

Borrelien-Serologie

Kriterien analytischer
Leistungsfähigkeit am Beispiel
19 kommerziell erhältlicher
Testsysteme (ELISA)

Warum dieser Vortrag?

- Serologie kann entscheidend für Diagnose und Behandlung sein.
- Bei identischen Seren unterschiedliche Ergebnisse.
- „Die Waage fängt erst bei 100 kg an zu messen (H-P Gabel)“.
- „Es können doch nicht alle Mitarbeiter seropositiv / krank sein“ (Hersteller).

Ziel des Vortrags:

- Welche technischen und methodischen Maßstäbe zur Beurteilung der Testgüte gibt es (analytische Leistungsfähigkeit)?
- Wie ist nachfolgend die diagnostische Leistungsfähigkeit eines Testes einzuschätzen?
- Handlungsbedarf aufzeigen!

Übersicht: Analytische Kriterien

Technisch:

- Präzision und Richtigkeit
- Linearität
- Auflösungsvermögen
- Nachweisgrenze

Methodisch:

- Selektivität, Interferenz, Cut
- Hierarchie der Methodenqualität

Erst danach:

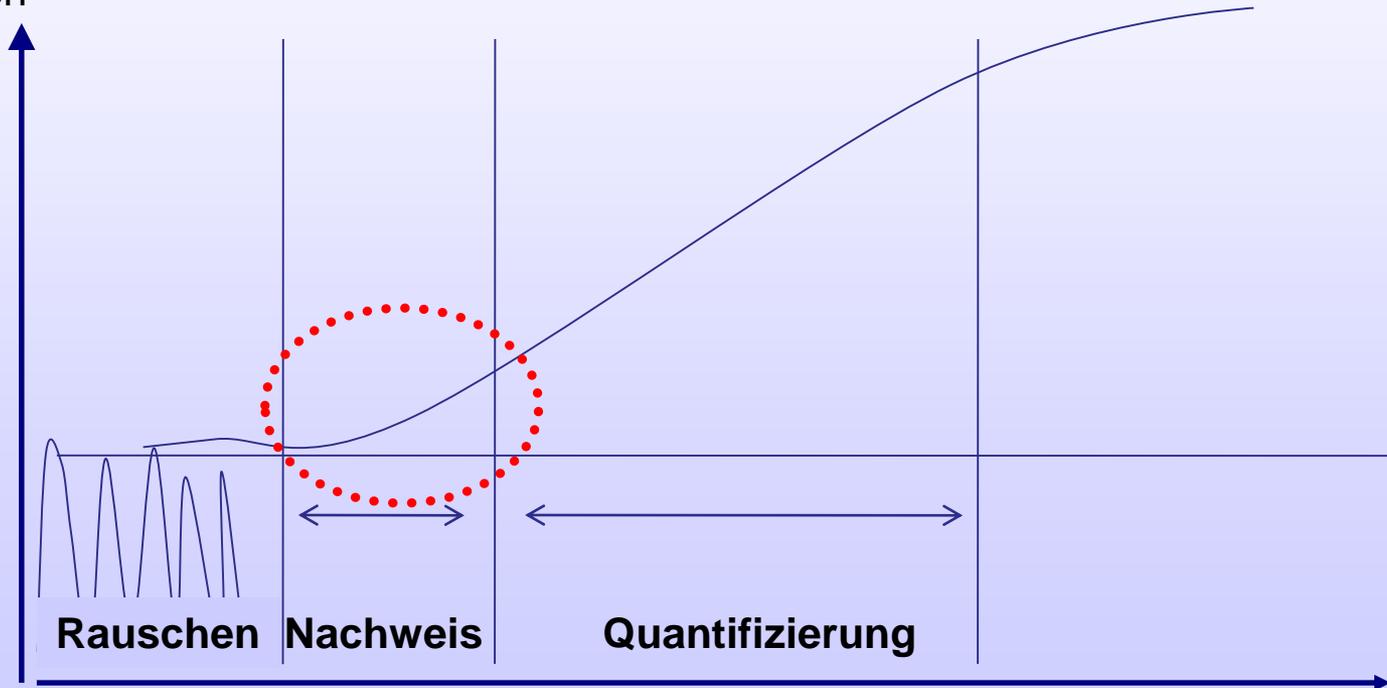
Diagnostische / klinische Wertung: Sensitivität und Spezifität, Vorhersagewerte

