

Diplomarbeit

**Methodenvergleich der Procalcitonin-Bestimmung
durch Latexpartikel-verstärkte Immunturbidimetrie
und Elektrochemilumineszenz-Immunoassay**

eingereicht von

Andreas Jensch

zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktor der gesamten Heilkunde
(Dr. med. univ.)**

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt am

**Klinischen Institut
für Medizinische und Chemische Labordiagnostik**

unter der Anleitung von

**Univ. Prof. Dr. Harald Mangge
Dr. med. univ. Tobias Niedrist**

Graz, 10. Oktober 2020

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, am 10. Oktober 2020

Andreas Jensch eh

Danksagung

Mein Dank gilt Univ. Prof. Dr. Harald Mangge und Univ. Prof. Dr. Markus Herrmann für die konstruktive Unterstützung sowie Univ. Prof. Dr. Elisabeth Mahla für die klinische Beurteilung der PatientInnen und im Besonderen Dr. Tobias Niedrist für die umfassende Begleitung, den produktiven Austausch und seine hilfreichen Ratschläge.

1. Inhaltsverzeichnis

1.	Inhaltsverzeichnis	III
2.	Abkürzungsverzeichnis	V
3.	Abbildungsverzeichnis	VI
4.	Tabellenverzeichnis	VII
5.	Zusammenfassung	1
6.	Abstract.....	2
7.	Einleitung	3
7.1	Prohormon Procalcitonin	3
7.2	Pathophysiologie des PCT.....	4
7.3	PCT als klinischer Marker.....	6
7.4	Dynamik von PCT bei Sepsis	7
7.5	Interpretation der PCT-Konzentration	8
7.6	Prädiktive Anwendung von PCT.....	10
7.7	PCT im Vergleich zu anderen Sepsis-Markern.....	13
7.8	PCT-Messverfahren	17
8.	Methoden.....	21
8.1	Studienziel	21
8.2	Hypothese.....	21
8.3	Probenmaterial.....	22
8.4	Ein- und Ausschlusskriterien.....	22
8.5	Biochemische Analysen	22
8.5.1	Elektrochemilumineszenz-Immunoassay (ECLIA)	23
8.5.2	Latexpartikel-verstärkte Immunturbidimetrie (LETIA).....	25
8.6	Zusätzlich erhobene Daten.....	26
8.7	Statistische Auswertung	27

9.	Ergebnisse.....	30
9.1	Studienpopulation	30
9.2	Qualitativer Vergleich	32
9.3	Quantitativer Vergleich	35
9.3.1	Deskriptive Statistik.....	35
9.3.2	Test auf gleichartige Verteilung	36
9.3.4	Vergleich der Streumaße.....	36
9.3.5	Einfache lineare Regression	37
9.3.6	Passing-Bablok-Regression.....	39
9.3.7	Bland-Altman-Analyse.....	42
9.4	Diagnostische Konkordanzanalyse	44
9.4.1	Diagnostische Übereinstimmung bei vorliegender Sepsis.....	45
9.4.2	Diagnostische Übereinstimmung bei ausgeschlossener Sepsis.....	46
9.4.3	Diagnostische Übereinstimmung bei NotfallpatientInnen	48
9.4.4	Bewertung der Messwerte mit den größten Differenzen.....	49
10.	Diskussion	51
10.1	Limitationen	54
11.	Fazit.....	55
12.	Literaturverzeichnis.....	56

2. Abkürzungsverzeichnis

AB	Antibiotika
cAMP	cyclisches Adenosinmonophosphat
CALC-1	Calcitonin related polypeptide 1
CD26	Cluster of Differentiation No. 26 (Dipeptidyl-Peptidase IV)
CE	Conformité Européenne
CRP	Capsel-reaktives Protein
DPP IV	Dipeptidyl-Peptidase IV
ECLIA	electrochemiluminescence immunoassay
EMA	Europäische Arzneimittel-Agentur (European Medicines Agency)
ESICM	European Society of Intensive Care Medicine
FDA	US Food and Drug Administration
IL-6	Interleukin-6
IL-8	Interleukin-8
LETIA	latex particle-enhanced turbidimetric immunoassay
LKH	Landeskrankenhaus
LoD	Nachweisgrenze (limit of detection)
LoQ	Bestimmungsgrenze (limit of quantification)
PCT	Procalcitonin
POCT	Point-of-Care-Test
qSOFA	Quick Sequential Organ Failure Assessment
SCCM	Society of Critical Care Medicine
SIRS	systemic inflammatory response syndrome
TNF- α	Tumornekrosefaktor- α

3. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schema des Elektrolumineszenz-Immunoassay	24
Abbildung 2: Schema der Latexpartikel-verstärkten Immunturbidimetrie	25
Abbildung 3: Studienpopulation	30
Abbildung 4: Patientenanteil in Altersklassen	31
Abbildung 5: Patientenanteil in intensivmed., stationärer u. amb. Behandlung	31
Abbildung 6: Streudiagramme der PCT-Messwerte	33
Abbildung 7: PCT-Messwertanteil nach Grenzwertbereichen	34
Abbildung 8: Boxplots	37
Abbildung 9: Einfache lineare Regression	38
Abbildung 10: Passing-Bablok-Regression	41
Abbildung 11: Bland-Altman-Plots	43
Abbildung 12: Messwertanteil bei vorhandener Sepsisdiagnose	45
Abbildung 13: Messwertanteil bei ausgeschlossener Sepsis	47
Abbildung 14: Messwertanteil für ambulante NotfallpatientInnen	48
Abbildung 15: Messwertanteil der Fälle mit den größten Differenzen	50

4. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Procalcitonin-Referenzwerte für die Sepsis	9
Tabelle 2:	Empfehlungen zur Einleitung einer AB-Therapie	11
Tabelle 3:	Empfehlungen zur Adaption der AB-Therapie	12
Tabelle 4:	Aussagekraft div. Biomarker in der Sepsisdiagnose	15
Tabelle 5:	automatisierte PCT-Testverfahren	18
Tabelle 6:	Point-of-Care PCT-Testverfahren	20
Tabelle 7:	Herstellerangaben der PCT-Testverfahren	23
Tabelle 8:	PCT-Messwertanteil innerhalb der definierten Grenzwertbereiche	34
Tabelle 9:	Standardparameter der Messwertreihen	35
Tabelle 10:	Einfache lineare Regression.....	39
Tabelle 11:	Passing-Bablok-Regression	40
Tabelle 12:	diagnostische Konkordanz	44
Tabelle 13:	diagnostische Übereinstimmung bei vorh. Sepsisdiagnose	46
Tabelle 14:	diagnostische Übereinstimmung bei ausgeschl. Sepsisdiagnose	47
Tabelle 15:	Gütemaße der Testverfahren f. ambulante Notfallpatienten	49

5. Zusammenfassung

Hintergrund

Die Sepsis ist noch immer eine lebensbedrohliche Erkrankung mit häufig letalem Ausgang. Eine frühzeitige Diagnose und die gezielte Therapie sind daher von großer Bedeutung. In diesem Kontext hat sich das Prohormon Procalcitonin (PCT) als einer der wichtigsten Biomarker in der Routinediagnostik und der Verlaufskontrolle etabliert. Dessen Bestimmung durch die derzeit angewandten Verfahren ist jedoch sehr kostenintensiv und mittels spezieller Analysesysteme nur in größeren Laboren verfügbar.

Ziel und Methodik

Diese Studie stellt einen Methodenvergleich zur PCT-Bestimmung durch den Elektrochemilumineszenz-Immunoassay (ECLIA) als einem der aktuellen Standardverfahren und der Latexpartikel-verstärkten Immunturbidimetrie (LETIA) dar, welche als kostengünstigere Alternative für den Einsatz auf zahlreichen herkömmlichen Analysegeräten entwickelt wurde. Hierfür wurden die über einen Zeitraum von fünf Wochen gewonnenen Blutproben von 320 PatientInnen aus der Routine-PCT-Diagnostik des LKH Graz mittels beider Testverfahren untersucht. Die Analyse der Messergebnisse erfolgte nach qualitativen und quantitativen Gesichtspunkten sowie hinsichtlich der diagnostischen Konkordanz.

Ergebnisse und Ausblick

Beide Verfahren wiesen deutliche Unterschiede in der Verteilung, Streuung und Linearität der PCT-Messwerte auf. Insbesondere im Bereich um die unteren diagnostischen Grenzwerte korrelierte der LETIA nur schlecht mit dem ECLIA, wobei vielfach höhere Messwerte und Grenzwertüberschreitungen ohne klinische Korrelation beobachtet wurden. Darum kann der Einsatz des LETIA unter Anwendung der etablierten klinischen Grenzwerte in der PCT-Diagnostik nicht empfohlen werden. Hilfreich könnte jedoch die Konstituierung eigener Grenzwerte ebenso wie ein einheitlicher Kalibrierstandard sein, um besser vergleichbare Ergebnisse zu erzielen.

6. Abstract

Background

Sepsis still is a life-threatening illness with a frequent lethal outcome. Therefore, an early diagnosis and targeted therapy is of high interest. In this setting, Procalcitonin (PCT) has established itself as one of the most important biomarkers within routine diagnostics and follow-up monitoring. However, its measurement by currently utilised immunoassays is quite costly and available on specific analysis systems in major laboratories only.

Aim and Methods

This study comprises a method comparison for PCT measurement by the electrochemiluminescence immunoassay (ECLIA), one of the present standard methods and the latex particle-enhanced immunoturbidimetric assay (LETIA), that was developed as an alternative method for application on several common clinical chemistry analysers. For this purpose, serum samples from routine PCT diagnostics of 320 patients at the LKH Graz were collected within five weeks and tested by both assays. Analysis was carried out in terms of qualitative and quantitative aspects and concerning their diagnostic concordance.

Results and Prospect

Both methods showed significant differences in distribution, dispersion and linearity of the PCT values. Especially in the range of the lower cut-offs a poor correlation of the LETIA to corresponding ECLIA results was observed with numerous cut-off limit exceedances that lacked clinical correlations. Hence, utilising the established clinical cut-off values, the latex particle-enhanced immunoturbidimetric assay could not be recommended for routine PCT determination. A configuration of specific cut-off values and the implementation of a calibration standard might help to get more comparable results.

7. Einleitung

Procalcitonin (PCT) hat sich als einer der wichtigsten Parameter in der Diagnostik, der Verlaufskontrolle sowie als Indikator der Antibiotika-Therapie bei schweren bakteriellen Infektionen, der Sepsis und dem septischen Schock etabliert.

7.1 Prohormon Procalcitonin

Das Prohormon des Calcitonins mit einer molekularen Masse von etwa 13 kDa wird unter physiologischen Bedingungen in den C-Zellen der Schilddrüse gebildet. Das Protein wird durch das CALC-1 Gen (Calcitonin Gene-related Peptide-1) auf dem Chromosom 11 codiert. Durch intrazelluläre, proteolytische Enzyme wird hieraus das aus nurmehr 32 Aminosäuren bestehende Peptidhormon Calcitonin gespalten, welches als Gegenspieler des Parathormons den Kalzium- und Phosphathaushalt des Körpers reguliert [1,2].

Die Bildung von Calcitonin aus einem Prohormon konnte erstmals 1975 durch eine Forschungsgruppe um F. Moya nachgewiesen werden. Diese hatte durch radioaktiv markierte Leucin-Aminosäuren ein Vorläuferhormon des Calcitonins mit einem höheren Molekulargewicht im ultimobranchialen Körper von Hühnern isolieren können, die im Vergleich zur Schilddrüse bei höheren Vertebraten eine deutlich höhere Konzentration Calcitonin-produzierender Zellen (C-Zellen) aufweist [3]. 1980 konnte durch Jacobs et al. die Struktur dieses Prohormons Procalcitonin mittels einer Nukleotidsequenzierung aus Schilddrüsen von Ratten analysiert werden [4].

Neben den C-Zellen der Schilddrüse sind allerdings auch zahlreiche weitere Gewebe in der Lage, PCT zu bilden. Genannt werden hier neuroendokrine Zellen in Lunge und Interstitium, der Bauchspeicheldrüse und der Leber sowie auch Nieren-, Fett- und Muskelzellen [5,6]. Diese ubiquitäre Synthese von PCT ist erstmals im Jahr 2000 durch Müller et al. beschrieben worden [7].

Unter physiologischen Bedingungen ist jedoch die PCT-Synthese außerhalb der Schilddrüse unterdrückt. Gesunde Personen weisen darum nur geringe Konzentrationen im Blutplasma auf. Neben der vermehrten Bildung durch calcitoninproduzierende Tumoren, wie dem medullären C-Zell-Karzinom der Schilddrüse, werden hingegen im Rahmen von generalisierten bakteriellen Infektionen, aber auch bei Pilzinfektionen sowie schweren Traumata deutliche Anstiege der PCT-Konzentration im Blutplasma beobachtet [8-10].

7.2 Pathophysiologie des PCT

Die Pathophysiologie hinter dieser vermehrten, ubiquitären PCT-Sekretion ist bis heute weitgehend ungeklärt. Diskutiert werden u.a. Bildungsreize durch Endotoxine und bakterielle Lipopolysaccharide. Es wird davon ausgegangen, dass PCT vor allem von adhärennten Monozyten während der initialen unspezifischen Immunantwort als chemotaktisches Zytokin freigesetzt wird. In frei zirkulierenden Monozyten wird hingegen kein PCT gebildet [11]. Dies könnte erklären, warum die PCT-Konzentrationen vorwiegend bei bakteriellen Infekten und Traumata mit umfangreichen Gewebeverletzungen signifikant ansteigen. Hier steht eine Monozyten-vermittelte Immunantwort im Vordergrund. Demgegenüber bleibt bei Virusinfekten, Organ-Abstoßungsreaktionen oder auch Autoimmunerkrankungen ein deutlicher PCT-Anstieg aus, da die Immunreaktion hier in erster Linie durch freie Lymphozyten und T-Zellen erfolgt [8].

Das durch das CALC-1 Gen auf dem Genlokus 11p15.4 codierte Protein wird zunächst zu einem Prä-Procalcitonin mit 141 Aminosäuren translatiert. Mittels einer Signalpeptidase wird dies zum Procalcitonin (PCT) mit einem Umfang von 116 Aminosäuren (12,8 kDa) prozessiert, welches schließlich nach Abspaltung der ersten beiden Aminosäuren Alanin und Prolin am N-terminalen Ende durch die Dipeptidyl-Peptidase IV (DPP IV/CD26) seine finale Form mit 114 Aminosäuren (12,6 kDa) erhält [1].

Der höchste Anteil des Procalcitonins in seiner Frühform (PCT₁₁₆) wird zeitnah mit dem Auftreten eines systemischen bakteriellen Infekts beobachtet. Mit fortdauernder Infektion nimmt jedoch die Spätform (PCT₁₁₄) den dominanten Anteil des zirkulierenden Procalcitonins ein. Insbesondere bei schweren Infektionen mit hohen PCT-Konzentrationen wird die Frühform von dieser nahezu vollständig verdrängt. Ein Unterschied in der Aktivität oder Wirkung der beiden PCT-Varianten ist bisher jedoch nicht festgestellt worden [12].

Welche Bedeutung dem PCT bei der Infektabwehr zukommt, ist noch immer ein Forschungsbestandteil. Dennoch sind bereits mehrere biologische Funktionen im Rahmen der Immunantwort beschrieben worden. Dazu zählen Einflüsse auf die Monozytenmigration, die Vasomotilität und die Zytokinexpression, die eine modulierende Rolle des Procalcitonins im aktivierten Immunsystem nahelegen [8,10,13].

Als eine der Hauptfunktionen wird der chemotaktile Effekt für Monozyten angenommen. Es wurde nachgewiesen, dass PCT wie auch das Hormon Calcitonin die Migration von Monozyten induziert und deren Adhäsion an das Zielgewebe begünstigt. Die Chemotaxis nimmt jedoch mit steigender Konzentration ab. Darüber hinaus wird in Gegenwart höherer PCT-Konzentrationen auch die chemotaktile Wirkung anderer inflammatorischer Mediatoren inhibiert. In dem komplexen Prozess der chemokingesteuerten Zellmigration scheint PCT vor allem eine antagonistische Rolle einzunehmen und über desensitivierende Prozesse die Monozytenmigration einzubremsen, um damit die Abwehrzellen am Ort des Geschehens zu halten [5].

Da Procalcitonin als Prohormon alle Strukturen des Calcitonins enthält, wird angenommen, dass dieses über denselben Calcitonin-Rezeptor seine Wirkung entfaltet und damit spezifisch die Aktivität der Monozyten beeinflusst. Die Aktivierung dieses G-Protein-gekoppelten Rezeptors regt im Speziellen die cAMP-Bildung innerhalb der Zelle an. Erhöhte cAMP-Spiegel in Monozyten nach PCT-Stimulation unterstützen diese Annahme. Wiedermann et al. schlussfolgern danach eine ähnliche Signalkaskade, wie sie zuvor für neutrophile Granulozyten beschrieben wurde [5].

Bei diesen führt die Bindung an IL-8 zu einer intrazellulären Akkumulation von cAMP, was schließlich einen inhibierenden Effekt auf die Zellmigration hat. Gleichzeitig wurde jedoch auch für neutrophile Granulozyten eine Stimulation der Migration durch einen cAMP-Anstieg in einem engen Konzentrationsverhältnis nachgewiesen [14,15]. So hat offenbar auch PCT eine dosisabhängige aktivierende und inhibierende Wirkung auf Monozyten.

Weiterhin ist ein experimenteller Nachweis auf den Einfluss der induzierbaren Genexpression der Stickoxidsynthase und damit der NO-Freisetzung in Gefäßmuskelzellen erbracht worden. Hier haben niedrige PCT-Spiegel einen inhibierenden Effekt, während in TNF- α -aktivierten Gefäßmuskelzellen eine Stimulation der NO-Synthese und der Vasodilatation beobachtet werden konnte [13,16].

Auf die Lipopolysaccharid-getriggerte TNF- α -Synthese in frei zirkulierenden Leukozyten und in der Gefäßmuskulatur konnte durch PCT ein hemmender Einfluss nachgewiesen werden. Damit scheint das Prohormon hier als Gegenspieler des Zytokins TNF- α eine fortwährende Aktivierung der Immunreaktion zu unterbinden und in gewissem Umfang eine Rückmeldung auf die erfolgte Immunantwort zu geben [17,18].

7.3 PCT als klinischer Marker

Auf Grund des Anstiegs der PCT-Konzentration im Blutplasma im Rahmen von generalisierten bakteriellen und mykotischen Infektionen, nicht jedoch bei viralen Infekten, ist PCT einer der wichtigsten diagnostischen Marker für diese Erkrankungen. Bereits 1993 konnte dieser Umstand in einer Studie durch Assicot et al. beobachtet werden [19]. Seither ist PCT insbesondere zur Beurteilung einer Sepsis und septischen Schocksymptomatik zu einem unverzichtbaren Parameter in der Intensivmedizin geworden. Neben den klinischen Symptomen stellt PCT einen nützlichen Indikator für den Schweregrad, auch bei akuter Pankreatitis, schweren artifiziellen Atemwegsinfekten oder beatmungsinduzierten Pneumonien dar. Nicht

zuletzt kann der PCT-Spiegel über den Verlauf auch zur Überwachung der Aktivität einer systemischen Entzündungsreaktion sowie zur Evaluation des Therapieerfolges herangezogen werden. Für die Adaption der Antibiotika-Therapie bietet er eine wichtige Entscheidungshilfe und darüber hinaus lassen sich im Vergleich zu anderen Markern mit PCT wesentlich genauere Prognosen für den Krankheitsverlauf stellen [8].

Da bei viralen Infekten und chronischen Entzündungen ein signifikanter Anstieg ausbleibt, kann PCT hier zur Unterscheidung herangezogen werden. Dies muss jedoch unter Ausschluss anderer Ursachen erfolgen. Während bei kleineren, lokalen Infektionen kaum erhöhte PCT-Konzentrationen gemessen werden, können schwere Traumata wie Brandwunden mit umfangreichen Gewebeverletzungen oder auch größere chirurgische Eingriffe sowie Tumorerkrankungen, Transplantat-Abstoßungsreaktionen und ein kardiogener Schock signifikant erhöhte PCT-Spiegel zur Folge haben, ohne dass eine bakterielle oder mykotische Infektion vorliegt. Hierbei werden allerdings selten Werte von mehr als 2,0 ng/ml gemessen. Im Rahmen eines prolongierten kardiogenen Schocks, einer schweren Pankreatitis oder Rhabdomyolyse sowie auch nach Lebertransplantationen können jedoch auch höhere Werte auftreten [10].

