

## 4. Diskussion

Die Mikroalbuminurie erscheint als erstes klinisches Zeichen einer diabetischen Nephropathie (McKenna, K. et al. 1997; Viberti, G.C. et al. 1982), die eine Komplikation sowohl eines Diabetes mellitus Typ I als auch eines Diabetes mellitus Typ II darstellt. Unerkannt und unbehandelt führt sie unweigerlich über die Entwicklung einer Makroalbuminurie zu einer terminalen Niereninsuffizienz mit konsekutiver Dialysepflichtigkeit oder erforderlicher Organtransplantation.

Zusätzlich sind diese Patienten gekennzeichnet durch eine hohe Komorbidität infolge mikrovasculärer und makrovasculärer Komplikationen. Das Zusammentreffen von generalisierter Gefäßschädigung und dem Vorliegen einer Mikroalbuminurie legt die Vermutung nahe, dass das Auftreten von Albumin im Urin mit renalen und extrarenalen Komplikationen, wie der proliferativen Retinopathie und anderer Makroangiopathien, assoziiert ist und als unabhängiger Risikomarker für diese Komplikationen dienen kann (Deckert, T. et al. 1989).

Auch andere Risikofaktoren werden im Zusammenspiel mit endothelialen Dysfunktionen als Grundlage für das Auftreten der Mikroalbuminurie und arteriosklerotischer Erkrankungen mit kardiovaskulären und peripher vaskulären Komplikationen verantwortlich gemacht (Hillege, H.L. et al. 2002; Pontremoli, R. 1996; Leoncini, G. et al. 2002; Clausen, P. et al. 2001; Damsgaard, E.M. et al. 1990; de Jong, P.E. et al. 2004).

Als weitere Grunderkrankungen, in denen es zu einer vermehrten Ausscheidung von Albumin im Urin kommen kann, sind der arterielle Hypertonus (Mathiesen, E.R. et al. 1990; Agrawal, B. et al. 1996) und renale Erkrankungen, zu denen Glomerulopathien, andere tubulo-interstitielle Nephropathien sowie schwangerschaftsinduzierte Nephropathien zählen (Misiani, R. et al. 1991), zu nennen.

Zur Prävention dieser nephrologischen und kardiologischen Folgekomplikationen erscheint es sinnvoll, eine Mikroalbuminurie frühzeitig nachzuweisen, um Therapieoptionen einzuleiten. Die American Diabetes Association (ADA) empfiehlt bei Risikopatienten eine jährliche Untersuchung auf Proteine im Urin und ein jährliches Screening auf eine Mikroalbuminurie bei negativer Proteinurie.

Weist der Teststreifen das Vorliegen einer Mikroalbuminurie mithilfe eines positiven Befundes nach, wird von der American Diabetes Association und der American National Kidney Foundation (ANKF) (K/DOQI 2002; Levey, A.S. et al. 2003) empfohlen, dieses Ergebnis durch den Albumin-Kreatinin-Quotienten oder durch andere anerkannte Labormethoden zu bestätigen und

weitere drei Untersuchungen innerhalb der folgenden drei bis sechs Monate durchzuführen. Die Urinproben sollten unter ähnlichen Bedingungen abgenommen werden, und bei Möglichkeit hat sogar eine nächtliche Urinsammlung zu erfolgen, um das dort geringere Ausmaß der Schwankungen einer Albuminausscheidung auszunutzen (Mogensen, C.E. et al. 1985).

Eine Mikroalbuminurie kann dann erst nach dem Erhalten von zwei positiven Kontrolluntersuchungen bestätigt werden. Bleibt die Mikroalbuminurie über die festgelegte Zeitspanne von drei Monaten bestehen, so geht sie entsprechend der Leitlinien der ANKF definitionsgemäß in eine persistente Proteinurie über.

Erhält man durch das Screening für eine Mikroalbuminurie bei Risikopatienten jedoch ein negatives Ergebnis, sollte der Patient weiterhin jährlich beobachtet werden, um den Krankheitsprozess frühzeitig zu erkennen.

In einer Studie nach Mainous, A.G., 3rd et al. (2001) wird allerdings erkannt, dass Risikopatienten die Option des Screenings auf eine Mikroalbuminurie in den Vereinigten Staaten zu selten in Anspruch nehmen und einer Therapieoptimierung entgehen. Auch in Europa sieht die Situation des Screenings bei Risikopatienten nicht besser aus (Boero, R. et al. 2003).