Technische Kriterien

Grenzen des Meßintervalls

(nach Keller)

Konzentration
des Analyten



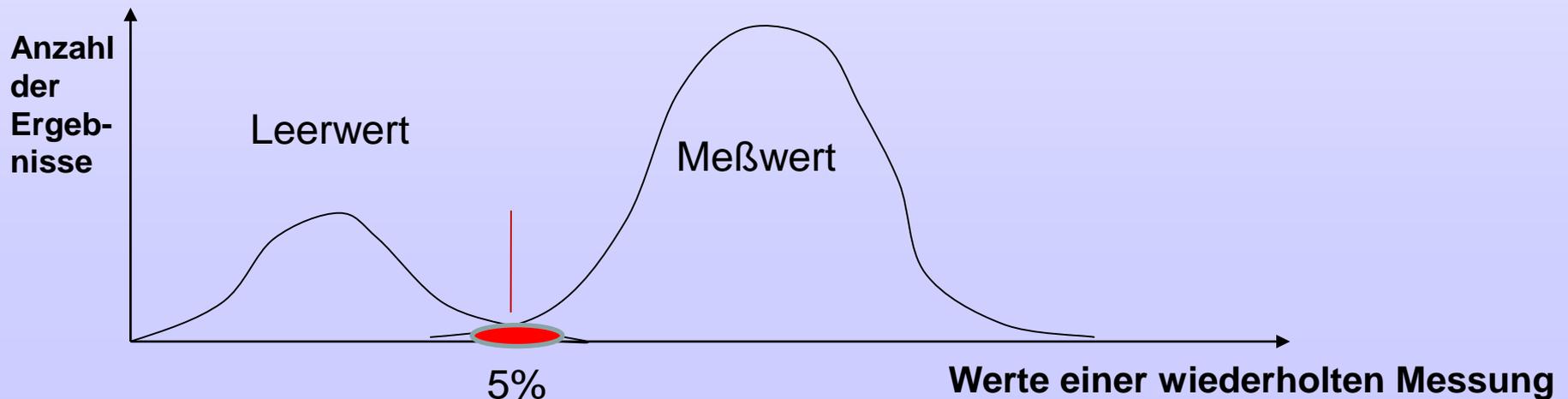
\emptyset

$+3s$

Stärke des
Meßsignals 9

Wo kann man mit der Messung anfangen (Nachweisgrenze)?

Leerwert-Bestimmung (Matrix oder Puffer) + 3 Standardabweichungen des Leerwertes oder Toleranzgrenze für das Maß der Überlappung zwischen den Standardverteilungskurven des Leerwertes und der Standardverteilungskurve einer definierten Probe (z. B. 5%)



Herstellerangaben zur Nachweisgrenze

anhand des Substratleerwertes bei Hersteller
G, Negativ-Kontrolle plus cut-off-Faktor bei
Hersteller B.

Ansonsten werden keine Nachweisgrenzen
angegeben.

Methodische Kriterien

Die **Selektivität** (analytische Spezifität) ist die Möglichkeit, z.B. nur einen bestimmten Antikörper zu erfassen.

- Bei rekombinanten Antigenen hoch,
- Für Suchteste liegt der Schwerpunkt auf der (analytischen) **Sensitivität**.

- Keine Hersteller-Angaben.

Interferenz sind Wechselwirkungen, z.B. Kreuzreaktivitäten oder Matrixeffekte.

- Angaben bei 12 Herstellern.