7.4 Dynamik von PCT bei Sepsis

Im Vergleich zu anderen Markern (siehe Kapitel 7.7) steigt die PCT-Konzentration im Blutplasma bei septischen Erkrankungen frühzeitig an. Bereits in den ersten 2 bis 4 Stunden einer Sepsis kann eine signifikante Elevation des Plasmaspiegels beobachtet werden [10]. Dies geht in erster Linie auf die PCT-Sekretion der adhärennten Monozyten zurück. Im experimentellen Setting ist hier eine vermehrte Bildung von PCT im Zeitraum von 3 bis 5 Stunden nach deren Adhäsion an das Zielgewebe, wie beispielsweise Fettgewebe nachgewiesen worden. In frei zirkulierenden Monozyten konnte hingegen keine PCT-Synthese induziert werden [11].

Während die PCT-Synthese in den Monozyten hernach wieder abfällt, ist der Peak im Blutplasma nach etwa 24 bis 48 Stunden zu erwarten. Unter einer adäquaten Therapie fällt die Plasmakonzentration gewöhnlich innerhalb von 36 bis 42 Stunden um etwa 50 % ab. PatientInnen mit schweren Nierenfunktionsstörungen zeigen jedoch auch deutlich prolongierte Regressionen. Es kommt aber auch hier nicht zu einer Akkumulation des Plasma-Procalcitonins [10].

Eine Ausnahme, für die es bisher keine plausiblen Erklärungsmodelle gibt, stellt der physiologische Anstieg bei Neugeborenen dar. Postnatal werden bei gesunden Neugeborenen häufig elevierte PCT-Spiegel beobachtet. Auch hier ist der Peak üblicherweise nach 24 Stunden erreicht und es folgt in der Regel ein gradueller Abfall auf Werte von weniger als 0,5 ng/ml nach 48 bis 72 Stunden [10,20].

7.5 Interpretation der PCT-Konzentration

Zur Interpretation der PCT-Spiegel werden für verschiedene Infekterkrankungen unterschiedliche Grenzwerte beschrieben. Eine Standardisierung haben diese Grenzwerte bisher nicht erfahren. Generell jedoch korreliert der Anstieg der PCT-Konzentration mit dem Schweregrad der Erkrankung.

Das physiologische Level liegt mit Werten von $< 0,1$ ng/ml sehr niedrig. Auch in Begleitung anderer möglicher Ursachen kann eine bakterielle Infektion bei Werten unterhalb von 0,2 ng/ml praktisch ausgeschlossen werden. In jedem Fall sind PCT-Konzentrationen mit mehr als 0,5 ng/ml signifikant erhöht und deuten bei fehlenden Differentialdiagnosen auf eine generalisierte bakterielle oder mykotische Infektion hin. Während andere Ursachen selten einen Anstieg auf mehr als 2,0 ng/ml zur Folge haben, kann bei höheren Werten das Vorliegen einer Sepsis mit hoher Wahrscheinlichkeit angenommen werden (vergl. Tabelle 1). Je nach Ausprägung der Sepsis bis hin zum septischen Schock können hier auch Werte deutlich über 10 ng/ml gemessen werden [10].

PCT-Konzentration	Befundinterpretation
< 0,1 ng/ml	bakterielle Infektion sehr unwahrscheinlich
≥ 0,1 - < 0,2 ng/ml	bakterielle Infektion eher unwahrscheinlich
≥ 0,2 - < 0,5 ng/ml	bakterielle Infektion möglich
≥ 0,5 ng/ml	generalisierte bakterielle Infektion sehr wahrscheinlich
≥ 1,0 ng/ml	bakterielle Sepsis liegt mit erhöhter Wahrscheinlichkeit vor
≥ 2,0 ng/ml	bakterielle Sepsis liegt mit hoher Wahrscheinlichkeit vor

Tabelle 1: Procalcitonin-Referenzwerte für die bakterielle Sepsis nach Meisner [8]

Zur Sepsis-Diagnose reicht der PCT-Wert allein jedoch nicht aus. Für das lebensbedrohliche Multiorganversagen auf Grund einer systemischen Infektion sind mehrere Definitionen mit zum Teil unterschiedlichen Diagnosekriterien in Gebrauch. Dabei ist jedoch immer die klinische Präsentation der PatientInnen ausschlaggebend. Dies wurde auch nach der Neudefinition der Sepsis durch eine internationale Arbeitsgruppe der European Society of Intensive Care Medicine (ESICM) und der Society of Critical Care Medicine (SCCM) für die im Jahr 2016 entwickelten Diagnosekriterien der „Sepsis-3“ mittels des qSOFA-Scores, basierend auf Glasgow Coma Scale, systolischem Blutdruck und Atemfrequenz, beibehalten [21,22].

Dennoch hat die PCT-Konzentration für den Ausschluss einer bakteriellen Sepsis einen hohen negativ prädiktiven Wert. Ein fehlender Anstieg der PCT-Plasmakonzentration über definierte Grenzwerte schließt das Vorliegen einer Sepsis bei entsprechender Klinik jedoch nicht notwendigerweise aus [10].

7.6 Prädiktive Anwendung von PCT

Die Sepsis stellt eine lebensbedrohliche Komplikation in der intensivmedizinischen Behandlung kritisch kranker PatientInnen dar. Häufig zeigen diese nur unspezifische Symptome. Für ein günstiges Outcome ist jedoch eine frühzeitige, gezielte Therapie notwendig, welche eine zeitnahe Diagnose bedingt. Dabei wird für PatientInnen im septischen Schock jede Stunde ohne adäquate Antibiotika-Therapie mit einem Abfall der Überlebensrate um 7 % assoziiert [23].

In diesem Kontext bietet PCT eine wichtige labordiagnostische Unterstützung. Es besitzt einen hohen negativ prädiktiven Wert für den Ausschluss einer bakteriellen oder mykotischen Sepsis. Daneben haben hohe PCT-Werte ebenfalls einen hohen positiv prädiktiven Wert zur Bestätigung der Verdachtsdiagnose und der Blutplasmaspiegel kann helfen, den Schweregrad der Erkrankung einzuschätzen (vergl. Kapitel 7.7).

Die Einleitung einer antibiotischen Therapie wird jedoch vordergründig nach der Beurteilung der klinischen Präsentation der PatientInnen empfohlen, auch wenn initial niedrige PCT-Werte erhoben werden. Eventuell kann die Antibiotika-Therapie frühzeitig abgesetzt werden. Dies sollte jedoch nur nach einer Verlaufskontrolle erfolgen. Eine einmalige Messung des PCT-Spiegels hat hier nur wenig Aussagekraft. Für PatientInnen in intensivmedizinischer Behandlung wird dazu ein Monitoring alle 48 bis 72 Stunden empfohlen. Klinisch kritische PatientInnen sollten dagegen täglich nachkontrolliert werden und bei suspekt septischer Präsentation mit initial niedrigen PCT-Werten wird für klinisch kritische PatientInnen eine Wiederholungsmessung schon nach 6 bis 12 Stunden angeraten [9,10].

Von Vorteil hat sich in mehreren Studien eine PCT-gestützte Antibiotika-Therapie erwiesen, womit die Dauer der Antibiotika-Gabe als auch die Liegezeit der PatientInnen auf Intensivstationen um mehrere Tage verringert werden kann. Für ambulant behandelte PatientInnen, insbesondere PatientInnen mit akuten Atemwegsinfekten, steht hier die Reduktion unnötig verabreichter Antibiotika und

dadurch verursachter Nebenwirkungen im Vordergrund. Stationär betreute PatientInnen profitieren darüber hinaus von einer gezielt adaptierten Therapie und häufig verkürzten Heilungsverläufen [9,10,24].

Für die Einleitung und auch die Adaption einer Antibiotika-Therapie hat sich ein PCT-gestütztes Therapieschema, ein sogenanntes Antibiotic-Stewardship-Programm als nützliches Werkzeug etabliert. Danach wird die Einleitung einer antibiotischen Therapie erst bei signifikant erhöhten PCT-Spiegeln mit Werten von mehr als 0,5 ng/ml empfohlen. In jedem Fall sollte bei deutlich darüber hinaus erhöhten Konzentrationen, denen eine septische Erkrankung mit erhöhter Wahrscheinlichkeit zu Grunde liegt (vergl. Tabelle 1), eine antibiotische Therapie begonnen werden. Dennoch wird davon abweichend auch in kritischen Situationen, die einer unmittelbaren Handlung bedürfen, eine Antibiotika-Gabe bei Konzentrationen von weniger als 0,5 ng/ml angeraten (siehe Tabelle 2) [10,25,26].

PCT-Konzentration	Empfehlung
< 0,25 ng/ml	Antibiotika-Gabe ausdrücklich nicht empfohlen
≥ 0,25 - < 0,5 ng/ml	Antibiotika-Gabe nicht empfohlen
≥ 0,5 - < 1,0 ng/ml	Antibiotika-Gabe empfohlen
≥ 1,0 ng/ml	Antibiotika-Gabe dringend empfohlen

*Nicht anzuwenden in Situationen, die einer unverzüglichen Therapie bedürfen

Tabelle 2: Empfehlungen zur Einleitung einer AB-Therapie nach PCT-Spiegel*, adaptiert nach Meisner und Bouadma et al. [8,25]

Da der PCT-Spiegel auf eine adäquate Therapie und die rückläufige Entzündungsreaktion hin rasch abfällt, können die Verlaufswerte als gute Indikatoren für den Therapieerfolg herangezogen werden. Nach einem Abfall auf Werte unterhalb von 0,25 ng/ml, die ein bakteriämisches Geschehen unwahrscheinlich werden lassen, sollte die Antibiotika-Therapie abgesetzt werden. Daneben wird auch ein Abfall um mindestens 80 % des zuvor erhobenen Maximalwertes als Therapieerfolg gewertet. Insbesondere wenn der PCT-Spiegel wieder unterhalb von 0,5 ng/ml liegt, kann die Antibiotika-Therapie beendet werden. Andernfalls wird die Fortführung empfohlen. Ein

weiterer Anstieg der PCT-Konzentration nach Einleitung einer antibiotischen Therapie, ausgehend von Werten oberhalb des Grenzwertes von 0,5 ng/ml bei einer Folgemessung nach wenigstens 24 Stunden spricht dagegen für ein Therapieversagen. In diesen Fällen ist die Erweiterung des antibiotischen Wirkspektrums und der Wechsel auf andere Antibiotika dringend anzuraten (siehe Tabelle 3) [24,27].

PCT-Konzentration	Empfehlung
< 0,25 ng/ml	Absetzen der Antibiotika dringend empfohlen
Abfall um min. 80 % d. Maximalwertes oder ≥ 0,25 - < 0,5 ng/ml	Absetzen der Antibiotika empfohlen
Abfall um weniger als 80 % d. Maximalwertes und ≥ 0,5 ng/ml	Fortführung der Antibiotika-Therapie empfohlen
Anstieg und ≥ 0,5 ng/ml	Wechsel der Antibiotika-Therapie dringend empfohlen

Tabelle 3: Empfehlungen zur Adaption der AB-Therapie nach PCT-Verlaufskontrolle, adaptiert nach Meisner und Bouadma et al. [8,25]

Die Anwendung dieser Therapie-Schemata hat in diversen Studien zumindest vergleichbare Erfolgsraten gegenüber einer auf bestimmte Tage festgelegten Verabreichungsdauer von Antibiotika gezeigt. Ein erhöhtes Risiko oder anderweitige Nachteile für die Betroffenen konnte dabei nicht festgestellt werden. Der wichtigste Aspekt einer PCT-gestützten Antibiotika-Therapie ist jedoch in einem rationaleren Antibiotika-Einsatz zu sehen. Während die Reduktion von Begleiterscheinungen und eine kürzere Therapiedauer für einen Teil der PatientInnen einen direkten Vorteil bringt, profitieren PatientInnen und medizinische Einrichtungen von einem sparsamen Einsatz wichtiger Reserve-Antibiotika auf lange Sicht gleichermaßen [24].

Die genannten Schemata sind jedoch nicht geeignet für PatientInnen ohne signifikante PCT-Antwort sowie für PatientInnen, deren essentielle Behandlung in der Therapie einer lokalen Infektion eines Vitalorgans (z.Bsp. Endokarditis oder Ventrikulitis) besteht. Ebenso können immunsupprimierte PatientInnen einer Fortführung der antibiotischen Therapie bedürfen. Darüber hinaus ist ein solches Behandlungsschema bei Infekten durch langsam wachsende Mikroorganismen mit verzögerter Immunantwort (z.Bsp. Osteomyelitis, Tuberkulose etc.) wie auch bei nachgewiesenen bakteriellen Infektionen ohne Fokus inadäquat und sollte bei diesen PatientInnen nicht zur Anwendung kommen [10].

7.7 PCT im Vergleich zu anderen Sepsis-Markern

Neben PCT sind in der klinischen Routine auch einige andere Marker für die Diagnose und Verlaufskontrolle septischer Entzündungsreaktionen in Gebrauch. Auf Grund des verschiedenen Wirkprofils, ihrer Ausschüttung durch andere Zelltypen, häufig auch in unterschiedlichen Phasen der Immunantwort lassen sich damit vielfältige Informationen über den Ablauf einer inflammatorischen Reaktion gewinnen. Da der frühzeitigen Diagnose schwerwiegender Erkrankungen wie der Sepsis eine hohe Bedeutung zukommt, ist eine zeitnahe Reaktion auf das Infektgeschehen bei diesen Markern von besonderem Interesse.

Ein vielfach genutzter Entzündungsparameter ist das Akute-Phase-Protein CRP. Da jedoch zahlreiche Ursachen einen CRP-Anstieg bedingen können, ist dessen Spezifität für die Sepsisdiagnose nur sehr gering. Darüber hinaus zeigen die Plasmaspiegel keine Korrelation zum Schweregrad einer inflammatorischen Reaktion und durch den stark verzögerten Anstieg, der Peak wird oft erst nach mehreren Tagen erreicht, sowie auch die prolongierte Regression auf physiologische Level, die sich über bis zu 1-2 Wochen hinziehen kann, eignet sich der CRP-Spiegel nicht als Marker in der intensivmedizinischen Behandlung kritisch kranker PatientInnen.

Laktat ist ein weiterer Biomarker, der zeitweilig in der Sepsis-Diagnostik eingesetzt wurde. Doch auch dieser zeigt das inflammatorische Geschehen nicht frühzeitig an. Er ist außerdem wenig spezifisch und kann nicht zur Unterscheidung eines septischen oder nicht-septischen Schocks herangezogen werden. Vordergründig dient Laktat als Marker für einen beeinträchtigten oxidativen Energiestoffwechsel und liefert damit Hinweise auf Perfusionsabnormalitäten und Ischämien. Diese sind häufig Begleiterscheinungen von Organdysfunktionen, insbesondere auch im Rahmen einer Sepsis. Darum sind nach signifikant erhöhten Laktat-Anstiegen die Möglichkeiten einer therapeutischen Intervention unter Umständen schon limitiert. Das Glukose-Abbauprodukt ist daher für die Diagnose einer beginnenden Sepsis ungeeignet [28].

Proinflammatorische Zytokine wie das IL-6 oder IL-8 werden dagegen sehr rasch auf eine Entzündungsreaktion hin ausgeschüttet. Diese können schon 1 bis 2 Stunden nach dem Beginn einer Sepsis in deutlich erhöhten Konzentrationen gemessen werden. Dabei entspricht der Anstieg auch dem Ausprägungsgrad der Entzündungsreaktion und kann zur Einschätzung des Schweregrades einer Sepsis sowie für eine Verlaufsprognose Hinweise liefern. Einschränkungen bestehen jedoch in der Spezifität für bakterielle Infektionen, da auch bei Entzündungsreaktionen anderer Ursachen erhöhte Plasmakonzentrationen auftreten. Im Gegensatz zu PCT werden diese proinflammatorischen Zytokine auch bei lokalen Infekten vermehrt freigesetzt, während ihre Bildung durch eine Immunsuppression unterdrückt wird und ihre Auswertung für diese PatientInnen nicht herangezogen werden kann. Die Marker IL-6 und IL-8 werden vor allem in der Diagnostik der neonatalen Sepsis angewandt, da der PCT-Spiegel im postnatalen Kontext nur eingeschränkt beurteilbar ist (siehe Kapitel 7.4). Darüber hinaus wird bei den Interleukinen häufig ein rascher Abfall von einem Peak-Level beobachtet, ohne dass dafür eine klinische Korrelation besteht. Zur Adaption einer antibiotischen Therapie sind diese Marker darum weniger geeignet [10,29].

Neben den genannten Parametern wird auch der Tumornekrosefaktor TNF- α frühzeitig im Rahmen einer Sepsis in erhöhten Konzentrationen gemessen. Die Aufgaben des TNF- α innerhalb der Immunantwort umfassen vielfältige Stimulationen sekundärer Mediatoren. Unter anderem wird dem proinflammatorischen Zytokin auch eine Rolle in

der Stimulationskaskade der ubiquitären PCT-Synthese zugeschrieben [26]. Insbesondere während der Akutphase der Immunreaktion stellt TNF- α eine treibende Kraft hinter dem Zytokinsturm dar, der mit dem Beginn einer Sepsis assoziiert ist. Der Anstieg der Plasmakonzentration deutet auch hier auf den Schweregrad der Erkrankung hin. Eine hohe Spezifität für die Sepsis besitzt TNF- α jedoch nicht und die Verlaufswerte sind ebenfalls nicht zur Einschätzung der klinischen Entwicklung oder des Therapieerfolges geeignet [29].

Im Vergleich zu anderen Entzündungsparametern erfüllt PCT die Kriterien der klinischen Anwendung zur Detektion einer bakteriellen Infektion bei klinisch kritischen PatientInnen am besten. Für die Sepsisdiagnose weist PCT die höchste Sensitivität, Spezifität sowie die höchsten positiv als auch negativ prädiktiven Werte auf. In Tabelle 4 ist eine Übersicht dieser Werte für eine Auswahl dieser Marker nach einer Studie durch Balcı et al. zusammengefasst. Hierfür wurde über einen Zeitraum von 6 Monaten eine Kohorte von 33 PatientInnen evaluiert, die nach den damaligen Kriterien der Society of Critical Care Medicine die Diagnose SIRS, Sepsis oder septischer Schock erhalten hatten und sich für wenigstens 24 Stunden in intensivmedizinischer Behandlung befanden [30].

Parameter	CRP	TNF-α	IL-6	IL-8	PCT
Sensivität	58 %	55 %	51 %	68 %	85 %
Spezifität	58 %	66 %	53 %	57 %	91 %
negativ prädiktiver Wert	68 %	65 %	56 %	69 %	95 %
positiv prädiktiver Wert	53 %	54 %	42 %	53 %	89 %

Tabelle 4: Aussagekraft div. Biomarker in der Sepsisdiagnose n. Balcı et al. [30]

Auf Grund des frühzeitigen PCT-Anstiegs, entsprechend des Ausprägungsgrades einer generalisierten bakteriellen oder mykotischen Infektion lässt sich mittels der Plasmakonzentration eine Risikoabschätzung für PatientInnen mit Sepsis, schwerer Sepsis und septischem Schock vornehmen. Durch die rasche Anpassung an die

klinische Situation können die PCT-Verlaufswerte darüber hinaus auch als Indikator für den Krankheitsverlauf sowie für den Therapieerfolg und als Entscheidungshilfe für die Adaption der antibiotischen Therapie herangezogen werden.

Dennoch ist auch der Einsatz des Procalcitonins durch zahlreiche Komorbiditäten limitiert. Diese Einschränkungen versucht man mit Hilfe anderer Parameter zu umgehen. In den vergangenen Jahren sind vermehrt neue Indikatoren untersucht worden, die zum Teil vielversprechende Anhaltspunkte für einen diagnostischen Einsatz gezeigt haben. Dazu zählen beispielsweise das δ -Globin oder der Granularitäts-Index. Für einen klinischen Einsatz haben sich diese bisher jedoch nicht etablieren können [31].