Ursachen hierfür lassen sich in dem Fehlen unmittelbarer Ergebnisse nach Durchführung des Screenings, sowie in hierbei entstehenden Kosten, Unannehmlichkeiten und Non-Compliance auf Seiten der Patienten finden (Kraft, S.K. et al. 1999; Mainous, A.G., 3rd et al. 2001).

Hier wird relevant, dass die Methoden zur Quantifizierung einer Mikroalbuminurie einfach, schnell, kostengünstig und schmerzlos durchführbar sind.

Es sind verschiedene Labormethoden zur Bestimmung einer Mikroalbuminurie verfügbar, die in anderen Studien als Goldstandard einer Kontrollmessung herangezogen werden (Mogensen, C.E. et al. 1997; Gilbert, R.E. et al. 1997). Zu nennen sind an dieser Stelle die Methode der Immunturbidimetrie, der Nephelometrie und des Radioimmunassays (RIA). Sie entsprechen internationalen Standards von Präzision und analytischer Spannweite, sind aber in Fragen der sofortigen Verfügbarkeit, besonders im Bereich der Grundversorgung schlecht vertreten.

Hieraus resultieren Überlegungen zur Entwicklung einfacherer Screeningmethoden, die den Labormethoden an Qualität zur Bestimmung einer Mikroalbuminurie im Wesentlichen entsprechen, in ihrer Durchführbarkeit jedoch Vorteile aufzeigen.

In diesem Zuge wurde vor einigen Jahren der Micral<sup>®</sup> II-Teststreifen hergestellt und hinsichtlich seiner Testgüte bei diabetischen und nicht-diabetischen Patienten untersucht (Mogensen, C.E. et al. 1997; Fernandez Fernandez, I. et al. 1998). Es handelt sich um einen immunologischen Schnellteststreifen, der Albuminkonzentrationen bei einer Diskriminanzschwelle von >20 mg/l im Urin registriert und dabei eine Sensitivität im Bereich von 64-97% aufweist. Bei nicht-diabetischen Patienten mit renalen Erkrankungen steigt sie auf einen Wert von 100%. Für die Spezifität ergeben sich Werte zwischen 71-93% (Mogensen, C.E. et al. 1997; Fernandez Fernandez, I. et al. 1998; Gilbert, R.E. et al. 1997; Zheng, Y.L. et al. 1999).

Auch der Microalbustix<sup>™</sup> (Bayer) wird zur Erkennung einer Mikroalbuminurie entwickelt und bezüglich seiner Gütekriterien, deren Ergebnisse auf klinischen und analytischen Studien basieren, untersucht (BAYER 2003). Hinsichtlich der Sensitivität bei einem Cut-off-Punkt von 20-40 mg/l wird für das Reagenzfeld des Albumins ein Wert von 90% ermittelt, die Spezifität ergibt einen Wert von 88%. Da anhand dieses Teststreifens auch das Albumin-Kreatinin-Verhältnis bestimmt werden kann, wird in der Studie dessen Sensitivität von 84% und Spezifität von 91% berücksichtigt.

Kardiovaskuläre Komplikationen und eine erhöhte Mortalität treten nach einer Studie von Klausen, K. et al. (2004) jedoch bereits bei einer deutlich niedrigeren Albuminexkretion im Urin (4,8 µg/min oder 7 mg/d) auf, als es der Definition einer Mikroalbuminurie von <20 µg/min oder 30 mg/d entspricht. Der Therapie entgehen demnach ferner Risikopatienten aufgrund einer einerseits zu hoch angesetzten Schwellengrenze für das Vorliegen einer Mikroalbuminurie, andererseits aufgrund defizitär ausgerichteter Trennwerte oder Cut-off-Punkte der existierenden Schnellteststreifen.

In der vorliegenden Arbeit wird der PreventID<sup>®</sup> Albuminteststreifen untersucht, bei dem es sich um einen immunochromatographischen Schnellteststreifen zum Nachweis geringer Konzentrationen von Albumin handelt.

