

Zur Qualität bakteriologisch-infektionsserologischer Verfahren in Deutschland: Die Auswertung der infektionsserologischen Ringversuche 2014 – Beitrag der Qualitätssicherungskommission der DGHM

Quality of bacteriologic infection serology in Germany: Analysis of the 2014 proficiency testing trials

Abstract

Reliability and comparability of analytic results in medical laboratories are getting more and more important. Based on this fact the part of external quality control gets indispensable. Especially in infection serology with limited standardization it is urgent to identify test systems of high quality and to control such tests by external quality measures. External quality assessment schemes (EQUAS) are proven to be high-performance instruments for quality control in the medical laboratory sector.

This publication outlines the results of the EQUAS for bacteriologic infection serology in 2014 performed by INSTAND Germany. For most of the analyzed parameters the results are comparable to formerly published findings. As in recent years, ongoing problems exist with the diagnostics of rare pathogens or in regard to complex diagnostic methods. Achieving a higher extend of standardization in this area would be preferable.

Keywords: external quality assessment, bacteriologic infection serology, microbiology, proficiency testing

Zusammenfassung

Die immer höheren Anforderungen an die Sicherheit und Vergleichbarkeit von analytischen Laborergebnissen ließen den Bereich der Qualitätssicherung innerhalb der letzten Jahre stetig an Bedeutung gewinnen. Gerade im Gebiet der serologischen Infektionsserologie macht es die Bandbreite der auf dem Markt verfügbaren Testmethoden, mit oft sehr hoher Varianz bezüglich Spezifität und Sensitivität, zwingend erforderlich mit Hilfe von externen Vergleichskontrollen, hochwertige Testsysteme zu identifizieren und im Rahmen der externen Qualitätskontrolle zu kontrollieren. Ringversuche haben sich hierbei als leistungsstarkes Instrument zur Sicherung der externen Qualitätssicherung im laboratoriumsmedizinischen Bereich erwiesen.

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit den Ergebnissen der von INSTAND e.V. bereitgestellten Ringversuche für das Jahr 2014. In den meisten untersuchten Parametern zeigen sich die Ergebnisse wenig abweichend zu den bereits publizierten Resultaten der vergangenen Jahre. Die höchste Problematik liegt wie in den Vorjahren im serologischen Nachweis seltener Erreger oder bei besonders anspruchsvollen Testverfahren. Insgesamt ist weiterhin eine Verbesserung der Standardisierung in diesem Bereich wünschenswert.

Schlüsselwörter: Ringversuch, externe Qualitätskontrolle, bakteriologische Infektionsserologie, Mikrobiologie

S. Rüttger¹
I. Müller^{1,2}
K.P. Hunfeld^{1,2,3}

1 Zentralinstitut für
Laboratoriumsmedizin,
Mikrobiologie und
Krankenhaushygiene,
Krankenhaus Nordwest,
Frankfurt am Main,
Deutschland

2 INSTAND e.V. Düsseldorf,
Deutschland

3 Qualitätssicherungskommission
der DGHM, Hannover,
Deutschland

1 Einleitung

Die bakteriologische Infektionsserologie ist der Teilbereich der Laboratoriumsmedizin, welcher sich mit der Analyse von Antikörpern und Antigenen im Patientenmaterial, zumeist Serum, befasst. Der menschliche Körper reagiert auf den Kontakt mit Bestandteilen von humanfremden Mikroorganismen z.B. Bakterien oder Umwelteinflüssen sogenannten Antigenen mit der Bildung von spezifischen Antikörpern. Dieser Abwehrmechanismus des humanen Immunsystems kann mittels serologischer Testverfahren zur spezifischen Diagnostik pathogener Erreger eingesetzt werden und trägt in bestimmten Bereichen bedeutend zur Infektionsdiagnostik bei. Bei der regelmäßigen Durchführung von infektionsserologischen Ringversuchen handelt es sich in diesem Kontext seit vielen Jahren um ein bewährtes Instrument der externen Qualitätssicherung [1]. Vor allem die externen Ringversuche, welche von speziell dafür beauftragten Institutionen organisiert werden, dienen in besonderer Weise der Leistungsverbesserung der Labordiagnostik und der Weiterentwicklung diagnostischer Verfahren. Die größte Problematik innerhalb der bakteriologischen Infektionsserologie entsteht durch die häufig unzureichende Standardisierung der Testsysteme. In den meisten Fällen basieren die eingesetzten biologischen Testsysteme auf dem biologischen Prinzip der Antigen-Antikörper Reaktion. Allerdings sind diese Nachweisverfahren, auf Grund der längerfristig nachweisbaren Konzentration einmal gebildeter Antikörper, nur dann hilfreich, wenn die Erreger weil kulturell anspruchsvoll oder durch eine bereits begonnener Therapie mittels bakteriologischem Direktnachweis nicht mehr nachgewiesen werden können. Im klinischen Alltag führt die große Bandbreite der auf dem Markt verfügbaren Testsysteme zur serologischen Diagnostik allerdings häufig zu einer erheblichen Heterogenität der Analyseergebnisse. Es ist daher zwingend notwendig die im Routinelabor eingesetzten Testsysteme auch mit Hilfe einer externen Qualitätssicherung auf ihre diagnostische Verlässlichkeit hin zu überprüfen.

Die vorliegende Publikation enthält eine metaanalytische Darstellung bzw. Bewertung der bakteriologisch-infektionsserologischen Ringversuche des Jahres 2014. Die geltenden Rahmenbedingungen und detaillierte, individuelle Ergebnisse können jederzeit auf der INSTAND e.V. Homepage unter <http://www.instand-ev.de/> abgerufen werden.

2 Methoden

2.1 Teilnehmerkollektiv

Das Teilnehmerkollektiv im Jahr 2014 lag mit durchschnittlich 1116 Teilnehmern für die beiden großen Ringversuche im Mai und im November geringfügig höher als in den Jahren zuvor. Die Gesamtanzahl der Teilnehmer setzt sich aus zwei Gruppen zusammen: Ringversuchsteilnehmern aus Deutschland und Teilnehmern aus dem Aus-

land. Für das Jahr 2014 liegen die durchschnittlichen Anzahlen der Teilnehmer allein aus Deutschland bei 879 und für Teilnehmer aus dem Ausland bei 237. Die niedrigste Beteiligung konnte mit 19 Anforderungen, wie bereits in den Vorjahren auch, für den Parameter 313 (*Chlamydia trachomatis*-AG Direktnachweis) im November verzeichnet werden. Die höchste Teilnehmerquote fand sich mit 529 Anforderungen, wie in den Vorjahren, für die Syphilisdiagnostik.

2.2 Probengewinnung und Durchführung

Die für die Ringversuche eingesetzten Seren stammen aus Vollblutspenden klinisch gesunder Probanden oder aus Serumentnahmen bei Patienten post infektionem. Voraussetzung war in jedem Fall ein Einverständnis der Probanden zu einer wissenschaftlichen Serumspende. Aus dieser Vollblutspende wurde Serum gewonnen und dieses nach Sicherstellung der mikrobiologischen Sterilität und dem Ausschluss eventueller Infektionsrisiken (wie HIV oder Hepatitis) als Ringversuchsprobe direkt, ohne stabilisierende Zusätze, aliquotiert und eingesetzt [2], [3], [4]. Für die auf spezifische Antigene des Erregertypus *C. trachomatis* ausgerichteten Ringversuche 313 und 316 wurde steril filtrierter Urin bzw. Urinsediment mit einer inaktivierten *C. trachomatis* Zellkultur (Stamm B, bereitgestellt vom Institut für Medizinische Mikrobiologie an der Universität in Jena unter der Leitung von Prof. Dr. med. Eberhard Straube) beimpft und für den Ringversuch 313 aliquotiert. Für den Ringversuch 316 wurde das beimpfte Sediment auf Objektträgern fixiert [3].

Die Instand Ringversuche werden zweimal im Jahr (Mai und November) angeboten und je Parameter werden jeweils 2 Proben (Nr. 31 und 32 im Mai und Nr. 61 und 62 im November) an die Teilnehmer versendet. Einige Parameter wie beispielsweise die Yersinien-Serologie werden nur einmal jährlich angeboten (vgl. Tabelle 1). Die am Ringversuch teilnehmenden Laboratorien haben nach Erhaltung der Proben 10 Werkzeuge Zeit um die Analysen mit ihren in der Routine eingesetzten Testsystemen und Analyseautomaten abzuwickeln und diagnostisch auszuwerten. Die Art der Auswertung und die formelle Einreichung der Ergebnisse erfolgt nach den geltenden Richtlinien zur Auswertung infektionsserologischer Ringversuche [1], [5].

Die eingesendeten Ergebnisse der teilnehmenden Institute wurden anschließend EDV-technisch erfasst und in Kooperation mit der Gesellschaft zur Förderung der Qualitätssicherung in medizinischen Laboratorien e.V. (INSTAND e.V.) ausgewertet und gegebenenfalls zertifiziert.

2.3 Bewertungsrichtlinien und Zielwerte

Das System zur Auswertung der eingesendeten Ergebnisse basiert auf der Ermittlung von speziellen Zielwerten und zugelassenen Bewertungsbereichen. Die Zielwerte und Bewertungsbereiche für die einzelnen Parameter richten sich nach der Vorgabe zur Qualitätssicherung la-

Tabelle 1: Analyten und Teilnehmerzahlen der Ringversuche 2014

Instand Index Nr.	Untersuchungsgruppe	05/2014 Teilnehmer N=1112	10/2014 Teilnehmer N=1119
310	Antikörper gegen Tetanus-Toxoid	141	136
311	Antikörper gegen <i>Treponema pallidum</i>	523	529
312	Antikörper gegen <i>C. trachomatis</i>	271	259
313	<i>C. trachomatis</i> -Direktnachweis (Ag)	23	19
314	Antikörper gegen <i>C. pneumoniae</i>	224	221
315	Antikörper gegen Yersinien	240	-
316	<i>C. trachomatis</i> -Direktnachweis-IFT	27	23
317	Antikörper gegen <i>Bordetella pertussis</i>	-	215
318	Antikörper gegen Diphtherie-Toxoid	124	119
319	Campylobacter-Serologie	110	-
320	Procalcitonin	249	241
321	Antikörper gegen Streptokokken	411	397
323	Rheumafaktor	246	250
324	Antikörper gegen <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	-	275
325	Antikörper gegen <i>Coxiella burnetii</i>	-	94
331	Antikörper gegen Salmonellen	111	113
332	Antikörper gegen <i>Borrelia burgdorferi</i>	486	482
334	Antikörper gegen <i>Helicobacter pylori</i>	203	193

boratoriumsmedizinischer Untersuchungen in den Richtlinien der Bundesärztekammer [1] und den Verfahrensanweisungen zur Durchführung infektionsserologischer Ringversuche des INSTAND e.V.. Für die Ermittlung des Zielwertes existieren 4 Möglichkeiten: Im Falle von qualitativen Methoden wird bei den meisten Parametern der Modalwert der Ergebnisse aus dem Referenzzentren verwendet. Bei einigen Parametern kommt hierbei der Modalwert aller Teilnehmer zum Einsatz. Für die quantitativen oder semi-quantitativen Analysemethoden kann entweder der robuste Mittelwert aus den Ergebnissen der Sollwertlaboratorien oder der robuste Mittelwert aller Teilnehmer verwendet werden. Eine Zertifizierung der Testmethoden fand aus statistischen Gründen erst ab einem Teilnehmerkollektiv von mehr als N=10 statt [3]. Die geltenden Bewertungsgrenzen um den Zielwert herum sind aus dem Begleitheft für die Ringversuche und aus den geltenden Protokollbögen zu entnehmen und wurden schon mehrfach publiziert [3], [4]. Fehlten spezielle Vorgaben so galten automatisch die testspezifischen Herstellergrößen als Richtlinie. In Ausnahmefällen z.B. bei grenzwertigen Ergebnissen wurden für die Bewertungsgrenzen der qualitativen Analysen auch grenzwertig/positiv oder negativ/grenzwertig oder sogar negativ/grenzwertig/positiv zugelassen. Für die speziellen Parameter

Procalcitonin (PCT 320), Rheumafaktor (RF 323) und Streptokokken O-Lysin und Streptodornase (321) wurden die Ergebnisse methodenabhängig ausgewertet und beurteilt. Quantitativ auszuwertende Ergebnisse von Titer-tests (IFT, KBR, TPPA etc.) wurden jeweils mit ± 2 Titerstufen um den geltenden Zielwert herum als bestanden gewertet. Für die methodenabhängigen Analysen PCT, RF und Streptokokken galt ein Bewertungsbereich von $\pm 25\%$ um den methodenabhängigen Zielwert.