Zuletzt hat sich die Suche nach Aussagekräftigen Indikatoren auf weitere Zytokine aus dem pro- als auch dem anti-inflammatorischen Wirkungskreis sowie auf andere Entzündungsmediatoren konzentriert, durch die man sich genauere Hinweise auf den inflammatorischen Verlauf erhofft. So wird unter anderem einigen weiteren Interleukinen, dem Kallistatin, Testican-1, Presepsin oder auch dem Pro-Adrenomedullin ein diagnostisches Potential zugeschrieben. Für den Routineeinsatz kommen alle diese Marker bisher jedoch nicht in Frage [29,32]. Zum Teil ist deren Rolle innerhalb der Immunantwort auch noch weniger bekannt, als jene des Procalcitonins.

Verschiedene Ansätze und Bildungsorte dieser Signalstoffe bieten jedoch die Möglichkeit Limitationen einzelner Indikatoren auszugleichen. Vielversprechend scheint die Auswertung einer Kombination mehrerer Biomarker. Dies könnte über den Fortgang der Immunreaktion präzisere Informationen liefern, als dies durch einen einzelnen Marker allein abzuschätzen ist. Für einen breiten klinischen Einsatz, in einem möglichst ökonomischen Rahmen, sind hier aber noch weiterer Untersuchungen notwendig.

7.8 PCT-Messverfahren

Zur Interpretation der Messwerte und der darauf basierenden Therapieentscheidungen bedarf es ausreichend akkurater Testverfahren. Für die PCT-Bestimmung gibt es jedoch keine einheitliche Methode. Der einst manuell durchgeführte Test ist inzwischen von automatisierten Messverfahren abgelöst worden und hat damit Einzug in die klinische Routinediagnostik finden können [33].

Ausgehend von einem Lumineszenz Immunoassay (LIA) wurde dazu ein Verfahren nach der time-resolved amplified cryptate emission (TRACE) Methode entwickelt, welches als erstes automatisiertes PCT-Messverfahren eine Zulassung durch die FDA erhielt. Auf diesem, durch die Firma BRAHMS vertriebenen Labortest beruhen sämtliche Studien der letzten Jahre und mit diesem Verfahren sind auch die für den klinischen Einsatz etablierten Grenzwerte ermittelt worden. Die Methode mittels zeitverzögerter kryptatverstärkter Fluoreszenzemission stellt mit einer Nachweisgrenze (LoD) von 0,02 ng/ml ein sehr sensibles Messverfahren dar, welches ohne Substratverdünnung für einen Konzentrationsbereich bis 1000 ng/ml valide Ergebnisse liefern kann [34].

Daneben haben in der letzten Dekade weitere Diagnostikunternehmen, vorwiegend in Partnerschaft mit BRAHMS, unter Anwendung verschiedener Methoden und Antikörper zusätzliche PCT-Messverfahren für ihre Analysesysteme entwickelt. Dazu zählt ein chemiluminescence immunoassay (CLIA), ein chemiluminescent microparticle immunoassay (CMIA), ein enzyme-linked fluorescent immunoassay (ELFA), ein immunoluminimetric assay (ILMA) und der 2016 für die klinische Anwendung zugelassene electrochemiluminescence immunoassay (ECLIA), deren LoD in einem ähnlichen Bereich von 0,02 - 0,05 ng/ml angegeben wird [34]. Die neuesten verfügbaren Methoden, der chemiluminescent enzyme immunoassay (CLEIA) und der von Beckman Coulter entwickelte paramagnetic particle chemiluminescence immunoassay können sogar mit einem LoD von 0,006 ng/ml bzw. 0,002 ng/ml aufwarten (siehe Tabelle 5) [35,36].

Testverfahren	Methode	Messbereich (ng/ml)
BRAHMS PCT sensitive Kryptor	time-resolved amplified cryptate emission (TRACE)	0,02 - 1000
Architect BRAHMS PCT	chemiluminescent microparticle immunoassay (CMIA)	0,02 - 100
Liaison BRAHMS PCT	two-site immunoluminometric assay (ILMA)	0,05 - 200
Lumipulse BRAHMS PCT	chemiluminescent enzyme immunoassay (CLEIA)	0,006 - 75
Roche BRAHMS PCT	electrochemiluminescence immunoassay (ECLIA)	0,02 - 100
Siemens BRAHMS PCT	one-step chemiluminescence immunoassay (CLIA)	0,02 - 75
Vidas BRAHMS PCT	enzyme-linked fluorescent immunoassay (ELFA)	0,02 - 100
Beckman Coulter Access PCT	paramagnetic particle chemiluminescence immunoassay	0,002 - 100
Diazyme Procalcitonin	latex-enhanced turbidimetric immunoassay (LETIA)	0,16 - 52

Tabelle 5: automatisierte PCT-Testverfahren

Die Gegenüberstellung der Messbereiche kann hier natürlich nicht allein zur Bewertung der Leistungsfähigkeit herangezogen werden. Die genannten Testverfahren unterscheiden sich darüber hinaus in der benötigten Probenmenge und Dauer des Analysevorgangs, der von 20 min bis zu 40 min stark variiert. Im Vergleich mit der ursprünglich angewandten TRACE-Methode können nahezu alle diese Verfahren tolerierbare Fehlerraten, vielfach eine exzellente Linearität und Korrelation aufweisen. Zum Teil werden sie bereits in der Praxis angewandt. Allerdings weisen die verfügbaren Produkte auch einige praktische Nachteile auf. Manche dieser Tests können nur auf den dafür entwickelten Analysesystemen durchgeführt werden. Andere unterhalten mit nahezu allen relevanten Diagnostika-Herstellern vertragliche Partnerschaften, woraus eine hohe Verfügbarkeit derselben Reagenzien für mehrere Analysesysteme resultiert. Solche vertraglichen Vereinbarungen führen meist zu sehr kundenfreundlichen Produktlösungen. Sie erschweren jedoch den Zugang für Mitbewerber am Markt erheblich. Gemein ist den bisher etablierten PCT-Tests, dass sie im Vergleich zu anderen Routinemessverfahren wesentlich kostenintensiver sind. Daher ist deren Einsatz oft schon aus finanziellen Gründen nicht in jedem Labor möglich.

Mit der zunehmenden Öffnung von Patent- und Lizenzrechten der etablierten Produkte dringen seit einigen Jahren neue und günstigere PCT-Tests auf den Markt. Dazu zählt der von Diazyme Laboratories entwickelte Diazyme Procalcitonin (PCT) Assay,

welcher in dieser Arbeit einer etablierten Methode gegenübergestellt wird. Dieses Immunturbidimetrie-Verfahren kann auf zahlreichen konventionellen Analysegeräten ausgeführt werden. Es benötigt nur ein geringes Probenvolumen und macht den Test damit auch für pädiatrische Laboratorien interessant. Mit weniger als 10 min erfolgt die Messung auch deutlich schneller als mit anderen Methoden. Die untere Nachweisgrenze mit einem linearen Messbereich von 0,16 - 52 ng/ml liegt über jenen der etablierten Verfahren, jedoch hinreichend niedrig, um signifikant erhöhte Plasma-PCT-Konzentrationen zu detektieren. Darüber hinaus ist der Test kostengünstiger durchzuführen. Die für ein Geschäftsjahr ermittelte Kostenersparnis würde für ein beispielhaftes medizinisches Zentrallabor in einem Krankenhaus mit mehreren Intensivstationen eine hohe fünfstellige Summe betragen. Das Verfahren ist ebenfalls mit einer CE-Kennzeichnung versehen worden und hat die Zulassung für die klinische Anwendung durch die FDA und die EMA erhalten.

Diverse Vergleichsmessreihen mit gepoolten oder selektierten Proben haben für diesen Test zum Teil gute Korrelationen und tolerable Fehlerraten aufzeigen können [33,34,37]. Andere Studien konnten hingegen keine einheitlichen Resultate liefern [38]. Es liegen jedoch bisher keine ausreichend belastbaren klinischen Daten für den Einsatz in der Routinediagnostik vor. Für die breite Anwendung, auch abseits großer Laborzentren, hat sich das Verfahren noch nicht wie vorgesehen etablieren können. Dies liegt nicht zuletzt daran, dass Diazyme bislang keine Kooperation mit einem etablierten Diagnostika-Hersteller unterhält bzw. eine solche im Konflikt mit bestehenden Kooperationen stehen würde. Daraus resultiert ein deutlicher Mehraufwand in der Handhabung der Reagenzien und der administrativen Datenverarbeitung.

Neben den automatisierten Testverfahren sind zuletzt ebenfalls einige Point-of-Care-Tests (POCT) entwickelt worden. Diese Testkits stellen einstufige Schnelltests dar, die sich nach der Lateral flow-Methode eines immunochromatographic Assays bedienen. Anhand der Farbintensität eines Indikatorstreifens kann bei diesen Tests das Ergebnis mit bloßem Auge entsprechend eines Farbschemas einer zumeist 4-stufigen Skala zugeordnet werden, welche die gängigen Grenzwerte (0,50 ng/ml; 1,0 ng/ml; 2,0 ng/ml) umfasst. Der BRAMHS PCT direct POCT sowie der i-CHROMA PCT POCT

von Boditech Med wird dagegen mittels spezieller Lesegeräte ausgelesen. Ebenso gibt der von Radiometer Medical entwickelte immunofluorimetric Assay für den AQT90 Flex Analysator nach einer Fluoreszenzmessung entsprechende Konzentrationsverhältnisse an (siehe Tabelle 6).

Testverfahren	Methode	Indikatorskala / Messbereich (ng/ml)
ABSOGEN PCT	immunochematographic assay	<0,1 - 1,0 - 2,0 - >2,0
AQT90 Flex PCT	immunofluorimetric assay	0,05 - 50
BRAHMS PCT direct	immunochematographic assay	0,22 - 10
i-CHROMA PCT	immunochematographic assay	0,10 - 100

Tabelle 6: Point-of-Care PCT-Testverfahren

Bei allen diesen POCT kann unbehandeltes Vollblut (auch Serum oder Plasma) auf die Testkassette appliziert werden und das Analyseergebnis liegt je nach Verfahren innerhalb von 10 bis 21 Minuten vor. Eine Verzögerung durch den Probentransport, die Aufbereitung und schließlich die Befundübermittlung für diese Testverfahren direkt am Behandlungsort entfällt.

Diese POCT sind vor allem für den Einsatz in Notfallambulanzen für die Akutversorgung kritischer PatientInnen vorgesehen. Sie sollen insbesondere dort wo eine umfassende Labordiagnostik nicht zeitnah verfügbar ist, die Therapieentscheidungen bei Verdacht auf eine Sepsis unterstützen. Die Bewertung dieser Tests fällt in vorangegangenen Studien jedoch sehr unterschiedlich aus. Während einerseits die Anwendung in Notfallsituationen als Hilfestellung bei initialen Sepsisdiagnosen oder Verdachtsdiagnosen empfohlen wird, zeigen andere Vergleiche hohe Fehlerraten, die deren Einsatz kritisch betrachten lassen. Die POCT können aktuell allenfalls zur Entscheidung einer Therapieeinleitung herangezogen werden. Für die Verlaufskontrolle sowie auch zur Einschätzung des Ausprägungsgrades einer möglichen Sepsis sind diese Tests jedoch nicht geeignet. Bisher können sie die wesentlich sensibleren, automatisierten Labortestverfahren für die intensivmedizinische Betreuung kritisch kranker PatientInnen nicht ersetzen [39-42].

8. Methoden

8.1 Studienziel

Diese Studie ist einen Methodenvergleich zweier technologisch verschiedener PCT-Testverfahren. Es wurde die etablierte Methode, ein Elektrochemilumineszenz-Immunoassay (ECLIA) mit einem Latexpartikel-verstärkten turbidimetrischen Immunoassay (LETIA) verglichen. Beide Verfahren wenden dieselbe Messskala und dieselben Einheiten an. Die Hersteller empfehlen auch dieselben diagnostischen Entscheidungsgrenzen zur Interpretation der Messergebnisse. Für die klinische Praxis suggeriert dies eine äquivalente Anwendung. Diese Studie soll überprüfen, ob diese Annahme gerechtfertigt ist.

8.2 Hypothese

Als Studienhypothese wird angenommen, dass die PCT-Messergebnisse des LETIA absolut vergleichbar mit jenen des ECLIA sind. Dies setzt voraus, dass beide Testverfahren:

- eine ausreichende mathematische Übereinstimmung der Ergebnisse aufweisen.
- unter Anwendung derselben Grenzwerte eine gleichwertige Aussage bezüglich des Schweregrades einer systemischen bakteriellen Infektion liefern können.
- die Dynamik der PCT-Konzentration über den Krankheitsverlauf äquivalent abbilden und damit eine gleichwertige Hilfestellung für die Indikation und Adaption einer Therapie, insbesondere einer antibiotischen Therapie geben können.

8.3 Probenmaterial

Für die Studie wurden Blutplasma-Proben von PatientInnen des Landeskrankenhauses (LKH) Graz analysiert. Das Blut wurde im Rahmen der Routinebehandlung in Primärgefäße mit Lithium-Heparin-Beschichtung und Separationsgel (Vacutainer BioGreinerOne) gefüllt und via Rohrpost-System in das Klinische Institut für Medizinische und Chemische Labordiagnostik transferiert. Hier wurden die Proben vor der Analyse 10 Minuten bei Raumtemperatur mit 2300 G zentrifugiert.

8.4 Ein- und Ausschlusskriterien

In die Studie einbezogen wurden alle Blutproben, für die am LKH Graz über einen Zeitraum von fünf Wochen im September und Oktober 2019 eine Routine-PCT-Diagnostik angeordnet wurde. Eine besondere Auswahl der Proben erfolgte dabei nicht. Ausgeschlossen wurden jedoch alle Proben von PatientInnen mit einem Alter von weniger als 18 Jahren, entsprechend des Votums der Ethikkommission.

8.5 Biochemische Analysen

Die PCT-Testverfahren wurden auf einem cobas® 8000 Analysator von Roche Diagnostics auf den Modulen c701 (LETIA) und e801 (ECLIA) durchgeführt. Beide Testverfahren sind mit einer CE-Kennzeichnung versehen und haben die Zulassung durch die FDA sowie die EMA erhalten.

Die Applikation, Kalibration und Kontrolle der Tests erfolgte anhand der von den Herstellern zur Verfügung gestellten Materialien und Vorgaben. Kontrollen erfolgten täglich. Deren Ergebnisse rangierten in der gesamten Messphase innerhalb der jeweiligen Erwartungsgrenzen. Im Folgenden wird auf die beiden Testprinzipien sowie deren Charakteristika näher eingegangen. Eine Gegenüberstellung ist in Tabelle 7 wiedergegeben.

Test	Elecsys B·R·A·H·M·S PCT Assay	Diazyme Procalcitonin (PCT) Assay
Analyt, Einheit	PCT, ng/ml	
Testmatrix	Serum, Plasma (Heparin, EDTA)	
Probenvolumen (ohne Totvolumen)	30 µl	20 µl
Testprinzip	Elektrochemilumineszenz- Immunoassay	Latexpartikel-verstärkte Immunturbidimetrie
Hersteller	B·R·A·H·M·S GmbH, Hennigsdorf, Deutschland	Diazyme Laboratories Inc., Poway, CA, USA
Analysator (Hersteller)	Cobas 8000 e602 (Roche Diagnostics)	Cobas 8000 c701 (Roche Diagnostics)
Antikörper	monoklonale anti-PCT AK (Maus)	anti-human PCT AK (nicht spezifiziert)
Leerwertgrenze (LoB)	n.a.	0,06
Nachweisgrenze (LoD)	0,02	0,16
Bestimmungsgrenze (LoQ)	0,06	0,20
linearer Messbereich	0,02 - 100	0,20 – 52
Analysedauer	18 min	10 min

Tabelle 7: Herstellerangaben der PCT-Testverfahren im Vergleich [37,43]

8.5.1 Elektrochemilumineszenz-Immunoassay (ECLIA)

Der Elektrochemilumineszenz-Immunoassay hat seit 2016 Einzug in die Routinediagnostik zur quantitativen Procalcitonin-Bestimmung im Blutplasma oder Serum gefunden. Vom Hersteller wird der für die Studie angewandte Elecsys BRAHMS PCT Assay durch die in Tabelle 7 zusammengefassten Parameter charakterisiert.

Bei dem Sandwich-Verfahren wird ein biotinylierter monoklonaler PCT-spezifischer Antikörper sowie ein weiterer, mit einem Ruthenium-Komplex markierter monoklonaler PCT-spezifischer Antikörper in das Serum-Teströhrchen gegeben. Die beiden Antikörper bilden einen Sandwich-Komplex um das im Serum vorhandene Procalcitonin.

In einem weiteren Arbeitsschritt wird dieser Komplex nach der Zugabe von Streptavidin-beschichteten Mikropartikeln durch die Biotin-Streptavidin-Wechselwirkung an die Festphase des Teströhrchens gebunden. Das Reaktionsgemisch wird anschließend in die Messzelle überführt, in welcher die Mikropartikel durch eine magnetische Wirkung auf der Oberfläche der Elektrode fixiert werden.

Nachfolgend werden die ungebundenen Substanzen ausgewaschen und durch das Anlegen einer elektrischen Spannung in den Ruthenium-Komplexen eine Chemilumineszenzreaktion induziert, die nun mit dem Photomultiplier gemessen und anhand einer Kalibrationskurve in eine entsprechende Konzentration umgerechnet werden kann (vergl. Abbildung 1).

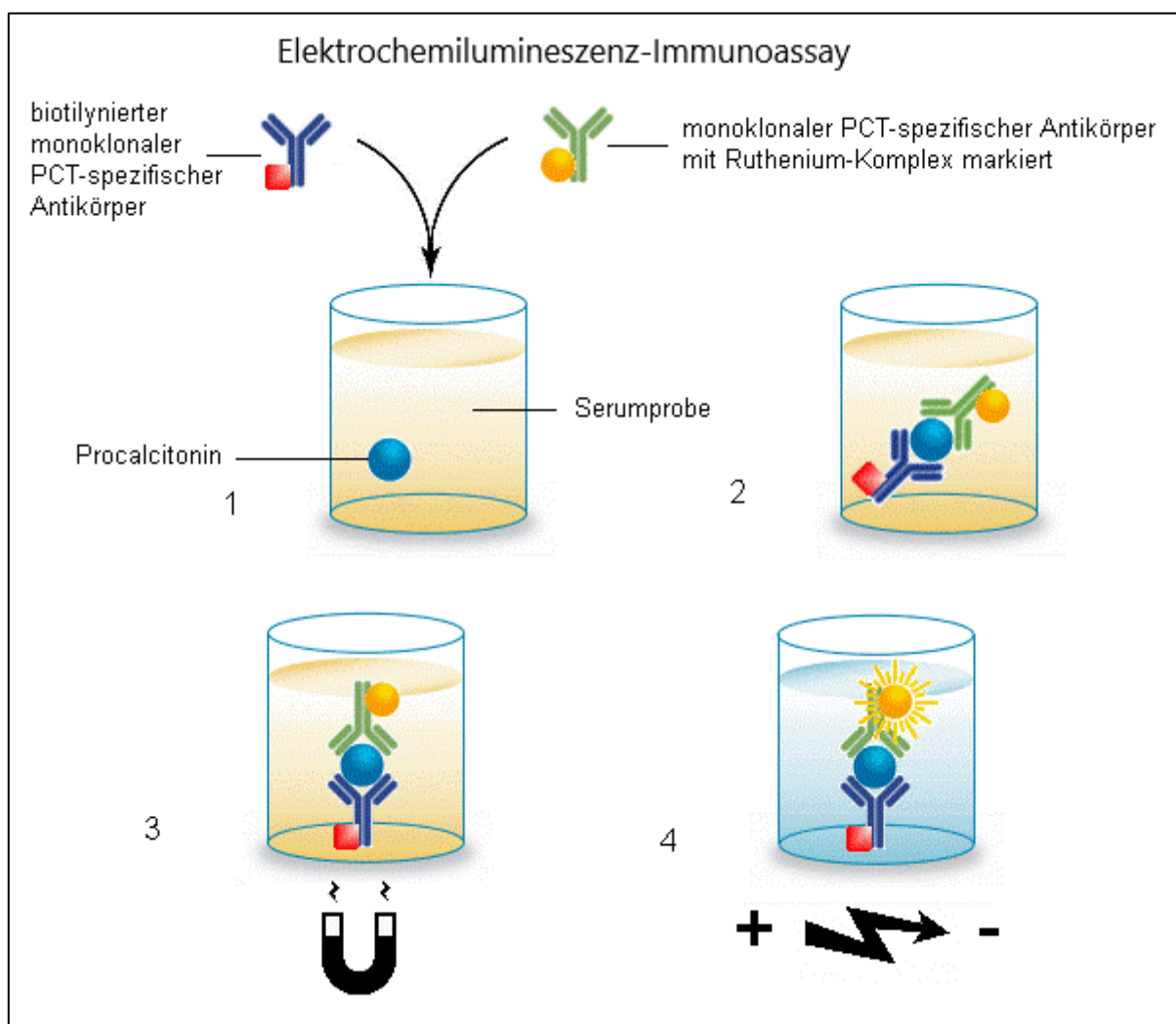


Abbildung 1: Schema des Elektrochemilumineszenz-Immunoassay (vereinfacht)

8.5.2 Latexpartikel-verstärkte Immunturbidimetrie (LETIA)

Das Latexpartikel-verstärkte Immunturbidimetrie-Verfahren von Diazyme Laboratories hat im April 2017 die Zulassung durch die FDA erhalten. Die vom Hersteller angegebenen Parameter dieses Diazyme Procalcitonin (PCT) Assay sind ebenfalls in Tabelle 7 aufgeführt.

