

Evaluation des Brucella VirClia® IgG/IgM Monotests und des SERION ELISA classic Brucella IgG/IgM als Screeningtests in der Infektserologie

Livia Siegenthaler, 17-20 A

Bildungsgang Biomedizinische Analytik HF

Institut für Infektionskrankheiten IFIK, Immunologie

1. Zusammenfassung

Die Brucellose ist eine Infektion mit Brucellen, sie ist eine weltweit verbreitete Zoonose. Die Erkrankung verläuft beim Menschen meist subklinisch. Um mögliche Organschäden und schwere Komplikationen sowie eine Chronizität zu verhindern, sind gute serologische Tests von zentraler Bedeutung.

Das Ziel der Diplomarbeit ist es, einen geeigneten Brucellen-Screeningtest für die Infektserologie des Instituts für Infektionskrankheiten (IFIK) zu finden und den bisherigen Test zu ersetzen. Beim bisherigen Brucellen-Test handelt es sich um einen Chemilumineszenz-Immunoassay, den Brucella VirClia® IgG/IgM Monotest (VirClia® Monotest). Der neu zu evaluierende Test, der SERION ELISA classic Brucella IgG/IgM, ist ein enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), er wird folglich als SERION ELISA classic abgekürzt. Beide Tests werden mittels BRUCELLACAPT®, einer Mikroagglutinations-Methode verglichen. Während die Sensitivität der beiden Tests gleich ausfällt, zeigt sich der Unterschied in der Spezifität. Der VirClia® Monotest erzielt eine tiefere Spezifität und einen tieferen Cohen's Kappa-Koeffizienten als der SERION ELISA classic. Die Resultate zeigen, dass der neue Test zwar auch bei kreuzreaktiven Proben reagiert, jedoch im Wesentlichen weniger falsch-positive IgM- und IgG-Resultate liefert als der bisherige Test.

2. Einleitung

Brucellen und Brucellose

Brucellen sind intrazelluläre gramnegative Stäbchen, welche Tage bis Wochen in Körperflüssigkeiten, Erde, Wasser, Milch usw. überleben können. Das natürliche Reservoir sind Haus- und Nutztiere [1]. Die Übertragung der Brucellen auf den Menschen erfolgt durch direkten Kontakt mit infizierten Tieren oder indirekt, durch den Verzehr von kontaminierter, nicht pasteurisierter Milch oder Milchprodukten. Die Brucellose kann unspezifische Symptome aufweisen, typisch ist jedoch das undulierende Fieber. Eine Infektion kann schwere Komplikationen mit letalem Ausgang oder eine Chronizität zur Folge haben [2].

Serologische Tests

Serologische Tests, auch Immunoassays genannt, sind Methoden, um eine gesuchte Substanz in geringer Menge aus einer Vielzahl verschiedener Stoffe zu detektieren. Um diese Substanz nachweisen zu können, werden markierte Antikörper eingesetzt, die den Analyten, in diesem Fall das Antigen oder den Antikörper, spezifisch erkennen. Diese Erkennung kann direkt oder indirekt erfolgen.

Als Markierung eignen sich Fluoreszenzfarbstoffe oder Enzyme, die zum Beispiel eine Substratumwandlung in einen Farbstoff bewirken [3].

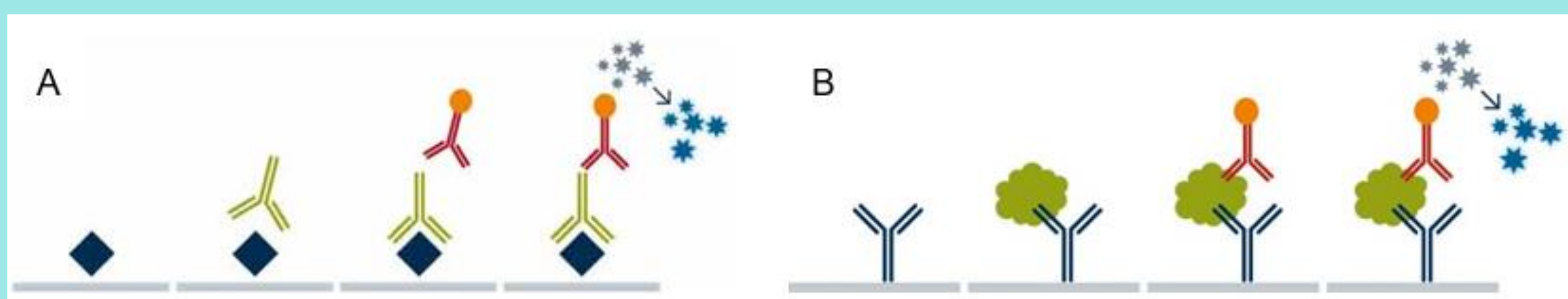


Abb. 2.1 Indirekter Immunoassay mit immobilisierten Antigenen (A) und immobilisierten Antikörpern (B)