3 Ergebnisse

3.1 Antikörper gegen Tetanus-Toxoid (310)

3.1.1 Information zum Probenmaterial

Sowohl die im Frühjahr eingesetzten Proben 31 und 32 als auch die für den Herbststringversuch verwendeten Proben 61 und 62 stammen von klinisch gesunden Blutspendern. In diesen Fällen sollte davon auszugehen sein, dass ein ausreichender Impfschutz vorliegt.

Tabelle 2: Tetanus ELISA: Qualitative und quantitative Zielwerte sowie entsprechende Bestehensquoten für die Ringversuchsproben 2014

		Probe 31		Probe 32		Probe 61		Probe 62	
		Bewertung	Bestehensquoten [%]	Bewertung	Bestehensquoten [%]	Bewertung	Bestehensquoten [%]	Bewertung	Bestehensquoten [%]
spezifische polyvalente Testsysteme	ELISA qual/quant. N*= 112/N*=135 Zielwert [IU/ml] Bewertungsbereich	positiv 0,7 (0,42-0,98)	100 94,2	positiv (1,7-3,98)	98,2 89,1	positiv 0,91 (0,54-1,28)	100 86,7	positiv (1,58-3,68)	100 86,7
	Diagnostik N*=130		99,3		93,3		96,0		96,8

N (Durchschnittliche Teilnehmerzahl)

3.1.2 Zielwert und Bewertungsbereich

Für die Zielwertermittlung der Proben wurden der Modalwert bzw. der Median-Wert der, von den Referenzlaboratorien ermittelten, qualitativen bzw. der quantitativen Ergebnisse eingesetzt. Der Bewertungsbereich wurde mit $\pm 40\%$ um den jeweiligen Zielwert herum festgelegt. Aus Tabelle 2 lassen sich die entsprechenden Bewertungsbereiche und Bestehensquoten aller Teilnehmer entnehmen.

3.1.3 Diagnostische Gesamtbewertung und Kommentar

Der Nachweis des Tetanustoxoids spielt im klinischen Bereich vor allem zur Kontrolle des Impfstatus eine bedeutende Rolle [3], [4].

Für alle, in diesem Jahr versendeten, Proben kann auf Basis des festgelegten Bewertungsbereiches in der qualitativen Beurteilung die Stufe „positiv“ angenommen werden. In der quantitativen Beurteilung ist für die Probe 31 mit einem Zielwert von 0,7 IU/ml und die Probe 61 mit einem Zielwert von 0,9 IU/ml eine Auffrischimpfung in 2–5 Jahren zu empfehlen. Für die Proben 32 und 62 mit einem Titer $>1,1$ IU/ml aber $<5,0$ IU/ml wäre eine Auffrischimpfung nach 5–10 Jahren angeraten. Die Bestehensquoten für die Diagnostische Gesamtbewertung innerhalb dieses Parameters zeigt mit 93,3–99,3 % wie auch in den Vorjahren ein sehr erfreuliches Ergebnis.

3.2 Antikörper gegen *Treponema pallidum* (311)

3.2.1 Information zum Probenmaterial

Die als negativ vorbefundete Probe 31 stammt von einem gesunden Blutspender ohne eine serologisch nachweisbare Infektion. Probe 32 wurde einem klinisch asymptomatischen Spender im Rahmen einer regulären Blutspende entnommen und zeigte serologische Anzeichen einer stattgehabten Infektion (TPPA: 1:640, VDRL: positiv 4, IgM-FTA-abs: positiv mit 1:640, EIA und Immunoblot für IgG und IgM: positiv). Eine Therapie war nicht dokumentiert. In der zweiten Jahreshälfte wurden die schwach positive Probe 61 und die negative Probe 62 versendet. Probe 61 stammte von einem älteren Patienten mit einer bekannten, lange zurückliegenden, behandelten Syphilis-Infektion (TPPA: 1: 160, ELISA polyvalent und IgG:

grenzwertig/positiv, VDRL: negativ, FTA-IgG-abs.: 1:20, FTA-IgM-abs. und ELISA IgM: negativ). Teilweise kam es zu falsch negativen IgG Ergebnissen. Probe 62 war als negative vorcharakterisierte Probe versendet worden, zeigte aber im Ringversuch erstaunlicherweise falsch positive FTA-abs. Ergebnisse im IgM.

3.2.2 Ermittlung der Zielwerte

Die Ermittlung des qualitativen Zielwertes erfolgte auf Basis des Modalwertes der Referenzlaboratorien. Für den quantitativen Zielwert wurde der robuste Mittelwert aller Teilnehmer verwendet. Alle geltenden Zielwerte, Bewertungsbereiche und Bestehensquoten sind aus Tabelle 3 zu entnehmen.

3.2.3 Diagnostische Gesamtbewertung und Kommentar

In Deutschland hat sich innerhalb der Lues Serologie eine Stufendiagnostik bewährt. Diese besteht aus einem Suchtest (z.B. ELISA), einem Bestätigungstest (z.B. Immunoblot) und zusätzlichen Testsystemen zur Beurteilung von Aktivität und Behandlungsbedürftigkeit (z.B. TPPA) [6], [7].

Die komplexen Zusammenhänge zwischen den einzelnen Analysen innerhalb der Lues-Diagnostik führen oftmals zu Interpretationsschwierigkeiten komplexer Befundkonstellationen und zu nicht zufriedenstellenden Bestehensquoten. Auch in diesem Jahr schwanken die Bestehensquoten für die einzelnen Analysen zwischen 75,0 und 100%. Einen Ausreißer stellen falsch reaktive Ergebnisse im qualitativen IgG-ELISA für Probe 62 dar. In diesem Fall wurden sogar grenzwertig/negative Ergebnisse zugelassen und trotzdem wurde nur eine Bestehensquote von 51,6% erreicht. Die Ergebnisse der negativen Probe 31 sind mit einer diagnostischen Gesamtbestehensquote von 95,8% sehr erfreulich. Probe 32 war ohne weitere klinische Informationen bei positivem VDRL und hoch positivem IgM-FTA-abs mit einem Titer von 1:640 als behandlungsbedürftige Lues-Infektion einzustufen. Im Hinblick auf die klinische Bewertung wurden verschiedenste Befundkonstellationen akzeptiert. Die Gesamtbestehensquoten zeigten sich daher mit 73,3 bis 100% als zufriedenstellend. Die Ergebnisse ließen sich noch weiter verbessern, würden einige Teilnehmer entsprechend der Versuchsvorgaben korrekt austitrieren. Für Probe 62,

Tabelle 3: Lues-Diagnostik: Qualitative und quantitative Zielwerte sowie entsprechende Bestehensquoten für die Ringversuchproben 2014

			Probe 31		Probe 32		Probe 61		Probe 62	
			Bewertung	Bestehens- quoten [%]						
spezifische polyvalente Testsysteme	ELISA qual. N=215		negativ	98,1	positiv	97,3	gw./pos.	97,1	negativ	97,1
	TPHA qual./quant. N=100/ N=75	Zielwert [Titer]	negativ	98,9	positiv	87,1	gw./pos	88,5	negativ	98,9
		Bewertungsbereich	–	(0–79,9)	320	(80–1280)	160	(80–640)	–	(0–79,9)
	TPPA qual./quant. N=197/ N=204	Zielwert [Titer]	negativ	99,0	positiv	98,5	gw./pos	97,4	negativ	98,9
		Bewertungsbereich	–	(0–79,9)	640	(160–2560)	160	(80–640)	–	(0–79,9)
	VDRL qual./quant. N=224/ N=210	Zielwert [Titer]	negativ	99,5	gw./pos.	97,6	negativ	93,5	negativ	96,7
Bewertungsbereich		–	(0–0,990)	4	(1–16)	–	(0–0,99)	–	(0–0,99)	94,4
Kardiolipin qual./quant. N=23/ N=23	Zielwert [Titer]	negativ	100	gw./pos.	100	negativ	100	negativ	100	
	Bewertungsbereich	–	(0–4,99)	40	(10–160)	–	(0–4,99)	–	(0–4,99)	100
spezifischer IgG-Nachweis	ELISA qual. N=38		negativ	100	positiv	96,6	gw./pos	51,6	negativ	96,8
	Blot qual. N=175	Zielwert [Titer]	negativ	98,8	positiv	98,2	gw./pos	81,4	negativ	99,4
		Bewertungsbereich	–	(0–4,99)	640	100	20	(5–80)	–	(0–4,99)
spezifischer IgM-Nachweis	ELISA qual. N=43		negativ	97,6	positiv	93,0	negativ	100	negativ	100
	Blot qual. N=183	Zielwert [Titer]	negativ	98,9	positiv	95,5	negativ	94,4	negativ	94,5
		Bewertungsbereich	–	(0–4,99)	640	100	–	(0–4,99)	–	(0–4,99)
	Diagnostik N=362		95,8		88,8		84,0		93,4	

N (Durchschnittliche Teilnehmerzahl)

welche serologisch eine Befundkonstellation entsprechend einer lang zurückliegenden Infektion abbildete, wurde dennoch z.T. je nach eingesetztem Assay falsch negativ befundet. Diese Tatsache bestätigt die Erfahrung der vergangenen Ringversuche, dass grenzwertige und schwach positive serologische Proben zu Problemen führen. Diese Tatsache ist als besonders gravierend einzustufen, da ein serologischer Nachweis von Antikörpern gegen *Treponema pallidum* derzeit einen direkten Ausschluss von entsprechenden Spendern von Transfusionen mit sich bringt [8]. Die reaktiven Immunoblotbänder der eingesetzten positiven Proben werden nachfolgend wie bereits in den Vorjahren mittels Diagramm veranschaulicht (Abbildung 1, Abbildung 2, Abbildung 3, Abbildung 4).

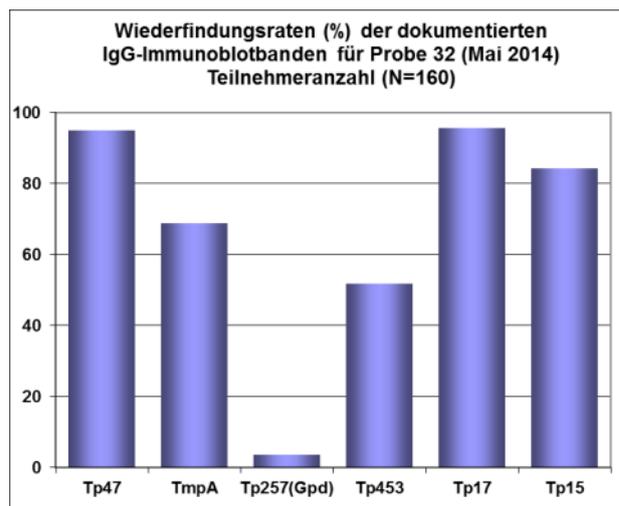


Abbildung 1: Darstellung der reaktiven Immunoblotbänder IgG für die Probe 32

Wiederfindungsraten (%) der dokumentierten IgM-Immunoblotbänder für Probe 32 (Mai 2014)
Teilnehmeranzahl (N=169)

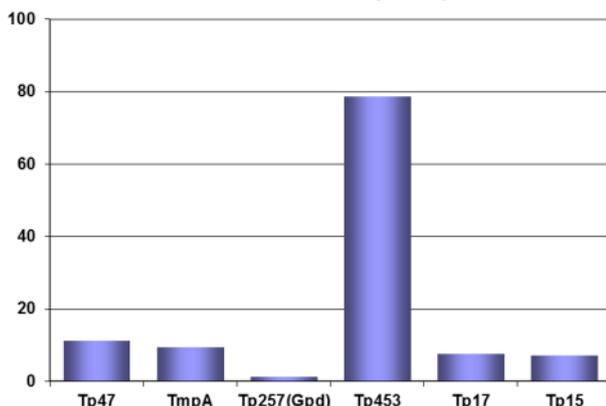


Abbildung 2: Darstellung der reaktiven Immunoblotbänder IgM für die Probe 32

Wiederfindungsraten (%) der dokumentierten IgG-Immunoblotbänder für Probe 61 (Nov 2014)
Teilnehmeranzahl (N=143)

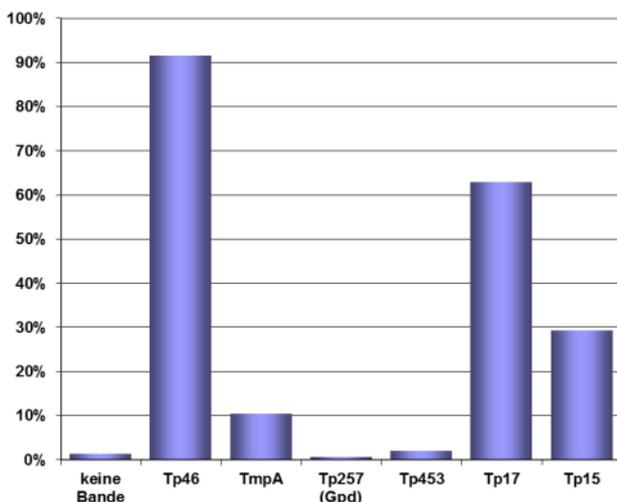


Abbildung 3: Darstellung der reaktiven Immunoblotbänder IgG für die Probe 62

Wiederfindungsraten (%) der dokumentierten IgM-Immunoblotbänder für Probe 61 (Nov 2014)
Teilnehmeranzahl (N=60)