Im Gegensatz zu den Lumineszenz-Assays arbeitet die Turbidimetrie mit einer rein optischen Messung der Trübung des Probenmaterials. Sie kommt daher mit deutlich weniger Arbeitsschritten aus. Dazu werden bei der Latexpartikel-verstärkten Immunturbidimetrie spezifische PCT-Antikörper mit gebundenen Latexpartikeln in das Serum-Teströhrchen gegeben. Diese agglutinieren nach der Bindung an Procalcitonin. Die Agglutination der Procalcitonin-gebundenen Antikörper führt dabei zu einer Trübung des Testsubstrates. Nach der optischen Messung kann diese ebenfalls anhand einer Kalibrationskurve einem entsprechenden Konzentrationsverhältnis zugeordnet werden (vergl. Abbildung 2).

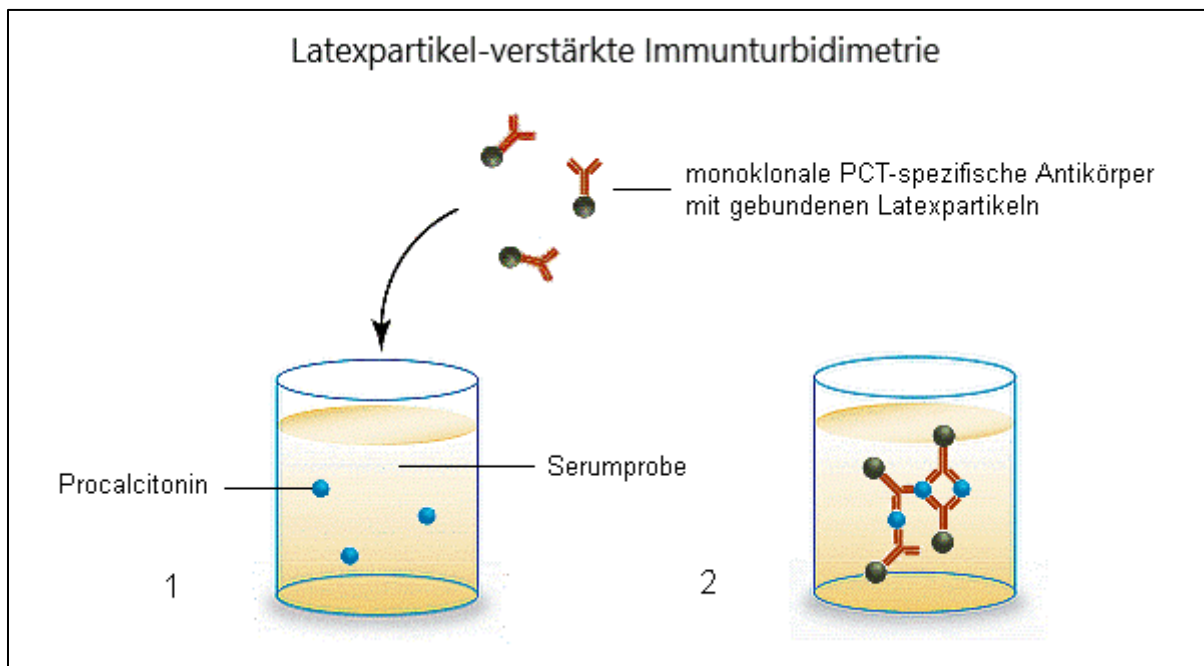


Abbildung 2: Schema der Latexpartikel-verstärkten Immunturbidimetrie

Wie der ECLIA kann die Immunturbidimetrie mit Plasma- oder Serumproben aus diversen Blutteströhrchen durchgeführt werden. Abgesehen vom Totvolumen benötigt das Verfahren für einen Testdurchlauf nur 20 µl Plasma oder Serum. Es liefert mit einer Analysedauer von etwa 10 Minuten deutlich schnellere Ergebnisse und kann je nach Bedarf mit einem höheren Probenumsatz durchgeführt werden.

8.6 Zusätzlich erhobene Daten

Die Überprüfung der diagnostischen Übereinstimmung der beiden Testverfahren erfolgte naturgemäß in Zusammenschau mit dem Vorliegen einer Sepsis. Auf Grund der Probenselektion aus den Routineanforderungen zur PCT-Bestimmung war mit einem erhöhten Aufkommen von Sepsis-Fällen zu rechnen. Allerdings ist die Diagnose Sepsis definitionsgemäß schwierig zu stellen. In der Praxis führt dies zu einer recht inhomogenen Verwendung des Begriffes. Daher wurden weitere klinische Informationen als potentielle Surrogat- bzw. Hilfsmarker für die Sepsis aus der medizinischen Dokumentation ermittelt.

Neben dem Alter und Geschlecht der PatientInnen wurden dazu von jeder Blutprobe die Entzündungsparameter (CRP und Leukozytenzahl) sowie der Hämolyse-, Lipämie- und Bilirubinämie-Index erfasst. Weiterhin wurden neben den diagnostizierten Infektionen die Ergebnisse (negativ/positiv) der vorhandenen bakteriellen Kulturen, insbesondere der Blutkulturen und die Applikation einer antibiotischen Therapie dokumentiert.

Die Vitalparameter (Körpertemperatur, Blutdruck, Herz- und Atemfrequenz) konnten nur für einen Teil der Studienpopulation vollständig erfasst werden, wobei eine umfassende Erhebung inklusive des qSOFA-Scores mit der Ambulanzdokumentation nur für die in der Notaufnahme untersuchten PatientInnen möglich war.

Zur Bewertung möglicher inkonklusiv elevierter PCT-Konzentrationen wurden darüber hinaus die Begleitindikatoren registriert, die unabhängig von einer generalisierten

Infektion für erhöhte PCT-Spiegel ursächlich sein können. Dazu gehörten schwere Traumata und Polytraumata, wie auch stattgehabte größere chirurgische Eingriffe, Erkrankungen mit Leber- und Lungenbeteiligung, Organtransplantationen und bestätigte Neoplasien.

8.7 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung wurde nach den Gesichtspunkten der quantitativen, qualitativen und diagnostischen Übereinstimmung vorgenommen. Danach wurden die Messverfahren hinsichtlich ihrer statistischen Korrelation sowie ihrer klinischen Konkordanz verglichen. Da mit dem ECLIA bereits langjährige Erfahrungen gesammelt wurden und dessen Messprinzip der Immunturbidimetrie aus technischer Sicht überlegen ist, wurde er für einige Vergleiche in dieser Studie als Referenzmethode verwandt. Darüber hinaus wurde in den statistischen Analysen nicht der gesamte Messwertumfang, sondern von jedem/jeder PatientIn nur jeweils ein Messwert einbezogen, um eventuelle Einflüsse technischer Messfehler oder Interferenzen zu minimieren.

Qualitativer Vergleich

- Vergleich der Messwerte in Bezug auf die durch beide Hersteller zur Interpretation empfohlenen Entscheidungsgrenzen

Die Ergebnisse wurden dazu entsprechend ihrer Zahlenwerte einer von vier Kategorien zugeordnet und das prozentuale als auch das absolute Ausmaß der Übereinstimmung innerhalb einer jeden Kategorie dargestellt. Die Kategorien orientierten sich am jeweiligen LoD sowie an den diagnostischen Grenzwerten (0,5 ng/ml; 2,0 ng/ml; 10 ng/ml).

- Für diesen Vergleich wurde von jedem/jeder PatientIn nur der chronologisch erste Messwert herangezogen.

Quantitativer Vergleich

- Vergleich der deskriptiven Parameter
- Überprüfung der Ergebnisse auf Normalverteilung durch Shapiro-Wilks-Test und Beurteilung einer gleich- oder verschiedenartigen Verteilung mittels T-Test (Mittelwert-Vergleich bei normalverteilten Messwerten) bzw. Mann-Whitney-U-Test (Median-Vergleich bei nicht normalverteilten Messwerten)
- Beurteilung einer grundsätzlichen Übereinstimmung anhand des Korrelationskoeffizienten nach Pearson (bei normalverteilten Messwerten) bzw. nach Spearman (bei nicht normalverteilten Messwerten), der einfachen linearen Regression sowie der Passing-Bablok-Reggressionsanalyse und einer Bland-Altman-Analyse

Da die einfache lineare Regression sehr stark durch statistische Ausreißer beeinflusst wird, wurde zusätzlich ein Bland-Altman-Plot und eine Passing-Bablok-Regression erstellt. Besonders letztere ist äußerst robust gegenüber Ausreißern. Entsprechend dem Protokoll wurde vorab eine lineare Beziehung zwischen den Ergebnissen des ECLIA und des LETIA mittels Kolmogorow-Smirnow-Test bestätigt [44].

- Analog zum qualitativen Vergleich wurden hierfür nur die ersten Messwerte jedes/jeder PatientIn verglichen.

Darüber hinaus wurden sämtliche Messwertpaare nicht berücksichtigt, bei denen die PCT-Konzentration mit einem oder beiden Verfahren unterhalb des LoQ_{LETIA} gemessen wurde, da für jene Werte unterhalb der Bestimmungsgrenze des Immunturbidimetrie-Verfahrens keine Linearität gewährleistet werden kann.

Diagnostische Konkordanzanalyse

- Vergleich der Messergebnisse hinsichtlich ihrer klinischen Plausibilität in Bezug auf die definierten diagnostischen Grenzwerte (0,5 ng/ml; 2,0 ng/ml; 10 ng/ml)

Als Übereinstimmungskriterium für ein positives Testergebnis wurde das Vorliegen einer Sepsis zum Zeitpunkt der PCT-Bestimmung gewertet. Da jedoch eine Sepsisdiagnose für die Studienpopulation nicht universell erhebbar war, wurde hier eine Auswertung für verschiedene Subgruppen vorgenommen. Diese umfassten jene PatientInnen:

- mit vorhandener Sepsisdiagnose
- mit ausgeschlossener Sepsis, ohne Begleitindikatoren
- die in der Notfallambulanz vorgestellt wurden
- die signifikant diskrepante Messwerte aufwiesen (Differenz um Faktor 10 oder mehr)

Die Berechnungen erfolgten mit Microsoft Excel 2019 (Microsoft Corp., Redmond, WA, USA) und XLSTAT 2019 (Addinsoft, Paris, Frankreich) sowie mit Analyze-it (Analyze-it Software Ltd., Leeds, UK).

9. Ergebnisse

Für den analytischen Vergleich konnten in dieser Studie insgesamt 683 Messwertpaare von 320 PatientInnen im Alter von über 18 Jahren gewonnen werden. Bei 188 (58,8 %) der PatientInnen wurde im Untersuchungszeitraum nur eine PCT-Messung durchgeführt. Für die anderen 132 (41,2 %) sind im Verlauf zwei oder mehr Messungen erhoben worden.

Von 62 (19,4 %) PatientInnen wurde im Rahmen der gegenwärtigen Behandlung bereits vor der Vergleichsstudie zumindest ein PCT-Wert erhoben. Daraus resultiert ein Anteil von 258 (80,6 %) PatientInnen in dieser Studie, für die durch das LKH Graz während ihrer aktuellen Therapie erstmals ein PCT-Wert bestimmt wurde.

9.1 Studienpopulation

Die Population von 320 PatientInnen dieser Studie teilte sich auf 131 Frauen (40,9 %) mit einem Durchschnittsalter von 64,5 Jahren und entsprechend 189 Männer (59,1 %) mit einem Durchschnittsalter von 64,4 Jahren auf (vergl. Abbildung 3).

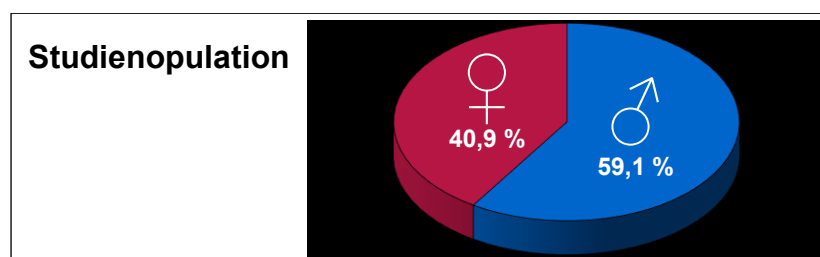


Abbildung 3: Studienpopulation, weiblicher und männlicher Anteil

Das Altersspektrum der PatientInnen erstreckte sich auf ein Alter von 18 bis 97 Jahren. Hierbei ergab sich ein mehrheitlicher Anteil an PatientInnen zwischen der 5. und 7. Lebensdekade. In Kongruenz zur Gesamtverteilung überwogen die Männer in nahezu allen Altersklassen. Allein bei den unter 30jährigen sowie bei den über 90jährigen PatientInnen hatten die Frauen einen höheren Anteil (vergl. Abbildung 4).

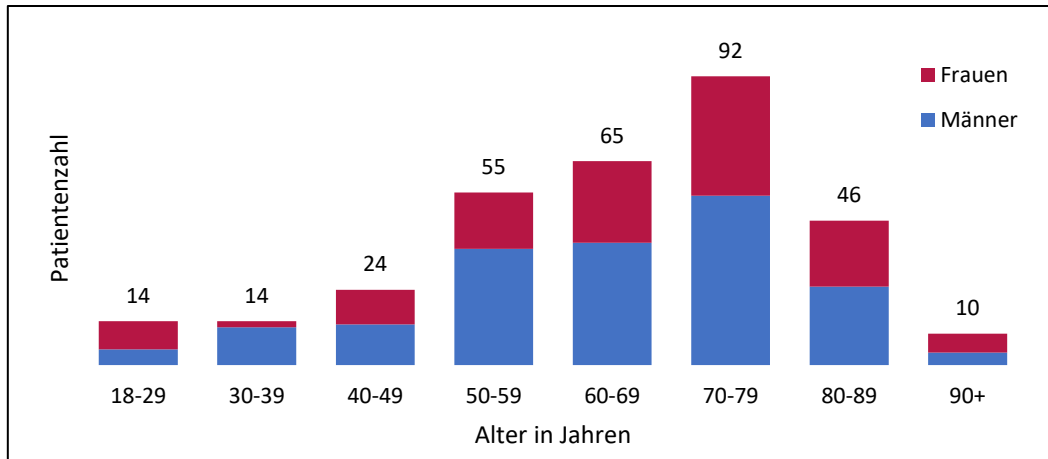


Abbildung 4: Patientenanteil in Altersklassen

Von allen untersuchten PatientInnen befanden sich 147 (45,9 %) in intensivmedizinischer Behandlung. Der Frauenanteil lag in dieser Gruppe mit 57 Patientinnen bei 38,8 %, während die Männer mit 90 Patienten 61,2 % ausmachten.

125 (39,1 %) PatientInnen waren auf anderen Bettenstationen des LKH Graz in Behandlung. Der Anteil der Frauen war hier mit 52 Patientinnen (41,6 %) gegenüber den Männern mit 73 Patienten (58,4 %) ebenfalls geringer.

Daneben wurden 48 (15,0 %) PatientInnen ambulant betreut. In dieser Gruppe fiel der Anteil der Frauen mit 22 Patientinnen (45,8 %) gegenüber 26 Männern (54,2 %) weniger deutlich verschieden aus (vergl. Abbildung 5).

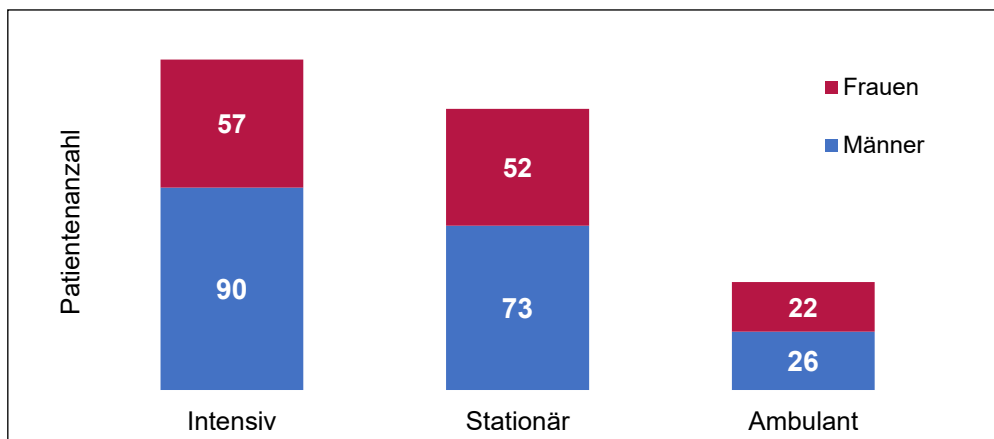


Abbildung 5: Patientenanteil in intensivmed., stationärer u. ambulanter Behandlung

Über den Zeitraum der Studie sind einzelne PatientInnen zwischen den Einrichtungen verlegt worden. So wurden 34 PatientInnen nach ambulanter Vorstellung stationär aufgenommen. Weiterhin sind 8 PatientInnen sowohl auf den Normalstationen als auch intensivmedizinisch betreut worden. Entsprechend ihrer ersten PCT-Bestimmung scheinen diese hier bei den jeweiligen Abteilungen auf, in denen der PCT-Wert im Rahmen der Studie das erste Mal erhoben wurde.

9.2 Qualitativer Vergleich

Für den qualitativen Methodenvergleich wurde von den 320 StudienpatientInnen nur der jeweils erste Messwert herangezogen. Dabei ergab sich ein Spektrum der PCT-Konzentrationen von der jeweiligen unteren Nachweisgrenze (LoD) bis zu Konzentrationen von 148,40 ng/ml beim ECLIA bzw. 161,01 ng/ml bei der Immunturbidimetrie.

Eine grafische Übersicht der erhobenen Messwerte in aufsteigender Reihung nach dem ECLIA-Verfahren ist im Streudiagramm Abbildung 6 (A) wiedergegeben. Daneben sind in den Streudiagrammen Abbildung 6 (B-E) Detailansichten für die gemessenen PCT-Konzentrationen beider Verfahren innerhalb der klinischen Grenzwertbereiche (LoQ_{LETIA} bis $< 0,5$ ng/ml, $\geq 0,5$ bis < 2 ng/ml, ≥ 2 bis < 10 ng/ml, ≥ 10 ng/ml) gegenübergestellt.

Schon in der Gesamtübersicht (Abbildung 6 (A)) imponiert der geringe Messwertanteil im Bereich oberhalb des Grenzwertes von 10 ng/ml. Der Großteil der Messwerte war in beiden Verfahren unterhalb des Grenzwertes von 2,0 ng/ml angesiedelt. Dies waren 276 Messwerte (82,3 %) beim ECLIA und 250 Messwerte (78,1 %) beim LETIA. Mit 199 Messwerten (62,2 %) lag die Mehrzahl der durch den ECLIA erhobenen Werte sogar unterhalb des Grenzwertes von 0,5 ng/ml, während mit der Immunturbidimetrie nur 107 Messwerte (33,4 %) unterhalb dieses Grenzwertes bestimmt werden konnten (vergl. Abbildung 6).