Der Test funktioniert über eine Farbreaktion, die durch eine Antikörperreaktion gegen humanes Albumin hervorgerufen wird. Hierbei vermag er zwischen positiven und negativen Befunden bei einer festgelegten Trenngrenze von 18 mg/l zu unterscheiden. Mit Hilfe dieser Diskriminanzschwelle ist es möglich, eine Klassifizierung der Patienten zwischen einer Mikroalbuminurie und einer Normoalbuminurie zu erreichen. Auch in dieser Arbeit erfolgte die Gegenmessung der erhaltenen Werte für eine Albuminurie durch eine Labormethode, der Immunturbidimetrie, als Goldstandard.

Die Ergebnisse dieser Arbeit ermöglichen die Schlussfolgerung, dass der PreventID<sup>®</sup>-Albuminteststreifen eine gültige Alternative zur Bestimmung einer Albuminurie ist und diese mit einer hohen Präzision nachweist. Hierbei dient der Micral<sup>®</sup> II-Teststreifen als Referenzpunkt und wichtigste Gegenüberstellung, denn trotz unterschiedlicher Studienpopulationen, Studiendesigns und Cut-off-Level ermöglicht der Vergleich beider Testverfahren einen Überblick über die Funktion und Güte des PreventID<sup>®</sup>-Schnellteststreifens.

Den Berechnungen zufolge ergibt sich für die Sensitivität des Teststreifens ein Wert von 96,2% – ein Prozentsatz der Erkrankten, der durch die Verwendung dieses Testverfahrens tatsächlich als krank identifiziert werden kann. Durch die hohe Sensitivität wird gewährleistet, dass nur ein geringer Anteil der Patienten mit einer Mikroalbuminurie als falsch negativ klassifiziert wird, also übersehen wird und einer therapeutischen Intervention entgeht. In unserem Fall entspricht dies einem Ergebnis von 2,27% von insgesamt 88 getesteten Patienten.

Im Vergleich hierzu erreicht der Micral<sup>®</sup> II-Teststreifen eine Sensitivität bis ca. 97%, was der Sensitivität des PreventID<sup>®</sup>-Tests entspricht. Sie unterliegt allerdings in mehreren Studien einer gewissen Spannweite von bis zu 30% bei unterschiedlichen Studiendesigns (Fernandez Fernandez, I. et al. 1998; Gilbert, R.E. et al. 1997; Mogensen, C.E. et al. 1997).

Die Studie nach Gilbert, R.E. et al. (1997), in der die Gegenmessung der erhaltenen Werte für den Micral<sup>®</sup> II-Teststreifen mit dem Radio-Immuno-Assay durchgeführt wird, eruiert falsch negative Ergebnisse in 7% der Erkrankten bei einer Zahl von insgesamt 411 getesteten diabetischen Patienten.

Im Gegensatz zu diesen Ergebnissen liegt die Sensitivität des Microalbustix<sup>™</sup> für das Reagenzfeld zur Bestimmung von Albumin bei 90%, und Werte von nur 84% ergeben sich für das Albumin-Kreatinin-Verhältnis dieses Teststreifens (BAYER 2003). Hier erscheint der Anteil der falsch negativ diagnostizierten Patienten höher und erstellt eine deutliche Ergebnisdiskrepanz zu den anderen Teststreifen dar.

Die Spezifität für den PreventID<sup>®</sup>-Teststreifen erbringt einen Wert von 97,1%, und überliegt deutlich den Ergebnissen des Micral<sup>®</sup> II-Tests und des Microalbustix<sup>™</sup>, für die Werte von 71-93% bzw. 88% gültig sind (Mogensen, C.E. et al. 1997; Gilbert, R.E. et al. 1997; BAYER 2003). Es ist hiermit für das Erkennen einer möglichst großen Anzahl an Gesunden gesorgt.

Die Rate der falsch positiven Befunde beläuft sich lediglich auf 1,1%, ein Wert, der die Wirtschaftlichkeit des Teststreifens sichert.

Kosten für das Finden von falsch positiven Befunden durch diverse Bestätigungstests können dadurch minimiert werden, besonders da sich das Screening auf eine Patientengruppe ausdehnt, die keine erhöhten Werte für Albumin im Urin aufweist. Zum anderen kann auch der fälschliche und kostenaufwendige Therapiebeginn verhindert werden, wenn Bestätigungstests nicht durchgeführt werden.