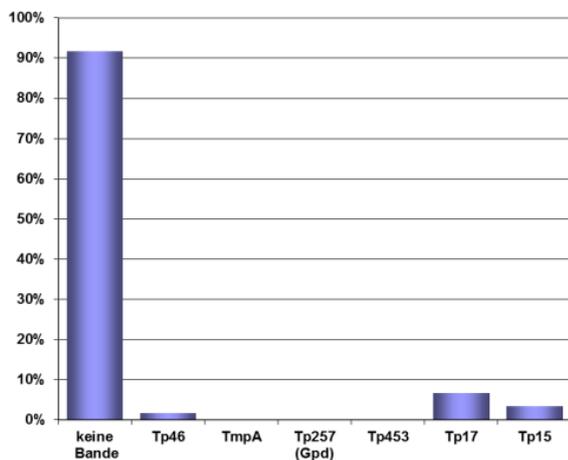


Abbildung 4: Darstellung der reaktiven Immunoblotbänder IgM für die Probe 62

3.3 Antikörper gegen Chlamydia trachomatis (312)

3.3.1 Information zum Probenmaterial

Die Proben 32 und 62 stammen von klinisch unauffälligen Spendern ohne serologischen Hinweis auf eine Infektion mit *C. trachomatis*. Die Proben 31 und 62 wurden einem Patienten mit kurzzeitig zurückliegender und serologisch belegten *C. trachomatis* Infektion entnommen (IgG-Nachweis: positiv und IgA-Nachweis: grenzwertig/positiv). Aus diesem Grund wurde für die diagnostische Gesamtbewertung sowohl eine abgelaufene als auch eine bestehende Infektion akzeptiert.

3.3.2 Ermittlung der Zielwerte

Der qualitative Zielwert richtet sich nach dem Modalwert der Sollwertlaboratorien und für den quantitativen Zielwert wurde der Median aller Teilnehmerergebnisse als Zielwert festgesetzt. Die Bestehensquoten und geltenden Zielwerte können aus Tabelle 4 entnommen werden.

3.3.3 Diagnostische Gesamtbewertung und Kommentar

Für die Proben 32 und 62 bestand serologisch keinerlei Hinweis auf eine Infektion mit dem Erreger *C. trachomatis*. Die Bestehensquoten der einzelnen Analysen liegen zwischen 75 und 100% wobei die 75% dem qualitativen Nachweis durch KBR entsprechen und die anderen Ergebnisse mit >85,5% deutlich besser ausfallen. Die diagnostische Gesamtbewertung liegt mit 98,7 und 97,8% in einem sehr guten Bereich. Die Problematik der KBR-Analyse basiert auf der geringen Differenzierung der Chlamydia-Subspezies und der nicht ausreichenden Standardisierung dieses Testsystems, weshalb die KBR in akkreditierten Laboratorien kaum noch angeboten wird [9]. Bei den beiden positiven Seren 31 und 61 zeigen sich vor allem in der KBR-Analyse und im IgA-Nachweis Probleme bei der korrekten Befundung. Die Bestehensgrenze wurde daher auf grenzwertig/positiv festgelegt. Hierdurch werden Bestehensquoten von 88,9 und 100% erreicht, was als durchaus zufriedenstellend zu bewerten ist.

3.4 Chlamydia trachomatis-Direktnachweis (313)

3.4.1 Information zum Probenmaterial

Für den direkten Nachweis von Antigenen gegen den Erreger *C. trachomatis* aus dem Urin wurde für die Proben 31 und 61 jeweils steril-gelilterter und als negativ getesteter Urin eingesetzt. Für die Proben 32 und 62 wurde dieser Urin mit einer 9×10^3 IFU/ml bzw. mit einer 6×10^4 IFU/ml inaktivierten *C. trachomatis*-Kultur beimpft.

Tabelle 4: Chlamydia trachomatis Ak-Nachweis: Qualitative und quantitative Zielwerte sowie entsprechende Bestehensquoten für die Ringversuchproben 2014

		Probe 31		Probe 32		Probe 61		Probe 62		
		Bewertung	Bestehens- quoten [%]	Bewertung	Bestehens- quoten [%]	Bewertung	Bestehens- quoten [%]	Bewertung	Bestehens- quoten [%]	
spezifische polyvalente Testsysteme	KBR qual./quant. N=13 / N=13 Zielwert [Titer] Bewertungsbereich	gw./pos. 40 (10–160)	88,9 100	negativ – (0–9,9)	100 100	positiv 40 (10–160)	100 88,9	negativ – (0–9,9)	75 100	
	spezifischer IgG-Nachweis	ELISA qual. N=197	positiv 97,7	negativ 98,6	positiv 99,0	negativ 97,0	Blot qual. N=33	positiv 97,1	negativ 100	
	MIFT qual./quant. N=28 / N=28 Zielwert [Titer] Bewertungsbereich	positiv 320 (80–1280)	100 92,6	negativ – (0–19,9)	90,0 88,9	positiv 160 (40–640)	96,3 85,2	negativ – (0–19,9)	100 88,5	
spezifischer IgA-Nachweis	ELISA qual. N=200	gw./pos. 98,1	negativ 97,6	gw./pos. 98,5	negativ 98,0	Blot qual. N= 33	gw./pos. 97,0	negativ 100	gw./pos. 100	
	MIFT qual./quant. N=21 / N=20 Zielwert [Titer] Bewertungsbereich	gw./pos. 80 (20–320)	90 84,2	negativ – (0–19,9)	100 100	gw./pos. 40 (20–160)	90,0 68,4	negativ – (0–19,9)	100 100	
	spezifischer IgM-Nachweis	ELISA qual. N=27	negativ 90,0	negativ 100	negativ 92,9	negativ 100	MIFT qual./quant. N=23 / N=23 Zielwert [Titer] Bewertungsbereich	negativ – (0–19,9)	95,5 95,8	negativ – (0–19,9)
	Diagnostik N=220		99,6		98,7		100		97,8	

N (Durchschnittliche Teilnehmerzahl)

Tabelle 5: C. trachomatis-Direktnachweis: Qualitative und quantitative Zielwerte sowie entsprechende Bestehensquoten für die Ringversuchproben 2014

		Probe 31		Probe 32		Probe 61		Probe 62	
		Bewertung	Bestehens- quoten [%]						
313	ELISA Ag qual. N=12	negativ	100	positiv	100	negativ	100	positiv	40
	PCR/LCR qual. N=7	negativ	85,7	positiv	85,7	negativ	100	positiv	100
	Antigen und and. Verfahren qual. N=7	negativ	100	positiv	100	negativ	100	positiv	62,5
	Diagnostik N=18		94,1		88,2		100		80,0
316	IFT qual. N=29	negativ	100	positiv	100	negativ	84,2	positiv	94,7
	Diagnostik N=29		100		100		84,2		94,7

N (Durchschnittliche Teilnehmerzahl)

3.4.2 Ermittlung der Zielwerte

Als Zielwert für die qualitative Auswertung dieser Analyse wurde der Konsenswert (Modal) aller Teilnehmer verwendet. Alle Zielwerte und Bestehensquoten sind in Tabelle 5 dargestellt.

3.4.3 Diagnostische Gesamtbewertung und Kommentar

Mit 85,7–100% lagen die Bestehensquoten für die negativen Proben 31 und 61 in allen getesteten Methoden in einem sehr guten Bereich. Insgesamt wurde die Diagnostik mit 94,1 und 100% erfolgreich bestanden. Für die beiden positiven Proben 32 und 62 waren die diagnostischen Bestehensquoten mit 80 und 88,2% ebenfalls sehr erfreulich. Deutlich wird, dass mehr Schwierigkeiten auftreten, sobald die Konzentration des Antigens in der Probe abnimmt wie im Falle von Probe 62. Hierbei zeigen

Analysen mittels PCR mit 100% Bestehensquote ein besseres Ergebnis als herkömmliche Methoden zur AG-Bestimmung (ELISA 40% und andere Verfahren 62,5%).

3.5 Chlamydia trachomatis-Direktnachweis mittels IFT (316)

3.5.1 Information zum Probenmaterial

Um einen Direktnachweis des Erregers mittels einer Immunfluoreszenz zu ermöglichen wurden die für diesen Parameter eingesetzten Materialien vor Versand auf Objektträgern fixiert. Für die negativen Proben 31 und 61 wurden die Objektträger lediglich mit nicht infizierten Zellen aus einer Urinkultur bestückt. Für die positiven Proben 32 und 62 wurden Zellen aus einem Urinsediment mit einem, aus einer Kultur stammenden, inaktivierten *C. trachomatis*-Stamm beimpft. Für Probe 32 wurde eine Konzentration von $1,8 \times 10^4$ IFU/ml und für Probe 62 eine

Konzentration von 6×10^4 IFU/ml des pro Objektträger eingesetzt.

3.5.2 Ermittlung der Zielwerte

Der ermittelte Modalwert aller Teilnehmer dient als Zielwert für die qualitativen Ergebnisse innerhalb dieses Parameters. Zielwerte und Bestehensquoten lassen sich aus Tabelle 5 entnehmen.

3.5.3 Diagnostische Gesamtbewertung und Kommentar

Ein positiver Nachweis von *C. trachomatis* im Immunfluoreszenztest spricht deutlich für eine bestehende, akute Infektion. Die Bestehensquoten liegen zwischen 88,9 und 100% mit einer diagnostischen Gesamtbestehensquote von 92,6–100%. Diese Ergebnisse sind vergleichbar mit denen der Vorjahre.

3.6 Antikörper gegen Chlamydia pneumoniae (314)

3.6.1 Information zum Probenmaterial

Die als negatives Material versendete Probe 32 stammte von einem gesunden und serologisch unauffälligen Blutspender. Für die serologisch positiven Proben 31, 61 und 62 wurde das Material Spendern nach respiratorischem Infekt mit unklarer Genese entnommen. Bei den Proben 31 und 61 handelte es sich um eine bereits abgelaufene Infektion. Bei Probe 62 wurde auf Basis noch persistierender IgA Antikörpern sowohl eine abgelaufene als auch eine bestehende Infektion als Befundinterpretation akzeptiert.

3.6.2 Ermittlung der Zielwerte

Für den qualitativen Zielwert wurde der Konsenswert (Modal) aller Teilnehmer eingesetzt. Der Zielwert der Titerverfahren ergab sich aus dem Median aller Teilnehmerergebnisse. Alle ermittelten Zielwerte und die resultierenden Bestehensquoten sind in Tabelle 6 dargestellt.

3.6.3 Diagnostische Gesamtbewertung und Kommentar

Probe 32 zeigte serologisch keinerlei Hinweis auf eine Infektion mit dem Erreger *Chlamydia pneumoniae*. Die Proben 61 spricht mit einem positiven IgG-Nachweis und keinem Hinweis auf IgA- oder IgM-Antikörper für eine bereits abgelaufene Infektion. Probe 31 und 62 zeigen grenzwertig/positive Ergebnisse im IgA bei positivem IgG-Nachweis und negativem IgM. Aus diesem Grund könnte hier sowohl eine vor kurzem abgelaufen als auch eine noch bestehende Infektion vorliegen. Insgesamt sind die diagnostischen Bestehensquoten somit mit 80,6–97,1% im akzeptablen Bereich und annähernd deckungsgleich mit den vergangenen Ringversuchen.

3.7 Antikörper gegen Yersinien (315)

3.7.1 Information zum Probenmaterial

Probe 32 wurde einem klinisch asymptomatischen Blutspender entnommen, der serologisch keinen Hinweis auf eine Infektion mit Yersinien zeigte. Die Probe 31 wurde einem Patienten mit einer reaktiven Arthritis entnommen und zeigte im Widal spezifisch positive Ergebnisse für den Erreger *Yersinia enterocolitica* (O3-Titer: 400). Ebenso waren serologisch spezifische Antikörper der Klasse IgG, IgA und IgM nachweisbar. Auf Grund dieser Konstellation wurden auch für die diagnostische Bewertung verschiedene Kommentarkombinationen zugelassen. Sowohl der Hinweis auf eine nicht lang zurückliegende Infektion als auch auf eine Yersinien-assoziierte Folgeerkrankung wurde akzeptiert.