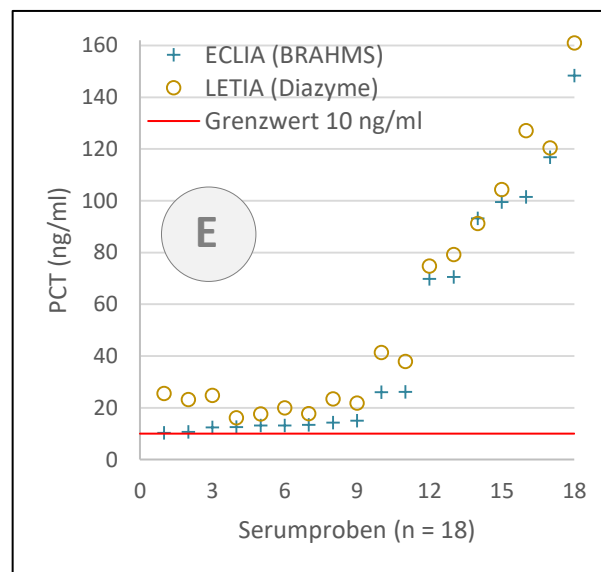
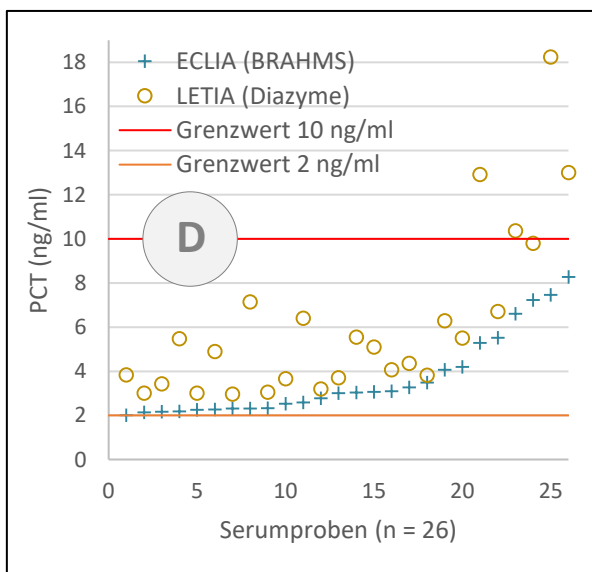
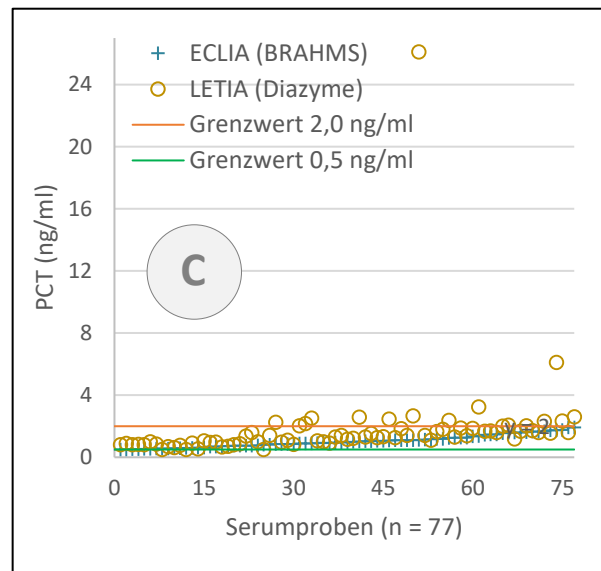
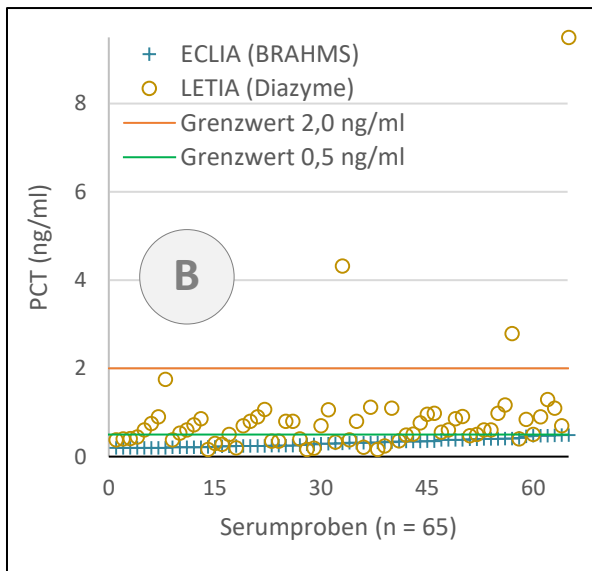
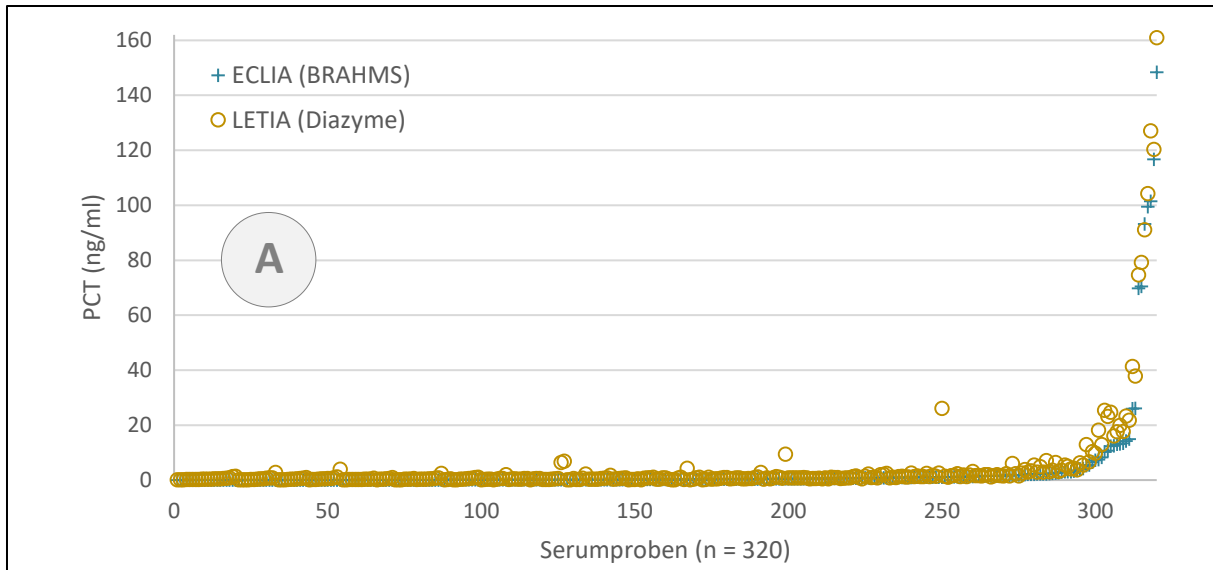


Abbildung 6: Streudiagramme der PCT-Messwerte für beide Verfahren in der Gesamtübersicht (A) und aufgetrennt nach Grenzwertbereichen 0,2 bis 0,5 ng/ml (B), 0,5 bis 2,0 ng/ml (C), 2 bis 10 ng/ml (D) und > 10 ng/ml (E) entsprechend des ECLIA, aufsteigend gereiht

Dieses deutliche Missverhältnis der Messwerte unterhalb des diagnostischen Grenzwertes von 0,5 ng/ml ist hingegen in den darüber liegenden Bereichen nicht beobachtet worden. Der Anteil der mit der Immunturbidimetrie erhobenen Messwerte fiel gegenüber den ECLIA-Werten oberhalb des Grenzwertes von 0,5 ng/ml deutlich größer aus. Das Messwertverhältnis der beiden Verfahren unterschied sich jedoch innerhalb dieser Grenzwertbereiche ($\geq 0,5$ bis < 2 ng/ml, ≥ 2 bis < 10 ng/ml, ≥ 10 ng/ml) kaum (vergl. Abbildung 7).

ECLIA (BRAHMS) n (%)	PCT- Konzentrationsbereiche	LETIA (Diazyme) n (%)
54 (16,9)	< LoQ	24 (7,5)
145 (45,3)	\geq LoQ bis $< 0,5$ ng/ml	83 (25,9)
77 (24,1)	$\geq 0,5$ bis $< 2,0$ ng/ml	143 (44,7)
26 (8,1)	$\geq 2,0$ bis < 10 ng/ml	47 (14,7)
18 (5,6)	≥ 10 ng/ml	23 (7,2)

Tabelle 8: PCT-Messwertanteil innerhalb der definierten Grenzwertbereiche

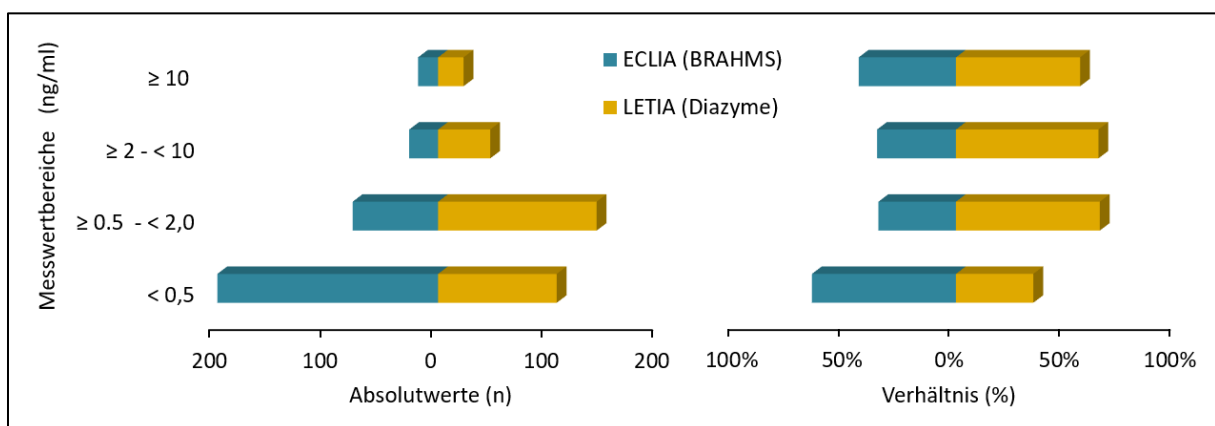


Abbildung 7: PCT-Messwertanteil nach Grenzwertbereichen

9.3 Quantitativer Vergleich

Für den quantitativen Vergleich wurden in allen statistischen Analysen in diesem Kapitel nur die jeweils ersten Messergebnisse der 320 StudienpatientInnen berücksichtigt, die in beiden Verfahren oberhalb des LoQ_{LETIA} erhoben werden konnten. Dies ergab unter Ausschluss der 138 Messwertpaare mit einem oder beiden Werten unterhalb der Konzentration von 0,20 ng/ml einen Umfang von 182 Vergleichswerten.

9.3.1 Deskriptive Statistik

Die Standardparameter der deskriptiven Statistik für beide Testmethoden sind in Tabelle 9 wiedergegeben. Die Minimalwerte nach Ausschluss aller PCT-Messwerte unterhalb der Bestimmungsgrenze des LETIA wurden hier in beiden Verfahren mit 0,20 ng/ml gemessen. Mit 161,01 ng/ml wurde mit dem LETIA jedoch ein höherer Maximalwert gemessen. Auch der Mittelwert und der Median fiel hier größer aus. Dementsprechend liegt auch die Standardabweichung dieser Methode über jener des ECLIA.

Parameter*	ECLIA (BRAHMS)	LETIA (Diazyme)
Minimalwert	0,20 ng/ml	0,20 ng/ml
Maximalwert	148,40 ng/ml	161,01 ng/ml
Mittelwert	5,83 ng/ml	7,58 ng/ml
Median	0,88 ng/ml	1,28 ng/ml
Standardabweichung	19,88	21,90

Tabelle 9: Standardparameter der Messwertreihen im Vergleich (n = 182)
(*alle deskrip. Parameter n. Ausschluss der Werte < LoQ_{LETIA})

9.3.2 Test auf gleichartige Verteilung

Zur Überprüfung der gleichartigen Verteilung der Messwerte beider Verfahren wurden die Messreihen zunächst einem statistischen Test auf Normalverteilung unterzogen. Dabei konnte für die Ergebnisse des ECLIA wie auch des LETIA mittels Shapiro-Wilk-Test eine Normalverteilung ausgeschlossen werden. Der p-Wert ist hier für beide Verfahren jeweils unter 0,0001 bestimmt worden, womit bei einem Signifikanzniveau von $\alpha = 5\%$ das Vorliegen einer Normalverteilung ausgeschlossen werden muss.

Die Voraussetzungen für einen parametrischen T-Test waren auf Grund der nicht normal verteilten Messwerte nicht gegeben. Daher ist eine Überprüfung auf eine gleichartige Verteilung anhand der Mediane durch den Mann-Whitney-U-Test für unabhängige Stichproben vorgenommen worden. Mit diesem konnte in den beiden Messwertreihen des ECLIA und LETIA ebenfalls keine Gleichverteilung festgestellt werden. Bei einer Wahrscheinlichkeit von $p < 0,0001$ ($\alpha = 5\%$) ist mit diesem Rangsummentest ein statistisch signifikanter Unterschied auch in der zentralen Tendenz der beiden Messverfahren ausgemacht worden.

9.3.4 Vergleich der Streumaße

Die Boxplots für die beiden Messwertreihen (Abbildung 8) zeigen in allen Quartilen sowie auch bei den Ausreißern und extremen Ausreißern eine ausgeprägtere Streubreite für die immunturbidimetrische Methode auf. Allein das 2. Quartil weist für beide Messverfahren ein nahezu identisches Streumaß auf, wenngleich dies bei logarithmischer Skalierung der y-Achse nur schwer zu beurteilen ist. Der Median für das LETIA-Verfahren (1,28 ng/ml) liegt jedoch signifikant über dem des ECLIA-Verfahrens (0,88 ng/ml), während die unteren Whisker in dieser Übersicht jeweils denselben Minimalwert von 0,20 ng/ml nach der unteren Bestimmungsgrenze für das immunturbidimetrische Verfahren anzeigen (vergl. Tabelle 9).

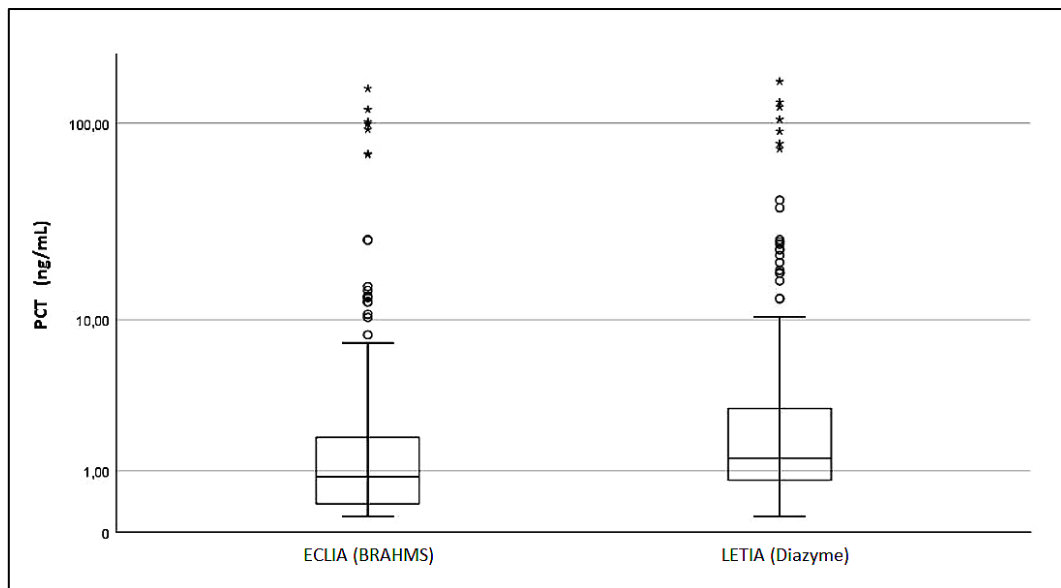


Abbildung 8: Boxplots für den ECLIA und LETIA (n = 182)
(y-Achse zur besseren Übersicht logarithmisch skaliert).

9.3.5 Einfache lineare Regression

In der einfachen linearen Regression zeigt sich in der Betrachtung des gesamten Wertespektrums für die Messreihen oberhalb des LoQ_{LETIA} (Gruppe A) übereinstimmend mit dem Korrelationskoeffizienten nach Spearman eine sehr gute Korrelation der beiden Messverfahren. In der Betrachtung der Messwerte innerhalb der einzelnen Grenzwertbereiche fallen dagegen deutliche Unterschiede auf. Dabei konnte insbesondere im Bereich unterhalb des diagnostischen Grenzwertes von 0,50 ng/ml (Gruppe B) nur eine sehr schlechte Korrelation bei geringer Linearität mit einem geringen Bestimmtheitsmaß ermittelt werden. In den Konzentrationsbereichen von 0,50 bis 2,0 ng/ml (Gruppe C) und von 2 bis 10 ng/ml (Gruppe D) konnten hier zunehmend bessere Korrelationen berechnet werden. Die Messwerte oberhalb des Grenzwertes von 10 ng/ml (Gruppe E) zeigen hingegen eine deutliche Korrelation mit einem hohen Bestimmtheitsmaß. In dieser Gruppe wiesen die Ergebnisse des LETIA allerdings einen konstanten Fehler auf, der im Mittel eine Abweichung von etwa 8,85 ng/ml zu den Werten des ECLIA ausmachte (vergl. Abbildung 9/Tabelle 10).