Hinsichtlich der Prädiktwerte resultieren für den PreventID<sup>®</sup>-Test jeweils Ergebnisse über 90%. Werte für den positiv prädiktiven Wert liegen bei 98,1% und deuten folglich auf eine hohe Sicherheit für das Vorliegen der Erkrankung bei pathologischem Ergebnis hin.

Die für die Prädiktwerte wichtige Prävalenz positiver Befunde für eine Albuminurie liegt in unserer Population bei 60,2%. Da die Prädiktwerte im Wesentlichen von der Prävalenz einer Albuminurie abhängig sind, ist diese ein entscheidender Faktor für die Nützlichkeit dieses und anderer Teststreifen zum Nachweis einer erhöhten Albuminkonzentration.

Für den Micral<sup>®</sup> II-Test findet sich in der Studie nach Mogensen, C.E. et al. (1997) ein positiv prädiktiver Wert von ca. 78% bei einer 52%igen Prävalenz positiver Befunde für eine Albuminurie und schneidet im Vergleich bei einer größeren Anzahl falsch positiver Befunde und ähnlicher Prävalenz einer Mikroalbuminurie schlechter ab. In einer Studie nach Fernandez Fernandez, I. et al. (1998) ergeben sich sogar nur Werte zwischen 72 und 77% in Abhängigkeit von der Anzahl verwendeter Kontrollproben.

Der negativ prädiktive Wert kann für den PreventID<sup>®</sup>-Test auf ein Ergebnis von 94,4% berechnet werden und dient als Indikator dafür, dass bei nichtpathologischem Befund die Krankheit tatsächlich nicht vorliegt. Für den Micral<sup>®</sup> II-Test ergeben sich entsprechende Werte von ca. 95% und sind mit denen des PreventID<sup>®</sup>-Tests nahezu identisch (Mogensen, C.E. et al. 1997; Fernandez Fernandez, I. et al. 1998).

Trotz seiner guten Ergebnisse hinsichtlich der Güteverfahren des PreventID<sup>®</sup>-Teststreifens, weist der Test diagnostische Grenzen auf.

Der Albuminteststreifen vermag zwar den Zustand erhöhter Albuminkonzentrationen im Urin nachzuweisen, ist aber nicht in der Lage, zwischen den einzelnen Ursachen einer Mikroalbuminurie zu unterscheiden.

Verschiedene Situationen können die Konzentration von Albumin im Urin beeinflussen, und rufen auch bei nephrologisch gesunden Individuen eine Mikroalbuminurie hervor.

Allein der zirkadiane Rhythmus verursacht Schwankungen der Albuminkonzentration im Harn und bedingt sowohl höhere Messergebnisse am Tag versus Nacht (Chachati, A. et al. 1987) als auch intraindividuelle Konzentrationsänderungen in einer 24-h-Periodik (Mogensen, C.E. 1971; Feldt-Rasmussen, B. et al. 1985).

Zusätzliche Ursachen, die Einfluss auf das Testergebnis nehmen, sind Stressfaktoren wie akut fieberhafte Erkrankungen, Harntraktinfekte, physischer und psychischer Stress als auch Schwangerschaften und monatliche Regelblutungen (Hasslacher, C. et al. 1999; Mogensen, C.E. et al. 1995).

Unter diesen Erscheinungen kann es trotz Fehlens hypertensiver oder diabetesbedingter Nierenerkrankungen zu transitorisch ansteigenden Konzentrationen von Albumin im Urin kommen. Hier ist es sinnvoll das Screening zeitlich zu verschieben und eine Wiederholung der Untersuchung bei geänderten Bedingungen durchzuführen. Erst dann lässt sich eine differentialdiagnostische Abklärung der Mikroalbuminurie eingrenzen und ermöglichen.

Der PreventID<sup>®</sup>-Teststreifen ermöglicht eine Klassifizierung der Urinproben in normoalbuminurische und albuminurische Fälle, abhängig von der jeweiligen Albuminkonzentration, die entweder oberhalb oder unterhalb der Diskriminanzschwelle von 18 mg/l liegt.

Eine Zuteilung positiver Proben in gewisse Konzentrationsgruppen ist nicht möglich, und es sind auch aus diesem Grunde Kontrolluntersuchungen der Proben mit einer anerkannten Standardmethode notwendig, um das Ausmaß der Albuminurie abschätzen zu können.