3. Ziele und Fragestellungen

1. Stimmt der SERION ELISA classic Brucella IgG/IgM besser mit dem BRUCELLACAPT® überein als der Brucella VirClia® IgG/IgM Monotest? Als Kriterium dafür werden die Sensitivität und die Spezifität, sowie der Cohen's Kappa-Koeffizient der beiden Tests verglichen.
2. Eignet sich der SERION ELISA classic Brucella IgG/IgM als Screening-Methode besser als der Brucella VirClia® IgG/IgM Monotest?

Quellenverzeichnis

- [1] Suerbaum, S., Burchard, G., Kaufmann, S., & Schulz, T. (2016). *Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie* (8. Auflage). Berlin, Heidelberg: Springer.
 [2] Robert Koch Institut. (2015). *RKI-Ratgeber: Brucellose*. Berlin: Robert Koch Institut. Abgerufen am 9.1.2020 von https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Brucellose.html
 [3] Raem, A., & Rauch, P. (2007). *Immunoassays* (1. Auflage). München: Elsevier GmbH, Spektrum. Akademischer Verlag.

Abbildungen

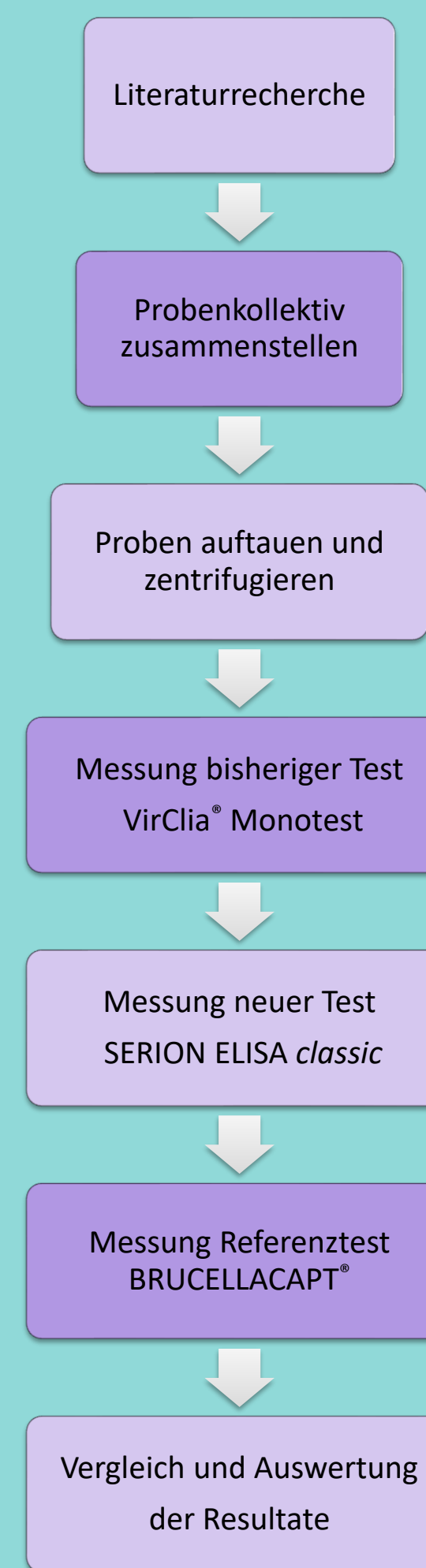
- Abb. 2.1 MEGACOR Diagnostik. (Abgerufen 2020). *Testverfahren MegaELISA® und MegaLINE® Blot*. Abgerufen am 8.3.2020 von https://www.megacor.at/veterinary/test_procedure.html
 Abb. 4.1 Sino Biological. (2007-2020). *Chemiluminescence Western Blot Detection*. Abgerufen am 18.3.2020 von <https://kr.sinobiological.com/chemiluminescence-western-blot.html> (adaptiert)
 Abb. 4.2 Molecular Devices. (2019). *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)*. Abgerufen am 7.3.2020 von <https://de.moleculardevices.com/applications/enzyme-linked-immunosorbent-assay-elisa/overview> (adaptiert)
 Abb. 4.3 Siegenthaler, L. (2020). *Testprinzip BRUCELLACAPT®*. Bätterkinden (eigene Abbildung).