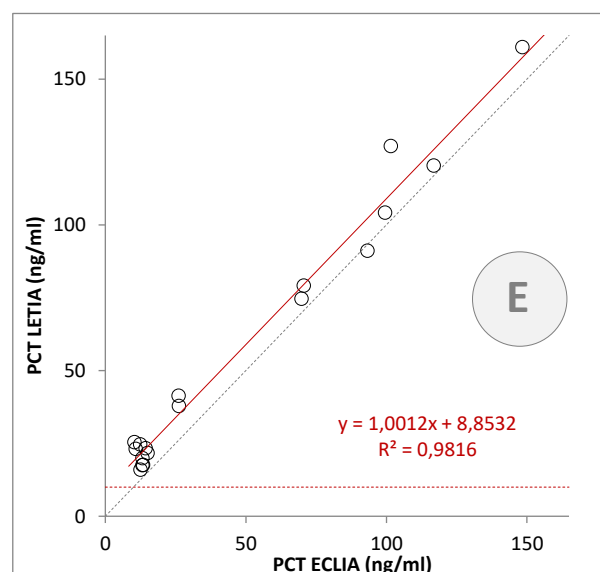
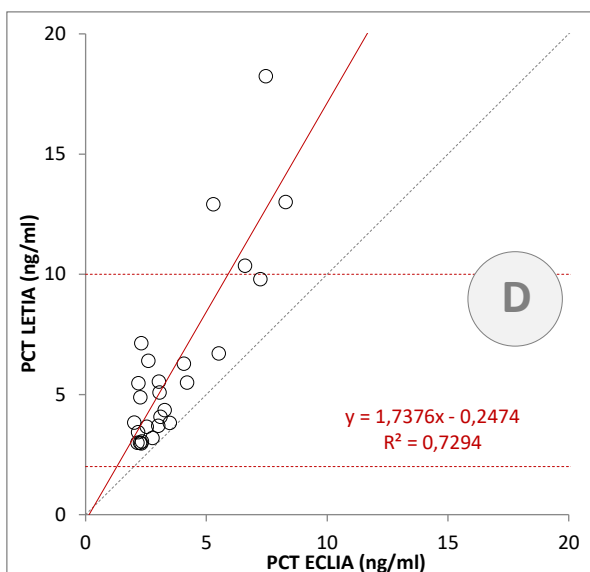
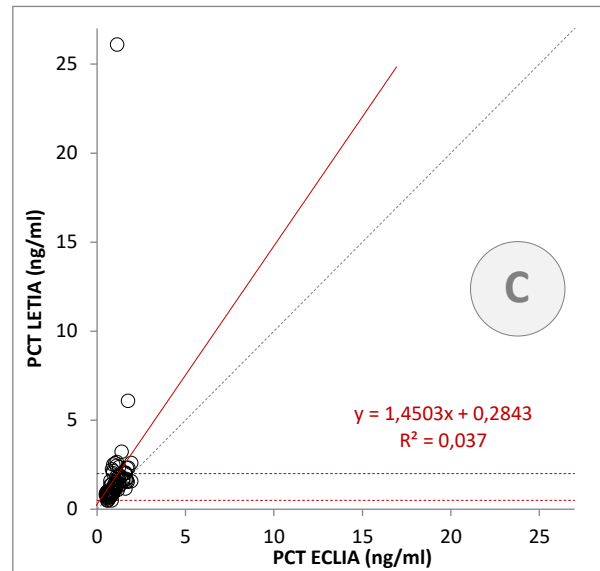
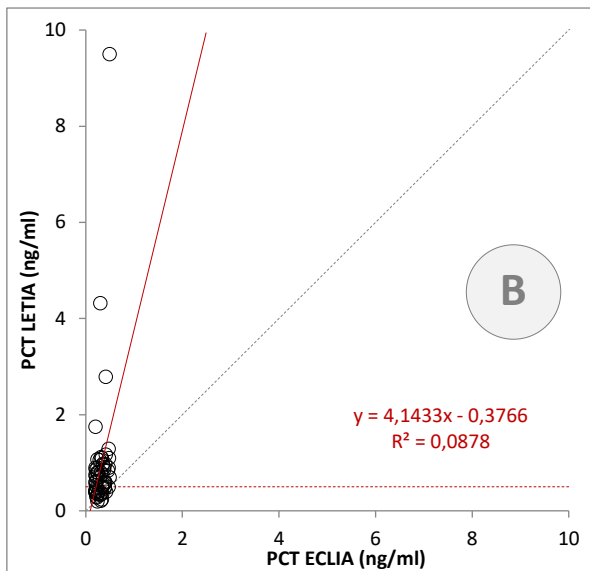
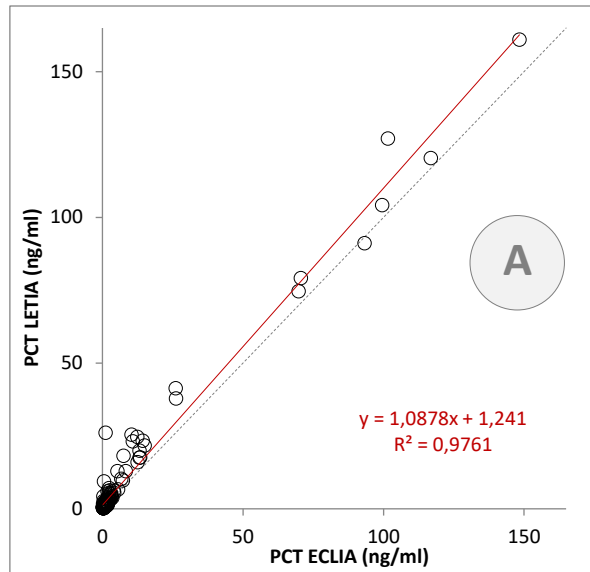


Abbildung 9: Einfache lineare Regression der beiden Verfahren für alle Messwerte $> LoQ_{LETIA}$ (A) und aufgetrennt nach Grenzwertbereichen 0,02 bis 0,5 ng/ml (B), 0,5 bis 2 ng/ml (C), 2 bis 10 ng/ml (D) und > 10 ng/ml (E) entsprechend des ECLIA (vergl. Tabelle 10). (horizontale Linien geben Grenzwerte an)

Gruppe	PCT _{ECLIA}	n	CUSUM- Test* (p)	einfache lineare Regression		
	(ng/ml)			Korrelation**	Steigung	Achsabschnitt
A	≥ 0,2	182	0,528	0,870	1,088	1,241
B	≥ 0,2 bis < 0,5	61	0,936	0,292	4,143	-0,377
C	≥ 0,5 bis < 2	77	0,510	0,752	1,450	0,284
D	≥ 2 bis < 10	26	0,841	0,713	1,738	-0,247
E	≥ 10	18	0,291	0,831	1,001	8,853

Tabelle 10: Einfache lineare Regression beider Testverfahren für alle Messwerte oberhalb des LoQ_{LETIA} (Gruppe A) sowie innerhalb der Grenzwertbereiche (Gruppen B-E) (*nach Kolmogorow-Smirnow, **Koeffizient nach Spearman)

9.3.6 Passing-Bablok-Regression

Wie in der einfachen linearen Regression (Kapitel 9.3.5) zeichnet sich durch die Passing-Bablok-Regression ein ähnliches Bild ab. Eine prinzipielle bzw. hinreichende Linearität der Messwertreihen für diese Analyse wurde mittels Kolmogorow-Smirnow-Test (siehe Tabelle 11) bestätigt. Die Regressionsgeraden zeigen jedoch auch hier für die Messwertbereiche zwischen den unteren Grenzwerten eine deutlich divergente Steigung zur Referenzgeraden, während dies für den Messwertbereich oberhalb des Grenzwertes von 10 ng/ml nicht beobachtet werden kann. Im Gegensatz zur einfachen linearen Regression ist die Passing-Bablok-Regression relativ robust gegenüber Ausreißern, weshalb in der Betrachtung der gesamten Messwertreihe oberhalb des LoQ_{LETIA} (Gruppe A) eine etwas weniger gute Übereinstimmung ermittelt wurde.

Die Bewertung der Übereinstimmung bei der Passing-Bablok-Regression erfolgt über die Begutachtung der Konfidenzintervalle der Steigung sowie des Achsenabschnittes. Ist in diesen Konfidenzintervallen die Zahl „1“ (KI der Steigung) bzw. die Zahl „0“ (KI des Achsenabschnittes) enthalten, liegt ein proportionaler bzw. ein konstanter Fehler vor. Daher muss hier für die gesamte Messwertreihe (Gruppe A) von einem proportionalen, nicht jedoch von einem konstanten Fehler ausgegangen werden.

Die größten Differenzen in der Passing-Bablok-Regression sind auch hier für den untersten Messwertbereich (Gruppe B) auszumachen. Diese Gruppe weist den deutlichsten Fehler auf, wobei das Vorliegen eines konstanten Fehlers nicht bestätigt werden kann.

In den Messwertbereichen zwischen den höheren Grenzwerten (Gruppe C u. D) gleicht sich die Übereinstimmung der beiden Testverfahren zunehmend an. Sie zeigt für die Messwerte oberhalb von 10 ng/ml (Gruppe E) schließlich eine exzellente Korrelation. Die Gruppe E ist überdies die einzige Gruppe, in der ein proportionaler Fehler praktisch ausgeschlossen werden kann. Daneben zeigt die Analyse hier, nicht jedoch in den anderen Gruppen, einen deutlichen konstanten Fehler auf (vergl. Abbildung 10/Tabelle 11).

Gruppe	PCT _{ECLIA} (ng/ml)	n	CUSUM- Test* (p)	Passing-Bablok Regression	
				Steigung (95 % KI)	Achsabschnitt (95 % KI)
A	≥ 0,2	182	0,528	1,358 (1,281 bis 1,460)	0,057 (-0,004 bis 0,138)
B	≥ 0,2 bis < 0,5	61	0,936	10,330 (5,111 bis 35,46)	-2,287 (-9,873 bis 0,829)
C	≥ 0,5 bis < 2	77	0,510	1,616 (1,345 bis 2,111)	0,326 (-0,767 bis 0,043)
D	≥ 2 bis < 10	26	0,841	1,855 (1,388 bis 2,989)	-1,217 (-3,994 bis 0,283)
E	≥ 10	18	0,291	1,023 (0,953 bis 1,239)	6,779 (1,362 bis 9,610)

Tabelle 11: Passing-Bablok-Regression für alle Messwerte oberhalb des LoQ_{LETIA} (Gruppe A) sowie für die Grenzwertbereiche (Gruppen B-E)
(*nach Kolmogorow-Smirnow)

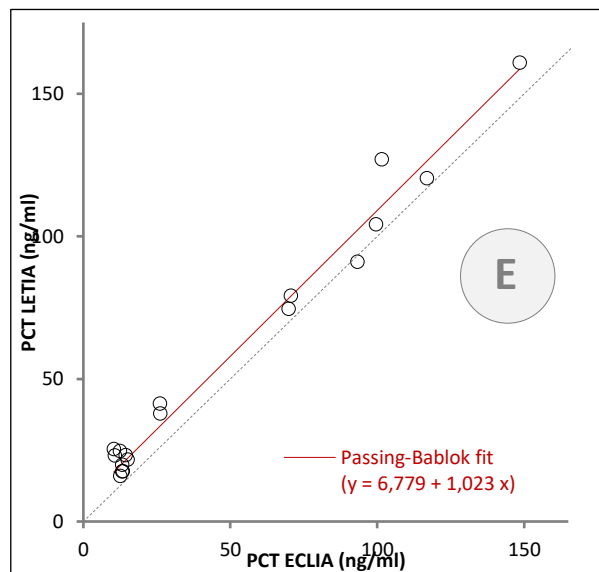
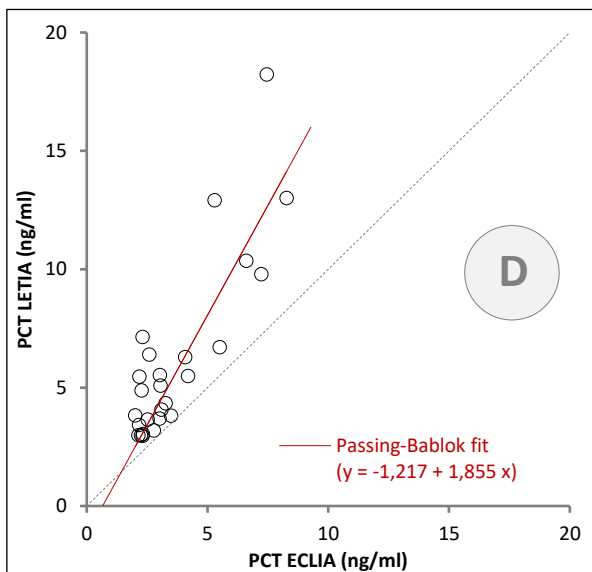
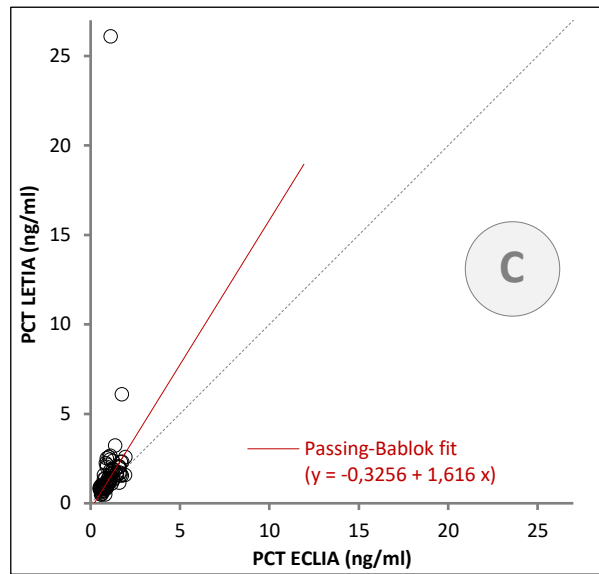
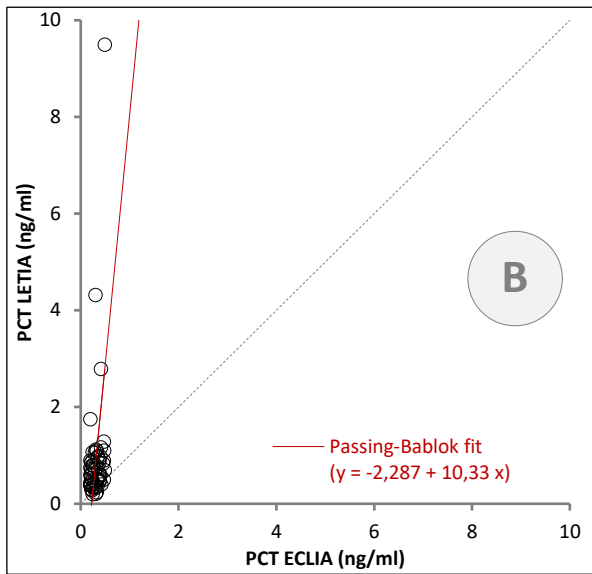
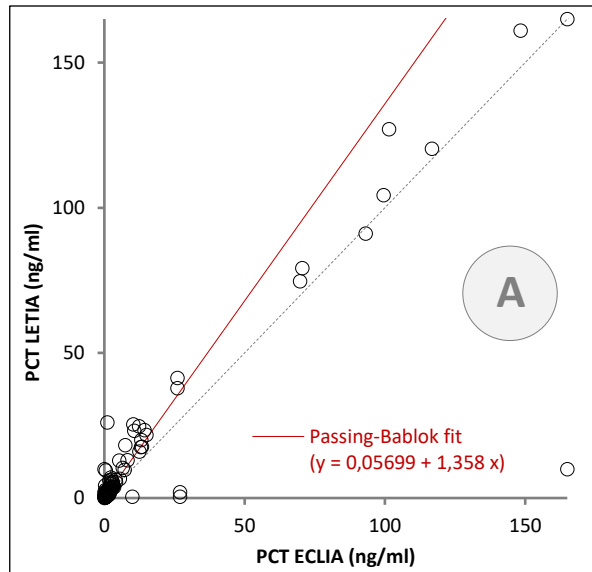


Abbildung 10: Passing-Bablok-Regression der beiden Verfahren alle Messwerte $> \text{LoQ}_{\text{LETIA}}$ (A) und aufgetrennt nach Grenzwertbereichen 0,02 bis 0,5 ng/ml (B), 0,5 bis 2 ng/ml (C), 2 bis 10 ng/ml (D) und > 10 ng/ml (E) entsprechend des ECLIA (vergl. Tabelle 11)

9.3.7 Bland-Altman-Analyse

Wie es bereits in den vorhergehenden Untersuchungen beobachtet werden konnte, zeigt sich auch in der Bland-Altman-Analyse eine häufige Überschätzung der PCT-Werte durch den LETIA. Für den gesamten Messwertbereich oberhalb des LoQ_{LETIA} ergab sich eine mittlere Abweichung des immunturbidimetrischen Verfahrens zum ECLIA von etwa 0,60 ng/ml mit einer Schwankungsbreite von 48,02 ng/ml innerhalb des 95 % Konfidenzintervalls (vergl. Abbildung 11 (A)).

In der Betrachtung der einzelnen Grenzwertbereiche (Abbildung 11 (B-E)) nimmt die mittlere Abweichung mit zunehmender PCT-Konzentration zu. Sie beträgt allerdings schon unterhalb des diagnostischen Grenzwertes von 0,50 ng/ml (Abbildung 11 (B)) etwa 0,60 ng/ml mit einer Schwankungsbreite von 4,91 ng/ml innerhalb des 95 % Konfidenzintervalls und auch hier sind nahezu ausschließlich positive Differenzen aufgetreten.

Innerhalb des Messwertbereiches von 0,5 bis 2,0 ng/ml (Abbildung 11 (C)) beträgt die mittlere Differenz 0,75 ng/ml mit einer Schwankungsbreite von 11,26 ng/ml innerhalb des 95 % Konfidenzintervalls. Sie nimmt im Messwertbereich von 2 bis 10 ng/ml (Abbildung 11 (D)) einen Wert von 2,46 ng/ml mit einer Schwankungsbreite von 9,45 ng/ml innerhalb des 95 % Konfidenzintervalls an und erreicht für die Messwerte oberhalb von 10 ng/ml (Abbildung 11 (E)), ähnlich des in der einfachen linearen Regression ermittelten Wertes (vergl. Kapitel 9.3.5) etwa 8,91 ng/ml mit einer Schwankungsbreite von 24,54 ng/ml innerhalb des 95 % Konfidenzintervalls.

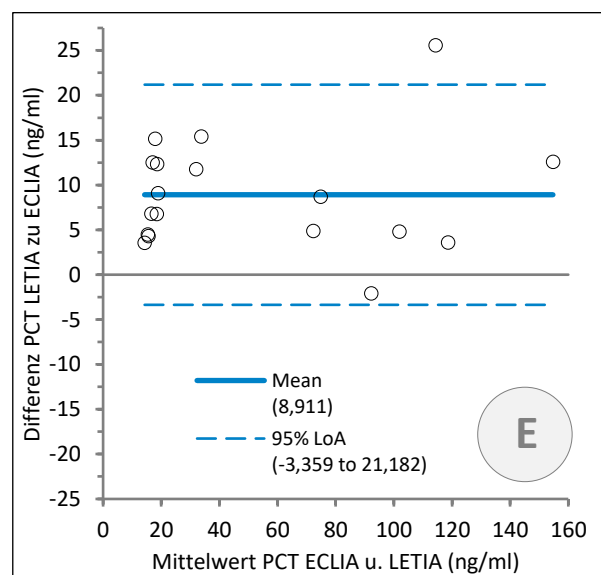
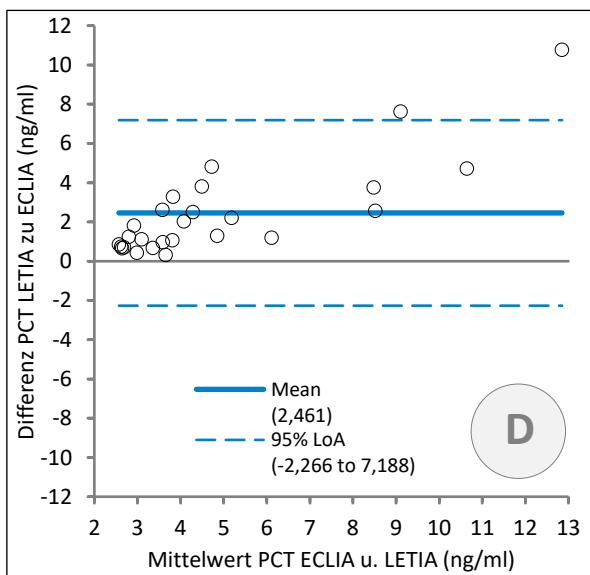
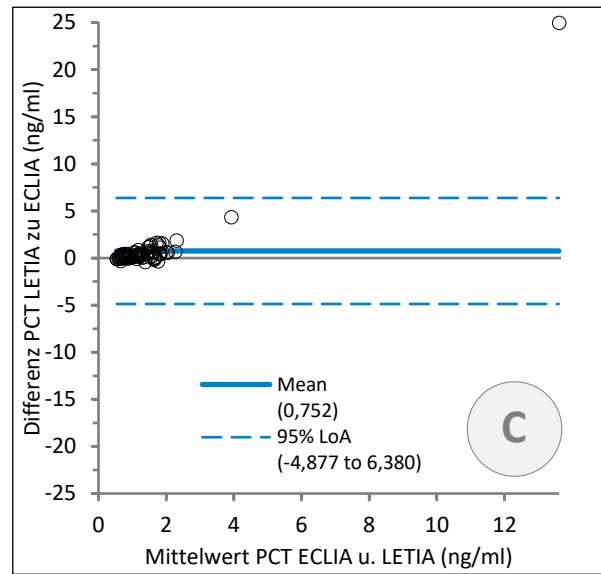
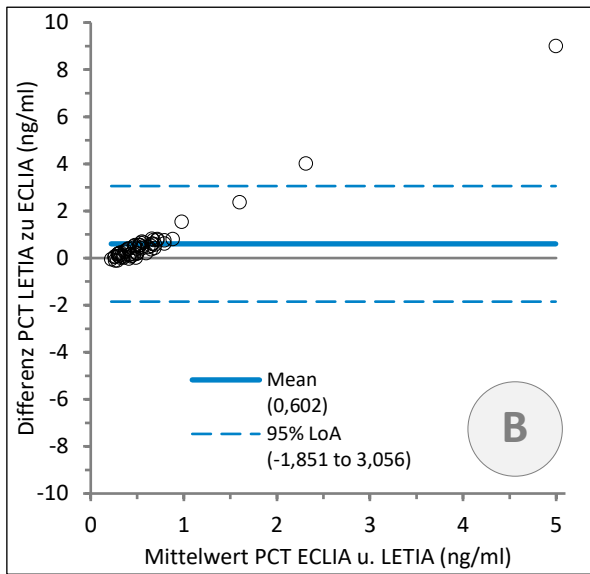
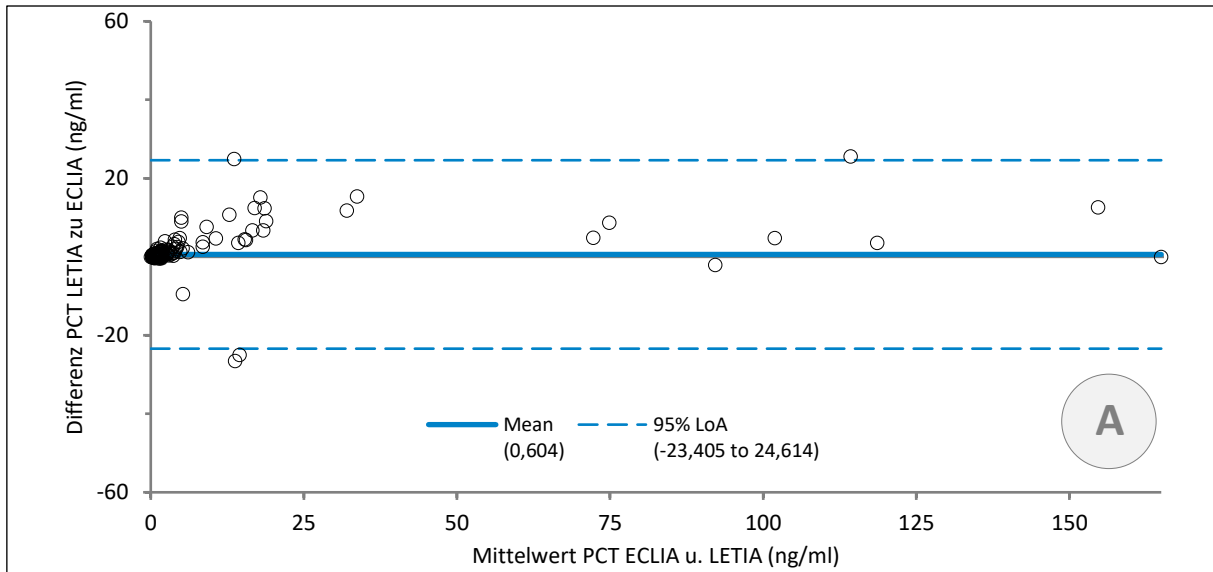