Im Gegensatz hierzu ist es mit dem Micral<sup>®</sup> II-Test möglich, eine bestimmte Zuordnung der Albuminkonzentrationen zu erreichen (Mogensen, C.E. et al. 1997). Er bedient sich unterschiedlicher Farbschattierungen, die am Ende der Urinuntersuchung mithilfe von Farbkästchen auf der Verpackung verglichen werden.

Diese Farbkästchen entsprechen Konzentrationen von 0 mg/l, 20 mg/l, 50 mg/l und 100 mg/l Albumin, denen letztlich gewisse Intervalle zugeteilt werden. Für die Konzentration, die auf der Verpackung bei 0 mg/l (negativ) definiert ist, ergibt sich ein Intervall von 0-15 mg/l, für die fest-

gelegte Konzentration von 20 mg/l resultiert ein Konzentrationsintervall von 8-35 mg/l, bei 50 mg/l liegt das Intervall zwischen 30 und 80 mg/l und für den festgelegten Wert von 100 mg/l auf der Verpackung ergibt sich eine Konzentrationsspanne von 70-260 mg/l. Anhand dieser Intervalle ist zu erkennen, dass die Spanne der Überlappungen zwischen den einzelnen Konzentrationsfenstern relativ gering ist.

Auch bei dem Microalbustix™ gilt die Funktion, Ergebnisse für Albumin und Kreatinin einer bestimmten Konzentrationsklasse zuzuordnen. Hier können die Albuminkonzentrationen im Bereich von 10 mg/l, 30 mg/l, 80 mg/l und 150 mg/l liegen, für Kreatinin ergibt sich eine Einteilung in 10 mg/dl, 50 mg/dl, 100 mg/dl, 200 mg/dl und 300 mg/dl.

Es besteht jedoch die Gefahr der falschen Ergebniszuordnung durch die subjektive Einschätzung eines jeden Untersuchers. In der Studie nach Mogensen, C.E. et al. (1997) werden hierzu mehrere Urinproben von verschiedenen Untersuchern beurteilt, die in immerhin 7% das Ergebnis in ein benachbartes Farbkästchen verlagern und einen falschen Befund erhalten.

Auch der PreventID®-Test funktioniert über die Beurteilung von Farbtintensitäten und unterliegt der Gefahr der Fehlinterpretation. Hier spielen die Veränderlichkeit der Farbwahrnehmung der Untersucher als auch die Lichtverhältnisse, unter denen die Proben ausgewertet werden, eine entscheidende Rolle.

Bei fraglichen Befunden sollte nach Fehlerquellen gesucht werden oder eine Wiederholung der Untersuchung durch weitere Teststreifen oder andere Labormethoden erfolgen.

Neben der Subjektivität eines Untersuchers ist auch der PreventID®-Teststreifen mit Fehlerquellen versehen.

Hier ist die Ursache für eine fehlende Farbreaktion des Teststreifens die unzureichende Benetzung des Testfensters mit Urin oder auch die Bildung von Luftblasen, die den Flüssigkeitseintritt in das Reaktionsfeld verhindern können. Ein einfaches Beheben der Problematik besteht in der Regulierung der Eintauchtiefe oder im Bewegen des Teststreifens zur Entfernung etwaiger Luftblasen.

Ist danach keine Änderung der Farbreaktion zu erkennen, liegt die Ursache der fehlerhaften Funktion eventuell in der abgelaufenen Haltbarkeit des Urinteststreifens bzw. in der Exposition des Teststreifens gegenüber extremen Temperaturen. Unter diesen Umständen erscheint es sinnvoll, die geöffnete Packung mit Teststreifen zu entsorgen, um die Fehlerquelle zu beheben.

Hinsichtlich dieser möglichen Fehlerquellen erscheinen zur Bestätigung der korrekten Testdurchführung einige integrierte Kontrollmechanismen, die bei jedem Screening verglichen werden sollten. Hierzu zählen die sichtbare Bewegung des Urins entlang des Teststreifens nach Eintauchen in die Flüssigkeit, das Erscheinen eines blauen Farbstreifens in der oberen Hälfte des Testfensters, sowie die Einheitlichkeit der Farbbildung dieser Streifen ohne Farbbrüche.