3.7.2 Ermittlung der Zielwerte

Der Modal der Referenzlaboratorien diente zur Definition der qualitativen Zielwerte. Für die Ermittlung des quantitativen Zielwertes wurde der Median aller Teilnehmerergebnisse ermittelt und der Bereich ± 2 Titerstufen zugelassen. Die geltenden Zielwerte und Bestehensquoten können aus Tabelle 7 entnommen werden.

3.7.3 Diagnostische Gesamtbewertung und Kommentar

Für die Probe 32 ergaben sich eindeutig negative Befundkonstellationen mit Bestehensquoten von 85,3–100% und einer sehr guten diagnostischen Gesamtbestehensquote von 99,1%. Für die Probe 31 wurde auf Grund des positiven IgA-Nachweises, welcher auf eine mögliche Yersinien-assoziierte Folgeerkrankung hinweist [10], sowohl eine Interpretation in Richtung einer bestehenden Infektion, als auch der Hinweis auf eine Yersinien-assoziierte Folgeerkrankung als diagnostische Bewertung zugelassen. Es wurden erfreuliche Bestehensquoten von 75,9–100% und eine Gesamtbestehensquote von 92,4% erreicht.

3.8 Antikörper gegen Bordetella pertussis (317)

3.8.1 Information zum Probenmaterial

Die Probe 61 stammt, wie bereits in dem Vorbericht zum Ringversuch November 2014 veröffentlicht [3], von einem gesunden Blutspender ohne bekannte Anamnese und war serologisch unauffällig. Die Probe 62 wurde einem Blutspender nach kürzlich erfolgter Impfung gegen *Bordetella pertussis*, ohne erkennbaren respiratorischen Infekt, entnommen. Serologisch waren spezifische Antikörper gegen folgende Antigene nachweisbar: IgG-anti PT (67 IU/ml), IgA-anti PT (2 IU/ml) und IgM-anti FHA/PT (0 IU/ml). Die Beurteilung der Probe muss leitlinienge-

Tabelle 6: Chlamydia pneumoniae Ak-Nachweis: Qualitative und quantitative Zielwerte sowie entsprechende Bestehensquoten für die Ringversuchproben 2014

		Probe 31		Probe 32		Probe 61		Probe 62	
		Bewertung	Bestehensquoten [%]	Bewertung	Bestehensquoten [%]	Bewertung	Bestehensquoten [%]	Bewertung	Bestehensquoten [%]
spezifische polyvalente Testsysteme	KBR qual./quant. N=15/ N=16 Zielwert [Titer] Bewertungsbereich	neg./gw. – (0–10)	90,9 91,7	negativ – (0–9,9)	81,9 81,8	negativ – (0–9,9)	77,8 90	negativ – (0–9,9)	77,8 90
	spezifischer IgG-Nachweis	ELISA qual. N=164	positiv 97,1	negativ 98,8	positiv 76,5	positiv 87,1	Blot N=32	positiv 96,9	negativ 100
spezifischer IgG-Nachweis	MIFT qual./quant. N= 32/ N=30 Zielwert [Titer] Bewertungsbereich	positiv 160 (40–640)	93,3 86,7	negativ – (0–19,9)	96,7 93,3	positiv 80 (20–320)	82,1 89,3	positiv 80 (20–320)	92,9 92,9
	spezifischer IgA-Nachweis	ELISA qual. N=162	gw./pos 94,4	negativ 95,1	negativ 93,6	gw./pos 90,4	Blot N=33	neg./gw. 97,0	negativ 97,0
spezifischer IgA-Nachweis	MIFT qual./quant. N=22/ N=22 Zielwert [Titer] Bewertungsbereich	neg./gw./pos – (0–80)	100 91,7	negativ – (0–19,9)	100 100	negativ 90,0	gw./pos. 40 (20–160)	90,0 94,7	90,0 94,7
	spezifischer IgM-Nachweis	ELISA qual. N=107	negativ 96,2	negativ 96,2	negativ 97,1	negativ 98,1	Blot N=33	negativ 100	negativ 100
MIFT qual./quant. N=24 / N=24 Zielwert [Titer] Bewertungsbereich		negativ – (0–19,9)	100 95,7	negativ – (0–19,9)	95,2 91,3	negativ – (0–19,9)	100 95,0	negativ – (0–19,9)	100 95,0
	Diagnostik N=201/ N=204		97,1		96,9		80,6		88,1

N (Durchschnittliche Teilnehmerzahl)

Tabelle 7: Yersinien-spezifischer Ak-Nachweis: Qualitative und quantitative Zielwerte sowie entsprechende Bestehensquoten für die Ringversuchproben 2014

		Probe 31		Probe 32	
		Bewertung	Bestehensquoten [%]	Bewertung	Bestehensquoten [%]
spezifische polyvalente Testsysteme	Y. enter.03 qual./quant. N=26 / N=29 Zielwert [Titer] Bewertungsbereich	gw./pos. 400 (1000–800)	96,2 75,9	negativ – (0–100)	100 100
	Y. enter.09 qual./quant. N=26 / N=26 Zielwert [Titer] Bewertungsbereich	negativ – (0–100)	88,0 100	negativ – (0–100)	100 100
	Y. pseudotub. qual./quant. N=23 / N=24 Zielwert [Titer] Bewertungsbereich	negativ – (0–100)	90,9 100	negativ – (0–100)	100 100
spezifischer IgG-Nachweis	ELISA qual. N=115	positiv 100	negativ 97,4	Blot qual. N=157	positiv 100
	spezifischer IgM-Nachweis	ELISA qual. N=24	negativ 100	Blot qual. N=33	negativ 97,0
spezifischer IgA-Nachweis	ELISA qual. N=118	positiv 98,3	negativ 97,4	Blot qual. N=172	positiv 99,4
	Diagnostik N=224		92,4		99,1

N (Durchschnittliche Teilnehmerzahl)

Tabelle 8: Bordetella pertussis spezifischer Ak-Nachweis: Qualitative und quantitative Zielwerte sowie entsprechende Bestehensquoten für die Ringversuchsproben 2014

Bor. pertussis 317		Probe 61		Probe 62	
		Bewertung	Bestehensquoten [%]	Bewertung	Bestehensquoten [%]
spezifische polyvalente Testsysteme	KBR qual./quant. N=1 / N=1 Zielwert [Titer] Bewertungsbereich				
spezifischer IgG-Nachweis	ELISA (PT+ FHA) qual. N=102	negativ	84,8	positiv	92,4
	ELISA (PT) qual. N=72	negativ	97,7	gw./pos.	90,0
	Blot qual. N=65	negativ	78,5	gw./pos.	98,5
spezifischer IgM-Nachweis	ELISA qual. N=97	negativ	91,4	positiv	88,6
	Blot qual. N=6	negativ	100	negativ	100
spezifischer IgA-Nachweis	ELISA (PT+ FHA) qual. N=102	negativ	100	negativ	94,2
	ELISA (PT) qual. N=67	negativ	100	negativ	97,3
	Blot qual. N=62	negativ	100	negativ	94,9
Diagnostik N=189			89,6		87,1

recht auf einen Hinweis in Richtung Impftiter oder eine länger zurückliegende Infektion hinaus laufen.

3.8.2 Ermittlung der Zielwerte

Die qualitativen Zielwerte resultieren aus dem Modalwert der Referenzlaboratorien. In diesem Ringversuchsdurchlauf wurde auf die Bewertung der semi-quantitativen Ergebnisse verzichtet, weshalb dieser Zielwert entfällt. Die geltenden Zielwerte und Bestehensquoten sind in Tabelle 8 zusammengefasst.

3.8.3 Diagnostische Gesamtbewertung und Kommentar

Die auf dem Markt verfügbaren Testsysteme unterscheiden sich insbesondere darin, ob sie eine Kombination aus Pertussis-Toxin (PT) und filamentösem Hämagglutinin (FHA) als Antigene enthalten oder ob das ausschlaggebende Pertussis-Toxin alleine analysiert wird. Die Kombinationsteste führen häufig zu Schwierigkeiten innerhalb der Befundung, da Antikörper gegen FHA u.a. auch bei Infektionen mit *B. parapertussis* gebildet werden [11]. Die Bestehensquoten liegen mit 84,8–100% für Probe 61 und 88,6–100% für Probe 62 in ähnlichen Bereichen wie in den Vorjahren. Die diagnostischen Gesamtbestehensquoten erweisen sich mit 89,6% für Probe 61 und 87,1% für Probe 62 unspektakulär.

3.9 Antikörper gegen Diphtherietoxid (318)

3.9.1 Information zum Probenmaterial

Die Proben stammen von gesunden Blutspendern.

3.9.2 Ermittlung der Zielwerte

Der Modalwert der Sollwertlaboratorien bildet den Zielwert für die qualitativen Testsysteme. Der Zielwert der quantitativen Analysen resultiert aus dem robusten Mittelwert aller Teilnehmer und der Bewertungsbereich wurde mit $\pm 25\%$ festgelegt. Die Tabelle 9 enthält die für diese Ringversuche geltenden Zielwerte, Bewertungsbereiche und Bestehensquoten.

3.9.3 Diagnostische Gesamtbewertung und Kommentar

Die Proben 31 und 61 enthalten eine hohe Konzentration an Diphtherietoxid-Antikörpern (0,99 bzw. 1,1 IU/ml). Probe 32 enthält mit 0,14 IU/ml eine niedrige Konzentration aber dennoch im positiven Bereich. Probe 62 mit einer sehr niedrigen Konzentration (0–0,09 IU/ml) wurde als negativ eingestuft. Der geltende Bewertungsbereich für die Beurteilung wurde allerdings mit negativ/grenzwertig/positiv festgelegt. Die Bestehensquoten lagen in diesem Jahr zwischen 75,7% und 100%. Bezüglich der diagnostischen Bewertung sollten die Proben 31 und 61 mit einem ausreichenden Impfschutz und mit Empfehlung zu einer Auffrischimpfung in 5–10 Jahren bewertet werden. Probe 32 zeigt einen geringen Immunschutz eine Auffrischimpfung würde langfristigen Schutz verleihen und im Falle von Probe 62 lag kein sicherer Immunschutz vor. Die diagnostischen Bestehensquoten sind mit 97,4–100% sehr erfreulich.

Tabelle 9: Diphtherie-Toxoid-Ak: Qualitative und quantitative Zielwerte sowie entsprechende Bestehensquoten für die Ringversuchsproben 2014

		Probe 31		Probe 32		Probe 61		Probe 62	
		Bewertung	Bestehensquoten [%]	Bewertung	Bestehensquoten [%]	Bewertung	Bestehensquoten [%]	Bewertung	Bestehensquoten [%]
spezifische polyvalente Testsysteme	ELISA qual./quant. N=102/N=119 Zielwert [IU/ml] Bewertungsbereich	positiv 0,99	100	positiv 0,14	94,4	positiv 1,10	99,0	neg./gw./pos.–	99,0
		(0,594–1,39)	89,2	(0,084–0,198)	81,7	(0,704–1,50)	75,7	(0–0,09)	93,9
	Diagnostik N=117		100		99,2		100		97,4

3.10 Campylobacter (319)

3.10.1 Information zum Probenmaterial

Die Teilnahme an einem Ringversuch zur Analyse des Erregers *Campylobacter* ist nur im ersten Ringversuch-Durchlauf des Jahres (Mai) möglich. Die zu diesem Zweck versendete Probe 32 stammt von einem gesunden Blutspender ohne einen Hinweis auf eine kürzer zurückliegende Durchfallerkrankung. Die Probe 31 wurde einem Patienten mit bestehender reaktiver Arthritis und kulturell nachgewiesener *C. jejunii* Infektion entnommen. Serologisch zeigte diese Probe eine deutliche Reaktivität im IgG-Immuno-Blot und je nach Testsystem eine grenzwertig/positive Reaktion für IgA Antikörper.

3.10.2 Ermittlung der Zielwerte

Für die Ermittlung des qualitativen Zielwertes wurde der Konsenswert (Modal) der Referenzlaboratorien eingesetzt. Der Zielwert für die Titerbestimmung (KBR) resultierte aus dem Median aller Teilnehmerergebnisse. Der Bewertungsbereich umfasst die Spanne von ± 2 Titerstufen um den ermittelten Zielwert. Alle Zielwerte und Bestehensquoten sind in Tabelle 10 dokumentiert.

3.10.3 Diagnostische Gesamtbewertung und Kommentar

Auf Grund der bereits bekannten Problematik einer korrekten diagnostischen Interpretation der *Campylobacter*-Serologie je nach eingesetztem Testsystem und bei fehlendem mikrobiologischen Nachweis wurde auch in diesem Jahr die klinische Kommentierung großzügig bewertet. Die einzelnen Analysen erreichen hierdurch eine Bestehensquote von 66,8–100% und es wird eine diagnostische Gesamtbestehensquote von 94,2% für Probe 31 und 91,3% für Probe 32 erreicht. Auf Grund wiederholt aufgetretener Eigenhemmungen zeigt sich auch hier die KBR als nicht zufriedenstellendes Testsystem.