Abbildung 11: Bland-Altman-Plots der beiden Verfahren für alle Messwerte $> \text{LoQ}_{\text{LETIA}}$ (A) und aufgetrennt nach Grenzwertbereichen 0,02 bis 0,5 ng/ml (B), 0,5 bis 2 ng/ml (C), 2 bis 10 ng/ml (D) und > 10 ng/ml (E) entsprechend der ECLIA-Messwerte

9.4 Diagnostische Konkordanzanalyse

In diesem Kapitel soll eine Einschätzung der diagnostischen Aussagekraft der beiden PCT-Messverfahren vorgenommen werden. Dazu wurde als Übereinstimmung der Ergebnisse ein positiver Messwert oberhalb der Grenzwerte von 0,5 ng/ml oder 2,0 ng/ml mit einer vorliegenden Sepsis bzw. ein Wert unterhalb des Grenzwertes von 0,5 ng/ml bei ausgeschlossener Sepsis gewertet. Die Auswertung wurde hier nur für jene PatientInnen vorgenommen, für die eine klinische Diagnose erhoben oder anhand der vorhandenen Laboruntersuchungen und dokumentierten Vitalparameter erbracht werden konnte. Diese Subgruppen der PatientInnen mit vorhandener Sepsisdiagnose oder ausgeschlossener Sepsis, der ambulant vorgestellten PatientInnen und jene mit den differentesten Messwerten werden nachfolgend separat analysiert.

Unabhängig von der klinischen Diagnose konnte in der Betrachtung aller 320 PatientInnen in Referenz zum ECLIA nur für die höheren PCT-Konzentrationen oberhalb des diagnostischen Grenzwertes von 2,0 ng/ml eine beachtliche Übereinstimmung der LETIA-Messwerte ausgemacht werden. Bei geringeren PCT-Konzentrationen wies das Verfahren nur schlechte bis mäßige Übereinstimmungen auf. Der Grad der Übereinstimmung der durch das Immunturbidimetrie-Verfahren erhobenen PCT-Messwerte in Bezug auf die relevanten diagnostischen Grenzwerte ist in Tabelle 12 dargestellt.

diagnostischer Grenzwert (ng/ml)	Falsch negativ (n)	Falsch positiv (n)	Übereinstimmung			Cohen's K (95 % KI)
			Negativ	Positiv	Gesamt	
0,25	5	125	19,9 %	57,7 %	59,4 %	17,1 % (6,17 – 28,1 %)
0,50	0	92	53,8 %	56,8 %	71,3 %	46,8 % (37,6 – 56,0 %)
2,0	0	26	90,6 %	62,9 %	91,9 %	72,6 % (62,5 – 82,7 %)
10	0	5	98,3 %	78,3 %	98,4 %	87,0 % (75,7 – 98,3 %)

Tabelle 12: diagnostische Konkordanz der Immunturbidimetrie zur Referenz des ECLIA für alle 320 StudienpatientInnen

Hier stellt sich für den Grenzwert von 0,25 ng/ml eine Gesamtübereinstimmung von nur 59,4 % (Cohen's K 17,1 %) dar. Für den sepsisrelevanten Grenzwert von 0,50 ng/ml konnte eine Übereinstimmung von 71,3 % (Cohen's K 46,8 %) festgestellt werden, während erst für die Grenzwerte von 2,0 ng/ml bzw. 10 ng/ml substantielle Gesamtübereinstimmungen von 91,9 % (Cohen's K 72,6 %) bzw. 98,4 % (Cohen's K 87,0 %) beobachtet wurden.

9.4.1 Diagnostische Übereinstimmung bei vorliegender Sepsis

Mit einer vorhandenen Sepsisdiagnose, zum Teil bestätigt durch eine positive bakterielle Blutkultur vom jeweiligen Tag der PCT-Bestimmung konnten 39 (8,2 %) PatientInnen identifiziert werden. Diese waren ohne Ausnahme zum Zeitpunkt der PCT-Messung bereits antibiotisch antherapiert. Das Konzentrationsspektrum erstreckte sich in dieser Gruppe beim ECLIA von 0,17 bis 189,60 ng/ml und bei der Immunturbidimetrie von 0,48 bis 164,24 ng/ml, wobei im Fall vorliegender Mehrfachmessungen für diese Gruppe nur der jeweils höchste Messwert in die Auswertung einbezogen wurde. Der Anteil der Messwerte innerhalb der relevanten Grenzwertbereiche ist in Abbildung 12 dargestellt.

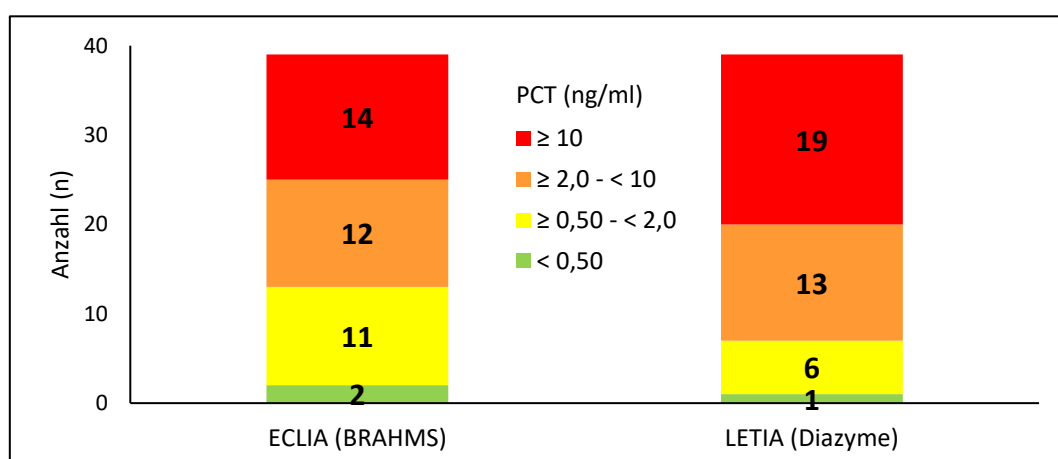


Abbildung 12: Messwertanteil bei vorhandener Sepsisdiagnose

Danach wurden mit Bezug auf den diagnostischen Grenzwert von 0,5 ng/ml, der eine generalisierte bakterielle Infektion mit hoher Wahrscheinlichkeit markiert, durch den ECLIA 37 (94,9 %) PatientInnen positiv getestet, während mit der Immunturbidimetrie 38 (97,4 %) der PatientInnen ein positives Testergebnis erhielten.

In Bezug auf den diagnostischen Grenzwert von 2,0 ng/ml, oberhalb dessen eine bakterielle Sepsis mit hoher Wahrscheinlichkeit vorliegt, konnten von diesen PatientInnen durch den ECLIA 26 (66,7 %) und mit der Immunturbidimetrie 32 (82,1 %) positiv getestet werden (vergl. Tabelle 13).

	Grenzwerte (ng/ml)	Anzahl (n)	Sensitivität (%)
ECLIA	0,5	37	94,9
(BRAHMS)	2,0	26	66,7
LETIA	0,5	38	97,4
(Diazyme)	2,0	32	82,1

Tabelle 13: diagnostische Übereinstimmung bei vorh. Sepsisdiagnose (n = 39)

9.4.2 Diagnostische Übereinstimmung bei ausgeschlossener Sepsis

Demgegenüber konnten aus der Gesamtpopulation 116 (36,3 %) PatientInnen identifiziert werden, bei denen zum Zeitpunkt der PCT-Bestimmung eine negative Blutkultur vorlag und/oder auch kein Verdacht auf eine septische Erkrankung bzw. eine generalisierte bakterielle Infektion bestand. Dabei wurden PatientInnen mit Begleitindikatoren, die ebenfalls erhöhte PCT-Konzentrationen bedingen können (aktive Pneumonien, Neoplasien, Polytraumata, chirurgische Eingriffe und Organtransplantationen) nicht berücksichtigt. Eine antibiotische Therapie vor der PCT-Messung hatten dennoch 64 (55,2 %) der PatientInnen erhalten. Hierbei erstreckte sich das Spektrum der PCT-Konzentration beim ECLIA von 0,02 bis 0,74 ng/ml und bei der Immunturbidimetrie von 0,16 bis 6,87 ng/ml. Der Messwertanteil innerhalb der Grenzwertbereiche für diese Gruppe ist in Abbildung 13 dargestellt.

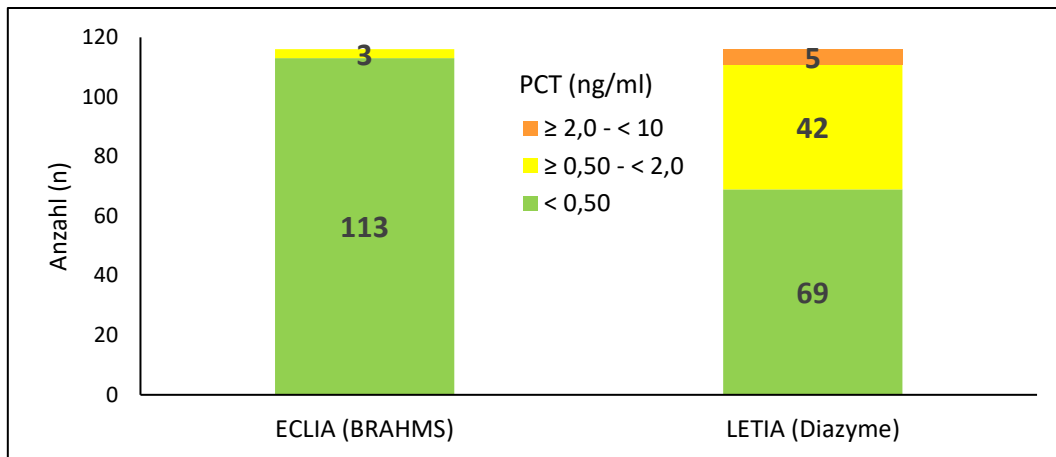


Abbildung 13: Messwertanteil bei ausgeschlossener Sepsis und/oder neg. Blutkultur

Von diesen PatientInnen wurden in Bezug auf den Grenzwert von 0,5 ng/ml durch den ECLIA 113 (97,4 %) und mit der Immunturbidimetrie 69 (59,5 %) negativ getestet.

In Bezug auf den Grenzwert von 2,0 ng/ml erhielten durch den ECLIA alle 116 (100 %) PatientInnen ein negatives Ergebnis, während mit der Immunturbidimetrie 111 (95,7 %) Proben mit einer geringeren Konzentration gemessen wurden (vergl. Tabelle 14).

	Grenzwerte (ng/ml)	Anzahl (n)	Spezifität (%)
ECLIA (BRAHMS)	0,5	113	97,4
	2,0	116	100
LETIA (Diazyme)	0,5	69	59,5
	2,0	111	95,7

Tabelle 14: diagnostische Übereinstimmung bei fehlender Verdachtsdiagnose für eine Sepsis und/oder negativer bakterieller Kultur (n = 116)

9.4.3 Diagnostische Übereinstimmung bei NotfallpatientInnen

33 (10,3 %) PatientInnen aus der Gesamtpopulation wurden mit Symptomen einer akuten Infektion nach ambulanter Vorstellung in der Notaufnahme auf das Vorliegen eines erhöhten PCT-Spiegels getestet. Von diesen hatten 8 PatientInnen bereits vor der klinischen Vorstellung eine antibiotische Vorbehandlung erhalten. Das Konzentrationsspektrum des PCT erstreckte sich in dieser Gruppe von 0,02 bis 148,40 ng/ml beim ECLIA und von 0,17 bis 161,01 ng/ml bei der Immunturbidimetrie. Der Messwertanteil innerhalb der relevanten Grenzwertbereiche für diese Gruppe ist in Abbildung 14 dargestellt.

Nach der Auswertung der Ambulanzdokumentation, der Vital- und Laborparameter (qSOFA, Körpertemperatur, Herzfrequenz, CRP, Leukozyten) sowie der vorhandenen Blutkulturuntersuchungen wurden hiervon 9 PatientInnen mit einer Sepsis diagnostiziert. Mit Bezug auf den Grenzwert von 0,50 ng/ml konnten beide Testverfahren diese 9 PatientInnen mit einer Sensitivität von 100 % detektieren, woraus auch ein negativ prädiktiver Wert von 100 % für beide Verfahren in dieser Gruppe resultiert.

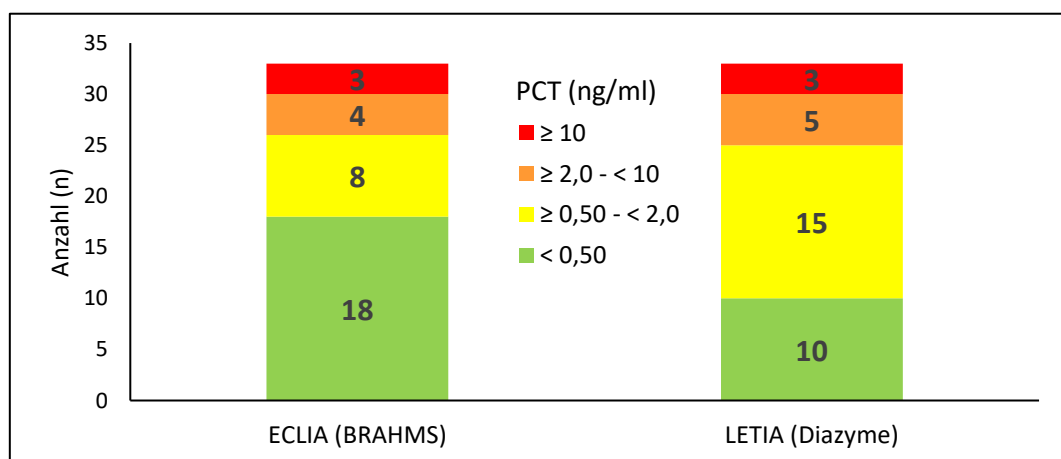


Abbildung 14: Messwertanteil der ambulanten NotfallpatientInnen

In der Spezifität (75,0 % beim ECLIA und 41,7 % bei der Immunturbidimetrie) zeigten die Verfahren jedoch deutliche Unterschiede. Dabei fiel in dieser Untersuchungsgruppe erneut der wesentlich höhere Anteil an falsch positiven Testergebnissen bei der Immunturbidimetrie (58,3 %) im Vergleich zum ECLIA (25,0 %) auf. Demzufolge lag hier für den LETIA auch ein deutlich geringerer positiv prädiktiver Wert vor (vergl. Tabelle 15).

	ECLIA (BRAHMS)	LETIA (Diazyme)
Richtig positiv	9 (100 %)	9 (100 %)
Richtig negativ	18 (75 %)	10 (41,7 %)
Falsch positiv	6 (25 %)	14 (58,3 %)
Falsch negativ	0 (0 %)	0 (0 %)
Positiv Prädiktiver Wert	60,0 %	39,1 %
Negativ Prädiktiver Wert	100 %	100 %

Tabelle 15: Gütemaße der Testverfahren f. ambulante Notfallpatienten (n = 33)

9.4.4 Bewertung der Messwerte mit den größten Differenzen

Im Vergleich der Ergebnisse der beiden PCT-Testverfahren sind mehrere Messwertpaare aufgetreten, bei denen sich die gemessene PCT-Konzentration zwischen den beiden Verfahren um den Faktor 10 oder mehr unterschied. Dabei sind nur mit der Immunturbidimetrie derart signifikant positiv abweichende Messwerte generiert worden. Die negativ-differenten Messwerte im Vergleich zu den ECLIA-Werten fielen allesamt weniger deutlich verschieden aus. Mit einer einseitig deutlichen Grenzwertüberschreitung waren dies insgesamt 29 (9,0 %) aller Erstmessungen der 320 StudienpatientInnen, mit einem Konzentrationsspektrum von 0,02 bis 1,12 ng/ml beim ECLIA und 0,50 bis 26,10 ng/ml beim LETIA.

Für diese 29 PatientInnen wurde eine klinische Einschätzung anhand der Hauptdiagnose (Aufnahmegrund, Therapie), der Begleitindikatoren und ausgewählter Vitalparameter (Temperatur, Blutdruck, Herz- und Atemfrequenz) sowie Laboruntersuchungen (CRP, Leukozyten, bakterielle Kulturen) vorgenommen.

Nur bei vier dieser PatientInnen (zwei mit positiver Blutkultur) konnte eine fragliche Sepsisdiagnose aus der Dokumentation erhoben werden. Anzeichen für das klinische Bild einer Sepsis konnten zum Zeitpunkt der PCT-Bestimmung jedoch nur für drei der PatientInnen ausgemacht werden. Die Überwiegende Mehrheit dieser 29 PatientInnen zeigte in der Zusammenschau der Befunde keine hinreichenden Anhaltspunkte für ein septisches Zustandsbild.

Danach muss für diese Gruppe in 26 Fällen (89,7 %) den Ergebnissen des ECLIA der Vorzug gegeben werden, bei dem es nur in einem Fall zu einer Überschreitung des Grenzwertes von 0,50 ng/ml kam. Die Messwerte der Immunturbidimetrie haben dagegen nur in drei Fällen (10,3 %) eher dem klinischen Zustandsbild entsprochen (vergl. Abbildung 15).