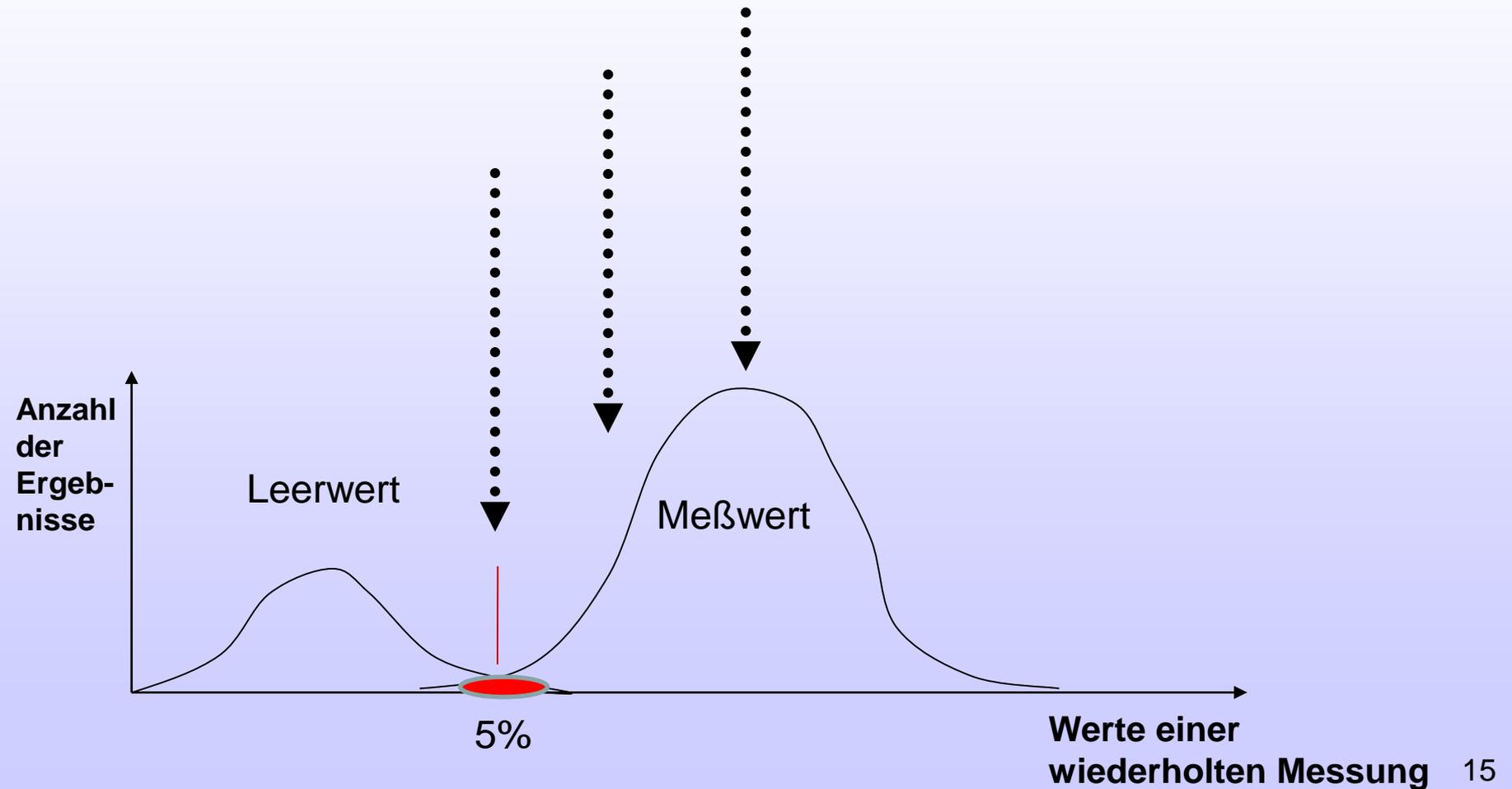
Entscheidendes analytisches Kriterium

ist der Punkt, der über die Reaktivität der Probe Auskunft gibt, der Cut.

Für die Festlegung des Cut gibt es keine festen Regeln.

Sensitivität

Spezifität / Selektivität



Werden z.B. gepoolte Blutspenderseren mit geschätzter Seroprävalenz als Referenz gewählt, dann gibt das Ergebnis der Messung nur Auskunft darüber,

ob im Proben Serum mehr Antikörper vorhanden sind, als in durchschnittlichen Spenderseren.

Hersteller H ermittelt **analytische**
Sensitivität und Spezifität an **klinisch**
definierten Seren.