Tabellen

- Tabelle 5.1 Vierfeldertafel: Vergleich VirClia® Monotest und BRUCELLACAPT® alle Proben (eigene Darstellung).
 Tabelle 5.2 Vierfeldertafel: Vergleich SERION ELISA classic und BRUCELLACAPT® alle Proben (eigene Darstellung).

4. Material und Methodik

Vorgehen



Probenkollektiv

Das Probenkollektiv setzt sich aus insgesamt 63 Proben zusammen. Die Seren stammen aus der Routinediagnostik von Patientinnen und Patienten mit dem Verdacht auf eine akute oder chronische Brucellose. Unterteilung des Probenkollektivs:

- 39 retrospektive Proben
- 19 prospektive Proben
- 5 externe Qualitätskontrollen

Material und Methodik

VirClia® Monotest

→ bisheriger Test
Chemilumineszenz-Methode

SERION ELISA classic

→ neuer Test
ELISA-Methode

BRUCELLACAPT®

→ Referenztest
Mikroagglutinations-Methode

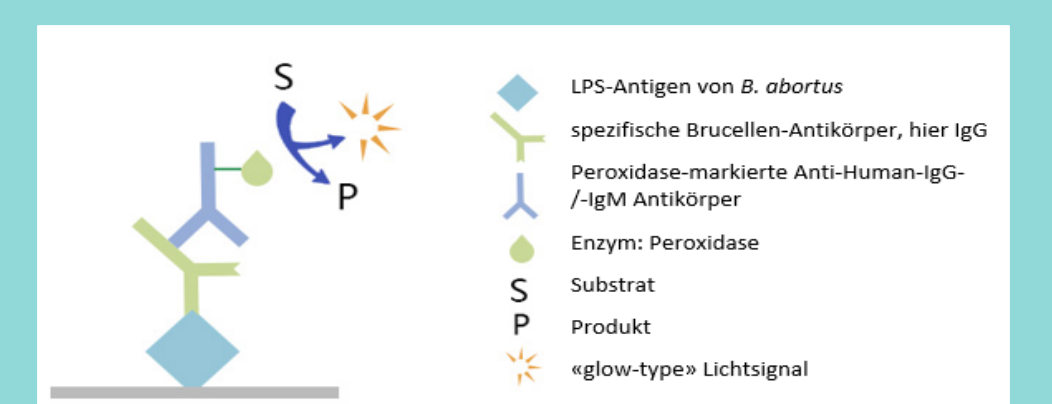


Abb. 4.1 Testprinzip des VirClia® Monotests

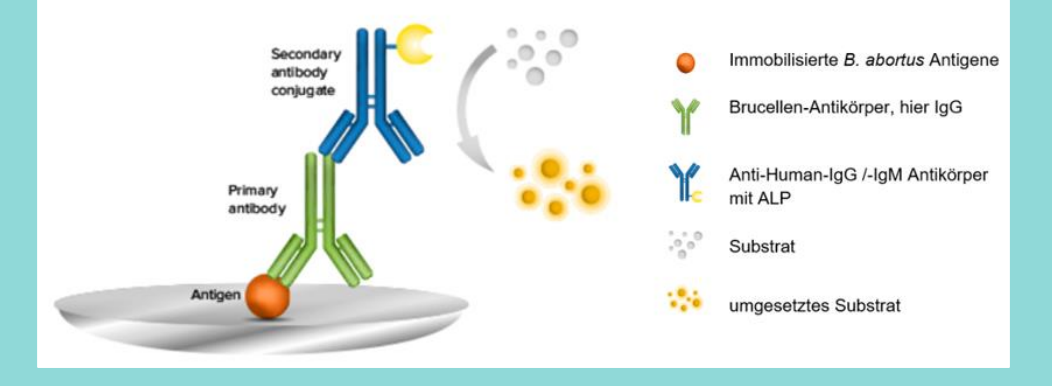


Abb. 4.2 Testprinzip des SERION ELISA classic

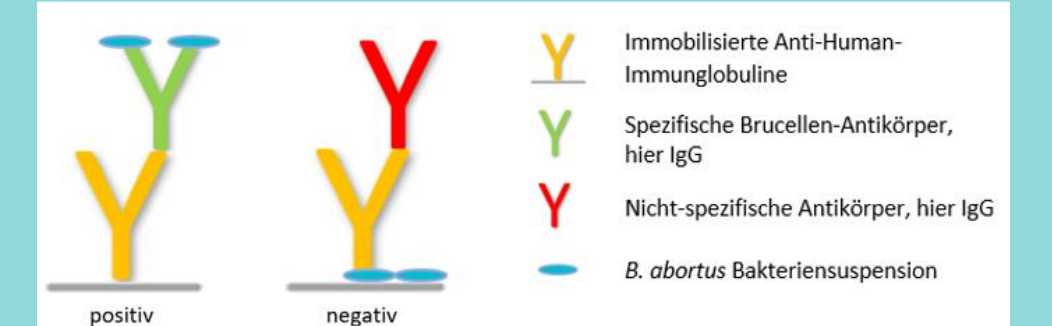


Abb. 4.3 Testprinzip des BRUCELLACAPT®

5. Ergebnisse/Resultate

VirClia® Monotest

Sensitivität: 100%, Spezifität: 66.67%, Cohen's Kappa-Koeffizient: 0.36

Tabelle 5.1 Mit dem Referenztest BRUCELLACAPT® werden 54 der 63 Proben negativ und 9 als positiv getestet. Der VirClia® Monotest misst 36 Proben als negativ und 27 als positiv. Alle 9 BRUCELLACAPT®-positiven Proben werden auch mit dem VirClia® Monotest als positiv gewertet. 36 der 54 BRUCELLACAPT®-negativen Proben misst der bisherige Test als negativ. 18 Proben weisen mit dem VirClia® Monotest ein positives Resultat auf, während der Referenztest einen negativen Wert angibt.

Brucellen-Tests		BRUCELLACAPT®		
		Negativ	Positiv	Total
VirClia® Monotest	Negativ	36	0	36
	Positiv	18	9	27
	Total	54	9	63

SERION ELISA classic