Bei Defekt einer dieser Funktionen ist zu empfehlen, die Untersuchung mit einem anderen Test zu wiederholen.

Zusätzlich entstehen Probleme bei der Interpretation der diagnostischen Sensitivität und Spezifität, die sowohl im theoretischen als auch im praktischen Bereich zu finden sind.

Die Begriffe zur Einschätzung der Güte diagnostischer Testverfahren eignen sich besonders für qualitative Testverfahren. Für quantitative Tests wie den PreventID<sup>®</sup>-Teststreifen ist die Verwendung von Sensitivität und Spezifität nur sinnvoll, wenn sich die Beurteilung auf binäre Aussagen beschränkt, wie es bei unserem Teststreifen durch die Diskriminanzschwelle von 18 mg/l ermöglicht ist. Durch diese Beschränkung auf positive und negative Befunde wird allerdings ein hoher Informationsverlust provoziert, denn für die Bedeutung der klinischen Interpretation spielt auch das Ausmaß der Differenz zwischen pathologischen und nichtpathologischen Werten eine wichtige Rolle. Aber selbst damit werden zusätzliche Erkrankungen, die Abwehrlage des Patienten und eventuelle Therapieeinflüsse nicht ausreichend berücksichtigt.

Der Goldstandard des Untersuchungsmaterials zur Erfassung einer erhöhten Albuminausscheidung im Urin ist die 24-Stundenurinsammlung (Levey, A.S. et al. 2003), jedoch ist auch die Bestimmung von Albumin in Urinproben, die während der Nacht gesammelt werden, anerkannt (K/DOQI 2002). Im täglichen Praxisgebrauch wird häufig der erste Morgenurin zur weiteren Diagnostik verwendet, ist dieser nicht verfü- oder verwendbar, kann auch jeder andere Spontanurin nach Levey, A.S. et al. (2003) untersucht werden.

Diese Methode bietet den Vorteil des weniger intensiven technischen Aufwandes und ermöglicht auch die konzentrationsunabhängige Bestimmung des Albumin-Kreatinin-Quotienten (Poulsen, P.L. et al. 1998).

Trotz der einfachen Gewinnung liegt hier der Nachteil einer potentiell zu hoch liegenden Albuminausscheidung als falsch positives Ergebnis bei unzureichender Kreatininausscheidung. Diese kann Folge einer zu geringen Muskelmasse sein und bei Frauen oder älteren Menschen vorkommen (Mogensen, C.E. et al. 1985).

Für Untersuchungen mit dem PreventID<sup>®</sup>-Teststreifen werden in dieser Arbeit 24-Stunden-Sammelurine herangezogen, die im klinischen Zentrallabor der Charité/ Berlin analysiert werden. Die Verwendung des Streifentests im Praxisalltag erlaubt jedoch laut American National Kidney Foundation auch die Durchführung des Screenings mithilfe einer Probe des ersten Morgenurins oder eines anderen Spontanurins.

Gesichert ist dadurch die einfache Durchführung, fehlende invasive Maßnahmen und Komplikationen sowie der geringe Kostenaufwand.

Diese zuletzt genannten Sachverhalte sind auch auf den Teststreifen übertragbar. Dieser sichert im Vergleich zu anderen Labormethoden eine unkomplizierte Bedienung in fünf einfachen Testschritten und ermöglicht eine kurzfristige Ergebnisinterpretation mit schneller Behandlungsoption. Ferner beschreibt er eine günstige Kosteneffektivität, die sich durch den Erhalt zuverlässiger Ergebnisse auszahlt und auf kostenintensive Reagenzien, Kalibratoren oder andere Instrumente verzichten lässt.

Zusammenfassend ist der PreventID<sup>®</sup>-Teststreifen eine sichere und unproblematische Methode zur Erfassung einer erhöhten Albuminausscheidung im Urin und eignet sich für den täglichen Gebrauch in einer Arztpraxis. Es handelt sich um einen Test zum Screening einer Mikroalbuminurie bei Risikopatienten, erfordert bei dem Nachweis positiver Ergebnisse jedoch eine Kontrolle zur Quantifikation der Albuminkonzentration durch den Albumin-Kreatinin-Quotienten oder durch andere anerkannte Labormaßnahmen.

