkliste Mikrobiologie und Hygiene-Infektionsserologie (2005). <http://www.dach-gmbh.de>.