Sensitivität: 100%, Spezifität: 88.89%, Cohen's Kappa-Koeffizient: 0.70

Tabelle 5.2 Der Referenztest BRUCELLACAPT® misst bei 54 von 63 Proben ein negatives und bei 9 ein positives Resultat. 48 Proben ergeben mit dem SERION ELISA classic ein negatives und 15 Proben ein positives Ergebnis. 48 der 54 negativen BRUCELLACAPT® Resultaten sind auch mit dem SERION ELISA classic negativ, 6 Proben fallen positiv aus. Alle 9 Proben, die mit dem BRUCELLACAPT® positiv gemessen werden, ergeben auch mit dem SERION ELISA classic ein positives Resultat.

Brucellen-Tests		BRUCELLACAPT®		
		Negativ	Positiv	Total
SERION ELISA classic	Negativ	48	0	48
	Positiv	6	9	15
	Total	54	9	63

6. Diskussion und Schlussfolgerungen

Beide Tests zeigen eine sehr gute Sensitivität und weisen eher Spezifitätsprobleme im Vergleich zum BRUCELLACAPT® auf. Anhand der sehr hohen Sensitivität, der deutlich besseren Spezifität und der stärkeren Übereinstimmung mit dem BRUCELLACAPT® durch den Cohen's Kappa-Koeffizienten, kann gesagt werden, dass der SERION ELISA classic zum Screenen besser geeignet ist als der VirClia® Monotest.

Es besteht der Verdacht, dass die vielen falsch-positiven Resultate mit dem VirClia® Monotest durch Kreuzreaktionen mit anderen Erregern hervorgerufen werden, bei denen der SERION ELISA classic nicht reagiert. Der neue Test misst weniger falsch-positive Resultate, weshalb er für eine zukünftige Zweistufen-Diagnostik besser geeignet ist. Durch weniger falsch-positive Screening-Resultate müssen auch weniger Proben mit dem Zweittest überprüft werden, was unnötig anfallende Zusatzkosten verhindert.

Outlook

Der SERION ELISA classic wurde im Mai 2020 als neuer Screeningtest im IFIK eingeführt und löste den bisherigen VirClia® Monotest in der Routinediagnostik ab. Das neue Zweistufen-Testsystem wurde mit dem BRUCELLACAPT® als Zweittest ergänzt.