3.11 Procalcitonin (320)

3.11.1 Information zum Probenmaterial

Die Proben 31 und 61 stammen von gesunden Blutspendern ohne klinische und serologische Auffälligkeiten. Die Proben sind als negativ einzustufen. Probe 32 und Probe 62 wurden aus Rückstellproben von septischen Intensivpatienten gepoolt.

3.11.2 Ermittlung der Zielwerte

Die Festlegung des qualitativen Zielwertes erfolgte auf Basis des Modalwertes der Referenzlaboratorien. Für den quantitativen Zielwert wurde der robuste Mittelwert aller Teilnehmer verwendet. Alle geltenden Zielwerte, Bewertungsbereiche und Bestehensquoten sind in Tabelle 11 zusammengefasst.

3.11.3 Diagnostische Gesamtbewertung und Kommentar

Für die Proben 31 und 61 kann auf Grund der negativen Procalcitonin-Konzentration eine systemische Infektion ausgeschlossen werden. Eine lokale bakterielle Infektion könnte dennoch möglich sein. Die Proben 32 und 62 verweisen mit einer Konzentration im Bereich von 6 bis 12 ng/ml auf eine systemische Infektion z.B. als Folge einer bakteriellen Sepsis. Die negativen Proben 31 und 61 liegen mit einer Bestehensquote von 96,2–100% in einem sehr zufriedenstellenden Bereich. Für die positive Probe 32 ist eine Bestehensquote von 90,6–98,3% zu verzeichnen. Nur für die Probe 62 zeigt sich in der quantitativen Analyse ein Abfall der Bestehensquote auf 63,8%. Eine mögliche Ursache hierfür könnte in der geringen Konzentration an PCT innerhalb der eingesetzten Probe oder in der Inhomogenität der kommerziell erhältlichen Assays liegen.

Tabelle 10: Campylobacter-Serologie: Darstellung der qualitativen und quantitativen Zielwerte sowie der Bestehensquoten für die Ringversuchsproben des Jahres 2014

		Probe 31		Probe 32	
		Bewertung	Bestehensquoten [%]	Bewertung	Bestehensquoten [%]
spezifische polyvalente Testsysteme	KBR qual./quant. N=17/ N=16	pos./Eig.	88,2	neg./Eig	88,2
	Zielwert [Titer]	80	–	–	–
	Bewertungsbereich	(20–320)	68,8	(0–9,9)	75,0
spezifischer IgG-Nachweis	ELISA qual. N=58	positiv	96,6	negativ	91,4
	Blot qual. N=38	positiv	100	negativ	94,7
spezifischer IgM-Nachweis	ELISA qual. N=13	negativ	100	negativ	100
spezifischer IgA-Nachweis	ELISA qual. N=59	neg./gw./pos.	98,3	negativ	96,6
	Blot qual. N=39	gw./pos	76,9	negativ	92,3
	Diagnostik N=103		94,2		91,3

N (Durchschnittliche Teilnehmerzahl)

Tabelle 11: Procalcitonin: Qualitative und quantitative Zielwerte sowie entsprechende Bestehensquoten für die Ringversuchsproben 2014

		Probe 31		Probe 32		Probe 61		Probe 62	
		Bewertung	Bestehensquoten [%]	Bewertung	Bestehensquoten [%]	Bewertung	Bestehensquoten [%]	Bewertung	Bestehensquoten [%]
spezifische polyvalente Testsysteme	Alle qual. N=73	negativ	98,3	positiv	98,3	negativ	96,7	positiv	90,2
	Methode 1 semiquant. [ng/ml] N=21.	<0,5	96,2	≥2	96,3	<0,5	100	≥2	100
	Methode quant. N=168.								
	Zielwert [ng/ml]			9,04				8,8	
	Bewertungsbereich	(0–0,49)	99,1	(6,6–11,5)	90,6	(0–0,49)	99,5	(6,42–11,2)	63,8
	Diagnostik N=149		99,3		94,6		100		97,2

N (Durchschnittliche Teilnehmerzahl)

3.12 Antikörper gegen Streptokokken (321)

3.12.1 Information zum Probenmaterial

Die als negativ vorgetesteten Proben 31 und 61 stammen von klinisch unauffälligen, gesunden Blutspendern ohne Hinweis auf eine vorliegende oder abgelaufene Infektion mit Streptokokken. Für die Proben 32 und 62 wurde jeweils ein Serum eines Patienten mit einer bekannten und bereits behandelten Streptokokkeninfektion mit einem Serum eines gesunden Blutspenders gepoolt. Im Falle von Probe 32 in einem Verhältnis 1:1 und für Probe 62 im Verhältnis 7:1.

3.12.2 Ermittlung der Zielwerte

Die Zielwerte und Bewertungsbereiche für die Streptokokken Parameter ASL und ADNase wurden methodenabhängig festgelegt. Für die positiven Proben wurde ein Bewertungsbereich von $\pm 25\%$ um den methodenabhängigen Zielwert herum zugelassen. Für die negativen Proben wurde der Bewertungsbereich von 0 bis zum Cutoff-Wert von <200 IU/ml bestimmt.

Der qualitative Zielwert wurde an Hand des Modalwertes der Sollwertlaboratorien ermittelt und für den quantitativen Zielwert wurde der robuste Mittelwert aller Teilnehmer eingesetzt. Alle geltenden Zielwerte, Bewertungsbereiche und Bestehensquoten sind in Tabelle 12 dokumentiert.

3.12.3 Diagnostische Gesamtbewertung und Kommentar

Für die unterschiedlichen Methoden zur Bestimmung der Immunglobulintiter gegen Streptolysin O (ASL) und Streptodornase (ADNase) wurden im Ganzen sehr gute Bestehensquoten von 78,6 bis 100% erreicht. Diese Tendenz zu einem erfreulichen Anstieg der Bestehensquoten zeichnete sich auch bereits in den vergangenen Ringversuchen ab. Die negativen Proben 31 und 61 zeigen durchweg für alle Methoden Bestehensquoten >94%. Für die positiv zu bewertenden Proben 32 und 62 liegen die Quoten bei ebenfalls höher als 78%. Hierbei wäre anzumerken, dass für Methode 4 (turbidimetrische Immunpräzipitation) mit 83,3 und 78,6% für Probe 32 die schlechtesten Quoten erreicht wurden.

Tabelle 12: Streptokokken-Serologie: Qualitative und quantitative Zielwerte sowie entsprechende Bestehensquoten für die Ringversuchsproben 2014

			Probe 31		Probe 32		Probe 61		Probe 62	
			Bewertung	Bestehensquoten [%]						
Streptokokken-O-Lysin	Alle Methoden qual.	N=117	negativ	98,9	positiv	91,0	negativ	98,9	positiv	86,9
	Methode 1 qual./quant.	N=12					negativ	100	Positiv	22,2
	Zielwert [Titer]						(0–199)	100	(200–400)	83,3
	Bewertungsbereich									
	Methode 2 qual./quant.	N=52	–		477		negativ	100	positiv	100
Zielwert [Titer]				(363–591)		–	100	358	100	
Bewertungsbereich		(0–199)	98,5		96,9	(0–199)	100	(266–444)	98,4	
Methode 3 qual./quant.	N=24	–		356		negativ	100	neg./gw./pos	100	
Zielwert [Titer]				(271–441)		–	100	203	100	
Bewertungsbereich		(0–199)	100		89,3	(0–199)	100	(152–254)	100	
Methode 4 qual./quant.	N=231	–		441		negativ		positiv	99,6	
Zielwert [Titer]				(335–547)		–		323	99,6	
Bewertungsbereich		(0–199)	99,3		83,3	(0–199)	99,6	(242–404)	84,7	
Streptodornase	Alle Methoden qual.	N=117	negativ	100	negativ	83,9	negativ	100	negativ	100
	Methode 2 qual./quant.	N= 79	–		–					
	Zielwert [Titer]									
	Bewertungsbereich		(0–199)	100		87,3	(0–199)	100	(0–199)	100
Methode 3 qual./quant.	N=16									
Zielwert [Titer]										
Bewertungsbereich		(0–199)	94,7		94,7	(0–199)	100	(0–199)	100	
Methode 4 qual./quant.	N=28									
Zielwert [Titer]										
Bewertungsbereich		(0–199)	100		78,6	(0–199)	100	(0–199)	96,4	

Methode 1: Schnelltest, Methode 2: Endpunkt Nephelometrie, Methode 3: Kinetische Nephelometrie, Methode 4: Turbidimetrische Immunpräzipitation und andere

N (Durchschnittliche Teilnehmerzahl)

3.13 Rheumafaktor (323)

3.13.1 Information zum Probenmaterial

Die verwendeten Proben 32 und 62 stammen von klinisch gesunden Blutspendern. Für die Proben 31 und 61 wurden Seren von Patienten mit rheumatischer Arthritis gepoolt.

3.13.2 Ermittlung der Zielwerte

Zur Ermittlung des qualitativen Zielwertes wurde der Modalwert der Sollwertzentren eingesetzt. Der quantitative Zielwert ergab sich aus dem robusten Mittelwert aller Teilnehmer. Die Bewertung innerhalb dieses Parameters erfolgte methodenabhängig und für die positiven Proben 31 und 62 galt ein Bewertungsbereich von $\pm 25\%$ um den Zielwert herum. Bei den Proben 32 und 62 wurde ein zulässiger Bereich von 0–199 festgelegt, welcher einem negativen Befund entspricht. Zielwerte, Bewertungsbereiche und Bestehensquoten wurden in Tabelle 13 zusammengefasst.

3.13.3 Diagnostische Gesamtbewertung und Kommentar

Die qualitativen Bestehensquoten liegen mit einem Wert $>95\%$ für alle Methoden, wie auch bereits in den vergangenen Jahren, in einem sehr zufriedenstellenden Bereich. Bei den quantitativen Analysemethoden schneidet die Messung mittels Endpunkt-Nephelometrie für alle Proben am besten ab. Allerdings sind die Unterschiede innerhalb der Bestehensquoten so gering, dass man kaum von einer speziellen Überlegenheit einzelner Methode schließen kann.

3.14 Antikörper gegen *Mycoplasma pneumoniae* (324)

3.14.1 Information zum Probenmaterial

Das eingesetzte Serum für die Probe 61 wurde einem klinisch gesunden Blutspender in den Sommermonaten entnommen. Anamnetisch war kein zurückliegender, respiratorischer Infekt zu vermerken. Serologisch fanden sich Hinweise auf grenzwertige IgG und IgA Antikörper. Bei einem negativen IgM Befund spricht dies allerdings eher für eine Seronarbe/Durchseuchung. Probe 62 stammt ebenfalls von einem vermeintlich gesunden

Tabelle 13: Rheumafaktor-Bestimmung: Qualitative und quantitative Zielwerte sowie entsprechende Bestehensquoten für die Ringversuchsproben 2014

			Probe 31		Probe 32		Probe 61		Probe 62	
			Bewertung	Bestehensquoten [%]	Bewertung	Bestehensquoten [%]	Bewertung	Bestehensquoten [%]	Bewertung	Bestehensquoten [%]
Rheumafaktor	Alle Methoden qual.	N=112	positiv	95,6	negativ	97,4	positiv	96,5	neg./gw.	100
	Methode 1 quant.	N=33								
	Zielwert [Titer]		39,1		–		30,2		–	
	Bewertungsbereich		(29,3–48,9)		97,4		(0–19,9)		100	
	Methode 2 quant.	N=19								
	Zielwert [Titer]		58,1		–		38,2		–	
	Bewertungsbereich		(43,6–72,6)		100		(0–19,9)		96,4	
Methode 3 quant.	N=149									
Zielwert [Titer]		47,2		–		42,5		–		
Bewertungsbereich		(35,4–59,0)		93,5		(0–19,9)		97,4		
			Methode 1: Endpunkt Nephelometrie, Methode 2: Kinetische Nephelometrie, Methode 3: Turbidimetrische Immunpräzipitation und andere							

N (Durchschnittliche Teilnehmerzahl)

Tabelle 14: Mycoplasma pneumoniae Antikörper Bestimmung: Qualitative und quantitative Zielwerte sowie entsprechende Bestehensquoten für die Ringversuchsproben 2014

Mycoplasma pneumoniae 324			Probe 61		Probe 62	
			Bewertung	Bestehensquoten [%]	Bewertung	Bestehensquoten [%]
spezifische polyvalente Testsysteme	KBR qual./quant.	N=18 / N=18	neg./gw./pos.	100	gw./pos.	83,3
	Zielwert [Titer]		20		40	
	Bewertungsbereich		(0–40)		100	(20–160)
						78,6
spezifischer IgG-Nachweis	PHA qual./quant.	N=34 / N=37	neg./gw./pos.	100	positiv	100
	Zielwert [Titer]		80		640	
	Bewertungsbereich		(20–320)		89,5	(160–2560)
						92,1
spezifischer IgG-Nachweis	ELISA qual.	N=193	neg./gw./pos.	99,5	positiv	97,4
	CLIA qual.	N=19	neg./gw./pos.	100	positiv	100
spezifischer IgM-Nachweis	ELISA qual.	N=206	negativ	84,5	neg./gw./pos	97,6
	CLIA qual.	N=25	negativ	24,0	positiv	96,0
spezifischer IgA-Nachweis	ELISA qual.	N=136	neg./gw.	94,1	neg./gw.	89,7
	Diagnostik	N=235			79,1	95,7

N (Durchschnittliche Teilnehmerzahl)

Blutspender. Allerdings ergab sich für diese Probe ein epidemiologisch auffälliger Befund. Serologisch waren spezifische IgG Antikörper und grenzwertige IgA und IgM Antikörper nachweisbar. Diese Konstellation lässt auf eine Reinfektion oder eine vor einiger Zeit stattgefundenen Infektion schließen.