Der Hierarchie der Methodenqualität gebührt besondere Beachtung:

I. Definitive Methode (Goldstandard)

II. Referenzmethode

a. mit definitiver Methode gesichert

b. nicht wie a., aber **Standards** vorhanden

c. wie b. ohne Standards

III. Routinemethode

a. empfohlene Methode, Störanfälligkeit definiert

b. empfohlene Methode, Störanfälligkeit nicht definiert.

In 16 von 19 Testen fehlen
Vergleichsmethoden oder werden nicht
genannt.

Hersteller K weist auf die fehlende Referenz-
Präparation hin.

Zusammenfassung: analytische Leistungsmerkmale

Angaben zu analytischen Leistungsmerkmalen fehlen bis auf Interferenzen, Präzision und Richtigkeit fast völlig. Dies mag Ausdruck dafür sein, dass es keine Einigkeit über den Aussagebereich der Serologie (analytisch oder diagnostisch) gibt.

Es existieren derzeit keine Referenzmethode und keine Probenstandards (Referenzpräparation).

Diagnostische Sensitivität, Spezifität und Vorhersagewerte

Diagnostische Sensitivität & Spezifität:

Wahrscheinlichkeitsmaß, Kranke richtig zu erfassen / Gesunde richtig auszuschließen.

Positiver & negativer Vorhersagewert:

Wahrscheinlichkeit, dass das Testergebnis richtig-positiv / richtig negativ ist, ein reaktiver Wert spricht für eine Erkrankung / gegen eine Erkrankung.

Herstellerangaben zu diagnostischen Kriterien (1):

Diagnostische Sensitivität: 6 von 19

Herstellern erproben ihre Teste an klinisch definierten Seren, 8 von 19 wählen

„Vergleichsseren“, 2 von 19 Herstellern

wählen serologische Vergleichsmethoden,

3x prozentuale Angaben, 3x keine Angaben.

Herstellerangaben zu diagnostischen Kriterien (2):

Diagnostische Spezifität: 5x „gesunde“ Probanden, 1x „nicht vorselektierte Seren“, 2x „unauffällige Seren“, 3x prozentuale Angaben, 3x „geschätzte Seroprävalenz“, 3x Blutspender, 1x serologischer Vergleich, 1x Schwangere, 4x „keine Angaben“.

Herstellerangaben zu diagnostischen Kriterien (3):

Positiver Vorhersagewert: keine
Angaben

Negativer Vorhersagewert: keine
Angaben

Derzeitige Situation zur Test-Evaluation:

Man untersucht Seren von „gesunden“ oder „kranken“ Personen und legt den Cut dorthin, wo man eine Trennung zwischen krank und gesund zu erkennen meint.

Oder man misst Blutspenderseren ein und ermittelt den Cut durch Schätzung der Seroprävalenz.

Derzeitige Situation zur Test-Evaluation (2):

Dabei wird die analytische Test-Einstellung, die der Erfassung von Antikörpern dienen soll, durch eine „diagnostische Vorgehensweise“ beeinflusst.

Analytische Leistungskriterien bleiben meist außen vor.

Schlussfolgerungen :

Man muss sich die Frage stellen, ob es vertretbar ist, einen Test vom Ergebnis her zu evaluieren:

- „Unauffälliges Serum“, Blutspender, Schwangere oder „gesunder“ Proband: das Ergebnis des Suchtestes ist „nicht-reaktiv“.

Oder muss man zuerst die analytischen Testkriterien erfüllen, bevor diagnostische Schlüsse gezogen werden können?

Insbesondere die Festlegung des Cut
mittels Blutspenderseren (insbesondere
der geschätzten Seroprävalenz bei
gepoolten Proben) ist zu überdenken,
da auch „gesunde“ Blutspender Antikörper
haben können und die Menge der
Antikörper nichts über den Grad einer
möglichen Erkrankung aussagt.

Um Evidenz-basierte Aussagen über das Vorliegen von Borrelia-Antikörpern machen zu können ist eine definierte Nachweisgrenze nötig und Offenlegung der „Vergleichsmethoden“ einschließlich ihrer Einschränkungen. Einen solchen Test gibt es derzeit nicht.