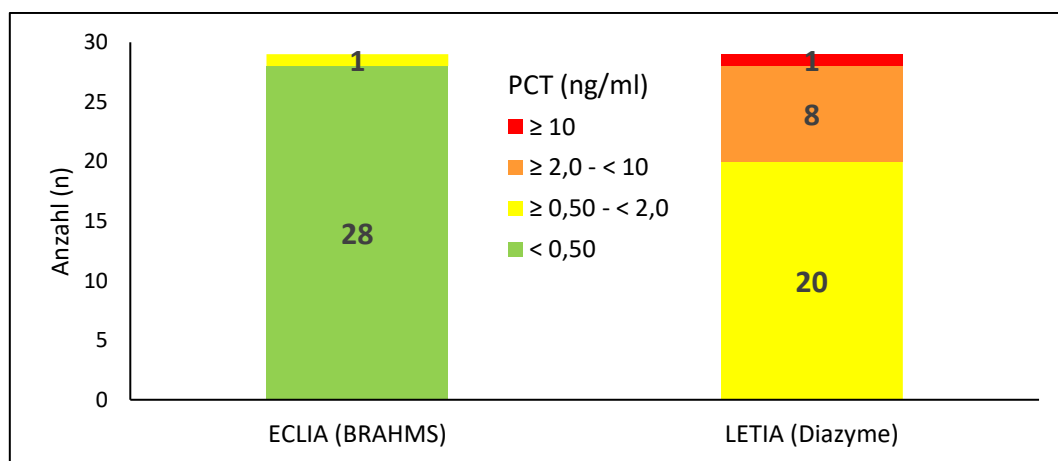


Abbildung 15: Messwertanteil der Fälle mit den größten Differenzen

10. Diskussion

Um Procalcitonin als Biomarker in der Routinediagnostik sinnvoll einzusetzen, ist eine möglichst genaue Bestimmung der Blutplasmakonzentration notwendig. Nur dann können mit Hilfe des Parameters veritable Aussagen getroffen werden, die in der Diagnostik und ebenso im Rahmen der Verlaufskontrollen eine Hilfestellung für die Therapieentscheidungen geben können. Dabei sollte deren Erhebung in einem vertretbaren ökonomischen Rahmen bleiben.

In dieser Studie konnte der Diazyme Procalcitonin (PCT) Assay in keinem statistischen Analyseverfahren eine durchweg zufriedenstellende Korrelation zum etablierten Elecsys BRAHMS PTC Assay zeigen. Auch das klinische Bild der PatientInnen scheint den Ergebnissen des LETIA wesentlich weniger zu entsprechen. Die Unterschiede der bestimmten Messwerte wiesen für alle untersuchten Kriterien eine klinische Relevanz auf, wobei insbesondere in den niedrigen Konzentrationsbereichen ein deutliches Missverhältnis auffiel. Vielfach wurden durch die Turbidimetrie höhere Messwerte erhoben, die im Vergleich zu den ECLIA-Werten deutlich häufiger zu einer Grenzwertüberschreitung führten.

Die Korrelationsanalyse nach Spearman ergab in der Betrachtung des gesamten Messwertumfangs sehr gute Werte. Für das Gros der PCT-Messwerte im diagnostisch relevanten Bereich unterhalb des Grenzwertes von 0,5 ng/ml konnte hier jedoch keine gute Korrelation festgestellt werden. Ein ähnliches Bild ergab sich in den Regressionsanalysen. Während in der einfachen linearen Regression als auch in der Passing-Bablok-Regression für den gesamten Messwertumfang noch eine gute Korrelation ermittelt werden konnte, stellten sich für die Messwerte unterhalb des Grenzwertes von 2,0 ng/ml deutlich divergente Anstiege in den Regressionsgeraden dar. Nur für den Bereich oberhalb des Grenzwertes von 10,0 ng/ml konnte hier eine exzellente Linearität, jedoch mit einem deutlichen konstanten Fehler ermittelt werden.

Darüber hinaus zeigte auch die Bland-Altman-Analyse diagnostisch relevante Differenzen in den Immunturbidimetrie-Messwerten auf. Für den gesamten

Messwertumfang, als auch für jene Werte im Bereich unterhalb des 0,50 ng/ml-Grenzwertes lagen diese im Mittel 0,60 ng/ml über den ECLIA-Werten. Ausgehend von einem Minimalwert mit der Nachweisgrenze von 0,16 ng/ml führt dies zu häufigen Grenzwertüberschreitungen. Die Zunahme der mittleren Abweichung und der Schwankungsbreite in den höheren Messwertbereichen ist hierbei von geringerer klinischer Relevanz. Ein diagnostisch signifikanter Unterschied war jedoch in allen Messwertbereichen auszumachen.

Die rechnerisch ermittelten Differenzen stellten sich auch in der diagnostischen Konkordanzanalyse sehr deutlich dar. Eine Grenzwertüberschreitung ohne klinische Korrelation war hier mit der Turbidimetrie wesentlich häufiger zu beobachten. Wenngleich für die untersuchte Population mangels einer umfassenden Sepsisdiagnose keine genauen Angaben zu den positiv oder negativ prädiktiven Werten der Testverfahren gemacht werden konnten, spiegelte sich die geringere Spezifität des Turbidimetrie-Verfahrens in allen untersuchten Subgruppen wieder. Für die Diagnose einer Sepsis, auf Grund der vielfach höheren Messwerte, ergab sich jedoch eine etwas höhere Sensitivität.

Bereits in vorangegangenen Studien sowie auch in den von Diazyme selbst durchgeführten Testreihen mit gepoolten oder nach PCT-Konzentrationen ausgewählten Serumproben konnten die größten Differenzen des Diazyme Procalcitonin Assays mit einer hohen Zahl an falsch-positiven Befunden im Vergleich zum BRAHMS PCT Kryptor Assay oder dem Roche BRAHMS PCT Assay (ECLIA) in den niedrigen Konzentrationsbereichen unterhalb des diagnostisch relevanten Grenzwertes von 0,50 ng/ml festgestellt werden. In den Konzentrationsbereichen oberhalb von 10,0 ng/ml wurden dagegen durchweg sehr gute Korrelationen beobachtet [34,37,38].

Cerioti et al. hatten spekuliert, dass die Abweichungen der geringeren funktionellen Sensitivität (LoQ) des Turbidimetrie-Verfahrens geschuldet sein können, oder dass andere Serumbestandteile bei diesem Test zu Interferenzen führen könnten [38]. Der Einsatz nur eines Antikörpers könnte beim Turbidimetrie-Verfahren zur Bindung auch an kleinere PCT-Fragmente oder strukturähnliche Elemente führen. Dieser Effekt wird

beim ECLIA durch zwei PCT-spezifische Antikörper mit unterschiedlichen Bindungsstellen deutlich minimiert. Eine mögliche Ursache könnte auch im Einsatz verschiedenartiger Antikörper begründet sein. Diazyme macht jedoch zur Struktur der beim LETIA genutzten Antikörper keine Angaben [37].

Daneben haben Dipalo et al. in einer Multicenter-Vergleichsstudie mit verschiedenen PCT-Messverfahren auf diversen Analysesystemen für dieselben Serumproben eine zum Teil signifikant differente Performance einzelner Immunoassays festgestellt. Die Diazyme Procalcitonin Assays zeigten auch hier im niedrigen Konzentrationsbereich die größten Abweichungen zu anderen Methoden. Dabei waren die auf verschiedenen Analysesystemen erhobenen Ergebnisse nicht kongruent, aber vergleichbar [34]. Die Autoren waren hier zu dem Schluss gekommen, dass die Anwendung der PCT-Messverfahren nicht uneingeschränkt austauschbar ist. Innerhalb eines Zentrums, insbesondere zur Verlaufskontrolle eines Patienten oder einer Patientin sollte darum nur ein Analyseverfahren eingesetzt werden.

Die Immunturbidimetrie stellt ein relativ günstiges Testverfahren dar. Die damit gewonnenen, vielfach höheren Messerwerte stehen jedoch im Widerspruch zu der Intention, die Antibiotikatherapie wie auch die Aufenthaltsdauer in intensivmedizinischen Einrichtungen und damit letztlich die Behandlungskosten durch eine PCT-gestützte Diagnostik zu reduzieren. Von Bedeutung ist hier in erster Linie der rationalere Antibiotika-Einsatz zur Minderung von Nebenwirkungen und Resistenzentwicklungen. Hohn et al. haben in einer retrospektiven Studie zur Anwendung von PCT-gestützten Antibiotic-Stewardship-Programmen bei septischen PatientInnen hingegen auch eine Reduktion der Liegezeit auf Intensivstationen von mehreren Tagen beobachtet [24]. Dem muss in Zeiten eines Mangels an Intensivbetten ebenso eine ökonomische Bedeutung beigemessen werden. In dieser Hinsicht bietet das immunturbidimetrische Messverfahren von Diazyme in seiner aktuellen Form keine Vorteile. Mit Bezug auf den Grenzwert von 0,5 ng/ml wurden mit diesem Test im Vergleich zum ECLIA bei 320 PatientInnen 92 (28 %) falsch-positive PCT-Messwerte erhoben. Danach hätte in unserer Studienpopulation unter Umständen mehr als ein Viertel der PatientInnen eine ungerechtfertigt prolongierte Antibiotikatherapie erhalten.

10.1 Limitationen

Zur Messung der PCT-Konzentration gibt es bisher keine analytisch validierte Referenzmethode. Ein Kalibrierstandard, anhand dessen die PCT-Bestimmung in einem definierten Schwankungsbereich ausgerichtet werden könnte, ist bis dato nicht entwickelt worden. Darum können auch die Ergebnisse des ECLIA nicht als vollumfänglich präzise bewertet werden. Das Verfahren ist in dieser Studie für einige Aspekte als Referenz herangezogen worden, da sich dieses während des langjährigen klinischen Einsatzes als zuverlässige Testmethode erweisen konnte. Eine uneingeschränkte Assertion kann damit jedoch nicht gewährleistet werden.

Darüber hinaus sind die in Kapitel 9.4 einbezogenen Diagnosen einer septischen Erkrankung mit einem gewissen Vorbehalt zu betrachten. Die Diagnosen für die Analyse der klinischen Konkordanz sind nicht vor Ort an den PatientInnen vorgenommen worden. Die Einschätzung auf das Vorliegen einer Sepsis wurde retrospektiv anhand der vorliegenden Dokumentation und mittels der erhobenen Laboruntersuchungen und Vitalparameter vorgenommen. Damit konnte die Beurteilung des klinischen Bildes nur eingeschränkt erfolgen. Diese Arbeit ist jedoch primär als Methodenvergleich, nicht als klinische Studie konzipiert worden.

11. Fazit

Nach den vorliegenden Ergebnissen kann der Einsatz des Diazyme Procalcitonin (PCT) Assay mittels Latexpartikel-verstärkter Immunturbidimetrie für die Routine-PCT-Diagnostik unter Anwendung der etablierten Grenzwerte nicht empfohlen werden.

Unter Umständen könnte die Konstituierung eigener Entscheidungsgrenzen für die klinische Anwendung des Verfahrens hilfreich sein. Dazu sind jedoch weiterführende Untersuchungen notwendig. Durch einen einheitlichen Kalibrierstandard könnten darüber hinaus die Unterschiede der Messverfahren minimiert werden. Dies würde der Entwicklung neuer PCT-Testverfahren ebenfalls zu Gute kommen und könnte die Ergebnisse verschiedener Systeme vergleichbarer machen.

12. Literaturverzeichnis

1. Wrenger S, Kähne T, Bohuon C, Weglöhner W, Ansorge S, Reinhold D: Amino-terminal truncation of procalcitonin, a marker for systemic bacterial infections, by dipeptidyl peptidase IV (DP IV). *FEBS Lett* 2000; 466: 155–159.
2. Whicher J, Bienvenu J, Monneret G: Procalcitonin as an acute phase marker. *Ann Clin Biochem* 2001; 38: 483–493.
3. Moya F, Nieto A, R-Candela JL: Calcitonin biosynthesis: evidence for a precursor. *Eur J Biochem* 1975; 55: 407–413.
4. Jacobs JW, Lund PK, Potts JT, Bell NH, Habener JF: Procalcitonin is a glycoprotein. *J Biol Chem* 1981; 256: 2803–2807.
5. Wiedermann FJ, Kaneider N, Egger P, et al.: Migration of human monocytes in response to procalcitonin. *Crit Care Med* 2002; 30: 1112–1117.
6. Creamer AW, Kent AE, Albur M: Procalcitonin in respiratory disease: use as a biomarker for diagnosis and guiding antibiotic therapy. *Breathe (Sheffield, England)* 2019; 15: 296–304.
7. Müller B, White JC, Nylén ES, Snider RH, Becker KL, Habener JF: Ubiquitous expression of the calcitonin-i gene in multiple tissues in response to sepsis. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 396–404.
8. Meisner M: Biomarkers of sepsis: clinically useful? *Curr Opin Crit Care* 2005; 11: 473–480.
9. Kopterides P, Tsangaris I: Procalcitonin and sepsis: recent data on diagnostic utility prognostic potential and therapeutic implications in critically ill patients. *Minerva Anestesiol* 2012; 78: 823–835.
10. Meisner M: Update on procalcitonin measurements. *Ann Lab Med* 2014; 34: 263–273.
11. Linscheid P, Seboek D, Schaer DJ, Zulewski H, Keller U, Müller B: Expression and secretion of procalcitonin and calcitonin gene-related peptide by adherent monocytes and by macrophage-activated adipocytes. *Crit Care Med* 2004; 32: 1715–1721.
12. Struck J, Strebelow M, Tietz S, et al.: Method for the selective measurement of amino-terminal variants of procalcitonin. *Clin Chem* 2009; 55: 1672–1679.
13. Hoffmann G, Czechowski M, Schloesser M, Schobersberger W: Procalcitonin amplifies inducible nitric oxide synthase gene expression and nitric oxide production in vascular smooth muscle cells. *Crit Care Med* 2002; 30: 2091–2095.
14. Spisani S, Pareschi MC, Buzzi M, et al.: Effect of cyclic AMP level reduction on human neutrophil responses to formylated peptides. *Cell Signal* 1996; 8: 269–277.
15. Ydrenius L, Molony L, Ng-Sikorski J, Andersson T: Dual action of cAMP-dependent protein kinase on granulocyte movement. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 235: 445–450.
16. Hoffmann G, Totzke G, Seibel M, Smolny M, Wiedermann FJ, Schobersberger W: In vitro modulation of inducible nitric oxide synthase gene expression and nitric oxide synthesis by procalcitonin. *Crit Care Med* 2001; 29: 112–116.
17. Monneret G, Pachot A, Laroche B, Picollet J, Bienvenu J: Procalcitonin and calcitonin gene-related peptide decrease LPS-induced tnf production by human circulating blood cells. *Cytokine* 2000; 12: 762–764.
18. Hoffmann G, Schobersberger W: Anti-inflammatory procalcitonin (PTC) in a human whole blood model septic shock. *Cytokine* 2001; 14: 127–128.
19. Assicot M, Bohuon C, Gendrel D, Raymond J, Carsin H, Guilbaud J: High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection. *The Lancet* 1993; 341: 515–518.
20. Stocker M, Fontana M, El Helou S, Wegscheider K, Berger TM: Use of procalcitonin-guided decision-making to shorten antibiotic therapy in suspected neonatal early-onset sepsis: prospective randomized intervention trial. *Neonatology* 2010; 97: 165–174.
21. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al.: The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA* 2016; 315: 801–810.
22. Brunkhorst FM, Gastmeier P, Abu Sin M: Aktuelle Aspekte zur Definition und Diagnostik der Sepsis und Antibiotikaresistenz. *Bundesgesundheitsblatt* 2018; 61: 562–571.

23. Kumar A, Roberts D, Wood KE, et al.: Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Crit Care Med* 2006; 34: 1589–1596.
24. Hohn A, Schroeder S, Gehrt A, et al.: Procalcitonin-guided algorithm to reduce length of antibiotic therapy in patients with severe sepsis and septic shock. *BMC Infect Dis* 2013; 13: 158.
25. Bouadma L, Luyt C-E, Tubach F, et al.: Use of procalcitonin to reduce patients' exposure to antibiotics in intensive care units (PRORATA trial): a multicentre randomised controlled trial. *Lancet* 2010; 375: 463–474.
26. Vijayan AL, Vanimaya, Ravindran S, et al.: Procalcitonin: a promising diagnostic marker for sepsis and antibiotic therapy. *Journal of intensive care* 2017; 5: 51.
27. Bodmann KF, Schenker M, Heinlein W, Wilke MH: Procalcitonin als Instrument zur Erfolgsmessung der Therapie einer schweren Sepsis : Eine Untersuchung mit klinischen Routinedaten. *Med Klin Intensivmed Notfmed* 2018; 113: 533–541.
28. Clec'h C, Ferriere F, Karoubi P, et al.: Diagnostic and prognostic value of procalcitonin in patients with septic shock. *Crit Care Med* 2004; 32: 1166–1169.
29. Chaudhry H, Zhou J, Zhong Y, et al.: Role of cytokines as a double-edged sword in sepsis. *In Vivo* 2013; 27: 669–684.
30. Balcı C, Sungurtekin H, Gürses E, Sungurtekin U, Kaptanoglu B: Usefulness of procalcitonin for diagnosis of sepsis in the intensive care unit. *Crit Care* 2003; 7: 85–90.
31. Hoffmann C, Hoffmann P, Zimmermann M: Diagnostic testing for a high-grade inflammation: parameter dynamics and novel markers. *Clin Chem Lab Med* 2015; 53: 541–547.
32. Mierzchała-Pasierb M, Lipińska-Gediga M: Sepsis diagnosis and monitoring - procalcitonin as standard, but what next? *Anaesthesiol Intensive Ther* 2019; 51: 299–305.
33. Dipalo M, Buonocore R, Gnocchi C, Picanza A, Aloe R, Lippi G: Analytical evaluation of Diazyme procalcitonin (PCT) latex-enhanced immunoturbidimetric assay on Beckman Coulter AU5800. *Clin Chem Lab Med* 2015; 53: 593–597.
34. Dipalo M, Guido L, Micca G, et al.: Multicenter comparison of automated procalcitonin immunoassays. *Practical laboratory medicine* 2015; 2: 22–28.
35. Ruzzenente O, Salvagno GL, Gelati M, Lippi G: Analytical evaluation of the novel Lumipulse G BRAHMS procalcitonin immunoassay. *Practical laboratory medicine* 2016; 6: 8–13.
36. Lippi G, Salvagno GL, Gelati M, et al.: Analytical Evaluation of the New Beckman Coulter Access Procalcitonin (PCT) Chemiluminescent Immunoassay. *Diagnostics (Basel)* 2020; 10.
37. Diazyme Laboratories Inc.: Diazyme Procalcitonin (PCT) Assay. Systeminformation 1/3/2018.
38. Ceriotti F, Marino I, Motta A, Carobene A: Analytical evaluation of the performances of Diazyme and BRAHMS procalcitonin applied to Roche Cobas in comparison with BRAHMS PCT-sensitive Kryptor. *Clin Chem Lab Med* 2017; 56: 162–169.
39. Kutz A, Hausfater P, Oppert M, et al.: Comparison between B·R·A·H·M·S PCT direct, a new sensitive point-of-care testing device for rapid quantification of procalcitonin in emergency department patients and established reference methods - a prospective multinational trial. *Clin Chem Lab Med* 2016; 54: 577–584.
40. Dupuy AM, Chevrier Q, Olejnik Y, Bargnoux AS, Badiou S, Cristol JP: Analytical evaluation of point-of-care procalcitonin (PCT) and clinical performances in an unselected population as compared with central lab PCT assay. *Clin Chem Lab Med* 2017; 55: e167-e171.
41. Kwon HJ, Lee J, Park H-I, Han K: Evaluation of a novel point-of-care test kit, ABSOGEN™ PCT, in semi-quantitative measurement of procalcitonin in whole blood. *J Clin Lab Anal* 2017; 31.
42. Stenner E, Barbati G, West N, Ben FD, Martin F, Ruscio M: Interchangeability of Procalcitonin Measurements Using the Point of Care Testing i-CHROMATM Reader and the Automated Liaison XL. *Clin Lab* 2018; 64: 1097–1100.
43. Roche Diagnostics GmbH: Elecsys BRAMHS PCT. Systeminformation 2018.
44. Young IT: Proof without prejudice: use of the Kolmogorov-Smirnov test for the analysis of histograms from flow systems and other sources. *J Histochem Cytochem* 1977; 25: 935–941.