3.14.2 Ermittlung der Zielwerte

Die Festlegung des Zielwertes für die qualitative Analyse resultierte aus dem Modalwert der Referenzlaboratorien. Der Zielwert für die quantitativen Methoden ergab sich aus dem Modalwert aller Teilnehmerergebnisse. Bei den Analysen, die einen Titer als Ergebnis zur Folge haben wurde ein Bewertungsbereich von ± 2 Titerstufen festgelegt. Alle für diesen Ringversuch gültigen Zielwerte, Be-

wertungsbereiche und Bestehensquoten sind in Tabelle 14 dokumentiert.

3.14.3 Diagnostische Gesamtbewertung und Kommentar

Die Ergebnisse der verschiedenen Methoden zur Analyse von Infektionen mit dem Erreger *Mycoplasma pneumoniae* zeigten sich im Teilnehmerfeld als relativ heterogen. Die Bestehensquoten liegen auf Grund dieser Heterogenität nur durch die relativ großzügige Bewertung in einem zufriedenstellenden Bereich. Eine Ausnahme bildet hierbei der qualitative IgM-Nachweis mittels CLIA, für welchen nur eine Bestehensquote von 24% verzeichnet werden konnte.

Tabelle 15: *Coxiella burnetii* Antikörper Bestimmung: Qualitative und quantitative Zielwerte sowie entsprechende Bestehensquoten für die Ringversuchproben 2014

Coxiella burnetii 325		Probe 61		Probe 62	
		Bewertung	Bestehensquoten [%]	Bewertung	Bestehensquoten [%]
spezifische polyvalente Testsysteme	KBR Phase I qual./quant. N=9 / N=10 Zielwert [Titer] Bewertungsbereich	positiv 2560 (640–10240)	100 80	negativ – (0–39,9)	100 100
	KBR Phase II qual./quant. N=15 / N=16 Zielwert [Titer] Bewertungsbereich	positiv 1280 (320–5120)	100 100	negativ – (0–39,9)	100 100
spezifischer IgG-Nachweis	ELISA Phase I qual. N=27	positiv	100	negativ	100
	ELISA Phase II qual. N=37	positiv	100	negativ	100
	IFT Phase I qual./quant. N=36 / N=40 Zielwert [Titer] Bewertungsbereich	positiv 10240 (2560–40960)	97,1 87,2	negativ – (0–79,9)	91,7 92,1
	IFT Phase II qual./quant. N=36 / N=40 Zielwert [Titer] Bewertungsbereich	positiv 10240 (2560–40960)	97,1 82,1	negativ – (0–79,9)	91,7 92,1
spezifischer IgM-Nachweis	ELISA qual. N=42	neg./gw./pos	97,6	negativ	95,2
	IFT qual./quant. N=33 / N=35 Zielwert [Titer] Bewertungsbereich	neg./gw./pos 20 (0–80)	97,0 88,2	negativ – (0–19,9)	90,9 88,2
spezifischer IgA-Nachweis	ELISA qual. N=23	negativ	95,7	negativ	100
	IFT qual./quant. N=6 / N=8 Zielwert [Titer] Bewertungsbereich	negativ – (0–19,9)	100 75,0	negativ – (0–19,9)	100 87,5
Diagnostik N=82			61,2		97,6

N (Durchschnittliche Teilnehmerzahl)

3.15 Antikörper gegen *Coxiella burnetii* (325)

3.15.1 Information zum Probenmaterial

Probe 61 stammt von einem Patienten mit bekannter chronischer *C. burnetii*-Infektion. Das Serum wurde während der Behandlungsphase entnommen und stellt somit ein Verlaufsserum dar. Serologisch zeigte sich in der KBR für den IgG-Nachweis in Phase 1 ein Titer von 2560 und für Phase 2 von 1280. Im IFT lagen die IgG-Titer bei 10240 für Phase 1 und bei 10240 für Phase 2. Bei negativem IgA- und grenzwertigem IgM-Nachweis ist dieser Befund gut mit den klinischen Informationen für den Patienten vereinbar. Probe 62 stammte von einem klinisch unauffälligen, gesunden Blutspender und sollte als negativ befundet werden.

3.15.2 Ermittlung der Zielwerte

Für die Ermittlung des qualitativen Zielwertes wurde der Modalwert der Referenzzentren verwendet. Um einen Zielwert für die quantitative Analyse zu ermitteln wurde der Modalwert aller Teilnehmerergebnisse ermittelt. Als Bewertungsbereich wurden ± 2 Titerstufen um den Zielwert herum festgelegt. Die geltenden Zielwerte, Bewer-

tungsbereiche und Bestehensquoten finden sich in Tabelle 15 wieder.

3.15.3 Diagnostische Gesamtbewertung und Kommentar

Bei dem Erreger *Coxiella burnetii* handelt es sich um ein obligat intrazelluläres, gramnegatives Bakterium, welches als zoonotischer Erreger des Q-Fiebers weltweit verbreitet ist. Der Mensch infiziert sich vor allem aerogen über infizierte Haustiere. Da der kulturelle Nachweis des *Coxiella*-Bakteriums nach EU-Richtlinien nur in Laboratorien mit S3 Bedingungen vorgenommen werden darf, ist der serologische Nachweis das Mittel der Wahl für Routinelaboratorien. Hierbei ist die KBR lange Zeit als Standardverfahren verwendet worden. Der IFT-Nachweis zeichnet sich jedoch durch eine wesentlich höhere Sensitivität aus und ersetzt somit nach und nach der Nachweis durch KBR [12].

Für den vorliegenden Ringversuch liegen die Gesamtbestehensquoten mit 61,2% für Probe 61 und 97,6% für Probe 62 in einem befriedigenden Bereich. Deutlich wird, dass besonders der quantitative Nachweis der positiven Probe 61 für die Immunglobulinklasse IgM zu Problemen führte. Hier wurde daher großzügiger bewertet und als Bewertungsbereich negativ/grenzwertig/positiv zugelassen.

Tabelle 16: Salmonellen-Serologie: Qualitative und quantitative Zielwerte sowie entsprechende Bestehensquoten für die Ringversuchsproben 2012

		Probe 31		Probe 32		Probe 61		Probe 62	
		Bewertung	Bestehens- quoten [%]	Bewertung	Bestehens- quoten [%]	Bewertung	Bestehens- quoten [%]	Bewertung	Bestehens- quoten [%]
S. Typhi O-Ag	WIDAL qual./quant. N=54/ N=52 Zielwert [Titer] Bewertungsbereich	negativ.	98,1	negativ	100	negativ	98,1	positiv 1600	80,8
		(0–99)	98,0	(0–99)	100	(0–99)	98,0	(400– 6400)	87,8
S. Typhi (O)H-Ag	WIDAL qual./quant. N=60 / N=59 Zielwert [Titer] Bewertungsbereich	negativ	100	negativ	100	negativ	96,7	positiv 1600	93,3
		(0–99)	100	(0–99)	100	(0–99)	98,2	(400– 6400)	86,4
S. Enterit. (O)H-Ag	WIDAL qual./quant. N=48/ N=47 Zielwert [Titer] Bewertungsbereich	negativ	97,8	negativ	97,8	negativ	100	negativ	87,5
		(0–99)	97,7	(0–99)	97,7	(0–99)	100	(0–99)	91,5
Salmonellen O-Ag, Gr. A	WIDAL qual./quant. N=29/ N=28 Zielwert [Titer] Bewertungsbereich	negativ	100	negativ	100	negativ	96,8	negativ	100
		(0–99,0)	100	(0–99)	100	(0–99)	96,7	(0–99)	100
Salmonellen O-Ag, Gr. B	WIDAL qual./quant. N=32/ N=31 Zielwert [Titer] Bewertungsbereich	negativ	100	negativ	100	neg./gw./pos. 50	100	negativ	83,3
		(0–99,0)	100	(0–99)	100	(0–200)	100	(0–99)	87,1
Salmonellen parat. B (O)H-Ag	WIDAL qual./quant. N=56 / N=56 Zielwert [Titer] Bewertungsbereich	negativ	100	negativ	100	neg./gw./pos. 50	100	negativ	94,7
		(0–99)	100	(0–99)	100	(0–200)	94,7	(0–99)	92,9
Salmonellen typhim. (O)H-Ag Gr.B	WIDAL qual./quant. N=44 / N=43 Zielwert [Titer] Bewertungsbereich	negativ	95,2	negativ	95,2	negativ	100	negativ	100
		(0–99,0)	97,5	(0–99)	97,5	(0–99)	90,7	(0–99)	100
Salmonellen O-Ag, Gr. C	WIDAL qual./quant. N=27// N=27 Zielwert [Titer] Bewertungsbereich	negativ	100	negativ	100	negativ	75,0	negativ	100
		(0–99)	100	(0–99)	100	(0–99)	70,4	(0–99)	100
ELISA	polyvalent N=32	negativ	100	negativ	96,9	positiv	97,1	negativ	91,4
	IgA N=24	negativ	100	negativ	100	gw./pos.	96,7	negativ	100
	Diagnostik ELISA WIDAL N=103		– 98,0		– 99,0		100 100		93,7 5,6

N (Durchschnittliche Teilnehmerzahl)

3.16 Antikörper gegen Salmonellen (331)

3.16.1 Information zum Probenmaterial

Die in diesem Ringversuch versendeten Proben 31, 32 stammen von klinisch gesunden Blutspendern ohne Hinweis auf eine zurückliegende oder bestehende Infektion mit Salmonellen. Serologisch zeigten sich diese Proben wie zu erwarten eindeutig negativ. Die im Herbst 2014 verwendete Probe 61 wurde einem Patienten ca. 2 Wochen nach einer kulturell gesicherten Infektion mit dem Erreger *S. Typhimurium* (*Salmonella enterica* Subspezies *enterica* Serovar *Typhimurium* [1, 4, {5}, 12: (i): 1, 2] entnommen. Serologisch zeigte sich diese Probe mit einem anti-Salmonella Gr. B-O Titer von 100, einem anti-S. Paratyphi B-OH von 100 und einem anti-S. Typhimurium OH von 100 eher grenzwertig und die Ergebnisse der WIDAL-Analyse wurden daher großzügig bewertet. Bei Teilnehmern mit vollständig negativen Testergebnissen ist allerdings anzuraten, die Testsystem im Hinblick auf ihre Sensitivität zu überprüfen.

Die versendete Probe 62 wurde aus einem hochtitrigen Kaninchenserum (*Salmonella enterica* subsp. *enterica* Serovar *Typhi* [9, 12, [Vi]: (d):-]) gewonnen. In den serologischen Vortestungen zeigte diese Probe einen positiven Titer von 1:1600 in der Direktagglutination im WIDAL-Test für die Antigengruppen anti-S. Typhi O und anti-S. Typhi OH. Auf Grund der kommerziell verfügbaren ELISA-Testsysteme und deren Spezifität für humane AK war bezüglich dieses diagnostischen Verfahrens ein negatives Ergebnis zu erwarten.

3.16.2 Ermittlung der Zielwerte

Für die Zielwertermittlung der qualitativen Ergebnisse wurde der Modalwert aus den Sollwertzentren eingesetzt. Der Zielwert für die quantitativen Analysen ergab sich aus dem robusten Mittelwert der Sollwertzentren. Die Bewertungsgrenzen wurden hierbei mit ± 2 Titerstufen um den Zielwert herum festgelegt. Alle ermittelten Zielwerte, Bewertungsbereiche und Bestehensquoten sind der Tabelle 16 zu entnehmen.