Danach kann man mit Hilfe ausführlicher Datenerhebungen und insbesondere im **Vergleich mit Kultur- oder PCR-positiven Patientenproben** Angaben über klinische Aspekte, diagnostische Sensitivität, diagnostische Spezifität und Vorhersagewerte machen.

Konsequenz für statistische Erhebungen:

- Für die Ermittlung der Seroprävalenz (Antikörperstatus: keine Krankheitsbeurteilung) werden zuverlässige Angaben zur Nachweisgrenze, zum Cut und zur analytischen Sensitivität und Selektivität benötigt.
- Aufmerksamkeit ist bei der Verwendung von Testsystemen geboten, deren Schwerpunkt auf der diagnostischen Spezifität liegt.

Konsequenz für mögliche Standardisierung:

- Die DIN 58969-44 [Spezielle Anforderungen für den Nachweis von Antikörpern gegen *Borrelia burgdorferi*] als Leit-Norm? Sie beschränkt den Aussagebereich des „Borrelien-Blots“ auf das Vorliegen von Antikörpern.
- Analytische Kriterien sollten möglichst vollzählig erfüllt sein.
- Güte des Referenztestes sollte genau bestimmt sein.

Was tun, wenn Testgütekriterien nicht vollständig ermittelt werden können?

- Sprachliche Konkretisierung kann helfen.
- „Mut zur Lücke!“
- Sagen oder schreiben, wie weit man aufgrund eines Testergebnisses Aussagen treffen kann zu:
 - Antikörperstatus und
 - Krankheitsgeschehen.

Resultat und Fragestellungen (1):

- Der Cut entscheidet über das Ergebnis.

Resultat und Fragestellungen (2):

Beispiel:

- Cut – Evaluation von Test C: „100 Serum-Proben von Personen aus einem endemischen Gebiet ohne erinnerlichen Zeckenstich oder Lyme-Erkrankung“.
- ? Unter der Vorstellung, dass diese Personen keine Bb-Ak aufweisen ?
- Auswirkungen „diagnostisch-spezifischer“ Suchtests bedenken.

Resultat und Fragestellungen (3):

- Worauf beziehen sich Sensitivität und Spezifität:
„Krankheitsstatus oder Antikörperstatus“?
- Ist die Sensitivität der Suchteste für Antikörper gewährleistet?

Resultat und Fragestellungen (4):

- Kann die Stufendiagnostik – MIQ 12 / 2000- bei unterschiedlichen Testen weiterhin gelten?
- Wie kann man die Würdigung von unterschiedlichen Testen und Testresultaten in Leitlinien einfließen lassen?