3.16.3 Diagnostische Gesamtbewertung und Kommentar

Bei Verdacht auf eine akute Salmonellose wäre das Mittel der Wahl eine kulturelle Anzucht des Erregers aus dem Stuhl. Die serologischen Möglichkeiten zum Nachweis einer zurückliegenden Infektion mit Salmonellen oder Folgeerkrankungen beschränken sich auf den altbewährten WIDAL Direktagglutinationstest und neuere ELISA Screening Systeme. Die größte Fehlerquelle der WIDAL-Analyse liegt in der relativ geringen Spezifität und Sensitivität der Agglutinationsreaktion [13]. Wie auch in den vergangenen Jahren wird deutlich, dass der WIDAL Test problematisch zu bewerten ist, wenn die Antikörper im Probengut gering konzentriert auftreten. Schlechte Bestehensquoten für das niedrig reaktive aber kulturell abgesicherte Serum der Probe 61 konnten daher nur durch einen großzügig angelegten Bewertungsbereich von positiv/grenzwertig/negativ für die Antigengruppen *Salmonella* O-AG der Gr. B und *S. paratyphi* OH-Ag der Gr. B vermieden werden. Das deutlich höher reaktive Serum der Probe 62 erreichte mit 86,4 und 87,8% Bestehensquote für die positiven Antigengruppen ein zufriedenstellendes Ergebnis. Der humanspezifische ELISA Test konnte auf Grund des versendeten Tierserums nicht positiv ausfallen. Insgesamt sind die diagnostischen Gesamtbestehensquoten nach Berücksichtigung der großzügigen Bewertungsbereiche mit 93,7–100% zufriedenstellend.

3.17 Antikörper gegen *Borrelia burgdorferi* (332)

3.17.1 Information zum Probenmaterial

Die Proben 31, 32 und 62 wurden im Rahmen einer wissenschaftlichen Blutspende einem klinisch unauffälligen und anamnetisch gesunden Probanden entnommen. Allerdings gab der Proband von Probe 32 an einige Male Zeckenstiche gehabt zu haben. Probe 31 wurde im Rahmen der serologischen Analysen der Zielwertlaboratorien als negativ befundet. Probe 32 zeigte serologisch in der Blotanalyse ein breites IgG-Bandenmuster mit positiver Reaktivität für die Antigene p100 und p17/18 und einer grenzwertigen IgM-Reaktivität. In der Bewertung ist eine späte Phase der spezifischen Immunantwort zu diagnostizieren, da eine Persistenz von niedrigtitrigen IgM-Antikörpern über Monate vorkommen kann. Probe 62 des Herbstringversuches zeigte serologisch keinerlei Hinweis auf eine Infektion mit dem Erreger *B. burgdorferi* und war daher als negativ zu bewerten. Bei der versendeten Probe 61 handelte es sich um einen klinisch unauffälligen Spender, mit einer bekannten und vor Jahren suffizient behandelten Syphilisinfektion (TPPA: 1280, VDRL: 1, FTA-abs-IgM: negativ). Diese Probe wurde bewusst ausgewählt, da Treponema-positive Seren in der Vergangenheit immer wieder innerhalb der einzelnen Testsysteme zu falsch positiven Borrelien-Befunden geführt haben.

3.17.2 Ermittlung der Zielwerte

Der Modalwert der Referenzzentren diene als Zielwert für die qualitativen Analysen. Die Grenzen für die Titrationsstestsysteme lagen wie üblich bei ± 2 Titerstufen in Abhängigkeit vom ermittelten Zielwert. Zielwerte, Bewertungsbereiche und erreichte Bestehensquoten können aus Tabelle 17 abgelesen werden. Des Weiteren finden sich die aufgeschlüsselten Bandenmuster der IgG- und IgM-Immunoblots in den folgenden Abbildungen (Abbildung 5, Abbildung 6, Abbildung 7, Abbildung 8).

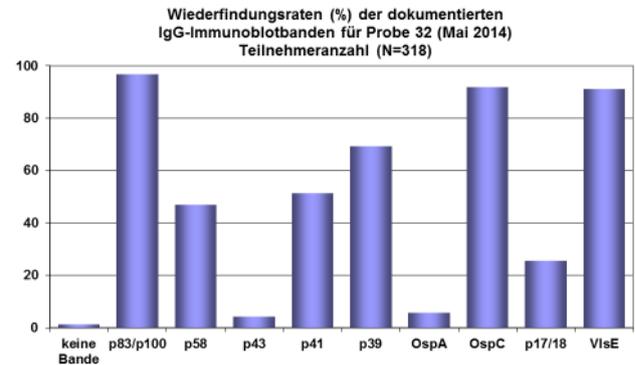


Abbildung 5: Grafik der reaktiven Immunoblot-Bandenmuster für die Antikörperklassen IgG der Probe 32

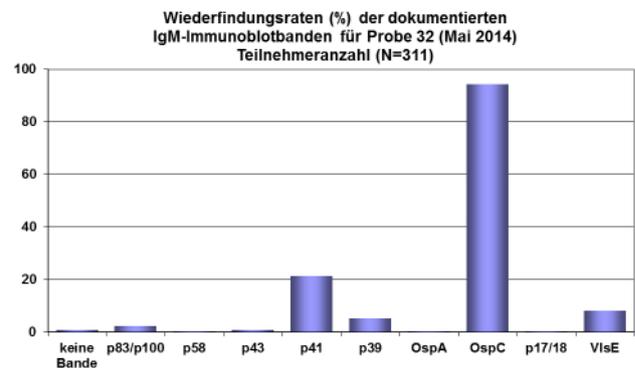


Abbildung 6: Grafik der reaktiven Immunoblot-Bandenmuster für die Antikörperklassen IgM der Probe 32

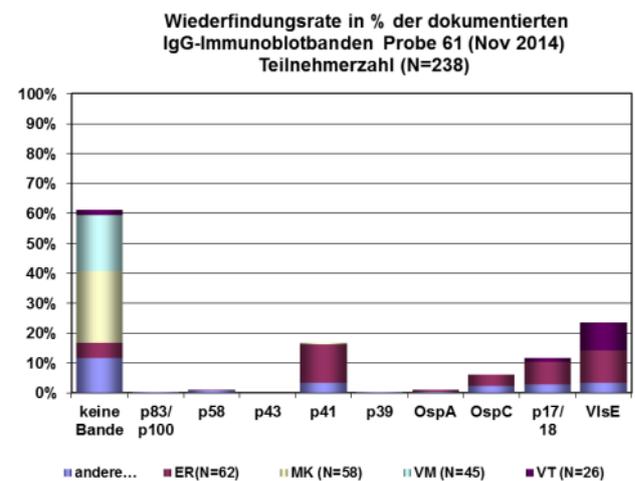


Abbildung 7: Grafik der reaktiven Immunoblot-Bandenmuster für die Antikörperklassen IgG der Probe 61

Tabelle 17: Borrelien-Serologie: Qualitative und quantitative Zielwerte sowie entsprechende Bestehensquoten für die Ringversuchsproben 2014

		Probe 31		Probe 32		Probe 61		Probe 62	
		Bewertung	Bestehensquoten [%]	Bewertung	Bestehensquoten [%]	Bewertung	Bestehensquoten [%]	Bewertung	Bestehensquoten [%]
spezifische polyvalente Testsysteme	PHA qual./quant. N=13// N=11 Zielwert [Titer] Bewertungsbereich	negativ – (0–79,9)	100 100	positiv 1280 (360–5120)	100 100	negativ – (0–79,9)	62,5 50	negativ – (0–79,9)	100 87,5
	ELISA qual. N=7	negativ	75,0	positiv	50	negativ	100	negativ	50
	Line-Immunoblot qual. N=25	negativ	91,7	positiv	96,0	negativ	46,4	negativ	85,7
spezifischer IgG-Nachweis	ELISA qual. N=266	negativ	97,8	positiv	97,1	negativ	98,46	negativ	97,8
	Blot qual. N=275	negativ	97,1	positiv	99,4	negativ	77,3	negativ	94,6
	CLIA qual. N=78	negativ	97,0	positiv	97,0	negativ	98,0	negativ	98,0
	MIFT qual./quant. N=14 / N=12 Zielwert [Titer] Bewertungsbereich	negativ – (0–39,9)	93,3 90,9	positiv 1280 (320–5120)	86,7 90,9	negativ – (0–39,9)	66,7 60,0	negativ – (0–39,9)	66,7 60,0
spezifischer IgM-Nachweis	ELISA qual. N=287	negativ	96,4	positiv	95,5	negativ	95,3	negativ	96,7
	Blot qual. N=273	negativ	96,1	positiv	98,4	negativ	90,9	negativ	95,9
	CLIA qual. N=87	negativ	89,4	positiv	88,5	negativ	98,1	negativ	98,1
	MIFT qual./quant. N=13/ N=14 Zielwert [Titer] Bewertungsbereich	negativ – (0–19,9)	100 100	positiv 320 (80–1280)	81,8 60,0	negativ – (0–19,9)	90,9 90,0	negativ – (0–19,9)	90,9 100
	Diagnostik N=356		97,6		46,8		94,6		98,3

N (Durchschnittliche Teilnehmerzahl)

Wiederfindungsrate in % der dokumentierten IgM-Immunoblotbänder Probe 61 (Nov 2014) Teilnehmerzahl (N=209)

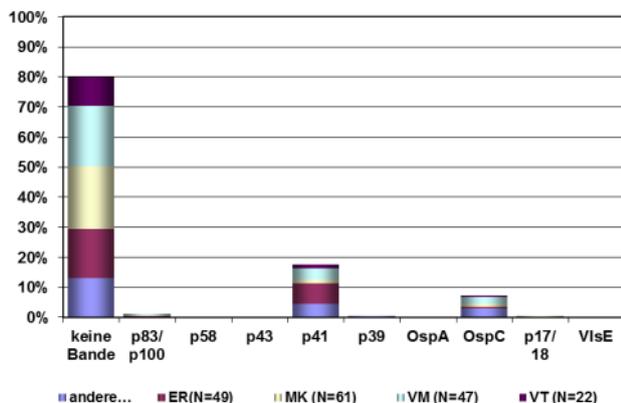


Abbildung 8: Grafik der reaktiven Immunoblot-Bandenmuster für die Antikörperklassen IgM der Probe 61

3.17.3 Diagnostische Gesamtbewertung und Kommentar

Es ist ausreichend bekannt, dass die serologische Diagnostik der Lyme-Borreliose zu zahlreichen Problemen führen kann. Die Ursachen hierfür liegen in der oft verzögerten Immunantwort und der nicht zur Verfügung stehenden Möglichkeit eines Direktnachweises. Die Befundkonstellation sollte daher stets in Zusammenhang mit der vorliegenden Anamnese betrachtet werden [14].

Die eindeutig negative Probe 31 zeigte durchweg erfreuliche Ergebnisse und erreichte eine diagnostische Gesamtbestehensquote von 97,6%. Die Probe 32 führte auf Grund

der reaktiven IgM-Antikörperantwort zu Problemen bei der Befundung. Während die Referenzlaboratorien die Konstellation eines länger persistierenden IgM-Antikörpertiters berücksichtigten, gab es unter den Teilnehmern einige Fehlinterpretationen was zu der geringen Bestehensquote von lediglich 46,8% führte. Die Ergebnisse für die Proben 61 und 62 zeigten sich im Gesamtbild als sehr heterogen. Die größten Schwierigkeiten entstanden bei der qualitativen Auswertung des polyvalenten LINE-Blots für die Probe 61 (46,4). Es ist zudem anzumerken, dass lediglich 33% der Teilnehmer begleitend zur Borrelien-Serologie einen TPPA bzw. TPHA dokumentiert haben, um möglicherweise falsch positive Reaktionen ausschließen zu können. Die diagnostische Gesamtbewertung dieses Parameters liegt mit der erwähnten Ausnahme für Probe 61 in einem sehr guten Bereich (94,6–98,3%).

3.18 Antikörper gegen *Helicobacter pylori* (334)

3.18.1 Information zum Probenmaterial

Alle in diesem Jahr eingesetzten Proben (31, 32, 61, 62) stammen von klinisch unauffälligen und gesunden Probanden und wurden diesen im Rahmen einer wissenschaftlichen Serumspende entnommen. Die Probe 31 zeigte in der Vortestung keinerlei Reaktivität, die auf eine Infektion mit dem gesuchten Erreger Hinweisen würde und sollte daher als negativ eingestuft werden. In der serologischen Testung der Probe 32 fanden sich dagegen, sowohl im Blot als auch im ELISA, deutlich positive spezi-

Tabelle 18: Helicobacter-Serologie: Qualitative und quantitative Zielwerte sowie entsprechende Bestehensquoten für die Ringversuchsproben 2014

			Probe 31		Probe 32		Probe 61		Probe 62	
			Bewertung	Bestehens- quoten [%]	Bewertung	Bestehens- quoten [%]	Bewertung	Bestehens- quoten [%]	Bewertung	Bestehens- quoten [%]
spezifischer IgG-Nachweis	ELISA qual.	N=165	negativ	98,7	positiv	98,7	negativ	98,0	positiv	85,1
	Blot qual.	N=114	negativ	99,1	positiv	99,1	negativ	99,1	positiv	99,1
spezifischer IgA-Nachweis	ELISA qual.	N=130	negativ	97,6	neg./gw./pos	96,8	negativ	96,6	gw./pos	92,4
	Blot qual.	N=97	negativ	100	neg./gw./pos	100	negativ	98,9	positiv	94,3
Diagnostik		N=195		97,8		93,3		98,8		95,3

N (Durchschnittliche Teilnehmerzahl)

fische IgG und grenzwertig reaktive IgA Antikörper Nachweise. Probe 61 aus dem Herbstringversuch zeigte ähnlich der Probe 31 keinerlei serologische Reaktivitäten. Für Probe 62 konnten serologisch Antikörper der Immunglobulinklasse IgG und grenzwertig/positive Antikörper der Klasse IgA dokumentiert werden.

3.18.2 Ermittlung der Zielwerte

Für die Ermittlung des qualitativen Zielwertes der *H. pylori*-Diagnostik wurde der Modalwert der Zielwertlaboratorien verwendet. Eine quantitative Auswertung entfällt für diesen Parameter.

3.18.3 Diagnostische Gesamtbewertung und Kommentar

Die negativen Proben 31 und 61 zeigen wie auch in den vergangenen Jahren keinerlei Komplikationen und sind mit Bestehensquoten von über 97% für alle Testsysteme mehr als zufriedenstellend. Auch die positiven Proben 32 und 62 führen mit Bestehensquoten von 85,1–99,1% zu sehr guten Ergebnissen. Die Interpretation der IgA-Analysen führte allerdings wiederholt zu leichten Schwierigkeiten, sodass bei der Auswertung immer auch grenzwertige zusätzlich zu den positive Ergebnisse akzeptiert wurden. Insgesamt liegt die diagnostische Gesamtbestehensquote für diesen Parameter mit 93,3–98,8% in dem bekanntermaßen guten Bereiche, der auch vermehrt in den letzten Jahren erreicht werden konnte (Tabelle 18).

4 Abschließende Diskussion und Kommentare

Die vorliegende Publikation stellt in standardisierter Form einen Jahresbericht der bakteriologisch-infektionsserologischen Ringversuch-Ergebnisse des Jahres 2014 dar. Die diagnostischen Entwicklungen der meisten Analyseparameter entsprechen vorwiegend den Tendenzen der letzten Jahre. Die stetig steigenden Teilnehmerzahlen machen deutlich, welchen Stellenwert die infektionsserologischen Ringversuche mittlerweile im Laboralltag belegen. Dies ist unter Umständen auch Folge einer besseren

Implementierung externer Qualitätskontrollmaßnahmen im Labor als Folge von Zertifizierung, Akkreditierung und Einführung der Kammerrichtlinien in medizinischen Laboratorien. Durch diese neuen Vorschriften und steigende Ansprüche an Verlässlichkeit und Sicherheit von laboratoriumsmedizinischen Untersuchungen wächst auch die Notwendigkeit deren Qualität stetig zu steigern und und zu dokumentieren. Für viele der zu beurteilenden Parameter lagen die Ergebnisse und Bestehensquoten in ähnlichen Bereichen wie in den Vorjahren. Die gute Qualität der für die Lues-Diagnostik verfügbaren Testsysteme zeigt sich auch in diesem Jahr. Allerdings besteht durch die Komplexität der Stufendiagnostik weiterhin eine erhebliche Problematik bei der Beurteilung von grenzwertig/positiven Proben. Diese Problematik muss dringend bereinigt werden z.B. durch korrekte Bestimmung des Endtiters und ein größere fachliche Sicherheit bei der Befundung der typischen Ergebniskonstellationen. Beispielfhaft sei hier auf die MIQ Serologie [7] hingewiesen in der sich tabellarische Übersichten zur Befundung anhand von Beispielen befinden. Ähnliche Phänomene zeigen sich bei der Analyse von Borrelienseren im Rahmen der Stufendiagnostik. Das Fehlen spezifischer Antikörper ohne verfügbare anamnestische Informationen genauso wie die sehr häufige Persistenz von IgG-, vor allem aber von IgM-Antikörpern führt häufig zu Fehlinterpretation der Untersuchungsergebnisse im klinischen Kontext. Zudem fällt auf, dass trotz lange bekannter Kreuzreaktionen positiver Lues-Seren in den Testsystemen der Borrelien-Diagnostik vielfach routinemäßig kein TPPA/TPHA-Test bei unklaren Befunden und Verdacht auf eine Borrelien-Infektion durchgeführt wird. In ähnlicher Weise ergab sich in der *B. pertussis*-Serologie eine deutliche Diskrepanz in der diagnostischen Beurteilung bedingt durch Testsysteme mit kombinierten Antigenkombinationen, die z.T. nicht den Vorgaben der europäischen und nationalen Leitlinien entsprechen.

Auch die Vielzahl der auf dem Markt befindlichen sehr heterogenen Assays unterschiedlicher Qualität zum serologischen Nachweis von bakteriellen Erregern und der daraus resultierende geringe Grad der Standardisierung tragen ganz allgemein dazu bei, dass widersprüchliche Einzelergebnisse entstehen und die daraus resultierende Gesamtbefundung divergente oder gar fehlerhafte Resultate liefert. Dies trifft sowohl für die Chlamydien- und

Mykoplasmen-Diagnostik als auch für die rein serologische Diagnostik und Bewertung bei v.a. *Campylobacter*-Infektionen zu. Hier führen alt bewährte Testsysteme wie KBR, IFT und EIA zu teilweise widersprüchlichen oder gar unklare Testergebnissen mit daraus resultierenden nicht wirklich zufriedenstellenden Bestehensquoten. Empfehlenswert wäre hier auf neuere und spezifischere Testsysteme umzusteigen oder z.B. die serologische Diagnostik der *C. pneumoniae*-Infektion weitestgehend zugunsten molekularer Verfahren zu verlassen. Beispielhaft sei hier auch der serologische Nachweis für Coxiellen genannt: Hier zeigt sich, dass viele Teilnehmer den Nachweis über direkte Immunfluoreszenz der KBR vorziehen und die zumeist erfreulichen Bestehensquoten bestätigen die Richtigkeit dieser Tendenz.

Auch in der Salmonellen-Diagnostik zeigt sich wieder die bereits aus den Vorjahren bekannte Problematik des WIDAL-Tests bei niedrig konzentrierten Seren oder bei Seronarben. Der Hinweis auf eine strikte Beschränkung der diagnostischen Anwendung auf die noch verbliebenen wenigen speziellen Indikationen für derartige Tests (z.B. Spätdiagnose eines anbehandelten Typhus oder Paratyphus) und die Notwendigkeit einer umfassenden diagnostischen internen und externen Qualitätssicherung dieser wenig standardisierten Assays bleibt daher weiter aktuell. Die vorliegende Evaluation soll aus den genannten Gründen dazu beitragen, die kontinuierliche Diskussion von infektionsserologischer Diagnostik erneut anzuregen und den sich teilweise abzeichnenden Trend zur Verbesserung von Sensitivitäten, Spezifitäten und fortschreitender Standardisierung der in der Routine eingesetzten infektionsserologischen Testsysteme erneut voranzutreiben. Nur so kann ein steter Fortschritt bei den verwendeten Methoden und der diagnostischen Bewertung von serologischen Befunden auf Dauer gelingen.

Literatur

1. Bundesärztekammer. Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen. 2011.
2. Hunfeld KP, Brade V. Ringversuche in der bakteriologischen Infektionsserologie – Standortbestimmung und Auswertung des Ringversuchs X/1999. *Der Mikrobiologe*. 2000;10:135-44.
3. Hunfeld KP, Müller I. Vorbericht zum Ringversuch Gruppen 310-321 und 323-334 Bakteriologische Infektionsserologie November 2014: Kommentar. Düsseldorf: Instand e.V.; 2014.
4. Müller I, Besier S, Hintereder G, Brade V, Hunfeld KP. Zur Qualität der bakteriologischen Infektionsserologie in Deutschland: Eine Metaanalyse der infektionsserologischen Ringversuche des Jahres 2006 – Beitrag der Qualitätssicherungskommission der DGHM. *GMS Z Forder Qualitätssich Med Lab*. 2009;1:Doc04. DOI: 10.3205/lab000004
5. DIN EN 14136:2004-8 (D) Verwendung externer Qualitätssicherungsprogramme bei der Bewertung der Durchführung von Untersuchungsverfahren in der In-vitro-Diagnostik; Deutsche Fassung EN 14136:2004.
6. Hagedorn HJ. *Treponema* spp. In: Neumeister B, Geiss HK, Braun RW, Kimmig P, editors. *Mikrobiologische Diagnostik*. 2. Aufl. Stuttgart: Thieme Verlag; 2009. p. 594-601.
7. Hagedorn HJ, Brockmeyer NH, Hunfeld KP, Münstermann D, Pothof A, Schöfer D. *MiQ 16: Syphilis*. 2. Aufl. München: Urban und Fischer; 2012. (MiQ: Mikrobiologisch-infektiologische Qualitätsstandards; 16)
8. Bundesärztekammer. Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie) – Zweite Richtlinienanpassung. 2010. Available from: http://www.bundesaerztekammer.de/fileadmin/user_upload/downloads/RiliHaemotherapie2010.pdf
9. Wellinghausen N, Abele-Horn M, Donoso Mantke O, Enders M, Fingerle V, Gärtner B, Hagedorn J, Rabenau H F, Reiter-Owona I, Tintelnot K, Weig M, Zeichhardt H, Hunfeld KP. *MiQ 35: Infektionsserologische Methoden*. München, Jena: Urban & Fischer; 2016. (MiQ: Mikrobiologisch-infektiologische Qualitätsstandards; 35)
10. Heesemann J. Die Gattung *Yersinia*, Yersiniosen. In: Köhler W, Eggers HL, Fleischer B, Marre R, Pfister H, Pulverer G, editors. *Medizinische Mikrobiologie*. 8. Aufl. München: Urban und Fischer Verlag; 2001. p. 315-28.
11. Riffelmann M, Hunfeld KP, Müller I, Xing D, Kennerknecht N, Wirsing von König CH. External quality assessment of pertussis serology in Germany. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2013;32(3):421-3. DOI: 10.1007/s10096-012-1759-7
12. Kimmig P, Wagner-Wiening C. *Coxiella burnetii*. In: Neumeister B, Geiss HK, Braun RW, Kimmig P, editors. *Mikrobiologische Diagnostik*. 2. Aufl. Stuttgart: Thieme Verlag; 2009. p. 628-32.
13. Khoharo HK. A comparative study of the typhidot (Dot-EIA) and Widal tests in blood culture positive cases of typhoid fever. *Trop Doct*. 2011;41(3):136-8. DOI: 10.1258/td.2011.100406
14. Bil-Lula I, Matuszek P, Pfeiffer T, Woźniak M. Lyme Borreliosis – the Utility of Improved Real-Time PCR Assay in the Detection of *Borrelia burgdorferi* Infections. *Adv Clin Exp Med*. 2015 Jul-Aug;24(4):663-70. DOI: 10.17219/acem/28625

Korrespondenzadresse:

Prof. Dr. K.P. Hunfeld
Zentralinstitut für Labormedizin, Mikrobiologie & Krankenhaushygiene, Krankenhaus Nordwest, Steinbacher Hohl 2–26, 60488 Frankfurt am Main, Deutschland
K.hunfeld@em.uni-frankfurt.de

Bitte zitieren als

Rüttger S, Müller I, Hunfeld KP. Zur Qualität bakteriologisch-infektionsserologischer Verfahren in Deutschland: Die Auswertung der infektionsserologischen Ringversuche 2014 – Beitrag der Qualitätssicherungskommission der DGHM. *GMS Z Forder Qualitätssich Med Lab*. 2017;8:Doc05. DOI: 10.3205/lab000028, URN: urn:nbn:de:0183-lab0000286

Artikel online frei zugänglich unter

<http://www.egms.de/en/journals/lab/2017-8/lab000028.shtml>

Veröffentlicht: 07.11.2017

Copyright

©2017 Rüttger et al. Dieser Artikel ist ein Open-Access-Artikel und steht unter den Lizenzbedingungen der Creative Commons Attribution 4.0 License (Namensnennung). Lizenz-Angaben siehe <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.