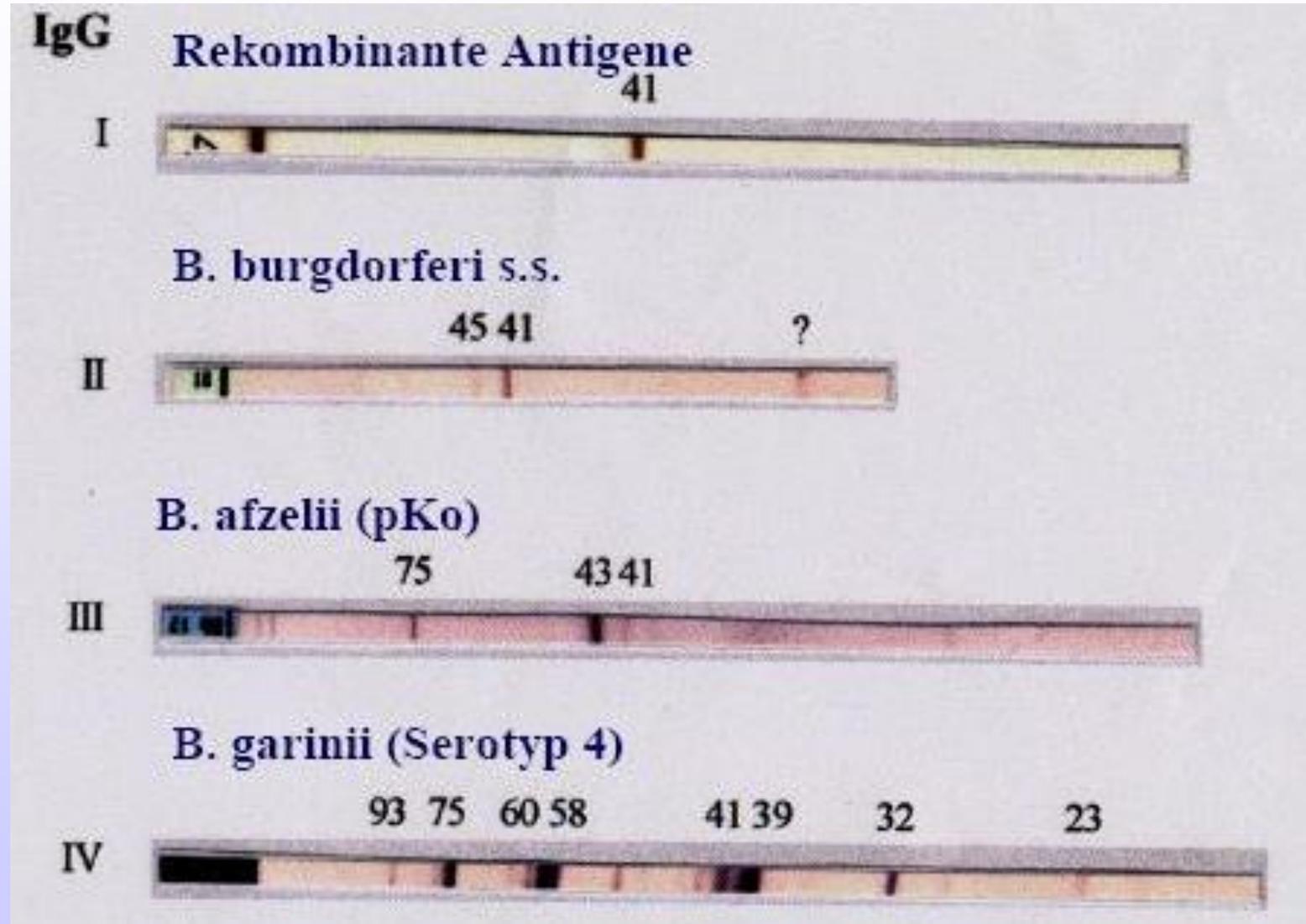
Handlungsbedarf

- Aussagebereich der Serologie auf sichere Bereiche reduzieren.
- Evaluation der Teste anhand PCR- und Kultur-positiver Patienten- Proben.
- Evtl. bei rekombinanten Testen Festlegung der Nachweisgrenze.
- Alle humanpathogenen Stämme berücksichtigen
- **Abgrenzung epidemiologischer Sichtweise von patientenorientierter Sichtweise.**

Prioritäten:

1. Das Wohl und Wehe der betroffenen Menschen bedenken!
2. Neutrales Zusammentragen von Fakten: Sicheres, Umstrittenes, Pro und Contra:
 - Was müssen wir überprüfen / ändern ?
3. Wie kann man mit diesen Zielen Forschungs-Gelder einwerben?
4. Offenlegen von Interessenskonflikten.

58-jähriger Forstarbeiter, multiple Zeckenstiche



„Dass gesamthft gesehen nur so wenige Angaben über Sensitivität und Spezifität (...) von Tests vorliegen, erstaunt daher nicht mehr. Der Aufwand gemessen am Nutzen ist enorm.

Trotzdem sollte, gerade im Zeitalter der "Evidence-based Medicine", versucht werden, so viele diesbezügliche Daten zusammenzutragen wie möglich.

(<http://www.biorama.ch>)

Literatur:

- Herbert Keller, Klinisch-chemische Labordiagnostik für die Praxis, 2. Auflage 1991
- Lothar Thomas, Labor und Diagnose, 6. Auflage
- <http://www.lymeinfo.net/medical/LDSeronegativity.pdf>
17 Seiten mit Fundstellen zu Kultur & PCR-positiven, sero-negativen Fällen von Lyme-Borreliose bis 2003